

**FENOLİK BİLEŞENLERİN NANOENKAPSÜLASYON YOLUYLA  
STABİLİTESİNİN VE BİYOYARARLILIĞININ ARTTIRILMASI**

**Proje No: 110O071**

Prof. Dr. Servet Gülüm ŞÜMNÜ

Prof. Dr. Serpil ŞAHİN

Prof.Dr. Vasıf HASIRCI

EKİM 2012

ANKARA

## ÖNSÖZ

Bu projenin ana amacı, vişne posasından özütlenen fenolik maddelerin mikro ve nanoemülsiyon oluşturularak kaplanması ve elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin, mide ve bağırsak sıvıları içerisindeki salınımlarının ve saklama sırasındaki stabiliteilerinin araştırılmasıdır. Ayrıca, oluşturulan kapsüller keke eklenerek kekin pişirilmesi sırasındaki stabiliteleri ve kek kalitesi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Fenolik bileşenlerin saklanmaları ve işlenmeleri sırasında kolayca bozuldukları bilinmektedir. Bu projeye vişne posasından elde edilen fenolik maddelerin başarıyla kaplanması mümkün olmuştur. Bu şekilde fenolik bileşenlerin dayanıklılığını arttırmak, istenilen ortamda serbest bırakılmalarını sağlayabilmek ve kötü tatlarını maskeleyerek mümkün olmuştur. Elde edilen sonuçlar kapsüllerin ileride fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Bu çalışma ayrıca nanoemülsiyon üretimi için yeni bir yaklaşım sunmaktadır.

TOVAG 1100071 numaralı proje kapsamında TÜBİTAK tarafından teçhizat, sarf malzeme, hizmet ve yüksek lisans öğrencilerine burs desteği verilmiştir. Projede elde edilen sonuçlardan iki adet uluslararası makale çıkartılmış, iki adet uluslararası sempozyumlarda ve iki adet ulusal sempozyumlarda bildiri sunulmuştur.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	2
İÇİNDEKİLER.....	3
TABLO LİSTESİ .....	6
ŞEKİL LİSTESİ .....	7
ÖZET.....	9
ABSTRACT .....	11
GİRİŞ .....	12
GENEL BİLGİLER.....	14
GEREÇ VE YÖNTEM .....	18
Materyal .....	18
Mikrokapsül için fenolik özütün hazırlanması.....	18
Nanokapsül için fenolik özütün hazırlanması .....	19
Kaplama maddesinin hazırlanması.....	20
Mikrokapsül ve nanokapsüllerin hazırlanması.....	20
Keklerin hazırlanması .....	21
Fenolik özüt, kapsül ve kekde yapılan analizler .....	22
Toplam fenolik madde miktarı (TFM).....	22
Kapsül yüzeyinde bulunan fenolik madde miktarı (YFM) .....	22
Kaplama verimi .....	22
DPPH` metoduyla toplam antioksidan aktivitesi analizi.....	23
TEAC metoduyla toplam antioksidan aktivitesi analizi.....	23
Yüzey morfolojisi analizleri.....	24

Nem çekme derecesi analizi .....	24
Parçacık boyutu analizleri .....	24
Renk analizleri.....	25
Camsı geçiş sıcaklığının belirlenmesi .....	26
Piştirme dayanıklılığının belirlenmesi.....	26
Kekin özgül hacimin belirlenmesi.....	26
Kekin tekstür profilinin belirlenmesi .....	26
Kekin duyu analizi.....	27
In vitro salınım testleri .....	27
İstatistiksel analizler .....	27
<b>BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>28</b>
Mikrokapsül elde edilmesi ve fizikokimyasal ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi....	28
Mikrokapsüllerin kaplama verimi .....	28
Mikrokapsüllerin antioksidan aktiviteleri .....	33
Mikrokapsüllerin yüzey morfolojisi.....	34
Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları .....	37
Renk Sonuçları .....	39
Nem Miktarı Analiz Sonuçları .....	40
Camsı Geçiş Sıcaklığı Analiz Sonuçları .....	40
Nanoemülsiyon ve kapsül oluşturulması.....	42
Santrifüj İşleminin Emülsiyonun Parçacık Boyutuna Etkisi.....	42
Arındırma İşleminin Emülsiyonun Parçacık Boyutuna Etkisi .....	44
Arındırma İşleminin Kapsül Verimine Etkisi .....	47

Arındırma işleminin yüzey morfolojisi üzerine olan etkileri.....	49
Arındırma İşleminin Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	50
Arındırma İşleminin Renk Üzerine Etkisi.....	51
Saklama sırasında stabilitenin ve renk değişiminin belirlenmesi.....	54
Kapsüllerin pişirilme sırasındaki stabilite ve kek kalitesi.....	60
Kapsüllerin biyoyararlılığı .....	64
SONUÇLAR .....	65
REFERANSLAR .....	67

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Değişik MD:AZ oranının, FM:KM oranının ve ultason süresinin (US) kapsüllerin antioksidan aktivitesi, YFMM ve rengine olan etkileri .....	30
Tablo 2. Fenolik özüt (FÖ) ve değişik MD:AZ oranlarıyla kaplanmış ve FM:KM oranı 1:20 olan emülsiyonların parçacık boyut analizi.....	41
Tablo 3. Farklı MD:AZ oranları olan, FM:KM oranı 1:20 olan ve 20 dakika ultrason süresi uygulanan örnekler ile Arap zıncığı ve maltodekstrinin camsı geçiş sıcaklıkları.....	42
Tablo 4. Açısal hızın emülsiyonun arındırılmasına olan etkisi.....	44
Tablo 5. Farklı kaplama malzemesi ve farklı fenolik özütlerle hazırlanan örneklerin parçacık boyutu analizi sonuçları.....	47
Tablo 6. Farklı kaplama malzemesi kullanılarak kapsüllenen AFÖ ve FÖ'nün yüzey fenolik madde miktarları (YFMM) ve antioksidan aktiviteleri.....	49
Tablo 7. Fenolik özütlerin ve kapsüllerinin renk analiz sonuçları.....	52
Tablo 8. Fenolik maddelerin ve kapsüllerinin iki farklı bağıl nemde nem çekme dereceleri (%) .....	54
Tablo 9. Saklama sırasında kapsüllerin renk değerlerinin (%42 bağıl nemli ortamda) değişimi .....	60
Tablo 10. Keklerin 175 °C de 22 dk. pişirilmesinden sonra kalan TFM ve TAA yüzdeleri .....	61
Tablo 11. Keklerin kalite özellikleri.....	62
Table 12. Kapsül içeren keklerin duyusal analiz sonuçları.....	63
Tablo 13. Kaplanmış ve kaplanmamış fenolik özütün mide ve bağırsak sıvısında salınımı...	64

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Şekil 1. Fenolik özüt elde etmek için akış şeması.....	19
Şekil 2. Değişik MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış ve değişik FM:KM oranı olan örneklerin kapsül verimlerinin ultrason süresine göre değişimi .....	32
Şekil 3. MD:AZ oranı 8:2 olan karışımla kaplanmış ve FM:KM oranı 1:20 olan örneklerin kapsül verimlerinin ultrason süresine göre değişimi .....	33
Şekil 4. Farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:10 olan örneklerin taramalı elektron mikroskobu analiz görüntüleri .....	35
Şekil 5. Farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:20 olan örneklerin taramalı elektron mikroskobu analiz görüntülerinin ultrason süresine göre değişimi.....	36
Şekil 6. Fenolik özütün ve farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:20 olan, 20 dakika ultrason işlemi uygulanan örneklerin parçacık boyutlarının hacimlerine göre dağılımı. ....	38
Şekil 7. Emülsiyonların parçacık boyutu analiz sonuçları.....	43
Şekil 8. Fenolik özüt (FÖ) ve arındırılmış fenolik özüt (AFÖ) ile farklı kaplama malzemesi kullanılarak hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutu analiz sonucu.....	46
Şekil 9. Fenolik özüt ve arındırılmış fenolik özütün farklı kaplama malzemeleriyle oluşturulmuş kapsüllerinin verim yüzdeleri.....	48
Şekil 10. Fenolik özüt (A) ve arındırılmış fenolik özütün (B) taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	50
Şekil 11. Kapsüllenmiş örneklerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	51
Şekil 12. Fenolik özüt ve kapsüllerin resimleri.....	53
Şekil 13. Toplam fenolik madde miktarının % 42 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi .....	56

Şekil 14. Toplam fenolik madde miktarının %83 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi. .....	57
Şekil 15. Örneklerin antioksidan aktivitelerinin (AA) %42 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi.....	58
Şekil 16. Örneklerin antioksidan aktivitelerinin (AA) % 83 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi.....	59



## ÖZET

Mikro veya nano boyutta kapsül oluşturma işlemi hassas gıda bileşenlerini ısı, nem, oksijen ve pH'ya karşı gerektiğinde sisteme salıncaya kadar korumaktadır. Bu işlem, gıdalara zenginleştirme amacıyla eklenen maddelerin istenmeyen tatlarını da maskeleymektedir. Literatürde, fenolik maddelerin nano boyutta enkapsülasyonu ve bu kapsüllerin gıdanın içerisine konularak pişme sırasındaki stabiliteilerinin arttırılmasının incelenmesi konusunda çalışma yoktur. Projenin ana amacı vişne posasından özütlenen fenolik bileşenlerin mikro ve nanoemülsiyon oluşturularak kaplanması ve elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin, biyoyararlılığının ve saklama sırasındaki stabiliteilerinin araştırılmasıdır. Oluşturulan kapsüller keke eklenerek kekin pişirilmesi sırasındaki stabiliteileri ve kek kalitesi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Vişne posasından elde edilen fenolik bileşenler maltodekstrin ve arap zankı karışımı kullanılarak kaplanmış ve dondurmali kurutucuda kurutularak kapsüller oluşturulmuştur.

Kapsül hazırlamada değişken olarak farklı maltodekstrin:arap zankı oranları, fenolik özüt:kaplama maddesi oranları ve ultrason süresi seçilmiştir. Fenolik özüt:kaplama maddesi oranı 1:20 olan ve 20 dakika ultrason ile işlem görerek hazırlanan mikrokapsüllerin, daha küçük parçacık boyutuna ve daha yüksek verime sahip oldukları bulunmuşlardır. Arındırma işlemiyle (emülsiyon içindeki yabancı parçacıkların 2 dakika 10000 dev/dk hızda santrifüjlenerek emülsiyondan uzaklaştırılması) nanoemülsiyon elde etmek mümkün olmuştur. Arındırma işlemi hem parçacık boyutunu küçültmüş hem de kapsül oluşturma verimini arttırmıştır. Mikroemülsiyondan hazırlanan kapsüllerin verimi %85-90 arasında iken nanoemülsiyondan hazırlanmış kapsüllerde verim %95-98 arasındadır. Arap zankı kullanımı parçacık boyutunu mikroemülsiyonlarda 3,229 µm'den 1,735 µm'ye, nanoemülsiyonlarda ise

0,370  $\mu\text{m}$ 'den 0,125  $\mu\text{m}$ 'ye d $\ddot{u}$ ř $\ddot{u}$ rm $\ddot{u}$ řt $\ddot{u}$ r. Kaps $\ddot{u}$ l oluşturma işlemi fenolik maddelerin saklama ve pişirme stabilitelerini ve yapay mide ve bağırsak sıvısı i $\ddot{c}$ indeki salınımlarını olumlu olarak etkilemiştir. Keke kaps $\ddot{u}$ l eklemenin kalite  $\ddot{u}$ zerinde olumsuz etkisi bulunmamıştır. Ayrıca kaps $\ddot{u}$ l kullanımı fenolik maddelerin k $\ddot{u}$ t $\ddot{u}$  tadını maskelemiştir.

**Anahtar kelimeler** Arap zankı, kaps $\ddot{u}$ l oluşturma, fenolik madde, maltodekstrin, nanoteknoloji, ultrason, vişne

## ABSTRACT

Micro or nanoencapsulation protects sensitive food ingredients against heat, moisture, oxygen and pH until they are released to the system. It can mask the unwanted taste of nutrients that are added to the foods for food fortification purposes. There is no study in literature about the nano-encapsulation of phenolic compounds and their usage in foods. The main objective of the study is to encapsulate the phenolic compounds extracted from sour cherry pulp in micro and nano size and to investigate the physicochemical properties, bioavailability and storage stability of nano-capsules. In addition, these capsules will be incorporated into the cakes and their baking stability will be evaluated.

In capsule preparation step, different maltodextrin to gum arabic ratios, different phenolic extract to coating ratios and ultrasound time were used as variables. Microcapsules containing phenolic content to coating material ratio of 1:20 and prepared by using 20 min of ultrasonication had the smallest particle size and the highest encapsulation efficiency. It was possible to obtain nanoemulsion by means of purification (to remove foreign particles from emulsions by centrifugation for 2 min at 10000 rpm). Purification both decreased particle size and increased encapsulation efficiency. The encapsulation efficiency of capsules prepared from micro and nanoemulsions are 85-90% and 95-98%, respectively. Usage of gum arabic decreased particle size from 3.229  $\mu\text{m}$  to 1.735  $\mu\text{m}$  in microemulsions and from 0.370  $\mu\text{m}$  to 0,125  $\mu\text{m}$  in nanoemulsions. Encapsulation had a positive effect on storage and baking stability and bioavailability. Incorporation of capsules into cake had no adverse effects on cake quality. In addition, usage of capsules masked the bad flavor of phenolic compounds.

**Key Words** Gum arabic, Encapsulation, phenolic compounds, maltodextrin, nano-technology, ultrasound, sour cherry

## GİRİŞ

Çalışmanın ana amacı vişne posasından özütlenen fenolik bileşenlerin mikro ve nanoemülsiyon oluşturularak kaplanması ve elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin, biyoyararlılığının (yapay mide ve bağırsak sıvılarında) ve saklama sırasındaki stabiliteilerinin araştırılmasıdır. Ayrıca, oluşturulan kapsüllerin keke eklenerek kekin pişirilmesi sırasındaki stabiliteileri ve kek kalitesi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

Fenolik maddelerin insan sağlığına çok faydalı olduğu bilinmektedir. Ancak fenolik bileşenler ısıya, ışığa, oksijene, pH'ya karşı çok hassastırlar ve kolay bozulabilmektedirler. Bu amaçla fenolik bileşenlerin kapsülendirilerek dayanıklılığın artırılması önemlidir.

Sentetik antioksidanlar gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu antioksidanların toksik olması ve tüketicilerin yapay katkı maddesi içermeyen ürün tüketmeye yönelmesi gıda antioksidanları için doğal ve güvenli kaynaklar bulma gerekliliğini doğurmuştur. Vişne ülkemizde çok üretilen ve ekşi tadından dolayı genellikle vişne suyu olarak tüketilen fenolik içeriği yüksek bir meyvedir. Vişne suyu üretiminin atık maddesi olan vişne posası da fenolik bileşenler içermektedir. Modern toplumların yaşam biçimi doğal ürün tüketimine yönelik şekillendiği için bu posanın içerisinde yer alan fenolik maddeler özütlenerek kaplandığında, posa doğal antioksidan olarak kullanılma imkanı bulabilecek ve bilinçli gıda toplumları tarafından aranan bir katkı maddesi olabilecektir.

Vişne posasından fenolik bileşenlerin elde edilerek mikro ve nano boyutlarda kapsülendirilmesi konusunda literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmayla kapsül oluşturma işlemi sayesinde fenolik bileşenlerin saklama ve pişirme stabiliteilerinin artırılması, istenilen

ortamda serbest bırakılmalarının sağlanması ve istenmeyen tadlarının engellenmesi m¼mk¼n olmuştur. Bu proje, elde edilen kaps¼llerin ileride fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılabilceği konusuna ışık tutmaktadır. Ayrıca, elde edilen sonuçlar atık gıda maddesinin değerlendirilmesi hususunda T¼rkiye'ye hem bilimsel hem ekonomik y¼nden artı sağlayabilir.

## GENEL BİLGİLER

Meyve ve sebzeler çok önemli besin kaynaklarıdır. Sağlık açısından çok faydalı oldukları için sık tüketilmeleri gerekir. Antioksidan maddeler meyve ve sebzelerde bulunan önemli besinlerdendir. Patojen, parazit ve zararlı böceklere karşı koruyucu özellik gösterirler (ROSA ve ark, 2010; SINGLETON ve Esau, 1969). Vücuda fenolik bileşenlerin alınımı kanser gibi birçok kronik hastalığa (EBERHARDT ve ark, 2006; KUNTZ ve ark, 1999; VEERIAH ve ark 2006) ve kalp ve damar hastalıklarına (HERCBERG ve ark, 1999; YARDIM-AKAYDIN ve ark, 2003) karşı riskleri azaltmaktadır.

Meyve ve sebzelerin raf ömürlerini arttırmak ve daha uzak bölgelere iletilmelerini sağlamak amacıyla taze meyve ve sebzelere alternatif olarak meyve suyu gibi ürünler elde edilmektedir. Meyve suyu üretimin yan ürünü olarak posa açığa çıkmaktadır. Meyve ve sebzelerde olduğu gibi posalar da bol miktarda antioksidan içermektedir (KHOO ve ark, 2011; MULABAGAL ve ark, 2009).

Fenolik bileşenler moleküler yapılarındaki doymamış bağlardan dolayı oksitlenmeye, ısıya, ışığa, ve enzimatik aktivitelere karşı çok hassastırlar (SAENZ ve ark, 2009; ZHENG ve ark, 2011). Posalardan özütlenen fenolik bileşenlerin etkinliği saklama dayanıklılığına, biyoyararlılığına ve fenolik maddenin biyoaktifliğine bağlıdır. Bu yüzden, meyvelerden veya sebzelerden özütlenen fenolik bileşenlerin kapsüller içerisinde saklanması önerilmektedir (SAENZ ve ark, 2009). Bir biyoaktif madde biyopolimerin içine hapsedildiğinde oksijen, ışık, su veya diğer etkenlerle etkileşimi azalmaktadır (DESAI ve Park, 2005). Bunlara ek olarak, fenolik maddelerin kötü tat ve kokularından dolayı gıdalar içinde direkt kullanımı mümkün

değildir. Kapsül oluşturma işlemi ile fenoliklerin istenmeyen tat ve kokuları gizlenerek kullanım alanları arttırılmaktadır (ZHENG ve ark, 2011).

Enkapsülasyon tekniğinde kaplama maddesi içerisinde kaplanan maddeye çekirdek madde denilmektedir. Kaplama malzemesi olarak kullanılan birçok madde vardır. En yaygın olarak kullanılanları polisakkaritler (nişasta, maltodekstrin, arap zankı ve mısır şurupları) ve proteinlerdir (GIBBS ve ark, 1999; DRUSCH ve Schwarz, 2006). Gıda endüstrisinde en çok kullanılan kaplama maddesi maltodekstrindir. Maltodekstrinin tercih edilme sebebi kapladığı maddeyi amorf camsı matriks içine hapsederek oksidasyondan korumasıdır (ERSUS ve Yurdagel, 2007). Suda çözünebilirler, tatsız ve renksiz çözelti oluştururlar (SAENZ ve ark, 2009). Yaygın olarak kullanılan başka bir kaplama maddesi de arap zankıdır çünkü düşük viskoziteye ve yüksek emülgatör özelliğe sahiptir (GABASA ve ark, 2007). Kaplama maddesi olarak maltodekstrin ve arap zankı karışımı kullanımı kapsüllerin nem çekme kapasitesini azaltarak (SILVA ve ark, 2012) saklama sırasındaki dayanıklılıklarını arttırmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kaktüs meyvesinden (*Opuntia ficus-indica*), böğürtlenden (*Rubus chamaemorus*) ve açaiden (*Euterpe oleraceae* Mart.) özütlenen fenolik bileşenlerin mikroenkapsülasyonunun saklama dayanıklılığına karşı olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (LAINE ve ark, 2008; SAENZ ve ark, 2009; TONON ve ark, 2009). Fenolik bileşenlerin ısı işlemler karşısında dayanıklılığını araştıran çalışmalar az sayıdadır. *Garcinia cowa* meyvesinin özütünün mikrokapsülleri makarna içerisine konulmuş ve ısı işlem karşısında kapsüllerin kapsüllenmemiş özüte göre daha dayanıklı olduğu görülmüştür (PILLAI ve ark, 2012).

Doğal fenolik bileşenler pH'ya ve enzimlere karşı da hassastırlar ve bu durum bu maddelerin ağız yolu ile alınmasıyla yararlılıklarının azalmasına sebep olur (SANSONE ve ark, 2011).

Diğer yandan SPENCER ve ark (1999) yaptıkları çalışmada yüksek düzeyde flavonoid emiliminin ince bağırsakta gerçekleştiğini göstermişlerdir. Fenolik maddelerin gastrik ortamda (pH=1) çözünmeyen ancak ince bağırsakta (pH=6) çözünen kaplama maddesi içerisine hapsedilmesi ağız yolundan sonra fenolik emiliminin ve dolayısıyla biyoyararlılığının artmasını sağlayacaktır.

Mikroenkapsülasyon konusunda yapılan çalışmalar olmakla birlikte nanoenkapsülasyon ve nanoemülsiyon hazırlama konusundaki araştırmalar çok yetersiz kalmaktadır. Nanoenkapsülasyonun birçok avantajı olduğu için araştırmalara bu doğrultuda devam edilmiştir. Nanoparçacıklar küçük boyutları sayesinde en küçük kılcal damarlardan dahi geçebilmektedir ve böylece hücre ve doku boşluklarına ulaşıp hedef organa gidebilmektedirler. Emülsiyonun ve kaplanmış fenolik özütün parçacık boyutunu küçültebilmek için posadan özütlenen polifenoller kaplanmadan önce süzülerek özütün içerdiği organik ve inorganik büyük boyutlardaki yabancı parçacıklardan arındırılmıştır. Posalar polifenollerin yanı sıra lifli besin yönünden de zengindirler (YI ve ark, 2009) ve bu lifler iyi bir filtrasyona rağmen özütün içinde kalabilmektedirler. Hatta posanın elde edildiği kaynağa bağlı olarak içinde toz ve mineral kristalleri de bulunabilir. Özütleme ve filtrasyon işlemlerinden sonra özütün içerisinde askıda kalmış birçok parçacık bulunmaktadır ve nanokapsül elde edebilmek için bunların özütten ayrılması gerekmektedir.

Nano-emülsiyonlar ultrasonikasyon ve yüksek basınçlı akışkan gibi yüksek enerji işlemleri ile oluşturulurlar. Genellikle nano-emülsiyonların parçacık boyutları 50-200 nm arasında olanlar şeffaf, 500 nm'ye kadar ulaşanlar ise süte benzer bir görünüme sahiptirler (TADROS ve ark, 2004). Doğal antioksidanların nanoenkapsülasyonu konusunda yapılan çalışmalar sınırlı sayıda.



Vişneler (*Prunus cerasus L.*) genel olarak gıda sektöründe vişne suyu üretiminde kullanılır. Türk Standartları Enstitüsü'nün verilerine göre 2010 yılında Türkiye'de 200.000 ton vişne üretilmiştir (TSE, 2012). Ekşi tatlarından dolayı taze meyve olarak fazla miktarlarda tüketilemediği için vişne suyu üretimi yüksektir. Vişne suyu üretiminin yüksek oluşu vişne posasının fazla olmasına sebep olmaktadır. Bu tür atık maddelerin geri kullanılmasıyla ilgili yeni çalışmalar geliştirmek bir çok açıdan faydalı olacaktır. Posadan özütlenen polifenolik bileşenler kapsüllenecek doğal gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Fonksiyonel gıda üretiminde, kozmetik ve ilaç sanayilerinde son zamanlardaki eğilim sentetik antioksidanlar yerine doğal olanları kullanmaktır. Doğal antioksidanların tüketiminin artması bu çalışmanın önemini de artırmaktadır. Vişne suyu posasından özütlenen ve enkapsüle edilmiş fenolik bileşenler gıda endüstrisinde verimli bir şekilde kullanılabilir ve sentetik antioksidanların yerini alabilir. Literatürde meyvelerden özütlenen fenolik bileşenlerin enkapsülasyonu hakkında yapılan çalışmalar mevcut olmasına rağmen (SAENZ ve ark, 2009; ZHENG ve ark, 2011) vişneden ve meyve posalarından özütlenen fenolik bileşenlerin enkapsülasyonu üzerine hiçbir çalışma yapılmamıştır.

Projenin amacı vişne posasından özütlenen fenolik bileşenlerin mikro ve nanoemülsiyon oluşturularak kaplanması ve elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin, biyoyararlılığının (yapay mide ve bağırsak sıvılarında) ve saklama sırasındaki stabilitelerinin araştırılmasıdır. Ayrıca, oluşturulan kapsüllerin keke eklenerek kekin pişirilmesi sırasındaki stabilite ve kek kalitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Materyal

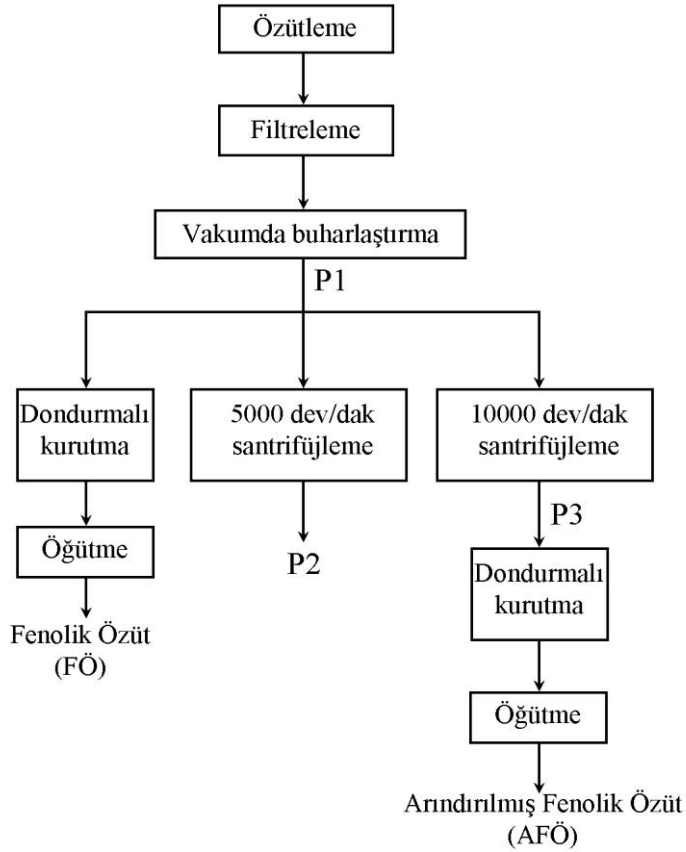
Vişne posası Karmey meyve suyu fabrikasından (Konya) alınmıştır. Çekirdekler, saplar ve diğer yabancı maddeler posadan ayrıldıktan sonra posa  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Çekirdek madde olarak vişne posasından özütlenen fenolik bileşenler kullanılmıştır. Kaplama maddesi olarak maltodekstrin (DE 4.0-7.0) ve arap zıncığı Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) firmasından alınmıştır. Kek yapımında kullanılan malzemeler yerel marketlerden alınmıştır. Çalışmada kullanılan diğer bütün maddeler (Galik asit, ABTS, potasyum persülfat, sodyum karbonat, DPPH $\cdot$ , potasyum karbonat, pankreatin, pepsin, Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, etanol, asetik asit, potasyum klorür) analitik saflıktadır.

### Mikrokapsül için fenolik özütün hazırlanması

20 g vişne posası tartılmış ve 400 ml etanol:su ile karıştırılmıştır. Özütleme 70 dev/dak sürekli çalkalamalı su banyosunda (GFL 1086, Burgwedel, Almanya)  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat süre ile gerçekleşmiştir. Özüt ilki kaba filtreden ikincisi Whatman 4 filtre kağıdından olmak üzere iki kez filtreden geçirilmiştir. Filtre edilmiş özüt vakumlu buharlaştırıcıda (Heidolph Laborota 4000 efficient, Schwabach, Almanya)  $40^{\circ}\text{C}$ 'de konsantre edilmiştir (P1). Bu konsantre  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak  $-52^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat boyunca dondurmaları kurutucuda kurutulmuş ve fenolik özüt (FÖ) elde edilmiştir (Şekil 1).

## Nanokapsül için fenolik özütün hazırlanması

Elde edilen konsantre (P1) 5000 (P2) ve 10000 (P3) dev/dak hızlarda 2 dak boyunca santrifüjlenmiş (SIGMA 2-16PK; Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Almanya), sıvı kısmı alınarak buzlukta dondurulmuş ve dondurmali kurutucuda  $-52^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat süre ile kurutulmuştur. Santrifüjleme hızı 10000dev/dk olan konsantreden elde edilen örnek arındırılmış fenolik özüt (AFÖ) şeklinde ifade edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Fenolik özüt elde etmek için akış şeması.

### **Kaplama maddesinin hazırlanması**

Kaplama maddesi olarak maltodekstrin (MD) ve arap zımkı (AZ) kullanılmıştır. MD sulu çözeltileri %10, 12 ve 16 (w/w) konsantrasyonlarda hazırlanmıştır ve deneyden bir gece önce 27°C'de çalkalamalı su banyosunda beklemeye bırakılmıştır. AZ çözeltileri % 4 ve %8 (w/w) toplam katı madde miktarı içerecek şekilde enkapsülasyon işleminden iki saat önce hazırlanmıştır. Çözeltiler manyetik karıştırıcı (MR 3001K, Heidolph Instruments GmbH & Co, Schwabach, Almanya) yardımıyla, elde edilecek olan kaplama maddesinin toplam katı madde miktarı %10 olacak şekilde (MD:AZ oranları 10:0, 8:2 ve 6:4) karıştırılmıştır. Nano boyutta kapsüller elde edebilmek için GA çözeltisi 10000 dev/dk hızda 2 dk boyunca santrifüjlenmiş, 0,45 µm filtre (Gema Medical S. L., Barcelona, İspanya) kullanılarak süzölmüştür.

### **Mikrokapsül ve nanokapsüllerin hazırlanması**

Mikrokapsül hazırlamak için kurutulmuş fenolik özüt (FÖ) ile kaplama maddesi 1:10 ve 1:20 oranlarında karıştırılmıştır. Bu karışımlar yüksek hızlı homojenizatör (IKA T25 digital Ultra-Turrax, Selangor, Malezya) ile 4000 dev/dk hızda 5 dk karıştırılmıştır. Daha sonra karışımlar 160 W güçte 20 KHz frekansta ve %50 darbede ultrason (Sonic Ruptor 400, OMNI International the Homogenizer Company, Kennesaw, GA, ABD) ile farklı sürelerde (5, 10, 15, 20, 25, 30 dk) işlem görmüştür. Ultrason işlemi boyunca sıcaklığının artmaması için emülsiyonlar 4°C'de su banyosunun içine konulmuştur. Elde edilen emülsiyon dondurmaları kurutucuda 48 saat tutulduktan sonra kaplanmış fenolik özüt (KFÖ) elde edilmiştir. Her deney iki kere tekrarlanmıştır.

Nanokapsül hazırlamak için arındırılmış fenolik özüt (AFÖ) ile kaplama maddesi 1:20 oranlarında karıştırılmıştır. Hazırlama yöntemi mikrokapsül için anlatılan yöntemle aynıdır. Kaplanmış fenolik özüt (KFÖ) ve kaplanmış arındırılmış fenolik özüt (KAFÖ) -18°C'de dondurularak saklanmıştır.

### **Keklerin hazırlanması**

Kontrol kek hamuru un miktarı bazında %100 şeker, %25 margarin, % 12 süt tozu, %9 yumurta tozu, %3 tuz, %5 kabartma tozu ve %90 su içermektedir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri ölçümleri için kek şeker eklenmeden hazırlanmıştır çünkü şekerin fenolik madde tayininde yanıtıcı etkisi vardır (WATERHOUSE, 2002).

Kek hamurunu hazırlamak için şeker ve yumurta tozu 85 dev/dk hıza 1 dk boyunca mikser (Kitchen Aid, 5K45SS; Benton Harbor, MI, ABD) ile karıştırılmıştır. Eritilmiş margarin eklenerek aynı hızda tekrar 1 dk süre ile karıştırılmıştır ve hız 140 dev/dk'a çıkarılmıştır. Son olarak hız tekrar düşürülerek 2 dk boyunca karıştırılmıştır. Kontrol keki bu hamurdan elde edilmiştir. Fenolik maddelerin pişirme sırasındaki dayanıklılıklarının incelenmesi için 100 g karışıma 500 mg KFÖ veya KAFÖ eklenerek karıştırılmıştır. Örnekler (100 gr) önceden ısıtılmış fırında (Arçelik 9411 FT; Arçelik, İstanbul, Türkiye) 175 °C'de 22 dakikada pişirilmiştir. Fırından çıkarıldıktan sonra kekler 1 saat oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.

## **Fenolik özüt, kapsül ve kekde yapılan analizler**

### Toplam fenolik madde miktarı (TFM)

TFM, Folin–Ciocalteu (FC) metodu ile ölçülmüştür (BERETA ve ark, 2005; SAENZ ve ark, 2009). Bu metodda FC ile sodyum karbonat fenolik maddeler varlığında tepkimeye girmektedir ve bu olay renk değişimi ile gözlemlenmektedir. FÖ'den 100 mg tartılarak 1 ml etanol:asetik asit:su (50:8:42) karışımında çözdürülmüştür (SAENZ ve ark, 2009). Bu karışım vorteks (ZX3, VELP Scientifica, Usmate, MB, İtalya) kullanılarak 1 dk boyunca karıştırılmıştır ve mikrofiltre (0.45 µm) ile süzölmüştür. Absorbans 760 nm'de UV/VIS spektrometre T 70, (PG Instruments LTD, İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür. Standard olarak galik asit kullanılmış ve sonuçlar mg galik asit denkliği (GAE) / g kuru madde olarak hesaplanmıştır.

### Kapsül yüzeyinde bulunan fenolik madde miktarı (YFM)

YFM da Folin–Ciocalteu metodu ile ölçülmüştür (SAENZ ve ark, 2009). Kapsüllerden 100 mg tartılarak 1 ml etanol:su (1:1, v/v) içinde 1 dk boyunca karıştırılmıştır. Kapsül yüzeyinde bulunan fenolik madde miktarları toplam fenolik madde analizindeki gibi hesaplanmıştır.

### Kaplama verimi

Kaplama verimi (KV), kapsüllenmiş fenolik madde miktarının (KFM) toplam fenolik madde miktarına (TFM) olan oranıdır. Kapsüllenmiş fenolik özüt ise TFM'den YFM çıkarılarak aşağıdaki denklemde olduğu gibi hesaplanmıştır.

$$KV(\%) = \frac{KFM}{TFM} = \frac{TFM - YFM}{TFM} \times 100 \quad (1)$$

### DPPH` metoduyla toplam antioksidan aktivitesi analizi

Toplam antioksidan analizi (TAA) YEN ve Duh (1994)'un çalışmasındaki gibi DPPH` (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoduyla yapılmıştır. Örneklerden 100 mg tartılmış, 1 mL etanol:asetik asit:su (50:8:42) ile 1 dk boyunca vortex (ZX3, VELP Scientifica, Usmate, MB, İtalya) ile karıştırılarak çözündürülmüş, emülsiyonun sıvı kısmı şırınga ile çekilerek 0.45 µm'lik şırınga tipi filtreden geçirilmiştir. Daha sonra, örnekten 0,1 mL alınmış ve üzerine 3,9 mL 25 ppm DPPH` solüsyonu (2.5 mg DPPH` / 100 ml MetOH) ilave edildikten sonra tepkime sabit duruma gelinceye dek oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Tepkime sonucunda oluşan rengin absorbansı, UV-Vis spektrofotometrede (PG Instruments Ltd, T70 UV/VIS Spektrometre, Leichestre, İngiltere) 517 nm' de ölçülmüştür. Şahit olarak metanol kullanılmıştır. Örnek içinde kalan DPPH` aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$[\text{DPPH}^{\cdot}]_{\text{kalan}} = [\text{DPPH}^{\cdot}]_{t=0} - [\text{DPPH}^{\cdot}]_t \quad (2)$$

Burada  $[\text{DPPH}^{\cdot}]_{t=0}$  başlangıçtaki DPPH` konsantrasyonunu  $[\text{DPPH}^{\cdot}]_t$  ise 1 saat sonraki DPPH` konsantrasyonunu ifade etmektedir.

Kalan  $[\text{DPPH}^{\cdot}]$ , antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır (PRIOR ve ark, 2005).

### TEAC metoduyla toplam antioksidan aktivitesi analizi

SCHLESIER ve ark (2002) fenolik bileşenlerin antioksidan aktivitesi tayininde en az 2 farklı yöntemin kullanılmasının daha iyi olacağını belirtmişlerdir. Bu yüzden DPPH'in yanı sıra TEAC metoduyla da ölçümler yapılmıştır. Bu metodda ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonik asit)) radikali indirgenerek TROLOX (6-hydroxy-2,5,7,8 tetramethylchroman-2-karboksilik asit) eşdeğerliliği antioksidan aktivitesi (TEAC)

ölçülmüştür (MILLER ve ark, 1993; SCHLESIER ve ark, 2002). UV/VIS spektrometre (T 70, PG Instruments LTD, İngiltere) kullanılarak absorbanlar okunmuştur. Sonuçlar mM TEAC/g kuru madde olarak hesaplanmıştır.

#### Yüzey morfolojisi analizleri

Yüzey morfolojisi analizleri için taramalı elektron mikroskobu (JSM-6400 Electron Microscope JEOL Ltd, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. FÖ, AFÖ, KFÖ ve KAFÖ nün dış yüzeylerine bakılmıştır. Görüntüler 100x ve 500x büyütülerek elde edilmiştir.

#### Nem çekme derecesi analizi

Fenolik örneklerin ve kapsüllerinin nem çekme dereceleri CAI ve Corke (2000) tarafından kullanılan metod ile ölçülmüştür. Her örnek 1 g'ı geçmeyecek şekilde alüminyum plakalar üzerinde tartılmış ve  $21 \pm 2.0$  °C'de bulunan desikatörlere konulmuştur. Desikatörlere aşırı doymuş potasyum karbonat çözeltisi ve aşırı doymuş potasyum klorür çözeltileri konularak sırasıyla %43 ve %85 bağıl neme sahip ortamlar hazırlanmıştır. Nem çekme dereceleri denge durumuna geldiklerinde yüzde emilen su oranı olarak hesaplanmıştır.

#### Parçacık boyutu analizleri

Örneklerin ve emülsiyonların parçacık boyutu dağılımlarını görebilmek için parçacık boyu analizörü (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere) kullanılmıştır. Bütün sonuçlar iki deneyin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Ortalama çap, Sauter ortalama çapı olarak ifade edilmiş ve  $D_{32}$  olarak gösterilmiştir (Denklem 3). Parçacıkların özgül yüzey



alanları (m<sup>2</sup>/g) da hesaplanmıştır. Span (Aralık) değerinin nasıl bulunduğu Denklem 4'te gösterilmiştir (ELVERSSON ve ark, 2003).

$$D_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (3)$$

$$SPAN(ARALIK) = \frac{[d(v,90) - d(v,10)]}{d(v,50)} \quad (4)$$

Denklemlerde  $n_i$  parçacık sayısı,  $d_i$  parçacık çapıdır;  $d(v,90)$ ,  $d(v,50)$ , ve  $d(v,10)$  ise toplam hacmin sırasıyla %90, %50 ve %10 luk kısımlarıdır. Diğer bir deyişle,  $[d(v,90) - d(v,10)]$  değerlerin bulunduğu aralık,  $d(v,50)$  ise ortalama çaptır.

#### Renk analizleri

Renk ölçümleri CIE renk skalasında  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  olarak ölçülmüştür. Fenolik özütler ve kapsüller için UV-2450 UV-VIS Spectrofotometre (Shimadzu Co, Kyoto, Japonya) cihazı kullanılmıştır. Kek analizlerinde ise kek içi ve kabuk renklerine Minolta renk okuyucu (CR-10; Japonya) ile bakılmıştır. Herbir örnek için 3 ölçüm yapılmıştır. Ayrıca denklem 5 yardımıyla  $\Delta E^*$  hesaplanmıştır.

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (5)$$

Referans değeri olarak beyaz BaCl<sub>2</sub> kullanılmıştır.

### Camsı geçiş sıcaklığının belirlenmesi

MD, AZ ve kapsüllerin camsı geçiş sıcaklığının ( $T_g$ ) belirlenmesi için diferensiyal taramalı kalorimetre (DTK) (New Castle, A.B.D) kullanılmıştır. Analiz için kuru numunelerden  $5\pm 0.1$  mg tartılarak DTK kabına konulmuş ve kapaklar kapatılmıştır. Referans olarak boş bir kap kullanılmıştır. DTK  $-70^\circ\text{C}$ 'den  $180^\circ\text{C}$ 'ye  $5^\circ\text{C}/\text{dk}$  hızla ısıtılmıştır.

### Pişirme dayanıklılığının belirlenmesi

Kekten fenolik maddelerin özütlenmesi için, 20 ml etanol:asetik asit: su (50:8:42) çözeltilisine 10 g kek eklenmiş, cam çubuk yardımıyla karıştırılmış ve son olarak da iki kez birer dakikalık süreçlerde ultrason işlemine (160 W, 50% darbe) tabi tutulmuştur. İlk 1 dakikadan sonra 7.5 mL özüt 10000 dev/dk hızda 2 dk boyunca santrifüjlenerek, sıvı kısım 0.45  $\mu\text{m}$ lik filtrelerden geçirilmiştir. TFM ve AA analizleri önceden anlatılan metodlar kullanılarak ölçölmüştür. Pişirme sırasındaki TFM dayanıklılığı (%) ve AA dayanıklılığı (%) başlangıçtaki ve pişirildikten sonra kalan miktarlar kullanılarak hesaplanmaktadır

### Kekin özgül hacimin belirlenmesi

Keklerin özgül hacimleri kolza tohumu metoduyla belirlenmiştir (AACC, 1988).

### Kekin tekstür profilinin belirlenmesi

Keklerin sertliği, çığnenebilirliği ve sakızimsılığı tekstür analizör cihazı (TAPlus; Lloyd Instruments, Bognor Regis, İngiltere) ile ölçölmüştür. Soğumuş kekin iç kısmından küp şeklinde (25x25x25 mm) numune alınmıştır ve 50 N uygulanarak 55mm/dk hızda 10 mm lik silindirik uç ile orjinal kalınlılığının %25'i kadar sıkıştırılmıştır.

### Kekin duyusal analizleri

Panelde 30 kişi kullanılmıştır. Panelistlere 3 farklı kek tattırılmıştır. Bir tanesi kontrol keki (hiçbir özüt içermeyen kek), diğerleri ise KFÖ ve KAFÖ içeren keklerdir. Keklerin tat, renk ve tekstürleri; 1 (en kötü) ile 5 (en iyi) arasında not verilerek değerlendirilmiştir. Sonuçlar her özellik için verilen notların ortalaması alınarak bulunmuştur.

### In vitro salınım testleri

Biyoyararlılığın belirlenmesi için yapay mide sıvısı (YMS) ve yapay bağırsak sıvısı (YPS) kullanılarak (US Pharmacopoeia, 2000) kaplanmamış ve kaplanmış fenolik özütlerin in vitro salınımlarına bakılmıştır. Her iki sıvıda da 1.5 mL'lik mikro-santrifüj tüpleri kullanılmıştır. Her tüp 100 mg örnek ile 1.4 mL YMS yada YBS içermektedir. YMS ve YBS içeren tüpler 2 saat boyunca 37°C'de çalkalamalı su banyosunda 80 dev/dk hızda inkübe edilmiştir. Daha sonra 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilmiş ve YMS için NaOH çözeltisi, YBS için HCl çözeltisi eklenerek nötralize edilmiştir. 15 dakika bekledikten sonra yapay sıvılara geçen fenolik miktarı hesaplamak için Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır.

### **İstatistiksel analizler**

Mikroenkapsülasyon deneylerinde değişken olarak MD:AZ oranı, çekirdek madde:kaplama maddesi oranı ve ultrasonikasyon süresi seçilmiştir. Sonuçlar arasındaki farkı görebilmek için üç yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Saklama koşullarındaki dayanıklılık için iki yönlü ANOVA uygulanmıştır. Değişken değerler fenolik örnek çeşidi ve saklama süresidir. İstatistiksel olarak fark bulunduğu takdirde Duncan çoklu karşılaştırma yöntemiyle

karşılaştırma yapılmıştır ( $p \leq 0.05$ ). Analizlerde SAS 9.1 (SAS Institute Inc., NC, ABD) programı kullanılmıştır. Kullanılan bütün değerler en az iki tekrarın ortalamalarıdır.

## **BULGULAR VE TARTIŞMA**

Proje üç kısımdan oluşmaktadır. İlk kısımda vişne posasındaki fenolik bileşenler özütlendikten sonra kaplama maddeleri içerisine hapsedilerek mikrokapsüller elde edilmiştir. Mikrokapsüllerin fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında nanokapsüller elde edilmiş ve kapsüllerin fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Son kısımda ise mikro ve nanokapsüller oda sıcaklığında saklanırken ve kek hamuru içerisine eklendiklerinde pişirilme sırasındaki stabiliteleri tespit edilmiştir. Ayrıca, kapsüllerin mide ve bağırsak sıvısı içindeki salınımları araştırılmıştır.

### **Mikrokapsül elde edilmesi ve fizikokimyasal ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi**

Kapsül oluşturmak için seçilen parametreler maltodekstrin (MD): arap zankı (AZ) oranı, ultrason ile işlem süresi ve fenolik madde (FM): kaplama maddesi (KM) oranlarıdır. Elde edilen kapsüllerde kaplama verimi, antioksidan analizi, renk, yüzey morfolojisi, parçacık boyut analizi, nem ve camsı geçiş sıcaklığı analizleri yapılmıştır.

#### Mikrokapsüllerin kaplama verimi

Fenolik özütün sahip olduğu toplam fenolik madde miktarı (TFM) 91,29 mg galik asit/gram kuru maddedir. TFM, fenolik madde (FM) : kaplama maddesi (KM) oranı 1:10 olan örnekler için 45.65 mg galik asit/gram kuru madde ve 1:20 olan örnekler için 30.43 mg galik asit/gram kuru madde olarak tespit edilmiştir. Kaplama verimini hesaplamak için yüzeydeki fenolik madde miktarının (YFM) ölçülmesi gereklidir. Bir kapsülün yüzeyinde ne kadar az miktarda

fenolik madde kalmış ise kaplama işlemi o kadar verimli olmuş demektir. Tablo 1 ultrason süresinin ve fenolik madde : kaplama madde oranının yüzeydeki fenolik madde miktarına olan etkisini göstermektedir.

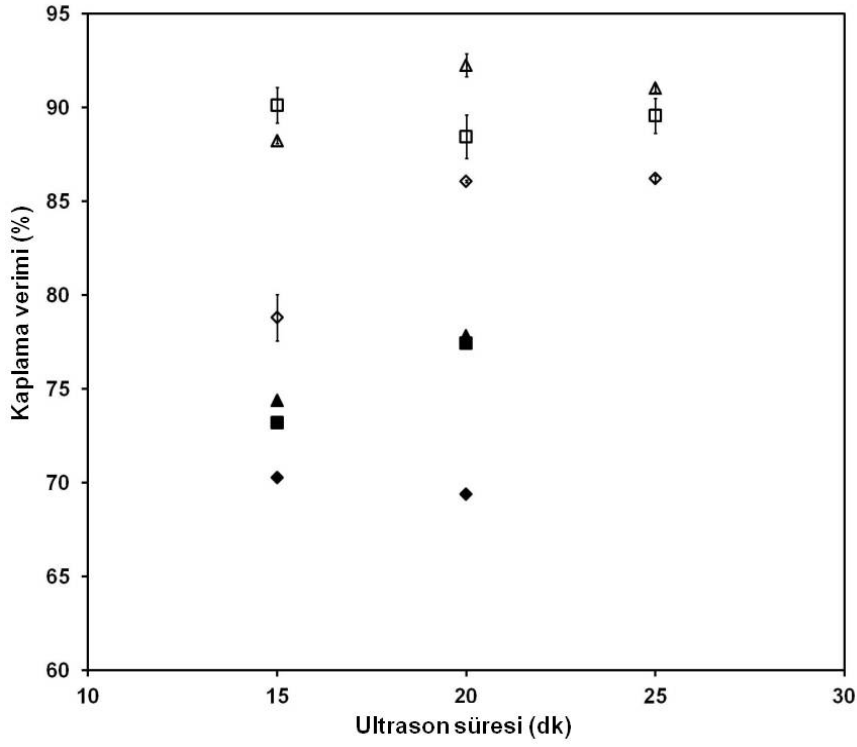
FM:KM oranı 1:10 ve 1:20 olan örneklerde kaplama verimi açısından önemli bir fark bulunmaktadır ( $p \leq 0.05$ ). Şekil 2'de görüldüğü gibi FM:KM oranı 1:10'dan 1:20'ye değiştiğinde, diğer bir deyişle kaplama maddesi arttıkça verimin arttığı görülmüştür. FM:KM oranı 1:20 olduğunda verim değişik MD:AZ oranları için %78.8-92.3 arasında değişirken FM:KM oranı 1:10 olduğunda ise %69.4-77.8 arasındadır. Kaplama maddesi arttıkça daha iyi bir kaplama yapılabilmesi beklenen bir sonuçtur. FM:KM oranı 1:10 olduğunda kaplama maddesine arap zamkının eklenmesi veya ultrason süresinin artması verimi önemli derecede etkilememiştir ( $p > 0.05$ ). Öte yandan FM:KM oranı 1:20 olduğunda arap zamkının eklenmesi verimi arttırmıştır. Arap zamkı çekirdek madde etrafında bir tabaka oluşturarak çekirdek maddenin hava ile temasına engel olmaktadır (THEVENET, 1988). Arap zamkı yüzey aktif madde özelliğinden dolayı kaplama maddesi olarak kullanılmaktadır (KAUSHIK ve ROOS, 2007). Diğer taraftan 8:2 ve 6:4 MD:AZ oranları arasında verim açısından önemli bir fark bulunmamıştır.

Tablo 1. Değişik MD:AZ oranının, FM:KM oranının ve ultason süresinin (US) kapsüllerin antioksidan aktivitesi, YFM ve rengine olan etkileri

FM:KM	MD:AZ	US	TEAC	DPPH	YFM	L*	a*	b*	ΔE*
			(mmol TEAC/g kuru madde)	(ppm DPPH/ g kuru madde)	(mg G.A./ g kuru madde)				
1:20	10:0	15	121,7±8,65b*	2,04±0,052b	6,45±0,380b	48,74±0,170a	18,20±0,310b	13,52±0,030a	56,00±0,250b
1:20	10:0	20	113,7±3,22b	1,85±0,050b	4,24±0,020b	50,08±0,500a	17,40±0,070b	13,35±0,000a	54,50±0,480b
1:20	10:0	25	107,0±1,24b	2,04±0,150b	4,20±0,055b	51,36±0,230a	17,80±0,260c	13,84±0,240a	53,60±0,050b
1:20	8:2	15	111,3±6,86b	1,87±0,084b	3,00±0,286bc	52,81±1,100a	17,20±0,700b	13,52±0,095a	52,00±1,980b
1:20	8:2	20	106,2±5,05b	1,87±0,020b	3,52±0,355bc	50,40±0,270a	18,30±0,120b	14,05±0,055a	54,70±0,270b
1:20	8:2	25	105,2±2,05b	1,73±0,160b	3,18±0,285bc	50,18±2,240a	17,80±0,560c	14,05±0,215a	54,70±2,260b
1:20	6:4	15	110,1±1,33b	1,83±0,130b	3,58±0,050c	49,34±2,695a	18,10±0,110b	13,40±0,520a	55,50±2,360b
1:20	6:4	20	106,0±2,98b	1,78±0,015b	2,36±0,185c	49,63±0,030a	18,20±0,350b	13,91±0,400a	55,30±0,180b
1:20	6:4	25	101,5±1,43b	1,98±0,175b	2,73±0,065c	47,63±1,130a	18,10±0,490c	13,45±0,905a	57,00±0,660b
1:10	10:0	15	181,4±5,30a	2,90±0,050a	13,60±1,060a	45,48±0,205b	19,98±0,160a	13,59±0,190a	59,63±0,085a
1:10	10:0	20	170,4±10,28a	2,80±0,230a	14,00±1,670a	47,09±0,050b	19,57±0,240a	13,60±0,200a	58,01±0,150a
1:10	8:2	15	179,4±0,50a	2,83±0,195a	12,20±1,120a	45,31±0,040b	19,67±0,715a	13,63±0,420a	59,69±0,300a
1:10	8:2	20	165,5±4,92a	2,80±0,230a	10,30±1,390a	46,98±2,350b	19,41±0,060a	13,63±0,230a	58,07±1,790a
1:10	6:4	15	181,7±2,42a	2,85±0,050a	11,70±1,300a	46,67±2,800b	19,39±0,255a	13,70±0,645a	58,38±2,480a
1:10	6:4	20	162,6±13,24a	2,62±0,205a	10,10±1,160a	46,44±0,505b	19,26±0,200a	13,42±0,175a	58,46±0,325a

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

Daha geniş aralıkta (5-30 dakika) ultrason süresinin enkapsülasyon verimi üzerine olan etkisini incelemek amacıyla kaplama karışımı olarak MD:AZ oranı 8:2 ve fenolik özüt:kaplama maddesi oranı 1:20 olan örnek seçilmiştir (Şekil 3). 5. ve 10. dakikalardaki verimin, 15, 20 ve 25. dakikalara göre daha yüksek olmasının sebebi ultrason süresinin yeterli olmamasıdır. Kısa sürede örnek hem yeteri kadar parçalanamamakta hem de daha büyük parçalara sahip olmakta hem de uygun homojenliğe ulaşamamaktadır. Parçacık boyutu ile yüzey çekirdek madde konsantrasyonu arasında ve dolayısıyla verim arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (JAFARI ve ark., 2007a). YFM arasında 15-25 dakika boyunca önemli miktarda değişim olmamaktadır. 30 dakika boyunca ultrason uygulandığında ise verim azalmıştır. Ultrason süresinin optimum zamanı olarak en yüksek verimi veren ve aralarında çok fazla fark bulunmayan ultrason sürelerinden 15, 20 veya 25. dakikalardan birisi seçilebilir. Ancak optimum sürenin belirlenmesi için parçacık boyut analizi veya yüzey morfoloji analizlerine de bakılması gerekmektedir.

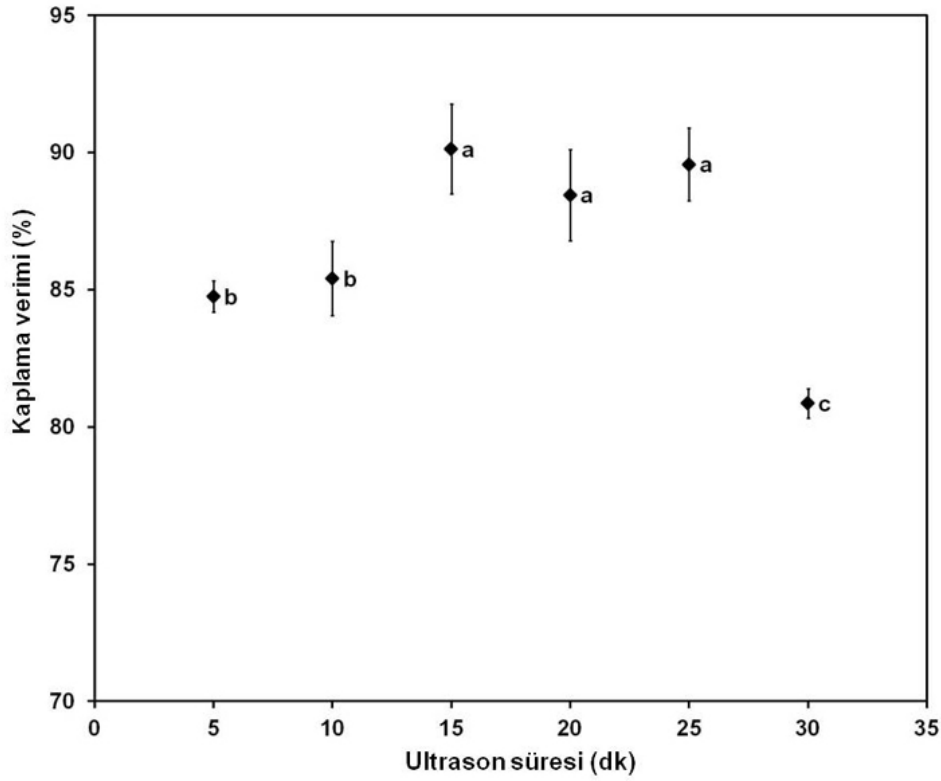


Şekil 2. Değişik MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış ve değişik FM:KM oranı olan örneklerin kapsül verimlerinin ultrason süresine göre değişimi

(Δ): 6:4 1:20<sup>a\*</sup>, (□): 8:2 1:20<sup>a</sup>, (◇): 10:0 1:20<sup>b</sup>, (▲): 6:4 1:10<sup>c</sup>, (■): 8:2 1:10<sup>c</sup>, (◆): 10:0 1:10<sup>c</sup>

\*Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b, c) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p≤0.05).





Şekil 3. MD:AZ oranı 8:2 olan karışımla kaplanmış ve FM:KM oranı 1:20 olan örneklerin kapsül verimlerinin ultrason süresine göre değişimi  
Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b, c) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p \leq 0.05$ ).

#### Mikrokapsüllerin antioksidan aktiviteleri

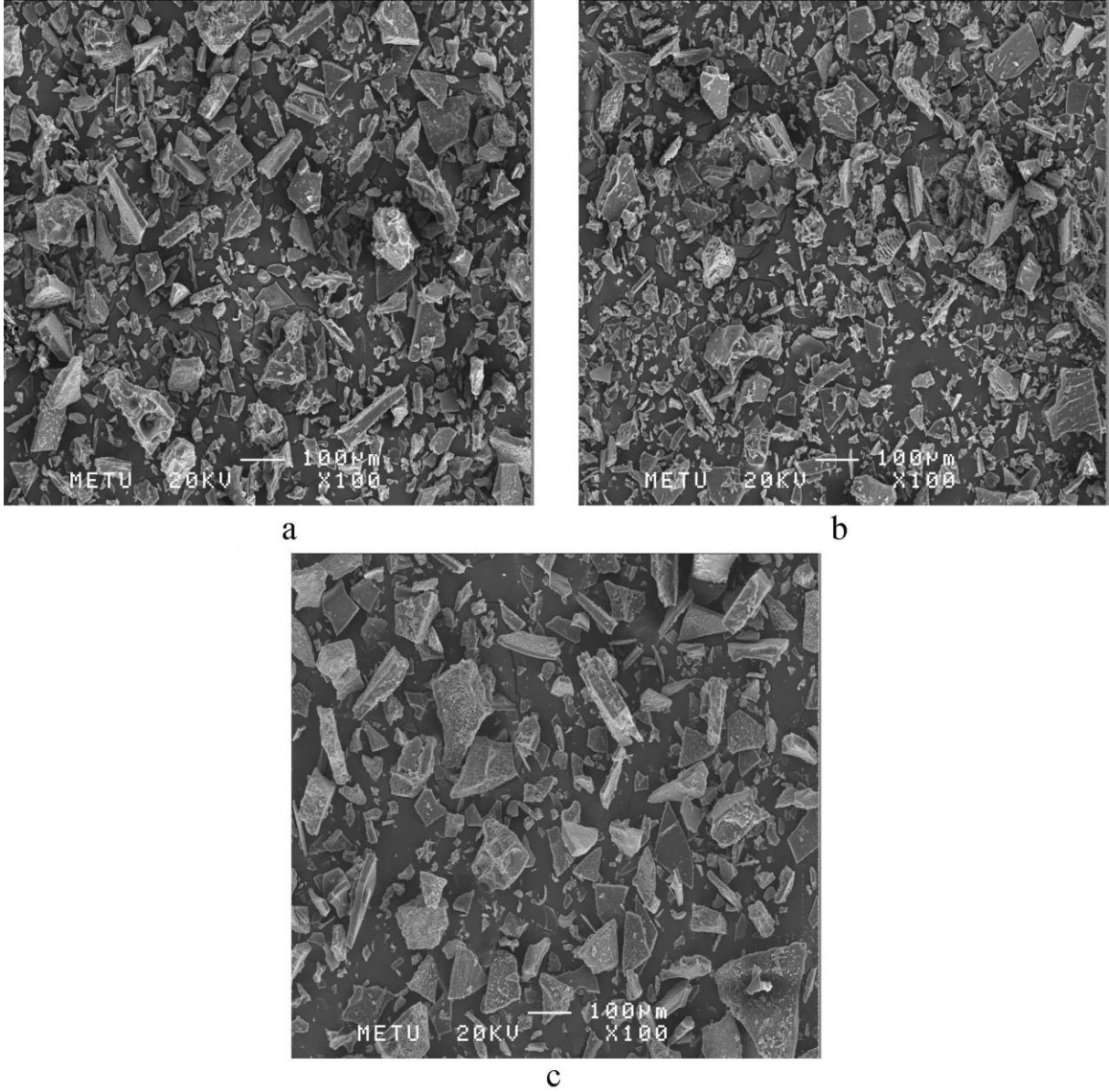
Elde edilen fenolik özütün ve fenolik özüt içeren kapsüllerin antioksidan aktivitesini ölçmek için DPPH ve TEAC methodları kullanılmıştır. TEAC methoduyla elde edilen sonuçlar ile DPPH methoduyla elde edilen sonuçlar arasında korelasyon bulunmuştur. (Korelasyon katsayısı 0,98 dir). Fenolik özütün antioksidan aktivitesi (AA) 7,09 ppm DPPH/g kuru madde

ve 458 mmol TEAC/g kuru madde olarak belirlenmiştir. Tablo 1 de görüldüğü gibi, FM:KM oranının antioksidan aktivite değeri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Ultrason süresinin artması antioksidan aktivitesini önemli derecede etkilememiştir (Tablo 1). Ayrıca aynı ultrason süresine tabi tutulan ve değişik oranlarda MD ve AZ ile kaplanan örneklerin antioksidan aktivitelerinde önemli farklar gözlenmemektedir.

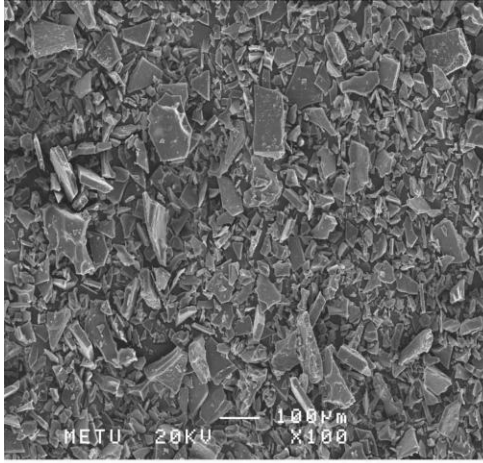
#### Mikrokapsüllerin yüzey morfolojisi

Yüzey morfolojisi analizleri için taramalı elektron mikroskopu kullanılmıştır. Şekil 4 fenolik özüt ve mikrokapsüllerin (FM:KM oranı 1:10) görüntülerini göstermektedir. Fenolik özüt ve kapsüllerün düzensiz bir yapıda olduğu görülmektedir. MD:AZ oranı 6:4, 8:2 ve 10:0 olan örneklerin görüntüleri birbirine benzemektedir.

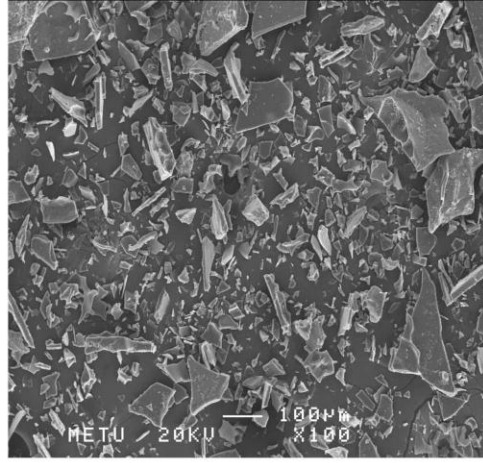
Şekil 5 FM:KM oranı 1:20 olan örneklere aittir. Şekil 5 ile Şekil 4 karşılaştırıldığında FM:KM oranı 1:20 olduğunda parçacık boyutunun küçüldüğü görülmektedir. Bu FM:KM oranı 1:20 olan örneklerin daha iyi karışmalarıyla açıklanabilir. Ultrason süresinin 15 dakikadan 20 dakikaya çıkartılması örneklerin parçacık boyutunun küçülmesine neden olmuştur. 20. ve 25. dakikalarda 15. dakikaya göre daha küçük parçaların elde edilmesinden dolayı, parçacık boyut analizi 20 ve 25 dakikalık ultrason süreleri için yapılmıştır.



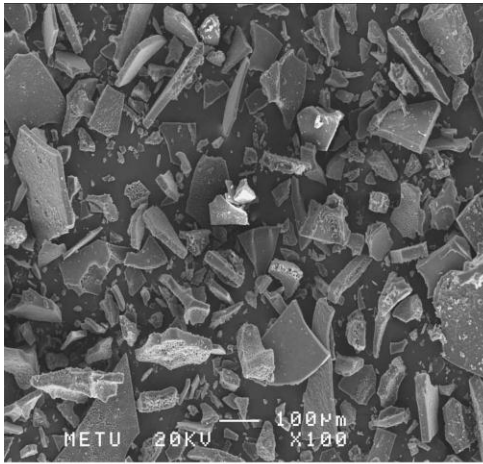
Şekil 4. Farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:10 olan örneklerin taramalı elektron mikroskobu analiz görüntüleri (a): 10:0, (b): 8:2, (c): 6,4.



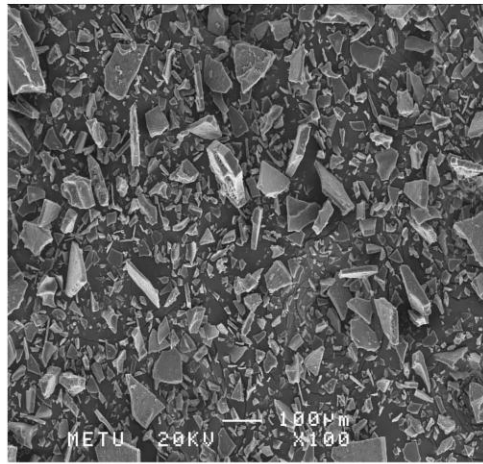
a



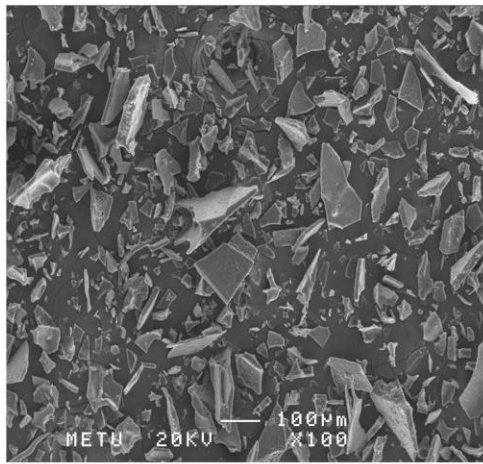
b



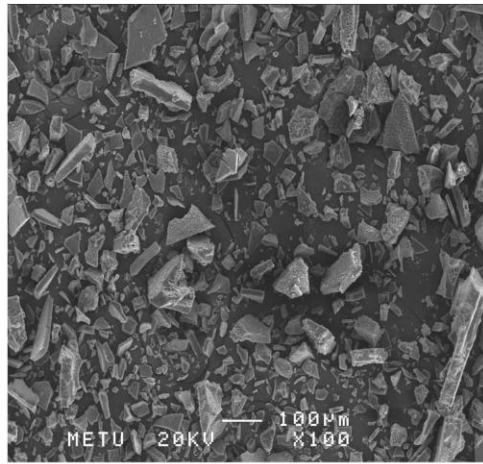
c



d



e



f

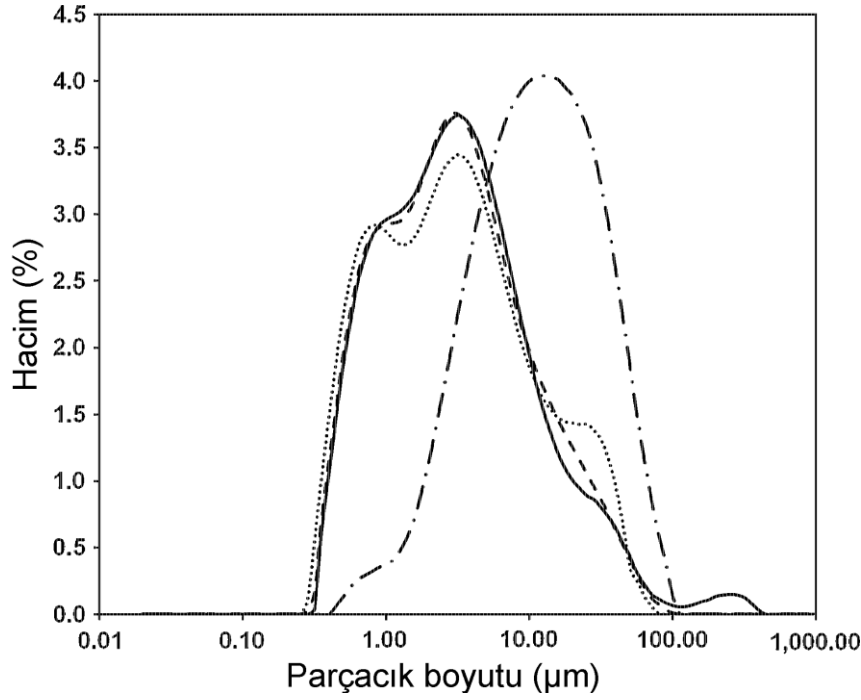
Şekil 5. Farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:20 olan örneklerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerinin ultrason süresine göre değişimi

(a):10:0, 15dk., (b):10:0, 20dk., (c):8:2, 15dk., (d):8:2, 20dk., (e):6:4, 15dk., (f):6:4, 20dk.

### Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

Taramalı elektron mikroskobu sonuçlarına göre 20 dakikalık ultrason süresinde 15 dakikaya göre daha küçük parçacıklar elde edilmiştir. Bu nedenle parçacık boyut analizinde 20 ve 25 dakikalık ultrason süreleri tercih edilmiştir. Şekil 6'da ultrason işleminin parçacık boyutunu küçülttüğü açıkça görülmektedir. Ultrason işlemi uygulanmayan fenolik özütün parçacık boyutu, ultrason işlemi uygulanan örneklerle göre daha büyüktür. Düşük frekanstaki ultrasonun etki mekanizması akustik kavitasyon ile açıklanabilir (LI ve Fogler, 1978). Diğer bir deyişle, basınç değişimiyle mikro-boyuttaki baloncukların oluşması ve daha sonra patlamasıyla yüksek seviyede türbulans oluşmaktadır. Türbulans daha küçük parçacıkların oluşmasına neden olmaktadır.

Ayrıca, Şekil 6'dan anlaşıldığı gibi arap zankı içeren örneklerin parçacık boyutları sadece maltodekstrin (MD:AZ: 10:0) içeren örneklerden daha küçüktür. TONON ve ark. (2009) çalışmalarında arap zankının emülgatör özelliğinden dolayı emülsiyondaki parçacıkların birleşmesine ve büyük parçacıkların oluşmasına engel olduğundan bahsetmektedir.



Şekil 6. Fenolik özütün ve farklı MD:AZ oranı karışımlarıyla kaplanmış, FM:KM oranı 1:20 olan, 20 dakika ultrason işlemi uygulanan örneklerin parçacık boyutlarının hacimlerine göre dağılımı.

(.....):FÖ, (----):10:0, (—•—):8:2, (—):6:4.

20 ve 25 dakika ultrason işlemi uygulanan örnekler arasındaki parçacık boyutunu karşılaştırmak için Sauter ortalama çapı ( $D_{32}$ ) ve özgül yüzey alanlarının bulunduğu bilgiler Tablo 2’de verilmiştir. Ultrason süresinin 20 ve 25 dakikaya çıkartılmasının örneklerin parçacık boyutlarını çok fazla değiştirmedeği görülmektedir (Tablo 2). DELMAS ve ark (2011) ultrason kullanarak nano boyutta emülsiyonlar hazırlamış ve ultrason süresinin parçacık boyut değişimi üzerindeki etkisinin eksponensiyel denkleme uyduğunu göstermiştir. Başka bir deyişle, ultrason süresinin artması belli bir süreye kadar parçacık boyutu azaltmakta ancak daha sonra parçacık boyutu sabit kalmaktadır. Ultrasona tabi tutulmayan fenolik özütünün parçacık boyutu ultrasonla işlem gören kapsüllere göre daha büyüktür. Kapsüllerin

özgül yüzey alanı fenolik özüte göre daha büyüktür. Bunun nedeni emülsiyon içinde yer alan küçük parçacıkların yüzey alanını arttırmasıdır. Değişik formülasyonların parçacık boyutu üzerine önemli bir etkisi bulunmamıştır.

### Renk Sonuçları

Fenolik özütünün L\*, a\* ve b\* renk değerleri sırasıyla 34,46 20,07 ve 11,67 olarak ölçülmüştür. Fenolik özütün rengi kapsüllerle karşılaştırıldığında enkapsülasyonun L\* değerini arttırdığı ve a\* değerini azalttığı görülmektedir. Bunun nedeni kapsüllerde kullanılan maltodekstrin ve arap zankının beyaz rengindedir. Maltodekstrinin ve arap zankının renkleri şeffaf olduğundan dolayı, kaplama maddesi içindeki oranlarının değişmesi renk üzerinde önemli değişikliğe sebep olmamaktadır. Özellikle L\*, b\* ve  $\Delta E$  değerleri arasında büyük farklılıklar görülmemektedir (Tablo 1).

Renk analizlerindeki farklı sonuçlar FM:KM oranları arasındaki farklılıktan oluşmaktadır. FM:KM oranı 1:10 olan örneklerin a\* değerleri 1:20 olanlara göre daha yüksek çıkmaktadır. Bunun sebebi ise fenolik özüt:kaplama maddesi oranı 1:10 olan örneklerde, kırmızı renkli olan fenolik özütün kaplama maddesi içerisinde daha yoğun şekilde bulunmasıdır. FM:KM oranı 1:10 olan örneklerin, 1:20 olanlara göre L\* değerlerinin daha düşük çıkmasının sebebi ise FM:KM oranı 1:20 olan örneklerde, fenolik özütün kaplama maddesi içerisinde daha az miktarda bulunmasıdır. Tablo 1 incelendiğinde renk üzerinde ultrason süresinin çok fazla etkili olmadığı açıkça görülmektedir.

### Nem Miktarı Analiz Sonuçları

Örneklerin nem miktarlarına bakıldığında ise aralarında önemli derecede farkın bulunmadığı gözlenmektedir. Değerler %3-4 arasında değişmektedir.

### Camsı Geçiş Sıcaklığı Analiz Sonuçları

Örneklerin camsı geçiş sıcaklıklarını bulabilmek için diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı kullanılmıştır. Örnekleri hazırlamada kullanılan arap zıncı ve maltodekstrinin de camsı geçiş sıcaklıklarına bakılmıştır. Sonuçlar Tablo 3'te görülmektedir.

MD:AZ oranının değişmesi camsı geçiş sıcaklığını değiştirmemektedir. FM:KM oranı 1:20, ultrason süresi 20 dakika ve MD:AZ oranı 10:0 olan örneğin camsı geçiş sıcaklığı 58,48°C ve MD:AZ oranı 6:4 olan örneğin camsı geçiş sıcaklığı ise 58,44°C'dir. Arap zıncı ve maltodekstrin değerleri literatürdeki değerlere benzemektedir (TONON ve ark., 2009).



Tablo 2. Fenolik özüt (FÖ) ve değişik MD:AZ oranlarıyla kaplanmış ve FM:KM oranı 1:20 olan emülsiyonların parçacık boyut analizi

	FÖ	10:0 MD:AZ		8:2 MD:AZ		6:4 MD:AZ	
		20 min	25 min	20 min	25 min	20 min	25 min
D <sub>32</sub> (µm)	5,78±0,015a*	1,65±0,072b	1,55±0,008b	1,61±0,124b	1,42±0,076b	1,51±0,101b	1,53±0,123b
Özgül yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	1,22±0,180b	3,66±0,160a	3,87±0,020a	3,75±0,285a	4,23±0,220a	3,99±0,265a	3,95±0,315a
Span (Aralık)	3,29±0,020b	5,83±1,100a	6,37±0,005a	5,50±0,313a	5,38±0,943a	6,52±0,363a	6,24±0,133a

\*\*Aynı satırda değişik harfler içeren örnekler (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Tablo 3. Farklı MD:AZ oranları olan, FM:KM oranı 1:20 olan ve 20 dakika ultrason süresi uygulanan örnekler ile AZ ve MD nin camsı geçiş sıcaklıkları

MD:AZ	U.S.(dk.)	FM:KM	Camsı Geçiş
			Sıcaklığı (°C)
10:0	20	1:20	58,48
6:4	20	1:20	58,44
Arap Zamkı			77,56
Maltodekstrin			58,28

### **Nanoemülsiyon ve kapsül oluşturulması**

Özütleme işlemi sonunda elde edilen fenolik madde özütü içerisinde çözünebilen lifler ve mineral maddeler gibi yabancı maddeler de bulunmaktadır. Özüt iki kez filtreden geçirildiği halde bu maddeler özüt içerisinde kalabilmektedir. Fenolik özüt içinde bulunan bu yabancı maddelerin parçacık boyutları çok büyük olduğu için ultrasonla işlem görmesine rağmen parçacık boyutu yeterince küçülmemektedir. Bu nedenle elde ettiğimiz mikrokapsüllerin boyutunu daha fazla küçültmek için posayı ön işleminden geçirip öncelikle posanın parçacık boyutunun küçültülmesine karar verilmiştir.

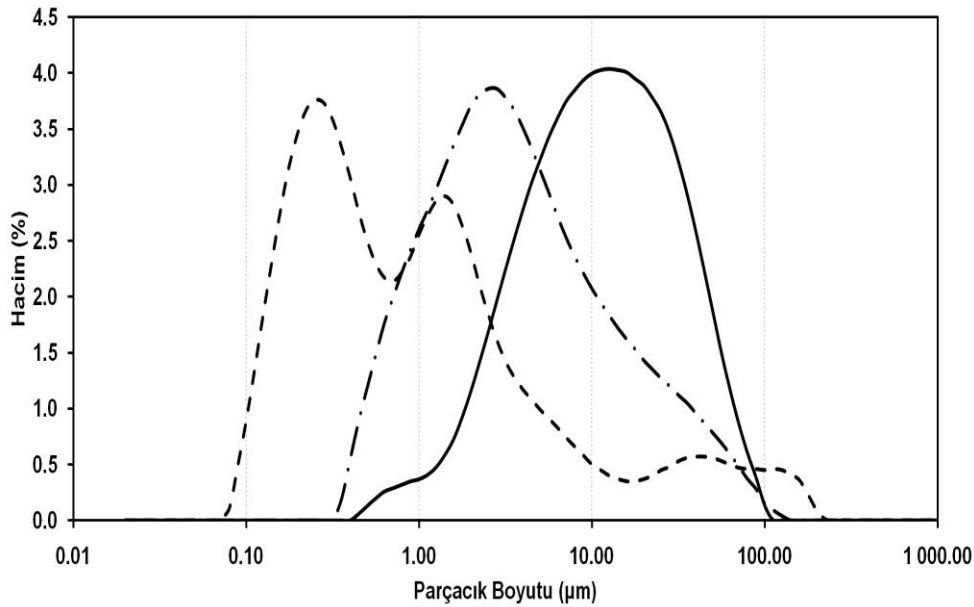
### **Santrifüj İşleminin Emülsiyonun Parçacık Boyutuna Etkisi**

Santrifüj işleminin, özütlenmiş konsantrenin parçacık boyutuna etkisini görebilmek için 3 farklı örnek hazırlanmıştır. Bu örnekler; konsantre özüt (P1), 5000 dev/dk. hızda santrifüjlenmiş özüt (P2) ve 10000 dev/dak. hızda santrifüjlenmiş özüt (P3)'tür. Bu örneklerle

ait analiz sonuçları Şekil 7'de görülmektedir. Santrifüj ile arındırmanın parçacık boyutu üzerinde önemli derecede etkili olduğunu 10000 ve 5000 dev/dk ile santrifüjlenen örneklerin sonuçlarına bakarak söylemek mümkündür. Santrifüj uygulandıkça ve dönüş hızı arttırıldıkça parçacık boyut grafiği sola (daha küçük parçacık boyutu olduğu yöne) doğru kaymıştır. Bu durum, aşağıda denklemi görülen Stokes Kanunu ile açıklanabilir (LEUNG, 2007).

$$V_{so} = \frac{(\rho_s - \rho_L)gd^2}{18\mu} \quad (6)$$

Formülde bulunan  $g$  merkezkaç ivmesi,  $\rho_s$  katı parçacıkların yoğunluğu,  $\rho_L$  sıvının yoğunluğu,  $d$  parçacıkların çapı,  $\mu$  sıvının viskozitesi,  $v_{so}$  ise ayrılma hızıdır. Alt simge olarak gösterilen "o" ise tek bir parçanın ideal seyreltik süspansiyonda diğer hiçbir parçacıkla etkileşime girmediği anlamına gelmektedir.



Şekil 7. Emülsiyonların parçacık boyutu analiz sonuçları. (— · —): P3, (— · —): P2, (—): P1.

### Arındırma İşleminin Emülsiyonun Parçacık Boyutuna Etkisi

Tablo 4’de farklı şekillerde hazırlanmış emülsiyonların parçacık boyutu analiz sonuçları görülmektedir. P1, P2 ve P3 arasındaki tek fark merkezkaç ivmelerinin farklı olmasıdır. P2 ve P3, özütlenmiş konsantre olan P1 örneğinden elde edildiklerinden dolayı P2 ve P3 örneklerinin ilk başta parçacık boyutu dağılımları, parçacık çapları, yoğunlukları ve viskoziteleri P1 örneğiyle aynıdır. Ancak, daha fazla merkezkaç kuvveti uygulandıkça örneklerin parçacıkları daha küçük Sauter ortalama çapına ( $D_{32}$ ) sahip olmuşlardır. Ama bunun aksine P3 örneğinin aralığı (span) diğer örneklerden çok farklı bir şekilde yüksek çıkmıştır. Bunun nedeni bu örneğin daha büyük ve daha homojen parçacıklar içermesidir. P1 ve P2 örneklerinde görülemeyen küçük parçacıklar P3 örneğinde gözlenmiştir. Böylece parçacık boyutu dağılımı sola (daha küçük boyut tarafına) kaymıştır (Şekil 2). Parçacık boyutu dağılımındaki sola doğru kayma kümülatif hacimde çok belirgin değişikliğe sebep olduğu için aralık değerlerinin artmasına sebep olmaktadır. Özgül yüzey alanı,  $D_{32}$  değeriyle ters orantılı olduğu için P3 örnekleri için belirgin bir şekilde yüksek çıkmıştır.

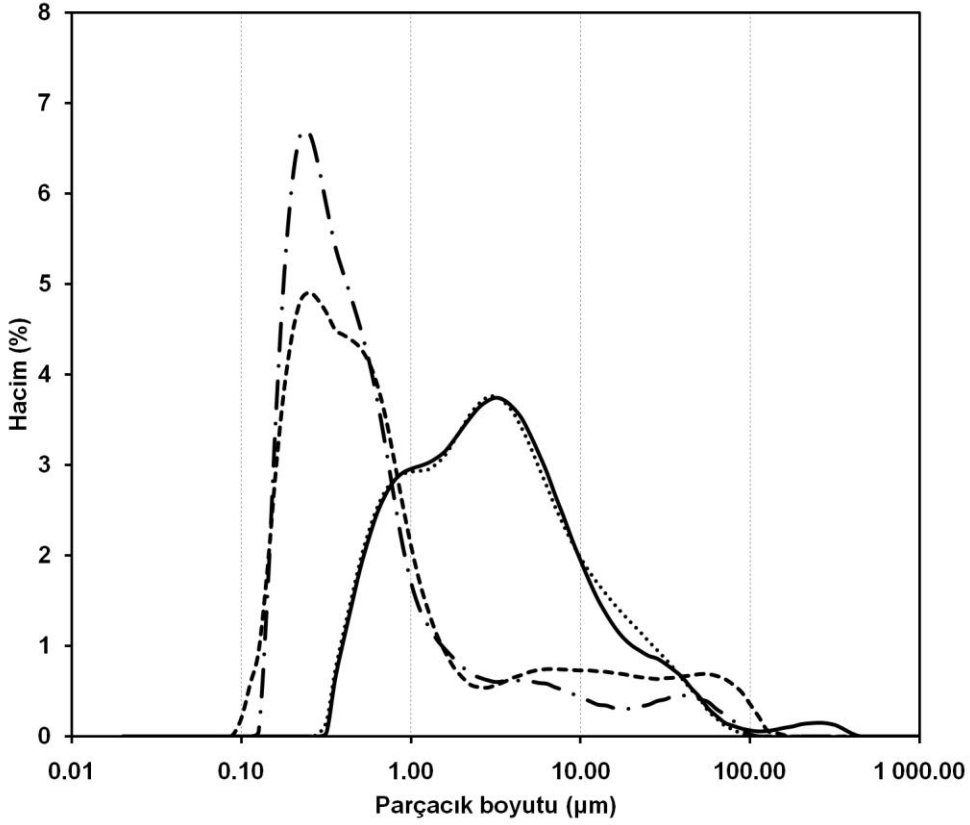
Tablo 4. Açısal hızın emülsiyonun arındırılmasına olan etkisi

Örnek	Açısal hız (dev/dk)	Zaman (dk)	$D_{32}$ ( $\mu\text{m}$ )	Aralık	Özgül yüzey alanı ( $\text{m}^2/\text{g}$ )
P1	-	-	$5,76\pm 0,013\text{a}^*$	$3,27\pm 0,007\text{c}$	$1,04\pm 0,007\text{c}$
P2	5000	2	$1,97\pm 0,008\text{b}$	$6,83\pm 0,017\text{b}$	$3,04\pm 0,017\text{b}$
P3	10000	2	$0,40\pm 0,003\text{c}$	$19,69\pm 0,043\text{a}$	$14,70\pm 0,062\text{a}$

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b ve c) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

Fenolik özüt konsantresinin ve kullanılacak kaplama maddelerinin arındırılmasının parçacık boyutuna olan etkisini karşılaştırabilmek için iki farklı fenolik madde; fenolik özüt (FÖ) ve arındırılmış fenolik özüt (AFÖ) ile hazırlanmış örneklerle 2x2 tam faktöriyel tasarım uygulanmıştır. İki farklı kaplama malzemesi olarak %10 maltodekstrin (MD) ve %8 MD ile %2 Arap zankı (AZ) karışımları kullanılmıştır. Özütlenmiş konsantrenin arındırılmasının  $D_{32}$ , aralık ve özgül yüzey alanına olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Tablo 5). AFÖ ile hazırlanan emülsiyonların  $D_{32}$  değerlerinin daha küçük olması daha küçük boyutlarda parçacık içerdiğinden dolayıdır ki parçacıkların çoğu nano boyuttadır. Bu sonuca göre, nano-emülsiyon hazırlamada arındırma işleminin kritik bir basamak olduğu anlaşılmaktadır. Genel olarak sonuçlara baktığımızda emülsiyonların parçacık boyutu dağılımlarında kaplama malzemesinin önemli bir etkisinin olmadığını ( $p>0.05$ ) görmekteyiz (Şekil 8). Özütlenmiş konsantrede olduğu gibi arındırma işlemi emülsiyonun da aralığını istatistiksel olarak önemli bir şekilde ( $p<0.05$ ) değiştirmiştir. Yüksek aralık değerleri emülsiyon içinde çapları birbirinden farklı olan parçacıkların varlığını göstermektedir. Şekil 8'de görüldüğü gibi AFÖ ile hazırlanan emülsiyonlar nano boyut aralığındadır. Arındırma işleminden sonra AFÖ içinde kalan büyük parçaların eşit bir hacim dağılımında olduğu görülmektedir. Diğer bir taraftan, FÖ ile hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutu dağılımı daha dar bir aralıkta değişmektedir. JAFARI ve ark. (2007b) yaptığı çalışmada IKA blender ile homojenizasyonun ve ultrason işleminin mikron altı emülsiyon hazırlamada aralığı artırdığını göstermişlerdir. Buna ek olarak, arındırma işleminden sonra yabancı maddeler azaltıldığı için ultrasonun enerji yoğunluğu artmış, daha çok parçalama ile daha küçük kapsüller elde edilmiştir. GORDON ve Pilosof (2010) 10 dakika ultrason uygulandıktan sonra küçük parçacıkların oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Emülsiyonun  $D_{32}$  değerlerindeki düşüş, özgül yüzey alanının artmasına ve bu da AFÖ ile hazırlanan emülsiyonların özgül yüzey

alanlarının FÖ ile hazırlananlara göre önemli bir şekilde ( $p<0.001$ ) yüksek çıkmasına sebep olmuştur (Tablo 5).



Şekil 8. Fenolik özüt (FÖ) ve arındırılmış fenolik özüt (AFÖ) ile farklı kaplama malzemesi kullanılarak hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutu analiz sonucu.

(—): FÖ, %10 MD; (· · ·): FÖ, %8 MD-%2 AZ; (— —): AFÖ, %10 MD; (- · -): %8 MD - %2 AZ.

Tablo 5. Farklı kaplama malzemesi ve farklı fenolik özütlerle hazırlanan örneklerin parçacık boyutu analizi sonuçları

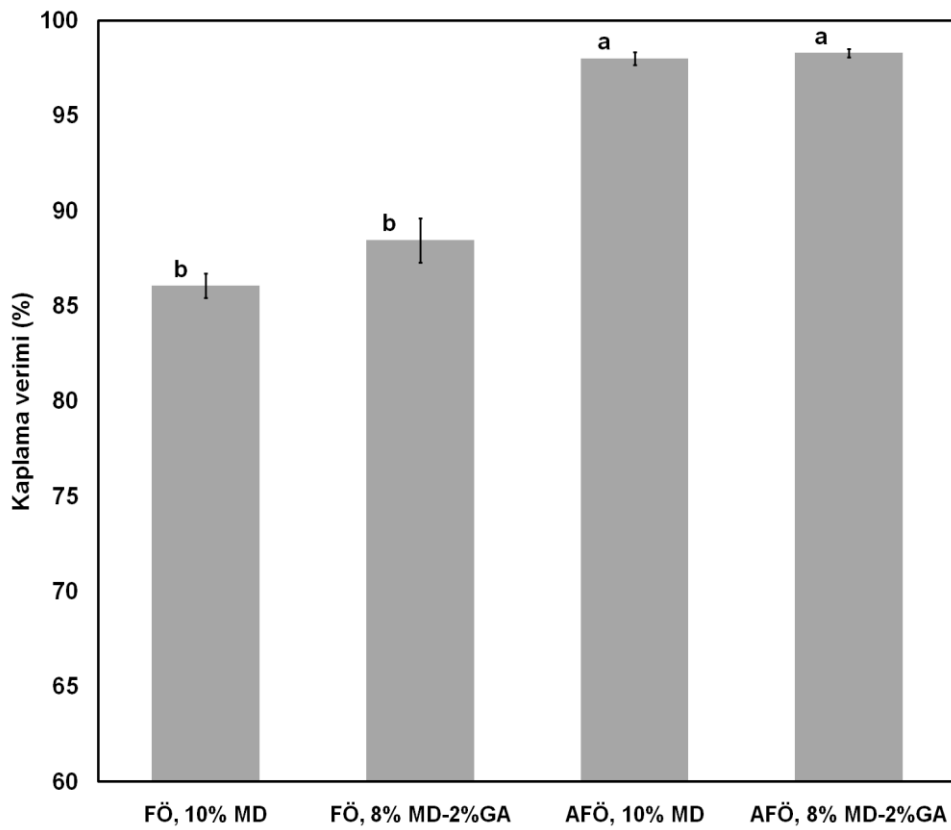
Örnek	Kaplama Malzemesi		D <sub>32</sub> (µm)	Aralık	Özgül Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g)
	MD (%)	AZ(%)			
FÖ	10	0	1,650±0,0720a*	5,8±1,10b	3,66±0,60b
FÖ	8	2	1,610±0,1260a	5,5±0,31b	3,75±0,285b
AFÖ	10	0	0,396±0,0255b	35,9±13,40a	15,20±1,000a
AFÖ	8	2	0,334±0,0160b	16,5±4,82a	17,70±0,630a

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b ve c) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

#### Arındırma İşleminin Kapsül Verimine Etkisi

Arındırma işleminin amacı sadece emülsiyonun parçacık boyutunu azaltmak değil aynı zamanda enkapsülasyon verimi üzerine olan etkisini araştırmaktır. Şekil 9'daki sonuçlara göre arındırma işleminin kapsül verimi üzerinde istatistiksel olarak önemli şekilde ( $p < 0.001$ ) etkisi vardır. Bu, emülsiyonda ve konsantrede bulunan parçacıkların boyutlarının küçültülmesi ve daha saf numune kullanılması ile ilgilidir. Parçacık boyutu küçüldüğü zaman kapsüllerin yüzeyinde bulunan fenolik madde miktarı (YFM) azalmakta, böylece kapsül verimi artmaktadır. YFM sonuçları Tablo 6'te görülmektedir. AFÖ ve FÖ ile hazırlanan kapsüllerin YFM sonuçları arasında önemli derecede ( $p < 0.001$ ) fark oluşurken, kaplama malzemesinin değiştirilmesi YFM üzerinde etkili olmamıştır ( $p > 0.05$ ). JAFARI ve ark. (2007a) yaptıkları çalışmada kapsüllerin parçacık boyutu küçüldüğünde yüzey yağ miktarlarının düştüğünü göstermişlerdir. SOOTTITANTAWAT ve ark. (2003) ise püskürtmeli kurutma metoduyla

yapılan kapsülleme işleminde kaplanacak örneğin büyük oluşunun çok fazla verim kaybına neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca yüzey yağ miktarının küçük parçacıklarda daha az olduğunu da göstermişlerdir. AFÖ ile hazırlanan kapsüller FÖ ile hazırlananlarla karşılaştırıldığında çok daha küçük kapsüllere sahiptirler. Kaplama malzemesinin kapsül verimini önemli derecede etkilemediği ( $p>0.05$ ) görülmektedir.



Şekil 9. Fenolik özüt ve arındırılmış fenolik özütün farklı kaplama malzemeleriyle oluşturulmuş kapsüllerinin verim yüzdeleri.

Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p\leq 0.05$ ).



Tablo 6. Farklı kaplama malzemesi kullanılarak kapsüllenen AFÖ ve FÖ'nün yüzey fenolik madde miktarları (YFM) ve antioksidan aktiviteleri

Örnek Adı	Kaplama Malzemesi		YFM	Antioksidan Aktivitesi
	MD (%)	AZ (%)	(mg GAE/g kuru madde )	(ppm DPPH/ g kuru madde)
KFÖ	10	0	4,24±0,020a*	1,85±0,050a
KFÖ	8	2	3,52±0,355a	1,87±0,020a
KAFÖ	10	0	0,74±0,080b	2,01±0,005a
KAFÖ	8	2	0,64±0,015b	1,91±0,005a

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

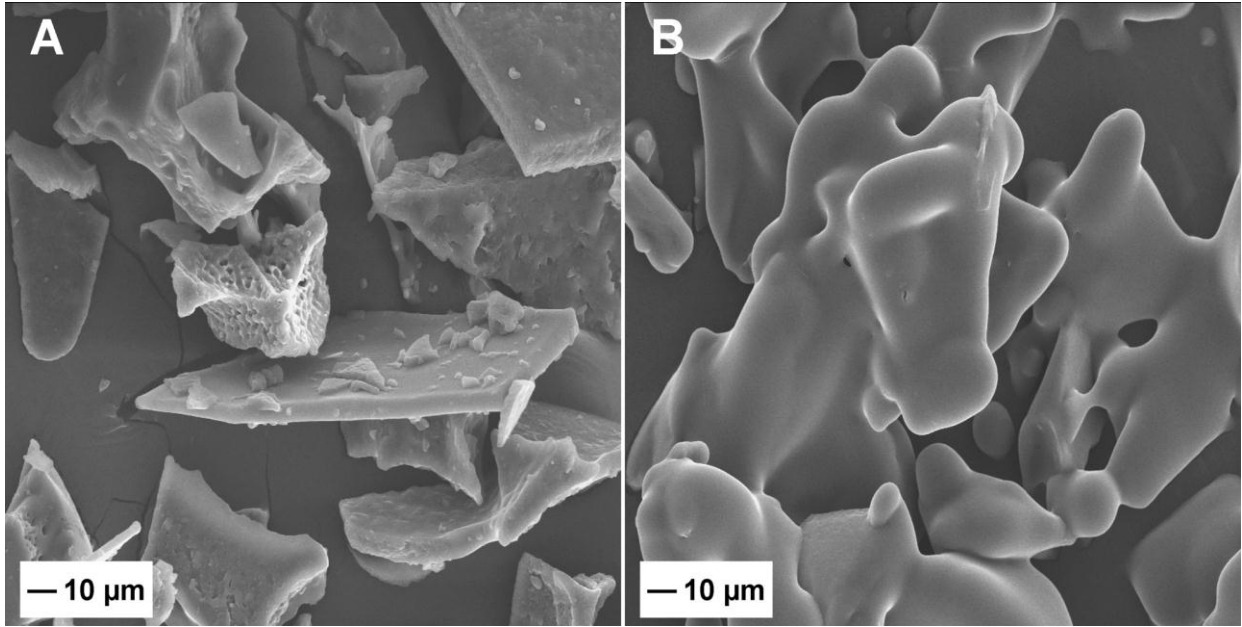
#### Arındırma işleminin yüzey morfolojisi üzerine olan etkileri

Şekil 10 ve Şekil 11'de fenolik maddelerin ve farklı çekirdek-kaplama malzemesi ile hazırlanmış kapsüllerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri görülmektedir. Şekil 10B'de AFÖ parçacıklarının yüzeyinin pürüzsüz olduğu gözlemlenirken FÖ'nün yüzeyinin keskin kırıklarla dolu olduğu görülebilmektedir (Şekil 10A). FÖ'nün yüzeyinde bulunan küçük parçacıkların yabancı maddeler olduğu söylenebilir. Arındırma işlemi, çapları 1 ila 100 µm arasında olan birçok parçacığı emülsiyondan ayırmıştır. FÖ ve %10 MD kullanılarak hazırlanan kapsüller (Şekil 11A) ile %8 MD - %2 AZ (Şekil 11C) kullanılarak hazırlanan kapsüller görüntü yapısı olarak birbirine benzerdir. Ancak %10 MD ile kaplanan AFÖ kapsülleri (Şekil 11B) %8 MD-%2 AZ karışımıyla kaplananlara göre daha büyüktürler (Şekil 10D). Aynı kaplama malzemesi ile kaplanan AFÖ kapsülleri FÖ kapsüllerinden daha küçüktürler. Bunun sebebi ise, AFÖ'nün elde edildiği emülsiyonun daha küçük parçacıklar içermesinden, yani AFÖ'nün parçacık boyutunun FÖ'nünkünden daha küçük olmasıdır. Bütün

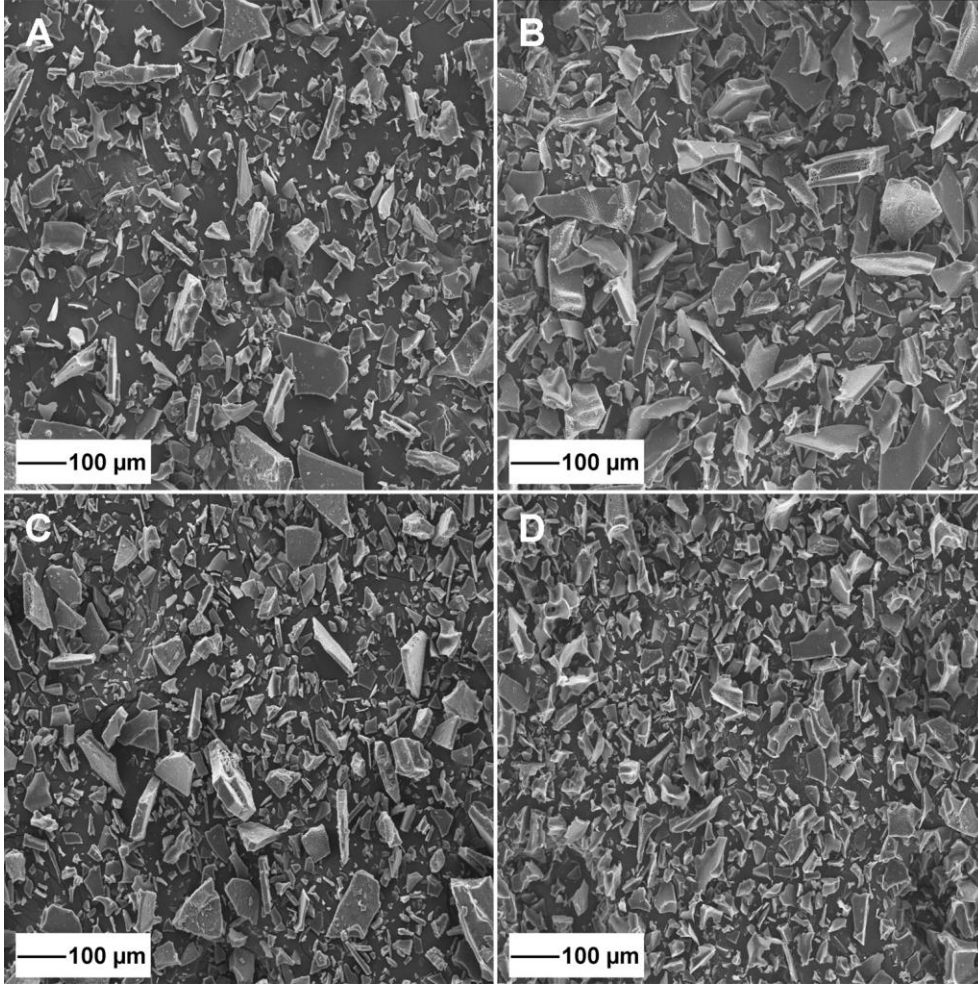
bunlara ek olarak, en homojen parçacık boyutu dağılımı AFÖ'nün %8 MD-%2 AZ karışımıyla kaplanan kapsüllerinde görülmüştür (Şekil 11D).

#### Arındırma İşleminin Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi

Fenolik maddelerin toplam antioksidan aktivitesi FÖ için 7.09, AFÖ için 6.80 ppm DPPH/g kuru maddedir. Kapsüllerin toplam antioksidan aktiviteleri üzerinde arındırma işleminin veya kaplama malzemesinin önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Tablo 6).



Şekil 10. Fenolik özüt (A) ve arındırılmış fenolik özütün (B) taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.



Şekil 11. Kapsüllenmiş örneklerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri. (A): KFÖ, %10 MD; (B): KAFÖ, %10 MD; (C): KFÖ, %8 MD - %2 AZ; (D): KAFÖ, %8 MD - %2 AZ.

#### Arındırma İşleminin Renk Üzerine Etkisi

Fenolik maddenin renk analiz sonuçlarına göre arındırma işlemi örneklerin  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerini arttırmıştır (Tablo 7). Aslında AFÖ' nün renginin FÖ' den daha açık kırmızı olduğu gözle görülür bir şekilde anlaşılmaktadır. AFÖ ile hazırlanan kapsüllerin yüzeylerinde daha az miktarda fenolik madde bulunmasından dolayı FÖ ile hazırlanan kapsüllere göre renkleri çok belirgin bir şekilde ( $p=0.0013$ ) daha açıktır. Kaplama malzemesinin

değiştirilmesi, MD ve AZ renklerinin şeffaf oluşundan dolayı, örneklerin renklerinde (L\*, a\*, b\* ve  $\Delta E^*$ ) önemli derecede değişime neden olmamıştır. Kapsüllerin a\* değerleri kaplanan fenolik maddenin cinsine göre (AFÖ yada FÖ) istatistiksel olarak önemli şekilde değişiklik göstermiştir (P < 0.001). AFÖ ile hazırlanan kapsüllerin a\* değerleri, kaplanmamış AFÖ' de olduğu gibi, daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar fenolik özütlerin ve kapsüllerin resimlerinden de görülmektedir (Şekil 12).

Tablo 7. Fenolik özütlerin ve kapsüllerinin renk analiz sonuçları

Örnek	Kaplama Malzemesi		L*	a*	b*	$\Delta E^*$
	MD (%)	AZ (%)				
FÖ*	-	-	34,5±0,24	20,1±0,09	11,7±0,03	69,5±0,57
AFÖ**	-	-	31,4±0,17	24,6±0,12	11,0±0,05	73,7±0,82
KFÖ***	10	0	50,1±0,35b	17,4±0,05b	13,4±0,01a	54,5±0,34a
KFÖ	8	2	50,4±0,19b	18,3±0,08b	14,0±0,04a	54,7±0,19a
KAFÖ****	10	0	56,0±1,54a	20,8±0,45a	11,0±0,10b	49,6±1,76b
KAFÖ	8	2	56,2±1,08a	20,7±0,23a	10,8±0,18b	49,6±1,09b

\*Fenolik özüt, \*\*Arındırılmış fenolik özüt, \*\*\*Kaplanmış fenolik özüt, \*\*\*\*Kaplanmış arındırılmış fenolik özüt

Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).



Şekil 12. Fenolik özüt ve kapsüllerin resimleri

### Saklama sırasında stabilitenin ve renk değişiminin belirlenmesi

Kaplanmış ve kaplanmamış fenolik özütün saklama sırasındaki (iki bağıl nemde) stabiliteleri nem çekme derecesi, TFM miktarındaki azalış ve AA de azalış ölçülerek belirlenmiştir. FÖ, AFÖ, KFÖ ve KAFÖ' nün nem çekme dereceleri iki ayrı bağıl neme sahip ortamda tutularak ölçülmüştür. Nem çekme dereceleri Tablo 8'te verilmiştir.

Tablo 8. Fenolik maddelerin ve kapsüllerinin iki farklı bağıl nemde nem çekme dereceleri (%)

Örnek	Bağıl nem	
	43% RH	85% RH
FÖ	3,71±0,007 <sup>d*</sup>	38,20±0,127 <sup>b</sup>
AFÖ	7,58±0,028 <sup>a</sup>	45,61±0,124 <sup>a</sup>
KFÖ	5,25±0,037 <sup>c</sup>	26,20±0,827 <sup>c</sup>
KAFÖ	5,70±0,176 <sup>b</sup>	26,17±1,578 <sup>c</sup>

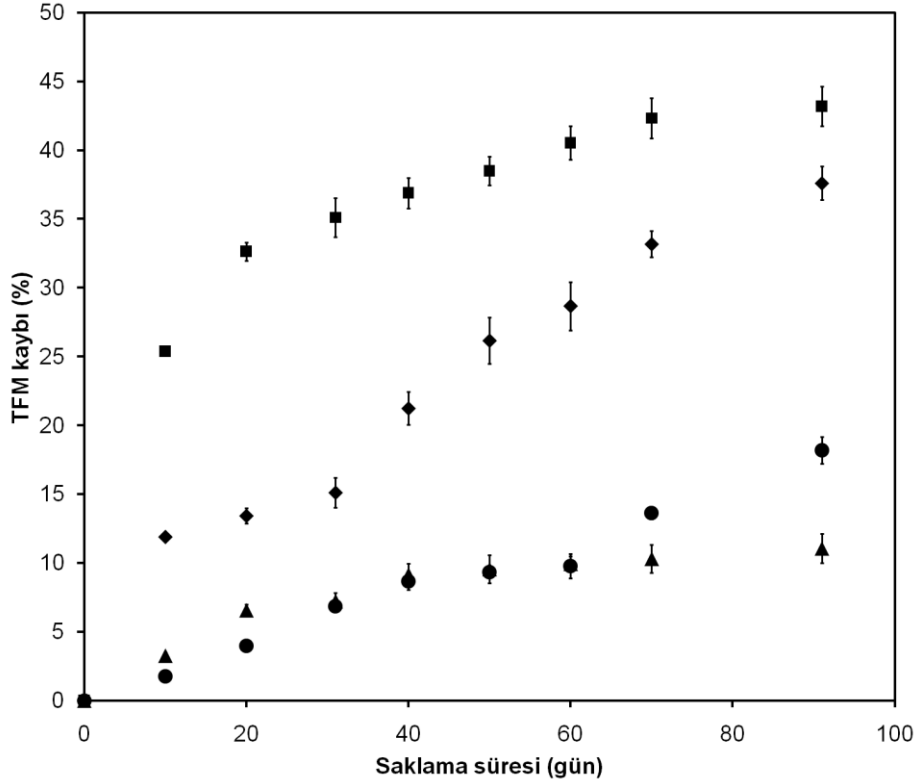
\*Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

Sonuçlara baktığımızda, örnekler daha yüksek bağıl nemde (%82) tutulduklarında nem çekme dereceleri artmıştır. Bunun sebebi örneklerin üzerinde nemli havanın oluşturduğu daha yüksek itici güçtür. AFÖ'nün her iki bağıl nemde de nem çekme derecelerinin FÖ' nünkinden yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni arındırma işlemi yardımıyla yabancı maddelerin kalmamasıdır. Bu nedenle parçacık boyutu düşüktür. Arındırılma işlemiyle örnekten ayrılmayan istenmeyen organik veya inorganik bileşenlerin su çekme dereceleri fenolik

maddelere göre daha düşük olabilir. Parçacık boyutu düşük olan örnek daha fazla yüzey alanına sahip olmakta ve daha çok nem ile temas etmektedir. TONON ve ark (2009) da yaptıkları çalışmada büyük parçacık boyutuna sahip örneklerin su çekme kapasitesinin düşük olduğunu göstermiştir. Kaplanmamış örneklerde olduğu gibi kaplanmış örneklerde de benzer bir eğilim görülmektedir. Diğer bir deyişle KAFÖ'nün su çekme kapasitesi KFÖ'nünkine göre yüksek bulunmuştur. KAFÖ nanoemülsiyondan elde edilmiştir. KFÖ ise mikroemülsiyon kullanılarak hazırlanmıştır. Bu nedenle KAFÖ'nün parçacık boyutu KFÖ'ye göre daha küçüktür. Küçük kapsül boyutu yüksek nem emilmesine sebep olmaktadır. Diğer taraftan %85 bağıl nemde kaplanmış örneklerin nem çekme dereceleri arasında fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Öte yandan kapsül oluşturarak nem çekme derecesi önemli derecede azaltılmıştır ( $p\leq 0.05$ ). MARTINELLI ve ark (2007) limon tozunun kaplanmasının nem çekme derecesini azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca, LAINE ve ark. (2008) frambuaz kapsülleri kullanarak yaptıkları çalışmada bu çalışmadaki sonuçlara benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Kapsüllerin düşük nem çekme derecesine sahip olması maltodekstrin ve arap zamkının suyu sevmeyen özellikleri ile açıklanabilir (SILVA ve ark. 2012).

Nem çekme derecesi sonuçlarına benzer sonuçlar toplam fenolik madde sonuçlarında da elde edilmiştir. Buldukları ortamın bağıl neminin daha düşük olması örneklerin daha yavaş bozulmalarını sağlamıştır (Şekil 13 ve 14). %43 bağıl nemde kaplanmış fenolik özütün TFM miktarındaki azalma kaplanmamış fenolik özütün TFM miktarına göre daha yavaş olmuştur ( $p\leq 0.05$ ). Bunun nedeni kaplama maddesinin oksijen ve nemin içeriye nüfuz etmesini engellemesiyle açıklanabilir. Benzer bir sonuç açai tozu kaplandığında elde edilmiştir (TONON ve ark 2009). TONON ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada kullandıkları örneğin fenolik madde kaybının ancak kaplama maddesi ile kaplandıkları zaman azaldığını belirtmişlerdir. Saklama sırasındaki AFÖ örneklerindeki fenolik madde kaybı FÖ örneklerine

göre daha fazla olmuştur. FÖ arındırılmadığı için fenolik maddeleri koruyabilen daha fazla yabancı madde içermektedir. Bu nedenle arındırılmış fenolik özüt içindeki fenolik maddeler daha hızlı bozulmaktadır. Diğer taraftan kaplanmış örneklerde %43 bağıl nemde arındırmanın fenolik maddelerin azaltılması üzerine önemli bir etkisi bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

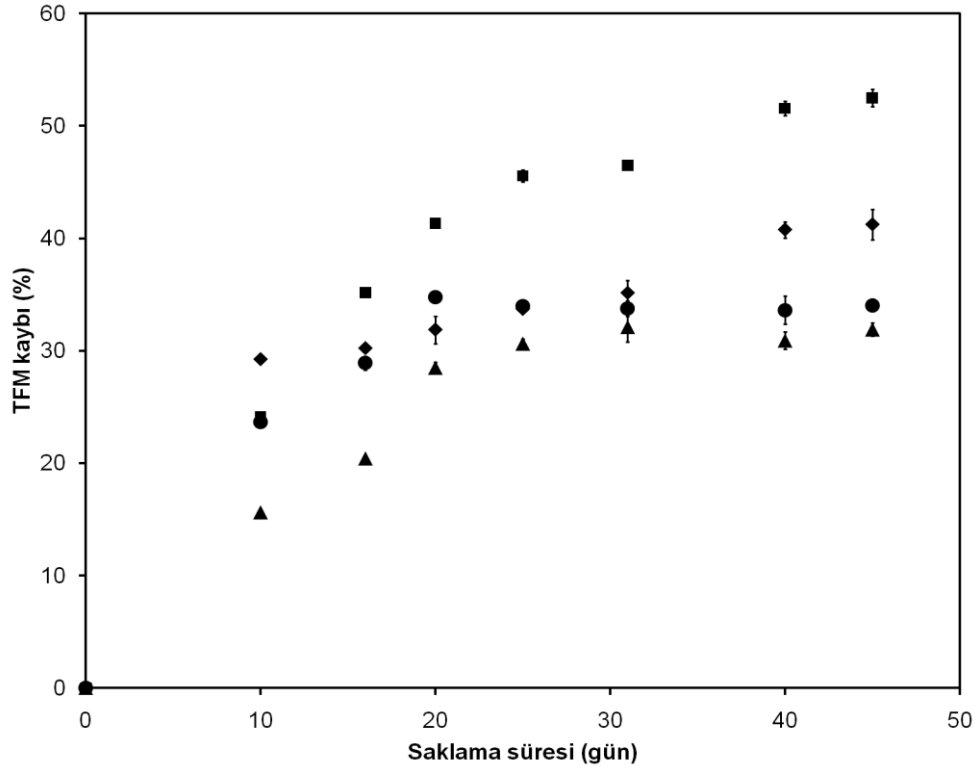


Şekil 13. Toplam fenolik madde miktarının % 42 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi.

(◆): FÖ<sup>b\*</sup>, (■): AFÖ<sup>a</sup>, (▲): KFÖ<sup>c</sup> and (●): KAFÖ<sup>c</sup>.

Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p\leq 0.05$ ).





Şekil 14. Toplam fenolik madde miktarının %83 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi

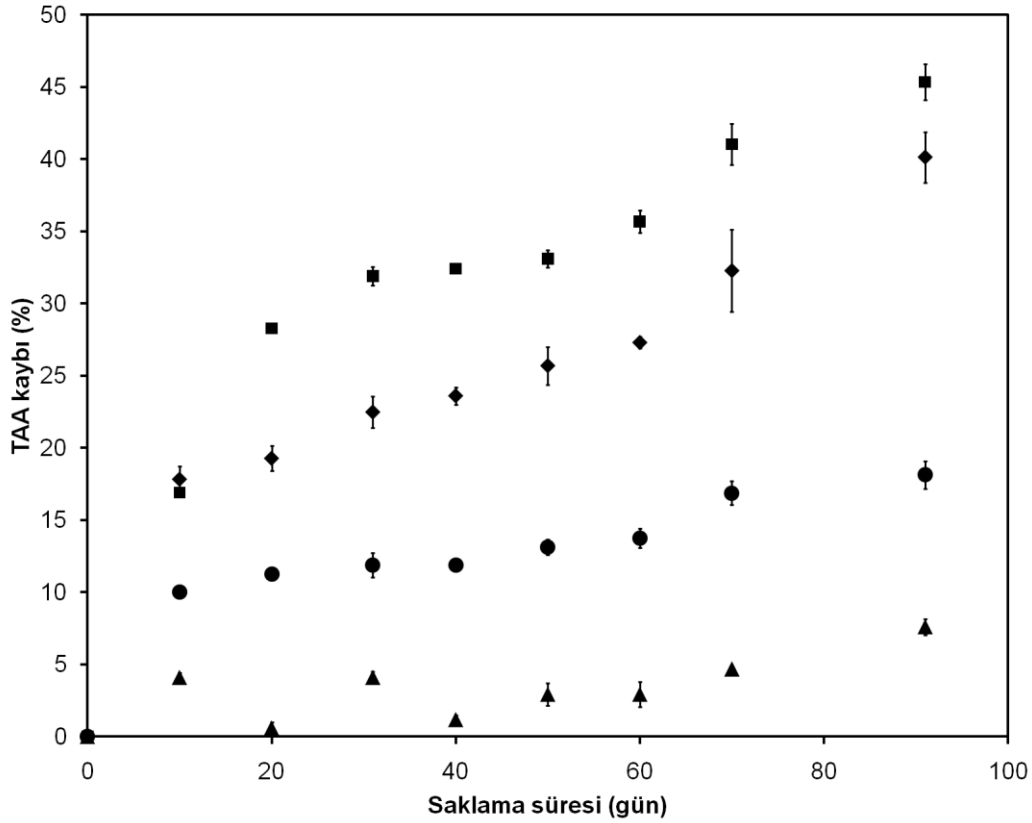
(◆): FÖ<sup>b\*</sup>, (■): AFÖ<sup>a</sup>, (▲): KFÖ<sup>c</sup> and (●): KAFÖ<sup>b</sup>.

Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p \leq 0.05$ ).

Şekil 15 ve 16'da bulunan sonuçlar genel olarak Şekil 13 ve 14'deki sonuçlarla paralellik göstermektedirler. Buldukları ortamın bağıl neminin daha yüksek olması, örneklerin daha hızlı bozulmalarını sağlamıştır. Antioksidan aktivitesi sonuçlarına göre de her iki ortamda da en hızlı bozulan AFÖ olmuştur. Arındırılmamış fenolik özütün bozulma hızı daha düşüktür.

En az antioksidan aktivite kaybı ise KFÖ örneklerinde görülmektedir.

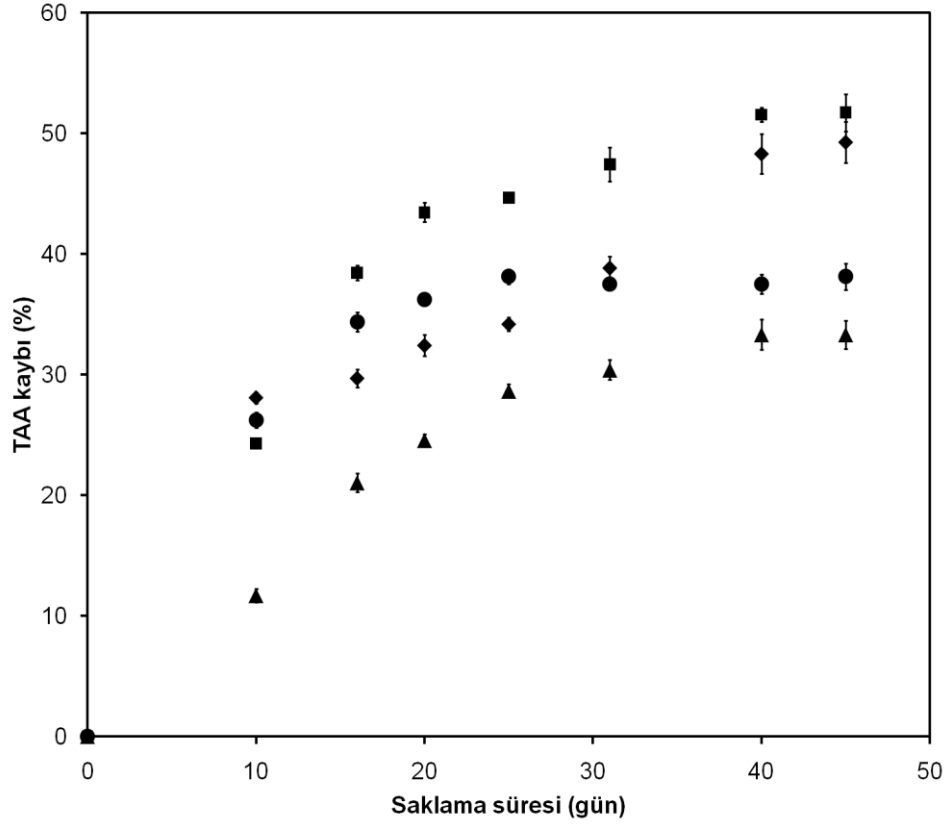
Tablo 9 ilk 10 gün içinde özellikle KFÖ için L\* ve a\* değerlerinin arttığını göstermektedir. Bunun nedeni, ilk 10 gün içinde örneklerin su çekmeleridir. Su çektikçe renkleri açılarak daha kırmızı olmaktadır. Fenolik özüt yabancı maddelerden arındırıldığında (KAFÖ) L\* değeri sabit kalsa da a\* değeri saklama sırasında azalmaktadır. Bu azalmanın sebebi kapsül yüzeyine yakın yerlerde ve yüzeyde bulunan fenolik maddelerin saklama sırasında bozulması ve renklerinin açılmasıdır.



Şekil 15 . Örneklerin antioksidan aktivitelerinin (TAA) % 42 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi.

(◆): FÖ<sup>b\*</sup>, (■): AFÖ<sup>a</sup>, (▲): KFÖ<sup>d</sup> and (●): KAFÖ<sup>c</sup>.

Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p≤0.05).



Şekil 16. Örneklerin antioksidan aktivitelerinin (AA) % 83 bağıl nemde saklama sırasındaki değişimi.

(◆): FÖ<sup>b\*</sup>, (■): AFÖ<sup>a</sup>, (▲): KFÖ<sup>c</sup> and (●): KAFÖ<sup>b</sup>.

Değişik harfler içeren formülasyonlar (a, b) istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p \leq 0.05$ ).

Tablo 9. Saklama sırasında kapsüllerin renk değerlerinin (%42 bağıl nemli ortamda) değişimi

Saklama Süresi	KFÖ				KAFÖ			
	L*	a*	b*	$\Delta E^*$	L*	a*	b*	$\Delta E^*$
0	50,79	17,83	13,29	53,98	55,96	21,55	11,11	50,26
10	51,61	18,75	14,36	53,82	57,38	22,31	12,19	49,59
20	50,98	18,78	14,44	54,43	56,93	22,24	12,36	50,01
31	51,25	18,65	14,57	54,19	56,99	22,18	12,75	50,04
40	51,32	18,53	14,80	54,15	57,12	22,32	12,95	50,05
50	51,86	18,49	14,61	53,60	57,23	22,21	13,05	49,93
60	51,68	18,20	15,00	53,76	57,12	22,25	13,45	50,13

### Kapsüllerin pişirilme sırasındaki stabiliteleri ve kek kalitesi

Kekler pişirildikten sonra içerisinde kalan TFM ve TAA Tablo 10'da verilmektedir. Bu değerler pişirmeye karşı olan dayanıklılığı göstermektedir. Isıl işlem sırasında kaplanmış olan örneklerde bile fenolik maddelerin bozulduğu Tablo 10'da görülmektedir. Ancak enkapsülasyon işleminin fenolik maddelerin korunmasında kaplanmamış örneklere göre önemli etkisi bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ). Bu bize kaplama maddelerinin ısıyla bozulmaya karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Makarna içerisine kaplanmış *Garcinia Cowa* özütü konulduğunda özelliklerinin korunduğu bir başka çalışmada da gösterilmiştir (PILLAI ve ark., 2012). Nano ve mikroemülsiyon ile hazırlanan kapsüller içeren keklerin TFM ve TAA bozulma yüzdeleri arasında fark bulunmamıştır.

Tablo 10. Keklerin 175 °C de 22 dakika pişirilmesinden sonra kalan TFM ve TAA yüzdeleri

Kek numunesi	Kalan TFM (%)	Kalan TAA (%)
FÖ içeren	22,2±0,69 <sup>b*</sup>	8,9±0,35 <sup>b</sup>
AFÖ içeren	15,1±0,59 <sup>c</sup>	2,0±1,03 <sup>b</sup>
KFÖ içeren	30,7±2,53 <sup>a</sup>	20,7±2,45 <sup>a</sup>
KAFÖ içeren	30,4±2,15 <sup>a</sup>	18,6±4,09 <sup>a</sup>

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b, c) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

Enkapsülasyon işleminin kek kalitesi (tekstür ve hacim) üzerine olan etkisini araştırmak için kek içerisine kapsül ve fenolik özüt konulmuştur. Renk ölçümleri  $\Delta E^*$  cinsinden ifade edilmiştir (Tablo 11). AFÖ ve FÖ içeren keklerin kabuk rengi birbirinden önemli derecede farklı bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ). Bunun nedeni AFÖ nin kırmızı renginden dolayıdır (Tablo 7). Öte yandan kapsül içeren kek örneklerinin kabuk rengi kontrol keklerin kabuk renginden farklı bulunmamıştır. Keklerin iç renkleri birbirinden farklı değildir ( $p > 0.05$ ). Bunun nedeni eklenen kapsül miktarının oldukça küçük olmasındandır (yaklaşık olarak 1:180 fenolik özüt veya kapsül ağırlığı:kek ağırlığı). Aynı nedenden dolayı keklerin özgül ağırlığı benzer bulunmuştur (Tablo 11).

Tablo 11. Kek kalite özellikleri

Kek örneği	$\Delta E^*$		Sertlik (N)	Yapışkanlık (N)	Çiğnenebilirlik (N)	Özgül hacim (cm <sup>3</sup> /g)
	İç	Kabuk				
Kontrol	22,4±0,70 <sup>a*</sup>	18,2±1,65 <sup>c</sup>	1,92±0,133 <sup>a</sup>	0,0073±0,00031 <sup>ab</sup>	0,029±0,0026 <sup>ab</sup>	1,99±0,025 <sup>ab</sup>
FÖ içeren	23,5±0,35 <sup>a</sup>	22,9±1,55 <sup>ab</sup>	1,76±0,093 <sup>a</sup>	0,0058±0,00026 <sup>b</sup>	0,022±0,0010 <sup>b</sup>	2,12±0,009 <sup>a</sup>
AFÖ içeren	23,1±0,10 <sup>a</sup>	25,9±0,70 <sup>a</sup>	1,71±0,070 <sup>a</sup>	0,0061±0,00068 <sup>b</sup>	0,024±0,0034 <sup>ab</sup>	2,12±0,033 <sup>a</sup>
KFÖ içeren	22,6±0,35 <sup>a</sup>	20,8±0,05 <sup>bc</sup>	1,85±0,034 <sup>a</sup>	0,0070±0,00033 <sup>ab</sup>	0,028±0,0017 <sup>ab</sup>	1,96±0,030 <sup>ab</sup>
KAFÖ içeren	22,2±0,65 <sup>a</sup>	19,1±0,20 <sup>bc</sup>	1,98±0,039 <sup>a</sup>	0,0075±0,00006 <sup>a</sup>	0,031±0,0002 <sup>a</sup>	1,91±0,088 <sup>b</sup>

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b, c) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

Kek içerisine fenolik madde kapsüllerinin eklenmesinin tüketici tarafından ürünün beğenilip beğenilmediğini araştırmak amacıyla duyu analizi gerçekleştirilmiştir. Ön deneylerde kaplanmamış özüt eklenen keklerde istenmeyen acı bir tat olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle duyu analizleri kapsül içeren keklerle ve hiçbir şey içermeyen kontrol kekleriyle yapılmıştır.

Panelistler tarafından verilen puanlar Tablo 12’de verilmiştir. Keklerin tat ve tekstür sonuçları kapsül eklendiğinde değişmemiştir ( $p > 0.05$ ). Tablo 11’de de görüldüğü üzere kapsül eklenmesi tekstür ölçüm sonuçlarını da etkilememiştir. Kapsül ilavesinin keklerin tadını değiştirmemesi kapsüllerin fenolik maddelerin kötü tadını maskeleyişini göstermektedir. Sadece renk açısından kapsül eklenmesinin etkisi görülmüştür. Keklerin hafif pembe oluşu panelistler tarafından beğenilmiştir ve bu nedenle kontrol kekleri en düşük renk puanının almıştır. Sonuç olarak keklerle kapsül eklenmesi kalitelerini olumsuz olarak etkilememiştir. Üstelik renk açısından beğenilmelerine neden olmuştur.

Tablo 12. Kapsül içeren keklerin duyu analizi sonuçları

Kek örneği	Puanlar		
	Tat	Renk	Tekstür
Kontrol	3,27 <sup>a*</sup>	2,67 <sup>b</sup>	3,27 <sup>a</sup>
KFÖ içeren	3,27 <sup>a</sup>	3,90 <sup>a</sup>	3,27 <sup>a</sup>
KAFÖ içeren	3,83 <sup>a</sup>	4,20 <sup>a</sup>	3,83 <sup>a</sup>

\* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).

### Kapsüllerin biyoyararlılığı

Fenolik maddelerin biyoyararlılığını tespit etmek için fenolik özütlerin ve kapsüllerin mide ve bağırsak sıvıları içerisindeki salınımları incelenmiştir. FÖ, AFÖ, KFÖ, KAFÖ örneklerinin mide ve bağırsak sıvısı içindeki salınımları Tablo 13’de görülmektedir. Fenolik bileşenlerin mide sıvısı içerisindeki (pH=1.2) salınımı bağırsak sıvısı içindeki (pH:6.8) sindirimine göre daha azdır. Bu sonuçlar SANSONE ve arkadaşları (2011) tarafından elde edilen sonuçlarla benzerdir. Kapsüllerden fenolik maddelerin salınımı kaplanmamış fenolik maddelerin salınımindan daha azdır ki bu istenilen bir sonuçtur ( $p \leq 0.05$ ). Bu sonuç, kaplama maddelerinin çözünürlüklerinin düşük pH’da az olmasıyla açıklanabilir. Nano ve mikrokapsüller içinden fenolik maddelerin farklı miktarda salınımı kapsüllerin parçacık boyutunun farklı olmasıyla açıklanabilir. Diğer taraftan kapsüller arasında bağırsak sıvısında fenolik maddelerin salınımı arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Bağırsak sıvısında fenolik madde salınımı kaplanmamış örneklerde kaplanmışlara oranla daha çok olmuştur. Ancak, bu fark mide sıvısında olduğu kadar belirgin değildir.

Tablo 13. Kaplanmış ve kaplanmamış fenolik özütün mide ve bağırsak sıvısında salınımı

Örnek	Salınım (%)	
	Mide Sıvısı	Bağırsak sıvısı
FÖ	26,79±0,760 <sup>b*</sup>	47,07±2,191 <sup>ab</sup>
AFÖ	41,09±0,575 <sup>a</sup>	49,22±1,884 <sup>a</sup>
KFÖ	11,88±0,163 <sup>d</sup>	31,74±2,569 <sup>c</sup>
AKFÖ	14,41±0,334 <sup>c</sup>	38,28±2,924 <sup>bc</sup>

\* \* Aynı kolonda bulunan farklı harfler (a, b, c) birbirlerinden önemli derecede farklı değerleri göstermektedirler ( $p \leq 0.05$ ).



## SONUÇLAR

Vişne posasından elde edilen fenolik maddelerin başarıyla kaplanması mümkün olmuştur. Fenolik madde:kaplama maddesi oranının azaltılması enkapsülasyon verimini arttırmıştır ve kapsüllerin parçacık boyutunu azaltmıştır. Arap zatkının kullanımı enkapsülasyon verimini arttırmıştır. En yüksek verimi ve en düşük parçacık boyutunu veren optimum enkapsülasyon koşulu ve formülasyon 8:2 MD:AZ oranı, 1:20 fenolik madde kaplama maddesi oranı ve 20 dakika ultrason süresi olarak belirlenmiştir.

Bu proje sonucunda arıtma işleminin nanoemülsiyon elde etmek için önemli bir basamak olduğu bulunmuştur. Arıtılmayan özüt mikro boyuttayken arıtma işlemiyle nanoboyutta emülsiyon elde edilmiştir. Arındırma aynı zamanda enkapsülasyon verimini de arttırmıştır.

Enkapsülasyon işlemi fenolik maddelerin saklama sırasındaki stabiliteyi arttırmıştır. Ayrıca enkapsülasyon fenolik maddelerin mide sıvısında çözünmesine karşı direnç sağlarken bağırsak sıvısındaki salınımlarına engel olmamıştır. Mikroemülsiyondan elde edilen kapsüller ile nanoemülsiyondan elde edilen kapsüller arasında saklama ve ısıl işlem stabilitesi arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Fenolik maddelerin kötü bir tadı olmasına rağmen kapsül oluşturulduğu zaman keklerin tadı ve diğer kalite paramtereleri olumsuz olarak etkilenmemiştir. Ancak kapsül oluşturulan örneklerin pişme stabiliteyi yine de fazladır. Bu nedenle bu kapsüllerin kullanımı fonksiyonel gıda üretiminde özellikle dondurma gibi yüksek ısı gerektirmeyen gıdalarda önerilebilir. Projede üretilen kekler nanokek olarak adlandırılabilir çünkü bu kekler nanoteknolojiden faydalanarak elde edilen kapsülleri içermektedir.

Bu çalışmanın devamında vişne posası dışında başka meyve posalarından fenolik maddeler özümlenerek kapsül oluşturulabilir. Nanoemülsiyon oluşturmak için ultrason yerine yüksek basınçlı mikroakışkan yöntemi kullanılabilir. Ayrıca elde edilen kapsüllerin kek dışındaki değişik gıdalar içindeki stabiliteleri de çalışılabilir.

## REFERANSLAR

AACC, *Approved methods of the AACC*, Method 74-09. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, (1988).

BERETTA G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Maffei F.R., Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics, *Anal Chim Acta*, 533, 185-191, (2005).

CAI Y.Z., Corke H., Production and properties of spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments, *J Food Sci*, 65, 1248-52, (2000).

DELMAS T., Piraux H., Couffin A.C., Texier I., Vinet F., Poulin P., Cates M.E., Bibette J. How to prepare and stabilize very small nanoemulsions, *Langmuir*, 27, 1683-1692, (2011).

DESAI K.G.H., Park H.J., Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying Technol*, 23, 1361-94, (2005).

DRUSCH S., Schwarz K., Microencapsulation properties of two different types of octenylsuccinate-derivatized starch, *Eur Food Res Technol*, 222, 155–64, (2006).

EBERHARDT M.V., Lee C.Y., Liu R.H., Antioxidant activity of fresh apples, *Nature*, 405, 903-4, (2000).

ELVERSSON J., Millqvist-Fureby A., Alderborn G., Elofsson U., Droplet and particle size relationship and shell thickness of inhalable lactose particles during spray drying, *J Pharm Sci*, 92, 900-10, (2003).

ERSUS S., Yurdagel U., Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota L.*) by spray drier, *J Food Eng*, 80, 805–12, (2007).

GABASA A.L., Telisb V.R.N., Sobrala P.J.A., Telis-Romerob J., Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder, *J Food Eng*, 82, 246–52, (2007).

GIBBS B.F., Kermasha S., Alli I., Mulligan C.N., Encapsulation in the food industry: a review, *Int J Food Sci Nutr*, 50, 213–24, (1999).

GORDON L., Pilosof A M R., Application of high-intensity ultrasound to control the size of whey protein particles, *Food Biophysics*, 5, 203-210, (2010).

HERCBERG S., Preziosi P., Galan P., Faure H., Arnaud J., Duport N., Malvy D., Roussel A.M., Briancon S., Favier A., “The su.vi.max study’’: a primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers, *Food Chem Toxicol*, 37, 925-30, (1999).

JAFARI S. M., He Y., Bhandari B., Role of powder particle size on the encapsulation efficiency of oils during spray drying, *Drying Technol*, 25, 1091-1099, (2007a).

JAFARI S. M., He Y., Bhandari B., Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques, *J Food Eng*, 82, 478-488, (2007b).

KAUSHIK V., Roos, Y.H., Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic–sucrose–gelatin systems, *LWT - Food Sci Technol*, 40, 1381–1391, (2007).

KHOO G.M., Clausen M.R., Pedersen B.H., Larsen E., Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars, *J Food Compost Anal*, 24, 772-76, (2011).

KUNTZ S., Wenzel U., Daniel H., Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines, *Eur J Nutr*, 38, 133-42, (1999).

LAINE, P., Kylli, P., Heinonen, M., Jouppila, K., Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *J Agric Food Chem*, 56, 11251-11261, (2008).

LEUNG W., *Centrifugal Separations in Biotechnology*, Oxford, UK, (2007) . Pp: 30-33.

LI M. K., Fogler H.S. Acoustic emulsification. Part 2. Break up of the larger primary oil droplets in a water medium, *J Fluid Mech*, 88, 513-528, (1978).

MARTINELLI L, Gabas A.L., Telis-Romero J., Thermodynamic and quality properties of lemon juice powder as affected by maltodextrin and gum Arabic, *Drying Technol*, 25, 2035-2045, (2007).

MILLER N.J., Rice-Evans C.A., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A., (1993), A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clin Sci*, 84, 407-412, (1993).

MULABAGAL V., Lang G.A., DeWitt D.L., Dalavoy S.S., Nair M.G., Anthocyanin content, lipid peroxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory activities of sweet and sour cherries, *J Agric Food Chem*, 57, 1239-46, (2009).

PILLAI D.S., Prabhasankar P., Jena B.S., Anandharamakrishnan C., Microencapsulation of garcinia cowa fruit extract and effect of its use on pasta process and quality, *Int J Food Prop*, 15, 590-604, (2012).

PRIOR R.L., Wu X., Schaich K., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J Agric Food Chem*, 53, 4290-302, (2005).

ROSA L.A., Alvarez-Parrilla E., Gonzalez-Aguilar G.A., Phytochemical changes in the postharvest and minimal processing of fresh fruits and vegetables, ed: Rosa L.A., Alvarez-Parrilla E., Gonzalez-Aguilar G.A., *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability*, Wiley-Blackwell Publishing, New Delhi, (2010). Pp: 309-39.

SAENZ C., Tapia S., Chavez J., Robert P., Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*), *Food Chem*, 114, 616-22, (2009).

SANSONE F., Picerno P., Mencherini T., Villecco F., D'Ursi A.M., Aquino R.P., Lauro M.R., Flavonoid microparticles by spray-drying: influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability, *J Food Eng*, 103, 188-96, (2011).

SCHLESIER K., Harwat M., Bohm V., Bitsch R., Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Radic Res*, 36, 177-87, (2002).

SILVA V.M., Kurozawa L.E., Park K.J., Hubinger M.D., Influence of carrier agents on the physicochemical properties of mussel protein hydrolysate powder, *Drying Technol*, 30, 653-63., (2012).

SINGLETON V.L., Esau P., *Phenolic Substances in Grapes and Wine and their Significance*, Academic Press, New York, (1969). Pp. 161-2.

SOOTTITANTAWAT A., Yoshii H., Ohkawara M., Linko P., Microencapsulation by spray drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds, *J. Food Sci*, 68, 2256-2262, (2003).

SPENCER J.P.E., Chowrimootoo G., Choudhury R., Debnam E.S, Srail S.K., Rice-Evans C., The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids, *FEBS Letters*, 458, 224-230, (1999).

TADROS T., Izquierdo R., Esquenna J., Solans C., Formation and stability of nano-emulsions, *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-09, 303-18, (2004).

THEVENET F., Acacia gums: Stabilisers for flavour encapsulation, *Flavour Encapsulation*, ed: S. J. Risch, G.A. Reineccius, ACS symposium Series 370, Washington, DC: American Chemical Society, (1988), Pp: 37-44.

TONON R. V., Brabet C., Pallet D., Brat P., Hubinger M.D., Physicochemical and morfological characteristrication of açai powder produced with different carrier agents, *Int J Food Sci Technol*, 44, 1950-1958, (2009).

TSE, [http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb\\_id=45&ust\\_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=45&ust_id=13), Son erişim: 1 Mart 2012.

VEERIAH S., Kautenburger T., Habermann N., Sauer J., Dietrich H., Will F., Pool-Zobel B.L., Apple flavonoids inhibit growth of HT29 human colon cancer cells and modulate expression of genes involved in the biotransformation of xenobiotics, *Mol Carcinog*, 45, 164-74, (2006).

WATERHOUSE A.L., Determination of total phenolics, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, ed: Wrolstad R.E., John Wiley & Sons, New York.

YARDIM-AKAYDIN S., Ozkan Y., Ozkan E., Torun M., Simsek B., The role of plasma thiol compounds and antioxidant vitamins in patients with cardiovascular diseases, *Clin Chim Acta*, 338, 99-105, (2003).

YEN G.C., Duh P.D., Scavenging effect of methanolic extract of peanut hulls on free-radical and active oxygen species, *J Agric Food Chem*, 42, 629-32, (1994).



YI C., Shi J., Kramer J., Xue S., Jiang Y., Zhang M., Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder, *Food Chem*, 114, 570–76, (2009).

ZHENG L., Ding Z., Zhang M., Sun J., Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: preparation and characterization, *J Food Eng*, 104, 89-95, (2011).

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. SERVET GÜLÜM ŞÜMNÜ
Proje No:	110O071
Proje Başlığı:	Fenolik Bileşenlerin Nanoenkapsülasyon Yoluyla Stabilitesinin ve Biyoyararlılığının Arttırılması
Proje Türü:	Araştırma
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	SERPİL ŞAHİN
Danışmanlar:	VASIF NEJAT HASIRCI
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. MÜHENDİSLİK F. GIDA MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/10/2010 - 15/10/2012
Onaylanan Bütçe:	240450.0
Harcanan Bütçe:	224950.0
Öz:	<p>Mikro veya nano boyutta kapsül oluşturma işlemi hassas gıda bileşenlerini ısı, nem, oksijen ve pH'ya karşı gerektiğinde sisteme salınıncaya kadar korumaktadır. Bu işlem, gıdalara zenginleştirme amacıyla eklenen maddelerin istenmeyen tatlarını da maskeleymektedir. Literatürde, fenolik maddelerin nano boyutta enkapsülasyonu ve bu kapsüllerin gıdanın içerisine konularak pişme sırasındaki stabiliteilerinin arttırılmasının incelenmesi konusunda çalışma yoktur. Projenin ana amacı vişne posasından özütlenen fenolik bileşenlerin mikro ve nanoemülsiyon oluşturularak kaplanması ve elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin, biyoyararlılığının ve saklama sırasındaki stabiliteilerinin araştırılmasıdır. Oluşturulan kapsüller keke eklenerek kekin pişirilmesi sırasındaki stabiliteileri ve kek kalitesi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Vişne posasından elde edilen fenolik bileşenler maltodekstrin ve arap zımkı karışımı kullanılarak kaplanmış ve dondurmali kurutucuda kurutularak kapsüller oluşturulmuştur.</p> <p>Kapsül hazırlamada değişken olarak farklı maltodekstrin:arap zımkı oranları, fenolik özüt:kaplama maddesi oranları ve ultrason süresi seçilmiştir. Fenolik özüt:kaplama maddesi oranı 1:20 olan ve 20 dakika ultrason ile işlem görerek hazırlanan mikrokapsüllerin, daha küçük parçacık boyutuna ve daha yüksek verime sahip oldukları bulunmuşlardır. Arındırma işlemiyle (emülsiyon içindeki yabancı parçacıkların 2 dakika 10000 dev/dk hızda santrifüjlenerek emülsiyondan uzaklaştırılması) nanoemülsiyon elde etmek mümkün olmuştur. Arındırma işlemi hem parçacık boyutunu küçülmüş hem de kapsül oluşturma verimini arttırmıştır. Mikroemülsiyondan hazırlanan kapsüllerin verimi %85-90 arasında iken nanoemülsiyondan hazırlanmış kapsüllerde verim %95-98 arasındadır. Arap zımkı kullanımı parçacık boyutunu mikroemülsiyonlarda 3,229 µm'den 1,735 µm'ye, nanoemülsiyonlarda ise 0,370 µm'den 0,125 µm'ye düşürmüştür. Kapsül oluşturma işlemi fenolik maddelerin saklama ve pişirme stabiliteilerini ve yapay mide ve bağırsak sıvısı içindeki salınımlarını olumlu olarak etkilemiştir. Keke kapsül eklemenin kalite üzerinde olumsuz etkisi bulunmamıştır. Ayrıca kapsül kullanımı fenolik maddelerin kötü tadını maskeleymiştir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Arap zımkı, kapsül oluşturma, fenolik madde, maltodekstrin, nanoteknoloji, ultrason, vişne
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- . Role of purificationof extract of sour cherry pomace on encapsulation efficiency:Nanoemulsion and microemulsion production. (Bildiri), 2- Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace. (Bildiri), 1- Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. (Makale/Kitap/Kitapta Bölüm), 2- Effects of degritting of Phenolic Extract from Sour Cherry Pomace on Encapsulation Efficiency: Production of Nanosuspension. (Makale/Kitap/Kitapta Bölüm)