T.C. ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KETEN TOHUMU VE ZENCEFİL OLEORESİNLERİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU VE ENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

Büşra ŞAHİN

TARIM VE YAŞAM BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI

ÇANKIRI

2019

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KETEN TOHUMU VE ZENCEFİL OLEORESİNLERİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU VE ENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

Büşra ŞAHİN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarım ve Yaşam Bilimleri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN

Bu tezin amacı, doğal antioksidan içeriği yüksek zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin ekstrakte edilerek fonksiyonel gıda olarak kullanılmak üzere ekmeğin içine yerleştirilmesidir. Bu amaç için zencefil ve keten tohumu kurutularak oleoresin ekstraktı elde edilmiş, ekstrakt enkapsüle edilmiş ve kapsüller karakterize edilmiştir. Kurutulup toz hale getirilen ürünlerden elde edilen ekstraktlarda; ekstraksiyon verimi, renk, antiradikal kapasite ve toplam fenolik miktarları belirlenmiştir. Daha sonraki aşamada, en uygun ekstraksiyon şartlarında elde edilen oleoresin ekstraktı daha stabil hale getirilmek için iyonik jelasyon yöntemi ile enkapsüle edilmiştir. Enkapsülasyon işleminde; farklı kitosan oranı, aljinat jeli konsantrasyonu ve emülsiyonun şırınga pompadan akış hızı parametreleri denenerek, stabilizasyonu ve kalitesi yüksek, tam küresel ve mikro boyutta kapsüller elde edilmesi hadeflenmiştir. Çalışmada ekstraksiyon ve enkapsülasyon koşulları üç faktör-üç seviye tepki yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Sonrasında bu parametrelerin mikrokapsüllerin boyutları, şekilleri, çekirdek sızıntısı ve stabiliteleri üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen kapsüller dondurularak kurutulmuştur. Kapsüllerin kameralı optik mikroskop görüntüleri ve SEM mikrografları incelenerek yorumlanmıştır. Belirlenen parametrelerin enkapsülasyon verimi, çekirdek sızıntısı ve ortalama kapsül çapı üzerine etkisi incelenmiş ve iyonik jelasyon yöntemi ile oleoresin enkapsülasyonu için optimum şartlar tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, tüketimi yaygın olmayan fakat biyoaktif bileşen yönünden çok zengin olan ürünlerden oleoresinler elde edilmiş ve bu oleoresinler gıda proseslerine eklenebilir saflıkta kapsüllenmiştir. Bu mikrokapsüller, model gıda olarak seçilen ekmeklere eklenerek; dayanıklı, raf ömrü boyunca kararlı, ısı, ışık ve oksijene karşı stabil halde fonksiyonel bir ürün olarak sunulmuştur.

2019, 123 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Enkapsülasyon, oleoresin, tepki yüzey yöntemi, zencefil, keten tohumu

ABSTRACT

Master's Thesis

MICROCAPSULATION OF FLAX SEED AND GINGER OLEORESINS AND OPTIMIZATION OF ENCAPSULATION PARAMETERS

Büşra ŞAHİN

Çankırı Karatekin University
Institute of Science
Department of Agriculture and Life Sciences

Supervisor: Prof. Dr. Seda ÖZGEN

The aim of this thesis is to extract ginger and flaxseed oleoresins with high natural antioxidant content and to put them into bread to be used as functional food. For this purpose, oleoresin extract was obtained by drying the ginger and flax seeds, the extract was encapsulated and the capsules were characterized. In extracts obtained from dried and powdered products; extraction efficiency, color, antiradical capacity and total phenolic contents were determined. In the next step, the oleoresin extract obtained under optimal extraction conditions was encapsulated by ionic gelation method in order for it to be more stable. In the encapsulation process; different chitosan ratio, alginate gel concentration and flow rate of the emulsion from syringe pump were tested and it was aimed to obtain full spherical and micro sized capsules with high stability and quality. In this study, extraction and encapsulation conditions were optimized using three factor-three level response surface method. Then, the effects of these parameters on the size, shape, core leakage and stability of microcapsules were examined. The resulting capsules were freeze-dried. The optical microscope images and SEM micrographs of the capsules were examined and interpreted. The effect of the determined parameters on encapsulation efficiency, core leakage and average capsule diameter were investigated and optimum conditions for oleoresin encapsulation were determined by ionic gelation method. As a result of the study, oleoresins were obtained from the products which are not widespread but rich in bioactive components and these oleoresins were encapsulated so that they were sufficiently pure to be used in food processes. These microcapsules were added to the bread selected as model food that are durable, stable throughout the shelf life, stable against heat, light and oxygen.

2019, 123 pages

KEYWORDS: Encapsulation, oleoresin, response surface methodology, ginger, flaxseed

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“Keten tohumu ve zencefil oleoresinlerinin mikroenkapsülasyonu ve enkapsülasyon parametrelerinin optimizasyonu” adlı bu çalışma 2017-2019 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne “Yüksek Lisans Tezi” olarak sunulmuştur. Bu çalışmanın amacı; güçlü antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasallardan yararlanılarak yaygın olarak tüketilen fırıncılık ürünlerinin geliştirilmesiyle birlikte enkapsülasyon teknolojisinin son üründeki biyoaktif bileşenlerin stabilizasyonu ve antioksidan aktiviteleri üzerine etkisinin incelenmesidir. Araştırmada biyoaktif bileşen olarak zencefil ve keten tohumu oleoresinleri kullanılmış ve yaygın olarak tüketilen ekmeğin fonksiyonel özellikleri geliştirilmiştir.

Tez çalışmasının her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen, sonsuz çabası ve yol gösterici yetkinliğiyle tez yazma sürecinde her zaman yanımda olan ve sonsuz emeği geçen değerli tez danışman hocam, Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN'e tüm samimiyetimle teşekkürü bir borç bilirim.

Çankırı Karatekin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden Dr. Öğr. Üyesi Emin Burçin ÖZVURAL'a ve Hitit Üniversitesi Polimer Mühendisliği'nden Doç. Dr. Bengi ÖZKAHRAMAN'a tez jürime katılma nezaketini gösterdiklerinden ötürü minnettarım.

Her zaman yanımda olup sonsuz destekleri ve güvenleri ile bana güç veren, karşılıksız sevgileri ve anlayışları ile beni her zaman destekleyen başta canım babam olmak üzere bütün aileme ve sevgili eşim Muhammed Sabri Şahin'e sonsuz teşekkür ederim.

Tez projesine maddi kaynak sağlayarak MF061218L02 kodu ile projeyi destekleyen Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederim.

Büşra ŞAHİN

Çankırı, Haziran 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
SİMGELER DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 4
2.1. Enkapsülasyon Yöntemi ve Özellikleri 4
2.1.1. Nanoenkapsülasyon 4
2.1.2. Mikroenkapsülasyon 5
2.1.3. Makroenkapsülasyon 6
2.2. Enkapsüle Edilen Bileşikler 6
2.3. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri 7
2.3.1. Karbonhidratlar 8
2.3.2. Proteinler 9
2.3.3. Gamlar 10
2.4. Enkapsülasyon Yöntemleri 12
2.4.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi 13
2.4.2. Dondurarak kurutma yöntemi 13
2.4.3. Emülsiyon 14
2.4.4. Ekstrüzyon 14
2.4.5. Kompleks koaservasyon (faz ayrımı) 15
2.4.6. Kokristalizasyon 16
2.4.7. Lipozom tutuklama 16
2.4.8. İyonik jelasyon (damlatma) yöntemi 17
2.5. Enkapsüle Edilen Materyaller 22
2.5.1. Zencefil 22
2.5.2. Keten tohumu 29
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER 35
3.1. Materyal 35
3.2. Yöntem 35
3.2.1. Hammadde kaynaklarından oleoresin elde edilmesi 37
3.2.2. Zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin mikroenkapsülasyonu 45
3.2.3. İstatistiksel analiz ve optimizasyon 53
3.2.4. Enkapsüle edilmiş zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin model gıda uygulamaları 53
4. BULGULAR 56
4.1. Başlangıç Ürün Analizleri 56
4.2. Çözgen Belirlenmesi 56
4.3. Zencefil ve Keten Tohumu Oleoresinlerinin Ekstrakte Edilmesi 57
4.3.1. Ekstraksiyon verimi 57
4.3.2. Toplam fenolik madde miktarı ve abts radikali temizleme gücü 62
4.3.3. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi 66
4.4. Zencefil ve Keten Tohumu Oleoresinlerinin Mikroenkapsülasyonu 70

4.4.1. Enkapsülasyon verimi 71
4.4.2. Ortalama kapsül çapı 75
4.4.3. Kapsüllerin çekirdek sızıntısı 80
4.4.4. Kapsüllerin optik mikroskop görüntüleri 85
4.4.5. Kapsüllerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri 90
4.5. Kapsüllerin Model Gıda Uygulamaları 91
4.5.1. Ekmeklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi 92
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 94
KAYNAKLAR 103
ÖZGEÇMİŞ 112

SİMGELER DİZİNİ

Na-Alg	Sodyum Aljinat
$CaCl_2$	Kalsiyum Klorür
Na_2CO_3	Sodyum Karbonat
$K_2S_2O_8$	Potasyum Persülfat
CS	Kitosan
OLE	Oleoresin
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
D_n	Ortalama partikül çapı
N_i	Partikül sayısı
dk	Dakika
rpm	Devir/Dakika
RSM	Response Surface Methodology (Tepki Yüzey Metodu)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
°	Derece
ºC	Santigrat Derece
%	Yüzde
vd	ve diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Jelasyon; kalsiyum ile sodyum aljinat arasındaki çapraz bağlanma mekanizması (Acosta 2009).....17
Şekil 2.2 İyonik jelasyon yönteminde kullanılan damlatma sistemi (Matalanis *et al.* 2011 18
Şekil 2.3 Damlatma ucunda oluşan kapsül şekilleri ve mesafe ilişkisi (Davarcı 2012) (ms: milisaniye) 18
Şekil 2.4 Literatürde kapsül şekillerini tanımlayan terimler (Davarcı 2012) 19
Şekil 3.1 Bitkisel hammadde kaynakları.....35
Şekil 3.2 Kullanıma hazır halde hammaddeler 38
Şekil 3.3 Ekstraksiyon aşamaları 42
Şekil 3.4 Farklı Na-Alg konstantrasyonlarında zencefil ve keten tohumu oleoresin emülsiyonları 47
Şekil 3.5 Titreşimli dağıtma ünitesi ve deney düzeneği 51
Şekil 3.7 Ekmek hamurlarına eklenen kapsüller.....54
Şekil 3.8 Kapsül eklenmiş ve 10 dakika fermentasyona bırakılmış ekmek hamurla 55
Şekil 4.1 Farklı çözgenlere ait ekstraktlar ve elde edilen oleoresin.....56
Şekil 4.2 Farklı parametrelerin zencefil oleoresinlerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi.....59
Şekil 4.3 Farklı parametrelerin keten tohumu oleoresinlerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi 61
Şekil 4.4 fenolik Farklı ekstraksiyon parametrelerinin zencefil oleoresinlerinin toplam madde (mg GAE /1g toz zencefil) miktarı üzerine etkisi 63
Şekil 4.5 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin keten tohumu oleoresinlerinin ABTS radikali temizleme (%) gücü üzerine etkisi 65
Şekil 4.6 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin zencefil oleoresinlerinin antioksidan aktivitesi (%) üzerine etkisi 67
Şekil 4.7 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin keten tohumu oleoresinlerinin antioksidan aktivitesi (%) üzerine etkisi.....69
Şekil 4.8 kitosan Zencefil oleoresinlerininin enkapsülasyonunda sodyum-aljinat oranı, oranı ve akış hızının enkapsülasyon verimi (%) üzerine etkisi 72
Şekil 4.9 Keten tohumu oleoresinlerininin enkapsülasyonunda sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının enkapsülasyon verimi (%) üzerine etkisi.....74
Şekil 4.10 sodyum Zencefil oleoresin kapsüllerinin ortalama kapsül çapı (µm) üzerine aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi 77
Şekil 4.11 Keten tohumu oleoresin kapsüllerinin ortalama kapsül çapı (µm) üzerine sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi 79
Şekil 4.12 Zencefil oleoresin kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine..... sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi 82
Şekil 4.13 Keten tohumu oleoresin kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine ..... sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi 84
Şekil 4.14 Zencefil yüklü ıslak kapsüllerin kameralı mikroskop görüntüleri.....86
Şekil 4.15 Keten tohumu yüklü ıslak kapsüllerin kameralı mikroskop görüntüleri ...87
Şekil 4.16 Oleoresin yüklü aljinat-kitosan (çift katlı) kapsüllere ait görüntüler.....89
Şekil 4.17 Zencefil oleoresin yüklü liyofilize kapsüllerin farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görüntüleri 90

Şekil 4.18 Keten tohumu oleoresin yüklü liyofilize kapsüllerin farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görüntüleri 91
Şekil 4.19 Zencefil ve Keten tohumu oleoresini yüklü kapsüllerle zenginleştirilmiş ekmekler.....92

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Enkapsülasyon çalışmalarına örnekler 20
Çizelge 2.2 Zencefilin enkapsüle edildiği çalışmalara örnekler 25
Çizelge 2.3 Keten tohumunun kapsüllendiği çalışmalara örnekler 31
Çizelge 3.1 Tez planı ve uygulama akım şeması 36
Çizelge 3.2 Belirlenen ekstraksiyon koşulları 39
Çizelge 3.3 Ekstraksiyon aşaması için oluşturulan Üç Faktör-Üç Seviye Box-Behnken tepki yüzey deneme deseni 40
Çizelge 3.4 Enkapsülasyon aşaması için RSM deneme deseni değişkenleri 50
Çizelge 3.5 Enkapsülasyon aşaması için oluşturulan Üç Faktör-Üç Seviye Box Behnken tepki yüzey deneme deseni 49
Çizelge 3.6 Ekmek formülasyonunda kullanılan malzemeler ve miktarları 53
Çizelge 4.1 Proses değişkenlerinin zencefil ekstraksiyon veriminde meydana gelen değişime olan etkisine ait varyans analiz sonuçları 58
Çizelge 4.2 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten tohumu ekstraksiyon verimi değeri (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 60
Çizelge 4.3 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) zencefil toplam fenolik madde (mg GAE /1g toz zencefil) miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 62
Çizelge 4.4 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten ..... tohumu ABTS radikali temizleme (%) değeri üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 64
Çizelge 4.5 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) zencefil antioksidan madde miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz ..... sonuçları 66
Çizelge 4.6 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten ..... tohumu antioksidan madde miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 68
Çizelge 4.7 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 71
Çizelge 4.8 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 73
Çizelge 4.9 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil ortalama kapsül çapı (µm) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 75
Çizelge 4.10 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu ortalama kapsül çapı (µm) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 78
Çizelge 4.11 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil kapsüllerinin çkirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 80

Çizelge 4.12 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu kapsüllerinin çkirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları 83
Çizelge 4.13 Fonksiyonel ekmeklerin antioksidan aktiviteleri 93

1. GİRİŞ

Günümüzde; hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde doğal yollarla alınan birtakım gıdaların etkili olduğunun bilimsel olarak ispatlanması tüketicilerin bu gıdalara olan ilgisini ve bu gıdaların önemini arttırmıştır. Bu talebi karşılayabilmek için gıda sektörü yeni ürün arayışlarına girmiş ve kaliteli, besin değeri yüksek, uzun raf ömürlü fonksiyonel özellikleri mevcut olan gıdaların geliştirilip çeşitlendirilmesi üzerine çalışmalarına hız kazandırmıştır. Bunun sonucunda fonksiyonel gıdalar ortaya çıkmıştır.

Fonksiyonel gıdalar, insan vücudunun temel beslenme gereksinimlerini karşılaması ile birlikte insan fizyolojisinde olumlu etkiler meydana getiren, böylece profilaktik olarak kullanılan ve böylece daha sağlıklı bir yaşama sahip olma noktasında önemli rol alan gıdalardır. Bu gıdalar doğal besin maddesi olabildiği gibi fonksiyonel bir besin ögesiyle zenginleştirilmiş veya modifikasyona tabi tutulmuş bir besin de olabilir.

Bitki ve baharatlardan; kendine özgü tat ve aromaları, vücudumuzdaki radikallere karşı koruyucu ve antimikrobiyal nitelikleri nedeniyle daha geniş biyoaktif etkinliğe sahip sarımsak, kekik, kırmızıbiber, zencefil, keten tohumu vb. gıda endüstrisinde fonksiyonel ürünlerin üretiminde kullanılabilecek ingredientlerdendir. Bu gibi terapötik özellik gösteren birçok bitki ve baharat türünden eski çağlardan beri halk ilacı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlanılmıştır. Günümüzde ise bu bitki ve baharatlar tıp, eczacılık, gıda endüstrisi ve kozmetik sektöründe sıklıkla kullanılmaktadır.

Antioksidan değeri yüksek, Asya kökenli bir bitki olan zencefil, vücutta serbest radikallerin oluşumunu engellemektedir. Bu nedenle, tıbbi açıdan giderek daha değerli hale gelmektedir. Zencefilin aktif maddelerinden olan 6-gingerol ve 6-paradol oleoresinleri; antioksidan, antikanser, antidiyabetik etki göstermektedir. Tümör büyümesini önlediği, kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlattığı, migren, romatizma, mide krampları ağrılarını azalttığı, grip ve nezle gibi hastalıklara karşı bakteri önleyici etki göstermektedir.

Bir diğer antimikrobiyal ve antioksidan bitki olan ve Mısırlılardan beri tarımı yapılan keten tohumunun benzersiz kompozisyonuna bakıldığında ise fonksiyonel gıda ürünleri olarak kullanılması konusunda tüketiciler tarafından ilgi artmaktadır. Keten tohumu insan sağlığına faydalı önemli fenolik ve antioksidan maddeler içermektedir. Bu açıdan incelendiğinde keten tohumu, proteince zengin bir kaynak olmasıyla beraber omega-3 yağ asitlerinden olan α-linolenik asit ve lignan, flavonoid, tokoferoller ve fenolik asitler gibi fitokimyasalları içerir. Keten tohumunda bulunan doğal antioksidanların; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, inflamatuar (iltihaplı) hastalıklar ve Alzheimer gibi dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını azalttığı, sindirim sistemine yardımcı olduğu ve metabolizmayı güçlendirdiği gözlemlenmiştir.

Çeşitli gıda ürünlerinin besin ve tat yönünden zenginleştirilmesi amacıyla fonksiyonel gıda bileşenleri gıda ürünlerine doğrudan katılmaktadır. Fakat bu fonksiyonel bileşenler yeterince stabil olmadıkları için içerisinde bulundukları gıdaların işlenmesi ve saklanması sırasında değişime ve bozulmalara maruz kalabilmektedir. Bununla beraber fonksiyonel bileşenler, içerisine konuldukları gıdaların kendi bileşenleriyle etkileşime girerek bu gıdalar üzerinde de değişikliklere sebep olabilmektedir.

Yararlı bileşenlerin meydana getirdiği değişim ve bozulmaların önüne geçmek için enkapsülasyon yöntemi ortaya çıkmıştır. Enkapsülasyonun kelime anlamı değerli bir maddeyi kaplayıcı bir madde içerisine yerleştirmektir. Teknik olarak ise bir gıdanın biyoaktif (faydalı) bileşeninin ayrıştırılarak farklı gıdaların içerisinde kullanımına olanak sağlayacak şekilde dayanıklı bir kaplama materyali ile dışının kaplanarak kapsüller haline getirilmesi işlemidir.

Enkapsülasyon, kapsüllenecek madde ile çevre arasında bir bariyer oluşturarak biyoaktif bileşenleri ortam ısısı, güneş ışığı, havadaki oksijen ve metal iyonları gibi çevresel etkenlere karşı korur. Bu yöntemle üretilen mikrokapsüller biyoaktif bileşenler açısından zengin olmasının yanında kullanımının pratik olması, depolama ve taşıma gibi işlemlerin daha az masraf gerektirmesi, her zaman ve kolay bulunabilmesi gibi diğer avantajlara sahip olmaktadır.

Biyoaktif bileşenleri bir tanecik içerisine hapsedip daha sonra uygun ortamlarda kullanılabilir kılması enkapsülasyon yönteminin farklı uygulama alanları bulunan ve sürekli gelişen bir teknoloji olmasını sağlamıştır. Enkapsülasyon gıda sektöründe özellikle; fırıncılık, dondurma, şekerleme, unlu mamüller, fermente ürünler, süt ve süt ürünleri ile meyve suyu ve gazlı içecekler alanlarında kullanılır hale gelmiştir.

Gıda sektöründe tüketiciler tarafından en sık kullanılan ekmek, yaygın olarak üretilen ve tüketilen unlu mamuldür. Dünyanın pek çok bölgesinde beslenme düzeninin başlıca elemanıdır. Bu nedenle, biyoaktif bileşiklerin ekmek formülasyonuna enkapsülayon yöntemi ile yerleştirilerek daha çok sayıda insanın biyoaktif bileşikleri tüketmesini sağlamak mümkündür.

Bu tez çalışmasının amacı, doğal antioksidan içeriği yüksek olan zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin ekstrakte (ayrıştırma) edilerek fonksiyonel gıda olarak kullanılması için ekmeğin içine yerleştirmektir. Böylece kapsüllerin optimizasyonunu ve fonksiyonel gıda olarak insanlar tarafından ekmek içerisindeki kapsüllerin tüketilmesiyle faydalı bileşenlerin insan vücuduna alınmasını sağlamaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Enkapsülasyon Yöntemi ve Özellikleri

Enkapsülasyon; gıdalar içerisinde katı, sıvı veya gaz halinde bulunan bileşenlerinin, çeşitli enzimlerin, hücrelerin ve mikroorganizmaların karbonhidrat veya protein özelliğindeki bir kaplama maddesi ile kaplanması işlemidir (Madene *et al.* 2006). Kaplanan maddenin üzerinde oluşturulan tabaka kapsül membranı, kabuk veya duvar materyali; kapsülün içinde kalan madde ise dolgu, çekirdek veya iç faz olarak adlandırılır (Young *et al.* 1993).

Gökmen, Sarıçoban, Palamutoğlu (2012) boyut büyüklüklerine göre; enkapsülasyon çeşitlerini makroenkapsülasyon (5,000 μm'den büyük), mikroenkapsülasyon (0.2-5,000 μm) ve nanoenkapsülasyon (0.2 μm'den küçük) şeklinde gruplandırmışlardır.

Enkapsülasyon teknolojisi günümüzde gıda endüstrisi, eczacılık, kimya, kozmetik ve boya gibi sektörlerde kullanılmaktadır (Augustin *et al.* 2001, Heinzen 2002).

Enkapsülasyonun gıda sektöründe kullanım amaçları (Özgen 2014):

- Biyoaktif veya faydalı bileşiklerin çevre ile etkileşimini azaltmak,
- Kolay taşınmalarını sağlamak,
- Kontrollü salınımını sağlamak,
- Daha az kullanılması gereken durumlarda seyreltilmesini sağlamak,
- Çevreye taşınma hızını düşürmektir.

2.1.1. Nanoenkapsülasyon

Nanoenkapsülasyon, 1-100 μm çapa sahip ya da bu çapa düşürülebilen bileşenlerin, organik polimer şeklinde bir kaplama materyali ile kaplanarak daha dayanıklı hale getirilmesi yöntemidir (Gökmen vd. 2012).

Nanoenkapsülasyon işlemi, üzerinde çalışılacak bileşenin nano boyutta enkapsüle edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Nanoenkapsülasyon işlemi, bileşenleri oksidasyondan koruma, kontrollü salınım, tat ve biyoyararlılık, enkapsülasyon etkinliğini arttırması gibi faydalar sağlamaktadır (Xiao *et al.* 2013).

2.1.2. Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon ürünleri basınca duyarlı karbonsuz kopya kağıdı üretilmesi çalışmasının sonucu olarak 1950'lerde ortaya çıkmıştır (Green and Scheicher 1955). Özellikle son yıllarda fonksiyonel gıdaların (besinlerin yanı sıra sağlığa fayda sağlayan gıdalar) tüketiciler tarafından önem kazanması ile mikroenkapsülasyon teknolojisi gıda endüstrisi için daha önemli hale gelmiştir (Kunz *et al.* 2003).

Mikroenkapsülasyon en basit ifade ile; gıdaların içerisinde bulunan değerli biyoaktif bileşenlerin (0.2-5,000 μm boyutunda), etrafının organik bir materyal ile kaplanarak ürünlerin etkilerini ve raf ömürlerini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (Koç vd. 2010). Küre formunda olan mikrokapsüllerin çevresinde homojen kaplama materyali (duvar) yer alır. Mikrokapsüllerin görünüşleri; içerisindeki besin bileşenlerinin özelliklerine, kaplama materyalinin yapısına ve mikroenkapsülasyon işlemine göre değişiklik göstermektedir (Gharsallaoui *et al.* 2007).

Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde birçok kullanım amacı vardır. Bunlar;

- Kaplanacak biyoaktif besin bileşenlerinin dış etkenlere karşı korunması (ısı, ışık, nem ve hava gibi),
- Buharlaşarak etkinliğinin azalmasının önlenmesi,
- Fiziksel özelliklerinin korunması,
- Besin bileşeninin taşınmasının kolaylaştırılması,
- Uygun ortamda ve zamanda çalışmasının kolay olması,
- Kaplanacak bileşenin tat ve kokusunun muhafaza edilmesi,
- Biyoajtif bileşenlerin farklı kimyasallarla reaksiyona girmesinin önlenmesidir. (Desai and Park 2005).

2.1.3. Makroenkapsülasyon

Makroenkapsülasyon, bir difüzyon çemberi veya kaplama materyali içerisinde bileşenlerin büyük bir kitle halinde (5,000 μm'den büyük) kaplanması işlemine dayanmaktadır (Sakata *et al.* 2004). Makroenkapsülasyon işlemi, genellikle zararlı atık maddelerin miktarının azaltılması için kullanılan bir teknolojidir. Makrokapsüllerin kaplanmasında hava veya su geçirmeyen bir kaplama materyali kullanılması gerekmektedir. Ancak makrokapsülün çevresel etkenlerle bozulabilmesi veya sızıntı halinde suya karışabilmesi sebebiyle, sadece makrokapsülleme işleminin yeterli olmadığı görülmüştür (Lagrega *et al.* 1994).

2.2. Enkapsüle Edilen Bileşikler

Biyoaktif besin bileşenleri, istenilen amaca yönelik olarak enkapsüle edilerek korunabilir (Çoruhli vd. 2013). Enkapsülasyon uygulamalarında sıklıkla kullanılan biyoaktif besin bileşenleri sıralanmıştır: (Zuidam *et al.* 2010)

- Vitaminler ve mineraller (A, D, E, K, B ve C vitaminleri, Ca, Mg, Fe gibi mineraller)
- Organik asitler (mono, di, trikarboksilli asitler)
- Probiyotik mikroorganizmalar (*Laktobasillus sp, Bifidobakterium sp*...)
- Enzimler
- Proteinler
- Tatlandırıcılar, koruyucular, renklendiriciler, aromalar
- Karotenoidler (likopen, β-karoten...)
- Antioksidanlar (tokoferoller, flavonoidler, polifenoller...)
- Fenolik bileşikler (ligninler, fenolik asitler, antosiyaninler ve flavonoidler...)
- Esansiyel yağ asitleri (omega-3 yağ asitleri, araşidonik asit...)

2.3. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri

Kaplama materyalinin kompozisyonu kaplanacak olan besin bileşeninin veya son ürünün fonksiyonel özelliklerine direkt olarak etki etmektedir (Özgen 2014).

McClements (2009) uygun bir kaplama materyalinin aşağıdaki özellikleri taşıması gerektiğini belirtmektedir:

- Kaplama materyali yüksek konsantrasyon kullanıldığında reolojik (gıda maddelerinin akışkanlığı ve deformasyonu) veya fiziksel özellikleri iyi olmalı ve kapsülleme işlemi sıtasında kolay bir şekilde çalışılabilmelidir.
- Emülsiyon ve dispersiyon özellikte olup emülsiyon stabilitesinin yüksek olması gerekir.
- Enkapsülasyon yöntemine göre belirlenen çözücü ile çözünebilmeli, çözücü materyalin yapısı ile uyumlu olmalı, ürün özelliklerinde hiçbir değişime sebep olmamalıdır.
- Ekonomik olmalıdır.
- Çevresel etkenlere karşı dayanıklı olmalıdır.

Bu özelliklerin sağlanması tek bir kaplama materyali ile zordur. Bu nedenle farklı kaplama materyalleri kullanılarak bu durumun önüne geçilmesi önerilmektedir. Buna karşın fiziksel, kimyasal ve reolojik özellikleri iyileştirilmiş modifiye kaplama materyalleri bulunmaktadır. (Desai and Park 2005).

Mikroenkapsülasyon işleminde kaplama materyalleri olarak genellikle aşağıdaki materyaller tercih edilmektedir (Shahidi and Han, 1993):

- **Karbonhidratlar;** glikoz, laktoz, maltoz, nişasta, pullulan, sakkaroz ve maltodekstrin.

- **Proteinler;** peynir altı suyu proteinleri, jelatin, soya protein izolatları, hemoglobin, kazein ve kazeinatlar ve gluten.

- **Gamlar;** kitosan, aljinat, pektin, κ-karragenan, arabik gamı (akasya gamı).

- **Selülozlar** metilselüloz, karboksimetilselüloz, etilselüloz, selüloz asetat-fitalat, selüloz asetat-bütilat-fitalat, nitroselüloz asetilselüloz.

- **İnorganik maddeler;** kil, kalsiyum sülfat ve silikatlar.

- **Lipidler;** balmumu, arı mumu, monogliseritler, digliseritler, katı ve sıvı yağlar, parafin, tristearin ve stearik asit.

2.3.1. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, yüksek derişimlerde (konsantrasyon) kullanıldığında; viskozitelerinin düşük olması, iyi çözünür özelliklerinin olması, ekonomik olması ve birçok gıdada bulunmaları nedeni ile kaplama materyali olarak tercih edilmektedir. Ancak Mikroenkapsülasyon çalışmalarında karbonhidratların emülsifikasyon özelliklerinin az olması veya olmaması nedeni ile proteinlerle birlikte kullanımı daha yaygındır (Bruschi *et al.* 2003).

Karbonhidratların kaplama materyali olarak kullanıldığı çalışmalarda enkapsülasyon yöntemlerinden genellikle püskürtmeli kurutma yöntemi kullanılmaktadır. Karbonhidratlar, kaplama materyali ile çekirdek materyali arasında meydana gelen yapışma kuvvetini arttırarak yapısal olarak mikrokapsüllerin küresel ve pürüzsüz oluşumunu sağlar. (Bruschi *et al.* 2003). Mikroenkapsülasyon çalışmalarında karbonhidratlardan genellikle nişasta, pullulan, mısır şurubu tozu ve maltodekstrin kullanılmaktadır (DeZarn 1995, Kenyon 1995).

Nişasta; birçok glikoz molekülünün glikozidik bağlarla bağlanmasıyla meydana gelen bitkisel, doğal veya sentetik polisakkarittir. Maliyetinin ucuz, kullanımının kolay, yapısının biyouyumlu bir materyal olması ile avantajlı olması sebebi ile oksidasyondan kolayca etkilenen ve uçucu özellikteki biyoaktif bileşenlerin mikroenkapsülasyonunda

kaplama materyali olarak genellikle çalışmalarda tercih edilmektedir (Golovnya *et al.* 1998, Thomas and Atwell 1999, Glenn and Stern 1999, Schwarz 2006).

Pullulan; kapsüller üzerinde kuvvetli bir film oluşturarak oksijen geçirgenliğini azaltır. Bu sebeple oksijene karşı duyarlı olan bileşenler, kaplama maddesi olarak pullulan mikroenkapsülasyonda kullanılmaktadır (Yuen 1974, Deshpande *et al.* 1992).

Sakkaroz, maltoz, glukoz, laktoz; oluşturdukları yüzey membranlarının geçirgenlikleri ve nem içerikleri az olduğundan difüzyona karşı oldukça dirençlidirler. Bu nedenle uçucu bileşenlerin kaplanmasında kullanılmaktadır. (Menting and Hoogstad 1967, Flink and Karel 1970).

Maltodekstrin; mısır nişastasının asidik veya enzimatik reaksiyonla, kısmi hidrolizi sonucunda elde edilen yüzeyaktif bileşik olup çözeltileri; düşük viskoziteye sahip olduğu halde emülsifiye edici ajan olarak kullanılması tavsiye edilmemektedir. (Hogan *et al*. 2001). Bu sebeple mikroenkapsülayon çalışmalarında genellikle tek başına kullanılmamakta ve yardımcı kaplama materyali olarak kullanılmaktadır. Vitaminler ve minerallerin, katı ve sıvı yağların, renk maddelerinin mikroenkapsülasyonu işleminde Maillard reaksiyonunun hızını düşürmek için kullanılmaktadır (George *et al.* 2006, Wang *et al.* 2002).

2.3.2. Proteinler

Proteinlerin, fonksiyonel özelliklerinin iyi olmasından ötürü mikroenkapsülasyon işlemi için kullanışlı bir kaplama materyalleri olarak kullanılmaktadır. Özellikle lezzet bileşenlerinin korunmasını sağlamaktadırlar (Landy *et al.* 1995). Genellikle püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde protein kaplama materyali olarak peynir altı suyu proteinleri, jelatin, kazein ve kazeinatlar tercih edilmektedir.

Yağsız sütte bulunan kazeinin herhangi bir yolla uzaklaştırılması işleminden sonra geriye kalan kısım süt serumu olarak adlandırılır. Peynir üretimi sırasında süt

proteinlerindeki yaklaşık %20'lik kısımda oluşan ve pek çok fraksiyondan oluşan serum proteinleri peynir suyunda bulunmalarından ötürü peynir altı suyu proteinleri de denilmektedir (Keogh *et al.* 2001). Peynir altı suyu proteinleri çok iyi emülsifiye edici ajan olması özelliği ile beraber oksidasyona karşı da bariyer oluşturur (Kim and Morr 1996, Keogh and O'Kennedy 1999). Young *et al. (*1993) laktoz ile birlikte kullanıldığında enkapsülayon veriminin artacağını belirtmiştir. Peynir altı suyu proteinleri, sıcaklığa karşı oldukça hassas olduklarından kaplama materyali olarak tercih edilmesi açısından olumsuz etki göstermektedir (Sliwinski *et al.* 2003).

Jelatin; emülsiyon özellikte, sağlam yapıda, suda çözünebilir ve yenilebilir olması sebebiyle püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon için iyi bir kaplama materyalidir.

Kazein ve kazeinatlar; sadece sütte görülüp süt proteinlerinin yaklaşık %80'ini oluştururlar. Peyniraltı suyu proteinlerine göre ısıya karşı çok daha duyarlıdırlar. Enkapsülasyon verimleri de daha yüksektir. Yüksek yüzeyaktif özelliğe sahip ve emülsifiye edici ajan olmasından dolayı püskürtmeli kurutma yöntemiyle enkapsülasyon işleminde sıklıkla kullanılmaktadır (Faldt and Bergenstahl 1996, Fang and Bhandari 2010).

2.3.3. Gamlar

Gamlar; tatsız olmalarına rağmen gıdaların tatlarına ve lezzetine direkt olarak etki etmektedirler. Gamlar viskozitelerinden ve difüzyonu engelledeklerinden tatlılığın azalmasına neden olurlar (Godshall 1997).

Kıvam arttırıcı, jelleştirici, stabilize edici ve süspansiyon oluşturucu özellikleri nedeniyle gıdaların kalitesini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak için enkapsülasyon çalışmalarında kaplama materyali olarak kullanılır.

Mikroenkapsülasyon çalışmalarında, arabik gamı olarak da adlandırılan akasya gamının yapısında proteinlerin bulunması, emülsifiye edici özelliğinin olması, yüksek çözünür

özellikte olması, düşük viskoziteye sahip olması ve uçucu bileşenlerin tutulmasını sağlaması nedeniyle kaplama materyali olarak tercih edilmektedir (Madene *et al.* 2006). Özellikle yağların enkapsülasyonu işleminde farklı pH değerlerinde birçok yağ çeşidi ile stabil bir yapı oluşturduğu için çok yaygındır (Kenyon 1995, Krishnan *et al.* 2005). Arabik gamı ile oluşan membranın yarı geçirgen özellikte olması oksidasyona karşı direncini azaltmaktadır. Dolayısıyla oksijen geçişi görülmekte ve çekirdek materyalin raf ömrü direkt olarak olumsuz yönde etkilenmektedir. Bunun yanısıra pahalı olması sebebinden ötürü gıda sektöründe kullanımı kısıtlıdır. Bu sebeple, bu materyalle birlikte kullanılabilecek başka kaplama materyalleri ile birlikte kullanılmaktadır.

Mesquite gamı; alternatif kaplama materyali olarak çok iyi bir enkapsülasyon materyalidir (Beristain *et al.* 2001).

Pektin; bitki orijinli lineer polimerdir. Mide ve ince bağırsakta bozulmadığından enkapsülasyon için uygundur. Suda yüksek oranda çözünülürlüğü sebebiyle tek başına kullanımları sınırlı olup bu nedenle çoğunlukla katyonlarla veya polimerlerle beraber kullanılarak daha yavaş çözünmesi sağlanmaktadır (Vos 2010).

Aljinat; kahverengi deniz yosunlarında görülen yapısal bir iyonik polisakkarit maddedir (Fang *et al.* 2008). Toksik olmayan, kolayca bozunabilir ve biyouyumlu bir bileşen olup gıda sanayiinde kıvamı arttırıcı, jel oluşturucu ve emülsiyonu stabilize edici etkisinden ötürü enkapsülasyon teknolojisinde geniş kullanım alanları bulunmaktadır (Rinaudo 2008) Ayrıca enkapsülasyon çalışmalarında aljinatın, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'nce (EFSA) kaplama maddesi olarak kullanımı onaylanmıştır.

Kitosan; deniz kabuklularının (yengeç, midye, karides vs.) dışındaki iskeletinin, böceklerin kütikulasının ve mantarların hücre duvarının yapıtaşı olan kitinden elde edilen katyonik doğal bir polisakkarittir (Robert 1992). Beyaz renkli, tatsız, kokusuz, saydam partikül veya toz formunda bulunabilen, sindirim enzimleri tarafından hidroliz edilemeyen bir materyal olmasının yanı sıra nem tutma, sağlam film oluşturma, çöktürme, enzim ve mikroorganizma inhibe etme gibi çeşitli fraksiyonlara da sahiptir (Han *et al.* 1999, Wuolijoki *et al.* 1999, No *et al.* 2006). Bu özelliklerinden dolayı son

zamanlarda enkapsülasyon çalışmalarında kullanımı artmıştır (Taqieddin and Amiji 2004).

Kitosan gıda sanayiinde ve bilimsel çalışmalarda yaygın olarak film şeklinde kullanılmaktadır. Gıdaların kitosan bazlı filmle kaplanması sonucunda ambalaj içerisindeki kısmi oksijen basıncını azaltması, antimikrobiyal ve antioksidan özelliği nedeni ile gıdalarda kaplamalar için ideal bir materyaldir. Özellikle meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatılmada kullanılmaktadır. Gıda ile bulunduğu ortam arasındaki nem alışverişi sırasında sıcaklık kolayca kontrol altında tutulmaktadır. Böylece, solunum ve enzimatik esmerleşme veya maillard reaksiyonu da (gıdaların ısı kaynağı ile temas eden kısımlarında gözlenen kahverengileşme ve lezzet artışına yol açan reaksiyon) kontrol edilebilmektedir. Ayrıca kitosan; tekstür ayarlanması, renk stabilizasyonu, doğal aromanın korunması gibi konularda da kullanılmaktadır (Quattara *et al.* 2000, Jeon *et al.* 2000, Kurt ve Zorba 2005, Sun *et al.* 2008).

Kitosan, aljinatla birlikte biyouyumlu olması, toksik olmaması ve kolay etkileşime girmesi veya biyouyumlu özelliklerde olması nedeniyle gıda ve eczacılık sektöründe kullanılan en iyi kaplama materyalleridir. (Abreu *et al.* 2008, Lee *et al.* 2012).

2.4. Enkapsülasyon Yöntemleri

Enkapsülasyon işleminde en sık kullanılan yöntemler şunlardır:

1. Püskürtmeli Kurutma
2. Dondurarak Kurutma
3. Emülsiyon
4. Ekstrüzyon Oluşturma
5. Kompleks Koaservasyon (Faz Ayrımı)
6. Kokristalizasyon
7. Lipozom tutuklama
8. Damlatma (İyonik jelasyon) yöntemi

2.4.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi

Enkapsülasyon teknolojisinde püskürtmeli kurutma, en eski ve en yaygın yöntem olup ucuz, kolay bir yöntem olması, işlem sonucunda sağlam kalitede kapsüller elde edilmesi nedeniyle gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Gouin 2004). Püskürterek kurutma yönteminde proteinler, karbonhidratlar, gamlar ve selülozlar kaplama materyalleri olarak kullanılabilmektedir (Gharsallaoui *et al*. 2007).

Püskürtmeli kurutma yöntemi, kaplanılacak biyoaktif bileşeni içeren çözelti veya dispersiyonun atomizasyonunda sıcak-soğuk hava akışı aracılığıyla, temas eden damlacıkların kurutulması temeline dayanmaktadır (Gonnet *et al*. 2010).

Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemindeki aşamalar; dispersiyon veya emülsiyon hazırlama, dispersiyonun homojenizasyonu, atomizasyon ve kurutma olarak belirlenmiştir (Shahidi and Han 1993).

Suda çözünebilen kaplama materyallerinin sınırlı olması ve ısıya duyarlı biyoaktif bileşenlerin yüksek sıcaklıkta kolaylıkla bozunması püskürtmeli kurutma yönteminin dezavantajlarındandır. (Gouin 2004). Enkapsüle edilen kapsüllerin boyutu; biyoaktif bileşenin yüzey gerilimine, viskozitesine, enjektördeki basıncın değişmesine ve püskürtme hızına bağlı olarak değişmektedir. Kaplama materyali ise, biyoaktif bileşeni koruyabilmeli, suda çözünülürlüğü yüksek oranda olmalı, difüzyon gücü, camsı geçiş özelliği, kristalitesi, iyi film oluşturmadaki kapasitesi, emülsiyon oluşturma özelliği iyi ve maliyeti düşük olmalıdır (Zuidam 2010).

2.4.2. Dondurarak kurutma yöntemi

Enkapsülasyonda dondurarak kurutma yöntemi, ürünün dondurulması ve daha sonra oluşan buz kristallerinin süblimasyonla üründen uzaklaştırılması temeline dayanmaktadır. Dondurarak kurutma yöntemindeki aşamalar; dondurma, temel kurutma ve ikinci kurutmadır. Dondurma aşamasında; derin dondurucuda veya şoklama

yöntemiyle gıdadaki su, buz kristalleri formuna dönüştürülür. Temel kurutma aşamasında; buz kristallerinin süblimasyonla üründen uzaklaştırılması, ikinci kurutma aşamasında ise gıdada bulunan bağlı suyun üründen uzaklaştırılması sağlanır (Toledo 2004).

Aromanın korunması, elde edilen ürünün fiziksel ve yapısal özelliklerinin iyi olması, çözünen biyoaktif maddelerin gıda içerisindeki kayıplarının çok az olması dondurarak kurutma yönteminin avantajlarındandır (Gouin 2004). Enerji tüketiminin yüksek olması, işlem süresinin zaman alması, pahalı bir yöntem olması ve delikli yapıda kapsüller üretilmesi ise dondurarak kurutma yönteminin dezavantajlarındandır (Zuidam 2010).

2.4.3. Emülsiyon

Emülsiyon tekniği, stabil ve birbiri içerisinde karışmayan iki maddenin, birisinin öteki içinde çok küçük damlalar halinde dağıtılması prensibine dayanmaktadır. Hazırlanan karışım emülsiyon oluşturabilmesi için homojenize edilir. Emülsiyonu oluşturan iki madde birbiri ile karışmayan cinsten olduğundan, birinin diğerinin içerisinde küçük jel haline gelene kadar bekletilmesi gerekir (Zuidam and Shimoni 2010). Emülsiyonun içerisindeki mikrokapsüllerin küçük boyutta olması için, içerisindeki partiküllerin 0.1-100 μm boyutlarına gelene kadar homojenize edilmesi gerekir. Ortaya çıkan mikrokapsüller sıvı çözeltiden filtrasyon yöntemi ile ayrılmaktadır. Emülsiyon yönteminde kaplama materyali olarak kitosan, keçiboynuzu zamkı, κ-karragenan, selüloz asetat fitalat, aljinat ve jelatin kullanılmaktadır (Krasaekoopt *et al.* 2003).

2.4.4. Ekstrüzyon

Ekstrüzyon tekniği, uçucu ve stabil olmayan tat ve aroma bileşenlerinin, karbonhidratın camsı matriksi içerisinde oksidasyona dayanıklı kapsüller haline getirilmesi temeline dayanmaktadır (Gouin 2004, Reineccius 1991). Ekstrüzyon genel olarak aroma maddelerinin kaplanmasında yararlanılan bir yöntemdir (Desai and Park 2005). Ekstrüzyon tekniğinin en önemli avantajı biyoaktif bileşenlerin oksidasyonunu

önleyerek ürünlerin raf ömrünün uzatılmasını sağlamaktır. En önemli dezavantajları ise, kullanılabilecek kaplama materyalinin sınırlı olması ve 500-1000 μm büyüklüğündeki kapsüllerin oluşturulmasının zaman alması nedeniyle geniş çaplı üretimlerde kullanılmasının zorluğudur (Gouin 2004). Ekstrüzyon tekniğinde kaplayıcı materyal olarak, aljinat başta olmak üzere gliserin, glukoz, sakkaroz, maltodekstrin ve glukoz şurubu kullanılmaktadır (Arshady 1993).

2.4.5. Kompleks koaservasyon (faz ayrımı)

Kompleks Koaservasyon yöntemi, kaplama maddesinin sıvı kısmının polimerik çözeltiden ayrılıp çekirdek materyalini homojen bir katman halinde kaplamasıdır (Desai and Park 2005, Peker ve Arslan 2011). Koeservasyon, enkapsülasyon teknolojisinin temelini oluşturan bir yöntemdir (Risch 1995).

Bu yöntem, enkapsülasyon çalışmalarında kullanılan ilk yöntem olmakla birlikte Green and Scheicer (1955)'in basınca duyarlı karbonsuz kopya kağıdı üretimi teşebbüsleri sırasında kullanılmıştır. Koaservasyon; polimer çözünürlüğü üzerinde etkisi olan ısı, tuz ekleme veya zıt yüklü polimer kullanımı gibi çevresel etkenler aracılığıyla başlatılmaktadır (Gonnet 2010).

Koaservasyon genellikle aroma yağlarının, balık yağının, vitaminlerin, koruyucuların ve enzimlerin enkapsülasyonunda kullanışlı bir metottur (Zuidam 2010).

Koaservasyon yöntemi iki çeşit olup; basit ve karmaşık koaservasyon olarak adlandırılır. Basit koaservasyonda tek çeşit polimer kullanılır. Karmaşık koaservasyonda ise en az iki çeşit polimer kullanılmaktadır (Gonnet *et al*. 2010).

Koaservasyon teknolojisi gıda sektöründe yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bunun en önemli nedeni, işlemin karmaşık olması ile birlikte maliyetinin de yüksek olmasıdır (Soper 1995). Ekonomik açıdan masraflı bir uygulama olmasına rağmen koaservasyon ile değeri yüksek bioaktif maddeler enkapsüle edilebilmektedir (Gouin 2004).

2.4.6. Kokristalizasyon

Kokristalizasyon, doymuş sakkaroz şurubunun, biyoaktif bileşeni çevreleyen kaplama materyali olarak olarak kullanıldığı bir yöntemdir. Sakkaroz dışındaki materyaller sakkaroz kristalleri arasına veya içerisine taşınması sırasında 3 ila 30 μm arasında değişen kapsüller oluşturulur. Doymuş sakkaroz şurubu, miktarı daha önceden ayarlanmış çekirdek malzeme ile karıştırılır. Enkapsülasyon uygulanmış olan materyal, kabın dışına alınarak uygun nem içeriği sabitlenene kadar kurutulur. Barbosa'nın dediğine göre (2005) biyoaktif bileşenler öncelikle sakkaroz kristalleri arasında bulunan çatlaklar arasında yer almaktadır.

Bu yöntemde; uçucu yağların enkapsülasyon verimi püskürtmeli kurutma ve ekstrüzyon yöntemine göre daha yüksektir (Beristain *et al.* 1996).

2.4.7. Lipozom tutuklama

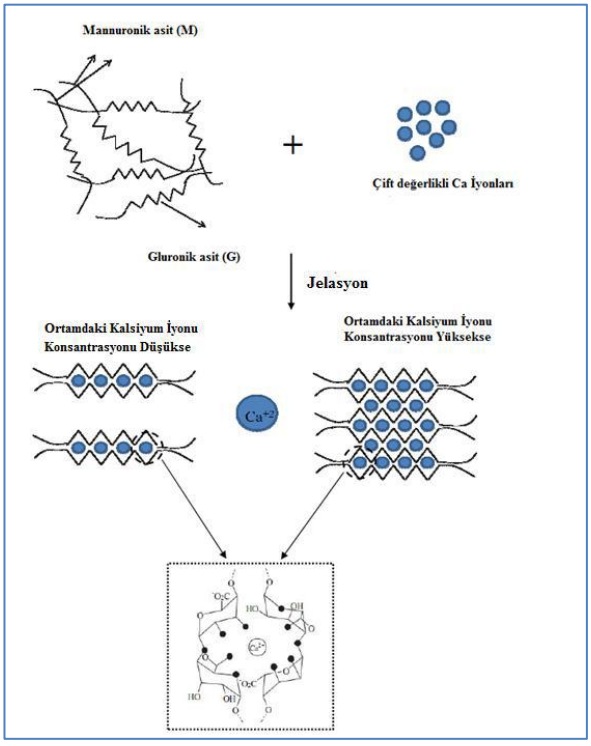
İlk defa 1965 yılında bir grup araştırmacı tarafından keşfedilen lipozomlar sıvı alanları kapsüle eden çift katlı lipid katmanları tarafından oluşturulan ve membran sistemleri içeren kolloidal parçacık yapıları olarak adlandırılır (Gökmen vd. 2012). Lipozomların oluşturulmasında fosfolipidler ve su molekülleri arasındaki hidrofilik ve hidrofobik etkileşimler bulunmaktadır.

Lipozomlar, lipid ve sulu fazlara sahiptir; dolayısıyla suda veya yağda çözünebilen ve amfifilik özellikteki maddelerin kapsüllenmesinde kullanılabilmektedir.

Enkapsülasyon yöntemiyle elde edilen kapsüllerin uzun bir süre muhafaza edilebilmeleri, lezzet ve aromanın korunması bu yöntemin avantajlarındandır. Lipozom tutuklama yöntemi uygulanmış biyoaktif bileşenler; mide sindiriminden korunabilmeleri, bağırsaklarda biyoaktivite ve biyoyararlılık sağlayabilecek şekilde emiliminin kolay olması nedeniyle besinsel özelliklerin arttırılmasında önem arzetmektedir. (Kınık vd. 2003, Çakır 2006, Ünal vd. 2010, Fang and Bhandari 2010).

2.4.8. İyonik jelasyon (damlatma) yöntemi

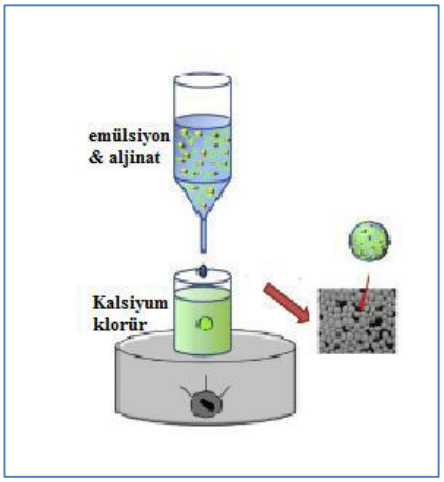
İyonik jelasyon diğer adıyla damlatma metodu kolay uygulanabilir olması ve maddi açıdan ekonomik olması nedeniyle avantajlı bir yöntemdir. Bu yöntemde, polimer çözeltisi ile biyoaktif besin bileşenleri homojenize edilerek enjektör aracılığıyla dağıtıcı faza damlatılarak küresel jel kapsüller elde edilmektedir. Damlatma metodu, $CaCl_2$ molekülündeki kalsiyum ile sodyum aljinat molekülündeki sodyumun yer değiştirmesi ve çapraz bağlanma prensibine dayanmaktadır. Şekil 2.1.'de sodyum ve kalsiyum iyonları arasındaki çapraz bağlanma mekanizması gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Jelasyon; kalsiyum ile sodyum aljinat arasındaki çapraz bağlanma mekanizması (Acosta 2009)

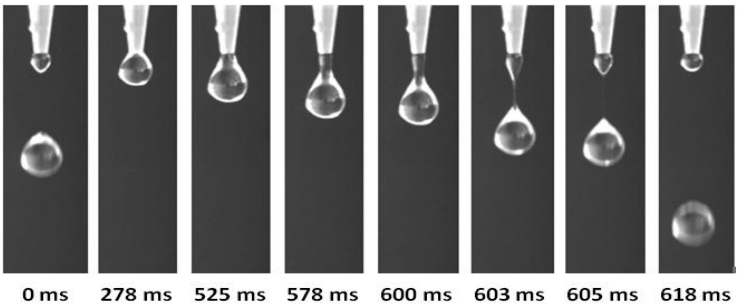
Biyopolimer çözeltisinin diğer bir çözeltiye damlatılması ile jelasyon meydana geldiği gözlenir. Aljinatın beraberinde pektin çözeltisinin kalsiyum çözeltisine ve kitosan çözeltisinin tripolifosfat çözeltisine damlatılması ile iyonik jelasyon, peynir altı suyu proteininin sıcak sıvıya damlatılması ile sıcak jelasyon veya jelatin çözeltisinin soğuk sıvıya damlatılması ile soğuk jelasyon gerçekleştirilmiş olur. Bu işlemlerin herbiri ile

mikrotanecikler elde edilebilmektedir (Shi *et al.* 2011). Damlatma sisteminin nasıl kurulacağı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

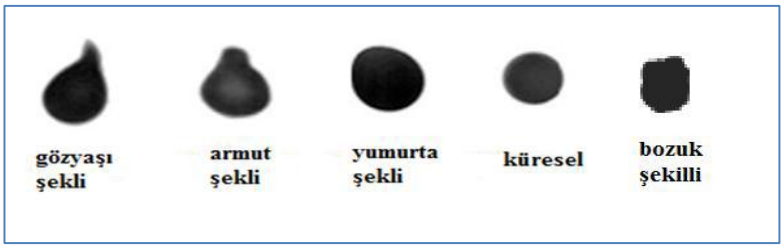


Şekil 2.2 İyonik jelasyon yönteminde kullanılan damlatma sistemi (Matalanis *et al.* 2011

Üretilen kapsüllerin boyutu; titreşim sistemine, kaplayıcı maddenin viskozitesine, polimer çözeltisine ve şırınga arasındaki mesafeye bağlıdır (Nualkaekul *et al.* 2012). Farklı zaman aralıklarında damlatma ucu mesafesi ile partikül şekli arasındaki ilişki Şekil 2.3'te gösterilmektedir. Şekil 2.4'te ise literatürde tanımlanan kapsül şekillerini şematize etmektedir (Davarcı 2012).



Şekil 2.3 Damlatma ucunda oluşan kapsül şekilleri ve mesafe ilişkisi (Davarcı 2012) (ms: milisaniye)



Şekil 2.4 Literatürde kapsül şekillerini tanımlayan terimler (Davarcı 2012)

Aljinat, iyonik jelasyon yönteminde tek başına kullanıldığında gözenekli yapıya sahip partiküller elde edildiğinden, molekül ağırlığı düşük ve suda çözünebilen ilaçların enkapsüle edilmesinde kullanılabilmektedir (Wong *et al.* 2002). Kaplama materyali olarak kullanılabilen kitosan ile yarı geçirgen bir zar oluşturularak, yüzeyi daha düzgün kapsüller oluşturulur. Bu kapsüller kitosan gibi başka polimerlerle kaplanarak raf ömürleri uzatılmasında rol oynamaktadır. Aljinat-kitosan ile kaplanmış partiküller hücrelerin, proteinlerin ve ilaçların enkapsülasyonunda kullanılmıştır (Gazori *et al.* 2009).

Bu yöntem laboratuvar ortamında uygulamasının kolay olması, hidrofobik veya hidrofilik, ısıya duyarlı, viskoz ya da akışkan, katı ya da sıvı çoğu bileşenlerin bu yöntemle enkapsülasyona tabi tutulabilmesi gibi özelliklerinden ötürü sık sık tercih edilmektedir. Küçük miktarlarda kapsül elde etmek için kolayca kullanılabilme avantajına sahip olan bu yöntem, aksine büyük ölçekli üretimler için oldukça maliyetli ve zordur. Bunun beraberinde elde edilen kapsüller yüksek sayıda gözenek ihtiva ettiğinden aljinat matriksinden suyun veya başka bir sıvının giriş çıkışı yoluyla difüzyonu için oldukça uygun ortam oluşturur (Gouin 2004).

Çizelge 2.1 Enkapsülasyon çalışmalarına örnekler

Enkapsülasyon Tekniği	**Öz Madde**	**Kaplama Materyali**	**Amaç**	**Kaynak**
Püskürtmeli Kurutma	Likopen	Jelatin/sakkaroz	Depolama stabilitesini artırma	Shu *et al.* (2006)
Püskürtmeli Kurutma	Portakal yağı	Laktoz/kazeinat	Aroma korunması	Edris ve Bergnstahl (2001)
Püskürtmeli Kurutma	Karabiber oleoresini	Gam arabik/modifiye nişasta	Aroma korunması	Shaikh *et al.* (2006)
Püskürtmeli Kurutma	Zeytin posası fenolikleri	Maltodekstrin	Mikrokapsül hazırlamada püskürtmeli kurutucunun etkisini belirlemek	Paini *et al.* (2015)
Dondurarak kurutma	Safran karotenoidleri	Pullulan/polivinilpirolidon	Oksidasyon önlenmesi	Selim vd. (2000)
Dondurarak kurutma	Limonen	Gam arabik/sakkaroz/jelatin	Aroma korunması	Kaushik ve Roos, (2007)
Dondurarak kurutma	Düşük-trans katı yağ	Palmitik sakkaroz esteri/sodyum kazeinat	Oksidasyon önlenmesi	Cerimedo *et al.* (2008)
Dondurarak kurutma	Portakal yağı	Akasya gamı/modifiye nişasta	Aroma korunması	Buffo ve Reineccius (2001)
Koaservasyon	Dut yaprağı ekstraktı	Soya protein izolatları (SPI) ve düşük metoksil (LM) pektinin bir	Enkapsülasyon şartlarının (pH ve kaplayıcı	Peanparkdee *et al.* (2016)

		kombinasyonu	konsantrasyon) araştırılması	
Koaservasyon	Süt Proteinleri (β-pinen)	Kazeinat, peynir altı suyu protein izolatı, karboksimetilselüloz	Kapsülleme verimi, üretilen mikrokapsüllerin morfolojik özelliklerine etkilerinin araştırılması	Koupantsis *et al.* (2014)
Kompleks koaservasyon	Kahve aroması	β-siklodekstrin	Kahve ürünlerinin duyusal özelliklerini ve kalitesini artırmak	Szente *et al.* (1986)
Lipozom Tutuklama	Krema ve peynir	D vitamini emülsiyonu	D vitamininin korunması	Banville *et al.* (2000)
Lipozom Tutuklama	Süt	Demir sülfat lipozomları	Depolama süresince stabilizasyon	Abbasi *et al.* (2011)
Kokristalizasyon	Portakal kabuğu yağı	Sakkaroz şurubu	Uçucu yağların tutulumunun arttırılması	Beristain *et al.* (1996)
İyonik Jelasyon	Kara Dut Antosiyaninleri	Kitosan	Enkapsülasyon faktörlerinin optimizasyonu	Özçelik vd. (2013)

2.5. Enkapsüle Edilen Materyaller

2.5.1. Zencefil

Zingiberaceous familyasından güçlü aromatik ve tıbbi özelliklere sahip yumrulu bir tür olan Zingiber officinale genellikle "zencefil" olarak bilinir (Kubra *et al.* 2012). Ana vatanı Güneydoğu Asya olan zencefil, günümüzde Malezya, Hindistan ve dünya üzerindeki farklı tropikal bölgelerde yetiştirilmektedir. Tüm dünya genelinde birçok alanda yüzyıllardır kullanılmakta olan zencefil; Çin, Hindistan ve Ortadoğu ülkelerinde eskiden beri şifalı bitki olarak tüketilmektedir. Zencefil, karakteristik tat ve keskin aroması nedeniyle, dünya çapında baharat ve gıda katkı maddesi olarak kullanılır (Akhila and Tiwari 1984).

Zencefil çok yıllık bir bitki olup yurdumuzda yetişmemektedir. Çiçek koçanını taşıyan sürgün 20 cm boyundayken, yapraklı sürgünler 1 ila 2 metre boyunda olabilmektedir. Kozalağı andıran çiçek koçanının büyüklüğü 4-6 cm arasında değişir. Bu esmerimsi yaprakların altından çiçek sapları çıkar; sapların üzerinde ise çiçekleri bulunur. Çevresine yayılmasına olanak sağlayan kökleri yumru gibi birbirine bağlıdır olup; etli, yassı ve boynuz gibi bir yapıya sahiptir. Ayrıca köklerinde dallanmış şekildeki yumrulara sahiptir. Zencefilin yumrularının kendine özgü, keskin bir kokusu ve tadı vardır.

Zencefil bileşim olarak zengin bir içeriğe sahiptir. İçerisinde şeker, karbonhidrat, sodyum, çözünür ve çözünmez lif, amino asitler, vitaminler, mineraller, yağ asitleri ve daha fazlası mevcuttur. Bunların yanında zencefil iyi bir magnezyum, potasyum, manganez, bakır ve B6 vitamini kaynağıdır.

Zencefilin aktif bileşenleri, 6-gingerol, 6-paradol, alfa linolenik asit, linoeik asit askorbik asit, aspartik asit, kaprik asit, kaprilik asit, gadoleik asit, glutaminik asit, oleik asit, oksalik asit ve shoagaol lif kökte bulunur.

Uçucu yağlar: Sitral, sitronelal, limonen, kamfen, beta bisoloben, beta karyofilen, beta bisabolol, alfa farnesen, alfa cadinene, alfa cadinol, beta pinen, beta phellandrene, beta sesquiphellandrene ve gama eudesmol bulunur.

Amino asitler: Arginin, asparajin, histidine, izolösin, lösin, lisin, metiyonin, treonin, triptofan, tirozin, titrozin ve valin bulunur.

Mineraller: Alüminyum, bor, krom, kobalt, manganezyum, fosfor, silicon ve çinko bulunur.

Vitamin: Niasin bulunur.

Zencefil ayrıca güçlü bir antioksidan madde olup, serbest radikallerin oluşumunu hafifletebilir veya önleyebilir (Ali *et al.* 2007). Bu nedenle, tıbbi değeri giderek artmaktadır. Zencefilde bulunan aktif maddelerden 6-gingerol ve 6-paradol bileşimleri; antikanser, antioksidan, anti-inflamatuar, antidiyabetik özellikler gösterir. DNA sentezini bozarak akut promyelostik lösemi kanserini durdurma etkisi vardır (Kaplan 2005). Tümör büyümesi, romatizma, migren, mide krampları, iştah kaybı, kusma gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ağrı kesici, ateş düşürücü, bakteri önleyici özelliğinin de olduğu tespit edilmiştir (Kaplan 2005).

Biyoaktif bileşenlerin kaplanmasının amacı, aktif bileşen ile olumsuz ortamlar arasında bir bariyer oluşturmaktır. Bu bariyer; aktif maddeyi oksijen, su, ışık ve diğer malzemelerle temastan korur. Kapsüllenmiş biyoaktif bileşenlerin yiyecek ve içeceklere taşınması ve kullanılması daha kolaydır (Harimurti 2007). Taze otlar ve baharatların çok fazla yer kaplaması nedeniyle, bileşenleri veya oleoresinleri formunda depolanması daha kolay olmaktadır. Bununla birlikte, oleoresin hava, sıcaklık, ışık vb. nedenlerle bozulmaya duyarlıdır. Uygun olmayan bir şekilde saklandığında kısa bir raf ömrü vardır.

Oleoresinler elde edildikleri bitki veya baharatın tüm karakteristik özelliklerini temsil eden sıvı formdaki ürünlerdir. Oleoresinin kalitesi hammaddenin kalitesine ve doğru organik çözücünün seçimine bağlıdır. Oleoresin, gıda karışımlarında iyi çözünmez. Gıda maddelerine karışırsa, yüksek işleme sıcaklıklarında kurur ve lezzet kaybetme eğilimi gösterir (Kanakdande *et al.* 2007). Oleoresin mikro-kapsülleme yöntemi bu problemlere bir çözüm yoludur.

Zencefil oleoresinleri (6-gingerol ve 6-paradol), taze baharatların lezzetine yakın olan, özütü çıkarılmış oleoresinlerdir. Yiyecek ve içecek endüstrilerinde, oleoresin tozu, tam, tutarlı ve ölçülebilir doğası nedeniyle taze veya kuru otlardan daha caziptir. Ayrıca, oleoresin formunda, toz haline getirilmiş baharatlar mikrobik kirlilikten uzaktır ve yıllar boyunca kullanılabilir.

Yaklaşık %3,5-10 oranında oleoresin, %15-30'luk uçucu yağ içeriğine sahip kurutulmuş zencefilden ekstrakte edilebilir. Yağ içeriğinin değişimi, zencefil çeşitlerine, hasatın zamanına ve ekstraksiyon koşullarına bağlıdır (Harimurti *et al.* 2011). Kalın ve yapışkan oleoresinler kullanımda sorunlara neden olabilirler.

Çizelge 2.2 Zencefilin enkapsüle edildiği çalışmalara örnekler

Öz Madde	**Enkapsülasyon Tekniği**	**Kaplama Materyali**	**Amaç**	**Kaynak**
Zencefil ekstraktı	Püskürtmeli kurutma	Arap zamkı	Mikrokapsüllerin toplam fenolik ve antioksidan aktivitelerini belirlemek	Simon-Brown *et al.* (2016)
Zencefil Yağı	Püskürtmeli Kurutma	Akasya Sakızı	Fiziko-kimyasal özelliklerin korunması	Kadam *et al.* (2011)
Zencefil Oleoresini	Püskürtmeli Kurutma	Maltodekstrin ve sodyum kazeinat	Kapsülleme verimliliğini arttırmak	Harimurti *et al.* (2011)
Kırmızı Zencefil oleoresini	Püskürtmeli Kurutma	Kitosan: Sodyum aljinat	Mikrokapsül hazırlamada püskürtmeli kurutucunun etkisini belirlemek	Jayanudin *et al.* (2015)
Zencefil esansiyel yağı tozları	Püskürtmeli Kurutma	Arap gamı, maltodekstrin ve inülin karışımları	Kapsülleme matrisinin etkisini değerlendirme	Barros-Fernandes, *et al*. (2016)
Zencefil esansiyel yağı	Püskürtmeli Kurutma	Maltodekstrin ve peyniraltı suyu proteini izolatı	Zencefil yağının mikrokapsülasyon verimliliğini değerlendirmek	Touré *et al.* (2009)
Zencefil uçucu yağı	İyonik jelasyon yöntemi	Jelatin ve sodyum alginat	Mikrokapsülasyon verimliliğini değerlendirmek	Zhang *et al.* (2018)

Zencefil ile ilgili yapılan çalışmalar;

Taze zencefildeki uçucu yağ, buhar damıtma ile ekstrakte edilmiştir. Uçucu zencefil yağının mikrokapsülasyonu, kaplama malzemeleri olarak maltodekstrin ve peynir altı suyu protein izolatı kullanılarak püskürtmeli kurutma yöntemi uygulanarak yapılmıştır. Püskürtmeli kurutma yöntemi, kapsül kaplama malzemelerinin yağ tutmaya (OR) ve zencefil yağının mikrokapsülleme verimliliğine (MEE) etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Yüksek MEE ve OR için en iyi koşulların 1: 1 oranında peynir altı suyu proteini izolatının maltodekstrin'e oranı bulunmuştur. Çekirdeğin kaplama malzemesine oranı ise 1: 4 olarak belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin çatlak ve gözeneklerden arınmış olduğu, kütle spektrometresi ile birleştirilmiş gaz kromatografisinin, püskürtmeyle kurutma sırasında sadece hafif bir kayıp gösterdiği bulunmuştur (Toure *et al.* 2011).

Barros-Fernandes *et al.* (2016) yaptıkları çalışmada; arabik gam (GA) maltodekstrin (MD) ve inülin (İN) karışımlarını kaplama materyali olarak kullanarak püskürtmeli kurutma yöntemiyle kurutulmuş zencefil özütü tozları üretiminde kapsülleme matriksinin etkisini değerlendirmişlerdir. Püskürtmeli kurutmaya besleme sıvısı olarak kullanılan emülsiyonların kinetik stabilizasyonu üzerine ultrasonikasyon ile desteklenmiş emülsifikasyon işleminin etkilerini de belirlemişlerdir. Ultrasonikasyon kullanılarak elde edilen emülsiyonların daha kararlı olduğu ve daha küçük damlacıklar (≤2.03 ± 0.01 μm) oluştuğunu tespit etmişlerdir. MD ve IN'nin GA ile birlikte kullanılması tozların ıslanabilirliğini arttırmıştır. GA: MD tozları aynı depolama koşullarında diğer uygulamalardan daha az su buharı emmiştir. GA'nın MD ile kısmi olarak değiştirilmesi, kapsülleme verimliliğini önemli ölçüde etkilemiştir. GA (15.44 ± 0.13 mikron) veya GA ve MD (15.83 ± 0.14 μm) karışımı ile hazırlanan tozlarda daha büyük mikropartiküller gözlenmiştir. Mikropartiküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, GA ile birlikte IN veya MD kullanılarak büyük ölçüde modifiye edilmiştir. İncelenen özelliklere göre, GA ve MD ile üretilen mikropartiküllerin ıslatılabilirlik, kapsülleme verimliliği ve higroskopisite için daha iyi özellikler sergilediklerini tespit etmişlerdir.

Simon-Brown *et al.* (2016); zencefil ekstraktının, mikro-kapsülleme ajanları olarak 6-gingerol içeriği, toplam fenolik ve antioksidan aktivitesi üzerinde maltodekstrin (MD)

ve / veya arap zamkı (GA) kullanılarak mikrokapsüllenmesinin etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Zencefil özütü ve maltodekstrin karışımı içeren dört numuneyi: arap zamkını ağırlık oranına (g: g) göre (4: 1, 1: 4, 5: 0 ve 0: 5) hazırlamış ve zencefil özü tozu üretmek için 160 °C giriş havası sıcaklığında ayrı ayrı püskürtülerek kurutmuşlardır. Zencefil özünün, 20.6 ± 0.2 (mg / g katı) 6-gingerol, 7.7 ± 0.6 (mg / g katı) gallik asit eşdeğerleri ihtiva ettiği ve 19.9 ± 0.8 (μmol Trolox / g katı) antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Mikrokapsülleme, maltodekstrin ve arap zamkı karışımından bağımsız olarak zencefil ekstraktında bulunan 6-gingerol miktarında bir düşüşe neden olmuştur. Zencefil ekstraktının mikrokapsüllemesi ayrıca gallik asit eşdeğerlerini ve antioksidan aktiviteyi de azaltmıştır. Maltodekstrin ile kurutulmuş zencefil özütü: arap zamkı (1: 4) ve (0: 5), maltodekstrin: gum arabic 4:1) ve (5:0) ile kurutulandan daha büyük partikül boyutuna sahiptir. Maltodekstrin; arap zamkı (4:1) ve (5:0) maltodekstrin'den daha iyi morfolojik özelliklere sahiptir. Bu şekilde elde edilen mikrokapsüllü zencefil özü tozunun yeni bir gıda maddesi olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Lipozomdaki zencefilin etanolik özütü (GE), mevcut incelemede kapsüllenmiştir. Nanolipozomal GE'nin (NGE) ortalama büyüklüğü 164.5 nm olduğu bulunmuştur. GE'nin fenolik içeriği Folin-Ciocalteo reaktifi ile ölçülmüştür. DPPH radikal süpürücü, Fe (III) ve toplam antioksidan aktivitenin azaltılması, sentetik antioksidan (BHT) ile karşılaştırılan GE ve NGE'nin antioksidan aktivitelerini değerlendirmek için kullanılmıştır. NGE'nin antioksidan aktivitelerinin tüm testlerde GE ve BHT'ye göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, ayçiçeği yağının oksidasyon prosedürünün belirlenmesinde GE ve NGE'nin 100-1000 ppm konsantrasyonlarında etkilerini değerlendirmek için, 12 günlük bir süre içinde 63 °C'de ısıl işlem testleri (peroksit ve tiyobarbitürik asit değerleri) yapılmıştır. NGE'nin peroksit ve tiyobarbitürik asit değerleri GE ve BHT'den daha düşük olduğu ve 1000 ppm konsantrasyonundaki NGE'nin, en yüksek seviyede antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak; NGE'nin gıda ve biyolojik sistemler için sentetik koruma katkıları yerine doğal bir antioksidan madde olarak güvenli şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Ganji *et al.* 2017).

Jayanudin *et al.* (2017) bir çalışmasında; farklı kaplama malzemelerinin kırmızı zencefil oleoresin kapsülleme işlemi ve mikrokapsül yüzeyinin karakterizasyonu üzerindeki etkisini belirlemiştir. Kapsülleme işlemine, kaplama malzemesi olarak kullanmak üzere %1 oranındaki (v/v) asetik asit ile kitosanın, aquadest ile sodyum aljinatın çözülmesiyle başlamıştır. Çözeltide bulunan kırmızı zencefil oleoresini ile aljinat karıştırılmıştır. Püskürtmeli kurutucuda bulunan emülsiyon, mikrokapsüllerin bir tozuna dönüştürülüp, elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak mikrokapsüllerin kapsülleme verimliliğini ve yüzey morfolojisi analiz edilmiştir. Kitosan, kitosan-aljinat karışımı ve kitosan-aljinat-sodyum tripolifosfat (STPP) karışımı farklı kaplama materyalleri olarak kullanılmıştır. Kırmızı zencefil oleoresin ve kaplama materyalinin ağırlık oranı 1: 1, 1: 2 ve 1: 3 olup elde edilen araştırma sonuçlarında, kitosan-aljinat-sodyum tripolifosfatın (STPP) kaplama malzemesinden elde edilen en yüksek kapsülleme etkinliği 1:3 oranında (% 85) olduğu bulunmuştur.

Barros-Fernandes *et al.* (2017) çalışmasında; kapsülleme ajanları olarak peyniraltı suyu izolatı ve inulin ile püskürtmeli kurutma yönteminin, mikrokapsül haline getirilmiş zencefil esansiyel yağının özellikleri üzerindeki işlem koşullarının etkisini araştırmıştır. Kaplama materyalinin %30 daha fazla eklenerek işlenmesi emülsiyondaki en büyük damlacık boyutuna neden olmuştur. Islanabilirlik, kapsülleme verimliliği, parçacık boyutu ve polidispersite indeksi, analiz edilen iki faktörden önemli ölçüde etkilenmiştir. Optimizasyon işlemi ile zencefil esansiyel yağının püskürtmeli kurutma işleminde en iyi koşulların, kaplama materyali konsantrasyonlarının %22,34 ve giriş havası sıcaklığının 170 °C olduğu tespit edilmiştir.

Taze süt için koruyucu olarak kırmızı zencefil rizom *(Zingiber officinale var. Rubrum)* oleoresin ekstraktının kullanımı üzerine yapılan araştırmada; oleoresin ekstraktının kitosan-aljinat kaplı mikropartiküllerinin ve taze sütün içine eklenen çeşitli zencefil bazlı koruyucuların, bakterilerin büyümesi üzerindeki inhibisyon etkisi karşılaştırılmıştır. Kitosan-aljinat kaplı oleoresin mikropartiküllerinin eklenmesinden sonra bakterilerin büyüme oranının düştüğü görülmüştür. Ayrıca, taze sütün rengi, tadı ve lezzeti üzerinde önemli bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda;

oleoresin yüklü kitosan-aljinat mikropartiküllerinin, taze süt için koruyucu olarak etkili bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir (Krisanti *et al.* 2017).

Zencefil oleoresini (GO), işlenmesini kolaylaştırmak, dış ortama karşı koruma sağlamak veya GO bileşiklerinin stabilitesini arttırmak amacıyla koruyucu bir lipit matrisi içinde kapsüllenebileceği konusunda bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada Zencefil oleoresinin (GO) farklı sıcaklıklarda (25 ve 40 °C) depolanma sırasındaki özelliklerinin izlenmesi yoluyla GO içeren katı lipit mikropartiküllerin (SLM'ler) zencefil bileşiklerinin stabilitesini sürdürme veya iyileştirme kabiliyetlerini izlemek amacıyla SLM'lerin lipit matrisi stearik asit (%90, 80, 75, 65 v/v) ve oleik asit (% 15 v/v) ile oluşturulmuştur. Elektron mikroskobu ile yapılan taramada 84 günlük depolama sonrası küresel formlarında ve partiküllerin kristal yapısında herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Oleik asit içeren SLM'ler, 40 °C'de saklandığında 6-gingerolün bozunması görülmüştür. Büyük uçucu bileşikler, oleik asit içeren parçacıklarda daha iyi stabiliteye sahiptir. SLM'ler, kapsüllenmemiş GO'ya göre 25 °C'de depolama sırasında GO bileşiklerinin daha iyi stabilite gösterdiği ve bu nedenle, zencefil özütü tozu dönüşümüne bağlı olarak gıdalardaki dağılımını arttırabileceği sonucuna varılmıştır (Oriani *et al.* 2018).

2.5.2. Keten tohumu

Keten (Linum usitatissimum), 30-100 cm boyunda, mavi çiçekli ve tek yıllık bir kültür bitkisidir. Tohumları, 4-6 cm uzunluğundadır. Yumurta biçiminde, yassı, parlak, kırmızımtırak esmer renkli, kokusuz, yağlı ve lezzetlidir.

Keten ve tohumları çok eski dönemlerden beri çeşitli amaçlar ile kullanılmaktadır. Ketenin M.Ö. 8000'li yıllarda Mezopotamya'da yabani olarak yetiştiği, M.Ö. 7000'li yıllarda kültüre alınarak yetiştiriciliğine başladığı bilinmektedir. Tarihte Romalılar, Yunanlılar ve Mısırlılar keten tohumunu sindirim sistemi ve bazı hastalıkların tedavisi için kullanmışlardır. Keten tohumunun 30 farklı kullanımının olduğu da bilinmektedir. Bu zamana kadar ekmek, makarna, kekler, bageller, kurabiye ve kek gibi çeşitli hububat

bazlı ürünlerin kalitesini arttırmak için kullanılmıştır (Hao & Beta, 2012; Kajla *et al.* 2014; Mercier *et al.* 2014).

Keten tohumu gıda, yem ve lifin eldesi gibi amaçlarla kullanılan en önemli yağ içeren bitkilerden birisidir. Keten bitkisinin doğrudan veya işlemden geçirildikten sonra neredeyse tamamı ticari olarak kullanılmaktadır. Keten üretiminin en çok yapıldığı ülkeler Kanada, Çin, Amerika Birleşik Devletleri, Hindistan, Rusya ve Etiyopya'dır. Ülkemizde ise 2000-2009 yılları arasında keten tohumu yağı üretiminde artış gözlenmiştir. Ülkemizde 2000 yılında 100 tonun civarında olan keten tohumu yağı üretimi 2009 yılında 8000 ton üzerine çıkmıştır.

Keten tohumunun toplam ağırlığının %55'ini embriyolar, %36'sını kabul ile endosperm ve %4'ünü embriyo kutbu oluşturmaktadır. Keten tohumu ortalama %40 yağ, %30 lif, %20 protein, %4 kül ve %6 civarında nem içermektedir. Keten tohumu yağının %73'ü çoklu doymamış yağ asitlerinden, %18'i tekli doymamış yağ asitlerinden ve %9'u doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır. Toplam yağ asitlerinin yaklaşık %55'ini α-linolenik asit (ALA) omega-3 yağ asidi oluşturmaktadır. Bu bileşiğin keten tohumu yağındaki oranı kendinden sonra en fazla yağ içeren ve en iyi yağ kaynağı olan kanola ve ceviz yağından 5,5 kat daha fazladır. Keten tohumunun farklı kısımlarındaki yağ asidi kompozisyonu birbirinden farklıdır. Nitekim embriyo, kabuk ve endospermde bulunan linolenik asit içeriği embriyo kutbundakine nazaran daha fazladır.

Keten tohumunun fonksiyonel gıda olarak kullanımı bileşimindeki ALA, lif, lignan, flavonoid ve fenolik maddeler gibi fitokimyasal bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Doğal antioksidanlar olan fenolik maddeler; kanser, inflamatuar (iltihap), kardiyovasküler ve Alzheimer hastalığı gibi dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını artıran ana faktörlerden biri olarak kabul edilen oksidatif strese karşı insan vücudunu korur (Scalbert *et al.* 2005). Keten tohumu sağlığa faydalı bileşikler içeren bitkisel fenolik maddeleri içerir. Bu açıdan bakıldığında keten tohumu, α-linolenik asit ve protein açısından zengin olmakla birlikte lignan, flavonoid ve fenolik asitler gibi fitokimyasallar için de doğal bir kaynak teşkil etmektedir (Berner ve O'Donnel 1998, Mazza *et al.* 1998, Karthols 2002).

Çizelge 2.3 Keten tohumunun kapsüllendiği çalışmalara örnekler

Öz Madde	**Enkapsülasyon Tekniği**	**Kaplama Materyali**	**Amaç**	**Kaynak**
Keten tohumu yağı	Kompleks koaservasyon	Jelatin	Biyolojik işlevselliği arttırmak	Kaushik *et al.* 2016
Keten tohumu yağı	Püskürterek kurutma	Arap zamkı ve maltodekstrinin farklı kombinasyonları	Yüksek kapsülleme etkinliği oluşturmak	Gallardo *et al*. 2013
Keten tohumu yağı	Püskürterek kurutma	Arabik gamı, peynir altı suyu proteini konsantresi ve modifiye nişasta	Keten tohumundaki yağ yükünü püskürterek kurutma tekniği ile değerlendirmek	Tonon *et al.* 2012
Keten tohumu yağı	Kompleks koaservasyon	Soya proteini/ Arabik gam karışımı	Soya proteininin uygulanmasının araştırılması	Dong *et al.* 2015
Keten tohumu yağı	Püskürterek Kurutma	Soya lesitini ve ksantan zamkı	Keten tohumu yağı damlası ve yüksek mikrokapsülasyon verimi elde etmek	Omar *et al.* 2009

Keten tohumu ile ilgili yapılan çalışmalar;

Thirumdas *et al*. (2014) tarafından, keten tohumunun püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikrokapsüllemesinde yağ ve kaplama materyali konsantrasyonlarını optimize etmek amacıyla; kaplama materyali olarak arabik gam, maltodekstrin ve yağsız süt tozu kullanılmıştır. Üç seviyeli, iki faktörlü merkezi kompozit tasarımı ile yanıt yüzey metodolojisi kullanılmıştır. Kapsülleme verimliliği, peroksit değeri ve nem içeriği açısından incelenen örnekler arasında % 8 oranında yağ ve % 22.5'lik kaplama materyali içeren mikrokapsüllenmiş tozun optimum olduğu sonucuna varılmıştır.

Tonon *et al.* (2012) yaptıkları çalışmanın amacı; kaplama materyali türünü ve yağ yükünün, keten tohumu yağı ile püskürtmeli kurutma yoluyla mikrokapsülleme üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Arabik gamı, peynir altı suyu protein konsantresi ve modifiye nişasta, her biri dört yağ konsantrasyonuna sahip toplam 12 test uygulanarak mikrokapsülleri üretmek için kullanılmıştır. Başlangıçta, gıda emülsiyonları stabilite, viskozite ve damlacık boyutu için karakterize edilmiştir. Daha sonra laboratuar ölçekli bir kurutucuda kurutulmuştur. Elde edilen parçacıklar, kapsülleme verimliliği, lipit oksidasyonu, nem içeriği ve toplam yoğunluğu açısından analiz edilmiştir. Yağ konsantrasyonundaki artış, daha düşük ekstraksiyon verimi ve daha yüksek lipit oksidasyonu ile sonuçlanmıştır. Değerlendirilen üç kaplama materyali arasında, modifiye nişasta en yüksek kapsülleme verimliliği ve en düşük peroksit değerleri ile en iyi performansı göstermiştir.

Yüksek kapsülleme verimliliği, püskürtmeli kurutma yöntemi ile keten tohumu yağı mikrokapsüllemesi için farklı formülasyonlar elde etmek ve hızlandırılmış Rancimat testi ile oksidasyona karşı dirençlerini değerlendirmek amacı ile bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada; arap zamkı (GA), maltodekstrin (MD), metil selüloz (MC) ve peynir altı suyu protein izolatından (WPI) oluşan farklı kombinasyonlarda dört formülasyon test edilmiştir. % 100 GA ve üçlü GA, MD ve WPI karışımlarından oluşan mikrokapsüller, oksidasyon ve mikrokapsülleme verimliliğinde en yüksek korumayı göstermiştir. Mikrokapsül katkılı ekmek ile mikrokapsülsüz ekmek kontrol edilmiş ve görünüşte benzer oldukları sonucuna varılmıştır, ancak a-linolenik asit içeriği, mikrokapsüllemeden sonra önemli ölçüde azalmıştır (Gallardo *et al.* 2013).

Zengin bir omega-3 yağ asitleri kaynağı olan keten tohumu yağı, keten tohumu protein izolatı (FPI) ve keten tohumu gamı (FG) arasında kompleks koaservasyonun oluşturduğu yeni bir matriks içinde mikrokapsüllenmiştir. Bu mikrokapsüllerin mikrokapsülleme verimliliği, yüzey yağı, morfolojisi ve oksidatif stabiliteleri belirlenmiştir. Püskürterek kurutulmuş katı mikrokapsüller, dondurularak kurutulmuş mikro kapsüllerden daha yüksek yağ mikrokapsülleme verimliliğine, daha düşük yüzey yağ içeriğine, daha düzgün yüzey morfolojisine ve daha yüksek oksidasyon stabilitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. 1:4 çekirdek-kaplama oranında püskürtülerek kurutulmuş

mikrokapsüllerden elde edilen oksidasyon stabilitesi, kapsüllenmemiş keten tohumu yağınınkinin neredeyse iki katı olmuştur (Kaushik *et al.* 2016).

Menin *et al.* (2018)'in yaptıkları çalışmaya göre; keten tohumu yağı, alfa-linolenik asidin yaklaşık % 50' sini içerdiğinden, omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) başlıca kaynağı olup bu nedenle oksidasyona karşı oldukça duyarlıdır. Çalışmanın amacı, kaplama materyali olarak pektin kullanarak, titreşimli ekstrüzyon teknolojisiyle iyonik jelasyona dayalı bir mikrokapsülleme işlemi ile keten tohumu yağı stabilitesini arttırmaktır. Sonuçlar kapsülleme verimliliğinin çok yüksek olduğunu (% 98'e kadar) göstermiştir.

Keten tohumu yağı, yapı malzemesi olarak chia tohum zamkıyla (CSM) nanoenkapsüle edilmiştir. Keten tohumu yağı nanopartikülleri (LO-NP) partikül büyüklüğü dağılımı, zeta potansiyeli, pH, viskozite, kapsülleme verimliliği, yükleme kapasitesi, morfoloji, FT-IR ve ısıl özellikleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, nanopartiküller püskürtülerek kurutulmuş ve oksidatif stabilite 28 gün boyunca hızlandırılmış koşullarda (40 °C) depolandıktan sonra belirlenmiştir. Püskürtmeyle kurutulmuş nanopartiküllerin (SP LO-NP) biyolojik olarak kabul edilebilirliği in vitro sindirimden sonra da değerlendirilmiş ve daha sonra, SP LO-NP, portakal suyunun zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. Sonuçlar, CSM'nin hidrofobik bileşikleri nano-kapsüllemek için yapılandırma malzemesi olarak kullanılabileceğini ve bunun yüksek su içeriğine sahip gıdalarda çözünürlüğüne izin verebileceğini göstermiştir. Ayrıca, SP LO-NP, in vitro sindirimden sonra keten tohumu yağına iyi bir biyoerişebilirlik sağladığını ve bu da nanopartikülleri gıdaya dahil etmenin bir avantajı olduğu Stefani *et al.* (2018) tarafından belirlenmiştir.

Keten tohumu yağı ve α-lipoik asit, insan beslenmesinde ve sağlığında önemli bir rol oynayan biyoaktif maddelerdir. Ancak fonksiyonel gıdalardaki uygulamaları, hidrofilik matrislerdeki kararsızlıkları ve zayıf çözünürlükleri nedeniyle sınırlıdır. Çok katmanlı emülsiyonlar, kapsüllenmiş biyoaktif bileşenleri korumak için yararlıdır. Bu amaçla; Huang (2018); keten tohumu yağı ve a-lipoik asidi kapsüllemek için yüksek basınçlı bir homojenizasyon yöntemi ile çok katmanlı emülsiyonların üretilmesi konusunda çalışma yapmıştır. Tween 20 ve lesitin, birincil emülsiyonların yağ damlacıklarını stabilize

etmek için yüzey aktif maddeler olarak kullanmıştır. Çok katmanlı emülsiyonlar, lesitin-kitosan zarlarının tabaka biriktirme işlemi ile bir elektrostatik tabaka üretmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Yapılan araştırmada bitkisel hammadde kaynağı olarak yerel piyasadan temin edilen zencefil ve keten tohumu kullanılmıştır. Kullanılan tüm kimyasallar, reaktifler ve solventler ise analitik saflıkta olup Merck, Sigma ve Carlo Erba firmalarından temin edilmiştir. Şekil 3.1'de kullanılan hammadde kaynaklarına ait görseller yer almaktadır.



Şekil 3.1 Bitkisel hammadde kaynakları

3.2. Yöntem

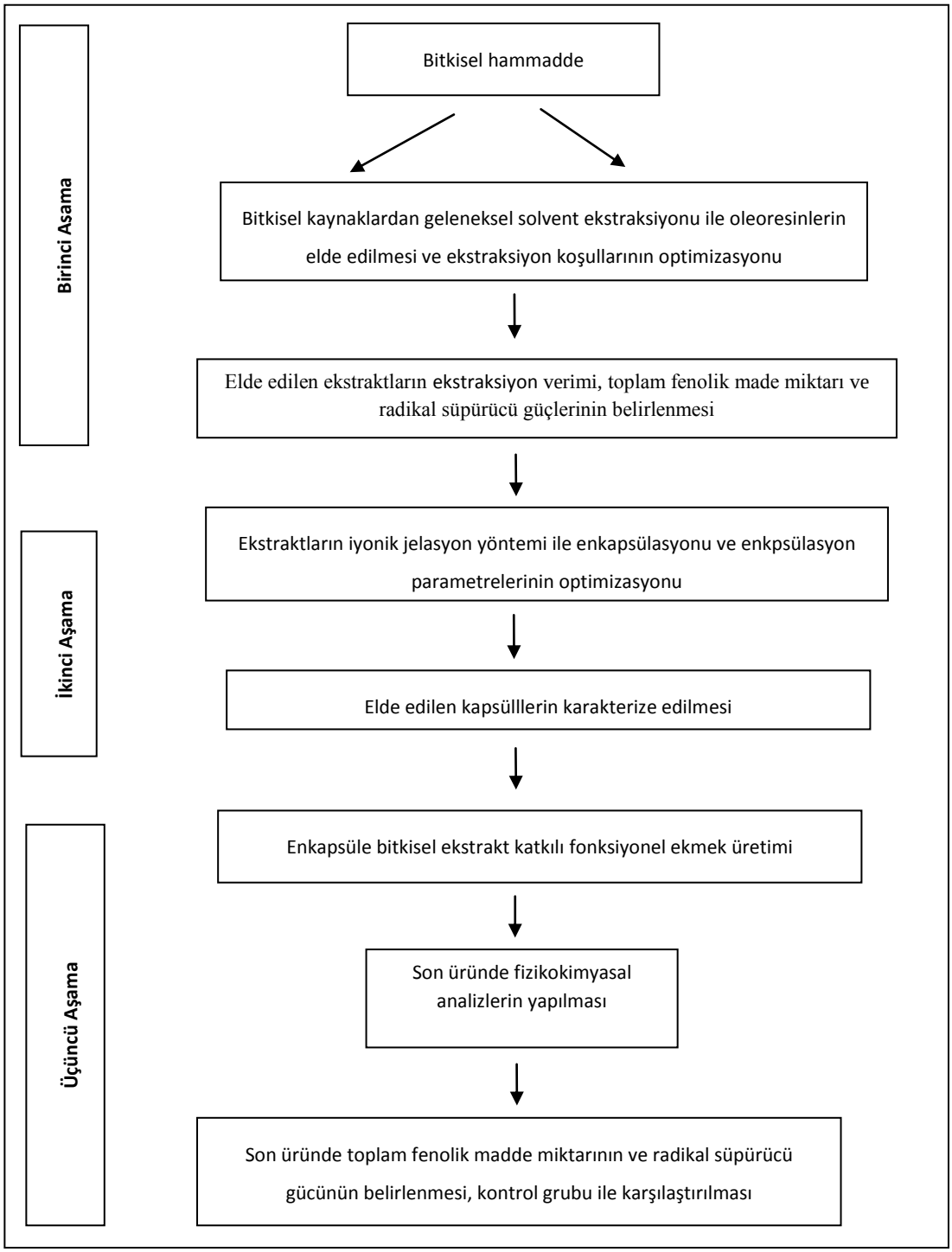
Sunulan tez çalışması 3 ana aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada; hammadde kaynaklarından optimum estraksiyon koşullarında oleoresinler elde edilmiştir.

İkinci aşamada elde edilen bu oleoresinler; iyonik jelasyon yöntemiyle Na-Alg ve kitosan kullanılarak enkapsüle edilmiştir.

Üçüncü aşamada ise elde edilen bu etken madde yüklü kapsüllerin model gıda uygulamalarına geçilmiş ve enkapsüle zencefil ve keten tohumu katkılı fonksiyonel ekmekler üretilmiştir.

Sunulan tez projesinde gerçekleştirilen araştırmanın akış şeması genel hatlarıyla aşağıda Çizelge 3.1'de verilmektedir.

Çizelge 3.1 Tez planı ve uygulama akım şeması



3.2.1. Hammadde kaynaklarından oleoresin elde edilmesi

3.2.1.1. Kurutma ortamı

Yapılan literatür incelemelerine dayanarak hammadde kaynağı taze zencefilin dondurularak kurutulması planlanmıştır. Guine ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, sıcak hava kurutma ve dondurarak kurutma metotlarının bitkisel kaynaklar üzerine etkileri incelenmiştir. Sıcak hava ile kurutma işlemi 30ºC, 50ºC ve 70 ºC sıcaklıklarda uygulanmıştır. Çalışma sonunda artan kurutma sıcaklığının örneklerin etken madde miktarında ve sertliğinde azalmaya neden olduğu, bu azalmanın dondurarak kurutma uygulamasında daha az olduğu gözlenmiştir. Renk değerlerinin ise, dondurarak kurutma işlemi sonucunda elde edilen ürünlerde renk değişimin çok az olduğu, sıcak hava ile kurutulmuş ürünlerde ise sıcaklığın arttıkça renk değerlerinde değişimin arttığı gözlenmiştir.

Taze olarak temin edilen ve ortalama % 90 nem içeriğine sahip zencefil küçük parçalar halinde sabit nem değerine ulaşana kadar liyofilizatörde (Labconco Freezone 2.5, Amerika) -52 ºC'de vakum altında dondurularak kurutulmuştur. Keten tohumu ise 105 ^{o}C'de etüvde yaklaşık 6 saat bekletilmiş ve nem miktarı sabitlenmiştir. Kurutulan zencefil ve keten tohumu belirlenen kalite özellikleri incelenmek ve ekstraksiyon işlemlerini gerçekleştirmek üzere laboratuvar tipi öğütücüde (Waring Blender) homojen toz hale getirilmiş, analiz edilinceye kadar vida kapaklı şişeler içerisinde karanlıkta +4 °C sıcaklıktaki buzdolabı koşullarında depolanmıştır.

Şekil 3.2'de kullanılan hammadde kaynaklarının taze ve işlem görmüş formları gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Kullanıma hazır halde hammaddeler

3.2.1.2. Başlangıç ürün analizleri

Kurutma işlemlerine geçilmeden önce zencefilin başlangıç nem içeriğinin belirlenmesi amacıyla zencefilden 10 g'lık üç adet örnek 70 ºC'de 24 saat kurutma dolabında bekletilerek, ürün nemi başlangıç ve çıkış kütlelerinden gidilerek kuru madde bazında hesaplanmıştır. Örneklerin işlem öncesi renk ölçümleri ise Lovibond (The Tintometer Limited, İngiltere) marka renk tayin cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.3. Bitkisel kaynaklardan oleoresinlerin ekstraksiyonu

Günümüzde çeşitli proseslerde en yüksek verimin en ekonomik şekilde elde edildiği koşulların belirlenmesi için yapılan optimizasyon yöntemleri bilimsel çalışmalar ve mühendislik problemlerinin çözümünde araştırıcılar tarafından yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Matematiksel modellerin ve istatistiksel analiz yöntemlerinin birlikte kullanıldığı bu modelleme teknikleri ile, yapılan deney sayıları azaltılmakta ve proseslerin kontrolü de kolay olmaktadır. Tepki Yüzey Metodu (Response Surface Methodolgy, RSM); endüstriyel alanda pek çok kullanım alanı olmakla birlikte, literatür çalışmalarında optimum deney şartlarını belirlemede ve karışımların oluşturulmasında da sıkça kullanılmaktadır. Kısaca, tepki yüzeyi metodu proses girdileri ile çıktıları arasındaki ilişkileri matematiksel modeller ile ortaya koymaktadır. (Montgomery, 2001, Wu ve ark., 2000). Bu kapsamda DESIGN EXPERT v.11.0 yazılımı deneme sürümü

kullanılmıştır. Deney paremetrelerine göre de üç faktör-üç seviye Box-Behnken tepki yüzey deneme deseni oluşturularak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ekstraksiyon aşamasında ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde, ekstraksiyon sıcaklığı (30, 40 ve 50 °C), ekstraksiyon süresi (10, 20 ve 30 dk) ve örnek/çözücü oranı (1/10, 1/30 ve 1/50) değişken parametre olarak belirlenmiştir ve bu değişken parametrelerin ekstraksiyon verimi, toplam fenolik madde miktarı ve radikal süpürücü güçleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bu etkilerin değerlendirilmesinde ise; ekstraksiyon işlemi için oluşturulan tepki yüzey deneme deney tasarım modeli Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.2 Belirlenen ekstraksiyon koşulları

Bağımsız Değişkenler	**RSM Seviyeleri**		
	-1	**0**	**1**
Sıcaklık (°C)	30	40	50
Süre (dk)	10	20	30
Örnek / çözücü oranı	1/10	1/30	1/50

Çizelge 3.3 Ekstraksiyon aşaması için oluşturulan Üç Faktör-Üç Seviye Box-Behnken tepki yüzey deneme deseni

	Kodlu değerler			**Reel değerler**		
Deneme Noktaları	**Örnek-çözücü oranı** X_1	**Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)** X_2	**Ekstraksiyon süresi (dk)** X_3	**Örnek-çözücü oranı** X_1	**Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)** X_2	**Ekstraksiyon süresi (dk)** X_3
1	0	-1	-1	1:10	50	20
2	0	1	1	1:30	50	30
3	-1	1	0	1:10	50	20
4	0	0	0	1:30	40	20
5	-1	0	1	1:10	40	30
6	-1	-1	0	1:10	30	20
7	0	1	-1	1:30	50	10
8	1	1	0	1:50	50	20
9	0	0	0	1:30	40	20
10	1	0	-1	1:50	40	10
11	0	0	0	1:30	40	20
12	1	-1	0	1:50	30	20
13	0	-1	1	1:30	30	30
14	1	0	1	1:50	40	30
15	-1	0	-1	1:10	40	10

Yanıt Yüzey Yöntemi, genel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama, ileride daha az sayıda deneme yapılmasını sağlayan, "eleme denemeleri" aşamasıdır. İkinci aşama ise "bölge araştırması"dır. Eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin sistemin yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya yakın sonuçlar verip vermediği araştırılır. Üçüncü aşama ise "ürün veya prosesin optimizasyonu" aşamasıdır. Gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli eğrilik gösterir. Bu eğriliğin tahminlenmesinde lineer olmayan modeller, genellikle ikinci dereceden polinomiyal modeller, üssel modeller veya eksponensiyel modeller kullanılır. Uygun bir model elde edildikten sonra, bu model optimum noktanın araştırılmasında kullanılır.

Sunulan çalışmada organik çözücülerle yapılan ekstraksiyon yönteminde 2013/45 tarihli 28739 numaralı resmi gazetede yayınlanan 'Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin ve Gıda Bileşenlerinin Üretiminde Kullanılan Ekstraksiyon Çözücüleri Tebliği'ne göre seçilen ve gıdalarda kullanılmasına izin verilen organik çözücüler kullanılmıştır. Yapılan literatür incelemesine de dayanarak kurutulan hammadde kaynaklarından (zencefil ve keten tohumu) ekstrakların elde edilmesinde çözgen olarak etanol, aseton ve etil asetat kullanılmış ve yapılan ön denemeler ile kullanılacak çözgen ve oranları belirlenmiştir.

Ön denemelerde elde edilen ekstraksiyon verimi ve oleoresinin radikal süpürücü gücü göz önüne alındığında;

- Zencefil oleoresinlerinin eldesi için; %40 etanol, %40 etil asetat, %20 aseton
- Keten tohumu oleoresinleri eldesi için ise; %50 etanol, %50 etil asetat karışımlarının organik çözücü olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda toplam fenolik madde miktarları, ekstraksiyon verimleri ve radikal süpürücü güçleri değerlendirilerek en iyi ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Ekstraksiyon işlemi sıcaklık kontrollü çalkalamalı su banyosunda (Memmert, WNB14, Almanya) gerçekleştirilmiş, çözgenler rotary evaporatörde uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Ekstraksiyon aşamaları

3.2.1.4. Ekstraksiyon verimi

Ekstraksiyon işleminden sonra, çözgen-oleoresin karışımlarından, rotary evaporatör kullanılarak çözgen tamamen uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan ekstreler, hassas terazide tartılarak ekstrakt verimi hesaplanmıştır. Elde edilen ekstraktlar daha sonraki analizler için buzdolabı koşullarında saklanmıştır.

3.2.1.5. Antiradikal aktivitenin belirlenmesi

Antiradikal aktivitenin belirlenmesindeki yöntemlerden biri olan; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemine göre spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Radikalin karakteristik mor renginde meydana getirilen renk değişikliğinin spektrofotometre ile ölçülmesi temeline dayanır. Antiradikal aktivite tayini Brand-Williams *et al*. (1995) tarafından önerilen yöntemde bazı değişiklikler uygulanarak yapılmıştır.

2 g toz zencefile ait ekstraktın 6 mL metanoldeki çözeltisi antiradikal aktivitenin belirlenmesinde kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltilerden zencefil için, 10 µl alınarak üzerine 6 ml 0,1 mM DPPH radikali eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir.

2 g keten tohumuna ait ekstraktın 3 mL metanoldeki çözeltisi antiradikal aktivitenin

belirlenmesinde kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltilerden keten tohumu için, 100 µl alınarak üzerine 3 ml 0,1 mM DPPH radikali eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir.

Aynı işlem ekstre yerine çözücü içeren kör örnek için eş zamanlı olarak tekrarlanmıştır. Örneklerin absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda spektrofotometre de (Agilent, Carry 60 UV-Vis, Amerika) okunmuş her bir örnek için ölçümler 4 kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. Ekstre çözeltilerinin serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorbsiyonunun % inhibisyonu olarak belirtilmiştir. Bu değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Antiradikal Aktivite (% İnhibisyon) = 100 x (1-Örnek Çözelti Absorbansı/Kör Çözelti Absorbansı)

3.2.1.6. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Zencefil için toplam fenolik madde miktarı Singleton and Rossi (1965) tarafından belirlenen Folin-Ciocalteu metodu üzerinde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. 2400 µl saf su konulan tüplere zencefil ekstraktlarından 30 µl ilave edildikten sonra 200 µl Folin-Ciocalteu ayıracı (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Daha sonra %20' lik doymuş Na_2CO_3 çözeltisinden 600 µl ardından da 770 µl saf su ilave edilerek oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 120 dakika bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede (Agilent, Carry 60 UV-Vis, Amerika) 765 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarlarını belirlemek için gallik asitten 0-1 mg/ml sınırları düzeyinde bir seri standart çözelti hazırlanmıştır. Elde edilen standart kurve yardımı ile örneklerin toplam fenolik madde miktarları mg gallik asit cinsinden eşdeğeri (GAE)/kg olarak hesaplanmıştır.

Keten tohumu için, toplam fenolik miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile sonuç vermemiştir. Yağ içeriği yüksek olan keten tohumu oleoresinlerinde analiz sırasında bulanıklık oluşmuş ve bulanıklık giderilememiştir.

Bunun yerine literatürde yaygın olarak antioksidan kapasitenin belirlenmesinde karşımıza çıkan ABTS yöntemi kullanılmıştır. Yöntemde önceden oluşturulmuş radikal katyona antioksidan ilavesi, antioksidanın aktivitesine, konsantrasyonuna ve reaksiyon süresine bağlı olarak ABTS'yi bir dereceye kadar ve zaman ölçeğinde azaltmaktadır. Böylece ABTS radikal katyonunun yüzde inhibisyonu olarak renk giderme derecesi, konsantrasyonun ve zamanın bir fonksiyonu olarak belirlenmektedir. Yöntemin toplam fenolik madde miktarı ile doğru orantılı sonuçlar vereceği düşünülerek oransal karşılaştırmada kullanılmıştır.

Wang and Xiong (2005) ve Almajano *et al*. (2007) tarafından belirlenen ABTS Yok Etme Aktivitesi metotu üzerinde bazı değişiklikler yapılarak tayin edilmiştir. Bu metotta, 2.45 mM $K_2S_2O_8$ ve 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit)) çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm' de absorbansı alınarak 1.850±0.05 absorbansına ulaşılana kadar etil alkolle seyreltilmiştir. Bu absorbans kontrol absorbansı olarak kullanılmıştır (Agilent, Carry 60 UV-Vis, Amerika). Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 mL bırakılmıştır. Bu tüplerin üzerine 100 µL bitki ekstrelerinden eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm' de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)' den oluşan köre karşı kaydedilmiştir (Wu ve ark., 2009). Azalan absorbans ortamdan yok edilen ABTS radikallerinin miktarını vermektedir (Keser ve ark., 2013). Ekstrelerin ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını yok ettiği şu formülle hesaplanmıştır:

% ABTS Yok Etme Aktivitesi = $[(A_0-A_1)/A_0] \times 100$

A_0 kontrolün absorbansı, A_1 örneklerin absorbansı olarak alınmıştır.

3.2.2. Zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin mikroenkapsülasyonu

Çalışmanın bu kısmında hedef, enkapsülasyon teknolojisi yardımıyla oleoresin yüklü mikrokapsüller elde etmektir. İyonik çapraz bağlanma yöntemi ile oleoresin yüklü sodyum aljinat (Ole-Na-Alg) kapsüller üretilmiştir. Ekstrakt kaybını azaltmak için sonrasında kapsüller kitosan (CS) ile kaplamış ve oleoresin yüklü kitosan sodyum aljinat (Ole-CS-Na-Alg) kapsüller üretilmiş ve bu sırada enkapsülasyon koşullarında optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Sonrasında ise bu mikrokapsüller karakterize edilmiştir. Enkapsülasyon koşullarındaki optimizasyonun sağlanmasında, tepki yüzey yöntemi tabanlı Box-Behnken dizaynı kullanılmıştır. Yapılan bu optimizasyon ile keten tohumu ve zencefil oleoresin ekstraktının uygun enkapsülasyon koşullarında enkapsüle edilerek daha stabil hale getirilmesi sağlanmıştır.

3.2.2.1.İnvers jelleşme yöntemi ile aljinat-kitosan membranlı oleoresin çekirdekli mikrokapsül üretimi

Sunulan tez projesinin ikinci aşamasında, optimum koşulları belirlenerek elde edilen oleoresin ekstraktı sodyum aljinat ve kitosan kaplı tanecikler halinde "invers jelleşme (damlatma) yöntemi" kullanılarak enkapsüle edilmiştir.

Kalsiyum tuzları ile aljinat çözeltisinden mikroküreler elde etme yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup mikro ve makro boyutunda partiküller elde edilmektedir Kalsiyum iyonu varlığında aljinatta çapraz bağ oluşumu artar, aljinat-kitosanın pıhtılaşmasına ve kapsül oluşturmasına neden olur (Aghel *et al.* 2011).

Bu amaçla, yapılan literatür incelemelerine dayanarak optimum enkapsülasyon koşullarının belirlenmesi için çeşitli parametreler denenmiştir. Enkapsülasyon işleminde en önemli faktörler, enkapsüle edilmek istenen bileşenin ne kadarının kapsül içine hapsedildiği, kapsüllerin boyutları ve ürünlerdeki stabiliteleridir.

Zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin aljinat-kitosan kaplı taneciklerde enkapsüle

edildiği optimum koşulların belirlenmesi amacıyla Tepki Yüzey Metodu (RSM) kullanılmıştır. Bu amaçla, 3 faktör ve 3 seviyeli Box-Behnken deneme deseni Design Expert 11.0 deneme sürümü kullanılarak hazırlanmıştır.

Enkapsülasyon aşamasında, daha önce yapılan çalışmalara ve literatür incelemelerine dayanarak optimum enkapsülasyon koşullarının belirlenmesi için çeşitli parametreler denenmiştir. Sodyum-aljinat jeli konsantrasyonu, kitosan jeli konsantrasyonu ve şırınga pompadan emülsiyonun akış hızı olarak 3 bağımsız değişken parametre belirlenmiştir. Bu parametrelere göre enkapsülasyon verimi, ortalama kapsül çapı, çekirdek sızıntısı değerlendirilmiştir. Parametrelerin sayısal değerleri yapılan ön denemeler sonucunda belirlenerek uygulamaya geçilmiştir.

Sodyum-Aljinat çözeltisinin hazırlanması

Belirlenen derişimlerde sodyum aljinat (Na-Alg) çözeltileri hazırlamak için gerekli miktardaki toz sodyum aljinat saf suda 500 rpm'de 24 saat karıştırılarak çözülmüştür. Aljinat tamamen çözündükten sonra içerisindeki gaz kabarcıklarının uzaklaştırılması için 1 saat su banyosunda düşük hızda karıştırılmıştır ve kullanılmadan önce +4 ^{o}C'de 12 saat bekletilmiştir. Kullanılan aljinat konsantrasyonları % 0.5, 1, 1.5 olarak belirlenmiştir.

Kitosan çözeltisinin hazırlanması

Kitosan çözeltisi 1 g/L'lik glasiyel asetik asit çözeltisinde (pH=3.25) hazırlanmıştır. İstenilen derişimde stok kitosan çözeltisi hazırlamak için kitosan saf su içerisinde 500-600 rpm'de 12 saat karıştırılarak çözülmüştür. Kitosan tamamen çözündükten sonra karıştırma hızı 50-100 rpm seviyesine düşürülerek 2 saat daha karıştırılmıştır. Hazırlanan çözeltiler 4 °C'de sıcaklıkta 12 saat bekletilmiştir.

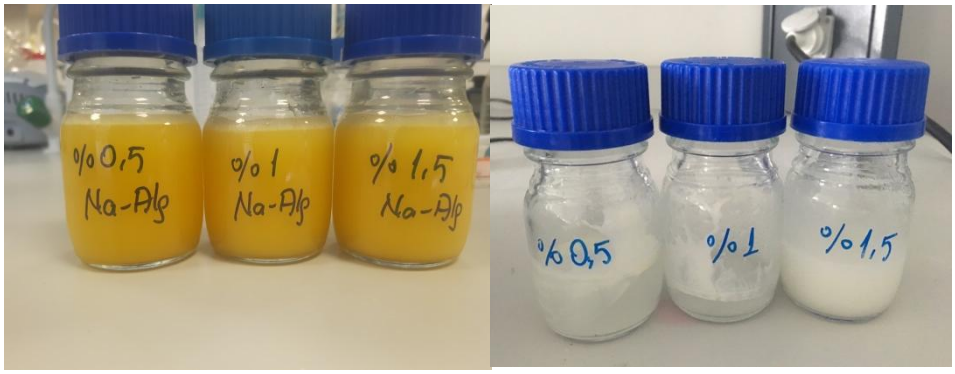
Kalsiyum klorür çözeltisinin hazırlanması

Aljinat kapsüllerin hazırlanması için çapraz bağlayıcı olarak 500 rpm'de manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılan %1 oranında kalsiyum klorür çözeltisi kullanılmıştır. 1 g $CaCl_2$ 100 mL saf suda çözülmüştür ve deney çalışmaları boyunca kalsiyum klorür miktarı değiştirilmemiş, sabit konsantrasyonda çalışılmıştır.

Jelleşme ortamının hazırlanması

Emülsiyon ortamının hazırlanmasında elde edilen oleoresinler sodyum aljinat çözeltisi içerisinde dağıtılarak emülsiyon oluşturulmuştur. Yağlı örnekle emülsiyonu oluşturmak için çözelti ultra turrax karıştırıcı ile 12000 rpm'de 5 dk karıştırılmıştır. Stabil emülsiyon oluştuktan sonra çözelti kapsül üretiminde kullanılmıştır.

Şekil 3.4'te belirlenen Na-Alg konstantrasyonlarında elde edilen zencefil ve keten tohumu oleoresin emülsiyonları gösterilmektedir.



Şekil 3.4 Farklı Na-Alg konstantrasyonlarında zencefil ve keten tohumu oleoresin emülsiyonları

Damlatma çözeltisinin hazırlanması

Damlatma çözeltisi olarak % 1'lik $CaCl_2$ çözeltisi ile belirli miktarlarda kitosan çözeltisi karıştırılarak $CaCl_2$-kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. Damlatma çözeltisi kitosan yüzdesi 0.1 g/L, 0.2 g/L ve 0.3 g/L olacak şekilde ayarlanmıştır.

Sıvı lipofilik madde çekirdekli mikrokapsül üretimi

Çalışmada yağ emülsiyonu damlacıklarını aljinat-kitosan jelle kaplamak için invers jelleşme metodu kullanılmıştır. İstenilen özelliklerde kapsül oluşturmak için 50 Hz sabit frekansta çalışan titreşim ünitesi kullanılmıştır. Deney oda koşullarında uygulanmış ve oleoresin-aljinat emülsiyonu programlanabilir şırınga pompa ile titreşimli dağıtılarak damlatılmıştır. Damlatma çözeltisi olan kitosan- $CaCl_2$ çözeltisi (%0.1, 0.2, 0.3) ise 500 rpm'de manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılmıştır. Damlacıkların, küresel şekil alabilmesi için, damlama ucu ile $CaCl_2$ yüzeyi arasında 10 cm'lik mesafe bırakılmıştır.

Enkapsülasyon işlemi tamamlandıktan ve jeller oluştuktan sonra kürelerin stabilizasyonu için manyetik karıştırma işlemine 30 dk süreyle devam edilmiştir. Süre sonunda oluşan kapsüller bir süzgeç ile süzülmüş ve kurutuluncaya kadar $CaCl_2$ çözeltisi içinde +4 °C'de depolanmıştır. Bu şekilde elde edilen aljinat-kitosan mikrokapsüllerin karakterizasyonu amacıyla, aljinat jeli konsantrasyonu (% 0.5, 1 ve 1.5), şırınga pompadan emülsiyonun akış hızı (0.5, 1 ve 1.5 mL/dk) ve damlatma çözeltisi içerisindeki kitosan konsantrasyonu (% 0.1, 0.2 ve 0.3) değiştirilerek işlemler tekrarlanmış ve bu parametrelerin aljinat mikrokapsüllerin boyutları, şekilleri ve stabiliteleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu etkilerin değerlendirilmesinde ise; enkapsülasyon işlemi için oluşturulan tepki yüzey deneme deney tasarım modeli uygulanmış ve model aşağıdaki Çizelge 3.4 ve 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Enkapsülasyon aşaması için oluşturulan Üç Faktör-Üç Seviye Box-Behnken tepki yüzey deneme deseni

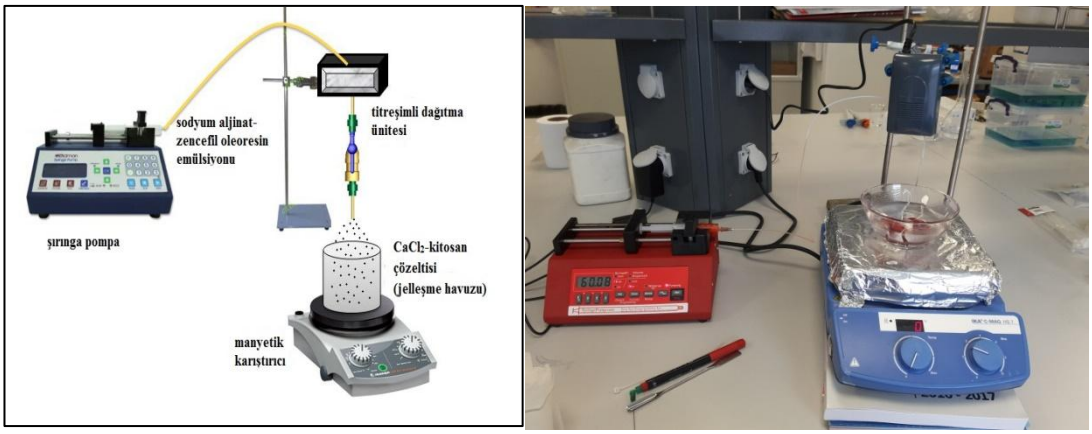
	Kodlu değerler			**Reel değerler**		
Deneme Noktaları	**Sodyum-Aljinat jeli konst. (%)** X_1	**Kitosan oranı (%)** X_2	**Akış hızı (mL/dk)** X_3	**Sodyum-Aljinat jeli konst. (%)** X_1	**Kitosan oranı (%)** X_2	**Akış hızı (mL/dk)** X_3
1	**0**	**-1**	**-1**	**1**	**0.1**	**0.5**
2	**0**	**1**	**1**	**1**	**0.3**	**1.5**
3	**-1**	**1**	**0**	**0.5**	**0.3**	**1**
4	**0**	**0**	**0**	**1**	**0.2**	**1**
5	**-1**	**0**	**1**	**0.5**	**0.2**	**1.5**
6	**-1**	**-1**	**0**	**0.5**	**0.1**	**1**
7	**0**	**1**	**-1**	**1**	**0.3**	**0.5**
8	**1**	**1**	**0**	**1.5**	**0.3**	**1**
9	**0**	**0**	**0**	**1**	**0.2**	**1**
10	**1**	**0**	**-1**	**1.5**	**0.2**	**0.5**
11	**0**	**0**	**0**	**1**	**0.2**	**1**
12	**1**	**-1**	**0**	**1.5**	**0.1**	**1**
13	**0**	**-1**	**1**	**1**	**0.1**	**1.5**
14	**1**	**0**	**1**	**1.5**	**0.2**	**1.5**
15	**-1**	**0**	**-1**	**0.5**	**0.2**	**0.5**

Çizelge 3.5 Enkapsülasyon aşaması için RSM deneme deseni değişkenleri

Bağımsız Değişkenler	RSM Seviyeleri		
	-1	**0**	**1**
Sodyum-Aljinat jeli konsantrasyonu (%)	0.5	1	1.5
Kitosan jeli konsantrasyonu (%)	0.1	0.2	0.3
Şırınga pompadan emülsiyonun akış hızı (mL/dk)	0.5	1	1.5

Zencefil ve keten tohumundan elde edilen oleoresinleri kapsüllemek için kapsül materyali olarak sodyum aljinat ve kitosan, jelleşme ajanı olarak da kalsiyum klorür kullanılmıştır Jelleşme için belirli miktardaki oleoresin aljinat çözeltisi içinde 12000 rpm'de ultra turrax kullanılarak stabil emülsiyon oluşana kadar karıştırılmıştır. Sodyum aljinat ile emülsiyon haline getirilen aktif bileşenler şırınga pompa ile jelleşme çözeltisine damlatılmıştır. İstenilen boyutlarda kapsül oluşturmak için sabit frekansta çalışan titreşim ünitesi kullanılmıştır. Elde edilen emülsiyon şırınga pompadan çözeltiye iç çapı 0,33 mm dış çapı ise 0.57 mm olan, HPLC örnek enjeksiyonlarında kullanılan mikrolitre şırınga iğnesiyle damlatılmıştır. Damlatma çözeltisi olarak da 500 rpm'de manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılan farklı konsantrasyonlardaki kitosan içeren kalsiyum klorür ($CaCl_2$) çözeltisi kullanılmıştır. Oluşan kapsüller, süzülüp yıkanıp tekrar analiz edilinceye kadar kalsiyum klorür-kitosan çözeltisi içerisinde buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Daha sonrasında oluşan bu kapsüller çözeltiden alınarak karakterizasyon testlerine tabi tutulmuştur ve optimum koşulları belirlenen kapsüller model gıda denemelerinde kullanılmıştır.

Enkapsülasyon sistemi deney düzeneği Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Titreşimli dağıtma ünitesi ve deney düzeneği

3.2.2.2. Kapsüllerin dondurularak kurutulması

Dondurarak kurutma işlemi ürünün dondurulması ve buz kristallerinin süblimasyonla üründen uzaklaştırılması temeline dayanmaktadır. Kapsül örnekleri liyofilizatör yardımıyla 24 saat dondurularak kurutulmuştur. Dondurarak kurutma üç aşamada gerçekleşmektedir; dondurma, temel kurutma aşaması ve ikinci kurutma aşaması. Dondurma aşamasında; şoklama veya derin dondurucuda gıdadaki suyun buz kristalleri haline dönüştürülmesi, temel kurutma aşamasında; buz kristallerinin süblimasyonla üründen uzaklaştırılması, ikinci kurutma aşamasında ise gıdada bulunan bağlı suyun uzaklaştırılması sağlanır (Karaoğlan, 2011).

3.2.2.3. Enkapsülasyon verimi

Kapsüllerin verimi gravimetrik olarak belirlenmiştir. Kapsüllenmeden önceki çözelti ağırlığı ile enkapsülasyon işleminden sonraki kapsül ağırlıkların belirlenmesi ile enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır.

3.2.2.4. Kapsüllerin optik analizi, ortalama çap ve boyut dağılımlarının ölçümü

Üretilen liyofilize ve ıslak kapsüllerin optik analizi, dijital kameralı optik mikroskop kamerasıyla çekilen görüntülerin LAS EZ yazılım programında işlenmesiyle

yapılmıştır. Etiketlenmiş, filtrelenmiş ve boyutlandırılmış görüntüler yardımıyla partiküllerin şekilleri, boyutları, küresellikleri incelenmiş, ortalama çapları ve boy dağılım değişim katsayıları hesaplanarak yorumlanmıştır.

3.2.2.5. Kapsüllerin çekirdek sızıntısı ölçümü

Kapsüllerin çekirdek sızıntısı ölçümü için farklı parametrelerde üretilen sodyum aljinat-kitosan kaplamalı modele uygun olarak üretilen kapsüller kullanılmıştır. Elde edilen kapsüller 24 saat süreyle dondurularak kurutulmuştur. Çalışmanın bu kısmında kapsül çekirdek sızıntısı ölçümü, Lopez *et al.* tarafından kullanılan yöntemde modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır. Liyofilize kuru kapsüllerden, eşit miktarlar alınarak (0.05 g) sabit tartıma getirilmiş petri kaplarına aktarılmıştır. Petri kapları önce 1 saat 50 ^{o}C'de ardından 1 saat 60 ^{o}C'de ve son 1 saatte 70 ^{o}C'de etüvde tutulmuştur. Süre sonunda kapsüller etüvden çıkarılmış ve başka bir kaba aktarılmıştır. Petri kap üzerinde kalan yağ, aseton ve etanol ile yıkanmış sonra petri kaplar kurutulmuştur. Daha sonra kapsüller petri kaplara geri aktarılıp tartım yapılmıştır. Alınan ölçümlerdeki kapsül ağırlığındaki azalma gravimetrik olarak kapsül çekirdek sızıntı miktarını vermektedir (Lopez et. al., 2010, Karaoğlan, 2011).

3.2.2.6. Kapsüllerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Elde edilen kapsüllerin dondurularak kurutulduktan sonra boyutlarının ve yüzey özelliklerinin incelenmesi amacıyla "Taramalı Elektron Mikroskobu" (SEM, Scanning Electron Microscope) (LEO 440) ile elde edilen mikrograflar kullanılmıştır. Bu amaçla kapsüller vakum altında altın-paladyum ile kaplanarak farklı büyütmelerde görüntüler alınmış ve bu mikrograflar yardımıyla partikül çapları ve ortalama boy dağılımları hesaplanmıştır ve böylece partiküllerin yüzey özellikleri incelenmiştir.

3.2.3. İstatistiksel analiz ve optimizasyon

Regresyon analizi, istatistiksel analizler, eşyükselti ve yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon işlemleri Design Expert Version 11.0 deneme sürümü programı (Stat-Ease, Minneapolis, A.B.D) kullanılarak yapılmıştır.

Box Behnken tasarımında varyans analizi (ANOVA) ve regresyon analizi, modelin uygunluğunu belirlemek ve model terimlerinin istatistiksel önemini açıklamak için kullanılmıştır. Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. ANOVA sonuçlarında model terimleri arasında *p* değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir.

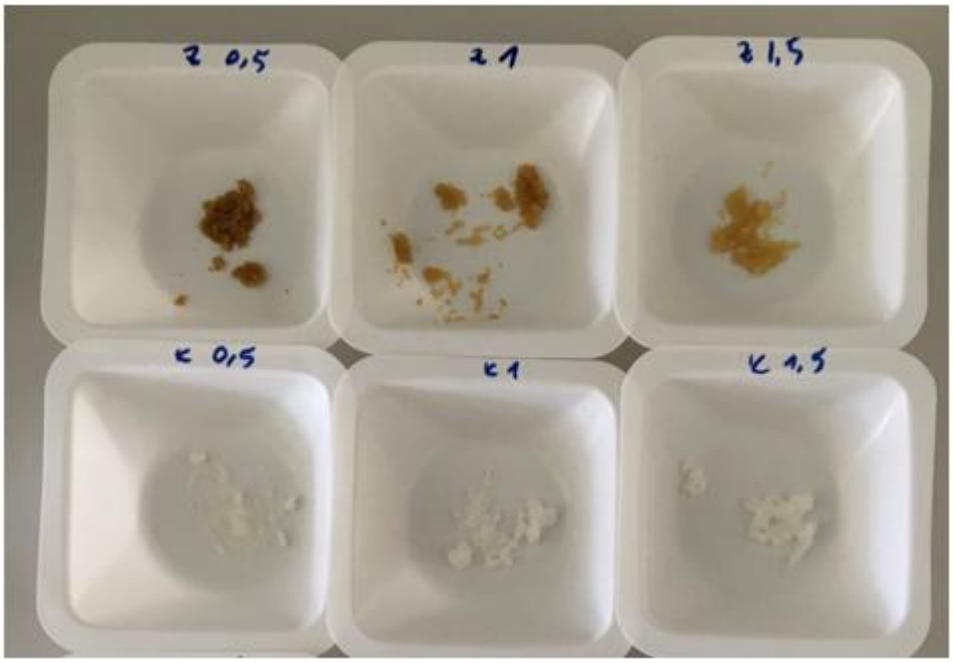
3.2.4. Enkapsüle edilmiş zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin model gıda uygulamaları

Enkapsüle ekstrakt katkılı ekmek üretiminde Türk Gıda Kodeksi Ekmek Tebliği'nde belirtildiği üzere un, su, tuz ve maya kullanılmıştır. Klasik ekmek formülasyonuna göre, un üzerinden % olarak; % 55-60 su, % 3-4 yaş maya, % 1.5-%1.75 tuz içeren ekmekler hazırlanmıştır. Ekmek formülasyonunda kullanılan malzemeler ve miktarları Çizelge 3.6'da verilmiştir.

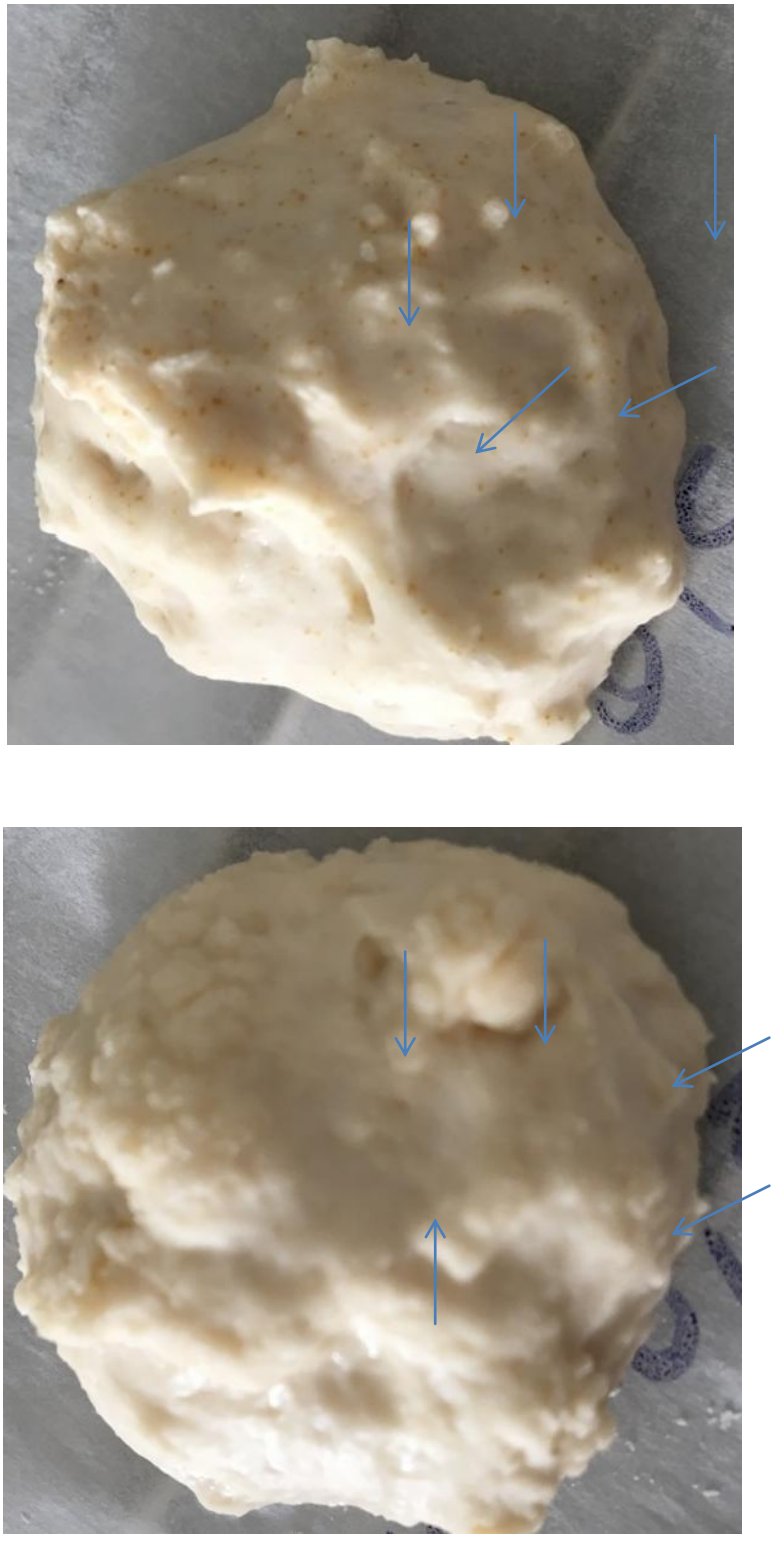
Çizelge 3.6 Ekmek formülasyonunda kullanılan malzemeler ve miktarları

Bileşenler	Un	Su	Yaş maya	Tuz
Miktar	200 g	110 mL	6 g	3 g

Zencefil ve keten tohumu oleoresinleri katkılı ekmeklerin üretimi için 3 farklı konsantrasyonda (% 0.5, 1, 1.5) sodyum aljinat kullanılarak 1.0 mL/dk akış hızında üretilen kapsüller kullanılmıştır. Üretim 2 paralelli olarak çalışılmıştır. 20 g ekmek hamuruna 0.5 g zencefil ve keten tohumu oleoresinleri içerecek şekilde kapsüller eklenmiş ve fırın kaplarına alınmıştır. 200 °C'de 30 dk. pişirme işleminin ardından ekmekler 1 saat oda sıcaklığında bekletilerek soğumaları sağlanmıştır ve kesitler alınarak analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.6 Ekmek hamurlarına eklenen kapsüller



Şekil 3.7 Kapsül eklenmiş ve 10 dakika fermentasyona bırakılmış ekmek hamurları

4. BULGULAR

4.1. Başlangıç Ürün Analizleri

Yerel piyasadan temin edilen hammadde kaynaklarında ve kurutulan ürünlerde yapılan renk analizine ait değerler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Taze zencefil örneğinde % nem değeri ortalama 90,7 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Başlangıç ürün analizleri

	L*	***a****	***b****
Taze zencefil	69,79	-2,87	38,64
Kurutulmuş toz zencefil	79,92	1,09	28,98
Tane keten tohumu	67,35	-8,89	45,17
Kurutulmuş toz keten tohumu	46,11	7,51	17,46

4.2. Çözgen Belirlenmesi

Kurutulup toz hale getirilen örneklerde çözgen olarak etanol, etil asetat ve aseton denenmiştir. Toz haldeki örnekler için, 40 °C sıcaklık ve 20 dakika ekstraksiyon süresi model olarak seçilmiş ve kullanılan belirli miktardaki çözgenin ekstraksiyon verimi ve oleoresinin radikal süpürücü gücü göz önüne alındığında;

- Zencefilden oleoresin eldesi için; %40 etanol, %40 etil asetat, %20 aseton
- Keten tohumundan oleoresin eldesi için ise; %50 etanol, %50 etil asetat karışımlarının organik çözücü olarak kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.1 Farklı çözgenlere ait ekstraktlar ve elde edilen oleoresin

4.3. Zencefil ve Keten Tohumu Oleoresinlerinin Ekstrakte Edilmesi

Tez çalışması kapsamında oluşturulan Box-Behnken dizaynına göre her iki örnek için 15 adet deneme noktasında üretimleri gerçekleştirilen oleoresin ekstraktlara ait önerilen ve gerçekleştirilen analiz sonuçları aşağıda verilmektedir.

Yanıt yüzey yönteminde seçilen modelin matematiksel formunun uygunluğunun test edilmesi amacıyla varyasyon katsayısının (C.V) hesaplanması, hipotez testlerinin regresyon katsayılarına bireysel olarak uygulanması, regresyon katsayısının (R^2) ve düzeltilmiş regresyon katsayısının hesaplanması (R^2 adj), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamının ve yeterli tahminleme (adequite precision) değerinin hesaplanması, model uygunsuzluğunun test edilmesi (Lack of fit testi) ve kalıntı analizi (residual) gibi farklı test yöntemleri uygulanması gerekir. Bu testlerden özellikle model uygunsuzluğunun kontrolü önem taşımaktadır. Modelin matematiksel formunun uygunsuzluğundan kaynaklanan hataya, model uyumsuzluğu (lack of fit) adı verilir. İdeal olarak, istatistiksel açıdan modelin matematiksel formunun uygunsuzluğunun (lack of fit) istatistiki olarak önemsiz ve regresyon modeli için de önemli olması gerekmektedir.

4.3.1. Ekstraksiyon verimi

Kesikli ekstraksiyon sistemlerinde elde edilen zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin ekstraksiyon verimi üzerine sıcaklık, süre ve çözücü oranının etkisini ortaya koyan yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen polinomiyal modele ait veriler Çizelge 3.3' de verilmektedir. Bağımsız değişkenlerin fonksiyonu olarak oleoresinlerdeki ekstraksiyon verimi değişimini veren yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrileri ise Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

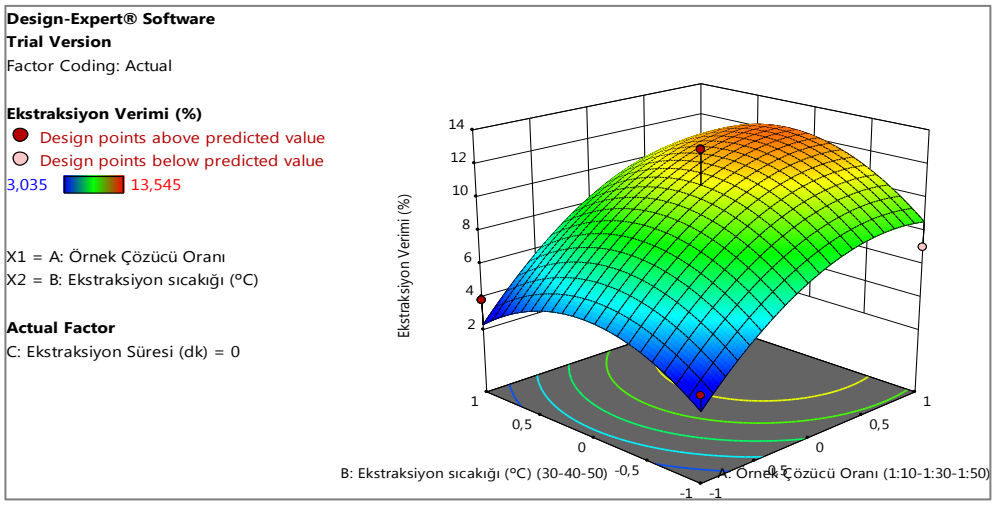
Zencefil

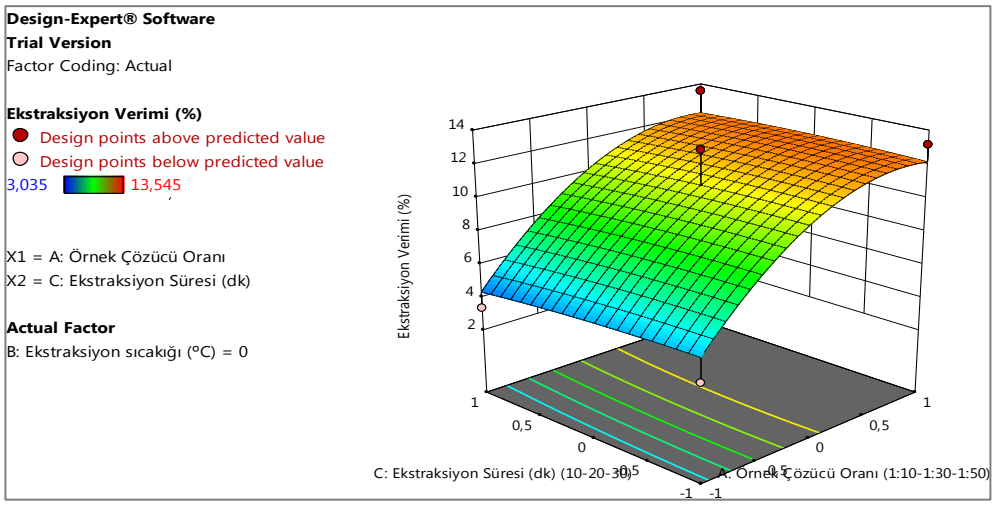
Çizelge 4.1 Proses değişkenlerinin zencefil ekstraksiyon veriminde meydana gelen değişime olan etkisine ait varyans analiz sonuçları

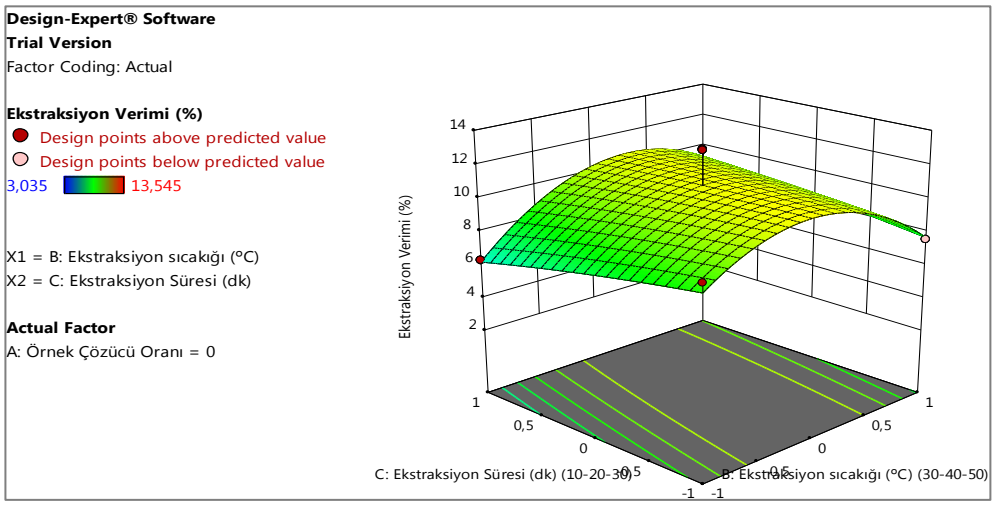
Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	158,18	9	17,58	2,26	0,1913
A-Örnek Çözücü Oranı	108,97	1	108,97	14,01	0,0134*
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (ºC)	2,26	1	2,26	0,2910	0,6127
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	0,3570	1	0,3570	0,0459	0,8388
AB	0,8281	1	0,8281	0,1065	0,7574
AC	0,1502	1	0,1502	0,0193	0,8949
BC	4,13	1	4,13	0,5312	0,4988
A^2	17,87	1	17,87	2,30	0,1900
B^2	26,57	1	26,57	3,42	0,1238
C^2	0,0790	1	0,0790	0,0102	0,9236
Residual	38,89	5	7,78		
Model Uyumsuzluğu	12,86	3	4,29	0,3296	0,8097
Pure Error	26,02	2	13,01		
Cor Total	197,07	14			
Y=+10,8+3,69A+0,5319B-0,2113C+0,4550AB+0,1938AC+1,02BC-2,2A2-2,68B2-0,1462C2					

Tablodaki sonuçların genel değerlendirilmesinde, 0,0100'den küçük *p*-değerleri model terimlerinin çok önemli olduğunu, 0,0500'den küçük *p* değerleri model terimlerinin önemli olduğunu, 0,1000'den büyük değerler model terimlerinin önemli olmadığını gösterir. Ayrıca bir diğer beklenilen faktör de modelin genel olarak önemli, model uyumsuzluğunun önemsiz olduğu durumlardır.

Bu durumda örnek-çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerinde pozitif yönde doğrusal etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Örnek-çözücü oranının artması ile zencefil için ekstraksiyon verimini artırmıştır. Sistemi modelleyen en iyi fonksiyon örnek-çözücü oranıdır. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin doğrusal etkileri önemli bulunmamıştır. Model uyumsuzluğu ise önemsiz bulunmuştur. Yani bu model elde edilen verilerle uyumlu sonuçlar vermiştir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.1'de verilmiştir.







Şekil 4.2 Farklı parametrelerin zencefil oleoresinlerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi

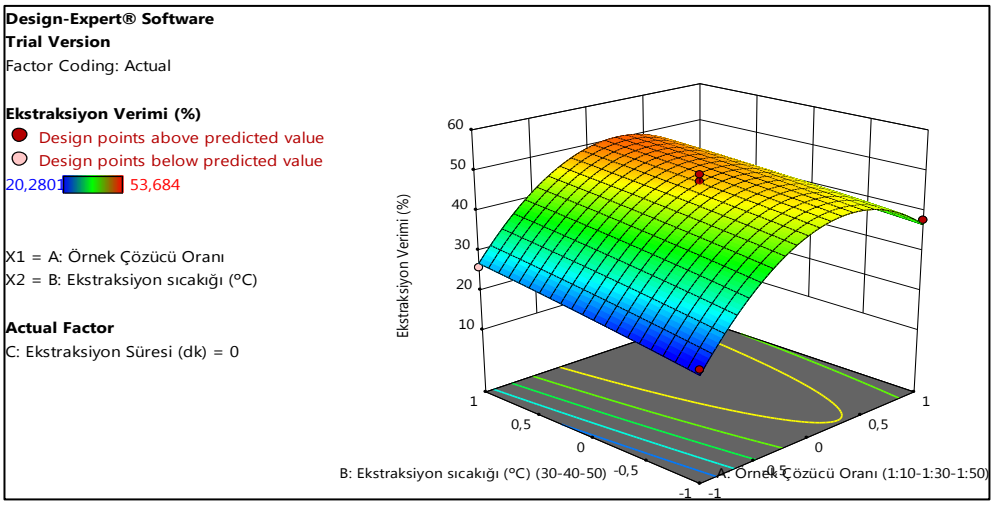
Keten Tohumu

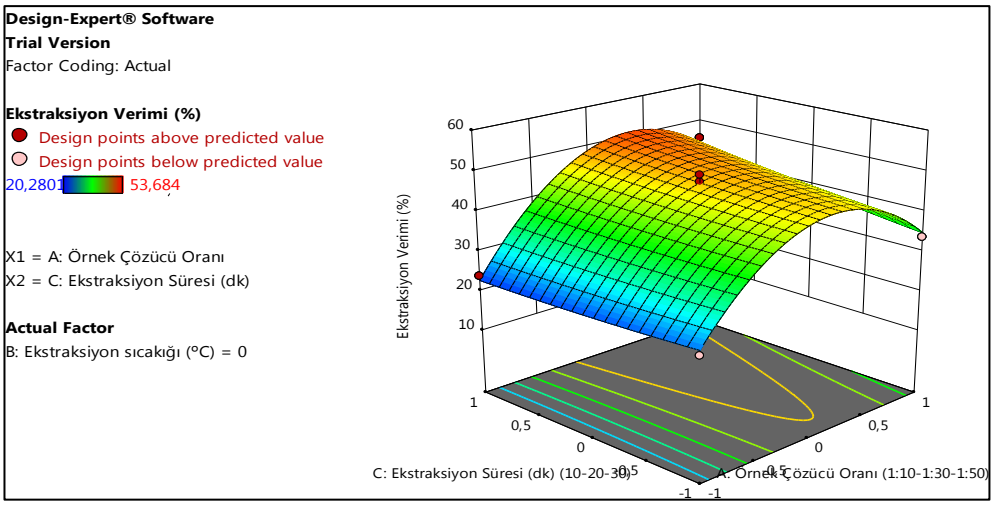
Örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresinin yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu numunelerinin ektraksiyon verimi (%) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin keten tohumunun ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.2'de verilmiştir.

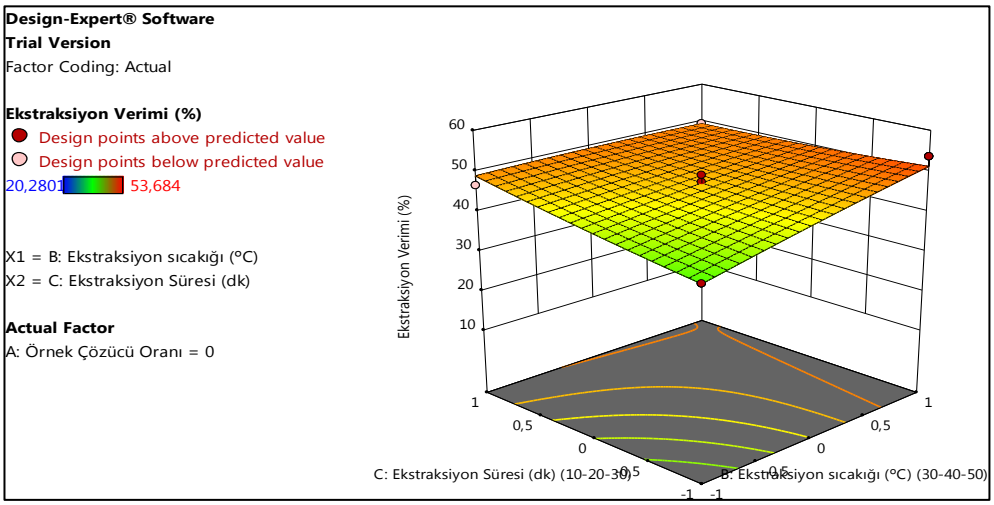
Çizelge 4.2 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten tohumu ekstraksiyon verimi değeri (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	1618,73	9	179,86	29,42	0,0008
A-Örnek Çözücü Oranı	494,24	1	494,24	80,84	0,0003**
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	70,55	1	70,55	11,54	0,0193*
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	26,34	1	26,34	4,31	0,0926
AB	4,57	1	4,57	0,7475	0,4268
AC	31,73	1	31,73	5,19	0,0717
BC	31,19	1	31,19	5,10	0,0735
A^2	947,41	1	947,41	154,97	<0.0001**
B^2	0,3661	1	0,3661	0,0599	0,8164
C^2	0,6986	1	0,6986	0,1143	0,7491
Residual	30,57	5	6,11		
Lack of Fit	22,29	3	7,43	1,79	0,3774
Pure Error	8,28	2	4,14		
Cor Total	1649,30	14			
$Y= +47,26+7,86A+2,97B+1,81C-1,07AB+2,82AC-2,79BC-16,02A^2-0,3149B^2+0,4350C^2$					

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi örnek-çözücü oranı seviyesinin ve kuadratik etkisinin doğrusal etkisi çok ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Çözücü seviyesinin artması ile ekstraksiyon verimiminde artış görülmüştür. Ekstraksiyon sıcaklığının negatif yönde interaksiyon etkisi istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimini etkilemediği gözlemlenmiştir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.2'de gösterilmiştir.







Şekil 4.3 Farklı parametrelerin keten tohumu oleoresinlerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi

4.3.2. Toplam fenolik madde miktarı ve abts radikali temizleme gücü

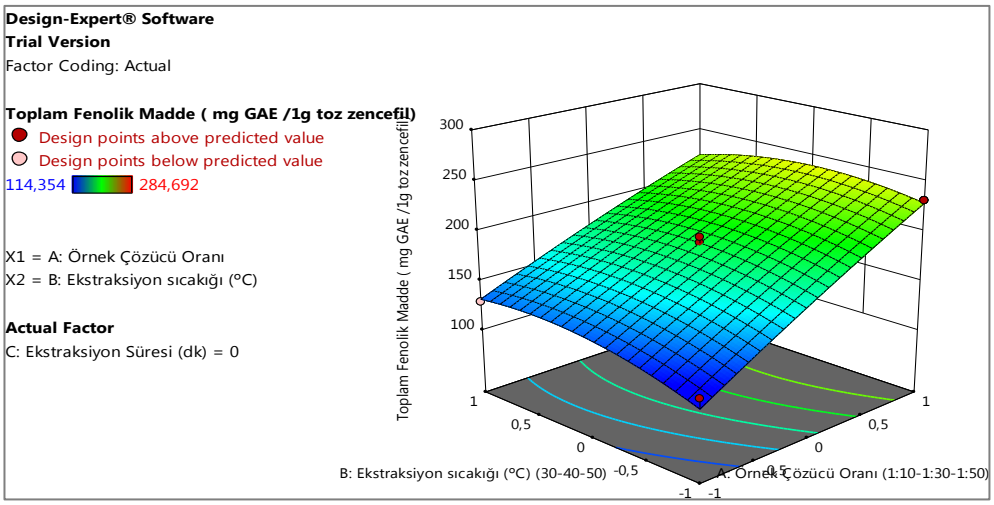
Zencefil

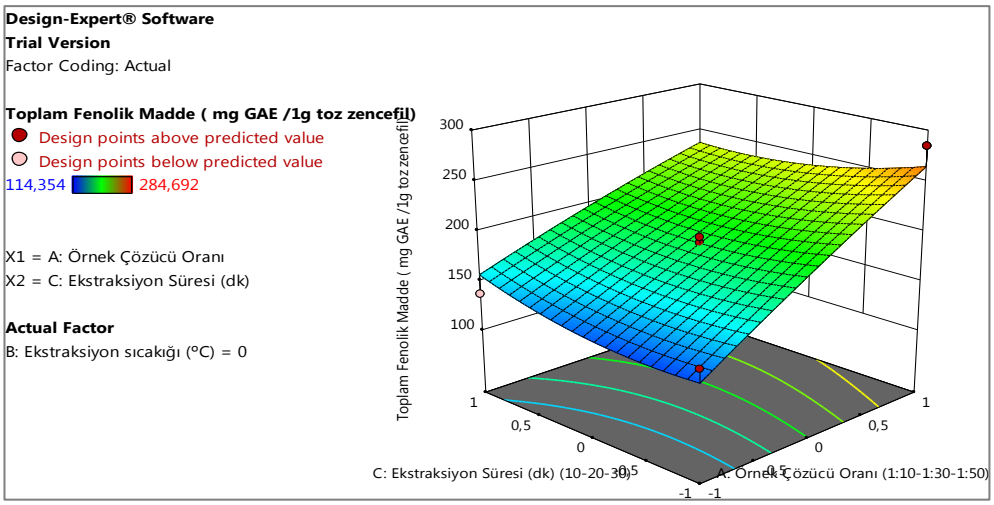
Örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresinin yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen zencefil numunelerinin toplam fenolik madde (mg GAE /1g toz zencefil) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin zencefilin toplam fenolik madde üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.3'te verilmiştir.

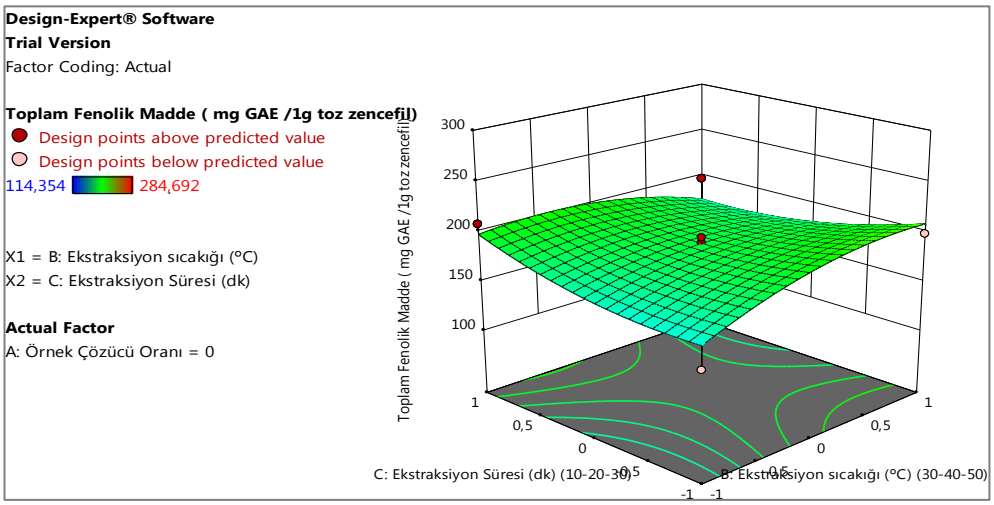
Çizelge 4.3 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) zencefil toplam fenolik madde (mg GAE /1g toz zencefil) miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	26968,55	9	2996,51	5,71	0,0348
A-Örnek Çözücü Oranı	23222,82	1	23222,82	44,23	0,0012*
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	225,16	1	225,16	0,4288	0,5415
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	0,0198	1	0,0198	0,0000	0,9953
AB	263,59	1	263,59	0,5020	0,5103
AC	781,78	1	781,78	1,49	0,2768
BC	1186,37	1	1186,37	2,26	0,1931
A^2	36,70	1	36,70	0,0699	0,8020
B^2	704,02	1	704,02	1,34	0,2992
C^2	457,31	1	457,31	0,8710	0,3935
Residual	2625,38	5	525,08		
Lack of Fit	2549,00	3	849,67	22,25	0,0433
Pure Error	76,38	2	38,19		
Cor Total	29593,93	14			
$Y=+188,95+53,88A+5,31B-0,0498C-8,12AB-13,98AC-17,22BC-3,15A^2-13,81B^2+11,13C^2$					

Çizelge 4.3'teki varyans sonuçlarına bakıldığında örnek-çözücü oranının toplam fenolik madde üzerinde doğrusal etkisi ($p<0,05$) önemlidir. Çözücü oranının artmasına bağlı olarak fenolik madde miktarında artış gözlenirken ekstraksiyon süresi arttıkça toplam fenolik madde miktarı azalmıştır. Ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin interaksiyon etkisinin önemli olmadığı ancak sürenin pozitif yönde doğrusal etkisinin fenolik madde miktarı üzerinde azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur. Faktörlerin etisini açıklayan grafikler Şekil 4.4'te verilmiştir.







Şekil 4.4 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin zencefil oleoresinlerinin toplam fenolik madde (mg GAE /1g toz zencefil) miktarı üzerine etkisi

Keten Tohumu İçin ABTS Radikali Temizleme gücü

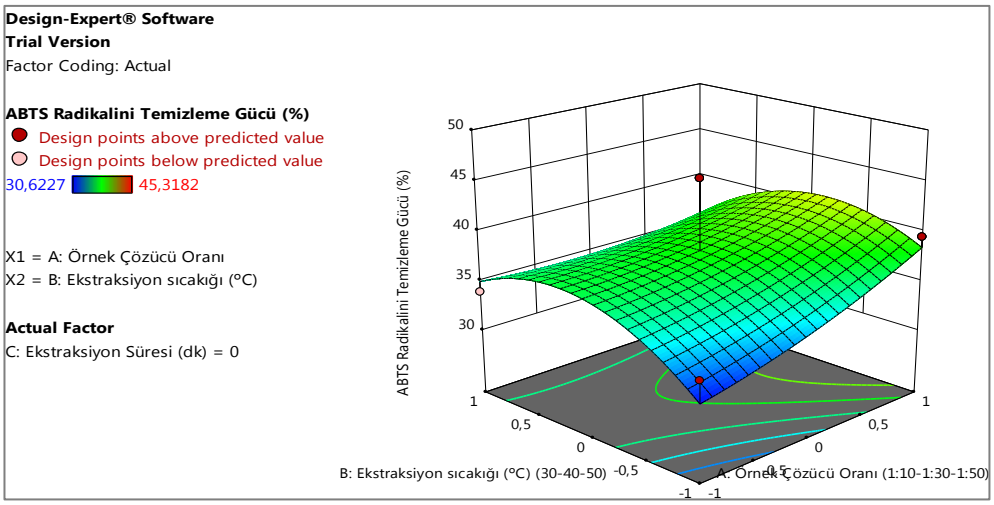
Toplam fenolik madde içeriği belirleme yöntemlerinden olan Folin-Ciocalteu metodu keten tohumu oleoresinlerinde çalışmamıştır. ABTS radikali temizleme gücünü oransal olarak toplam fenolik madde miktarına benzer sayarak yorumlayacak olursak ekstraksiyon parametrelerine etki eden faktörlere ulaşabiliriz.

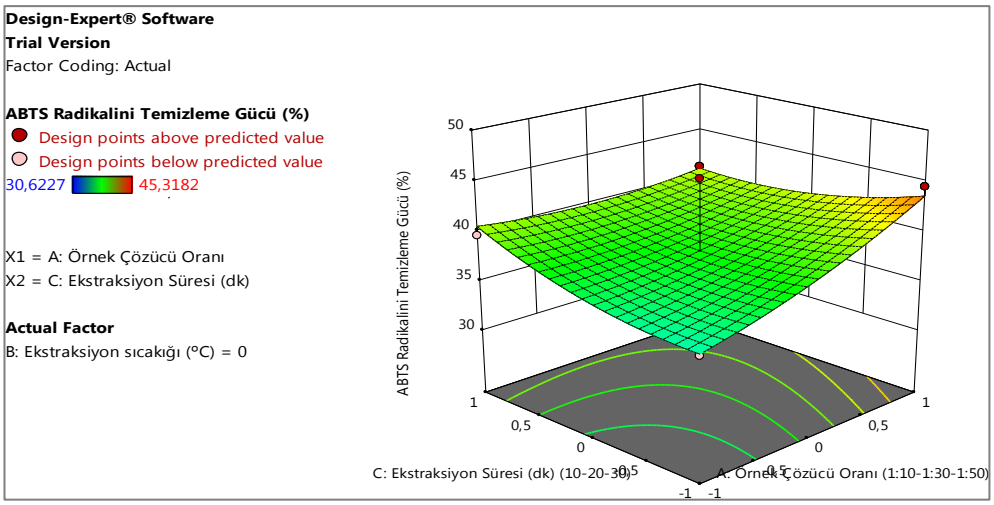
Örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresinin yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu örneklerinin toplam fenolik miktarını belirlemek için ABTS radikali temizleme (%) değerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibidir. Faktörlerin keten tohumunun ekstraksiyon verimine etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.4'te verilmiştir.

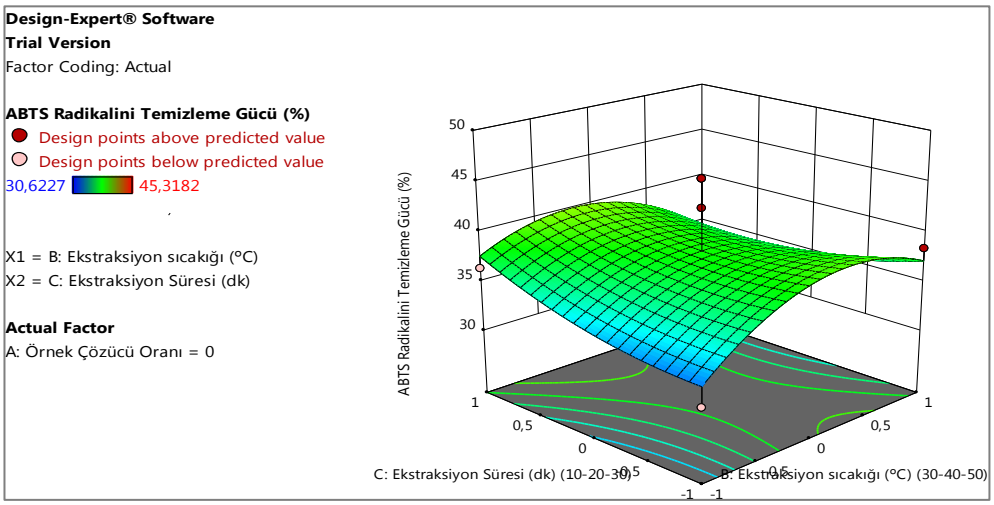
Çizelge 4.4 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten tohumu ABTS radikali temizleme (%) değerine etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	147,82	9	16,42	0,6921	0,7029
A-Örnek Çözücü Oranı	34,07	1	34,07	1,44	0,2845
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	0,8539	1	0,8539	0,0360	0,8570
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	2,52	1	2,52	0,1060	0,7579
AB	11,34	1	11,34	0,4781	0,5201
AC	15,10	1	15,10	0,6365	0,4612
BC	15,09	1	15,09	0,6357	0,4614
A^2	2,35	1	2,35	0,0992	0,7656
B^2	56,70	1	56,70	2,39	0,1828
C^2	5,39	1	5,39	0,2272	0,6537
Residual	118,65	5	23,73		
Lack of Fit	24,40	3	8,13	0,1725	0,9068
Pure Error	94,26	2	47,13		
Cor Total	266,47	14			
$Y= +38,15+2,06A+0,3267B+0,5608C-1,68AB-1,94AC-1,94BC+0,7983A^2-3,92B^2+1,21C^2$					

Ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve örnek-çözücü seviyesi faktörlerinin doğrusal etkileri önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Ancak aralarındaki interaksiyon etkisinin negatif yönde etkisi görülmüştür. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.5' te verilmiştir.







Şekil 4.5 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin keten tohumu oleoresinlerinin ABTS radikali temizleme (%) gücü üzerine etkisi

4.3.3. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

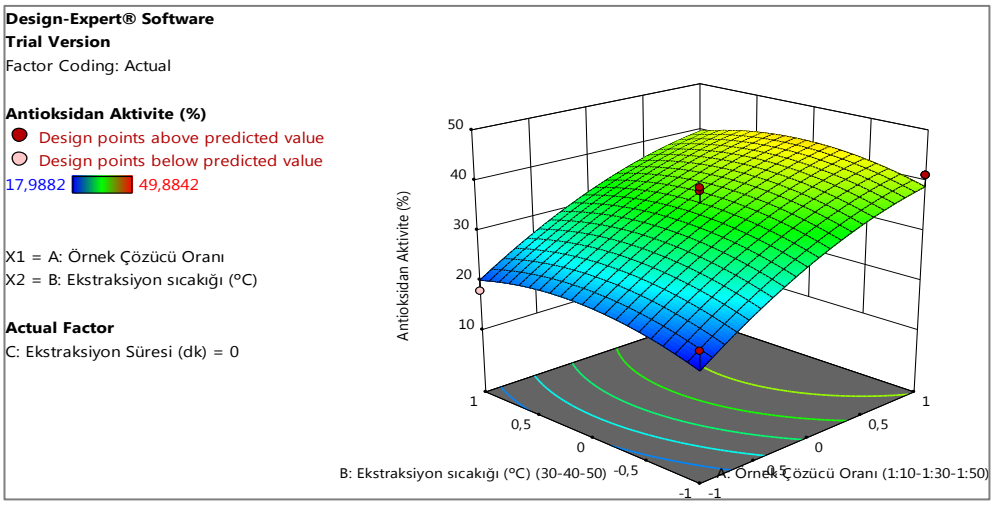
Zencefil

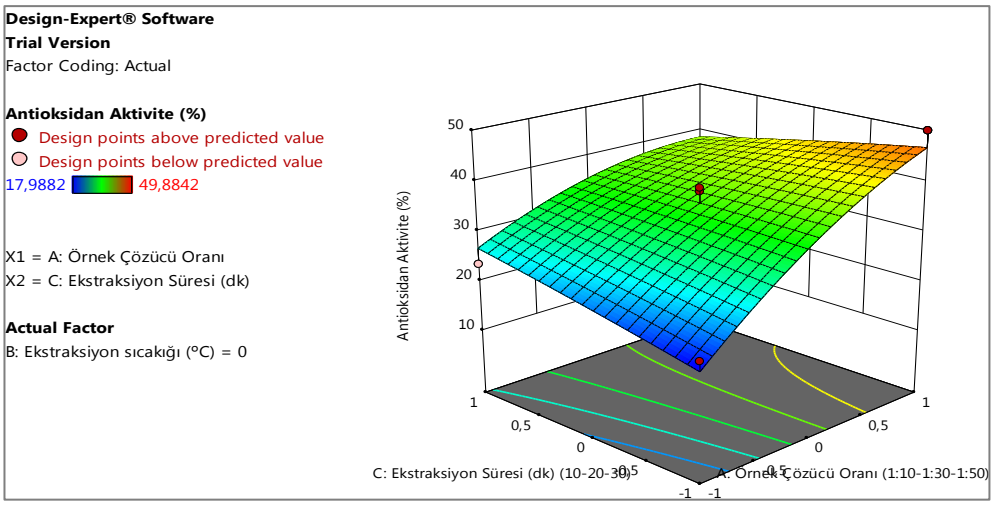
Örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresinin yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen zencefil numunelerinin antioksidan aktivite (%) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin zencefilin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.5'te verilmiştir.

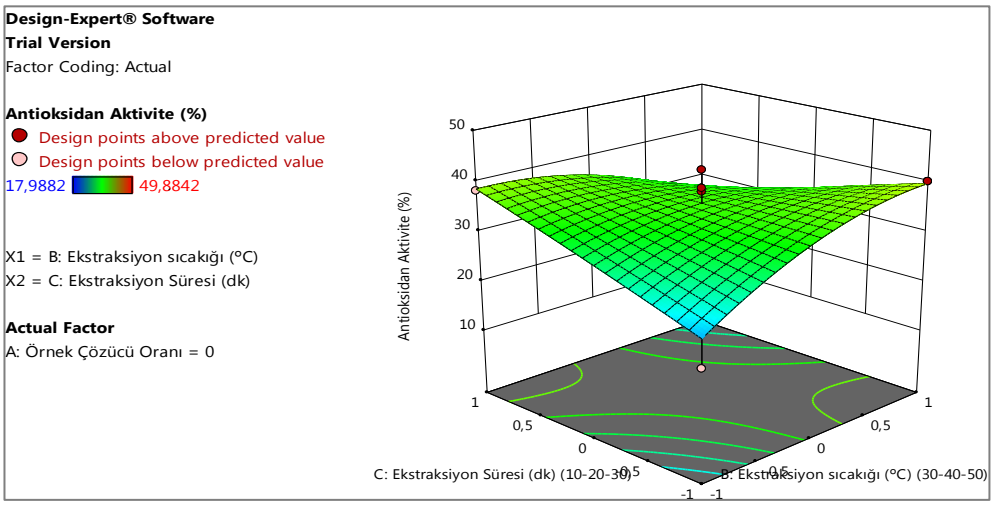
Çizelge 4.5 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) zencefil antioksidan madde miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	1173,49	9	130,39	3,93	0,0730
A-Örnek Çözücü Oranı	818,45	1	818,45	24,67	0,0042*
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	4,29	1	4,29	0,1293	0,7338
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	0,2842	1	0,2842	0,0086	0,9299
AB	0,5280	1	0,5280	0,0159	0,9045
AC	71,81	1	71,81	2,16	0,2012
BC	203,47	1	203,47	6,13	0,0561
A^2	34,95	1	34,95	1,05	0,3518
B^2	45,24	1	45,24	1,36	0,2956
C^2	0,2810	1	0,2810	0,0085	0,9302
Residual	165,88	5	33,18		
Lack of Fit	124,92	3	41,64	2,03	0,3465
Pure Error	40,96	2	20,48		
$Y=+35,83+10,11A+0,7323B+0,1885C-0,3633AB-4,24AC-7,13BC-3,08A^2-3,50B^2-0,2759C^2$					

Çizelge 4.5'teki veriler incelendiğinde örnek-çözücü oranının antioksidan aktivite değeri üzerine etkisi $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuş ve çözücü oranının artmasıyla antioksidan aktivite değeri de artmıştır. Ekstraksiyon süresinin ve sıcaklığının doğrusal etkileri önemli bulunmamıştır ancak negatif yönde etki etmektedir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.5'te verilmiştir.







Şekil 4.6 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin zencefil oleoresinlerinin antioksidan aktivitesi (%) üzerine etkisi

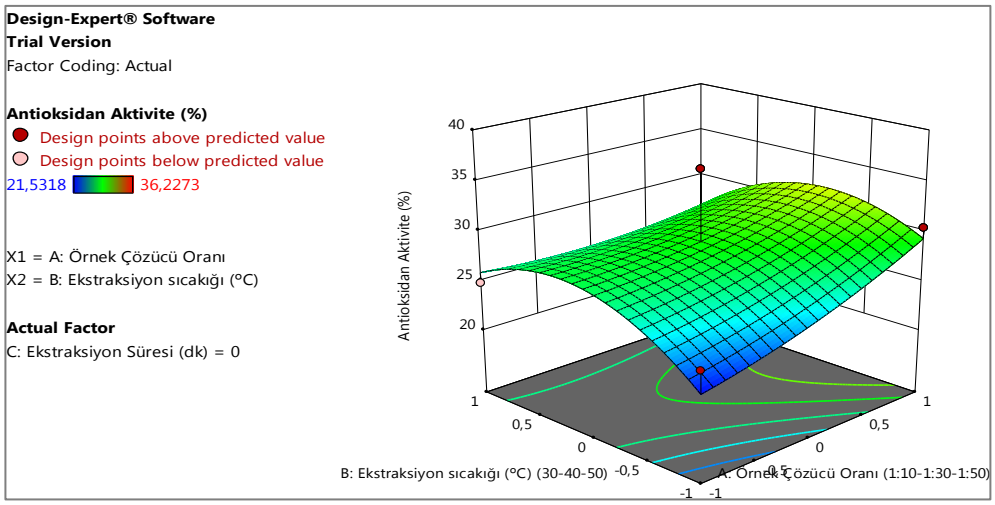
Keten Tohumu

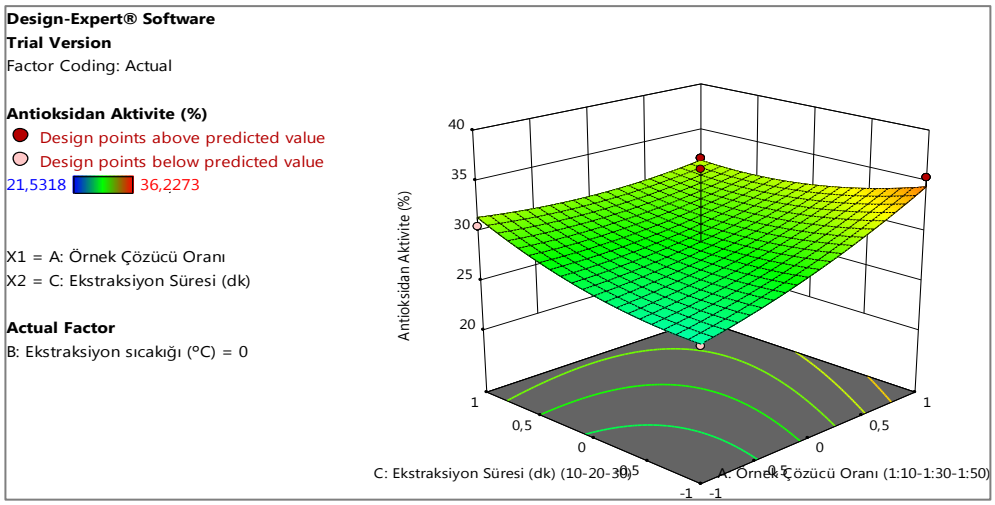
Örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresinin yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu numunelerinin antioksidan aktivite (%) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin keten tohumu antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.6'da verilmiştir.

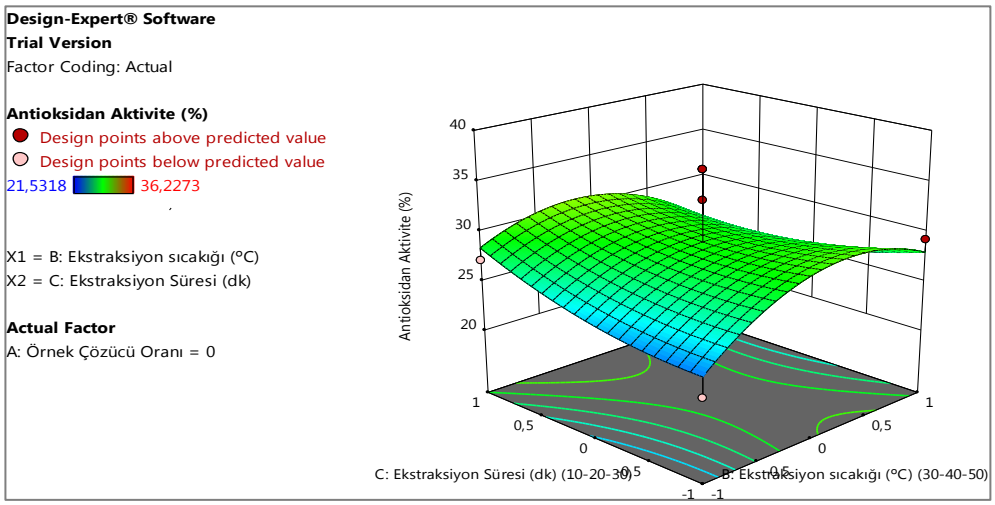
Çizelge 4.6 Farklı ekstraksiyon şartlarının (çözgen seviyesi, sıcaklık, süre) keten tohumu antioksidan madde miktarı üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	147,65	9	16,41	0,6896	0,7045
A-Örnek Çözücü Oranı	34,07	1	34,07	1,43	0,2851
B-Ekstraksiyon sıcaklığı (ºC)	0,9082	1	0,9082	0,0382	0,8528
C-Ekstraksiyon Süresi (dk)	2,43	1	2,43	0,1022	0,7621
AB	11,33	1	11,33	0,4764	0,5208
AC	15,09	1	15,09	0,6343	0,4619
BC	14,76	1	14,76	0,6203	0,4666
A^2	2,41	1	2,41	0,1012	0,7633
B^2	56,94	1	56,94	2,39	0,1825
C^2	5,31	1	5,31	0,2230	0,6567
Residual	118,96	5	23,79		
Lack of Fit	24,62	3	8,21	0,1740	0,9059
Pure Error	94,34	2	47,17		
Cor Total	266,61	14			
$Y= +29,05+2,06A+0,3369B+0,5513C-1,68AB-1,94AC-1,92BC+0,8074A^2-3,93B^2+1,20C$					

Ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve örnek-çözücü seviyesi faktörlerinin doğrusal etkileri önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Ancak aralarındaki interaksiyon etkinin ve ekstraksiyon sıcaklığının kuadratik etkisinin negatif yönde etkisi görülmüştür. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.6' da verilmiştir.







Şekil 4.7 Farklı ekstraksiyon parametrelerinin keten tohumu oleoresinlerinin antioksidan aktivitesi (%) üzerine etkisi

4.4. Zencefil ve Keten Tohumu Oleoresinlerinin Mikroenkapsülasyonu

Sunulan tez projesinin ikinci aşamasında, optimum koşulları belirlenerek elde edilen oleoresin ekstraktı sodyum aljinat ve kitosan kaplı tanecikler halinde "iyonik jelasyon yöntemi" kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Zencefil ve keten tohumu oleoresinlerinin aljinat-kitosan kaplı taneciklerde enkapsüle edildiği optimum koşulların belirlenmesi amacıyla Tepki Yüzey Metodu (RSM) kullanılmıştır. Bu amaçla, 3 faktör ve 3 seviyeli Box-Behnken deneme deseni Design Expert 11.0 deneme sürümü kullanılarak hazırlanmıştır. Sodyum-aljinat jeli konsantrasyonu, kitosan jeli konsantrasyonu ve şırınga pompadan emülsiyonun akış hızı olarak 3 bağımsız değişken parametrenin etkileri değerlendirilmiştir.

4.4.1. Enkapsülasyon verimi

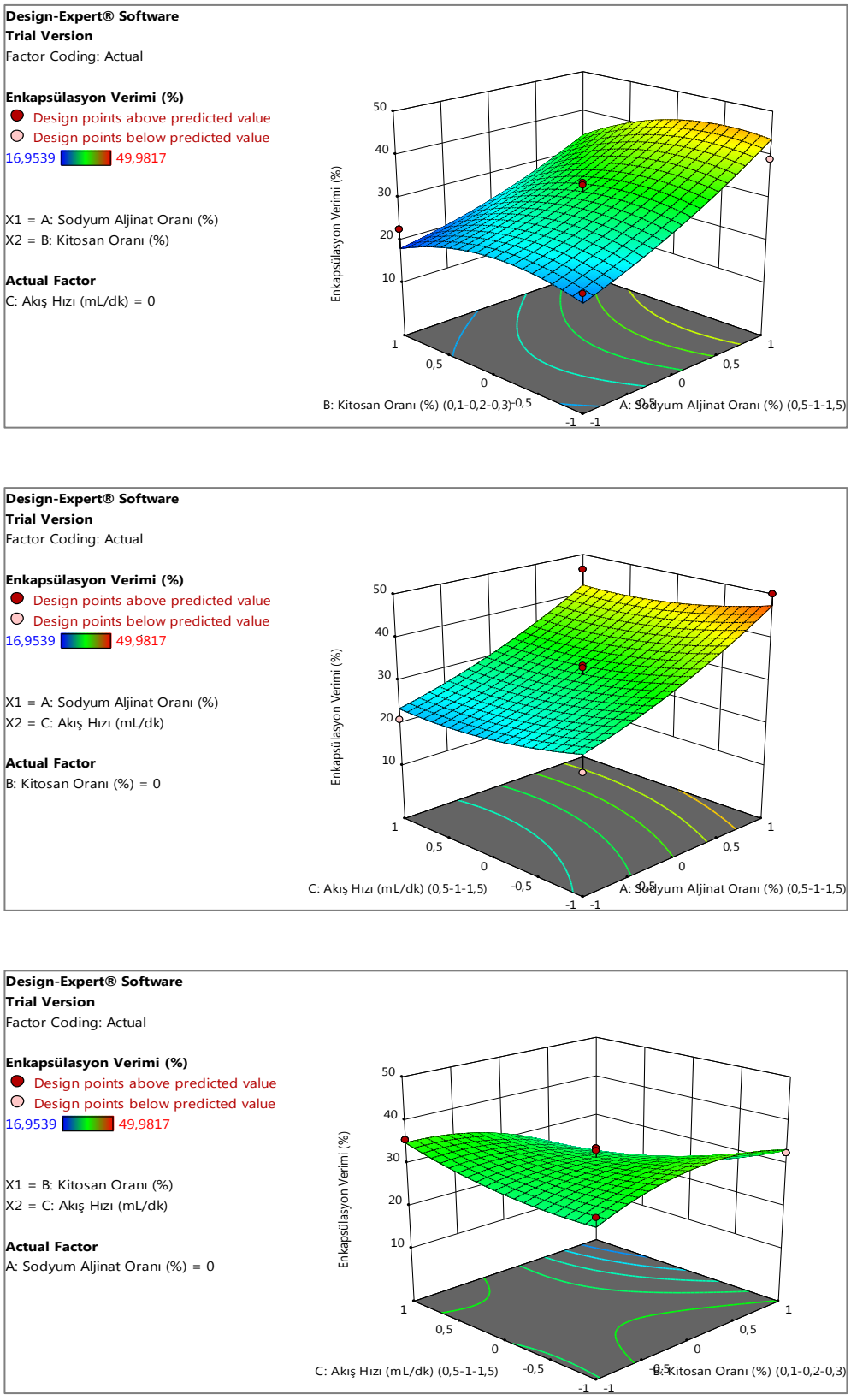
Zencefil

Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen zencefil kapsüllerinin enkapsülasyon verimi (%) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin zencefil enkapsülasyon verimi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	1059,08	9	117,68	4,83	0,0488
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	731,34	1	731,34	30,03	0,0028*
B-Kitosan Oranı (%)	81,04	1	81,04	3,33	0,1277
C-Akış Hızı (mL/dk)	43,26	1	43,26	1,78	0,2401
AB	11,38	1	11,38	0,4673	0,5246
AC	0,1644	1	0,1644	0,0068	0,9377
BC	94,94	1	94,94	3,90	0,1053
A^2	11,78	1	11,78	0,4836	0,5178
B^2	65,20	1	65,20	2,68	0,1627
C^2	12,60	1	12,60	0,5176	0,5041
Residual	121,76	5	24,35		
Lack of Fit	102,44	3	34,15	3,54	0,2283
Pure Error	19,32	2	9,66		
Cor Total	1180,85	14			
$Y= +31,63+9,56A-3,18B-2,33C-1,69AB-0,2028AC-4,87BC+1,79A^2-4,20B^2+1,85C^2$					

Çizelge 4.7'deki veriler incelendiğinde sodyum-aljinat oranının zencefil kapsüllerinin enkapsülasyon verimi değeri üzerine etkisi $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuş ve sodyum-aljinat oranının artmasıyla enkapsülasyon verimi değeri de artmıştır. Kitosan oranı ve akış hızının doğrusal ve interaksiyon etkileri önemli bulunmamıştır ancak negatif yönde etki etmektedir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.8 Zencefil oleoresinlerininin enkapsülasyonunda sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının enkapsülasyon verimi (%) üzerine etkisi

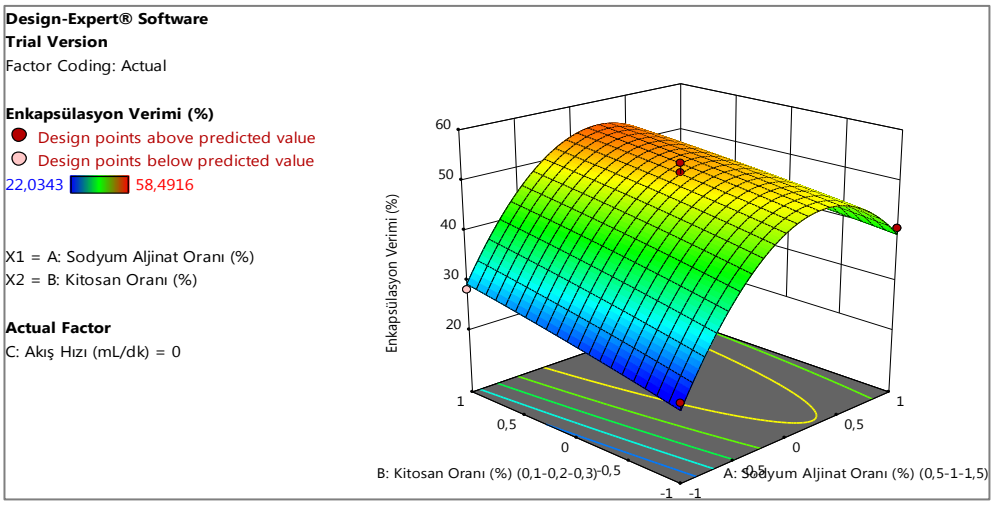
Keten Tohumu

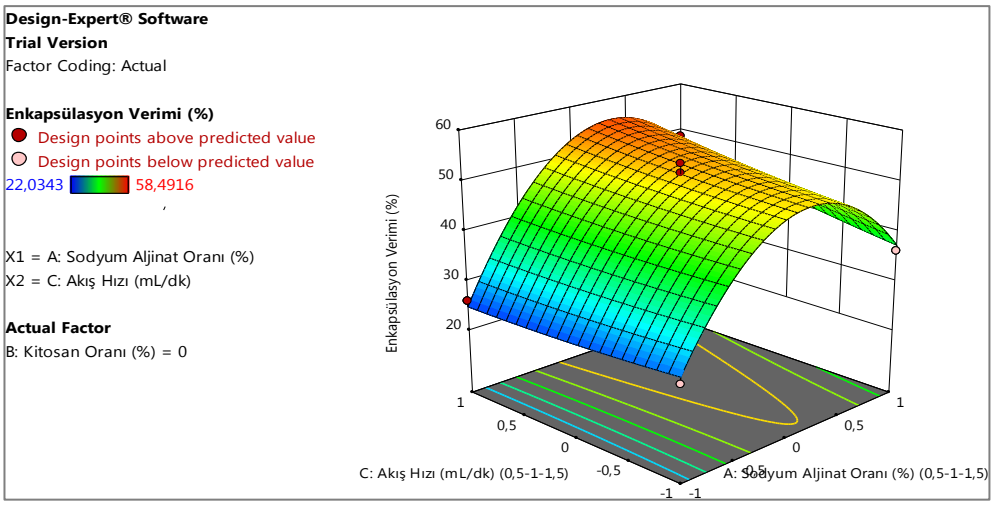
Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu kapsüllerinin enkapsülasyon verimi (%) değeri üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin keten tohumu enkapsülasyon verimi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.8'de verilmiştir.

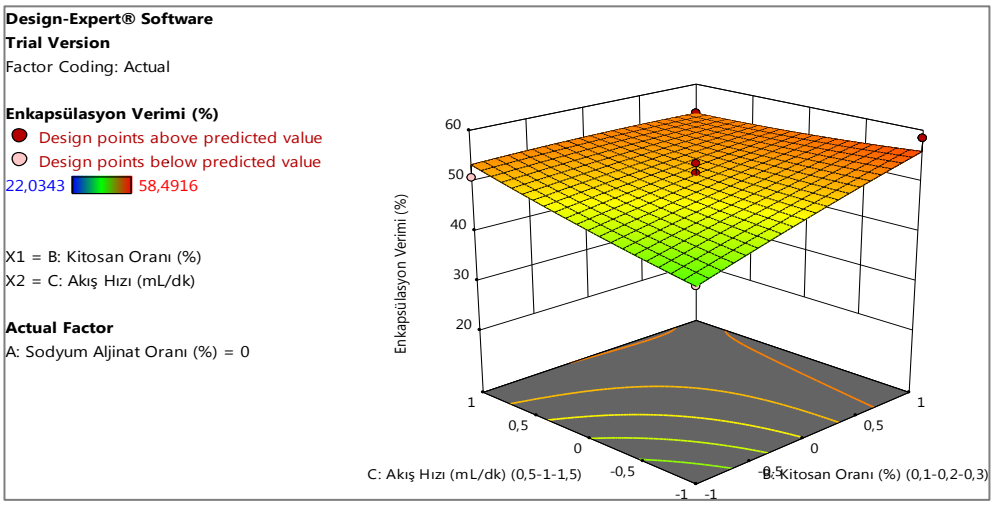
Çizelge 4.8 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	1928,00	9	214,22	29,84	0,0008
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	547,95	1	547,95	76,32	0,0003**
B-Kitosan Oranı (%)	83,48	1	83,48	11,63	0,0190*
C-Akış Hızı (mL/dk)	30,51	1	30,51	4,25	0,0943
AB	5,44	1	5,44	0,7578	0,4238
AC	36,51	1	36,51	5,08	0,0738
BC	37,02	1	37,02	5,16	0,0724
A^2	1171,50	1	1171,50	163,18	< 0.0001**
B^2	0,4240	1	0,4240	0,0591	0,8176
C^2	0,8147	1	0,8147	0,1135	0,7499
Residual	35,90	5	7,18		
Lack of Fit	26,07	3	8,69	1,77	0,3812
Pure Error	9,83	2	4,92		
Cor Total	1963,90	14			
$Y= +51,49+8,28A+3,23B+1,95C-1,17AB+3,02AC-3,04BC-17,81A^2-0,3389B^2+0,4697C^2$					

Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi sodyum-aljinat oranı seviyesinin ve kuadratik etkisinin doğrusal etkisi çok ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Sodyum-aljinat oranının artması ile enkapsülasyon veriminde artış görülmüştür. Kitosan oranının pozitif yönde interaksiyon etkisi istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur ancak sodyum-aljinat oranı ve kitosan oranının etkisi negatif yönde etkilemektedir. Akış hızının enkapsülasyon verimini etkilemediği gözlemlenmiştir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.9'da gösterilmiştir.







Şekil 4.9 Keten tohumu oleoresinlerininin enkapsülasyonunda sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının enkapsülasyon verimi (%) üzerine etkisi

4.4.2. Ortalama kapsül çapı

Üretilen liyofilize ve ıslak kapsüllerin optik analizi, dijital kameralı optik mikroskop kamerasıyla çekilen görüntülerin LAS EZ yazılım programında işlenmesiyle yapılmıştır. Boyutlandırılan görüntülerden kapsüllerin ortalama çapları hesaplanmıştır.

Zencefil

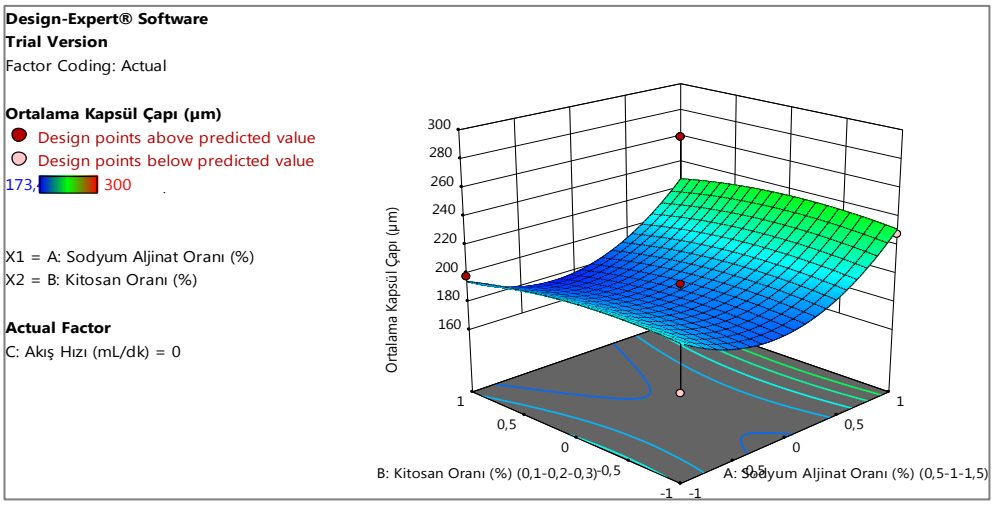
Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen zencefil kapsüllerinin ortalama kapsül çapı değeri (µm) üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin zencefil kapsüllerinin ortalama çapı üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.9'da verilmiştir.

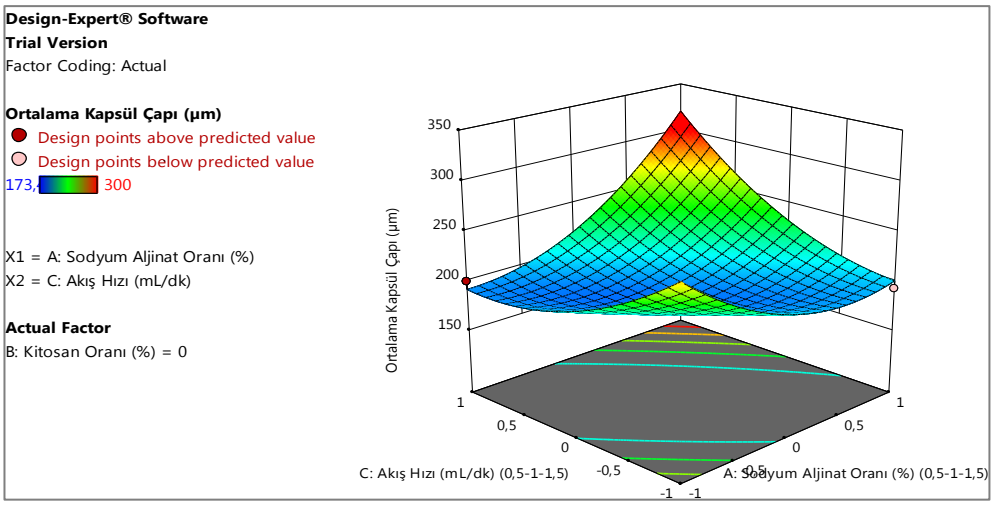
Çizelge 4.9 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil ortalama kapsül çapı (µm) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

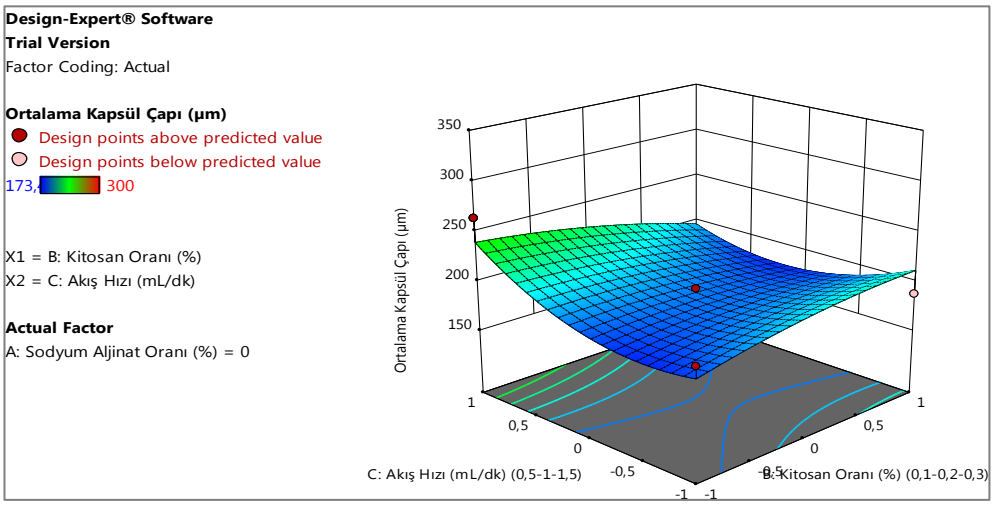
Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	19990,98	9	2221,22	2,43	0,1707
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	1729,31	1	1729,31	1,89	0,2276
B-Kitosan Oranı (%)	119,78	1	119,78	0,1309	0,7323
C-Akış Hızı (mL/dk)	840,10	1	840,10	0,9183	0,3819
AB	9,69	1	9,69	0,0106	0,9220
AC	9881,31	1	9881,31	10,80	0,0218*
BC	1312,49	1	1312,49	1,43	0,2847
A^2	3833,05	1	3833,05	4,19	0,0960
B^2	138,86	1	138,86	0,1518	0,7129
C^2	2298,48	1	2298,48	2,51	0,1738
Residual	4574,17	5	914,83		
Lack of Fit	4548,03	3	1516,01	115,98	0,0086
Pure Error	26,14	2	13,07		
Cor Total	24565,15	14			
$Y= +188,96+14,70A-3,87B+10,25C+1,56AB+49,70AC-18,11BC+32,22A^2-6,13B^2+24,95C^2$					

Sodyum-aljinat oranı ve akış hızının ortalama kapsül çapına tek olarak etkisi önemli görülmemiştir, fakat birlikte interaksiyon etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$)

bulunmuştur. Sodyum-aljinat oranı ve akış hızı ortalama kapsül çapını pozitif yönde olumlu etkilemiştir. Kitosan oranı ise ortalama kapsül çapını önemli oranda etkilememiştir fakat interaksiyon etkisi negatif yöndedir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.9'da verilmiştir.







Şekil 4.10 Zencefil oleoresin kapsüllerinin ortalama kapsül çapı (µm) üzerine sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi

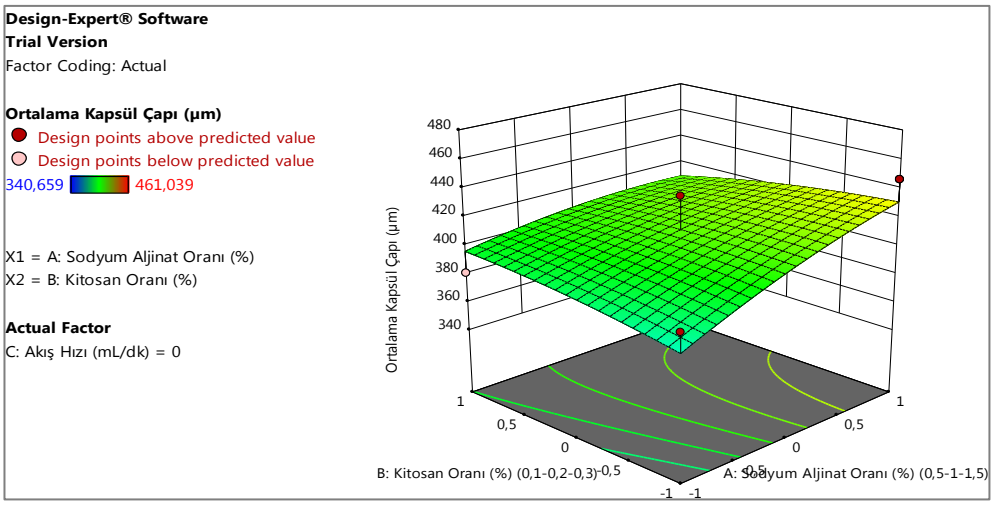
Keten Tohumu

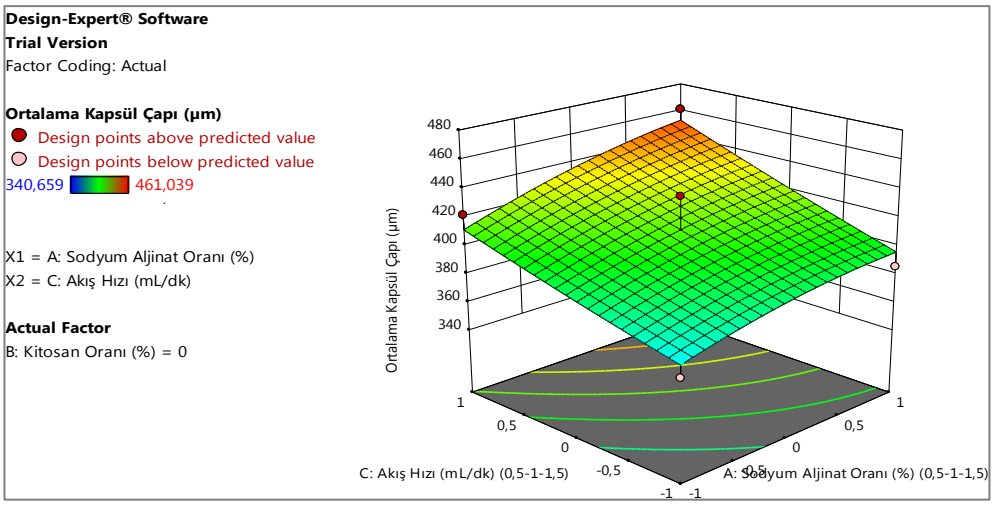
Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu kapsüllerinin ortalama kapsül çapı değeri (µm) üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin keten tohumu kapsüllerinin ortalama çapı üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.10'da verilmiştir.

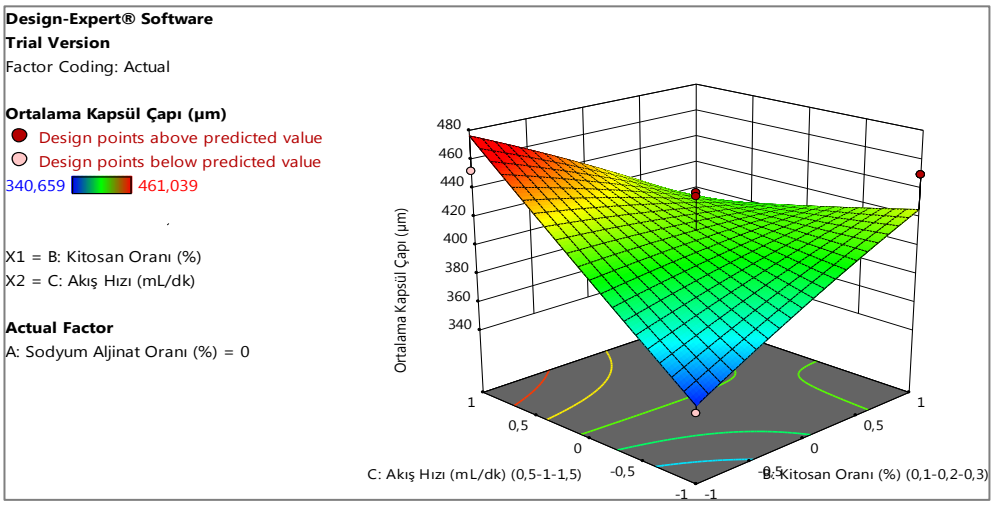
Çizelge 4.10 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu ortalama kapsül çapı (µm) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	14091,40	9	1565,71	2,36	0,1788
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	2104,77	1	2104,77	3,17	0,1351
B-Kitosan Oranı (%)	8,91	1	8,91	0,0134	0,9123
C-Akış Hızı (mL/dk)	4623,05	1	4623,05	6,96	0,0460*
AB	369,02	1	369,02	0,5560	0,4894
AC	71,26	1	71,26	0,1074	0,7564
BC	6797,69	1	6797,69	10,24	0,0240*
A^2	82,47	1	82,47	0,1243	0,7388
B^2	30,55	1	30,55	0,0460	0,8386
C^2	4,92	1	4,92	0,0074	0,9347
Residual	3318,78	5	663,76		
Lack of Fit	2397,04	3	799,01	1,73	0,3862
Pure Error	921,74	2	460,87		
Cor Total	17410,18	14			
$Y= +411,69+16,22A-1,06B+24,04C-9,60AB+4,22AC-41,22BC-4,73A^2-2,88B^2+1,15C^2$					

Çizelge 4.10'a göre akış hızının doğrusal etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Aynı zamanda akış hızı ve kitosan oranının negatif interaksiyon etkisi sonucu da önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Sodyum-aljinat oranı ve kitosan oranının doğrusal olarak önemli olmadığı sonucuna varılmıştır. Kitosan oranının doğrusal ve kuadratik etkisi ortalama kapsül çapını negatif yönde etkilemektedir. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.10'da verilmiştir.







Şekil 4.11 Keten tohumu oleoresin kapsüllerinin ortalama kapsül çapı (µm) üzerine sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi

4.4.3. Kapsüllerin çekirdek sızıntısı

Zencefil

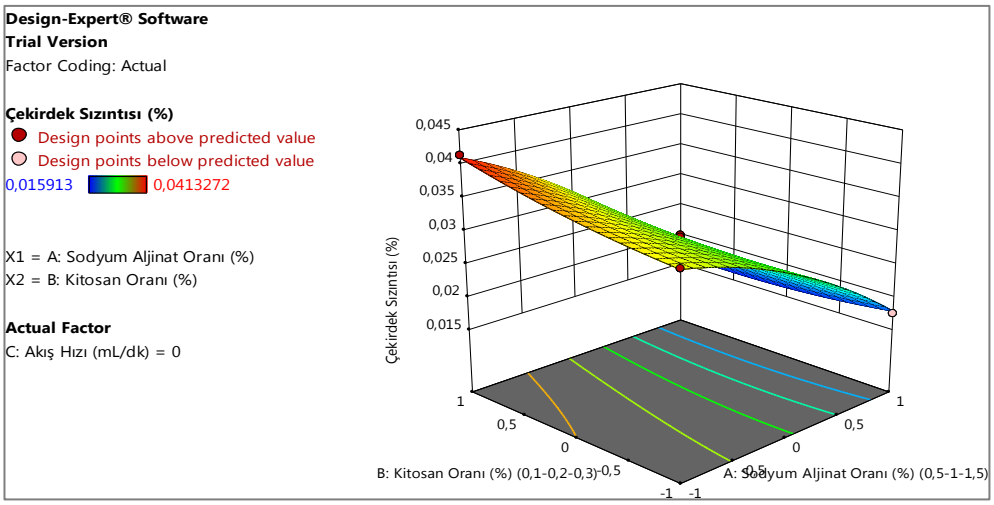
Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen zencefil kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin zencefil kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.11'de verilmiştir.

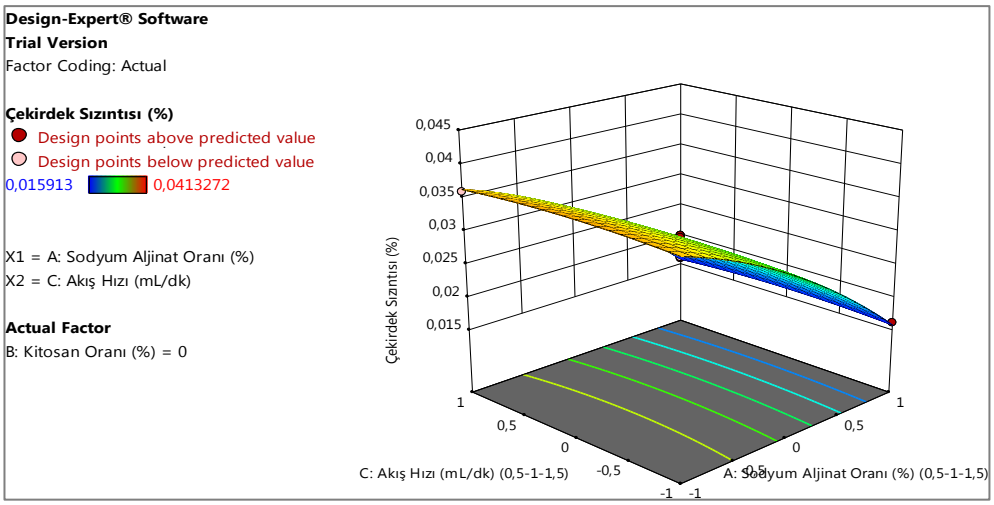
Çizelge 4.11 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) zencefil kapsüllerinin çkirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

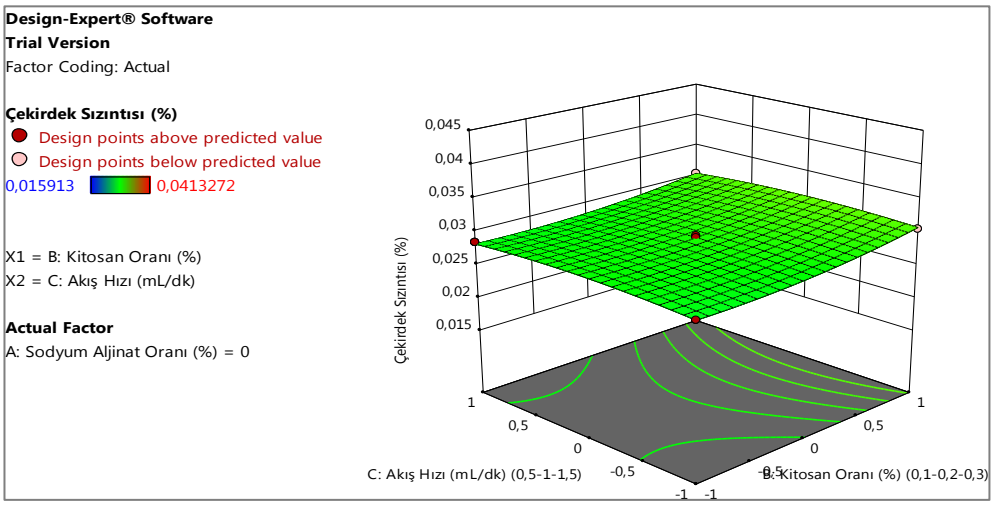
Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	0,0009	9	0,0001	586,97	<0.0001
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	0,0009	1	0,0009	4967,64	<0.0001**
B-Kitosan Oranı (%)	0,0000	1	0,0000	70,00	0,0004**
C-Akış Hızı (mL/dk)	1,250E-09	1	1,250E-09	0,0073	0,9353
AB	0,0000	1	0,0000	84,20	0,0003**
AC	2,500E-09	1	2,500E-09	0,0146	0,9086
BC	9,000E-08	1	9,000E-08	0,5248	0,5013
A^2	0,0000	1	0,0000	133,81	<0.0001**
B^2	2,290E-06	1	2,290E-06	13,35	0,0147*
C^2	1,501E-06	1	1,501E-06	8,75	0,0316*
Residual	8,575E-07	5	1,715E-07		
Lack of Fit	6,775E-07	3	2,258E-07	2,51	0,2977
Pure Error	1,800E-07	2	9,000E-08		
Cor Total	0,0009	14			
$Y=+0,0292-0,0103A+0,0012B-0,000C-0,0019AB+0,000AC-0,0002BC-0,0025A^2+0,0008B^2-0,0006C^2$					

Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi sodyum aljinat oranının doğrusal, kuadratik etkisi negatif yönde, kitosan oranının doğrusal etkisi pozitif yönde, sodyum aljinat ve kitosanın birlikte interaksiyon etkisi negatif yönde kapsüllerin çekirdek sızıntısı değerini çok önemli ($p<0,01$) ölçüde etkilemektedir. Kitosan oranının pozitif yöndeki kuadratik etkisi ile akış hızının negatif yöndeki kuadratik etkisi kapsüllerin çekirdek sızıntını

önemli ölçüde ($p<0,05$) etkilemektedir. Akış hızının etkisi önemli görülmemiştir. Kitosan oranı arttıkça kapsüllerin çekirdek sızıntı miktarı artarken kitosan oranı ve akış hızı arttıkça kapsülerin çekrdek sızıntısı değeri azalmaktadır. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.11'de verilmiştir.







Şekil 4.12 Zencefil oleoresin kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi

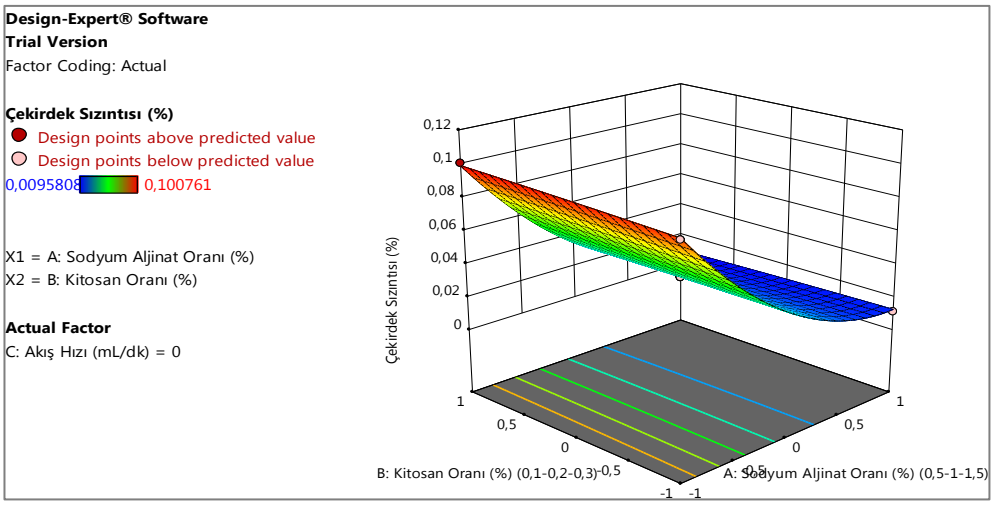
Keten Tohumu

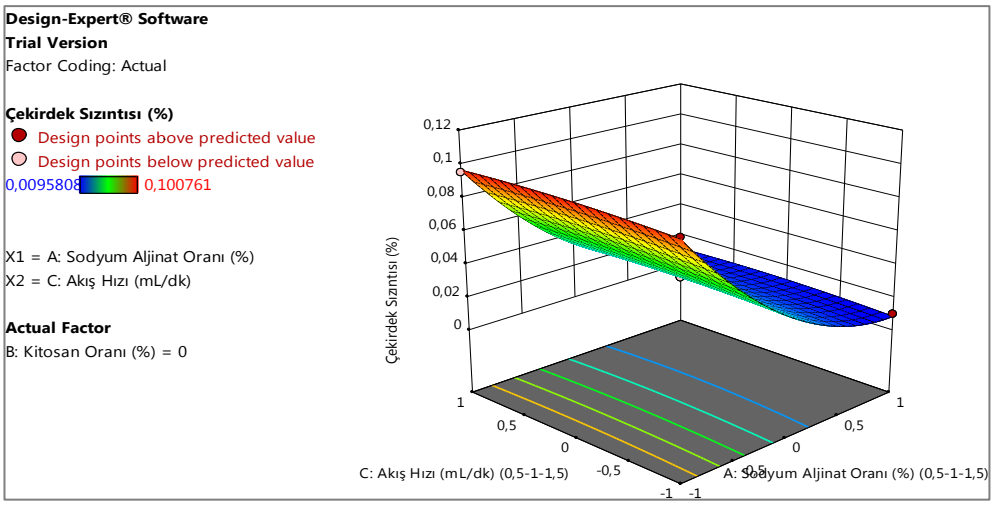
Sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, ekstraktın damlatma çözeltisine akış hızının yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deneme desenine göre elde edilen keten tohumu kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine etkisini belirleyen polinomiyal modele ait denklem aşağıdaki gibi bulunmuştur. Faktörlerin keten tohumu kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları Çizege 4.12'de verilmiştir.

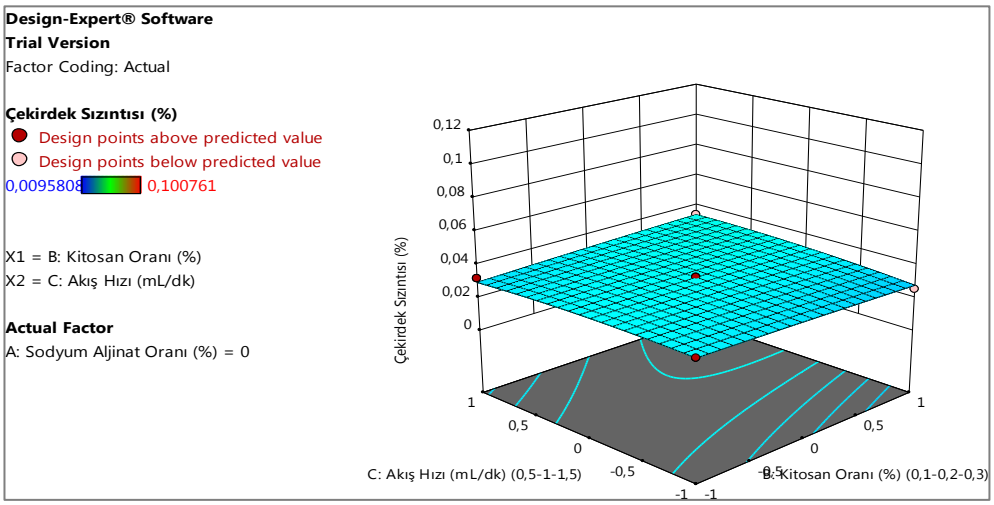
Çizelge 4.12 Farklı enkapsülasyon şartlarının (sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı, akış hızı) keten tohumu kapsüllerinin çkirdek sızıntısı (%) üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalama Kare	F Değeri	p Değeri
Model	0,0168	9	0,0019	405,40	<0.0001
A-Sodyum Aljinat Oranı (%)	0,0149	1	0,0149	3252,05	<0.0001**
B-Kitosan Oranı (%)	2,112E-07	1	2,112E-07	0,0460	0,8386
C-Akış Hızı (mL/dk)	8,820E-06	1	8,820E-06	1,92	0,2244
AB	0,0000	1	0,0000	3,14	0,1363
AC	2,500E-09	1	2,500E-09	0,0005	0,9823
BC	0,0000	1	0,0000	3,40	0,1246
A^2	0,0017	1	0,0017	376,51	<0.0001**
B^2	2,792E-07	1	2,792E-07	0,0608	0,8150
C^2	0,0000	1	0,0000	2,32	0,1879
Residual	0,0000	5	4,592E-06		
Lack of Fit	0,0000	3	7,593E-06	84,36	0,0117
Pure Error	1,800E-07	2	9,000E-08		
Cor Total	0,0168	14			
$Y=+0,0327-0,0432A+0,0002B+0,0010C-0,0019AB+0,0000AC+0,0020BC+0,0216+A^2-0,0003-B^2-0,0017\ C^2$					

Sodyum-aljinat oranının negatif yöndeki doğrusal etkisi ve pozitif yöndeki kuadratik etkisi keten tohumu kapsüllerindeki çekirdek sızıntısını çok önemli derecede etkilemekte olduğu Çizelge 4.12'de görülmektedir. Kitosan oranının ve akış hızının önemli olmadığı sonucuna varılmıştır. Faktörlerin etkisini açıklayan grafikler Şekil 4.11'de verilmiştir.







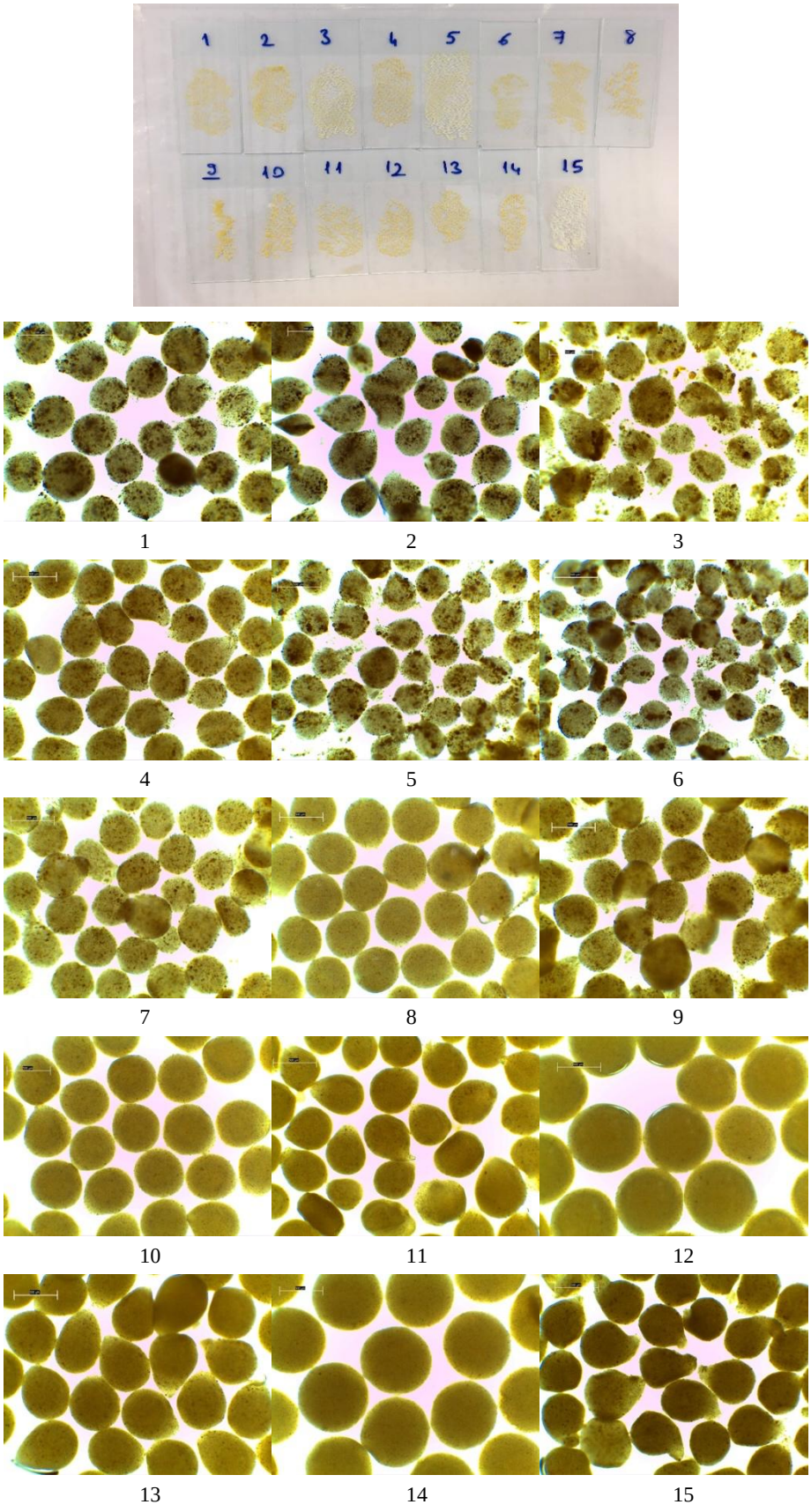
Şekil 4.13 Keten tohumu oleoresin kapsüllerinin çekirdek sızıntısı (%) üzerine sodyum-aljinat oranı, kitosan oranı ve akış hızının etkisi

4.4.4. Kapsüllerin optik mikroskop görüntüleri

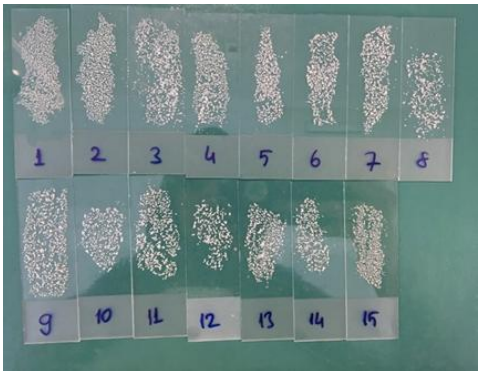
Kapsüllerin optik analizi optik mikroskop kameradan alınan görüntülerin işlenmesi yoluyla yapılmıştır. Bu bölümde farklı membran kompozisyonlarında ve farklı akış hızlarında üretilen ıslak kapsüllerin ve dondurularak kurutulmuş kapsüllerin ortalama çapları ve boy dağılımları hesaplanmıştır. Damlatma yönteminde elde edilen emülsiyon damlacıkları, membran polimeri çözelti yüzeyinden geçerken birtakım şekil bozukluklarına uğramakta veya dağılmaktadır. Bu durum, jelleşme havuzundaki çözeltinin viskozitesinin, emülsiyon içerisindeki membran çözeltisinin viskozitesine oranı ile ilgilidir. Bu yüzden, membran çözeltisinde kullanılan polimer derişimi kapsül membranının fiziksel özellikleri bakımından oldukça etkili bir parametredir. Görüntüler incelenecek olursa, enkapsülasyonda kullanılan sodyum aljinat oranının partikül şekilleri üzerine en etkili parametre olduğu söylenebilir.

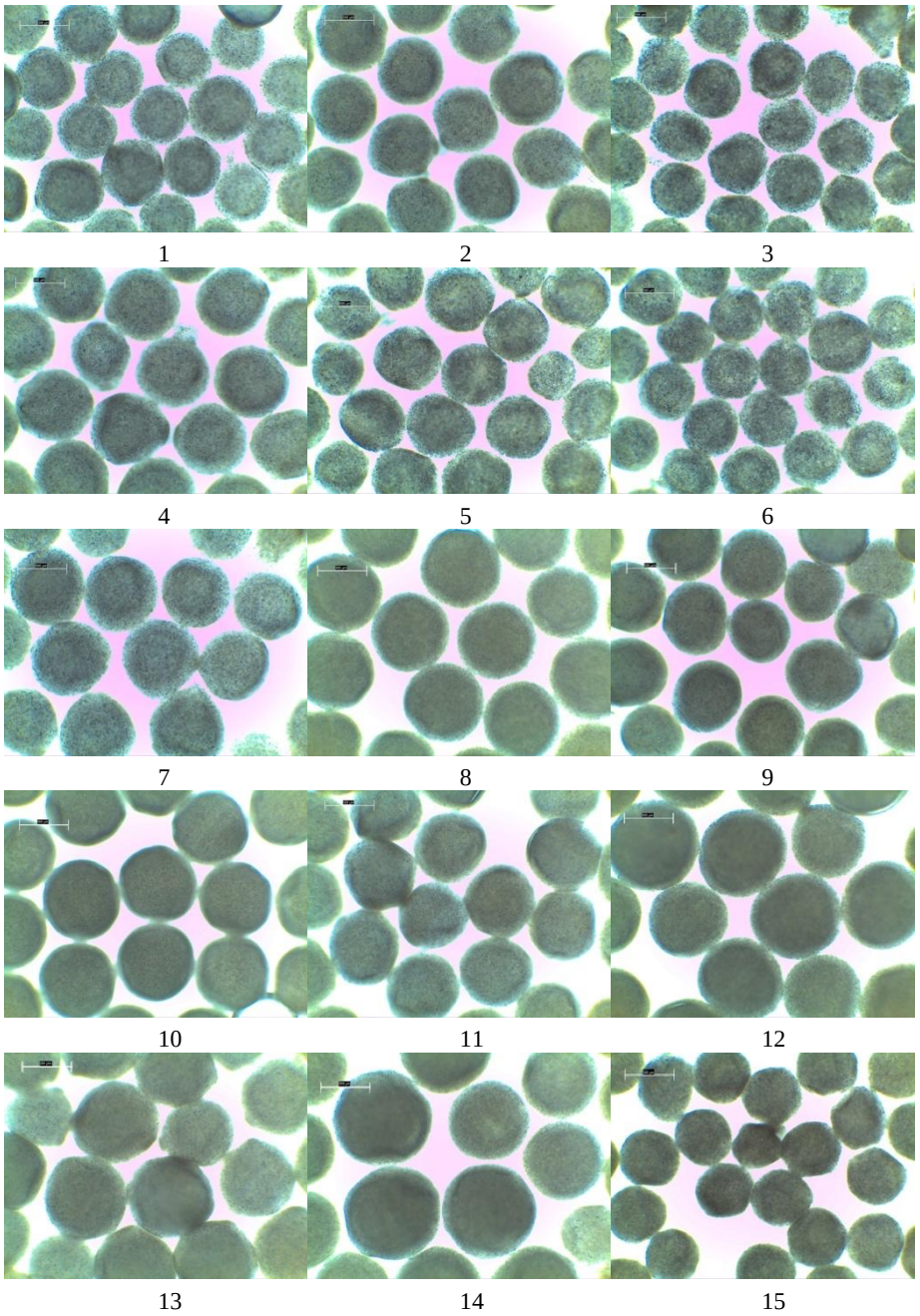
Değişen Na-Alg konsantrasyonlarında ıslak haldeki kapsüllerin ortalama boy dağılımlarına göre Na-Alg oranı artıkça partikül çaplarında da artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Enjektör pompadan değişen akış hızlarında üretilen kapsüllerde akış hızı ortalama partikül çaplarında istatistiksel olarak önemli bir değişime sebep olmamıştır.

%1 Na-Alg konsantrasyonunda ise, %0.5 olduğu duruma göre stabilitesi kısmen daha iyi ve daha büyük partikül çapına sahip küreler elde edilmiştir.



Şekil 4.14 Zencefil yüklü ıslak kapsüllerin kameralı mikroskop görüntüleri





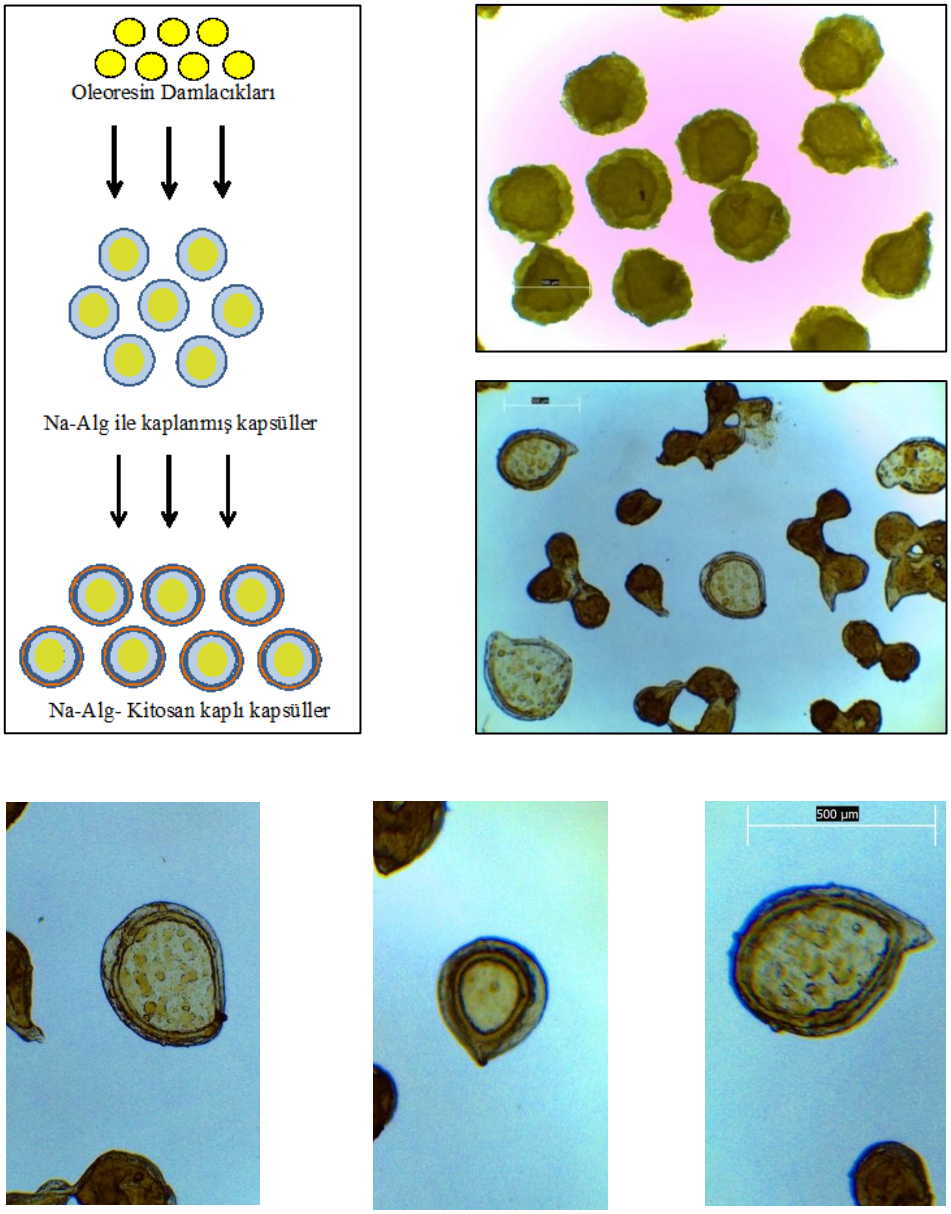
Şekil 4.15 Keten tohumu yüklü ıslak kapsüllerin kameralı mikroskop görüntüleri

Zencefil mikrokapsüllerinin ıslak görüntülerinde sodyum-aljinat oranı ve akış hızı önemli ($p<0,05$) ölçüde etkilemektedir. Ortalama 300-740 μm aralığında mikrokapsüller elde edilmiştir.

Keten tohumu mikrokapsüllerinin ıslak görüntülerinde akış hızının etkisi önemli ($p<0,05$) ölçüde etkilemektedir. Akış hızı arttıkça kapsüllerin büyüklükleri artmıştır ve düzgün, homojen, küresel mikrokapsüller elde edilmiştir. Ortalama 510-800 μm aralığında mikrokapsüller elde edilmiştir.

Zencefil oleoresin yüklü mikrokapsüllerin kuru görüntülerinde serbest ve dağınık şekilli mikrokapsüller elde edilmiştir. Islak mikrokapsüllerde görüldğü gibi sodyum-aljinat oranı yüksek olan mikrokapsüller daha düzgün şekillerde görülmüştür. Ortalama 185-300 μm aralığında mikrokapsüller elde edilmiştir.

Keten tohumu içeren kapsüllerin kuru görüntülerinde tam küresel mikrokapsüller elde edilmiştir. Kurutulduktan sonra şekillerde bir miktar bozulmalar gözlemlenmiştir fakat tam küreselliğini, stabilitesini ve yapısını korumuşlardır. Ortalama 340-460 μm aralığında mikrokapsüller elde edilmiştir.

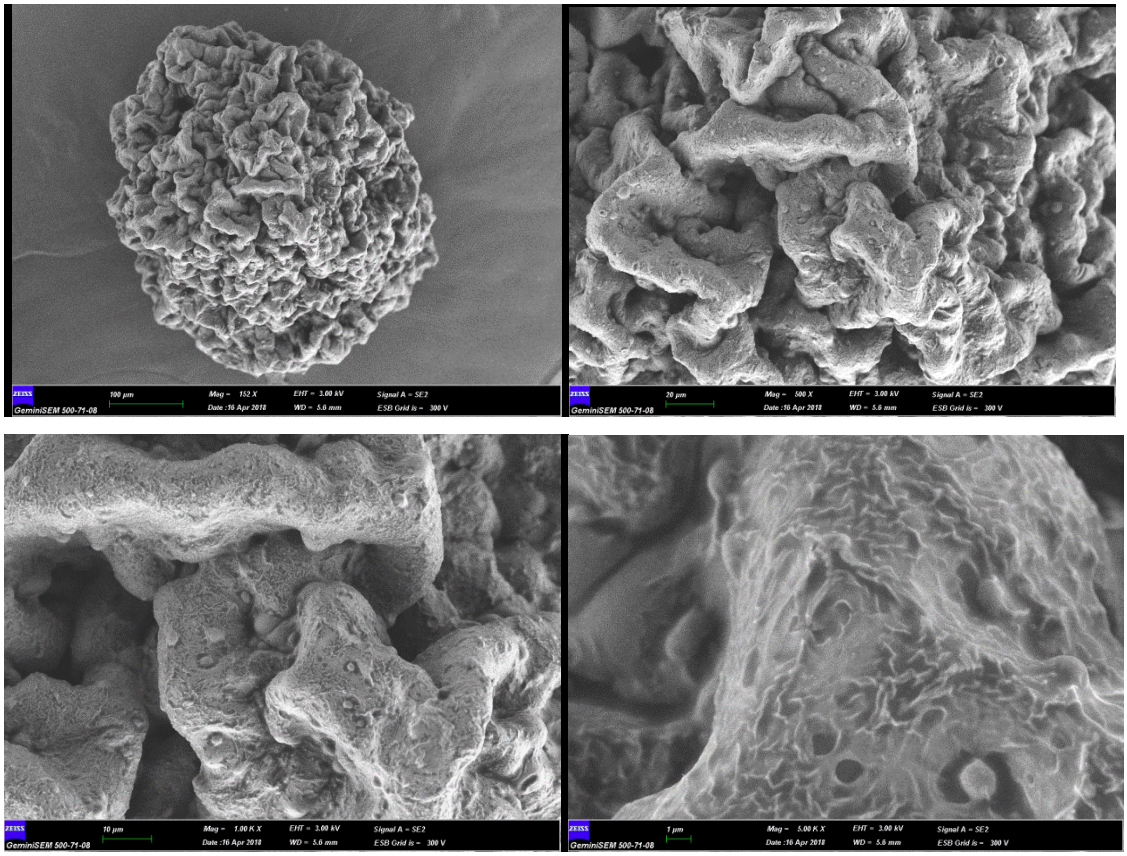


Şekil 4.16 Oleoresin yüklü aljinat-kitosan (çift katlı) kapsüllere ait görüntüler

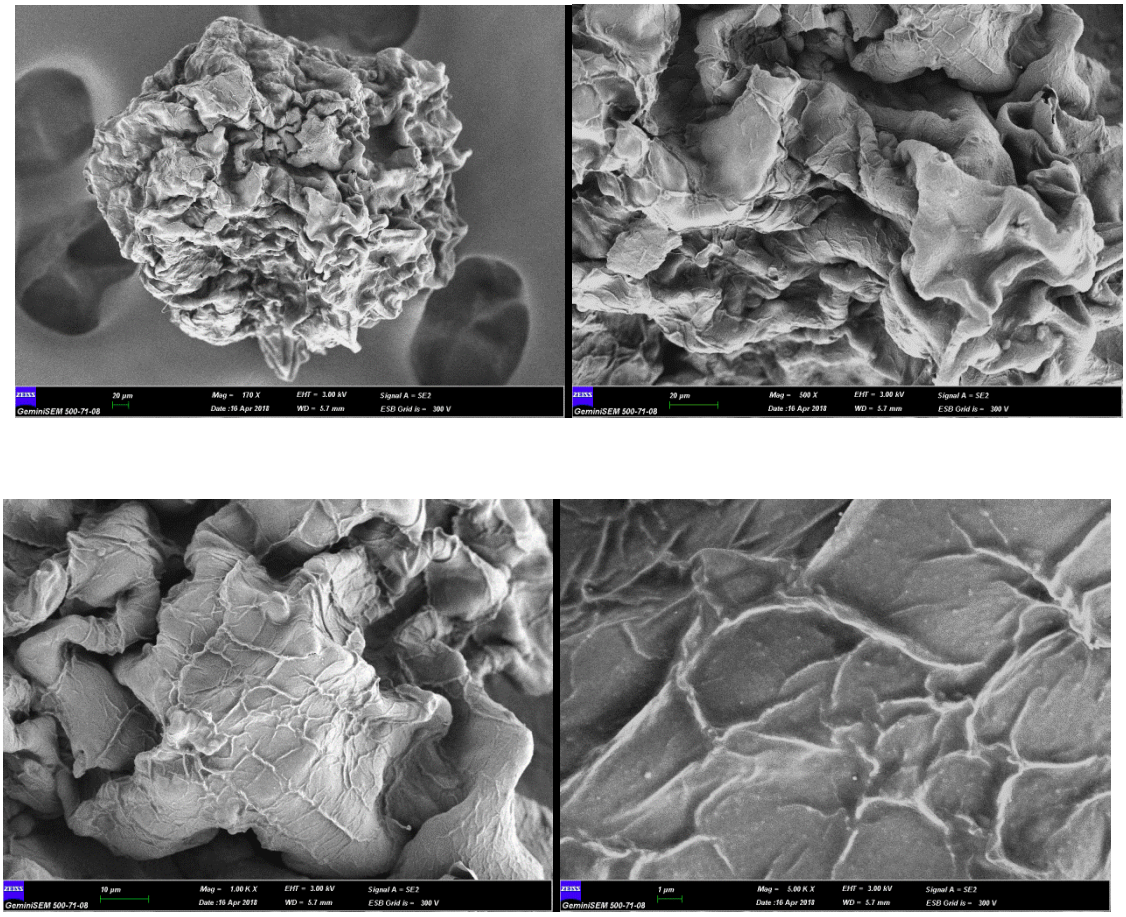
Yukarıda verilen Şekil 4.16 ise, örneklerin dondurularak kurutulmuş görüntülerine aittir. Sonuç olarak, %0.5, %1 ve %2 sodyum aljinat konsantrasyonunda ve % 0.1, 0.2 ve 0.3 kitosan konsantrasyonunda kapsüllenen küreler liyofilize edildikten sonra da tam küreselliğini, matriksi, stabilitesini ve yapısını koruyabilmişlerdir. Elde edilen görüntülerden de net bir şekilde görüldüğü üzere kapsüller hem aljinat hem de kitosan ile kaplanmıştır.

4.4.5. Kapsüllerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Yapılan çalışmada enkapsüle oleoresin içeren dondurularak kurutulmuş kapsüllerin toz preparatlarının farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınmıştır. Şekilde zencefil ve keten tohumu yüklü kapsüllere ait farklı büyütmelerdeki mikrograflar bulunmaktadır.



Şekil 4.17 Zencefil oleoresin yüklü liyofilize kapsüllerin farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görüntüleri



Şekil 4.18 Keten tohumu oleoresin yüklü liyofilize kapsüllerin farklı büyütmelerde taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

4.5. Kapsüllerin Model Gıda Uygulamaları

Ekmekler 200^{o}C sıcaklıkta pişirilmiştir ve uygulanan bu sıcaklıkta kapsüllerin ekmeklerin içinde salınmadan kaldıkları görüntülerinden de açıkça görülmektedir. Aşağıdaki şekiller oleoresin katkılı ekmek örneklerine aittir. Ayrıca şekillerden de görüldüğü üzere parlak krem renkli keten tohumu kapsülleri ve açık kahverengi zencefil kapsüllerin yapı içerisinde kaldıkları net bir şekilde görülebilmektedir.



Zencefil Keten tohumu



Şekil 4.19 Zencefil ve Keten tohumu oleoresini yüklü kapsüllerle zenginleştirilmiş ekmekler

4.5.1. Ekmeklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi

Sunulan tez çalışmasının en son aşamasında pişirilen ekmeklerin antiradikal aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Oleoresin içermeyen kontrol grubu ile zencefil ve keten tohumu oleoresin katkılı ekmeklerin antiradikal aktiviteleri DPPH yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Ekmeklerdeki aktif bileşenler 1:1:1 oranında aseton-etil asetat ve etanol ile ekstrakte edilmiş ve DPPH radikalini süpürme güçleri karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.13'de gösterilen sonuçlara göre kontrol grubu ile fonksiyonel katkı içeren grup istatistiksel

olarak farklı bulunmuştur. Kapsüller uygulanan ısıl işlemden etkilenmemiş aktivitelerini korumuşlardır.

Çizelge 4.13 Fonksiyonel ekmeklerin antioksidan aktiviteleri

Örnek	**Antiradikal Aktivite (%)**
Kontrol	15.30 ± 0.59^{A}
%1 aljinat-kitosan kaplı zencefil oleoresin yüklü kapsül ile fonsiyonelleştirilmiş ekmek	42.13 ± 0.63^{C}
%1 aljinat-kitosan kaplı keten tohumu oleoresin yüklü kapsül ile fonsiyonelleştirilmiş ekmek	34.12 ± 0.41^{B}

A-C: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda biliminde ve teknolojisindeki gelişmeler ve yapılan buluşlar gıda ürünlerine, vücudumuz için yararlı olan doğal maddelerin ve ekstraktların katılmasıyla tasarım gıdaların oluşması fikrini doğurmuştur. Yapılan çalışmada, güçlü antioksidan ve antimikrobiyal kaynağı olan zencefil ve keten tohumu oleoresinler ekstrakte edilmiş, ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş ardından bu ekstraktların olumsuz çevresel koşullardan ve işlemlerden etkilenmesini minimize etmek için oleoresin ekstraktlar enkapsüle edilmiş ve model gıda olarak seçilen başlıca fırıncılık ürünü olan ekmeklerde denemeleri yapılmıştır.

Sunulan tez projesinin ekstraksiyon aşamasında literatür bilgilerinden de faydalanılarak en iyi ekstraksiyon yöntemi ve çözgeni belirlenmiştir. Bitkisel materyal-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi değişken parametre olarak belirlenmiş bu parametrelerin ekstraksiyon verimi, fenolik miktarları ve antiradikal aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiş ve hammadde kaynaklarından oleoresin elde edilmiştir.

Deney paremetrelerine göre de üç faktör-üç seviye Box-Behnken tepki yüzey deneme deseni oluşturularak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir ve bu işlemler sırasında Design Expert© programı kullanılmıştır.

Çalışmanın ekstraksiyon aşamasında ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde, ekstraksiyon sıcaklığı (30, 40 ve 50 °C), ekstraksiyon süresi (10, 20 ve 30 dk) ve örnek/çözücü oranı (1/10, 1/30 ve 1/50) değişken parametre olarak belirlenmiştir ve bu değişken parametrelerin ekstraksiyon verimi, toplam fenolik madde miktarı ve radikal süpürücü güçleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bu etkilerin değerlendirilmesinde ise; ekstraksiyon işlemi için oluşturulan tepki yüzey deneme deney tasarım modeli oluşturularak yorumlanmıştır.

Optimum ekstraksiyon koşulları belirlenerek elde edilen oleoresin ekstrakt invers jelleşme metodu kullanılarak damlatma yöntemiyle enkapsüle edilmiştir. Temelde bir arayüz polimerizasyon metodu olan invers jelleşme yöntemi yani damlatma, uygulanma koşulları esnek ve pratik bir mikroenkapsülasyon yöntemidir. Bu yöntemde birbirine karışmayan iki faz bulunmaktadır. Çekirdek maddesi olması istenen ve içerisinde bir polimer çözeltisi taşıyan emülsiyon, jelleştirici bir çözelti içerisine damlatılır. Jelleştirici bileşen, emulsiyondan polimer çözeltisine doğru hareket ederken faz arayüzünde gerçekleşen hızlı polimerizasyon reaksiyonu sonucu kapsül zarı oluşur ve içi lipofilik sıvı çekirdekli kapsüller oluşur. Bu yöntemde yüksek verimlilikte, sıvı çekirdekli, küre şeklinde ve boy dağılım grafiği dar mikrokapsüller oluşturulabilmektedir. Bu metodun oda koşullarında uygulanabilir olması, organik solvent kullanımı gerektirmemesi, parçacık boyutu kontrolünün pH veya sıcaklık kontrolü gerektirmemesi gıda alanında uygulanabilirliği en önemli avantajlarındandır (Ersus ve Yurdagel, 2007; Rao and McClements, 2011; Gazori et.al., 2009).

Enkapsülasyonda kullanılabilecek uygun taşıyıcı ve bunun konsantrasyonu belirlenerek oleoresinlerin kapsüllenebilirliği çalışılmıştır.

Kalsiyum tuzları ile aljinat çözeltisinden mikroküreler elde etme yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup mikro ve makro boyutunda partiküller elde edilmektedir Kalsiyum iyonu varlığında aljinatta çapraz bağ oluşumu artar, aljinat-kitosanın pıhtılaşmasına ve kapsül oluşturmasına neden olur.

Bu çalışmada kaplama materyali olarak sodyum aljinat- kitosan, jelleşme çözeltisi olarak da kalsiyum klorür çözeltisi kullanılmıştır. Aljnat; mukozaya yapışan, biyouyumlu, biyobozunur, toksik olmayan, farmasötik ve biyomedikal uygulamalarda kullanılma potansiyeli olan, FDA tarafından oral kullanıma izin verilen hidrofilik bir biyopolimerdir. Kitosan, biyobozunabilir ve biyouyumlu bir madde olmasının yanı sıra aynı zamanda termal büzüşme özelliğine de sahiptir. Isıl işlemlerden geçirildiğinde, genleşmek yerine daralarak daha etkili bir kaplama yapar. Bu özellikleri, kitosanı gıdalarda enkapsülasyon uygulamaları için oldukça uygun bir madde kılar (Günay, 2010; Özgen, 2014).

Bu aşamada da uygulanan enkapsülasyon işlemini optimize etmek için Yanıt Yüzey Metodu kullanılmış ve değişken parametreler optimize edimiştir. Optimizasyon işlemi 3 bağımsız değişken üzerinden tasarlanmıştır. Tasarımın değişken noktaları sodyum aljinat konsantrasyonu (%0.5, 1, 1.5), kitosan konsantrasyonu (%0.1, 0.2 ve 0.3) ve şırınga pomapadan emülsiyon akış hızı (0.5, 1 ve 1.5 mL/dk) olarak belirlenmiştir. Bu bağımsız değişkenlerin kapsüllerin verimi, boy dağılımı ve çekirdek sızıntısı değerleri üzerine etkileri incelenmiş ve yorumlanmıştır.

Daha sonra elde edilen kapsüller dondurularak kurutulmuştur. Dondurarak kurutma yönteminin en büyük avantajları, kaybın çok düşük olması, elde edilen ürünün rekonstitüsyon özelliklerinin çok iyi olması, çözünen maddelerin gıda içerisindeki hareketi dolayısıyla kayıpların minimum olmasıdır (Georgé et. al., 2010; Toor and Savage, 2006; Giovanelli, and Paradiso, 2002).

Literatürde birçok biyoaktif bileşenin ve pigmentlerin enkapsülasyonu ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada domates pulpu atıklarından süperkritik CO_2 ekstraksiyonu ile likopen ekstrakte edilmiş ve likopen ekstraktı %4.5 jelatin, %10 poliglutamik asit ve %4.8 likopen ekstraktı olacak şekilde emülsiyon sistemiyle mikroenkapsüle edilmiştir (Chiu, 2007). 2013 yılında yapılan bir çalışmada dut suyu antosiyaninleri aljinat ve kitosan kullanılarak iyonik jelasyon tekniğiyle kapsüllenmiştir ve proses koşulları cevap yüzey metodu kullanılarak optimize edilmiştir (Çoruhli, 2013).

Bir çok araştırıcı ekip tarafından dut yaprağı ekstraktı kompleks koaservasyon yöntemi ile (Peanparkdee et. al., 2016), zencefil ekstraktı (Simon-Brown et.al., 2016), zeytin posası (Paini et.al., 2015), propolis (Spinelli et. al., 2015), maviyemiş (Flores et.al., 2014; Jiménez-Aguilar et. al., 2011) ve üzüm posası ekstraktı (Spigno et. al., 2013) püskürtmeli kurutma yöntemiyle, böğürtlen ve ahududu ise dondurarak kurutma yöntemi (Rosa et. al., 2014, Laine et. al., 2008) ile kapsüllenmiş ve enkapsülasyon yöntemleri, koşulları ve aktif bileşenlerin biyoaktiviteleri çalışılmıştır.

Çalışmada kullanılan damlatma yönteminde kapsül boyutunu kontrol etmek ve daha spesifik olarak belirli bir boyuta küçültmek için; şırınga pompa düzeneği titreşimli dağıtma sistemi ile kombine olarak kullanılmıştır. Geliştirilen şırınga pompa-ekstrüzyon sistemi ile, titreşim ünitesiyle uygulanan sabit titreşimin pompalanan emülsiyonu küçük sıvı damlacıkları halinde dağıtılması prensibinden faydalanılmıştır. Bu yöntem pratik ve ekonomik bir yöntem olup, literatürde eş boyutlu kapsüller oluşturulmasında kullanılan birkaç yöntemden biridir. Ayrıca partikül çapları ve şekilleri üzerine enjektör pompadan akış hızının etkisinin belirlenmesi amacıyla da her bir sodyum aljinat konsantrasyonunda 3 farklı pompalama hızı (0.5, 1 ve 1.5 mL/dk) ile çalışılmıştır.

Çalışmanın planlanan son aşamasında ise, optimum koşullarda üretilen kapsüller ekmeklere katılarak uygulanan prosesler sonucundaki stabilizesi ve biyoaktivitesi belirlenmiştir.

Ekstraksiyon Aşaması

Toz hale getirilen örneklerde oleoresin elde edilmesinde organik çözücü olarak etanol, etil asetat ve aseton denenmiştir. Elde edilen oleoresinlerde kullanılan çözgen türünün, ekstraksiyon verimi ve antiradikal aktivite üzrine etkisine bakılmış;

- Zencefilden oleoresin eldesi için; %40 etanol, %40 etil asetat, %20 aseton
- Keten tohumundan oleoresin eldesi için ise; %50 etanol, %50 etil asetat

karışımlarının kullanılmasına karar verilmiştir.

Yanıt yüzey yönteminde kurulan deney kurgusunun ve seçilen modelin matematiksel formunun uygunluğunun test edilmesi amacıyla, varyasyon katsayısı, regresyon katsayısının (R^2) tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı ve yeterli tahminleme değerinin hesaplanması, model uygunsuzluğunun test edilmesi (Lack of fit testi) gibi farklı test yöntemlerinin uygulanması gerekir. Bu testlerden özellikle model uygunsuzluğunun kontrolü önem taşımaktadır. Modelin matematiksel formunun

uygunsuzluğundan kaynaklanan hataya, model uyumsuzluğu (lack of fit) adı verilir. İdeal olarak, istatistiksel açıdan modelin matematiksel formunun uygunsuzluğunun (lack of fit) istatistiksel olarak önemsiz ve regresyon modeli için de önemli olması gerekmektedir.

Sunulan çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilmesinde, model uygunluğu ve regresyon modeli verileri bulgular kısmında Çizelge 4.1'den Çizelge 4.12'ye kadar tablolar halinde sunulmuştur.

Ekstraksiyon verimi

Zencefilden oleoresinlerin elde edilmesinde ekstraksiyon verimi üzerine en etkili parametrenin örnek/çözücü miktarı olduğu bulunmuştur. Diğer parametrelerin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Keten tohumundan oleoresinlerin elde edilmesinde ise ekstraksiyon verimi üzerine en etkili parametrelerin sırasıyla örnek/çözücü miktarı ve sıcaklık olduğu bulunmuştur.

Toplam Fenolik Madde Miktarı ve ABTS Radikali Temizleme Gücü

Zencefilden oleoresin ekstraktında toplam fenolik madde miktarı üzerine çözücü oranının ve sürenin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çözücü oranı arttıkça fenolik madde miktarında artış gözlenirken ekstraksiyon süresi arttıkça toplam fenolik madde miktarı azalmıştır.

Toplam fenolik madde içeriği belirleme yöntemlerinden olan Folin-Ciocalteu metodu keten tohumu oleoresinlerinde çalışmamıştır ve ABTS radikali temizleme gücü oransal olarak toplam fenolik madde miktarına benzer sayılarak yorumlanmıştır. Ekstraksiyon parametrelerine etki eden faktörlere bakıldığında süre, sıcaklık ve çözücü seviyesinin doğrusal etkileri önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Ancak aralarındaki interaksiyon etkisinin negatif yönde etkisi görülmüştür.

Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Zencefil örneklerinde örnek-çözücü oranının antioksidan aktivite değeri üzerine etkisi $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuş ve çözücü oranının artmasıyla antioksidan aktivite değeri de artmış, fakat keten tohumunda değişken faktörlerin doğrusal etkileri önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır.

Enkapsülasyon Aşaması

Tez çalışmasının ikinci aşamasında, optimum koşulları belirlenerek elde edilen oleoresin ekstraktları sodyum aljinat ve kitosan kaplı tanecikler halinde "iyonik jelasyon yöntemi" kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Yöntemde kapsüllerin partikül boyutlarının küçültülmesi amacıyla titreşimli dağıtma ünitesi kullanılmıştır. Enkapsülasyon koşullarının optimizasyonunda ise yine Tepki Yüzey Metodundan (RSM) faydalanılmıştır. Sodyum-aljinat jeli konsantrasyonu, kitosan jeli konsantrasyonu ve şırınga pompadan emülsiyonun akış hızı olarak 3 bağımsız değişken parametrenin etkileri 3 faktör ve 3 seviyeli Box-Behnken deneme deseni ile değerlendirilmiştir.

Enkapsülasyon Verimi

Zencefil oleoresinlerinin kapsüllenmesinde sodyum-aljinat oranının zencefil kapsüllerinin enkapsülasyon verimi değeri üzerine etkisi önemli bulunmuş ve sodyum-aljinat oranının artmasıyla enkapsülasyon verimi de artmıştır.

Keten tohumu oleoresin kapsüllerinde ise sodyum-aljinat oranının ve kitosan ranının artması ile enkapsülasyon veriminde artış görülmüştür ($p<0,05$).

Ortalama Kapsül Çapı

Kapsüllerin optik analizi, dijital kameralı optik mikroskop kamerasıyla çekilen görüntülerin LAS EZ yazılım programında işlenmesiyle yapılmıştır. Boyutlandırılan görüntülerden kapsüllerin ortalama çapları hesaplanmıştır.

Zencefil kapsüllerde sodyum-aljinat oranı ve akış hızı arttıkça ortalama kapsül çapı artarken, keten tohumu kapsüllerde akış hızı arttıkça ortalama kapsül çapı ($p<0,05$) artmıştır.

Çekirdek Sızıntısı

Kapsüllerin çekirdek maddesini içerisinde tutabilme kabiliyeti olarak değerlendirilen çekirdek sızıntısında hem zencefil hem de keten tohumu için en önemli parametre sodyum aljinat konsantrasyonu olmuştur ($p<0,01$). Zencefilde kitosan oranı arttıkça kapsüllerin çekirdek sızıntı miktarı artmış, her iki örnekte de akış hızı etkili bir parametre olamamıştır.

Boy Dağılımı

Kapsüllerin kameralı mikroskop görüntüleri ölçeklendirilip boyutlandırılarak boy dağılımları hesaplanmıştır.

- Zencefil oleoresinleri ıslak halde 300-740 μm çap aralığında; dondurularak kurutulduğunda 185-300 μm çap aralığında kapsüller elde edilmiştir.
- Keten tohumu oleoresinleri ise, ıslak halde 510-800 μm çap aralığında; dondurularak kurutulduğunda 340-460 μm çap aralığında kapsüller elde edilmiştir.

Şekil 4.16'da ise, örneklerin dondurularak kurutulmuş örneklere ait görüntüler buulunmaktadır. Elde edilen görüntülerde de net bir şekilde görüldüğü üzere kapsüller hem aljinat hemde kitosan ile çift katlı olarak kaplanmıştır.

Kapsüllere ait toz preparatlarının farklı büyütmelerdeki taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerinden de kapsüllerin tam dolu küresel ve çekirdek matriksini oldukça iyi koruyabildikleri görünmektedir.

Model gıda uygulamaları

Model gıda uygulaması olarak fırıncılık ürünlerinden ekmek seçilmiştir. Bu sıcaklıkta kapsüllerin ekmeklerin içinde salınmadan kaldıkları ve bütünliklerini korudukları görülmüştür (Şekil 4.19). Kapsül içermeyen kontrol grubu ile kapsül katkılı ekmeklerin antiradikal aktiviteleri DPPH yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Kontrol ve örnekler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Kapsüller uygulanan ısıl işlemden etkilenmemiş aktivitelerini korumuşlardır.

Elde edilen sonuçlara göre; bütün matematiksel modeller başarıyla çalışmıştır. Kurulan modellerden elde edilen sonuçlar, mikroskop görüntüleri ve gıda uygulamaları hep birlikte değerlendirilecek olursa;

- Zencefil oloresinlerinin elde edilmesinde en optimum ekstraksiyon koşulu
  - 1:50 çözücü oranı, 50 °C sıcaklık ve 20 dakika ekstrasiyon süresi olarak,
- Keten tohumu oleoresinlerinin elde edilmesinde en optimum ekstraksiyon koşulu
  - 1:50 çözücü oranı, 40 °C sıcaklık ve 30 dakika ekstrasiyon süresi olarak,
- Zencefil oloresinlerinin kapsüllenmesinde en optimum enkapsülasyon koşulu
  - Na-Alg oranı %1.5, kitosan oranı % 0.1 ve 1 ml/dk akış hızında,
- Keten tohumu oleoresinlerinin kapsüllenmesinde en optimum enkapsülasyon koşulu
  - Na-Alg oranı %1.5, kitosan oranı % 0.3 ve 1 ml/dk akış hızında

bulunmuştur.

Çalışmadan Elde Edilen Çıkarımlar ve Özgün Değer

- Öncelikle elde edilen bulgular; sunulan tez çalışması kapsamında, uygulanan ve geliştirilen yöntemlerin oldukça iyi bir ekstraksiyon ve enkapsülasyon davranış eldesini sağladığını ve çalışmanın ana hedefine başarılı bir şekilde ulaşıldığını göstermektedir.

- Gıda endüstrisinde son yıllarda üzerinde önemle çalışılan konulardan birisi de istenilen gıda bileşeninin vücudun istenilen bölgesinde salınımını sağlayarak biyoyararlılığı arttırmaktır ve bunu yaparken de eklenen biyoaktifin gıdanın duyusal özelliklerini olumsuz etkilememesini sağlamaktır. Bu doğrultuda, elde edilen oleoresinler iyonik jelasyon yöntemiyle sodyum aljinat ve kitosan kullanılarak mikrokapsüllenmiştir. Enkapsülasyonda kullanılan düzenek tez çalışması için tasarlanmış olup şırınga pompa-ekstrüzyon sistemi oldukça pratik ve ekonomik olmakla birlikte eş boyutlu, küresel ve stabil kapsüller elde edilebilmesine olanak sağlamıştır.

- Elde edilen kapsüller seçilen model gıdada stabilitesini korumuş ve ekstraktın radikal süpürücü gücü üründe de korunmuştur. Model gıdada uygulanabilirliği diğer gıdalarda da kullanılabilirliğini göstermiştir.

- Mikroenkapsülasyonun kaplanan bileşenin stabilitesini korumak için iyi bir yöntem olduğu görülmüş ve literatürle benzerlik gösteren sonuçlar elde edilmiştir.

- Bu kapsamda sunulan tez çalışması planlanan nihai hedefleri karşılayarak sonuçlandırılmıştır.

KAYNAKLAR

Abbasi, S., Azari, S. 2011. Efficiency of novel iron microencapsulation techniques: fortification of milk. International Journal of Food Science and Technology, 46 (9); 1927-1933.

Abreu, F. O. M. S., Bianchini, C., Forte, M. M. C. and Kist, T. B. L. 2008. Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels, Carbohydrate Polymers, 74; 283-289.

Acosta, E. 2009. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 14; 3-15.

Aghel, N., Ramezani, Z. and Amirfakhrian, S. 2011. Isolation and quantification of lycopene from tomato cultivated in dezfoul. Iran Journal Naturel Pharmaceutical Products, 6 (1); 9-15.

Akhila, A. and Tewari, R. 1984. Chemistry of ginger: A review. Current Research, Medicinal and Aromatic Plants, 6 (3); 143-156.

Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O. and Nemmar, A. 2007. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): a review of recent research. Food and Chemical Toxicology, 46 (2); 409-420.

Almajano, M. P., Delgado, M. E. and Gordon, M. H. 2007. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. Food Chemistry, 101 (1); 126-130.

AOAC. 1990. Official Method of Analysis Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition, AOAC International Publisher, 771, Washington DC.

Arshady, R. 1993. Microcapsules for food. Journal of Microencapsulation, 10 (4); 413-435.

Augustin, M. A., Sanguansri, L., Margetts, C. and Young, B. 2001. Microencapsulation of food ingredients. Food Australia, 53 (6); 220-223.

Banga, J. R., Moles, C. G. and Mendes, P. 2003. Parameter estimation in biochemical pathways: a comparison of global optimization methods. Genome Research, 13 (11); 2467-2474.

Banville, C., Vuillemard, J. C. and Lacroix, C. 2000. Comparison of different methods for fortifying Cheddar cheese with vitamin D. International Dairy Journal, 10 (56); 375-382.

Barbosa-Canovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P. and Yan, H. 2005. Food powders; physical properties, processing and functionality. Kluwer Academic, 199-219, New York.

Barros-Fernandes R. V., Borges, S.V., Silva, E. K., Silva, Y. F., Souza, H. J. B., Carmo, E. L., Oliveira, C. R., Yoshida, M.I. and Botrel, D. A. 2016. Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. Industrial Crops and Products, 94; 413-423.

Barros-Fernandes, R. V., Silva, E. K., Borges, S. V., Oliveira, C. R., Yoshida, M. I., Silva, Y. F., Carmo, E. L., Azevedo, V. M., Botrel, D. A. 2017. Proposing Novel Encapsulating Matrices for Spray-Dried Ginger Essential Oil from the Whey Protein Isolate-Inulin/Maltodextrin Blends. Food and Bioprocess Technology, 10 (1); 115-130.

Beristain, C. I., Vazquez, A., Garcia, H. S. and Vernon-Carter, E. J. 1996. Encapsulation of orange peel oil by cocrystallization. LWT-Food Science and Technology, 29 (7); 645–647.

Beristain, C. I., Garcia, H. S. and Vernon-Carter, E. J. 2001. Spray dried encapsulation of cardamom (Elettaria cardamomum) essential oil with mesquite (Prosopis juliflora) gum. LWT-Food Science and Technology, 34 (6); 398–401.

Berner, L. A. and O'Donnell, J. A. 1998. Functional foods and health claims legislation: Applications to dairy foods. International Dairy Journal, 8; 355-362.

Bruschi, M. L., Cardoso, M. L. C., Lucchesi, M. B. and Gremiao, M. P. D. 2003. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. International Journal of Pharmaceutics, 264 (1-2); 45–55.

Buffo, R.A. and Reineccius, G.A. 2001. Comparison among assorted drying processes for the encapsulation of flavors. Perfumer and Flavorist. 26; 58–67.

Cerimedo, M. S. A., Cerdeira, M., Candal, R. J., Herrera, M. L. 2008. Microencapsulation of low trans fat in trehalose as affected by emulsifier type. Jornal of the American Oil Chemists' Society, 85 (9); 797-807.

Çakır, İ., 2006. Mikroenkapsülasyon Tekniğinin Probiyotik Gıdalarda Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 693-696, Bolu, Türkiye.

Çoruhli, T. ve Özçelik, B. 2013. Kara dut antosiyaninlerinin iyonik jelasyon yöntemi ile enkapsülasyonu ve enkapsülasyon parametrelerinin tepki yüzeyi metodu ile optimize edilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gida Mühendis¬liği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 99. İstanbul, Türkiye.

Davarcı, F. 2012. Effects of some physical parameters on penetration, size and shape in alginate gel microencapsulation, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 72 s.

Desai, K. G. H. and Park, H. J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Dry. Technol. 23 (7); 1361–1394.

Deshpande, M. S., Rale, V. B. and Lynch, J. 1992. Aureobasidium pullulans in the applied microbiology: A status report. Enzyme and Microbial Technology, 14 (7); 514-527.

DeZarn, T. J. 1995. Food ingredients encapsulation: An overview. American Chemical Society Symposium Series, 590; 26-39.

Dokuzlu, C. 2000. Shelf-life of the marinated local anchovies. Journal of Faculty of Vertinary Medicine, 19; 45-49.

Dong, D., Qi, Z., Hua, Y., Chen, Y., Kong, X. and Zhang, C. 2015. Microencapsulation of flaxseed oil by soya proteins–gum arabic complex coacervation. International Journal of Food Science and Technology 50 (8); 1785-1791.

Edris, A. and Bergnstahl, B. 2001. Encapsulation of orange oil in a spray drier double emulsion. Nahrung. 45 (2); 133-137.

Eren, İ. 2004. Patateslerin osmotik dehidrasyonunun "response surface" metodu kullanılarak optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendis¬liği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 8, İzmir, Türkiye.

Faldt, P. and Bergenstahl, B. 1996. Spray-dried whey protein/ lactose/soy-bean oil emulsions. 1. Surface composition and particle structure. Food Hydrocolloid. 10 (4); 421-429.

Fang, Y., Al-Assafa, S., Phillipsa, G. O., Katsuyoshi, N., Takahiro, F. and Williams P. A. 2008. Binding behavior of calcium to polyuronates: Comparison of pectin with alginate. Carbohydrate Polymers, 72 (2); 334-341

Fang, Z., Bhandari, B., 2010. Encapsulation of polyphenols- a review. Trends in Food Science and Technology, 21 (10); 510-523.

Flink, J. and Karel, M. 1970. Effects of process variables on retention of volatiles in freeze- drying. Journal of Food Science, 35 (4); 444-447.

Gallardo, G., Guida, L., Martinez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R., Pedroza-Islas, R. and Hermida, L. G. 2013. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. Food Research International, 52; 473–482.

Ganji, S. and Sayyed-Alangi, S. Z. 2017. Encapsulation of ginger ethanolic extract in nanoliposome and evaluation of its antioxidant activity on sunflower oil. Chemical Papers, 71 (9); 1781-1789.

Gazori, T., Khoshayand, M. R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A., Haririan, I., 2009. Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. Carbohydrate Polymers, 77; 599–606.

George, M., Abraham, T. E., 2006. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. Journal of Controlled Release, 114 (1); 1–14.

Gharsallaoui, A., Roudaut, R., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in micro-encapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, 40 (9): 1107- 1121.

Glenn, G.M., Buttery R. G. and Stern, D.J. 1999. Sorption of Volatile Flavor Compounds by Microcellular Cereal Starch. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (12); 5206-5208.

Godshall, M.A. 1997. How carbohydrates influence food flavor. Journal of Food Technology, 51 (1); 63–67.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sarıçoban, C., 2012. Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7 (1); 36-50.

Golovnya, R.V., Misharina, T.A. and Terenina, M.B. 1998. GC evaluation of flavour compound sorption from water solutions by corn starch cryotextures obtained by freezing. Molecular Nutrition Food Research, 42 (6); 380–384.

Gonnet, M., Lethuaut, L., Boury, F., 2010. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. Journal of Controlled Release, 146 (3); 276-290.

Gouin, S., 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food Science and Technology, 15 (7-8); 330-347.

Green, B.K. and Scheicher, L. 1955. Pressure Sensitive Record Materials. US Patent No. (2), 217, 507, Ncr C.

Han, L. K., Kimura, Y. and Okuda, H., 1999. Reduction in Fat Storage During Chitin-Chitosan Treatment in Mice Fed a High-Fat Diet, International Journal Obesity and Related Metabolic Disorders, 23 (2); 174-179.

Hao, M., and Beta, T. 2012. Development of Chinese steamed bread enriched in bioactive compounds from barley hull and flaxseed hull extracts. Food Chemistry, 133 (4); 1320–1325.

Harimurti, N., Nhestricia, N., Yuliani, S. S. and Yuliania, S. 2011. Effect of oleoresin concentration and composition of encapsulation materials on properties of microencapsulated ginger oleoresin using spray drying method. Indonesian Journal of Agriculture, 4 (1); 33-39.

Heinzen, C. 2002. Microencapsulation solve time dependent problems for food makers. European Food and Drink Review. 3; 27–30.

Hogan, S.A., McNamee, B.F., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M., 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. International Dairy Journal, 11 (3); 137-144.

Huang, J., Wang, Q., Li, T., Xia N. and Xia, Q. 2018. Multilayer emulsions as a strategy for linseed oil and α-lipoic acid micro-encapsulation: study on preparation and in vitro characterization. Journal of Science of Food and Agriculture, 98 (9); 3513-3523.

Jayanudin, J., Rochmadi, R., Wiratni, W. and Yulvianti, M. 2015. Encapsulation Red Ginger Oleoresin (Zingiber officinale var. Rubrum) With Chitosan-alginate as Wall Material Using Spray Drying. Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology, 10 (12); 1370-1378.

Jayanudin, J., Rochmadi, R., Renaldi, M. K. and Pangihutan, P. 2017. The influence of coating material difference against encapsulation efficiency of red ginger oleoresin. Alchemy Jurnal Penelitian Kimia, 13 (2); 275-287.

Jeon, Y. J., Shahidi, F. and Kim, S. K. 2000. Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods, Food Review International, 16 (2); 159-176.

Kadam, M. L., Hashmi, S. I. and Kale, R.V. 2011. Studies on extraction of ginger oil and its microencapsulation. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 10 (6); 2382-2390.

Kajla, P., Sharma, A., and Sood, D. R. 2014. Flaxseed-A potential functional food source. Journal of Food Science and Technology, 52 (4); 1857–1871.

Kanakdande, D., R. Bhosale, and R.S. Singhal. 2007. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. Carbohydrate Polymers, 67 (9); 536-541.

Kaplan, H. 2005. Zencefilin (Zingiber Officinale Roscoe) bitkisel özellikleri ve yetiştiriciliği. Derim, 22 (2); 1-9.

Karaoğlan, E., 2011. Lipofilik Maddelerin Aljinat Kitosan Membranlı Sıvı Çekirdekli Enkapsülasyonu, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 90, İstanbul, Türkiye.

Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J. and Adhikari, B. 2016. Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. Food Research International 86; 1-8.

Kaushik, V. and Roos, Y. H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic-sucrose-gelatin system. LWT-Food Science and Technology. 40 (8), 1381-1391.

Kenyon, M. M. 1995. Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients. American Chemical Society. Symposium Series 590, 43-50. Washington, DC.

Keogh, M. K. and O'Kennedy, B. 1999. Milk fat microencapsulation using whey proteins. International Dairy Journal, 9 (9); 657-663.

Keser, O. ve Bilal, T. 2010. Kitosan oligosakkaritin hayvan beslemede kullanımı antioksidan, antimikrobiyal ve diğer etkileri. Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi, 50 (1); 41-52.

Kınık, Ö., Kavas, G., Yılmaz, E. 2003. Mikroenkapsülasyon tekniği ve süt teknolojisindeki kullanım olanakları. Gıda, 28 (4); 401-407.

Kim, Y.D. and Morr, C.V. 1996. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray dried orange oil emulsion particles. Journal of Agricultural Food Chemistry, 44 (5); 1314–1320.

Koç, B. ve Kaymak-Ertekin, F. 2010. Yanıt Yüzey Yöntemi Ve Gıda İşleme Uygulamalaro. Gıda, 35 (1); 63-70.

Koç, M., Sakin, M. ve Kaymak-Ertekin, F. 2010. Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16 (1); 77-86.

Korthals, M. 2002. The Struggle Over Functional Foods: Justice and The Social Meaning Of Functional Foods. Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 15, 315-324.

Koupantsis, T. and Pavlidou, E. 2014. Flavour encapsulation in milk proteins – CMC coacervate-type complexes. Food Hydrocolloids, 37; 134-142.

Krasaekoopt, W., Bhandarı, B., Deeth, H. 2003. Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics for Yoghurt: A Review. International Dairy Journal, 13 (1); 3-13.

Krisanti, E., Astuty, R. M. and Mulia, K. 2017. Microencapsulation of oleoresin from red ginger (Zingiber officinale var. Rubrum) in chitosan and alginate for fresh milk preservatives. American Institude of Physics, Proceedings, 1817 (1); 030016.

Krishnan, S., Bhosale, R. and 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.

Kubra, I. R. and Rao, L. J. M. 2012. An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (Zingiber officinale Roscoe). Critical reviews in Food Science and Nutrition, 52 (8); 651-88.

Kunz, B., Kruckeberg, S. and Weissbrodt, J. 2003. Chancen und grenzen der mikroverkapselung in der modernen lebensmittelverarbeitung. Chemie Ingenieur Technik, 75 (11); 1733-1740.

Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. 2005. Kitin, kitosan ve türevlerinin gıdalarda kullanım olanakları. Gıda, 30 (6); 371-378.

LaGrega M. D., Buchingham P. L. and Evans, J. C. 1994. Hazardous Waste Management. McGraw-Hill series in water resources and environmental engineering, 1146, New York.

Landy, P., Druaux, C. and Voilley, A. 1995. Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution. Food Chemistry, 54 (4); 387–392.

Lee, P. S., Yim, S. G., Choi, Y., Van Anh Ha, T. and Ko, S. 2012. Physiochemical properties and prolonged release behaviours of chitosan-denatured β-lactoglobulin microcapsules for potential food applications. Food Chemistry, 134 (2); 992-998.

Lopez, M. D., Pascual-Villalobos, M. J. and Poncelet, D. 2010. Controlled-release of linalool through calcium alginate capsules. XVIII International Conference on Bioencapsulation, 1-2, Porto, Portugal.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release-a review. International Journal of Food Science and Technology, 41 (1); 1-21.

Matalanis, A., Jones, O. G., McClements, D. J. 2011. Structured biopolymer based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. Food Hydrocolloids, 25 (8); 1865-1880.

Mazza, G. and Oomah B. D. 1998. Flaxseed products for disease prevention. Functional Foods, Biochemical and Processing Aspects, Technomic Publishing Company, 91-138, Lancaster, Pennsylvania.

McClements, D. J. 2009. Structural design principles for ımproved food performance: nanolaminated biopolymer structures in foods. Micro/nanoencapsulation of active food ingredients, 3-34, Amherst, Massachusetts, USA.

Menin, A., Zanoni, F., Vakarelova, M., Chignola, R., Donà, G., Rizzi, C., Mainente, F. and Zoccatelli, G. 2018. Effects of microencapsulation by ionic gelation on the oxidative stability of flaxseed oil. Food Chemistry, 269; 293-299.

Menting, L. C. and Hoagstad, B. J. 1967. Volatiles retention during the drying of aqueous carbohydrate solutions. Journal of Food Science, 32 (1); 87-90.

Mercier, S., Villeneuve, S., Moresoli, C., Mondor, M., Marcos, B., and Power, K. A. 2014. Flaxseed-enriched cereal-based products: A review of the impact of processing conditions. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(4); 400–412.

Myers, R. H., Montgomery, D. C. 1995. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. Wiley, 856, New York.

No, H. K., Kim, S. H., Lee, S. H., Park, N. Y., Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. Carbohydrate Polymers, 65 (2); 174-178.

Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M.T., Khutoryanskiy, V. V. and Charalampopoul, D. 2012. "Chitosan Coated Alginate Beads for the Survival of Microencapsulated Lactobacillus Plantarum in Pomegranate Juice", Carbohydrate Polymers, 90 (3); 1281-1287.

Omar K. A., Shan, L.i Zou, X., Song, Z. and Wangi X. 2009. Effects of Two Emulsifiers on Yield and Storage of Flaxseed Oil Powder by Response Surface Methodology. Pakistan Journal of Nutrition, 8 (9); 1316-1324.

Oriani, V. B., Alvim, I. D., Paulino, B. N., Procópio, F. R., Pastore, G. M., Hubinger, M. D. 2018. The influence of the storage temperature on the stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin. Food Research International. 109; 472-480.

Özgen, S. 2014. Domatesten Likopen İzolasyonuna Yönelik Monodispers Kromatografik Kolon Dolgu Maddelerinin Sentezi, Likopenin Saflaştırılması ve Enkapsülasyonu, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 230.

Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Lagazzo, A. 2015. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying; A study of operative paremeters. LWT-Food Science and Technology, 62 (1); 177-186.

Peanparkdee, M., Iwamoto, S., Borompichaichartkul, C., Duangmal, K., Yamauchi, R. 2016. Microencapsulation of bioactive compounds from mulberry (Morus alba L.) leaf extracts by protein–polysaccharide interactions. International Journal of Food Science & Technology, 51 (3); 649-655.

Peker, H. ve Arslan, S. 2011. Mikroenkapsülasyon ve süt teknolojisinde kullanım alanları. Akadeik Gıda, 9 (6); 70-80.

Quattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Begin, A., Holley, R. A. 2000. "Inhibition of Surface Spoilage Bacteria in Processed Meats by Application of Antimicrobial Films Prepared with Chitosan", International Journal of Food Microbiology, 62 (1-2); 139-148.

Reineccius, G. A. 1991. Carbohydrates for flavor encapsulation. Food Technology, 46 (3); 144-147.

Rinaudo, M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. Polymer International, 57 (3); 397-430.

Risch, S. J. 1995. Encapsulation: overview of uses and techniques. In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredient (edited by S.J. Rish & G.A. Reineccius). pp. 2–7. Washington, DC: American Chemical Society.

Roberts, G. A. F. 1992. Chitin Chemistry, The Macmillan Press LTD, 129. Hampshire and London.

Sakata, N., Qi, M., Gu, Y., Kim, D., Shirouzu, Y., Yamamoto, C. 2004. PVA hydrogel sheet macroencapsulation for the bioartificial pancreas. Biomaterials, 25 (27); 5885-5892.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45 (4); 287–306.

Schwarz, K. and Drusch, S. 2006. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. European Food Research and Technology 222 (1); 155–164.

Selim, K., Tsimidou M. and Biliaderis, C. G. 2000. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. Food Chemistry, 71 (2); 199-206.

Shahidi, F., Han, X.Q., 1993. Encapsulation of food ingredients. Critical Review in Food Science and Nutrition, 33; 501-547.

Shaikh, J., Bhosale, R.G. and Singhal, R. 2006. Microencapsulation of black pepper oleoresin. Food Chemistry. 94 (1); 105-110.

Shi, P., He, P., Teh, T. K. H., Morsi, Y. S., Goh, J. C. H. 2011. Parametric analysis of shape changes of alginate beads. Powder Technology, 210 (1); 60- 66.

Shu, B., Yu, W., Zhao, Y. and Liu, X. 2006. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. Journal of Food Engineering, 76 (4); 664-669.

Simon-Brown, K., Solval, K. M., Chotiko, A., Alfaro, L., Reyes, V., Liu, C., Dzandu, B., Kyereh, E., Barnaby, A. G., Thompson, I., Xu, Z., Sathivel, S. 2016. Microencapsulation of ginger (Zingiber officinale) extract by spray drying technology. LWT-Food Science and Technology, 70; 119-125.

Singleton, V. L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16; 144-158.

Sliwinski, E. L., Lavrijsen, B. W. M., Vollenbroek, J. M., van der Stege, H. J., van Boekel, M. A. J. S. and Wouters, J. T. M. 2003. Effects of spray drying on physicochemical prop. of milk proteinstabilised emulsions. Colloid. Surface. 31; 219-229.

Stefani, F. S., Campo, C., Paese, K., Guterres, S. S., Costa, T. M. H., Flores, S. H. 2018. Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material:

Characterization, stability and enrichment of orange juice . Food Research International, 234; 1-9.
Sun, T., Yao, Q., Zhou, D., Mao, F. 2008. Antioxidant Activity of n-Carboxymethyl Chitosan Oligosaccharides. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 18 (21); 5774-5776.
Szente, L. and Szejtli J. 1986. Molecular Encapsulation of Natural and Synthetic Coffee Flavor with β-Cyclodextrin. Journal of Food Science, 51 (4); 1024-1027.
Taqieddin E., Amiji M. 2004. Enzyme immobilization in novel alginate-chitosan core shell microcapsules. Biomaterials, 25 (10); 1937-1945.
Toledo, E. C. V., Filho, R. M., Boss, E. A. 2004. Freeze drying process: real time model and optimization. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 43 (12); 1475-1485.
Thirumdas, R., Gadhe, K. and Syed I. H. 2014. Optimization of Wall Material Concentration in Preparation of Flaxseed Oil Powder Using Response Surface Methodology: Optimization of Flaxseed Oil Powder Preparation. Journal of Food Processing and Preservation 38 (3); 889-895.
Thomas, D.J. and Atwell, W.A. 1999. Starches. Eagan Press, 94, St Paul, Minnesota.
Tonon, R.V., Pedro, R. B., Grosso, C. R. F. and Hubinger M. D. 2012. Microencapsulation of Flaxseed Oil by Spray Drying: Effect of Oil Load and Type of Wall Material. Drying Technology, 30 (13); 1491-1501.
Toure, A., Lu H. B., Zhang X. and Xueming X. 2011. Microencapsulation of Ginger Oil in 18DE Maltodextrin/Whey Protein Isolate. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 17 (2); 183-195.
Ünal, E., Erginkaya, Z., 2010. Probiyotik Mikroorganizmaların Mikroenkapsülasyonu. Gıda, 35(4). 297-304.
Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., Sikkema, J., 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal, 20 (4); 292-302.
Wang, L., Wang, Y.J. and Porter R. 2002. Structures and Physicochemical Properties of Six Wild Rice Starches. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (9); 2695-2699.
Wang, L. L. and Xiong Y.L. 2005. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (23); 9186-9192.
Wong, T. W., Chan, L. W., Kho, S. B., Heng, P. W. S., 2002. Design of controlled-release solid dosage forms of alginate and chitosan using microwave. Journal of Controlled Release, 84 (3); 99-114.
Wu, T. K., Sheih I. C. and Fang, T. J. 2009. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. Bioresource Technology, 100 (13); 3419-3425.
Wuolijoki, E., Hirvela, T. and Ylitalo, P. 1999. Decrease in LDL Cholesterol with Microcrystalline Chitosan", Methods and Findings Experimental and Clinical Pharmacology, 21 (5); 357-361.
Xiao Z, Li W, Zhu G, Zhou R, Niu Y. 2013. The nanocapsulation research progress in food industry. Applied Mechanics and Materials, 395; 144-148.
Young, S. L., Sarda, X. and Rosenberg, M. 1993. Microencapsulating properties of whey proteins 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. J. Dairy Sci. 76 (10); 2868-2877.

Yuen, S. 1974. Pullulan and its applications. Process Biochemistry. 9; 7-9.
Yuliani, S. Hernani, dan Anggraeni. 1991. Aspek pascapanen jahe. Edisi Khusus Penelitian Tanaman Rempah dan Obat 8(1); 30-37.
Zhang, Y., Zhang, H., Wang, F. and Wang, L. X. 2018. Preparation and Properties of Ginger Essential Oil β-Cyclodextrin/Chitosan Inclusion Complexes. Coatings, 8 (9); 305.
Zuidam, N. J., Shimoni, E. 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer, 7-29, London.
Zuidam, N. J., Nedovic, V. A., 2010. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer, 7-29, London.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Büşra ŞAHİN

Doğum Yeri : Tokat

Doğum Tarihi : 15.10.1994

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Adres : 3A Bedford Corner, South Parade, W4 1LD Chiswick/London.

Tel : +90 506 876 58 10

E-posta : busra1894@hotmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çankırı Anadolu Lisesi, 2012

Lisans : Selçuk Üniversitesi, 2016

Yüksek Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi, 2019

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Çankırı Hacı Murat Veli Öğrenci Yurdu (KYK), 2016-2018

London The Post Room Cafe, 2019

Yayınları (SCI ve diğer)

1- Şahin, B., Özgen, S., "Optimization of microencapsulation parameters of ginger oleoresin," Journal of Food Processing & Technology, 2018.

2-Şahin, B., Özgen, S., "Modelling of extraction parameters of flaxseed oleoresins", " Journal of Food Processing & Technology, 2018.