T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

VİŞNE ÇEKİRDEĞİNDEN PROTEİN TOZU ÜRETİMİ VE FARKLI GIDA MATRİKSLERİNİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANIMI

Bülent BAŞYİĞİT

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
2.1. Vişne (*Prunus cerasus* L.) 8
2.2. Vişne Çekirdeği 10
2.3. Vişne Çekirdeği Yağı 11
2.4. Mazı (*Quercus infectoria* gal) 12
2.5. Bitkisel Proteinler 13
2.5.1. Vişne çekirdeği proteinleri 17
2.6. Enkapsülasyon Teknolojisi 19
2.6.1. Püskürtmeli kurutma sistemi 22
2.6.2. Enkapsülasyon sistemlerinde kullanılan duvar materyalleri 25
3. MATERYAL ve YÖNTEM 28
3.1. Materyal 28
3.2. Yöntem 28
3.2.1. Özütlerin eldesi 31
3.2.1.1. Vişne çekirdeği yağının özütlenmesi 31
3.2.1.2. Mazı gallerinde fenolik bileşiklerin özütlenmesi 31
3.2.1.3. Vişne çekirdeği proteinlerinin özütlenmesi 32
3.2.1.3.1. Proteinlerin kurutulması 33
3.2.2. Kapsüllerin üretimi 34
3.2.2.1. Vişne çekirdeği yağı için püskürtmeli kurutma besleme çözeltisi 34
3.2.2.2. Mazı gal fenolikleri için püskürtmeli kurutma besleme çözeltisi 34
3.2.2.3. Püskürtmeli kurutma şartları 34
3.3. Analizler 35
3.3.1. Toplam nem miktarı 36
3.3.2. Toplam mineral madde miktarı 37
3.3.3. Toplam yağ miktarı 37
3.3.4. Toplam protein miktarı 38
3.3.5. Peroksit sayısı 38
3.3.6. İyot sayısı analizi 39
3.3.7. Sabunlaşma sayısı analizi 39
3.3.8. Serbest yağ asidi ve asit değeri analizi 40
3.3.9. Kırılma indisi 40
3.3.10. pH 40
3.3.11. Renk 41
3.3.12. Yağ asidi fraksiyonu 41
3.3.13. Karotenoid fraksiyonu 41
3.3.14. Vişne çekirdeği yağı, mazı gal fenolikleri ve fenolik tozlarının toplam fenolik, toplam flavanoid, hidrolize tannin madde miktarları, fenolik fraksiyonları ve fonksiyonel özellikleri (antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivite) 42
3.3.14.1. Vişne çekirdeği yağının analizlere hazırlanması 42
3.3.14.2. Mazı gal fenoliklerinin analizlere hazırlanması 42
3.3.14.3. Fenolik kapsüllerinin analizlere hazırlanması 43
3.3.14.4. Toplam fenolik madde miktarı 43

3.3.14.5. Toplam flavanoid madde miktarı 43
3.3.14.6. Toplam hidrolize tannin miktarı 44
3.3.14.7. Fenolik madde fraksiyonları 44
3.3.14.8. Antioksidan kapasite 45
3.3.14.8.1. DPPH metodu ile antioksidan kapasite 45
3.3.14.8.2. ABTS metodu ile antioksidan kapasite 45
3.3.14.8.3. FRAP metodu ile antioksidan kapasite 46
3.3.14.8.4. CUPRAC metodu ile antioksidan kapasite 46
3.3.14.9. Antidiyabetik aktivite 47
3.3.14.10. Antimikrobiyal aktivite 48
3.3.15. Aminoasit kompozisyonu 48
3.3.16. Çözünürlük 49
3.3.17. Emülsiyon aktivite indeksi ve emülsiyon stabilite indeksi 50
3.3.18. Emulsiyonların optik mikroskobu görüntüleri 50
3.3.19. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi 51
3.3.20. Enkapsülasyon verimi 51
3.3.21. Enkapsülasyon etkinliği 51
3.3.21.1. Yüzey yağ 51
3.3.21.2. Yüzey fenolik 52
3.3.21.3. Enkapsülasyon etkinliğinin hesaplanması 52
3.3.22. Su aktivitesi 52
3.3.23. Islanabilirlik 53
3.3.24. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu 53
3.3.25. Hausner oranı ve Carr indeks 54
3.3.26. Mikroyapı analizi 54
3.3.27. Partikül büyüklüğü 54
3.3.28. Termal analizler 54
3.3.29. Hücre kültürü 55
3.3.29.1. Sitotoksisite analizi 55
3.3.30. Depolama 56
3.3.30.1. Yağ kapsüllerinin depolaması 56
3.3.30.2. Fenolik kapsüllerinin depolaması 56
3.3.31. İstatistiksel analizler 57
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 58
4.1. Vişne Çekirdeği ve Yağsız Posanın Kimyasal Bileşimi 58
4.2. Vişne Çekirdeği Yağı 59
4.2.1. Vişne çekirdeği yağının fizikokimyasal özellikleri 59
4.2.2. Vişne çekirdeği yağının yağ asidi fraksiyonları 60
4.2.3. Vişne çekirdeği yağının karotenoid fraksiyonları 61
4.2.4. Vişne çekirdeği yağının fenolik fraksiyonları 62
4.2.5. Vişne çekirdeği yağının antioksidan kapasite 63
4.2.6. Vişne çekirdeği yağının antidiyabetik aktivitesi 64
4.2.7. Vişne çekirdeği yağının antimikrobiyal aktivitesi 65
4.3. Mazı (*Quercus infectoria* gal) 66
4.3.1. Mazı gal fenoliklerinin toplam fenolik, toplam flavanoid ve toplam hidrolize tannin madde miktarı 67
4.3.2. Mazı gal fenoliklerinin fenolik fraksiyonları 67
4.3.3. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan kapasitesi 68
4.3.4. Mazı gal fenoliklerinin antidiyabetik aktivitesi 70
4.3.5. Mazı gal fenoliklerinin antimikrobiyal aktivitesi 71
4.3.6. Enkapsülasyon sistemlerinde mazı gal fenolikleri 73
4.4. Vişne (*Prunus cerasus*) Çekirdeği Proteinleri 73
4.4.1. Vişne çekirdeğinden protein özütleme işlem koşullarının optimizasyonu 73
4.4.1.2. Protein özütleme işlemi için optimum çalışma koşulları 78
4.4.2. Vişne çekirdeğinden elde edilen protein özütlerinin farklı tekniklerle kurutulması 78
4.4.2.1. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının toplam protein miktarı 79

4.4.2.2. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının amino asit kompozisyonu 80
4.4.2.3. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının çözünürlükleri 82
4.4.2.4. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının emülsiyon aktivite ve stabilite indeksi 84
4.4.2.5. Enkapsülasyon sistemleri için uygun kurutma tekniğinin belirlenmesi 87
4.5. Yağ Kapsülleri 88
4.5.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) 88
4.5.2. Yağ kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri 90
4.5.3. Yağ kapsüllerinin mikroyapısı ve partikül büyüklüğü 95
4.5.4. Yağ kapsüllerinin termal özellikleri 96
4.5.4. Yağ kapsüllerinin oksidasyon stabilitesi 98
4.6. Fenolik Kapsülleri 100
4.6.1. Fenolik kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri 100
4.6.2. Fenolik kapsüllerinin toplam fenolik, toplam flavanoid, toplam hidrolize tanen madde miktarı 103
4.6.3. Fenolik kapsüllerinin fenolik fraksiyonları 105
4.6.3. Fenolik kapsüllerinin antioksidan aktivitesi 106
4.6.4. Fenolik kapsüllerinin antidiyabetik aktivitesi 107
4.6.5. Fenolik kapsüllerinin antimikrobiyal aktivitesi 108
4.6.6. Fenolik kapsüllerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi 110
4.6.7. Fenolik kapsüllerinin depolanması 112
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 114
5.1. Sonuçlar 114
5.2. Öneriler 116
KAYNAKLAR 118
EKLER 142

ÖZET

Doktora Tezi

VİŞNE ÇEKİRDEĞİNDEN PROTEİN TOZU ÜRETİMİ VE FARKLI GIDA MATRİKSLERİNİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANIMI

Bülent BAŞYİĞİT

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

1. Danışman: Prof. Dr. İbrahim HAYOĞLU
2. Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN
Yıl: 2022, Sayfa: 162

Dünya genelinde üretilen vişnenin (*Prunus cerasus*) büyük bir kısmı farklı ürünlere işlendikten sonra tüketiciye sunulmaktadır. Nihai üründe arzu edilmeyen sap, yaprak, meyve kabuğu ve çekirdek gibi materyaller meyvenin işlenmesi esnasında uzaklaştırılmaktadır. Bu atıklar arasında meyvenin büyük bir kısmını oluşturan ve yapısında farklı makromolekülleri barındıran çekirdekler değerlendirilme potansiyeline sahiptir; ancak vişne çekirdeği henüz yeterince ticari olarak değerlendirilme şansı bulamamıştır. Bu çalışma kapsamında vişne çekirdeklerinden protein elde edilmiş ve elde edilen vişne çekirdeği proteini bitkisel özütlerin (vişne çekirdeği yağı ve mazı (*Quercus infectoria*) gal fenolik özütleri) kapsüllenmesinde duvar materyali olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın başlangıcında vişne çekirdekleri karakterize edilmiş ve bu materyallerin yüksek oranda protein (%30.52) ve yağ (%35.09) içerdiği saptanmıştır. Daha sonra soğuk sıkım tekniği ile elde edilen vişne çekirdeği yağları detaylı bir şekilde incelenmiştir. Vişne çekirdeği yağlarının yapısında biyolojik aktivite sergileme potansiyeli olan doymamış yağ asitleri, karotenoidler ve naringenin gibi fenolik yapılar tespit edilmiştir. Ayrıca vişne çekirdeği yağlarının fonksiyonel özellikleri antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivite analizleri ile araştırılmıştır. Çalışma kapsamında kapsüllenen diğer bitkisel özüt olan mazı gal fenoliklerinin de fenolik fraksiyonları, antioksidatif, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Yağı alınmış vişne çekirdeklerinden vişne çekirdeği proteinlerinin özütlenmesi için en uygun işlem parametreleri yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmiştir. Optimum çalışma şartlarında çözücü pH'sının 7.73, özütleme süresinin 63 dk ve çözücü-örnek oranının 29 mL/g olduğu saptanmıştır. Bu koşullarda özütlenen vişne çekirdeği proteinleri püskürtmeli kurutma, dondurarak kuruma, oda şartlarında kurutma ve kabin kurutma teknikleri ile kurutulmuş ve enkapsülasyon sistemi için en uygun kurutma tekniği belirlenmiştir. Farklı tekniklerle kurutulan vişne çekirdeği proteinlerinin toplam protein miktarı, esansiyel amino asit oranı, çözünürlüğü ve emülsiyon davranışı incelenmiş ve püskürtmeli kurutma tekniği ile kurutulan vişne çekirdeği proteinlerinin enkapsülasyon çalışmalarında kullanılmasının makul olduğu tespit edilmiştir. Kurutulan proteinler eşit miktarda (1:1, w:w) vişne çekirdeği yağı ve mazı gal fenolik özütleri ile karıştırıldıktan sonra (emülsiye/homojenize edildikten sonra) püskürtmeli kurutma sistemine beslenmiştir. Yağları içeren yağ kapsülleri ve fenolik özütlerini içeren fenolik kapsülleri için enkapsülasyon verimi ve enkapsülasyon etkinliği arzu edilen seviyelerde bulunmuştur. Yağ kapsüllerinin fizikokimyasal analizlerinin yanı sıra mikroyapısı, partikül büyüklüğü ve termal davranışı da incelenmiştir. Fenolik kapsüllerinde ise fizikokimyasal analizlere ek olarak biyoaktif madde içeriği ve biyolojik aktivite (antioksidatif, antidiyabetik, antimikrobiyal ve antikanser aktivite) ile ilgili analizler ön planda tutulmuştur. Altı aylık depolama sonuçları vişne çekirdeği proteinlerinin yağları oksidasyona (150 gün süresince) ve fenolikleri degradasyona (180 gün süresince) karşı koruduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar ile vişne çekirdeği proteinlerinin duvar materyali olarak potansiyeli ortaya konulmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Vişne (*Prunus cerasus*), vişne çekirdeği proteini, vişne çekirdeği yağı, fenolikler, enkapsülasyon

ABSTRACT

PhD Thesis

PROTEIN POWDER PRODUCTION FROM SOUR CHERRY KERNEL AND ITS UTILIZATION IN THE MICROENCAPSULATION OF DIFFERENT FOOD MATRICES

Bülent BAŞYİĞİT

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

1. Supervisor: Prof. Dr. İbrahim HAYOĞLU
2. Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN
Year: 2022, Page: 162

A large portion of the sour cherry (*Prunus cerasus*) grown around the world is offered for consumption after being processed into different products. Undesirable materials such as stems, leaves, fruit peel and seeds in the final product are removed during the processing of the fruit. Among these by-products, the seeds constitute a large part of the fruit. They contain different macromolecules in their structure; indicating that they have a high potential to be converted into value-added products. However, no enough product portfolios have been reported commercially regarding the products obtained by using sour cherry seeds, yet. In this study, the proteins were extracted from sour cherry seeds and the obtained products were incorporated into encapsulation systems by using them as wall materials in the encapsulation of herbal extracts (sour cherry seed oil and *Quercus infectoria* gall phenolics). Sour cherry seeds contain high levels of protein (30.52%) and oil (35.09%). Afterward, the sour cherry seed oils obtained by the cold pressing technique were examined in detail. Different biological structures including unsaturated fatty acids, carotenoids and phenolics (naringenin) were determined in the sour cherry seed oils. Moreover, the functional behavior of the oils was investigated by antioxidant, antidiabetes and antimicrobial activity analyses. Phenolic fractions, antioxidant, antidiabetic and antimicrobial activity analyzes were also discussed in the *Quercus infectoria* gall phenolics. Response surface methodology was conducted successfully for the extraction of proteins from de-oiled sour cherry seeds. For the maximum protein purity, the solvent pH, the extraction time and the solvent sample ratio were found as 7.73, 63 min and 29 mL/g, respectively. Sour cherry seed proteins extracted under the optimum conditions were dried by spray drying, freeze drying, room temperature drying and cabinet drying techniques and the most plausible drying technique for the encapsulation system was investigated. The total protein amount, essential amino acid ratio, solubility and emulsion behavior of the proteins dried by different techniques were displayed and the protein powders obtained by spray drying technique exhibited superior properties. Sour cherry seed oil and *Quercus infectoria* gall phenolics were loaded into the proteins dried under the specified conditions and fed to the spray drying system. The desirable levels were obtained in terms of encapsulation yield and encapsulation efficiency for oil capsules and phenolic capsules. Physicochemical analysis, microstructure, particle size and thermal behavior of the oil capsules were also investigated in detail. Physicochemical analyzes, bioactive substance content and biological activity (antioxidative, antidiabetic, antimicrobial and anticancer activity) of phenolic capsules were prioritized. The obtained storage results during 6 months showed that sour cherry proteins protected sour cherry seed oil and *Quercus infectoria* gall phenolics against oxidation and degradation.

KEYWORDS: Cherry (*Prunus cerasus*), cherry seed protein, cherry seed oil, phenolics, encapsulation

TEŞEKKÜR

Doktora yaptığım süre içerisinde bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, çalışmalara farklı bakış açıları ile yaklaşmamı sağlayan ve olumlu tavırlarıyla akademik olarak yolumu açan danışman hocalarımdan Sayın Prof. Dr. İbrahim HAYOĞLU'na,

Tezime ve akademik çalışmalarıma katkısı saymakla bitmeyen, bir akademisyenin nasıl olması gerektiğini bana öğreten ve sadece akademik olarak değil hayatımın her noktasında desteğini hissettiğim danışman hocalarımdan Sayın Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN'a,

Tez çalışmalarımın yürütülmesi esnasında bilimsel katkılarını esirgemeyen ve tezin akışına pozitif yönde etki eden tez izleme komitesi üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Cemil SERT'e ve Doç. Dr. Eyyüp KARAOĞUL'a,

Tezimi okuyarak değerli katkılar sunan, akademik çalışmalarını örnek aldığım ve tez savunmama katılan hocam Sayın Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ'a,

Antimikrobiyal çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen, tezimi inceleyerek geliştirilmesine katkı sunan ve tez savunmama katılan hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hidayet SAĞLAM'a,

Hayatıma yapmış olduğu dokunuşlar beni o kadar iyi noktalara getirdi ki bu dokunuşlardan dolayı hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ÇAM'a,

Hücre kültürü çalışmalarının yürütülmesinde yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya ve Öğr. Gör. Dr. Ebru TEMİZ'e

Çalışmaların yürütülmesi esnasında ortaya çıkan problemlere karşı çözüme yönelik tavırlarından dolayı bölüm hocarıma,

Tez çalışmamın başından itibaren desteğini esirgemeyen ve sürekli bilgi alışverişinde bulunduğum değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Hamza ALAŞALVAR'a, Öğr. Gör. Hamza ADIGÜZEL'e ve Arş. Gör. Ahmet GÖRGÜÇ'e

Laboratuvar çalışmalarında üretim ve analizlerde yardımcı olan ve emek harcayan çok değerli çalışma arkadaşlarım Şifanur KANDEMİR'e Melike YÜCETEPE'ye, Gülbahar AKYAR'a, Zuhal TÜRKMENOĞLU'na, Gülsüm SULTANOĞLU'na ve İmad ALJASSEM'a,

Tez süresince gerekli tüm durumlarda desteklerini hissettiğim Arş. Gör. Naciye ÜNVER'e, Şükrü KARAKUŞ'a ve Feride DAŞNİK ŞEKER'e

Tez çalışmama 21051 proje numarası kapsamında maddi destek veren Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Birimi'ne,

Desteklerini daima hissettiğim buralara gelmemde büyük emekleri olan annem Emine BAŞYİĞİT'e, babam Mehmet BAŞYİĞİT'e, anneannem Rahime SÜRÜCÜ'ye, dayım Recep SÜRÜCÜ'ye, rahmetli yengem Nursel SÜRÜCÜ'ye, dayım Mehmet SÜRÜCÜ'ye, yengem Nurcan SÜRÜCÜ'ye ve rahmetli dayım İbrahim SÜRÜCÜ'ye

Bu süreçte zamanından çaldığım vakit ayıramadığım canım oğlum Deniz Aram BAŞYİĞİT'e,

Sadece doktora süresinde değil akademik hayatımın başından itibaren bana destek veren, her zaman arkamda olan, beni sürekli motive eden ve akademik hayatın getirmiş olduğu yoğunluktan dolayı yeteri kadar zaman ayıramadığım canım eşim Nazlı BAŞYİĞİT'e

Sonsuz teşekkür ediyorum.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Püskürtmeli kurutma sistemlerinde toz üretim adımları 23
Şekil 3.1. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması 30
Şekil 3.2. Çalışma kapsamında kullanılan vişne çekirdeği, vişne çekirdeği yağı ve yağsız posa ... 31
Şekil 3.3. Protein özütleme adımları 33
Şekil 4.1. Vişne çekirdeği yağının antioksidan kapasite değerleri 64
Şekil 4.2. Vişne çekirdeği yağının S. aureus'a karşı inhibisyon zon çapı 66
Şekil 4.3. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan kapasite değerleri 70
Şekil 4.4. Protein saflığı üzerine pH, süre ve çözücü-örnek oranının etkisi 77
Şekil 4.5. Farklı tekniklerle kurutulmuş vişne çekirdeği proteinleri 79
Şekil 4.6. Toz ürünlerdeki toplam protein miktarı 80
Şekil 4.7. Proteinlerin çözünürlük değerleri 84
Şekil 4.8. Vişne çekirdeği proteinlerinin farklı dakikalarda alınmış emülsiyon görüntüleri 87
Şekil 4.9. Yağ kapsüllerine ait görüntüler 88
Şekil 4.10. Vişne çekirdeği proteinlerinin, vişne çekirdeği yağlarının ve yağ kapsüllerinin FTIR spektrumları 90
Şekil 4.11. Yağ kapsüllerinin elektron mikroskobu görüntüleri ve parçacık boyutu dağılımları 96
Şekil 4.12. Yağ kapsüllerinin termogravimetrik ve diferansiyel termogravimetrik eğrileri 98
Şekil 4.13. Yağ kapsüllerinin depolama süresince peroksit değişimleri 99
Şekil 4.14. Fenolik kapsüllerine ait görüntüler 100
Şekil 4.15. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan aktivite değerleri 107
Şekil 4.16. Mazı gal fenoliklerinin (a) ve fenolik tozlarının (b) *P. aerugonisa*'a karşı inhibisyon zon çapı 110
Şekil 4.17. Mazı gal fenoliklerinin antikanser aktivitesi 112
Şekil 4.18. Fenolik kapsüllerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişimleri 113

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Farklı enkapsülasyon sistemleri ile yürütülen çalışmalar 21
Çizelge 2.2. Püskürtmeli kurutma sistem şartlarının optimize edildiği çalışmalar 24
Çizelge 2.3. Enkapsülasyon sistemlerinden kullanılan duvar materyalleri 25
Çizelge 2.4. Farklı duvar materyalleri kombinasyonlarının kullanıldığı çalışmalar 26
Çizelge 3.1. Protein özütleme işlemi için bağımsız değişkenlere ait seviyeler 32
Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında kullanılan her bir materyale özgü yürütülen analizler 35
Çizelge 3.3. Elementel analiz cihazı çalışma şartları 38
Çizelge 3.4. Yağ asitlerinin analizi için gaz kromatografisi cihazı çalışma şartları 41
Çizelge 3.5. Karotenoid analizi için sıvı kromatografisi cihazı çalışma şartları 42
Çizelge 3.6. Karotenoid analizi için sıvı kromatografisi cihazı gradient koşulları 42
Çizelge 3.7. Fenolik fraksiyon analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı çalışma şartları 44
Çizelge 3.8. Fenolik fraksiyon analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı gradient koşulları 44
Çizelge 3.9. Amino asit analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı çalışma şartları 49
Çizelge 4.1. Vişne çekirdeği ve yağsız posanın kimyasal kompozisyonu 58
Çizelge 4.2. Vişne çekirdeği yağının fizikokimyasal özellikleri 59
Çizelge 4.3. Vişne çekirdeği yağının yağ asidi fraksiyonları 61
Çizelge 4.4. Vişne çekirdeği yağının karotenoid fraksiyonları 62
Çizelge 4.5. Vişne çekirdeği yağının fenolik fraksiyonları 63
Çizelge 4.6. Vişne çekirdeği yağının antiyabetik aktivite değerleri 65
Çizelge 4.7. Vişne çekirdeği yağının antimikrobiyal aktivite değerleri 66
Çizelge 4.8. Mazı gal fenoliklerinin toplam fenolik, flavanoid ve hidrolize tanen madde miktarı . 67
Çizelge 4.9. Mazı gal fenoliklerinin fenolik fraksiyonları 68
Çizelge 4.10. Mazı gal fenoliklerinin antiyabetik aktivite değerleri 71
Çizelge 4.11. Mazı gal fenoliklerinin referans şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri 72
Çizelge 4.12. Mazı gal fenoliklerinin klinik şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri 72
Çizelge 4.13. Protein özütleme işleminde merkezi tümleşik tasarımı kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve noktalar için elde edilen protein saflığı sonuçları 75
Çizelge 4.14. Vişne çekirdeği posasından protein özütleme koşullarına ait model istatistik sonuçları 76
Çizelge 4.15. Vişne çekirdeği posasından protein özütleme koşullarına ait model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları 76
Çizelge 4.16. Vişne çekirdeği proteinlerinin amino asit profili 82
Çizelge 4.17. Vişne çekirdeği proteinlerinin emülsiyon özellikleri 86
Çizelge 4.18. Uygun kurutma tekniği için sonuçların değerlendirilmesi 87
Çizelge 4.19. Yağ kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri 95
Çizelge 4.20. Fenolik kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri 103
Çizelge 4.21. Fenolik tozlarının toplam fenolik, flavanoid ve hdrolize tanen madde miktarı 105
Çizelge 4.22. Fenolik kapsüllerinin fenolik fraksiyonları 106
Çizelge 4.23. Fenolik kapsüllerinin antiyabetik aktivite değerleri 108
Çizelge 4.24. Fenolik kapsüllerinin referans şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri 109
Çizelge 4.25. Fenolik kapsüllerinin klinik şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri 110

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A549	Akciğer adenoma kanser
ABTS	2,2′-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
CUPRAC	Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite
DK	Dondurarak kurutma
DM	Duvar materyali
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DU-145	Prostat adenoma kanser
EE	Enkapsülasyon etkinliği
EV	Enkapsülasyon verimi
FK	Fenolik kapsülleri
FRAP	Demir indirgeyici antioksidan kapasite
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC	Gaz kromatografisi
HCT-116	Kolorektal adenoma kanser
KE	Kateşin eşdeğeri
KK	Kabin kurutma
LC–ESI-MS/MS	Sıvı kromatografi elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometrik
MDA-MB-231	Meme adenoma kanser
MGF	Mazı gal fenolik
OŞK	Ortam şartlarında kurutma
PK	Püskürtmeli kurutma
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TAE	Tannik asit eşdeğeri
TE	Trolox eşdeğeri antioksidan aktivite
TF	Toplam flavanoid
TFM	Toplam fenolik madde
TGA	Termogravimetrik analiz
THTMM	Toplam hidrolize tanen madde miktarı
VÇ	Vişne çekirdeği
VÇP	Vişne çekirdeği proteini
VÇY	Vişne çekirdeği yağı
YK	Yağ kapsülleri

1. GİRİŞ

Modern yaşam tarzı ile birlikte insanların tüketim alışkanlıklarında önemli değişiklikler meydana gelmiş ve hazır gıdalara olan talepler gün geçtikçe artmıştır. Hazır gıdaların işlenmesi esnasında çevresel sorunlara ve ekonomik kayıplara yol açan yüksek miktarlarda atıkların ortaya çıktığı bilinen bir gerçektir. Ülkelerin endüstriyel verimliliği arttırmak için ön planda tuttuğu 'sıfır atık' politikasına paralel olarak ortaya çıkan bu atıkların amacına uygun bir şekilde ekonomiye (katma değerli ürün) kazandırılmasını konu alan farklı çalışmalar yürütülmektedir. Yürütülen çalışmalar arasında meyve-sebze işleme atıkları ön plana çıkmaktadır; ancak her meyve-sebze işleme atığı için katma değerli ürünlere dönüştürülme potansiyeli söz konusu değildir. Değerlendirilmesine karar verilen atık materyali için üç kritik nokta önem arz eden konular arasındadır. Bunlardan ilki bu materyalin ham maddesinin endüstriyel olarak işlenip işlenmediği, diğeri ülke sınırları içerisinde üretimi yapılan hammadde miktarı ve son olarak elde edilmesi planlanan katma değerli ürünün ilgili hammaddedeki oranıdır. Bu üç kriter göz önüne alındığında bu çalışmaya konu alan vişne (*Prunus cerasus* L.) söz konusu kriterlerle birebir örtüşmektedir.

Vişne tüketiciler tarafından yoğun talep gören, çok sayıda işlenmiş gıda ürünü için hammadde kaynağı konumunda bulunan bir meyvedir. Vişne hoşa giden parlak kırmızı rengi, yüksek asitliği ve önemli miktardaki biyoaktif madde içeriği sayesinde endüstriyel işlemeye uygun bir meyvedir ve sağlıklı beslenme kültürü içerisinde kendisine yer bulmuş bir gıda maddesidir. Vişne bitkisi dünyada ilk defa ülkemizin Karadeniz kıyılarında bulunan Giresun şehrimizde kültüre alınmıştır ve ismi de Giresun ilimizin eski adı olan Kerasus'tan (*Prunus cerasus* L.) gelmektedir (Başyiğit ve ark., 2021a). Ülkemiz dünyanın önde gelen vişne üreticileri arasında yer almakta ve dünya vişne üretiminin %14'lük kısmı Anadolu'da gerçekleşmektedir. FAO verilerine göre Türkiye vişne üretiminde Rusya, Ukrayna ve Polonya ile birlikte dünyanın önde gelen üretici ülkelerindendir (FAOSTAT, 2017). Vişne meyvesinin taze olarak tüketimi sınırlıdır ve üretimin büyük bir kısmı endüstriyel olarak reçel, meyve suyu, meyve suyu konsantresi, dondurulmuş ürün, meyveli içecekler, pasta

süsleme malzemeleri, sos ve konserve gibi ürünlere işlenmektedir. İşlenmiş vişne ürünlerine ülkemizde ve dünyanın diğer bölgelerinde yüksek bir talep vardır. Ülkemiz ürettiği vişne sularını ve dondurulmuş vişneyi hem iç pazara hem de uluslararası pazarlara sunmaktadır. Vişne suyu üretimindeki en temel işlem meyvelerin preslenerek meyve suyunun dokudan ayrılmasıdır. Presleme esnasında sap, yaprak, meyve posası ve vişne çekirdeği (VÇ) üretim atığı olarak ortaya çıkmaktadır. Reçel, konserve ve pastacılık yan sektörlerine hammadde sağlamak için diğer endüstriyel işleme olan vişne meyvesinin dondurulmasında ise çekirdekler meyveden ayrılmaktadır. Vişne atıkları, çevresel sorunlar ve uzaklaştırılması sırasında harcanan emek-zaman dolayısıyla ekonomik problemler yaratma potansiyelindedir. Vişne işleme atıklarının değerlendirilmesi çevresel sorunların önüne geçilmesine ve ekonomik bir değer yaratma potansiyeline sahiptir. Üretim atıkları arasında çekirdek; sap ve yaprağa göre önemli miktarlarda yağ, protein ve karbonhidrat içeriği ile dikkat çekmektedir. Bu bağlamda ülkemiz gıda sanayicilerine ön ayak olmak, ülke ekonomisine katkı sağlamak amacıyla VÇ'lerin ekonomik kullanım alanlarının araştırılması ülkemiz açısından önem arz eden bir konudur. Atık değerlendirme bilincinin yaygınlaşmasıyla VÇ'lerden yağ geri kazanımı bilimsel literatürde ve ilgili sektörlerde kendine yer bulmuş (Górnaś ve ark., 2016); ancak VÇ'lerden yağ geri kazanımı sonrası oluşan posa yine çevresel atık olarak görülmekte ve değerli makrobileşenler bünyesinde barındırmaktadır. Bu makrobileşenler arasında proteinler sahip oldukları besleyici, fonksiyonel ve gıda formülasyonlarını geliştirici özelliklerinden dolayı dikkat çekmektedir. Bu nedenle bitkisel proteinlerin izolasyonu, saflaştırılması ve gıda üretiminde kullanılması ve diğer kullanım potansiyellerinin araştırılması son yıllarda bilimsel literatürde sık sık kendisine yer bulmaktadır. Yürütülen bu çalışma kapsamında alternatif bitkisel protein kaynağı olarak yağı alınmış VÇ posası kullanılmış ve elde edilen vişne çekirdeği proteini (VÇP) katma değerli ürünlere dönüştürülebilmeleri için enkapsülasyon teknolojisinde duvar materyali (DM) olarak değerlendirilmiştir.

Enkapsülasyon uygulaması, farklı DM'lerden yararlanılarak biyolojik aktivite sergileyen aroma maddelerinin, fenolik bileşiklerin, enzimlerin, uçucu/yenilebilir yağların ve endüstriyel öneme sahip diğer gıda bileşenlerinin kapsüllenmesi olarak

literatürde tanımlanmaktadır (Shishir ve ark., 2018). Bu teknolojide farklı DM'ler kullanılsa da bunları protein ve karbonhidrat başlığı altında toplamak mümkündür. Protein ve karbonhidrat orijinli kapsülleme ajanları üzerine farklı çalışmalar mevcut olup her bir kaynağın kendi içerisinde avantajları ve dezavantajları vardır; ancak proses gereği genelde 1 birim çekirdek materyali 3-4 birim DM kullanılarak üretimler gerçekleştirilmektedir. Dolayısıyla tüketici en az çekirdek materyali kadar DM de tüketmektedir. Bu durum seçilecek DM'nin önemini net bir şekilde ortaya koymakta ve insan sağlığına olumlu etki edebilecek fonksiyonel özellikte olması gerektirmektedir. Son yıllarda karbonhidratların yerine proteinlerin enkapsülasyon teknolojisinde kullanımına yönelik bir artış gözlemlenmektedir; ancak hayvansal kökenli proteinler bu anlamda başı çekmektedir (Talón ve ark., 2019). Dolayısıyla bitkisel proteinleri enkapsülasyon teknolojisine daha fazla entegre etmek elzem bir konu haline gelmiştir. VÇP önemli aminoasit kaynağı olmasının yanı sıra atıklardan elde edilmiş olması başlı başına fonksiyonel özellikteki bileşenlerin enkapsülasyonunda kullanım potansiyelinin araştırılması için yeterli bir nedendir.

Bilimsel literatür dikkate alındığında enkapsüle edilecek materyaller genel olarak yenilebilir yağlar, uçucu yağlar ve fenolik maddeler olarak sıralanabilir (Velderrain-Rodríguez ve ark., 2019; Radünz ve ark., 2020; Çam ve ark., 2020). Dolayısıyla VÇP'lerin DM olarak kullanım potansiyelini belirlemek için tek bir çekirdek materyalin seçimi yeterli olmayacaktır. VÇ'lerden elde edilen proteinlerin DM potansiyelini belirlemek için çekirdek materyal olarak vişne çekirdeği yağı (VÇY) ve mazı (*Quercus infectoria*) gallerinden solvent ekstraksiyonu yöntemi ile özütlenen fenolik maddeler (MGF) kullanılmıştır.

Bu çalışmanın ana amacı VÇ'den enkapsülasyon teknolojisinde kullanılabilecek fonksiyonel özellikte yenilikçi DM geliştirilmesidir. Ulaşılması amaçlanan spesifik hedefler ise:

- Soğuk pres yöntemi ile VÇY eldesi,
- VÇY'den geriye kalan posadan protein özütlemesinin gerçekleştirilmesi ve üretim koşullarının optimizasyonu,

- VÇP'lerin farklı yöntemlerle (püskürtmeli kurutma (PK), dondurarak kurutma (DK), oda şartlarında kurutma (OŞK) ve kabin kurutma (KK)) kurutulması ve enkapsülasyon için uygun olan kurutma tekniğinin belirlenmesi,
- VÇP'lerin karakterizasyonu ve özelliklerinin belirlenmesi,
- VÇY'lerin karakterizasyonu ve özelliklerinin belirlenmesi,
- MGF'lerin karakterizasyonu ve özelliklerinin belirlenmesi,
- VÇ'lerden elde edilen proteinlerin, VÇY ve MGF'lerin enkapsülasyonunda DM olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesi,
- Enkapsülasyon işleminde PK tekniğinin kullanılması,
- Enkapsüllerin fiziksel, kimyasal, biyolojik, spektroskopik ve termal özelliklerinin belirlenmesi,

şeklinde sıralanabilir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hızlı kentleşme ve sağlıklı gıda tüketim alışkanlıklarının yaygınlaşması, küresel gıda ikame ürünleri pazarının gelişimini büyük ölçüde etkilemiştir. Çoğunlukla tam öğünler; atıştırmalık, bar, içecek veya çorba yapmak için toz formda, gıda takviyesi olarak bilinen yiyeceklerle değiştirilmektedir. 2016 yılında gıda takviyeleri küresel pazar büyüklüğünün 15,10 milyar ABD doları olduğu rapor edilmiştir (Szydłowska ve ark., 2020). Hâlihazırda gıda materyallerinin içeriği incelendiğinde büyük bir kısmını karbonhidrat kaynaklı yapıların oluşturduğu görülmektedir. Son yıllarda bilinçli tüketicilerle birlikte vegan/vejetaryenler ve sporcular karbonhidrat kökenli gıdalar yerine alternatif gıdaların beslenmelerinde yer almasına özen gösterdiği gerek bilimsel literatürde gerekse yapılan piyasa araştırmalarında vurgulanmıştır. Bu durum elde edilecek hazır gıda ürünlerinin girdilerinin tüketici sağlığını olumlu yönde etkileyecek fonksiyonel özellikte olmasına özen gösterilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu konuda dünya genelinde son yıllarda protein ve protein türevi gıdalara özel bir talebin söz konusu olduğu aşikârdır. Protein bazlı gıdaların birçoğu hayvan kaynaklıdır. Dolayısıyla protein tüketimindeki artışa bağlı olarak sadece hayvan kaynakların yetersiz olması alternatif kaynaklara yönelimi artırmıştır. Yapılan çalışmalar hayvansal kaynaklara alternatif olarak bitkisel kaynakların protein kaynağı olarak değerlendirilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bu yaklaşımla birlikte soya, bezelye, pirinç, kenevir, spirulina, kabak çekirdeği ve diğer bitkisel proteinler ile üretilen takviye ürünlerin market büyüklüğü son dönemlerde hızla artış göstermektedir. Bilimsel literatürde de bitkisel protein kaynağı olarak soya fasulyesi ile ilgili birçok çalışma mevcut olup endüstride de bu baklagilin protein kaynağı olarak kullanımı yaygındır. Ayrıca, bezelye (Johnson ve Brekke, 1983), nohut (Paredes-Lopez ve ark., 1991), acı bakla (Berghout ve ark., 2014), kolza (Chabanon ve ark., 2007), pirinç (Shih ve Daigle, 2000), mercimek (Boye ve ark., 2010) ve kenevir (Tang ve ark., 2006) gibi bitkisel materyallerin protein kaynağı olarak kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu kaynaklardan elde edilen proteinler farklı gıda formülasyonlarında zenginleştirici materyaller olarak değerlendirilmektedir (Bandyopadhyay ve Ghosh,

2002). Bu proteinlerin standart bir ürüne dönüştürülmeden önce uygun saflık ve kalitede ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Suyun çözücü olarak kullanıldığı alkali ve asit ortamından klasik ekstraksiyon yöntemi ile farklı bitkisel materyallerden protein eldesinin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2016).

Yürütülen çalışmalar proteinlerin elde edildikleri hammaddenin de üzerinde durulması ve tartışılması gereken önemli bir nokta olduğunu göstermiştir. Protein kaynağı olarak farklı, alternatif kaynakların kullanılması ve araştırılması bilim dünyası ve endüstri için son yıllarda önem verilen konulardan birisi olmuştur. Bu manada çevresel faktörler, ekonomik kayıplar ve içermiş oldukları farklı yapılar dikkate alındığında sınırlı kullanımı olan ve ticari değeri olmayan bitkisel atıklar ön plana çıkmaktadır. Bilimsel çalışmalarda bitkisel kökenli proteinlerin fonksiyonel özelliklerine işaret edilmiş ve beslenmede yer almasının sağlık üzerine faydalar sağlayacağı vurgulanmıştır. Bu çalışma kapsamında endüstriyel vişne üretim atığı olan VÇ'ler başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Yüksek oranda protein içermesi ve önemli aminoasitlerin kaynağı olması göz önünde bulundurulduğunda VÇ'lerin protein kaynağı olarak değerlendirilmesinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır. VÇ'ler selülozik ve lifli yapılar içerdiği için hücre duvarında ve hücre içerisinde yer alan proteinleri yüksek verimlilikte (saflıkta) ve doğrudan elde etmek mümkün gözükmemektedir. Bu yüzden yağ ayırma gibi gerekli ön işlemler yapıldıktan sonra VÇ'lerden protein özütlemesi için işlem koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir. Bu tez çalışmasında çözücü pH değeri, özütleme süresi ve çözücü-örnek oranı yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile optimize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen VÇP özütlerinin uygun koşullarda kurutulması (toz forma dönüştürülmesi) çalışmanın en önemli basamaklarından bir tanesini oluşturmaktadır. Kurutma işleminin proteinlerin başta fonksiyonel olmak üzere farklı özellikleri üzerine etkileri kanıtlanmıştır (Yu ve ark., 2007a; Caparino ve ark., 2012). VÇP özütlerini toz forma dönüştürmek için püskürtmeli kurutma (PK), dondurarak kurutma (DK), ortam şartlarında kurutma (OŞK) ve kabin kurutma (KK) teknikleri kullanılmıştır. Bu proseslerden PK teknolojisi son yıllarda kurutma ve enkapsülasyon amacıyla kullanılan etkili bir tekniktir. Bu teknik besleme çözeltisi olarak

adlandırılan solüsyonun bir atomizerden ince damlacıklar halinde geçirilerek sıcak hava ile buluşturulup hızlı bir şekilde çözücünün uçurulması esasına dayanmaktadır (Shishir ve Chen., 2017). Proses solüsyonun hazırlanması, emülsiyonun dispersiyonu, dispersiyonun homojenizasyonu, solüsyonun beslenmesi ve kurutulmuş partiküllerin dehidrasyonu olmak üzere 5 farklı adımda gerçekleşmektedir (Shahidi ve Han, 1993). Çözücü uzaklaştırma işlemi esnasında yüksek olan PK hava giriş sıcaklığı her ne kadar elde edilecek tozun degradasyonu için olumsuz görülse de nihai ürünün bu sıcaklığa mağruz kalma süresi oldukça düşüktür (Gharsallaoui ve ark., 2007). Proses sonlanana kadar elde edilen ürünün uzun süreli bu sıcaklıklara maruz kalması ürün kalite parametreleri açısından sorun yaratabilme potansiyeline sahiptir. Bu yüzden PK tekniği ile toz forma dönüştürülecek ürünler üzerine kurutma şartlarının özellikle hava giriş ve çıkış sıcaklıklarının optimize edilmesi gerekmektedir. PK tekniği ile farklı analit grupları kurutulmuş ve enkapsüle edilmiştir. Bunlara yağlar, fenolik bileşikler, esansiyel yağlar örnek verilebilir. Bu çalışmalarda PK şartları arzu edilen nihai ürünün özelliklerine göre optimize/modifiye edilmiştir (Jangam ve Thorat, 2010; Khalilian Movahhed ve Mohebbi, 2016). Bu tez kapsamında da özütlenen VÇP'ler PK işlemine tabi tutulmuş ve uygun olan PK giriş sıcaklığı sıcaklığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük sıcaklık, elde edilen protein tozlarının fiziksel ve/veya kimyasal özelliklerini olumsuz yönde etkileme potansiyeline sahip olduğu için çalışma koşulları oluşturulurken bu şartlar göz önünde bulundurulmuştur (Igual ve ark., 2014). Proteinlerin toz forma dönüştürülmesinde kullanılacak olan diğer bir yöntem DK solüsyonda var olan çözücünün düşük basınçta (vakum altında) süblimasyon yoluyla uzaklaştırılması prensibiyle çalışmaktadır (Sadıkoğlu ve Özdemir, 2003). DK diğer ısıl işlem gerektiren tekniklerle karşılaştırıldığında oldukça fazla avantaja sahiptir (Ciurzyńska ve Lenart, 2011). Son yıllarda PK tekniği ile karşılaştırıldığında DK tekniğine olan talep daha azdır. Bunun en önemli nedeni PK'ye göre işlem maliyetinin 30-50 kat daha fazla olması, yüksek enerji tüketimi ve bakım maliyetidir (Moreau ve Rosenberg, 1996; Ciurzyńska ve Lenart, 2011). Belirtilen dezavantajlara rağmen proteinler gibi ısıya duyarlı materyallerin fiziksel ve/veya kimyasal yapılarındaki olası bozulma ihtimaline karşı DK tekniği önemli bir alternatiftir. DK esnasında kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar minimize

edildiği için istenilen kalitede ürünler elde edilebilmektedir (Ratti, 2001). Farklı bitkilerden özütlenen proteinlerin kurutulmasında DK prosesinde farklı çalışmalarda yararlanılmıştır. DK ve konvansiyonel kurutma yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada DK kullanılarak kurutulan protein konsantrelerinin renk ve fonksiyonel özellik bakımından diğer kurutma yöntemi ile elde edilen proteinlere göre üstünlükleri net bir şekilde ortaya konulmuştur (Ghribi ve ark., 2015). Benzer şekilde barbunya ve bezelye tanelerinden elde edilen proteinler (Shevkani ve ark., 2015), börülce ve soya tanelerinden elde edilen proteinler (Horax ve ark., 2004) DK tekniği ile başarılı bir şekilde toz forma dönüştürülmüştür. Bu çalışmada da elde edilen özütler PK ile birlikte DK tekniği kullanılarak kurutulmuştur. Bu kurutma tekniklerinin etkilerini net bir şekilde ortaya koymak için yaygın bir şekilde kullanılan OŞK ve KK da çalışma kapsamında kullanılmıştır. Yapılan analizlerle farklı kurutma teknikleri ile edilen protein tozlarının üstünlükler/benzerlikleri ortaya konulmuş ve enkapsülasyon için uygun kurutma tekniği belirlenmiştir. Uygun kurutma koşullarında elde edilen proteinlerin gıda alanında farklı uygulamalarda kullanılması bu çalışma için belirtilen hipotezi tam anlamıyla desteklemek için önemli bir husustur. Bu yaklaşımdan yola çıkarak çalışma kapsamında elde edilen VÇP'ler gıda proseslerinde önemli bir yere sahip olan enkapsülasyon teknolojisine DM olarak entegre edilmesi amaçlanmıştır.

2.1. Vişne (*Prunus cerasus* L.)

Günümüzde birçoğu Avrupa ve Asya ülkerine ait 30'dan fazla *Prunus* türü tespit edilmiştir (Blando ve Oomah, 2019); ancak sadece iki *Prunus* türü dünya çapında ticari amaçlı kullanılmaktadır (Hummer and Janick, 2009). Kiraz (*Prunus avium*) ve vişne (*Prunus cerasus*) olarak bilinen bu iki türün içermiş olduğu şeker, protein, mineral madde ve biyoaktif bileşenlerin miktarı birbirinden farklıdır (Blando ve Oomah, 2019). Ticari anlamda da birbirinden ayrılan bu türlerden kiraz daha çok taze (sofralık) tüketimiyle; vişne ise yüksek şeker:asit oranından dolayı çeşitli gıda ürünlerine işlendikten sonra kullanımı ile ön plana çıkmaktadır (Yılmaz ve ark., 2019). Vişne bu özelliğinden dolayı endüstriyel bir meyve olarak kabul edilmektedir.

Bu tez çalışmasında VÇ'lerin hammadde olarak seçilmesinin ardında yatan önemli sebeplerden birtanesi de vişnenin endüstriyel olmasıdır.

Vişne (*Prunus cereasus* L.) gülgiller (*Rosaceae*) falmiyasının *Prunus* cinsinde yer alan dünya genelinde tüketim ve çeşitli ürünlere işlenme açısında yüksek miktarlarda talep gören sert çekirdekli bir meyvedir. Gerekli bakımlar yapıldığı sürece uzun yıllar (40-50 yıl) ürün verme potansiyeli olan vişne ağaçları en erken 4 yaşında meyve verirler ve ağaçların boyları 5 ile 7 m arasında değişkenlik gösterir (Kaftanoğlu, 2013). Vişne meyvesi ekstrem koşullara dayanım göstermesi nedeniyle dünyanın farklı bölgelerinde (Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya) kendisine yetişme alanı bulmuştur (Ferretti ve ark., 2010; Wojdyło ve ark., 2014; Yılmaz ve ark., 2019). Gıda sektöründe yaygın bir şekilde kullanılan vişnenin üretimi yıldan yıla artış göstermiş ve 2016 yılında üretim mikarı 1.38 milyon tona kadar ulaşmıştır. Bu üretimin yaklaşık %66'lık kısmını Avrupa ülkeleri karşılamaktadır (FAOSTAT, 2017). FAO verilerine göre 2018 yılında vişne üretiminde yıllık yaklaşık 232.000 ton üretim kapasitesi ile Rusya'nın ilk sırada yer aldığı, Rusya'yı ise sırasıyla Ukrayna (219.000 ton), Polonya (201.000 ton) ve Türkiye'nin (185.000 ton) izlediği görülmektedir (FAOSTAT, 2020). Ülkemizde İç Batı Anadolu Bölgesi ve İç Anadolu Bölgesi illerimizden olan Afyonkarahisar (42.273 ton), Kütahya (26.856 ton), Konya (30.164 ton) ve Ankara'nın (11.756 ton) vişne üretiminde başı çektiği yapılan araştırmalarda ortaya konulmuştur (TÜİK, 2018). Başta bu illerimizde olmak üzere Türkiye sınırları içerisinde çoğunlukla *Kütahya* ve *Montmorency* çeşidi vişne yetiştirilmektetir. Çeşitler arasında arzu edilen renk ve aromaya sahip olması sebebiyle Kütahya çeşidi toplam üretimin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır (Arikan ve Pirlak, 2016).

Dünya genelinde üretilen vişne meyvelerinin yaklaşık %85'i çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra vişne suyu, şurup, şarap ve kuru vişne olarak tüketime sunulmaktadır. Bu oran içerisinde en büyük pay meyve suyu endüstrisinde olup toplam üretimin %30'unu oluşturmaktadır (Çapanoglu ve ark., 2011; Toydemir ve ark., 2013). Ülkemizde de üretilen vişnenin yaklaşık %30'luk kısmına denk gelen 60.000 ton meyve meyve suyuna işlenmektedir (Akdağ, 2011).

Vişnenin ekşi tadı ve koyu kırmızı rengi karakteristik özelliğidir. Özellikle antosiyaninler ve fenolik asitler olmak üzere farklı biyoaktif bileşikleri yapısında barındırır (Kirakosyan ve ark., 2009). Doğal yapısında yer alan bu özel oluşumlar vişne ile ilgili farklı çalışmaların yürütülmesine sebebiyet vermiştir. Otuz dört farklı vişne çeşidinin incelendiği bir çalışmada örneklerin antioksidatif ve antikanser etkileri tespit edilmiştir (Khoo ve ark., 2011). Bir başka çalışmada vişne suyunun sinir sistemi üzerinde pozitif etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (Cásedas ve ark., 2016). Vişne meyvesi ile ilgili benzer birçok çalışma yürütülmüş; yürütülmeye de devam etmektedir; ancak vişnenin endüstriyel bir meyve olduğu ve büyük bir kısmının çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra tüketime sunulduğu göz önünde bulundurulursa meyveyi konu alan çalışma kadar işlemler sonrası ciddi miktarlarda açığa çıkan atıkların katma değerli ürünlere dönüştürülmesi ile ilgili de çalışmaların yapılması gerektiği elzemdir. Literatürde bu materyaller üzerine ekstraksiyon (Prandi ve ark., 2019; Rodsamran ve Sothornvit, 2019) ve kurutma (Goula ve Lazarides, 2015; Tsali ve Goula, 2018) gibi çalışmalar yapılarak katma değerleri ürünlere dönüştürme potansiyelleri de araştırılmıştır. Ayrıca vişne işleme atıklarının karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar da bilimsel literatürde mevcut olup (Yılmaz ve ark., 2015; Yılmaz ve ark., 2018) bu materyallerin antioksidan kapasite (Nowicka ve ark., 2016), anti-enflamatuar aktivite (Yılmaz ve ark., 2018) antiproliferatif aktivite (Csiki ve ark., 2015) gösterdiği tespit edilmiştir; ancak bulunduğumuz zaman diliminde vişne atıklarından katma değerli bir ürün elde edildiğini söylemek mümkün değildir. Dolayısıyla yapılacak farklı AR-GE çalışmalarıyla bu eksikliğin giderilmesi gerekmektedir.

2.2. Vişne Çekirdeği

Sap ve yaprak dışında vişne meyvesi yenilebilir (etli; %60-71, dış kabuk (posa); %13-18) ve çekirdek (%7–15) parçalarından oluşmaktadır (Chaovanalikit ve Wrolstad, 2004; Yılmaz ve Gökmen, 2013). Yalnızca ülkemizde yıllık yaklaşık 185.000 ton vişne üretiminin gerçekleştiği ve bu üretimin %90'dan fazlasının endüstriyel olarak işlendiği göz önünde bulundurulduğunda 42.000 ton VÇ açığa

çıkmaktadır. Bu oran Amerika Birleşik Devletleri'nde 15.000-20.000 ton arasındadır (Korlesky ve ark., 2016). Bu yan ürünler daha çok hayvan yemi olarak kullanılmakta veya herhangi bir uygulama yapılmadan işleme atığı şeklinde çürümeye bırakılmaktadır; ancak yapılan çalışmalarda VÇ materyalinin %23.50'sini oluşturan yenilebilir (kernel) kısmının biyoaktif özellik sergileyen makro ve mikro yapıları bünyesinde barındırdığı vurgulanmıştır (Yılmaz ve Gökmen, 2013; Yılmaz ve ark., 2019; Kasapoğlu ve ark., 2021). Literatür bulguları dış kabuksuz VÇ (kernel)'nin %34.75 yağ ve %32.31 protein içerdiğini göstermiştir (Çelik ve ark., 2019). Yapılan çalışmalar yüksek oranda yağ ve protein içeren VÇ'lerden kozmetik ve gıda sanayisi gibi farklı ticari alanlar için endüstriyel olarak yağ üretildikten sonra arta kalan kısımdan (atığın atığı) protein elde edilebileceğini net bir şekilde ortaya koymuştur. Bu veriler ışığı altında maliyeti olmayan bir hammaddeden biyoaktif özellikleri yüksek alternatif bitkisel protein üretimi ve üretilen materyallerin enkapsülasyonda DM olarak kullanılması özgün bir yaklaşım olarak görülmektedir.

VÇ'lerin fonksiyonel yapılara gelince çekirdiğin önemli bir kısmını oluşturan yağlar tekli ve çoklu doymamış yağ asidi bakımından zengin olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır. Ayrıca VÇ'lerin esansiyel (lisin) ve esansiyel olmayan (glutamik asit) aminoasitler, mineral maddeler (kalsiyum ve potasyum) ve B grubu vitaminleri gibi fonksiyonel yapıları da yapısında barındırdığı rapor edilmiştir (Yılmaz ve Gökmen, 2013). Bu özel bileşikler VÇ'lere farklı biyolojik aktiviteler sağlamaktadır (Bak ve ark., 2006; Bak ve ark., 2011).

2.3. Vişne Çekirdeği Yağı

Son yıllarda atık materyallerin farklı amaçlarda kullanımı ile ilgili çalışmalar artış göstermektedir. Bu alanda nicel olarak önemli miktarlarda atık kısmı oluşturan ve biyoaktif madde içeriği yüksek olan çekirdekler ön plana çıkmıştır. Nar çekirdeği, üzüm çekirdeği ve VÇ gibi materyaller bu grupta sıralanabilir. Nar çekirdeği ve üzüm çekrideğinin karakterizasyonu ve özellikleri ile ilgili bilimsel literatürde yeteri kadar çalışma mevcuttur; ancak VÇ için benzer çalışmalardan bahsetmek mümkün değildir (Son yıllarda artış göstermeye başlamıştır). Bir başka ifadeyle şimdiye kadar

bu materyallerin bertarafı/katma değerli ürünlere dönüştürülmesi için net bir çözüm sunulmamıştır (Almasi ve ark., 2021). VÇ vişne endüstrisinin en önemli atığını oluşturmaktadır. VÇ'ler daha önce de bahsedildiği gibi makromoleküllerin (protein, karbonhidrat ve yağların) önemli kaynağıdır (Yılmaz ve Gökmen, 2013). VÇ'lerin %32-36 kısmını lipit fraksiyonları oluşturmaktadır. Dünya vişne üretimi göz önüne alınarak kaba bir hesap yapıldığında VÇ'lerden yıllık yaklaşık 80.000 ton yağ elde edilebileceği sonucuna varılmaktadır (Yılmaz ve ark., 2019). Bu yağlarla ilgili literatürde sınırlı çalışma mevcuttur. Yürütülen tez kapmasında VÇ'lerin önemli bir kısmını oluşturan yağ fraksiyonları da detaylı bir şekilde araştırılmıştır. VÇY'ler sitosterol, tokoferol ve doyamamış yağ asitleri bakımından zengin olup yüksek miktarda oleik asit (%50-53) ve linoleik asit (%35-38) içermektedir (Bak ve ark., 2006; Korlesky ve ark., 2016). Ayrıca karotenoid, skualen, fitosteroller (Caligiani ve ark.,2010; Hassanien ve ark., 2014), ve tokoferoller (Górnaś ve ark., 2015) gibi lipolitik yapılar da VÇY'de bulunmaktadır. VÇ'de doğal olarak bulunan bu yapılar yağın fonksiyonel özelliğine işaret etmektedir; ancak diğer yenilebilir ve uçucu yağlarda olduğu gibi VÇY'nin içermiş olduğu hassas yapılardan kaynaklı çevresel koşullara karşı stabiliteleri düşüktür. Dolayısıyla biyoaktif maddelerin önemli kaynağı olan bu materyalleri daha stabil duruma getirmek üzerinde çalışılan bir konudur. Bu anlamda farklı teknikler kullanılsa da enkapsülasyon teknolojisi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan bu çalışmada da VÇY yenilikçi DM (VÇP) kullanılarak stabil bir hale getirilmesi amaçlanmıştır.

2.4. Mazı (*Quercus infectoria* gal)

Sağlıklı beslenme alışkanlığının arttığı günümüzde insanlar tüketmekte oldukları gıdaların içeriği ve raf ömrü gibi özelliklerini daha detaylı olarak sorgulamaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler de son yıllarda gerek güncel haberler gerekse bilimsel yayınlarda ön plana çıkan konulardan biridir. Bu bitkilerden alınan ekstraktlardan antik çağlardan beri başta gıda sanayi olmak üzere farklı endüstrilerde yararlanılmaktadır. *Fabaceae* familyasında yer alan mazı (*Quercus infectoria*) da son yıllarda biyoaktif özellikleri üzerine çalışmaların arttığı tıbbi aromatik bitkilerden bir tanesidir. Bitki daha çok Akdeniz ülkelerinde özellikle Türkiye, Kıbrıs, Yunanistan,

Suriye ve İran'da kendisine yetişme alanı bulmuştur (Samuelson ve Bohlin, 1992; Evans, 2009). Bitkinin daha çok "gal" olarak adlandırılan kısmı farklı amaçlar için kullanılmakta ve bu kısım üzerine farklı çalışmalar yürütülmüştür (Redwane ve ark., 2002; Kaur ve ark., 2004). Gallotanenler (%50-70), gallik asit (%2-4), ellajik asit, nişasta ve şekerler mazı gallerinin ana bileşenleridir (Bruneton, 1999). Yaptığımız ön çalışmalarla ve bilimsel literatür bitki gallerinin antidiyabetik (Hwang ve ark., 2000), antiviral (Hussein ve ark., 2000), antibakteriyel (Fatima ve ark., 2000), antifungal (Digrak ve ark., 1999) ve antioksidatif (Hamad ve ark., 2017) etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Göstermiş olduğu bu biyolojik aktivitelerden dolayı ishal dizanteri ve iç kanama gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Warrier ve ark., 1995); ancak, bu denli önemli özelliklere sahip olan bu materyallerin günlük hayatta kullanımı yaygın olmamakla beraber diğer biyolojik materyallerde olduğu gibi içermiş oldukları biyolojik özelliklerini zaman içerisinde kaybetmektedirler. Biyolojik özelliklerini uzun süre koruyabilen ve tüketicilere bu biyoaktif özellikleri sağlayabilecek, standart, kullanımı ve ulaşımı kolay bir ürün sunarak belirtilen olumsuzluk giderilebilir. Belirtilen problemler ele alındığında enkapsülasyon teknolojisi bu anlamda ön plana çıkmaktadır. Bu çalışma kapsamında da biyolojik aktivitesi yüksek olan MGF'ler enkapsüle edilmiştir. Enkapsülasyon işleminde DM olarak VÇP'ler kullanılmış ve kullanıma hazır, biyolojik aktivesini uzun süre koruyabilen bir ürün elde edilmesi amaçlanmıştır.

2.5. Bitkisel Proteinler

Proteinler, 20 α-aminoasidin peptit bağlarıyla bir araya gelmesiyle meydana gelen biyolojik makromoleküllerdir (Nelson ve Cox, 2005). Proteinleri oluşturan aminoasitler ise farklı yapıların (karboksil grubu, amino grubu, hidrojen ve radikal grup) α-karbon atomuna bağlanmasıyla meydana gelmiş monomerlerdir. Karboksil grubu, amino grubu ve hidrojen atomu tüm aminoasitlerin iskeletinde yer almasına rağmen radikal gruplar amino asitten amino aside değişkenlik göstermektedir ki bu durum 20 farklı aminoasit arasındaki temel farklılığı ortaya koymaktadır (Nelson ve Cox, 2005; Fujii ve ark., 2018). Vücudumuzda 20 amino asidin tamamı sentezlenememektedir. Dolayısıyla sentezlenmeyen 8 aminoasidi farklı gıdalar

aracılığıyla vücudumuza almamız gerekmektedir (Saldamlı ve Temiz, 2017). Bu elzem yapılar daha çok et, balık ve süt gibi hayvansal kaynaklardan karşılanmaktadır (Akyüz, 2018); ancak 500 milyondan fazla bireyin Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) belirlemiş olduğu ortalama 0.83 g/kg/gün seviyesinde proteine ulaşmada problem yaşadığı saptanmıştır (Dando, 2012). Bu durum dünya genelinde protein eksikliğinden kaynaklanan sağlık sorunlarının boyutunu da ortaya koymaktadır (Wu ve ark., 2018). Artan nüfus artışına bağlı olarak sadece hayvansal kaynakların yetersiz olması belirtilen problemlerin asıl nedeni olarak görülmektedir. Hayvansal kaynaklı gıdalarda bulunan ve özellikle kardiyovasküler hastalıkları tetikleyen yapıların varlığı ve bu gıdalardan protein üretimi esnasında meydana gelen küresel anlamda önemli problemler arasında yer alan sera gazı emisyon problemleri hayvansal kaynaklı proteinlerin alternatiflerinin araştırılması için bir diğer neden olarak karşımıza çıkmaktadır (Westhoek ve ark., 2014). Bu problemlere ilaveten son yıllarda tüketicilerin vegan/vejetaryen beslenmeyi tercih etmeleri alternatif protein kaynaklarının araştırılması için başka bir nedendir. Bu anlamda hayvansal kaynaklara alternatif olarak bitkisel kaynaklar protein kaynağı olarak değerlendirilme potansiyeline sahiptir.

Bitkisel proteinler son zamanlarda bilim insanlarının üzerinde durduğu ve insan beslenmesinde kullanım imkânlarının araştırıldığı önemli biyomateryaller arasındadır. Ticari manada bu materyallerin uygun koşullar altında ve muhtelif kaynaklardan elde edilip insan beslenmesinde daha etkin kullanımının yolları aranmaktadır. Bilimsel literatürde bitkisel protein kaynakları üzerine farklı çalışmalar yürütülmektedir. Literature paralel bir şekilde endüstride de protein kaynağı olarak bitkilerin özellikle atık materyallarin proteinin hammaddesi olarak kullanımını artırmaya yönelik çaba söz konusudur. Bitkisel protein kaynağı olarak baklagiller (soya fasülyesi, bezelye, nohut, fasulye, acı bakla, bakla ve börülce) (Vasconcelos ve ark., 2006; Sun ve ark., 2012; Coda ve ark., 2017; Tuśnio ve ark., 2017), tahıllar (prinç, buğday, darı, sorgum, mısır ve arpa) (López ve ark., 2018), yalancı tahıllar (amaranth, kinoa ve karabuğday) (López ve ark., 2018), tohumlar (chia, keten tohumu, susam, kabak ve ayçiçeği) (Conde ve ark., 2005), badem ve fındık (de Oliveira Sousa ve ark., 2011) bu alanda başı çekmektedir; ancak her durumda olduğu

gibi bitkisel materyallerin protein kaynağı olarak kullanımında da kendi içinde dezavantajları mevcuttur. Burada göze çarpan ilk problem bitkisel proteinlerin besinsel kalitesidir. Bitkisel kaynaklardan elde edilen proteinlerin yapılarında esansiyel aminoasitlerin oranı hayvansal kaynaklara göre daha düşük olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Hughes ve ark., 2011). Bu amino asitlerden histidin (Dzagania ve ark., 2012), izolösin, valin (Yu ve ark., 2021), lösin (Balage ve Dardevet, 2010), lisin (Hamamoto ve ark., 2015), metiyonin (Battezzati ve ark., 2007), fenilalanin (Garibotto ve ark., 2002), treonin (Radovanović ve ark., 2021) ve triptofan (Kałużna-Czaplińska ve ark., 2019) ile ilgili farklı çalışmalar yürütülmüş ve spesifik olarak farklı fonksiyonlar sergiledikleri yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Bu çalışmalardan yola çıkarak her bir esansiyel aminoasitin insan vücudunda farklı bir işlevi olması hayvansal proteinlerin insan beslenmesinde ve endüstride neden daha fazla yer alması gerektiği sorusunun cevabıdır. Hâlihazırda kullanılan bitkisel proteinlerde diğer bir problem özütleme esnasında istenmeyen alerjenlerin özüte geçmesidir (Breiteneder ve Radauer, 2004). L'Hocine ve Boye, (2007) yapmış oldukları çalışmada soyada en az 16 adet alerjen protein tespit etmiştir. Cook ve ark. (1981) ise soyadan elde edilen proteinlerin vücuttaki demir emilimi üzerine negatif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Tahıl proteinlerine karşı hassasiyet gösteren çölyak hastaları (dünya nüfusunun yaklaşık %1.40'ı) için de piyasada var olan proteinlerin alternatiflerinin sunulması bilim dünyasının ele alması gereken konulardan biri olarak görülmektedir (Singh ve ark., 2018). Ayrıca hâlihazırda protein kaynağı olarak kullanılan materyallerin (baklagiller, tahıllar, badem, fındık vb.) birçoğunun doğrudan tükemi mevcuttur. Dolayısıyla bu kaynakların ticari manada protein üretiminde kullanımı makul görülmemektedir.

Enkapsülasyon teknolojisi ve gıda uygulamaları için başka bir önemli nokta proteinlerin fonksiyonel özellikleridir. Hayvansal proteinlerle karşılaştırıldığında bitkisel proteinlerin tekno-fonksiyonel özellikleri de geliştirilmeye açıktır (Nisov ve ark., 2020; Gültekin Subaşı ve ark., 2021). Bu özellikler arasında özellikle çözünürlük ve emülsiyon davranışları istenilen düzeyde bir enkapsülasyon sisteminin oluşturulması açısından olabildiğince yüksek olması arzu edilir. Farklı özütleme teknikleri ve uygulamalarla (kimyasal, fiziksel veya enzimatik) bitkisel proteinlerin

fonksiyonel özelliklerinin artırılmasına yönelik çalışmalar yürütülmüştür (Kutzli ve ark., 2021). Ultrases özütleminin soya proteininin çözünürlüğü (Hu ve ark., 2015), emülsiyon özellikleri, köpük oluşturma kapasitesi (Jambrak ve ark., 2009) ve yağ bağlama kapasitesi (Hu ve ark., 2013) üzerine geliştirici etki gösterdiği belirtilmiştir. Kontrollü enzimatik uygulamalar bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerini artırmak için yürütülen uygulamalardan birisidir (Nisov ve ark., 2020). Bu uygulama yulaf proteinlerinin jel (Nieto-Nieto ve ark., 2014), soya proteinin köpük (Were ve ark., 1997) ve pirinç glütenin emülsiyon (Xu ve ark., 2016) özellikleri üzerine pozitif bir etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bu veriler ve bilimsel literatürde yapılan diğer çalışmalar ile kimyasal ve enzimatik yaklaşımların gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerini arttırmak için etkili yöntemler olduğu hipotezi doğrulanmıştır (Mirmoghtadaie ve ark., 2016); ancak işlemler gerçekleştirilirken toksik materyallerin kullanımı bu uygulamalar açısından sınırlamalara yol açmıştır. Bu yüzden bitkisel protein materyallerinin tekno-fonksiyonel özelliklerini zenginleştirmek için alternatif/umut verici bir yöntem olarak protein yapıları Maillard reaksiyonuna tabi tutulmaktadır (Naik ve ark., 2021). Maillard konjugasyon işlemi ile yulaf proteinlerinin çözünürlük, emülsiyon ve termal stabilitesi (Zhong ve ark., 2019), kanola proteinlerinin çözünürlüğü (Pirestani ve ark., 2017), buğday tohumu protenlerinin çözünürlük ve emülsiyon stabitesi (Niu ve ark., 2011), fasulye proteinin çözünürlük ve emülsiyon aktivitesi/stabilitesi (Zhou ve ark., 2017), bezelye proteinin çözünürlük ve emülsiyon özellikleri (Zha ve ark., 2019) ve soya proteni emülsiyonlarının donma çözünme stabilitesi (Wang ve ark., 2020) artırılmıştır.

Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı piyasada hâlihazırda var olan ve farklı amaçlar için kullanılan kaynaklardan ziyade, yenilikçi ve daha önce ticarileştirilmemiş alternatif bitkisel materyallerden 'bitkisel proteinlerin' izole edilmesi için çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Bu bağlamda meyve-sebze işleme atıkları olarak fonksiyonel ve biyolojik özellik bakımından kabuk, sap, yaprak ve çekirdek dokuları katma değerli ürünlere dönüştürülme potansiyeline sahiptir. Bu atıklar içerisinde nicel olarak ve besleyici zenginliği açısından en büyük pay meyve çekirdeklerindedir. Meyve çekirdeklerinin günümüzde katma değerli ürünlere dönüştürülme sıklığı düşüktür ve ülkemizin

önemli bir meyve üreticisi olduğu düşünüldüğünde bu potansiyelin değerlendirilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalar bu atıkların protein, karbonhidrat ve yağ açısından zengin olduğunu ortaya koymuştur. Meyve çekirdeklerinin çeşitli işleme basamaklarından sonra katma değerli ürünlere dönüştürülme potansiyeli mevcuttur.

Ülkemizin vişnenin anavatanı olması, sahip olduğu vişne genotipleri ve lider vişne üreticisi ülke konumunda bulunması vişne çekirdekleri konusunda çalışma yapılmasının gerekliliğini orttaya koymaktadır. Tüm bu faktörler göz önüne alındığında VÇ'ler bir atık olmaktan çıkıp önemli bir protein kaynağı haline gelmekte ve protein izolasyonunda kullanımının gerekçesini oluşturmaktadır. Yürütülen tez kapsamında meyve-sebze işleme tesislerinden yüksek miktarlarda çıkan VÇ'ler başlangıç materyali olarak kullanılmış ve gıda işleme basamakları sonucunda inovatif, fonksiyonel, katma değerli bir ürün elde edilmiştir.

2.5.1. Vişne çekirdeği proteinleri

Bitkisel atıklardan proteinlerin geri kazanımının ele alındığı bilimsel çalışmalarda sıklıkla susam kepeği, nar çekirdeği, pirinç kepeği ve yulaf kepeği gibi kaynaklar değerlendirilmekte ve bu kaynaklardan üretilen protein tozlarının endüstriyel kullanımına ilişkin girişimlerde bulunulmaktadır. Bu atıkların başlangıç protein içeriği %10–20 arasında değişiklik göstermektedir (Görgüç ve ark., 2019; Oluwajuyitan ve ark., 2020; Yücetepe ve ark., 2021). Bu kaynaklara kıyasla oldukça yüksek protein içeriğine sahip, aynı zamanda üretiminde lider ülkeler arasında bulunduğumuz endüstriyel bir meyvenin atığı olan ve yapısında değerli gıda bileşenlerini ihtiva eden VÇ'ler ekonomik kıymet taşımaktadır. VÇ'nin yenilebilir kısmının (kernel) fizikokimyasal kompozisyonun araştırıldığı bir çalışmada karbonhidrat, yağ, protein, kül ve nem içeriği sırasıyla %23.00, 39.40, 35.50, 2.20 ve 5.70 bulunmuştur (Kasapoğlu ve ark., 2021). Yağ ayırma işleminden sonra protein oranında önemli derecede bir artışın meydana geldiği tespit edilmiştir (Çelik ve ark., 2019). Dolayısıyla yağsız posadan proteinlerin özütlenmesi şu koşullarda makul görülmektedir; ancak diğer çekirdek materyallerinde olduğu (daha önce bahsedilmişti) gibi VÇ'ler de karmaşık yapıya sahiptir. Protein verimini artırmak,

yüksek saflık ve kalitede protein elde etmek için tek bir özütleme metodunda/koşulunda çalışmayı yürütmek nihai sonuçların güvenilirliğini sınırlayacaktır. Bilimsel literatürde VÇP'nin eldesi üzerine yürütülen çalışmalar bu yaklaşımı desteklemektedir (Kasapoğlu ve ark., 2021; Çelik ve ark., 2019). Farklı pH'ların (pH 1-12) protein verimi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada çözücü pH'sının değişiminin verim üzerine istatistiksel olarak etkisi net bir şekilde ortaya konmuştur. Yürütülen çalışmada asidik (pH 1: %75.30; pH 2: 78.90) ve bazik (pH 9: %67.80; pH 10: %74.10; pH 11: 70.50; pH 12: %76.90) pH'larda protein veriminin yüksek olduğu tespit edilmiştir. VÇP'nin izoelektrik noktasına yakınlığından dolayı pH 4, 5 ve 6'da verim en düşük bulunmuştur (Çelik ve ark., 2019).

Literatürde proteinlerin besleyici özelliği ile içermiş oldukları aminoasit oranları arasında önemli bir kolerasyonun olduğu vurgulanmıştır. VÇP'lerin lisin (%5.28), fenilalanin (%7.05), glutamik asit (%27.96), arjinin (%9.30), aspartik asit (%7.55) ve serin (%4.49) gibi amiositleri yapısında bulundurduğu belirlenmiştir (Bak ve ark., 2011; Yılmaz ve Gökmen, 2013). Lisin ve fenilalanin gibi insan vücudunda önemli fonksiyonları yerine getiren esansiyel amino asitlerin varlığı VÇP'lerin besleyici özelliğine işaret etmektedir. Diğer bitkisel proteinler (pirinç, buğday ve mısır) incelendiğinde düşük oranlarda Lisin içerdikleri tespit edilmiştir (Pimentel ve ark., 1975). Proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerine gelince, Çelik ve ark. (2019) VÇP'lerin fonksiyonel özelliklerinden olan su tutma kapasitesinin (2.42 g su/g protein) bezelye proteini (1.70 g su/g protein), bakla proteini (1.80 g su/g protein) ve soya proteini (1.30 g su/g protein) izolatlarından (Fernández-Quintela ve ark., 1997); yağ bağlama kapasitesinin (1.73 g yağ/g protein) soya proteini (1.10 g yağ/g protein) (Fernández-Quintela ve ark., 1997) ve keten tohumu proteini (1.18 g yağ/g protein) (Martínez-Flores ve ark., 2006) izolatlarından; köpük oluşturma kapasitesinin (%35.00) soya proteini (%22.00) (Fernández-Quintela ve ark., 1997) ve nohut proteini (%30.40) (Fernández-Quintela ve ark., 1997) izolatlarından daha yüksek olduğunu tespit etmişler. Emulsiyon özellikleri ve jelleşme yeteneği açısından da VÇP'lerin farklı birçok bitkisel protein kaynağına göre daha üstün özellik sergilediği not edilmiştir (Çelik ve ark., 2019; Kasapoğlu ve ark., 2021).

Yürütülen çalışmalarda daha çok protein tozu üretim yollarına gidilmiştir. Elde edilen proteinlerin gıda formülasyonlarında veya enkapsülasyon gibi farklı uygulamalarda kullanımı ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışma kapsamında daha önceki çalışmalar referans alınmış ve karmaşık VÇ yapılarından protein özütlemesi için yanıt yüzey metodolojisi ile çözücü pH'sı özütleme süresi ve çözücü-posa oranı dikkate alınarak deneme tasarımı kurulmuş ve protein özütlemesi için optimum koşullar nihai ürünün protein içeriği (saflığı) üzerinden belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen VÇP'ler farklı tekniklerle kurutulmuş ve gıda uygulamalarına geçiş için enkapsülasyon teknolojisinde DM olarak değerlendirilmiştir.

2.6. Enkapsülasyon Teknolojisi

Günümüzde artan insan nüfusuyla beraber gıda materyallerinin korunması ve raf ömrünün artırılması yıllık gıda tüketim miktarının karşılanması açısından önemlidir. Gıdaların korunması ve raf ömrünün artırılması ne kadar önemli ise bu işlemi nasıl gerçekleştireceğimiz de o kadar önemlidir. Dolayısıyla gıdaların doğal yapısına zarar vermeden atık ve/veya fonksiyonel materyaller kullanılarak bu işlemlerin gerçekleştirilmesi bilim dünyasında ve farklı endüstrilerde dikkat çeken bir konu haline gelmiştir. Bu bağlamda enkapsülasyon teknolojisi günümüzde gıdaları korurken atık ve/veya fonksiyonel materyallerin de proseste yer alabilmesini sağlayan bir üretim tekniği olarak ön plana çıkmıştır.

Enkapsülasyon sistemi çekirdek materyali olarak adlandırılan aktif malzemelerin koruyucu bir DM ile kaplandığı mikrometre veya nanometre ölçeğinde partiküllerin/kapsüllerin üretildiği işlem olarak literatürdeki yerini almıştır (Madene ve ark., 2006). Bu sistemlerde kaplanan malzemeler (aktif madde) çekirdek, dolgu veya iç faz olarak adlandırılırken; DM (taşıyıcı malzemeler) zar, kapsül, kabuk, matris veya dış zar olarak bilimsel kayıtlara geçmiştir (Devi ve ark., 2017). Enkapsülasyon sistem ile meyvelerden, sebzelerden veya atık materyallerden özütlenen sağlık üzerine yararlı etkileri saymakla bitmeyen biyoaktif maddeler (polifenoller, antioksidan bileşikler, vitaminler, asitleştiriciler, aromalar, enzimler ve

mikrobiyal hücreler) çevresel streslerin (sıcaklık, ışık, pH vb.) sebep olduğu biyokimyasal ve termal bozunmalara karşı korunarak raf ömürleri uzatılır ve nihayetinde katma değerli bir ürün elde edilmiş olunur (Nikmaram ve ark., 2017). Ürünlerde istenmeyen tat ve aromaları maskelemek için de bu sistemler kullanılmaktadır (Saifullah ve ark., 2019). Enkapsülasyon sistemleri ile ayrıca yüksek hidrofobikliğe ve erime noktasına sahip biyoaktif maddelerin kristalleşmesi ve çökelmesi önlenir. Böylelikle hidrofobik özelliğe sahip materyalin biyoyararlılığı da artırılır ve ürünün farklı gıda ürünlerine işlenmesi esnasında meydana gelen çözünürlük problemi bertaraf edilir (McClements ve ark., 2007; McClements, 2018). Bu sistemler belirtilen avantajlarından dolayı gıda, farmasötik, nütrasötik ve kozmetik endüstrilerinde büyük ilgi görmüş ve üzerine birçok farklı çalışma yürütülmüştür (Gouin, 2004).

Tüm sistemlerde olduğu gibi enkapsülasyon sistemlerinde de çalışma(lar) dizayn edilirken farklı parametreler göz önüne alınmalıdır. Bu yaklaşımdan yola çıkarak arzu edilen nihai ürünü elde etmek için biyoaktif bir materyali kaplamadan önce iki hususa dikkat edilmesi gerektiği literatürde vurgulanmıştır. Bunlardan ilki hangi sistem/ler kullanılarak enkapsülasyon işleminin yapılacağı; ikincisi ise kaplama işleminde hangi DM'nin kullanılacağıdır (Shishir ve ark., 2018). Enkapsülasyon teknikleri olarak emülsifikasyon, püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma, ekstrüzyon, elektrospinning ve koaservasyon karşımıza çıkmaktadır (Aguiar ve ark., 2016; de Souza Simões ve ark., 2017). Bu teknikler kullanılarak yürütülen bazı çalışmalar Çizelge 2.1.'de verilmiştir. Enkapsülayon sistemlerini konu alan çalışmalarda seçilecek çekirdek malzemenin doğasına ve ürünün son kullanımına göre DM'nin değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (duvar materyalleri ile ilgili bu çalışmanın 2.6.2 bölümünde detaylı açıklama yapılmıştır) (Kim ve ark., 2004).

Çizelge 2.1. Farklı enkapsülasyon sistemleri ile yürütülen çalışmalar

Enkapsülasyon tekniği	Çekirdek materyal	Önemli bulgular	Kaynaklar
Emülsifikasyon	Kurkumin ve kateşin	Yüksek enkapsülasyon etkinliği Gastrointestinal sıvıda stabilite artışı	Aditya ve ark. (2015)
	Likopen	Yüksek enkapsülasyon etkinliği Fizikokimyasal stabilite	Ho ve ark. (2017)
Püskürtmeli kurutma	Vitamin B_{12} ve D_3	Düşük salınım Biyoyarlanımda artış (B_{12}: %151; $D_{3:}$ %109)	Bajaj ve ark. (2021)
	Biber çekirdeği yağı	Termal ve oksidasyon stabilitesi Biyolojik aktivitede artış	Karaaslan ve ark. (2021)
Dondurarak kurutma	Kurkumin	Yüksek enkapsülasyon etkinliği Termal ve asitlik stabilitesi	Guo ve ark. (2020)
	Balık yağı	Oksidasyon stabilitesi	Heinzelmann ve ark. (2020)
Ekstrüzyon	*Lactobacillus rhamnosus*	Yüksek enkapsülasyon etkinliği Sindirimden sonra düşük hücre salınımı	Lai ve ark. (2021)
	Hibiscus cannabinus L çekirdek yağı	Oksidasyon stabilitesi	Chew ve Nyam (2016)
Elektrospinning	Balık yağı	Yüksek enkapsülasyon etkinliği Oksidasyon stabilitesi	Moomand ve Lim (2014)
	B-karoten	Çevresel streslere karşı stabilitede artış	Fernandez ve ark. (2009)
Koaservasyon	Nane uçucu yağı	Mükemmel depolama stabilitesi	Dong ve ark. (2011)
	Siyah ahududu antosiyaninleri	Termal ve depolama stabilitesi	Shaddel ve ark. (2018)

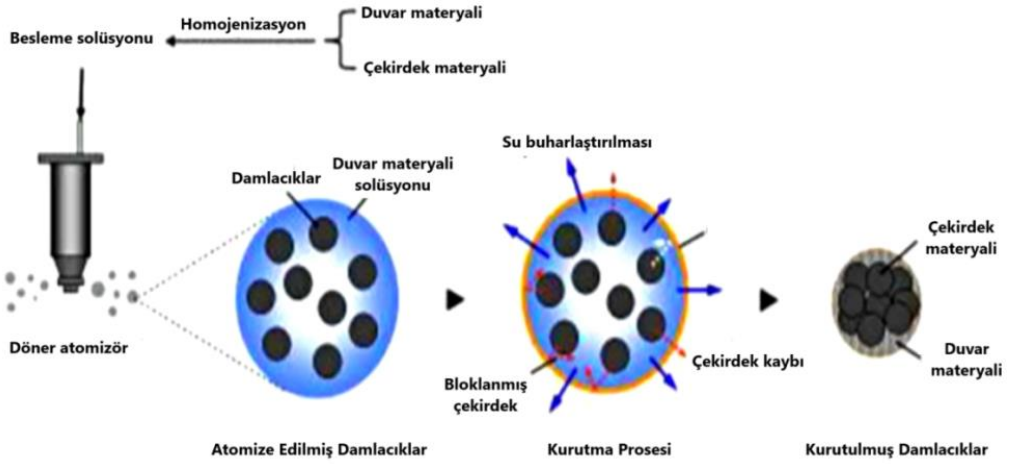
Yapılan çalışmalarda farklı enkapsülasyon sistemleri kullanılarak biyoaktif özelliği yüksek olan materyallerin çevresel streslere karşı stabiliteleri ve biyoyaranımları arzu edilen seviyelerde artırılmıştır; ancak günümüzde diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında sağlamış olduğu avantajlardan dolayı PK tekniği gerek bilimsel literatürde gerekse endüstride en yaygın teknik olarak kendisini göstermektedir (püskürtmeli kurutma ile ilgili bu çalışmanın 2.6.1 bölümünde detaylı açıklama yapılmıştır) (Madene ve ark., 2006). Bu çalışma kapsamında da VÇP'lerinin enkapsülasyon sistemlerinde DM olarak kullanım potansiyeli PK tekniği özelinde araştırılmıştır.

2.6.1. Püskürtmeli kurutma sistemi

PK sistemleri 1940'lardan beri gıda ve ilaç sektörü başta olmak üzere farklı alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Shishir ve Chen, 2017). Bu sistemler DM çözeltisi içerisinde dağılmış çekirdek malzemesinin doğrudan toza dönüştürüldüğü tek adımlı bir işlem akışına sahiptir (Şekil 2.1.) (Chiou ve Langrish, 2007). Besleme solüsyonunun atomizasyonu, solüsyon damlacıklarının kurutulması ve toz geri kazanımı şeklinde sistem ilerlemektedir (Phisut, 2012). Diğer teknolojilerle kıyaslandığında PK sistemlerinin birçok avantajı olduğu söylenebilir. Bunlar:

- Kısa işlem süresi,
- Daha ekonomik,
- Elde edilen son ürünlerin sahip oldukları fizikokimyasal özellik açısından homojen,
- Kontrol edilebilir bir sistem,
- Faklı uygulamalarda rahatlıkla kullanılabilir,
- Faklı emülsiyon türlerinde herhangi bir sorun olmadan doğrudan kullanılabilir

olması şeklinde sıralanabilir (Santivarangkna ve ark., 2007; Van Eerdenbrugh ve Taylor, 2011; Yousefi ve ark., 2011). Belirtilen avantajlardan dolayı enkapsülasyon çalışmalarının %80-90'ı bu sistem üzerinden yürütülmektedir (Gharsallaoui ve ark., 2007).



Şekil 2.1. Püskürtmeli kurutma sistemlerinde toz üretim adımları (Jafari ve Rashidinejad, 2021)

PK sistemlerinde tüm uygulamalarda olduğu gibi sınırlamalar mevcuttur. Kullanılan solvente bağlı olarak kurutma veya enkapsülasyon işlemi yüksek sıcaklıklarda (150-220 °C) gerçekleşmektedir. Elde edilen ürün bu sıcaklığa çok kısa bir süre (1-5 sn) maruz kalmaktadır. Bu durum sıcaklığın ürün üzerine büyük bir etkisinin olmayacağı yaklaşımını doğurmaktadır; ancak ürünün yapısında meydana gelen değişimler üzerine hava giriş sıcaklığının etkisinin vurgulandığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Sadece hava giriş sıcaklığı değil aynı zamanda üretim esnasında (süreç tamamlanana kadar geçen süre zarfı) ürünlerin doğrudan maruz kaldığı çıkış sıcaklığı (50-80 °C) ve süresi de nihai üründe bozunmalara sebebiyet vermektedir (Phisut, 2012). Belirtilen süre zarfının uzaması ile birlikte özellikle çekirdek materyallerde (likopen, B-karoten, antosiyaninler, vitaminler, renk ve aroma madderi vb.) degradasyonların meydana gelebileceği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Kong ve Ismail, 2011; Patil ve ark., 2014; Bao ve ark., 2016). Fenolik maddelerin enkapsüle edildiği bir çalışmada hava giriş sıcaklığının artışı ile toplam fenolik madde miktarında azalmalar tespit edilmiştir (Samborska ve ark., 2019). Biyoaktif maddelerin birçoğunun sıcaklığa karşı duyarlı olduğu göz önüne alındığında ilgili materyallerin degradasyonunu/kaybını önlemek için PK hava giriş ve çıkış sıcaklıklarının kontrol edilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır (Ray ve ark., 2016). PK sistemlerinde sıcaklık kontrolü son ürünün fizikokimyasal özellikleri açısından da önemlidir. Son üründeki nem miktarı ve ürünün toz özellikleri arzu edilebilir çalışma sisteminin dizayn edilip edilmediği hakkında bilgi veren

parametrelerdir. Ürünlerin kurutulması veya enkapsüle edilmesi sırasında PK hava giriş sıcaklığının düşük olduğu durumlarda nem içeriği yüksek son ürünler edilir. Düşük giriş sıcaklığı proses verimini de önemli seviyelerde düşürmektedir (Tuyen ve ark., 2014). Bir başka parametre ise son ürünün toz özellikleri üzerine doğrudan etki eden ürün besleme hızıdır. Besleme hızı ile son ürünün arzu edilen toz özellikleri arasında genelde ters orantı vardır. Yüksek besleme hızı son üründe nem oranının artışına nihayetinde gıda endüstrisi için önemli bir parametre olan çözünürlüğün düşmesine neden olmaktadır (Muzaffar ve Kumar, 2015). Bu ve bunlar gibi farklı sınırlamalar PK sistemleri için literatürde not edilmiştir (Shishir ve Chen, 2017). Dolayısıyla bu sistemler kullanılarak yapılacak kurutma veya enkapsülasyon işlemi için hazırlanan ilgili emülsiyona bağlı olarak sistem optimize/modifiye edilmelidir. PK sistemi kullanılarak enkapsülasyon parametrelerinin optimize edildiği çalışmalar Çizelge 2.2.'de verilmiştir. Sonuçlar cihaz çalışma şartlarında meydana gelen değişikliklerin son ürünün fizikokimyasal başta olmak üzere farklı özellikleri üzerinde net bir şekilde etki ettiğini göstermiştir. Bu yaklaşımdan yola çıkarak planlanan bu çalışmada enkapsülasyon işlemi için hava giriş sıcaklığı dikkate alınarak uygun kurutma sıcaklığı belirlenmiştir.

Çizelge 2.2. Püskürtmeli kurutma sistem şartlarının optimize edildiği çalışmalar

Çekirdek materyali	Bağımlı değişkenler	Optimum işlem koşulu	Kaynak
Brucea javanica yağı	Son ürünün nem içeriği Proses verimi	Giriş sıcaklığı (151.30 °C) Besleme akış hızı (1.32 mL/dk) Kurutma hava akış hızı (80 L/dk)	Hu ve ark. (2016)
Balık yağı	Enkapsülasyon etkinliği Ekserji verimi	Giriş sıcaklığı (177.23 °C) Aspiratör hızı (%63.93) Peristaltik pompa (%14.04)	Aghbashlo ve ark. (2012)
Gac yağı	Enkapsülasyon etkinliği	Giriş sıcaklığı (154 °C) Çıkış sıcaklığı (80 °C)	Tuyen ve ark. (2014)
Kekik uçucu yağı	Proses verimi Son ürünün nem içeriği Yağ tutma kapasitesi	Giriş sıcaklığı (185 °C) Besleme akış hızı (0.63 L/dk)	Alvarenga Botrel ve ark. (2012)

2.6.2. Enkapsülasyon sistemlerinde kullanılan duvar materyalleri

Enkapsülasyon sistemlerinde cihaz şartları kadar aktif maddenin dış ortamla olan temasını minimize eden kapsülleyici ajanın hangi kaynakdan elde edildiği ve hazırlanan emülsiyonlardaki oranı da arzu edilen işlemin gerçekleşmesi adına üzerinde durulması gereken konulardandır (Mahdavi ve ark., 2016a). Daha önce de bahsedildiği üzere enkapsülasyon sistemlerinde DM olarak kullanılabilicek çok fazla bileşen mevcuttur; ancak DM seçilirken iyi bir emulsifiyer olmasına, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite göstermesine, düşük maliyetli ve iyi bir çözünürlüğe sahip olmasına dikkat edilmelidir (De Araujo Santiago ve ark., 2016). Ayrıca bu materyallerin gastrointestinal sistemde biyoaktif materyalleri hedef bölgelere istenilen seviyelerde ulaştırılabilir olması biyoyararlılığı düşük olan bu yapılar açısından önemlidir (Çam ve ark., 2020). Bu kategoride yer alan ve üzerlerine farklı çalışmalar yürütülen DM'ler Çizelge 2.3.'de verilmiştir (Adal, 2019); ancak DM'lerin hiçbiri tek başına optimum fayda sağlamadığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Bu sebepten dolayı değişik grup DM'lerin kombinasyonunun tercih edilmesi uygun görülmektedir. Biyoaktif maddelerin farklı DM'ler kullanılarak enkapsülasyonunu konu alan fazla sayıda çalışma mevcuttur (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.3. Enkapsülasyon sistemlerinden kullanılan duvar materyalleri (Adal, 2019)

Kaplama materyalinin yer aldığı grup	Kaplama materyali
Proteinler	Albümin, kazeinat, jelatin, glüten, peptitler, soya proteini, peynir altı suyu proteinleri, zein, diğer bitkisel proteinler
Karbonhidratlar	Fruktoz, galaktoz, glikoz, maltoz, sakaroz, oligosakkarit, mısır şurubu katıları, kurutulmuş glikoz şurubu, maltodekstrin, dekstrinler, nişastalar, modifiye nişastalar, agar, aljinat, karagenan, akasya zamkı, arap zamkı, pektinler, asetilselüloz, karboksimetil selüloz, selüloz asetat butilat ftalat, selüloz asetat ftalat, etil selüloz, metil selüloz, nitroselüloz, kitosan, siklodekstrinler
Yağlar	Asetogliseritler, balmumu, digliseritler, doğal yağlar ve yağlar, parçalanmış yağlar, sertleştirilmiş yağlar, lesitin, lipozomlar, monogliseritler, parafin, tristearik asit, mumlar

Çizelge 2.4. Farklı duvar materyalleri kombinasyonlarının kullanıldığı çalışmalar

Duvar materyalleri	Çekirdek materyali	Kaplama işlemi için uygun kaplama materyali	Kaynak
Gam Arabik Maltodekstrin	Biber çekirdeği yağı	Gam arabik/Maltodektrin, 1:5 (w/w)	Karaaslan ve ark. (2021)
Gam Arabik Hi-Cap® 100 Maltodekstrin	Vitamin B_{12} ve D_3	Gam Arabik/ Hi-Cap® 100/ Maltodekstrin, 38:60:2 (%)	Bajaj ve ark. (2021)
Maltodekstrin Gam Arabik Peyniraltı suyu proteini Hi-Cap 100™ Kapsul TA®	Keten tohum yağı	Maltodekstin/ Hi-Cap 100™ ve Maltodekstin/ Kapsul TA®	Carneiro ve ark. (2013)
Yağsız süt tozu Tween 80 Maltodekstrin	Ceviz yağı	Yağsız süt tozu/Tween 80	Shamaei ve ark. (2017)
Gam Arabik Maltodekstrin	Nane uçucu yağı	Gam arabik/Maltodektrin, 38:62 (%) ve Gam arabik (%)	Başyiğit ve Çam (2017)
Maltodekstrin İnulin	Japon ayvası meyvesi	Maltodektrin/İnulin, 1:2 veya 2:1 (w/w)	Turkiewicz ve ark. (2020)

Literatür çalışmaları incelendiğinde karbonhidrat kökenli DM'lerin enkapsülasyonda yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmektedir. Bu karbonhidratlar arasında biyoaktif maddelerin enkapsülasyonunda DM olarak gam Arabik ve maltodekstrin ön plana çıkmaktadır. Elde edilen sonuçlar bu polisakkaritler kullanılarak efektif sonuçlar alınabileceğini göstermiştir. Enkapsülasyon sistemleri ile elde edilen nihai toz ürünlerin en az %50'sini DM'ler oluşturmaktadır. Bu veriden yola çıkarak bu sistemlerle üretilen toz ürünlerin karbonhidrat orijinli gıda materyallerini diyetlerinden çıkarmaya çalışan özellikle gelişmiş toplumlardaki tüketici gruplarına hitap etmeyeceği aşikârdır.

Çekirdek materyallere bakıldığında hemen hemen hepsinin fonksiyonel özellik bakımından öne çıktığı görülmektedir. Birçoğunun antioksidatif, antikanser, antidiyabet, antimikrobiyal aktivite de dâhil olmak üzere çeşitli biyolojik özellikleri literatürde vurgulanmıştır (Wu ve ark., 2021; Sathiyaseelan ve ark., 2021; Alzandi ve ark., 2021). Karbonhidrat kökenli DM kullanılarak enkapsülasyon sistemleri ile fonksiyonel grupların stabiliteleri başta olmak üzere farklı toz özellikleri

geliştirilmiştir. Polisakkarrit grubunun bulunduğu sistemlerde arzu edilen sonuçlar alınmasına rağmen bu özel yapıların kendileri gibi fonksiyonel özellikler sergileyebilen duvar materyalleri ile kaplanıp ürün özelliklerinin (toz özellikleri, fonksiyonellik, stabilite vb.) geliştirilmesi daha makul bir yaklaşım olarak görülmektedir.

Tüm bu belirtilen durumlardan dolayı gerek literatürde gerekse gıda sanayinde alternatif DM kaynaklarına yönelim artmıştır. Bu bağlamda insan beslenmesine dâhil etmeye çalıştığımız protein kaynakları ön plana çıkmaktadır. Son yıllarda da bu kaynakların enkapsülasyon sistemlerine dâhil edildiği çalışmalar mevcuttur; ancak yapılan çalışmaların birçoğunu hayvan kaynaklı proteinler oluşturmaktadır. Daha önce de detaylı bir şekilde anlatılan nedenlerden dolayı hayvansal proteinlerin de alternatifleri aranmaktadır. Bu bağlamda enkapsülasyon sistemlerine son yıllarda bitkisel proteinlerin dâhil edilmesi üzerine çabalar artmıştır. Yürütülün bu tez çalışmasında küresel anlamda günümüz problemlerine çözüm bulmak için alternatif bir protein kaynağı olarak VÇ'ler değerlendirilmiş ve elde edilen proteinler enkapsülasyon sistemlerinde DM olarak kullanılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

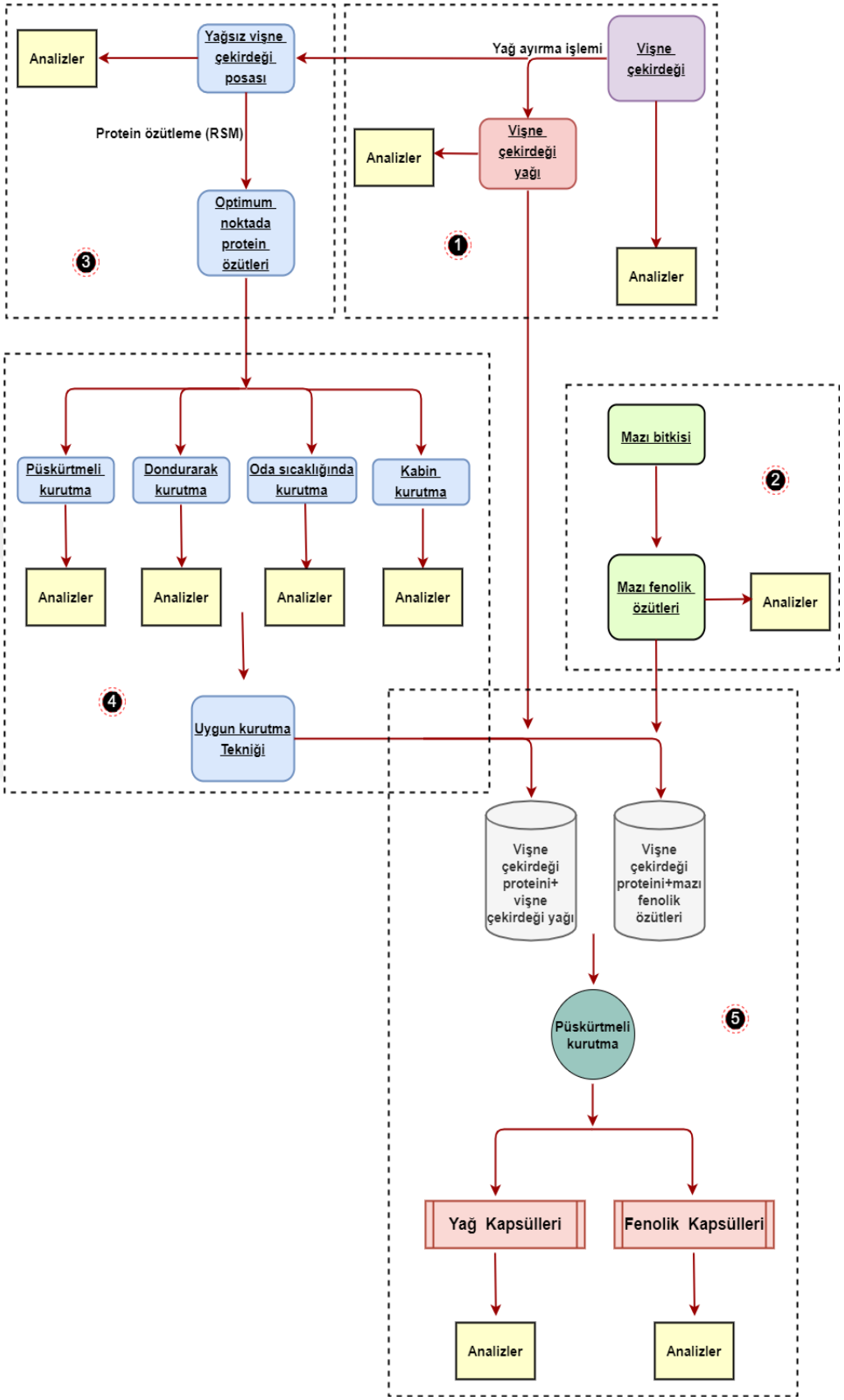
3.1. Materyal

Vişne çekirdeği yağı (VÇY) ve vişne çekirdeği proteini (VÇP) için hammadde olarak değerlendirilen vişne çekirdeği (VÇ: kernel) Isparta'da faaliyet gösteren yerel işletmelerden temin edilmiştir. Mazı galleri Gaziantep'ten yerel üreticilerden tedarik edilmiştir. Çalışma boyunca kullanılan kimyasallar aksi bir durum belirtilmedikçe Sigma (St. Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından temin edilmiştir. Kimyasalların analitik saflıkta olmasına dikkat edilmiştir.

3.2. Yöntem

Bu tez çalışması temel olarak 5 aşamadan oluşmaktadır. Her bir aşama Şekil 3.1.'de verilmiştir. Çalışmanın **ilk aşamasında**, Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm laboratuvarlarına getirilen VÇ'lerin nem, kül, yağ, protein ve karbonhidrat miktarı analiz edilmiştir. Daha sonra enkapsülasyon sisteminde çekirdek materyali olarak kullanılan ve protein özütlemesi için olumsuz etkileri olan VÇY soğuk sıkım tekniği ile çekirdeklerden özütlenmiştir. Soğuk sıkım tekniği ile elde edilen yağların ayrıntılı özellikleri peroksit değeri, iyot sayısı, sabunlaşma, kırılma indisi, pH, renk, serbest yağ asidi, toplam asitlik, toplam fenolik, toplam flavanoid, yağ asidi fraksiyonları, karotenoid fraksiyonları, fenolik fraksiyonları, antioksidan kapasite, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivite analizleri ile belirlenmiştir. Bu aşamada hammadde olarak kullanılan VÇ'lere, VÇY'ye ve yağ eldesinden geriye kalan posaya ait görüntüler Şekil 3.2.'de verilmiştir. **İkinci aşamada** ise diğer çekirdek materyali olan MGF'lerinin özütlemesi gerçekleştirilmiştir. Özütleme işleminde daha önce yürütülen bir çalışma referans alınmıştır (Arina ve Harisun, 2019). Elde edilen özütlerin fonksiyonel özellikleri detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Proteinlerin özütlenmesini kapsayan **üçüncü aşamada**, yağ eldesinden geriye kalan posadan VÇP'ler özütlenmiştir. Bu aşamada, özütleme koşulları (çözücü pH'sı, özütleme süresi ve çözücü-örnek oranı) yanıt

yüzey yöntemi (RSM) ile incelenmiş ve yüksek saflıkta protein özütlerinin elde edilmesi hedeflenmiştir. **Dördüncü aşamada**, optimum koşullarda elde edilen protein özütleri püskürtmeli kurutma (PK), dondurarak kurutma (DK), oda şartlarında kurutma (OŞK) ve kabin kurutma (KK) teknikleri ile kurutulmuştur. Toz ürünlerin protein miktarı, amino asit kompozisyonu ve emülsiyon özellikleri değerleri analiz edilerek enkapsülasyon sistemine en uygun kurutma tekniği belirlenmiştir. **Son aşamada**, VÇY ve MGF'ler VÇP'ler ile PK yöntemi kullanılarak kapsüllenmiştir. Her iki örneğin de toz özellikleri detaylı bir şekilde incelenmiştir; ancak literatür verileri dikkate alındığında genel olarak kapsüllenen örnekler çekirdek materyaline göre iki farklı yaklaşımla analiz edilmiştir. Bu yaklaşımlardan yola çıkarak VÇY içeren tozlarda daha çok mekanik/spektroskopik analizler (çalışmanın 3.3. kısmında yürütülen analizler ile ilgili detaylı bilgi verilmiştir); MGF tozlarında ise biyoaktif özellikler (çalışmanın 3.3. kısmında yürütülen analizler ile ilgili detaylı bilgi verilmiştir) ön planda tutulmuştur.



Şekil 3.1. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması



Şekil 2.2. Çalışma kapsamında kullanılan vişne çekirdeği, vişne çekirdeği yağı ve yağsız posa

3.2.1. Özütlerin eldesi

3.2.1.1. Vişne çekirdeği yağının özütlenmesi

VÇY'nin özütlenmesinde laboratuvar ölçekli soğuk pres (12 kg tohum/s, tek kafa, 750 W güç) cihazı kullanılmıştır. Cihazın çıkış ucu çapı (12 mm), dönüş hızı (12 rpm) ve maksimum çıkış sıcaklığı (100 °C) sabit tutulmuştur. Özütleme işleminden sonra yağlarda istenmeyen yapıların uzaklaştırılması için özütler kaba filtre kağıtlarından geçirilmiş ve daha sonra 10 °C'de 5000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar amber renkli şişelere transfer edilmiş ve analizlere kadar -20 °C'de depolanmıştır. Analizler özütleme işleminden sonra maksimum 5 gün içerisinde tamamlanmıştır. Örnek ihtiyacı oluştuğu durumlarda tekrar özütleme işlemi yapılmıştır.

3.2.1.2. Mazı gallerinde fenolik bileşiklerin özütlenmesi

MGF maddelerinin özütlenmesi ile ilgili daha önce literatürde geliştirilen bir metot üzerinde küçük değişiklikler yapılarak çalışmanın bu adımı yürütülmüştür (Arina ve Harisun, 2019). Mazı bitkisi manuel olarak kırıldıktan sonra iç kısmı alınmış ve daha sonra öğütülmüştür. Öğütülen örnekler 1:10 (w/v) oranında daha

önce 75 °C'ye getirilmiş saf su ile 250 mL'lik cam şişelerde karıştırılmıştır. Daha sonra şişeler, sıcaklığı 75 °C olan su banyolarına yerleştirilmiş ve 2 s boyunca özütleme işlemine devam edilmiştir. Süre sonunda örnekler santrifüjlenmiş (5000 rpm'de 10 dk) (Nüve NF 1200R, Ankara, Türkiye) ve elde edilen süpernatant kaba filtre kâğıtlarından süzülmüştür. Nihai süzüntüler analiz işlemlerine kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.1.3. Vişne çekirdeği proteinlerinin özütlenmesi

Yağı alınmış VÇ'lerden proteinlerin özütleme işlemi sistematik yaklaşımla yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimize edilmiştir. Elde edilen proteinlerin saflığı üzerine çözücü pH'sının, özütleme süresinin ve çözücü-örnek oranının etkileri araştırılmıştır. Merkezi tümleşik tasarım (CCD) kullanılarak oluşturulan 17 deneme için bağımsız değişkenlere ait alt ve üst limitler Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Elde edilen veriler, ikinci dereceden bir polinom modeli ve regrasyon katsayıları elde etmek için çoklu regrasyon sistemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışma için seçilen yanıtı tahmin etmek için aşağıda verilen ikinci dereceden polinom model kullanılmıştır.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=0}^{n} \beta_i X_i + \sum_{i=0}^{n} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.1)$$

y = çalışma için seçilen yanıt (protein saflığı)

β_0 = kesişim kaysayısı

β_i = doğrusal denklem katsayısı

β_{ii} = ikinci dereceden denklem kaysayısı

β_{ij} = çapra etkileşim katsayısı

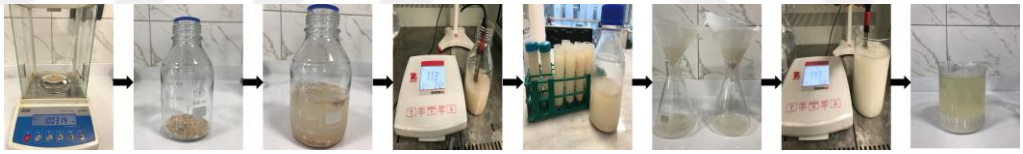
X_iX_j = bağımsız değişkenler arasındaki etkileşim

n = faktör sayısı

Çizelge 3.1. Protein özütleme işlemi için bağımsız değişkenlere ait seviyeler

Bağımsız değişkenler	**Birim**	**-1**	**0**	**+1**
pH	-	6	8	10
Süre	dk	20	100	180
Çözücü/örnek	mL/g	10	30	50

Protein eldesi işlemine başlamadan önce posada kalan yağların belirli bir kısmı (kalan yağ miktarı ~%10) solvent özütleme yöntemi ile hekzan kullanılarak alınmıştır. Her bir deneme noktası için tartılan örnek miktarı 10 g olarak sabit tutulmuştur. Daha sonra dizaynda belirtilen oranlara (10-50 mL/g) göre yağsız posaları içeren cam şişelere saf su ilave edilmiştir. Elde edilen karışımların pH'sını (6.0-8.0) arzu edilen seviyelerde ayarlamak için 1 N sodyum hidroksit veya hidroklorik asit kullanılmıştır. Protein özütleme işlemi 250 rmp'de oda sıcaklığında planlanan süre zarfları (20-180 dk) içerisinde bir karıştırıcıda gerçekleştirilmiştir. Deneme noktaları için belirlenen sürelerin sonunda karışımlar 5000 rpm'de 10 dk santrifüjleme prosesine tabi tutulmuştur. Elde edilen süpernatantların pH'sı (OHAUS Starter 3100 pH Metre, New Jersey, ABD) 1 N hidroklorik asit ile izoelektrik çöktürme işlemi için 4.50'ye getirilmiştir. Çöktürülen VÇP'ler 5000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiş ve supernatant uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.3.). Elde edilen protein örnekleri KK sistemi ile 50 °C'de kurutulmuş ve saflık dereceleri elementel analiz cihazı kullanılarak ölçülmüştür (cihazın manuelinden yararlanılarak analiz işlemleri yürütülmüştür).



Şekil 3.3. Protein özütleme adımları

3.2.1.3.1. Proteinlerin kurutulması

Optimum koşullarda elde edilen protein özütleri PK, DK, OŞK ve KK kurutma teknikleri ile kurutulmuş ve toz forma getirilmiştir. Son ürünlerdeki nem miktarının %5 veya altına düşürülmesi başarılı bir kurutma olarak kabul edilmiştir. Diğer 3 metottan farklı olarak PK öncesi protein örnekleri saf su içerisinde çözündürülmüş ve sisteme solüsyon haliyle beslenmiştir. PK ile ilgili diğer üzerinde durulması gereken bir nokta ise kurutma sıcaklığıdır (Başyiğit ve ark., 2021b). Proteinlerin hassas bir yapıya sahip olduğu göz önüne alınarak cihaz giriş sıcaklığının kurutma sırasında olabildiğince düşük tutulması hedeflenmiştir. Bunun için proteinler farklı giriş

sıcaklıklarında (110, 120, 130 ve 140 °C) kurutulmuştur. Diğer parametreler olan hava akış hızı (600 L/s) ve besleme hızı (8 mL/dk) sabit tutulmuş ve solüsyonlar PK (Lab-PlantSD-04, Huddersfield, İngiltere) sistemine beslenmiştir. Burada solüsyonların siklona yapışmadığı ilk sıcaklık kurutma sıcaklığı olarak belirlenmiştir. DK işleminde protein örnekleri kurutulmadan önce buzdolabının dondurucu bölümüne (-18 °C) yerleştirilmiş ve ilgili kısımda 24 s tutulmuştur. Süre sonunda dondurulmuş örnekler DK cihazına (Armfield SB4, Ringwood, İngiltere) yerleştirilmiş ve 24 s boyunca kurutulmaya bırakılmıştır. OŞK'de (maksimum 48 s) ve KK'larda (50 °C 24 h) (POL-EKO SLN 53, Wodzisław Śląski, Polonya) ise nem miktarı baz alınarak kurutma işlemi sonlandırılmıştır.

3.2.2. Kapsüllerin üretimi

3.2.2.1. Vişne çekirdeği yağı için püskürtmeli kurutma besleme çözeltisi

Son üründeki çekirdek materyalinin oranını yüksek tutmak için VÇY ve VÇP kütlece 1:1 oranında 100 mL saf su içerisinde oda sıcaklığında 10 dk süre ile ultraturraks (IKA-T18 Basic, Japonya) kullanılarak 24000 rpm'de homojenize edilmiştir. Homojenize edilen çözeltiler PK sistemine beslenmiştir.

3.2.2.2. Mazı gal fenolikleri için püskürtmeli kurutma besleme çözeltisi

VÇY çözeltilerindeki benzer yaklaşımla çekirdek materyalinin son üründeki oranı yüksek tutulmuştur. Yüz mL özüt içerisine (pH 7) suda çözünür kuru madde miktarı ile eşit kütlede VÇP (suda çözünür kuru madde:VÇP 1:1 w/w) ilave edilmiştir. Elde edilen solüsyon 10 dk süre ile ultraturraks kullanılarak 24000 rpm'de homojenize edilmiş ve PK sistemine beslenmiştir.

3.2.2.3. Püskürtmeli kurutma şartları

Hazırlanan çözeltiler protein kurutma işleminde olduğu gibi mümkün olduğunca düşük hava giriş sıcaklığında toz forma dönüştürülmesi hedeflenmiştir.

Bu yüzden farklı hava giriş sıcaklıklarında (140, 150 ve 160 °C) kapsüller elde edilmiştir. Hava akış hızı (600 L/s) ve besleme hızı (8 mL/dk) ise işlem süresince sabit tutulmuştur. Burada solüsyonların siklona yapışmadığı ilk sıcaklık kurutma sıcaklığı olarak belirlenmiştir. Elde edilen kapsüller hermetik olarak kapatılabilen PVC plastik kaplarda buzdolabı koşullarında (+4 °C) saklanmıştır. Üretim yapıldıktan 5 gün içerisinde analizler yürütülmüştür. Örnek ihtiyacı oluştuğu durumlarda tekrar kapsüller üretilmiştir.

3.3. Analizler

VÇ, VÇY, MGF, VÇP, proteinlerle kaplanmış yağ kapsülleri (YK) ve fenolik kapsülleri (FK) ile ilgili yürütülmüş analizler Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Benzer analizlerin yapıldığı materyaller için gerekli durumlarda spesifik açıklamalar yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında kullanılan her bir materyale özgü yürütülen analizler

Materyaller	Analizler
Vişne çekirdeği	• Toplam nem miktarı • Toplam mineral madde miktarı • Toplam yağ miktarı • Toplam protein miktarı
Vişne çekirdeği yağı	• Peroksit sayısı • İyot sayısı • Sabunlaşma sayısı • Serbest yağ asidi • Asit değeri • Kırılma indisi • pH • Renk • Toplam fenolik madde miktarı • Yağ asidi fraksiyonları • Karotenoid fraksiyonları • Fenolik madde fraksiyonları • Antioksidan kapasite • Antidiyabetik aktivite • Antimikrobiyal aktivite
Mazı gal özütleri	• Toplam fenolik madde miktarı • Toplam flavanoid madde miktarı • Toplam hidrolize tannin miktarı • Fenolik madde fraksiyonları • Antioksidan kapasite • Antidiyabetik aktivite • Antimikrobiyal aktivite

Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında kullanılan her bir materyale özgü yürütülen analizler (devam ediyor)

Materyaller	Analizler
Vişne çekirdeği proteinleri	• Toplam protein miktarı • Aminoasit kompozisyonu • Çözünürlük • Emulsiyon aktivite indeksi • Emulsiyon stabilite indeksi • Optik mikroskobu görüntüleri
Yağ kapsülleri	• Fourier dönüşümlü kızılötesi • Enkapsülasyon verimi • Enkapsülasyon etkinliği • Toplam nem miktarı • Su aktivitesi • Renk • Islanabilirlik • Yığın yoğunluğu • Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu • Hausner oranı • Carr indeks • Mikroyapı analizi • Partikül büyüklüğü • Termal analizler • Depolamada oksidasyon derecesesinde meydana gelen değişim
Fenolik kapsülleri	• Enkapsülasyon verimi • Enkapsülasyon etkinliği • Toplam nem miktarı • Su aktivitesi • Renk • Islanabilirlik • Yığın yoğunluğu • Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu • Hausner oranı • Carr indeks • Toplam fenolik madde miktarı • Toplam flavanoid madde miktarı • Toplam hidrolize tannin miktarı • Fenolik madde fraksiyonları • Antioksidan kapasite • Antidiyabetik aktivite • Antimikrobiyal aktivite • Hücre kültürü • Depolama fenolik madde değişimi

3.3.1. Toplam nem miktarı

Örneklerde bulunan toplam nem miktarını ölçmek için öncelikle kurutma kapları 105 °C'de KK'ler kullanılarak sabit tartıma getirilmiştir. KK'lerde 2 s bekletilen kaplar desikatöre alınmış ve soğutulmuştur. Soğutulan petri kaplarına 1 g

örnek tartılmış ve 105 °C sıcaklığa sahip KK'lere yerleştirilmiştir. Belirli bir süre (24 s) sonunda örnekleri içeren petri kapları desikatörde soğumaya bırakılmış ve toplam nem miktarı (%) aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanmıştır (AOAC, 1998).

$$Toplam\ nem\ miktarı\ (\%) = \frac{(x-y)}{m} * 100 \quad (3.2)$$

x = tartılan örneğin kütlece ağırlığı (g) + tartım kabı ağırlığı (g)

y = suyu uzaklaştırılmış örnek +tartım kabı ağırlığı (g)

m = tartılan örneğin kütlece ağırlığı (g)

3.3.2. Toplam mineral madde miktarı

Örneklerde bulunan toplam mineral madde miktarını ölçmek için öncelikle porselen krozeler 105 °C'de KK'ler kullanılarak sabit tartıma getirilmiştir. KK'lerde 2 s bekletilen krozeler desikatöre alınmış ve soğutulmuştur. Soğutulan krozelere 2 g örnek tartılmış ve 550 °C sıcaklığa sahip kül fırınına yerleştirilmiştir. Bir gün (24 s) sonunda örnekleri içeren krozeler desikatörde soğumaya bırakılmış ve toplam mineral madde miktarı (%) aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanmıştır (AOAC, 1998).

$$Toplam\ mineral\ madde\ miktarı\ (\%) = \frac{(x-y)}{m} * 100 \quad (3.3)$$

x = son tartım (kütlece kalan örnek miktarı + kroze ağırlığı (g)

y = kroze ağırlığı (g)

m = tartılan örneğin kütlece ağırlığı (g)

3.3.3. Toplam yağ miktarı

On g örnek içeren kartuşlar ve daha önceden daraları alınmış yaklaşık 200 mL hekzan içeren cam balonlar Soxhelet cihazının ilgili bölümüne yerleştirilmiştir. Sekiz s'lik özütleme işleminden sonra balonlar hekzan uçurma işlemi için rotary evaparatöre bağlanmıştır. Az miktarda kalan solventin uçurulması için cam balonlar sabit tartıma gelene kadar 103 °C'deki KK'lerde bekletilmiştir. Örneklerin sahip olduğu yağ miktarı (%) aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (AOAC, 1998).

$$Toplam\ yağ\ miktarı\ (\%) = \frac{(x-y)}{m} * 100 \quad (3.4)$$

x = son tartım (kütlece kalan yağ + cam balonun ağırlığı (g)

y = cam balon ağırlığı (g)

m = tartılan örneğin kütlece ağırlığı (g)

3.3.4. Toplam protein miktarı

Örneklerin protein içeriği elementel analiz cihazı (FlashSmart Elemental, ThermoFisher Scientifc, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Analiz için 2-3 mg örnek tartılmış ve cihazın ilgili bölümüne yerleştirilmiştir. Cihazın manuelinden yararlanılarak analiz şartları Çizelge 3.3.'de belirtildiği gibi oluşturulmuştur. Protein içeriği 6.25 azot dönüşüm faktörü kullanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3. Elementel analiz cihazı çalışma şartları

Parametreler	Cihaz şartları
CHNS reaktör sıcaklığı	950 °C
GC fırın sıcaklığı	65 °C
Helyum taşıyıcı akışı	140 mL/dk
Helyum referans akışı	100 mL/dk
Oksijen akışı	250 mL/dk
Oksijen enjeksiyon süresi	5 sn
Örnek gecikmesi	12 sn
Toplam çalışma süresi	600 sn'den az

3.3.5. Peroksit sayısı

VÇY örneklerinde peroksit sayısı analizi için 2 g örnek tartılmıştır. Tartılan örnek 15 mL asetik asit ve 10 mL kloroform ile erlende karıştırılmıştır. Erlen içerisine 1 mL doymuş potasyum iyodür ilave edilmiş ve erlenin ağız kısmı kapatılarak 5 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. Süre sonunda sırasıyla 75 mL saf su ve sıcak suda hazırlanmış %1'lik 1 mL nişasta çözeltisi eklenmiştir. Nihai karışımın titrasyon işleminde 0.01 N sodyum tiyosülfat solüsyonu kullanılmış ve peroksit değeri aşağıda verilen formül aracılığıyla hesaplanmıştır (AOAC, 1984).

$$Peroksit\ sayısı\ (mEq\ O_2/kg) = \frac{(x-y)*N*1000}{m} \quad (3.5)$$

x = yağ örnekleri için harcanan tiyosülfat hacmi (mL)

y = yağ örneği içermeyen karışımlar için harcanan tiyosülfat hacmi (mL)

N = 0.01

m = analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.3.6. İyot sayısı analizi

Erlen içerisinde 0.3 g VÇY örneği ve 15 mL karbon tetraklorür karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine 25 mL wijs çözeltisi ilave edilmiş ve cam malzemin ağız kısmı kapatılarak 1 s karanlık ortamda bekletilmiştir. Süre bitiminde sırasıyla erlen içerisine 20 mL potasyum iyodür (%10 w/v), 150 mL saf su ve 1 mL nişasta çözeltisi (%1 w/v) eklenmiştir. Nihai karışım titrasyon işleminde 0.1 N sodyum tiyosülfat solüsyonu kullanılmış ve iyot sayısı aşağıda verilen formül aracılığıyla hesaplanmıştır (AOAC, 1984).

$$İyot\ sayısı\ (g\ iyot/100\ g\ ) = \frac{(x-y)}{m} \quad (3.6)$$

x = yağ örnekleri için harcanan tiyosülfat hacmi (mL)

y = yağ örneği içermeyen karışımlar için harcanan tiyosülfat hacmi (mL)

m = analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.3.7. Sabunlaşma sayısı analizi

Cam balon içerisinde 2 g VÇY numunesi ve 25 mL etanollü potasyum hidroksik (0.5 N) çözeltisi karıştırılmıştır. Balon geri soğutucu sisteminin ilgili kısmına uygun bir şekilde bağlanmış ve 1 saat süre ile kaynatma işlemine tabi tutulmuştur. Geçen süre zarfında belirli zaman dilimlerinde karıştırılmıştır. Kaynatma işlemi sonlanınca balon içerisine etanol ile hazırlanmış 3-5 damla fenolftalein (%1 w/v) eklenmiş ve nihai karışım 0.5 N hidroklorik asit ile titre edilmiştir. Sabunlaşma sayısı aşağıda verilen formül aracılığıyla hesaplanmıştır (AOAC, 1984).

$$Sabunlaşma\ sayısı\ (mg\ KOH/g\ ) = \frac{v*28,05}{m} \quad (3.7)$$

v = yağ örnekleri için harcanan hidroklorik asit hacmi (mL)

28,05 = hazırlanan etanollü çözeltisinin mL'si başına düşen potasyum hidroksitin miktarı

m = analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.3.8. Serbest yağ asidi ve asit değeri analizi

Erlenmayer içerisine 5 g VÇY numunesi tartılmış ve tartılan yağın üzerine eşit hacimde hazırlanmış etanol/dietil eter karışımından 50 mL ilave edilmiştir. Örneklerin çözünmesi için 1 dk karıştırma işlemi yapılmış ve erlen içerisine etanol ile hazırlanmış 3-5 damla fenolftalein (%1 v/w) eklenmiştir. Nihai karışım 0.1 N etanollü potasyum hidroksit ile titre edilmiştir. Serbest yağ asidi ve asit değeri aşağıda verilen formüller aracılığıyla hesaplanmıştır (AOAC, 1984).

$$Serbest\ yağ\ asidi\ (\%oleik\ asit\ ) = \frac{v*2,82}{m} \quad (3.8)$$

$$Asit\ değeri\ (mg\ KOH/g) = \frac{v*5,60}{m} \quad (3.9)$$

v = yağ örnekleri için harcanan potasyum hidroksit hacmi (mL)

m = analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.3.9. Kırılma indisi

Kırılma indisi analizi için birkaç damla yağ örneği refraktometrenin ilgili kısmına damlatılmış ve değerler not edilmiştir (AOAC, 1984).

3.3.10. pH

Numunelerin pH ölçümleri dijital bir pH metre ile ölçülmüştür (OHAUS, Starter 3100, ABD). Analiz için pH metrenin elektrodu doğrudan hazırlanan örneklere daldırılmış ve dijital ekrandaki değer sabitlenene kadar elektrod

çıkarılmamıştır. Sabitlenen değer ilgili örneğin pH değeri olarak not edilmiştir (AOAC, 1984).

3.3.11. Renk

Numunelerin renk değerleri Hunter Lab cihazı (Color Quest, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Örnekleri içeren küvetler standardize edilmiş cihazın ilgili kısmına yerleştirilmiş ve renk değerleri (L*, a* ve b*) not edilmiştir (AOAC, 1984).

3.3.12. Yağ asidi fraksiyonu

Yağ asidi fraksiyonlarını belirlemek için öncellikle örneklerin yağ asidi metil esterleri oluşturulmuştur (Wrolstad ve ark., 2004). Daha sonra elde edilen yapılar Çizelge 3.4.'de verilen koşullarda gaz kromatografisi cihazına (GC) (Shimadzu, GCMSQP2010, Japonya) enjekte edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2020a).

Çizelge 3.4. Yağ asitlerinin analizi için gaz kromatografisi cihazı çalışma şartları

Parametreler	Cihaz şartları
Kolon	0.25 mm dimetil polisilokzan (RTX®-5MS, Restek) ile kaplanmış silika kılcal sütun (30 m 0.25 mm)
Kolon sıcaklığı programı	40 °C'den başlatılmış (bekletme süresi 2 dk) sıcaklık artışı 240 °C' ye kadar 3°C/dk olacak şekilde ayarlanmıştır
Enjektör sıcaklığı	250 °C
Ara yüz sıcaklığı	250 °C
Dedektör sıcaklığı	220 °C
Taşıyıcı gaz	Helyum (1 mL/min)
Ayrılma oranı	1:20

3.3.13. Karotenoid fraksiyonu

Triaçilgliserid ve klorofil gibi istenmeyen yapıları uzaklaştırmak için öncelikle VÇY örnekleri sabunlaştırılmıştır. Daha sonra örnekler 0.45 µm gözeneklere sahip membran filtrelerden geçirilmiş ve elde edilen nihai solüsyonlar Çizelge 3.5. ve Çizelge 3.6.'da verilen koşullarda sıvı kromatografisi cihazına (HPLC) (Shimadzu, Japonya) enjekte edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2020a).

Çizelge 3.5. Karotenoid analizi için sıvı kromatografisi cihazı çalışma şartları

Parametreler	Cihaz şartları
Kolon	Purospher® STAR RP-18 kolon (250x4.6 mm parçacık boyutu 5 µm)
Kolon sıcaklığı	31 °C
Dedektör	UV-Vis
Mobil sistem	Gradient
Mobil faz (A)	Aseton
Mobil faz (B)	Ultra saf su
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Dalga boyu	450 nm

Çizelge 3.6. Karotenoid analizi için sıvı kromatografisi cihazı gradient koşulları

Zaman (dk)	Mobil faz A (%)	Mobil faz B (%)	Akış hızı
0-5	75	25	1.25 mL/dk
5-10	80	20	1.25 mL/dk
10-15	95	5	1.25 mL/dk
15-23	100	0	1.25 mL/dk
23	75	25	1.25 mL/dk

3.3.14. Vişne çekirdeği yağı, mazı gal fenolikleri ve fenolik tozlarının toplam fenolik, toplam flavanoid, hidrolize tannin madde miktarları, fenolik fraksiyonları ve fonksiyonel özellikleri (antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivite)

3.3.14.1. Vişne çekirdeği yağının analizlere hazırlanması

VÇY örneklerinden 10 g tartılmış ve 5 dk süre ile 2 mL metanol ile vorteks aracılığıyla karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım 4000 rpm'de 30 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki defa tekrarlanmış ve elde edilen süpernantantlar analizlerde kullanılmıştır (Başyiğit ve ark., 2020).

3.3.14.2. Mazı gal fenoliklerinin analizlere hazırlanması

Mazı gallerinden biyoaktif maddeler saf su kullanılarak 75 °C'de elde edilmiştir (detaylı açıklama çalışmanın 3.2.1.2 kısmında verilmiştir). Elde edilen özütler analizlerde kullanılmıştır.

3.3.14.3. Fenolik kapsüllerinin analizlere hazırlanması

Santrifüj tüpleri içerisinde 0.5 g FK 10 mL saf su içerisinde tamamen çözünene kadar vorteklenmiştir. Çözünme işleminden sonra tüpler santrifüjleme işlemi (4000 rpm 10 dk) için cihaza yerleştirilmiştir. Süpernatantlar kaba filtre kâğıdından geçirilmiş ve analizlerde kullanılmıştır.

3.3.14.4. Toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde (TFM) miktarı analizi için öncelikle 0.4 mL örnek veya gallik asit (5-100 mg/L) saf su ile seyreltilmiş 2 mL Folin & Ciocalteu reaktifi (1:9 v/v) ile cam tüpler içerisinde vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Homojen karışım sağlandıktan sonra tüplerin içerisine 1.6 mL sodyum karbonat solüsyonu (%7.5 w/v) ilave edilmiş ve nihai karışımlar 1 s karanlıkta bekletilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra örnekler 765 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin (Shimadzu, UV-1280, Japonya) ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilen sonuçlar için $y = 89.863x(abs) - 5.368$ denklemi kullanılmış ve TFM miktarı hesaplanmıştır (Singleton ve Rossi, 1965).

3.3.14.5. Toplam flavanoid madde miktarı

Toplam flavanoid (TF) madde miktarı analizi için 1 mL örnek veya kateşin (50-250 mg/L) 4 mL saf su ve 0.3 mL sodyum nitrit solüsyonu (%5 w/v) ile karıştırılmıştır. Beş dk'lık inkübasyon süresinden sonra karışımı içeren cam tüplere 0.3 mL alüminyum klorür solüsyonu (%10 w/v) ilave edilmiştir. Alüminyum klorür ilavesinden 1 dk sonra sırasıyla 2 mL sodyum hidroksit solüsyonu (1 M) ve 2.4 mL saf su eklenmiştir. Daha sonra örnekler 510 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. Kateşin eşdeğeri olarak verilen sonuçlar için $y = 286.86x(abs) + 4.29$ denklemi kullanılmış ve TF madde miktarı hesaplanmıştır (Zhishen ve ark., 1999).

3.3.14.6. Toplam hidrolize tannin miktarı

Toplam hidrolize tannin madde miktarı (THTMM) için 1 mL örnek veya tannik asit (125-2500 mg/L) 5 mL potasyum iyodat solüsyonu (%2.5 w/v) ile karıştırılmıştır. Altı dk'lık inkübasyon süresinden sonra örnekler 550 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. Tannik asit eşdeğeri (TAE) olarak verilen sonuçlar için $y = 2658.40x(abs) + 62.899$ denklemi kullanılmış ve THTMM hesaplanmıştır (Willis, 1998).

3.3.14.7. Fenolik madde fraksiyonları

Örnekler 0.45 µm gözeneklere sahip membran filtrelerden geçirilmiş ve elde edilen nihai solüsyonlar Çizelge 3.7. ve Çizelge 3.8.'de verilen koşullarda Nexera Shimadzu UHPLC LC–ESI-MS/MS (Shimadzu, Japonya) enjekte edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2020b).

Çizelge 3.7. Fenolik fraksiyon analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı çalışma şartları

Parametreler	**Cihaz şartları**
Kolon	Intersil ODS-4 kolon (3 mm i.d. x 100 mm ve 2µm parçacık boyutu)
Kolon sıcaklığı	40 °C
Mobil sistem	Gradient
Mobil faz (A)	Su ile hazırlanmış %0.1 formik asit
Mobil faz (B)	Metanol ile hazırlanmış %0.1 formik asit
Enjeksiyon hacmi	2 µL

Çizelge 3.8. Fenolik fraksiyon analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı gradient koşulları

Zaman (dk)	**Mobil faz A (%)**	**Mobil faz B (%)**	**Akış hızı**
0-4	95	5	0.3 mL/dk
4-7	5	95	0.3 mL/dk
7-7.01	5	95	0.3 mL/dk
7.01	95	5	0.3 mL/dk

3.3.14.8. Antioksidan kapasite

3.3.14.8.1. DPPH metodu ile antioksidan kapasite

Örneklerin DPPH metodu ile antioksidan kapasitelerinin ölçümü için literatürde daha önce yürütülmüş bir çalışma referans alınmıştır (Çam ve ark., 2009). İlk olarak 0.1 mL örnek veya troloks standardı (5-250 mg/L), 3.9 mL metanol ile hazırlanmış DPPH solüsyonu (25 mg/L) ile karıştırılmıştır. İnkübasyon süresi (30 dk) sonunda örnekler 515 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. Troloks eşdeğeri (TE) olarak verilen sonuçlar için $y = -450.98x(abs) + 296.54$ denklemi kullanılmış ve antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

3.3.14.8.2. ABTS metodu ile antioksidan kapasite

Örneklerin ABTS metodu ile antioksidan kapasitelerinin ölçümü için literatürde daha önce yürütülmüş bir çalışma referans alınmıştır (Çam ve ark., 2009). Bu çalışmaya göre ilk olarak 5 mL 2.45 mM potasyum persulfat, 20 mL saf su ve 0.96 mg ABTS radikali içeren 25 mL'lik balon jojede karıştırılmıştır. Belirli bir süre (16 s) inkübasyona bırakılan karışım 734 nm'de 0.700 ± 0.02 absorbans verebilmesi için sodyum fosfat tamponu (0.2 M pH 7.4) ile seyreltilmiştir. Absorbans değeri istenilen seviyeye getirilen karışımda 2000 µL alınmış örnekler veya troloks standardı (2.50–10 µg) ile karıştırılmıştır. Altı dk'lık inkübasyon süresinden sonra örnekler 734 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. TE olarak verilen sonuçlar için aşağıdaki denklem kullanılmış ve antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

$$ABTS_{inh}(\%) = \frac{(Abs_k - Abs_ö)}{Abs_k} * 100 \quad (3.10)$$

$ABTS_{inh}$ *(%)* = ABTS radikalinin yüzde inhibisyonu

Abs_k = Kontrolün absorbansı

$Abs_{ö}$ = Örneğin absorbansı

Troloks konsanstrasyonuna karşı $ABTS_{inh}$ (%) kullanılarak bir grafik oluşturulmuş ve antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

3.3.14.8.3. FRAP metodu ile antioksidan kapasite

FRAP analizi için öncelikle 25 mL asetat (30 mM), 2.5 mL 2,4,6-Tripiridil-S-triazin (10 mM) ve 2.5 mL demir (III) klorür (20 mM) solüsyonları cam balon içinde karıştırılmıştır. Bu karışımdan 2850 µL alınmış ve 150 µL örnek veya trolox standartı (10-75 mg/L) içeren cam tüplere aktarılmıştır. İnkübasyon süresi (30 dk) sonunda örnekler 593 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. TE olarak verilen sonuçlar için $y = 77.354x(abs) - 0.3207$ denklemi kullanılmış ve antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır (Benzie ve Strain, 1996).

3.3.14.8.4. CUPRAC metodu ile antioksidan kapasite

CUPRAC analizi daha önce literatürde not edilmiş bir metoda göre yürütülmüştür (Apak ve ark., 2007). Öncelikle 0.4 mL örnek 1 mL bakır (II) klorür (0.01 M), 1 mL etanolik neocuproin ($7.5x10^{-3}$ M) ve 1 mL amonyum asetat (1 M pH 7) içeren cam tüpler içerisine aktarılmıştır. Nihai hacim saf su ile 4.1 mL'ye tamalanmış ve 30 dk boyunca inkünbasyona bırakılmıştır. Elde edilen karışımlar 450 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. TE olarak verilen sonuçlar için aşağıdaki denklem kullanılmış ve antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

$$y = \frac{A}{\varepsilon} * \frac{V_t}{V_s} * DF\frac{V_e}{m} \quad (3.11)$$

A = absorbans

ε = trolox molar sönme katsayısı (16700 L/mol/cm)

V_t = solüsyonun toplam hacmi (4,1 mL)

V_s = örnek hacmi

DF = seyreltme faktörü

V_e = özütün hacmi

m = analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.3.14.9. Antidiyabetik aktivite

Örneklerin antidiyabetik aktivitelerini belirlemek için α-glucosidaz ve -amilaz enzimlerine karşı sergilemiş oldukları inhibisyon davranışları ile incelenmiştir (McDougall ve ark., 2005).

Alfa-glukozidaz analizi için öncelikle cam tüpler sıcaklığı 37 °C'ye getirilmiş su banyosuna yerleştirilmiştir. Daha sonra bu tüplerin içerisine sırasıyla 50 µL örnek veya akarboz (5-1000 mg/L) (pozitif kontrol), 1250 µL potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH 6.8) ve 50 µL α-glucosidaz enzimi (0.5 ünite/mL) ilave edilmiştir. Su banyosunda 5 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra reaksiyonun başlaması için nihai karışımların içerisine 125 µL 4 nitrofenil α-d-glukopiranoz eklenmiştir. Reaksiyonu durdurmak için karışımlara 20 dk sonunda 2000 µL sodyum karbonat solüsyonu (0.1 M) ilave edilmiştir. Elde edilen karışımlar 400 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır.

Alfa-amilaz analizi için öncelikle cam tüpler sıcaklığı 37 °C'ye getirilmiş su banyosuna yerleştirilmiştir. Daha sonra tüplerin içerisine sırasıyla 1 mL örnek veya akarboz (5-1000 mg/L) (pozitif kontrol), 1 mL nişasta solüsyonu (%1 w/v) ve 1 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi (20 mM pH 6.9) ilave edilmiştir. Su banyosunda 5 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra reaksiyonun başlaması için nihai karışımların içerisine 1 mL α-amilaz enzimi (1 ünite/mL) eklenmiştir. Reaksiyonu durdurmak için cam tüpler içerisine 30 dk sonunda 1 mL renk reaktifi (2 M NaOH ve 96 mM 3,5-dinitrosalisilik asit çözeltisi ile hazırlanan 5.31 M sodyum potasyum tartrat çözeltisi) ilave edilmiştir. Elde edilen karışımlar 5 dk kaynatıldıktan sonra 540 nm dalga

boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır.

Analizlerde kontrol ve kör numunelere sırasıyla örnek ve enzim ilavesi yapılmamıştır. Enzim inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$Enzim\ inhibisyonu\ (\%) = \frac{(Abs_k - Abs_{\ddot{o}})}{Abs_k} * 100 \quad (3.12)$$

Abs_k = kontrolün absorbansı

$Abs_{\ddot{o}}$ = örneğin absorbansı

Örnek konsantrasyonu karşı enzim inhibisyon (%) değerleri kullanılarak hesaplanan IC_{50} (mg/mL) (enzimlerin %50'sini inhibe etmek için gerekli olan örnek miktarı) değerleri antidiyabetik aktivite analizi için sonuç olarak verilmiştir.

3.3.14.10. Antimikrobiyal aktivite

Örneklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde referans (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) ve Kilis 7 Aralık Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü kültür stoğunda tespit edilen klinik suşlar (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ssp.*, *Proteus ssp.*, *Staphylococcus aureus* ve *Shigella ssp.*) kullanılmıştır. *Agar well* difüzyon yöntemi kullanılmış olup kuyucuklara 120 µL VÇY (200 mg/mL konsantrasyonda) ve 30 µL MGF veya FK (100 mg/mL konsantrasyonda) aktarılmıştır. Mikrobiyal sayım milimetre başına bakteri, maya ve küf için sırasıyla $1x10^7$, $1x10^7$ ve $1x10^5$ konsantrasyonda 0.5 Mcfarland standart eşdeğeri olarak ayarlanmıştır (Başyiğit ve ark., 2020c).

3.3.15. Aminoasit kompozisyonu

Aminoasit kompozisyonu için daha önce yürütülmüş bir çalışma referans alınmıştır (Gorissen ve ark., 2018). VÇP örneklerinden 0.5 g tartılmış ve cam tüpler içerisinde 6 M hidroklorik asit ile hidrolize edilmiştir. Hidrolizasyon işlemi 24 s 110

°C'de devam etmiştir. Süre sonunda örnekler alınmış 4000 rpm'de 5 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatant 0.45 µm gözeneklere sahip memran filtrelerden geçirilmiştir. Elde edilen süzüntü 100 kat saf su ile seyrettilmiştir. Daha sonra cihaz enjenksiyon bloğuna yerleştirilmek üzere sırasıyla 50 µL seyreltilmiş örneklerden, 50 µL iç standart ve 700 µL reaktif-1 viallerde karıştırılmıştır. Elde edilen nihai solüsyonlar Çizelge 3.9'da verilen koşullarda LCMS-8040 cihazına (Shimadzu, Japonya) enjekte edilmiştir (Saglik ve ark., 2019).

Çizelge 3.9. Amino asit analizi için LC–ESI-MS/MS cihazı çalışma şartları

Parametreler	**Cihaz şartları**
Kolon sıcaklığı	30 °C
Mobil sistem	Gradient
Mobil faz (A)	Su ile hazırlanmış %0.05 formik asit
Mobil faz (B)	Acetonitril
Mobil faz (A)/Mobil faz (B)	%30/70
Akış hızı	0.07 µL/dk
Desolvasyon hattı	300 °C
Enjeksiyon hacmi	40 µL
Sıcaklık	500 °C
Nebulize edici gaz	3 L/dk
Kurutma gazı	20 L/dk

3.3.16. Çözünürlük

VÇP örneklerinin çözünürlük dereceleri daha önce literatürde not edilmiş bir metot üzerinde bazı modifikasyonlar yapılarak analiz edilmiştir (Çelik ve ark., 2019). Örneklerin %1'lik (w/v) solüsyonları hazırlanmış ve pH'ları 1 N sodyum hidroksit veya hidroklorik asit kullanılarak 7.0'a ayarlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlar 90 dk süre ile 250 rpm'de karıştırılmış ve bu süre içerisinde pH sabit tutulmuştur. Süre sonunda örnekler 4000 rpm'de 30 dk santrifüjleme işlemine tabi tutulmuş ve süpernantanttaki protein miktarı Bradford kiti kullanılarak belirlenmiştir. Çözünürlüklerin hesaplanmasında ise aşağıdaki denklem kullanılmıştır.

$$\text{Çözünürlük } (\%) = \frac{\text{Süpernatantaki protein miktarı}}{\text{Örnekteki protein miktarı}} * 100 \qquad (3.13)$$

3.3.17. Emülsiyon aktivite indeksi ve emülsiyon stabilite indeksi

Emülsiyon aktivite ve emülsiyon stabilite indeksi analizleri daha önce yürütülmüş bir çalışmada bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Öncelikle VÇP'nin %1'lik solüsyonları (pH 10) hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardan emülsiyonların hazırlanması için 30 mL alınmış ve 10 mL mısır yağı ile 10000 rpm'de utraturraks kullanılarak 2 dk süre ile homojenize edilmiştir. Emülsiyon aktivitesi için homojenizasyondan hemen sonra emülsiyon stabilitesi için homojenizasyondan 10 dk sonra 50 µL örnek alınmış ve %0.1 SDS solüsyonu ile 100 kat seyreltilmiştir. Seyreltilen örnekler vorteksleme işlemine tabi tutulmuş ve 500 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin ilgili kısmına kuvartz küvetler kullanılarak yerleştirilmiştir. Absorbans okumaları yapıldıktan sonra aşağıdaki formüller aracılığıyla hesaplamalar yapılmıştır (Pearce ve Kinsella, 1978).

$$Emülsiyon\ aktivite\ indeksi\ \left(\frac{m^2}{g}\right) = \frac{2*2.303*A_0*DF}{C*\varphi*\Theta*1000} \quad (3.14)$$

$$Emülsiyon\ stabilite\ indeksi\ (dk) = \frac{A_0}{(A_0-A_t)} * t \quad (3.15)$$

A_o = homjenizasyondan hemen sonra ölçülen emülsiyonun absorbansı

DF = seyreltme faktörü

C = protein konsantrasyonu

φ = optik yol

Θ = yağ hacim fraksiyonu

A_t = ilgili sürede ölçülen emülsiyonun absorbansı

t = emülsiyon hazırlandıktan sonra absorbans okumanın yapıldığı süre

3.3.18. Emulsiyonların optik mikroskobu görüntüleri

Hazırlanan emülsiyonların görüntüleri dijital bir kameraya bağlı optik mikroskobu kullanılarak 1000 kat büyütme ile görselleştirilmiştir. Emülsiyonlardan birkaç damla örnek lamın üzerine damlatılmıştır. Lameller aracılığıyla örneklerin

üzeri kapatılmış ve mikroskobun (Eclipse E600, Nikon, Japonya) ilgili yerine yerleştirildikten sonra görüntüler alınmıştır (Nesterenko ve ark., 2014).

3.3.19. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi

Örneklerin yapısal karakterizasyonu FTIR spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Analize tabi tutalan örnek doğrudan FTIR cihazının (Shimadzu, IRTracer-100, Japonya) ilgili kısmına yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında 1 cm^{-1} çözünürlükte 4000 ile 400 cm^{-1} dalga sayısı arasında karakterize edilmiştir (Lei ve ark., 2018).

3.3.20. Enkapsülasyon verimi

PK sistemine beslenen solüsyondaki toplam katı miktarı ve proses sonrası elde edilen toz miktarından yararlanılarak enkapsülasyon verimi (EV) hesaplanmıştır. Siklona yapışan ürünler hesaplama işlemine dâhil edilmemiştir. EV aşağıda verilen denkleme göre belirlenmiştir (Çam ve ark., 2014; Karaaslan ve ark., 2021).

$$Verim\ (\%) = \frac{Nihai\ toz\ \text{ürün}lerin\ kütlesi\ (g)}{Besleme\ sol\text{üsyonundaki}\ toplam\ katı\ miktarı\ (g)} * 100 \qquad (3.16)$$

3.3.21. Enkapsülasyon etkinliği

Enkapsülasyon etkinliğinin (EE) hesaplanmasında kapsüllerin yüzeyinde bulunan yağ/fenolik madde miktarı başlangıçta hazırlanan solüsyonların içermiş olduğu yağ/fenolik madde miktarından yararlanılmıştır.

3.3.21.1. Yüzey yağ

YK'nin yüzeyinde bulunan yağların eldesinde daha önce yürütülmüş bir çalışma referans alınmıştır (Karaaslan ve ark., 2021). İlk olarak erlenmayer içerisinde bulunan 0.5 g YK üzerine 5 mL petrol eteri ilave edilmiş ve manuel olarak yavaş bir şekilde 2 dk süre ile karıştırılmıştır. Süre sonunda örnekler yuvarlak tabanlı daha

önceden darası alınmış cam şişenin içerisine Whatman no 1 filtre kâğıdı kullanılarak süzülmüştür. Bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Cam şişeler sıcaklığı 40 °C'ye ayarlanmış döner buharlaştırıcının ilgili kısmına yerleştirilmiş ve organik faz ilgili sıcaklıkta uçurulmuştur. Yüzey yağ miktarı cam şişelerin son ve ilk tartım ağırlıklarındaki fark alınarak hesaplanmıştır.

3.3.21.2. Yüzey fenolik

FK'nin dışında bulunan fenolik maddelerin belirlenmesi için 0.5 g FK içeren erlenmayer içerisine 10 mL etanol ilave edilmiş ve manuel olarak yavaş bir şekilde 2 dk süre ile karıştırılmıştır. Süre sonunda örnekler santrifüjlendikten sonra (4000 rpm 5 dk) cam tüpün içerisine kaba filtre kâğıdı kullanılarak süzülmüştür. Bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Elde edilen nihai özütlerdeki ethanol sıcaklığı 40 °C'ye ayarlanmış rotary evaparatörde uçurulmuştur. Kalan az miktardaki etanolü uzaklaştırmak için cam tüpler 60 °C'deki su banyosuna yerleştirilmiş ve 30 dk süre ile bekletilmiştir. Yapılan işlemlerden sonra fenolik maddeleri içeren tüp içerisine 0.4 mL saf su eklenmiş ve toplam fenolik madde miktarı analizindeki (çalışmanın 3.3.14.4 kısmında detaylı açıklama yapılmıştır) adımlar izlenmiştir (Çam ve ark., 2014).

3.3.21.3. Enkapsülasyon etkinliğinin hesaplanması

YK ve FK için enkapsülasyon etkinliği aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Etkinlik\ (\%) = (1 - \frac{Yüzey\ yağ\ veya\ yüzey\ fenolik\ madde\ miktarı}{Toplam\ yağ\ veya\ toplam\ fenolik\ madde\ miktarı}) * 100 \quad (3.17)$$

3.3.22. Su aktivitesi

Su aktivitesi analizi daha önce literatürde yürütülmüş bir çalışmaya göre yapılmıştır (Tatar ve ark., 2014). Örneklerden belirli bir miktar alınmış ve su aktivitesi cihazı (Aqualab, model 4TE, Decagon Devices Inc., Pullman, WA, ABD) için özel olarak tasarlanmış plastik yuvarlak şeklindeki kaplar içerisine ilave

edilmiştir. Plastik kaplar standardize edilmiş su aktivitesi cihazının ilgili kısmına yerleştirilmiştir. Dijital ekranda verilen değer örneklerin su aktivitesi olarak not edilmiştir.

3.3.23. Islanabilirlik

Islanabilirlik analizi için 250 mL'lik beherler içerisinde bulunan 20 °C sıcaklığa sahip 100 mL saf su içerine belirli bir yükseklikten örnekler aktarılmıştır. Numunelerin suyun üst kısmı ile olan temasının sonlanması için gereken süre ıslanabilirlik değeri olarak kaydedilmiştir (Turchiuli ve ark., 2005).

3.3.24. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu

Örneklerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu başlangıçta analiz için kullanılan kütlece miktarı ve bu kütlenin kaplamış olduğu hacimden yararlanılarak hesaplanmıştır (Tatar ve ark., 2014). Öncelikle 3 g numune tartılmış ve 25 mL hacme sahip cam mezür içerisine belirli bir yükseklikten ve hızda dökülmüştür. Örneğin mezür içerisinde kaplamış olduğu ilk hacim not edilmiştir. Daha sonra örnekleri içeren mezür sn'de 1 defa pürüzsüz bir zemin üzerinde manuel olarak sabit hacme gelene kadar vurulmuştur. Sabit hacme gelen örneğin son hacmi de not edilmiştir. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu aşağıdaki formüller aracılığıyla hesaplanmıştır.

$$Kitle\ yoğunluğu = \frac{Analizde\ kullanılan\ örnek\ miktarı\ (g)}{İlk\ hacim\ (mL)} \quad (3.18)$$

$$Sıkıştırılmış\ kitle\ yoğunluğu = \frac{Analizde\ kullanılan\ örnek\ miktarı\ (g)}{Son\ hacim\ (mL)} \quad (3.19)$$

3.3.25. Hausner oranı ve Carr indeks

Hausner oranı ve Carr indeks değeri için yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinden yararlanılmıştır. Toz özellikleri ile ilgili olan bu parametreler aşağıdaki formüller aracılığıyla hesaplanmıştır (Tatar ve ark., 2014).

$$Hausner\ oranı = \frac{Sıkıştırılmış\ yığın\ yoğunluğu}{Yığın\ yoğunluğu} \quad (3.20)$$

$$Kitle\ yoğunluğu = \frac{(Sıkıştırılmış\ yığın\ yoğunluğu - Yığın\ yoğunluğu)}{Sıkıştırılmış\ yığın\ yoğunluğu} * 100 \quad (3.21)$$

3.3.26. Mikroyapı analizi

YK ve FK'lerin mikroyapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Zeiss Evo 50, Carl Zeiss, Almanya) yardımı ile incelenmiştir. Yüksek iletkenlik için örneklerin kaplanmasında paladyum kullanılmıştır. Kaplanan kapsüller yüksek vakuma bırakılmış ve Taramalı Elektron Mikroskobu ile 30 kV'da farklı boyutlarda büyütülerek görüntüleri alınmıştır (Ortiz ve ark., 2009).

3.3.27. Partikül büyüklüğü

Örneklerin partikül büyüklüğü dağılımı oda sıcaklığında ıslak dispersiyon yöntemine dayalı olarak belirlenmiştir. Örnekler ultrasonik banyo kullanılarak saf su içerisinde dağıtılmış ve aynı hacme sahip bir kürenin ortalama çapı olan $D_{4,3}$'ün ortalama değeri cihazın (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Co., Malvern, Worcestershire, İngiltere) yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Icyer ve ark., 2017).

3.3.28. Termal analizler

Örneklerin termal analizlerini belirlemek için termogravimetrik analizör cihazı (TGA) (Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır (Piletti ve ark., 2019). Analizler azot atmosferinde gerçekleştirilmiş ve başlangıçta 3-5 mg örnek tartılmıştır.

Termogravimetrik Analiz (TGA) için cihaz 30 °C'den 1000 °C'ye kadar 10 °C /dakika ısıtma hızıyla ısıtılmıştır. TGA analizlerinden elde edilecek sonuçların 1. türevlerinden yararlanılarak Diferansiyel Termogravimetrik (DTG) sonuçları değerlendirilmiştir.

3.3.29. Hücre kültürü

Hücre kültürü analizlerinde ATCC'den temin edilmiş sıvı azot altında stoklanmış hücre hatları kullanılmıştır. Hücre hatları farklı besiyerlerinde kültüre edilmiştir. A549 (akciğer adenoma kanser) ve MDA-MB-231 (Meme adenoma kanser) hücre hatları için %10 Fetal Bovine Serum (FBS), 100 µg/mL streptomisin/100IU/mL penisilin eklenmiş RPMI-1640 (Sigma) besiyeri kullanılmıştır. DU-145 (prostat adenoma kanser) ve HCT-116 (kolorektal adenoma kanser) hücre hatları için %10 Fetal Bovine Serum (FBS), 100 µg/mL streptomisin/100IU/mL penisilin eklenmiş DMEM: F-12 (Sigma) besiyeri kullanılmıştır. Tüm hücre hatları nemli atmosferde, %5 CO_2, %95 hava içeren inkübatörde 37 ºC'de kültüre edilmiştir (Akkafa ve ark., 2018; Durgun ve ark., 2017; Halawa ve ark., 2020).

3.3.29.1. Sitotoksisite analizi

Örneklerin kanser üzerinde sitotoksik etkileri MTT boyası kullanılarak ile üretici firmanın önerdiği protokole uygun şekilde incelenmiştir. Hücreler belirli konsantrasyonlarda (10^5 hücre/kuyucuk olarak şekilde) 96 kuyucuklu steril durumdaki plakalara ekilmiş ve 24 s inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda ilgili besiyerleri uzaklaştırılmış ve farklı dozlarda (0, 2.5, 5, 10, 25, 50,100 ve 200 µM/mL) hazırlanan örneklerin hücre hatları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Dozlar uygulandıktan sonra 48 s inkübasyon uygulanmıştır. Her kuyucuğa 10 µL MTT (5mg+1 mL DMSO) reaktifi eklenmiştir. İnkübatörde 4 saatlik inkübasyondan sonra 570 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin (SpectraMax M5, CA, ABD) ilgili kısmına plakalar yerleştirilmiş ve absorbans okumaları yapılmıştır. Sonuçlar

IC_{50} (µM) (ilgili hücrenin %50'sini inhibe etmek için gerekli olan örnek konsantrasyonu) olarak hesaplanmıştır (Koyuncu, 2018).

3.3.30. Depolama

YK ve FK'ler 6 ay süresince oda sıcaklığı koşullarında PVC plastik kaplar içerisinde depolamaya alınmıştır. YK örneklerinde peroksit seviyesinde ve FK örneklerinde TFM miktarında meydana gelen değişimler 0., 7., 14., 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. günlerde incelenmiştir.

3.3.30.1. Yağ kapsüllerinin depolaması

YK'lerdeki VÇY örneklerinin depolama stabilitelerini ölçmek için öncelikle VÇY'ler kapsüllerden özütlenmiştir. Bu amaç için 5 g örnek tartılmış, 80 mL metanol/kloroform (1:2 v/v) ve 15 mL saf su içeren ayırma hunilerine ilave edilmiştir. Daha sonra ayırna hunileri hızlı bir şekilde ters düz edilmiştir. Alt kısımda kalan, VÇY içeren organik faz kaba filtre kâğıdından süzülerek daha önceden darası alınmış cam balonlara alınmıştır. Daha sonra cam balonlar sıcaklığı 60 ºC'ye ayarlanmış rotary evaparatöre alınmış ve organik faz uçurulmuştur. Kalan az miktardaki organik fazı uçurmak için 103 ºC'deki KK'ler kullanılmıştır. Geriye kalan VÇY'ler ise peroksit analizinde kullanılmıştır (peroksit analizi ile ilgili detaylı bilgi çalışmanın 3.3.5. kısmında verilmiştir).

3.3.30.2. Fenolik kapsüllerinin depolaması

FK'lerin aylık olarak TFM miktarında meydana gelen değişim incelenmiştir (toz örneklerde toplam fenolik madde miktarı ile ilgili detaylı bilgi çalışmanın 3.3.14.3. ve 3.3.14.4 kısımlarında detaylı bir şekilde verilmiştir).

3.3.31. İstatistiksel analizler

Tez kapsamında yapılan optimizasyon işlemleri, üretimler ve analizler 3 tekerrür 2 paralelli olarak yürütülmüştür. Grafiklerin çiziminde OriginPro 8 (Origin Lab Inc.), diagrams ve Excel proğramları kullanılmıştır. Gerekli faktörler dikkate alınarak oluşturulan deneme tasarımları, elde edilen cevapların yorumlanması ve optimum şartların bulunması yanıt yüzey metodolojisine göre Design Expert 7.0 paket programı (Stat-Ease, Minneapolis, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler merkezi tümleşik tasarım kullanılarak analiz edilmiştir. En iyi modelin seçiminde uyum eksikliğinden (lack of fit), belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}) ve varyans analizinden (ANOVA) elde edilen Fisher test değerinden (F değeri) yararlanılmıştır. Diğer data setlerinin değerlendirilmesinde Windows SPSS sürüm 22.0 istatistik paket programından (SPSS Inc., Chicago, ABD) yararlanılmıştır. Shapiro-Wilk testine göre normal veri setleri tek yönlü varsayans analizi (ANOVA) veya bağımsız iki örneklem t testine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasında çoklu karşılaştırmaları değerlendirmek için Tukey HSD testi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Vişne Çekirdeği ve Yağsız Posanın Kimyasal Bileşimi

VÇ'lerin ve VÇ'lerden yağ ayırma işleminden sonra geriye kalan posanın toplam nem, toplam kül, toplam yağ ve toplam protein miktarları belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1.'de verilmiştir. VÇ'lerin nem ve kül miktarları sırasıyla %4.54 ve %3.14 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler yağsız posa için %4.77 ve %4.45 olarak ölçülmüştür. Tez çalışmasının temelini oluşturan yağ ve protein miktarına gelince VÇ'lerin %35.09'luk bölümünü yağ fraksiyonlarının oluşturduğu ve proteinlerin toplam çekirdeğin %30.52'lik kısmına tekabül ettiği tespit edilmiştir. Yüksek miktarda yağ ve protein içeriği VÇ'lerin bu makro yapıların kaynağı olarak neden değerlendirilmesi gerektiği sorusunun cevabını oluşturmaktadır. Meyve işleme yan ürünü olarak ortaya çıkan kayısı (%23.60-26.20) (Sharma ve ark., 2010), elma (%27.50-28) (Yu ve ark., 2007b) ve nar (%13.60) (Talekar ve ark., 2018) çekirdeklerinde protein miktarının VÇ'lere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Yağ ayırma işleminden sonra protein özütleme çalışmalarında hammadde olarak kullanılan posada (atığın atığı) protein miktarı %47.26 olarak ölçülmüştür. VÇ'ler ve yağsız posa ile ilgili benzer bulgulara daha önce yürütülmüş bir çalışmada rastlanılmıştır (Çelik ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlar ve piyasada var olan üzerine farklı çalışmaların yürütüldüğü muadilleri ile karşılaştırıldığında VÇ'lerin protein kaynağı olarak değerlendirilmesinin pozitif bir yaklaşım olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.1. Vişne çekirdeği ve yağsız posanın kimyasal kompozisyonu

Bileşenler	Birim	Vişne çekirdeği	Yağsız posa
Nem	%	4.54±0.01	4.77±0.56
Kül	%	3.14±0.04	4.46±0.06
Yağ	%	35.09±0.12	3.71±0.73
Protein	%	30.52±0.00	47.26±0.00

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.2. Vişne Çekirdeği Yağı

Yapılan literatür taramalarında VÇY'ler ile ilgili yürütülen çalışmaların sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzden tez kapsamında enkapsülasyon işleminde çekirdek materyali olarak değerlendirilen VÇY'ler da detaylı bir şekilde analiz edilmiştir.

4.2.1. Vişne çekirdeği yağının fizikokimyasal özellikleri

VÇY'nin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Peroksit değeri 1.96 mEq O_2/kg olarak bulunmuştur. Literatür çalışmalarında genel olarak taze yağların peroksit değerinin 10 mEq O_2/kg'a kadar olabileceği belirtilmiştir (Başyiğit ve ark., 2021a). Düşük peroksit değeri VÇY'nin çevresel streslere karşı yüksek stabilitesine işaret etmektedir. VÇY'de aynı zamanda diğer yağ kalite parametreleri olan iyot sayısı (75.40 g iyodür/100 g), sabunlaşma sayısı (199.86 mg KOH/g), kırılma indisi (1.47), pH (5.45), renk (L*: 25.85, a*: 2.37, b*: 11.74), serbest yağ asidi (%0.56 oleik asit cinsinden) ve asit değeri (1.12 mg KOH/g) analizleri de yapılmıştır. Yağın biyoaktivitesini gösteren ilk unsurlardan biri olan TFM miktarı da ölçülmüş ve bu değerin 31.65 mg GAE/kg olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Vişne çekirdeği yağının fizikokimyasal özellikleri

Kimyasal özellik	Birim	Vişne çekirdeği yağı
Peroksit değeri	mEq O_2/kg	1.96±0.39
İyot sayısı	g iyodür/100 g	75.40±0.11
Sabunlaşma sayısı	mg KOH/g	199.86±2.98
Kırılma indisi	-	1.47±0.01
pH	-	5.45±0.31
L*	-	25.85±0.19
a*	-	2.37±0.07
b*	-	11.74±0.21
Serbest yağ asidi	Oleik asit (%)	0.56±0.16
Asit değeri	mg KOH/g	1.12±0.32
TFM miktarı	mg GAE/kg	31.65±0.33

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). TFM: toplam fenolik madde.

4.2.2. Vişne çekirdeği yağının yağ asidi fraksiyonları

VÇY'nin yağ asidi fraksiyonları GC-FID ile analiz edilmiş ve yağ asidi fraksiyonları Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Doymamış yağ asitleri toplam yağ asitlerinin %16.91'ni oluşturduğu belirlenmiştir. Bu yağ asitleri arasında ise lignoserik asit (%9.16) en fazla bulunan doymuş yağ asidi olarak tespit edilmiştir. Esansiyel yağ asitleri olarak bilinen doymamış yağ asitlerinin oranı %83.08 olarak belirlenmiştir. Soğuk sıkım tekniği kullanılarak elde edilen biber çekirdeği yağında bu oranın %83.26 olduğu ifade edilmektedir (Chouaibi ve ark., 2019). Başka bir çalışmada meyve işleme atığı olan nar çekirdeğinden elde edilen yağlarda doymamış yağ asiti miktarı %86.06 olarak bulgulanmıştır (Rojo-Gutiérrez ve ark., 2021). Doymamış yağ asidi fraksiyonları tekli doymamış yağ asidi olan oleik asitin (%39.08) ve çoklu doymamış yağ asidi olan linoleik asitin (%43.12) VÇY'de baskın yağ asitleri olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranı 0.203 olarak belirlenmiştir. Yağların doymamışlık oranı ile biyolojik aktiviteleri arasında pozitif yönde bir kolerasyon olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Grujić-Milanović ve ark., 2021). Beslenme maddeleri olarak doymamış yağ asidi fraksiyonları kardiyovasküler (Marangoni ve ark., 2020) ve kanser (Gasperi ve ark., 2019) hastalıklarından korunma da dâhil olmak üzere insan sağlığı üzerinde faydalı etkiler sergilediği literatürde ifade edilmektedir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar ve literatür verileri VÇY'lerin kıymetini ve halihazırda gıda, ilaç ve kozmetik gibi farklı endüstrilerde kullanılan yağlara alternatif olarak değerlendirileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.3. Vişne çekirdeği yağının yağ asidi fraksiyonları

Yağ asidi	Birim	Vişne çekirdeği yağı
Undekanoik asit	%	0.02 ± 0.00
Miristik asit	%	0.03 ± 0.00
Palmitik asit (C16:0)	%	5.35 ± 0.27
Palmitoleik asit	%	0.32 ± 0.07
Heptadekanoik asit (C17:0)	%	0.05 ± 0.00
Cis-10-Heptadekanoik asit	%	0.08 ± 0.00
Stearik asit (C18:0)	%	1.76 ± 0.14
Oleik asit (C18:1)	%	39.08 ± 0.75
Linoleik asit (C18:2)	%	43.12 ± 0.67
Araşidik asit (C20:0)	%	0.39 ± 0.09
Cis-11-Eikosenoik asit (20:1)	%	0.22 ± 0.01
Linolenik asit	%	0.10 ± 0.00
Heneikosanoik asit	%	0.07 ± 0.00
Cis-11,14-Eikosenoik asit	%	0.02 ± 0.00
Behenik asit (C22:0)	%	0.08 ± 0.00
Cis-11,14, 17-Eikosatrienoik asit (20:3)	%	0.02 ± 0.00
Cis-13, 16 dokosadienoik asit (C22:2)	%	0.03 ± 0.00
Lignoserik asit	%	9.16 ± 0.37
Nervonik asit	%	0.02 ± 0.00
Cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosahexaenoic acid	%	0.07 ± 0.00
Toplam doymuş yağ asidi	%	16.91
Toplam tekli doymamış yağ asidi	%	39.74
Toplam çoklu doymamış yağ asidi	%	43.34
Toplam doymamış yağ asidi	%	83.08
Doymamış yağ asidi/doymuş yağ asidi	-	0.203

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.2.3. Vişne çekirdeği yağının karotenoid fraksiyonları

Karotenoidler sadece bitki ve bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenmektedir (Mohamed ve ark., 2016). Bu yüzden sağlık üzerine pozitif etkileri olan bu materyaller açısından zengin kaynakların insan beslenmesinde yer alması önemli bir husus olarak görülmektedir. Tez kapsamında karatenoid kaynağı olarak VÇY'nin potansiyeli araştırılmış ve yağın içermiş olduğu karatenoid fraksiyonları Çizelge 4.4.'de verilmiştir. VÇY'nin toplam karotenoid miktarı 14.98 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen toplam karotenoid madde miktarının üzüm çekirdeği (2.70–4.80 mg/kg) (Mohamed ve ark., 2016) ve kayısı çekirdeği (1.60–5.30 mg/kg) (Górnaś ve ark., 2017) yağlarından daha yüksek olduğu belirlenmiş; ancak biber çekirdeği yağınının içermiş olduğu karotenoid madde miktarının (66.90 mg/kg) VÇY'ninkinden daha yüksek olduğu bulgulanmıştır (Başyiğit ve ark., 2020a). Zeaksantinin (13.15 mg/kg) VÇY'de majör karotenoid

olduğu belirlenmiştir. Violaksantin, kapsantin ve β-apo-8'-karotenal gibi karotenoidler ise VÇY'de tespit edilememiştir.

Çizelge 4.4. Vişne çekirdeği yağının karotenoid fraksiyonları

Karotenoidler	Birim	Vişne çekirdeği yağı
Violaksantin	mg/kg	t_e
Kapsantin	mg/kg	t_e
Zeaksantin	mg/kg	13.15 ± 0.11
β-apo-8'-karotenal	mg/kg	t_e
Kriptoksantin	mg/kg	0.08 ± 0.00
β-karoten	mg/kg	1.75 ± 0.01

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). t_e : tespit edilememiştir.

4.2.4. Vişne çekirdeği yağının fenolik fraksiyonları

VÇY'nin fenolik kompozisyonu LC/MS-MS ile belirlenmiş ve toplam 10 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir (Çizelge 4.5.). Hidroksibenzoik asitler ve türevleri, hidroksisinamik asit ve flavonoidler olmak üzere 3 farklı formda fenolik maddeler tanımlanmıştır. Tespit edilen fenolik maddelerin miktarının 7.53 ile 1678.11 µg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. VÇY'de en fazla bulunan fenolik bileşiğin naringenin (1678.11 µg/kg) olduğu bu bileşiği sırasıyla ellajik asitin (612.93 µg/kg), kaempferolün (135 µg/kg) ve *p*-kumarik asitin (101.63 µg/kg) takip ettiği tespit edilmiştir. Vanillik asit, gallik asit, benzoik asit, kateşin, naringenin, kuarsetin ve kaempferol dahil olmak üzere *Prunus avium*'un odunsu dokularında bir dizi flavonoid ve flavonoid olmayan fenolik yapıların varlığı önceki çalışmalarda not edilmiştir (Sanz ve ark., 2010). Yağlarda bulunan fenolik fraksiyonu ilgili yağın doğasına göre farklılık göstermektedir. Baskın fenoliklerin nar çekirdeği yağında *p*-kumarik asit (Başyiğit ve ark., 2021a) ve biber çekirdeği yağında resveratrol (Başyiğit ve ark., 2020a) olduğu bulgulanmıştır. Bu ve benzeri fenolik yapıların varlığı yağlardaki besin kalitesinin ve biyolojik aktivitenin en önemli göstergesidir.

Çizelge 4.5. Vişne çekirdeği yağının fenolik fraksiyonları

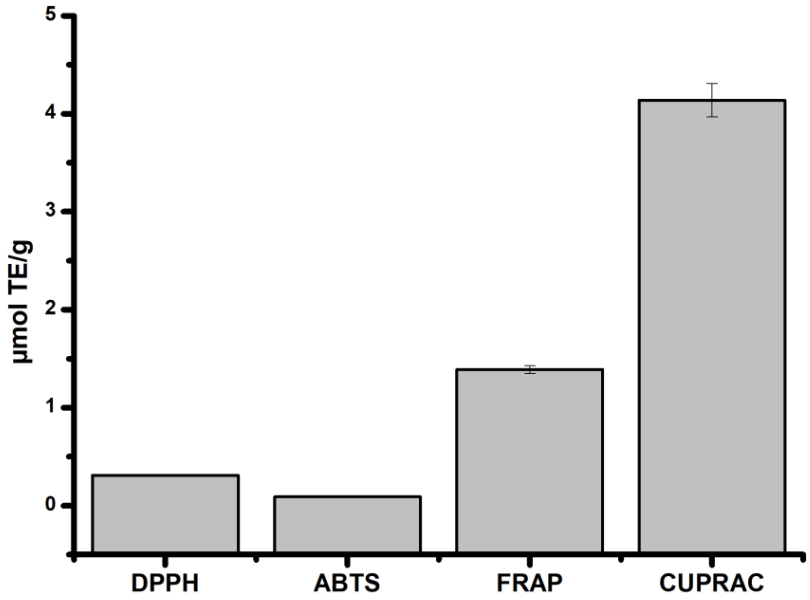
Fenolik bileşik	Moleküler formülü	Öncü iyon (*m/z*)	Ürün iyon (*m/z*)	İyon modu	Birim	Vişne çekirdeği yağı
Gallik asit	$C_7H_6O_5$	169.20	125.0	Neg	µg/kg	48.70 ± 0.01
Kateşin	$C_{15}H_{14}O_6$	291.10	139.0	Neg	µg/kg	24.72 ± 2.06
Kafeik asit	$C_9H_8O_4$	179.20	135.0	Neg	µg/kg	7.53 ± 0.01
Resveratrol	$C_{14}H_{12}O_3$	229.10	135.0	Pos	µg/kg	66.14 ± 7.05
p-kumarik asit	$C_9H_8O_3$	163.20	119.0	Neg	µg/kg	101.61 ± 4.84
Ellajik asit	$C_{14}H_6O_8$	300.90	145.1	Neg	µg/kg	612.93 ± 4.08
Vanilik asit	$C_8H_8O_4$	168.80	93.0	Pos	µg/kg	28.50 ± 7.82
Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	271.10	150.9	Neg	µg/kg	1678.11 ± 12.43
p-Hidroksibenzoik asit	$C_{15}H_{12}O_5$	137.20	93.0	Neg	µg/kg	16.94 ± 7.45
Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	285.10	116.9	Neg	µg/kg	135.00 ± 5.03

Sonuçlar ortalama±standart sapmas olarak ifade edilmiştir (n=3). t_e : tespit edilememiştir.

4.2.5. Vişne çekirdeği yağının antioksidan kapasite

Antioksidanlar, antioksidatif özelliklerini organizma içerisinde elektron transferi, hidrojen atomu transferleri veya hem elektron hem de hidrojen atomu transferleri gibi belirli mekanizmalarda rol alarak gösterirler (Loizzo ve ark., 2012). Bu yüzden *in vitro* koşullarda tek bir yöntemle bir materyalin antioksidatif etkisini değerlendirmek sağlıklı bir sonuca ulaşmak açısından makul görülmemektedir (Basyigit ve ark., 2020a). Bu çalışma kapsamında VÇY'nin antioksidatif davranışları radikal süpürücü (DPPH ve ABTS) ve iyon indirgeme (FRAP ve CUPRAC) testleri ile belirlenmiş ve ilgili veriler Şekil 4.1.'de sunulmuştur. DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC analizleri için sırasıyla sonuçlar 0.31, 0.09, 1.40 ve 4.14 µmol TE/g olarak bulgulanmıştır. Başyiğit ve ark. (2021a) nar çekirdeği yağı için DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC değerlerinin sırasıyla 0.40, 0.26, 1.78 ve 4.26 µmol TE/g olduğunu tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada biber çekirdeği yağının antioksidan kapasitesini ölçmek için benzer şekilde DPPH (11.38 µmol TE/g), ABTS (7.81 µmol TE/g), FRAP (3.89 µmol TE/g) ve CUPRAC (8.55 µmol TE/g) yöntemleri kullanılmıştır (Başyiğit ve ark., 2020a). Yağların göstermiş olduğu bu fonksiyonellik, yapılarında doğal olarak bulunan başta fenolik ve karotenoidler olmak üzere biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu hipotez daha önce mısır çekirdeği (Ali ve ark., 2010) ve kabak (Siger ve ark., 2008) yağlarının antioksidatif davranış üzerine yürütülen çalışmalarla da desteklenmiştir. Bu çalışmalarda

antioksidan kapasite üzerine yağların yapılarında barındırdıkları fenolik ve karotenoidlerin pozitif etkisinin olduğunu belirtilmiştir.



Şekil 4.1. Vişne çekirdeği yağının antioksidan kapasite değerleri

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)

4.2.6. Vişne çekirdeği yağının antidiyabetik aktivitesi

VÇY'lerin antidiyabetik aktivitesi pankreatik amilaz ve bağırsak glukozidazına karşı göstermiş oldukları reaksiyona göre değerlendirilmiştir. Alfa-amilaz ve α-glukozidaz enzimlerine karşı elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6.'da sunulmuş ve ilgili sonuçlar IC_{50} (analiz için seçilen enzimlerin %50'sini inhibe etmek için gerekli olan ekstrakt konsantrasyonu) değeri olarak verilmiştir. Pozitif kontrol olarak seçilen akarbozun 0.022 mg/mL IC_{50} değeri ile α-amilaz aktivitesini bloke ettiği bulgulanmıştır; ancak VÇY'lerin bu enzim üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Alfa-glukozidaz enzimi üzerine olan etkiye gelince VÇY'lerden elde edilen özütler pozitif kontrol olan akarboza (IC_{50} değeri: 19.47 mg/mL) kıyasla ilgili enzime karşı daha yüksek bir inhibe edici etki sergilediği görülmüştür. VÇY'nin göstermiş olduğu davranışla benzer bir sonuç biber çekirdeği yağının antidiyabetik etkisi üzerine yürütülen bir çalışmada belirlenmiştir. Yazarlar

örneklerin α-amilaz üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını; ancak α-glukozidazı inhibe etme (IC_{50} değeri: 22.29 mg/mL) yeteneğinin olduğunu rapor etmişlerdir (Başyiğit ve ark., 2020a). Aynı materyalden elde edilen biyoaktif bileşikler, α-amilaz ve α-glukozidazın aktif merkezi üzerinde farklı etkilere sahip olabileceği literatürde rapor edilmiştir (Nowicka ve ark., 2016).

Çizelge 4.6. Vişne çekirdeği yağının antiyabetik aktivite değerleri

Enzimler	Birim	Vişne çekirdeği yağı	Akarboz
α-amilaz	mg/mL	t_e	0.022±0.00
α-glukozidaz	mg/mL	5.16 ± 0.03	19.47±1.12

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). t_e : tespit edilememiştir.

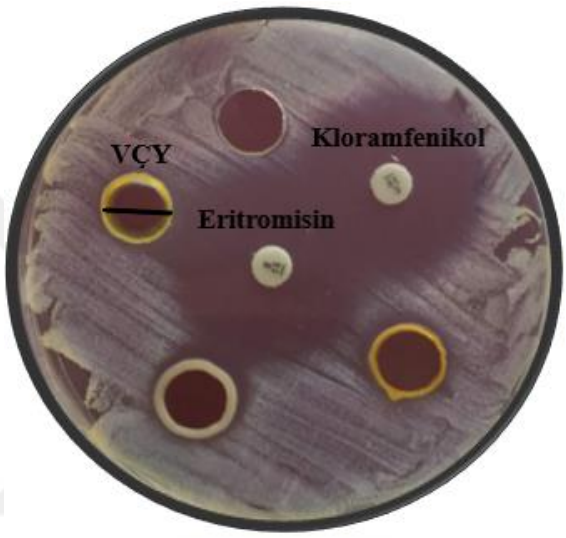
4.2.7. Vişne çekirdeği yağının antimikrobiyal aktivitesi

VÇY'lerin seçilen 6 mikroorganizmaya (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404) karşı inhibisyon zon çapı (IZ) Çizelge 4.7.'de verilmiştir. VÇY'ler mikroorganizmalar arasında sadece *S. aureus*'a (IZ: 12 mm) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. İlgili mikroorganizma üzerine VÇY'nin antimikrobiyal aktivitesini gösteren petri görüntüsü Şekil 4.2.'de verilmiştir. Elde edilen sonucun biyolojik özellikleri literatür çalışmalarında vurgulanan çörek otu (IZ: 11-12 mm) (Mohammed ve ark., 2019) ve biber çekirdeği (IZ: 13 mm) (Başyiğit ve ark., 2020a) yağlarının *S. aureus* mikroorganizması üzerine göstermiş olduğu antimikrobiyal etki ile benzemektedir; ancak aynı mikroorganizma üzerine bu tez kapsamında pozitif kontrol olarak seçilen eritromisinin (IZ: 21 mm) ve kloramfenikolun (IZ: 28 mm) yağ materyallerine göre yaklaşık iki ile iki buçuk kat daha fazla zon çaplarına sahip oldukları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Vişne çekirdeği yağının antimikrobiyal aktivite değerleri

Mikroorganizmalar	Pozitif kontroller		Vişne çekirdeği yağı
	Eritromisin (mm)	Kloramfenikol (mm)	IZ (mm)
E. faecalis	21±1	27±1	t_e
S. aureus	21±1	28±1	12±1
P. aerugonisa	22±1	24±1	t_e
E. coli	14±1	28±1	t_e
C. albicans	t_e	t_e	t_e
A. brasiliensis	t_e	t_e	t_e

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). IZ: inhibisyon zon çapı, t_e : tespit edilememiştir.



Şekil 4.2. Vişne çekirdeği yağının *S. aureus*'a karşı inhibisyon zon çapı

VÇY: Vişne çekirdeği yağı

4.3. Mazı (*Quercus infectoria* gal)

Protein gibi farklı fonksiyonel özelliklere sahip yapıların DM olarak kullanıldığı kapsülleme sistemlerinde seçilecek çekirdek materyalinin de benzer şekilde üstün biyolojik aktivite sergilemesi arzu edilen hipoteze ulaşmak adına önem arz etmektedir. Bu yüzden bu çalışmada çekirdek materyal olarak değerlendirilen MGF'lerin içermiş olduğu fonksiyonel yapılar ve sergilediği biyolojik aktiviteler TFM miktarı, TF madde miktarı, THTMM, fenolik fraksiyonları, antioksidan kapasite, antidiyabetik aktivite ve antimikrobiyal aktivite analizleri ile detaylı bir şekilde araştırılmıştır.

4.3.1. Mazı gal fenoliklerinin toplam fenolik, toplam flavanoid ve toplam hidrolize tannin madde miktarı

MGF'lerde bulunan ve biyolojik aktivitelerle doğrudan ilişkili olan biyoaktif maddeler TFM miktarı, TF madde miktarı ve THTMM analizleri ile belirlenmiştir. Su kullanılarak özütlenen örneklerin TFM miktarı, TF madde miktarı ve THTMM sırasıyla 480.72 mg GAE/g, 35.25 mg KE/g ve 435.77 mg TAE/g olarak bulgulanmıştır (Çizelge 4.8.). Sonuçlar MGF'lerin fenolik maddelerce ve özellikle hidrolize tanence zengin olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde literatür çalışmalarında da gal örneklerinin tanen deposu olduğu vurgulanmıştır (Arina ve Harisun, 2019). Elde edilen sonuçlar birçok çalışmada içermiş olduğu tannin özelliği ile öne çıkarılan nar kabukları ile karşılaştırılmıştır. Alsataf ve ark. (2021) narın farklı dokuları üzerine yürütmüş oldukları çalışmada nar kabuğunun hidrolize tannin içeriğini 102 mg TAE/g olduğunu bulgulamışlardır. Bir başka çalışmada basınçlı solvent ekstraksiyonu tekniği kullanılarak elde edilen nar kabuğu özütlerinin tanen içeriği 262.70 mg TAE/g değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çam ve Hışıl, 2010).

Çizelge 4.8. Mazı gal fenoliklerinin toplam fenolik, flavanoid ve hidrolize tanen madde miktarı

Biyoaktif bileşen	Birim	Mazı gal fenolikleri
Toplam fenolik madde miktarı	mg GAE/g	480.72±3.76
Toplam flavanoid madde miktarı	mg KE/g	35.25± 0.99
Toplam hidrolize tanen madde miktarı	mg TAE/g	435.77± 5.68

Sonuçlar ortalama±standart sapmas olarak ifade edilmiştir (n=3). GAE: gallik asit eşdeğeri, KE: kateşin eşdeğeri, TAE: tannik asit eşdeğeri.

4.3.2. Mazı gal fenoliklerinin fenolik fraksiyonları

Bir materyalin içermiş olduğu toplam biyoaktif bileşik kadar ilgili biyoaktif bileşiklerin hangi alt fraksiyonlardan oluştuğunu tespit etmek de oldukça önemlidir. Örneğin toplam biyoaktif bileşik madde miktarı düşük olan bir materyalin yapısında var olan özel gruplar nedeniyle biyoaktif maddeleri daha fazla içeren başka bir materyale göre daha fonksiyonel olduğunu vurgulayan çalışmalar literatürde yer almaktadır (McDougall ve ark., 2005). Farklı bir yaklaşımla *in vitro* şartlarda istenilen seviyelerde aktivite gösteren fonksiyonel bir bileşik yapısı gereği *in vivo*

koşullarda benzer etkiyi/biyoyararlılığı gösterememektedir (Santos ve ark., 2019). Bu ve bunun gibi nedenlerden dolayı spesifik grupların belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu yüzden çalışmanın bu bölümünde MGF'lerin fenolik fraksiyonları LC-MS/MS cihazı ile tespit edilmiştir. Bitkide bulunan baskın fenolik bileşiklerin ellajik asit (7887.48 mg/kg) ve gallik asit (6842.60 g/kg) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9.). Bu özel yapıların varlığı gal bitkisine biyolojik aktivite noktasında şüphesiz önemli avantajlar sağlayacaktır. Hem gallik asit hem de ellajik asidin insan promiyelositik lösemi hücre hatlarına ve ilaca dirençli alt hatlarına karşı sitotoksik aktivite gösterdiği literatürde belirtilmiştir (Maruszewska ve Tarasiuk, 2019). Ellajik asidin, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör geninin ekspresyonunu artırarak ve mikrozomal triasilgliserol transfer proteininin mRNA düzeyini aşağı regüle ederek apolipoprotein B'yi (apoB) azaltarak kolesterol metabolizmasını iyileştirdiği tespit edilmiştir (Kubota ve ark., 2019). Ellajik asit ve gallik asitin antioksidatif, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antiviral aktivitesi gibi biyolojik davranışlarını konu alan birçok farklı çalışma yürütülmüştür (García-Niño ve Zazueta, 2015; Zahrani ve ark.,2020; Gupta ve ark., 2021).

Çizelge 4.9. Mazı gal fenoliklerinin fenolik fraksiyonları

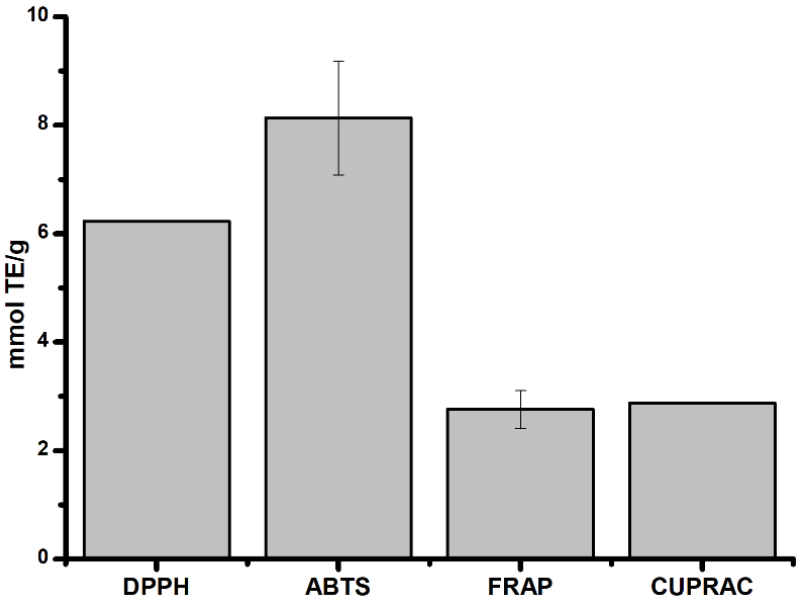
Fenolik bileşik	**Moleküler formülü**	**Öncü iyon (*m/z*)**	**Ürün iyon (*m/z*)**	**İyon modu**	**Birim**	**Mazı gal fenolikleri**
Gallik asit	$C_7H_6O_5$	169.20	125.0	Neg	mg/kg	6842.60±1.45
Kateşin	$C_{15}H_{14}O_6$	291.10	139.0	Neg	mg/kg	17.53±0.27
Kafeik asit	$C_9H_8O_4$	179.20	135.0	Neg	mg/kg	0.11±0.00
Ellajik asit	$C_{14}H_6O_8$	300.90	145.1	Neg	mg/kg	7887.48±1.26
Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	271.10	150.9	Neg	mg/kg	0.45±0.06
Salisilik asit	$C_7H_6O_3$	137.20	93.0	Neg	mg/kg	0.83±0.12
p-Hidroksibenzoik asit	$C_{15}H_{12}O_5$	137.20	93.0	Neg	mg/kg	0.60±0.14

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.3.3. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan kapasitesi

Farklı reaktifler ve reaksiyonlar canlı organizmalarda oksidatif stres oluşumunu tetikler. Bazı doğal ve yapay ajanlar bu oluşumları engellemektedir; ancak her oksidatif stres oluşum mekanizması birbirinden farklı olduğu için bu oluşumları engellemek için kullanılacak ajanların da ilgili stres üzerine spesifik bir etkiye sahip olması gerekmektedir. Bu sebeplerden dolayı daha öncede belirtildiği gibi bir

materyalin antioksidatif etkisini *in vitro* koşullarda tek bir metot ile tanımlamak tam anlamıyla doğru olmayacaktır (Niki, 2010). Bu yüzden MGF'lerin antioksidatif etkisi DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC dâhil olmak üzere 4 farklı metot ile incelenmiştir. Sonuçlar mmol TE/g olarak Şekil 4.3.'de verilmiştir. MGF'ler en yüksek antioksidatif kapasiteyi 8.13 mmol TE/g değeri ile ABTS radikali üzerinde sergilemiştir. DPPH, FRAP ve CUPRAC değerleri ise sırasıyla 6.13, 2.76 ve 2.88 mmol TE/g olarak bulgulanmıştır. MGF'lerin göstermiş olduğu bu güçlü antioksidatif davranışın yapısında yer alan özellikle tanen gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar önemli tanen kaynakları arasında yer alan nar kabuklarının antioksidan özellikleri ile karşılaştırılmıştır. MGF'lerin antioksidatif kapasitesi daha önce nar kabuğu için belirlenen DPPH (0.85 mmol TE/g), ABTS (0.77 mmol TE/g), FRAP (0.75 mmol TE/g) ve CUPRAC (0.95 mmol TE/g) değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Alsataf ve ark., 2021). Bir başka çalışmada nar kabuğu için ABTS ve FRAP değerleri sırasıyla 1.36 ve 0.59 mmol TE/g olarak not edilmiştir (Fischer ve ark., 2011). MGF'lerin nar kabuklarına ilaveten antioksidan deposu olarak literatürde vurgulanan birçok farklı doğal materyalden de daha yüksek antioksidatif etki sergilediği bulgulanmıştır (Fernandes ve ark., 2016). Gal özütlerinin neden bu tez çalışması kapsamında enkapsülasyon sistemlerinde çekirdek materyal olarak seçildiğinin cevaplarından bir tanesi, elde edilen yüksek antioksidatif kapasitesi ile bu bölümde verilmiştir.



Şekil 4.3. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan kapasite değerleri

Sonuçlar üç tekerrürün ortalama±standart sapması olarak ifade edilmiştir (n=3)

4.3.4. Mazı gal fenoliklerinin antidiyabetik aktivitesi

Sindirim enzimleri olarak organizmada yer alan pankreatik amilazı ve bağırsak glukozidazı karbonhidratları hidrolize uğratarak onların monomerlerine dönüşmesinde rol alırlar. Örneğin oligosakkaritler ve disakkaritler bu enzimler tarafından basit yapılara parçalanır ve elde edilen monosakkaritler kolay bir şekilde kan dolaşımına dâhil olurlar. Bu ve benzeri sebeplerden dolayı hiperglisemi ve tip 2 diyabeti kontrol altında tutmak için bu enzimlerin inhibisyonları takip edilmelidir (Zhu ve ark., 2012; Podsędek ve ark., 2014). Bu amaçla akarboz, miglitol ve vogliboz gibi inhibitörler, diyabetik hastalarda gıda alımından sonra kan glukoz seviyelerinin kontrol edilmesine yardımcı oldukları için tedavi amaçlı yararlanılmaktadır (Kumar ve ark., 2011); ancak bu ilaçların ishal, karın krampları ve gaz gibi bazı sorunlara da neden olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Ma ve ark., 2015). Bu sebeplerden dolayı hâlihazırda kullanılan ilaçlara alternatif olacak doğal yapılar aranmaktadır. Literatür çalışmaları biyolojik özellikleri ortaya konulmuş fenolik maddelere işaret etmektedir (McDougall ve ark., 2005). Bu çalışmada da neden enkapsülasyon sistemlerinde çekirdek materyali olarak MGF'lerin seçildiğini göstermek için galden özütlenen fenolik yapıların

antidiyabetik davranışları α-amilaz ve α-glukosidaz enzimleri özelinde araştırılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.10.'da verilmiş ve IC_{50} değerleri olarak ifade edilmiştir. MGF'ler 0.005 mg/mL IC_{50} değeri ile α-glukozidaz enziminin aktivitesini önlemede oldukça etkili olduğu görülmüştür; ancak α-amilaz karşı herhangi bir inhibe edici özellik sergilememiştir. Fenolikler sahip oldukları düşük IC_{50} değeri ile pozitif kontrol olarak seçilen akarboza (19.47 mg/mL) kıyasla α-glukozidazın aktif merkezi üzerine daha etkili olduğu bulgulanmıştır. Bu sonuç sentetik enzim inhibitörlerine alternatif olarak MGF'ler ile de karbonhidrat hidrolize reaksiyonlarında güçlü bir biyoajan olan α-glukozidaz enzim aktivitesini minimize edilebileceğini ve böylelikle karbonhidratların genel sindiriminin geciktirilerek glikoz emiliminde bir azalmanın mümkün olabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde 0.005 mg/mL (Çam ve İçyer, 2015) ve 0.03 mg/mL (Alsataf ve ark., 2021) değerleri ile nar kabuklarının da üstün α-glukozidaz inhibitörleri olduğu literatürde bulgulanmıştır.

Çizelge 4.10. Mazı gal fenoliklerinin antiyabetik aktivite değerleri

Enzimler	Birim	Mazı gal fenolikleri	Akarboz
α-amilaz	mg/mL	t_e	0.022±0.00
α-glukozidaz	mg/mL	0.005 ± 0.00	19.47±1.12

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). t_e: tespit edilememiştir.

4.3.5. Mazı gal fenoliklerinin antimikrobiyal aktivitesi

MGF'lerin sergilemiş oldukları antimikrobiyal aktivite referans ((*Staphylococcus aureus (*ATCC 6538P), *Pseudomonas aerugonisa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 8739) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)) ve klinik (*Bacillus subtilis, Escherichia coli, Klebsiella spp, Proteus spp, Staphylococcus aureus* ve *Shigella spp*) suşlara karşı test edilmiştir. Referans suşlar için pozitif kontrol olarak eritromisin, klinik suşlar için ise kloramfenikol kullanılmıştır. Örnekler ve pozitif kontroller 100 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış ve 30 µL alınarak kuyucuklara aktarılmıştır. MGF'lerin seçilen tüm referans şuslara karşı inhibitör etki gösterdiği bulgulanmıştır (Çizelge 4.11.). MGF'lerin *E. faecalis, S. aureus* ve *P. aerugonisa* karşı sergilemiş oldukları antimikrobiyal aktivitelerinin pozitif kontrol ile benzer olduğu saptanmıştır; ancak lipopolisakkarit dış zar bariyerlerine sahip gram-negatif bir mikroorganizma olan *E. coli* pozitif kontrole (IZ:

14 mm) karşı MGF'ler (IZ: 20 mm) ile karşılaştırıldığında daha dirençli olduğu bulgulanmıştır. Bu sonuç MGF'lerin üstün antimikrobiyal özelliğine işarettir. Literatürde doğal özütlerin *E. coli*'ye karşı inhibe edici etkisinin sınırlı olduğu belirtilmiştir (McCarrell ve ark., 2008). Klinik suşlara gelince çalışma kapsamında seçilen mikrorganizlar MGF'lere karşı daha az duyarlı oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.12.). MGF'ler uygulandığında *B.subtilis, Klebsiella ssp., Proteus ssp., S. aureus* ve *Shigella ssp.* için IZ'leri sırasıyla 18, 14, 20, 18 ve 16 mm olarak bulgulanırken bu değerler pozitif kontrol için 29, 25, 22, 30 ve 29 mm olduğu saptanmıştır. Referans suşlarda olduğu gibi MGF'ler (22 mm) *E. coli*'ye karşı kontrol grubuna göre antimikrobiyal özellik açısından daha üstün bir davranış sergilediği tespit edilmiştir. MGF'lerin sergilemiş olduğu antimikrobiyal aktivite diğer biyolojik özelliklerde olduğu gibi başta tanenler olmak üzere polifenol gruplarına atfedilebilir. Polifenol içeriği yüksek olan nar kabuğu özütlerininde de antimikrobiyal davranışlar sergilediği literatürde not edilmiştir (Alexandre ve ark., 2019; Alsataf ve ark., 2021).

Çizelge 4.11. Mazı gal fenoliklerinin referans şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri

Mikroorganizmalar	**Pozitif kontrol**	**Mazı gal fenolikleri**
	Eritromisin (mm)	**IZ (mm)**
E. faecalis	21±1	22±0
S. aureus	21±1	19±1
P. aerugonisa	22±1	23±1
E. coli	14±1	20±1

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). IZ: inhibisyon zon çapı, t_e : tespit edilememiştir.

Çizelg 4.12. Mazı gal fenoliklerinin klinik şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri

Mikroorganizmalar	**Pozitif kontrol**	**Mazı gal fenolikleri**
	Kloramfenikol (mm)	**IZ (mm)**
B.subtilis	29±2	18±1
E.coli	t_e	22±2
Klebsiella ssp.	25±2	14±0
Proteus ssp.	22±0	20±2
S. aureus	30±2	18±3
Shigella ssp.	29±1	16±1

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). IZ: inhibisyon zon çapı, t_e : tespit edilememiştir.

4.3.6. Enkapsülasyon sistemlerinde mazı gal fenolikleri

MGF'lerin yapısında var olan biyoaktif maddeler ve bu biyoaktif maddeler sayesinde sergilemiş oldukları fonksiyonel özellikler bu materyallerin gıda, ilaç ve kozmetik gibi sektörlerde kullanımının fayda sağlayacağını göstermektedir; ancak literatür çalışmaları fenolik maddelerin ısı, ışık ve oksijen gibi çevresel streslere karşı stabilitesinin düşük olduğunu ve kolaylıkla degradasyona uğrayabileceğini göstermiştir (Albuquerque ve ark., 2021). Bu ve benzeri sebeplerden dolayı biyolojik aktivitesi yüksek olan MGF'lerin farklı tekniklerle koruma altına alıp kullanılması daha makul görülmektedir. Bu amaca hizmet eden farklı teknolojiler ve uygulamalar olsa da son yıllarda özellikle enkapsülasyon sistemlerine fenolik maddeler dahil edilip belirtilen olumsuzlukların üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır (Çam ve ark., 2014); ancak önceki çalışmalar kısmında detaylı bir şekilde anlatıldığı gibi DM olarak karbonhidratlar bu biyolojik yapıların kapsüllenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sağlıklı beslenme alışkanlıkları, günümüzdeki kronik hastalıklar ve MGF'ler gibi üstün biyolojik aktiviye sahip materyallerin kendileri gibi fonksiyonel özellik sergileme potansiyeli olan DM ile kaplanması göz önüne alındığında karbonhidratların kullanımı çok da tercih edilebilir bir yaklaşım olarak görülmemektedir. Belirtilen bu sebepler MGF'lerin protein kapsülleri içerisine hapsedilmesinin motivasyonunu oluşturmaktadır.

4.4. Vişne (*Prunus cerasus*) Çekirdeği Proteinleri

Çalışmanın bu kısmında öncelikle VÇ'lerden proteinlerin özütlenmesi için optimum koşullar belirlenmiştir. Daha sonra elde edilen protein çözeltileri farklı tekniklerle kurutulmuş ve enkapsülasyon sistemleri için en uygun kurutma tekniği tespit edilmiştir.

4.4.1. Vişne çekirdeğinden protein özütleme işlem koşullarının optimizasyonu

Literatür çalışmalarında ve gıda sektöründe yer alan firmalarla yapılan görüşmelerde elde edilmesi planlanan nihai protein tozlarının saflık derecelerinin

olabildiğince yüksek seviyelerde olması gerektiği vurgulanmıştır. Bu ve benzeri özelliklerin son ürünlerde istenilen seviyelerde olabilmesi için çekirdek materyaller gibi karmaşık yapılara sahip hammaddelerden ürünlerin özütlenmesinde makul bir optimizasyon çalışmasının yapılması arzu edilen hipotezi tam olarak desteklemek açısından göz ardı edilmemesi gereken bir noktadır. Bu yüzden özütleme işlemleri son üründeki saflık oranını etkilemesi muhtemel faktörler göz önüne alınarak yürütülmesi gerekmektedir. Protein özütleme işlemlerinde son ürün özellikleri üzerine çözücü pH'sının, çözücü sıcaklığının, özütleme süresinin, çözücü-örnek oranının (Firatligil-Durmus ve Evranuz, 2010) ve kullanılan tekniğin (Görgüç ve ark., 2019) etkili olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Bu parametreler göz önüne alınarak tez kapsamında çözücü pH'sının (6.0-10.0), özütleme süresinin (20-180 dk) ve çözücü-örnek oranının (10-30 mL/g) nihai protein tozlarının saflığı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Diğer faktörler (sıcaklık, çözücü tipi, özütleme tipi vs.) sabit tutulmuş ve merkezi tümleşik tasarıma dâhil edilmemiştir.

Merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan 17 deneme noktası ve her bir nokta için elemental analiz cihazı kullanılarak ölçülen son ürünlerdeki protein saflık oranları (bağımlı değişken) Çizelge 4.13.'de verilmiştir. Deneme noktalarına göre sonuçlar kontrol edildiğinde son ürünlerdeki protein saflık oranının %48.43 ile %77.25 arasında değiştiği bulgulanmıştır.

Çizelge 4.13. Protein özütleme işleminde merkezi tümleşik tasarımı kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve noktalar için elde edilen protein saflığı sonuçları

Deneme noktaları	Bağımsız değişkenler			Bağımlı değişken
	pH	Süre (dk)	Çözücü-örnek (mL/g)	Protein saflığı (%)
1	8.0	100	30	77.25
2	6.0	100	10	57.50
3	8.0	180	50	57.00
4	10.0	20	30	64.94
5	8.0	100	30	73.56
6	10.0	180	30	48.44
7	6.0	100	50	60.88
8	8.0	180	10	68.75
9	8.0	100	30	73.69
10	6.0	20	30	69.19
11	8.0	20	50	67.25
12	10.0	100	50	48.81
13	8.0	100	30	76.25
14	6.0	180	30	62.81
15	8.0	20	10	64.94
16	10.0	100	10	65.13
17	8.0	100	30	73.44

VÇ posalarından VÇP eldesi için yürütülen optimizasyon çalışmalarına ait model çıktıları Çizelge 4.14'de sunulmuştur. Çalışma için uygun modelin seçiminde istatistiksel parametreler olan maksimum belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}), Fisher test değeri (F değeri), *p* değeri ve anlamlı olmayan uyum eksikliği (lack of fit) dikkate alınmıştır. Çizelge 4.14'deki sonuçlar değerlendirildiğinde lineer ve iki faktörlü/etkişimli (2FI) modellerin sahip olduğu düşük R^2, düşük R^2_{adj} ve *p* değerinin (uyum eksikliğinin) istatistiksel olarak önemli olması bu modellerin yanıt olarak seçilen protein saflığında meydana gelen değişimleri yeterince açıklama kapasitelerinin olmadığını göstermektedir. Eğer kübik modeller seçilseydi veri kayıplarının ve elde edilen grafiklerin yanıltıcı olabileceği bulgulanmıştır. Dolayısıyla bu parametreler dikkate alındığında ikinci dereceden polinom modelin (kuadratik model) bağımlı değişken olarak seçilen protein saflığını açıklamak için en iyi performansa sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.145. Vişne çekirdeği posasından protein özütleme koşullarına ait model istatistik sonuçları

Bağımlı değişken	Model	Standart sapma	R^2	R^2_{adj}	F-değeri	*p*-değeri	Uyarılar
Protein saflığı	Lineer	8.66	0.1954	0.0097	33.57	0.0020 #	
	2FI	8.95	0.3375	-0.0601	41.35	0.0015#	
	Kuadratik	3.23	0.9395	0.8618	6.34	0.0533	Önerilen
	Kübik	1.78	0.9895	0.9580	-	-	

Uyum eksikliğinin istatistiksel olarak (p<0.001) anlamlı olduğunu göstermektedir.

Çalışma kapsamında seçilen 3 bağımsız değişkenin (Çözücü pH'sı, özütleme süresi ve çözücü-örnek oranı) protein saflığı üzerine istatistiksel olarak bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Bağımsız değişkenlerin interaksiyonlarının bağımlı değişken üzerine olan etkisi incelendiğinde ise sadece *pH x çözücü-örnek oranı* son üründeki protein saflık düzeyini önemli seviyede etkilediği bulgulanmıştır (P<0.05) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Vişne çekirdeği posasından protein özütleme koşullarına ait model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Parametreler	Katsayı	Protein saflığı (%)
Kesişim	β_0	-133.69336###
Lineer		
pH	β_1	43.63203#
Süre	β_2	0.25742#
Çözücü-Örnek oranı	β_3	2.08566#
Etkileşimli		
pH x Süre	β_{12}	-0.015820
pH x Çözücü-Örnek oranı	β_{13}	-0.12305#
Süre x Çözücü-Örnek oranı	β_{23}	-2.19727×10^{-3}
İkinci derece		
pH x pH	β_{11}	-2.48750###
Süre x Süre	β_{22}	-5.53711×10^{-4}
Çözücü-Örnek oranı x Çözücü-Örnek oranı	β_{33}	-0.017023##

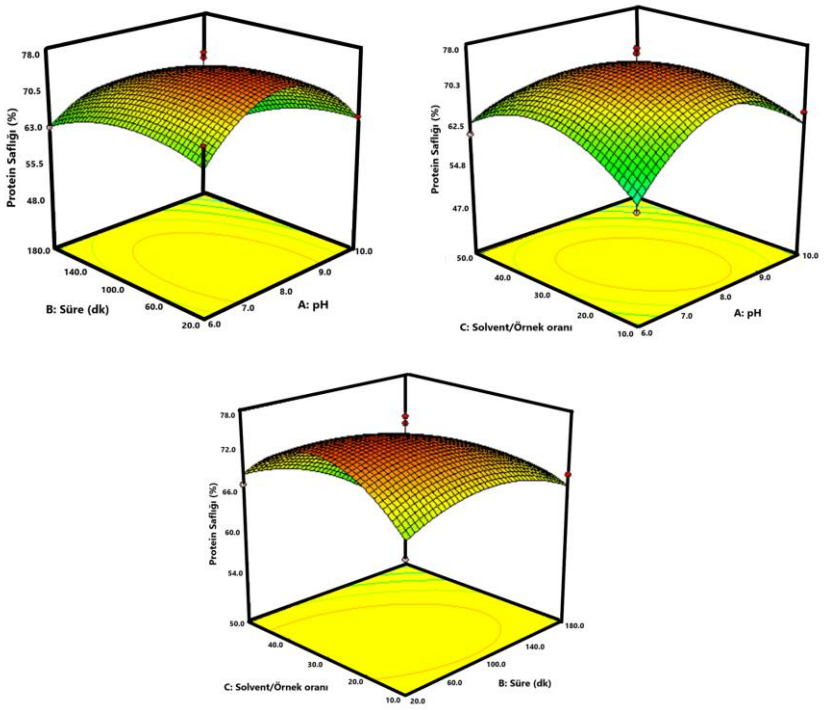
Model denklemi: Y (Bağımlı değişken) = β0 + β1(pH) + β2(Süre) + β3(Çözücü-Örnek oranı) + β12(pH×Süre) + β13(pH×Çözücü-Örnek oranı) + β23(Süre×Çözücü-Örnek oranı) + β11(pH×pH) + β22(Süre×Süre) + β33(Çözücü-Örnek oranı×Çözücü-Örnek oranı)' # P<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001.

Model denklemden yola çıkarak ve ilgili katsayılar denklemde kullanıldığında bağımlı değişken olarak seçilen protein saflığını tahmin etmek için eşitlik aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Protein saflığı = -133.69336 + 43.63203(pH) + 0.25742(Süre) + 2.08566(Çözücü-Örnek oranı) - 0.015820(pH×Süre) - 0.12305(pH×Çözücü-Örnek

oranı) - 2.19727x10^{-3}(Süre×Çözücü-Örnek oranı) - 2.48750(pH×pH) - 5.53711x10-4(Süre×Süre) - 0.017023(Çözücü-Örnek oranı×Çözücü-Örnek oranı)

Çözücü pH'sında, özütleme süresinde ve çözücü-örnek oranında meydana gelen artmaların ve azalmaların protein saflığı üzerindeki etkileri Şekil 4.4'deki grafikler üzerinde verilmiştir. Protein saflık oranı pH'nın artmasıyla belirli bir noktaya kadar artmıştır; ancak belirli bir noktadan sonra düşüşün meydana geldiği bulgulanmıştır. Bu durum alkali oranı arttıkça VÇ'nin hücre duvarının parçalanma seviyesinin artması ile açıklanabilir. Hücre duvarında yer alan karbonhidratlar veya diğer makro/mikro bileşenler de muhtemelen kolay bir şekilde özüte geçmiş ve böylelikle protein saflığında düşüşe neden olmuş olabilirler. Benzer şekilde süre ve çözücü-örnek oranı da belirli bir noktaya kadar protein saflığı üzerine pozitif bir etki sergilediği gözlemlenmiştir; ancak her iki bağımsız değişken için de belirli bir pik noktasından sonra protein saflığında düşüş başlamıştır. Bu duruma sürenin ve çözücü-örnek oranının artması ile birlikte pH'da olduğu gibi karbonhidratların veya diğer makro/mikro bileşenlerin solvent içerisindeki çözünme oranının artmasının neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.4. Protein saflığı üzerine pH, süre ve çözücü-örnek oranının etkisi

4.4.1.2. Protein özütleme işlemi için optimum çalışma koşulları

Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak elde edilen verilere göre protein özütleme işlemi için 0.952 kabul edilebilirlik seviyesinde pH 7.73, özütleme süresi 63 dk ve çözücü-örnek oranı 29 mL/g olarak bulgulanmıştır. Elde edilen protein özütleri optimal koşullarda hazırlanmış ve sonraki adımlarda kullanılmıştır.

4.4.2. Vişne çekirdeğinden elde edilen protein özütlerinin farklı tekniklerle kurutulması

Kurutma tekniklerinin elde edilen protein tozlarının fizikokimyasal ve fonksiyonel özelikleri üzerine etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda bulgulanmıştır (Schuck ve ark., 2013; Ghribi ve ark., 2015). Bu tez kapsamında da farklı parametreler değerlendirilerek VÇP'lerin enkapsülasyon sisteminde kullanılabilmesi için hangi teknik ile kurutulmasının (PK, DK, OŞK ve KK) daha efektif olduğu tartışılmıştır. PK sistemlerinde yapılan kurutma işleminde olabildiğince düşük sıcaklıklarda sistemin ilerlemesi hedeflenmiştir. Bu amaçla PK giriş sıcaklığı kademeli olarak (10 °C) 110 °C'den başlayarak artırılmış ve kurutma işlemi için en uygun ve düşük sıcaklık belirlenmiştir. Uygulanan ilk 3 sıcaklıkta (110, 120 ve 130 °C) protein solüsyonlarının kurumadığı ve örneklerin PK'nin siklonuna yapıştığı gözlemlenmiştir. Hava giriş sıcaklığı 10 °C artırılıp 140 °C'ye getirildiğinde ise örneklerde belirtilen olumsuzluğun net bir şekilde görülmediği tespit edilmiştir. Olabildiğince düşük bir sıcaklıkta işlemin yürütülmesi hedeflendiği için PK sisteminde tozlar 140 °C'de kurutulmuştur. Elde edilen tozların özellikleri (toplam protein, amino asit kompozisyonu, çözünürlük, emülsiyon aktivitesi, emülsiyon stabilitesi ve emulsiyonların optik mikroskobu) DK, OŞK ve KK teknikleri kullanılarak kurutulan VÇP'ler ile karşılaştırılmıştır. PK, DK, OŞK ve KK teknikleri ile kurutulan VÇP'lere ait görüntüler Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı tekniklerle kurutulmuş vişne çekirdeği proteinleri

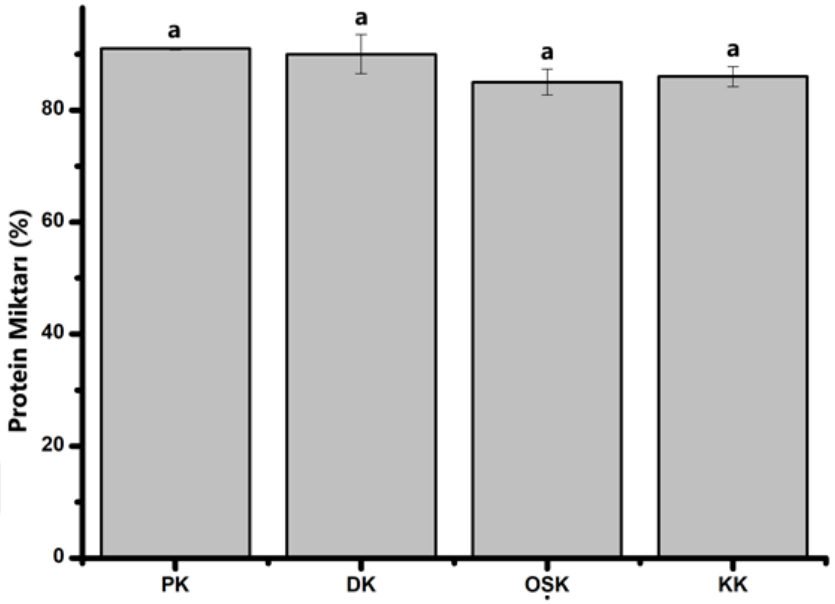
PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma

4.4.2.1. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının toplam protein miktarı

PK, DK, OŞK ve KK teknikleri ile elde edilen VÇP'lerin toplam protein miktarı Şekil 4.6'da verilmiştir. Farklı kurutma tekniklerinin son ürünlerin protein miktarı üzerinde istatistiksel olarak herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05). Protein miktarlarında herhangi bir farklılığın olmaması ilgili parametrenin kurutma tekniğinden ziyade özütleme yöntemine bağlı olmasına atfedilebilir. Benzer şekilde nihai protein tozlarının toplam protein madde miktarı üzerine kurutma yöntemlerinin herhangi bir etkisinin olmadığı önceki çalışmalarda not edilmiştir (Joshi ve ark., 2011; Ghribi ve ark., 2015). Yütülen bu tez çalışması kapsamında VÇP'lerin içermiş olduğu protein miktarı ise %85 ile 91 arasında değiştiği bulgulanmıştır. Üretilen VÇP'lerin tümü %80'den fazla protein içeriğine sahip olduğu için '*protein izolatı*' olarak kabul edilmektedir (Ghribi ve ark., 2015). Dolayısıyla 4 kurutma tekniği için de elde edilen protein saflık derecesi gerek bilimsel literatürün gerekse gıda endüstrisinin hedefleri ile bire bir bağdaşmaktadır. Elde edilen değerler literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında Ghribi ve ark. (2015) tarafından nohut protein tozları için rapor ettikleri %61.20-63.12 değerinden yüksek; Joshi ve ark. (2011)'nın mercimek proteinleri için belirlemiş olduğu %90.2-91.4 sonuçlarına yakın olduğu saptanmıştır.

Çalışma özelinde düşünüldüğünde de yüksek protein oranına sahip toz ürünlerle kapsülasyon işlemine devam etmek başlangıçta düşünülen hipotezlere uygunluk açısından önem arz etmektedir. Her ne kadar istatistiksel olarak tozların

protein seviyelerinde fark olmasa da PK sistemi ile elde edilen protein materyallerinin düşük de olsa daha avantajlı olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.6. Toz ürünlerdeki toplam protein miktarı

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)
Benzer harfler ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark olmadığını göstermektedir (P>0.05)
PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma

4.4.2.2. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının amino asit kompozisyonu

Karbonhidratlara alternatif besinsel değeri yüksek bir proteinin DM olarak enkapsülasyon sistemine dâhil edilmesi bu çalışmanın en önemli amaçlarından biri olduğu metin içerisinde birçok yerde vurgulanmıştır. Proteinlerin besinsel değerinin içermiş oldukları esansiye amino asit profili ile yakından ilgili olduğu göz önüne alındığında (Li ve ark., 2021) farklı kurutma tekniklerinin özellikle esansiyel amino asit profili üzerine bir etkisinin olup olmadığının araştırılması elzem bir durum haline gelmiştir. VÇP'lerde baskın esansiyel amino asitlerin lösin (PK: %6.36, DK: %7.91, OŞK: %7.70 ve KK: %7.24) treonin (PK: %5.13, DK: %5.86, OŞK: %5.60 ve KK: %6.39), valin (PK: %4.78, DK: %3.73, OŞK: %4.15 ve KK: %4.08), fenilalanin (PK: %4.44, DK: %4.89, OŞK: %4.88 ve KK: %4.48) ve lizin (PK: %2.81, DK:

%2.60, OŞK: %2.31 ve KK: %2.18) olduğu bulgulanmıştır. Toplam esansiyel amino asit miktarı ise %28.30 ile 29.32 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.16.). Benzer sonuçlar nar çekirdeği proteinleri (%29.43) için de not edilmiştir (Yücetepe ve ark., 2021). Meyve işleme atığı olan bu çekirdeklerden elde edilen proteinlerin içermiş oldukları esansiyel amino asit oranından dolayı tek başlarına günlük protein gereksinimini karşılayacak seviyede oldukları söylenebilir (WHO/FAO/UNU Expert Consultation, 2007); ancak yulaf (%21), acı bakla (%21), buğday (%22), kenevir (%23) ve mikroalg (%23) gibi diğer bitkisel kaynaklı proteinler için benzer bir yorumun yapılması mümkün görünmemektedir (Gorissen ve ark., 2018). Glutamik asitin VÇP'lerde esansiyel olmayan amino asitler arasında oran olarak ilk sırada yer aldığı bu amino asidi ise aspartat, glisin, serin, arginin ve prolinin takip ettiği saptanmıştır. Sonuçlar bu haliyle literatür verilerince desteklenmektedir. Farklı çalışmalarda bitki kaynaklı proteinlerde en fazla bulunan amino asidin glutamik asit olduğu rapor edilmiştir (González ve ark., 2012; Yücetepe ve ark., 2021).

Çizelge 4.16. Vişne çekirdeği proteinlerinin amino asit profili

Amino asit	PK (%)	DK (%)	OŞK (%)	KK (%)
Esansiyel amino asitler				
Histidin	1.06±0.10[a]	1.14±0.14[a]	1.02±0.09[a]	1.12±0.11[a]
Hidroksilizin	0.02±0.00[a]	0.01±0.00[b]	0.01±0.00[b]	0.01±0.00[b]
İzolösin	2.08±0.15[a]	2.40±0.12[a]	2.30±0.10[a]	2.34±0.17[a]
Lösin	6.36±0.25[b]	7.91±0.11[a]	7.70±0.19[a]	7.24±0.27[ab]
Lizin	2.81±0.40[a]	2.60±0.26[a]	2.31±0.16[a]	2.18±0.30[a]
Metionin	0.59±0.12[a]	0.75±0.10[a]	0.47±0.14[a]	0.60±0.08[a]
Fenilalanin	4.44±0.29[a]	4.89±0.17[a]	4.88±0.36[a]	4.48±0.15[a]
Treonin	5.13±0.35[a]	5.86±0.24[a]	5.60±0.18[a]	6.39±0.14[a]
Triptofan	0.03±0.00[c]	0.03±0.00[b]	0.02±0.00[b]	0.04±0.00[a]
Valin	4.78±0.17[a]	3.73±0.42[a]	4.15±0.21[a]	4.08±0.14[a]
Toplam	28.30	29.32	28.46	28.48
Esansiyel olmayan amino asitler				
Alanin	5.54±0.37[a]	5.55±0.26[a]	5.63±0.14[a]	5.54±0.29[a]
Arginin	6.24±0.41[a]	6.24±0.18[a]	6.07±0.28[a]	5.96±0.32[a]
Asparajin	0.24±0.02[a]	0.07±0.01[c]	0.06±0.01[c]	0.16±0.04[ab]
Aspartat	10.67±0.56[a]	10.74±0.24[a]	11.23±0.21[a]	12.68±0.42[a]
Sitrülin	0.11±0.04[a]	0.06±0.02[a]	0.08±0.01[a]	0.07±0.01[a]
Sistein	1.01±0.07[a]	0.66±0.10[a]	0.47±0.09[a]	0.67±0.12[a]
Glutamik asit	21.69±0.23[a]	23.84±0.62[a]	23.76±0.87[a]	23.68±0.41[a]
Glutamin	1.70±0.14[a]	0.55±0.17[b]	0.56±0.11[b]	0.67±0.16[b]
Glisin	8.29±0.45[a]	7.41±0.36[a]	7.36±0.44[a]	7.63±0.27[a]
Hidroksiprolin	0.14±0.06[a]	0.06±0.01[a]	0.05±0.02[a]	0.22±0.04[a]
Prolin	5.72±0.29[a]	6.63±0.47[a]	6.30±0.62[a]	6.81±0.27[a]
Serin	6.60±0.12[a]	5.52±0.21[a]	6.79±0.59[a]	5.00±0.16[a]
Tirozin	3.65±0.24[a]	3.35±0.19[a]	3.18±0.32[a]	2.43±0.11[a]
Toplam	71.70	70.68	71.54	71.52

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir (P<0.05). PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma.

Sonuçlar incelendiğinde kurutma tekniğinin genel olarak VÇP'lerin amino asit kompozisyonu üzerine istatistiksel olarak herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05). Dolayısıyla nihai 4 protein tozu da amino asit profili açısından enkapsülasyon sistemine dâhil edilme noktasında birbirleri üzerine üstünlük sağlamadıkları saptanmıştır.

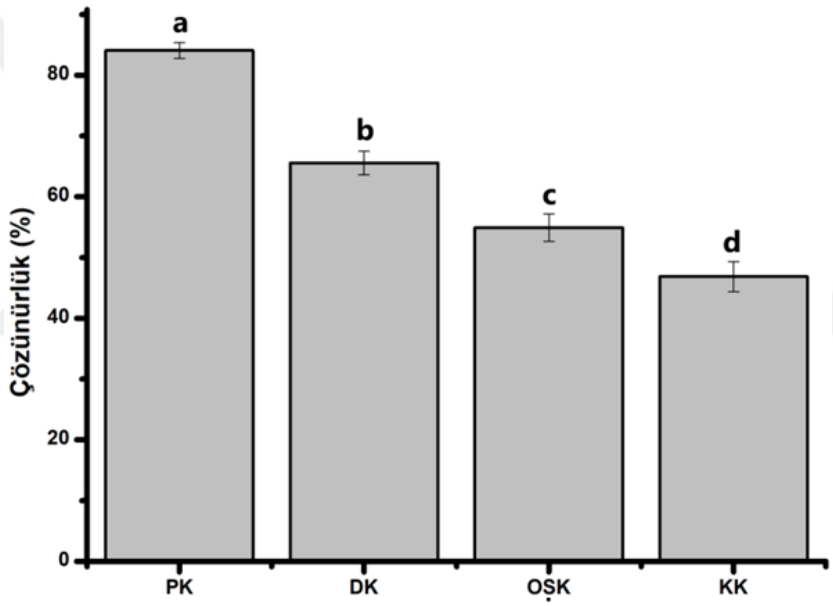
4.4.2.3. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının çözünürlükleri

Diğer tüm toz materyallerde olduğu gibi proteinlerin de suda çözünebilir formda olması önem arz eden konular arasındadır. Yüksek oranda çözünürlük proteinlere fonksiyonel özellik katmasının yanı sıra proteinlerin farklı uygulamalara kolay bir şekilde entegre edilebileceğine işaret etmektedir. Bu ve benzeri

yaklaşımlardan yola çıkarak proteinlerin çözünürlüklerini geliştirmek ve çözünürlük üzerine etkili olan parametreleri belirlemek için farklı çalışmalar yürütülmüştür. pH değişiminin protein çözünürlüğü üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda alkali koşullarda proteinlerin daha iyi çözündüğü vurgulanmıştır (Ghribi ve ark., 2015; Çelik ve ark., 2019). Ayrıca bu çalışmalarda proteinlerin izoelektrik noktasından uzaklaştıkça çözünürlüğün arttığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada kurutma tekniğinin çözünürlük üzerine etkisi detaylı bir şekilde tartışılmıştır (Joshi ve ark., 2011). Yürütülen bu tez çalışmasında da enkapsülasyon öncesi homojen solüsyonların hazırlanması ve istenilen bir kaplama işleminin gerçekleşmesi açısından proteinlerin çözünür bir formda olması oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle çalışmanın bu bölümünde farklı kurutma tekniklerinin (PK, DK, OŞK ve KK) proteinlerin çözünürlüğü üzerine etkisi araştırılmıştır (Şekil 4.7.). PK, DK, OŞK ve KK tekniklerinin nihai VÇP'lerin çözünürlüğü üzerine istatistiksel olarak etkili olduğu saptanmıştır (P<0.05). PK sistemi kullanılarak elde edilen VÇP'lerin %84.07 değeri ile çözünürlük oranının en iyi olduğu bulgulanmıştır. DK, OŞK ve KK teknikleri ile elde edilen protein tozlarının çözünürlük seviyeleri ise sırasıyla %65.56, 54.93 ve 46.86 olarak tespit edilmiştir. PK kullanılarak elde edilen tozların üstün çözünürlük değerleri literatür bulguları ile uyumlu görülmüştür. Joshi ve ark. (2011) mercimekten elde ettikleri protein özütlerini PK, DK ve vakum kurutma teknikleri kullanılarak toz forma dönüştürmüş ve elde edilen tozların çözünürlük davranışlarını karşılaştırmıştır. Yazarlar PK ile kurutulan protein tozlarının çözünürlüklerini %81.19 olarak rapor etmişlerdir. DK kurutma tekniği ile elde edilen protein tozlarının çözünürlük değeri ise %78.39 olarak not edilmiştir; ancak mercimek protein izolatı üzerine yapılan bu çalışmada çözünürlük açısından vakum kurutma tekniğinin protein tozu elde etmede makul olmadığı görülmüştür. Başka bir çalışmada protein konsantrelerinin çözünürlük açısından DK'nin KK (40 ve 50 °C)'ye göre daha iyi sonuçlar verdiği saptanmıştır (Ghribi ve ark., 2015). Hu ve ark. (2010) soya protein izolatı tozlarının PK ile elde edilmesinin DK ve vakum kurutma tekniklerine göre çözünürlük açısından daha uygun olduğunu bulgulamışlardır. Soya protein tozlarının pH 7'de çözünürlükleri PK için %70.20, DK için %40.80 ve vakum kurutma için %37.60 olduğu yapılan çalışmada tespit edilmiştir. PK sistemi ile kurutulmuş tozların sergilemiş oldukları üstün çözünürlük davranışı küçük ve tek

tip parçacık boyutu dağılımı ile bu prosesle elde edilen protein tozlarının düşük denatürasyonuna bağlanabilir. DK ile elde edilen proteinlerin çözünürlüğünün PK ile elde edilenden düşük olmasının sebebi kurutma süresi ile açıklanabilir. Benzer şekilde diğer 2 kurutmada da işlem süresinin uzun olması ve KK'de sıcaklık uygulanması çözünürlük seviyesinde düşüşe sebep olmuş olabilir (Joshi ve ark., 2011; Ghribi ve ark., 2015).

Elde edilen veriler ve literatür bilgilerine göre bu çalışma kapsamında çözünürlük açısından arzu edilen hedeflere ulaşmak için VÇP özütlerinin PK sistemi ile kurutması diğer yöntemlere göre daha makul olduğu yorumu yapılabilir.



Şekil 4.7. Proteinlerin çözünürlük değerleri

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)
Farklı harfler ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir (P<0.05)
PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma

4.4.2.4. Farklı kurutma teknikleri ile elde edilen protein tozlarının emülsiyon aktivite ve stabilite indeksi

Enkapsülasyon öncesi besleme solüsyonlarının uygun şekilde hazırlanması sağlıklı bir kapsülleme işlemi için önemli bir adımdır. Bu adımda besleme

çözeltisinin içerisinde yer alan DM'nin özellikle yağ kapsülleme işlemlerinde iyi bir emülsifiyer özelliğe sahip olması arzu edilen bir durumdur. Belirtilen durumlar göz önüne alınarak bu bölümde enkapsülasyon sistemine hangi metot ile kurutulmuş VÇP'nin uygun olduğu tartışılmıştır.

PK, DK, OŞK ve KK teknikleri ile kurutulan VÇP'lerin emülsiyon aktivite ve emülsiyon stabilite değerleri Çizelge 4.17.'de verilmiştir. Emülsiyon aktivite değerleri 95.00 m^2/g ile 114.10 m^2/g arasında bulunmuştur. En yüksek emülsiyon aktivite değeri PK tekniği kullanılarak kurutulmuş VÇP'de (114.10 m^2/g) tespit edilmiştir. Bu değer DK ile kurutulmuş proteinler için 104.00 m^2/g, OŞK ile kurutulmuş proteinler için 106.11 m^2/g ve KK ile kurutulmuş proteinler için ise 95.00 m^2/g olduğu saptanmıştır; ancak veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde farklı kurutma tekniklerinin emülsiyon aktivitesi indeksi üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Benzer şekilde emülsiyon stabilite indeksinin de farklı kurutma tekniklerinden etkilenmediği bulgulanmıştır. VÇP'lerin emülsiyon özellikleri diğer protein tozları ile karşılaştırıldığında emülsiyon aktivite indeksinin keten tohumu (375.51 m^2/g) (Kaushik ve ark., 2016) ve fasulye protein (534 m^2/g) (Subagio, 2006) izolatlarınkinden düşük, nohut (5.7 m^2/g) (Boye ve ark., 2010), fıstık (18.6 m^2/g) (Zhang ve ark., 2014) ve bezelye (47.9 m^2/g) (Karaca ve ark., 2011) protein izolatlarınkinden yüksek olduğu belirlenmiştir. Emülsiyon stabilite indeksine gelince VÇP için elde edilen değerler keten tohumu (180 s) (Kaushik ve ark., 2016) ve fasulye (2.7 s) (Subagio, 2006) protein izolatlarından çok düşük olduğu fıstık proteinlerine (19.18 dk) (Wu ve ark., 2009) ise yakın bir değer aldığı bulgulanmıştır.

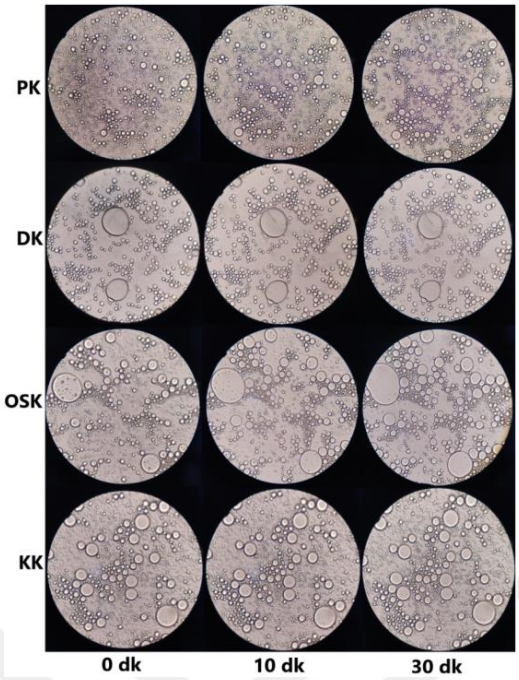
Emülsiyon özellikleri ile çözünürlük arasında pozitif bir kolerasyon olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2013). Bu yaklaşıma göre PK ile elde edilen VÇP'ler diğer 3 metotla karşılaştırıldığında çözünürlüğe bağlı olarak emülsiyon özelliklerinin de üstün olması gerekmektedir; ancak sonuçların bu hipotezi tam anlamıyla desteklemediği görülmektedir. Bu durum kurutma esnasında meydana gelen denatürasyonların bazı fonksiyonel özelliklerde iyileştirmeye sebep olmasından kaynaklanabilir. Denatürasyonla birlikte açığa çıkan yapılar yağ ve su arayüzeyinde yüzey aktivitesini ve adsorpsiyonu artırabilir (Nir ve ark., 1994).

Çizelge 4.17. Vişne çekirdeği proteinlerinin emülsiyon özellikleri

Enzimler	Birim	PK	DK	OŞK	KK
Emülsiyon aktivite indeksi	m^2/g	114.10±3.72[a]	104.00±4.41[a]	106.11±6.44[a]	95.00±8.00[a]
Emülsiyon stabilite indeksi	dk	21.24±2.46[a]	22.00±2.41[a]	23.00±2.00[a]	21.00±2.10[a]

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırdaki benzer harfler ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark olmadığını göstermektedir (P>0.05). PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma.

Çalışmanın bu bölümünde farklı kurutma teknikleri ile elde edilen VÇP ile stabilize edilen emülsiyonların başlangıçta, emülsiyonlar hazırlandıktan 10 ve 30 dk sonra optik mikroskobu görüntüleri alınmıştır (Şekil 4.8.). Elde edilen görüntüler ile yağ partiküllerinin davranışları yorumlanmış ve hangi kurutma tekniği ile elde edilen tozların daha iyi bir emülsiye edici özelliğe sahip olduğu tartışılmıştır. Diğer kurutma yöntemleri ile elde edilen tozlarla karşılaştırıldığında PK yöntemi kullanılarak kurutulan VÇP'leri içeren emülsiyonlardaki yağ damlacıklarının partikül boyutlarının daha küçük ve homojen bir yapıya sahip olduğu saptanmıştır. Emülsiyon içerisinde küçük yağ damlacıklarının varlığı ve bu damlacıkların homojen dağılımı kullanılan DM'nin doğru seçildiğine işarettir (Joshi ve ark., 2012). Emülsiyonlar hazırlandıktan 10 ve 30 dk sonra görüntüler alındığında PK aracılığıyla kurutulan protein tozların emülsifiyer olarak kullanıldığı emülsiyonlarda yağ parçacıklarının birleşme eğiliminde olmadığı tespit edilmiştir; ancak özellikle OŞK ve KK yöntemleri ile elde edilen VÇP'yi yapısında barındıran emülsiyonlardaki yağ parçacıklarının bir araya gelerek pıhtılaşma, flokülasyon ve agregasyon eğiliminde olduğu saptanmıştır. Bu durum OŞK ve KK yöntemleri ile kurutulan protein tozlarının yağ damlacıkları arasındaki van-der-Waals ve hidrofobik çekimlerle başa çıkmak için yeteri güçlerinin olmayışına atfedilebilir (Sun ve ark., 2021).



Şekil 4.8. Vişne çekirdeği proteinlerinin farklı dakikalarda alınmış emülsiyon görüntüleri

PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma

4.4.2.5. Enkapsülasyon sistemleri için uygun kurutma tekniğinin belirlenmesi

Nihai VÇP'lerin besinsel (toplam protein miktarı ve amino asit kompozisyonu) ve fonksiyonel (çözünürlük ve emülsiyon) özellikleri üzerine PK, DK, OŞK ve KK tekniklerinin sergilemiş oldukları etkilere bağlı olarak enkapsülasyon sistemi için uygun kurutma metodu belirlenmiştir. Çizelge 4.18 incelendiğinde enkapsülasyon sistemine dâhil edilecek VÇP'nin PK yöntemi ile kurutulmasının makul bir yaklaşım olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.18. Uygun kurutma tekniği için sonuçların değerlendirilmesi

Sonuçların	PK	DK	OŞK	KK
Toplam protein (%)	91	90	85	86
Esansiyel amino asitler (%)	28.30	29.32	28.46	28.48
Toplam amino asit (%)	71.70	70.68	71.54	71.52
Çözünürlük (%)	84.07	65.56	54.93	46.86
Emülsiyon aktivite indeksi (m^2/g)	114.10	104.00	106.11	95.00
Emülsiyon stabilite indeksi (dk)	21.24	22.00	23.00	21.00
Emülsiyonların optik görüntüleri	⊗⊗⊗⊗	⊗⊗⊗	⊗⊗	⊗⊗

Sonuçların karşısındaki ⊗ işaretinin saysal olarak fazla olması ilgili kurutma tekniğinin üstünlüğünü göstermektedir. Aynı sayıda ⊗ işareti ise farklılıkların önemsiz olduğunu göstermektedir. PK: Püskürtmeli kurutma, DK: Dondurarak kurutma, OŞK: Oda şartlarında kurutma, KK: Kabin kurutma.

4.5. Yağ Kapsülleri

PK tekniği ile elde edilen VÇP'lerin enkapsülasyon sistemi için uygunluğu çalışmanın bir önceki kısmında sebepleri ile açıklanmıştır. Bu bölümde besleme çözeltisi olarak yağ içinde su emülsiyonları VÇY ve VÇP kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besleme çözeltileri, proteinlerin PK sistemi ile kurutulmasında vurgulanan yaklaşıma benzer şekilde düşük sıcaklılarda toz forma dönüştürülmesi hedeflenmiştir. Bu yüzden ilgili yağ su emülsiyonları farklı hava giriş sıcaklıklarında (140, 150 ve 160 °C) enkapsülasyon işlemi için PK sistemine beslenmiştir. Uygun hava giriş sıcaklığına EV'den yararlanılarak karar verilmiştir. Bu değerin efektif üretim için kritik seviye olarak kabul edilen %50 veya üzerinde olması başarı kriteri olarak belirlenmiştir (Bicudo ve ark., 2015). PK hava giriş sıcaklığı 140 ve 150 °C'lere ayarlandığında EV'nin sırasıyla %28.95±0.57 ve %45.87±1.94 olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklık 160 °C'ye ulaştığında ise EV'nin %50.25±0.11 değere ulaştığı bulgulanmıştır. Verimin arzu edilen seviyelere ulaştığı sıcaklık 160 °C olduğu için kapsüller bu hava giriş sıcaklığında üretilmiştir. Üretilen kapsüllere ait görüntüler Şekil 4.9.'da verilmiştir.

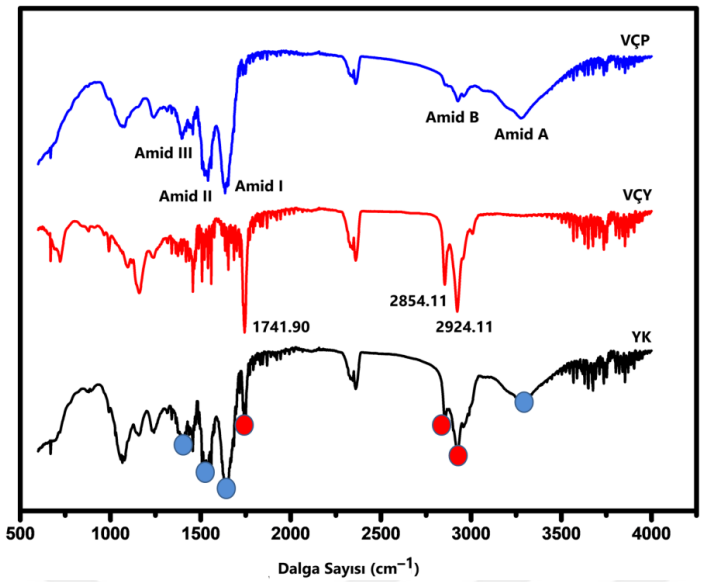


Şekil 4.9. Yağ kapsüllerine ait görüntüler

4.5.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

FTIR analizi kapsülasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğini göstermek için yapılmıştır. YK'lerin spektrumlarında VÇP'nin ve VÇY'nin doğal olarak yapısında bulunan özel gruplar araştırılmıştır. VÇP, VÇY ve YK'lerin FTIR spektrumları Şekil 4.10.'da sunulmuştur. VÇP'lerin karakteristik

absorbsiyon bantları, sırasıyla Amid A, Amid B, Amid I, Amid II ve Amid III gruplarına karşılık gelen 3276.77, 2926.96, 1633.39, 1539.15 ve 1396.38 cm^{-1} dalga boylarında tespit edilmiştir (Kar ve ark., 2019). Bu tipik aborpsiyon bantlarından 3726.77 cm^{-1} N-H gerilmesi, H bağlarının sayısı ve CH_2 gerilmesi; 2926.96 cm^{-1} =CH ve -NH3 gruplarının asimetrik titreşimi; 1633.39 cm^{-1} C=O germe titreşimi, C=O modlarının H bağları ile etkileşimi, CCN deformasyonu ve düzlem içi N-H germe titreşimi; 1539.15 cm^{-1} düzlem içi N-H deformasyon modları ve C-N gruplarının faz dışı stres titreşimi; 1396.38 cm^{-1} C-N gerilmesi, N-H bükülmesi ve C-C gerilmesi ile ilişkilidir (Dufour, 2009; Pezzei ve ark., 2010; Cakmak-Arslan ve ark., 2020). YK'lerin FTIR spektrumlarında bu bantlar açık bir şekilde görülmesine rağmen VÇY spektrumlarında bu bölgelerde herhangi bir banda rastlanılmamıştır. Bu nedenle, bu bantların kapsüllerdeki DM'nin moleküler parmak izini temsil ettiği sonucuna varılmıştır. VÇY karşılık gelen moleküler parmak izi cis çift bağlarının gerilme titreşiminden kaynaklanan 2924.11 cm^{-1}'de belirlenmiştir (Yücetepe ve ark., 2021). Yağ materyallerinin spektrumlarında belirlen trigliseritlerin ester karbonil fonksiyonel grupları ile ilişki olan bir diğer band 1741.90 cm^{-1} tespit edilmiştir (Lei ve ark., 2018). VÇY'lerde gözlemlenen bu iki band kapsüllerin FTIR spekrumlarında da görülmüştür; ancak VÇP'lerin spektrumlarında bu bölgelerde herhangi bir pik görülmemiştir. Dolayısıyla bu bantların kapsüllerdeki VÇY'nin moleküler parmak izini simgelediği kanısına varılmıştır. YK'lerin spektrumları içerisinde VÇP ve VÇY ile ilişkilendirilen özel grupların varlığı başarılı bir kapsülasyon sürecinin göstergesi olarak kabul edilmiştir.



Şekil 4.10. Vişne çekirdeği proteinlerinin, vişne çekirdeği yağlarının ve yağ kapsüllerinin FTIR spektrumları

VÇP: Vişne çekirdeği proteini, VÇY: Vişne çekirdeği yağı, YK: Yağ kapsülleri
Yağ kapsüllerinde mavi ve kırmızı daireler sırasıyla vişne çekirdeği proteini ve vişne çekirdeği yağ spektrumlarını temsil etmektedir

4.5.2. Yağ kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri

YK'lerin fizikokimyasal özellikleri EV, EE, nem miktarı, su aktivitesi, renk, ıslanabilirlik, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Hausner oranı ve Carr indeks açısından değerlendirilmiştir. İlgili parametrelere ait sonuçlar Çizelge 4.19'da verilmiştir.

EV ve EE değerleri DM'lerin enkapsülasyon sistemlerine uygunluğu hakkında bilgi veren önemli indikatörlerdir (de Souza ve ark., 2018; Yücetepe ve ark., 2021). VÇP'lerin yenilikçi fonksiyonel bir DM olarak kullanıldığı bu çalışmada YK'ler için EV %50.25 olarak hesaplanmıştır. Daha önce de bahsedildiği gibi bu değer efektif bir enkapsülasyon prosesi için yeterlilik arz etmektedir. Bu çalışma ile benzer şekilde literatürde yenilebilir yağlar farklı DM'ler ile kaplanmış ve enkapsülasyon süreci için verim değerleri hesaplanmıştır. Enkapsülasyon teknolojisinde yaygın bir şekilde kullanılan Arap zamkı ve maltodekstrin karışımının karpuz çekirdeği yağının kaplanmasında DM olarak değerlendirildiği bir çalışmada EV değeri %92.80 olduğu not edilmiştir (Karrar ve ark., 2021). Aynı çalışmada peyniraltı suyu protein tozu ve

maltodekstrin karışımları kullanılarak hazırlanan emülsiyonların EV %85.25 olarak rapor edilmiştir. Benzer DM'lerden (Arap zamkı ve maltodekstrin) yararlanılarak biber çekirdeği yağının kapsüllendiği çalışmada EV'nin %34.99 ile 57.77 arasında olduğu not edilmiştir (Karaaslan ve ark., 2021). Bir başka çalışmada nar çekirdeği yağlarını ve nar çekirdeği proteinlerini içeren emülsiyonlar oluşturulmuş ve bu emülsiyonlar PK sistemine beslenmiştir. PK işleminden sonra başlangıç emülsiyonlarda var olan toplam katı miktarının %36.48'i ürün olarak siklondan toplanmıştır (Yücetepe ve ark., 2021). Refere edilen bu çalışmalar ve literatürdeki bu alanda yürütülmüş diğer çalışmalar incelendiğinde hemen hemen hepsinde besleme çözeltileri içerisindeki DM oranın yağlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu şekilde hazırlanan besleme çözeltilerinde EV'nin pozitif yönde etkilendiği daha önceki bir çalışmada belirtilmiştir (Premi ve Sharma, 2017). Bunun sebebi olarak DM matrikslerine düşük yağ yüklemesi ile PK siklonuna ürünlerin yapışmasının minimize edildiği belirtilmiş ve böylelikle EV'de bir artışın olduğu not edilmiştir (Premi ve Sharma, 2017). Bu yaklaşımdan yola çıkarak tez kapsamında VÇP'ler kendileri ile eşit oranda yağ yüklenmesine rağmen EV açısından standartları sağlayan bir sonucun bulunmuş olması VÇP'lerin enkapsülasyon sistemlerine kolay bir şekilde entegre edilebileceğine göstermektedir. Enkapsülasyon sistemleri için diğer bir kritik parametre olan EE de çalışma kapsamında araştırılmıştır. Düşük oranda DM kullanılarak yüksek EE elde etmek tezin amaçlarından bir tanesi olup bu şartları sağlamak için öncelikle VÇY'yi ve VÇP'yi kütlece eşit oranda içeren besleme çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler PK sistemine beslenmiş ve işlem sonunda EE %94.42'lik değeri ile literatür verileri dikkate alınarak istenilen sonuçlar bulunmuştur (Eğer EE değeri %50'nin aldında bulunsaydı besleme çözeltisindeki DM oranı artırılıp VÇY oranının düşürülmesi planlanmaktaydı) (Çizelge 4.19.). EV'de olduğu gibi EE değerinin de besleme çözeltisindeki yağ oranı arttıkça azaldığı yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Frascareli ve ark., 2012). Dolayısıyla bu tez çalışması kapsamında elde edilen kapsüllerin yağ oranının yüksek olmasına rağmen ilgili yağın yaklaşık %5'lik kısmının kaplanmamış olması VÇP'lerin DM olarak başarısına işaret etmektedir. VÇP'lerin bu üstün EE başarısı PK sırasında hızlı kurumayı teşvik eden yüksek emülsiyon viskozitelerine atfedilebilir (Premi ve Sharma, 2017). Ayrıca VÇP'lerin doğal yapısında bulunan

hidrofobik ve kovalent olmayan hidrojen bağı sayısı ve yoğunluğu da VÇY'ler ile olan etkileşimleri artırarak böyle yüksek bir sonuca neden olmuş olabilir (Jansen-Alves ve ark., 2019). VÇP'lerin kapsülleme kapasitesi ayçiçeği yağının kaplanmasında DM olarak kullanılan ayçiçeği proteini (EE: %79) ve kahverengi pirinç proteini (EE: %69) için rapor edilen EE sonuçlarından daha iyi olduğu bulgulanmıştır (Le Priol ve ark., 2019). Bu değer süt tozuna yüklenen ceviz yağı kapsülleri için %90 (Shamaei ve ark., 2017), soya proteinlerine yüklenen balık yağı kapsülleri için %57.82 ile 66.93 arasında (Di Giorgio ve ark., 2019), Arap zamkı ve maltodekstrin karışımına yüklenen biber yağı kapsülleri için %67.45 ile 87.14 arasında (Karaaslan ve ark., 2021) ve nar çekirdeği proteinlerine yüklenen nar çekirdeği yağı kapsülleri için %87.74 (Yücetepe ve ark., 2021) olduğu bulunmuştur.

Toz örneklerin nem içeriği camsı geçiş ve kristalleşme davranışlarını etkilediği için akışkanlık, kurutma verimi, yapışkanlık ve depolama stabilitesi ile yakından ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Mahdavi ve ark., 2016b). PK teknolojisi ile üretilen toz ürünler için nem değerinin %5'in altında olması gerektiği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Santana ve ark., 2017). Toz forma dönüştürme esnasında yeteri bir ısı transferi sağlandığında nem değeri istenilen seviyelere kolay bir şekilde ulaştırılabilmektedir. Burada kritik olan PK teknolojisinde uygun hava giriş sıcaklığının seçimidir (Wu ve ark., 2014). Çalışma kapsamında üretilen YK'lerin nem miktarı (%1.18) dikkate aldındığında işlemde kullanılan PK hava giriş sıcaklığının uygun (elverişli; optimal) olduğu sonucuna ulaşılabilir; ancak bu sıcaklığın diğer çalışmalarda belirtilenlerin aksine kritik sıcaklık değerinin altında olduğu da görülmektedir (Çizelge 4.19.). Su aktivitesi değeri ise 0.32 olarak ölçülmüştür. PK sistemleri kullanılarak farklı yağ kapsüllerinin elde edildiği bilimsel çalışmalarda benzer nem miktarı ve su aktivitesi sonuçları rapor edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2020c; Başyiğit ve ark., 2021b; Yücetepe ve ark., 2021; Karaaslan ve ark., 2021; Karrar ve ark., 2021). Bu düşük değerler kapsüllerin biyokimyasal (lipid oksidasyonu) ve mikrobiyolojik olaylara karşı stabil olduğunu göstermektedir (Korma ve ark., 2019).

Renk, tüketici tarafından kabul edilebilirliliği etkilediği için gıda materyalleri açısından önemli bir kalite faktörüdür. VÇY yüklenmiş VÇP'lerin renk özellikleri Çizelge 4.19.'da verilmiştir. Örneklerin L*, a* ve b* değerleri sırasıyla 87.76, -0.18 ve 9.60 olarak tespit edilmiştir. VÇY'ler için elde edilen renk sonuçları yağın L* (açıklık-koyuluk) değerinin düşük olduğunu göstermiştir; ancak YK'lere baktığımızda L* için tespit edilen değerin yüksek olduğu görülmektedir. Bu yüksek değerin protein materyallerinden kaynaklandığı söylenebilir. Literatürde de kapsülasyon işleminde kullanılan DM'lerin nihai ürünlerin renk özellikleri üzerine etkisi olduğu not edilmiştir (Tze ve ark., 2012).

Islanabilirlik değeri toz ürünlerin suyu bünyesine alma yeteneği hakkında bilgi veren bir parametredir. YK'lerin ıslanabilirlik değeri 79.50 sn olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19). Bu değerin düşük olması ilgili toz ürünün yapısında hidrofilik oluşumların fazla olduğunu göstermektedir (Turchiuli ve ark., 2005). Bu çalışmada üretilen YK'lerin hidrofobik davranışları nar çekirdeği proteinleri kullanılarak üretilen nar çekirdeği yağı kapsüllerinden düşük (27 sn), Arap zamkı (339 sn) ve jelatin (210 sn) içine yüklenen nar çekirdeği yağlarınkinden ise büyük olduğu belirlenmiştir (Yücetepe ve ark., 2021).

Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu toz ürünlerin işlenmesi, paketlenmesi, nakliyesi, ticarileştirilmesi ve depolanması ile ilgilidir (Akyüz ve Ersus, 2021). Bu parametreler ürünün ticari kullanımında potansiyelini belirlemede kritik önem taşımaktadır. YK'lerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri Çizelge 4.19.'da verilmiştir. Yığın yoğunluğu 0.15 g/cm^3 olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuç kapsülasyon işlemi sonucu elde edilen toz materyaller için belirlenen model aralıklarının kapsamı içindedir (Carneiro ve ark., 2013). Farklı DM'lerin içerisine yüklenen karpuz çekirdeği yağ kapsüllerinde yığın yoğunluğu değerinin 0.16 g/cm^3 ile 0.26 g/cm^3 arasında olduğu saptanmıştır (Karrar ve ark., 2021). Keten tohumu yağı kapsüllerinin üretildiği bir başka çalışmada Arap zamkı, peynir altı suyu proteini konsantresi ve modifiye nişasta DM olarak kullanılmış ve bu değerin 0.29 g/cm^3 ile 0.53 g/cm^3 arasında olduğu belirlenmiştir (Tonon ve ark., 2012). YK'lerde bu verilerden daha düşük sonuçların elde edilmesi

partiküllerin daha büyük boyutlara sahip olması ile açıklanabilir (Karrar ve ark., 2021). Sıkıştırılmış kitle yoğunluğu değeri ise ne kadar yüksekse ürünün kapladığı alan görece daha düşüktür. Dolayısıyla, sıkıştırılmış yığın yoğunluğunun yüksek olması depolama açısından avantajlı görülmektedir (Mahdi ve ark., 2020). YK'ler için sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri 0.20 g/cm^3 olarak tespit edilmiştir. Yenilebilir yağların enkapsülasyonu üzerine yürütülen çalışmalarda sıkıştırılmış yığın yoğunluğu 0.34-0.44 g/cm^3 (Karrar ve ark., 2021), 0.099 g/cm^3 (Akyüz ve Ersus, 2021) ve 0.45-0.49 g/cm^3 (Goyal ve ark., 2015) olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla literatür verileri dikkate alındığında YK'ler için bu çalışmada elde edilen sonucun depolama açısından geliştirilmeye açık olduğu görülmektedir.

Hausner oranı ile toz örneklerin yapışkanlığı ile ilgili bilgi edinilirken Carr indeks değeri toz numunelerin serbest akış davranışı hakkında yorum yapılmasına olanak sağlamaktadır (Karrar ve ark., 2021). Literatürde bu parametreler dikkate alınarak toz ürünlerin yapışkanlık ve akışkanlık davranışları sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre Hausner oranı için 1.00-1.11, 1.12-1.18, 1.19-1.25, 1.26-1.34, 1.35-1.45, 1.46-1.59 ve >1.60 aralığındaki değerler sırasıyla mükemmel, iyi, orta, geçerli, zayıf, çok zayıf ve çok kötü olarak ifade edilmiştir. Benzer ifadelere karşılık gelen Carr indeks değerleri için seviyeler 0–10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-31, 32-37 ve >38 şeklindedir (Turchiuli ve ark., 2005). YK'lerin Hausner oranı ve Carr indeks değeri sırasıyla 1.31 ve 23.54 olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla tez çalışması kapsamında üretilen toz ürünlerin yapışkanlık ve akışkanlık açısından kabul edilebilir özelliklerde olduğu yorumu yapılabilir; ancak yağ kapsülleri ile ilgili yürütülen diğer çalışmalarda bu parametreler açısından çok da iyi değerlerin tespit edilemediği görülmektedir. Ayçiçek yağı (Carr indeks: 0.44) (Turchiuli ve ark., 2005), ceviz yağı (Hausner oranı: 1.68-2.09, Carr indeks: 40.62-52.04) (Karrar ve ark., 2021) ve keten tohumu yağı (Hausner oranı: 1.50-1.55, Carr indeks: 33.82-34.57) (Goyal ve ark., 2015) kapsülleri burada örnek olarak verilebilir. Literatürde yürütülen çalışmalar ile bu tez kapsamında hedeflenen amaçları birbirinden ayıran en önemli noktalardan biri de birçok yerde vurgulandığı üzere kullanılan DM'nin nihai üründeki oranının düşük olmasıdır. Besleme çözeltisindeki yağ oranının artışına paralel olarak Hausner oranı ve Carr indeks değerinin olumsuz yönde etkilendiği rapor edilmiştir (Sharma ve ark.,

2012); ancak tez çalışması kapsamında elde edilen veriler, yağ yüklemesi yapılan DM'nin uygun seçimi ile literatür verilerinin aksine bir sonucun elde edilmesinin mümkün olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.19. Yağ kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri

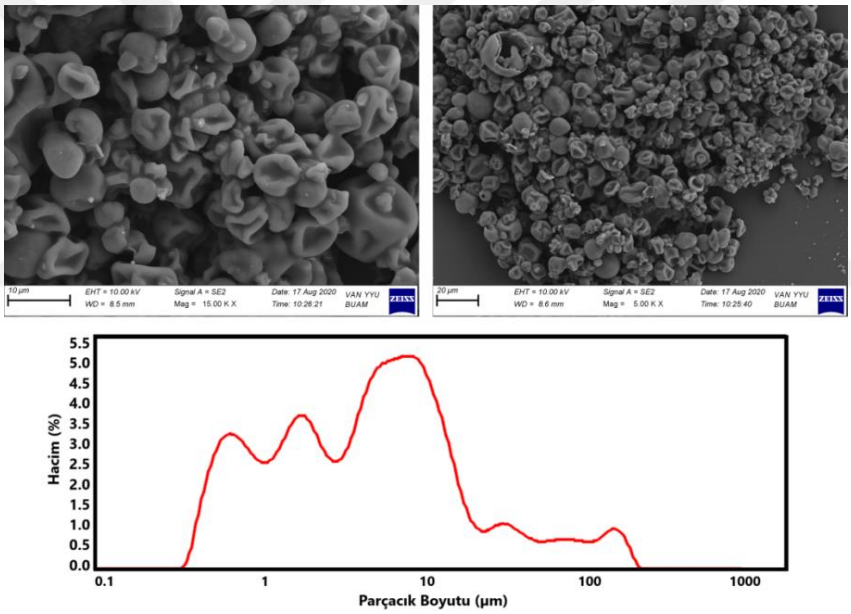
Parametreler	Birim	Yağ kapsülleri
Enkapsülasyon verimi	%	50.25±0.11
Enkapsülasyon etkinliği	%	94.42±1.20
Nem miktarı	%	1.18±0.06
Su aktivitesi	-	0.32±0.00
L* (açıklık-koyuluk)	-	87.76±0.01
a* (kırmızı-yeşil)	-	-0.18±0.03
b* (sarı-mavi)	-	9.60±0.01
Islanabilirlik	sn	79.50±7.79
Yığın yoğunluğu	g/cm^3	0.15±0.00
Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu	g/cm^3	0.20±0.00
Hausner oranı	-	1.31±0.01
Carr indeks	-	23.54±0.65

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.5.3. Yağ kapsüllerinin mikroyapısı ve partikül büyüklüğü

YK'lerin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiş ve ilgili görüntüler Şekil 4.11.'de verilmiştir. SEM görüntüleri, kapsüllerin küresel ve düzensiz bir yapıda olduğunu göstermektedir. PK tekniği ile elde edilen kapsüller için benzer görüntüler daha önce yürütülmüş çalışmalarda not edilmiştir (Carneiro ve ark., 2013). Ayrıca YK'lerin pürüzsüz ve çökmüş yüzeylere sahip olduğu tespit edilmiştir. Proteinlerin DM olarak kullanıldığı bir çalışmada kapsüllerin benzer davranış sergilediği rapor edilmiştir (Tang ve Li, 2013). Yapılan çalışmalarda bu durumun protein materyallerinin gerilebilme ve viskoelastik özelliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Millqvist-Fureby ve ark., 2001; Jafari ve ark., 2008). VÇP'lerin kaplama potansiyeline gelince kapsüllerin yüzeyinde herhangi bir yağ damlacığının olmadığı saptanmıştır. Bu durum VÇY'lerin VÇP matrisinde yeteri seviyede kaplandığını göstermektedir. Sonuçlar yüksek EE (%94.42) tarafından da desteklenmektedir. Yeteri kaplama, kapsül içerisine gaz geçirgenliğini engelleyerek yağ parçacıklarının daha stabil kalmasına yardımcı olur (Ortiz ve ark., 2009).

YK'lerin partikül büyüklüğü dağılım sonuçları Şekil 4.11.'de verilmiştir. Kapsüller 0.01 µm ile 239.83 µm arasında değişen geniş bir boyut dağılımı sergilemiştir. Her biri baskın bir boyutu temsil eden farklı tepe noktalarına sahip çok modlu bir dağılım (heterojen dağılım) gözlemlenmiştir. Partiküllerin %10'unun 0.76 µm'den, %90'ının ise 31.45 µm'den daha düşük boyuta sahip olduğu belirlenmiştir. YK'lerin D_{32} (ağırlıklı yüzey ortalaması) ve D_{43} (hacim ortalama çapı) sonuçları sırasıyla 2.29 µm ve 15.29 µm olarak saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar incir çekirdeği yağı kapsüllerinin D_{43} (23.40 µm) (Icyer ve ark; 2017) ve nar çekirdeği yağı kapsüllerinin D_{43} (49.91-106.11 µm) (Yücetepe ve ak., 2021) değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Nar çekirdeği kapsülleri için rapor edilen D_{32} (1.94-6.95 µm) değeriyle ise benzerlik göstermiştir (Yücetepe ve ak., 2021).

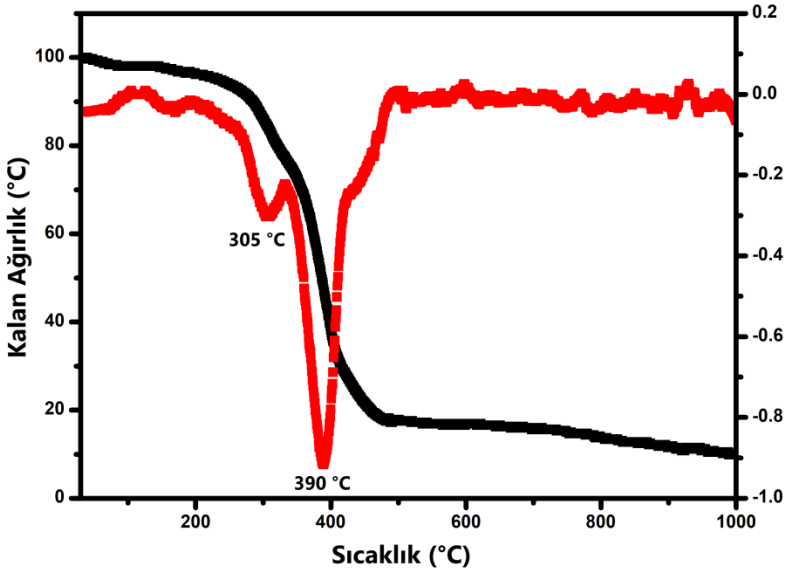


Şekil 4.11. Yağ kapsüllerinin elektron mikroskobu görüntüleri ve parçacık boyutu dağılımları

4.5.4. Yağ kapsüllerinin termal özellikleri

TGA termogramları ve bunların diferansiyel eğrileri (DTG) materyallerin termal davranışları hakkında bilgi sağlar (Karaaslan ve ark., 2021). YK'ler için TGA termogramları ve termal depolimerizasyon sırasında ağırlık kaybının yoğunluğuna karşılık gelen diferansiyel eğrileri (DTG) Şekil 4.12.'de sunulmuştur. Kapsüller için ağırlık kaybının dört seviyede gerçekleştiği tespit edilmiştir. İlk kütle kaybı (%3.77)

200 °C'nin altında meydana gelmiştir. Bu kayıp örnekteki nemin uzaklaşması ile ilişkilendirilebilir. Yapılan bilimsel çalışmalarda da farklı materyallerin TGA termogramlarında gözlemlenen başlangıç kütle kayıplarının buharlaşan su moleküllerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Da Costa Neto ve ark., 2019). YK'lerin yaklaşık 270 °C'ye kadar büyük bir termal olay (yüksek miktarada kütle kaybı) gerçekleşmemiştir. Sıcaklık bu değere ulaştığında ikinci termal olay başlamış ve yaklaşık 340 °C'ye kadar devam etmiştir. Bu bölümde maksimum kütle kaybı 305 °C'de meydana gelmiş ve YK'ler kütlesinin %16.55'lik kısmını kaybetmiştir; ancak kapsüllerdeki en büyük kütle kaybı (%62.44) 350 °C ile 440 °C arasını kapsayan üçüncü seviyede gerçekleşmiştir. Üçüncü seviyede ana ayrışma aşaması, DTG eğrilerinde bir tepe olarak açıkça görülen 390 °C civarında görülmüştür. Son evrede ise kapsüllerin kütlelerinde %13.54'lük bir azalma tespit edilmiştir. Protein materyallerinin yenilebilir yağların kapsüllenmesinde DM olarak değerlendirildiği çalışmalarda da benzer sıcaklıklarda önemli termal olayların (önemli kütle kayıplarının) gerçekleştiği rapor edilmiştir. Yücetepe ve ark. (2021) nar çekirdeği yağı kapsülleri için büyük kütle kayıplarının yaklaşık 250 °C ile 500 °C arasında meydana geldiğini rapor etmiştir. Bir başka çalışmada zeytinyağı kapsülleri için benzer aralıklar not edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2021b). Sonuçlar, YK'lerin termal işlemlerin gerekli olduğu gıda endüstrisi uygulamalarında bir bileşen olarak değerlendirilmesinde sıcaklık açısından üründe bir problemin olmayacağını göstermiştir.

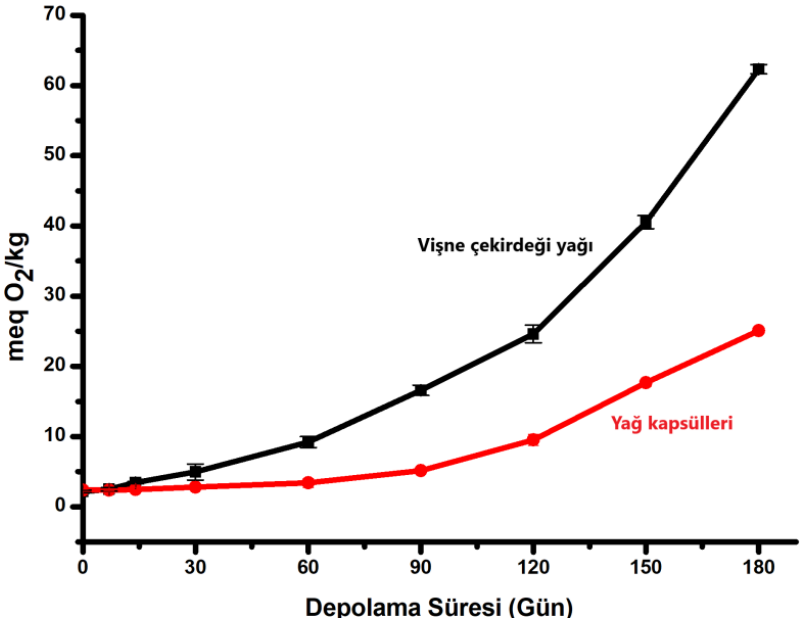


Şekil 4.12. Yağ kapsüllerinin termogravimetrik ve diferansiyel termogravimetrik eğrileri

4.5.4. Yağ kapsüllerinin oksidasyon stabilitesi

Enkapsülasyon sistemlerinde asıl amaç ısı, sıcaklık, ışık ve O_2 gibi çevresel faktörlere karşı hassasiyet derecesi yüksek olan fonksiyonel bileşiklerin stabilitelerini artırmaktır. Bu yaklaşımdan yola çıkarak çekirdek materyallerinin içine hapsedildikleri DM'lerin belirtilen çevresel faktörlere karşı koruyucu özelliklerinin yüksek olması arzu edilmektedir. Çalışma kapsamında VÇP'lerin VÇY'leri oksidasyona karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. VÇY'ler ve YK'ler oda sıcaklığında 180 gün boyunca depolanmış ve 0., 7., 14., 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. günlerde peroksit analizine tabi tutulmuşlardır. Depolama süresi boyunca örneklerin peroksit seviyesinde meydana gelen değişimler Şekil 4.13.'de verilmiştir. Depolamanın ilk gününde VÇY'ler için peroksit değeri 2.17 meq O_2/kg iken bu değer YK'lerde 2.35 meq O_2/kg olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar enkapsülasyon prosesinin VÇY'nin oksidasyon seviyesinde önemli bir etki yaratmadığını göstermiştir. Benzer yaklaşımlar zeytinyağı kapsülleri için de rapor edilmiştir (Başyiğit ve ark., 2021b). Peroksit üzerindeki bu önemsenmeyecek etkiler enkapsülasyon için uygun sıcaklığın (160 °C) seçildiğine işarettir (Tonon ve ark., 2011). İlk 30 günlük süre zarfında VÇY'lerin peroksit seviyelesinde yüksek bir artış gözlemlenmemiştir; ancak 60. günde yağların peroksit değeri 9.21 meq O_2/kg olarak tespit edilmiştir. Yenilebilir yağlar için kritik değer olan 20 meq O_2/kg'ın üzerine ise

120. günde (24.60 meq O_2/kg) çıktığı saptanmıştır. VÇY'ler için bu artış depolamanın son gününe kadar devam etmiş ve peroksit değerinin 62.32 meq O_2/kg ulaştığı bulgulanmıştır. YK'lere gelince ilk 60 günde oksidasyon seviyesinde önemli bir artış tespit edilmemiştir. YK'lerin sergilemiş olduğu bu davranış EE (%94.42) sonuçları ile de desteklenmiştir. Literatür çalışmalarında yüksek EE'nin düşük peroksit seviyesine neden olduğu not edilmiştir (Tonon ve ark., 2011). Depolamanın 90. gününde yapılan analizlerde peroksit seviyesi 5.14 meq O_2/kg olarak ölçülmüş ve bu günden sonra kaplanmış yağların oksidasyona olan stabilitesinde azalmalar başlamıştır. Son günde hesaplanan peroksit değeri (25.08 meq O_2/kg) de bu hipotezi desteklemektedir. Bunun nedeni son üründeki DM oranının düşük olmasından kaynaklanabilir. İnce DM tabakası, depolama periyodu sırasında zaman içerisinde yapısal ayrışmaya başlamış olabilir. Bu durum VÇY'lerin kapsül yüzeyine kolaylıkla sızmasına ve çevresel faktörlere doğrudan maruz kalmasına yol açar; ancak depolamanın ilk 150 gününde kapsüllenen yağların 20 meq O_2/kg sınırını geçmemesi, içerisine kendileri ile aynı oranda VÇY yüklenen VÇP'lerin başarısını göstermektedir. Dolayısıyla bu sonuç VÇP'lerin hasas materyallerin stabilitelerini arttırmak için enkapsülasyon sistemlerinde DM olarak alternatif bir kaynak olabileceğini göstermiştir.



Şekil 4.13. Yağ kapsüllerinin depolama süresince peroksit değişimleri

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)

4.6. Fenolik Kapsülleri

VÇP'lerin DM olarak kullanım potansiyelini ortaya koymak için tek bir çekirdek materyal üzerinde göstermiş olduğu davranışları incelemek çalışmanın hipotezini tam anlamıyla karşılamayacağı düşünülmüştür. Bu yüzden VÇP'lerin fenolik maddelerin kaplanmasında sergilemiş olduğu davranış MGF özütleri özelinde araştırılmıştır. MGF'lerin önemli fonksiyonel yapıları içermiş ve bu yapılar sayesinde farklı biyolojik aktiviteler sergilemiş olması çekirdek materyali olarak neden bu bitkiden elde edilen fenolik özütlerinin kullanıldığı sorusunun cevabını oluşturmaktadır (Detaylı açıklama Çalışmanın 4.3. Bölümünde verilmiştir). Suda çözünebilir kuru madde miktarı 7 g/100 mL olan MGF özütlerinin (pH 7) içerisine 7 g PK sistemi ile elde edilmiş VÇP tozları ilave edilmiş ve elde edilen solüsyon YK'lerde olduğu gibi hava giriş sıcaklığı 160 °C olan PK sistemine beslenmiştir. FK'lere ait görüntüler Şekil 4.14.'de verilmiştir. Çalışmanın bu bölümünde daha önce de bahsedildiği gibi FK'lerinin biyolojik davranışları üzerinde durulmuştur.



Şekil 4.14. Fenolik kapsüllerine ait görüntüler

4.6.1. Fenolik kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri

FK'ler için EV, EE değerleri ve elde edilen toz örneklerin karakteristik özellikleri Çizelge 4.20.'de verilmiştir. Çizelge'de yer alan tüm parametrelerin önemi YK'leri başlığı altında detaylandırılmıştır. Bu yüzden bu bölümde sadece sonuçlar tartışılmıştır.

FK'ler için EV %50.90 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.20.). Elde edilen sonuç üretim için seçilen koşulların yeterliliğini göstermektedir. Literatürde MGF'lerin enkapsülasyonunu kapsayan herhangi bir veri seti olmadığı için sonuçlar farklı fenolik kapsülleri üretimini konu alan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Nar kabuğu fenoliklerin maltodekstrin kullanılarak enkapsüle edildiği bir çalışma EV'nin PK giriş sıcaklığına bağlı olarak %39.50 ile %50.50 arasında olduğu saptanmıştır (Çam ve ark., 2014). Bir başka çalışmada adaçayı ve ıhlamur özütleri nar kabuklarının kapsüllemesinde kullanılan kurutma yardımcı materyali ile kapsül forma getirilmiş ve EV değerlerinin sırasıyla %61.24 ve %63.48 olduğu not edilmiştir (Alaşalvar ve Çam, 2019). Çam ve ark. (2020) ise nane kapsülleri için bu değerin %62.40 (spearmin türü) ve %64.40 (peppermin türü) olduğunu tespit etmişlerdir. Enkapsülasyon prosesleri için bir diğer önemli parametre olan EE sonuçları, MGF'lerin büyük bir kısmının VÇP matrisleri içerisine hapsolduğunu göstermiştir. Nihai toz ürünlerde yer alan toplam fenoliklerin %98.70'inin kaplandığı saptanmıştır. Benzer sonuçlar maltodektrin ve/veya maltodekstrin Arap zamkı karışımlarının DM olarak kullanıldığı meyan kökü (%97.25-98.72) (Başyigit ve Hayoğlu, 2019), melisa (%99.40-99.50) (Tülek ve ark., 2021) ve nar kabuğu (%98.60-98.90) (Çam ve ark., 2014) gibi farklı bitkisel özütlerin kapsüllenme proseslerinde de elde edilmiştir. Literatür verileri ile enkapsülasyon alanındaki kullanımı ispatlanmış ve gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde değerlendirilen maltodekstrinin ve Arap zamkının kurutma yardımcı materyali olarak yararlanıldığı proseslerde elde edilen veriler ile hem EV hem de EE açısından benzer sonuçların alınması VÇP'lerin bu alandaki başarısını göstermektedir.

FK'lerin nem (%2.09) ve su aktivitesi (0.26) değerleri bu tozların uygun koşullar altında uzun süre herhangi bir mikroyolojik problemler olmadan kullanılabileceğini göstermiştir (Çizelge 4.20.). PK sistemleri kullanılarak elde edilen farklı fenolik kapsülleri için benzer değerler literatür çalışmalarında rapor edilmiştir (Alaşalvar ve Çam, 2019; Başyigit ve Hayoğlu, 2019).

Çalışmanın doğrudan hedefi olmasa da mazı bitkisinin tüketime sunulması ve tükeciler tarafından tanınırlılığının artırılması çalışmanın ara çıktılarından bir tanesidir. Burada ulaşılması istenen nokta tüketiciye standart bir ürünün sunulmasıdır. Dolayısıyla tüketici albenisi üzerine doğrudan etkisi olan renk parametrelerinin de nihai üründe test edilmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda FK'lerin renk değerleri belirlenmiş ve ilgili sonuçlar Çizelge 4.20.'de verilmiştir. L* (açıklık-koyuluk), a* (kırmızı-yeşil) ve b* (sarı-mavi) değerlerinin sırasıyla 55.83, 1.18 ve 18.66 olduğu saptanmıştır. Elde edilen değerler YK'ler ile kıyaslandığında FK'lerde açık rengin azaldığı ve sarı rengin arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak pozitif b* değeri FK'lerin sarı renge daha yakın olduğunu göstermektedir. Bu farklılığın doğrudan kaplanan çekirdek materyalin doğasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

FK'lerin ıslanabilirlik değeri için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.20.'de verilmiştir. Analiz sonuçları örneklerin 193 sn içerisinde tamamen su moleküllerini absorpladığını ve bu süre içerisinde suyun yüzeyinden kaybolduğunu göstermiştir. Maltodekstrinin DM olarak kullanıldığı FK'ler için bu değerin 180-235 sn arasında olduğu saptanmıştır (Başyigit ve Hayoğlu, 2019). FK'lerin depolama, taşıma, akışkanlık ve yapışkanlık özellikleri ile ilgili olan yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Hausner oranı ve Carr indeks değerleri de araştırılmış ve ilgili parametrelere ait sonuçlar Çizelge 4.20.'de sunulmuştur. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu sonuçları sırasıyla 0.17 g/cm^3 ve 0.22 g/cm^3 olarak belirlenmiştir. Zeytin pirinasından elde edilen fenolik özütlerinin maltodekstrin kullanılarak kapsüllendiği bir çalışmada yığın yoğunluğunun 0.05 g/cm^3 ile 0.19 g/cm^3 arasında olduğu rapor edilmiştir (Paini ve ark., 2015). Başka bir çalışmada *Averrhoa carambola* posasından özütlenen fenolik özütleri kurutma yardımcı materyali olarak maltodekstrinin kullanıldığı çalışmada PK sistemi ile kapsüllenmiş ve yığın yoğunluğu değerinin 0.21 g/cm^3 ile 0.33 g/cm^3 arasında değerler aldığı rapor edilmiştir (Saikia ve ark., 2015). Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinden yararlanılarak FK'ler için hesaplanan Hausner oranının 1.33 ve Carr indeks değerinin 24.92 olduğu saptanmıştır. Sonuçlar FK'lerin akışkanlık ve yapışkanlık açısından kabul edilebilir seviyelerde olduklarını göstermiştir (Turchiuli

ve ark., 2005). Literatür verileri incelendiğinde farklı fenolik kapsüllerinin akışkanlık ve yapışkanlık özelliklerinin arzu edilen seviyelerde olmadığı tespit edilmiştir. Maltodekstrinin DM olarak değerlendirildiği melisa (Carr indeks: 39.10-41.00) (Tülek ve ark., 2021) ve nane (spearmint için Carr indeks: 32; peppermint için Carr indeks: 41) (Çam ve ark., 2020) özütlerinin PK tekniği ile kapsül forma getirildiği çalışmalarda elde edilen sonuçlar örnek olarak verilebilir. Bu ve benzeri örnekler baz alındığında VÇP'lerin MGF özütlerine sağlamış olduğu üstün akışkanlık ve yapışkanlıktan dolayı fenolik özütlerin kapsüllenmesinde DM olarak değerlendirilmesinin makul olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.20. Fenolik kapsüllerinin fizikokimyasal özellikleri

Parametreler	Birim	Yağ kapsülleri
Enkapsülasyon verimi	%	50.90±0.94
Enkapsülasyon etkinliği	%	98.70±0.01
Nem miktarı	%	2.09±0.28
Su aktivitesi	-	0.26±0.00
L* (açıklık-koyuluk)	-	55.83±0.00
a* (kırmızı-yeşil)	-	1.18±0.00
b* (sarı-mavi)	-	18.66±0.04
Islanabilirlik	sn	193±1.41
Yığın yoğunluğu	g/cm^3	0.17±0.01
Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu	g/cm^3	0.22±0.01
Hausner oranı	-	1.33±0.03
Carr indeks	-	24.92±1.97

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.6.2. Fenolik kapsüllerinin toplam fenolik, toplam flavanoid, toplam hidrolize tanen madde miktarı

Literatürde mazı bitkisi de dâhil aynı bitkisel materyaller üzerine yürütülen farklı çalışmalarda sonuçlar arasında farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Çam ve İçyer, 2015; Alsataf ve ark., 2021). Dolayısıyla gıda, eczacılık ve kozmetik gibi sektörlerde yaygın bir şekilde kullanım alanı olan bu bitkilerle ilgili herhangi bir standardizasyonun olmaması nedeniyle bazı problemlerin ortaya çıktığı bilinen bir gerçektir. Bu yüzden hem üreticilere hem de tüketicilere standart bir ürünün sunulması bilim dünyası ve endüstri açısından önem arz etmektedir. MGF'lerin önemli fonksiyonel grupları yapısında barındırdığı metin içerisinde vurgulanmıştır; ancak diğer tıbbi aromatik bitkilerde olduğu gibi mazı gallerinden elde edilen

biyoaktif yapıların miktarı özütleme işlemlerine göre değişiklik göstermektedir. Bu belirsizlik ilgili bitki özütünün çeşitli proseslerden geçirilerek nihai ürünün aktif bileşen miktarının net olarak belirlenmesi ile ortadan kaldırılabilir. Yapılan çalışmalar bu netliğin sağlanması için en iyi yöntemlerden birinin özütleri farklı tekniklerle kurutarak toz forma getirmek olduğunu göstermiştir (Çam ve ark., 2020). Yazarlar toz forma dönüştürme işlemlerinde PK tekniğine de vurgu yapmışlardır; ancak bitkisel özütlerin bu yöntemle doğrudan kurutulması da makul bir yaklaşım olarak görülmemektedir. Kurutulan örneğin içerisindeki biyoaktif yapıların kontrollü bir şekilde salınım yapması biyoyararlılık açısından önemlidir. Bu yüzden doğrudan kurutma yerine sindirim sistemi koşulları dikkate alınarak uygun bir kurutma yardımcı materyali içine ilgili özütteki biyoaktif maddelerin hapsedilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu bağlamda karbonhidrat kökenli kurutma yardımcı materyallerinin yoğun bir şekilde kullanıldığı metin içerisinde defalarca vurgulanmıştır; ancak MGF'ler gibi biyoaktif özellikleri yüksek olan bitkisel materyallerin bu tarz kurutma yardımcı materyalleri ile kurutulmasının çokta makul görülmediği de sebepleri ile birlikte metnin farklı kısımlarında bahsedilmiştir. Belirtilen olumsuzluklardan dolayı çalışma kapsamında MGF özütleri VÇP'lerin içerisine hapsedilmiştir. Burada ulaşılması istenen hedef, VÇP'lerin fenoliklerin kapsüllenmesinde DM olarak kullanım potansiyelini belirlemenin yanında muadillerine göre aynı dozda tüketildiklerinde daha yararlı bir yapının elde edilip edilmediğini göstermektedir.

VÇP'ler kullanılarak üretilen FK'lerin TFM miktarı, TF madde miktarı ve THTMM Çizelge 4.21.'de verilmiştir. TFM miktarı, TF madde miktarı ve THTMM sırasıyla 291.82 mg GAE/g, 46.48 mg KE/g ve 240.77 mg TAE/g olduğu tespit edilmiştir. Literatür verilerini kontrol ettiğimizde maltodekstrin kullanılarak elde edilen nar kabuğu fenolik kapsüllerinin TFM miktarının 94.60 mg GAE/g ile 104.70 mg GAE/g arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çam ve ark., 2014). Bir başka çalışmada vişne posasından elde edilen fenolik özütleri maltodekstrin ve Arap zamkı kullanılarak kapsül formuna getirilmiş ve DM oranına göre TFM miktarlarının 45.65 mg GAE/g (fenolik:DM, 1:10 w/w) ve 30.43 mg GAE/g (fenolik:DM, 1:20 w/w) olduğu saptanmıştır (Cilek ve ark., 2012). Akdeniz ve ark. (2018) yapmış oldukları

çalışmada soğan (*Allium cepa*) kabuğu özütlerinin kapsüllenmesi için özütler maltodekstrin, Arap zamkı, kazein ve peyniraltı suyu protein tozu gibi karbonhidrat ve protein kökenli yapılarla oluşturulan kombinasyonların içine hapsedilmişlerdir. Yazarlar elde edilen nihai kapsüllerin TFM miktarı analizini gerçekleştirmiş ve 161.36 mg GAE/g ile 259.73 mg GAE/g arasında değiştiğini saptamışlardır. Maltodekstrinin DM olarak kullanıldığı adaçayı ve ıhlamur fenolik kapsülleri için bu değerin sırasıyla 81.16 mg GAE/g ve 61.95 mg GAE/g olduğu bildirilmiştir (Alaşalvar ve Çam, 2019). FK'ler göz önüne alındığında literatür verilerine göre içermiş oldukları bu üstün biyoaktif yapılara ilaveten önemli protein kaynağı olarak da karşımıza çıkmaktadır. Belirtilmeye değer bir diğer nokta ise biyaoktif maddelerin içine hapsedildiği VÇP'lerin gastrointestinal sistem boyunca kontrollü salınıma olanak sağlama potansiyelinin olmasıdır.

Çizelge 4.21. Fenolik tozlarının toplam fenolik, flavanoid ve hdrolize tanen madde miktarı

Biyoaktif bileşen	Birim	Mazı gal fenolikleri
Toplam fenolik madde miktarı	mg GAE/g	291.82±5.28
Toplam flavanoid madde miktarı	mg KE/g	46.78± 0.56
Toplam hidrolize tanen madde miktarı	mg TAE/g	240.77± 6.81

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). GAE: gallik asit eşdeğeri, KE: kateşin eşdeğeri, TAE: tannik asit eşdeğeri.

4.6.3. Fenolik kapsüllerinin fenolik fraksiyonları

Fenolik maddelerin toplamı kadar hangi fraksiyonlardan oluştuğu da önem arz etmektedir. Çünkü herbirinin kendine özgü sergilemiş oldukları fonksiyonel davranışlar vardır. Örneğin literatürde resveratrol (Santos ve ark., 2021) ve rosmarinik asit (Alrubaye ve ark., 2021) gibi fenolik fraksiyonların farklı hastalıklar üzerine etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Çalışma kapsamında da FK'lerin fenolik fraksiyonları araştırılmış ve ilgili sonuçlar Çizelge 4.22.'de verilmiştir. Elde edilen kapsüllerin protein deposu olmasının yanı sıra biyolojik özellikler açısından ön planda olan ellajik asitin ve gallik asitin de önemli bir kaynağı olduğu tespit edilmiştir. FK'lerin ellajik asit ve gallik asit miktarı sırasıyla 64337.47 mg/kg ve 9797.75 mg/kg olduğu saptanmıştır. Sonuçlar biyolojik aktivite sergileme potansiyeli yüksek olan bir kapsülün elde edildiğini göstermiştir. Çünkü ellajik asidi ve gallik asidi konu alan çalışmalarda, bu fenolik materyallerin fonksiyonel özellikler

açısından ön plana çıktığı rapor edilmiştir (Abdelkader ve ark., 2020; Zahrani ve ark.,2020).

Çizelge 4.22. Fenolik kapsüllerinin fenolik fraksiyonları

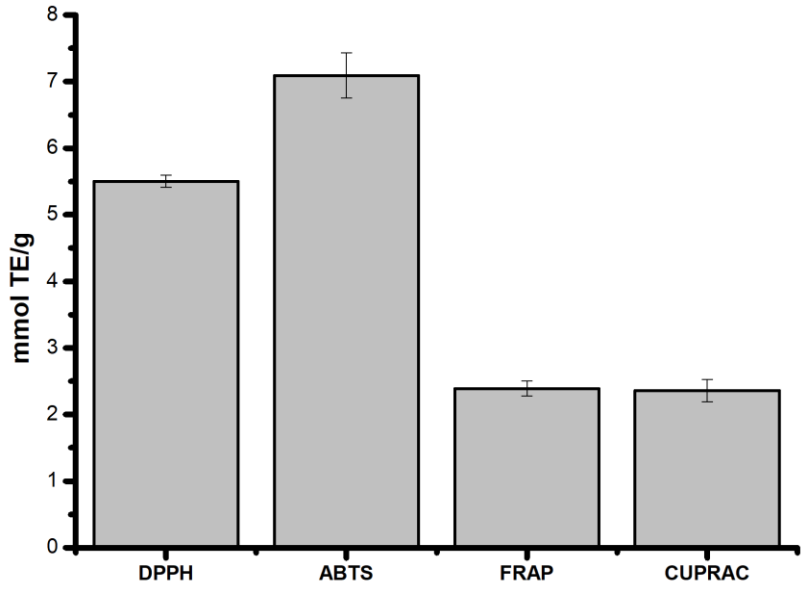
Fenolik bileşik	Moleküler formülü	Öncü iyon (*m/z*)	Ürün iyon (*m/z*)	İyon modu	Birim	Mazı gal fenolikleri
Gallik asit	$C_7H_6O_5$	169.20	125.0	Neg	mg/kg	9797.75±1.45
Kateşin	$C_{15}H_{14}O_6$	291.10	139.0	Neg	mg/kg	0.13±0.27
Kafeik asit	$C_9H_8O_4$	179.20	135.0	Neg	mg/kg	0.74±0.00
Ellajik asit	$C_{14}H_6O_8$	300.90	145.1	Neg	mg/kg	64337.47±1.26
Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	271.10	150.9	Neg	mg/kg	7.03±0.06
Salisilik asit	$C_7H_6O_3$	137.20	93.0	Neg	mg/kg	6.89±0.12
p-Hidroksibenzoik asit	$C_{15}H_{12}O_5$	137.20	93.0	Neg	mg/kg	4.44±0.14

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

4.6.3. Fenolik kapsüllerinin antioksidan aktivitesi

FK'lerin aktioksidan davranışlarını net bir şekilde değerlendirebilmek için 4 farklı antioksidan analiz yönteminden (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) yararlanılmıştır (Şekil 4.15.). Tüm metotlar için sonuçlar mmol TE/g olarak ifade edilmiştir. FK'lerin radikal süpürücü aktiviteleri iyon indirgeyici davranışlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Literatürde farklı fenolikler üzerine yürütülen çalışmalarda nihai ürünlerin radikal süpürücü aktivitelerinin daha düşük olduğu not edilmiştir (Meng ve ark., 2012; Kuck ve Noreña, 2016). Bu farklılık yapıda var olan fenolik maddelerin radikaller üzerine olan etki mekanizmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. FK'ler en yüksek antioksidan aktiviteyi ABTS radikaline (7.09 mmol TE/g) karşı sergiledikleri tespit edilmiştir. Bu radikali sırasıyla DPPH (5.50 mmol TE/g), FRAP (2.39 mmol TE/g) ve CUPRAC (2.36 mmol TE/g) analizlerinden elde edilen sonuçlar takip etmiştir. Kuck ve Noreña (2016) üzüm kabuğu fenolik özütlerinin kapsüllenmesi üzerine yaptıkları çalışmada Arap zamkını, polidekstrozu ve kısmen hidrolize guar zamkını DM olarak kullanmış ve antioksidan aktivite değerlerinde oluşan farklılıkları DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile incelemişlerdir. Üzüm kabuğu fenolik kapsülleri için DPPH sonuçlarının 0.06 mmol TE/g ile 0.12 mmol TE/g arasında, CUPRAC verilerinin ise 0.15 mmol TE/g ile 0.18 mmol TE/g arasında olduğunu bulgulanmıştır. Başka bir çalışmada palmiye (*Euterpe edulis Martius*) meyvesinden elde edilen özütler maltodekstrin, inülin ve Arap zamkı

ile kapsüllenmiş ve kapsüllerin ABTS radikali üzerine sergilemiş oldukları antioksidatif davranış incelenmiştir. Maltodekstrin, inülin ve Arap zamkı kapsüllerin için antioksidan değerleri sırasıyla 2.62, 2.66 ve 3.62 mmol TE/g olarak ölçülmüştür (Bernardes ve ark., 2019). Rezende ve ark. (2018) yapmış oldukları çalışmada maltodekstrin ve Arap zamkı ile Barbados kirazının (*Malpighia emarginata* DC) farklı kısımlarından elde edilen özütleri kapsül formuna getirmişlerdir. Yazarlar kapsüller için DPPH, ABTS ve FRAP sonuçlarının sırasıyla 0.12 mmol TE/g ile 0.15 mmol TE/g, 0.13 mmol TE/g ile 0.15 ve 0.23 mmol TE/g ile 0.37 mmol TE/g olduğunu saptamışlardır. Sonuçlar FK'lerin antioksidatif davranışlarının oldukça üstün olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.15. Mazı gal fenoliklerinin antioksidan aktivite değerleri

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)

4.6.4. Fenolik kapsüllerinin antidiyabetik aktivitesi

İnsan vücudunda sindirim enzimleri, pankreatik amilaz ve bağırsak glukozidaz, karbonhidratların monomerlere dönüştürülmesinde önemli bir rol üstlenir. Örneğin, oligosakkaritler ve disakkaritler, yoğun epitelde sindirim enzimleri tarafından emilebilen monosakkaritlere hidrolize edilir ve kan dolaşımına girerler. Bu nedenle, hiperglisemi ve tip 2 diyabeti kontrol etmek için bu enzimlerin inhibisyonu

izlenmelidir (Zhu ve ark., 2012; Podsędek ve ark., 2014). Bu çalışmada da FK'lerin antidiyabetik aktivitesi α-amilaz ve α-glukozidaz'a karşı sergilemiş oldukları inhibisyon seviyelerine göre değerlendirilmiştir. Diyabet hastalığında kullanılan akarboz ise pozitif kontrol olarak seçilmiştir. Sonuçlar IC_{50} (mg/mL) olarak verilmiştir. Örneklerin α-amilaz'ın aktif merkezi üzerine herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir; ancak FK'ler 0.008 mg/mL IC_{50} değeri ile α-glukozidaz enziminin aktivitesini önlemede etkili olduğu saptanmıştır. Örneklerin bu enzim üzerine etkisi pozitif kontrol (19.47 mg/mL) ile karşılaştırıldığında yaklaşık 2500 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.23.). Çam ve ark. (2020) bu değerin kapsüle edilmiş spearmint ve peppermint nane türleri için sırasıyla 1.20 mg/mL ve 0.6 mg/mL olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada α-glukozidazın %50'sinin inhibisyonu için 155.50 mg/mL ile 191.90 mg/mL arasında melisa kapsül solüsyonlarının yeterli olduğu belirlenmiştir (Tülek ve ark., 2021). FK'lerin pozitif kontrol ve literatürdeki diğer çalışmalara göre sergilemiş olduğu üstün antidiyabetik aktivite yapısında yer alan tanen grubu fenolik yapılardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ellajik asit üzerine yapılan çalışmalar belirlenen antidiyabetik aktivite sonuçları da bu hipotezi desteklemektedir (Harakeh ve ark., 2020; Farbood ve ark., 2019).

Çizelge 4.23. Fenolik kapsüllerinin antiyabetik aktivite değerleri

Enzimler	Birim	Mazı gal fenolikleri	Akarboz
α-amilaz	mg/mL	t_e	0.022±0.00
α-glukozidaz	mg/mL	0.008 ± 0.00	19.47±1.12

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). t_e: tespit edilememiştir.

4.6.5. Fenolik kapsüllerinin antimikrobiyal aktivitesi

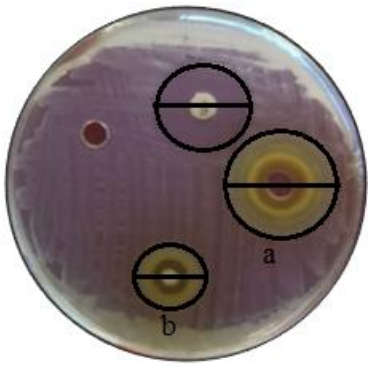
FK'lerin antimikrobiyal aktivitesi detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu amaçla örneklerin 4 referans suşa ((*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus (*ATCC 6538P), *Pseudomonas aerugonisa* (ATCC 9027) ve *Escherichia coli* (ATCC 8739) karşı sergilemiş oldukları antimikrobiyal davranış incelenmiştir. Seçilen her bir patojenik mikroorganizma için sonuçlar IZ olarak ifade edilmiştir. Referans suşlar arasında FK'lere karşı duyarlılığı en yüksek olan mikroorganizmanın 18 mm IZ değeri ile *E. coli* olduğu saptanmıştır. Bu mikroorganizmayı sırasıyla *P.*

aerugonisa (IZ: 16 mm), *E. faecalis* (IZ: 13 mm) ve *S. aureus* (IZ: 11 mm) mikroorganizmalarının takip ettiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.24.). Analizler esnasında *P. aerugonisa*'nın bulunduğu petri kabının görüntüleri Şekil 4.16'da verilmiştir. *E. coli* dışındaki diğer referans suşların pozitif kontrol olan eritromisine karşı stabilitelerinin daha düşük olduğu bulgulanmıştır. FK'ler de dâhil literatürde kapsül forma getirilmiş fenoliklerin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yürütülen çalışmaların kısıtlı olduğu görülmüştür. Bu yüzden bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar antimikrobiyal özellikleri literatür verileri ile ispatlanmış uçucu yağ kapsülleri ile ilgili yürütülmüş çalışmalarda elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Rialita ve ark. (2018) Arap zamkı ve maltodekstrin kullanılarak kırmızı zencefil yağı kapsülleri elde etmiş ve bu kapsüllerin antimikrobiyal davranışını *E. coli* ve *S. aures* mikroorganizmalarına karşı incelemişlerdir. Yazarlar kapsüllerin oluşturdukları IZ'larını *E. coli* için 4.17 mm ile 5.67 mm arasında, *S. aureus* için ise 4.50 mm ile 6.67 mm arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağı kitosanla kaplanmış ve elde edilen nihai kapsüller antimikrobiyal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Kapsüllerin seçilen patojenik mikroorganizmalar için ölçülen IZ'lerin 8 mm ile 9 mm arasında değiştiği tespit edilmiştir (Duman ve Kaya, 2016). FK'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin literatür verilerinde antimikrobiyal davranışları sıklıkça vurgulanan uçucu yağ kapsüllerinden yüksek bulunması biyolojik özellik bakımından ne kadar kıymetli bir yapının elde edildiğinin en önemli göstergesidir.

Çizelge 4.24. Fenolik kapsüllerinin referans şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri

Mikroorganizmalar	**Pozitif kontrol**	**Fenolik kapsülleri**
	Eritromisin (mm)	**IZ (mm)**
E. faecalis	21±1	13±3
S. aureus	21±1	11±3
P. aerugonisa	22±1	16±3
E. coli	14±1	18±1

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). IZ: inhibisyon zon çapı, t_e : tespit edilememiştir.



Şekil 4.16. Mazı gal fenoliklerinin (a) ve fenolik tozlarının (b) *P. aerugonisa*'a karşı inhibisyon zon çapı

FK'lerin aynı zamanda 6 klinik suş (*Bacillus subtilis, Escherichia coli, Klebsiella spp, Proteus spp, Staphylococcus aureus* ve *Shigella spp*) üzerindeki antimikrobiyal davranışı incelenmiştir (Çizelge 4.25.). Kapsüller çalışma kapsamında seçilen bütün mikroorganizmalara karşı inhibe edici etki sergilemişlerdir. *B.subtilis, E.coli, Klebsiella ssp., Proteus ssp., S. aureus* ve *Shigella s*sp. için IZ değerleri sırasıyla 11, 13, 14, 13, 14 ve 14 mm olarak ölçülmüştür. Her bir mikroorganizma (*E. coli* mikroorganizması dışında) için IZ çapları pozitif kontrol olarak seçilen kloramfenikolde daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.25. Fenolik kapsüllerinin klinik şuslara karşı antimikrobiyal aktivite değerleri

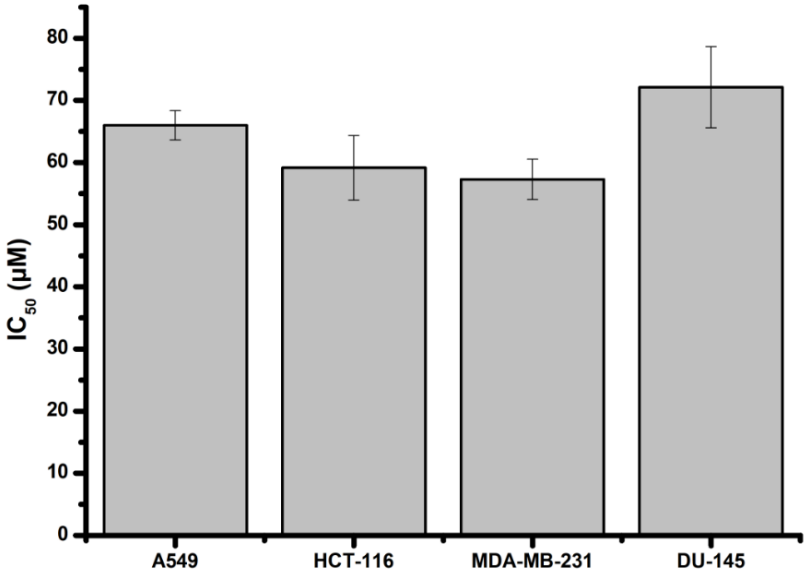
Mikroorganizmalar	**Pozitif kontrol**	**Fenolik kapsülleri**
	Kloramfenikol (mm)	**IZ (mm)**
B.subtilis	29±2	11±2
E.coli	t_e	13±1
Klebsiella ssp.	25±2	14±1
Proteus ssp.	22±0	13±1
S. aureus	30±2	14±1
Shigella ssp.	29±1	14±0

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). IZ: inhibisyon zon çapı, t_e : tespit edilememiştir.

4.6.6. Fenolik kapsüllerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi

Kanser; çevre–hava kirliliği, sağlıksız/düzensiz beslenme, sigara – alkol kullanımı ve radyasyon gibi etmenlerin neden olduğu reaktif serbest oksijen veya nitrojen oluşumlarından kaynaklanmaktadır (Parsa, 2012; Wu ve ark., 2018; Gao ve

ark., 2020). Dünya çapında bu hastalıktan ölenlerin sayısının 2018 yılında 9.6 milyon olduğu kayıtlara geçmiştir (Gao ve ark., 2020; Parsa, 2012; Wu ve ark., 2018). Farklı yöntemler kullanılarak kanser hastalığının tedavi edilmesine yönelik çalışmalar mevcuttur; ancak günümüzde önemli biyoaktif bileşikler arasında yer alan fenolik yapılar bu hastalığı önleyici ilaçların üretiminde yaygın bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Her materyalde olduğu gibi fenolik maddelerin de kendi içerisinde dezavantajları mevcuttur. Çevresel koşullara karşı düşük stabilite, kontrolsüz salınım, düşük çözünürlük ve düşük absorpsiyon bu biyoaktif yapıların fonksiyonel davranışlarını *in vivo* şartlarda sınırlamaktadır. Son yıllarda bu kısıtlamaların üstesinden gelmek için enkapsülasyon sistemlerinden yararlanılmış ve bu sistemler ile antikanser aktivite de dahil fenolik maddelerin biyolojik aktivitelerinin belirgin şekilde artırıldığı not edilmiştir (Rahaiee ve ark., 2020). Bu çalışmada da fonksiyonel özellikleri yüksek olan MGF özütleri VÇP'ler kullanılarak PK yöntemi ile enkapsüle edilmiştir. Elde edilen kapsüllerin antikanser aktivitelerini test etmek için A549 (akciğer adenoma kanser), HCT-116 (kolorektal adenoma kanser), MDA-MB-231 (meme adenoma kanser) ve DU-145 (prostat adenoma kanser) hücre hatları üzerinde sergilemiş oldukları sitotoksik etkisi MTT testi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar IC_{50} (µM) (ilgili kanser hücresinin %50'sini inhibe etmek için gerekli olan kapsül örneğinin konsantrasyonu) olarak ifade edilmiştir (Şekil 4.17.). FK'ler çalışılan tüm kanser hücre hatları üzerine sitotoksik etki sergilediği tespit edilmiştir; ancak hücre hatlarının kapsüller üzerine olan duyarlılığı birbirinden farklı bulunmuştur. Meme adenoma kanser hücre hattının 57.31 µM IC_{50} değeri ile FK'le karşı duyarlılığı diğer hücre hatlarına kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu hücre hattını sırasıyla kolorektal adenoma kanser (59.16 µM), akciğer adenoma kanser (65.99 µM) ve prostat adenoma kanser (72.13 µM) hücre hatları takip etmiştir. Benzer şekilde farklı fenolik kapsüllerinin akciğer adenoma kanser (Thongnopkoon ve Chittasupho, 2018), kolon kanseri (Baum ve ark., 2014) ve insan promiyelositik lösemi HL-60 kanser (Zou ve ark., 2012) hücresi hatları üzerine sitotoksik etki gösterdiği bilimsel literatürde not edilmiştir.



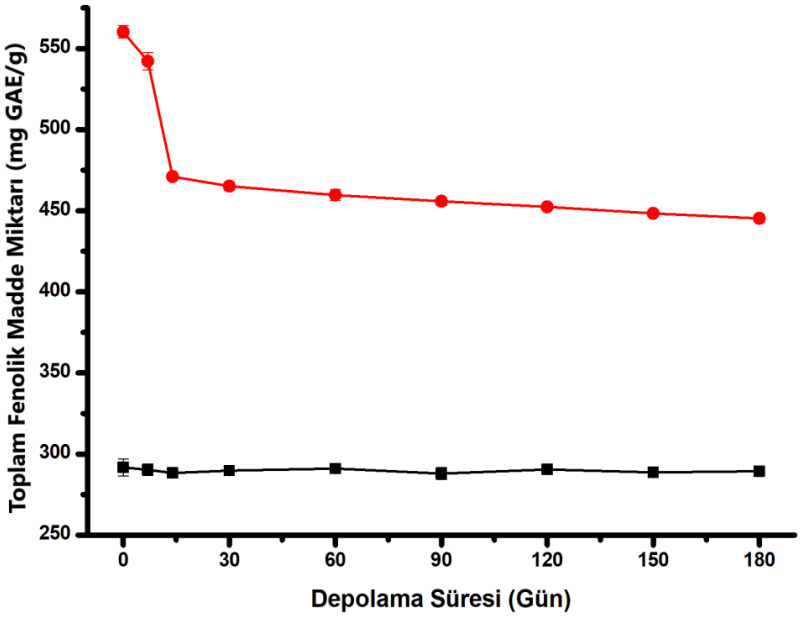
Şekil 4.17. Mazı gal fenoliklerinin antikanser aktivitesi

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)

4.6.7. Fenolik kapsüllerinin depolanması

VÇP'lerin fenolik yapıların korunmasında ne kadar etkili olduğunu göstermek için elde edilen FK'ler oda sıcaklığında depolanmış ve 0., 7., 14., 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. günlerde TFM miktarlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmanın bu kısmında MGF özütleri de doğrudan PK sistemine beslenmiş (Besleme işlemi enkapsülasyon işleminde seçilen parametreler ile aynı koşullarda yapılmıştır) ve FK'ler için belirlenen koşullarda depolamaya alınmıştır. Depolama sonuçlarına göre örneklerin TFM miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.18.'de sunulmuştur. FK'lerin başlangıç TFM miktarı değerinin 291.82 mg GAE/g olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın başında bu değerde çok küçük bir düşüşün olduğu tespit edilmiştir. Bu düşüşün nedeninin kapsül yüzeyinde bulunan az miktarda fenolik yapının oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolama geneline bakıldığında FK'lerin TFM miktarında önemli bir değişimin olmadığı bulgulanmıştır; ancak VÇP içermeyen doğrudan özütlerin beslenerek kurutulduğu toz numunelerde özellikle depolamanın başlarında kayda değer oranda bir düşüşün meydana geldiği tespit edilmiştir. Depolamanın başında enkapsüle edilmemiş fenolik tozlarının TFM miktarı 560.30 mg GAE/g iken 14. günde yapılan

analizde fenoliklerin yaklaşık %16'sının degrade olduğu belirlenmiştir; ancak daha sonra yapılan aylık analizlerde çok büyük oranda düşüşlerin meydana gelmediği tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar literatür verileriyle de desteklenmektedir (Çam ve ark., 2014). Elde edilen sonuçlar, VÇP'lerin fenolik materyalleri çevresel faktörlerin vermiş olduğu olumsuz etkilere karşı koruma yeteneğini göstermiştir. *Moringa stenopetala* yaprak özütlerinin maltodekstrin kullanılarak kapsüllendiği çalışmada enkapsüle edilmemiş özütlerin stabilitelerinin daha düşük olduğu not edilmiştir (Dadi ve ark., 2020). Moringa yaprak özütleri ile ilgili yürütülen başka bir çalışmada da benzer bulgulara rastlanılmıştır (Vonghirundecha ve ark., 2021). Çam ve ark. (2014) nar kabuğu özütlerini maltodekstrin kullanarak kapsülemiş ve 90 günlük depolama boyunca 30 günde bir olarak yapmış oldukları TFM mikarı analizi ile DM'nin fenolikleri korumadaki başarısını ortaya koymuşlardır.



Şekil 4.18. Fenolik kapsüllerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişimleri

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)
Kırmızı çizgiler enkapsüle edilmemiş fenolik tozlarını, siyah çizgiler fenolik tozlarını temsil etmektedir

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Çalışmanın temel amacı olan kullanım alanı ve ekonomik değeri sınırlı bir materyalden (vişne meyvesi işleme atığı olarak VÇ'lerden) katma değeri yüksek bitkisel protein tozu üretimi ve elde edilen tozun enkapsülasyon teknolojisinde DM olarak kullanımı açısından başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar özet niteliğinde aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

- Kimyasal kompozisyon analiz sonuçları ile VÇ'lerin önemli seviyelerde yağ ve protein kaynağı olduğu doğrulanmıştır. VÇ'lerden elde edilen yağların ve proteinlerin çalışmanın temelini oluşturduğu göz önüne alındığında elde edilen bulguların önemi daha iyi anlaşılmaktadır.
- Soğuk sıkım tekniği ile VÇ'lerden yağ özütleme işleminde herhangi bir problemle karşılaşılmamış ve elde edilen VÇY'lerin yağ kalite indeksi değerleri özellikle peroksit değeri sonucu arzu edilen seviyelerde bulunmuştur.
- VÇY'lerin, sağlık üzerine pozitif etkileri bilimsel literatürde sıklıkla vurgulanan doymamış yağ asitleri (özellikle oleik ve linoleik asit), zeaksantin, β-karoten, naringenin ve ellajik asit bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. İçermiş olduğu bu yapılar nedeniyle VÇY'lerin antioksidatif, antidiyabetik ve antimikrobiyal (bazı mikroorganizmalara karşı) etkiye sahip olduğu saptanmıştır.
- MGF'lerin biyoaktif materyallerden olan fenolikler ve tanenler açısından ön plana çıktığı tespit edilmiştir. Fenolik fraksiyon sonuçları ile de fonksiyonel özellikleri açısından ön planda olan ellajik asitin ve gallik asitin MGF'lerde baskın yapılar olduğu saptanmıştır. Bu yapılar MGF'lerin biyolojik aktivite sergileme potansiyeli olan materyaller olduğunu net bir şekilde göstermektedir. Yüksek antioksidatif, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivite değerleri ile de bu yaklaşım

doğrulanmaktadır. Tüm bu sonuçlar MGF'lerin enkapsülasyon sisteminde çekirdek materyal olarak seçiminde arkada yatan motivasyonu oluşturmaktadır.

- Yağı alınmış posadan protein eldesi için özütleme koşulları yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimize edilmiştir. Optimizasyon işleminde çözücü pH'sı, özütleme süresi ve çözücü-örnek oranının nihai proteinlerin saflığı üzerine etkisi ele alınmıştır. En yüksek protein saflığı için çalışma koşullarının pH 7.73, özütleme süresi 63 dk ve çözücü-örnek oranı 29 mL/g olduğu belirlenmiştir.
- VÇP'ler farklı teknikler kullanılarak kurutulmuş ve enkapsülasyon sistemi için uygun kurutma yöntemi belirlenmiştir. PK sistemi için arzu edilen kurutmanın 140 °C'de olduğu gözlemlenmiştir. Bu sıcaklıkta elde edilen VÇP'lerin besinsel (toplam protein miktarı ve esansiyel amino asit miktarı) ve fonksiyonel özellikleri (çözünürlük, emülsiyon aktivitesi/stabilitesi ve emülsiyonların optik görüntüleri), DK, OŞK ve KK tekniği ile elde edilen tozlar ile kıyaslanmıştır. Arzu edilen değerler PK tekniği ile elde edilen VÇP'lerde saptanmıştır.
- VÇP'lerin enkapsülasyon sistemlerinde DM olarak kullanım potansiyelini ortaya koymak için içerilerine kendileri ile eşit oranda VÇY'ler yüklenmiştir. FTIR sonuçları ile enkapsülasyon işlemi doğrulandıktan sonra EV ve EE değerleri ile VÇP'lerin DM olarak efektifliği ortaya konulmuştur.
- VÇP'ler kullanılarak akışkanlık ve yapışkanlık açısından kabul edilebilir seviyelerde YK'lerin elde edildiği belirlenmiştir.
- Termal sonuçlar YK'lerin sterilizasyon gibi yüksek sıcaklıkların uygulanmasının zorunlu olduğu gıda proseslerinde herhangi bir koruma yöntemi olmadan bir bileşen olarak kullanılabileceğini göstermiştir.
- VÇP'ler yağları çevresel koşulların sebep olduğu oksidasyona karşı koruduğu belirlenmiştir. Bu sonuç VÇP'lerin yağların enkapsülasyonunda DM olarak kullanımının makul olduğuna işarettir.
- FK'ler için elde edilen EV ve EE değerleri VÇP'lerin fenolik bileşiklerin kaplanmasındaki başarısını göstermektedir.

- FK'lerin muadilleri ile karşılaştırıldığında proteince zengin, fenolik ve tanen içeriği bakımından da ön planda olduğu saptanmıştır. İçermiş olduğu bu biyoaktif yapılar kapsüllere üstün antioksidatif ve antidiyabetik aktivite sağlamıştır.
- FK'lerin çalışma kapsamında seçilen tüm referans ve klinik suşlara karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla piyasada kullanılan antimikrobiyal ajanlara alternatif doğal bir materyal olarak değerlendirilme potansiyeli mevcuttur.
- FK'lerin farklı konsantrasyonları A549 (akciğer adenoma kanser), HCT-116 (kolorektal adenoma kanser), MDA-MB-231 (meme adenoma kanser) ve DU-145 (prostat adenoma kanser) hücre hatları üzerine sitotoksik etki göstermiştir.
- VÇP'lerin MGF'leri çevresel streslere karşı stabilite sağladığı depolama sonuçları ile doğrulanmıştır.

Çalışmada biyolojik aktivite yönünden yüksek olan materyallerin kendileri gibi fonksiyonel özellik sergileme potansiyeli olan DM ile kapsüllenmesinin avantajları ortaya konulmuştur. Ayrıca proses atığı olan bir materyalden katma değeri yüksek ve faydalı bir ürünün elde edilmiş olması bilimsel literatür ve gıda endüstrisi için vurgulanması gereken en önemli noktalardır.

5.2. Öneriler

- VÇY'ler içermiş olduğu önemli biyolojik yapılarından dolayı farklı gıda materyallerinde zenginleştirici olarak kullanılabilir.
- MGF özütleri sergilemiş olduğu yüksek antimikrobiyal aktivite nedeniyle stabilitesi düşük olan gıda ürünlerinde koruyucu olarak kullanılabilir.
- VÇP'ler mikrodalga ve ultrases gibi ileri özütleme teknikleri ile üretilmesi ileri çalışma olarak ele alınabilir.
- Bitkisel kaynaklı proteinlere talebin çok olduğu göz önüne alındığında VÇP'lerin fonksiyonel özellikleri ile ilgili çalışmalar yapılıp gerekiyorsa

farklı uygulamalarla bu özelliklerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yürütülebilir.

- İleri çalışamalarda YK'ler ve FK'ler gıda materyallerinde zenginleştirici ve koruyucu olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

ADAL, E., 2019. Encapsulation of Oils From Sour Cherry Kernel and Berry Seeds by Protein-protein Complexes. Gaziantep University, Graduate School Of Natural & Applied Sciences, PhD. Thesis, Gaziantep, Turkey, 148 p.

ABDELKADER, N. F., ELYAMANY, M., GAD, A. M., ASSAF, N., FAWZY, H. M., and ELESAWY, W. H., 2020. Ellagic Acid Attenuates Liver Toxicity Induced by Valproic Acid in Rats. Journal of Pharmacological Sciences, 143(1): 23-29.

ADITYA, N. P., ADITYA, S., YANG, H., KIM, H. W., PARK, S. O., and KO, S., 2015. Co-Delivery of Hydrophobic Curcumin and Hydrophilic Catechin By A Water-In-Oil-In-Water Double Emulsion. Food Chemistry, 173: 7-13.

AGHBASHLO, M., MOBLI, H., MADADLOU, A., and RAFIEE, S. 2012. Integrated Optimization of Fish Oil Microencapsulation Process by Spray Drying. Journal of Microencapsulation, 29(8): 790-804.

AGUIAR, J., ESTEVINHO, B. N., and SANTOS, L., 2016. Microencapsulation of Natural Antioxidants for Food Application–The Specific Case of Coffee Antioxidants–A Review. Trends in Food Science & Technology, 58: 21-39.

AKDAG, E., 2011. Türkiye Meyve Suyu vb. Ürünler Sanayi Raporu. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği (MEYED), İstanbul.

AKDENIZ, B., SUMNU, G., and SAHIN, S., 2018. Microencapsulation of Phenolic Compounds Extracted from Onion (*Allium cepa*) Skin. Journal of Food Processing and Preservation, 42(7): e13648.

AKKAFA, F., KOYUNCU, I., TEMİZ, E., DAGLI, H., DİLMEC, F., and AKBAS, H., 2018. Mirna-Mediated Apoptosis Activation Through TMEM 48 Inhibition in A549 Cell Line. Biochemical and Biophysical Research Communications, 503(1): 323-329.

AKYUZ, A., 2018. Gıda Endüstrisi için Alternatif Bitkisel Protein Tozu Üretimi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bornova, İzmir, Türkiye, 77s

AKYUZ, A., and ERSUS, S., 2021. Optimization of Enzyme Assisted Extraction of Protein from The Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Leaves for Alternative Plant Protein Concentrate Production. Food Chemistry, 335: 127673.

ALASALVAR, H., and CAM, M., 2019. Process for Production of Ready to Drink Iced Teas from Sage (*Salvia officinalis* L.) and Linden (*Tilia cordata*): Pressurized Hot Water Extraction and Spray Drying. Food Science and Biotechnology, 28(3): 779-785.

ALBUQUERQUE, B. R., HELENO, S. A., OLIVEIRA, M. B. P., BARROS, L., and FERREIRA, I. C., 2021. Phenolic Compounds: Current Industrial Applications, Limitations and Future Challenges. Food & Function, 12(1): 14-29.

ALEXANDRE, E. M., SILVA, S., SANTOS, S. A., SILVESTRE, A. J., DUARTE, M. F., SARAIVA, J. A., and PINTADO, M., 2019. Antimicrobial Activity of Pomegranate Peel Extracts Performed by High Pressure and Enzymatic Assisted Extraction. Food Research International, 115: 167-176.

ALI, Q., ASHRAF, M., and ANWAR, F., 2010. Seed Composition and Seed Oil Antioxidant Activity of Maize Under Water Stress. Journal of the American Oil Chemists' Society, 87(10): 1179-1187.

ALMASI, S., NAJAFI, G., GHOBADIAN, B., and JALILI, S., 2021. Biodiesel Production from Sour Cherry Kernel Oil as Novel Feedstock Using Potassium Hydroxide Catalyst: Optimization Using Response Surface Methodology. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35: 102089.

ALRUBAYE, A., MOTOVALI-BASHI, M., and MIROLIAEI, M., 2021. Rosmarinic Acid Inhibits DNA Glycation and Modulates The Expression of Akt1 and Akt3 Partially in The Hippocampus of Diabetic Rats. Scientific Reports, 11(1): 1-10.

ALSATAF, S., BAŞYIGIT, B., and KARAASLAN, M., 2021. Multivariate Analyses of the Antioxidant, Antidiabetic, Antimicrobial Activity of Pomegranate Tissues with Respect to Pomegranate Juice. Waste and Biomass Valorization, 1-13.

ALVARENGA BOTREL, D., VILELA BORGES, S., VICTÓRIA DE BARROS FERNANDES, R., DANTAS VIANA, A., MARIA GOMES DA COSTA, J., and REGINALDO MARQUES, G., 2012. Evaluation of Spray Drying Conditions on Properties of Microencapsulated Oregano Essential Oil. International Journal of Food Science & Technology, 47(11): 2289-2296.

ALZANDI, A. A., TAHER, E. A., AL-SAGHEER, N. A., AL-KHULAIDI, A. W., AZIZI, M., and NAGUIB, D. M., 2021. Phytochemical Components, Antioxidant and Anticancer Activity of 18 Major Medicinal Plants in Albaha Region, Saudi Arabia. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 34: 102020.

AOAC INTERNATIONAL., 1984. Official Methods of Snalysis (Vol. 67, pp. 503–515), 14th ed.:Association of Official Analytical Chemists.

AOAC INTERNATIONAL., 1998. Official Methods of Analysis (15th ed.). Washington DC.

APAK, R., GUCLU, K., OZYUREK, M., and CELIK, S. E., 2007. Mechanism of Antioxidant Capacity Assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. Microchimica Acta, 160(4): 413–419.

ARIKAN, S., and PIRLAK, L., 2016. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Growth, Yield and Fruit Quality of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.). Erwerbs-obstbau, 58(4): 221-226.

ARINA, M. I., and HARISUN, Y., 2019. Effect of Extraction Temperatures on Tannin Content and Antioxidant Activity of *Quercus infectoria* (Manjakani). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 19: 101104.

BAJAJ, S. R., MARATHE, S. J., and SINGHAL, R. S., 2021. Co-encapsulation of Vitamins B_{12} and D_3 Using Spray Drying: Wall Material Optimization, Product Characterization, and Release Kinetics. Food Chemistry, 335: 127642.

BAK, I., LEKLI, I., JUHASZ, B., NAGY, N., VARGA, E., VARADI, J., ... and TOSAKI, A., 2006. Cardioprotective Mechanisms of *Prunus Cerasus* (Sour Cherry) Seed Extract against Ischemia-Reperfusion-Induced Damage in Isolated Rat Hearts. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 291(3): H1329-H1336.

BAK, I., CZOMPA, A., CSEPANYI, E., JUHASZ, B., KALANTARI, H., NAJM, K., ... and TOSAKI, A., 2011. Evaluation of Systemic and Dermal Toxicity

and Dermal Photoprotection by Sour Cherry Kernels. Phytotherapy Research, 25(11): 1714-1720.

BALAGE, M., and DARDEVET, D., 2010. Long-term Effects of Leucine Supplementation on Body Composition. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 13(3): 265-270.

BANDYOPADHYAY, K., and GHOSH, S., 2002. Preparation and Characterization of Papain-Modified Sesame (*Sesamum indicum* L.) Protein Isolates. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(23): 6854-6857.

BAO, T., XU, Y., GOWD, V., ZHAO, J., XIE, J., LIANG, W., and CHEN, W., 2016. Systematic Study on Phytochemicals and Antioxidant Activity of Some New and Common Mulberry Cultivars in China. Journal of Functional Foods, 25: 537-547.

BASYIGIT, B., and CAM, M., 2017. Püskürtmeli Kurutucu ile Nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) Esansiyel Yağı Mikroenkapsülasyonu. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21(1): 24-34.

BASYIGIT, B., and HAYOGLU, I., 2019. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Root Sherbet (Extract): Microencapsulation and Storage Stability. Acta Alimentaria, 48(1): 76-85.

BASYIGIT, B., DAGHAN, Ş., and KARAASLAN, M., 2020a. Biochemical, Compositional, And Spectral Analyses of İsot (Urfa Pepper) Seed Oil and Evaluation of Its Functional Characteristics. Grasas y Aceites, 71(4): 384.

BASYIGIT, B., ALASALVAR, H., DOGAN, N., DOGAN, C., BERKTAS, S., & CAM, M., 2020b. Wild mustard (*Sinapis arvensis*) Parts: Compositional Analysis, Antioxidant Capacity and Determination of Individual Phenolic Fractions by LC–ESI–MS/MS. Journal of Food Measurement & Characterization, 14(3): 1671-1681.

BASYIGIT, B., SAGLAM, H., KANDEMIR, S., KARAASLAN, A., and KARAASLAN, M., 2020c. Microencapsulation of Sour Cherry Oil by Spray Drying: Evaluation of Physical Morphology, Thermal Properties, Storage Stability, and Antimicrobial Activity. Powder Technology, 364: 654-663.

BASYIGIT, B., SAGLAM, H., HAYOGLU, I., and KARAASLAN, M., 2021a. Spectroscopic (LC-ESI-MS/MS, FT-IR, NMR) and Functional Characterization of Fruit Seed Oils Extracted with Green Technology: A Comparative Study with Prunus Cerasus and Punica Granatum Oils. Journal of Food Processing and Preservation, 45(5): e15451.

BASYIGIT, B., YUCETEPE, M., KARAASLAN, A., and KARAASLAN, M., 2021b. High Efficiency Microencapsulation of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) with Novel Carrier Agents: Fruit Proteins. Materials Today Communications, 28: 102618.

BATTEZZATI, A., BERTOLI, S., SAN ROMERIO, A., and TESTOLIN, G., 2007. Body Composition: An Important Determinant of Homocysteine and Methionine Concentrations in Healthy Individuals. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 17(7): 525-534.

BAUM, M., SCHANTZ, M., LEICK, S., BERG, S., BETZ, M., FRANK, K., ... and RICHLING, E., 2014. Is The Antioxidative Effectiveness of A Bilberry Extract Influenced by Encapsulation?. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(11): 2301-2307.

BENZIE, I. F. F., and STRAIN, J. J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as A Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239(1): 70–76.

BERGHOUT, J. A. M., BOOM, R. M., and VAN DER GOOT, A. J., 2014. The Potential of Aqueous Fractionation of Lupin Seeds dor High-Protein Foods. Food Chemistry, 159: 64-70.

BERNARDES, A. L., MOREIRA, J. A., TOSTES, M. D. G. V., COSTA, N. M. B., SILVA, P. I., and COSTA, A. G. V., 2019. *In vitro* Bioaccessibility of Microencapsulated Phenolic Compounds of Jussara (*Euterpe edulis Martius*) Fruit and Application in Gelatine Model-System. LWT, 102: 173-180.

BICUDO, M. O. P., JÓ, J., OLIVEIRA, G. A. D., CHAIMSOHN, F. P., SIERAKOWSKI, M. R., FREITAS, R. A. D., and RIBANI, R. H. (2015). Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) Pulp by Spray Drying using Different Carriers and Drying Temperatures. Drying Technology, 33(2): 153-161.

BLANDO, F., and OOMAH, B. D., 2019. Sweet and Sour Cherries: Origin, Distribution, Nutritional Composition and Health Benefits. Trends in Food Science & Technology, 86: 517-529.

BOYE, J. I., AKSAY, S., ROUFIK, S., RIBÉREAU, S., MONDOR, M., FARNWORTH, E., and RAJAMOHAMED, S. H., 2010. Comparison of The Functional Properties of Pea, Chickpea and Lentil Protein Concentrates Processed Using Ultrafiltration and Isoelectric Precipitation Techniques. Food Research International, 43(2): 537-546.

BREITENEDER, H., and RADAUER, C., 2004. A Classification of Plant Food Allergens. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 113(5): 821-830.

BRUNETON, J., 1999. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants (2nd edition), Intercept, Hampshire, UK.

CAKMAK-ARSLAN, G., HAKSOY, H., GOC-RASGELE, P., and KEKECOGLU, M., 2020. Determination of The Dose-Dependent Toxic Effects of Mad Honey on Mouse Liver Using ATR-FTIR spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 228: 117719.

CALIGIANI, A., BONZANINI, F., PALLA, G., CIRLINI, M., and BRUNI, R. 2010. Characterization of A Potential Nutraceutical Ingredient: Pomegranate (*Punica Granatum* L.) Seed Oil Unsaponifiable Fraction. Plant Foods for Human Nutrition, 65(3): 277-283.

CAM, M., HISIL, Y., and DURMAZ, G., 2009. Classification of Eight Pomegranate Juices Based on Antioxidant Capacity Measured by Four Methods. Food chemistry, 112(3): 721-726.

CAM, M., and HIŞIL, Y., 2010. Pressurised Water Extraction of Polyphenols from Pomegranate Peels. Food Chemistry, 123(3): 878-885.

CAM, M., ICYER, N. C., and ERDOĞAN, F., 2014. Pomegranate Peel Phenolics: Microencapsulation, Storage Stability and Potential Ingredient for Functional Food Development. LWT - Food Science and Technology, 55(1): 117-123.

CAM, M., and ICYER, N. C., 2015. Phenolics of Pomegranate Peels: Extraction Optimization by Central Composite Design and Alpha Glucosidase Inhibition Potentials. Journal of food science and technology, 52(3): 1489-1497.

CAM, M., BASYIGIT, B., ALASALVAR, H., YILMAZTEKİN, M., AHHMED, A., SAGDIC, O., ... and TELCI, I., 2020. Bioactive Properties of Powdered

Peppermint and Spearmint Extracts: Inhibition of Key Enzymes Linked To Hypertension and Type 2 Diabetes. Food Bioscience, 35, 100577.

CAPANOGLU, E., BOYACIOGLU, D., DE VOS, R. C., HALL, R. D., and BEEKWILDER, J. 2011. Procyanidins in Fruit from Sour Cherry (*Prunus cerasus*) Differ Strongly in Chainlength from Those in Laurel Cherry (*Prunus lauracerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*). Journal of Berry Research, 1(3): 137-146.

CAPARINO, O. A., TANG, J., NINDO, C. I., SABLANI, S. S., POWERS, J. R., and FELLMAN, J. K., 2012. Effect of Drying Methods on The Physical Properties and Microstructures of Mango (*Philippine 'carabao'*var.) Powder. Journal of Food Engineering, 111(1): 135-148.

CARNEIRO, H. C., TONON, R. V., GROSSO, C. R., and HUBINGER, M. D., 2013. Encapsulation Efficiency and Oxidative Stability of Flaxseed Oil Microencapsulated by Spray Drying Using Different Combinations of Wall Materials. Journal of Food Engineering, 115(4): 443-451.

CÁSEDAS, G., LES, F., GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P., SMITH, C., and LÓPEZ, V., 2016. Bioactive and Functional Properties of Sour Cherry Juice (*Prunus cerasus*). Food & Function, 7(11): 4675-4682.

CELIK, M., GUZEL, M., and YILDIRIM, M., 2019. Effect of pH on Protein Extraction From Sour Cherry Kernels and Functional Properties of Resulting Protein Concentrate. Journal of Food Science and Technology, 56(6): 3023-3032.

CILEK, B., LUCA, A., HASIRCI, V., SAHIN, S., and SUMNU, G., 2012. Microencapsulation of Phenolic Compounds Extracted from Sour Cherry Pomace: Effect of Formulation, Ultrasonication Time and Core to Coating Ratio. European Food Research and Technology, 235(4): 587-596.

CHABANON, G., CHEVALOT, I., FRAMBOISIER, X., CHENU, S., and MARC, I., 2007. Hydrolysis of Rapeseed Protein Isolates: Kinetics, Characterization and Functional Properties of Hydrolysates. Process Biochemistry, 42(10): 1419-1428.

CHAOVANALIKIT, A., and WROLSTAD, R. E., 2004. Total anthocyanins and Total Phenolics of Fresh and Processed Cherries and Their Antioxidant Properties. Journal of Food Science, 69(1): FCT67-FCT72.

CHEW, S. C., and NYAM, K. L., 2016. Oxidative Stability of Microencapsulated Kenaf Seed Oil Using Co-Extrusion Technology. Journal of the American Oil Chemists' Society, 93(4): 607-615.

CHIOU, D., and LANGRISH, T. A. G., 2007. Development and Characterisation of Novel Nutraceuticals with Spray Drying Technology. Journal of Food Engineering, 82(1): 84-91.

CHOUAIBI, M., REZIG, L., HAMDI, S., and FERRARI, G., 2019. Chemical Characteristics and Compositions of Red Pepper Seed Oils Extracted by Different Methods. Industrial Crops and Products, 128: 363-370.

CIURZYŃSKA, A., and LENART, A., 2011. Freeze-Drying-Application in Food Processing and Biotechnology-A Review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 61(3): 165-171.

CODA, R., VARIS, J., VERNI, M., RIZZELLO, C. G., and KATINA, K., 2017. Improvement of The Protein Quality of Wheat Bread Through Faba Bean Sourdough Addition. LWT, 82: 296-302.

CONDE, J. M., DEL MAR YUST ESCOBAR, M., PEDROCHE JIMÉNEZ, J. J., RODRIGUEZ, F. M., and RODRÍGUEZ PATINO, J. M., 2005. Effect of Enzymatic Treatment of Extracted Sunflower Proteins on Solubility, Amino Acid Composition, and Surface Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(20): 8038-8045.

COOK, J. D., MORCK, T. A., and LYNCH, S. R., 1981. The Inhibitory Effect of Soy Products on Nonheme Iron Absorption in Man. The American Journal of Clinical Nutrition, 34(12): 2622-2629.

CSIKI, Z., PAPP-BATA, A., CZOMPA, A., NAGY, A., BAK, I., LEKLI, I., ... and TOSAKI, A., 2015. Orally Delivered Sour Cherry Seed Extract (SCSE) Affects Cardiovascular and Hematological Parameters in Humans. Phytotherapy Research, 29(3): 444-449.

DA COSTA NETO, J. J., GOMES, T. L., JUSTO, T. F., PEREIRA, K. S., AMARAL, P. F., LEÃO, M. H. R., and SANT'ANA, G. C. F. (2019). Microencapsulation of Tiger Nut Milk by Lyophilization: Morphological Characteristics, Shelf Life and Microbiological Stability. Food Chemistry, 284: 133-139.

DADI, D. W., EMİRE, S. A., HAGOS, A. D., and EUN, J. B., 2020. Physical and Functional Properties, Digestibility, and Storage Stability of Spray-and Freeze-Dried Microencapsulated Bioactive Products from *Moringa stenopetala* Leaves Extract. Industrial Crops and Products, 156: 112891.

DANDO, W.A., 2012. Food and famine in the 21st Century [2 volumes]. ABC-CLIO.

DE ARAUJO SANTIAGO, M. C. P., NOGUEIRA, R. I., PAIM, D. R. S. F., GOUVÊA, A. C. M. S., DE OLIVEIRA GODOY, R. L., PEIXOTO, F. M., ... and FREITAS, S. P., 2016. Effects of Encapsulating Agents on Anthocyanin Retention in Pomegranate Powder Obtained by The Spray Drying Process. LWT, 73: 551-556.

DE OLIVEIRA SOUSA, A. G., FERNANDES, D. C., ALVES, A. M., DE FREITAS, J. B., and NAVES, M. M. V., 2011. Nutritional Quality and Protein Value of Exotic Almonds and Nut From The Brazilian Savanna Compared To Peanut. Food Research International, 44(7): 2319-2325.

DE SOUZA SIMÕES, L., MADALENA, D. A., PINHEIRO, A. C., TEIXEIRA, J. A., VICENTE, A. A., and RAMOS, Ó. L., 2017. Micro-and Nano Bio-Based Delivery Systems for Food Applications: *In Vitro* Behavior. Advances in Colloid and Interface Science, 243: 23-45.

DE SOUZA, V. B., THOMAZINI, M., BARRIENTOS, M. A. E., NALIN, C. M., FERRO-FURTADO, R., GENOVESE, M. I., and FAVARO-TRINDADE, C. S., 2018. Functional Properties and Encapsulation of A Proanthocyanidin-Rich Cinnamon Extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by Complex Coacervation using Gelatin and Different Polysaccharides. Food Hydrocolloids, 77: 297-306.

DEVI, N., SARMAH, M., KHATUN, B., and MAJI, T. K., 2017. Encapsulation of Active Ingredients in Polysaccharide–Protein Complex Coacervates. Advances in Colloid and Interface Science, 239: 136-145.

DI GIORGIO, L., SALGADO, P. R., and MAURI, A. N., 2019. Encapsulation of Fish Oil in Soybean Protein Particles by Emulsification and Spray Drying. Food Hydrocolloids, 87: 891-901.

DIGRAK, M., ALMA, M. H., ILCIM, A., and SEN, S., 1999. Antibacterial and Antifungal Effects of Various Commercial Plant Extracts. Pharmaceutical Biology, 37(3): 216-220.

DONG, Z., MA, Y., HAYAT, K., JIA, C., XIA, S., and ZHANG, X., 2011. Morphology and Release Profile of Microcapsules Encapsulating Peppermint Oil by Complex Coacervation. Journal of Food Engineering, 104(3): 455-460.

DUFOUR, E., 2009. Principles of Infrared Spectroscopy in Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control, Ed. Sun D., Elsevier Ltd, Dublin.

DUMAN, F., and KAYA, M., 2016. Crayfish Chitosan for Microencapsulation of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil. International Journal of Biological Macromolecules, 92: 125-133.

DURGUN, M., TURKMEN, H., ZENGİN, G., ZENGIN, H., KOYUNSEVER, M., and KOYUNCU, I., 2017. Synthesis, Characterization, *In Vitro* Cytotoxicity and Antimicrobial Investigation and Evaluation of Physicochemical Properties of Novel 4-(2-methylacetamide) Benzenesulfonamide Derivatives. Bioorganic Chemistry, 70: 163-172.

DZAGANIA, T., ENGELMANN, G., HÄUSSINGER, D., SCHMITT, L., FLECHTENMACHER, C., RTSKHILADZE, I., and KUBITZ, R., 2012. The Histidin-Loop is Essential for Transport Activity of Human MDR3. A Novel Mutation Of MDR3 in A Patient with Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis Type 3. Gene, 506(1): 141-145

EVANS, W. C., 2009. Trease and Evans Pharmacognosy (15th edition), Elsevier, Uttar Pradesh.

FAOSTAT, 2017. Food and Agricultural commodities Production, Countries by Commodity. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC Accessed 25 December 2017.

FARBOOD, Y., RASHNO, M., GHADERI, S., KHOSHNAM, S. E., SARKAKI, A., RASHIDI, K., ... and BADAVI, M., 2019. Ellagic Acid Protects against Diabetes-Associated Behavioral Deficits in Rats: Possible İnvolved Mechanisms. Life Sciences, 225: 8-19.

FATIMA, S., FAROOQI, A. H. A., KUMAR, R., KUMAR, T. R. S., and KHANUJA, S. P. S., 2000. Antibacterial Activity Possessed by Medicinal Plants Used in Tooth Powders. Antibacterial Activity Possessed by Medicinal Plants Used in Tooth Powders, 22(4a): 187-189.

FERNANDES, R. D. P., TRINDADE, M. A., TONIN, F. G., LIMA, C. G., PUGINE, S. M. P., MUNEKATA, P. E. S., ... and DE MELO, M. P., 2016. Evaluation of Antioxidant Capacity of 13 Plant Extracts by Three Different Methods: Cluster Analyses Applied for Selection of The Natural Extracts with Higher Antioxidant Capacity to Replace Synthetic Antioxidant in Lamb Burgers. Journal of Food Science and Technology, 53(1): 451-460.

FERNANDEZ, A., TORRES-GINER, S., and LAGARON, J. M., 2009. Novel Route To Stabilization of Bioactive Antioxidants by Encapsulation in Electrospun Fibers of Zein Prolamine. Food Hydrocolloids, 23(5): 1427-1432.

FERNÁNDEZ-QUINTELA, A., MACARULLA, M. T., DEL BARRIO, A. S., and MARTÍNEZ, J. A., 1997. Composition and Functional Properties of Protein Isolates Obtained from Commercial Legumes Grown in Northern Spain. Plant Foods for Human Nutrition, 51(4): 331-341.

FERRETTI, G., BACCHETTI, T., BELLEGGIA, A., and NERI, D., 2010. Cherry Antioxidants: From Farm To Table. Molecules, 15(10): 6993-7005.

FIRATLIGIL-DURMUS, E., and EVRANUZ, O., 2010. Response Surface Methodology for Protein Extraction Optimization of Red Pepper Seed (*Capsicum frutescens*). LWT-Food Science and Technology, 43(2): 226-231.

FISCHER, U. A., CARLE, R., and KAMMERER, D. R., 2011. Identification and Quantification of Phenolic Compounds from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel, Mesocarp, Aril and Differently Produced Juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. Food Chemistry, 127(2): 807–821.

FRASCARELI, E. C., SILVA, V. M., TONON, R. V., and HUBINGER, M. D., 2012. Effect of Process Conditions on The Microencapsulation of Coffee Oil by Spray Drying. Food and Bioproducts Processing, 90(3): 413-424.

FUJII, N., TAKATA, T., FUJII, N., AKI, K., and SAKAUE, H., 2018. D-Amino Acids in Protein: The Mirror of Life as A Molecular Index of Aging. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Proteins And Proteomics, 1866(7): 840-847.

GAO, F., SUN, Z., KONG, F., and XIAO, J., 2020. Artemisinin-Derived Hybrids and Their Anticancer Activity. European Journal of Medicinal Chemistry, 188: 112044.

GARCÍA-NIÑO, W. R., and ZAZUETA, C., 2015. Ellagic Acid: Pharmacological Activities and Molecular Mechanısms Involved in Liver Protection. Pharmacological Research, 97: 84-103.

GARIBOTTO, G., TESSARI, P., VERZOLA, D., and DERTENOIS, L., 2002. The Metabolic Conversion of Phenylalanine into Tyrosine in The Human Kidney: Does It Have Nutritional Implications In Renal Patients?. Journal of Renal Nutrition, 12(1): 8-16.

GASPERI, V., VANGAPANDU, C., SAVINI, I., VENTIMIGLIA, G., ADORNO, G., and CATANI, M. V., 2019. Polyunsaturated Fatty Acids Modulate The Delivery of Platelet Microvesicle-Derived Micrornas into Human Breast Cancer Cell Lines. The Journal of nutritional biochemistry, 74: 108242.

GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A., and SAUREL, R., 2007. Applications of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview. Food Research International, 40(9): 1107-1121.

GHRIBI, A. M., GAFSI, I. M., BLECKER, C., DANTHINE, S., ATTIA, H., and BESBES, S., 2015. Effect of Drying Methods on Physico-Chemical and Functional Properties of Chickpea Protein Concentrates. Journal of Food Engineering, 165: 179-188.

GONZÁLEZ, J. A., KONISHI, Y., BRUNO, M., VALOY, M., and PRADO, F. E., 2012. Interrelationships among Seed Yield, Total Protein and Amino Acid Composition of Ten Quinoa (*Chenopodium quinoa*) Cultivars from Two Different Agroecological Regions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(6): 1222-1229.

GORGUC, A., BIRCAN, C., and YILMAZ, F. M., 2019. Sesame Bran As An Unexploited By-Product: Effect of Enzyme and Ultrasound-Assisted Extraction on The Recovery of Protein and Antioxidant Compounds. Food Chemistry, 283: 637-645.

GORISSEN, S. H., CROMBAG, J. J., SENDEN, J. M., WATERVAL, W. H., BIERAU, J., VERDIJK, L. B., and VAN LOON, L. J., 2018. Protein Content and Amino Acid Composition of Commercially Available Plant-Based Protein Isolates. Amino Acids, 50(12): 1685-1695.

GÓRNAŚ, P., RADZIEJEWSKA-KUBZDELA, E., MIŠINA, I., BIEGAŃSKA-MARECIK, R., GRYGIER, A., and RUDZIŃSKA, M., 2017. Tocopherols, Tocotrienols and Carotenoids in Kernel Oils Recovered from 15 Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Genotypes. Journal of the American Oil Chemists' Society, 94(5): 693-699.

GÓRNAŚ, P., SOLIVEN, A., & SEGLINA, D., 2015. Seed Oils Recovered from Industrial Fruit By-Products Are A Rich Source of Tocopherols and Tocotrienols: Rapid Separation of α/β/γ/δ Homologues by RP-HPLC/FLD. European Journal of Lipid Science and Technology, 117(6): 773-777.

GÓRNAŚ, P., RUDZIŃSKA, M., RACZYK, M., MIŠINA, I., SOLIVEN, A., and SEGLINA, D., 2016. Composition of Bioactive Compounds in Kernel Oils Recovered from Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) By-Products: Impact of The Cultivar on Potential Applications. Industrial Crops and Products, 82: 44-50.

GOUIN, S., 2004. Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trends. Trends in Food Science & Technology, 15(7-8): 330-347.

GOULA, A. M., and LAZARIDES, H. N., 2015. Integrated Processes Can Turn Industrial Food Waste Into Valuable Food By-Products and/or Ingredients: The Cases of Olive Mill and Pomegranate Wastes. Journal of Food Engineering, 167: 45-50.

GOYAL, A., SHARMA, V., SIHAG, M. K., TOMAR, S. K., ARORA, S., SABIKHI, L., and SINGH, A. K., 2015. Development and Physico-Chemical Characterization of Microencapsulated Flaxseed Oil Powder: A Functional Ingredient for Omega-3 Fortification. Powder Technology, 286: 527-537.

GRUJIĆ-MILANOVIĆ, J. D., MILORADOVIĆ, Z. Z., MIHAILOVIĆ-STANOJEVIĆ, N. D., BANJAC, V. V., VIDOSAVLJEVIĆ, S., IVANOV, M. S., ... and JOVOVIĆ, D. M., 2021. Excesive Consumption of Unsaturated Fatty Acids Leads to Oxidative and Inflammatory Instability in Wistar Rats. Biomedicine & Pharmacotherapy, 139: 111691.

GULTEKIN SUBASI, B., VAHAPOGLU, B., CAPANOGLU, E., and MOHAMMADIFAR, M. A., 2021. A Review on Protein Extracts from Sunflower Cake: Techno-Functional Properties and Promising Modification Methods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-16.

GUO, J., LI, P., KONG, L., and XU, B., 2020. Microencapsulation of Curcumin by Spray Drying and Freeze Drying. Lwt, 132: 109892.

GUPTA, A., KUMAR, R., GANGULY, R., SİNGH, A. K., RANA, H. K., and PANDEY, A. K., 2021. Antioxidant, Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Activities of *Terminalia Bellirica* and Its Bioactive Component Ellagic Acid Against Diclofenac Induced Oxidative Stress And Hepatotoxicity. Toxicology reports, 8: 44-52.

HALAWA, A. H., ELGAMMAL, W. E., HASSAN, S. M., HASSAN, A. H., NASSAR, H. S., EBRAHIM, H. Y., ... and EL-AGRODY, A. M., 2020. Synthesis, Anticancer Evaluation and Molecular Docking Studies of New

Heterocycles Linked to Sulfonamide Moiety as Novel Human Topoisomerase Types I and II Poisons. Bioorganic Chemistry, 98: 103725.

HAMAD, H. O., ALMA, M. H., GULCIN, I., YILMAZ, M. A., and KARAOGUL, E., 2017. Evaluation of Phenolic Contents and Bioactivity of Root and Nutgall Extracts from Iraqian *Quercus infectoria* Olivier. Records of Natural Products, 11(2): 205.

HAMAMOTO, R., SALOURA, V., and NAKAMURA, Y., 2015. Critical Roles of Non-Histone Protein Lysine Methylation in Human Tumorigenesis. Nature Reviews Cancer, 15(2): 110-124.

HARAKEH, S., ALMUHAYAWI, M., AL JAOUNI, S., ALMASAUDI, S., HASSAN, S., AL AMRI, T., ... and MOUSA, S. A., 2020. Antidiabetic Effects of Novel Ellagic Acid Nanoformulation: Insulin-Secreting and Anti-Apoptosis Effects. Saudi Journal of Biological Sciences, 27(12): 3474-3480.

HASSANIEN, M. M., ABDEL-RAZEK, A. G., RUDZİŃSKA, M., SIGER, A., RATUSZ, K., and PRZYBYLSKI, R., 2014. Phytochemical Contents and Oxidative Stability of Oils from Non-Traditional Sources. European Journal of Lipid Science and Technology, 116(11): 1563-1571.

HEINZELMANN, K., FRANKE, K., JENSEN, B., and HAAHR, A. M., 2000. Protection of Fish Oil from Oxidation by Microencapsulation Using Freeze-Drying Techniques. European Journal of Lipid Science and Technology, 102(2): 114-121.

HO, K. K., SCHROËN, K., SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F., and BERTON-CARABIN, C. C. (2017). Physicochemical Stability of Lycopene-Loaded Emulsions Stabilized by Plant or Dairy Proteins. Food structure, 12: 34-42.

HORAX, R., HETTIARACHCHY, N. S., CHEN, P., and JALALUDDIN, M., 2004. Preparation and Characterization of Protein Isolate from Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Journal of Food Science, 69(2): fct114-fct118.

HU, H., LI-CHAN, E. C., WAN, L., TIAN, M., and PAN, S., 2013. The Effect Of High Intensity Ultrasonic Pre-Treatment on The Properties of Soybean Protein Isolate Gel Induced by Calcium Sulfate. Food Hydrocolloids, 32(2): 303-311.

HU, H., CHEUNG, I. W., PAN, S., and LI-CHAN, E. C. (2015). Effect of High Intensity Ultrasound on Physicochemical and Functional Properties of Aggregated Soybean B-Conglycinin and Glycinin. Food Hydrocolloids, 45: 102-110.

HU, L., ZHANG, J., HU, Q., GAO, N., WANG, S., SUN, Y., and YANG, X., 2016. Microencapsulation of Brucea Javanica Oil: Characterization, Stability and Optimization of Spray Drying Conditions. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 36: 46-54.

HU, X. Z., CHENG, Y. Q., FAN, J. F., LU, Z. H., Yamaki, K., and LI, L. T., 2010. Effects of Drying Method on Physicochemical and Functional Properties Of Soy Protein Isolates. Journal of Food Processing and Preservation, 34(3): 520-540.

HUGHES, G. J., RYAN, D. J., MUKHERJEA, R., and SCHASTEEN, C. S., 2011. Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(23): 12707-12712.

HUMMER, K. E., and JANICK, J., 2009. Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. In Genetics and Genomics of Rosaceae (pp. 1-17). Springer, New York, NY.

HUSSEIN, G., MIYASHIRO, H., NAKAMURA, N., HATTORI, M., KAKIUCHI, N., and SHIMOTOHNO, K., 2000. Inhibitory Effects of Sudanese Medicinal Plant Extracts on Hepatitis C Virus (HCV) Protease. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 14(7): 510-516.

HWANG, J. K., KONG, T. W., BAEK, N. I., and PYUN, Y. R., 2000. A-Glycosidase Inhibitory Activity of Hexagalloylglucose from the Galls of *Quercus Infectoria*. Planta Medica, 66(03): 273-274.

ICYER, N. C., TOKER, O. S., KARASU, S., TORNUK, F., KAHYAOGLU, T., and ARICI, M., 2017. Microencapsulation of Fig Seed Oil Rich in Polyunsaturated Fatty Acids by Spray Drying. Journal of Food Measurement and Characterization, 11(1): 50-57.

IGUAL, M., RAMIRES, S., MOSQUERA, L. H., and MARTÍNEZ-NAVARRETE, N., 2014. Optimization of Spray Drying Conditions for Lulo (*Solanum quitoense* L.) Pulp. Powder Technology, 256: 233-238.

JAFARI, S. M., ASSADPOOR, E., HE, Y., and BHANDARI, B., 2008. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. Drying Technology, 26(7): 816-835.

JAFARI, M.S., and RASHIDINEJAD, A., 2021. Spray Drying Encapsulation of Bioactive Materials (Advances in Drying Science and Technology). CRC Press.

JAMBRAK, A. R., LELAS, V., MASON, T. J., KREŠIĆ, G., and BADANJAK, M., 2009. Physical Properties of Ultrasound Treated Soy Proteins. Journal of Food Engineering, 93(4): 386-393.

JANGAM, S. V., and THORAT, B. N., 2010. Optimization of Spray Drying of Ginger Extract. Drying Technology, 28(12): 1426-1434.

JANSEN-ALVES, C., KRUMREICH, F. D., ZANDONÁ, G. P., GULARTE, M. A., BORGES, C. D., and ZAMBIAZI, R. C., 2019. Production of Propolis Extract Microparticles with Concentrated Pea Protein for Application in Food. Food and Bioprocess Technology, 12(5): 729-740.

JOHNSON, E. A., and BREKKE, C. J., 1983. Functional Properties of Acylated Pea Protein Isolates. Journal of Food Science, 48(3): 722-725.

JOSHI, M., ADHIKARI, B., ALDRED, P., PANOZZO, J. F., and KASAPIS, S., 2011. Physicochemical and Functional Properties of Lentil Protein Isolates Prepared by Different Drying Methods. Food Chemistry, 129(4): 1513-1522.

JOSHI, M., ADHIKARI, B., ALDRED, P., PANOZZO, J. F., KASAPIS, S., and BARROW, C. J., 2012. Interfacial and Emulsifying Properties of Lentil Protein Isolate. Food Chemistry, 134(3): 1343-1353.

KAFTANOĞLU, E., 2013. Taze ve Ticari Vişne Sularının (*Prunus cerasus*) Toplam Antosiyanin, Toplam Fenolik Ve Şeker Miktarlarının Tayini Ve Karşılaştırılması. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 33s.

KAŁUŻNA-CZAPLIŃSKA, J., GĄTAREK, P., CHIRUMBOLO, S., CHARTRAND, M. S., and BJØRKLUND, G., 2019. How Important Is

Tryptophan in Human Health?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59(1): 72-88.

KAR, S., KATTI, D. R., and KATTI, K. S., 2019. Fourier Transform Infrared Spectroscopy Based Spectral Biomarkers of Metastasized Breast Cancer Progression. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 208: 85-96.

KARAASLAN, M., SENGUN, F., CANSU, U., BASYIGIT, B., SAGLAM, H., and KARAASLAN, A., 2021. Gum arabic/maltodextrin Microencapsulation Confers Peroxidation Stability and Antimicrobial Ability to Pepper Seed Oil. Food Chemistry, 337: 127748.

KARACA, A. C., LOW, N., and NICKERSON, M., 2011. Emulsifying Properties of Chickpea, Faba Bean, Lentil and Pea Proteins Produced by Isoelectric Precipitation and Salt Extraction. Food Research International, 44(9): 2742-2750.

KARRAR, E., MAHDI, A. A., SHETH, S., AHMED, I. A. M., MANZOOR, M. F., WEI, W., and WANG, X., 2021. Effect of Maltodextrin Combination with Gum Arabic and Whey Protein İsolate on The Microencapsulation of Gurum Seed Oil using A Spray-Drying Method. International Journal of Biological Macromolecules, 171: 208-216.

KASAPOGLU, K. N., DEMIRCAN, E., ERYILMAZ, H. S., KARACA, A. C., and OZCELIK, B., 2021. Sour Cherry Kernel as an Unexploited Processing Waste: Optimisation of Extraction Conditions for Protein Recovery, Functional Properties and *In Vitro* Digestibility. Waste and Biomass Valorization, 1-14.

KAUR, G., HAMID, H., ALI, A., ALAM, M. S., and ATHAR, M. (2004). Antiinflammatory Evaluation of Alcoholic Extract of Galls of *Quercus Infectoria*. Journal of Ethnopharmacology, 90(2-3): 285-292.

KAUSHIK, P., DOWLİNG, K., MCKNIGHT, S., BARROW, C. J., WANG, B., and ADHIKARI, B., 2016. Preparation, Characterization and Functional Properties of Flax Seed Protein Isolate. Food Chemistry, 197: 212-220.

KHALILIAN MOVAHHED, M., and MOHEBBI, M., 2016. Spray Drying and Process Optimization of Carrot–Celery Juice. Journal of Food Processing and Preservation, 40(2): 212-225.

KHOO, G. M., CLAUSEN, M. R., PEDERSEN, B. H., and LARSEN, E., 2011. Bioactivity and Total Phenolic Content of 34 Sour Cherry Cultivars. Journal of Food Composition and Analysis, 24(6): 772-776.

KIM, J. W., LEE, K. S., JU, H. K., RYU, J. H., HAN, S. H., CHANG, I. S., ... and SUH, K. D., 2004. Microencapsulation of Cholesteryl Alkanoate by Polymerization-Induced Phase Separation and Its Association with Drugs. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 42(9): 2202-2213.

KIRAKOSYAN, A., SEYMOUR, E. M., LLANES, D. E. U., KAUFMAN, P. B., and BOLLING, S. F., 2009. Chemical Profile and Antioxidant Capacities of Tart Cherry Products. Food Chemistry, 115(1): 20-25.

KONG, K. W., and ISMAIL, A., 2011. Lycopene Content and Lipophilic Antioxidant Capacity of By-Products from *Psidium guajava* Fruits Produced During Puree Production Industry. Food and Bioproducts Processing, 89(1): 53-61.

KORLESKY, N. M., STOLP, L. J., KODALI, D. R., GOLDSCHMİDT, R., and BYRDWELL, W. C. (2016). Extraction and Characterization of Montmorency

Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Pit Oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 93(7): 995-1005.

KORMA, S. A., WEI, W., ALI, A. H., ABED, S. M., ZHENG, L., JIN, Q., and WANG, X., 2019. Spray-Dried Novel Structured Lipids Enriched with Medium-and Long-Chain Triacylglycerols Encapsulated with Different Wall Materials: Characterization and Stability. Food Research International, 116: 538-547.

KOYUNCU, I., 2018. Evaluation of Anticancer, Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Artemisia Absinthium L. Extract. Cellular and Molecular Biology, 64(3): 25-34.

KUBOTA, S., TANAKA, Y., and NAGAOKA, S., 2019. Ellagic Acid Affects mRNA Expression Levels of Genes That Regulate Cholesterol Metabolism in HepG2 Cells. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 83(5): 952-959.

KUCK, L. S., and NOREÑA, C. P. Z., 2016. Microencapsulation of Grape (*Vitis labrusca var. Bordo*) Skin Phenolic Extract using Gum Arabic, Polydextrose, and Partially Hydrolyzed Guar Gum as Encapsulating Agents. Food chemistry, 194: 569-576.

KUMAR, S., NARWAL, S., KUMAR, V., and PRAKASH, O., 2011. Alpha-Glucosidase Inhibitors from Plants: A Natural Approach to Treat Diabetes. Pharmacognosy Reviews, 5(9): 19.

KUTZLI, I., WEESS, J., and GIBIS, M., 2021. Glycation of Plant Proteins Via Maillard Reaction: Reaction Chemistry, Technofunctional Properties, and Potential Food Application. Foods, 10(2): 376.

LAI, K., HOW, Y., and PUI, L., 2021. Microencapsulation of Lactobacillus Rhamnosus GG with Flaxseed Mucilage Using Co-Extrusion Technique. Journal of Microencapsulation, 38(2): 134-148.

LE PRIOL, L., DAGMEY, A., MORANDAT, S., SALEH, K., EL KIRAT, K., and NESTERENKO, A., 2019. Comparative Study of Plant Protein Extracts as Wall Materials for The İmprovement of The Oxidative Stability of Sunflower Oil by Microencapsulation. Food hydrocolloids, 95: 105-115.

LEI, M., JIANG, F. C., CAI, J., HU, S., ZHOU, R., LIU, G., ... and XIONG, X. G., 2018. Facile Microencapsulation of Olive Oil in Porous Starch Granules: Fabrication, Characterization, and Oxidative Stability. International journal of biological macromolecules, 111: 755-761.

L'HOCINE, L., and BOYE, J. I., 2007. Allergenicity of Soybean: New Developments in Identification of Allergenic Proteins, Cross-Reactivities and Hypoallergenization Technologies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(2): 127-143.

LI, X., ZHENG, S., and WU, G., 2021. Nutrition and Functions of Amino Acids in Fish. In Amino Acids in Nutrition and Health (pp. 133-168). Springer, Cham.

LOIZZO, M. R., TUNDIS, R., BONESI, M., MENICHINI, F., MASTELLONE, V., AVALLONE, L., and MENICHINI, F., 2012. Radical Scavenging, Antioxidant and Metal Chelating Activities of Annona Cherimola Mill.(*Cherimoya*) Peel And Pulp in Relation to Their Total Phenolic and Total Flavonoid Contents. Journal of Food Composition and Analysis, 25(2): 179-184.

LÓPEZ, D. N., GALANTE, M., ROBSON, M., BOERIS, V., and SPELZINI, D., 2018. Amaranth, Quinoa and Chia Protein Isolates: Physicochemical and

Structural Properties. International Journal of Biological Macromolecules, 109: 152-159.

MA, Y. Y., ZHAO, D. G., ZHOU, A. Y., ZHANG, Y., DU, Z., and ZHANG, K., 2015. Alpha-Glucosidase Inhibition and Antihyperglycemic Activity of Phenolics from the Flowers of *Edgeworthia Gardneri*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(37): 8162-8169.

MADENE, A., JACQUOT, M., SCHER, J., and DESOBRY, S., 2006. Flavour Encapsulation and Controlled Release–A Review. International Journal of Food Science & Technology, 41(1): 1-21.

MAHDAVI, S. A., JAFARI, S. M., ASSADPOOR, E., and DEHNAD, D., 2016a. Microencapsulation Optimization of Natural Anthocyanins With Maltodextrin, Gum Arabic and Gelatin. International Journal of Biological Macromolecules, 85: 379-385.

MAHDAVI, S. A., JAFARI, S. M., ASSADPOUR, E., and GHORBANI, M., 2016b. Storage Stability of Encapsulated Barberry's Anthocyanin and its Application in Jelly Formulation. Journal of Food Engineering, 181: 59-66.

MAHDI, A. A., MOHAMMED, J. K., AL-ANSI, W., GHALEB, A. D., AL-MAQTARI, Q. A., MA, M., ... and WANG, H., 2020. Microencapsulation of Fingered Citron Extract with Gum Arabic, Modified Starch, Whey Protein, and Maltodextrin using Spray Drying. International Journal of Biological Macromolecules, 152: 1125-1134.

MARANGONI, F., AGOSTONI, C., BORGHI, C., CATAPANO, A. L., CENA, H., GHISELLI, A., ... and POLI, A., 2020. Dietary Linoleic Acid and Human Health: Focus On Cardiovascular and Cardiometabolic Effects. Atherosclerosis, 292: 90-98.

MARTÍNEZ-FLORES, H. E., BARRERA, E. S., GARNICA-ROMO, M. G., PENAGOS, C. J. C., SAAVEDRA, J. P., and MACAZAGA-ALVAREZ, R., 2006. Functional Characteristics of Protein Flaxseed Concentrate Obtained Applying A Response Surface Methodology. Journal of Food Science, 71(8): C495-C498.

MARUSZEWSKA, A., and TARASIUK, J., 2019. Antitumour Effects of Selected Plant Polyphenols, Gallic Acid and Ellagic Acid, on Sensitive and Multidrug-Resistant Leukaemia HL60 cells. Phytotherapy Research, 33(4): 1208-1221.

MCCARRELL, E. M., GOULD, S. W., FIELDER, M. D., KELLY, A. F., EL SANKARY, W., and NAUGHTON, D. P., 2008. Antimicrobial Activities of Pomegranate Rind Extracts: Enhancement by Addition of Metal Salts and Vitamin C. BMC Complementary and Alternative Medicine, 8(1): 1-7.

MCCLEMENTS, D. J., 2018. Delivery by Design (Dbd): A Standardized Approach To The Development of Efficacious Nanoparticle-and Microparticle-Based Delivery Systems. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17(1): 200-219.

MCCLEMENTS, D. J., DECKER, E. A., and WEISS, J., 2007. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. Journal of Food Science, 72(8): R109-R124.

MCDOUGALL, G. J., SHPIRO, F., DOBSON, P., SMITH, P., BLAKE, A., and STEWART, D., 2005. Different Polyphenolic Components of Soft Fruits Inhibit α-Amylase and α-Glucosidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(7): 2760-2766.

MENG, J. F., FANG, Y. L., QIN, M. Y., ZHUANG, X. F., and ZHANG, Z. W., 2012. Varietal Differences among The Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Four Cultivars of Spine Grape (*Vitis davidii Foex*) in Chongyi County (China). Food Chemistry, 134(4): 2049-2056.

MILLQVIST-FUREBY, A., ELOFSSON, U., and BERGENSTÅHL, B., 2001. Surface Composition of Spray-Dried Milk Protein-Stabilised Emulsions in Relation to Pre-Heat Treatment of Proteins. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 21(1-3): 47-58.

MIRMOGHTADAIE, L., ALIABADI, S. S., and HOSSEINI, S. M., 2016. Recent Approaches in Physical Modification of Protein Functionality. Food Chemistry, 199: 619-627.

MOHAMED, H. B., DUBA, K. S., FIORI, L., ABDELGAWED, H., TLILI, I., TOUNEKTI, T., and ZRIG, A., 2016. Bioactive Compounds and Antioxidant Activities of Different Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed Oils Extracted by Supercritical CO_2 and Organic Solvent. LWT, 74: 557-562.

MOHAMMED, S. J., AMIN, H. H., AZIZ, S. B., SHA, A. M., HASSAN, S., ABDUL AZIZ, J. M., and RAHMAN, H. S., 2019. Structural Characterization, Antimicrobial Activity, and *In Vitro* Cytotoxicity Effect Oof Black Seed Oil. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019.

MOOMAND, K., and LIM, L. T., 2014. Oxidative Stability of Encapsulated Fish Oil in Electrospun Zein Fibres. Food Research International, 62: 523-532.

MOREAU, D. L., and ROSENBERG, M., 1996. Oxidative Stability of Anhydrous Milkfat Microencapsulated in Whey Proteins. Journal of Food Science, 61(1): 39-43.

MUZAFFAR, K., and KUMAR, P., 2015. Parameter Optimization for Spray Drying of Tamarind Pulp Using Response Surface Methodology. Powder Technology, 279: 179-184.

NAIK, R. R., WANG, Y., and SELOMULYA, C., 2021. Improvements of Plant Protein Functionalities by Maillard Conjugation and Maillard Reaction Products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-26.

NELSON, D., and COX, M., 2005. Lehninger Principles of Biochemistry (4th Ed.), W.H. Freeman and Company, New York.

NESTERENKO, A., ALRIC, I., VIOLLEAU, F., SILVESTRE, F., DURRIEU, V., 2014. The Effect of Vegetable Protein Modifications on the Microencapsulation Process. Food Hydrocolloids, 41: 95-102.

NIETO-NIETO, T. V., WANG, Y. X., OZIMEK, L., and CHEN, L., 2014. Effects of Partial Hydrolysis on Structure and Gelling Properties of Oat Globular Proteins. Food Research International, 55: 418-425.

NIKI, E., 2010. Assessment of Antioxidant Capacity *In Vitro* and *In Vivo*. Free Radical Biology and Medicine, 49(4): 503-515.

NIKMARAM, N., ROOHINEJAD, S., HASHEMI, S., KOUBAA, M., BARBA, F. J., ABBASPOURRAD, A., and GREINER, R., 2017. Emulsion-Based Systems for Fabrication of Electrospun Nanofibers: Food, Pharmaceutical and Biomedical Applications. RSC advances, 7(46), 28951-28964.

NIR, I., FELDMAN, Y., ASERIN, A., and GARTI, N., 1994. Surface Properties and Emulsification Behavior of Denatured Soy Proteins. Journal of Food Science, 59(3): 606-610.

NISOV, A., ERCILI-CURA, D., and NORDLUND, E., 2020. Limited Hydrolysis of Rice Endosperm Protein for İmproved Techno-Functional Properties. Food Chemistry, 302: 125274.

NIU, L. Y., JIANG, S. T., PAN, L. J., and ZHAI, Y. S., 2011. Characteristics and Functional Properties of Wheat Germ Protein Glycated with Saccharides Through Maillard Reaction. International Journal of Food Science & Technology, 46(10): 2197-2203.

NOWICKA, P., WOJDYŁO, A., and SAMOTICHA, J., 2016. Evaluation of Phytochemicals, Antioxidant Capacity, and Antidiabetic Activity of Novel Smoothies from Selected *Prunus* Fruits. Journal of Functional Foods, 25: 397-407.

OLUWAJUYITAN, T. D., IJAROTIMI, O. S., and FAGBEMI, T. N., 2020. Nutritional, Biochemical and Organoleptic Properties of High Protein-Fibre Functional Foods Developed From Plantain, Defatted Soybean, Rice-Bran and Oat-Bran Flour. Nutrition & Food Science, 704-724.

ORTIZ, S. E. M., MAURI, A., MONTERREY-QUINTERO, E. S., TRINDADE, M. A., SANTANA, A. S., and FAVARO-TRINDADE, C. S., 2009. Production and Properties of Casein Hydrolysate Microencapsulated by Spray Drying with Soybean Protein Isolate. LWT-Food Science and Technology, 42(5): 919-923.

PAINI, M., ALIAKBARIAN, B., CASAZZA, A. A., LAGAZZO, A., BOTTER, R., and PEREGO, P., 2015. Microencapsulation of Phenolic Compounds from Olive Pomace using Spray Drying: A Study of Operative Parameters. LWT-Food Science and Technology, 62(1): 177-186.

PAREDES-LÓPEZ, O., ORDORICA-FALOMIR, C., and OLIVARES-VAZQUEZ, M. R., 1991. Chickpea Protein Isolates: Physicochemical, Functional and Nutritional Characterization. Journal of Food Science, 56(3): 726-729.

PARSA, N., 2012. Environmental Factors Inducing Human Cancers. Iranian Journal of Public Health, 41(11): 1.

PATIL, V., CHAUHAN, A. K., and SINGH, R. P., 2014. Optimization of The Spray-Drying Process for Developing Guava Powder Using Response Surface Methodology. Powder Technology, 253: 230-236.

PEARCE, K. N., KINSELLA, J. E., 1978. "Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of A Turbidimetric Technique". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26: 716-723.

PEZZEI, C., PALLUA, J. D., SCHAEFER, G., SEIFARTH, C., HUCK-PEZZEI, V., BITTNER, L. K., ... and HUCK, C. W., 2010. Characterization of Normal and Malignant Prostate Tissue by Fourier Transform Infrared Microspectroscopy. Molecular BioSystems, 6(11): 2287-2295.

PHISUT, N., 2012. Spray Drying Technique of Fruit Juice Powder: Some Factors Influencing The Properties of Product. International Food Research Journal, 19(4): 1297.

PILETTI, R., ZANETTI, M., JUNG, G., DE MELLO, J. M. M., DALCANTON, F., SOARES, C., ... & FIORI, M. A., 2019. Microencapsulation of Garlic Oil by β-Cyclodextrin as A Thermal Protection Method for Antibacterial Action. Materials Science and Engineering: C, 94: 139-149.

PIMENTEL, D., DRITSCHILO, W., KRUMMEL, J., ans KUTZMAN, J., 1975. Energy and Land Constraints in Food Protein Production. Science, 190(4216): 754-761.

PIRESTANI, S., NASIRPOUR, A., KERAMAT, J., and DESOBRY, S., 2017. Preparation of Chemically Modified Canola Protein Isolate with Gum Arabic by Means of Maillard Reaction Under Wet-Heating Conditions. Carbohydrate Polymers, 155: 201-207.

PODSEDEK, A., MAJEWSKA, I., REDZYNIA, M., SOSNOWSKA, D., and KOZIOŁKIEWICZ, M., 2014. *In Vitro* Inhibitory Effect on Digestive Enzymes and Antioxidant Potential of Commonly Consumed Fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(20): 4610-4617.

PRANDI, B., FACCINI, A., LAMBERTINI, F., BENCIVENNI, M., JORBA, M., VAN DROOGENBROEK, B., ... and SFORZA, S., 2019. Food Wastes from Agrifood Industry as Possible Sources of Proteins: A Detailed Molecular View on the Composition of the Nitrogen Fraction, Amino Acid Profile and Racemisation Degree of 39 Food Waste Streams. Food Chemistry, 286: 567-575.

PREMI, M., and SHARMA, H. K., 2017. Effect of Different Combinations of Maltodextrin, Gum Arabic and Whey Protein Concentrate on The Encapsulation Behavior and Oxidative Stability of Spray Dried Drumstick (*Moringa oleifera*) oil. International Journal of Biological Macromolecules, 105: 1232-1240.

RADOVANOVIĆ, M., MIHAJLOVIĆ, M. P., TASIĆ, Ž., SIMONOVIĆ, A., and ANTONIJEVIĆ, M., 2021. Inhibitory Effect of L-Threonine and L-Lysine And Influence of Surfactant on Stainless Steel Corrosion in Artificial Body Solution. Journal of Molecular Liquids, 342: 116939.

RADUNZ, M., DOS SANTOS HACKBART, H. C., CAMARGO, T. M., NUNES, C. F. P., DE BARROS, F. A. P., DAL MAGRO, J., ... and DA ROSA ZAVAREZE, E., 2020. Antimicrobial Potential of Spray Drying Encapsulated Thyme (*Thymus Vulgaris*) Essential Oil on The Conservation of Hamburger-Like Meat Products. International Journal of Food Microbiology, 330: 108696.

RAHAIEE, S., ASSADPOUR, E., ESFANJANI, A. F., SILVA, A. S., and JAFARI, S. M., 2020. Application of Nano/Microencapsulated Phenolic Compounds against Cancer. Advances in Colloid and Interface Science, 279: 102153.

RATTI, C. (2001). Hot Air and Freeze-Drying of High-Value Foods: A Review. Journal of Food Engineering, 49(4): 311-319.

RAY, S., RAYCHAUDHURI, U., and CHAKRABORTY, R., 2016. An Overview of Encapsulation of Active Compounds Used in Food Products by Drying Technology. Food Bioscience, 13: 76-83.

REZENDE, Y. R. R. S., NOGUEIRA, J. P., and NARAIN, N., 2018. Microencapsulation of Extracts of Bioactive Compounds Obtained from Acerola (*Malpighia emarginata* DC) Pulp and Residue by Spray and Freeze Drying: Chemical, Morphological and Chemometric Characterization. Food Chemistry, 254: 281-291.

REDWANE, A., LAZREK, H. B., BOUALLAM, S., MARKOUK, M., AMAROUCH, H., and JANA, M., 2002. Larvicidal Activity of Extracts from *Quercus lusitania var. infectoria* galls (Oliv.). Journal of Ethnopharmacology, 79(2): 261-263.

RIALITA, T., NURHADİ, B., and PUTERI, R. D., 2018. Characteristics of Microcapsule of Red Ginger (*Zingiber officinale var. Rubrum*) Essential Oil Produced from Different Arabic Gum Ratios on Antimicrobial Activity toward

Escherichia coli and *Staphylococcus aureus*. International Journal of Food Properties, 21(1): 2500-2508.

RODSAMRAN, P., and SOTHORNVIT, R., 2019. Extraction of Phenolic Compounds from Lime Peel Waste Using Ultrasonic-Assisted and Microwave-Assisted Extractions. Food Bioscience, 28: 66-73.

ROJO-GUTIÉRREZ, E., CARRASCO-MOLINAR, O., TIRADO-GALLEGOS, J. M., LEVARIO-GÓMEZ, A., CHÁVEZ-GONZÁLEZ, M. L., BAEZA-JIMÉNEZ, R., and BUENROSTRO-FIGUEROA, J. J., 2021. Evaluation of Green Extraction Processes, Lipid Composition and Antioxidant Activity Of Pomegranate Seed Oil. Journal of Food Measurement and Characterization, 15(2): 2098-2107.

SADIKOGLU, H., ve OZDEMIR, M., 2003. Dondurarak Kurutma Teknolojisi ve Evreleri. Gıda, 28(6).

SAGLIK, A., KOYUNCU, I., GONEL, A., YALCIN, H., ADIBELLI, F. M., and TOPTAN, M., 2019. Metabolomics Analysis in *Pterygium* Tissue. International Ophthalmology, 39(10): 2325-2333.

SAIFULLAH, M., SHISHIR, M. R. I., FERDOWSI, R., RAHMAN, M. R. T., and VAN VUONG, Q., 2019. Micro and Nano Encapsulation, Retention and Controlled Release of Flavor and Aroma Compounds: A Critical Review. Trends in Food Science & Technology, 86: 230-251.

SAIKIA, S., MAHNOT, N. K., and MAHANTA, C. L., 2015. Optimisation of Phenolic Extraction from *Averrhoa carambola* Pomace by Response Surface Methodology and Its Microencapsulation by Spray and Freeze Drying. Food Chemistry, 171: 144-152.

SALDAMLI, I. ve TEMIZ, A., 2017. Amino Asitler, Peptitler, Proteinler, Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 227-317.

SAMBORSKA, K., JEDLIŃSKA, A., WIKTOR, A., DEREWIAKA, D., WOŁOSIAK, R., MATWIJCZUK, A., ... and WITROWA-RAJCHERT, D., 2019. The effect of Low-Temperature Spray Drying with Dehumidified Air on Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, and Aroma Compounds of Rapeseed Honey Powders. Food and Bioprocess Technology, 12(6): 919-932.

SAMUELSON, G., and BOHLIN, L., 1992. Drugs of Natural Origin. A texboot of Pharmacognosy, Stockholm, Swedish Pharmaceutical Pres.

SANTANA, A. A., MARTIN, L. G. P., DE OLIVEIRA, R. A., KUROZAWA, L. E., and PARK, K. J., 2017. Spray Drying of Babassu Coconut Milk using Different Carrier Agents. Drying Technology, 35(1): 76-87.

SANTIVARANGKNA, C., KULOZIK, U., and FOERST, P., 2007. Alternative Drying Processes for The industrial Preservation of Lactic Acid Starter Cultures. Biotechnology Progress, 23(2): 302-315.

SANTOS, A. C., PEREIRA, I., PEREIRA-SILVA, M., FERREIRA, L., CALDAS, M., COLLADO-GONZÁLEZ, M., ... and VEIGA, F., 2019. Nanotechnology-Based Formulations for Resveratrol Delivery: Effects on Resveratrol *in vivo* Bioavailability and Bioactivity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 180: 127-140.

SANTOS, M. A., FRANCO, F. N., CALDEIRA, C. A., DE ARAÚJO, G. R., VIEIRA, A., CHAVES, M. M., and LARA, R. C., 2021. Antioxidant Effect of Resveratrol: Change in MAPK Cell Signaling Pathway during The Aging Process. Archives of Gerontology and Geriatrics, 92: 104266.

SANZ, M., CADAHÍA, E., ESTERUELAS, E., MUÑOZ, A. M., FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B., HERNÁNDEZ, T., and ESTRELLA, I. (2010). Phenolic Compounds in Cherry (*Prunus avium*) Heartwood with A View to Their Use in Cooperage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(8): 4907–4914.

SATHIYASEELAN, A., PARK, S., SARAVANAKUMAR, K., MARIADOSS, A. V. A., and WANG, M. H. (2021). Evaluation of Phytochemicals, Antioxidants, and Antidiabetic Efficacy of Various Solvent Fractions of *Gynura Procumbens* (Lour.) Merr. Process Biochemistry, 111: 51-62.

SCHUCK, P., LE FLOCH-FOUERE, C., and JEANTET, R. (2013). Changes in Functional Properties of Milk Protein Powders: Effects of Vacuum Concentration and Drying. Drying Technology, 31(13-14): 1578-1591.

SHADDEL, R., HESARI, J., AZADMARD-DAMIRCHI, S., HAMISHEHKAR, H., FATHI-ACHACHLOUEI, B., and HUANG, Q., 2018. Use of Gelatin and Gum Arabic for Encapsulation of Black Raspberry Anthocyanins by Complex Coacervation. International Journal of Biological Macromolecules, 107: 1800-1810.

SHAHIDI, F., and HAN, X. Q., 1993. Encapsulation of Food Ingredients. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 33(6): 501-547.

SHAMAEI, S., SEIIEDLOU, S. S., AGHBASHLO, M., TSOTSAS, E., and KHARAGHANI, A., 2017. Microencapsulation of Walnut Oil by Spray Drying: Effects of Wall Material and Drying Conditions on Physicochemical Properties of Microcapsules. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 39: 101-112.

SHARMA, A., JANA, A. H., and CHAVAN, R. S., 2012. Functionality of Milk Powders and Milk-Based Powders for End Use Applications—A Review. Comprehensive Reviews in Food science and Food safety, 11(5): 518-528.

SHARMA, L., SINGH, C., and SHARMA, H. K., 2016. Assessment of Functionality of Sesame Meal and Sesame Protein Isolate From Indian Cultivar. Food Measure, 10: 520-526.

SHARMA, P. C., TILAKRATNE, B. M. K. S., and GUPTA, A., 2010. Utilization of Wild Apricot Kernel Press Cake for Extraction of Protein Isolate. Journal of Food Science and Technology, 47(6): 682-685.

SHEVKANI, K., SINGH, N., KAUR, A., and RANA, J. C., 2015. Structural and Functional Characterization of Kidney Bean and Field Pea Protein Isolates: A Comparative Study. Food Hydrocolloids, 43: 679-689.

SHIH, F. F., and DAIGLE, K. W., 2000. Preparation and Characterization of Rice Protein Isolates. Journal of the American Oil Chemists' Society, 77(8): 885-889.

SHISHIR, M. R. I., and CHEN, W., 2017. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. Trends in Food Science & Technology, 65, 49-67.

SHISHIR, M. R. I., XIE, L., SUN, C., ZHENG, X., and CHEN, W., 2018. Advances in Micro and Nano-Encapsulation of Bioactive Compounds Using Biopolymer And Lipid-Based Transporters. Trends in Food Science & Technology, 78: 34-60.

SIGER, A., NOGALA-KALUCKA, M., and LAMPART-SZCZAPA, E., 2008. The Content and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Cold-Pressed Plant Oils. Journal of Food Lipids, 15(2): 137-149.

SINGH, P., ARORA, A., STRAND, T. A., LEFFLER, D. A., CATASSI, C., GREEN, P. H., ... and MAKHARIA, G. K., 2018. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 16(6): 823-836.

SINGLETON, V., and ROSSI, J., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3): 144–158.

SUBAGIO, A. (2006). Characterization of Hyacinth Bean (*Lablab purpureus* (L.) sweet) Seeds from Indonesia and Their Protein Isolate. Food Chemistry, 95(1): 65-70.

SUN, J., LIU, T., MU, Y., JING, H., OBADI, M., and XU, B., 2021. Enhancing The Stabilization of β-carotene Emulsion using Ovalbumin-Dextran Conjugates as Emulsifier. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 126806.

SUN, M., MU, T., ZHANG, M., and AROGUNDADE, L. A., 2012. Nutritional Assessment and Effects of Heat Processing on Digestibility of Chinese Sweet Potato Protein. Journal of Food Composition and Analysis, 26(1-2): 104-110.

SZYDŁOWSKA, A., ZIELIŃSKA, D., ŁEPECKA, A., TRZĄSKOWSKA, M., NEFFE-SKOCIŃSKA, K., and KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D., 2020. Development of Functional High-Protein Organic Bars with the Addition of Whey Protein Concentrate and Bioactive Ingredients. Agriculture, 10(9): 390.

TALEKAR, S., PATTI, A. F., SINGH, R., VIJAYRAGHAVAN, R., and ARORA, A., 2018. From Waste to Wealth: High Recovery of Nutraceuticals from Pomegranate Seed Waste Using A Green Extraction Process. Industrial Crops and Products, 112: 790-802.

TALÓN, E., LAMPI, A. M., VARGAS, M., CHIRALT, A., JOUPPILA, K., and GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., 2019. Encapsulation of *Eugenol* by Spray-Drying Using Whey Protein Isolate or Lecithin: Release Kinetics, Antioxidant and Antimicrobial Properties. Food Chemistry, 295: 588-598.

TANG, C. H., and LI, X. R., 2013. Microencapsulation Properties of Soy Protein Isolate and Storage Stability of The Correspondingly Spray-Dried Emulsions. Food Research International, 52(1): 419-428.

TANG, C. H., TEN, Z., WANG, X. S., and YANG, X. Q., 2006. Physicochemical and Functional Properties of Hemp (*Cannabis Sativa* L.) Protein Isolate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(23): 8945-8950.

TATAR, F., TUNÇ, M. T., DERVISOGLU, M., CEKMECELIOGLU, D., and KAHYAOGLU, T., 2014. Evaluation of Hemicellulose as a Coating Material with Gum Arabic for Food Microencapsulation. Food Research International, 57: 168-175.

THONGNOPKOON, T., and CHITTASUPHO, C., 2018. Curcumin Composite Particles Prepared by Spray Drying and *In Vitro* Anti-Cancer Activity on Lung Cancer Cell Line. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 45: 397-407.

TONON, R. V., GROSSO, C. R., and HUBINGER, M. D., 2011. Influence of Emulsion Composition and Inlet Air Temperature on The Microencapsulation of Flaxseed Oil by Spray Drying. Food Research International, 44(1): 282-289.

TONON, R. V., PEDRO, R. B., GROSSO, C. R., 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.

TOYDEMIR, G., CAPANOGLU, E., KAMILOGLU, S., BOYACIOGLU, D., DE VOS, R. C., HALL, R. D., and BEEKWILDER, J., 2013. Changes In Sour Cherry (*Prunus Cerasus* L.) Antioxidants During Nectar Processing and *In Vitro* Gastrointestinal Digestion. Journal of Functional Foods, 5(3): 1402-1413.

TSALI, A., and GOULA, A. M., 2018. Valorization of Grape Pomace: Encapsulation and Storage Stability of Its Phenolic Extract. Powder Technology, 340: 194-207.

TURCHIULI, C., ELOUALIA, Z., EL MANSOURI, N., and DUMOULIN, E., 2005. Fluidised Bed Agglomeration: Agglomerates Shape and End-Use Properties. Powder Technology, 157(1-3): 168-175.

TURKIEWICZ, I. P., WOJDYŁO, A., TKACZ, K., LECH, K., MICHALSKA-CIECHANOWSKA, A., and NOWICKA, P., 2020. The Influence of Different Carrier Agents and Drying Techniques on Physical And Chemical Characterization of Japanese Quince (*Chaenomeles Japonica*) Microencapsulation Powder. Food chemistry, 323: 126830.

TUŚNIO, A., TACIAK, M., BARSZCZ, M., ŚWIECH, E., BACHANEK, I., and SKOMIAŁ, J., 2017. Effect of Replacing Soybean Meal By Raw or Extruded Pea Seeds on Growth Performance and Selected Physiological Parameters of the Ileum and Distal Colon of Pigs. PloS one, 12(1): e0169467.

TUYEN, C. K., NGUYEN, M. H., ROACH, P. D., and STATHOPOULOS, C. E., 2014. Microencapsulation of Gac oil: Optimisation of Spray Drying Conditions Using Response Surface Methodology. Powder Technology, 264: 298-309.

TULEK, Z., ALASALVAR, H., BASYIGIT, B., BERKTAS, S., SALUM, P., ERBAY, Z., and CAM, M. (2021). Extraction Optimization and Microencapsulation of Phenolic Antioxidant Compounds from Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.): Instant Soluble Tea Production. Journal of Food Processing and Preservation, 45(1): e14995.

TUIK, 2018. Bitkisel Üretim Verileri. (www.tuik.gov.tr) (Erişim tarihi: 28.12.2018).

TZE, N. L., HAN, C. P., YUSOF, Y. A., LING, C. N., TALIB, R. A., TAIP, F. S., and AZIZ, M. G., 2012. Physicochemical and Nutritional Properties of Spray-Dried Pitaya Fruit Powder as Natural Colorant. Food Science and Biotechnology, 21(3): 675-682.

VAN EERDENBRUGH, B., and TAYLOR, L. S., 2011. An Ab Initio Polymer Selection Methodology to Prevent Crystallization in Amorphous Solid Dispersions by Application of Crystal Engineering Principles. CrystEngComm, 13(20): 6171-6178.

VASCONCELOS, I. M., CAMPELLO, C. C., OLIVEIRA, J. T. A., CARVALHO, A. F. U., SOUZA, D. O., and MAIA, F. M., 2006. Brazilian Soybean Glycine Max (L.) Merr. Cultivars Adapted to Low Latitude Regions: Seed Composition and Content of Bioactive Proteins. Brazilian Journal of Botany, 29: 617-625.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R., ACEVEDO-FANI, A., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A., and MARTÍN-BELLOSO, O., 2019. Encapsulation and Stability of A Phenolic-Rich Extract from Mango Peel within Water-In-Oil-In-Water Emulsions. Journal of Functional Foods, 56: 65-73.

VONGHIRUNDECHA, P., CHUSRI, S., MEUNPRASERTDEE, P., and KAEWMANEE, T., 2021. Microencapsulated Functional Ingredients from A *Moringa oleifera* Leaf Polyphenol-Rich Extract: Characterization, Antioxidant Properties, *In Vitro* Simulated Digestion, and Storage Stability. LWT, 112820.

WANG, Y., ZHANG, A., WANG, X., XU, N., and JIANG, L., 2020. The Radiation Assisted-Maillard Reaction Comprehensively Improves The Freeze-Thaw Stability of Soy Protein-Stabilized Oil-In-Water Emulsions. Food Hydrocolloids, 103: 105684.

WARRIER, P. K. NAMBIAR, V. P. K., and RAMANKUTTY, C., 1995. Indian Medicinal Plants (4th edition), Orient Longman, Madras, India.

WERE, L., HETTIARACHCHY, N. S., and KALAPATHY, U. 1997. Modified Soy Proteins with Improved Foaming and Water Hydration Properties. Journal of Food Science, 62(4): 821-824.

WESTHOEK, H., LESSCHEN, J. P., ROOD, T., WAGNER, S., DE MARCO, A., MURPHY-BOKERN, D., ... and OENEMA, O., 2014. Food Choices, Health and Environment: Effects of Cutting Europe's Meat And Dairy Intake. Global Environmental Change, 26: 196-205.

WILLIS, R., 1998. Improved Method for Measuring Hydrolyzable Tannins Using Potassium Iodate. Analyst, 123(3): 435-439.

WOJDYŁO, A., FIGIEL, A., LECH, K., NOWICKA, P., and OSZMIAŃSKI, J., 2014. Effect of Convective and Vacuum–Microwave Drying on the Bioactive Compounds, Color, and Antioxidant Capacity of Sour Cherries. Food and Bioprocess Technology, 7(3): 829-841.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition Report of A Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series, 935.

WROLSTAD, R. E., ACREE, T. E., DECKER, E. A., PENNER, M. H., REID, D. S., SCHWARTZ, S. J., and SPORNS, P., 2004. Handbook of Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc.

WU, H., WANG, Q., MA, T., & REN, J., 2009. Comparative Studies on The Functional Properties of Various Protein Concentrate Preparations of Peanut Protein. Food Research International, 42(3): 343-348.

WU, M., LI, R., HOU, Y., SONG, S., HAN, W., CHEN, N., ... and SHI, Y., 2018. Thioredoxin-Interacting Protein Deficiency Ameliorates Kidney Inflammation And Fibrosis In Mice with Unilateral Ureteral Obstruction. Laboratory Investigation, 98(9): 1211-1224.

WU, M., YANG, J., CHEN, S., LU, P., and WANG, R., 2021. TOCNC-g-PEI Nanoparticle Encapsulated Oregano Essential Oil or Enhancing the Antimicrobial Activity of Cellulose Nanofibril Packaging Films. Carbohydrate Polymers, 274: 118654.

WU, S., ZHU, W., THOMPSON, P., and HANNUN, Y. A., 2018. Evaluating Intrinsic and Non-Intrinsic Cancer Risk Factors. Nature Communications, 9(1): 1-12.

WU, Y., ZOU, L., MAO, J., HUANG, J., and LIU, S., 2014. Stability and Encapsulation Efficiency of Sulforaphane Microencapsulated by Spray Drying. Carbohydrate Polymers, 102: 497-503.

XU, X., LIU, W., LIU, C., LUO, L., CHEN, J., LUO, S., ... and WU, L., 2016. Effect of Limited Enzymatic Hydrolysis on Structure and Emulsifying Properties of Rice Glutelin. Food Hydrocolloids, 61: 251-260.

YILMAZ, C., and GÖKMEN, V., 2013. Compositional Characteristics of Sour Cherry Kernel and Its Oil As Influenced by Different Extraction and Roasting Conditions. Industrial Crops and Products, 49: 130-135.

YILMAZ, F. M., GÖRGÜÇ, A., KARAASLAN, M., VARDIN, H., ERSUS BILEK, S., UYGUN, O., and BIRCAN, C., 2019. Sour Cherry By-products: Compositions, Functional Properties and Recovery Potentials–A Review. Critical reviews in Food Science and Nutrition, 1-15.

YILMAZ, F. M., KARAASLAN, M., and VARDIN, H., 2015. Optimization of Extraction Parameters on the Isolation of Phenolic Compounds From Sour Cherry (*Prunus Cerasus* L.) Pomace. Journal of Food Science and Technology, 52(5): 2851-2859.

YOUSEFI, S., EMAM-DJOMEH, Z., and MOUSAVI, S. M., 2011. Effect of Carrier Type and Spray Drying on the Physicochemical Properties of Powdered and Reconstituted Pomegranate Juice (*Punica Granatum* L.). Journal of Food Science and Technology, 48(6): 677-684.

YU, D., RICHARDSON, N. E., GREEN, C. L., SPICER, A. B., MURPHY, M. E., FLORES, V., ... and LAMMING, D. W., 2021. The Adverse Metabolic Effects Of Branched-Chain Amino Acids Are Mediated by Isoleucine and Valine. Cell Metabolism, 33(5): 905-922.

YU, J., AHMEDNA, M., and GOKTEPE, I., 2007a. Peanut Protein Concentrate: Production and Functional Properties As Affected by Processing. Food Chemistry, 103(1): 121-129.

YU, X., VAN DE VOORT, F. R., LI, Z., and YUE, T., 2007b. Proximate Composition of The Apple Seed and Characterization Of Its Oil. International Journal of Food Engineering, 3(5).

YUCETEPE, M., BASYIGIT, B., and KARAASLAN, M., 2021. Design of Novel Nutritious Microcapsules Comprising Ω-5 Fatty Acids and Essential Amino Acids by Assembling Pomegranate Seed Derived Macromolecules. LWT-Food Science and Technology, 143: 111162.

ZAHRANI, N. A. A., EL-SHISHTAWY, R. M., and ASIRI, A. M. (2020). Recent Developments of Gallic Acid Derivatives and Their Hybrids in Medicinal Chemistry: A Review. European Journal of Medicinal Chemistry, 112609.

ZHA, F., DONG, S., RAO, J., and CHEN, B., 2019. The Structural Modification of Pea Protein Concentrate with Gum Arabic by Controlled Maillard Reaction Enhances Its Functional Properties and Flavor Attributes. Food Hydrocolloids, 92: 30-40.

ZHANG, Q. T., TU, Z. C., XIAO, H., WANG, H., HUANG, X. Q., LIU, G. X., ... and LIN, D. R., 2014. Influence of Ultrasonic Treatment on The Structure and Emulsifying Properties of Peanut Protein Isolate. Food and Bioproducts Processing, 92(1): 30-37.

ZHAO, Q., XIONG, H., SELOMULYA, C., CHEN, X. D., HUANG, S., RUAN, X., ... and SUN, W., 2013. Effects of Spray Drying and Freeze Drying on The Properties of Protein İsolate from Rice Dreg Protein. Food and Bioprocess Technology, 6(7): 1759-1769.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., and JIANMING, W., 1999. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. Food chemistry, 64(4): 555-559.

ZHONG, L., MA, N., WU, Y., ZHAO, L., MA, G., PEI, F., and HU, Q., 2019. Characterization and Functional Evaluation of Oat Protein Isolate-Pleurotus Ostreatus B-Glucan Conjugates Formed via Maillard Reaction. Food Hydrocolloids, 87: 459-469.

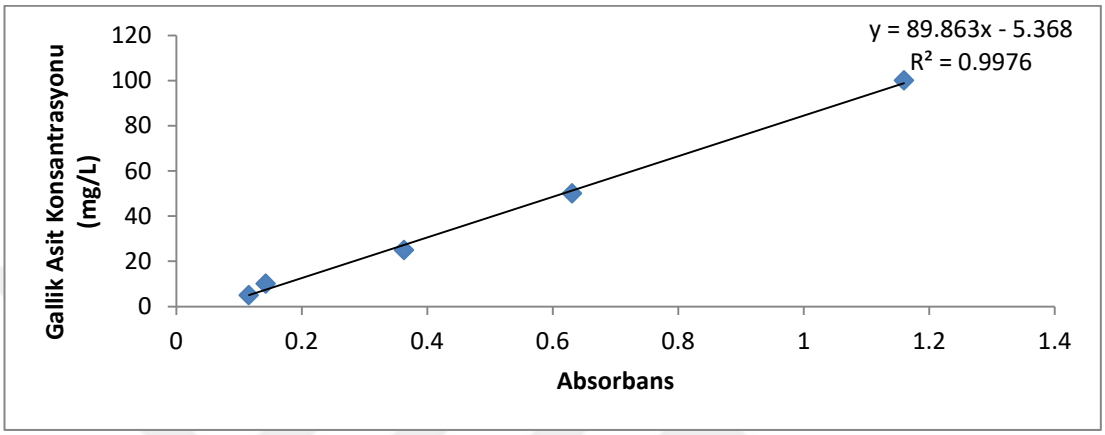
ZHOU, L., WU, F., ZHANG, X., and WANG, Z., 2017. Structural and Functional Properties of Maillard Reaction Products of Protein Isolate (Mung Bean, Vigna Radiate (L.)) with Dextran. International Journal of Food Properties, 20(sup2): 1246-1258.

ZHU, W., QIN, W., ZHANG, K., ROTTINGHAUS, G. E., CHEN, Y. C., KLIETHERMES, B., and SAUTER, E. R., 2012. Trans-Resveratrol Alters Mammary Promoter Hypermethylation in Women at Increased Eisk for Breast Cancer. Nutrition and cancer, 64(3): 393-400.

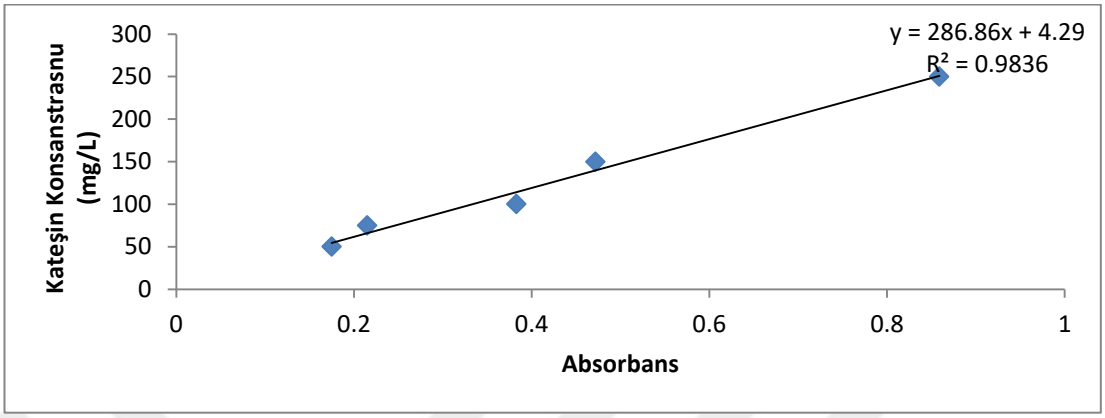
ZOU, T., LI, Z., PERCIVAL, S. S., BONARD, S., and GU, L., 2012. Fabrication, Characterization, and Cytotoxicity Evaluation of Cranberry Procyanidins-Zein Nanoparticles. Food hydrocolloids, 27(2): 293-300.

EKLER

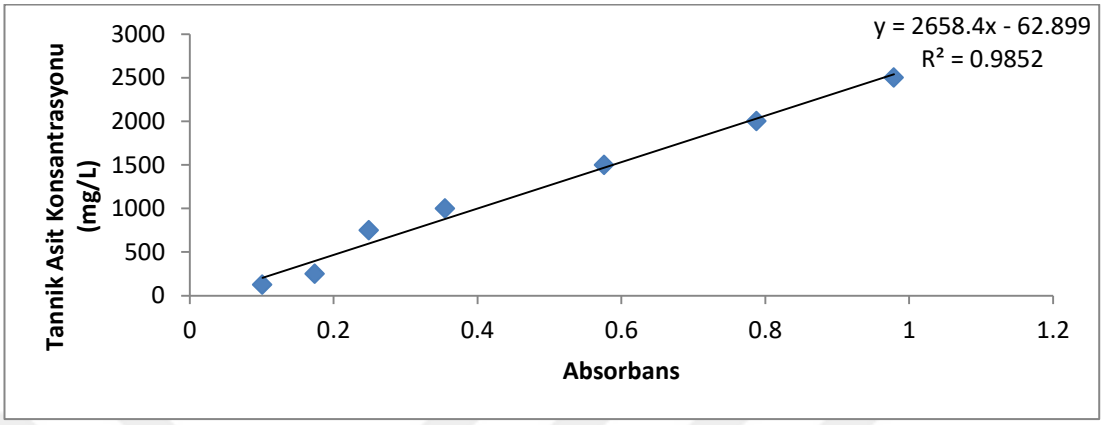
EK 1. Toplam fenolik madde miktarının hesaplanmasında kullanılan gallik asit eğrisi



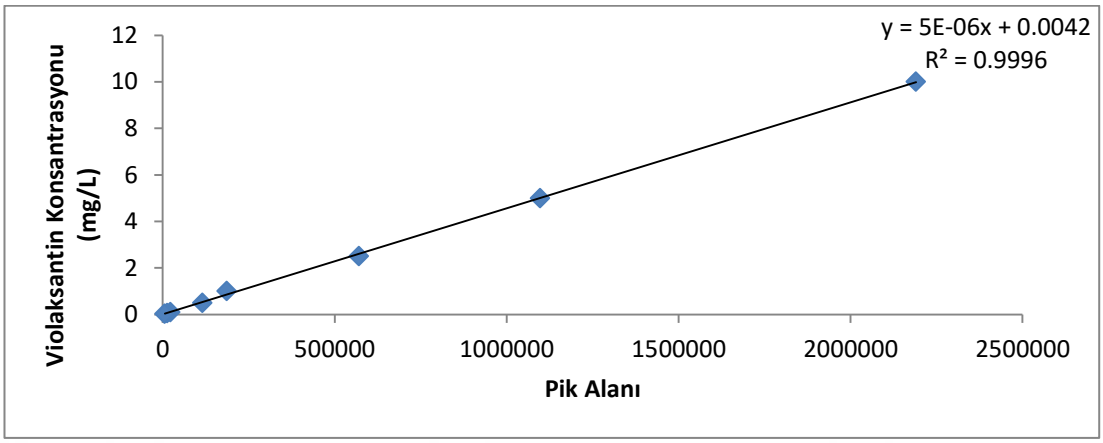
EK 2. Toplam flavanoid madde miktarının hesaplanmasında kullanılan kateşin eğrisi



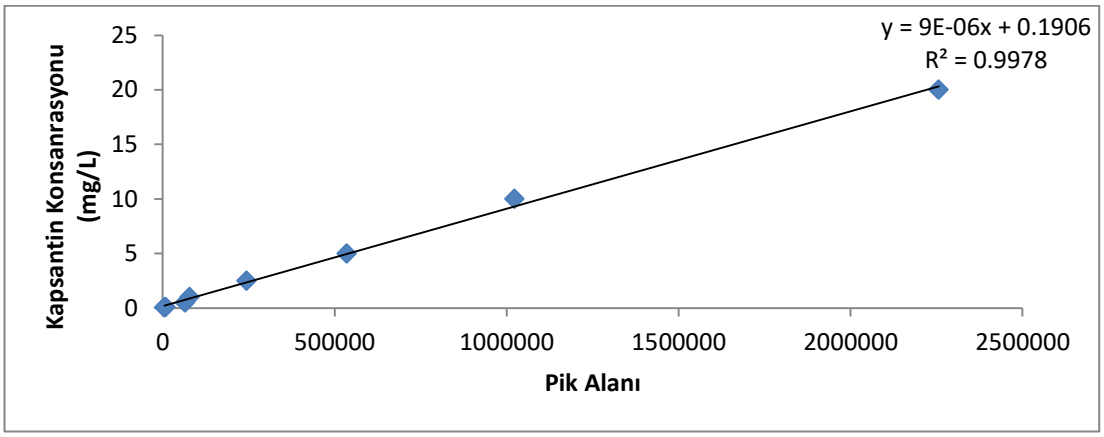
EK 3. Toplam hidrolize madde miktarının hesaplanmasında kullanılan tannik asit eğrisi



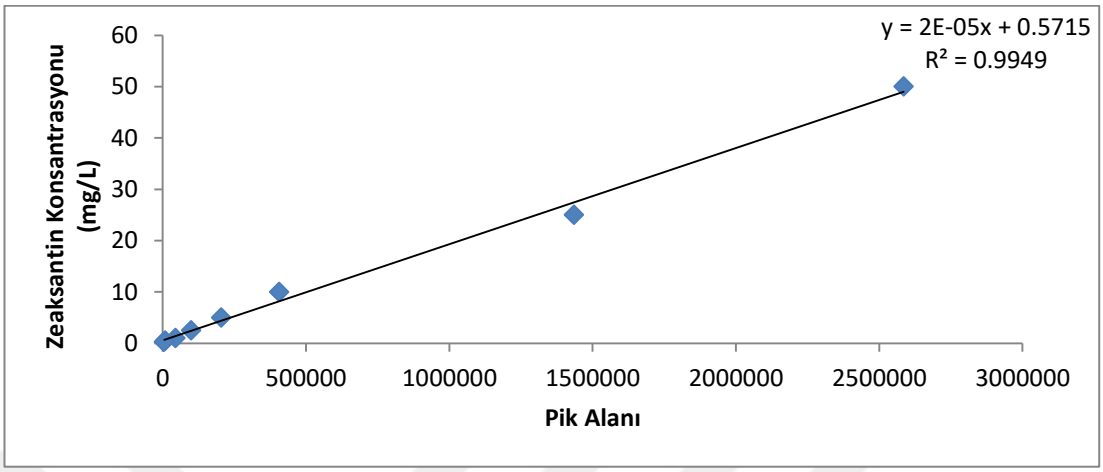
EK 4. Violaksantine ait HPLC eğrisi



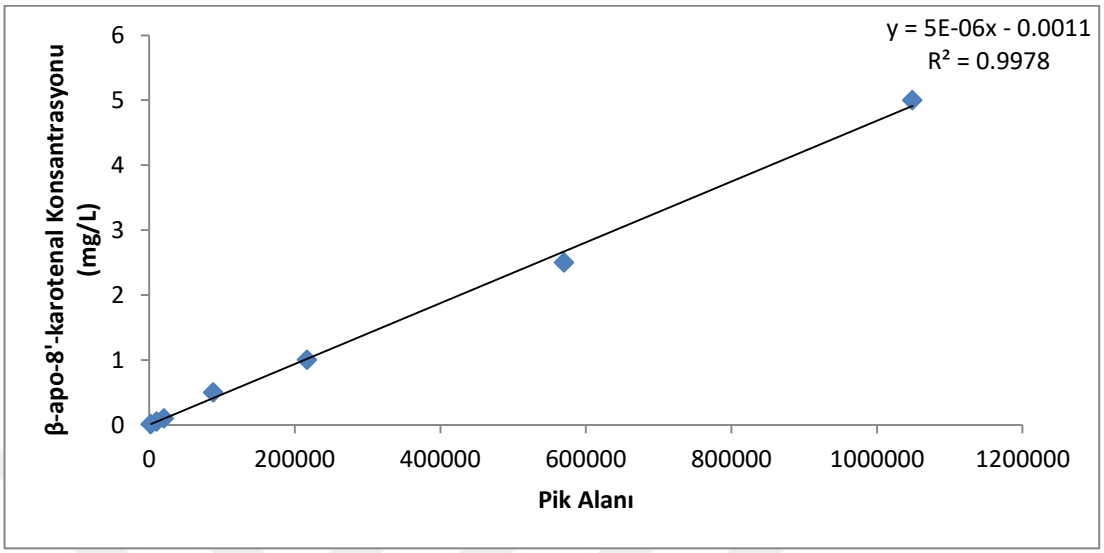
EK 5. Kapsantine ait HPLC eğrisi



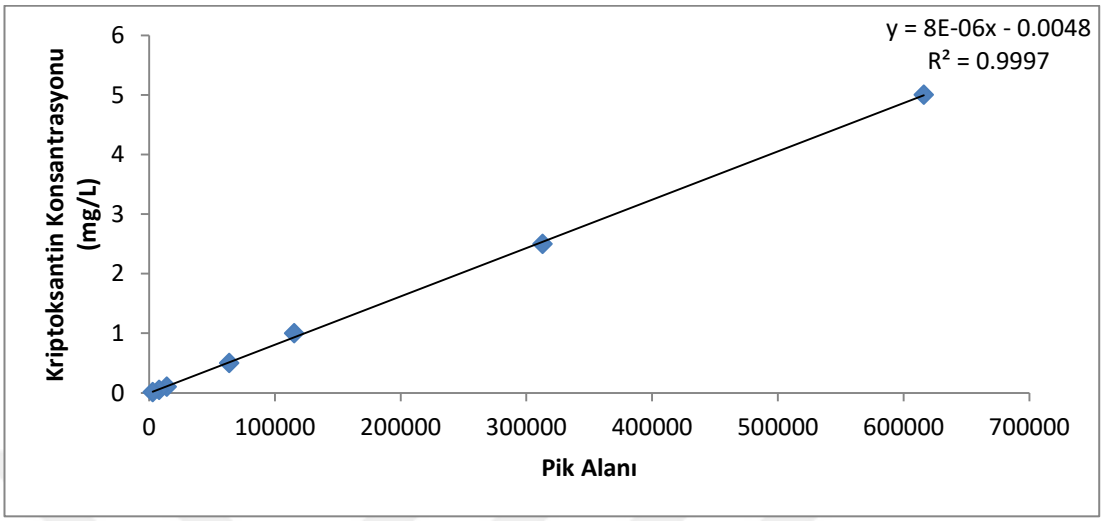
EK 6. Zeaksantine ait HPLC eğrisi



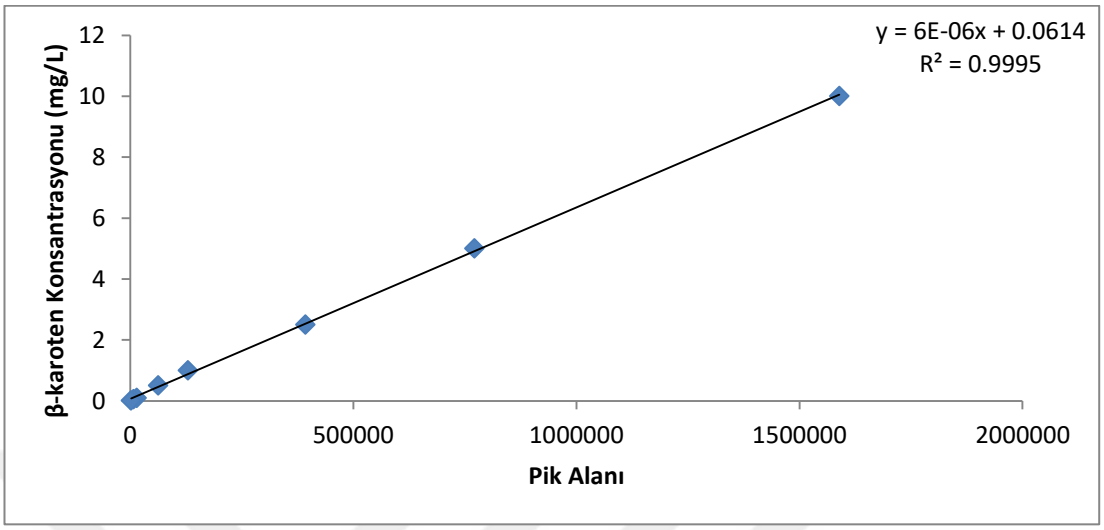
EK 7. β-apo-8'-karotenale ait HPLC eğrisi



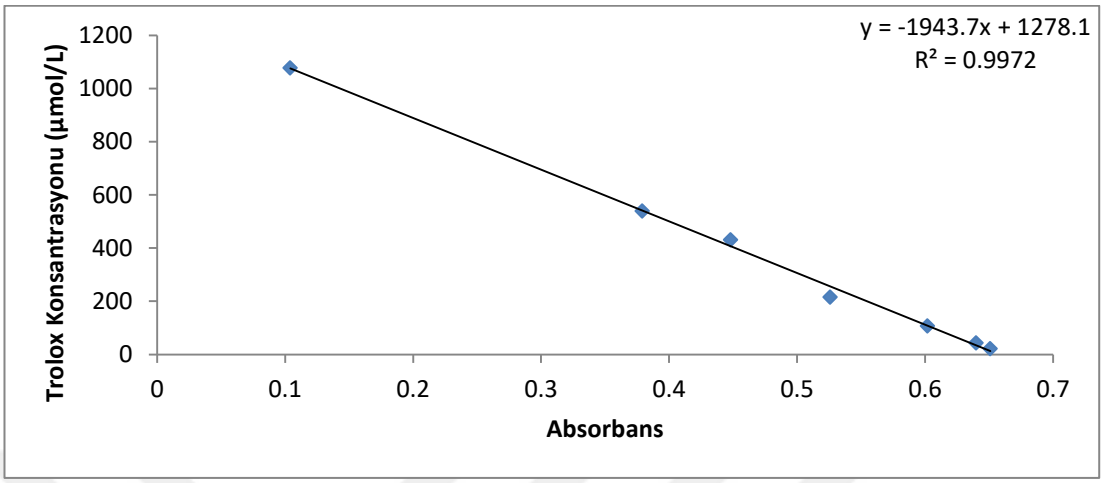
EK 8. Kriptoksantine ait HPLC eğrisi



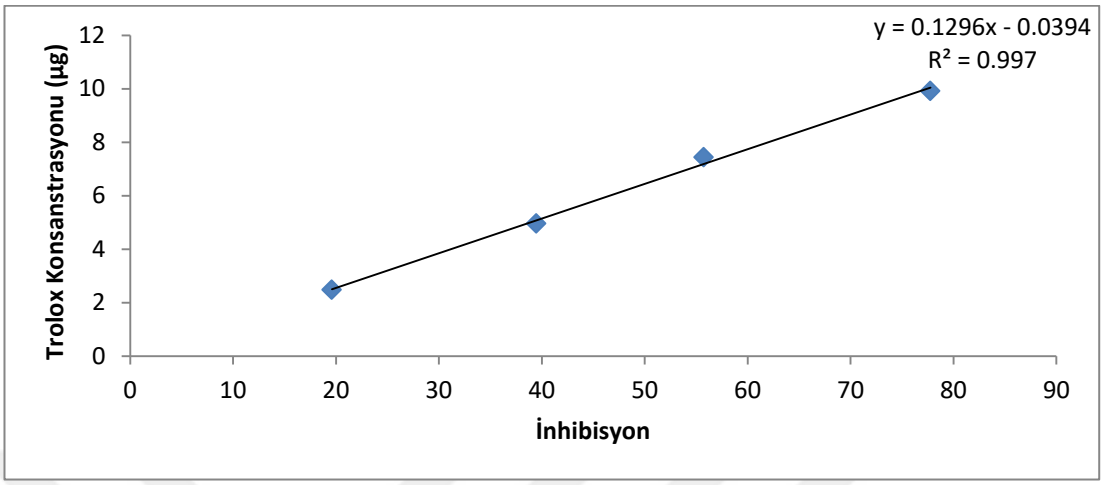
EK 9. β-karotene ait HPLC eğrisi



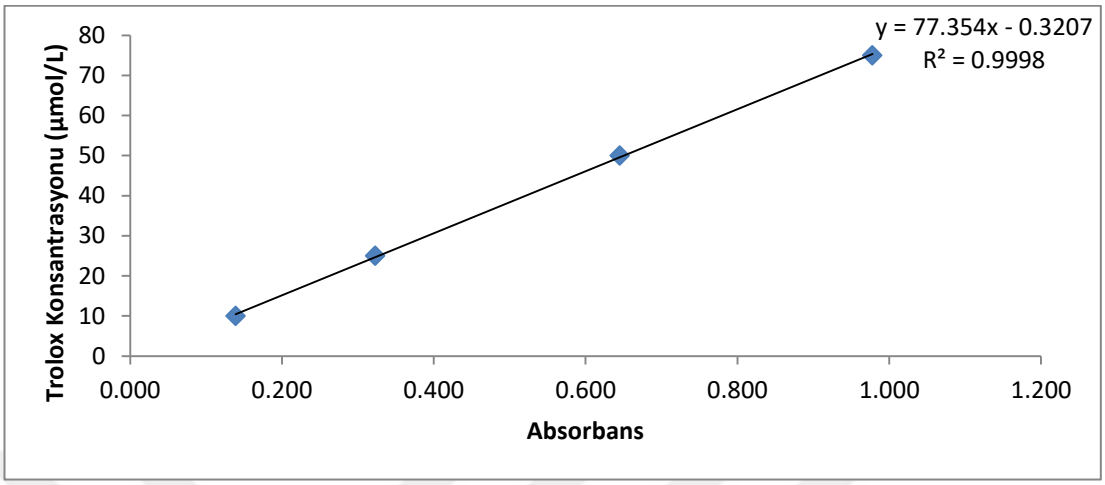
EK 10. DPPH yöntemi ile antioksidan hesaplanmasında kullanılan trolox eğrisi



EK 11. ABTS yöntemi ile antioksidan hesaplanmasında kullanılan trolox eğrisi



EK 12. FRAP yöntemi ile antioksidan hesaplanmasında kullanılan trolox eğrisi



EK 13. Bradford yöntemi ile protein miktarı hesaplanmasında sığır serum albümini eğrisi

