ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARA HAVUÇ ANTOSİYANİNLERİNİN ENKAPSÜLASYONU

Sanubar SARDARBAYLI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sanubar SARDARBAYLI tarafından hazırlanan **"Kara Havuç Antosiyaninlerinin Enkapsülasyonu"** adlı tez çalışması 08/10/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:** Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Kastamonu Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Zehra ÖZBAŞ
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Kara Havuç Antosiyaninlerinin Enkapsülasyonu**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (08/10/2021).

Sanubar SARDARBAYLI

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından MF210621L05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARA HAVUÇ ANTOSİYANİNLERİNİN ENKAPSÜLASYONU

Sanubar SARDARBAYLI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN

Sentetik renklendiricilere iyi bir alternatif olarak kabul edilen antosiyaninlere büyük ilgi gösterilmektedir, çünkü geniş bir renk yelpazesi ve nutrasötik aktiviteler sunmaktadırlar. İşleme ve depolama sırasında çevre koşullarına olan düşük kararlılıklarından ötürü antosiyaninlerin gıdalarda kullanımı sınırlı kalmaktadır. Mikrokapsülleme teknolojisinin, stabiliteyi artırması sayesinde antosiyaninlerin gıda formülasyonlarında kullanımında etkili olduğu görülmektedir. Bu tez çalışması, antosiyanin ve fenolikçe zengin kara havuç ekstraktının elde edilmesi ve onun sodyum aljinat, kitosan ve sodyum aljinat ile kitosanın birlikte kullanılarak enkapsülasyonu ve kapsüllerin karakterizasyonu üzerine kurgulanmıştır. Enkapsülasyon işleminde duvar materyali olarak %2'lik (ağırlık/hacim) aljinat, %2'lik (a/h) kitosan, %1 kitosan-%1 aljinat (a/h) polimer çözeltileri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre kapsüllerin ortalama çaplarının 615-960 μm arasında değiştiği görülmektedir. Sodyum aljinatın duvar materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde toplam fenolik madde miktarı 89,17±2,71mg GAE/g kuru kapsül, toplam monomerik antosiyanin miktarı 0,052±0,01 mg cyn-3 glukozid/1 g kuru kapsül ve antiradikal aktivite %31±1,12 inhibisyon olarak bulunmuştur. Kitosanın duvar materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde toplam fenolik madde miktarı 52,17±1,85 mg GAE/g kuru kapsül, toplam monomerik antosiyanin miktarı 0,028±0,02 mg cyn-3 glukozid/1 g kuru kapsül ve antiradikal aktivite %17±2,13 inhibisyon olarak bulunmuştur. Sodyum aljinat ve kitosanın beraber duvar materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde toplam fenolik madde miktarı 71,63±0,72 mg GAE/g kuru kapsül, toplam monomerik antosiyanin miktarı 0,039±0,01 mg cyn-3 glukozid/1 g kuru kapsül ve antiradikal aktivite %24±0,81 inhibisyon olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, bu çalışma kara havuç antosiyanin ekstraktının invers jelleşme yöntemiyle enkapsüle edilebileceğini ve farklı gıdalara uygulanma potansiyeli taşıdığını göstermektedir. Her üç duvar materyalinin de antosiyaninleri ve biyolojik aktivitelerini koruduğu bununla birlikte antosiyanin ekstraktlarının enkapsüle edilerek farklı gıdalara uygulanma potansiyelinin olduğu görülmektedir.

2021, 62 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Kara havuç, Antosiyanin, Enkapsülasyon, Sodyum aljinat, Kitosan

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ENCAPSULATION OF BLACK CARROT ANTHOCYANINS

Sanubar SARDARBAYLI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Advisor: Asst. Prof. Dr. Seda ÖZGEN

Considered as a good alternative to synthetic colorants, anthocyanins are of great interest because they offer a wide range of colors and nutraceutical activities. The use of anthocyanins in foods remains limited due to their low stability to environmental conditions during processing and storage. Microencapsulation technology seems to be effective in the use of anthocyanins in food formulations, thanks to its increased stability. This thesis is based on obtaining anthocyanin and phenolic rich black carrot extract, encapsulation it by using sodium alginate, chitosan and sodium alginate with chitosan and characterizing the capsules. In the encapsulation process, 2% (w/v) alginate, 2% (w/v) chitosan, 1% chitosan-1% alginate (w/v) polymer solutions were used as wall material. According to the results obtained, it is seen that the average diameter of the capsules varies between 615-960 μm. In the capsules in which sodium alginate was used as the wall material, the total amount of phenolic substance was 89.17±2.71mg GAE/g dry capsule, the total amount of monomeric anthocyanin was 0.052±0.01 mg cyn-3 glucoside/1 g dry capsule and the antiradical activity was 31±1.12 % inhibition. . In the capsules in which chitosan was used as the wall material, the total amount of phenolic substance was 52.17±1.85 mg GAE/g dry capsule, the total amount of monomeric anthocyanin was 0.028±0.02 mg cyn-3 glucoside/1 g dry capsule and the antiradical activity was 17±2.13 % inhibition. In the capsules where sodium alginate and chitosan are used together as wall material, the total amount of phenolic substance is 71.63±0.72 mg GAE/g dry capsule, the total amount of monomeric anthocyanin is 0.039±0.01 mg cyn-3 glucoside/1 g dry capsule and antiradical activity is 24±0, It was found to be 81% inhibition. In conclusion, this study shows that black carrot anthocyanin extract can be encapsulated by inverse gelation method and has the potential to be applied to different foods. It is seen that all three wall materials protect anthocyanins and their biological activities, however, anthocyanin extracts have the potential to be applied to different foods by encapsulating.

2021, 62 pages

Keywords: Black carrot, Anthocyanin, Encapsulation, Sodium alginate, Chitosan

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının her aşamasında önerileri ile beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen, büyük çabası ve yol gösterici yetkinliğiyle eğitim sürecinde yanımda olan değerli tez danışman hocam, Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN'e tüm samimiyetimle teşekkür ederim. Değerli jüri üyelerim Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP ve Dr. Öğr. Üyesi Zehra ÖZBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca desteklerini hep hissetiğim ve bana her zaman inanan, güvenen ve teşvik eden canım aileme her daim yanımda oldukları, sabırları ve fedakarlıklarından dolayı teşekkür ederim.

Sanubar SARDARBAYLI

Çankırı, Ekim 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ vi
KISALTMALAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 3
2.1 Antosiyaninler 3
2.2 Antosiyaninlerin Biyolojik Özellikleri 7
2.3 Antosiyaninlerin Stabilitesi 8
2.4 Antosiyaninlerin Biyoyararlanımı 10
2.5 Kara Havuç 11
2.5.1 Kara havuçtaki fenolik bileşikler 12
2.5.2 Kara havucun terapötik özellikleri ve kullanım alanları 13
2.6 Enkapsülasyon 14
2.6.1 Enkapsülasyon özellikleri 14
2.6.2 Enkapsülasyon çeşitleri ve uygun metod seçimi 16
2.6.3 Enkapsüle edilen aktif bileşikler 16
2.6.4 Kaplama materyalleri 17
2.6.5 Kitosan ve aljinat 19
2.7 Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu ile İlgili Yapılan Çalışmalar 20
3. MATERYAL VE METOT 28
3.1 Materyal 28
3.2 Metot 28
3.2.1 Kara havuçtan fenolik bileşen ekstraksiyonu 28
3.2.2 İnvers jelleşme yöntemi ile aljinat kitosan membranlı antosiyanin çekirdekli mikrokapsül üretimi 30

3.3 Kara Havuç Ekstraktı Yüklenmiş Kapsüllerin Karakterizasyonu 32
3.3.1 Enkapsülasyon verimi..... 32
3.3.2 Fourier transform infrared spektrometresi ile karakterizasyon 33
3.3.3 Kapsüllerin ışık mikroskobu ile optik olarak incelenmesi 33
3.3.4 Kapsüllerde ekstraksiyon işlemi..... 33
3.3.5 Toplam fenolik miktarı tayini 34
3.3.6 Antioksidan aktivite tayini 34
3.3.7 Toplam monomerik antosiyanin tayini 35
3.3.8 İstatistiksel analiz..... 36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 37
4.1 Aljinat-Kitosan Membranlı Sıvı Çekirdekli Mikrokapsül Üretimi..... 37
4.2 Kapsüllerin Karakterizasyonu 40
4.2.1 Enkapsülasyon verimi ve optik analiz..... 40
4.2.2 Fourier transform infrared spektrometresi *(FTIR)* ile karakterizasyon..... 41
4.2.3 Kapsüllerin biyoaktif özellikleri..... 44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... 46
KAYNAKLAR..... 48
ÖZGEÇMİŞ..... 62

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
$CaCl_2$	Kalsiyum Klorür
cm	Santimetre
dk	Dakika
D_n	Ortalama partikül çapı
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
NaAlg	Sodyum Aljinat
N_i	Partikül sayısı
nm	Nanometre
ºC	Santigrat Derece
rpm	Devir/Dakika

KISALTMALAR DİZİNİ

DPPH	1,1- difenil-2-pikrilhidrazil radikali
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
RSM	Response Surface Methodology (Tepki Yüzey Metodu)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Antosiyanin yapısı (flavilyum katyomu) (Khoo *et al.* 2017) 4
Şekil 2.2 Doğada en yaygın bulunan antosiyanidinler (Castaneda-Ovando *et al.* 2009, Damar 2010, Anthony Ananga *et al.* 2013)..... 5
Şekil 2.3 En yaygın 6 antosiyanidinin kimyasal yapısı (Koşay 2020, Diaconeasa *et al.* 2018)..... 6
Şekil 2.4 Sulu ortamda, farklı pH değerlerindeki antosiyaninlerin yapısal transformasyonları (Ananga *et al.* 2013)..... 10
Şekil 2.5 Farklı renklerde havuç çeşitleri (Gulino 2019). 11
Şekil 2.6 Enkapsülasyon Mekanizması (Atalay 2019a) 14
Şekil 2.7 Enkapsüle edici kabuk materyal grupları (Atalay 2019b) 18
Şekil 2.8 Kitosanın kimyasal yapısı (Lee *et al.* 2012) 20
Şekil 2.9 Aljinatın kimyasal yapısı (Gazori *et al.* 2009)..... 20
Şekil 3.1 Ekstrakt hazırlama aşamaları. 29
Şekil 3.2 Hazırlanan Reaksiyon Çözeltileri 32
Şekil 3.3 Enkapsülasyon deney düzenekleri 32
Şekil 4.1 Damlatma Deney Düzeneği. 38
Şekil 4.2 Farklı kaplama maddeleriyle kara havuç ekstraktının enkapsülasyonu 39
Şekil 4.3 Kapsüllerin ortalama çap değişimi..... 41
Şekil 4.4 Kapsüllerin optik görüntüleri..... 41
Şekil 4.5 Sodyum aljinat kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu..... 42
Şekil 4.6 Kitosan kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu. 43
Şekil 4.7 Sodyum aljinat-kitosan kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu 43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Farklı kaplama maddeleriyle kaplanan kapsüllerin enkapsülasyon verimi ve partikül çapları 40
Çizelge 4.2 Farklı kaplama maddeleriyle kaplanan kapsüllerin toplam fenolik ve monomerik antosiyanin değerleri ile antiradikal aktiviteleri. 44

1. GİRİŞ

Tüketicilerin doğal ve organik gıdalara ilgisiyle bitkisel kaynaklı renklendirici kullanımına olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Kara havuç, içerdiği antosiyaninlerin yüksek sıcaklık, pH ve ışığa dirençlerinden dolayı sert ve yumuşak şekerlemelerde, jöle, şurup ve içeceklerde, çeşitli meyve veya sebze konservelerinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Besleyici değer bakımından avantajlı olmasının yanısıra kara havuçtan elde edilen ekstrakt kullanılarak renklendirilen gıdaların pigment stabilizasyonu bakımından da avantajlı olduğu görülmüştür. Yaygın tüketilen, antosiyanin bakımından zengin; turşu ve şalgam olarak, pişirilerek veya çiğ olarak da tüketilebilen fenolik ve antioksidan kaynağı olan kara havucun insan sağlığını destekleyen fonksiyonel bileşen kaynağı olarak besin alımında önemli bir yeri vardır.

Dünya tarımında birçok renklerde havuç türleri mevcuttur. Beyazdan turuncuya kırmızıdan siyaha kadar uzanan renk çeşitliliğinde tarımsal bir ürün olarak karşımıza çıkmaktadır. En yaygın ve daha çok tüketilen turuncu havuçtan daha önceki zamanlarda bulunan koyu renkli havuç, yoğunlukla ılıman iklimlerde dünyanın farklı coğrafi bölgelerinde yetiştirilir ve çoğunlukla tüketilir. Koyu renge sahip kara ve koyu mor renkli havuç, antosiyanince zengin havuç türlerinin oldukça eski formlarından birisi olarak bilinmektedir. Yüksek su içeriği sebebiyle (yaklaşık%90) tüm meyve ve sebzeler gibi havuç da hasat sonrası kayıplara karşı oldukça duyarlıdır (Tavlaşoğlu 2016).

Mikroenkapsülasyon, biyoakttif bileşenlerin ya da farklı kaynaklardan elde edilmiş olan ekstraktların duvar ya da kabuk da denilen bir kaplama maddesi içerisine hapsedilmesini ya da yüklenmesini sağlayan ve 1-1000 µm arasında değişim gösteren çaplarda mikropartiküller elde edilmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Farklı birçok alanda uygulama alanı bulan mikrokapsüllerin üretimi 1950li yıllara kadar uzanmaktadır.

Günümüzde gıda sektöründe de yaygın olarak kullanılan mikroenkapsülasyon teknolojisinde kabuk veya kaplama materyali olarak birçok biyopolimer

kullanılmaktadır. Sunulan tez çalışmasında aktif madde yani çekirdek materyali olarak antosiyanin bakımından zengin kara havuç ekstraktı; dış kaplama maddesi olarak da kitosan ve sodyum aljinat seçilerek invers jelasyon (iyonik jelleşme) yöntemi ile mikroenkapsülasyonu yapılmıştır.

Çalışmanın amacı ise, antosiyanininlerin stabilitesini enkapsülasyon tekniği ile artırmak ve kullanılma potansiyeli olan gıda ürünlerinde fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak kullanılma potansiyelini yorumlamaktır. Dolayısıyla bu amaçlar doğrultusunda antosiyanince zengin ekstraktın enkapsülasyonu ve bu elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

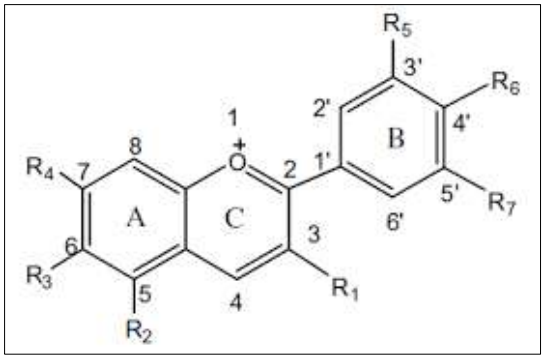
2.1 Antosiyaninler

Antosiyaninler fitokimyasallar grubunun bir parçasıdır (Wang *et al*. 2008). Bitkilerde yaygın olarak bulunan antosiyaninler (yunanca "anthos" çiçek, "kyanos" mavi anlamındadır) en önemli pigmentlerden biridir (Kong *et al.* 2003). Sitoplazmada veya hücre duvarlarında oluşabilen antosiyaninler ince granüller veya şekilsiz kümeler halindedirler (Fersahoğlu 2016). Düşük toksisiteye sahip olan bu renklenderici maddeler ilaç, gıda ve kozmetik endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Çoruhli 2013). Suda çözünebilen polar bileşikler olan antosiyaninler bazı etkenlere karşı duyarlı oldukça hassas moleküllerdir. Bu sebeple de o etkenlerin varlığında stabiliteleri ve renkleri değişmektedir. Bunlara sülfür dioksit, oksijen, metalik iyonlar, kopigmentler, askorbik asit, protein, şeker, ışık, ısı ve ph gibi etkenler dahildir. (Ersus ve Yurdagel 2007, Wesche-Ebeling and Argaiz-Jamet 2002). Çoğu antosiyanin düşük asitli koşulda maviye, asidik koşulda kırmızıya döner. Antosiyaninlerin asit-baz indikatörü olarak kullanılması bu özelliklerine dayanmaktadır (Castaneda-Ovando *et al.* 2009).

Yaban mersini, böğürtlen, vişne, ahududu, kan portakalı, kırmızı üzüm, elma, şeftali, çilek, karpuz gibi meyvelerde, havuç, lahana, mor soğan, kırmızı fasulye, biber, domatez ve benzer renkli sebzelerde antosiyaninlerin olduğu tespit edilmiştir (Lila 2004).

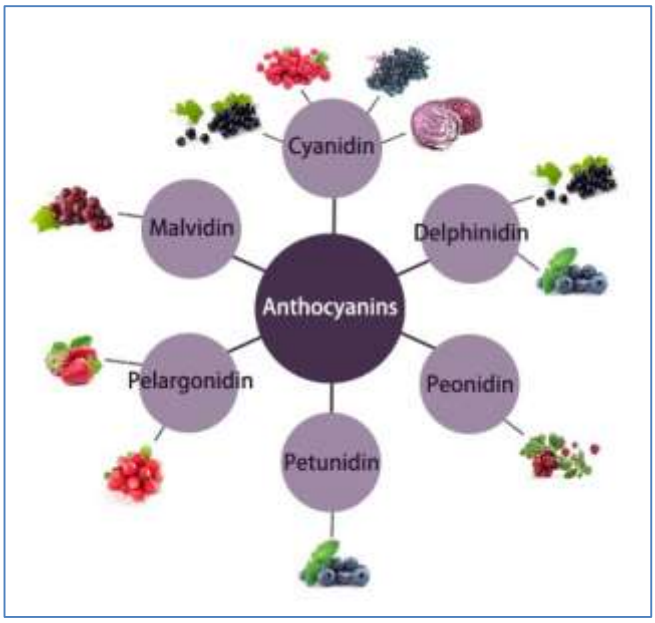
Ortalama 70 tanesinin meyvelerde olduğu saptanan antosiyaninlerin bitkilerde yaklaşık 200 farklı çeşidi tanımlanmıştır. Genelde antosiyanin sayısı meyvelerde 2-6 arasında değişmektedir (Özgen 2010). Çoğunlukla hücre vakuollerinde bulunan antosiyaninler 1664 yılından beri ph indikatörü olarak bilinmektedir. Ancak antosiyanin deyimi 1835 yılında ilk kez kullanılmıştır. Antosiyanin yapısal olarak ilk kez 1913 yılında mavi çiçekli Centaura cyanus'ta tanımlanmıştır. Günümüzde sayısı 600'ü aşan yapısı belirlenmiş antosiyanin vardır (Keleş 2015, Toprak 2011, Söylemezoğlu 2003).

Antosiyaninler çeşitli bitkilerin kökleri, yaprakları, tohumları, sapları, çiçekleri, meyveleri ve diğer organlarına kendine özgü mor, mavi, pembe ve kırmızıya kadar geniş bir aralıktaki renkleri veren suda çözüne bilen önemli bir flavonoid pigment türüdür (Uyan Ersus 2004, Zhao *et al.* 2017). Kimyasal açıdan bakarsak antosiyanidinlerin şekere bağlı halde (glikozid oluşturmuş şekilde) yani flavilyum tuzlarının ya da 2-fenil benzopirilliumun polimetoksi ve polihidroksi türevlerinin glikozitleri olan polifenolik bileşiklerdir (Şekil 2.1) antosiyaninler (Koşay 2020, Fidan 2014). Kısacası aglikon kısmına antosiyanidin denilen glikozit bir yapıya sahipdirler.



Şekil 2.1 Antosiyaninlerin yapısı (flavilyum katyonu) (Khoo *et al.* 2017)

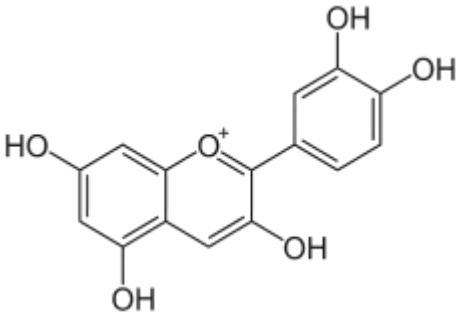
Aglikonlar yani antosiyanidinler taze bitkilerde nadiren bulunurlar. Farklı şeker gruplarıyla glikozidik yapı oluşturabilen her aglikonun çeşitli aromatik veya alifatik asitlerle açillendiğini düşünürsek çok sayıda kombinasyon oluşabileceğini görebiliriz. Moleküldeki hidroksil gruplarının metilasyon derecesine, hidroksil grubu sayına, moleküle bağlanan şeker grubu sayısına, şeker gruplarının bağlanma pozisyonuna, ek olarak moleküldeki şekerlere bağlanan alifatik ve aromatik asitlerin yapılarına ve sayılarına bağlı olarak birbirinden farklı 600'den fazla antosiyanin olmasına rağmen doğada sadece 23 adet antosiyanidin bulunmaktadır (Wu *et al.* 2006, Galvano *et al.* 2004, Castaneda-Ovando *et al.* 2009). Bunlardan 6 sı (Şekil 2.2) en yaygın olanlardır: siyanidin (cy) %50, delfinidin (dp) %12, malvidin (mv) %7, pelargodin (pg) %12, peonidin (pn) %12, petunidin (pt) %7. Doğada en çok bulunan metillenmemiş antosiyanidinler siyanidin, delfinidin, pelargonidindir. Bunların %50si çiçeklerde, %69u meyvelerde, %80i yapraklarda bulunmaktadır (Kong *et al.* 2003, Pala 2014).



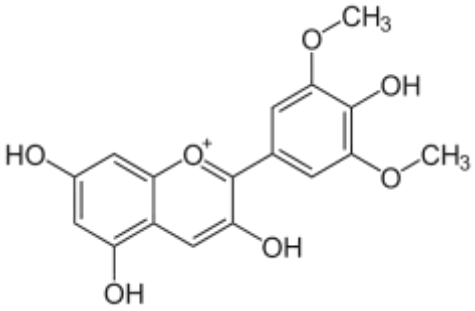
Şekil 2.2 Doğada en yaygın bulunan antosiyanidinler (Castaneda-Ovando *et al.* 2009, Ananga *et al.* 2013)

Antosiyanin molekülündeki metoksil grubunun (-OCH_3) sayısı arttıkça renk kırmızıya döner. Bunun aksine moleküldeki hidroksil grubu (-OH) sayısındaki artış rengin maviye doğru dönmesini sağlamaktadır (Pala 2014). Antosiyanin molekülünde asidik pH larda renk kaybı olur. pH değeri nötr ve nötre yakın olan ve bazik özellik gösteren ortamlarda mavi renkli bileşikler haline dönüşen antosiyaninler asidik ortamlarda kırmızı renkli olan flavilyum katyonu halinde bulunur (Ribereau-Gayon and Glories 2006). Antosiyaninlerde pH'ya bağlı renk kaybının en fazla olduğu aralık pH 3,2-3,5 olarak saptanmıştır (Toprak 2011).

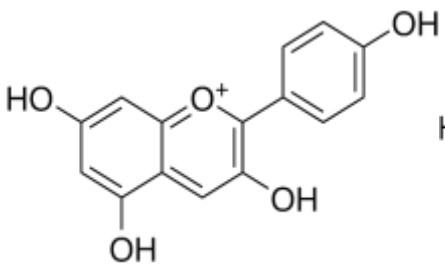
Galaktoz, glikoz, arabinoz, ramnoz gibi monosakkarit, gentibioz, rutinoz gibi disakkarit veya trisakkarit yapıda şekerler antosiyanidinlere bağlanarak glikozit oluşturmaktadır (Şekil 2.3). 3,5-hidroksil veya 3-hidroksil pozisyonları, bazen de 7-hidroksil pozisyonu şeker gruplarının daha yaygın bağlandığı pozisyonlardır (Bagchi *et al.* 2004). 3-monozidler, 3-biozidler, 3,5-diglikozidler ve 3,7-diglikozidler en yaygın antosiyanidin glikozitleridir. Doğada 3-glikozitlerin 3,5-diglikozidlerden yaklaşık 2,5 kat daha fazla bulunduğunu düşünürsek en yaygın olarak bulunan antosiyaninin siyanidin 3-glikozit olduğunu görebiliriz (Kırca 2004, Kong *et al.* 2003).



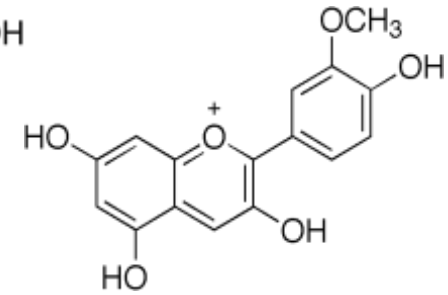
Siyanidin



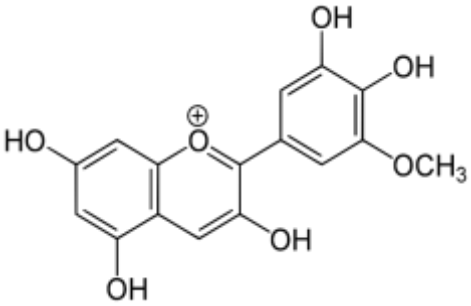
Malvidin



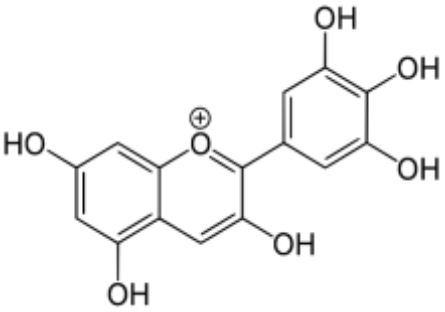
Pelargonidin



Peonidin



Petunidin



Delfinidin

Şekil 2.3 En yaygın 6 antosiyanidinin kimyasal yapısı (Koşay 2020, Diaconeasa *et al.* 2018)

Bazen antosiyaninlerin temel yapısında antosiyanidinler ve onlara bağlı şeker grupları dışında açil asit grupları da bulunuyor. Alifatik asitler (asetik, malonik, suksinik, malik

ve okzalik asit) ve aromatik asitler (gallik, sinapik, kafeik, ferulik ve p-kumarik) genellikle C3 şeker bağına bağlanırlar. Bu açil grupları çoğunlukla şekerin 6-OH veya nadiren 4-OH grubuyla esterefiye olurlar. Diğer yandan farklı şeker bağlantıları ve daha kompleks asilasyon modelleri de söz konusu olabilmektedir (Giusti and Wrolstad 2003).

2.2 Antosiyaninlerin Biyolojik Özellikleri

Antosiyaninlere karşı ilginin artmasına güçlü antioksidan özellikleri, renk nitelikleri ve insanlar üzerindeki biyolojik etkileri sebep olmuştur. Çeşitli hastalıkların tedavisinde olumlu etkiye sahip antosiyaninlerin biyolojik özelliklerinin kimyasal yapılarına bağlı olduğu rapor edilmiştir (Fidan 2014, Kong *et al.* 2003).

Antioksidan aktiviteye sahip olmaları antosiyanin ekstraktlarının en önemli özelliklerinden birincisidir. Bu nedenle insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkileri vardır. Bunlar: kalp sağlığını koruma, kardiyovasküler hastalıklardan koruma, görme keskinliğinin arttırılması, göz fonksiyonlarını koruma, antienflamatuar, antikanserojenik, antiülser, antidiyabetik aktivite, sinir hastalıklarından koruma olarak bildirilmiştir. Bundan sebep antioksidan özelliğinin belirlenmesi için farklı sebze ve meyvelerden antosiyanin ekstreleri elde edilerek birçok çalışmalar yapılmıştır (Bagchi *et al.* 2004, Yousuf *et al.* 2016, Wallace 2011, Ghosh and Konishi 2007).

Tokgöz ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada bu fenolik birleşiklerle ilgili çalışmaların son yıllarda giderek artmasının nedeni olarak doğal renk maddesi olmasının yanısıra farmakolojik özelleklerini göstermişler. Antosiyanin içerikli gıdalara olan ilgi de kan basıncını dengelemesi, karaciğer hastalıkları üzerine olumlu etkileri, antimikrobiyal etki göstermesi gibi sağlığa yararlı etkileri tespit edildikçe artmışdır.

Jayaprakasam ve diğerleri (2005) antosiyaninlerin önemli biyolojik aktivitelerinden biri olan antidiyabetik özelliği üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir. Yaptıkları bu çalışmada insulinden bağımsız (tip-2) diyabet tedavisinde kullanılabileceğini ortaya koydukları antosiyaninleri sebze ve meyvelerden izole ederek saflaştırdılar.

Kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkisi olan kırmızı şarabın bu etkisi üzerine yıllardır çalışmalar yapılıyor. Bu etkinin şarapdaki antosiyaninlerden kaynaklandığına dair veriler son yıllarda güç kazanmaktadır (Bakowska-Barczak 2005). Antosiyaninlerin biyoaktivitesi ve biyoyararlanım (metabolik yol ve boşaltım, absorbsiyon) mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalara bu doğal bileşiklerin farklı ve çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip olmaları oldukça hız kazandırmıştır (Netzel *et al.* 2007).

2.3 Antosiyaninlerin Stabilitesi

Formülasyonlara, üretim koşullarına ve depolama koşullarına karşı düşük stabilite göstermeleri doğal renklendiricilerin gıda sistemlerinde kullanımlarını kısıtlayan özelliklerdir. Gıda maddelerinde antosiyanin stabilitesini etkileyen faktörlerin belirlenmesiyle kullanım olanaklarının arttırılması yönünde birçok araştırmalar yapılmıştır (Uyan Ersus 2004, Jackman *et al.* 1987, Francis 1989). Antosiyaninler ışık, ısı, pH, asit, enzimler, metalik iyonlar, kopigmentler ve şeker gibi pek çok çevresel etkiye karşı duyarlıdır. Stabiliteleri bu etkenler dolayısıyla kısıtlamış antosiyanin pigmentlerinin kaybı özellikle çeşitli enzimlerin ve oksijenin varlığında, yüksek sıcaklık içeren işlemler sonucu gerçekleşebilmektedir (Çoruhli 2013, Fidan 2014, Mazza and Brouillard 1990).

Diğer bileşiklerle reaksiyona girebilen, kolaylıkla bozunabilen, bunların sonucunda kahverengi veya renksiz bileşiklere dönüşübilen antosiyaninler reaktif bileşiklerdir. Bu nedenle antosiyaninlerin bitki hücrelerinden izole edildiği haliyle stabilitesini koruması için koruyucu önlemler alınmalıdır (Frank *et al.* 2012).

Diğer flavanoid bileşiklerine göre antosiyaninlerin biokimyasal yapıları daha komplekstir. Bazı antosiyaninler molekül yapılarına bağlı olarak diğerlerine göre daha stabildir. Açil grupları ile bağlanma bölgeleri ve aglikona bağlanan glikozil grubu antosiyanin molekülünün aktivitesini ve stabilitesini önemli ölçüde etkilemektedir (McGhie and Walton 2007). Açillenmemiş antosiyaninler açillenmiş olanlara göre daha dayanıksızdır. Moleküller arası etki sayesinde açil kısımları antosiyaninleri su moleküllerinin hidrofilik saldırılarından korur. Böylece açillenmiş antosiyaninler

diğerlerine göre ışığa ve daha yüksek ısıya karşı dayanıklı ve daha uzun raf ömrüne sahip olurlar (Netzel *et al.* 2007).

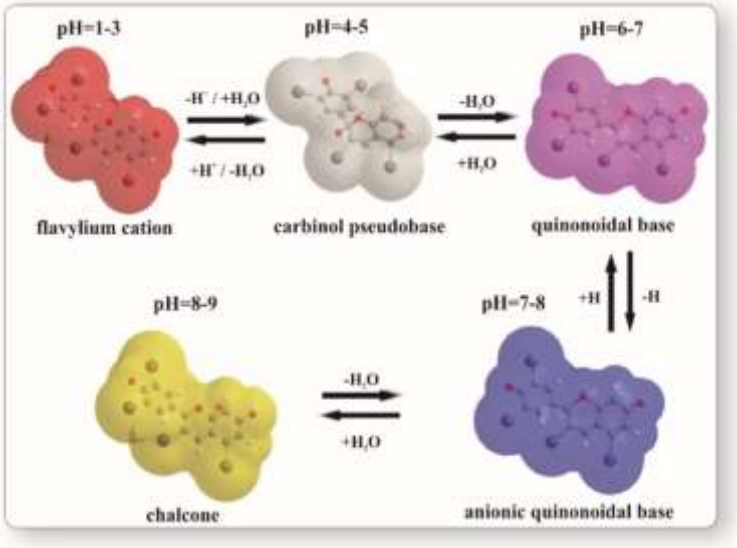
3 farklı mekanizmayla flavilium katyonunun stabilizasyonunun sağlanmasının mümkün olduğu ileri sürülmektedir (Kırca 2004, Gakh *et al.* 1998). Bunlara:

- Aromatik asil grupları ile antosiyanidin çekirdeği arasında moleküller içi bir interaksiyonla meydana gelen kendiliğinden birleşme (self-association)
- Molekülün kromoforik olmayan aromatik asit kısımları ve antosiyanidin çekirdeği arasında bir interaksiyonla meydana gelen molekül içi kopigmentasyon
- İki veya daha fazla moleküller arasında meydana gelen moleküller arası kopigmentasyon

dahildir (Kırca 2004, Gakh *et al.* 1998). Sandviç tipi istiflenme (sandwich-type stacking) kompleksi oluşumu iki veya daha fazla asillenmiş grup içeren antosiyaninler için geçerlidir. (Kırca 2004, Giusti and Wrolstad 2003).

Bulundukları çözeltinin pH'sına bağlı olarak antosiyaninlerin kimyasal yapılarında farklı transformasyonlar olabiliyor (Şekil 2.4). Kırmızı renkten sorumlu flavilyum katyonu pH 1,0'de baskın bulunan türdür. Kırmızı ve mor renklere katkı sağlar. Mavi renk ise pH 2,0 – 4,0 aralığında daha baskındır. Karbinol yalancı bazı ve kalkon pH 5,0 ve pH 6,0 aralığında gözlenebilen 2 renksiz türdür. Hidrojen atomu yerine geçen grupların özelliğine de bağlı olarak pH 7.0'den yüksek değerlerde antosiyaninler bozulmaya başlar (Castaneda-Ovando *et al.* 2009, Fleschhut *et al.* 2006). Hidroksil grupların sayısının artması stabilitenin azalmasını, yüksek metoksil varlığı ise bu stabilitenin artmasını sağlar (Francis 1989, Cavalcanti *et al.* 2011).

Antosiyaninlerin stabilitesini 2 farklı yoldan etkileyen ışık bir tarafdan onların biosentezi için gerekliyken, diğer tarafdan degredasyonlarını da hızlandırmaktadır. Karanlıkta saklandıkları zaman antosiyaninler renklerini daha iyi korurlar. Karşılaştırma zamanı stabilitedeki fark 24 saat içerisinde belli olmaktadır (Cavalcanti *et al.* 2011).



Şekil 2.4 Sulu ortamda, farklı pH değerlerindeki antosiyaninlerin yapısal transformasyonları (Ananga *et al.* 2013)

Saklama sıcaklığıyla antosiyaninlerin degredasyonu doğru orantılıdır. Yüksek sıcaklık pigmentlerin kaybına neden olmaktadır. Antosiyanin molekülleri 2-4ºC sıcaklıklarda birkaç hafta boyunca başarılı bir şekilde depolanabilirler (Welch and Simon 2008).

Kolay ulaşılabilir olmaları ve çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olmaları antosiyaninlerin önemini arttırmış, bu da onun stabilitesini arttıracak ve çevresel etkilerden koruyacak çalışmaların artmasına sebep olmuştur (Betz and Kulozik 2011, Jeong and Na 2012, Akhtar *et al.* 2014). Stabilizasyon 2 şekilde gerçekleştirilmektedir : birleşme tepkimeleri (association reactions) ve enkapsülasyon. Birleşme tepkimeleri antosiyaninlerin biyolojik aktivitelerini de etkilediğinden son yıllarda stabilizasyon çalışmalarında biyoteknolojik gelişmelerle paralel olarak enkapsülasyon sıkça kullanılmaktadır (Fidan 2014, He *et al.* 2012).

2.4 Antosiyaninlerin Biyoyararlanımı

Antosiyaninlerin yararlı etkileri keşfedebilmek ve arttırmak için biyoyararlanımın (boşaltım, metabolizma ve absorbsiyon) anlaşılması gerekmektedir (Matuschek *et al.* 2006). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda

mideye gelen antosiyaninlerin emiliminin yetersiz kaldığı, çoğu tüketimden birkaç saat sonra gastrointestinal sistemde yok olduğu gözlemlenmiştir (Wang *et al.* 2013). Hedef bölgelerde biyoaktif antosiyaninlerin stabilitesini daha uzun süre koruması ve tümör hücrelerinin inhibisyonu gibi yararlı etkilerini daha fazla göstermesi için bu maddelerin enkapsülasyonu yapılabilir (Oidtmann *et al.* 2012).

2.5 Kara Havuç

Havuç (*Daucus carota*) apiaceae ailesinin önemli bir üyesidir (Kammerer *et al.* 2004). Yüksek besin değerine sahip, çiğ ya da pişirilerek tüketilebilen kök bitkidir (Esatbeyoğlu *et al.* 2016). Beyaz, kırmızı, sarı, turuncu ve mor renklerde çeşitleri vardır (Şekil 2.5). Bu çeşitler farklı kombinasyonlarda ve miktarlarda vitaminler (A, C, D, E, K, B_1, B_6 ve biyotin), karotenoidler, isokumarinler, antosiyaninler, lif, makronutrientler, minareller (Mg, Ca, K, P, Na, ve birçok iz miktarda bulunanlar), fenolik asitler, seskiterpenler ve terpenlerin dahil olduğu fitokimyasalları içerir (Tavlaşoğlu 2016, Metzger *et al.* 2008, Sun *et al.* 2009, Poudyal *et al.* 2010). Sarı havuçlara rengi lutein, kırmızı havuçlara likopen, turuncu havuçlara yüksek orandaki α ve β karoten, kara havuçlara antosiyaninler vermektedir. Beyaz havuçlarda ise bu karotenoid çeşitleri daha az konsantrasyonlarda oldukları için bu renktedirler (Sun *et al.* 2009, Charron *et al.* 2009, Poudyal *et al.* 2010).



Şekil 2.5 Farklı renklerde havuç çeşitleri (Gulino 2019)

Kara havuçtaki antosiyaninler turuncu havuçlara göre 28 kat daha fazladır. Ağırlık olarak kara havucun 1750mg/kg'a kadar antosiyanin içerdiği bildirilmiştir (Pala 2014, Ayar 2017). Kara havuç üzerine yapılan çalışmalarda Avustralya, Almanya ve Türkiye başta gelir. Fenolik bileşik içeriği, E ve C vitamini gibi bilinen antioksidanların varlığı açısından bilim dünyasının ilgisini çekmiştir (Algarra *et al.* 2014).

2.5.1 Kara havuçtaki fenolik bileşikler

Kimyasal olarak fenolik bileşenler aromatik halkaya bağlı hidroksil grubundan oluşurlar (Özdal *et al.* 2013). Biyoaktif maddeler olan fenolik bileşikler ikincil bitki metabolitleri olarak bilinir ve insan beslenmesinde önemli bir yeri vardır (Naczk and Shahidi 2004, Hatamnia *et al.* 2014). Kara havucun köklerinde 40'dan fazla fenolik bileşenler bulunmuştur (Kammerer *et al.* 2004). Kara havucun antioksidan kapasitesiyle fenolik bileşen konsantrasyonu arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Algarra *et al.* 2014). Antosiyanini zengin sebzeler yüksek antioksidan aktiviteye bağlı olarak yüksek fenolik içeriğe sahipdirler (Kaur and Kapoor 2002).

Bitkilerin gövde, yaprak, tohum, çiçek, meyve ve sebzelerinde bulunan fenolik bileşenler koku, burukluk, renk, tat (acı, buruk) gibi özelliklerin oluşumunda etkilidirler. Flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Flavonoidlerde katesinler, flavonollar, flavononlar, flavonlar, antosiyanidinler, proantosiyanidinler, lökyoantosiyanidinler olarak; fenolik asitlerde benzoik asitler ve sinamik asitler olarak sınıflandırma yapılabilir. Flavonoidler antosiyanin içeren ve antioksidan özelliklere sahip polifenolik maddelerdir (Nizamlıoğlu ve Nas 2010, Tavlaşoğlu 2016).

Kara havucun jöle ve şekerleme, alkolsüz içecekler, meyve suları ve nektarlar, koruyucular ve sairede bir nutrasotik/fonksiyonel içerik (renklendirici) olarak kullanılmasının nedeni asidik pH değerlerinde parlak çilek rengini sağlamasıdır (Khandere *et al.* 2011). Turuncu ve kırmızı havuçlarla karşılaştırıldığında kara havuç daha yüksek flavonoide sahiptir. Mysetin, lüteolin, quercetin ve kaempferol kara havuçta öne çıkan flavonoidlerdir (Bahorun *et al.* 2004, Marinova *et al.* 2005).

2.5.2 Kara havucun terapötik özellikleri ve kullanım alanları

Eski zamanlarda en iyi havuç olarak bilinmesine rağmen sonralar yemeklere rengini vermesi sebebiyle kara havuç bu önemini kaybetmiştir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu sağlık üzerine olumlu etkileri bulunmuş ve eski değerini kazanmaya başlamıştır (Pala 2014).

Kara havuç yüksek miktarda antosiyanin içerir ve terapötik özellikleri bundan kaynaklanmaktadır (Pala 2014). Farklı *in vitro* testlerde antosiyaninlerin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Tavlaşoğlu 2016). Renklendirici özelliğinin yanısıra sağlığa olumlu etkileri antosiyaninlere olan ilgiyi artırmıştır. Diabet ve nörodejeneratif bozukluklara olumlu etkileri, antikanserojen etki, damar tıkanıklığı ve ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve hipertansiyon riskini azaltması bu etkilerdendir (Khandere *et al.* 2011). Üriner enfeksiyonları, ve kötü kolestrol oluşumunu önleyici etkiler de bunlara dahildir (Kasnak ve Palamutoğlu 2015). Kara havucun antienflamatuar özelliği de vardır. Damar geçirgenliğinin korunmasında, trombosit agregasyonunun önlenmesinde, kılcal damar çatlakları sebebiyle oluşan kan dolaşımı bozukluklarının tedavisinde etkilidirler (Liu *et al.* 2008).

Açillenmiş antosiyaninler hem daha stabillerdir, hem de daha yüksek biyolojik aktiviteye sahiptirler. Mesela; tatlı patatesten alınan antosiyaninler antimutajenik aktiviteye, kan basıncını düşüren etkiye ve güçlü radikal süpürme etkisine sahiptirler (Suda *et al.* 2003, Igarashi *et al.* 2000). *İn vitro* koşullarda hiperglisemiyi önleyici etkileri de bulunmuştur (Matsui *et al.* 2002, Netzel *et al.* 2007).

Kara havuç şalgam adlı fermente içeceğin esas maddelerinden biridir. Hindistanda "kanji" isimli benzer içecek kara havuçtan üretilir (Turker *et al.* 2004). Antosiyaninler doğal renklendirici olarak kullanıldıkları için kara havuçtan da bu anlamda yararlanılmaktadır. İyi bir alternatif olarak konservelerde, meyve suları ve nektarlarda, şekerleme endüstrisinde, jölelerde kullanılmaktadır (Downham and Collins 2000).

2.6 Enkapsülasyon

Ürünlerin veya aktif bileşenlerin stabilitesini arttırmak için biyolojik veya teknik açıdan aktif bileşenlerin belirli bir membran veya matris içinde bölümlendirilmesi, mikro, nano, makro vs. kopartmanlara ayrılması süreci enkapsülasyon olarak tanımlanır (Chan *et al.* 2009). Daha basit deyimle enkapsülasyon bir aktif maddenin (katı, sıvı, gaz) başka bir materyel içinde kaplanması ve bu kapsüllerin belirli hızda ve belirli koşullarda salınmasını sağlayan teknolojidir (Şekil 2.6). Kapsüllenen malzeme "çekirdek", "aktif", "iç kısım", "dolgu" ve ya "öz" olarak, kapsülleyici madde ise "kaplama", "kabuk", "zar", "taşıyıcı", "duvar", "enkapsülant", "dış faz" ve ya "matris" olarak adlandırılır (Nedovic *et al.* 2011, Wang *et al.* 2011).



Şekil 2.6 Enkapsülasyon Mekanizması (Atalay 2019a)

Enkapsülasyon uygulamasının başta gıda olmak üzere, kimya, tarım, ziraat, tıp, biyoteknoloji, veterinerlik, eczacılık, enerji ve savunma gibi birçok alanlarda kullanılmaktadır (Varhan ve Koç 2018, Narang *et al.* 2007, Nedovic *et al.* 2011, Çoruhli 2013).

2.6.1 Enkapsülasyon özellikleri

Enkapsülasyon teknolojisi birçok nedenden dolayı önem kazanmıştır, bunlar da bu uygulamaların temel amaçlarını oluşturmaktadır:

- Aktif bileşenin ışık, oksijen, su gibi olumsuz çevre koşullarına karşı stabilitesini arttırması (materyali deaktivasyon ve oksidasyona karşı korumak),

- Uyumsuz bileşikleri ayırması,
- Aktif bileşenin dış çevreye karşı evaporasyonunu azaltması,
- Sıvı maddenin katı hale getirilmesi,
- Materyalin kullanabilirliğini kolaylaştırması (topaklanmasını engellemesi vd),
- Aktif bileşenin kokusunun ve tadının maskelenmesi,
- Materyalin gerekli koşullarda kontrollü olarak hedeflendiği şekilde ortama salınımının sağlanması
- Materyalin uçuculuğunun önlenmesi,
- Aktif bileşiklerin diğer bileşiklerle reaksiyona girmesinin önlenmesi,
- Materyelin daha kolay depolanması ve taşınması
- Girdiği ortamda homojen dağılımın sağlanması,
- Çevrenin mevcut koşullarının korunması (Ünal ve Erginkaya 2010, Sagis 2015)

Aktif bileşiklerin enkapsülasyonunda çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikleri üç başlık altında toplaya biliriz:

- Fiziksel teknikler
  - Akışkan yataklı kaplama
  - Dondurarak kurutma
  - Ortak kristalleştirme
  - Ekstrüzyon
  - Püskürtmeli kurutma
  - Püskürtmeli soğutma
- Kimyasal teknikler
  - Moleküler inklüzyon
  - Arayüz polimerizasyonu
- Fizikokimyasal teknikler
  - Lipozom içine hapsetme
  - Basit veya karmaşık Koaservasyon (Gharsallaoui *et al.* 2007)

2.6.2 Enkapsülasyon çeşitleri ve uygun metod seçimi

Enkapsülasyon nano (10-1000 nm), mikro (0,1-5,000 µm) ve makroenkapsülasyon (5,000 µm) olarak sınıflandırılmıştır. Mikro ve makroenkapsülasyon genelde gıdaların raf ömrünü arttırmak, olgunlaşma süresini kısaltmak, besin değerini yükseltmek amaçlarıyla, farklı yağ ve karbonhidrat ile kaplanmasında uygulanmaktadır. Nanoenkapsülasyon ise biyoteknoloji, tıp ve eczacılık alanlarında, organ-doku hedefli ilaç tasarımı, kontrollü salım sistemleri ve benzer çalışmalarda kullanılmaktadır (Fidan 2014, Gökmen vd. 2012, Danhier *et al.* 2012).

Enkapsülasyonda uygun metod seçimi zamanı hangi yararın elde edilmesi istendiği tam olarak belirlenmelidir. Enkapsülasyon uygulama metodu seçildiğinde arzu edilen özelliklerin kazanılması için önce bu soruların cevaplandırılması gerekmektedir:

- Maliyet kıstasları nelerdir
- Hangi parçacık yoğunluğu ve boyutubda gıda ürünlerinin içinde bulunacaklar
- Kullanımdan önce enkapsüle madde içeren gıda ürünlerinin depolama şartları ne olacaktır
- Enkapsüle edilecek bileşik kullanımdan önce ne kadar saklanacaktır
- Gıda işlenmesi ve üretimi sırasında hangi işlem koşulları kullanılmaktadır
- Aktif bileşenin fizikokimyasal özellikleri nelerdir

Bu sorular cevaplandırıldıktan sonra analiz yapılmalı ve

- Kaplama metodu seçimi
- Kaplama maddesi seçimi
- Yasal düzenlemelere uygunluk

dikkate alınmalıdır (Gökmen vd. 2012, Zuidam and Shimoni 2010).

2.6.3 Enkapsüle edilen aktif bileşikler

Bir çok aktif madde enkapsüle edilerek korunabilmektedir. Bunlardan en çok kullanılan aktif bileşikler bunlardır:

- Prebiyotikler ve probiyotikler
- Vitaminler ve minareller
- Aromalar, koruyucular, tatlandırıcılar, renklendiriciler
- Proteinler ve enzimler
- Esansiyel yağlar
- Organik asitler
- Antioksidanlar (flavonoidler, tokoferol, polifenoller)
- Karotenoidler (likopen, β-karoten)
- Yağ asitler (konjuge linoleik asit, ω-3) (Nedovic *et al.* 2011, Narang *et al.* 2007, Danhier *et al.* 2012).

2.6.4 Kaplama materyalleri

Enkapsülasyon zamanı en uygun, en doğru kaplama materyalinin seçimi çok önemlidir. Kaplama materyalleri temel olarak film oluşturabilen proteinler, şekerler, modifiye ve doğal polisakkaritler, yağlar, sentetik polimerler ve gamlardır (Şekil 2.7) (Uyan Ersus 2004).

Mikrokapsüllerin fonksiyonel özelliklerini belirleyen esas faktör taşıyıcı sistemin, yani kaplama materyalinin yapısıdır. Etkili bir taşıyıcı sistem enkapsülasyon zamanı manipülyasyonu kolaylaştırmalı ve yüksek konsantrasyonlarda iyi reolojik özelliklere sahip olmalıdır (Gökmen vd. 2012, Ubbink and Krüger 2006, Çoruhli 2013, McClements 2009).



Şekil 2.7 Enkapsüle edici kabuk materyal grupları (Atalay 2019b)

Kaplama maddesinin ideal olması için bu özelliklere sahip olması gereklidir:

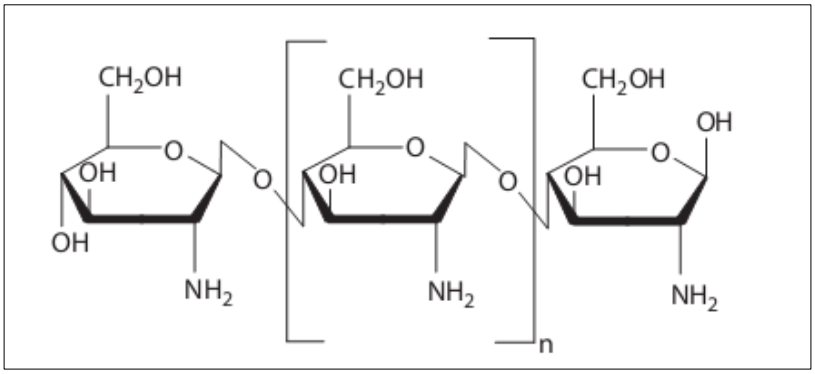
- Enkapsüle edilen aktif bileşenin biyoyararlılığına ters etki göstermemelidir
- İnert olmalı, aktif bileşeni korumalıdır
- Enkapsülasyonda çözücü uzaklaştırma işlemleri zamanı akışkanlık-çözücü uzaklaştırma özelliğine sahip olmalı, çözücünün ayrılmasına olanak sağlamaldır
- Aktif bileşenin salınımını kontrol edebilmeli ve istenilen kapsül çözünebilirliğine sahip olmalıdır
- Aktif bileşenle enkapsülasyon zamanı veya depolama sürecinde reaksiyona girmemeli, stabil emülsiyon veya dispersiyon oluşturmalı ve onu parçalamamalıdır
- İstenilen miktardaki aktif bileşeni enkapsüle edebilmelidir
- Enkapsüle edilen materyali tutabilmelidir
- Kaplanan maddenin tadında, görünüşünde, raf ömründe ve reolojisinde olumsuz etkiye neden olmamalı, onu çevreleyen içecek veya gıda matriksi ile uyumlu olmalıdır
- Kaplama maddesi yüksek konsantrasyonlarda iyi akışkanlık özelliğine sahip olmalıdır
- Isı, ışık, nem gibi çevresel etkilere karşı dirençli olmalı ve aktif bileşeni üretim, taşıma, işleme ve depolama boyunca karşılaşacağı bu çevresel koşullardan korumalıdır

- Düşük maliyetli olmalı ve güvenli olarak kabul edilen ingrediyenler ile hazırlanmalıdır
- Su, etanol ve saire gibi gıda endüstrisi tarafından kabul edilebilir çözücülerde çözünebilmelidir
- Aktif bileşeni kimyasal bozulmalardan korumalı ve aktif halde kalbilmesini sağlamalıdır
- Geri dönüşümsüz kimyasal reaksiyonlara neden olmamalıdır (Gökmen vd. 2012, Ubbink and Krüger 2006, Çoruhli 2013, McClements 2009).

2.6.5 Kitosan ve aljinat

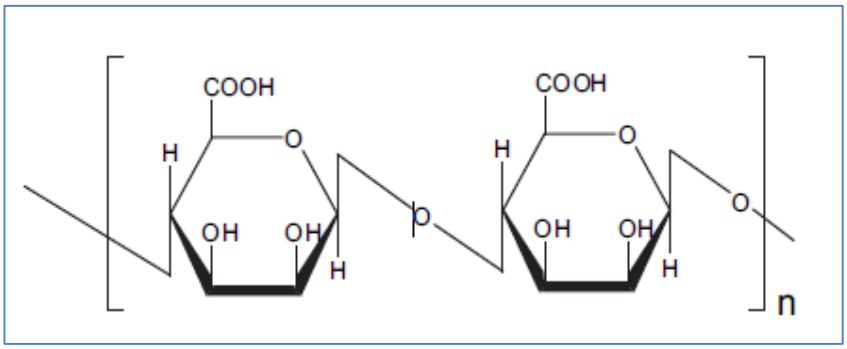
Kitosan aljinatla birlikte biyobozunurluk, biyouyumluluk ve düşük toksisite (toksik olmaması) gibi özellikleri olduğundan ilaç taşıyıcı sistemlerde ve gıda uygulamalarında kullanılan en iyi kaplama materyallerindendir (Abreu *et al.* 2008, Lee *et al.* 2012). Kitosan doğal polisakkarit olup belirli fungilerin hücre duvarında, böceklerin kütiküllerinde ve kabuklu deniz canlılarının kabuğunda bolca bulunan kitinin deasetilasyonu ile elde edilmektedir (Lee *et al.* 2012).

N-asetil-D-glikozamin ve D-glikozamin birimleri kitosan molekülünü oluşturmaktadır (Şekil 2.8) (Özdemir 2015, Lee *et al.* 2012). Bu birimlerin oranları kitosanın biyolojik rolünün, özelliklerinin ve biyobozunurluğunun belirlenmesinde kullanılır. Kitosan yüksek pH'larda stabilken asidik pH'larda çözünebilir. Bu yüzden kitosan organik çözücülerde ya da suda çözünemez (George and Abraham 2006, Kjm *et al.* 2006).



Şekil 2.8 Kitosanın kimyasal yapısı (Lee *et al.* 2012)

Enkapsülasyon zamanı en çok kullanılan polisakkaritlerden biri de aljinatdır (Şekil 2.9). *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborean* ve *Ascophyllum nodosum* gibi kahverengi yosunlardan elde edilen, toksik olmayan, ucuz, gıdalarda kullanılabilir, doğada bol miktarda bulunan, biyolojik açıdan uyumlu olduğu belirtilmiştir. Aljinatlar çoğunlukla Na^{+}, Sr^{2+}, Mg^{2+} ve Ba^{2+} katyonlarının tuzları şeklinde bulunmaktadır (George and Abraham 2006, Shi *et al.* 2013, Arriola *et al.* 2016, Maresca *et al.* 2016).



Şekil 2.9 Aljinatın kimyasal yapısı (Gazori *et al.* 2009)

2.7 Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Robert *et al.* (2010) yaptıkları bir çalışmada nar suyunun biyoaktif bileşenlerini maltodekstrin ve soya protein izolatı kullanarak sprey kurutma yöntemiyle kapsüllemişlerdir. Kapsüllerin stabilitesini farkli sıcaklıklarda 56 gün boyunca

incelemişler ve maltodekstrinin antosiyaninler üzerine daha yüksek koruyucu etki sağladığını bulmuşlardır.

Oidtmann ve diğerleri (2012) yaptıkları çalışmada antosiyanin bakımından zengin yaban mersini özünü kapsül çekirdek özü olarak kulanmışlar ve kapsüllemenin antosiyanin stabilitesi üzerindeki potansiyel faydaları araştırmışlardır. Kapsüllenmemiş ve farklı oranlarda kapsüllenmiş ekstraktlar simüle edilmiş mide sıvısında ve bağırsak sıvısında inkübe edilerek antosiyanin miktarları belirlenmiştir. Elde etikleri sonuçlar, kapsüllemenin antosiyaninlerin erken bozunmasını önlediğini göstermiştir.

Mansour ve arkadaşları (2020) ahududu antosiyanin ekstraktını soya proteini izolatı ve arap zamkı kullanarak dondurarak kurutma yöntemiyle kapsüllemişlerdir. Elde edilen kapsüller, 80-114°C sıcaklık aralığında antosiyaninlerin termal kararlılığını artırmış ve ayrıca, 60 gün boyunca 37°C'de saklama sırasında antosiyanin tutma kapasitesinin soya proteini izolatı ve arap zamkı kombinasyonunun simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında en iyi salım davranışı sergilediğini bulmuşlardır.

Zhao ve diğerleri (2017) antosiyanin yüklü lipozomları geliştirdikleri bir süper kritik karbon dioksit yöntemiyle hazırladılar. Antosiyanin ve kolesterol konsantrasyonlarının etkilerini, partikül boy dağılımı, kapsülleme verimliliği, biyoaktif yükleme kapasitesi, morfoloji, zeta potansiyeli, antosiyanin-fosfolipid etkileşimi ve in vitro salım profilleri açısından incelenmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, lipozomlardan antosiyanin salımı, simüle edilmiş mide sıvısında yavaş (%35,9), ancak simüle edilmiş bağırsak sıvısında, veziküllerin pankreatin tarafından bozunması nedeniyle hızlıydı. Antosiyanin yüklü lipozomların, fonksiyonel gıda ve nutrasötik uygulamalar için büyük potansiyel olabileceğini söylemişlerdir.

Mehran ve arkadaşları (2020) yaptıkları bir çalışmada İran hodan özütünün antosiyaninlerinini maltodekstrin/modifiye mısır nişastasının farklı kombinasyonları ile kapsüllemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar, kapsüllemenin, ham özüt ile karşılaştırıldığında antosiyaninlerin stabilitesini %43,8 geliştirdiğini bulmuşlardır. Sonuçlar, püskürterek kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonun, gıda ve ilaç

endüstrisinde yararlı olabilecek hodan özütünün stabilitesini, antioksidan ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirebileceğini göstermiştir.

Zhang ve diğerleri (2020) emülsifikasyon/iç jelleşme yöntemini kullanarak üzüm kabuğunun antosiyanin ekstraktını mikrokapsüllemişlerdir. Mikroenkapsülasyonun antosiyaninlerin, özellikle püskürterek kurutulmuş mikrokapsüllerin ışık ve termal stabilitelerini büyük ölçüde arttırdığı, ayrıca karanlıkta bekletince en düşük bozunma sabitini (0,0207 $saat^{-1}$) ve en uzun yarı ömrü (33,47 saat) gösterdiğini bulmuşlardır. Püskürterek kurutma tekniğinin mikrokapsüllerde antosiyaninlerin tutulmasını desteklediğini ve simüle edilmiş gastrointestinal sindirimde antosiyaninlerin uzun süreli salınımını iyileştirdiğini söylemişlerdir. Bu sonuçlar, kurutma ile birlikte emülsifikasyon/iç jelleşme kullanılarak mikrokapsülasyonun, antosiyaninlerin stabilizasyonunu arttırmak için uygun bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Kanha ve arkadaşları (2020) çalışmalarında farklı hidrofilik emülgatörler: jelatin, akasya zamkı, kitosan ve karboksimetil selüloz ile çift emülsiyon ve kompleks koaservasyon yöntemini kullanarak antosiyanin açısından zengin siyah pirinç özütünü ve kopigmente antosiyaninleri dondurularak kurutma yöntemiyle kapsüllemişlerdir. Depolama sırasında, siyah pirinç özütünü ve kopigmente antosiyaninlerin kitosan-karboksimetil selüloz ile kaplandığında en iyi antosiyanin stabilitesine, en düşük reaksiyon hızı sabitine ve yarı ömre (150 gün), yüksek termal direnç sıcaklığı (78,1℃) ve ayrıca en düşük aktivasyon enerjisine (23,7 kJ/mol)sahip olduğunu bulmuşlardır. Termodinamik özelliklere göre, kopigmentasyon, daha düşük negatif entropiye (ΔS) ve entalpiye (ΔH) katkıda bulunmuştur ve Gibb'in serbest enerjisi (ΔG), mikrokapsüllenmiş antosiyanin bozunma reaksiyonunun endotermik ve kendiliğinden olduğunu göstermiştir.

Santos ve diğerleri (2013) çalışmada jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) kabuklarından elde edilen antosiyanin ekstraktının solvent olarak süperkritik CO2 ve yardımcı solvent olarak etanol kullanılarak Polietilen glikol içinde kapsüllenmişlerdir. Karşılaştırma için Ca-aljinat kapsüller içinde tutularak kapsüllenmiş partiküller üretmek için geleneksel bir yöntem olan iyonik jelasyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktın Ca-aljinat kapsüllerdeki

enkapsülasyon verimliliği, Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) işlemiyle elde edilenlerden (%79,78) daha yüksek bulunmuştur (%98,67). Bozunma çalışmaları, her iki kapsüllenmiş sistemin de ışık ve sıcaklığa karşı serbest özütten daha kararlı olduğunu göstermiştir. Her iki sistem de farklı özellikler sunsa da antosiyaninin stabilitesini arttırmıştır.

Zaidel ve arkadaşları (2014) yaptıkları çalışmada, roselle ve kırmızı lahanadan elde edilen kapsüllenmiş veya kapsüllenmemiş antosiyaninleri yağ içinde su emülsiyonuna eklemişler ve margarinin depolama ve stabilite özellikleri üzerine araştırma yapmışlardır. Antosiyaninlerin enkapsülasyonu, antosiyaninlerin margarin içindeki dağılımını ve stabilitesini incelemek için mikrodalga destekli teknik kullanılarak yapılmıştır. Enkapsüle edilmiş antosiyanin içeren margarinin, enkapsüle edilmemiş antosiyanin ile karşılaştırıldığında oldukça gelişmiş stabilite gösterdiğini bulmuşlardır.

Xiong ve diğerleri (2006) siyah frenk üzümü antosiyaninlerinin beta glukan jel ile farklı yöntemlerle kapsüllenmesi üzerine çalışmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar kapsüllenmiş siyah frenk üzümü antosiyaninlerinin dondurularak kurutulması, kızılötesi kurutmaya göre ayrı ayrı antosiyaninlerin %20 daha yüksek geri kazanım sağladığını bulmuşlardır.

Cavalcanti ve arkadaşları (2011) bu çalışmada böğürtlenden elde edilen antosiyaninleri üç polisakarit (curdlan, pektin ve sodyum aljinat) kullanarak jelasyon yoluyla enkapsüle etmişlerdir. Curdlan, düşük pH değeri altında sert jel oluşturabilen tek sakız olduğu için seçilmiştir. Kapsüller küresel şekilli ve çok çekirdekli oluşum göstermişler ve kapsülleme verimliliği %80,3 ila %96,7 arasında değişmiştir. Salım eğrileri 1ci derece kinetiğini 20 dakika sonra pH 1'de çözelti içinde antosiyaninlerin %80 ila %100'ünü salarak göstermiştir.

Santiago ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada ham nar suyunun püskürtülerek kurutulmasıyla üretilen mikrokapsüllerde farklı kapsülleyici ajanların (arap zamkı, modifiye nişasta Capsul™ ve maltodekstrin DE 5) antosiyanin stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılabilecek bir ürün elde etmek için yüksek konsantrasyonda antosiyanin kullanmışlardır. Nar tozu, lamine

ambalajlarda 25°C'de 3 ay saklanmış ve antosiyaninlerin yaklaşık %90'ının korunduğu belirlenmiştir. Bu ürünü gıda sektörü için doğal bir renklendirici olarak değerlendirmek için mikrokapsüllerdeki antosiyaninlerde renk analizi yapılmıştır. Sonuçlar, kırmızı ağırlıklı bir renk tonu elde edildiğini göstermiştir.

Idham ve arkadaşları (2011) roselle enkapsülasyonu için dört farklı matris, yani maltodekstrin, arap zamkı, maltodekstrin ve arap zamkı kombinasyonu ve çözünür nişasta kullanmışlar. Kapsülleme verimlilikleri belirlemiş ve depolama analizi verileriyle karşılaştırmışlar. Kapsüllenmiş pigmentlerin stabilitesini 105 güne kadar üç farklı depolama sıcaklığında (4, 25 ve 37°C) incelemişler. Elde ettikleri sonuçlara göre dört tip matris, özellikle 37°Cde ($P < 0,05$) depolama sırasında pigmentlerin yarı ömrünü, kapsüllenmemiş roselle özü ile karşılaştırıldığında büyük ölçüde arttırmıştır.

Nayak ve Rastogi (2010) yaptıkları çalışmada *Garcinia indica choisy*'de bulunan antosiyanin pigmentini enkapsüle etmişlerdir. Pigmentin stabilitesini arttırmak için farklı dekstroz eşdeğerinde maltodekstrinler duvar materyali, akasya sakızı ve trikalsiyum fosfat ise katkı maddeleri olarak kullanılmıştır. Püskürterek kurutma yöntemile enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Çalışmada enkapsülasyonun antosiyaninin stabilitesini koruduğunu bulmuşlardır.

Norkaew ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada Seçilmiş bir Tay siyah pirinç çeşidi olan *Leum Pua*'nın kepeğinden elde ettikleri antosiyanin özütünü sprey kurutma ile kapsüllemişler. Bu mikrokapsülleme yönteminde, maltodekstrin, arap zamkı, peynir altı suyu proteini izolatı ve bunların kombinasyonlarından oluşan on iki duvar malzemesi kullanılmıştır. Karşılaştırma için, duvar malzemesi olarak aljinat-peynir altı suyu proteini izolatı kullanılarak bir iyonik jelleşme yöntemi kullanmışlar. On üç mikrokapsül taramalı elektron mikroskobu ile analiz edilmiş ve elde ettikleri sonuçlara göre kapsülleme verimleri, peynir altı suyu proteini izolatı (%83) hariç, neredeyse %100 olmuş. Maltodekstrin (%88) ve onun peynir altı suyu proteini izolatı ile kombinasyonu en iyi antosiyanin stabilitesini sergilerken, saf peynir altı suyu proteini izolatı en yüksek miktarda toplam fenolik bileşik ve antioksidan aktivite içerdiğini bulmuşlar.

Moura ve arkadaşları (2019) Hibiskus özü antosiyaninin iyonik jelasyon yöntemile enkapsüle etmişlerdir. İyonik jelasyon yönteminde iki teknik kullanmışlardır, damlatma-ekstrüzyon ve atomizasyon teknikleri. Her iki teknikde çift emülsiyon çapraz bağlanmıştır. Elde edilen partiküller farklı sıcaklık ve sürelerde depolanmıştır. Antosiyanin stabilitesi açısından hem damlatma-ekstrüzyon hem de atomizasyon yönteminin uygulanabilir teknikler olduğunu bulmuşlardır.

He ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada antosiyanin yüklü kitosan nanoparçacıkları oluşturmak için deneysel parametreleri Box-Behnken tasarımını kullanarak yanıt yüzeyi metodolojisi ile optimize etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre 214,83 nm partikül boyutu ve %61,80 kapsülleme verimliliği olmuştur. Serbest antosiyanin çözeltisi ile karşılaştırıldığında, antosiyanin yüklü kitosan nanoparçacıkları, simüle edilmiş gastrointestinal sıvıda yavaş bir bozulma göstermiştir. Bir model içecek sistemindeki serbest antosiyanin çözeltileri ile karşılaştırıldığında, antosiyanin yüklü kitosan nanoparçacıklarında antosiyaninlerin stabilitesinin arttığı tespit edilmiştir.

Tao ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada dondurarak kurutma yöntemini kullanarak yaban mersini antosiyanini ekstraktlarının kapsüllenmesi için maltodekstrin, β-siklodekstrin, peynir altı suyu proteini izolatı ve Arap zamkını duvar malzemeleri olarak bir araya getirdiler. Elde edilen antosiyanin tozlarının özelliklerini farklı açılardan analiz etmişler. Farklı formülasyonlar kullanılarak kapsüllenmiş tozlar arasında yığın yoğunluğu, parçacık boyutu ve cam geçiş sıcaklığında bazı farklılıklar olmasına rağmen, tüm numuneler benzer nem içeriği, su aktivitesi, renk özelliği ve saydamlık sergilemiştir. Daha da önemlisi, elde edilen optimum formülasyonları kullanarak yaptıkları kapsüllemenin yaban mersini antosiyaninlerini ısıtma sırasında bozulmaya karşı korumada etkili olduğunu bulmuşlardır.

Yapılan bir çalışmada Mahdavi ve diğerleri (2016) Berberis vulgaris özütünden aldıkları antosiyanini, üç farklı duvar materyali yani arap zamkı-maltodekstrin, maltodekstrin, jelatin-maltodekstrin kombinasyonlarını kullanarak sprey kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Kapsüllenmiş pigmentlerin depolama stabilitesi farklı depolama sıcaklıklarında 90 güne kadar ışık aydınlatması altında incelenmiştir. Elde edilen

sonuçlar tüm duvar malzemelerinin, kapsüllenmemiş antosiyaninlerle karşılaştırıldığında, depolama sırasında kapsüllenmiş pigmentlerin yarı ömrünü büyük ölçüde arttırdığını göstermiştir. Arap zamkı ve maltodekstrin kombinasyonu en yüksek kapsülleme verimini, tüm sıcaklıklarda daha düşük bozunma oranını göstermiş ve pigmentleri stabilize etmede en etkili duvar malzemesi olarak bulunmuştur.

Bir çalışmada Mueller ve arkadaşları (2018) antosiyanin kaynağı olan yaban mersini özütünü peynir altı suyu proteini ve narenciye pektini ile enkapsüle etmiş, insanlarda antosiyaninlerin biyoyararlanımını ve bağırsak erişilebilirliğini nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar peynir altı suyu proteini kapsüllemesinin kısa vadeli biyoyararlanımı modüle ettiğini ve narenciye pektin kapsüllemesinin ince bağırsaktan geçiş sırasında bağırsak erişilebilirliğini arttırdığını ve insan plazmasında bozunma ürünü floroglusinol aldehit oluşumunu modüle ettiğini göstermiştir.

Cai ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmanın amacı yaban mersini antosiyaninlerinin beş oranlı karboksimetil nişasta/ksantan zamkı kombinasyonları ile kapsüllenerek stabilitesini arttırmaktı. Elde ettikleri sonuçlar, tüm mikrokapsüllerin yüksek kapsülleme verimliliği sunduğunu ortaya koydu. Yaptıkları termogravimetrik analiz, duvar malzemeleri olarak çalışan karboksimetil nişasta/ksantan zamkı kombinasyonlarının antosiyaninlerin termal kararlılığını arttırdığını göstermiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre 30/1 karboksimetil nişasta/ksantan zamkı oranı ile oluşturulan mikrokapsüller, üstün antioksidan stabilitesi sağlamışlardır. Ayrıca sonuçlar 30 günlük depolamadan (37°C) sonra antosiyaninlerin kararlılığının yükseldiğini ortaya koymuştur.

Yapılan bir çalışmada Souza ve arkadaşları (2017) jaboticaba posasından elde ettikleri antosiyaninleri maltodekstrin, pektin ve soya proteini izolatı kullanarak dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişler. Kapsüllenmiş antosiyaninleri UV ışığı altında 90 gün sonra incelemiş ve elde ettikleri sonuçlara göre taşıyıcıların toplam fenolik, monomerik antosiyanin ve antioksidan aktiviteyi koruma oranlarının sırasıyla %90, %76 ve %73'ten daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Bir çalışmada Khazaei ve diğerleri (2014) Arap zamkı ve maltodekstrin içeren çeşitli matrislerle kapsüllenmiş dondurularak kurutulmuş safran yaprağı ekstraktının antosiyanin stabilitesi ve rengini incelemişlerdir. Tozların toplam antosiyaninleri ve renk parametreleri sırasıyla üretimden hemen sonra ve 10 haftaya kadar depolama sırasında pH diferansiyel yöntemi ve bilgisayarlı görüntüleme ile ölçmüşlerdir. Kullanılan farklı duvar malzemelerinin depolama sonrasında kapsüllerin antosiyanin içeriğinde önemli bir değişime sebep olmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, dondurarak kurutma ile mikroenkapsülasyonun, safran yaprağı ekstraktının antosiyaninlerini stabilize etmek için uygun bir yöntem olduğunu bulmuşlardır.

Shaddel ve arkadaşları (2018) yaptıkları çalışmada suda çözünür bileşikler olan antosiyaninlerin kararsızlığını azaltmak için jelatin ve Arap zamkı kullanarak karmaşık koaservasyondan önce çift emülsiyon tekniğiyle siyah ahududu suyu ekstraktlarını mikrokapsüllediler. Elde ettikleri sonuçlara göre, seçilen yöntem, 37 ± 2°C'de 2 aylık depolamadan sonra antosiyaninlerin stabilitesini %23,66'ya kadar önemli ölçüde artırdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca DSC (*dif.scann.calor*) sonuçlarına göre mikrokapsüllerin yüksek termostabilite gösterdiği bulunmuştur.

Yamashita ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada böğürtlen antosiyanini dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Taşıyıcı matrisler olarak 10 ve 20 dekstroz eşdeğeri (DE) olan maltodekstrinler kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre 10DE maltodekstrinin antosiyanin tutulması, higroskopiklik, nem içeriği, asitlik, su aktivitesi ve renk indeksleri özellikleri açısından 20DE maltodekstrinden daha iyi olduğu sonuçlarını elde etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Sunulan tez çalışmasında bitkisel deney materyali yani hammadde kaynağı olarak mevsiminde yerel piyasadan temin edilen kara havuç kullanılmıştır. Tezde kullanılan tüm kimyasallar, çözücüler ve reaktifler ise analitik saflıkta kullanılmış; Merck, Across, Sigma ve Carlo Erba firmalarından satın alınmıştır. Kullanılan hammadde kaynağına ait görseller Şekil 3.1'de yer almaktadır.

3.2 Metot

Yapılan tez çalışması 3 aşamadan oluşmaktadır:

- Birinci aşamada hammadde kaynağından antosiyanin ekstraktı elde edilmiştir.
- İkinci aşamada elde edilen bu antosiyanin ekstraktı; iyonik jelleşme yöntemiyle sodyum aljinat, kitosan ve her ikisi de birlikte kullanılarak enkapsüle edilmiştir.
- Üçüncü aşamada ise üretilen bu etken madde yüklü kapsüllerin karakterizasyon ve analizleri yapılmıştır.

3.2.1 Kara havuçtan fenolik bileşen ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işlemi Grigoras ve arkadaşlarının (2013) uyguladığı yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Örneklerin dondurularak kurutulmasında liyofilizatör (Labconco Freezone 2.5, Amerika) kullanılmıştır. Belirli boyutlarda dilimlenen örnekler kurutma haznelerine yerleştirilerek -52ºC'de vakum altında kurutulmuştur. Liyofilize edilen ve parçalanarak belli bir boyuta getirilen toz halindeki kara havuçlar 200 ml %80'lik metanol ile karıştırıldıktan sonra 15 dakika süreyle ultrasonik banyoda bekletilmiş daha sonra da manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ekstraksiyonu sağlanmıştır. 5000 rpm'de 15 dakika santrifujlenerek süpernatant ayrılmıştır. Bu işlem aynı numune için methanol

kullanılarak 2 kere daha gerçekleştirildi. Rotary evaporatör (Heidolph, Almanya) ile içerisindeki metanol uzaklaştırılarak analizler için hazır ekstrakt elde edilmiştir.



Şekil 3.1 Ekstrakt hazırlama aşamaları

3.2.2 İnvers jelleşme yöntemi ile aljinat kitosan membranlı antosiyanin çekirdekli mikrokapsül üretimi

Yapılan tez çalışmasının bu aşamasında elde edilen kara havuç ekstraktı sodyum aljinat ve kitosan kaplı tanecikler halinde "damlatma (invers jelasyon) yöntemi" kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Kalsiyum varlığında aljinat çözeltisi ile mikroküreler elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup mikro ve makro boyut aralığında partiküller elde edilmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Kalsiyum iyonları varlığında sodyum aljinatta çapraz bağ oluşması artar, aljinat-kalsiyumun pıhtılaşmasını ve bu kompleksin kapsül oluşturmasını sağlar. İyonik jelleşme ile kitosan ve tripolifosfat molekülleri arasında ise elektrostatik bir etkileşim oluşması sonucu, kitosan partikülleri de kendiliğinden oluşmaktadır. Bu amaçla, laboratuvarımızda daha önce yapılmış olan çalışmalara ve literatür araştırmalarına dayanarak optimum enkapsülasyon deney koşullarının belirlenebilmesi için çeşitli değişkenler denenerek koşullar belirenmiştir. Enkapsülasyon işleminde karşımıza çıkan en önemli faktörler, kapsüllenmek istenen aktif bileşenin ne kadarının kapsül içinde hapsedilebildiği, kapsüllerin çapları, boy dağılımları ve ürünlerdeki stabiliteleridir.

Kara havuç ekstraktının aljinat ve/veya kitosan kaplama materyalleriyle mikroenkapsülasyonunda invers jelasyon metodu kullanılmıştır. Bu amaçla 200'er mL hacimde ayrı ayrı % 2'lik (ağırlık/hacim) aljinat, %2'lik (a/h) kitosan, %1 kitosan-%1 aljinat (a/h) polimer çözeltileri hazırlanmıştır.

Aljinat çözeltisinin hazırlanması

Belirlenen derişimde %2'lik (ağırlık/hacim) sodyum aljinat çözeltisi hazırlamak için gerekli miktardaki toz sodyum aljinat distile suda 500 rpm'de 3 saat karıştırılarak çözülmüştür. Ardından aljinat tamamen çözündükten sonra içerisindeki gaz kabarcıklarının ortamdan uzaklaştırılması için yaklaşık 1 saat su banyosunda düşük hızda karıştırılarak çözünmüş ve kullanılmadan önce buzdolabı koşullarında 12 saat dinlendirilmiştir.

Kitosan çözeltisinin hazırlanması

%2'lik (a/h) kitosan çözeltisi 1 g/L'lik glasyel asetik asit çözeltisinde (pH=3,25) hazırlanmıştır. İstenilen derişimde kitosan çözeltisi hazırlamak için tartılan kitosan tozu çözeltiye eklenip 500 rpm'de karıştırılmıştır. Kitosan tamamen ıslandıktan sonra karıştırma hızı 100-150 rpm seviyesine düşürülmüş ve 24 saat daha karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti kullanılmadan önce 4°C'de sıcaklıkta 12 saat dinlendirilmiştir.

Kalsiyum klorür çözeltisinin hazırlanması

Aljinat kapsüllerin hazırlanmasında çapraz bağlayıcı olarak %2 oranında kalsiyum klorür çözeltisi kullanılmıştır ve yapılan çalışmalarda çapraz bağlayıcı (kalsiyum klorür) konsantrasyonu değiştirilmemiştir.

Sodyum tripolifosfat çözeltisinin hazırlanması

Kitosan kapsüllerin hazırlanmasında çapraz bağlayıcı olarak %2 oranında sodyum tripolifosfat çözeltisi kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda bu çözeltinin konsantrasyonu değiştirilmemiştir.

Jelleşme ortamının hazırlanması

Hazırlanan %2'lik kitosan, %2'lik aljinat, %1'lik kitosan-%1'lik aljinat çözeltilerinin herbirine aktif madde olarak belirlenen konsantrasyonda (%0,5'lik) kara havuç ekstraktı ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırılarak homojenize edilmiştir (Şekil 3.2). Jelleşme çözeltisini hazırlamak için çözelti ultra turrax karıştırıcı yardımı ile 12000 rpm'de yaklaşık 2 dakika karıştırılmıştır. Stabil emülsiyon oluşumu gözlendikten sonra hazırlanan çözelti enkapsülasyon işleminde kullanılmıştır.

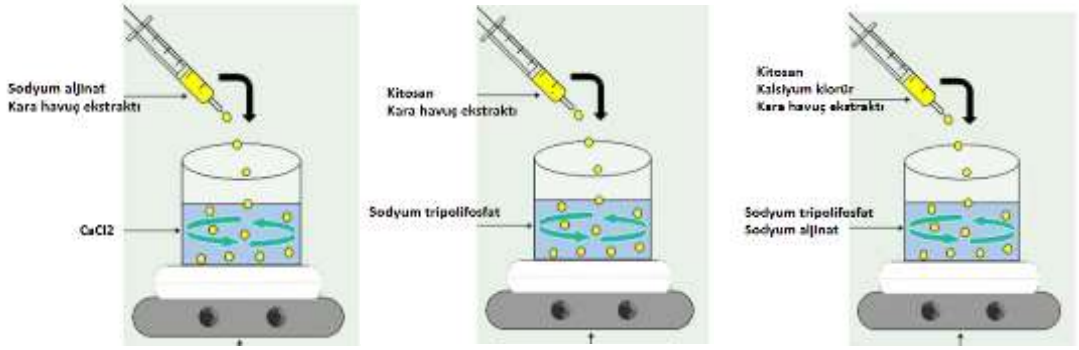
Kara havuç ekstraktının invers jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat ve kitosan ile enkapsülasyonu

Hazırlanan jelleşme çözeltilerinden 5 mL'lik enjektör yardımı ile belirlenen miktarlarda %2'lik (a/h) damlatma çözeltileri içerisine damlatılmıştır (Şekil 3.3). Her 5 mL'lik damlatma işleminden sonra oluşan kapsüller, jel yapının dağılmadan korunması amacıyla damlatma çözeltisinde yaklaşık 1-2 dakika bekletilmiştir. Daha fazla bekletildiği durumda kapsüllerde aktif madde sızıntısı ve renk kaybı olduğu

gözlenmiştir. Çözeltilerden çıkarılan kapsüller süzülerek oda sıcaklığında kurutulmuştur. Enkapsülasyon işlemleri 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2 Hazırlanan Reaksiyon Çözeltileri



Şekil 3.3 Enkapsülasyon deney düzenekleri

3.3 Kara Havuç Ekstraktı Yüklenmiş Kapsüllerin Karakterizasyonu

3.3.1 Enkapsülasyon verimi

Tez çalışmasında enkapsüllerin verim değerleri gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Kapsül oluşturulmadan önceki çözelti ağırlığı ile kapsül oluşumundan sonraki kapsül ağırlıkların farkı enkapsülasyon verimi olarak belirlenmiştir.

3.3.2 Fourier transform infrared spektrometresi ile karakterizasyon

IR spektroskopisi örneklerin kimyasal yapılarının karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. IR spektroskopisi, temel olarak sentezlenen polimer yapıdaki fonksiyonel grupların tanımlanarak genel kimyasal yapısı hakkında yorum yapılabilmesini sağlamaktadır. IR spektroskopisinin özel bir uygulaması olan "Fourier Transform İnfrared Spektrometresi" (FTIR, Bruker, Tensor II) kullanılmıştır. IR spektroskopinin bir alt dalı olup elektromanyetik ışımanın infrared bölgesini kullanır. İnfrared bölgesi, spektrumun 13000 – 33 cm^{-1} dalga sayısı kısmını kapsar (Yıldız vd. 1997).

Sunulan projede aljinat kaplı, kitosan kaplı ve aljinat-kitosan kaplı kapsüllerin FTIR spektrumları ATR ile alınmıştır. Elde edilen spektrumlar karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve kimyasal yapılar yorumlanmıştır. Aljinat ve kitosanın kaplama maddesi yapısına girip girmediği test edilmiştir.

3.3.3 Kapsüllerin ışık mikroskobu ile optik olarak incelenmesi

Mikroenkapsüllerin morfolojik yapısı NIKON DS-Fi2 ışık mikroskobu vasıtasıyla 10 kat büyütme ile görüntülenmiştir (Betz and Kulozik 2011).

3.3.4 Kapsüllerde ekstraksiyon işlemi

Homojen bir şekilde 1 ± 0,001 g tartılan her bir kapsül örneği 25mL MeOH-HOAc-H_2O (50:8:42, metanol-asetikasit-su) çözeltisi ilave edilerek homojenizatör (IKA T18 Basic Ultra- Turrax) ile 10000 rpm'de 1 dakika karıştırılmıştır (Ersus ve Yurdagel 2007). Ve örnekler +4°C'de, 5000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. İşlem sonunda üst faz yeni bir falcona alınmış kalan süzüntüye tekrar 25mL çözelti ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar analizleri gerçekleştirilene kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.3.5 Toplam fenolik miktarı tayini

Toplam fenolik miktarı tayini Folin-Cıocalteu yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. 1:10 oranında seyreltilmiş 200 µl örnek çözeltisine 1,58 ml saf su eklendikten sonra 100 µl Folin-Cıocalteu reaktifi (1:10 seyreltilmiş) ilave edilmiştir. 5 dakika 25℃'de karanlık ortamda bekledikten sonra 300 µl sodyum karbonat (%20) çözeltisi eklenmiştir. Örnekler vorteksle karıştırılıp karanlık ortamda 2 saat bekletildikten sonra UV-Vis spektrofotometrede 765 nm'de absorbans ölçüldü. Toplam fenolik miktarı kuru bazda g başına mg gallik asit (GAE) olarak ifade edildi. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilip sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.3.6 Antioksidan aktivite tayini

Antiradikal aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma St. Louis, MO, Amerika) yöntemine göre Agilent Carry 60 spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Radikalin karakteristik mor renginde meydana getirilen renk değişikliğinin spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Antiradikal aktivite tayini Brand-Williams ve arkadaşları (1995) tarafından verilen yöntemde bazı modifikasyonlar uygulanarak yapılmıştır.

Hazırlanan ekstrakt çözeltilerden 50µl alınarak üzerine 4ml 0,1 mM DPPH radikalinin metanol ile hazırlanan çözeltisi eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Aynı işlem ekstre yerine çözücü içeren bir kör örnek için eş zamanlı olarak tekrarlanmıştır. Karışımların absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda okunmuş her ekstre için ölçümler 5 kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. Ekstre çözeltilerinin serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorbsiyonunun % inhibisyonu olarak belirtilecektir. Bu değer aşağıdaki Denklem (3.1) ile hesaplanmıştır:

$$\%\ İnhibisyon = (K - Ö|K) \times 100 \qquad (3.1)$$

K: Kontrolün 517 nm deki absorbans değeri
Ö: Örneğin 517 nm deki absorbans değeri

3.3.7 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilmiş olan kara havuç ekstraktındaki toplam monomerik antosiyanin tayini pH diferansiyel yöntemi üzerinde birtakım modifikasyonlar yapılırak uygulanmıştır. Antosiyaninler meyvelerin sebzelerin ve çeşitli tohumların, çiçeklerin kendine has mavimsi, kırmızı, ve mor tonlardaki birtakım renklerini veren suda çözünen doğal renk bileşenleridir. Antosiyanidin pigmentlerinin asitliğe yani pH'ya bağlı olarak bir belirteç gibi davranarak renk değiştirmesi durumu bu bileşiklerin en belirgin özelliklerindendir. Bu olay bu bileşenlerin değişik pH'larda farklı formlarda bulunmalarından dolayıdır. Antosiyaninler, pH 1,0'de oksonium veya flavilium formu adı verilen renkli karaktere sahip olurken, pH 4,5'de ağırlıklı olarak renksiz olan karbinol formunda ve pH 7-8 aralığında ise kuinoidal adı verilen yeşil-mavi renkli formda bulunmaktadır.

pH diferansiyel yönteminin temel prensibi, pH 1,0 ve pH 4,5'taki renk farklılığının spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Bu nedenle pH 1,0 ve pH 4,5 tampon çözeltilerle ayarlanan örneklerin spektrofotometrede ölçülen absorbans değerleri arasındaki fark, örneğin içeriğindeki antosiyanin miktarıyla doğru orantılı olarak değiştiği kabul edilmektedir.

Yapılan çalışmada pH 1,0 ve pH 4,5 için hazırlanmış olan, 0,4-0,8 aralığında absorbans vermesi için belirli oranda seyreltilen her bir örnek içinde 516nm (maksimum dalga boyu) ve bulanıklık ögelerinin tespit edilmesi için de 700nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır.

Örneklerin 516 ve 700 nm'de okunan absorbans değerlerinin farkları ($A_{516} - A_{700}$) hesaplanarak, sonrasında pH 1,0 için bulunan absorbans farkı, pH 4,5 için hesaplanan absorbans farkından çıkarılmış ve böylece gerçek absorbans değeri Denklem (3.2) ile bulunmuştur. Örnekte bulunan antosiyanin miktarı Denklem (3.3) aracılığıyla örnekteki başlıca antosiyanin cinsinden belirlenir. Eğer örnekteki başlıca antosiyanin türü bilinmiyorsa sonuç genellikle siyanidin-3-glikozit cinsinden verilmektedir.

Absorbans = $(A_{516} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{516} - A_{700})pH_{4.5}$ (3.2)

$$Toplam\ antosiyanin\ mg/L = \frac{(A)\,(10^3)\,(MW)\,(DF)}{(E)\,(L)} \quad (3.3)$$

Bu bağıntıda; A: absorbans, MW: pigmentlerin molekül ağırlığı, DF: seyreltme faktörü, E: molar absorbans, L: küvetin optik yolu (1cm) karşılığıdır.

3.3.8 İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçlarının tümü Windows tabanlı SAS 8.2 istatistiksel analiz yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir (SAS Institute, Cary, North Carolina, Amerika). Ortalamalar arasındaki önemli fark %95 anlamlılık düzeyinde test edilmiştir. Tüm analizler paralel ve tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

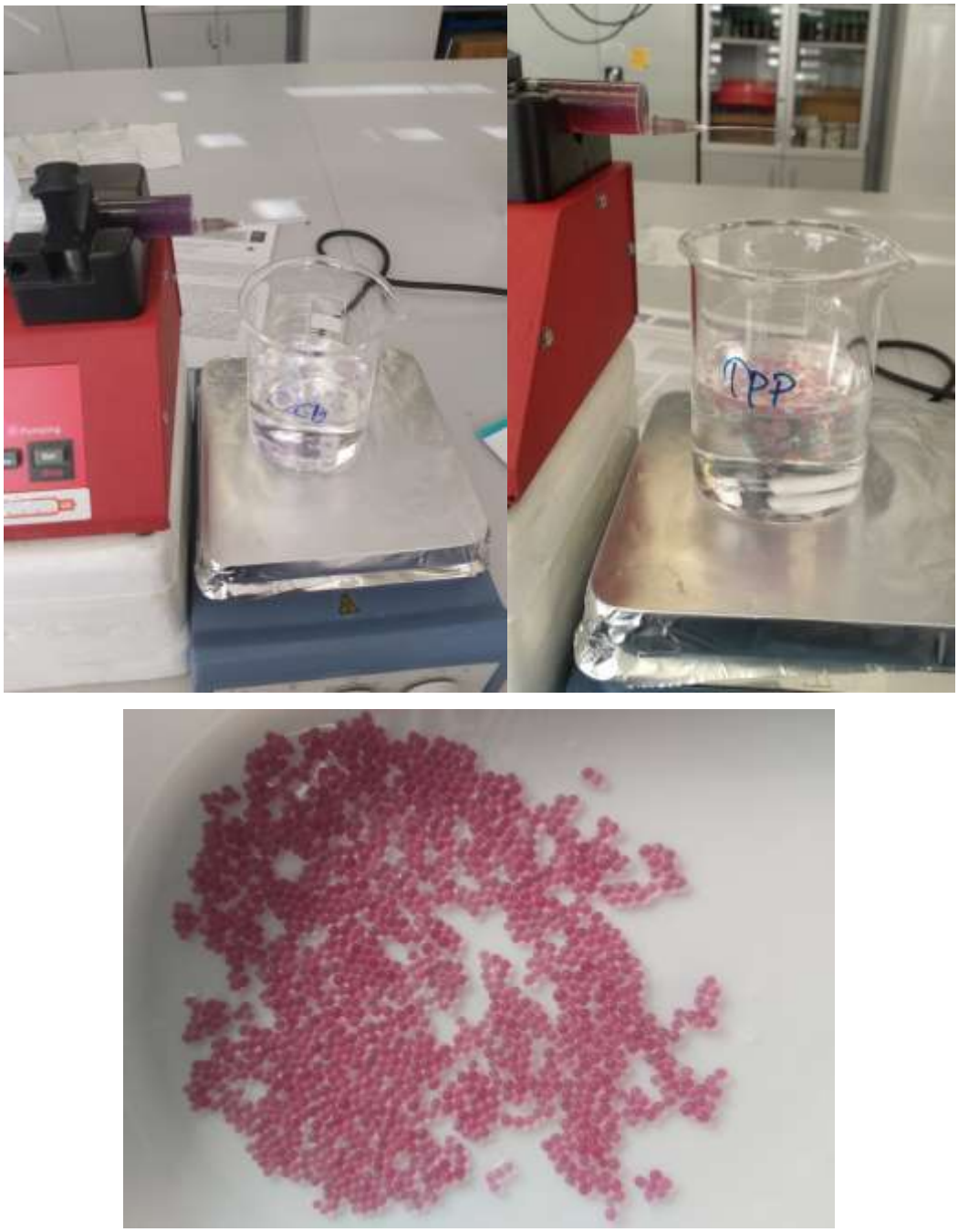
Kara havuçtan elde edilen antosiyanince ve fenolik bileşenlerce zengin ekstraktın çıkarılması ve enkapsüle edilmesi amacıyla yürütülen bu araştırma kapsamında, ekstraktın enkapsülasyonu, enkapsülasyon verimi, FTIR, monomerik antosiyanin, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve optik analizleri yapılmıştır.

4.1 Aljinat-Kitosan Membranlı Sıvı Çekirdekli Mikrokapsül Üretimi

Genel olarak enkapsülasyon işleminde bir kapsülün etkinliği, zar porozitesi ve kalınlığı ile kapsül boyut dağılımıyla birlikte yüzey alanı ve mekanik özellikleriyle ifade edilmektedir. Örneğin kapsülün zar kalınlığı artınca çevrelediği hedef bileşen daha iyi korunacak, kapsül zarı inceldikçe radyal kütle transfer hızı artacaktır. Bu amaçla en düşük çaplı (0,7 mm çaplı gri renkli) enjektör ucu kullanılarak pompalanan emülsiyonu küçük sıvı damlacıkları halinde oluşması prensibinden faydalanılmıştır.

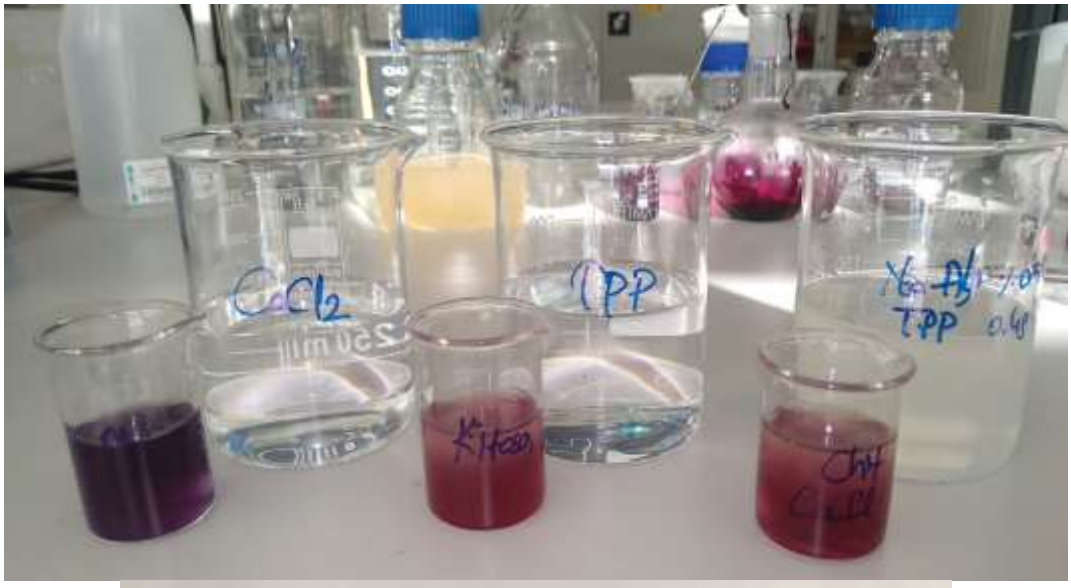
Sunulan projenin bu aşamasında elde edilen antosiyanince zengin kara havuç ekstraktı biyopolimer olarak belirlenen sodyum aljinat ve kitosan kaplı mikroküreler oluşturmak üzere "invers jelasyon (damlatma) yöntemi" kullanılarak kapsüllenmiştir. Kalsiyum iyonu ile sodyum aljinatta çapraz bağ oluşumu artar, tripolifosfat varlığında ise kitosanda elektrostatik etkileşimler ile fiziksel şekilde bağlanma gerçekleşir ve kapsül oluşturmasına neden olur. Kalsiyum tuzları ile aljinat çözeltisinden ve tripolifosfat ile kitosandan mikroküreler elde etme yaygın olarak kullanılan iyonik jelleşme tekniği olup mikro ve makro boyutta partiküller elde edilmektedir.

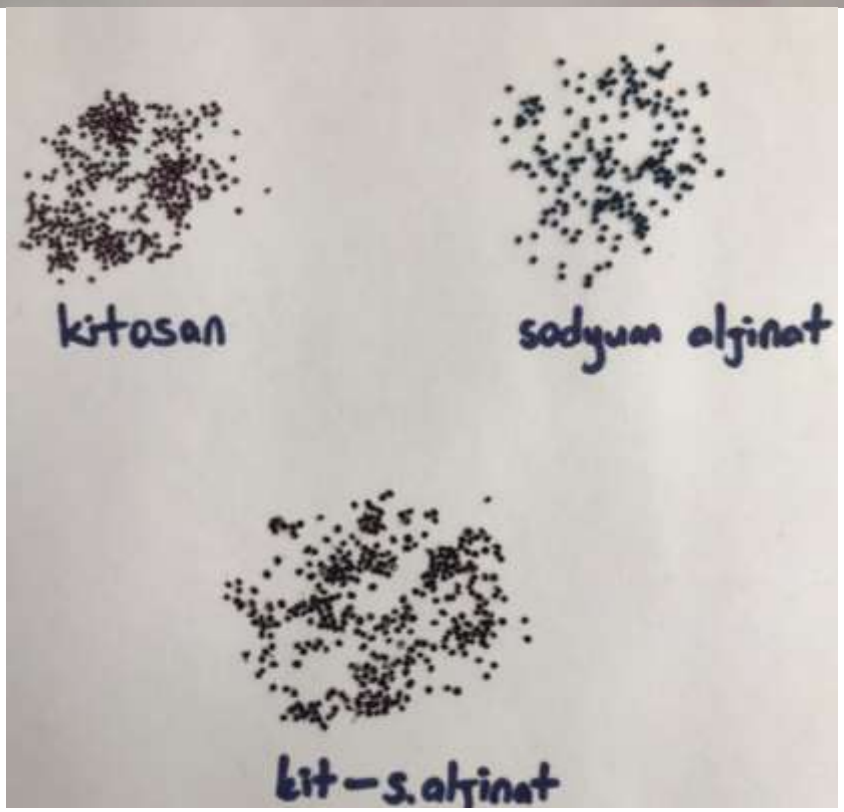
Tez projesinde ilgili iş paketi için gerekli olan şırınga pompa ve damlatma düzeneği proje için tasarlanmış ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Üretilen kapsüllerin büyüklüğü ve şekli kullanılan şırınga çapına, kullanılan jelleşme çözeltisinin viskozitesine ve kalsiyum klorür çözeltisi ile şırınga arasındaki mesafeye bağlıdır. Küresel jel oluşumu için yaklaşık 10 cm mesafe bırakılmıştır.



Şekil 4.1 Damlatma deney düzeneği

Tez kapsamında oluşturulan deney tasarımında 2 farklı kaplama maddesi ve birde bunların karışımı kullanılmıştır. Hazırlanan %2'lik kitosan, %2'lik aljinat, %1'lik kitosan-%1'lik aljinat çözeltilerinden elde edilen antosiyanin yüklü kapsüller Şekil 4.2'de verilmektedir.





Şekil 4.2 Farklı kaplama maddeleriyle kara havuç ekstraktının enkapsülasyonu

4.2 Kapsüllerin Karakterizasyonu

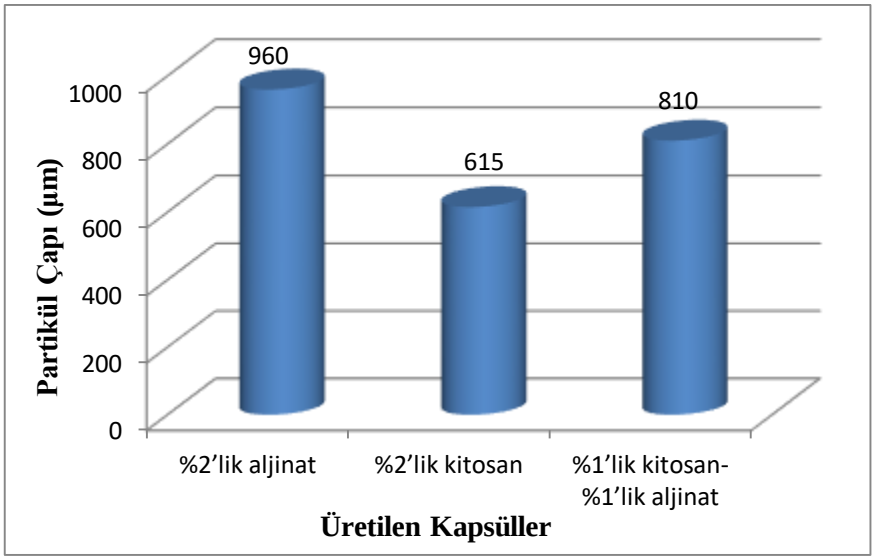
4.2.1 Enkapsülasyon verimi ve optik analiz

İyonik jelleşme yöntemiyle elde edilen kara havuç ekstraktı yüklü aljinat, kitosan ve aljinat-kitosan kapsüllere ait enkapsülasyon verimi gravimetrik olarak hesaplanmıştır. Yapılan literatür incelemelerine ve daha önceki yapılan çalışmalarımıza dayanılarak kaplama maddesi konsantrasyonunun, enkapsülasyon verimi üzerine en etkili parametre olduğunu söyleyebiliriz (Çizelge 4.1).

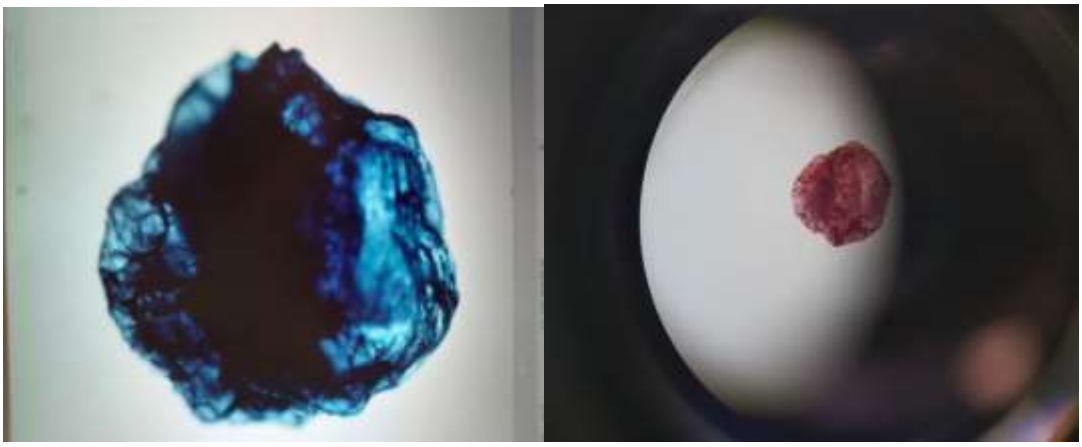
Bu bölümde farklı membran kompozisyonlarında hazırlanan yaş ve kuru kapsüllerin ortalama çapları hesaplanmıştır (Şekil 4.3). Kapsüllerin optik analizi optik mikroskop kameradan alınan görüntülerin işlenmesi yoluyla yapılmıştır (Şekil 4.4). Damlatma yöntemiyle hazırlanan emülsiyon kürecikleri, membran polimeri çözelti yüzeyinden geçerken birtakım deformasyon ve şekil bozukluklarına uğramakta ya da tamamen dağılmaktadır. Bu gözlem, çapraz bağlanma olayının gerçekleştiği jel havuzundaki çözeltinin konsantrasyonunun, emülsiyon içerisindeki membran çözeltisinin konsantrasyonuna oranı ile ilgilidir. Bu nedenle, membran çözeltisinde kullanılan biyopolimerin viskozitesi kapsül duvarının mekaniksel ve fiziksel özellikleri bakımından oldukça etkili bir parametredir. Görüntüler incelenecek olursa, enkapsülasyonda kullanılan sodyum aljinat ve kitosanın kapsül şekilleri üzerine en etkili değişken olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1 Farklı kaplama maddeleriyle kaplanan kapsüllerin enkapsülasyon verimi ve partikül çapları

	Enkapsülasyon Verimi (%)	**Partikül Çapı (µm)**
%2'lik aljinat	83±0,07	960±0,37
%2'lik kitosan	56±1,62	615±0,45
%1'lik kitosan-%1'lik aljinat	71±0,94	810±0,64



Şekil 4.3 Kapsüllerin ortalama çap değişimi

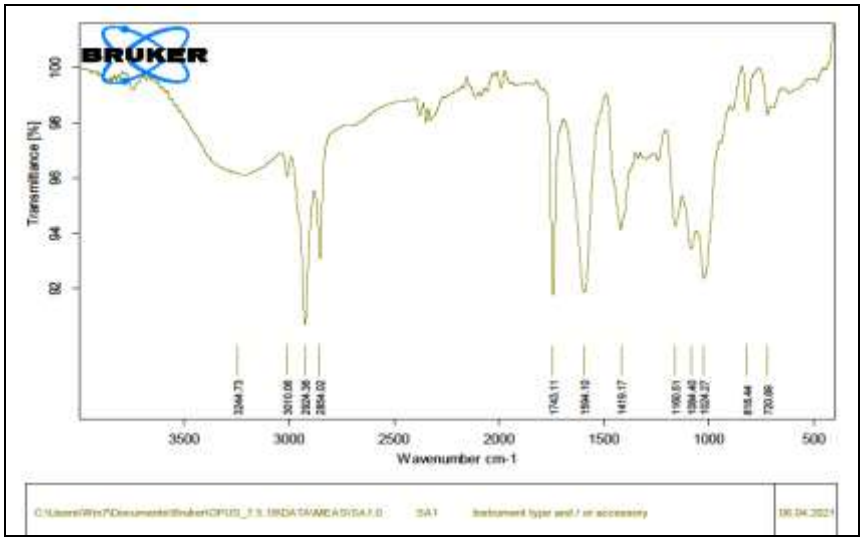


Şekil 4.4 Kapsüllerin optik görüntüleri

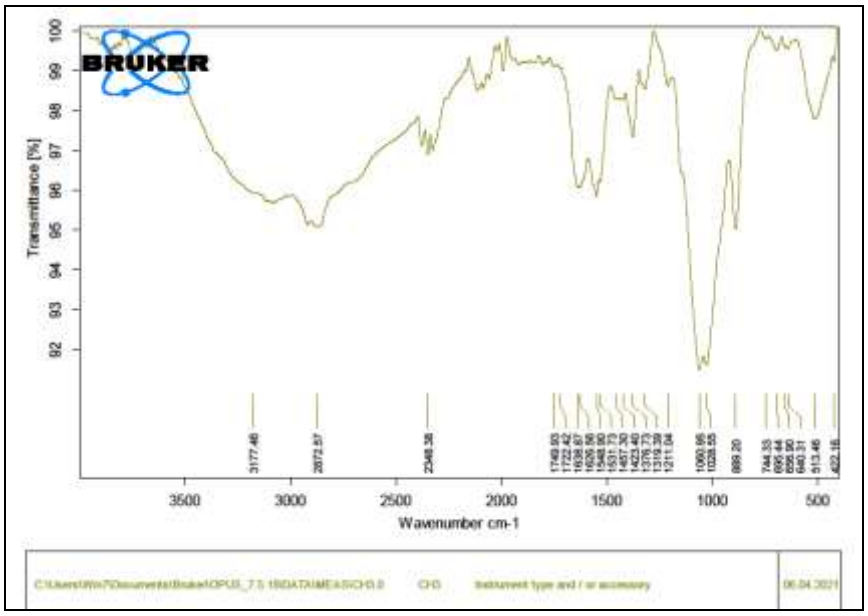
4.2.2 Fourier transform infrared spektrometresi *(FTIR)* ile karakterizasyon

Sadece sodyum aljinat ile kaplanmış, sadece kitosan ile kaplanmış ve sodyum aljinat-kitosan ile kaplanmış kapsüllere ait FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak incelendiğinde; her iki polimerin karakteristik piklerini ve kitosana ait amin grupları piklerinin varlığı araştırılarak kitosanın kapsül yapısına girip girmediği yorumlanmıştır.

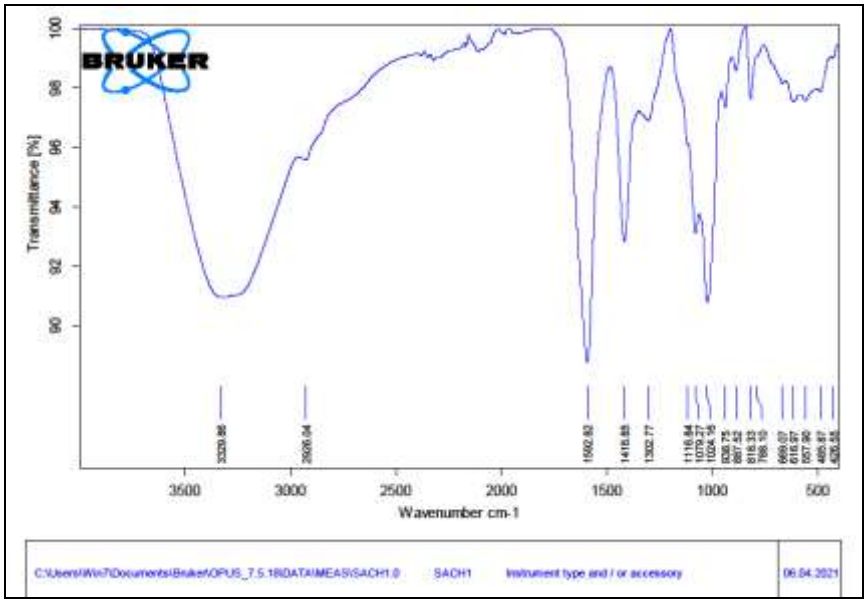
TPP ile çapraz bağlanmış kitosan (Şekil 4.5), $CaCl_2$ ile çapraz bağlanmış NaAlg (Şekil 4.6) ve aljinat-kitosan ile kaplanmış taneciklerin (Şekil 4.7) FTIR spektrumları şekillerle gösterilmiştir. Çapraz bağlı kitosanın FTIR spektrumunda, 3317 cm^{-1}'de görülen absorpsiyon bandı OH- ve NH_2- gerilme titreşimine, 1639 cm^{-1}'deki band karbonil (C=O) grubu gerilme titreşimine (amid I bandı), 1549 cm^{-1}'deki band N-H eğilme titreşimine (amid II bandı) ve 1377 cm^{-1}'deki band N-H gerilme titreşimine (amid III bandı) atfedilmektedir (Esmaeili and Asgari, 2015; Dai *et al.* 2008) 1061 ve 1029 cm^{-1}'de gözlenen bantlar ise ikincil hidroksil grubu ve birincil hidroksil grubuna ait bantlardır (Dai *et al.* 2008). Ayrıca, 1211 cm^{-1}'de görülen band PO_2 grubuna ait asimetrik gerilme titreşimine ait olup, kitosanın NH_3^+ grupları ile tripolifosfat anyonları arasındaki iyonik çapraz bağların oluşumunu işaret etmektedir (Sacco *et al.* 2014). Çapraz bağlı sodyum aljinatın FTIR spektrumunda, 1594 ve 1419 cm^{-1}'de görülen güçlü absorpsiyon bantları karboksil gruplarına ait asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerine atfedilmektedir. 1024 cm^{-1}'deki band ise C-O-C titreşimine aittir (Bekin *et al.* 2014). Aljinat-kitosan kaplı taneciklerin, 1593, 1417, 1079 ve 1024 cm^{-1}'de gözlenen bandları, kitosan ve aljinatın karakteristik absorpsiyon bandlarıdır. Çapraz bağlı kitosana ait spektrumda 1549 cm^{-1}'de görülen absorpsiyon bandı kitosanın aljinat ile reaksiyondan sonra 1593 cm^{-1}'e, -OH ve –NH gerilme titreşimine ait band ise 3117 cm^{-1}'den 3330 cm^{-1}'e kaymıştır, bu da kitosan ve aljinat arasında polielektrolit komplekslerinin oluştuğunu göstermektedir (Dai *et al.* 2008).



Şekil 4.5 Sodyum aljinat kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu



Şekil 4.6 Kitosan kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu



Şekil 4.7 Sodyum aljinat-kitosan kaplı kapsüle ait FTIR spektrumu

4.2.3 Kapsüllerin biyoaktif özellikleri

pH diferansiyel metodu ile tayin edilen toplam monomerik antosiyanin miktarı sonuçları mg siyanidin-3-glukozit eşdeğeri/g kuru kapsül olarak Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Örnekler tampon çözeltilerle seyreltilmiş ve 515 ve 700nm dalga boyundaki absorbans değeri ölçülmüştür. Duvar materyali olarak %2'lik sodyum aljinat kullanıldığında en yüksek antosiyanin miktarına ulaşılmıştır. Daha sonra sırasıyla %1'lik kitosan-%1'lik aljinat ve %2'lik kitosan kaplı kapsüllerin antosiyanin miktarı gelmektedir. Bu sonuçlara göre sodyum aljinatın çekirdek maddesini en yüksek oranda hapsettiği görülmektedir.

Çizelge 4.2 Farklı kaplama maddeleriyle kaplanan kapsüllerin toplam fenolik ve monomerik antosiyanin değerleri ile antiradikal aktiviteleri

Biyoaktif Analizler / **Kaplama Maddesi**	**Toplam Fenolik Madde Tayini (GAE)/g kuru kapsül**	**Antiradikal Aktivite (% inhibisyon)**	**Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı (mg cyn-3 glukozid/1g kuru kapsül)**
%2'lik aljinat	89.17±2.71 mg	% 31±1.12	0,052±0,01 mg cyn-3 glukozid
%2'lik kitosan	52.17±1.85 mg	% 17±2.13	0,028±0,02 mg cyn-3 glukozid
%1'lik kitosan-%1'lik aljinat	71.63±0.72 mg	% 24±0.81	0,039±0,01 mg cyn-3 glukozid

Literatürde renk pigmentlerinin enkapsülasyonu ile ilgili çeşitli makaleler bulunmaktadır. Yapılan bir araştırmada domates posası atıklarından süperkritik CO_2 kulanılarak ekstraksiyon ile likopen elde edilmiş ve bu likopen ekstraktı %4,5, %10 ve %4,8 oranlarında sırasıyla jelatin, poliglutamik asit ve likopen olacak şekilde emülsiyon sistemiyle kapsüllenmiştir (Chiu 2007). Bir diğer çalışmada ise dut suyu antosiyaninleri

bu çalışmada da tercih edilen biyopolimerler aljinat ve kitosan ile iyonik jelasyon yöntemiyle kapsüllenmiş ve kapsüllendikten sonra deney koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir (Çoruhli 2013).

Farklı araştırmacı gruplar tarafından zencefil ekstraktı (Simon-Brown *et al.* 2016), propolis (Spinelli *et al.* 2015), zeytin posası (Paini *et al.* 2015), maviyemiş (Flores *et al.* 2014; Jimenez-Aguilar *et al.* 2011) ve üzüm posası ekstraktı (Spigno *et al.* 2013) püskürtmeli kurutma yöntemiyle, dut yaprağı ekstraktı kompleks koaservasyon metodu ile (Peanparkdee *et al.* 2016), böğürtlen ve ahududu ise dondurarak kurutma metodu (Da Rosa *et al.* 2014, Laine *et al.* 2008) ile kapsüllenmiştir. Sonrasında ise enkapsülasyon koşulları ve aktif bileşenlerin biyoaktiviteleri çalışılmıştır.

Antiradikal aktivite ve toplam fenolik madde analizi sonuçları da toplam monomerik antosiyanin tayini sonuçları ile paralel bulunmuştur. Duvar materyali olarak %2'lik sodyum aljinat kullanıldığında en yüksek fenolik miktarına ve antiradikal aktiviteye ulaşılmıştır. Daha sonra sırasıyla %1'lik kitosan-%1'lik aljinat ve %2'lik kitosan kaplı kapsüllerin fenolik miktarı ve antiradikal aktiviteleri gelmektedir. Bu sonuçlara göre sodyum aljinatın çekirdek maddesini en yüksek oranda hapsettiği ve koruduğu görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada, güçlü antioksidan ve antosiyanin kaynağı olan kara havuçtan antosiyanin ve fenolikçe zengin ekstrakt elde edilmiş ve bu ekstraktın uygun olmayan çevre koşullarından ve proses işlemlerinden etkilenmesini en aza indirmek için ekstraktlar enkapsüle edilmiştir. Enkapsülasyonda kullanılabilecek uygun biyopolimer taşıyıcılar ve bu taşıyıcıların konsantrasyonu belirlenerek kapsüllerin kullanılabilirliği çalışılmıştır.

Sunulan çalışmada sodyum aljinat ve kitosan biyopolimerleri kaplama kabuk materyali olarak kullanılırken, kalsiyum klorür ve tripolifosfat çözeltisi ise jelleşme çözeltisi olarak belirlenmiştir. Biyouyumlu ve biyobozunur özellikteki sodyum aljinat ve kitosan biyomedikal, farmasötik kimya ve gıda alanlarında enkapsülasyon işlemlerinde oldukça tercih edilen polimerlerdir (Günay 2010, Özgen 2014).

Elde edilen kara havuç ekstraktı damlatma metodu kullanılarak invers jelleşme yöntemiyle kapsüllenmiştir. Uygulama koşulları esnek ve pratik olan damlatma yönteminde birbiriyle karışmayan iki ayrı faz bulunmaktadır. Yöntemin temel prensibi, içerisinde bir polimer çözeltisi taşıyan ve çekirdek maddesi olması istenen emülsiyonun, jelleştirici bir çözelti içerisine damlatılmasıdır. Jelleştirici ajan, emülsiyon çözeltisinden polimer çözeltisine doğru hareket ederken faz arayüzeyinde gerçekleşen ani polimerizasyon reaksiyonu sonucu kapsül zarı kendiliğinden oluşur ve içi sıvı çekirdekli kapsüller elde edilir. Bu teknikle verimi yüksek, boy dağılım grafiği dar, sıvı çekirdekli ve küre formda kapsüller üretilmektedir. Bu yöntemin diğer avantajları olan oda sıcaklığında uygulanabilir olması, parçacık boyutu kontrolü sağlanması, organik çözücü kullanımı gerektirmemesi, ortam asitliği veya sıcaklık kontrolü gerektirmemesi gıda alanında da kullanılabilirliğini sağlamaktadır (Ersus ve Yurdagel 2007, Rao and McClements 2011, Gazori *et al.* 2009).

Elde edilen bulgulara göre sodyum aljinatın duvar materyali olarak kullanıldığı durumda morfolojisi oldukça düzgün, homojen, tam küresel ve küre yüzeyleri düzgün, kaplama kalitesi oldukça iyi, daha şeffaf, parlak ve boy dağılımı aralığı daha düşük ve

stabil mikrokapsüller başarıyla elde edilmiştir. Enkapsülasyon verimi ve kapsüllerin biyoaktif özellikleri de incelendiğinde sodyum aljinatın en iyi sonuç verdiği ve çekirdek maddesini en iyi oranda hapsettiği görülmüştür. Mikrokapsüllere ait optik mikroskop görüntüleri Bölüm 3.4.2'de verilmiştir.

Sodyum aljinat ve kitosanın birlikte duvar materyali olarak kullanıldığı durumda kapsüller incelendiğinde ise yine düzgün, homojen, küresel ve iyi kaplama kalitesinde kapsüller elde edilmiştir. Enkapsülasyon verimi ve kapsüllerin biyoaktif özellikleri de incelendiğinde sodyum aljinata göre nispeten daha az biyoaktif özellik gösterdiği görülmektedir. Kitosana oranla stabilitesi kısmen daha iyi ve daha büyük partikül çapına sahip küreler elde edilmiştir.

Sadece kitosanın duvar materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde ise; kaplama kalitesinin zayıf olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle ıslak kapsüllerde mekaniksel olarak dayanıksız zayıf partiküller elde edilmiştir. Boy dağılım aralığı geniş ve küreselliğini koruyamayan partiküllerde ayrıca çekirdek sızıntısı da gözlenmiştir.

Sonuç olarak; sadece sodyum aljinat kullanılarak ve sodyum aljinat ile kitosanın birlikte kullanıldığı durumlarda kapsüllenen küreler liyofilize edildikten sonra da tam küreselliğini, matriksi, stabilitesini ve yapısını koruyabilmişlerdir.

KAYNAKLAR

Abreu, F. O. M. S., Bianchini, C., Forte, M. M. C. and Kist, T. B. L. 2008. Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels. Carbohydrate Polymers, 74 (2): 283-289.

Akhtar, M., Murray, S. B., Afeisume, I. E. and Khew, H. S. 2014. Encapsulation of flavonoid in multiple emulsion using spinning disc reactor technology. Food Hydrocolloids, 34: 62-67.

Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., Freitas, V., Esteves da Silva, J. C. G . and Casado, J. 2014. Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (Daucus carota L. ssp. Sativus var. Atrorubens Alef.) from Cuevas Bajas, Spain. Journal of Food Composition and Analysis, 33 (1): 71-76.

Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J., Phills, B. and Tsolova, V. 2013. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive, https://www.intechopen.com/chapters/44143. Erişim tarihi: 28.07.2021

Arriola, N. D. A., de Medeiros, P.M., Prudencio, E. S., Müller, C. M. O. and Amboni, R.D.M.C. 2016. Encapsulation of aqueous leaf extract of Stevia rebaudiana Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. Food Bioscience, 13: 32-40.

Atalay, E. 2019a. Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. Labakademi. https://labakademi.com/gida-endustrisinde-enkapsulasyon-uygulamalari/. Erişim tarihi: 28.07.2021

Atalay, E. 2019b. Yenilebilir Film ve Kaplamalar. Labakademi. https://labakademi.com/yenilebilir-film-ve-kaplamalar/. Erişim tarihi: 28.07.2021

Ayar, E. N. 2017. Kara havuç ekstraktının kompleks koaservasyon metoduyla nanoenkapsülasyonu: tepki yüzey metodu ile optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 81 sayfa, İstanbul.

Bagchi, D., Sen, K. C., Bagchi, M. and Atalay, M. 2004. Anti-angiogenic, antioxidant and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. Biochemistry, 69 (1): 75-80.

Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A. and Aruoma, O. I. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin ve vitamin C levels ve antioxidant activities of Mauritian vegetables. Journal of the Science of Food ve Agriculture, 84 (12): 1553-1561.

Bakowska-Barczak A. 2005. Acylated Anthocyanins as stables, natural food colorants-a review. Pol. J. Food Nutr. Sci., 14 (55): 107-116.

Bekin, S., Sarmad, S., Gürkan, K., Yenici, G., Keçeli, G. and Gürdağ, G. 2014. Dielectric, thermal, and swelling properties of calcium ion-crosslinked sodium alginate film. Polym. Eng. Sci., 54: 1372-1382.

Betz, M. and Kulozik, U. 2011. Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. Procedia Food Science, 1: 2047-2056.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT – Food Science and Technology, 28 (1): 25-30.

Cai, X., Du, X., Cui, D., Wang, X., Yang, Z. and Zhu, G. 2019. Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation. Food Hydrocolloids, 91: 238-245.

Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A. and Galán-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, 113 (4): 859-871.

Cavalcanti, R. N., Santos, D. T. and Meireles, M. A. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. Food Research International, 44 (2): 499-509.

Chan, E. S., Lee, B. B., Ravindra, P. and Denis, P. 2009. Prediction models for shape and size of Ca-alginate macrobeads produced through extrusion–dripping method. Journal of Colloid and Interface Science, 338 (1): 63-72.

Charron, C. S., Kurilich, A. C. and Clevidence, B. A. 2009. Bioavailability of anthocyanins from purple carrot juice: effects of acylation and plant matrix. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57 (4): 1226-1230.

Chiu, Y. T., Chiu, C. P., Chien, J. T., Ho, G. H., Yang, J. and Chen, B. H. 2007. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly (γ-glutamic acid) as carrier. J. Agric. Food Chem., 55 (13): 5123-5130.

Çoruhli, T. 2013. Karadut antosiyaninlerinin iyonik jelasyon yöntemi ile enkapsülasyonu ve enkapsülasyon parametrelerinin tepki yüzeyi metodu ile optimize edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 99 sayfa, İstanbul.

Da Rosa, C. G., Borges, C. D., Zambiazi, R. C., Rutz, J. K., Da Luz, S. R., Krumreich, F. D., Benvenutti, E. V. and Nunes, M. R. 2014. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (Rubus fruticosus). LWT – Food Science and Technology, 58 (2): 527-533.

Dai, Y., Li, P, Zhang, J., Wang, A. and Wei, Q. 2008. Swelling Characteristics and Drug Delivery Properties of Nifedipine-Loaded pH Sensitive Alginate–Chitosan Hydrogel Beads. J Biomed Mater Res Part B, Appl Biomater 86(B): 493–500.

Danhier, F., Ansorena, E., Silva, M. J., Coco, R., Breton, A. and Preat, V. 2012. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. Journal of Controlled Release, 161 (2): 505-522.

Diaconeasa, Z. M., Frond, A. D., Ştirbu, I., Rugina, D. and Socaciu, C. 2018. Anthocyanins-Smart Molecules for Cancer Prevention, Phytochemicals-Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention. https://www.intechopen.com/chapters/62593. Erişim tarihi: 23.07.2021

Downham, A. and Collins, P. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. International Journal of Food Science and Technology, 35 (1): 5-22.

Ersus, S. ve Yurdagel, Ü. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucuscarota L.) by spray drier. Journal of Food Engineering, 80 (3): 805-812.

Esatbeyoğlu, T., Rodriguez-Werner, M., Schösser, A., Liehr M., Ipharreguerre, I., Winterhalter P. and Rimbach, G. 2016. Fraction of Plant Bioactives from Black Carrots (Daucus carota subspecies sativus varietas atrorubens Alef.) by Adsorptive Membrane Chromatography and Analysis of Their Potential Anti-Diabetic Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64 (29): 5901-5908.

Esmaeili, A. and Asgari, A. 2015. In vitro release and biological activities of Carum copticum essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles. International Journal of Biological Macromolecules, 81: 283-290.

Fersahoğlu, H. 2016. Farklı renklerdeki gülhatmi çiçeklerinin biyoaktif özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 54 sayfa, İstanbul.

Fidan, M. N. H. 2014. Kara havuç ekstresinin farklı tekniklerle enkapsülasyonu ve in vitro salım kinetiğinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, 126 sayfa, İzmir.

Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G. and Kulling, S. E. 2006. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. European Journal of Nutrition, 45 (1): 7-18.

Flores, F. P., Singh, R. K. and Kong, F. 2014. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. J. Food Engineering, 137: 1-6.

Francis, F. J. 1989. Food colorants: Anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28 (4): 273–314.

Frank, K., Walz, E., Graf, V., Greiner, R., Köhler, K. and Schuchmann, P. H. 2012. Stability of Anthocyanin-Rich W/O/W-Emulsions Designed for Intestinal Release in Gastrointestinal Environment. Journal of Food Science, 77 (12): 50-57.

Fuleki, T. and Francis, F. J. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. Journal of Food Science, 33 (1): 72-83

Gakh, E. G., Dougall, D. K. and Baker, D.C. 1998. Proton nuclear magnetic resonance studies of monoacylated anthocyanins from the wild carrot: Part 1. Inter- and intra-molecular interactions in solution. Phytochemical Analysis, 9 (1): 28-34.

Galvano, F., Fauci, L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni A., Ciappellano, S., Battistini, C., N., Barbara, T. and Galvano, G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties. Journal of Nutritional Biochemistry, 15 (1); 2–11.

Gazori, T., Khoshayand, M. R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A. and Haririan, I. 2009. Evaluation of alginate/chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. Carbohydrate Polymers, 77 (3): 599-606.

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

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.

Ghosh, D. and Konishi, T. 2007. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16 (2): 200-208.

Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. Biochemical Engineering Journal, 14 (3): 217-225.

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

Grigoras, C. G., Destandau, E., Fougere, L. and Elfakir, C. 2013. Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. Industrial Crops and Products, 49: 794-804.

Gulino, E. 2019. Vibrantly Colorful Rainbow Carrots Are the Newest Gardening Trend You'll Want to Hop On This Fall. House Beautiful https://www.housebeautiful.com/lifestyle/gardening/a28750654/plant-colorful-rainbow-carrots-etsy/. Erişim tarihi: 28.07.2021

Günay, F., 2010. Emülsiyonlaşma-iyonik jelleşme tekniğiyle etodolak yüklü aljinat mikroküre lerden hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 80 sayfa, İstanbul, Türkiye.

Hatamnia, A. A., Abbaspour, N. and Darvishzadeh, R. 2014. Antioxidant acticity and phenolic profile of different parts of Bene (Pistacia atlantica subsp. kurdica) fruits. Food Chemistry, 145: 306-311.

He, B., Ge, J., Yue, P., Yue, X., Fu, R., Liang, J. and Gao, X. 2017. Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. Food Chemistry, 221; 1671-1677.

Idham, Z., Muhamad, I., I., Sarmidi and M., R. 2011. Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from hibiscus sabdariffa L. Journal of Food Process Engineering, 35 (4): 522-542.

Igarashi, K., Kimura, Y. and Takenaka, A. 2000. Preventive effects of dietary cabbage acylated anthocyanins on paraquat-induced oxidative stress in rats. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 64 (8): 1600−1607.

Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. and Speers, R. A. 1987. Anthocyanins as food colorants - A review. J. Food Biochem., 11 (3): 201–270.

Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K. and Nair, M. G. 2005. Insulin Secretion by Bioactive Anthocyanins and Anthocyanidins Present in Fruits. J. Agric. Food Chem., 53 (1): 28–31.

Jeong, D. and Na, K. 2012. Chondroitin sulfate based nanocomplex for enhancing the stability and activity of anthocyanin. Carbohydrate Polymers, 90 (1): 507–515.

Jimenez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramirez, J. D., Perez-Perez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J. and Welti-Chanes, J. 2011. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. J. Food Composition and Analysis, 24 (6): 889-894.

Kammerer, D., Carle, R. and Schieber, A. 2004. Characterization of phenolic acids in black carrots (Daucus carota ssp. sativus var. Atrorubens Alef.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom, 18 (12): 1331-1340.

Kanha, N., Surawang, S., Pitchakarn, P. and Laokuldilok, T. 2020. Microencapsulation of copigmented anthocyanins using double emulsion followed by complex coacervation: Preparation, characterization and stability. LWT - Food Science and Technology, 133: 110-154.

Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3 (5): 226-234.

Kaur, C. and Kapoor, H. C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science Technology, 37 (2): 153-161.

Keleş, Y. 2015. Antosiyanin Pigmentlerin Biyokimyası ve Analizi. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 8 (1): 19-25.

Khandere, V., Walia, S., Singh, M. and Kaur, C. 2011. Black Carrot (Daucus carote ssp. sativus) juice: Processing effects an antioxidant composition and color, Food and bioproducts processing, 89 (4): 482-486.

Khazaei, K. M., Jafari, S. M., Ghorbani, M. and Kakhki, A. H. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation ofsaffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. Carbohydrate Polymers, 105: 57-62.

Khoo, H. E., Azlan, A., Lim, S. M. and Tang, S. T. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. Food and Nutrition Research, 61 (1): 1654-1661

Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, 123 sayfa, Ankara.

Kjm, K.M., Son, J.H., Kim, S.K., Weller, C.L. and Hanna, M.A. 2006. Properties of chitosan films as a function of pH and solvent type. Journal of Food Science, 71 (3): 119-124.

Kong, J., Chia, L., Goh, N., Chia, T. and Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry, 64 (5): 923-933.

Koşay, R. 2020. Antosiyanin ekstraktlarının çift emülsiyon yöntemiyle enkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, 105 sayfa, Osmaniye.

Laine, P., Kyli, P., Heinonen, M. and Jouppila, K. 2008. Storage stability of microencapsulated cloudberry (rubus chamaemorus) phenolics. J. Agric. Food Chem., 56 (23): 11251-11261.

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

Lila, A. M. 2004. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 5: 306–313.

Liu, Y., Murakami, N., Wang, L. and Zhang, S. 2008. Preparative High-Performance Liquid Chromatography for the Purification of Natural Acylated Anthocyanins from Red Radish (Raphanus sativus L.). Journal of Chromatographic Science, 46 (8): 743-746.

Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E. and Denhad, D. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins withmaltodextrin, gum Arabic and gelatin. International Journal of Biological Macromolecules, 85: 379-385.

Mansour, M., Salah, M. and Xu, X. 2020. Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. Ultrasonics - Sonochemistry, 63: 104927.

Maresca, D., De Prisco A., La Storia A., Cirillo, T. Esposito, F. and Mauriello G. 2016. Microencapsulation of nisin in alginat beads by vibrating technology: Preliminary investigation. LWT - Food Science and Technology, 66: 436-443

Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M. 2005. Total phenolics ve total flavonoids in Bulgarian fruits ve vegetables. Journal of the university of chemical technology ve metallurgy, 40 (3): 255-260.

Matsui, T., Ebuchi, S., Kobayashi, M., Fukui, K., Sugita, K. and Terahara, N. 2002. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki can be achieved through the β-glucosidase inhibitory action. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (25): 7244−7248.

Matuschek, C. M., Hendriks, H. W., McGhie, K. T. and Reynolds, W. G. 2006. The jejunum is the main site of absorbtion for anthocyanins in mice. Journal of Nutritional Biochemistry, 17 (1): 31–36.

Mazza, G. and Brouillard, R. 1990 The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. Phytochemistry, 29 (4): 1097–1102.

McClements, D. J. 2009. Structural Design Principles for Improved Food Performance: Nanolaminated Biopolymer Structures in Foods. Micro/Nanoencapsulation of Active Food Ingredients, 1: 3-34.

McGhie, K., T. and Walton, C., M. 2007. The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding. Molecular Nutrition and Food Research, 51 (6): 702-713.

Mehran, M., Masoum, S. and Memarzadeh, M. 2020. Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of Echium amoenum petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. International Journal of Biological Macromolecules, 148: 768-776.

Metzger, B.T., Barnes, D.M. and Reed, J.D. 2008. Purple carrot (Daucus carota L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory

proteins in macrophage and endothelial cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (10): 3554–3560.

Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Garcia, A. O., Queiroz, M. B., Alvim, I. D. and Hubinger, M. D. 2019. Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. Food Research International, 121: 542–552.

Mueller, D., Jung, K., Winter, M., Rogoll, D., Melcher, R., Kulozik, U., Schwarz, K. and Richling, E. 2018. Encapsulation of anthocyanins from bilberries – Effects on bioavailability and intestinal accessibility in humans. Food Chemistry, 248: 217-224.

Naczk, M. and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 1054 (1-2): 95-111.

Narang, S. A., Delmarre, D. and Gao, D. 2007. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. International Journal of Pharmaceutics, 345: 9-25.

Nayak, C. A. and Rastogi, N. K. 2010. Effect of Selected Additives on Microencapsulation of Anthocyanin by Spray Drying. Drying Technology, 28 (12): 1396-1404.

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia Food Science, 1: 1806 – 1815.

Netzel, M., Netzel, G., Kammerer, D.R., Schieber, A., Carle, R., Simons, L., Bitsch, I. and Konczak, I. 2007. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 8 (3): 365-372

Nizamlıoğlu, N. M. ve Nas, S. 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 5 (1): 20-35.

Norkaew, O., Thitisut, P., Mahatheeranont, S., Pawin, B., Sookwong, P., Yodpitak, S. and Lungkaphin, A. 2019. Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. Food Chemistry, 294: 493-502.

Oidtmann, J., Schantz, M., Mader, K., Baum, M., Berg, S., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Schwarz, K. and Richling, E. 2012. Preparation and

comparative release characteristics of three anthocyanin encapsulation systems. J. Agric.Food Chem., 60 (3): 844−851.

Özdal, T., Çapanoğlu, E. and Altay, F. 2013. A review on protein-phenolic interactions and associated changes. Food Research International 51 (2): 954-970.

Özdemir, K. S. 2015. Gıda ve biyoaktif gıda bileşenlerinin kaplanması: proses ve depolama stabilitesi üzerine etkileri. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 97 sayfa, Ankara.

Özgen, S. 2010. Çilek meyvesinden doğal aroma bileşenlerinin katı faz ekstraksiyon sistemleriyle elde edilmesi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, 115 sayfa, Kayseri.

Özgen, S. 2014. Domateten likopen izolasyonuna yönelik monodispers kromatografik kolon dolgu maddelerinin sentezi, likopenin saflaştırılması ve enkapsülasyonu. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, 230 sayfa, Kayseri.

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.

Pala, C. 2014. Kara havuç bitkisinden farklı yöntemler ile antosiyanin eldesinin optimizasyonu, enkapsülasyonu ve Neuro 2A kanser hücre hattına etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, 97 sayfa, İzmir.

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

Poudyal, H., Panchal, S. and Brown, L. 2010. Comparison of purple carrot juice and β-carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome. British Journal of Nutrition, 104 (9): 1322–1332.

Rao, J. and McClements, D. J. 2011. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate and lemon oil. Food Hydrocolloids, 25 (6): 1413-1423.

Ribereau-Gayon, P. and Glories Y. 2006. Handbook of Enology Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments 2nd Edition, 451 pages, Wiley.

Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. and Saenz, C. 2010. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. International Journal of Foof Science and Technology, 45: 1386-1394.

Sacco, P., Borgogna, M., Travan, A., Marsich, E., Paoletti, S., Asaro, F., Grassi, M. and Donati, I. 2014. Polysaccharide-based networks from homogeneous chitosantripolyphosphate hydrogels: synthesis and characterization. Biomacromolecules, 15(9): 3396–3405.

Sagis, L. M. 2015. Microencapsulation and microspheres for food applications. Academic Press, 407 pages, London.

Santiago, M. C. P. A., Nogueira, R. I., Paim, D. R. S. F., Gouvea, A. C. M. S., Godoy, R. L. O., Peixoto, F. M., Pacheco, S. and Freitas, S. P. 2016. Effects of encapsulating agents on anthocyanin retention in pomegranate powder obtained by the spray drying process. LWT - Food Science and Technology, 73: 551-556.

Santos, D. T., Albarelli, J. Q., Beppu, M. M. and Meireles, M. A. A. 2013. Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO2 as solvent. Food Research International, 50: 617–624.

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 raspberryanthocyanins by complex coacervation. International Journal of Biological Macromolecules, 107: 1800–1810.

Shi, L. E., Li, Z. H., Li, D. T., Xu, M., Chen, H. Y., Zhang, Z. L. and Tang, Z. X. 2013. Encapsulation of probiotic Lactobacillus bulgaricus in alginate-milk microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions. Journal of Food Engineering, 117 (1): 99–104.

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

Souza, A. C. P., Gurak, P. D. and Marczak, L. D. F. 2017. Maltodextrin, pectin and soy protein isolate ascarrier agents in the encapsulation ofanthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. Food and Bioproducts Processing, 102: 186-194.

Söylemezoğlu, G. 2003. Üzümde Fenolik Bileşikler. Gıda, 28 (3): 277-285.

Spigno, G., Donsi, F., Amendola, D., Sessa, M., Ferrari, G. and De Faveri, D.M. 2013. Nanoencapsulation systems to improve solubility and antioxidant efficiency of a grape marc extract into hazelnut paste. J. Food Engineering, 114 (2): 207-214.

Spinelli, S., Conte, A., Lecce, L., Incoronato, A.L. and Del Nobile, M.A. 2015. Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. J. Food Process Engineering, 38 (6): 527-535.

Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y. and Furuta, S. 2003. Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. Japan Agricultural Research Quarterly, 37 (3): 167−173.

Sun, T., Simon, P. W. and Tanumihardjo, S. A. 2009. Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (Daucus carota L.) of various colors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57 (10); 4142–4147.

Tao, Y., Wang, P., Wang, J., Wu, Y., Han, Y. and Zhou, J. 2017. Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties. Powder Technology, 311: 77-87.

Tavlaşoğlu, M. 2016. Kara havuç ekstraktının soğuk jelleşme yöntemiyle pektin ve/veya Na-aljinat ile enkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 100 sayfa, İstanbul.

Tokgöz, H., Gölükcü, M. ve Toker, R. 2010. Moro Kan Portakalının Meyve Suyuna İşlemeye Uygunluğunun Tespiti ve Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Işık, Sıcaklık ve pH'nın Etkisi. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 27 (2): 34-44.

Toprak, F. E. 2011. Ankara ve Nevşehir İllerinde Yetiştirilen Kalecik Karası Üzüm Çeşidinin Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Arastırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, 73 sayfa, Ankara.

Turker, N., Aksay, S. and Ekiz, H.I. 2004. Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (Daucus carota var. L.) beverage: shalgam. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (12): 3807–3813.

Ubbink, J. and Krüger, J. 2006. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. Trends in Food Science and Technology,17 (5): 244–254.

Uyan Ersus, S. 2004. Kara havuç (Daucus carota L.) antosiyanin ekstraktının püskürtmeli kurutucu kullanılarak mikroenkapsülasyonu. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, 189 sayfa, İzmir.

Ünal, E. ve Erginkaya, Z. 2010. Probiyotik mikroorganiz-maların mikroenkapsülasyonu. Gıda Dergisi, 35 (4): 297-304.

Varhan, E. ve Koç, M. 2018. Gıda Bileşenlerinin Sprey Soğutma Yöntemi ile Enkapsülasyonu. Food and Health, 4 (3): 202-212.

Wallace, C. T. 2011. Anthocyanins in Cardiovascular Disease. Advances in Nutrition, 2 (1): 1-7.

Wang, Q., Xia, M., Liu, C., Guo, H., Ye, Q., Hu, Y., Zhang, Y., Hou, M., Zhu, H., Ma, J. and Ling, W. 2008. Cyanidin-3-O-β-glucoside inhibits iNOS and COX-2 expression by inducing liver X receptor alpha activation in THP-1 macrophages. Life Sciences, 83 (5-6): 176–184.

Wang, X., Li, X., Chen, L., Xie, F., Yu, L. and Li, B. 2011. Preparation and characterisation of octenyl succinate starch as a delivery carrier for bioactive food components. Food Chemistry, 126 (3): 1218-1225.

Wang, Z., Li, Y., Chen, L., Xin, X. and Yuan, Q. 2013. A study of controlled uptake and release of anthocyanins by oxidized starch microgels. J. Agric. Food Chem., 61 (24): 5880−5887.

Welch, C. R., Wu, Q. and Simon, J. E. 2008. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. Current Analytical Chemistry, 4 (2): 75–101.

Wesche-Ebeling, P. and Argaiz-Jamet, A. 2002. Stabilization mechanisms for anthocyanin the case for copolymerization reactions. Book Engineering and Food for the 21st Century, 10 pages, London.

Wu, X., Beecher, R. G., Holden, M. J., Haytowitz, B. D., Gebhardt, E. S. and Prior, L. R. 2006. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54 (11): 4069-4075.

Xiong, S., Melton, L. D., Easteal, A. J. and Siew, D. 2006. Stability and Antioxidant Activity of Black Currant Anthocyanins in Solution and Encapsulated in Glucan Gel. J. Agric. Food Chem., 54 (17): 6201-6208.

Yamashita, C., Chung, M. M. S., Santos, C., Mayer, C. R. M., Moraes, I. C. F. and Branco, I. G. 2017. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (Rubus spp.) by-product extract by freeze-drying. LWT - Food Science and Technology, 84: 256-262.

Yıldız, A., Genç, Ö. ve Bektaş, S. 1997. Enstrümantal analiz yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-64 (2): 189-190.

Yousuf, B., Gul, K., Wani, A. A. and Singh, P. 2016. Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56 (13): 2223-2230.

Zaidel, D. N. A., Sahat, N. S., Jusoh, Y. M. M. and Muhamad, I. I. 2014. Encapsulation of Anthocyanin from Roselle and Red Cabbage for Stabilization of Water-in-Oil Emulsion. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 2: 82-89.

Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliviera, H., Yang, N., Jin, W., Zhu, Z., Li, S. and He, J. 2020. Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. LWT - Food Science and Technology, 123: 1090-1097.

Zhao, L., Temelli, F. and Chen, L. 2017. Encapsulation of anthocyanin in liposomes using supercritical carbon dioxide: Effects of anthocyanin and sterol concentrations. Journal of Functional Foods, 34: 159-167.

Zuidam, N. J. and Shimoni, E., 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing, 3-29, London.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Sanubar SARDARBAYLI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Azerbaycan Tıp Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Fakültesi	2010-2015

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2018-2019	Azerbaycan Gıda Güvenliği Enstitüsü Muayenelerin Koordinasyonu Merkezi	Uzman
2016-2018	Sağlam Aile Tıp Merkezi	Tıbbi Koordinatör
2015-2016	Zeytun Pharmaceuticals	Çağrı Merkezi Operatörü