ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARABİBER (*Piper nigrum* L.) OLEOREZİNİNİN DONDURARAK KURUTMA TEKNİĞİ İLE MİKROENKAPSÜLASYONU

Necla ÖZDEMİR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2013

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARABİBER (*Piper nigrum* L.) OLEOREZİNİNİN DONDURARAK KURUTMA TEKNİĞİ İLE MİKROENKAPSÜLASYONU

Necla ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali BAYRAK

Bu çalışmada, karabiber oleorezini beta-siklodekstrin (β-SD) ile kaplanarak dondurma kurutma tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin; enkapsülasyon etkinliği, partikül büyüklüğü ve morfolojisi ile DSC analizleri yapılmıştır. Faz çözünürlüğü çalışmalarıyla β-SD ve karabiber oleorezini arasındaki termodinamik olaylar araştırılmıştır. Mikrokapsül ve enkapsüle edilmemiş karabiber oleorezininde antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve mikrobiyolojik analizler yapılmış, mikroenkapsülasyon işleminin bu özelliklere olan etkisi araştırılmıştır.

Mikrokapsüllerin piperin tutma etkinliği %72.74±3.11 olarak bulunmuştur. Mikrokapsüllerin ortalama büyüklüğü 129.99±22.37 nm ve PI değeri 0.283±0.023 olarak belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin TEM görüntülerinde kristalik yapıda oldukları saptanmıştır. Faz çözünürlüğü çalışmalarında; kullanılan bütün sıcaklıklarda elde edilen termogramlar doğrusaldır. Enkapsüle edilmemiş karabiber oleorezinin DPPH radikali yakalama aktivitesi % 44.54±1.18 iken, enkapsüle edilmiş karabiber oleorezinin DPPH radikali yakalama aktivitesi % 63.51±0.72 olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı; enkapsüle edilmemiş karabiber oleorezininde 8684.51±838.43 mg GAE/100 g oleorezin iken, enkapsüle edilmiş karabiber oleorezininde 7637.63±263.62 mg GAE/100 g oleorezindir. *E.coli* K12 bakterisine karşı test edilen MİK değerleri; enkapsüle edilmemiş karabiber oleorezini için 400 µg/mL iken, enkapsüle edilmiş karabiber oleorezini için 426 µg/mL'dir.

Şubat 2013, sayfa 54

Anahtar Kelimeler: Karabiber, oleorezin, mikroenkapsülasyon, dondurarak kurutma tekniği.

ABSTRACT

Master Thesis

MICROENCAPSULATION OF BLACK PEPPER (*Piper nigrum* L.) OLEORESIN BY FREEZE-DRYING PROCESS

Necla ÖZDEMİR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ali BAYRAK

In this study, black pepper oleoresin was encapsulated by freeze drying method using beta-cyclodextrine (β-CD). Entrapment efficiency, particle size, morphology and DSC analysis of encapsulated particles were determined. The thermodynamics between β-CD and black pepper oleoresin was described by phase solubility studies. Antioxidant activity, total phenolic content and microbiological analysis were carried out for encapsulated particles and free black pepper oleoresin. Furthermore, the effect of microencapsulation process on these characteristics were determined.

The entrapment efficiency of encapsulated particles was 72.74% ± 3.11. The average particle size was 129.99±22.37 nm and PDI was 0.283±0.023. The particles showed crystal form in TEM analysis. The thermograms of phase solubility studies were linear for all temperatures. DPPH scavenging activity of free oleoresin was 44.54% ± 1.18 while DPPH scavenging activity of encapsulated particles was 63.51% ± 0.72. Total phenolic content of free oleoresin was 8684.51±838.43 mg GAE/100 g oleoresin while total phenolic content of particles was 7637.63±263.62 mg GAE/100 g oleoresin. The MIC value of free oleoresin was 400 µg/mL while MIC value of particles was 426 µg/mL against *E.coli* K12.

February 2013, 54 pages

Key Words: Black pepper, oleoresin, microencapsulation, freze-drying process

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve çalışmalarımda yol gösteren değerli danışmanın Prof. Dr. Ali BAYRAK'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı)

Tez çalışmamı gerçekleştirebilmem için her türlü laboratuvar imkanını sağlayan ve bu konudaki tecrübesini benden esirgemeyen Texas A&M University öğretim üyesi Dr. Carmen Gomes'e

Laboratuvar çalışmalarımı birlikte yürüttüğüm arkadaşım Bruna Nicacio Teixeira'ya

Maddi ve manevi desteğini tüm hayatım boyunca hissettiğim sevgili aileme sonsuz teşekkürler.

Necla ÖZDEMİR
Ankara, Şubat 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER 3
2.1 Karabiberin Biyolojisi 3
2.2 Karabiberin Fiziksel Özellikleri 4
2.3 Karabiberin Kimyasal Özellikleri 4
2.3.1 Uçucu bileşenler 4
2.3.1.1 Monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli bileşenler 5
2.3.1.2 Seskiterpen hidrokarbonlar ve oksijenli bileşenler 5
2.3.1.3 Karabiberde bulunan aromatik bileşenler 6
2.3.2 Uçucu olmayan bileşenler 6
2.3.3 Karabiberin fenolik bileşenleri 8
2.4 Karabiberden Elde Edilen Ürünler 10
2.4.1 Karabiber oleorezini 11
2.5 Mikroenkapsülasyon 12
2.6 Mikroenkapsülasyon Teknikleri 12
2.6.1 Püskürterek kurutma 13
2.6.2 Püskürterek soğutma ve dondurma 13
2.6.3 Dondurarak kurutma 13
2.6.4 Akışkan yatak kaplama 13
2.6.5 Ekstrüzyon kaplama 14
2.6.6 Santrifüjlü ekstrüzyon 14
2.6.7 Koaservasyon 14
2.6.8 Rotasyonal süspansiyonlu ayırma 15
2.6.9 Ko-kristalizasyon 15
2.6.10 Lipozom ile kaplama 15
2.6.11 İnklüzyon kompleksi oluşturma 15
2.7 Dondurarak Kurutma 16

2.7.1 Dondurarak kurutma işlemi aşamaları 19
2.7.1.1 Dondurma aşaması 19
2.7.1.2 Birinci kurutma aşaması 20
2.7.1.3 İkinci kurutma aşaması 21
2.7.2 Dondurarak kurutma prosesinde dikkat edilmesi gereken kritik sıcaklıklar 22
2.7.2.1 Ötektik sıcaklık 22
2.7.2.2 Camsı geçiş sıcaklığı 23
2.7.3 Dondurarak kurutma yöntemleri 25
2.7.3.1 Manifolt yöntemi 25
2.7.3.2 Grup yöntemi 26
2.7.3.3 Yığın (dökme, bulk) yöntemi 26
2.8 Siklodekstrinler 27
3. MATERYAL VE YÖNTEM 29
3.1 Materyal 29
3.2 Yöntem 29
3.2.1 Karabiber oleorezinin ekstraksiyonu 29
3.2.2 Karabiber oleorezinin piperin içeriği analizi 30
3.2.3 Mikroenkapsülasyon işlemi 30
3.2.4 Partiküllerin piperin tutma etkinliği analizi 31
3.2.5 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi 31
3.2.6 Partikül büyüklüğü analizi ve morfolojisi 32
3.2.7 Faz çözünürlüğü analizi 32
3.2.8 Antioksidan aktivite analizi 33
3.2.9 Toplam fenolik madde analizi 35
3.2.10 Minimum bakteri inhibisyon konsantrasyonu analizi 36
3.2.11 İstatistik değerlendirme 37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 38
4.1 Karabiber Oleorezinindeki Piperin Miktarına ait Bulgular 38
4.2 Partiküllerin Piperin Tutma Etkinliğine ait Bulgular 39
4.3 Partikül Büyüklüğü ve Morfolojisine ait Bulgular 39
4.4 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Bulguları 41
4.5 Faz Çözünürlüğü Analiz Bulguları 42
4.6 Antioksidan Aktivite Bulguları 44
4.7 Toplam Fenolik Madde Bulguları 45
4.8 Minimum Bakteri İnhibisyon Konsantrasyonu Bulguları 46

5. SONUÇ **47**
KAYNAKLAR **48**
ÖZGEÇMİŞ **54**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α-SD	Alfa-siklodekstrin
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
β-SD	Beta-siklodekstrin
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
γ-SD	Gama-siklodekstrin
GRAS	Generally recognized as safe
IU	Ünite
KOB	Koloni oluşturan birim
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
nm	Nanometre
PI	Polidispersite indeksi
rpm	devir/dakika
SD	Siklodekstrin
TEM	Transmisyon (Geçirimli) elektron mikroskobu
GAE	Gallik asit eşdeğeri
PG	Propil gallat
W	Watt (joule/sn)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Karabiberin kesiti.....3
Şekil 2.2.a. Karabiberden etanol (% 95) ile ekstrakte edilen piperinin morfolojisi,
b. piperinin kimyasal formülü.....7
Şekil 2.3 SD ile bir molekül arasındaki inklüzyon kompleksinin oluşumu.....16
Şekil 2.4 Tuzun sulu çözeltisinin faz denge diyagramı.....23
Şekil 2.5 Varsayıma dayanan (hipotetik) çözünen/çözücü sistem faz diyagramı.....24
Şekil 2.6 β-SD'in kimyasal yapısı.....27
Şekil 4.1 343 nm dalga boyunda ölçülen piperin standart eğrisi.....38
Şekil 4.2 Dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle edilmiş β-SD içeren karabiber oleorezinin TEM görüntüsü.....41
Şekil 4.3 Piperin, β-SD, oleorezin-etanol çözeltisi ve mikrokapsüle ait termogram.....42
Şekil 4.4 Karabiber oleorezininin suda β-SD ile 25, 35 ve 45ºC'daki faz çözünürlüğü.....42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi.....39
Çizelge 4.2 Karabiber oleorezini ile β-SD arasındaki kompleks oluşumunun termodinamik değerleri.....44
Çizelge 4.3 Serbest haldeki karabiber oleorezini ve mikrokapsülün sahip olduğu DPPH radikali yakalama aktivitesi.....44
Çizelge 4.4 Serbest haldeki karabiber oleorezininin ve mikrokapsüldeki oleorezinin içerdiği toplam fenolik madde.....45
Çizelge 4.5 Serbest haldeki karabiber oleorezini ile mikrokapsüldeki oleorezinin MİK değerleri.....46

1. GİRİŞ

Karabiber, tüketim alışkanlığı bakımından baharatlar içinde ilk sırada yer alır. Dünyada kullanılan en önemli, en popüler ve en yaygın baharattır. Gıdalara aroma-lezzet kazandırmak, renk vermek ve işlenmiş gıdaları muhafaza etmek için yoğun bir kullanıma sahiptir. Aynı zamanda tedavi edici özelliğinden yararlanılır ve bu nedenle halk hekimliğinde kullanılır (Peter 2001). 'Siyah altın' veya 'baharat kralı' olarak da adlandırılan karabiberin tarihi, baharat ticareti kadar eskidir. Karabiber, batı dünyasına sunulan ilk doğulu baharattır. Hristiyanlığın yayılmaya başladığı yıllarda, karabiber tanelerinin çok değerli olduğu ve para yerine kullanıldığı bildirilmektedir (Farrell 1990).

Karabiber oleorezini, öğütülmüş karabiberin çeşitli yöntemlerle ekstraksiyonu sonucu elde edilir ve bu ürünün öğütülmüş karabibere göre üstünlükleri vardır. Karabiber oleorezini; hijyenik ve konsantre bir üründür, istenilen aroma düzeyine standardize edilebilir ve hacminin azalması nedeniyle depolamada daha az yere ihtiyaç duyulur. Bunun yanında karabiber oleorezini ısı, ışık, oksijen ve neme duyarlıdır. Bu gibi istenmeyen durumlar kısa raf ömrüne neden olur.

Mikroenkapsülasyon tekniklerinden birisi olan dondurarak kurutma tekniği; aroma, biyoyararlılık, yapı, tekstür vb. ürün özelliklerinin korunmasını gerektiren yüksek kaliteli ürünler için ideal bir tekniktir. Dondurarak kurutma işlemi düşük sıcaklıklarda ve oksijensiz bir ortamda gerçekleştiğinden üründe meydana gelebilecek istenmeyen değişimleri önler.

Sikodekstrinler (SD) nişastanın enzimatik hidrolizi ile üretilip α-, β- ve γ-SD şeklinde adlandırılırlar. Sikodekstrinler moleküler kaviteye sahip olduklarından diğer moleküllerle inklüzyon kompleksi oluştururlar. Enkapsülasyon işleminde SD'lerin duvar materyali olarak kullanılması; çözünürlük, biyoyararlılık ve raf ömrü gibi ürün özelliklerini geliştirebilir. Aynı zamanda bileşenleri bozulmalara karşı korur.

Bu çalışmanın amacı; karabiber oleorezinin, kaplama materyali olarak modifiye nişasta türevi olan β-SD kullanılarak dondurarak kurutma tekniği ile mikroenkapsüle edilmesi,

elde edilen mikrokapsüllerin karabiber oleorezinin aktif maddesi olan piperini tutma etkinliğinin araştırılması ve yapısal özelliklerinin incelenmesidir. Ayrıca faz çözünürlüğü çalışmalarıyla β-SD ile karabiber oleorezini arasındaki termodinamik olayların araştırılması, mikroenkapsülasyon işleminin antioksidan, fenolik madde ve antimikrobiyal özelliklere olan etkisinin araştırılmasıdır.

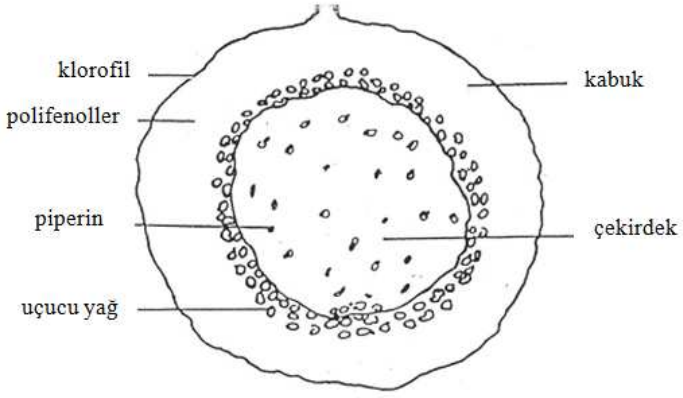
2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Karabiberin Biyolojisi

Latince Adı: *Piper nigrum* L.

Familya: Piperaceae

Bitki: Hindistan kökenli, çok yıllık bir bitkidir. Asma benzeri tırmanıcı-sarılıcı bir yapıya sahip olup, kalın saplı, 6-7 m boyunda ve oval şekilde büyük yaprakları vardır. Salkım şeklinde bir arada olan küçük-beyaz çiçekleri vardır ve her salkımda yaklaşık 20-30 adet meyvesi bulunur (Akgül 1993).



Şekil 2.1 Karabiberin kesiti (Attokaran 2011)

Karabiber, ekvatora yakın olan bölgeler gibi ılık ve nemli iklime sahip ortamlarda, 1500 mm veya daha çok yağış alan bölgelerde yetişir. Sıcaklığın 10°C'un altına düşmesi bitki gelişimi için iyi değildir. Bitkinin çoğaltılması çelikten vejetatif olarak yapılır. Karabiber tohumunun kesiti şekil 2.1'de yer almaktadır.

Karabiberin geleneksel büyük üreticileri Hindistan, Endonezya, Brezilya ve Malezya'dır. Karabiber üretimine son katılan ülke Vietnam'dır ve en büyük karabiber ihracatçısı olan ülke pozisyonundadır. Hindistan dışındaki üretici ülkeler Hindistan'dan farklı olarak önemli bir iç pazara sahip değildir. Sri Lanka, yakıcılıktan sorumlu bileşen olan piperini yüksek karabiber ekstraktı üreticisidir. Ayrıca Kamboçya, Madagaskar, Singapur, Sri Lanka, Tayland, Birmanya ve Komor Adaları'da karabiber üreten diğer ülkeler arasındadır (Attokaran 2011).

2.2 Karabiberin Fiziksel Özellikleri

Tam olgunlaşma gerçekleşmeden toplanan yeşil meyveler, güneş altında veya ateşte kurutulunca griden koyu kahverengi siyaha kadar değişen tonlarda görünüme sahip olur. Karabiber taneleri, 4-6 mm çapında, tek tohumlu, yüzeyi değişen oranlarda buruşuk, iç kısımları beyazımsı unsu yapıdadır. Meyveler öğütülmemiş olarak 'tane karabiber', öğütülerek ise 'toz karabiber' adı altında satışa sunulmaktadır. Tane karabiber, biber çeşitleri arasında en güçlü tat ve kokuya sahip olan çeşittir.

Olgunlaşmaya yakın veya olgunlaşmış, sarı- kahverengi renkten kırmızı-kahverengi renge kadar değişen meyvelerin, birkaç gün suda fermentasyona bırakılarak, dış kabuğunun çıkarılması ve güneşte kurutulması ile "beyaz biber''elde edilir. Yeşil biber ise olgunlaşmamış yeşil renkli meyvelerin toplanıp tuzlu suda bekletilmesi vb. işlemler sonucu elde edilen üründür (Aydın 2001).

2.3 Karabiberin Kimyasal Özellikleri

Baharat olarak tüketilen her 100 g karabiberde: 255 kcal enerji, 10.5 g su, 11g protein, 3.3 g yağ, 64.8 g karbonhidrat, 13.1 g lif, 4.3 g kül bulunurken, 437 mg Ca, 29 mg Fe, 194 mg Mg, 173 mg P, 1255 mg K, 44 mg Na, 1 mg Zn mineral maddeleri ve 1 mg niasin, 190 IU A vitamini bulunur.

Karabiberde toplam kül; en çok %7, asitte çözünmeyen kül; en çok %1.5, su; en çok %12, ham selüloz, en çok %12.5, uçucu yağ; en az %1.5, uçucu olmayan metilen klorür ekstraktı; en az %7.5 ve nişasta; en az %30 olmalıdır (Akgül 1993).

2.3.1 Uçucu bileşenler

Karabiberin aromasına özellikle uçucu yağlar büyük katkı sağlar ve karabiber meyvesinde %2–5 arasında uçucu yağ bulunur. Karabiber tanelerinden buhar destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın rengi, berraktan-solgun yeşil renge kadar değişir, yakıcı, baharatsı ve taze aromalıdır. Özgül ağırlık (25°C); 0.864-0.884 g/cm^3,

optik çevirme (20°C); -1°/-23°, kırılma indisi (20°C); 1.4795-14880, çözünürlük (%95 etanol); 3 hacimdir (Parthasarathy vd. 2008).

2.3.1.1 Monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli bileşenler

Karabiber üzerinde yapılan çalışmalarla 15 farklı monoterpen hidrokarbon bileşeni tanımlanmıştır, bunlar: kamfen, δ^3-karen, p-simen, limonen, mirsen, cis-osimen, α-fellandren, β-fellandren, α- ve β-pinenler, sabinen, α ve γ-terpinenler, terpinolen ve α-tujendir.

Karabiber uçucu yağında yaklaşık 43 oksijenli monoterpen bileşen bulunmuş ve teşhis edilmiştir. Bunlar: borneol, kamfor, karvakrol, cis-karveol, trans-karveol, karvon, karvetanaseton, 1,8-sineol, kripton, p-simen-8-ol, p-simen-8-metil eter, dihidrokarveol, dihidrokarvon, linalol, cis-2-mentadien-2-ol, 3,8(9)-p-mentadien-1-ol, 1(7)-p-mentadien-6-ol, 1(7)-p-mentadien-4-ol, 1,8(9)-p-mentadien-5-ol, 1,8(9)-p-mentadien-4-ol, cis-p-menten-1-ol, mirtenal, mirtenol, metil karvakrol, trans-pinokarveol, pinokamfon, cis-sabinen hidrat, trans-sabinen hidrat, 1-terpinen-4-ol, 1-terpinen-5-ol, α-terpeneol, 1,1,4,trimetilsiklohepta-2,4-dien-6-ol, fellandral, piperiton, sitronellal, nerol, geraniol, izopinokamfon, metil sitronellat, metil geranat, α-terpenil asetat, terpenolen epoksit ve trans-limonen epoksittir.

Karabiber uçucu yağında bulunan esas monoterpen hidrokarbonlar; α-pinen, β-pinen, sabinen ve limonendir (Parthasarathy vd. 2008).

2.3.1.2 Seskiterpen hidrokarbonlar ve oksijenli bileşenler

Karabiber uçucu yağında oksijenli terpen hidrokarbonlar da bulunur. Bunların başında β-karyofillen gelir ve karabiber yağında bulunan temel seskiterpen hidrokarbondur. Başlıca oksijenli bileşenler şunlardır: β-karyofillen, α-cis-bergamoten, α-trans-bergamoten, β-bisabolen, δ- ve γ- kadinenler, kalamenen, α-kopaen, α- ve β-kubenenler, ar-kurkumen, β- ve δ-elemenler, β-farnesen, α-guain, α- ve γ-humulenler,

isokaryofillen, γ-murolen, α-santalen, α- ve β-selinenler, leden, seskisabinen ve zingiberendir.

Karabiber yağında yaklaşık 20 tane oksijenli seskiterpen tanımlanmıştır. Bunlar: 5,10(15)-kadinen-4-ol, karyofilla-3(12), 7(15)-dien-4-β-ol, karyofilla-2,7(15)-dien-4-β-ol, karyofilla-2,7(15)-dien-4-ol, β-karyofillen alkol, karyofillen keton, karyofillen oksit, epoksi-dihidrokaryofillen, cis-nerolidol, 4,10,10-trimetil-7-metilen bisikle-(6.2.0) dekan-4-karboksaldehit, kubenol, epi-kubenol, viridiflorol, α- ve β-bisabololler, kubebol, elemol ve γ-ödesmol.

Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda karabiberin kimyasal yapısının çok değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, bitkinin kültür bitkisi olup olmamasına, iklim değişikliğine, meyve olgunluğuna ve uçucu yağı elde etme yöntemine göre değişmektedir (Parthasarathy vd. 2008).

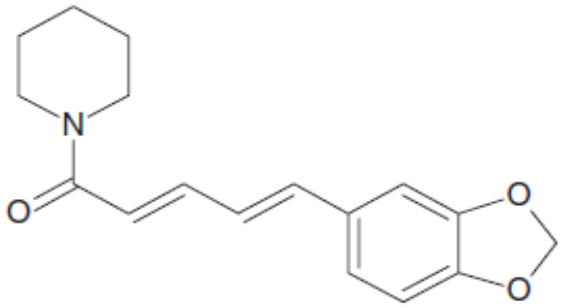
2.3.1.3 Karabiberde bulunan aromatik bileşenler

Karabiber yağında tanımlanan aromatik bileşikler; öjenol, metil öjenol, miristisin, safrol, benzaldehit, trans-anetol, piperonal, m-metil asetilbenzen, p-metil asetilbenzen, n-butirofenon, benzoik asit, fenil asetik asit, sinnamik asit ve piperonik asittir. Metil heptenon, pinol, butirik asit, 3-metil butirik asit, hekzanoik asit, 2-metil asit, metil heptanoat, metil oktanoat, 2-undekanon, n-nonan, n-tridekan, n-nonadekan ve piperidin tanımlanan diğer bileşenlerdir (Parthasarathy vd. 2008).

2.3.2 Uçucu olmayan bileşenler

Karabibere tat veren temel tat maddesi piperindir. Piperin, 128-130°C erime noktasına sahip, sarı kristal yapıda bir maddedir. Piperin, $C_{17}H_{19}O_3N$ şeklinde kimyasal formülü olan, sulu alkali veya nitrik asitle hidrolizi sonucu, uçucu özellik kazanan bazı oluşturan $C_5H_{11}N$'ı veren, daha sonra piperidin olarak tanımlanan zayıf bir bazdır. Hidrolizin asidik ürünü; piperin asit, 5-(3,4-metilendioksifenil)-2,4,pentadienoik asit şeklinde gösterilir (Peter 2001).





(a) (b)

Şekil 2.2.a. Karabiberden etanol (%95) ile ekstrakte edilen piperinin morfolojisi (Padalkar ve Gaikar 2008), b. piperinin kimyasal formülü (Parthasarathy vd. 2008)

Piperin, karabiber ürünlerinin ana bileşenidir. Karabiber ürünlerinden karabiber oleorezininde yeni bir acılık bileşeni olan piperaninin izolasyonu yapılmış, tanımlanmış ve yapısı trans-5-(3,4-metilendioksifenil)-2-pentenoik asit piperidit sentezi ile gösterilmiştir. Karabiberin acılığı; yapısı trans, trans-5-(3,4-metilendioksifenil)-2, 4-pentadienoik asit piperit şeklinde tanımlanan piperinin varlığına dayandırılmıştır. Sonraki çalışmalar, piperinden farklı olan ve tanımlanamayan maddelerin de bu baharatın acılığına, katkıda bulunduğunu göstermiştir (Parthasarathy vd. 2008).

Piperinik asitin 4 izomeri vardır. Bunlar 2-trans 4-trans (piperin); 2-cis 4-trans (izopiperin); 2-trans 4-cis (izokavisin) ve 2-cis 4-cis (kavisin)'dir. Piperinin 3 izomerinin acılığı zayıf ve ışığa karşı duyarlılıgi yüksektir (Peter 2001).

Piperin, benzin veya etilen diklorür çözeltisinde, UV spektrofotometrede, 342–345 nm'de en yüksek absorbsiyonun ölçülmesiyle belirlenir (Peter 2001).

Biber ekstraktında, acılık derecesine sahip beş yeni minör alkaloit tanımlanmıştır. Bunlar; piperettin, piperilin, piperolein A, piperolein B ve piperanindir. Eser miktarda üç bileşen tanımlanmıştır. Bunlar; peepuloidin, guineesin ve piperisit olup, bu bileşenlerin böcek öldürücü özellikte oldukları bildirilmiştir (Parthasarathy vd. 2008).

Zarai vd. (2011), karabiberin kloroform, etil asetat, etanol ve metanol ekstraktları, saflaştırılmış piperin ve piperik asiti; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*,

Salmonella enterica, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidış*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus subtilis*'a karşı denemiştir. Ekstraktlar, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin çoğuna karşı farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ekstraktlar arasında en etkili etanol ekstraktı olmuştur. Etanol ekstraktına duyarlı bakteriler *S. aureus* ve *B. subtilus* olurken, *E. coli* ve *K. pneumonia* en dirençli bakteriler olmuştur. Çalışmada karabiberin etanol ekstraktının antibakteriyel aktivitesi, karabiberde bulunan fenolik ve flavonoit bileşikler ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre saf piperik asitin, gıda kaynaklı patojenlere karşı doğal koruyucu olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Sharma vd. (2010), tüberkloz (*Mycobacterium tuberculosis*) tedavisinde kullanılan başlıca ilaçlardan olan rifampiçini piperin ile birlikte test etmiştir. Çalışmanın sonucunda piperinin *M. tuberculosis*'in yapısında bulunan ve tedavide kullanılan ilaçlara direnç gösteren Rv1258c proteinin inhibisyonu üzerinde önemli bir rol oynadığı ilk defa belirtilmiştir.

Rahman vd. (2011) tarafından, doğal baharat gruplarının içme suyundan izole edilen *E.coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, karabiber ekstraktında bulunan en büyük fitokimyasalın ve aktif yapının piperin olduğu, piperinin de *E.coli* üzerine inhibe edici özelliğinin bulunduğu belirtilmiştir. Piperinin antibakteriyel aktivitesinin, molekülün aromatik halkasına bağlı olan konjuge çift bağlardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

2.3.3 Karabiberin fenolik bileşenleri

Karabiberin fenolik bileşenleri, flavanol ve fenolik asit glikozitlerinin karışımıdır. Peter (2001) tarafından bildirildiğine göre; Parmar (1997) karabiberde bulunan flavanolları listelemiştir. Bunlar kuersetin, izokuersetin, izoramnetin 3-β-D-rutinosit, kamferol 3-arabinosit, kamferol-3-β-galaktosit, kuersetin-3-o-β-D rutinosittir. Karabiber ayrıca sitosterol içerir.

Kapoor vd. (2009) yapmış oldukları bir çalışmada, hardal yağı içerisine karabiber uçucu yağı, karabiber oleorezini, BHA, BHT ve PG ilave edip, örneklerin antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Çalışmada karabiber uçucu yağı ve oleorezini, konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivite göstermiş, karabiber yağı ve oleorezinin konsantrasyonu arttıkça serbest radikal yakalama etkileri de artmıştır. Karabiber yağı, BHA ve BHT'den daha yüksek radikal yakalama etkisi gösterirken, PG'den daha düşük bir etki göstermiştir. Etil asetat oleorezininin ise etanol oleorezininden daha iyi bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Örneklerin radikal yakalama etkileri: PG > karabiber uçucu yağı > etil asetat oleorezini > etanol oleorezini > BHA > BHT > kontrol şeklindedir. Çalışmaya göre karabiber uçucu yağı ve oleorezinin içermiş olduğu β-karyofillen, limonen, β-pinen, piperin ve piperolein gibi bileşenlerin karabiberin antioksidan etkisine katkıda bulunduğu vurgulanmıştır. Ayrıca karabiber uçucu yağı ve oleorezininde bulunan antioksidan aktivitenin, sistemde var olan bileşenlerin sinerjetik etki yapmış olmasından kaynaklanabileceği de savunulmaktadır. Araştırıcılar; bu çalışmada yapılan analizlerin, karabiberin gıda endüstrisinde kolay ulaşılabilir doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğinin göstergesi olduğunu belirtmiştir.

Agbor vd. (2006) karabiber ve beyaz biberin antioksidan aktivitelerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, karabiber ve beyaz biberin hidrolize edilmiş ekstraktlarının polifenol konsantrasyonunun, hidrolize edilmemiş ekstraktların sahip olduğu polifenol konsantrasyonundan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Karabiberin hidrolize edilmiş ekstraktının antioksidan etkisi, beyaz biberin hidrolize edilmiş ekstraktının antioksidan aktivitesinden daha yüksektir. Ayrıca, biberin süper oksit radikali üzerine etkisi de araştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada, karabiberin serbest radikaller üzerinde daha etkili olduğu, ancak beyaz biberin de önemli ölçüde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bu durum, karabiberin polifenol içeriğinin daha yüksek olmasıyla açıklanmaktadır. Beyaz biber üretimindeki olgunlaşma aşaması polifenol içeriğini düşürmektedir.

Singh vd. (2008), karabiberin petrol eteri ekstraktını döner buharlaştırıcıda toz haline getirmiş ve örneği farklı oranlardaki petrol eteri ve etil asetat karışımları ile kolon

kromatografisi işlemine tabi tutmuştur. Sonuçta örneği R1 (6:4), R2 (5;5) ve R3 (4:6) olmak üzere 3 farklı fraksiyona ayırmış ve bu fraksiyonların antioksidan aktivitelerini karşılaştırmışlardır. Bütün fraksiyonlar konsantrasyona bağlı antioksidan aktivite göstermiştir. R3 fraksiyonunun linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonunu engelleme oranı R2 ve R1 fraksiyonlarından daha fazladır. Bütün fraksiyonlarin peroksidasyonu önleme gücü, α-tokoferolün önleme gücünden daha düşüktür. Aynı zamanda R2 ve R3 fraksiyonları DPPH radikali üzerine de etkilidir, fakat BHA'dan daha az etkilidir.

Gulcin (2005) karabiberin su ekstraktının etanol ekstraktına göre daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmiştir. 75 mg/mL konsantrasyondaki karabiberin su ve etanol ekstraktlarının linoleik asit peroksidasyonunu önleme gücü sırasıyla %95.5 ve %93.3 olarak bulunmuştur. Aynı konsantrasyondaki α-tokoferolün peroksidasyonu önleme gücü %70.4 iken, BHA ve BHT'nin peroksidasyonu önleme gücü sırasıyla %92.1 ve %95'tir. Bunun yanında 1 mg karabiberin su ekstraktı ve eter ekstraktında sırasıyla 54.3 ve 42.8 mg gallik asit olduğu tespit edilmiştir.

Suhaj vd. (2006) öğütülmüş karabiberi farklı dozlardaki γ-ışınlarına maruz bırakmış ve bu örneklerin metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Işınlamanın hemen ardından ve 1 ay sonra yapılan analizlerde örneklerin DPPH radikali yakalama etkileri düşmüştür, fakat depolamanın 2. ayından sonra antioksidan aktiviteleri önemli derecede artmıştır. Çalışmada bu durum, ışınlanmış karabiberlerin laboratuvar koşullarında depolanması sonucu kuru madde miktarında meydana gelen artış ile ilişkilendirilmiştir.

2.4 Karabiberden Elde Edilen Ürünler

Karabiber her ne kadar baharat olarak, yani toz halde kullanılsa da bu materyalden değişik ürünler de elde edilmektedir.

Bu ürünler şunlardır:
Toz karabiber

Karabiber oleorezini
Karabiber yağı
Mikroenkapsüle edilmiş karabiber
Karabiber atıklarından elde edilen yan ürünler
Çözünür karabiber, salça gibi ürünlerdir (Peter 2001).

2.4.1 Karabiber oleorezini

Karabiber oleorezini, öğütülmüş karabiberin herhangi bir organik çözücü (aseton, etanol, etil asetat ve etilen diklorür) ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen üründür. Karabiber oleorezini sektörde baharat damlası olarak pazarlanır, toplam acılığı içerir ve karabiberin temel tat bileşenidir (Peter 2001).

Son yıllarda, iki aşamalı bir işlem ile oleorezin eldesi yaygınlaşmıştır. İlk aşamada öğütülmüş karabiberden buhar destilasyonu ile uçucu yağ elde edilir. İkinci aşamada ise yağı alınmış olan karabiber, çözücü ile ekstrakte edilir. Çözücünün uzaklaştırılması ile piperince zengin olan ekstrakt elde edilir. Daha sonra bu ekstrakt, ilk fraksiyon olan karabiber yağı ile karıştırılır ve böylece oleorezin elde edilir (Attokaran 2011).

Karabiber oleorezini, öğütülmüş karabiberden %10-15 verimle elde edilen, viskoz-yarı katı bir üründür. Koyu yeşil renkli olup, %23-30 oranında uçucu yağ, %53-57 oranında piperin içerir. Klorofillerin uzaklaştırılmasıyla elde edilen üründe; renk sarımsı yeşil, uçucu yağ oranı %20 ve piperin oranı %55'tir. Bununla birlikte, farklı miktarlarda uçucu yağ (%29-44) ve piperin (%35-53) içeren ürünler de vardır. Oleorezinde üstte yağsı tabaka, altta (piperinde oluşan) kristal yapılı kısım bulunur. Homojenlik için propilen glikol gibi seyrelticiler katılıp karıştırılır, akıcılık sağlanır. Uçucu yağ en az %15, piperin en az %35 olmalıdır. Oleorezinin aroma kalitesi uçucu yağ miktarına, özellikle de δ-3-karen, β-pinen ve sabinenin karyofillenle olan oranına bağlıdır. Lezzet ise, mevcut alkaloitlerin %95'ini oluşturan piperinden kaynaklanır (Akgül 1993).

2.5 Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon; katı, sıvı veya gaz halindeki bileşenlerin, enzimlerin, hücre ve benzeri maddelerin, protein veya karbonhidrat kaynaklı maddeler içerisinde hapsedilmesidir (Ünal ve Erginkaya 2010).

Mikrokapsüller içerdikleri maddeleri özel şartlar altında belli oranlarda salıverebilir. Fakat yine de içerdikleri maddeyi koruma yeteneğine sahiptirler. Mikrokapsüller, kullanılan materyal ve yönteme bağlı olarak nanometreden milimetreye kadar değişebilen aralıkta büyüklüğe ve çeşitli şekillere sahiptir. Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanım amaçları şunlardır.

- Çekirdek materyalinin dış ortam koşullarına olan reaktivitesinin azaltılarak korunması
- Çekirdek materyalinin çevreye olan buharlaşma veya transfer hızının azaltılması
- Materyalin orjinal olan fiziksel özelliklerinin modifiye edilerek kolay işlenebilir hale getirilmesi
- Materyalin yavaşça veya belli miktarlarda salınımının sağlanması
- Enkapsüle edilecek materyalin aromasının maskelenebilir olması
- Enkapsüle edilecek materyalin istenilen miktarda homojen olarak seyreltilebilmesi
- Karışım içerisinde bulunan bileşiklerin ayrılarak birbirleriyle reaksiyona girmelerinin önlenmesidir (Desai ve Park 2005).

2.6 Mikroenkapsülasyon Teknikleri

Gıda maddelerinin kaplama materyali içerisinde enkapsülasyonu çeşitli tekniklerle gerçekleştirilebilir. Mikroenkapsülasyon tekniğinin seçimi, kaplama ve çekirdek materyalinin fiziksel ve kimyasal özellikleri doğrultusunda gerçekleştirilir. Mikrokapsüllerin fonksiyonel özelliklerinin başlıca belirleyicisi, kaplama materyalinin bileşimi ve aktif bileşenin performansının artırılması için kaplama materyalinin nasıl kullanılacağının bilinmesidir (Desai ve Park 2005).

2.6.1 Püskürterek kurutma

Aktif materyal, eriyik veya polimer çözeltisi içinde çözülür ve atomizer yardımı ile sıcak ortama püskürtülür. Çözelti içerisinde bulunan su, sıcaklığın etkisi ile buharlaşır. Bu tekniğin avantajı materyalin kurutucu ile olan temasının çok kısa olması ve ekonomik olmasıdır (Shekhar vd. 2010). Kurutma işleminde taşıyıcı gaz olarak hava veya azot gazı kullanılır (Koç vd. 2009).

2.6.2 Püskürterek soğutma ve dondurma

Püskürterek soğutma ve dondurma tekniğinde; çekirdek ve duvar materyali karışımı soğutulmuş veya dondurulmuş havaya püskürtülür. Böylece duvar materyali çekirdek etrafında katılaşır. Püskürterek kurutma tekniğinden farklı olarak, bu teknikte suyun buharlaştırılması söz konusu değildir (Desai ve Park 2005).

2.6.3 Dondurarak kurutma

Dondurarak kurutma, aroma maddeleri gibi hassas ürünlerin enkapsülasyonunda kullanılan bir yöntemdir. Mikroenkapsülasyon işlemi düşük basınç ve sıcaklık altında gerçekleştiğinden uçucu bileşenler korunmaktadır (Gökmen vd. 2012). Bu teknik ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

2.6.4 Akışkan yatak kaplama

Akışkan yatak kaplama, ilk kez D.E. Wurster tarafından 1950 yıllarında ilaç tabletlerinin kaplanması amacıyla geliştirilmiştir ve bu nedenle ‘‘Wurster tekniği” olarak da bilinmektedir. Enkapsüle edilecek katı partiküller, sıcak veya soğuk hava yardımı ile kaplama odasına alt kısımdan verilir ve hava ile birlikte odanın üst kısmına taşınır. Çözelti halinde bulunan kaplama materyali, hava odasına enkapsüle edilecek partiküllerin üzerine atomize edilir ve partiküllerin kaplanması sağlanır. Odanın alt kısmından verilen hava akımı yardımı ile yukarı doğru hareket eden partiküllerin olabildiğince üniform kaplanması sağlanmaktadır (Gökmen vd. 2012).

2.6.5 Ekstrüzyon kaplama

Ekstrüzyon yönteminde, çekirdek ve kaplama materyali süspansiyon haline getirilir daha sonra şırınga içerisinde sisteme verilir. Karışım şırıngadan belirli bir hız ile katılaştırıcı çözelti (genellikle $CaCl_2$ çözeltisi) içine, sferik damlacıklar şeklinde düşer. Damlacıklar katılaştırıcı çözelti içinde mikrokapsül haline gelir (Ünal ve Erginkaya 2010).

2.6.6 Santrifüjlü ekstrüzyon

Sistemde nozıllar içeren döner ekstrüzyon başlığı bulunmaktadır. Kaplama ve çekirdek materyali birbiri ile karıştırılmadan farklı tüpler aracılığı ile besleme tüpünden nozıllara pompalanır. Cihaz, başlığın dikey ekseninde dönebilmesi için bir mile bağlanır. Başlık döndükçe çekirdek ve kaplama materyalleri nozıllardan geçerek, çekirdek materyalinin kaplama materyali içerisine hapsedilmesi sağlanır. Ekstrüzyon başlığı döndükçe, santrifüj kuvveti karışımı dışa doğru savurduğundan küçük partiküller oluşur (Gökmen vd. 2012).

2.6.7 Koaservasyon

Koaservasyon, çekirdek partiküllerinin polimerik bir çözeltide çözündürülerek etrafında homojen bir tabaka oluşturulması ve kaplama materyalinin sıvı fazının uzaklaştırılmasıdır. Koaservasyon tekniği ile mikroenkapsülasyon işleminde çok sayıda kaplama materyali kullanılmıştır, fakat araştırmalarda en çok çalışılan ve en iyi açıklanan kaplama sistemi jelatin/gam arabik sistemi olmuştur. Ayrıca gliadin, heparin/jelatin, karregenan, kitozan, soya proteini, polivinil alkol, jelatin/karboksimetilselüloz, β-laktoglobulin/gam arabik ve guar gam/dekstran da kullanılmıştır (Desai ve Park 2005).

2.6.8 Rotasyonal süspansiyonlu ayırma

Çekirdek ve kaplama materyali süspansiyon haline getirilir ve döner diske beslenir. Moleküller yörünge hareketi ile diskten fırlatılır ve soğutma veya kurutma kulesinde katılaşarak çekirdek materyalini hapseder. Sistemden büyük miktardaki çekirdek materyalini saran kaplama materyali ve daha küçük öz içeren saf kaplama materyali oluşumu şeklinde iki farklı tip ve parçacık büyüklüğünde enkapsüle materyal elde edilir (Gökmen vd. 2012). Düz, konik veya kâse şeklinde diskler kullanılmaktadır (Erkan 2008).

2.6.9 Ko-kristalizasyon

Çekirdek materyali sakkaroz matriksi ile kaplanır. Sakkaroz doygun hale gelinceye kadar konsantre edilir ve uygulanan sıcaklık kristalizasyona neden olmayacak şekilde ayarlanır. Çekirdek materyali kuvvetli bir şekilde karıştırılarak sakkaroz matrisine ilave edilir böylece kristalizasyon için karışımın çekirdeklenmesi sağlanır ve enkapsülasyon işlemi gerçekleşir (Koç vd. 2009).

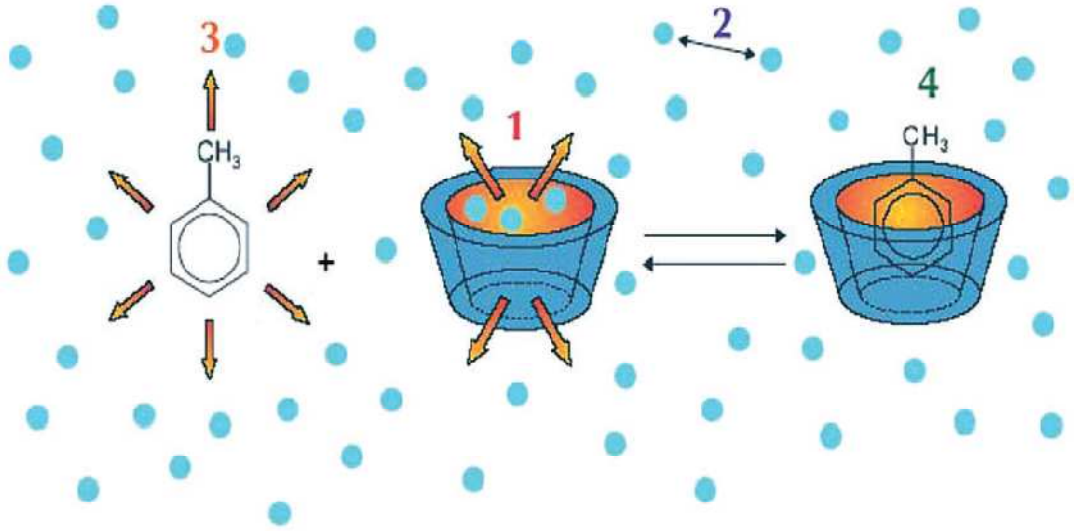
2.6.10 Lipozom ile kaplama

Lipozomlar fosfolipit bazlı membran yardımıyla tamamen çevrelenmiş sıvı fazdan oluşur. Aşı, hormon, enzim ve vitaminler için kullanılır. Bir veya daha fazla yağ katmanından oluşur, gıdalar için uygundur ve toksik değildir. Partiküllerin geçirgenlik, karalılık, yüzey aktivitesi ve afinite özellikleri; yağ bileşimi ve partikül büyüklüğü aracılığı ile değişebilir. Mikrokapsüllerin çapları 25 nm'den mikronlara kadar değişebilir, enkapsülasyon işlemi kolaydır ve partiküller dondurarak kurutma ile depolanabilir (Desai ve Park 2005).

2.6.11 İnklüzyon kompleksi oluşturma

SD'ler, tipik bir enkapsülasyon ortamı olarak kullanılır ve hidrolize nişastadan enzimatik proses yardımı ile elde edilirler. SD molekülünün dış kısmı hidrofilik iken iç

kısmı hidrofobiktir. Misafir moleküller apolar yapıdadır ve hidrofobik etkileşim aracılığı ile apolar boşluğa sıkıştırılır. Konakçı molekülün sahip olduğu kavite, konuk moleküllerin hapsedilmesini sağlar (Desai ve Park 2005).



Şekil 2.3 SD ile bir molekül arasındaki inklüzyon kompleksinin oluşumu (Marques 2010)

İnklüzyon kompleksleri, sistemde yer alan moleküllerin kovalent bağ oluşturması söz konusu olmaksızın, konuk molekülün, konakçı molekülün yapısında bulunan boşlukta hapsedilmesi ile elde edilen yapılardır. SD'lerin kavite adı verilen moleküler boşluklarının çapı ve hacmi glikoz ünitesi sayısı ile ilgilidir (Avcı ve Dönmez 2010).

2.7 Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma, donmuş bir ürünün süblimleşme ile kurutulması esasına dayanır. İşlem esnasında düşük sıcaklık uygulanması, bozulmaya yol açan kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonların çoğunu durdurduğu için yüksek kaliteli son ürün elde edilmesini mümkün kılar. Dondurarak kurutma prosesi, diğer kurutma yöntemleri ile karşılaştırıldığında, yüksek kaliteli son ürün veren en iyi su uzaklaştırma yöntemidir. Dondurarak kurutma esnasında suyun katı halde bulunması; ürün hacminin azalmasını en aza indirgeyerek, ürünün ilk yapısının ve şeklinin korumasını sağlar. Dondurarak kurutma prosesi birçok avantaja sahip olmasına rağmen kurutulmuş ürünler için çok pahalı bir yöntemdir (Ratti 2001).

Dondurarak kurutma, gıdaların raf ömrünün artırılması için cazip bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Kurutma işlemi, ortam sıcaklığından daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilir ve kurutma ortamında havanın bulunmaması oksidasyon veya kimyasal reaksiyonları engellediği için ürünün bozulmasını önler. Bu yöntem, sprey kurutma yönteminde kullanılan yüksek sıcaklık sonucu; yapı, tekstür, görünüm ve aromada meydana gelen değişim ve bozulmalara bağlı ürün zararını en aza indirgeyebilir (Anwar ve Kunz 2011).

Dondurarak kurutma, ısıya duyarlı olan biyolojik ürünlerin korunması için kullanılan en önemli proseslerden birisidir. Kolay korunabilir gıdalardan çok kompleks biyoteknolojik veya farmakolojik ürünlere kadar geniş bir uygulama alanı mevcuttur. Gıda ürünlerine ek olarak; çiçekçilik, mikrobiyoloji uygulamaları, medikal araçlar, kozmetik, özellikle kimyasallar ve pigmentler, enzimler ve seramik tozları için de kullanılırlar.

Dondurarak kurutma yönteminin popülerliği, çeşitli biyolojik ürünlerin uzun süre muhafaza edilebilmesinin mümkün olmasıdır. Günümüzde gıda ve farmasötiklerin büyük bir çoğunluğunun liyofilizasyon yöntemi ile üretilebilmesi, hücre vb. canlı sistemlerin uzun süre korunması gibi uygulamalarda başarılı bir teknik olmasına rağmen bilim dünyası için zor bir alandır.

Devam eden proses ve inovasyon çalışmaları, bu alanın endüstriyel ölçekli uygulamalarına olanak sağlamıştır. Dondurarak kurutma tekniği, meyve gibi ısıya duyarlı ürünlerin kurutulmasında gelecek vaat etmektedir. Proses şartları, dondurularak kurutulan meyvelerin değerlendirilmesi için kullanılan kalite kriterleri ve kurutma süresi üzerine etkilidir (Ciurzynska ve Lenart 2011).

Düşük sıcaklık ve basınç kombinasyonu; ürünün aroma, renk ve şekil özelliklerini korur, rehidrasyon esnasında kuru ürünün süngerimsi yapı kazanmasını sağlayarak, hızlı bir şekilde su emilimini mümkün kılar ve ürünün taze halde iken sahip olduğu özellikleri geri kazanmasını sağlar. Ancak, istenilen bu ürün özelliklerinin elde edilmesi için, uzun bir işlem süresi ve yüksek maliyet gereklidir. Ratti (2001)'ye göre,

dondurarak kurutma işleminde kullanılan enerji tüketiminin %45'i süblimleşme için, %26'sı vakum için, %25'i yoğunlaşma için ve %4'ü donma için kullanılmaktadır (Schossler vd. 2012).

Dondurarak kurutma; diğer tekniklerle karşılaştırılamayacak avantajlara sahip olmasına rağmen; yüksek enerji tüketimi, işletme ve bakım maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle pahalı bir yöntemdir. 1 kg suyun dondurarak kurutma tekniği ile uzaklaştırılması için gerekli olan enerji tüketimi, geleneksel kurutma yöntemlerinde harcanan enerjinin yaklaşık 2 katıdır. Dondurarak kurutma yönteminin maliyeti, havada kurutma yöntemi ile kıyaslandığında 4-8 kat daha fazladır. Dondurarak kurutma işleminde kullanılan düşük sıcaklık ve basınca ulaşmak için gerekli olan enerjinin sadece küçük bir kısmı kaybolmaktadır (Ciurzynska ve Lenart 2011).

Proseslerin ürün kalitesini kısmen veya tamamen etkileyebildiği bilinen bir gerçektir. Gıda maddelerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde meydana gelen değişiklikler; proses, depolama ve dağıtım süreçlerinden kaynaklanabilir. Bu değişimler ürünün fiziksel görünümünü etkileyebildiği gibi besin maddelerinin bozulmasına ve aroma kayıplarına da neden olabilir. Besin değeri yüksek olan gıdaların işlenmesinde doğru koruma tekniğinin seçimi, başarılı bir işlem için kilit nokta olabilir (Ratti 2001).

Marques'in (2007) yaptığı bir çalışmada, acerola meyvesinin dondurarak kurutulması işleminde; donma sürecinin hızlı olması, ürünün orjinal olan gözenekli yapısının korunmasına yardımcı olmakta ve son ürünün bozulma reaksiyonlarına karşı biraz daha hassas olmasına neden olmaktadır. Dondurarak kurutulmuş acerola meyvelerinde çok az büzülme ve yüksek rehidrasyon kapasitesi saptanmıştır.

Ciurzynska ve Lenart (2011) tarafından bildirildiğine göre, dondurularak kurutulmuş ve uygun paketlenmiş et ürünleri, taze haldeyken sahip olduğu fiziksel, kimyasal, biyolojik ve duyusal özelliklerinin büyük bir kısmını uzun süre muhafaza edebilmektedir.

Babic vd. (2009) en çok tüketilen ve çok çabuk bozulabilen ürünlerden olan tavuk göğüs etinin kalitesi üzerine dondurarak kurutma işleminin etkisini araştırmıştır. Bu

çalışma ile dondurarak kurutulmuş tavuğun, uzun raf ömrüne ve arzu edilen kaliteye ulaşmasının mümkün olduğunu fakat her kalınlık için farklı parametre uygulanması gerektiğini, kalınlık arttıkça istenilen ürün kalitesine ulaşılmasının zorlaştığını ve işlemin daha hassas hale geldiğini ortaya koymuşlardır.

Dondurarak kurutma tekniği, dondurarak kurutulmuş dokuda bulunan RNA'nın izolasyonuna ve uzun süre depolanmasına izin vermektedir. Bunun yanında konsantre starter kültür üretimi ve muhafazası için yaygın olarak kullanılmaktadır. Dondurarak kurutma işlemi boyunca hücreler; onların yaşam aktivitelerini olumsuz olarak etkileyen, düşük sıcaklık ve düşük su aktivitesi gibi ekstrem çevresel koşullara karşı test edilirler (Ciurzynska ve Lenart 2011).

2.7.1 Dondurarak kurutma işlemi aşamaları

Dondurarak kurutma, donmuş haldeki gıdaların veya çözeltilerin yapılarında mevcut olan çözücünün süblimleşerek, bağlı suyun ise desorpsiyon yoluyla çok yüksek vakum uygulanarak veya çok yüksek basınç altında uzaklaştırılması işlemidir.
Dondurarak kurutma işleminin aşamaları:

- Dondurma aşaması
- Birinci kurutma aşaması
- İkinci kurutma aşaması (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

2.7.1.1 Dondurma aşaması

İşlemin ilk basamağıdır. Dondurarak kurutma işlemine tabi tutulacak karışım, süspansiyon, çözelti veya tek başına gıda maddesi, donma noktasının altına soğutulur.

Maddeler 2 farklı donma şekli gösterir.

1. Kurutulacak madde içerisinde bulunan sıvı belirli bir sıcaklıkta hemen donar.
2. Kurutulacak madde içerisinde bulunan sıvı donmaz fakat viskoz hale gelir. Bu tip durumlarda ötektik sıcaklıktan bahsedilemez bunun yerine minimum donma sıcaklığı kullanılır.

Genellikle dondurma aşaması sonrasında, başlangıçta sistemde var olan suyun yaklaşık %65-90'i donmuş halde, yaklaşık %10-35'i donmamış halde yani bağlı su olarak bulunur. Dondurarak kurutulmuş bir sistemdeki gözeneklerin veya partiküllerin büyüklüğü, dağılımı ve birbirleriyle olan ilişkileri dondurma aşamasında oluşan buz kristallerine bağlıdır. Sistem içerisinde süblimleşme esnasında söz konusu olan ısı ve kütle transferi parametreleri, gözenekli yapıya bağlıdır. Oluşan buz kristalleri; küçük ve birbirleri ile olan bağları düşük ise sistemdeki su buharı taşınımı kısıtlı olacaktır. Eğer sistemde meydana gelen buz kristalleri büyük ve homojen yapıda ise su buharı taşınımı daha hızlı olur ve böylece dondurarak kurutma işlemi daha kısa sürede tamamlanır. İşlemde kullanılan dondurma tekniği, dondurma hızı, çözeltinin bileşimi ve çözeltinin bulunduğu kabın şekli, kurutma hızını ve son ürün kalitesini doğrudan etkileyen parametreler olduğu için oldukça önemlidir (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

2.7.1.2 Birinci kurutma aşaması

Kurutucu bölgenin basıncı; kurutulacak materyalin yapısına bağlı olarak, süblimleşmenin gerçekleşeceği değere düşürülür. Kurutulacak materyalde bulunan su molekülleri süblimleşirken, süblimleşme için gerekli olan ısıyı kurutulacak tabakadan sağlar. Bu duruma bağlı olarak da donmuş tabakanın sıcaklığı daha fazla düşer. Eğer sisteme gerekli olan süblimasyon ısısı herhangi bir kaynaktan sağlanmazsa, kurutulacak materyalin yapısında bulunan donmuş suyun buhar basıncı, kurutma sisteminin içindeki su buharının kısmi basıncı ile dengeye ulaşır. Bunun akabinde materyal içerisinde bulunan suyun süblimleşmesi durur ve kurutma işlemi gerçekleşmez. Bu nedenle sisteme her hangi bir kaynaktan süblimasyon ısısı sağlanmalıdır. Bu ısı sisteme konveksiyon; kondüksiyon veya radyasyon yolları ile sağlanabilir.

Sisteme verilecek olan ısı, ürün özelliklerinin korunması açısından önemlidir. Sisteme verilen ısı;

- Materyalin biyoaktivitesinde değişime neden olmamalı,
- Materyal içerisinde kimyasal, biyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlara neden olmamalı,

- Materyalin renk, tekstür, görünüm vb. özelliklerinde değişime neden olmamalıdır.

İşlem esnasında donmuş tabakanın sahip olduğu maksimum sıcaklık doğrudan son ürün kalitesini etkiler bu nedenle sıcaklık önemle üzerinde durulması gereken bir faktördür. Önemli olan diğer bir faktör de donmuş tabakanın sıcaklığıdır. Bu sıcaklık, dondurulacak materyalin içerdiği çözücünün erime sıcaklığını geçmemelidir.

Birinci kurutma aşamasında kurutulacak madde; ötektik formda ve kurutma sisteminde minimum ötektik sıcaklık aşılmışsa, donmuş tabakanın erimesi ile karşılaşılabilir. Erime sonucunda materyal içerisinde bulunan çözücü, süblimasyon ile uzaklaştırılamaz. Bu durum son üründe bir takım istenmeyen durumların oluşmasına ve kalite kayıplarına neden olur.

Kurutulacak materyal camsı yapıda ve kurutma sisteminin sıcaklığı minimum donma sıcaklığını aşmışsa, dondurulacak materyal sertliğini kaybeder ve çöker. Bu durum sonucunda da materyal içerisinde bulunan çözücü uzaklaştırılamaz ve son üründe istenmeyen durumlar gelişir. Birinci kurutma aşamasında kurutulacak materyalde; çökme ve erime gibi olumsuz bir durumun oluşmayacağı sıcaklığa T_m (süblimasyon ara yüzeyinin veya donmuş tabakanın sıcaklığı) denir.

Bu aşama süresince çözücünün süblimleşmesi ve bağlı suyun desorpsiyonu sonucu oluşan su buharı, kondensör yardımıyla kurutucu sistemden uzaklaştırılır ve uzaklaştırılan su buharı, kondensör yüzeyinde buz olarak toplanır. Su buharının sistemden uzaklaştırılması ile kurutma sistemindeki su buharının kısmi buhar basıncının, süblimasyon ara yüzeyindeki su buharının basıncından daha düşük olması sağlanır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

2.7.1.3 İkinci kurutma aşaması

İkinci kurutma aşamasında, materyalde bulunan donmamış haldeki bağlı su uzaklaştırılır. Esasında donmuş suyun tamamının birinci kurutma aşamasında, bağlı

suyun da ikinci kurutma aşamasında uzaklaştırılması beklenir fakat birinci kurutma aşamasında bir miktar donmuş su süblimleşmeden materyalde kalır.

Kurutulacak materyalde bulunan bağlı su; kimyasal adsorpsiyon, fiziksel adsorpsiyon ve kristalizasyon suyu olabilir. Bağlı suyun uzaklaştırılması için gerekli olan süre, serbest suyun uzaklaştırılması için gerekli olan süreye eşit veya bu süreden daha fazla olabilir.

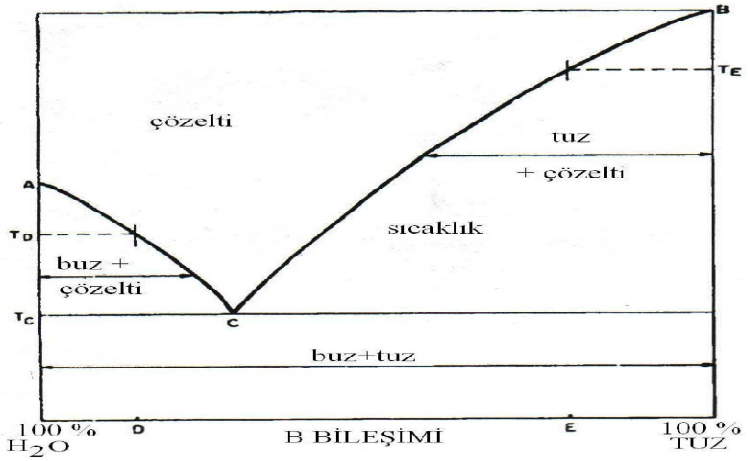
Materyalde bulunan bağlı su vakum etkisiyle uzaklaştırılır. Dikkat edilmesi gereken noktalar, kurutulacak materyalin sıcaklığı ve nemidir. Bu faktörler son ürün kalitesini doğrudan etkiler. İkinci kurutma safhasında materyalin sahip olduğu nem düzeyi; zaman, yer ve sıcaklığa bağlı olarak değişir. Bu durum da ürünün zaman ve yere bağlı bozulma riskine sahip olduğunu gösterir. Bu safhada uygulanan sıcaklık sürekli olarak kontrol altında tutulmalıdır. Sistem için gerekli olan ısı, birinci kurutma safhasında olduğu gibi kondüksiyon, konveksiyon ve radyasyonla sağlanır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

2.7.2 Dondurarak kurutma prosesinde dikkat edilmesi gereken kritik sıcaklıklar

2.7.2.1 Ötektik sıcaklık

Ötektik sıcaklık, proses sırasında süblimleşmenin gerçekleşebilmesi için donmuş materyalin tutulması gereken sıcaklığı ifade eder. İşlem sıcaklığı donmuş tabakanın erimesine neden olmamalı ve süblimleşme için yeterli olmalıdır.

Şekil 2.4'de, tuzun sulu çözeltisinin faz denge diyagramı gösterilmektedir. Saf suyun donma noktası A noktası ile, saf tuzun erime noktası ise B noktası ile ifade edilmiştir. Saf suya bir miktar tuz ilave edilirse çözeltinin bileşimi D noktasına gelir. Çözeltinin donma sıcaklığı da T_D olur. Çözeltiye uygulanan düşük sıcaklık devam ettirilirse buz sürekli olarak kristalleşir ve çözelti derişik hale gelir. C noktası buz ve tuzun karışım içinde kristalleşeceği noktayı ifade eder.



Şekil 2.4 Tuzun sulu çözeltisinin faz denge diyagramı (Öz 2009)

Eğer saf su, saf tuza eklenirse; çözeltinin bileşimi E noktasına denk gelir. Çözelti içerisindeki saf tuzun kristalleşmesi için sistem sıcaklığının düşürülmesi gerekir. Sistem sıcaklığı düşürülürse çözelti içerisindeki saf tuz çökelmeye devam eder ve çözelti seyreltik hale gelir.

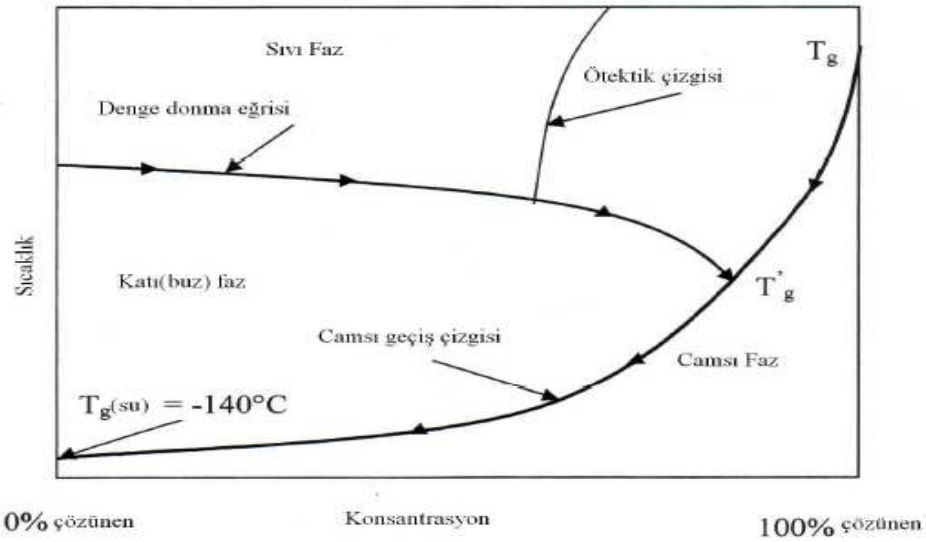
Şekildeki BC eğrisi; tuzun sudaki çözünürlük eğrisini, AC eğrisi; saf tuzun farklı konsantrasyonlardaki donma eğrisini ifade etmektedir. Ötektik nokta, tuzun çözünürlük eğrisi ve suyun donma eğrisinin kesişme noktasıdır. Bu sıcaklık; termal analiz, diferansiyel termal analiz ve elektriksel özdirenç yöntemleri ile tespit edilebilmektedir (Öz 2009).

2.7.2.2 Camsı geçiş sıcaklığı

Dondurarak kurutma işlemi esnasında donmuş materyalin sıcaklığının düşürülmesi ile T_g olarak ifade edilen camsı geçiş sıcaklığında, amorf yapı oluşur.

Son üründe mevcut olan nemin düzgün bir şekilde dağılmış olması, dondurarak kurutma işlemi boyunca materyale uygulanan sıcaklık profilinin bazı değerlerin altında tutulması (donmuş tabakanın sıcaklığı erime sıcaklığını geçmemelidir ve kurutulmuş tabakanın sıcaklığı yanma sıcaklığını aşmamalıdır) ve işlem sonunda yüksek kaliteli son ürün elde edilmesi zor bir durumdur. Şekil 2.5'de varsayıma dayanan çözünen/çözücü sistem faz

diyagramı gösterilmektedir. Her çözünen/çözücü sistemi için; çözünen konsantrasyonunun bir fonksiyonu olan, denge dondurma sıcaklığı mevcuttur.



Şekil 2.5 Varsayıma dayanan (hipotetik) çözünen/çözücü sistem faz diyagramı (Sadikoglu vd. 2006)

Camlaşma sıcaklığı, camsı yapının oluştuğu sıcaklıktır ve T' ile ifade edilir. Sistem içerisinde amorf faz, donmuş tabakada buz ile birlikte bulunur. Bu sıcaklıkta amorf faz, sert yapıdan viskoelastik kauçuk yapıya geçer. Camlaşma sıcaklığı dondurarak kurutma işlemine tabi tutulacak materyalin aniden dondurulmasıyla oluşur. Donma sıcaklığının ani olarak düşüşü, materyalin donma sıcaklığının altında sıvı formda kalmasına neden olur ve düşen sıcaklık materyalin vizkositesinin artmasına neden olur. Camlaşma geçiş sıcaklığının başlangıç ve sonuç noktası iyi tanımlanmıştır; bu nedenle camlaşma geçiş sıcaklığı, T'_g, geçiş bölgesinin orta noktası olarak alınır. T'_g; kurutulan materyalde kalan bağlı veya donmamış su miktarının güçlü bir fonksiyonudur.

T_g; buz yokluğunda amorf fazın camsı geçiş sıcaklığını ve kurutma zamanı ile değiştiğini ifade eder. Kurutulan materyalin kalıntı su miktarı düşerek dondurarak kurutma işlemi ilerler ve T_g artar. Bu durum özellikle dondurarak kurutma işleminin ikinci kurutma safhasında gerçekleşir. İlk kurutma safhası esnasında, donmuş materyalin sıcaklığı camsı geçiş sıcaklığının üzerine çıkarsa amorf fazda viskoz akış meydana gelir ve donmuş materyal gözenekli yapısını kaybederek çöker. Çökme olayı, dar bir sıcaklık aralığında meydana gelir. Çökme olayının ilk gerçekleştiği sıcaklık, kek

yapısının çökme sıcaklığı, T_c, olarak ifade edilir. T_c, camsı geçiş sıcaklığı ile yakından ilgilidir ve bazı araştırmacılar onların eşit olduğunu ifade etmiştir. Bir grup araştırmacı da çökme sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığının aynı olmadığını, çökme sıcaklığının camsı geçiş sıcaklığından 2°C daha yüksek olduğunu belirtmiştir.

İkinci kurutma safhasında materyalde bulunan bağlı su uzaklaştırılır, dondurarak kurutulmuş materyal tek bir T_g değerine sahip değildir. Materyaldeki bağlı suyun miktarına dayanan bir dizi T_g değerine sahiptir. Dondurma aşamasından sonra materyalde bulunan yüksek orandaki bağlı su miktarı, T_g değerinin düşük olmasına neden olurken materyalin sahip olduğu düşük orandaki bağlı su, T_g değerinin yüksek olmasına neden olur. Eğer son ürünün içerdiği kalıntı bağlı su miktarı ve ürünün depolama sıcaklığı yüksek ise depolama esnasında görünümde bozulma, viskoz deformasyon ve yapısal çökme meydana gelebilir. Bu nedenle dondurarak kurutulmuş materyalin depolama sıcaklığı, ürün stabilitesini sağlamak için T_g'den düşük olmalıdır. Eğer dondurularak kurutulmuş ürün oda sıcaklığında depolanacaksa, camlaşma sıcaklığı 30°C'un üzerinde olmalıdır (Sadikoglu vd 2006).

2.7.3 Dondurarak kurutma yöntemleri

Dondurarak kurutma yöntemlerinden üçü yaygın olarak kullanılır. Bunlar: Manifolt yöntemi, grup (batch) yöntemi ve yığın (bulk) yöntemidir. Her yöntemin özel bir amacı vardır ve kullanılan yöntem, istenilen son ürüne bağlıdır (http://www.labconco.com, 2012).

2.7.3.1 Manifolt yöntemi

Manifolt yönteminde şişe, ampul veya viallerde bulunan örnek, manifolt veya kurutma bölmesinin girişine takılır. Ürün yapısına ve hacmine bağlı olarak kabuk dondurma uygulanır veya düşük sıcaklıktaki su banyosuna batırılarak dondurulur. Önceden dondurulmuş olan ürün, ısınmayı önlemek için vakit kaybedilmeden manifolt veya kurutma bölmesi girişine takılır. Sistemde vakum oluşturulur ve süblimleşmenin gerçekleşmesi için sistem düşük bir sıcaklığa sabitlenir. Bu teknik küçük hacimli,

yüksek ötektik ve çökme sıcaklığına sahip ürünler için kullanılır. Manifolt yöntemi, grup yöntemine göre birçok avantaja sahiptir, çünkü kaplar tek tek manifolta takılır, her vial veya şişe sisteme doğrudan bağlantılıdır. Isı girişi veya su sirkülasyonu ile şişeler arzu edilen sıcaklığa ulaştırılır. Aynı anda farklı ürünlerin kurutulmasına izin veren manifolt sistemi üzerine, çok sayıda ve farklı büyüklüklerde şişeler bağlanabilir. Bazı ürünler için kesin sıcaklık kontrolü gereklidir ve bu nedenle manifolt yöntemi ile kurutma uygun değildir (http://www.labconco.com, 2012).

2.7.3.2 Grup yöntemi

Grup yönteminde benzer ürünü içeren çok sayıda ve aynı büyüklükteki şişeler tepsili dondurarak kurutucuya yerleştirilir. Ürün tepsili kurutucu içerisinde dondurulur. Ürün sıcaklığının kesin kontrolü yapılabilir ve kurutma esnasında ürüne uygulanan sıcaklık belli bir değere sabitlenebilir. Tepsi içindeki bütün vialler kurutma esnasında aynı şartlara maruz kalır, fakat bazen sistem içerisinde değişiklikler meydana gelebilir. Tepsi içindeki bölmelerde ısı girişi açısından çok az farklılıklar meydana gelebilir. Bu küçük değişimler son ürünün nem miktarında küçük farklılıklar ile sonuçlanabilir. Grup yöntemi atmosferik koşullar altında aynı anda çok sayıda vialin kapanmasına olanak sağlar. Vialler vakum altında veya inert gaz ile kapatılabilir. Bütün viallerin aynı anda kapanması, her vialde aynı çevresel şartların oluşmasını ve depolama boyunca üniform ürün stabilitesini garanti eder. Grup yöntemi, tek tip bir ürünün çok sayıda ampul veya vial içerisinde hazırlanması için kullanılır (http://www.labconco.com, 2012).

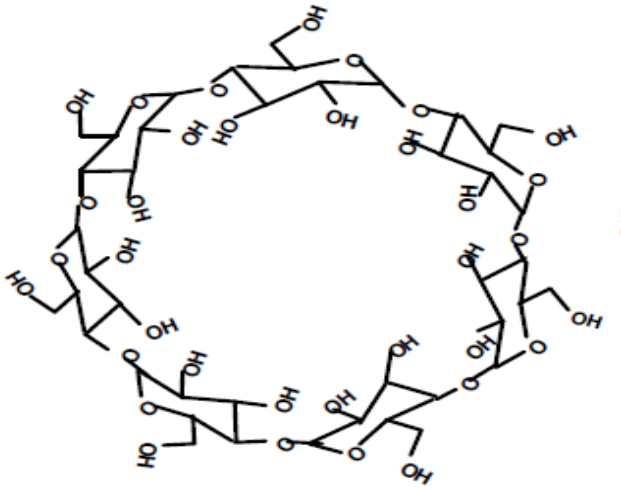
2.7.3.3 Yığın (dökme, bulk) yöntemi

Yığın yöntemi, grup yöntemi gibi tepsili dondurarak kurutucu sistemi içerisinde gerçekleştirilir. Ürün tepsi içerisine dökülür ve tek kısım halinde kurutulur. Isı girişi, tepsiden temas yoluyla sağlandığı için sınırlıdır. Yığın yönteminde, manifolt veya grup yönteminde olduğu gibi ürünün kontrollü şartlar altında kapatılması söz konusu değildir. Genellikle ürün kapanmadan önce sistemden uzaklaştırılır ve hava geçirmez kaplarda paketlenir. Yığın yöntemi, oksijene ve neme duyarlı olmayan kararlı ürünler için kullanılır (http://www.labconco.com, 2012).

2.8 Siklodekstrinler

SD'ler, nişasta türevlerinin özel bir tipi olup, siklodektrin glikozil transferaz enziminin nişastaya etkisi sonunda meydana gelir. Altı, yedi ve sekiz glikoz ünitesinden oluşan siklik ürünler; α, β ve γ-SD olarak adlandırılır. SD'ler gıdalarda doğal olarak bulunmazlar. Bazı ülkelerde aroma ve renk maddelerinin kapsüle edilmesi ve kötü kokuların maskelenmesi için bunların gıdalarda kullanılmasına izin verilmiştir. Aromatik maddelerin kapsüle edilmesine en uygun olanı β-SD'dir. Bu bileşik sıvı ortamlarda aromatik maddeler ile bağ yapar. β-SD, daha fazla lipofilik nitelikli olan aroma maddeleri ile kolaylıkla bağ yapma yeteneğine sahiptir. SD'in doku araları polar olmamasına karşın yüzeyleri polardır, bu durumu hidroksil grupları tayin eder (Bayrak, 2006).

SD'lerin sahip oldukları içi boş moleküler yapı, çok çeşitli organik bileşikler ile inklüzyon kompleksleri oluşturmalarına izin verir. Organik bileşikler SD'in hidrofobik kavitesine kısmen veya tamamen girer ve aynı anda iç kısımdan bir kaç yüksek enerjili su molekülünü dışarı çıkarır. SD ile enkapsüle edilen moleküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri modifiye edilebilir (Mourtzinos vd. 2007).



Şekil 2.6 β-SD'in kimyasal yapısı (Avcı ve Dönmez 2010)

İlk olarak Fransız bilim adamı Villier (1891) tarafından nişastadan *Bacillus amylobacter* ile SD'ler üretilmiştir. 1948 yılında SD'in inklüzyon kompleksi oluşturabildikleri tespit

edilmiştir. α, β ve γ-SD'ler GRAS listesinde yer almaktadır. SD'lerin günümüzdeki üretimi 100,000 tondan fazladır fakat, ülkemizde üretimi yapılmamaktadır.

SD'ler, fiziksel ve kimyasal olarak kararlı moleküllerdir. SD'ler ile enkapsülasyon, düşük çözünürlüklü nutrasötiklerin biyoyararlılığını, zar geçirgenliğini ve çözünme hızını artırarak, enkapsüle edilen molekülün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini sert bir şekilde modifiye edebilir. SD'ler aroma taşıyıcısı olarak görev yaparken, aroma maddelerini; oksidasyon, ısı ve ışık kaynaklı değişim ve bozulmalardan korur. Gıdaların depolama ömürlerini artırır, istenmeyen tat ve kokuları maskeler veya azaltır. En önemlisi de su içerisinde eser miktarda çözünen bileşiklerin çözünürlüğünü artırırlar (Mourtzinos 2008).

SD'ler, katı durumda ve sulu çözeltiler halinde kullanılabilir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş SD'ler; ilaçların çözünürlüğünü, kimyasal stabilitesini, biyoyararlılığını vb. özelliklerini geliştirmek için başarılı bir şekilde kullanılır (Ishiguro 2011).

SD'ler ile çeşitli bileşiklerin kompleksleri; misafir molekülün kararlılık, biyoyararlılık, membran geçirgenliği ve çözünürlük gibi bazı karakteristiklerinin gelişmesine neden olur. Bunlar kataliz, gıda endüstrisi, eczacılık, ayırma ve biyoteknoloji gibi çeşitli alanlarda kullanılır. Çeşitli moleküllerin SD'ler ile oluşturulan inklüzyon komplekslerinde, moleküllerin fizikokimyasal özelliklerinde belirgin değişimler gözlenmiştir.

SD'ler kozmetik alanında; merkaptan sistemlerinde kokuyu azaltma, saç boyalarında kararlılığı artırma, uçucu bileşenlerin kontrolü ve antiakne uygulamalarında aktif bileşen olması gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. SD'ler, aktif bileşenlerin nüfuz etme özelliklerini etkiler ve koku stabilitesini artırmak için kullanılır. Ayrıca SD'ler; krem, losyon ve deodorantlarda emülsifiyer olarak kullanılmaktadır. SD'ler UV ve görünür ışığı absorbe etmez bu nedenle misafir molekülü oksidasyon ve ışıl parçalanmadan (fitodegradasyon) koruyabilir. Bu nedenle güneş kremi ajanlarının mikroenkapsülasyonu 20. yy'ın ilginç alanlarından olmuştur (Al-Rawashdeh 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Tane karabiber materyali yerel bir marketten (Fiesta Spices, USA) temin edilmiştir. Karabiberin orijini Vietnam'dır.

Piperin standardı (%98) Alfa Aesar (Heysham, England) firmasından, enkapsülasyon işlemi için kullanılan; β-SD hidratı VWR firmasından (USA), mikrobiyolojik analiz için kullanılan; tryptic soy agar (TSA), tryptic soy broth (TSB) ve pepton kimyasalları Becton, Dickinson and Co. (Franklin Lakes, NJ, USA) firmasından, antioksidan aktivite tayini için kullanılan; DPPH radikali (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Sigma-Aldrich firmasından (Steinhein, Germany), toplam fenolik madde tayininde kullanılan: Folin-Ciocalteu belirteci MP Biomedical firmasından (Illkirch, France) temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Karabiber oleorezinin ekstraksiyonu

Karabiber oleorezinin ekstraksiyonu için Borges ve Pinto (1993) tarafından geliştirilmiş olan yöntem kullanılmıştır. Tane karabiber kahve öğütücüsü (Mr. Coffee, Boca Raton, Florida) ile öğütülmüş ve ekstraksiyon işlemi için %95 saflıkta etanol kullanılmıştır. Öğütülmüş karabiberden 100 g alınarak 300 mL etanol (%95) ile 24 saat sürekli karıştırılmıştır. Daha sonra Whatman filtre kâğıdından vakum altında süzülmüştür. Elde edilen karışımdaki etanol, 40ºC'da döner buharlaştırıcı (Heidolph, VWR, USA) ile uzaklaştırılmıştır. Buradan elde edilen oleorezin sızdırmaz şişelerde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bu ekstraksiyon yöntemi, soğuk maserasyon olarak adlandırılmaktadır.

3.2.2 Karabiber oleorezinin piperin içeriği analizi

Karabiber oleorezinin piperin içeriği, Shaikh vd. (2004) tarafından geliştirilen yötem kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için yaklaşık 0.006 g piperin standardı tartılıp 10 mL etanolde (%95) çözünmüştür. Bu çözeltiden 250 µL alınıp etanol ile 25 mL'ye tamamlanmış ve böylece stok çözelti elde edilmiştir. Stok çözelti seyreltilerek, 2.2-6 µg/mL arasında farklı konsantrasyonlara sahip çözeltiler hazırlanmış ve 343 nm'de spektrofotometre (Shimadzu, Columbia, USA) ile absorbans değerleri okunmuştur. Absorbans değerleri piperin konsantrasyonlarına karşılık bir grafiğe geçirildikten sonra verilere linear regresyon analizi uygulanmıştır. Böylece piperin standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan bir denklem elde edilmiştir.

Daha sonra yaklaşık 12.5 mg oleorezin tartılıp 10 mL etanolde (%95) çözünmüştür. Bu çözeltiden 170 µL alınıp etanol ile 25 mL'ye tamamlanmış ve 343 nm'de spektrofotometre (Shimadzu, Columbia, USA) ile absorbans değerleri elde edilmiştir. Bu değerler denklemde kullanılarak piperin konsantrasyonu bulunmuş ve seyreltme faktörü ile çarpılarak oleorezinin piperin içeriği belirlenmiştir.

3.2.3 Mikroenkapsülasyon işlemi

Kaplama materyali olarak β-SD kullanılmıştır. β-SD ve piperinin konsantrasyonları 16 mM ve sulu çözeltideki moleküler oranları 1:1'dir. 16 mM piperin ve β-SD hazırlamak için oleorezinden 2.2247 g, β-SD den 4.5 g alınmıştır. Oleorezin 5 mL etanolde (%95) çözünmüş ve sonra 3200 devir/dakikada (rpm) 15 dakika santrifüj edilmiştir. Enkapsülasyon işlemi için üstte toplanan çözünmüş kısım kullanılmıştır. Altta kalan çökelti ise kurutulup ağırlığı bulunmuştur. β-SD saf suda çözülmüş ve oleorezin-etanol karışımı ile karıştırılıp 250 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. Daha sonra karışım 48 saat boyunca karıştırılmış ve karıştırma işleminin ardından 24 saat dondurucuda bekletilmiştir. Daha sonra -50ºC'da 7.5 µm Hg basınçında Labconco Freeze Dryer-5 (Kansas City, MO, USA) modelindeki dondurarak kurutucuda yaklaşık olarak 48 saat boyunca liyofilize edilmiştir. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra partiküller

sızdırmaz şişelere alınmış, ağırlıkları tartılmış ve analizlere kadar -20ºC'da muhafaza edilmiştir.

3.2.4 Partiküllerin piperin tutma etkinliği analizi

Partiküllerin piperin tutma etkinliği analizi için Gomes vd. (2011) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. 10 mg mikrokapsül tartılıp 9.5 mL etanol (%95) ve 0.5 mL saf suda çözülmüştür. 30 saniye vorteksle karıştırılmış ve 48 saat boyunca oda sıcaklığında, kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Daha sonra 343 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, Columbia, USA) absorbansları okunup, standart eğriden yararlanılarak piperin içeriği belirlenmiştir. Bunun için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Enkapsülasyon Etkinliği} = \frac{\text{mikrokapsül içinde tutulmuş aktif bileşen miktarı}}{\text{başlangıçta kullanılmış aktif bileşen miktarı}} \times 100$$

$$\text{Entrapment Efficiency} = \frac{\text{amount of active compound entrapped}}{\text{initial active compound amount}} \times 100$$

3.2.5 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), bir sıcaklık programında örneğe verilen ısı akış hızının zamana veya sıcaklığa göre takip edildiği ısıl analiz tekniğidir. DSC grafiklerinde erime, buharlaşma ve camsı geçişler endotermik pikler şeklinde görülürken kristalleşme, bozunma, oksidasyon ve kimyasal reaksiyonlar ekzotermik pikler şeklinde görülür (Durmuş 2001).

DSC analizi için Karathanos vd. (2007) tarafından geliştirilmiş olan yöntem kullanılmıştır. Analiz Pyris 6 Perkin Elmer cihazı (Pyris 5.0 Software, Boston, MA, USA) kullanılarak yapılmış ve cihazın kalibre edilmesi için çinko ve indiyum metalleri kullanılmıştır. Örnekler arasındaki farkın belirlenmesi için 4 adet örnek analiz edilmiştir. Örnekler; β-SD, piperin standardı, oleorezin-etanol (%95) çözeltisi (0,3 g/mL) ve dondurarak kurutulmuş β-SD kompleksidir. Sistem içerisinde azot gazı kullanılmış ve yaklaşık 20 mL/dakika hızla sisteme verilmiştir. Tarama hızı 70ºC'dan

230ºC'a kadar 10ºC/dakika artırılmıştır. Örnekler 1-2 mg ağırlığında tartılıp 62 µL'lik alüminyum kaplara konulmuş ve kaplar hermetik olarak kapatılmıştır. Hermetik olarak kapatılmış boş alüminyum kap referans olarak kullanılmıştır. Her örnek için 3 tekrar yapılmıştır.

3.2.6 Partikül büyüklüğü analizi ve morfolojisi

Partikül büyüklüğü analizi Hill vd. (2013) tarafından geliştirilen metot ve Delsa™ Nano C Partikül Analiz Cihazı (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) kullanılarak yapılmıştır. Bunun için 15 mg örnek tartılıp 10 mL saf suda çözülmüştür (1.5:1). Elde edilen süspansiyon tek kullanımlık 1 cm yol uzunluğuna sahip plastik küvetlerde 165º saçılım açısı, 50 µm gözenek büyüklüğü ve 1.3328 kırılma indisinde analiz edilmiştir.

Partiküllerin mikro yapısal özellikleri JEOL 1200 EX Geçirimli Elektron Mikroskobunda (TEM) (JEOL USA Inc., Peabody, MA) analiz edilmiştir. 10 mg partikül tartılıp 10 mL saf suda (1:1) süspansiyon haline getirilmiş ve 10 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur. Çözeltiden 3 µl alınıp bakır ızgara üzerine mikropipet yardımıyla damlatılmış ve uranil asetat (%2) ile bakır ızgara (grid) üzerine sabitlenmiştir. Örnek üzerindeki kimyasalın fazlasından kurtulmak için ızgara üzerine az miktarda saf su damlatılıp filtre kâğıdı yardımı ile çekilmiştir. Bakır ızgaranın kuruması sağlanmış ve 88 kV'da analiz edilmiştir. 18000 ve 110000 arasında büyütme oranı kullanılmıştır

3.2.7 Faz çözünürlüğü analizi

Faz çözünürlüğü çalışmaları Higuchi ve Cannors (1965) tarafından geliştirilen yönteme göre yapılmıştır. Bunun için 25 mM piperinin 2.5, 5, 7.5 ve 10 mM β-SD konsantrasyonuna sahip sulu çözeltilerde 25, 35 ve 45°C sıcaklıklarda çözünürlüğü araştırılmıştır. 25 mM piperin içeren oleorezin miktarı yaklaşık olarak 0.14 g olarak hesaplanıp tartılmış ve 1 mL etanolde (%95) çözülmüştür. Deney tüplerine sırasıyla 0.029, 0.057, 0.085 ve 0.114 g β-SD tartılmış, her bir deney tüpüne 9 mL damıtık su ve ardından 1 mL oleorezin çözeltisi ilave edilmiştir. Böylece 2.5, 5, 7.5 ve 10 mM β-SD

konsantrasyonuna sahip çözeltiler elde edilmiştir. Örnekler çalkalamalı su banyosunda (VWR 18L Shaking Water Bath, Radnor, PA, USA) yerleştirilmiş, 200 rpm hızda 48 saat boyunca 25, 35 ve 45ºC sıcaklıkta bekletilmiştir. Daha sonra örnekler tek kullanımlık 0.45-µm PTFE filtrelerden (IC Millex-LH, Millipore, Billerica, MA, USA) geçirilmiştir. 343 nm'de örneklerin absorbans değerleri okunarak sahip oldukları piperin miktarı standart eğriden yararlanılarak hesaplanmıştır. β-SD ve piperin arasındaki reaksiyonun kararlılık sabiti, K_c (M^{-1}), aşağıda belirtilen eşitliğe göre elde edilmiştir.

$$K_c = \frac{\text{eğim}}{\text{intersept} \,.\, (1 - \text{eğim})}$$

Faz çözünürlüğü analizinin deneysel verileri, Van't Hoff eşitliğinde kullanılarak mikrokapsüllerin termodinamik özelliklerini açıklanmıştır. Van't Hoff eşitliği: K_c ve sıcaklık arasındaki linear ilişkiyi gösterir (Hill vd. 2013).

$$\ln K_c = -\frac{\Delta H}{R\,T} + \frac{\Delta S}{R}$$

Burada;

ΔH: reaksiyonun entalpi değişimi (J/mol)

R: gaz sabiti (J/mol K)

T: sıcaklık (K)

ΔS: reaksiyon için entropi değişimi (J/mol K) dir.

Standart basınç ve sıcaklıkta; Gibbs serbest enerjisi (ΔG) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanır (Hill vd. 2013).

$$\Delta G = \Delta H - T.\ \Delta S$$

3.2.8 Antioksidan aktivite analizi

Antioksidan aktivite tayini Deng vd. (2011) tarafından geliştirilmiş olan yöntem kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde DPPH radikali kullanılmıştır. DPPH radikali,

antioksidan maddenin hidrojeni ile birleşerek, tek elektronu indirgenmiş DPPH-H'i oluşturmaktadır. Bu duruma bağlı olarak molar absorpsiyon katsayısı 9660'tan 1640'a düşmekte ve DPPH radikalinin mor olan rengi sarıya dönüşmektedir (Prakash 2001).

DPPH radikali metanolde çözülerek 0.1 mM konsantrasyona sahip olacak şekilde hazırlanmıştır.

Yaklaşık 0.03 g karabiber oleorezini tartılmış ve 10 mL metanolde çözülmüştür. Sonra 3.7 mL 0.1 mM DPPH çözeltisi ile 0,3 mL oleorezin çözeltisi karıştırılıp şiddetli bir şekilde çalkalanmış ve 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin absorbansı cam küvette 517 nm'de spektrofotometre (Shimadzu, Columbia, USA) ile okunmuştur.

Yaklaşık olarak 0.086 g mikrokapsül tartılmış ve 10 mL metanol-su (%50-%50) karışımında 5 dakika magnetik bir karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. 3.7 mL 0.1 mM DPPH çözeltisi ve 0.3 mL mikrokapsül-metanol-su çözeltisi bir tüpte şiddetli bir şekilde çalkalanmış ve 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin absorbansı cam küvette 517 nm'de spektrofotometre ile okunmuştur.

Kontrol: 3.7 mL 0.1 mM DPPH ve 0.3 mL metanol karıştırılıp şiddetli bir şekilde çalkalanmış ve aynı işlemler kontrol için de uygulanmıştır.

$$I = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100$$

Burada;

I = Serbest radikal tutma oranı

A_s = Örneğin absorbansı

A_0 = Kontrolün absorbansıdır.

3.2.9 Toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik bileşiklerin tayini için Folin-Ciocalteau belirteci kullanılmış ve Medina (2011) tarafından geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Folin-Ciocalteau yönteminde; fenolik bileşikler alkali ortamda Folin-Ciocalteau ayracını indirgeyerek kendileri oksitlenmiş forma dönüşür (Özkan vd. 2007). Karabiber oleorezinin ve mikrokapsüllerin sahip olduğu toplam fenolik madde miktarı "mg GAE/100 g oleorezin" cinsinden verilmiştir.

Fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri ile verildiği için, öncelikle gallik asit standart eğrisi oluşturulmuştur. 5 mg gallik asit tartılıp 100 mL saf suda çözülmüştür. Gallik asit stok çözeltisinden 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 µL alınıp 2.3 mL'ye damıtık su ile tamamlanmış ve böylece 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 µg gallik asit/mL konsantresinde çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltilere 500 µL Folin-Ciocalteu (1:3) ayracı ve 200 µL sodyum karbonat (Na_2CO_3) (%10) çözeltisi ilave edilip bir tüpte şiddetli bir şekilde karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmiş ve ardından spektrofotometre (Shimadzu, Columbia, USA yardımıyla) yardımıyla 700 nm'de absorbansları okunmuştur. Absorbans değerleri, gallik asit konsantrasyonlarına karşılık bir grafiğe aktarılmış ve linear regresyon analizi uygulanmıştır. Böylece gallik asit standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan bir denklem elde edilmiştir.

Analiz için kullanılan doymuş karbonat çözeltisi; 20 g sodyum karbonat tartılıp damıtık su ile 100 mL hacme tamamlanmış ve çözelti berrak bir hâle gelinceye kadar iyice karıştırılarak elde edilmiştir.

Oleorezinden 0.01 g tartılmış ve 10 mL etanolde çözülerek 1000 µg/mL konsantrasyona sahip çözelti elde edilmiştir. 125 µL oleorezin-etanol çözeltisi, 2175 µL damıtık su, 500 µL Folin-Ciocalteu (1:3) ayracı ve 200 µL sodyum karbonat (%10) çözeltisi bir tüpte şiddetli bir şekilde karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmiş ve ardından 700 nm'de absorbans değeri okunmuştur.

Mikrokapsülden 0.028 g tartılmış ve 10 mL etanol-su (1:1) karışımında 5 dakika magnetik bir karıştırıcıda çözülmüştür. 175 µL mikrokapsül içeren etanol-su çözeltisi, 2125 µL damıtık su, 500 µL Folin-Ciocalteu(1:3) ayracı ve 200 µL sodyum karbonat (%10) çözeltisi bir tüpte şiddetli bir şekilde karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmiş ve sonra 700 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur (Medina 2011).

Örneklerin fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden, standart eğriyi tanımlayan denklem kullanılarak bulunmuştur.

3.2.10 Minimum bakteri inhibisyon konsantrasyonu analizi

Minimum bakteri inhibisyon konsantrasyonu (MİK), antibakteriyel olarak kullanılacak örneğin bakteri gelişimine engel olan en düşük konsantrasyonudur. MİK değeri, antimikrobiyel örneğin statik etkisini gösterir.

Minimum bakteri inhibisyon konsantrasyonu analizi, Gutiérrez-Larraínzar vd. (2012) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak yapılmıştır. Oleorezin ve mikrokapsüller *Escherichia coli* K12'ye karşı test edilmiştir. *E. coli* K12 Texas A&M Üniversitesi Gıda Mikrobiyoloji Laboratuvarından (College Station, TX, USA) temin edilmiştir. Bakterilerin aktive edilmesi ve geliştirilmesi amacıyla tryptic soy broth (TSB) besiyeri kullanılmıştır. Bakteriler yatık besiyeri stok kültüründen bir öze ucu ile alınarak 10 mL sıvı besiyerine aşılanmış ve kültür 35°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürden tekrar bir öze ucu ile 10 mL sıvı besiyerine aşılanıp, 35°C'da 24 saat inkübasyona bırakılarak 2. pasaj elde edilmiştir. Standart inokulumdaki toplam bakteri sayısını belirlemek amacıyla 2. pasaj bakteri kültüründen ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 35°C'da 20-22 saat süreyle inkübasyona bırakılmış, koloni sayımı yapılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır. Standart inokulumdaki bakteri sayısı 4.3 $\log_{10}$ KOB/mL bulunmuştur. Daha sonra hazırlanmış olan standart inokulumdan 1 mL alınıp 9 mL TSB besiyerine ilave edilmiştir. Böylece bakteri-besiyeri karışımı elde edilmiştir.

0.01 g oleorezin tartılmış, 1 mL etanolde çözülmüş ve damıtık su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Böylece 1000 µg/mL konsantrasyona sahip stok çözelti elde edilmiştir. Stok çözeltinin 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 ve 1000 µg/mL konsantrasyonları *E. coli* K12'ye karşı test edilmiştir. Tek kullanımlık plastik spektrofotometre küvetlerine (3 mL) 1 mL örnek çözeltisi ve 1 mL bakteri-besiyeri karışımı ilave edilip spektrofotometre (Shimadzu, Columbia, USA yardımıyla) yardımıyla 630 nm'de absorbansları okunmuştur. Daha sonra küvetler 30°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından örneklerin tekrar absorbanları okunmuştur. Sonuçlara göre absorbansında değişim saptanmayan örnek konsantrasyonu bakteri gelişimi olmayan konsantrasyondur ve minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Bakteri gelişiminin olmadığı bu son dilüsyondan alınan 0.1 mL miktarındaki inokulum ile petri kabına ekim yapılmıştır. Petri kabında gelişmenin olmaması minimum letal konsantrasyon (MLK) değerini, eğer tüpte gelişme varsa MİK değerini gösterir.

Sırasıyla 0.0142, 0.02, 0.0285, 0.0427, 0.057, 0.071, 0.0855 ve 0.114 g mikrokapsül örnekleri tartılıp, 10 mL saf suda çözülmüş ve 10 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur. Çözeltiler *E. coli* K12'ye karşı oleorezin için takip edilen aynı işlem basamakları izlenerek test edilmiştir.

3.2.11 İstatistik değerlendirme

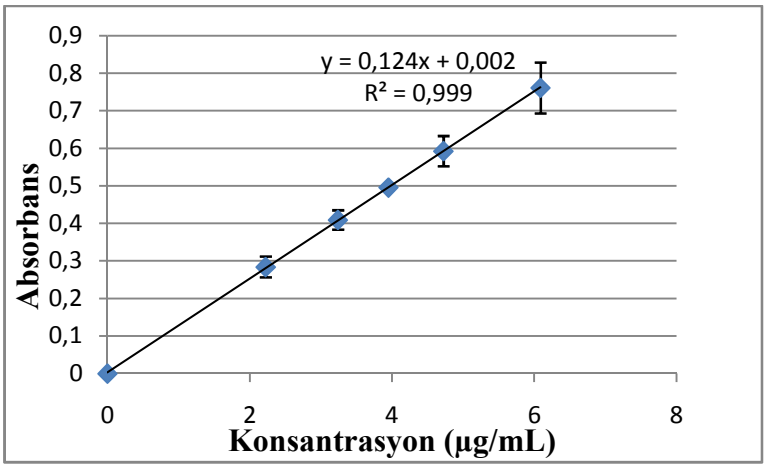
Bütün analizler 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İstatistik analizler için "Minitab for Windows (ver. 15.1)" ve "MSTAT" paket programları kullanılmıştır. Faz çözünürlüğü çalışmaları, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite tayinlerinden elde edilen sonuçlar; one-way varyans analizi kullanılarak test edilmiş (ANOVA) ve farklı grupların saptanmasında TUKEY testi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, karabiber oleorezini β-SD ile kaplanarak dondurma kurutma tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin; enkapsülasyon etkinliği, partikül büyüklüğü ve morfolojisi ile DSC analizleri yapılmıştır. Faz çözünürlüğü çalışmaları ile β-SD ve karabiber oleorezini arasındaki termodinamik olaylar araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular aşağıda sırasıyla verilmiş ve literatür bildirişleriyle karşılaştırılarak tartışılmıştır.

4.1 Karabiber Oleorezinindeki Piperin Miktarına ait Bulgular

Karabiberden elde edilen oleorezinin piperin miktarı; aşağıda verilen Şekil 4.1'deki standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1 343 nm dalga boyunda ölçülen piperin standart eğrisi

Hesaplanan sonuç %47.98±0.8 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuç, karabiber oleorezininde önemli miktarda piperin bulunduğunu kanıtlamaktadır. Attokaran (2011); karabiber oleorezinin %40 civarında olması gerektiğini, Akgül (1993); %35-53 arasında değişebileceğini ve Purseglove vd. (1980); etanol ile ekstrakte edilen karabiber oleorezinin piperin içeriginin %33-55 olması gerektiğini ifade etmiştir. Elde edilen sonuç bu değerlere uygunluk göstermektedir.

4.2 Partiküllerin Piperin Tutma Etkinliğine ait Bulgular

Mikrokapsüllerde tutulmuş olan piperin miktarı şekil 4.1'de verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve sonuç %72.74±3.11 olarak bulunmuştur. Carlotti vd. (2007) trans-sinnamaldehiti γ-SD kullanarak dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle etmiştir. Bu çalışmada, mikrokapsüllerin trans-sinnamaldehit tutma etkinliğini %60 olarak belirtilmiştir. Hill vd. (2013) tarçın kabuğu ve karanfil ekstraktlarını, kaplama materyali olarak β-SD kullanarak dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle etmiş ve çalışmada; mikrokapsüllerin trans-sinnamaldehit ve öjenol tutma etkinliklerini sırasıyla %42 ve %78 olarak belirtmiştir. Görüldüğü gibi araştırmalarda belirtilen sonuçlar geniş bir aralıkta değişmektedir. Bu çalışma sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin piperin tutma etkinliği değerinin kabul edilebilir bir değer olduğu anlaşılmaktadır.

4.3 Partikül Büyüklüğü ve Morfolojisine ait Bulgular

Bu çalışma ile bulunan sonuçlar çizelge 4.1'de verilmiştir. Polidispersite indeksi (PI), partikül büyüklüğüne bağlı bir ölçümdür. Örnek tek dağılımlı (monodisperse) ise PI değeri 0.02'den küçüktür. PI değeri 0.02'nin üzerinde ise sonuç dikkatli değerlendirilmelidir (Mezzalira 2005). İki veya daha fazla SD molekülü veya SD'ler ile elde edilmiş partiküller bir araya gelerek kümeleşebilirler. PI değerindeki değişkenlik, partiküllerin bir araya gelme eğiliminden kaynaklanabilir ve kümeleşme ortalama partikül büyüklüğünün beklenenden daha fazla olmasının bir sonucudur (Loftsson vd. 2004).

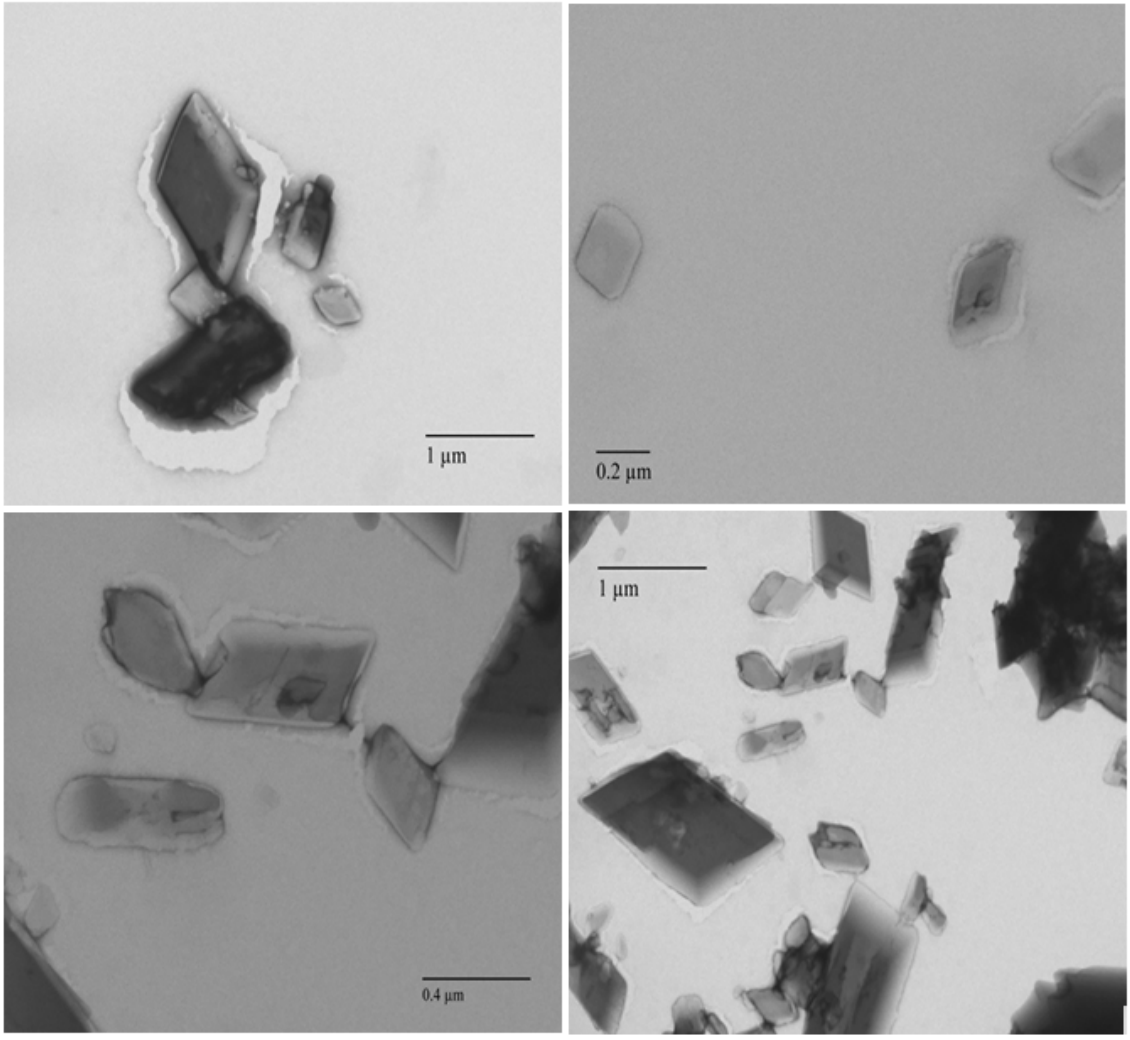
Çizelge 4.1 Partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi

Örnek	Polidispersite indeksi (PI)	Partikül çapı (nm)
Mikrokapsül	0.283±0.023	129.99±22.37

Choi vd. (2010) balıkyağını β-SD ile enkapsüle ettikleri çalışmalarında; ortalama partikül büyüklüğünün 250–700 nm arasında ve PI değerinin 0.5-0.7 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Hill vd. (2013) t-sinnemaldehit ve öjenol (2:1) karışımını β-SD ile enkapsüle etmişler; partikül büyüklüğünün 1.23 μm ve PI değerinin 0.024

olduğunu ifade etmiştir. Görüldüğü gibi kullanılan materyale bağlı olarak partikül büyüklüğü ve PI değeri değişmektedir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar bu değerler arasındadır.

Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM) görüntüleri partikül büyüklüğü ve morfolojisini göstermektedir. Şekil 4.2'deki görüntüler, partiküllerin kristal yapıda olduğunu ortaya koymaktadır. Padalkar ve Gaikar (2008) etanol ile ekstrakte edilen piperinin sulu çözeltisini TEM ile görüntülemiş ve piperinin kristal bir yapıya sahip olduğunu belirtmiştir. Partiküllerin kristal yapıya sahip olmasının piperinin şeklinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanında Choi vd. (2010) tarafından balık yağının β-SD ile enkapsüle edildiği çalışmada; 10:10 karıştırma oranında elde edilen mikrokapsüllerin Atomik Kuvvet Mikroskobu ile elde edilen görüntülerinde de kristal yapı gözlenmiştir.

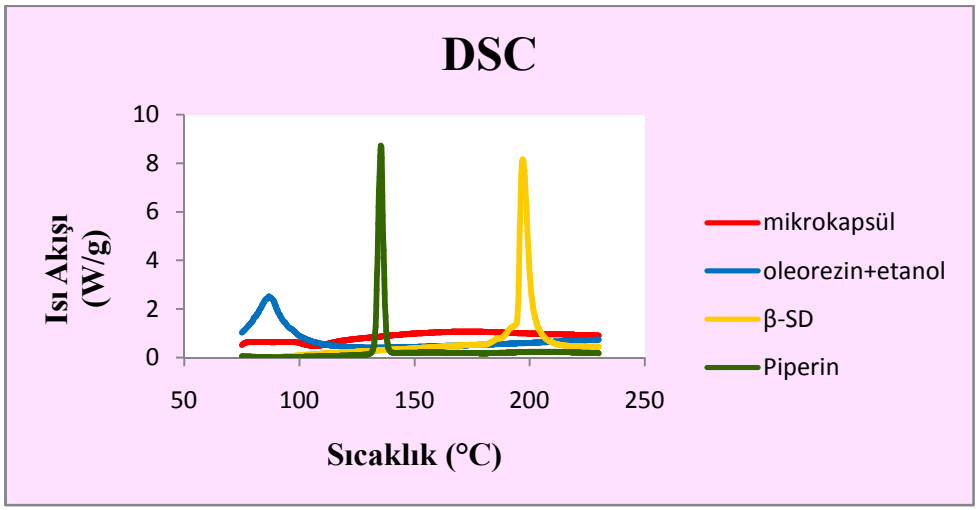


Şekil 4.2 Dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle edilmiş β-SD içeren karabiber oleorezinin TEM görüntüsü

4.4 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Bulguları

Karabiber oleorezinin β-SD ile enkapsülasyonu, oksidatif DSC analizi ile incelenmiştir. Şekil 4.3'de görüldüğü gibi mikrokapsüle ait termogram; oleorezin-etanol çözeltisi, β-SD ve piperin standardına ait termogramlar ile kıyaslanmıştır. Oleorezin-etanol çözeltisine ait termogramda 75-120°C arasında geniş bir ekzotermik pik görülmüştür. Piperin standardına ait termogramda ise 135°C'da ekzotermik bir pik gözlenmiştir. Bu piklerin oleorezin ve piperinin oksidasyon veya hidrolizinden kaynaklandığı düşünülmektedir. β-SD örneğine ait termogramda; 200°C civarında ısıl bozulmadan kaynaklandığı düşünülen ekzotermik bir pik görülmüştür. Bozulmaya bağlı bu pikler mikrokapsüle ait termogramda saptanmamıştır ve bu durum β-SD kavitesinde oleorezin

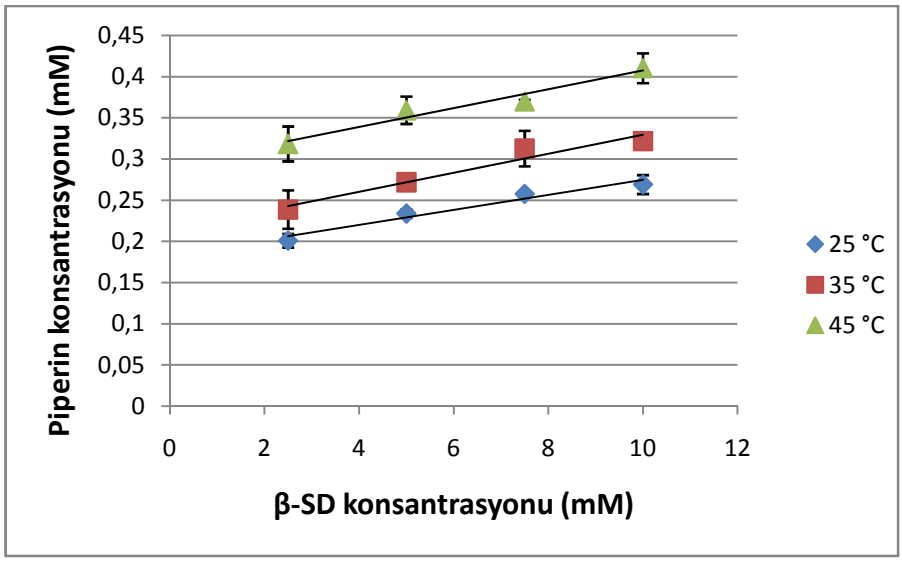
ve piperinin korunduğunu kanıtlamaktadır. Ancak mikrokapsüle ait termogramda 100°C civarında mikrokapsülün yapısında bulunan uzaklaştırılamayan suyun buharlaşmasından kaynaklanan endotermik bir pik görülmektedir.



Şekil 4.3 Piperin, β-SD, oleorezin-etanol çözeltisi ve mikrokapsüle ait termogram

4.5 Faz Çözünürlüğü Analiz Bulguları

Partiküllerin 25, 35 ve 45°C'da elde edilen faz çözünürlüğü diyagramı şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4 Karabiber oleorezininin suda β-SD ile 25, 35 ve 45°C'daki faz çözünürlüğü

Çalışılan bütün sıcaklıklarda elde edilen diyagramlar doğrusaldır (R^2 >0.9625) ve slope değerleri 1'den küçüktür. Diyagramlara göre β-SD'in konsantrasyonu arttıkça oleorezinin suda çözünürlüğü de doğrusal olarak artmıştır. Bu diyagramlar Higuchi ve Connors (1965)'a göre A_L tipi bir diyagramdır. A tipi diyagram; oleorezinin suda çözünürlüğünün β-SD konsantrasyonu ile birlikte arttığını, alt simge şeklinde belirtilen L ise 1:1 oranında gerçekleşen inklüzyon kompleksi oluşumunu ifade etmektedir.

Kararlılık sabitleri (K_c), Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. K_c değerlerinde artan sıcaklık ile meydana gelen azalma, karabiber oleorezini ve β-SD arasında gerçekleşen reaksiyonun ekzotermik oldugunu göstermektedir (Mourtzinos vd. 2007). Negatif ΔH değeri de karabiber oleorezini ve β-SD arasındaki etkileşimin ekzotermik olduğunu doğrulamaktadır. Entalpi değişiminin (ΔH) büyüklüğü; β-SD molekülünün kavitesindeki suyun uzaklaştırılması, moleküller arasında Van der Waals etkileşimlerinin artması ve hidrojen bağlarının oluşması ile meydana gelen hidrofobik etkileşimler gibi düşük enerjili reaksiyonların göstergesidir (Mourtzinos vd. 2008). Bu çalışmada entropi değişimi (ΔS) pozitiftir. β-SD molekülünün kavitesinin büyüklüğü Van der Waals tipi reaksiyonların oluşumuna katkıda bulunmaktadır ve bu duruma bağlı olarak çok moleküllü komplekslerin oluşumu ΔS'in büyük olmasına neden olmaktadır (Bouchemal vd. 2009).

Gibbs serbest enerji değişimi; 298 K'de -142.8 j/mol bulunmuştur. ΔG'nin negatif olması, inklüzyon komplekslerinin kendiliğinden gelişen bir proses olduğunu göstermektedir (Karathanos vd. 2007). Illapakurthy vd. (2005), SD'ler ile artemisinin ve naproksen arasında meydana gelen termodinamik olayları inceledikleri çalışmada ΔH, ΔS ve ΔG için benzer sonuçları elde etmiştir.

Çizelge 4.2 Karabiber oleorezini ile β-SD arasındaki kompleks oluşumunun termodinamik değerleri

Sıcaklık (°C)	İntersept	Eğim	K_c (M^{-1})	R^2	ΔH (J/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (J/mol K)
25	0.18	0.01	55.52[a]	0.98	-189.32	0.15	-234.79
35	0.21	0.01	52.53[b]	0.99	-	-	-
45	0.29	0.01	39.73[c]	0.96	-	-	-

Farklı harfler ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

4.6 Antioksidan Aktivite Bulguları

Polifenollerin SD'ler ile elde edilen kompleksleri, polifenollerin suda çözünürlüklerini ve antioksidan aktivitelerini artırır. Hidrofobik moleküller sulu çözeltilerde, SD kaviteleri ile yüksek birleşme eğilimi gösterir (Çelik vd. 2011).

Çizelge 4.3 Serbest haldeki karabiber oleorezini ve mikrokapsülün sahip olduğu DPPH radikali yakalama aktivitesi

Örnek	DPPH radikali yakalama aktivitesi (%)
Oleorezin	44.54±1.18[a]
Mikrokapsül	63.51±0.72[b]

Farklı harfler ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi karabiber oleorezinin DPPH radikali yakalama aktivitesi %44.54±1.18'dir. Gulcin (2005) karabiberin etanol ekstraktının DPPH radikali yakalama aktivitesini %48±5.18 olarak belirtmiştir. Çalışmamızda bulunan sonuçla burada verilen sonuç benzerlik göstermektedir. Sonuçlara göre mikrokapsülde bulunan oleorezinin DPPH radikali yakalama aktivitesi önemli miktarda artmıştır. Jullian vd. (2007), kuersetin ve SD kullanılarak oluşturulan inklüzyon komplekslerinde, mikrokapsül içerisindeki kuersetinin serbest kuersetinden daha iyi DPPH radikali yakalama etkisi gösterdiğini belirmiştir. Lu vd. (2009), resveratrol ve SD kullanılarak

oluşturulan inklüzyon komplekslerinde, mikrokapsül içerisindeki resveratrolün serbest haldeki resveratrolün sahip olduğu antioksidan aktiviteyi koruduğunu belirtmiştir.

4.7 Toplam Fenolik Madde Bulguları

Çizelge 4.4 Serbest haldeki karabiber oleorezininin ve mikrokapsüldeki oleorezinin içerdiği toplam fenolik madde

Örnek	**Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g oleorezin)**
Oleorezin	8684.51±838.43[a]
Mikrokapsül	7637.63±263.62[a]

Aynı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi mikrokapsül içerisindeki karabiber oleorezinin sahip olduğu toplam fenolik madde, serbest haldeki oleorezinin içerdiği toplam fenolik maddeden daha düşüktür fakat bu fark istatistiki olarak önemli değildir.

Saénz vd. (2008), kaktüsün etanol ekstraktını püskürterek kurutma tekniği ile maltodekstrin ve inülin kullanarak enkapsüle etmiştir. Maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin fenolik madde içeriği 1607 mg GAE/g ekstrakttan 1812'mg GAE/g ekstrakta, inülin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin fenolik madde içeriği 2223 mg GAE/g ekstrakttan 2410 mg GAE/g ekstrakta yükseldiği görülmüştür. Bunun tersi bir durumu; Cilek vd. (2012), vişneden elde edilen fenolik maddelerin dondurarak kurutma tekniği ile maltodekstrin ve gam arabik kullanılarak enkapsüle ettikleri çalışmalarında, fenolik madde içeriği 91.29 mg GAE/g ekstrakttan çekirdek materyal: kaplama materyali oranı 1:10 olan mikrokapsüllerde 45.65 mg GAE/g ekstrakta, 1:20 olan mikrokapsüllerde 30.43 mg GAE/g ekstrakta düştüğünü saptamışlardır. Dondurarak kurutma tekniği uygulanan bu çalışmada fenolik madde miktarının düştüğü görülmekte ve bizim elde ettiğimiz bulgularla paralellik göstermektedir. Bu çalışmalara göre; enkapsülasyon işleminin etkisiyle fenolik madde içeriğinin artması veya korunmasında, kullanılan enkapsülasyon tekniği ve kaplama materyalinin etkili olduğu düşünülmektedir.

4.8 Minimum Bakteri İnhibisyon Konsantrasyonu Bulguları

Mikrokapsülde bulunan oleorezinin MİK değeri ile serbest haldeki oleorezinin MİK değeri çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu Çizelgeden görüleceği gibi bulunan değerler arasında çok az bir farklılık görülmektedir.

Çizelge 4.5 Serbest haldeki karabiber oleorezini ile mikrokapsüldeki oleorezinin MİK değerleri

Örnek	**MİK[a] (µg/mL)**
Oleorezin	400
Mikrokapsül	426

[a]; 35°C'da 24 saat inkübasyondan sonra serbest oleorezin ve enkapsüle edilmiş oleorezinin 630 nm'de optik yoğunluk farklarının 0.05'den küçük olduğu en düşük konsantrasyonunu ifade eder.

Hill vd. (2013) tarçın kabuğu ekstraktı, karanfil ekstrakti, *trans*-sinnemaldehit, öjenol ve bunların β-SD ile oluşturulmuş inklüzyon komplekslerini *S. typhimurium* ve *L. innocua* bakterilerine karşı test etmiştir. Çalışmada mikrokapsülde mevcut olan tarçın kabuğu ve karanfil ekstraktlarının serbest haldeki ekstraktlardan daha iyi antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada serbest haldeki *trans*-sinnemaldehitin MİK değeri 400 µg/mL iken, β-SD ile enkapsüle edilmiş mikrokapsüllerin MİK değeri 479 µg/mL, *trans*-sinnemaldehit: öjenol (2:1) karışımı mikrokapsüllerinin MİK değeri ise 487 µg/mL olarak belirtilmiştir. Wang vd. (2011); öjenolün β-SD ile oluşturulmuş inklüzyon komplekslerinin *E. coli* gelişimini önlediğini ancak *S. paratyphi* B ve *S. aureus*'a karşı etkili olmadığını ifade etmiştir.

Bu çalışmalara göre; enkapsüle edilen maddenin β-SD kavitesinden tamamen salınmadan bakteriler ile karşılaşması ve misafir molekülün seçici antimikrobiyal aktiveye sahip olması gibi yapısal farklılıklar MİK değerlerini etkilemektedir. Sonuç olarak; karabiber oleorezini β-SD ile enkapsüle edilerek, oleorezinin suda çözünürlüğünün artması sonucu MİK değerinin düşmesi beklenirken, bu durum gözlenmemiş ancak oleorezinin sahip olduğu antibakteriyel aktivite korunmuştur.

5. SONUÇ

Karabiber oleorezini, dondurarak kurutma tekniği ile β-SD kullanılarak başarılı bir şekilde enkapsüle edilmiştir. Mikrokapsüllerin morfolojik yapısının, piperinin şekline bağlı olarak düzensiz ve kristalik şekilde olduğu görülmüştür.

DSC analizinde; oleorezin-etanol çözeltisine ve piperin standardına ait termogramlarda oksidasyon veya hidrolize bağlı olarak ekzotermik pikler görülürken, mikrokapsüle ait termogramda bu piklere rastlanmamıştır. Bu durum, oleorezinin β-SD molekülünün kavitesinde korunduğunu kanıtlamaktadır.

Faz çözünürlüğü çalışmaları 25, 35 ve 45ºC'da gerçekleştirilmiş ve bu sıcaklıklarda elde edilen diyagramların doğrusal olduğu, sıcaklık ve β-SD konsantrasyonun artışına paralel olarak karabiber oleorezinin suda çözünürlüğünün de arttığı görülmüştür.

Karabiber oleorezinin kuvvetli bir antioksidan olduğu, enkapsülasyon işlemi sonrası karabiber oleorezinin suda çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak antioksidan aktivitesinin de arttığı görülmüştür.

Karabiber oleorezinin toplam fenolik madde miktarının oldukça yüksek olduğu ve enkapsülasyon işlemi ile karabiberin sahip olduğu toplam fenolik madde miktarının korunduğu gözlenmiştir

Karabiber oleorezinin *E. coli* K12 bakterisine karşı inhibe edici etkisinin olduğu ve bu etkinin enkapsülasyon işlemi ile korunduğu gözlenmiştir. Karabiber oleorezini ve mikrokapsülleri, test edilen konsantrasyonlarda *E.coli* K12 bakterisine karşı öldürücü etki gösterememiştir.

KAYNAKLAR

Agbor, G.A., Vinson, J.A., Oben, J.E. and Ngogang, J.Y. 2006. Comparative analysis of the in vitro antioxidant activity of white and black pepper. Nutrition Research, Vol. 26; pp. 659-663.

Akgül, A. 1993. Baharat bilimi ve teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği, 451 s., Ankara.

Al-Rawashdeh, N.A.F., Al-Sadeh, K. and Al-Bitar, M.B. 2010. Physicochemical study on microencapsulation of hydroxypropyl-β-cyclodextrin in dermal preparations. Drug Development and Industrial Pharmacy, Vol. 36; pp. 688–697.

Anonymous. 2012. Web sitesi: http://www.labconco.com, Erişim Tarihi: 20.12.2012

Anwar, S.H. and Kunz, B. 2011. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. Journal of Food Engineering, Vol. 105; pp. 367–378.

Attokaran, M. 2011. Natural Food Flavors and Colorants. Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists, 429 p., India.

Avcı, A. ve Dönmez, S. 2010. Siklodekstrinler ve gıda endüstrisinde kullanımları. Gıda Dergisi, No: 35, s. 305-312.

Aydın, A. 2001. Toz karabiberde mikrodalga yöntemi ile mikrobiyel dekontaminasyon üzerine bir çalışma. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi, 79 s., İstanbul.

Babic, J., Cantalejo, M.J. and Arroqui, C. 2009. The effects of freeze-drying process parameters on Broiler chicken breast meat. LWT - Food Science and Technology, Vol. 42; pp. 1325–1334.

Bayrak, A. 2006. Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi Derneği, No: 32, 497 s.

Borges, P. and Pino, J. 1993. Preparation of black pepper oleoresin by alcohol extraction. Die Nahrung, Vol. 37; pp. 127-130.

Bouchemal, K., Couvreur, P., Mhammed, S.D., Poupaert, J. and Gref, R. 2009. A comprehensive study on the inclusion mechanism of benzophenone into supramolecular nanoassemblies prepared using two water-soluble associative polymers. J Therm Anal Calorim, Vol. 98; pp. 57–64.

Carlotti, M., Sapino, S., Cavalli, R., Trotta, M., Trotta, F. and Martina, K. 2007. Inclusion of cinnamaldehyde in modified γ-cylodextrins. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 9; pp. 223-253.

Celik, S.E., Ozyurek, M., Tufan, A.N., Guclu, K. and Apak, R. 2011. Spectroscopic study and antioxidant properties of the inclusion complexes of rosmarinic acid with natural and derivative cyclodextrins. Spectrochimica Acta Part A, Vol. 78; pp. 1615–1624.

Choi M.J., Ruktanonchai, U., Min, S.G., Chun, J.Y. and Soottitantawat, A. 2010. Physical characteristics of fish oil encapsulated by β-cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion-diffusion method. Food Chemistry, Vol. 119; pp. 1694–1703.

Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S. and Sumnu, G. 2012. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sourcherry pomace: effect of formulation, ultrasonication timeand core to coating ratio. Eur Food Res Technol, Vol. 235; pp. 587–596.

Ciurzynska, A. and Lenart, A. 2011. Freeze-drying – application in food processing and biotechnology – a review. Polish Journal of Food & Nutrition Sciences, Vol. 61; pp. 165-171.

Celik, S.E., Ozyurek, M., Tufan, A.N., Guclu, K. and Apak, R. 2011. Spectroscopic study and antioxidant properties of the inclusion complexes of rosmarinic acid with natural and derivative cyclodextrins. Spectrochimica Acta Part A, Vol. 78; pp. 1615–1624.

Deng, J., Cheng, W. and Yang, G. 2011. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. Food Chemistry, Vol. 125; pp. 1430-1435.

Desai, K.G.H. and Park, H.J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technology, Vol. 23; pp. 1361–1394.

Durmuş, A. 2001. Şekillendirilmiş poliolefinlerin DSC (Differential Scanning Calorimetry) ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, 109 s., İstanbul.

Erkan, G. 2008. Bazı antifungal ajanların mikroenkapsülasyonu ve tekstil materyallerine aplikasyonu. Doktora tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, 146 s., İzmir.

Farrell, K.T. 1990. Spices, condiments and seasonings. An avi Book, 414 p., New York.

Gomes, C., Moreira, R.G. and Castell-Perez, E. 2011. Microencapsulated antimicrobial compounds as a means to enhance electron beam irradiation treatment for inactivation of pathogens on fresh spinach leaves. Journal of Food Science, Vol. 76; pp. 479-488.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sarıçoban, C. 2012. Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, Vol. 7; pp. 36-50.

Gulcın, I. 2005. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. International Journal of Food Sciences and Nutrition, Vol. 56; pp. 491-499.

Higuchi, T. and Connors, K.A. 1965. Phase-solubility techiniques. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, Vol. 4; pp. 117-212.

Hill, L., Gomes, C. and Taylor, T.M. 2013. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. LWT- Food Science and Technology, Vol. 51; pp. 86-93.

Illapakurthy, A.C., Wyandt, C.M. and Stodghill, S.P. 2005. Isothermal titration calorimetry method for determination of cyclodextrin complexation thermodynamics between artemisinin and naproxen under varying environmental conditions. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 59; pp. 325-332.

Ishiguro, T., Morishita, E., Iohara, D., Hirayama, F., Wada. K., Motoyama, K., Arima, H. and Uekama, K. 2011. Some pharmaceutical and inclusion properties of 2-hydroxybutyl-β-cyclodextrin derivative. International Journal of Pharmaceutics, Vol. 419; pp. 161– 169.

Jullian, C., Moyano, L., Ya˜nez, C. and Olea-Azar, C. 2007. Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: an antioxidant study. Spectrochimica Acta Part A, Vol. 67; pp. 230–234.

Kapoor, I.P.S., Singh, B., Singh, G., De Heluani, C.S., De Lampasona, M.P. and Catalan, C.A.N. 2009. Chemistry and in vitro antioxidant activity of volatile oil and oleoresins of black pepper (*Piper nigrum*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 57; pp. 5358–5364.

Karathanos, V.T., Mourtzinos, I., Yannakopoulou, K. and Andrikopoulos, N.K. 2007. Study of the solubility, antioxidant activity, and structure of inclusion complex of vanillin with beta-cyclodextrin. Food Chemistry, Vol. 101; pp. 652–658.

Koç, M., Sakin, M. ve Kaymak-Ertekin, F. 2010. Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, Vol. 16; s. 77-86.

Loftsson, T., Masson, M. and Brewster, M.E. 2004. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 93; pp. 1091–1099.

Lu, Z., Cheng, B., Hub, Y., Zhang, Y. and Zou, G. 2009. Complexation of resveratrol with cyclodextrins: solubility and antioxidant activity. Food Chemistry, Vol. 113; pp. 17–20.

Marques, H. 2010. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. Flavour Fragr. Journal, Vol. 25; pp. 313–326.

Marques L.G., Ferreira, M.C. and Freire, J.T. 2007. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). Chemical Engineering and Processing, Vol. 46; pp. 451–457.

Mezzalira, G., 2005. Caracterização de nanoparticulas poliméricas estudadas como carregadores de fármacos através de técnicas de espalhamento de luz e de raios X a baixo ângulo. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 124 p., Porto Alegre.

Mourtzinos, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A. and Karathanos, V.T. 2007. Encapsulation of olive leaf extract in β-cyclodextrin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 55; pp. 8088–8094.

Mourtzinos, I., Kalogeropoulos, N., Papadakis, S.E., Konstantinou, K. and Karathanos, V.T. 2008. Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in β-cyclodextrin and modified starch. Journal of Food Science, Vol. 73; pp. 89–94.

Öz, Ö. 2009. Dondurarak kurutma yöntemi ile çözünebilir çay üretimi. Yüksek Lisans Tezi. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, 94 s., Gebze.

Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroglu, B. 2007. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri. Gıda Analizleri, s. 129–186, Bizim Büro Basımevi, Ankara.

Padalkar, K.V. and Gaikar, V.G. 2008. Extraction of piperine from *Piper nigrum* (black pepper) by aqueous solutions of surfactant and surfactant+hydrotrope mixtures. Separation Science and Technology, Vol. 43; pp. 3097–3118.

Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.D., Prasad, A.K., Wengel, J., Olsen, C.E. and Boll, P.M. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. Phytochemistry, No. 46; pp. 597-673.

Parthasarathy, V., Chempakam, B. and Zachariah, T. 2008. Chemistry of spices, 445 p., Typeset by Spi, Pondicherry, India.

Peter, K.V. 2001. Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Limited, Cambridge CB1 6 AH England.

Prakash, A. 2001. Antioxidant activity. Web sitesi: http://www.medlabs.com, Erişim Tarihi: 12.04.2012

Purseglove, J.W., Brown, E.J., Green, C.L. and Robbins, S.R.J. 1980. Spices (1). New York: Longman Icn.

Rahman, S., Parvez, K.A., Islam, R. and Khan, H.M. 2011. Antibacterial activity of natural spices on multiple drug resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water, Bangladesh. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, Vol. 10; pp 10-13.

Ratti, C. 2001. Hot air and freze drying of high-value foods: a review. Journal of Food Engineering, Vol. 49; pp. 311-319.

Medina, M.B. 2011. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. Journal of Functional Foods, Vol. 3; pp. 79-87.

Sadıkoğlu, H. ve Özdemir, M. 2001. Dondurarak kurutma teknolojisi. Termoklima, No: 102, s. 53-61.

Sadikoglu, H., Ozdemir, M. and Seker, M. 2006. Freeze-drying of pharmaceutical products: research and development needs. Drying Technology, Vol. 24; pp. 849–861.

Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J. and Robert, P. 2008. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus indica*). Food Chemistry, Vol. 114; pp. 616–622.

Schossler, K., Jager, H. and Knorr, D. 2012. Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables. Innovative Food Science and Emerging Technologies, Vol. 16; pp. 113–120.

Shaikh, J., Bhosale, R. and Singhal, R. 2004. Microencapsulation of black pepper oleoresin. Food Chemistry, Vol. 94; pp. 105–110.

Sharma, S., Kumar, M., Sharma, S., Nargotra, A., Koul, S. and Khan, I.A. 2010. Piperine as an inhibitor of Rv1258c, a putative multidrug efflux pump of Mycobacterium tuberculosis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 65; pp. 1694–1701.

Shekhar, K., Madhu, M.N., Pradeep, B. and Banji, D. 2010. A review on microencapsulation. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, Vol. 5; pp. 58-62.

Singh, R., Singh, N., Saini, B.S. and Rao, H.S. 2008. In vitro antioxidant activity of pet ether extract of black pepper. Indian Journal of Pharmacology, Vol. 40; pp. 147–151.

Suhaj, M., Racova, J., Polovka, M. and Brezova, V. 2006. Effect of γ-irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). Food Chemistry, Vol. 97; pp. 696–704.

Ünal, E. ve Erginkaya, Z. 2010. Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu. Gıda Dergisi, No: 35, s. 297–304.

Wang, T., Li, B., Si, H. and Chen, L. 2011. Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/β-cyclodextrin inclusion complex. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 71; pp. 207–213.

Zarai, Z., Boujelbene, E., Salem, B.N., Gargouri, Y. and Sayari, A. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. Food Science and Technology, Vol. 50; pp. 634–641.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Necla ÖZDEMİR
Doğum Yeri : Afyonkarahisar
Doğum Tarihi : 10.03.1987
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Sandıklı Sağlık Meslek Lisesi (2001-2005)
Lisans : Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2005-2009)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitisü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Şubat 2011- Şubat 2013)

Çalıştığı Kurum ve Yılı:
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi 2011-