

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI DUVAR MATERYALLERİ VE ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİNİN
ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ MİKROENKAPSÜLASYONU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sinem KAHRAMAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

NİSAN 2019

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI DUVAR MATERYALLERİ VE ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİNİN
ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ MİKROENKAPSÜLASYONU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sinem KAHRAMAN

(161082702)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Rasim Alper ORAL

NİSAN 2019

BTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 161082702 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Sinem KAHRAMAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “BAZI DUVAR MATERYALLERİ VE ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİNİN ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ MİKROENKAPSÜLASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Rasim Alper ORAL**
Bursa Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Mustafa KIRALAN**
Balıkesir Üniversitesi

Doç. Dr. Gökçen İZLİ
Bursa Teknik Üniversitesi

Savunma Tarihi : 30 Nisan 2019

FBE Müdürü : **Doç. Dr. Murat ERTAŞ**
Bursa Teknik Üniversitesi/...../.....

İNTİHAL BEYANI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belgelediğimi, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sinem KAHRAMAN

İmzası :

X X X X



Aileme,

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince değerli bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Rasim Alper ORAL'a, yardımlarından, bilgi, tecrübe ve desteğinden dolayı Sayın Arş. Gör. Hüseyin DEMİRCAN'a ve her daim yanımda olan, desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam 172L26 proje no'su ile Bursa Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Bursa Teknik Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkürlerimi sunarım.

Nisan 2019

Sinem KAHRAMAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	2
1.2 Literatür Araştırması	3
1.2.1 Fenolik bileşikler.....	3
1.2.2 Zeytin ağacı (<i>olea europeae</i> L.) ve yaprakları	8
1.2.3 Oleuropein.....	11
1.2.3.1 Oleuropeinin kimyasal yapısı.....	11
1.2.3.2 Oleuropeinin biyosentezi	12
1.2.3.3 Oleuropeinin biyoyararlılığı.....	14
1.2.3.4 Oleuropeinin biyolojik aktiviteleri.....	14
1.2.4 Enkapsülasyon	15
1.2.5 Reoloji.....	32
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
2.1 Materyal	39
2.1.1 Çekirdek materyal	39
2.1.2 Kaplama materyalleri.....	39
2.1.3 Diğer materyaller	39
2.2 Yöntem	40
2.2.1 Mikroenkapsülasyon işlemi	40
2.2.1.1 İyonik jelleşme/ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon	40
2.2.1.2 Jelleşme/emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon	41
2.2.2 Verim analizi.....	41
2.2.3 Partikül boyutu analizi	42
2.2.4 Şişme analizi	42
2.2.5 In vitro salım çalışmaları.....	42
2.2.6 DPPH antioksidan aktivite tayini	43
2.2.7 Reolojik ölçümler.....	44
2.2.8 İstatistiksel analizler.....	44
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
3.1 Akış Hızı ve Enjeksiyon Süresi Tespiti.....	45
3.2 Mikroenkapsülasyon İşlemi	46

3.2.1 İyonik jelleşme/ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi	46
3.2.2 Jelleşme/emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi	46
3.3 Verim Analizi	47
3.4 Partikül Boyutu	49
3.5 Şişme Analizi	51
3.6 In vitro Salım Çalışmaları	54
3.7 DPPH Antioksidan Aktivite Tayini.....	58
3.8 Reolojik Ölçümler	58
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ.....	70



KISALTMALAR

A_K	: Kontrol çözeltilisinin absorbansı
A_ö	: Örneğin absorbansı
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FDA	: U. S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
GRAS	: Generally Recognize as Safe (genel olarak güvenli kabul edilen)
HPLC	: High performance liquid chromatography (yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
J	: Jelatin
NOAEL	: No observed adverse effect level (gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz)
SA	: Sodyum aljinat
SA/A	: Sodyum aljinat / Agar
SA/J	: Sodyum aljinat / Jelatin
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi)
ZYE	: Zeytin yaprağı ekstraktı

SEMBOLLER

K	: Kıvam katsayısı
n	: Akış davranış indeksi
γ	: Kayma hızı
μ	: Viskozite
σ	: Kayma stresi
σ_0	: Akma gerilimi (eşik değer, yield stress)



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Fenolik asitler, yapıları ve kaynakları	5
Çizelge 1.2 : Flavonoidler, yapıları ve kaynakları.....	6
Çizelge 1.3 : Zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite değerleri	10
Çizelge 1.4 : Fonksiyonel gıda katkı maddelerinin enkapsülasyonu için kullanılan kaplama materyalleri	21
Çizelge 2.1 : 1 mL/dk ve 2 mL/dk akış hızlarında ve farklı enjeksiyon sürelerinde enkapsüle edilecek çözelti miktarları.....	40
Çizelge 3.1 : Farklı akış hızı ve farklı enjeksiyon sürelerinde üretilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon verim analizi sonuçları.....	45
Çizelge 3.2 : İyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyon oluşumu.....	46
Çizelge 3.3 : Jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyon oluşumu.....	47
Çizelge 3.4 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon verimi.....	47
Çizelge 3.5 : Mikroenkapsüllerin ortalama hacmi.....	50
Çizelge 3.6 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin hacimlerinin süreye bağlı değişim grafiklerine ait hız denklemleri ve regreasyon katsayıları.....	53
Çizelge 3.7 : Mikrokapsüllerin ilk 6 dakikadaki hız denklemleri, regreasyon katsayıları ve 1. dakikadaki salım hızı değerleri.....	57

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Bitkilerdeki primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişki	4
Şekil 1.2 : Kumarinlerin kimyasal yapısı	5
Şekil 1.3 : Zeytin yaprağındaki fenolik sınıflar ve kimyasal yapıları	9
Şekil 1.4 : Oleuropein molekülünün yapısı	12
Şekil 1.5 : Oleuropeinin metabolitleri; elenolik asit ve hidroksitirozol	12
Şekil 1.6 : Oleuropeinin biyosentetik metabolizma yolu	13
Şekil 1.7 : Rezervuar tip, matriks tip ve kaplanmış matriks tip enkapsüllerin yapısı	17
Şekil 1.8 : Mikrokapsül üretim basamakları	22
Şekil 1.9 : Püskürterek kurutma yönteminin şematik gösterimi	23
Şekil 1.10 : Akışkan yatak kaplama yönteminin şematik gösterimi	26
Şekil 1.11 : Aljinat içeren sistemlerin jelasyonu	27
Şekil 1.12 : Ekstrüzyon yöntemlerinin şematik gösterimi. jet cutter (a), pipet veya titreşimli nozul (b), atomize edici disk (c), koaksiyal hava akımı (d) veya elektrostatik potansiyel (e)	28
Şekil 1.13 : Kompleks koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyonun şematik gösterimi	30
Şekil 1.14 : Akışkanların reolojik davranışlarına göre sınıflandırılması	34
Şekil 1.15 : Newton tipi davranışa ait akış reogramı	34
Şekil 1.16 : Newton tipi davranışa ait görünen viskozite reogramı	35
Şekil 1.17 : Bingham plastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b)	36
Şekil 1.18 : Psödoplastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b).....	36
Şekil 1.19 : Dilatant davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b).....	37
Şekil 1.20 : Plastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b)	38
Şekil 3.1 : Jelleşme yöntemi ile jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)'deki mikroskopik görüntüleri	49
Şekil 3.2 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)'deki mikroskopik görüntüleri	49
Şekil 3.3 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)'deki mikroskopik görüntüleri	49
Şekil 3.4 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)'deki mikroskopik görüntüleri	50

Şekil 3.5 : Jelleşme yöntemi ile jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri.....	51
Şekil 3.6 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri	52
Şekil 3.7 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri	52
Şekil 3.8 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri	52
Şekil 3.9 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin hacimlerinin süreye bağlı değişim grafikleri.....	53
Şekil 3.10 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin ortalama şişme hızları.....	54
Şekil 3.11 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin mide koşullarındaki (pH 1.1) oleuropein konsantrasyonları	55
Şekil 3.12 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin bağırsak koşullarındaki (pH 7.4) oleuropein konsantrasyonları	56
Şekil 3.13 : Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri.....	58
Şekil 3.14 : Kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri.....	59
Şekil 3.15 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1 – 100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi.....	60
Şekil 3.16 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1 – 100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi.....	60
Şekil 3.17 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama çözeltisinin 1 – 100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi.....	61
Şekil 3.18 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama çözeltisinin 1 – 100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi.....	61
Şekil 3.19 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi	62
Şekil 3.20 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi.....	62
Şekil 3.21 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi	63
Şekil 3.22 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s ⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi.....	63

BAZI DUVAR MATERYALLERİ VE ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİNİN ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ MİKROENKAPSÜLASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada günümüzde henüz endüstriyel olarak kullanılmayan ve bir yan ürün veya artık olarak kabul edilen zeytin yapraklarının fonksiyonel özellik gösteren bazı bileşenlerinin enkapsülasyonu amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında zeytin yaprağı ekstraktı; sodyum aljinat (%2 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltileri kullanılarak iyonik jelleşme/ekstrüzyon tekniği ile; jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisi kullanılarak jelleşme/emülsiyon tekniği ile enkapsüle edilmiştir.

Çalışmada kullanılan kaplama materyallerinin akış davranışları ve viskoziteleri incelenmiş, iyonik jelleşme yönteminde uygulanacak akış hızı ve enjeksiyon süresinin tespit edilmesi amacıyla optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon verimlilikleri, partikül boyutları, şişme hızları, in vitro salım profilleri ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. 25 °C'de 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığında; jelatin ve sodyum aljinat/jelatin çözeltilerinin newtonyen, sodyum aljinat çözeltisinin psödoplastik, sodyum aljinat/agar çözeltisinin ise Herschel-Bulkley akış modeline uygun olduğu tespit edilmiştir. Akış hızı ve enjeksiyon süresinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen optimizasyon sonucunda, en yüksek enkapsülasyon etkinliği 2 mL/dk akış hızı ve 2 dk enjeksiyon süresi (%52,2±2,01) uygulandığı durumda elde edilmiştir. Jelleşme yöntemi ile jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon verimliliğinin %98,2±0,99 olduğu; sodyum aljinat, sodyum aljinat/jelatin, sodyum aljinat/agar kaplama çözeltileri kullanılarak iyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kapsüllerde ise enkapsülasyon verimliliklerinin sırasıyla %48,71±1,26, %61,54±0,95, %55,7±0,60 olduğu belirlenmiştir. Jelleşme yöntemi ile elde edilen kapsüllerin ortalama hacmi 1,31±0,25 mm³; sodyum aljinat, sodyum aljinat/jelatin, sodyum aljinat/agar kaplama çözeltileri kullanılarak iyonik jelleşme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin hacimleri ise sırasıyla 0,58±0,16 mm³, 1,39±0,35 mm³, 0,75±0,22 mm³ olarak tespit edilmiştir. En yüksek şişme hızına ve pH 1,1/pH 7,4 ortamlarında en yüksek salım hızına sahip kapsüllerin, jelleşme yöntemi ile jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüller olduğu saptanmıştır. Kapsüllerin antioksidan aktivitelerinin verim sonuçları ile orantılı olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşme ve jelleşme yöntemleri kullanılarak enkapsüle edilmesinin fenolik bileşiklerin stabilitesinin ve biyokullanılabilirliğinin artırılmasına katkı sağlayacağı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Fenolik bileşik, zeytin yaprağı, enkapsülasyon, jelleşme, iyonik jelleşme.

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME WALL MATERIALS AND ENCAPSULATION TECHNIQUES ON MICROENCAPSULATION OF OLIVE LEAF EXTRACT

SUMMARY

In this study, it is aimed to encapsulate some functional components of the olive leaves which not used industrially yet and considered to be a by-product or residue. In this study of thesis; olive leaf extract was encapsulated using solution of sodium alginate (2% w/v), sodium alginate (2% w/v)/gelatin (5% w/v) and sodium alginate (2% w/v)/agar (1.5% w/v) as wall material by ionic gelation/extrusion technique. In same study olive leaf extract was encapsulated using solution of gelatin (5% w/v) as wall material by gelation/emulsion technique.

The flow behaviors and viscosities of the coating materials used in the thesis were investigated; the optimization process was performed in order to determine the flow rate and injection time to be applied in the ionic gelation process and the encapsulation efficiencies, particle sizes, swelling rates, in vitro release profiles and antioxidant capacities of the obtained capsules were determined. It was found that flow behavior of gelatin and sodium alginate/gelatin materials were newtonian, flow behavior of sodium alginate material was pseudoplastic, flow behavior of sodium alginate/agar material was Herschel-Bulkley at 25 °C in the shear rate range of 1 – 100 s⁻¹. As a result of the optimization was done for the purpose of determining the flow rate and injection time, the highest encapsulation efficiency was found when the flow rate of 2 mL/min. and 2 min. injection time (52.2±2.01%) were applied. It was determined that the encapsulation efficiency of the capsules obtained using gelation coating solution by gelation technique was 98.2±0.99%. Encapsulation efficiencies of sodium alginate, sodium alginate/gelatin and sodium alginate/agar coating solutions used in encapsulation by ionic gelation technique were determined as 48.71±1.26%, 61.54±0.95%, 55.7±0.60% respectively. It was determined that the particle size of the capsules obtained using gelation coating solution by gelation method was 1.31±0.25 mm³. Particle sizes of capsules obtained using sodium alginate, sodium alginate/gelatin and sodium alginate/agar coating solutions used in encapsulation by ionic gelation, were determined as 0.58±0.16 mm³, 1.39±0.35 mm³, 0.75±0.22 mm³ respectively. The highest swelling rate and the highest release rate in pH 1.1/pH 7.4 was obtained using the gelatin as coating solution by the gelation technique. The correlation were found between antioxidant activities and the encapsulation efficiencies of the capsules.

In this study; it has been found that the encapsulation of olive leaf extract using ionic gelation and gelation techniques, will contribute to increase the stability and bioavailability of the phenolic compounds.

Keywords: Phenolic compound, olive leaf, encapsulation, gelation, ionic gelation.

1. GİRİŞ

Zeytin, Akdeniz ülkelerindeki en önemli meyvelerden biridir (Abaza ve diğ, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2016/2017 sezonu verilerine göre ülkemizde yaklaşık 174 milyon zeytin ağacı bulunmakta olup zeytin dikim alanı 846.061 ha'dır. Zeytin dikim alanlarımız sürekli artmakta olup kullanılabilir tarım alanlarının %2,3'üne ulaşmıştır (Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, 2018). Bu durum zeytinin ekonomik ve sosyal olarak önemini ve herhangi bir yan ürününün kullanımından elde edilecek olası faydaları göstermektedir (Guinda ve diğ, 2004).

Zeytin ağacının yan ürünlerinden olan zeytin yaprakları; yıl boyunca zeytin ağacında mevcut olup zeytin ağacının budanması, zeytinlerin toplanması (yıllık her ağaç için yaklaşık 25 kg dal ve zeytin yaprağı) ve yağa işlenmesi sırasında (toplam zeytin ağırlığının %10'u kadar) ortaya çıkmaktadır (Abaza ve diğ, 2015).

Yapılan çalışmalar zeytin yapraklarının antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, hipotansif, hipöüremik ve hipoglisemik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Lafka ve diğ, 2013; Silva ve diğ, 2006). Zeytin yaprağı, biyoaktif bileşiklerin kaynağı olması nedeniyle gerçekleştirilen çalışmalarda genellikle zeytin yaprağının bileşiminde yer alan fenolik bileşiklere odaklanılmaktadır (Abaza ve diğ, 2015).

Zeytin yaprağındaki fenolik bileşikler; flavonlar (luteolin-7-glukozit, apigenin-7-glukozit, diosmetin-7-glukozit, luteolin ve diosmetin), flavonoller (rutin), flavan-3oller (kateşin), süstitü fenoller (tirosol, hidroksitirozol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit) ve oleuropeindir (Abaza ve diğ, 2015). Zeytin yaprağında oldukça fazla miktarda bulunan oleuropein, zeytin yaprağı ekstraktının ana bileşenidir. Zeytinyağında minör olarak bulunan oleuropein, acı tat ve keskin aromadan sorumludur (Mourtzinou ve diğ, 2007).

In vitro çalışmalar oleuropeinin antitümör bir bileşik olarak rol aldığını, trombosit aktive edici faktörü inhibe ettiğini, fare makrofajları tarafından nitrik oksit üretimini arttırdığını ve mikoplazmayı (insan patojenik bakterileri) inhibe ettiğini göstermiştir.

Farelerdeki alışmalar oleuropeinin, oksidatif miyokardiyal hasarı önlediğini göstermiştir. Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda oleuropeinin anti-iskemik, antioksidan ve hipolipidemik özellikleri nedeniyle metabolizmada bir modülatör olabileceği bildirilmiştir (Mourtzinou ve diğ, 2007).

Fenolik bileşiklerin düşük stabiliteye sahip olmaları nedeniyle gıdanın işlenmesi, dağıtımı ve depolanması aşamalarında ve tüketimi sırasında gastrointestinal sistemdeki (pH, enzimler, diğer bileşenlerin varlığı) aktiviteleri ve biyoyararlılıkları azalmaktadır. Ayrıca fenolik bileşikler, vresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdırlar ve olumsuz vre koşullarında çok hızlı bir şekilde okside olarak istenmeyen koku ve görüntü oluşumuna neden olmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Tüm bu sebeplerden ötürü fenolik bileşiklerin fizyolojik hedefe, organa tam olarak ulaşması; suda çözünürlüğünün arttırılması, istenmeyen tadın maskelenmesi, tüketime kadar yapısal bütünlüklerinin sürdürülmesi gereklidir. Bu amaçla günümüzde çeşitli enkapsülasyon teknikleri ile fenolik bileşiklerin stabilizasyonu sağlanmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

1.1 Tezin Amacı

Bu alışma ile biyoaktif bileşenleri koruma yöntemlerinden biri olan enkapsülasyon tekniği ile zeytin yaprağı ekstraktının farklı duvar materyalleri ve farklı enkapsülasyon teknikleri kullanılarak mikroenkapsülasyonu amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılan kaplama materyallerinin akış davranışları/viskoziteleri, iyonik jelleşme yönteminde uygulanacak akış hızı/enjeksiyon süreleri ve elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon verimlilikleri, partikül boyutları, şişme hızları, in vitro salım profilleri ve antioksidan kapasiteleri gibi bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bununla birlikte zeytin ağacının yan ürünü olan zeytin yapraklarının ekonomiye kazandırılması ve gıda bileşenini/takviyesi olarak kullanılmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

1.2 Literatür Araştırması

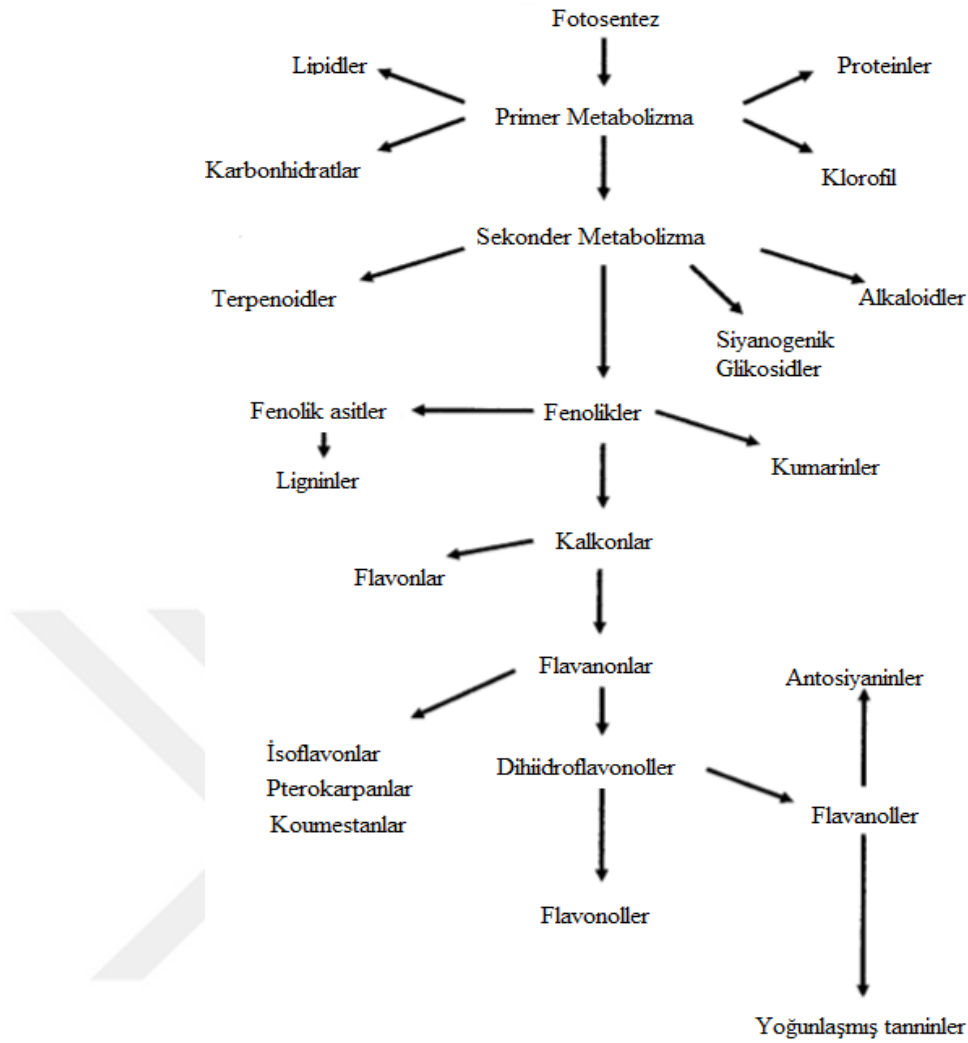
1.2.1 Fenolik bileşikler

“Fonksiyonel gıda” terimi ilk kez 80’li yıllarda Japonya’da yararlı fizyolojik etkilere sahip özel bileşenlerle zenginleştirilmiş gıda ürünlerini tanımlamak için ortaya çıkmış bir kavramdır. Bir gıdanın “fonksiyonel gıda” olarak tanımlanabilmesi için besin değerine ek olarak insan sağlığına olumlu katkı göstermesi gerektiği belirtilmektedir. Bu gıdaların fonksiyonelliği içeriğinde bulunan biyoaktif bileşenlerden ileri gelmektedir (Caleja ve diğ, 2016).

Gıdalara ilave edilen biyoaktif bileşenlerle tüketicilerin fiziksel ve ruhsal sağlığının desteklenmesinin yanında bazı kronik hastalıklara karşı korunması amaçlanmaktadır. Tüketicileri biyoaktif bileşenlere yönlendiren en önemli faktör insan sağlığına olan olumlu katkılarıdır. Başlıca biyoaktif bileşenler; vitaminler, amino asitler, yağ asitleri ve fenolik bileşiklerdir. Bu biyoaktif bileşenler arasında özellikle fenolik bileşiklere tüketicilerin ve endüstrinin ilgisi her geçen gün artmaktadır (Caleja ve diğ, 2016).

Bitkilerin metabolizması primer ve sekonder olarak ayrılmaktadır ve bu iki metabolizma arasındaki ilişki Şekil 1.1’de görülmektedir. Canlıların yaşaması için ortak ve hücrelerin yenilenmesi için esansiyel maddeler (lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler) primer metabolizma kaynaklıdır (Giada, 2013). Sekonder metabolitler, primer metabolitlerden biyosentetik yollarla üretilmiş olup sekonder metabolitlerin, bitkinin primer metabolizmasında tozlaşma, çevresel koşullara uyum, mikroorganizma ve böceklere karşı kimyasal savunma gibi fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir (Oskay ve Oskay, 2009).

Biyogenetik olarak fenolik bileşikler iki metabolik yolla oluşmakta olup bunlar fenilpropanoidlerin oluştuğu şikimik asit metabolik yolu ile ana ürün olarak basit fenollerin oluştuğu asetik asit metabolik yoludur (Giada, 2013). Çoğu bitkisel fenolik bileşik (sinamik asit, kumarik asit, kafeik asit ve türevleri), fenilpropanoid metabolik yolu ile sentezlenmektedir (Giada, 2013; Shetty ve diğ, 2005). Her iki metabolik yolun kombinasyonu ise doğada en yaygın fenolik grup olan flavonoidlerin oluşumuna neden olmaktadır (Giada, 2013).

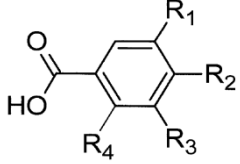
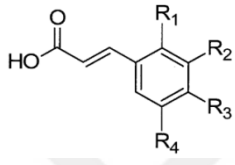


Şekil 1.1 : Bitkilerdeki primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişki (Giada, 2013)

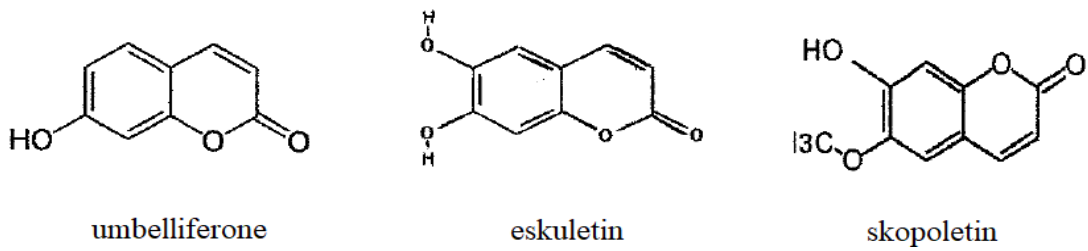
Fenolik bileşikler bitkilerde bulunan en yaygın sekonder metabolit grubudur (Giada, 2013). Kimyasal olarak fenolik bileşikler en az bir aromatik halka ve hidroksil ornatık (substitent)'dan oluşmaktadır (Shetty ve diğ, 2005). Fenolik bileşikler içerdikleri karbon zincirlerine göre flavonoidler, fenolik asitler, kumarinler ve taninler gibi sınıflara ayrılmaktadır (Giada, 2013).

Fenolik asitler, benzoik asit ve sinamik asit olmak üzere iki gruba ayrılmakta olup Çizelge 1.1'de yapısal formları ile söz konusu bileşenlerce zengin olan gıdalar belirtilmiştir. Benzoik asit, doğada bulunan en basit fenolik asittir ve yedi karbon atomuna (C6-C1) sahiptir. Sinamik asit ise dokuz karbon atomuna (C6-C3) sahiptir ve yaygın olarak sebzelerde bulunmaktadır (Giada, 2013; Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Çizelge 1.1 : Fenolik asitler, yapıları ve kaynakları (Giada, 2013; Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Fenolik Asitler	Yapısal Form	Örnekler	Kaynaklar
Benzoik asit		Salisilik asit (R ₄ =OH, R ₁ , R ₂ , R ₃ =H) Gentisik asit (R ₁ , R ₃ =OH; R ₂ , R ₄ =H) p-hidroksibenzoik asit (R ₂ =OH, R ₁ , R ₃ , R ₄ =H) Protokateşuik asit (R ₁ , R ₂ =OH; R ₃ , R ₄ =H) Vanilik asit (R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =OH; R ₃ , R ₄ =H) Gallik asit (R ₁ , R ₂ , R ₃ =OH; R ₄ =H) Siringik asit (R ₁ , R ₃ =OCH ₃ ; R ₂ =OH, R ₄ =H)	Çay, kırmızı meyveler (ahududu, frenk üzümü, çilek)
Sinamik asit		Seramik asit (R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =H) o-Kumarik asit (R ₁ =OH; R ₂ , R ₃ , R ₄ =H) m-Kumarik asit (R ₂ =OH; R ₁ , R ₃ , R ₄ =H) p-Kumarik asit (R ₃ =OH; R ₁ , R ₂ , R ₄ =H) Kafeik asit (R ₂ =R ₃ =OH; R ₁ , R ₄ =H) Ferulik asit (R ₂ =OCH ₃ ; R ₃ =OH; R ₁ , R ₄ =H) Sinapik asit (R ₂ =R ₄ =OCH ₃ ; R ₃ =OH; R ₁ =H)	Meyveler (kivi, yabanmersini, elma), tahıllar (buğday, pirinç)

Sekonder metabolitlerin bir sınıfını oluşturan kumarinler, o-kumarik asidin yan zincirinin siklizasyonu sonucunda sinamik asitten türemektedir. Kumarinler; doğada umbelliferone, eskuletin ve skopoletin gibi glikozit formunda bulunmakta olup kimyasal yapıları Şekil 1.2’de görüldüğü gibidir. Önemli gıda kaynakları zeytinyağı, yulaf ve baharatlardır (Giada, 2013).

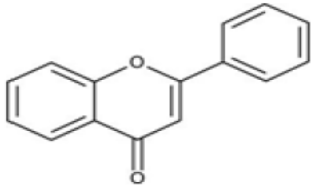
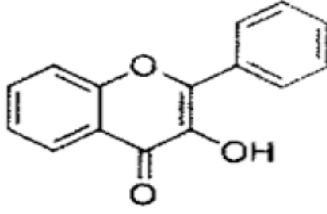
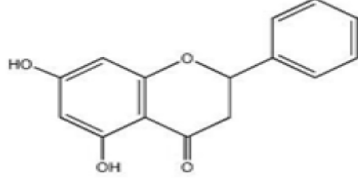
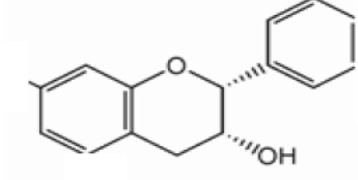
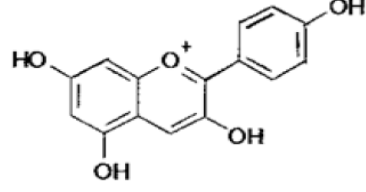
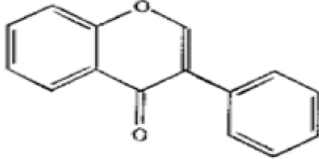


Şekil 1.2 : Kumarinlerin kimyasal yapısı (Giada, 2013)

Flavonoidler; aromatik halkalardaki ornatık (substitent)’ların hidroksilasyonu, metilasyonu, izoprenilasyonu, dimerizasyonu ve glikozilasyonu sonucu oluşan flavonoller, flavonlar, flavanoller, isoflavonlar ve antosiyanidinler gibi alt gruplara ayrılmaktadır (Shetty ve diğ, 2005). Çizelge 1.2’de flavonoidlerin alt grupları,

kimyasal yapıları, alt gruplara üye bileşikler ve bu bileşiklerce zengin gıdalar belirtilmiştir.

Çizelge 1.2 : Flavonoidler, yapıları ve kaynakları (Giada, 2013; Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Flavonoidler	Yapısal Form	Örnekler	Kaynaklar
Flavonlar		Aspigenin, Luteolin, Tangeretin, Nobiletin, Sinensetin	Maydanoz, kereviz, tahıl (buğday), narenciye kabuğu
Flavonoller		Mirsetin, Quersetin, Kamferol	Meyve ve sebzeler (soğan, pırasa, brokoli, yaban mersini), kırmızı şarap, çay
Flavanonlar		Hesperetin, Naringenin, Eriodictyol	Narenciye (greyfurt, portakal, limon), domates, nane
Flavanoller		Kateşin, Epikateşin	Meyve (kayısı, kiraz, üzüm, şeftali, elma), yeşil ve siyah çay, kırmızı şarap,
Antosiyanidinler		Siyanidin, Pelargonidin, Delfidin, Petunidin	Kırmızı şarap, bazı tahıl çeşitleri, bazı yapraklı ve kök sebzeler(patlıcan, lahana, fasulye, soğan, turp)
İzoflavonlar		Genistein, Daidzein, Glisitein	Baklagiller (soya ve işlenmiş ürünleri)

Bitkisel kökenli gıdalarda farklı nitelik ve miktarda çok çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Acar ve Gökmen, 2016). Bu bileşikler; gıda işleme endüstrisinde doğal renklendirici, koruyucu madde, antioksidan ve katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Literatüre göre fenolik bileşikler;

- Serbest radikallerin oksidasyon reaksiyonlarını inhibe eder,
- Antikanserojen ve antimutajenik özellik gösterir,
- Kozmetik formülasyonlarda yaşlanma karşıtı etki gösterir,
- Ödem oluşumunu engelleyerek iltihabı azaltır,
- Bağışıklık sistemini güçlendirir,
- Osteoporozu neden olan kemik rahatsızlıklarını önler,
- Kan damarlarını oluşturan bileşenler üzerine etki ederek kılcal damar direncini artırır,
- Kardiyovasküler sistemi korur,
- Retinayı korur,
- Kilo alımını engeller (Munin ve Edwards-Levy, 2011; Shetty ve diğ, 2005).

Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; antimikrobiyel aktivite göstermelerinin yanında enzim inhibisyonuna neden olmaları ve farklı gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları yönünden önem arz etmektedir (Acar ve Gökmen, 2016).

Fenolik bileşiklerin yukarıda belirtilen tüm olumlu etkilerinin yanında kullanımları büyük ölçüde sınırlıdır. Düşük stabiliteye sahip olmaları nedeniyle gıdanın işlenmesi, dağıtımı ve depolanması aşamalarında ve tüketim sırasında gastrointestinal sistemde (pH, enzimler, diğer bileşenlerin varlığı) aktiviteleri ve biyoyararlılıkları azalmaktadır. Fenolik bileşikler, çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdır. Olumsuz çevre koşullarında çok hızlı bir şekilde okside olarak istenmeyen tat, koku ve görüntü oluşumuna neden olmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

1.2.2 Zeytin ağacı (*olea europeae L.*) ve yaprakları

Zeytin ağacı (*Olea europaea*), bilinen en dayanıklı ağaçlardandır (Armutçu ve diğ, 2011). *Oleaceae* familyasının bir üyesi olan zeytin ağacı tüm dünyadaki üretimin %98'i Akdeniz ülkelerinde olmak üzere dünya genelinde 8 milyon hektardan daha fazla alanda yetiştirilmektedir (Abaza ve diğ, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2016/2017 sezonu verilerine göre ülkemizde yaklaşık 174 milyon zeytin ağacı bulunmakta olup zeytin dikim alanı 846.061 ha'dır. Zeytin dikim alanlarımız sürekli artmakta olup kullanılabilir tarım alanlarının %2,3'üne ulaşmıştır (Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, 2018).

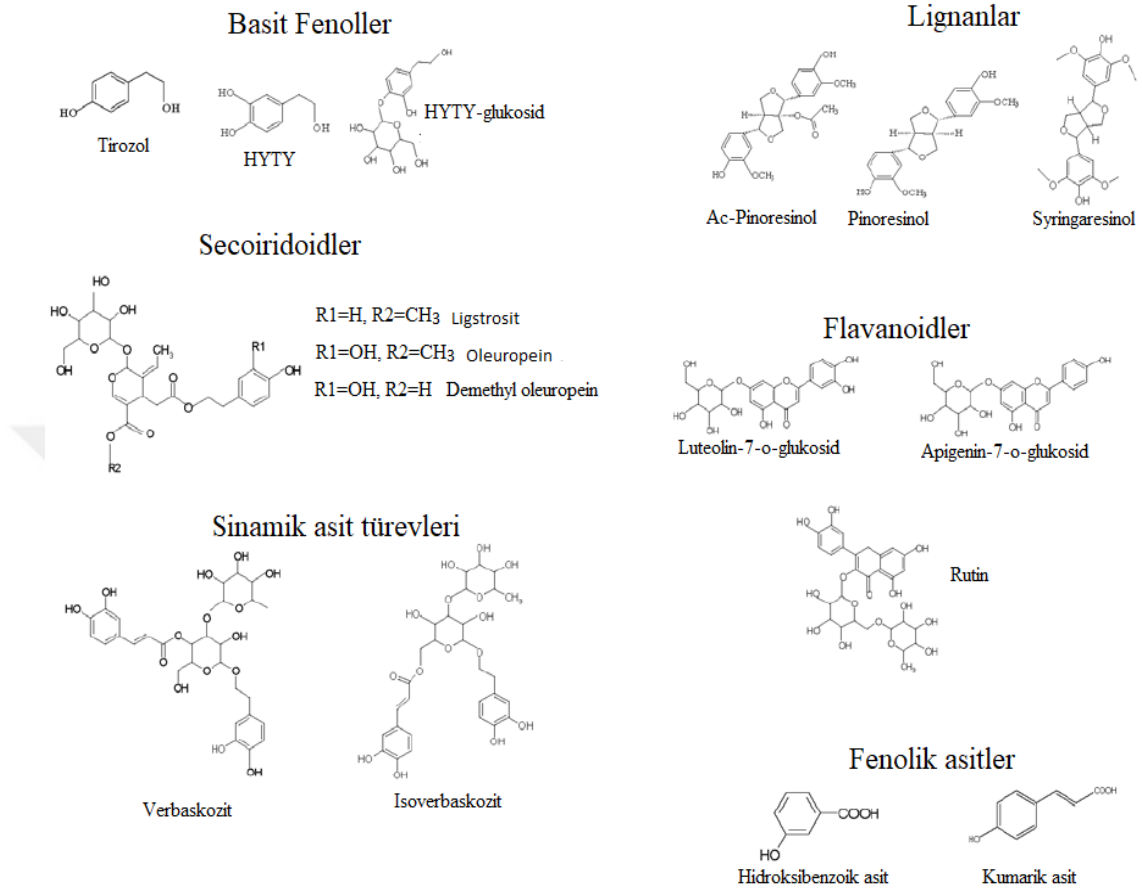
Zeytin ağacının bu kadar geniş bir yayılım alanı bulması yetiştiği bölgenin ekonomik kalkınması için önem teşkil ettiğinin kanıtı olmakla birlikte herhangi bir yan ürününün kullanımından elde edilebilecek olası faydaları da göstermektedir (Armutçu ve diğ, 2011; Guinda ve diğ, 2004).

Zeytin ağacının yan ürünlerinden olan zeytin yaprakları; yıl boyunca zeytin ağacında mevcut olup zeytin ağacının budanması, zeytinlerin toplanması (yıllık her ağaç için yaklaşık 25 kg dal ve zeytin yaprağı) ve yağa işlenmesi sırasında (toplam zeytin ağırlığının %10'u kadar) ortaya çıkmaktadır (Abaza ve diğ, 2015).

Yapılan araştırmalar, zeytin yaprağının yüz kadar farklı kimyasal materyal (bazı element, vitamin ve yağlar gibi) içerdiğini göstermiştir. Zeytin yapraklarının kimyasal bileşimleri; zeytin ağacının türüne, yetiştiği bölgeye ve iklime göre değişmekle birlikte hasat koşulları, ekstraksiyon prosedürü, kurutma ve depolama şartları gibi faktörlerden de etkilenmektedir (Abaza ve diğ, 2015; Armutçu ve diğ, 2011).

Zeytin yaprağı, biyoaktif bileşiklerin kaynağı olması nedeniyle gerçekleştirilen çalışmalarda genellikle zeytin yaprağının bileşiminde yer alan fenolik bileşiklere odaklanılmaktadır (Abaza ve diğ, 2015). Olgunlaşma periyodu sırasında zeytin meyvesinin ve yapraklarının fenolik kompozisyonunda önemli değişiklikler meydana gelmektedir (Silva ve diğ, 2006). Zeytin yaprağındaki fenolik sınıflar ve kimyasal yapıları Şekil 1.3'de yer almaktadır (Abaza ve diğ, 2015). Zeytin yaprağındaki temel fenolik bileşikler; verbaskozit, luteolin-7-glikozit ve oleuropeindir (Silva ve diğ, 2006).

Yapılan çalışmalar zeytin yapraklarının antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, hipotansif, hipoöremik ve hipoglisemik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Lafka ve diğ, 2013; Silva ve diğ, 2006).



Şekil 1.3 : Zeytin yaprağındaki fenolik sınıflar ve kimyasal yapıları (Abaza ve diğ, 2015)

Benavente-Garcia ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çizelge 1.3'de görüldüğü üzere zeytin yaprağının temel fenolik bileşenleri olan oleuropein ve hidrokstitirozolün antioksidan kapasiteleri, zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan kapasitesinden daha düşüktür. Bu durum oleuropeinin hidrokstitirozole parçalanarak ekstraktın antioksidan kapasitesini yükselttiğini ve zeytin yaprağı ekstraktındaki fenolik bileşiklerin sinerjik etki göstererek ekstraktın antioksidan kapasitesini yükselttiğini göstermektedir.

HIV-1 enfeksiyonuna karşı zeytin yapraklarının antiviral aktivitesine başvurulmaktadır (Silva ve diğ, 2006). Zeytin yapraklarından ekstrakte edilen önemli

miktarda oleuropein içeren fenolik fraksiyonun lipoprotein oksidasyonunu önlediği belirtilmiştir (Omar, 2010a).

Çizelge 1.3 : Zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite değerleri (Benavente-Garcia ve diğ, 2000).

Fenolik Madde	TEAC (mM)
Zeytin yaprağı ekstraktı	1,58 ± 0,06
Oleuropein	0,88 ± 0,09
Verbaskozit	1,02 ± 0,07
Tirosol	0,35 ± 0,05
Hidroksitirozol	1,57 ± 0,12
Apigenin-7-glukosit	0,42 ± 0,03
Luteolin-7-glukosit	0,71 ± 0,04
Diosmetin-7-glukosit	0,64 ± 0,09
Luteolin	2,25 ± 0,11
Diosmetin	1,42 ± 0,07
Rutin	2,75 ± 0,05
Kateşin	2,28 ± 0,04
Vanilin	0,13 ± 0,01
Vanilik asit	0,67 ± 0,09
Kafeik asit	1,37 ± 0,08

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda zeytin yaprağı ekstraktının kan basıncını düşürme kapasitesine sahip olduğu, koroner arterlerde kan akışını arttırdığı, bağırsak kas kasmalarını önlediği ve kas ritmini rahatlattığı belirtilmiştir (Benavente-Garcia ve diğ, 2000). İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda zeytin yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin bazı kronik hastalıkların riskinin ve şiddetinin azaltılmasında önemli biyolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmektedir (Abaza ve diğ, 2015).

Pereira ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada zeytin yaprağı sulu çözeltilisinin *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginos*, *K. pneumoniae* bakterilerine ve *C. albicans* ile *C. neoformans* mantarlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve çalışma sonucunda ekstraktın test edilen tüm bakteri ve mantarları inhibe ettiği kanıtlanmıştır.

Sağlığa olan olumlu katkıları sebebiyle günümüzde zeytin yaprağı ekstraktının; katma değeri yüksek gıdalarda, gıda katkı maddelerinde ve fonksiyonel gıdalarda kullanımına dair talep artmaktadır (Lafka ve diğ, 2013). Örneğin son yıllarda oksidasyona karşı daha dirençli ve daha belirgin lezzetli yağlar için üretimden önce zeytin yaprakları, olgunlaşmış zeytinlerle karıştırılmaktadır. Ayrıca zeytin yaprağı ekstraktının diyetetik bir ürün olarak pazarlanması da söz konusudur. Son çalışmalarda zeytin yaprağından önemli miktarda oleanolik asit geri kazanılmıştır. Bu asit ile desteklenen yağların fonksiyonel gıda üretiminde oldukça faydalı olduğu bulunmuştur. Ancak zeytin yaprakları henüz endüstriyel olarak kullanılamamakta bir yan ürün/artık olarak kabul edilmektedir (Ranalli ve diğ, 2006).

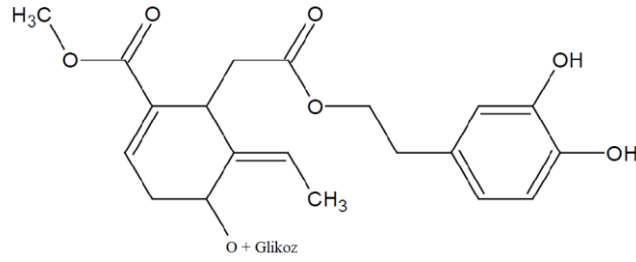
1.2.3 Oleuropein

İşlenmemiş zeytin meyvesi ve yapraklarında yüksek miktarda bulunan oleuropein, zeytin ağacı olarak bilinen *Olea europaea*'nin başlıca biyoaktif bileşenidir. Kuru madde bazında oleuropein, olgunlaşmamış zeytinde 140 mg/g, yapraklarda 60–90 mg/g konsantrasyona kadar ulaşabilmektedir (Omar, 2010a, 2010b). Zeytin yaprağı ekstraktının ana bileşeni olup zeytin yaprağında (%1-%14) fazla miktarda bulunmasının yanında sofralık zeytinde, zeytinyağında (%0,005-%0,12) ve prinada (%0,87) az miktarda bulunan oleuropein, zeytin yağının acı tat ve buruk aromasından sorumludur (Armutçu ve diğ, 2011; Mourtzinou ve diğ, 2007; Soni ve diğ, 2006). İşlenmemiş zeytin ve yapraklarında oleuropein içeriği daha yüksek olup zeytinin olgunlaşması sırasında meydana gelen kimyasal, enzimatik reaksiyonlar ve zeytinyağı üretim prosesi nedeniyle oleuropein konsantrasyonu azalmakta ve hidroksitirozol konsantrasyonu artmaktadır (Armutçu ve diğ, 2011). Zeytin yaprağındaki oleuropein miktarı; yaprak rengi, olgunluk ve genetik faktörlere bağlı olarak belirgin farklılıklar göstermektedir. Ayrıca hasat dönemi de oleuropein miktarını etkileyen önemli bir faktördür (Ranalli ve diğ, 2006).

1.2.3.1 Oleuropeinin kimyasal yapısı

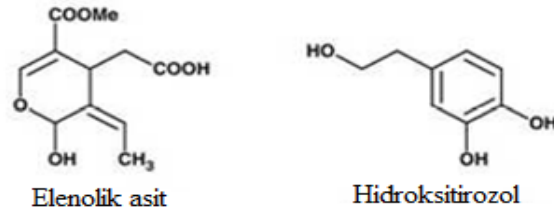
Oleuropein, 1908 yılında Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilen; *Oleaceae*, *Gentianaceae* ve *Comaleae* familyalarında fazla miktarda bulunan sekoiridoit bileşiktir (Benavente-Garcia ve diğ, 2000; Omar, 2010a, 2010b). Taze zeytin yapraklarındaki oleuropein miktarının %1,5-2 arasında olduğu belirtilmektedir

(Omar 2010a). Kimyasal formülü $C_{25}H_{32}O_{13}$, molekül ağırlığı ise 541 olan oleuropein, 2-(3,4-dihidroksifenil)etanol(hidroksitirozol)'ün ve elenolik asitin bir esteridir ve çoğunlukla aglikon formunda bulunur (Armutçu ve diğ, 2011; Omar, 2010b; Soni ve diğ, 2006). Oleuropein molekülü üç yapısal alt birim içerir; hidroksitirozol olarak bilinen 4-(2-hidroksietil)benzen-1,2-diol olarak da isimlendirilen bir polifenol, elenolic asit olarak adlandırılan bir sekoiridoid ve bir glikoz molekülüdür (Omar, 2010a). Şekil 1.4'de oleuropein molekülünün yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.4 : Oleuropein molekülünün yapısı (Soni ve diğ, 2006)

Oleuropeinin başlıca yıkım ürünleri, Şekil 1.5'de kimyasal yapıları belirtilen elenolik asit ve hidroksitirozol olmakla birlikte oleuropein aglikona ve glikoza da hidrolize olabilmektedir (Armutçu ve diğ, 2011; Mourtzinis ve diğ, 2007).

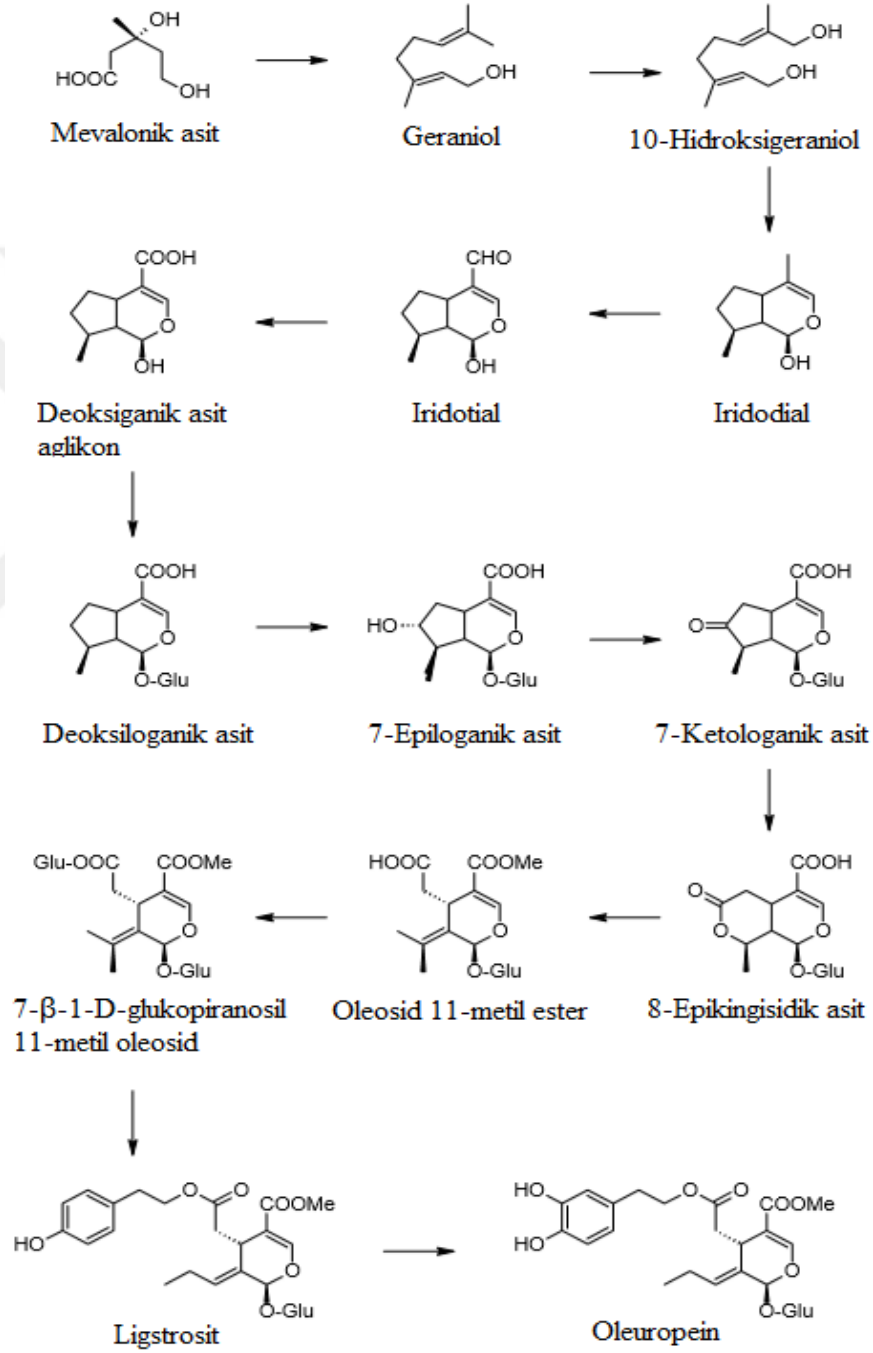


Şekil 1.5 : Oleuropeinin metabolitleri; elenolik asit ve hidroksitirozol (Armutçu ve diğ, 2011)

1.2.3.2 Oleuropeinin biyosentezi

Oleaceae familyasındaki oleuropeinin biyosentezi, Şekil 1.6'da görülmektedir. Biyosentez, sekonder metabolizmadan mevalonik asit yolundaki dallanmayla başlar oleosidlerin oluşumuyla sonuçlanır. Bu bileşiklerden sekoiridoidler türetilir. Geraniol, 10-hidroksigeraniol, iridiol bileşiklerindeki karbon iskeleti mevalonik asitten türemiştir. Sonrasında deoksiloganik asit, 7-epiloganik asit ve loganik asit; 7-ketologanik asit ara bileşiği üzerinden oleuropeinin direkt öncüsü olan ligstrosit dahil

edilirler. Deoksiloganik asit ve 7-ketologanin arasındaki basamakların yapısı bitki türleri ve mevsimlere göre farklılık göstermektedir. Yapılan bir çalışmada *Oleaceae* familyası için deoksiloganik asit, 7-epiloganik asit, 7-ketologanik asit, 8-epikingisidik asit, oleosid 11-metil ester, 7-β-1-D-glukopiranosil 11-metil oleosid ve ligstrosit olası biyosentetik yolu üzerinden oleuropein oluşumu ileri sürülmüştür (Omar, 2010a, 2010b).



Şekil 1.6 : Oleuropeinin biyosentetik metabolizma yolu (Omar, 2010a)

1.2.3.3 Oleuropeinin biyoyararlılığı

Benavente-Garcia ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada oleuropeinin parçalanma ürünü olan hidroksitirozolün antioksidan kapasitesinin; oleuropeinin antioksidan kapasitesinden yüksek olması hidroksitirozolün zeytin yaprağı ekstraktında bulunan polifenoller arasında biyolojik önem taşıyan temel bir bileşen olduğunu göstermektedir. Oral biyoyararlanım çalışmalarında hidroksitirozol ve glukuronidlerinin idrarla atılımının hidroksitirozol alımıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Soni ve diğ, 2006). Vücuda alınan oleuropein hızla absorbe olmakta ve vücuttan çoğunlukla glukuronit olarak, düşük konsantrasyonda ise serbest formda idrarla atılmaktadır. İnsan denekleri üzerinde yapılan bir çalışmada ligistrosid-aglikon, hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein-aglikon'un absorpsiyonunun %55-60 olduğu ve sağlıklı insanlara uygulanan oleuropein-glikozidin %15'inin hidroksitirozol ve tirozol olarak idrarla vücuttan atıldığı belirtilmiştir (Omar, 2010b). Ekstraktın ve hidroksitirozolün ortalama öldürücü dozununun (LD50) 2000 mg/kg'dan daha fazla olduğu bildirilmiştir. Fareler üzerinde yapılan subkronik bir çalışmada ekstraktın NOAEL değerinin 2000 mg/kg/gün olduğu bulunmuştur (Soni ve diğ, 2006).

1.2.3.4 Oleuropeinin biyolojik aktiviteleri

Oleuropeinin hipokolesterolemik, hipoglisemik aktivite göstermesi ve antioksidan, antiinflamatuvar, antiaterojenik, anti-kanser, antimikrobiyal, antiviral gibi farmakolojik özellikleri olması sebebiyle Akdeniz ülkelerinde ticari gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır.(Omar, 2010b; Silva ve diğ, 2006)

Oleuropein sahip olduğu antiinflamatuvar özellikleri sebebiyle güçlü bir antioksidandır (Benavente-Garcia ve diğ, 2000). Oleuropein, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu, trombosit agregasyonunu inhibe etmekte ve total, serbest ve esterlenmiş kolesterolün plazma seviyelerini düşürmektedir (Omar, 2010b; Ranalli ve diğ, 2006). Yapılan bir çalışmada diyabetik tavşanlara 16 hafta süresince günlük 20 mg/kg oleuropein uygulanmıştır. Oleuropein uygulanan diyabetik tavşanlar ile oleuropein uygulanmayan diyabetik kontrol tavşanları karşılaştırıldığında oleuropein uygulanan tavşanlarda 8. haftada kandaki glikoz seviyesinde belirgin bir azalış meydana gelmiştir (Al-Azzawie ve Alhamdani, 2006).

Ayrıca fareler üzerinde yapılan çalışmalar; oleuropeinin, oksidatif miyokardiyal hasarı önlediğini göstermektedir (Mourtzinou ve diğ., 2007).

Oleuropein virüslere, retrovirüslere, bakterilere, mayalara, mantarlara, küflere ve diğer parazitlere karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Benavente-Garcia ve diğ., 2000). Yapılan çalışmalar oleuropeinin, mikoplazmanın yanı sıra Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Oleuropeinin antimikrobiyal aktivite mekanizması halen tam olarak bilinmemekle birlikte oleuropeine benzer yapıdaki fenolik bileşiklerin; bakteri membranına zarar vererek veya hücre peptidoglikanlarını parçalayarak antibakteriyel etki gösterdikleri düşünülmektedir. Oleuropein ve hidroliz ürünleri; *S. aureus* tarafından enterotoksin B'nin oluşumunu ve gelişimini, *S. enteritidis*'in gelişimini ve *Bacillus cereus* sporlarının çimlenerek gelişimini inhibe edebilmektedir. Yapılan bir çalışmada ticari *Olea europaea* (zeytin) yaprağı ekstraktlarının; *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Omar, 2010b).

In vitro çalışmalar oleuropeinin antitümör bir bileşik olarak rol aldığını, trombosit aktive edici faktörü inhibe ettiğini, fare makrofajları tarafından nitrik oksit üretimini arttırdığını ve mikoplazmayı (insan patojenik bakterileri) inhibe ettiğini göstermiştir (Mourtzinou ve diğ., 2007).

Yapılan bir çalışmada oleuropeinin Alzheimer ve Parkinson gibi bazı dejeneratif hastalıkların kilit özelliği olan A β peptidi ile kovalent olmayan kompleks oluşturarak nörokoruma gösterdiği belirtilmiştir (Omar, 2010a).

1.2.4 Enkapsülasyon

Sağlıklı ve besleyici gıda ürünlerine olan talep dünya çapında artmaktadır. Günümüzde gıdalar, sadece açlığı gidermek için değil insan vücuduna gerekli besinleri sağlamak üzere tasarlanmaktadır. Ayrıca beslenme ile ilişkili hastalıkları önlemek ve fiziksel/ruhsal sağlığın iyileştirilmesi de amaçlanmaktadır. Bu kapsamda fonksiyonel gıdalar önemli bir rol üstlenmektedir (Jeyakumari ve diğ., 2016).

Fonksiyonel gıdalar, temel besinsel işlevlerden öte kronik hastalık riskini azaltmak veya insan sağlığına yararlı olabilmesi için fonksiyonel bileşenlerle

zenginleştirilmektedir. Gıdalardaki biyoaktif bileşenler, fizyolojik olarak aktif ve oldukça duyarlı bileşiklerdir. Biyoaktif bileşiklerin özelliklerini kaybetmeksizin kullanımını gıda endüstrisi için büyük bir gelişmedir (Jeyakumari ve diğ, 2016).

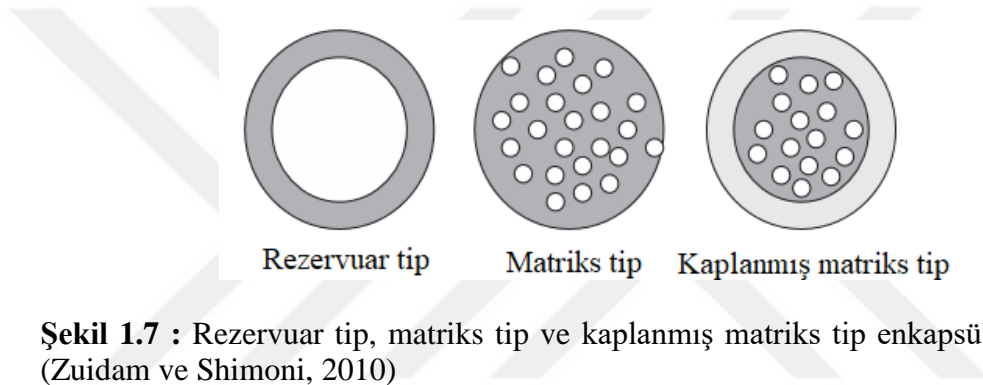
Fenolik bileşiklerin düşük stabiliteye sahip olmaları nedeniyle gıdanın işlenmesi, dağıtımı ve depolanması aşamalarında ve tüketim sırasında gastrointestinal sistemde (pH, enzimler, diğer bileşenlerin varlığı) aktiviteleri ve biyoyararlılıkları azalmaktadır. Ayrıca fenolik bileşikler, çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdır ve olumsuz çevre koşullarında çok hızlı bir şekilde okside olarak istenmeyen tat, koku ve görüntü oluşumuna neden olmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Tüm bu sebeplerden ötürü fenolik bileşiklerin fizyolojik hedefe, organa tam olarak ulaşması; suda çözünürlüğünün artırılması, istenmeyen tadın maskelenmesi, tüketime kadar yapısal bütünlüklerinin sürdürülmesi gereklidir. Bu amaçla günümüzde çeşitli enkapsülasyon teknikleri ile fenolik bileşiklerin stabilizasyonu sağlanmaktadır (Munin ve Edwards-Levy, 2011).

Enkapsülasyon tekniği ilk olarak 1932 yılında A.Boake, Roberts & Co, Ltd Şirketi tarafından püskürterek kurutma tekniği ile flavor tozunun gam arabik ile kapsüle edilmesi için kullanılmıştır. Bu uygulama sonrası püskürterek kurutma tekniği gıda sanayisinde kullanılan önemli enkapsülasyon tekniklerinden biri haline gelmiştir. Dünyada enkapsülasyon alanındaki bilimsel araştırmalar genellikle İsrail merkezlidir. Mikroenkapsülasyon metodunu kullanarak gıda bileşenlerini enkapsüle eden firmalar ise genel olarak ABD ve İngiltere merkezlidir (Gökmen ve diğ, 2012).

Enkapsülasyon, biyoaktif moleküllerin (antioksidanlar, mineraller, vitaminler, fitosteroller, lutein, yağ asitleri, likopen vb) ve canlı hücrelerin (probiyotikler vb) gıdaların içinde taşınması amacıyla geliştirilmiş; aktif materyalin başka bir materyal ile kaplandığı veya başka bir materyalin içine hapsedildiği, özel koşullar altında kapsül içeriğinin kontrollü bir şekilde salınabildiği bir teknolojidir (Desai ve Park, 2005; Nedovic ve diğ, 2011; Risch, 1995). Kaplanan veya hapsedilen aktif materyal, çoğunlukla sıvı formda olmakla birlikte katı veya gaz formda da olabilir. Aktif materyal; çekirdek, dolgu, iç faz vb. adlandırılırken kaplama materyali; duvar materyali, taşıyıcı, membran, kabuk, kapsül, taşıyıcı materyal, dış faz veya matriks olarak adlandırılmaktadır (Nedovic ve diğ, 2011; Risch, 1995).

Rezervuar ve matriks tipi olmak üzere iki ana enkapsül tipi olarak ayırım yapılabilir. Rezervuar tipinde aktif madde etrafında kabuk mevcuttur. Bu tip kapsül, tek çekirdek, mono-çekirdek veya çekirdek-duvar tipi olarak da adlandırılmaktadır. Basınç uygulaması rezervuar tipi enkapsüllerde kırılmalara ve böylece içeriğinin salınmasına neden olabilmektedir. Bir partiküldeki birkaç rezervuar bölmeli poli-veya multi-çekirdekli enkapsüller de bulunmaktadır (Zuidam ve Shimoni, 2010). Matriks tipinde aktif materyal taşıyıcı materyal üzerinde disperse olmuş durumdadır. Bu iki tipin kombinasyonu olan üçüncü tipte ise aktif materyalin bulunduğu matriks tekrar kaplanır (Burgain ve diğ, 2011). Şekil 1.7’de yalnızca küresel şekilli kapsüller gösterilmiştir ancak silindirik, oval veya düzensiz şekillerde diğer formlarda mümkündür (Zuidam ve Shimoni, 2010).



Şekil 1.7 : Rezervuar tip, matriks tip ve kaplanmış matriks tip enkapsüllerin yapısı (Zuidam ve Shimoni, 2010)

Mikrokapsüllerin üretimi için kullanılan materyallere ve metotlara bağlı olarak çok farklı şekillere sahip mikrokapsüllerin boyutu submikrometreden birkaç milimetreye kadar değişebilmektedir (Desai ve Park, 2005). Enkapsülasyon yöntemi ile elde edilen kapsüllerin çapı 0.2 μm 'den küçük ise nanoenkapsülasyon, 0.2-5,000 μm arasında ise mikroenkapsülasyon, 5,000 μm 'den büyük ise makroenkapsülasyon olarak tanımlanmaktadır (Gökmen ve diğ, 2012).

Aktif bileşiklerin enkapsülasyonu geçtiğimiz on yıl içerisinde kozmetik ve ilaç endüstrisinde oksidasyona karşı koruma sağlamak, çözünürlüğün artırılması ve oral yoldan tüketildiğinde aktivitenin artırılması amacıyla kullanılmıştır (Mourtzinou ve diğ, 2007). Son yıllarda gıda endüstrisinde fonksiyonel bileşiklerin artırılması amacıyla da kullanılmaktadır. Fonksiyonel bileşikler; aromanın, rengin ve tekstürün kontrolü ve özelliklerin korunması için kullanılmaktadır. Fonksiyonel bileşikler genellikle çevresel, üretimsel ve/veya gastrointestinal koşullara yüksek oranda

duyarlıdırlar. Bu sebeple enkapsülasyon, fonksiyonel bileşiklerin etkili bir şekilde korunmasına yönelik uygulamaya konulmuş bir yaklaşımdır (Nedovic ve diğ, 2011).

Enkapsülasyon, çekirdek materyalin dış faktörlerden izole edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Örneğin vitaminleri inaktive edici etkilerden izole etmek, uçucu çekirdek materyallerin evaporasyonunu geciktirmek, aktif çekirdek materyalini kimyasal saldırıdan izole etmek için kullanılmaktadır (Tarun ve diğ, 2011).

Enkapsülasyon ayrıca tüketim sırasında yüksek antioksidan aktivite gösteren polifenollerin ve diğer bileşiklerin bitter ve acı gibi hoşta gitmeyen tatlarının maskelenmesi için de kullanılmaktadır. Polifenollerin etkinliği, onların stabilitesinin, biyoaktivitesinin ve biyoyararlılığının korunmasına bağlıdır. Serbest bileşikler yerine enkapsüle edilen polifenollerin kullanımı, bazı kusurları etkili bir şekilde kapatabilmektedir (Nedovic ve diğ, 2011).

Başka bir problem ise midede yetersiz kalma süresi, bağırsak içinde düşük geçirgenlik ve çözünürlük nedeniyle oral kullanımı takiben düşük miktarda molekül kalmaktadır. Ayrıca gıdanın işlenmesi, depolanması (sıcaklık, oksijen, ışık) sırasında veya gastrointestinal sistemde (pH, enzimler, diğer besinlerin varlığı) karşılaşılan koşullar altında kararsızlıkları, polifenoller gibi bileşiklerin potansiyel sağlığa yararlarını ve aktivitelerini kısıtlayıcıdır. Bu yüzden üreticiler tüketim zamanından organizmada fizyolojik hedefe ulaşana kadar aktif içerikleri, korumayı amaçlamaktadır. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda serbest bileşikler yerine enkapsüle edilen polifenollerin kullanımının, bileşiklerin hem biyoyararlılığını hem de stabilitesini geliştirmesine yol açtığı belirtilmiştir (Nedovic ve diğ, 2011).

Enkapsülasyonun gıdalardaki başlıca kullanım amaçları;

- Çekirdek materyalin dış çevreyle (ısı, nem, hava ve ışık vb) reaktivitesini azaltarak degradasyondan korumak,
- Orijinal materyalin fiziksel özelliklerini modifiye ederek, daha kolay taşınabilir hale getirmek (Desai ve Park, 2005),
- Çekirdek materyalin istenmeyen tat ve aromasını maskelemek (Jeyakumari ve diğ, 2016),

- Aktif maddenin gıda ürünlerindeki diğer bileşenlerle istenmeyen etkileşimlerini önlemek,
- Proses ve depolama süresince biyoaktif bileşenlerin stabilitesini korumak,
- Gıdadaki aktif bileşikler evaporasyona, kimyasal reaksiyona veya migrasyona karşı korumak,
- Biyoaktif bileşiğin doğru zamanda ve doğru yerde kapsül dışına çıkmasını sağlamak (Nedovic ve diğ, 2011),
- Gıdaların raf ömrünü arttırmak ve besin değerini yükseltmek,
- Gıdaların sindirilebilirliğini sağlamak ve olgunlaşma süresini kısaltmak,
- Gıdaların çeşitliliğini arttırmak ve doğallığını sağlamak (Gökmen ve diğ, 2012).

Gıda katkı maddelerinin enkapsülasyonu ile ilgili yasalar farmatötikten daha serttir. İlaç enkapsülasyonu için kabul edilen bileşiklerin gıda endüstrisinde kullanımı uygun bulunmamaktadır. Çünkü bu bileşiklerin çoğu “Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (GRAS)” bileşenler olarak gıda uygulamaları için sertifikalandırılmamıştır. Tüm gıda prosesleri, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) veya Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi kamu kurumlarının güvenlik gereksinimlerini karşılayacak şekilde tasarlanmalıdır (Nedovic ve diğ, 2011).

Temelde film oluşturan materyaller olan kaplama materyalleri, son üründe istenen karakteristiklere ve kaplanan materyale bağlı olarak çok çeşitli sentetik veya doğal polimerlerden seçilebilir (Desai ve Park, 2005). Gıda uygulamalarında kaplama materyali olarak en yaygın polisakkaritler kullanılır. Nişasta ve türevleri- amiloz, amilopektin, dekstrinler, maltodekstrinler, polidekstroz, şuruplar, selüloz ve bunların türevleri yaygın olarak kullanılanlardır. Bitki salgı ve ekstraktlarından – gam arabik, tragakant gam (kitre), gam karaya, mesquite gam, galaktomannan, pektin ve çözünür soya fasulyesi polisakkaritleri; deniz ekstraktları – karragenan ve aljinat; mikrobiyal ve hayvansal polisakkaritler-dekstran, kitozan, ksantan, gellan da enkapsülasyon materyali olarak kullanılabilir (Nedovic ve diğ, 2011). Kaplama materyali olarak karbonhidratların kullanımı şekil olarak küresel ve pürüzsüz kapsül oluşumunu sağlar. Ayrıca kaplama materyali ile çekirdek materyalinin arasındaki yapışma

kuvvetini arttırır (Koç ve diğ, 2010). Düşük maliyetli olmaları ve gıdalarda yaygın olarak kullanımları karbonhidratları enkapsülasyonda tercih edilen seçenek haline getirmektedir. Ayrıca bu materyaller yüksek katı içeriklerinde düşük viskoziteye ve iyi çözünürlük özelliklerine sahiptirler (Madene ve diğ, 2006).

Doğal ve modifiye edilmiş polisakkaritlerin yanında proteinler ve lipitler de enkapsülasyon için uygun materyallerdir. Yaygın olarak süt ve peynir altı suyu proteinlerinden kazein, jelatin ve gluten kullanılır (Nedovic ve diğ, 2011). Proteinler özellikle lezzet bileşenlerinin bağlanmasında önemlidirler (Koç ve diğ, 2010). Proteinler; amfifilik özellikleri, farklı tipteki maddelerle etkileşime girme yetenekleri, yüksek molekül ağırlıkları ve moleküler zincir esnekliklerinden dolayı çözünürlük, viskozite, emülsifikasyon ve film oluşturma gibi mükemmel özelliklere sahiptirler (Madene ve diğ, 2006). Gıda uygulamalarına uygun lipid materyaller yağ asitleri, yağ alkolleri, waksılar (balmumu, karnauba mumu, kandelilya mumu), gliseridler ve fosfolipidlerdir. Bunlara ek olarak PVP, parafin, şellak ve inorganik materyaller gibi diğer materyallerde kullanılmaktadır (Nedovic ve diğ, 2011).

İdeal kaplama materyalinin sahip olması gereken özellikler;

- Enkapsülasyon işleminde kullanılan çözücünün tamamen uzaklaştırılmasına olanak tanınmalı,
- Çevresel koşullara karşı aktif materyale maksimum koruma sağlamalı,
- İyi emülsiyon stabilizasyonu özelliklerine ve etkili dispersiyon davranışına sahip olmalı,
- Aktif materyalin istenilen yerde ve istenilen zamanda salımına izin vermeli,
- Ekonomik olmalı,
- FDA ve EFSA tarafından kabul edilir olmalı (Madene ve diğ, 2006).
- Proses sırasında ve depolama süresince aktif materyali kapsül yapısında tutabilmeli,
- Enkapsüle edilen materyalle reaksiyona girmemeli,
- Yüksek konsantrasyonlarda iyi reolojik özelliklere sahip olmalı (Nedovic ve diğ, 2011).

Yukarıda belirtilen özellikleri tek bir kaplama materyali karşılayamayacağı için uygulamada farklı kombinasyonlarda kaplama materyalleri veya antioksidanlar, şelat ajanları, sürfaktanlar gibi modifikatörlerde kullanılabilir. Yaygın olarak kullanılan bazı biyoyumlu ve gıda sınıfı kaplama materyalleri Çizelge 1.4’de belirtilmiştir (Desai ve Park, 2005).

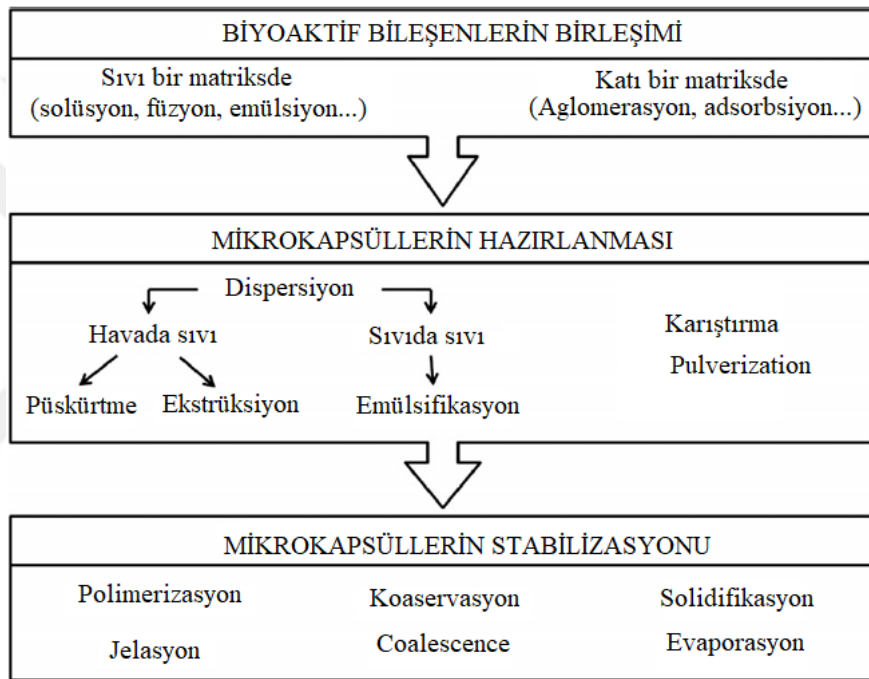
Çizelge 1.4 : Fonksiyonel gıda katkı maddelerinin enkapsülasyonu için kullanılan kaplama materyalleri (Desai ve Park, 2005).

Kategori	Kaplama Materyalleri	Yaygın Kullanılan Metotlar
Karbonhidrat	Nişasta, maltodekstrinler,	Sprey kurutma, Ekstrüzyon, Dondurarak kurutma, Koaservasyon
Selüloz	Karboksimetilselüloz, metil selüloz, etilselüloz, selülozasetat-fitalet	Koaservasyon Sprey kurutma
Gam	Gam akasya, agar, sodyum aljinat, karragenan	Sprey kurutma Şırınga metodu (jel boncukları)
Lipidler	Vaks, parafin, balmumu, diasilgliseroller, yağlar	Emülsiyon Lipozom
Protein	Gluten, kazein, jelatin, albumin, peptidler	Emülsiyon Sprey kurutma

Var olan kaplama materyallerinin özelliklerini değiştirmek için kimyasal modifikasyonlar yapılabilmektedir. Bu modifiye kaplama materyalleri, orijinal kaplama materyalleri ile karşılaştırıldığında daha iyi fiziksel ve mekanik özellikler sergilemektedir (Desai ve Park, 2005).

Enkapsülasyon teknolojisiyle korunması, izole edilmesi ve yavaş salım yapması gereken materyaller kapsüllenebilmektedir. Gıda sistemlerinde asitler, lipitler, enzimler, mikroorganizmalar, aromalar, yapay tatlandırıcılar, vitaminler, mineraller, su, mayalama ajanları, renklendiriciler, tuzlar, antioksidanlar, yağ asitleri, polifenoller, enzimler, protein hidrolizatları ve peptidler enkapsüle edilebilmektedir (Jeyakumari ve diğ, 2016; Nedovic ve diğ, 2011; Risch, 1995).

Şekil 1.8’de görüldüğü üzere enkapsülasyon teknolojisi üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama sıvı veya katı bir matrikste biyoaktif bileşenlerin birleşmesinden oluşmaktadır. Çekirdeğin sıvı olması durumunda matriksteki birleşme çözünme veya dağılma olacaktır. Çekirdek materyalin katı olması durumunda ise birleşme bir aglomerasyon veya bir absorpsiyon olacaktır. İkinci aşamada ise solüsyon katı matrikste toz haline getiriliyorken likit (sıvı) matriks disperse olmaktadır. Son aşama ise kimyasal (polimerizasyon), fizikokimyasal (jelasyon) veya fiziksel (evaporasyon, katılaşma, birleşme) stabilizasyondan oluşmaktadır (Burgain ve diğ, 2011).



Şekil 1.8 : Mikrokapsül üretim basamakları (Burgain ve diğ, 2011)

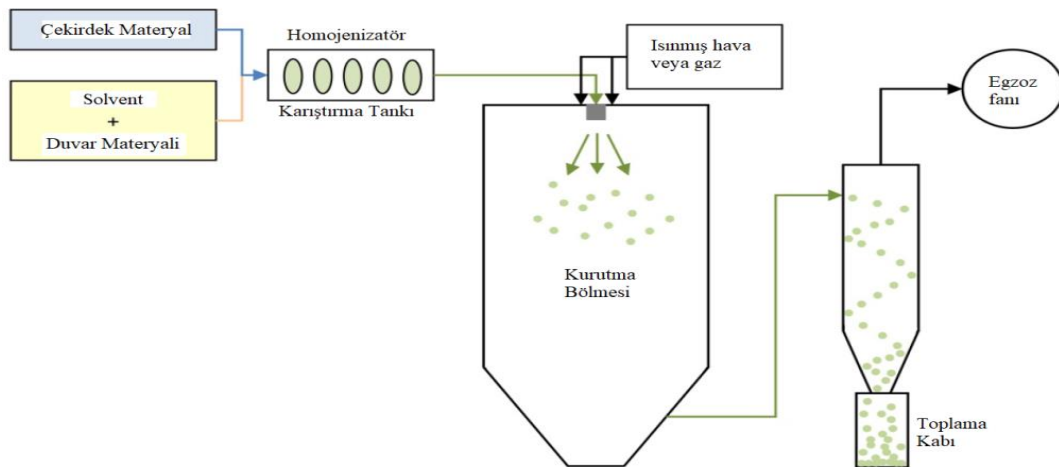
Uygulanacak enkapsülasyon yöntemi rasgele seçilmemelidir. Son üründe istenen özellikler; tüketici taleplerini, besleyicilik değerini ve gıdanın işlenme-depolanma stabilitesinin gelişimini sağlamalıdır. Enkapsülasyonda kullanılan yöntemin son üründe istenilen özellikleri sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi gerekmektedir (Gökmen ve diğ, 2012).

Gıda bileşenlerinin kaplama materyalleriyle kapsüllemesi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilir. Mikroenkapsülasyon tekniği, çekirdeğin ve kaplama malzemelerinin özelliklerine (fiziksel ve kimyasal) ve gıda bileşenlerinin kullanım

amacına göre seçilir. Mikroenkapsülasyon metodu ve kaplama materyalinin seçimi birbirine bağlıdır (Desai ve Park, 2005).

Mikroenkapsülasyon yöntemleri fiziksel ve kimyasal yöntemler olarak ayrılabilir. Fiziksel yöntemler; püskürterek kurutma, sprey soğutma, döner disk atomizasyon, akışkan yatak kaplama ve koekstrüsiyon'dur. Kimyasal yöntemler ise basit ve kompleks koaservasyon, arayüz polimerizasyon ve faz ayrımı'dır (Jeyakumari ve diğ, 2016). Günümüzde yaygın olarak gıda bileşenlerinin enkapsülasyonunda kullanılan yöntemler; püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, ko-kristalizasyon, koaservasyon, lipozom ve emülsiyon'dur (Burgain ve diğ, 2011; Gökmen ve diğ, 2012; Jeyakumari ve diğ, 2016).

Püskürterek kurutma yöntemi, gıda endüstrisinde kullanılan en ekonomik ve yaygın enkapsülasyon yöntemidir (Risch, 1995). Bu yöntem aktif materyalin, taşıyıcı materyalin sulu çözeltisinde çözünmesi, emülsiyonu veya dispersiyonu ile hazırlanmasını takiben yüksek basınçlı nozul veya santrifüj tekerlek (döner atomizer olarak da adlandırılır) ile atomize edilerek Şekil 1.9'da görüldüğü üzere karışımın sıcak bir bölme içerisinde püskürtülmesi ile gerçekleştirilir (Chàvarri ve diğ, 2012; Zuidam ve Shimoni, 2010). Bu yöntemde aynı yöndeki veya zıt yöndeki sıcak hava akımı, atomize olan parçacıklara temas eder ve su evapore olur. Kuru partiküller kurutucunun tabanına düşer ve toplanır (Risch, 1995).



Şekil 1.9 : Püskürterek kurutma yönteminin şematik gösterimi (Chàvarri ve diğ, 2012)

1950'li yılların sonundan itibaren gıda endüstrisinde kullanılmakta olan püskürterek kurutma yöntemi aroma bileşenlerini oksidasyona/degradasyona karşı korumak ve sıvı formları toz forma dönüştürmek için kullanılmaktadır (Desai ve Park, 2005). Bu teknik yüksek oranda tekrarlanabilir ve en önemlisi endüstriyel uygulamalar için uygun bir yöntemdir (Burgain ve diğ, 2011). Püskürterek kurutma yöntemi, esnek ve devamlı bir yöntem olmasının yanında ekonomik bir yöntemdir (Nedovic ve diğ, 2011). Diğer enkapsülasyon yöntemleri ile mukayese edildiğinde üretim maliyeti daha düşük ve ekipmanın bulunabilirliği daha kolaydır (Risch, 1995).

Bu yöntem ile 40 µm'den daha düşük boyutta, iyi kalitede kapsüllerin üretilmesi sağlanır (Nedovic ve diğ, 2011). Püskürtmeli kurutma yöntemi, gıda endüstrisinde oldukça yaygın kullanılan bir yöntem olmasının yanında donanımın karmaşıklığı, kurutma çemberindeki üniform olmayan koşulların ve partikül boyutu kontrolünün zor olması, yapışma tehlikesi, oksidasyon, renk ve aroma değişimi gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Ayrıca bu yöntemde kurutma odasındaki enerjinin tamamından faydalanılamamaktadır (Gökmen ve diğ, 2012; Nedovic ve diğ, 2011).

Gıda endüstrisindeki sprey kurutucularda; eş zamanlı hava akışıyla ve parçacıkların minimum ısınmasını sağlayan parçacıklarla çalışılır. Aşırı ısınmasını engelleyen parçacıkların kullanımı içeriklerin ısıya duyarlı ve uçucu olması durumunda önemlidir. Atomize edici damlacıkların büyüklüğü; yüzey gerilimine, sıvının viskozitesine, nozul boyunca basınç düşüşüne ve spreyin hızına bağlıdır. Ayrıca atomize edici damlacıkların büyüklüğü kurutma süresini ve partikül büyüklüğünü de belirlemektedir (Zuidam ve Shimoni, 2010).

Kurutma prosesi süresince damla yüzeyinde bir film oluşur ve kurutulmuş partiküldeki içeriklerin konsantrasyonu artar. Sonuç olarak gözenekli, kuru bir partikül oluşur (Zuidam ve Shimoni, 2010).

Püskürterek kurutma teknolojisinin kullanımını kısıtlayan nedenlerden biri, uygun kaplama materyalinin sınırlı sayıda olmasıdır (Desai ve Park, 2005). Kullanılacak kaplama materyali, aktif materyalin korunması, suda yüksek çözünürlük, moleküler ağırlık, kristallik, dağılma, iyi film oluşturma özelliği, iyi emülsifiye edici özellikler ve düşük maliyet gibi çoğu kriteri karşılamalıdır. Literatürde yer alan kaplama materyalleri; doğal gımlar (gam arabik, aljinatlar, karragenanlar vb), proteinler

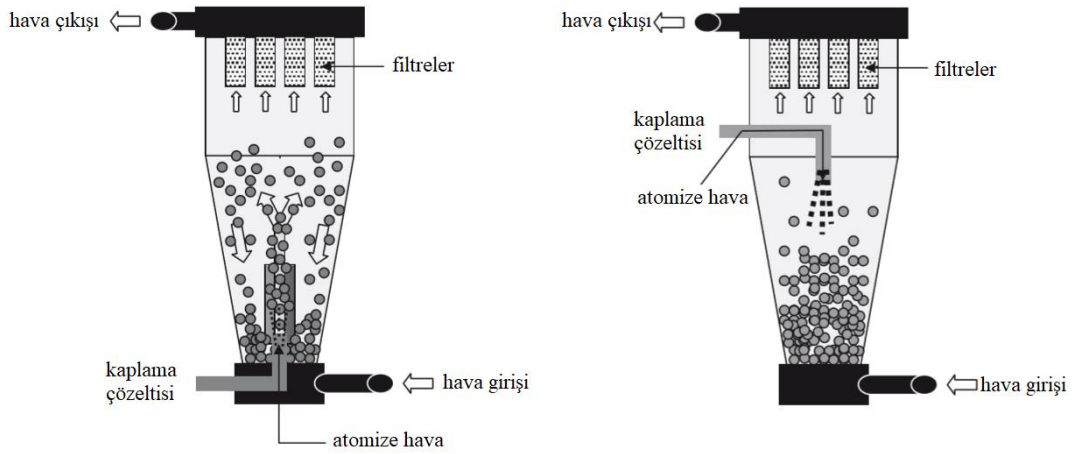
(günlük proteinler, soya proteinleri, jelatin vs), karbonhidratlar (maltodekstrinler ve selüloz türevleri) ve/veya lipitler (mumlar, emülsifiye ediciler)'dir (Zuidam ve Shimoni, 2010).

Geleneksel sprey kurutma yöntemiyle elde edilen enkapsüller, suya eklendiğinde aktif ajanlarını (partiküllerin gözeneklerine bağlı olarak) derhal serbest bırakırlar. Ancak daha hidrofobik ve/veya çapraz bağlı taşıyıcı materyaller, sudaki seyreltme üzerine daha aşamalı bir salım sağlayabilir. Bu taşıyıcı materyaller denatüre proteinler, çapraz bağlı proteinler ve çapraz bağlı biyopolimerlerdir (Zuidam ve Shimoni, 2010).

Enkapsülasyon yöntemlerinden biri olan dondurarak kurutma liyofilizasyon olarak da isimlendirilmektedir. Bu teknik ürünün dondurulması ve sonrasında ürün içindeki donuk suyun direkt olarak katı fazdan gaz fazına süblime olması esasına dayanan bir dehidrasyon işlemidir (Chàvarri ve diğ, 2012). Sulu çözeltilerinde kararsız olan ısıya duyarlı materyallerin kurutulmasında kullanılan en yararlı yöntemdir. Ancak sprey kurutmaya kıyasla üretim maliyeti 50 kat daha yüksektir (Madene ve diğ, 2006). Dondurarak kurutma yönteminin diğer dezavantajları ise yüksek enerji gerektirmesi ve uzun işlem süreli olmasıdır. Ayrıca aktif materyalle çevresindeki kaplayıcı materyal arasındaki geniş gözenekli bariyer, uygulama süresince zayıf koruma oluşmasına neden olmaktadır (Nedovic ve diğ, 2011).

Akışkan yatak kaplama yöntemi genellikle katı partiküllerin üzerine uygulanan kaplama tekniğidir (Risch, 1995). İlk kez 1957-1966 yılları arasında Wisconsin Üniversitesi Mezunlar Araştırma Vakfı mezunları ve Dr. Wurster tarafından patentli bir dizi buluştan geliştirilmiştir (Chàvarri ve diğ, 2012). Şekil 1.10'da görüldüğü üzere akışkan yatak kaplama yönteminde enkapsüle edilecek çekirdek materyaller ve hava akımı, kaplama odasına verilir; çekirdek materyaller hava akımı ile kaplama odasının üst kısmına taşınır. Spesifik bir sıcaklıkta toz partiküller; hava akımı ile askıya alınır, üzerine eritilen veya buharlaşmış bir çözücü içerisinde çözündürülmüş kaplama materyali atomize edilir ve çekirdek materyal, kaplama materyaliyle kaplanır (Gökmen ve diğ, 2012; Zuidam ve Shimoni, 2010). Kaplama materyali, pompalama ve atomize etme işlemlerinin etkin yapılabilmesi için kabul edilebilir bir viskoziteye sahip olmalı ve partikül yüzeyinde bir film oluşturabilmelidir.

Enkapsülasyon uygulamasına ve çekirdek materyalin partikül boyutuna bağlı olarak genellikle %5-50 kaplama uygulanır (Zuidam ve Shimoni, 2010).



Şekil 1.10 : Akışkan yatak kaplama yönteminin şematik gösterimi (Zuidam ve Shimoni, 2010)

Akışkan yatak kaplama yönteminde hidrojenize bitkisel yağlar, stearinler, yağ asitleri, emülgatörler ve vakslar gibi sıcak eriyik kaplama materyallerinin veya nişastalar, gamlar ve maltodekstrinler gibi solvent bazlı kaplama materyallerinin kullanımı uygundur. Sıcak eriyiklerde taşıyıcının sertleşmesi için soğuk hava kullanılmasına karşılık solvent bazlı kaplamalarda solventi evapore etmek için sıcak hava kullanılmaktadır. Sıcak eriyik bileşenleri içeriklerini sıcaklık artışı veya fiziksel kırma ile salmaktayken suda çözünen kaplamalar içeriklerini su ilave edildiğinde salmaktadır (Desai ve Park, 2005).

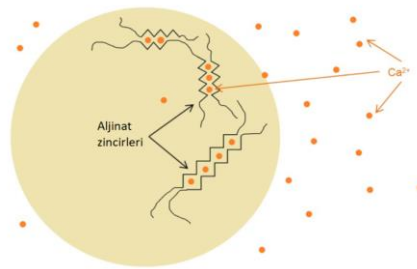
Akışkan yatak kaplama yöntemi ile kaplanacak partiküller ideal olarak küresel ve yoğun olmalı; dar parçacık boyut dağılımına ve iyi akışkanlığa sahip olmalıdır. Küresel parçacıklar en düşük yüzey alanına sahiptir ve küresel olmayan parçacıklara göre daha az kaplama materyali gerektirir. Keskin kenarlar, taşıma sırasında kaplamaya zarar verir. İnce ve düşük yoğunluklu parçacıklar, makinanın üst kısmındaki filtre torbalarında birikmeye neden olabilir. Genel olarak neme dayanıklı kapsül oluşturmak için uygulanan bir yöntemdir. İstenirse birden fazla kaplama materyali kapsülün üzerine uygulanabilmektedir. Ancak birden fazla kaplama maliyeti arttırmaktadır (Zuidam ve Shimoni, 2010).

Akışkan yatak kaplama yönteminin hızlı bir proses olması, kolay bir işlem olması ve bu nedenle kalifiye iş gücü ve uzmanlık gerektirmemesi, kullanılacak kaplama materyali sayısının fazla olması ve kaplayıcının çözelti, süspansiyon, emülsiyon veya eriyik olarak uygulanabilmesi, üstün kaplama kalitesine sahip kapsüller elde edilmesi, daha az kaplama malzemesi gereksinimi, kaplama materyalinin daha az kaybı ve solventin geri kazanılabilir olması, çevrenin korunmasını katkı sağlanması ve ekipmanlarının çok amaçlı kullanımı bu yöntemin avantajları arasındadır. Ekipman ve yatırım maliyetlerinin yüksek olması, oluşan kapsül boyutunun 50 µm'den büyük olması, uçucu çekirdek materyallerin kullanımına uygun olmaması yöntemin dezavantajları arasında sayılmaktadır (Tarun ve diğ, 2011).

Akışkan yataklı kapsülleme, çocuk vitaminleri gibi küçük tabletlerde ve multivitaminlerde askorbik asitten demiri izole etmek için kullanılabilir. Çoğu takviye edici gıda, besin karışımları ve kuru karışımlar, akışkan yatak yöntemi ile enkapsüle edilmiş bileşenler içermektedirler. Fırınlanmış ürünlerdeki sitrik asit, laktik asit, sorbik asit, C vitamini ve sodyum bikarbonat ile kraker ve etlerdeki tuzlar enkapsüle edilmiştir (Desai ve Park, 2005).

Ekstrüzyon yöntemi ile gıda bileşenlerinin enkapsülasyonu nispeten yeni bir teknolojidir (Desai ve Park, 2005). Bu yöntem sulu, polimer bir çözeltinin (çoğunlukla alglerden ekstrakte edilen ve D-mannuronik ile L-guluronik asitten oluşan %0,6-3 w/v sodyum aljinat), jelleşme çözeltisi (sodyum aljinat olması durumunda jelleşme banyosu 0,05-1,5 M kalsiyum-klorid çözeltisi) içine damlatılması esasına dayanmaktadır (Gökmen ve diğ, 2012; Nedovic ve diğ, 2011).

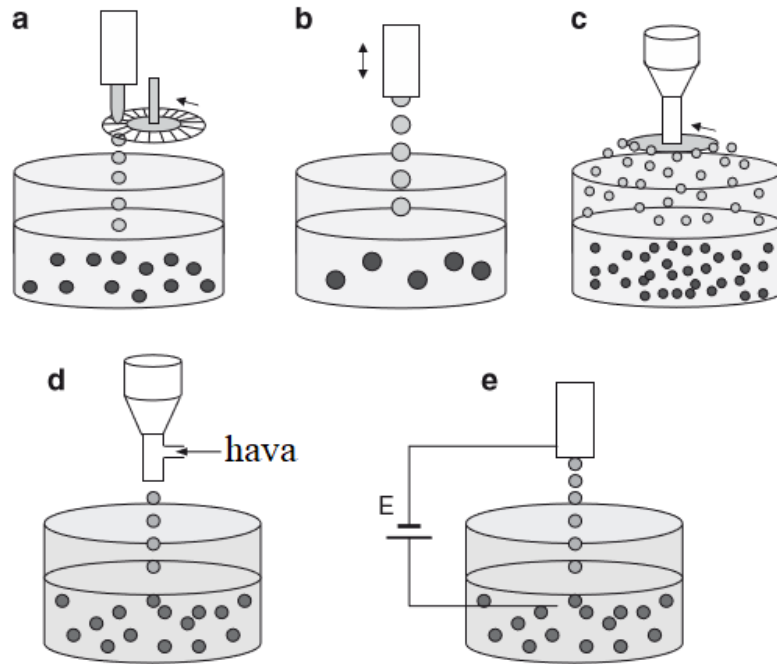
Şekil 1.11'de görüldüğü üzere damlacıklar hızlı bir şekilde jel küreleri oluşturmakta ve çekirdek materyaller, iyonik olarak çapraz bağlı aljinatın oluşturduğu üç boyutlu kapsüllerde hapsedilmektedir (Krasaekoopt ve diğ, 2003).



Şekil 1.11 : Aljinat içeren sistemlerin jelasyonu (Chavarri ve diğ, 2012)

Aljinat mikrokapsülleri, sodyum aljinatın kalsiyum (Ca^{2+}) gibi iki değerli iyonlarla etkileşime girmesi sonucu elde edilir. Sodyum aljinat solüsyonu kalsiyum klorid çözeltisine eklenir eklenmez sodyum iyonları, kalsiyum iyonları ile yer değiştirerek jelleşir. Kalsiyum iyonunun konsantrasyonuna bağlı olarak jel yapısı etkilenmektedir. Düşük konsantrasyonlarda jel formu termik olarak geri dönüşlü iken yüksek konsantrasyonlarda geri dönüşlü değildir (Dolça ve diğ., 2015).

Şekil 1.12’de ekstrüzyon yöntemleri şematik olarak gösterilmektedir. Damlatma aracı olarak Şekil 1.12’de görülen basit bir pipet, şırınga, titreşimli nozul, püskürtücü nozul, jet cutter, atomize edici disk, koaksiyal hava akımı ve elektrik alanı kullanılabilir. Bu yöntemde aljinat solüsyonunun viskoelastikiyetine ve damlatma aletine bağlı olarak mikrokapsüllerin çapı 0,2-5,0 mm arasında değişmektedir (Zuidam ve Shimoni, 2010).



Şekil 1.12 : Ekstrüzyon yöntemlerinin şematik gösterimi. jet cutter (a), pipet veya titreşimli nozul (b), atomize edici disk (c), koaksiyal hava akımı (d) veya elektrostatik potansiyel (e) (Zuidam ve Shimoni, 2010)

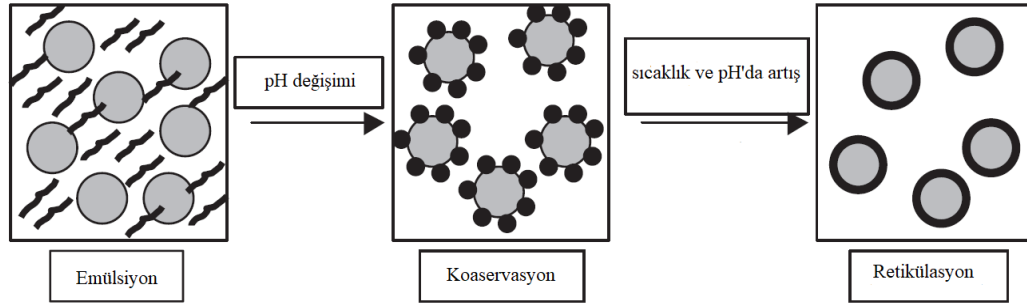
Ekstrüzyon teknikleri karşılaştırıldığında büyük ölçekli endüstriyel uygulamalarda en iyi teknolojinin jet cutter olduğu bulundu. Elektrostatik ekstrüzyon ise 50 μm 'den küçük kapsül üretiminde etkili bir yöntemdir (Nedovic ve diğ., 2011).

Ekstrüzyon basit ve ucuz bir metoddur. Bu metot tehlikeli solventler içermez ve aerobik/anaerobik koşullar altında yapılabilir (Burgain ve diğ, 2011). Isı, aktif materyalin ve kaplama materyalinin etkinliğini azaltacak bir faktördür. Ekstrüzyon yönteminde ısı uygulaması olmaması bu tekniğin avantajıdır. Ayrıca bu yöntem enkapsüle edilen aktif materyalin kontrolüne ve membran kalınlığının kontrol edilmesine imkan tanımaktadır (Dolça ve diğ, 2015). Bu metotun en önemli dezavantajı mikrokapsül oluşumunun yavaş olması sebebiyle büyük ölçekli üretimlerde kullanımının zor olmasıdır (Burgain ve diğ, 2011).

Faz ayrılması olarak adlandırılan koaservasyon, polimer-polimer uyumsuzluğuna dayanan en eski ve en yaygın kullanılan enkapsülasyon yöntemlerinden biridir (Tomaro-Duchesneau ve diğ, 2013). Enkapsülasyonun orjinal metodu olarak bilinir. 1955 yılında karbonsuz kopya kağıdı üretiminde basınca duyarlı boya mikrokapsülleri oluşturmak için kullanılmıştır. Koaservasyon, kolloid parçacıkların çözüldükten ayrılması ve aglomerat oluşturması esasına dayanır. Sıvı faz koaservat olarak adlandırılır (Madene ve diğ, 2006). Koaservasyon tekniği basit ve kompleks koaservasyon olarak sınıflandırılmaktadır. Basit koaservasyon, düşük moleküllü bir madde ile çözünmüş bir polimerin interaksyonu sonucu oluşur (Jamekhorshid ve diğ, 2014). Bu yöntemde sıvı-sıvı faz ayrımının ve koaservat polimer damlaların oluşumunu sağlamak için polimerik karışıma tuz veya alkol eklenmesi söz konusudur (Tomaro-Duchesneau ve diğ, 2013). Kompleks koaservasyon ise ters yük taşıyan iki polimerin etkileşimi sonucu gerçekleşir (Jamekhorshid ve diğ, 2014). Kompleks koaservasyon iki fazın varlığında ve sulu faz pH'sının değiştirilmesiyle meydana gelir. Koaservat polimer damlaların arayüzünde bir membran oluşumu gözlenir. Daha sonra bu membran katılaştırılabilir ve çapraz bağlı polimerler ile stabilize edilebilir (Tomaro-Duchesneau ve diğ, 2013).

Şekil 1.13'de kompleks koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyonun şematik gösterimi yer almaktadır. Kompleks koaservasyon yönteminin ilk basamağı çekirdek materyalin (genellikle yağ) sulu polimer çözeltisine dispersiyonu ile emülsiyonun hazırlanmasıdır. Sonrasında ikinci bir sulu polimer çözeltisi ilavesini takiben ortamın seyreltilmesi; pH, sıcaklık değişimi veya tuz eklenmesi gibi işlemler ile çekirdek materyal üzerindeki kaplama materyali tortusu oluşturulur. Son basamakta ise çapraz

bağlama, çözünme ve termal işlemlerle stabilizasyon sağlanır (Jamekhorshid ve diğ, 2014).



Şekil 1.13 : Kompleks koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyonun şematik gösterimi (Madene ve diğ, 2006)

Çok sayıda kaplama materyali koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon için değerlendirilmiştir. Ancak en çok çalışılan ve iyi anlaşılan kaplama sistemi muhtemelen jelatin/akasya gamı sistemidir. Gliadin, heparin/jelatin, karragenan, kitosan, soya proteini, polivinil alkol, jelatin/karboksimetilselüloz, B-laktoglobulin/gam akasya ve guar gam/dekstran gibi diğer kaplama sistemleriyle de çalışılmıştır (Desai ve Park, 2005).

Son yıllarda tipik jelatin/akasya gam kompleks koaservasyon prosesinde karşılaşılan problemlerin bir kısmının üstesinden gelinmesi için modifiye edilmiş koaservasyon prosesleri geliştirilmektedir. Bu proseste kaplama materyalleri karıştırılır ve sonrasında faz ayrımı pH'da yapılan ayarlama ile elde edilir. Yeni oluşan koaservat faz ayrılır ve çöker. Süpernatant su uzaklaştırılır, 50 °C'de tutulan karışıma flavor yağı eklenir ve hızlıca emülsifiye edilir (Desai ve Park, 2005).

Koaservasyon yöntemi pahalı ve kompleks bir sistem olması nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Ayrıca kompleks koaservatlar stabil değildirler ve onları stabilize etmek için glutaraldehit gibi toksik kimyasal ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Madene ve diğ, 2006).

Emülsifikasyon yöntemiyle enkapsülasyon işlemi suda çözünebilen aktif maddeler olması durumunda gerçekleşmektedir. Su/yağ veya yağ/su emülsiyonları ile su/yağ/su çift emülsiyonları olmak üzere iki çeşit emülsiyon vardır (Nedovic ve diğ, 2011). Çekirdek faz sulu olduğunda su/yağ (yağ içinde su) emülsiyonu olarak

adlandırılırken hidrofobik bir çekirdek fazı olması durumunda yağ/su (su içinde yağ) emülsiyonu olarak adlandırılmaktadır. Çift emülsiyon tekniği ise hidrofobik duvar materyalindeki sulu çözeltide yapılan bir emülsiyondaki basit tekniğin modifiye edilmiş halidir (Chàvarri ve diğ, 2012).

Yağ/su (su içinde yağ) emülsiyonları, sulu faz hacmini ve böylece su içindeki tat moleküllerinin konsantrasyonunu değiştirerek ve tat reseptörleriyle tuzun temasını baskılayarak tadı (tuz gibi) etkileyebilir. Lipofilik aktif maddeler (aroma, likopen ve beta-karoten gibi karotenoidler, bitki sterolleri, vitamin E, diyet yağlar gibi), yağ/su (su içinde yağ) emülsiyonları ile korunabilir ve tüketicilere ulaştırılabilir (Zuidam ve Shimoni, 2010). Bu yöntemde öz materyal ve polimer kaplama materyalinin bulunduğu çözelti; soya, ayçiçek, kanola ve mısır yağı gibi bitkisel yağlara (sürekli faz) damlatılmaktadır. Yağda su emülsiyonu meydana gelerek; yağ içerisinde çözünmeyen küçük jel formları oluşmaktadır. Elde edilen su/yağ emülsiyonu bir süre bekletilmektedir. Oluşan mikrokapsüller filtrasyonla yağdan ayrılmaktadır. Mikrokapsüllerin boyutu 25 µm ile 2 mm arasındadır. Destekleyici materyal olarak κ-karragenan, keçiyoynuzu zamkı, selüloz asetat fitalat, aljinat, chitosan ve jelâtin kullanılabilir (Krasaekoopt ve diğ, 2003). Jelasyonu takiben su içindeki jel boncukları bitkisel yağın uzaklaştırılması için yıkanır (Kailasapathy, 2002). Suda yağ emülsiyonu sprey kurutma ve dondurarak kurutma gibi farklı metotlar kullanılarak kurutulabilmektedir (Nedovic ve diğ, 2011).

Kokristalizasyon yöntemi ise çekirdek materyallerin birleşmesi için bir matriks olarak sakarozun kullanıldığı yeni bir enkapsülasyon prosesidir (Desai ve Park, 2005). Sakarozun çekirdek materyali çevreleyen bir matriks olarak kullanıldığı, çekirdek materyalin sakaroz kristalleriyle sürüklendiği ve bu sırada 3 ila 30 µm arasında değişen kristal kümelerin oluştuğu bir kristalizasyon işlemidir (Gökmen ve diğ, 2012). Kokristalizasyon yöntemi ile meyve suları, uçucu yağlar, aromalar ve esmer şeker gibi bir çok ürün enkapsüle edilebilir (Madene ve diğ, 2006). Sakaroz şurubu aşırı doymuş olarak konsantre edilir ve kristalizasyonun önlenmesi için yüksek sıcaklıkta ve düşük nemde tutulur (Desai ve Park, 2005; Madene ve diğ, 2006). Sonrasında belirli miktardaki çekirdek materyal, kuvvetli mekanik çalkalama ile konsantre şurubun içerisine eklenir. Böylece kristalizasyon için sakaroz/çekirdek materyal karışımının çekirdeklenmesi sağlanır. Çalkalama, kristal kümeler haznedenden

tahliye edilene kadar kristalizasyonun devam etmesi ve etkisinin yükseltilmesi amacıyla devam ettirilir. Elde edilen enkapsüle ürünler istenilen neme kadar kurutulur (eğer gerekli ise) ve üniform bir boyut için elenir (Desai ve Park, 2005).

Bu tekniğin avantajları;

- Bu proses sayesinde sıvı formdaki çekirdek materyaller, ek kurutma olmaksızın kuru toz formuna dönüştürülebilir,
- Kümelenmiş yapıdan dolayı ürünler doğrudan tablet özelliklerine sahiptir ve böylelikle şeker ve ilaç endüstrisinde önemli avantajlar sunmaktadır (Desai ve Park, 2005),
- Ekonomik ve nispeten basit bir prosestir (Madene ve diğ, 2006).

Lipozomlar ilk olarak 1965 yılında Cambridge Üniversitesinde yapılan bir çalışma sırasında keşfedilmiştir (Gökmen ve diğ, 2012). Lipozomlar fosfolipid bir membran ile tamamen çevrelenmiş sıvı fazdan meydana gelmektedir. Örneğin lesitin gibi fosfolipidler sulu fazda dağıldığında lipozomlar kendiliğinden oluşmaktadır (Desai ve Park, 2005). Lipozomlar; suda çözünür, yağda çözünür veya amfifilik materyallerin hapsedilmesi veya salınımında kullanılabilirler (Gökmen ve diğ, 2012). Lipozomlar aşuların, hormonların, enzimlerin ve vitaminlerin taşınması için kullanılmaktadır. Lipozomlar bir veya daha fazla lipid katmanından oluşmaktadır ve böylece gıdalar için zehirsiz ve kabul edilebilirler. Geçirgenlik, stabilite, yüzey aktivitesi ve afinite; boyut ve lipid kompozisyonu aracılığıyla değişebilmektedir. Lipozomların çapları 25 nm'den birkaç mikrona kadar değişen aralıkta olup kolay elde edilirler ve dondurarak kurutularak depolanabilirler (Desai ve Park, 2005).

1.2.5 Reoloji

Reoloji, uygulanan dış kuvvetler (gerilim veya gerinim) altında maddede meydana gelen deformasyonun ve akışın incelendiği bir bilimdir (Steffe, 1996). Özellikle maddelerin katı ve sıvı halleri arasındaki geçiş alanında sergiledikleri davranışları incelenmektedir (Tabilo-Munizaga ve Barbosa-Canovas, 2005). Tüm materyaller reolojik özelliklere sahiptir ve amacına uygun olarak çoğu alanda bu reolojik özelliklerinden yararlanılmaktadır (Steffe, 1996).

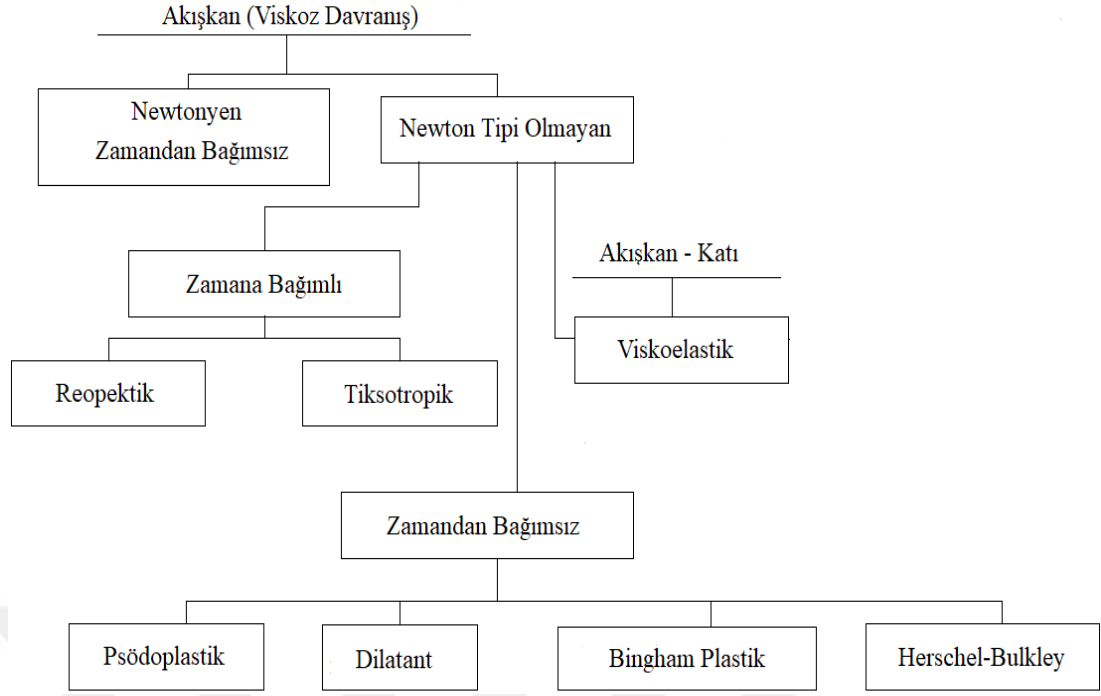
Gıda endüstrisinde birçok alanda reolojik verilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlar;

- Boru hatları, pompalar, ekstrüderler, karıştırıcılar, kaplama makinası, ısı değiştiriciler, homojenizatörler gibi çok çeşitli ekipmanların tasarımındaki mühendislik hesaplamaları,
- Ürün geliştirmede bileşenlerin işlevselliğinin belirlenmesi,
- Ara veya son ürünün kalite kontrolü,
- Raf ömrü testi,
- Gıda yapısının duyuşal verilerle korelasyonunun değeriendirilmesi,
- Reolojik veya yapısal denklemlerin analizi (Steffe, 1996).

Bir sıvının akmaya karşı gösterdiği dirence viskozite denir. Viskozite arttıkça direnç de artmaktadır. Blok şeklinde bir sıvı düşünülür ve en alt yüzeyinin sabit olduğu kabul edilirse en üst tabaka sabit bir hızla hareket ettirildiğinde diğer bütün tabakalar orantılı bir hızla hareket edecektir. Sıvı bloğun sabit alt tabakasının yerinde kalabilmesi için uygulanan kuvvete eş değeri ve ters yönde bir kuvvet gerekmektedir. Bu kuvvet stresi meydana getirmektedir (Çelebi, 2009).

Kayma stresi, birim yüzey alanına uygulanan gücün ölçümüdür ve Pascal (Pa) birimi ile ifade edilmektedir (Tabilo-Munizaga ve Barbosa-Canovas, 2005). Kayma hızı, uygulanan kayma stresi sonucunda akışkanda meydana gelen hız gradyenidir ve birimi s^{-1} 'dir (Bourne, 2002). Bir akışkanın reolojik özelliklerinin belirlenebilmesi için kayma hızı ve kayma stresi verileri gerekmektedir (Steffe ve Daubert, 2006).

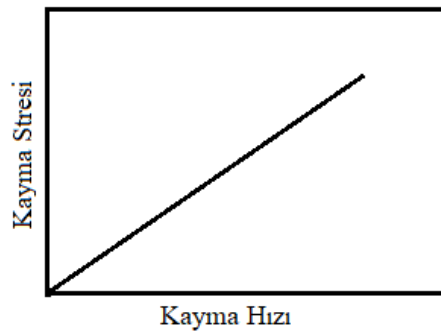
Akışkanların reolojik davranışları kayma hızına ve zamana bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Şekil 1.14'de görüldüğü üzere akış davranışına göre sınıflandırma Newton tipi davranış ve Newton tipi olmayan davranış olarak ikiye ayrılmakta, Newton tipi olmayan davranış ise kendi içerisinde zamana bağımlı ve zamandan bağımsız olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Zamandan bağımsız akış davranışları Bingham plastik, plastik (Herschel-Bulkley), psödoplastik ve dilatant; zamana bağlı akış davranışları ise reopektik ve tiksotropiktir (Steffe, 1996). Newton tipi davranış ve zamandan bağımsız Newton tipi davranış gösteren maddelerin reolojik özellikleri, karıştırma ve pompalama gibi mekanik olaylardan etkilenmezler. Örneğin su ve zeytin yağı gibi gıdaların viskozite ölçümleri ne kadar süre karıştırıldığına önemi olmadan aynı kalacaktır (Steffe ve Daubert, 2006).



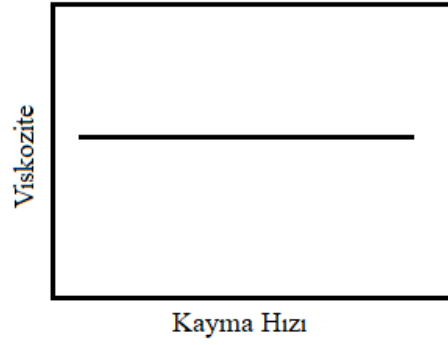
Şekil 1.14 : Akışkanların reolojik davranışlarına göre sınıflandırılması (Steffe, 1996)

Newton tipi davranış gösteren akışkanlar: Newton tipi akışkan davranışı, gerçek bir viskoz akıştır (Bourne, 2002). Kayma hızı ile kayma stresi arasında lineer bir ilişki söz konusudur ve madde zamandan bağımsız olarak davranış göstermektedir (Steffe ve Daubert, 2006). Viskozite ise kayma hızından bağımsızdır. Kayma stresi – kayma hızı eğrisinin eğimi viskoziteyi vermektedir (Bourne, 2002).

Newton tipi davranış gösteren akışkanların akış ve görünen viskozite reogramları Şekil 1.15 ve Şekil 1.16’da gösterilmiştir.



Şekil 1.15 : Newton tipi davranışa ait akış reogramı (Steffe, 1996)



Şekil 1.16 : Newton tipi davranışa ait görünen viskozite reogramı (Steffe, 1996)

Newton tipi akış davranışı Denklem 1.1 ile ifade edilmektedir (Steffe, 1996).

$$\sigma = \mu \gamma \quad (1.1)$$

Denklem 1.1'de görüldüğü üzere σ kayma stresini (Pa), μ viskoziteyi (Pa.s), γ ise kayma hızını (1/s) göstermektedir.

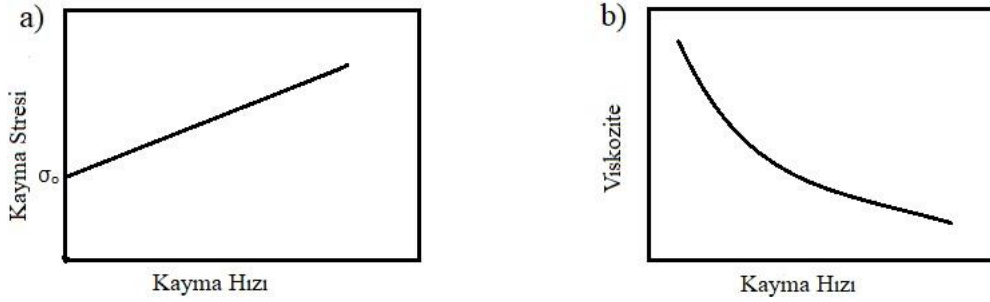
Newton tipi davranış gösteren gıdalar, düşük molekül ağırlığına sahip (şeker vb) bileşikler içermekte olup yüksek konsantrasyonlarda çözünmüş polimerler (pektin, protein, nişasta vb) içermemektedirler (Rao, 2007). Su, çay, kahve, gazlı içecekler, yenilebilir yağlar, süt, filtre edilmiş meyve suları, bal (Bourne, 2002), alkollü içecekler ve sıvı yağlar Newton tipi akışkan özelliğine sahip gıdalardır (Steffe ve Daubert, 2006).

Bingham plastik akış davranışı: Bingham plastik akış gösteren maddelerde akışın başlaması için en küçük kayma stresi olarak bilinen akma geriliminin (yield stress) aşılması gerekmektedir (Bourne, 2002). Akma geriliminin altında madde, katı özellikleri göstermektedir. Bu özellik salça gibi gıdaların kalite değerlendirmelerinde, proses tasarımında ve duyuşal değerlendirmesinde oldukça önem arz etmektedir. Bingham plastik akış davranışı, Denklem 1.2 ile ifade edilmektedir (Steffe, 1996).

$$\sigma = \sigma_0 + K \gamma^n \quad (K > 0, n = 1, \sigma_0 > 0) \quad (1.2)$$

Eşitlikte σ kayma stresini (Pa), σ_0 akma gerilimini (Pa), K kıvam katsayısını, γ kayma hızını (1/s), n ise akış davranış indeksini göstermektedir.

Bingham plastik davranış gösteren akışkanların akış ve görünen viskozite reogramları Şekil 1.17’de gösterilmiştir (Steffe, 1996).



Şekil 1.17 : Bingham plastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b) (Steffe, 1996)

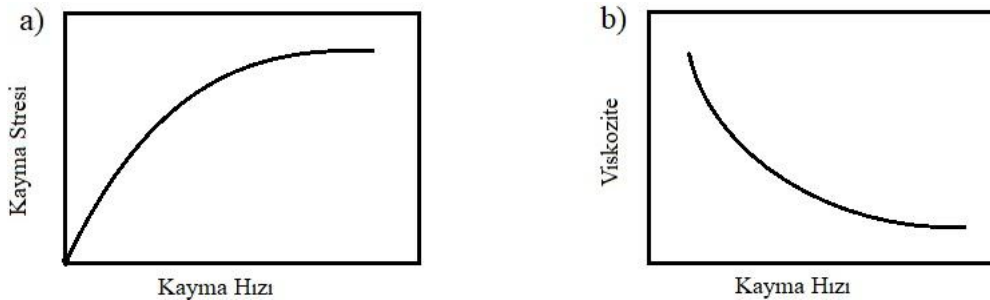
Bu tip akış genellikle ketçap, mayonez, krema, çırpılmış yumurta beyazı ve margarin gibi gıdalarda bulunmaktadır (Bourne, 2002).

Psödoplastik (Shear-Thinning) akış davranışı: Psödoplastik davranış gösteren akışkanların akış ve görünen viskozite reogramları Şekil 1.18’de gösterilmiştir (Steffe, 1996). Kayma stresi - kayma hızı reogramı orijinden başlayan bir eğridir (Rao, 2007). Psödoplastik akışa ait görünen viskozite, kayma hızına bağlıdır ve kayma hızı arttıkça viskozite azalmaktadır (Bourne, 2002; Çelebi, 2009).

Psödoplastik akış davranışı, Denklem 1.3 ile ifade edilmektedir (Steffe, 1996).

$$\sigma = K \gamma^n \quad (K > 0, 0 < n < 1) \quad (1.3)$$

Eşitlikte σ kayma stresini (Pa), K kıvam katsayısını, γ kayma hızını (1/s), n ise akış davranış indeksini göstermektedir.

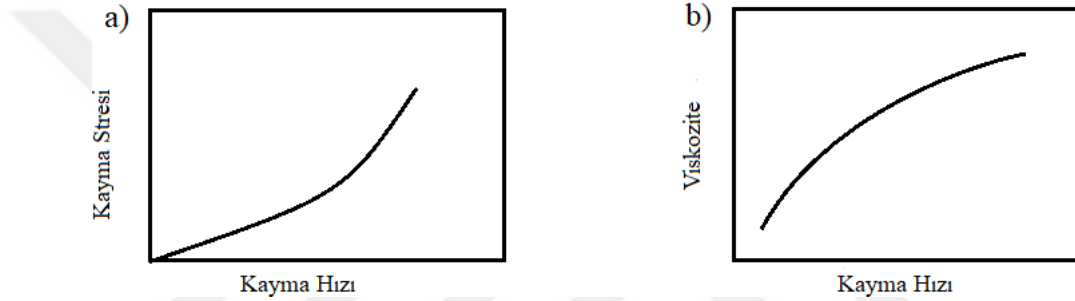


Şekil 1.18 : Psödoplastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b) (Steffe, 1996)

Gıdanın yapısının kayma süresince oluşan hidrodinamik kuvvetlerce bozulmasına bağlı olarak psödoplastik davranışın ortaya çıktığı düşünülmektedir. Newton tipi

olmayan davranışa sahip gıdaların çoğu psödoplastik davranış sergilemektedir (Rao, 2007). Bu akış tipi kozmetik ve tuvalet malzemelerinin yanı sıra meyve ve sebze ürünlerinde, salata soslarında ve konsantre meyve sularında görülmektedir (Rao, 2007; Steffe, 1996). Ayrıca doğal ve sentetik zamlar, kitre zamları, sodyum aljinat, metil selüloz ve sodyum karboksimetil selülozun dispersiyonları da bu tip akışa sahiptirler (Çelebi, 2009).

Dilatant (Shear Thickening) akış davranışı: Dilatant akışkanlarda kayma hızıyla birlikte görülen viskozitede de artış meydana gelmektedir. Dilatant davranış gösteren akışkanların akış ve görülen viskozite reogramları Şekil 1.19'da gösterilmiştir (Steffe, 1996).



Şekil 1.19 : Dilatant davranışa ait akış reogramı (a) ve görülen viskozite reogramı (b) (Steffe, 1996)

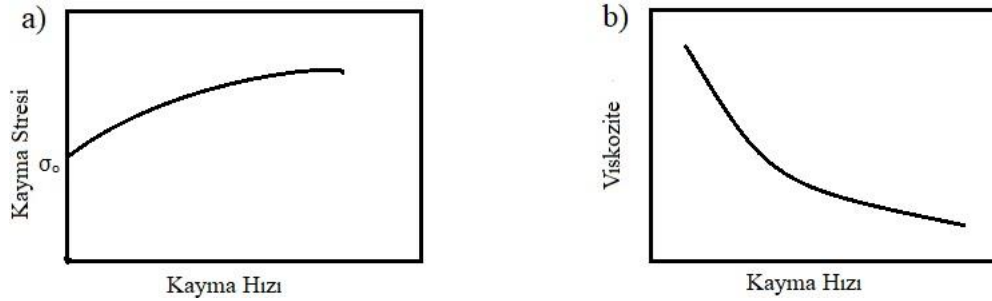
Dilatant akış davranışı, Denklem 1.4 ile ifade edilmektedir (Steffe, 1996).

$$\sigma = K \gamma^n \quad (K > 0, 1 < n < \infty) \quad (1.4)$$

Eşitlikte σ kayma stresini (Pa), K kıvam katsayısını, γ kayma hızını (1/s), n ise akış davranış indeksini göstermektedir.

Dilatant akış türünde kayma hızı arttıkça akışa karşı direnç de artmaktadır. Yani akışkanlar karıştırıldıkça koyulaşmaktadır (Çelebi, 2009). Bu akış tipi gıda endüstrisinde oldukça nadir görülmektedir (Bourne, 2002). Konsantre partiküllerin dispersiyonları ve yağlı boyalar örnek olarak verilebilir (Çelebi, 2009). Örneğin %60'lık mısır nişastası çözeltisi dilatant özellik gösterirken %40'lık mısır nişastası çözeltisi dilatant özellik göstermemektedir. Yapılan çalışmalarda mısır nişastası çözeltisi örneğinde olduğu gibi %40-70 katı konsantrasyonuna sahip süspansiyonların genellikle dilatant özelliğe sahip olduğu görülmüştür (Bourne, 2002).

Plastik (Herschel-Bulkley) akış davranışı: Plastik akışkanlar, Bingham plastik akışkanlar gibi en küçük kayma stresi olarak bilinen akma gerilimi (yield stress) değerine sahiptir. Plastik (Herschel-Bulkley) davranış gösteren akışkanların akış ve görünen viskozite reogramları Şekil 1.20’de gösterilmiştir (Steffe, 1996).



Şekil 1.20 : Plastik davranışa ait akış reogramı (a) ve görünen viskozite reogramı (b) (Steffe, 1996)

Plastik akış davranışı, Denklem 1.5 ile ifade edilmektedir. Denklem 1.5’in geniş aralıktaki kayma hızı oranına sahip gıda işlemedeki mühendislik problemlerini çözmek için matematiksel modellerin geliştirilmesinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Kıyılmış balık ezmesi ve kuru üzüm ezmesi Herschel-Bulkley davranışı gösteren gıdalara örnek olarak verilmektedir (Steffe, 1996).

$$\sigma = \sigma_0 + K \dot{\gamma}^n \quad (K > 0, 0 < n < \infty, \sigma_0 > 0) \quad (1.5)$$

Eşitlikte σ kayma stresini (Pa), σ_0 akma gerilimini (Pa), K kıvam katsayısını, $\dot{\gamma}$ kayma hızını (1/s), n ise akış davranış indeksini göstermektedir.

Tiksotropik akış davranışı: Tiksotropik davranış gösteren akışkanlarda sabit kayma hızında zamana bağlı olarak görünen viskozite düşmektedir. Ancak bu değişim, geri dönüşümü olan bir değişimdir. Kayma stresi kaldırıldığında viskozite ilk değerine ulaşmaktadır. Bu davranış nişasta ile yoğunlaştırılmış bebek gıdalarında veya yoğurta görülmektedir (Bourne, 2002; Steffe, 1996).

Reopektik akış davranışı : Reopektik davranış gösteren akışkanlarda sabit kayma hızında zamana bağlı olarak görünen viskozite artmaktadır. Tiksotropik de olduğu gibi geri dönüşümü olan bir değişimdir. Gıda endüstrisinde bu davranış nadir olarak görülmektedir (Bourne, 2002; Steffe, 1996).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

2.1.1 Çekirdek materyal

Tez çalışmasında hammadde olarak Oral (2016)'ın çalışmasında elde edilen, 4 °C'de saklanan ve oleuropein düzeyi %13,58 olarak tespit edilen zeytin yaprağı ekstraktı (ZYE) kullanılmıştır. Oral (2016) tarafından Mersin ilindeki zeytin ağacının yaprakları, ortam koşullarında kurutuldu. Seçilmiş yapraklar, öğütücü (IKA M 20, Germany) ile toz haline getirildi. Ardından 100 g toz 1000 mL'lik şişe içerisine kondu ve 500 mL solvent (etanol:su, 60:40 v/v) eklendi. Ekstraksiyon prosedürü, 1000 rpm hızında, 1 saat süresince karıştırıcı (IKA RW 20, Germany) ile gerçekleştirildi. Filtre kağıdı kullanılarak yapılan filtrasyon sonrasında süspansiyon 8000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Ekstraksiyon prosedürü kademeli olarak ve dört kez tekrarlandı. Süpernatanın kuru materyal ve oleuropein içeriği her basamakta belirlendi. Sonrasında her fraksiyon döner evaporatör ile konsantre edildi ve analizlerde kullanılmak üzere liyofilize edildi (Oral, 2016).

2.1.2 Kaplama materyalleri

Kaplama materyalleri olarak seçilen sodyum aljinat ve agar Sigma-Aldrich firmasından, jelatin ise Smart Kimya Tic. ve Dan. Ltd. Şti.'nden temin edilmiştir.

2.1.3 Diğer materyaller

2-Diphenyl-1-picrylhydrazıl, metanol ve kalsiyum klorür Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Ticari bir markaya ait ayçiçek yağı kullanılmıştır.

2.2 Yöntem

2.2.1 Mikroenkapsülasyon işlemi

2.2.1.1 İyonik jelleşme/ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon

Bu yöntem kapsamında sodyum aljinat (%2 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v)/agar (%1,5 w/v) içeren sulu çözeltilere toplam kuru maddenin %10'u oranında ZYE (zeytin yaprağı ekstraktı) eklendi. Söz konusu çözeltiler saf suyla hazırlandı.

Oral (2016)'ın uyguladığı yöntemde yapılan küçük değişikliklerle mikroenkapsülasyon çözeltileri, oda sıcaklığında şırınga pompası (Goldman/AR-03) ve şırınga yardımıyla 4 °C'deki sertleştirici CaCl₂ (%2 w/v) çözeltisine damlatılarak enkapsüle edildi. Damlaların birleşmesini önlemek için CaCl₂ çözeltisi manyetik karıştırıcı (Termal - N11150) kullanılarak 250 rpm'de karıştırıldı. Elde edilen kapsüller 12 saat süresince çeker ocakta kurutuldu.

İyonik jelleşme yönteminde yüksek verimli kapsül oluşturmak amacıyla uygulanacak akış hızı ve enjeksiyon süresi, ön verim analizi ile tayin edildi. Bu analizler 2 tekrar ve 3 paralel olarak gerçekleştirildi. Bu kapsamda sodyum aljinat (%2 w/v) ve toplam kuru maddenin %10'u oranında ZYE içeren çözelti; oda sıcaklığında şırınga pompası (Goldman/AR-03) ve şırınga yardımıyla 4 °C'deki sertleştirici çözelti CaCl₂ (%2 w/v)'e damlatılarak enkapsüle edildi. Enkapsülasyon işleminde uygulanan akış hızları ve enjeksiyon süreleri ile kullanılan enkapsülasyon çözeltisi miktarları Çizelge 2.1'de yer almaktadır.

Çizelge 2.1 : 1 mL/dk ve 2 mL/dk akış hızlarında ve farklı enjeksiyon sürelerinde enkapsüle edilecek çözelti miktarları.

Akış Hızı (mL/dk)	Enkapsüle Edilecek Çözelti Miktarı (mL)	Enjeksiyon Süresi (dk)
1	2	2
	4	4
	20	20
	4	2
2	10	5
	20	10

Elde edilen kapsüller 12 saat çeker ocakta kurutuldu. Yapılan ön çalışmalar sonucunda verimi yüksek olan yöntem seçilerek iyonik jelleşme yöntemi ile yapılan tüm enkapsülasyon işlemlerinde uygulandı.

2.2.1.2 Jelleşme/emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon

Bu yöntem kapsamında jelatin (%5 w/v), agar (%1,5 w/v) ve jelatin (%5 w/v)/agar (%1,5 w/v) sulu çözeltilerine toplam kuru maddenin %10'u oranında ZYE eklendi. Söz konusu çözeltiler saf suyla hazırlandı.

Oral (2016)'ın uyguladığı yöntemde yapılan küçük değişikliklerle mikroenkapsülasyon çözeltileri, oda sıcaklığında şırınga pompası (Goldman/AR-03) ve şırınga yardımıyla 1 mL/dk akış hızıyla 4 °C'deki ayçiçek yağına damlatılarak kapsüller oluşturuldu. Ayçiçek yağı ve elde edilen kapsüllerden oluşan karışım 30 dk 4 °C'de bekletildi ve filtre edilerek kapsüller yağdan uzaklaştırıldı. Elde edilen kapsüller 12 saat çeker ocakta kurutuldu. Kurutmayı takiben jel boncukların üzerinde kalan yağın uzaklaştırılması amacıyla kapsüller kademeli olarak (20 mL - 20 mL - 20 mL) hekzan ile üç defa yıkandı.

2.2.2 Verim analizi

İyonik jelleşme/ekstrüzyon ve jelleşme/emülsiyon yöntemleri ile elde edilen kapsüller; 50 mL metanol:su (50:50 v/v) çözeltilisinde 50 mg/L oleuropein içerecek şekilde tartıldı. Tartılan kapsüller ve 50 mL, 60 °C'deki metanol:su (50:50 v/v) çözeltilisinin 2 dakika homojenizatörde (WiseTis HG-15D) karıştırılmasını takiben 2 dakika süresince maksimum güçte 60 °C'deki ultrasonik banyoda (Daihan – WiseClean/WUC – D10H) soniklendi. Son olarak elde edilen ekstrakt 15 saniye vortekslendi ve 0,45 µm şırınga filtreleri kullanılarak filtre edildi.

Oral (2016)'ın uyguladığı yöntemde yapılan değişikliklerle kurutulmuş kapsüllerin enkapsülasyon verimi; zeytin yaprağının ana bileşeni olan oleuropein fenolik bileşiği takip edilerek analiz edildi. Analizler 2 tekrar ve 3 paralel olarak gerçekleştirildi. Oleuropein analizi HPLC (Agilent/Infinity 1260) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. C18 kolonu (150 mm, 5µm), SIL-20A HT otosampler ve DAD dedektör kullanıldı. Dedeksiyon dalga boyu 280 nm'de pikler belirlendi. Mobil faz olarak %1'lik asetik asitli ultra saf su (A) ve %100 metanol (B) kullanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C,

akış hızı ise 1 mL/dk olacak şekilde ayarlandı. Gradient elüsyon programı kullanılarak başlangıçta %15 olan B çözücüsü konsantrasyonu, 17 dakika içerisinde %15'den %60'a çıkarıldı, sonrasında 1 dakika içerisinde %15'e düşürüldü. Analiz 23 dk içerisinde tamamlandı. Elde edilen pikler saf oleuropein pikleriyle karşılaştırıldı.

2.2.3 Partikül boyutu analizi

Partikül boyutlarının ölçümünde rasgele seçilen 50 adet kapsülün mikroskopik görüntüleri, ışık mikroskobu (Leica EZ4E) kullanılarak alındı. Kapsüllerin çapları LibreOffice Draw (sürüm 6.2.0) programı kullanılarak belirlendi. Ortalama parçacık çapı Denklem 2.1'e göre, küresel parçacıkların yaklaşık hacmi Denklem 2.2'ye göre, küresel parçacıkların ortalama hacmi Denklem 2.3'e göre hesaplandı (Oral, 2016).

Partikül boyutu analizi, 2 tekrar ve 3 paralel olarak gerçekleştirildi.

$$\text{Ortalama Çap} = \frac{\sum_{i=1}^n D_i}{n} \quad (2.1)$$

$$\text{Parçacık Hacmi} = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{D_i}{2} \right)^3 \quad (2.2)$$

$$\text{Ortalama Hacim} = \frac{\sum_{i=1}^n V_i}{n} \quad (2.3)$$

2.2.4 Şişme analizi

Oral (2016)'ın uyguladığı yöntemde yapılan değişikliklerle şişme oranlarının ölçümünde, rasgele seçilen 20 adet kapsül oda sıcaklığında saf su içerisine yerleştirildi ve 5, 10, 20, 40, 60, 120, 180, 240 ve 300. dakikalardaki mikroskopik görüntüleri, ışık mikroskobu (Leica EZ4E) kullanılarak alındı. Kapsüllerin çapları LibreOffice Draw (sürüm 6.2.0) programı kullanılarak belirlendi. Ortalama parçacık çapı Denklem 2.1'e göre, küresel parçacıkların yaklaşık hacmi Denklem 2.2'ye göre, küresel parçacıkların ortalama hacmi Denklem 2.3'e göre hesaplandı.

2.2.5 In vitro salım çalışmaları

In vitro salım çalışması, Oral (2016)'ın uyguladığı yöntemde yapılan değişikliklerle kapsül içeriğinin, enzim içermeyen mide ve bağırsak ortamının taklit edildiği sıvıya salımı ile gerçekleştirildi. Bu kapsamda mikrokapsüller; 0,1 M HCl ve 0,1 M fosfat tampon çözeltilerinde 50 mg/L oleuropein içerecek şekilde tartıldı. Kapsüllere 50 mL

HCl (pH 1,1, mide ortamı) ve 50 mL fosfat tampon çözeltisi (pH 7,4, bağırsak ortamı) eklendi. Salım analizi, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Termal-N11150) kullanılarak 37 °C ve 250 rpm’de gerçekleştirildi. Kontrollü salım analizi süresince 37 °C’deki çözeltilerden 1., 2., 4., 6., 8., 10. ve 12. dakikalarda ekstrakt örnekleri alındı ve alınan ekstraktlar 0,45 µm şırınga filtreleri kullanılarak filtre edildi.

Ekstrakt örneklerindeki oleuropein fenolik bileşiği HPLC (Agilent–Infinity 1260) cihazı kullanılarak tayin edildi. C18 kolonu (150 mm, 5µm), SIL-20A HT otosampler ve DAD dedektör kullanıldı. Dedeksiyon dalga boyu 280 nm’de pikler belirlendi. Mobil faz olarak %1’lik asetik asitli ultra saf su (A) ve %100 metanol (B) kullanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C, akış hızı ise 1 mL/dk olacak şekilde ayarlandı. Gradient elüsyon programı kullanılarak başlangıçta %15 olan B çözücüsü konsantrasyonu, 17 dakika içerisinde %15’den %60’a çıkarıldı, sonrasında 1 dakika içerisinde %15’e düşürüldü. Analiz 23 dk içerisinde tamamlandı. Elde edilen pikler saf oleuropein pikleriyle karşılaştırıldı. Salım testi, 2 tekrar ve 2 paralel olarak gerçekleştirildi.

2.2.6 DPPH antioksidan aktivite tayini

DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayininde Marinova ve Batchvarov (2011) ile İzli (2017)’nin metotları modifiye edilerek kullanıldı. Mikrokapsüller (0,25 g) ve 50 mL metanol:su (50:50 v/v) çözeltisinin 2 dakika homojenizatörde (WiseTis HG-15D) karıştırılmasını takiben 2 dakika süresince maksimum güçte 60 °C’deki ultrasonik banyoda (Daihan–WiseClean/WUC–D10H) bekletildi. Son olarak elde edilen ekstrakt 15 saniye vortekslendi ve 0,45 µm şırınga filtreleri kullanılarak filtre edildi.

Antioksidan aktivite tayini 5 paralelle yapıldı. DPPH radikalinin 3,4 mL 0,1 mM metanolik çözeltisine, 0,1 mL örnek ekstraktı ilave edildikten sonra vortekslendi ve 30 dakika süresince karanlıkta bekletildi. Kontrol çözeltisi ise sadece metanol:su (50:50 v/v) ve DPPH ile hazırlandı. Reaksiyon sonucunda oluşan rengin absorbansı 517 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre (Mecays/Optizen POP) kullanılarak okundu. Antioksidan Aktivite Denklem 2.4 kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Antioksidan Aktivite} = (A_K - A_Ö) / A_K \times 100 \quad (2.4)$$

A_K , kontrol çözeltisinin absorbansını; $A_Ö$, örneğin absorbansını ifade etmektedir.

2.2.7 Reolojik ölçümler

Enkapsülasyon işleminde kullanılan kaplama materyallerinin reolojik ölçümleri reometre (Anton Paar – MCR 302) kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçümlerde 25 mm çapında 2° açığa sahip paslanmaz çelik konik üst plaka (Anton Paar CP25-2) ile 50 mm çapında alt plaka (Anton Paar Inset I-PP50/SS) kullanıldı. Alt ve üst plaka arasındaki mesafe 0,106 mm olarak ayarlandı.

Ölçümler akış eğrisi testi ile 25 °C’de gerçekleştirildi ve sıcaklık kontrolü su banyosu (Viscotherm VT-2) ile sağlandı. Bu çalışmada literatürdeki bazı çalışmalara paralel olarak numunelerin maruz kalacakları farklı kayma hızlarını temsil etmesi amacıyla 1 – 100 s⁻¹ kayma hızı aralığı uygulandı. Elde edilen ölçüm verileri ile akış eğrisi (kayma hızına bağlı kayma stresi grafiği) ve viskozite eğrisi (kayma hızına bağlı viskozite grafiği) çizilerek reolojik davranışı değerlendirildi.

2.2.8 İstatistiksel analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri R İstatistik programı (sürüm 3.6.0) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin verimlerinin ve şişme hızlarının karşılaştırılmasında tek faktör varyans analizi; salım hızlarının karşılaştırılmasında iki faktör varyans analizi; hacim ve antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması Kruskal Wallis testiyle; ekstrüzyon yönteminde kullanılan farklı akış hızı ve farklı enjeksiyon sürelerinin verim üzerine etkisinin karşılaştırılmasında ise t-testleri kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testiyle %95 güven aralığında uygulanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Akış Hızı ve Enjeksiyon Süresi Tespiti

İyonik jelleşme/ekstrüzyon yöntemi ile enkapsülasyon işleminde enkapsülasyon verimliliğinin yüksek olduğu akış hızının ve enjeksiyon süresinin tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilen verim analiz sonuçları Çizelge 3.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 : Farklı akış hızı ve farklı enjeksiyon sürelerinde üretilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon verim analizi sonuçları.

Akış Hızı (mL/dk)	Enjeksiyon Süresi (dk)	Enkapsülasyon Verimi (%)
1	2	49,0 ± 1,01 ^{ba}
	4	47,2 ± 1,00 ^b
	20	31,2 ± 0,80 ^d
2	2	52,2 ± 2,01 ^a
	5	47,1 ± 1,20 ^b
	10	42,6 ± 1,25 ^c

Analiz sonucunda her iki akış hızında enjeksiyon süresi uzadıkça enkapsülasyon veriminin düştüğü ve elde edilen sonuçlarda en yüksek enkapsülasyon veriminin (%52,2±2,01) 2 mL/dk akış hızında ve 2 dk enjeksiyon süresiyle gerçekleştiği tespit edildi. Bu durum enjeksiyon süresinin ve akış hızının, enkapsülasyon verimi üzerinde önemli etkisi olduğunu göstermektedir (p<0,05). Enkapsülasyon veriminin 1 mL/dk akış hızına göre 2 mL/dk akış hızında daha yüksek olması; enkapsülasyon çözeltilisinin CaCl₂ çözeltilisine daha hızlı düşerek daha kısa sürede kapsül oluşturması ve çekirdek materyalin CaCl₂ çözeltilisine geçişinin daha düşük düzeyde kalmasıyla açıklanabilir. Her iki akış hızında enjeksiyon süresi arttıkça enkapsülasyon verimliliğinin düşmesi ise kapsüllerin CaCl₂ çözeltilisinde bekleme süresiyle alakalı olarak çekirdek materyalin, CaCl₂ çözeltilisine geçerek kapsülün verimliliğini düşürmesi ile açıklanabilir.

Tez çalışmasında iyonik jelleşme yöntemi ile gerçekleştirilen enkapsülasyon işlemleri 2 mL/dk akış hızı ve 2 dk enjeksiyon süresiyle gerçekleştirildi.

3.2 Mikroenkapsülasyon İşlemi

3.2.1 İyonik jelleşme/ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi

Zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu; sodyum aljinat (%2 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) ve sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltileri kullanılarak 2 mL/dk akış hızıyla gerçekleştirildi. Çizelge 3.2'de görüldüğü üzere sodyum aljinat/jelatin/agar kaplama çözeltisi kullanıldığı durumda enkapsülasyon gerçekleşmedi.

Çizelge 3.2 :İyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyon oluşumu.

Kaplama Materyali	Enkapsülasyon
Sodyum aljinat (%2 w/v)	+
Sodyum aljinat (%2 w/v) / Jelatin (%5 w/v)	+
Sodyum aljinat (%2 w/v) / Agar (%1,5 w/v)	+
Sodyum aljinat (%2 w/v) / Jelatin (%5 w/v) / Agar (%1,5 w/v)	-

(+) ifadesi enkapsülasyonun gerçekleştiğini, (-) ifadesi ise enkapsülasyonun gerçekleşmediğini ifade etmektedir.

Sodyum aljinat/jelatin/agar kaplama materyalinin kullanımında CaCl_2 çözeltisindeki bekleme süresinin kapsül stabilitesinin sağlanması için yetersiz olması ve sodyum aljinat konsantrasyonunun, jelatin ve agar toplam konsantrasyonuna göre düşük kalması sebebiyle enkapsülasyonun gerçekleşmediği düşünülmektedir.

3.2.2 Jelleşme/emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi

Zeytin yaprağı ekstraktının jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu; jelatin (%5 w/v), agar (%1,5 w/v), jelatin (%5 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltileri kullanılarak gerçekleştirildi. Çizelge 3.3'de görüldüğü üzere agar ve jelatin/agar kaplama çözeltileri kullanıldığı durumda kapsül oluşumu gerçekleşmedi.

Çizelge 3.3 : Jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyon oluşumu.

Kaplama Materyali	Enkapsülasyon
Jelatin (%5 w/v)	+
Agar (%1,5 w/v)	-
Jelatin (%5 w/v) / Agar (%1,5 w/v)	-

(+) ifadesi enkapsülasyonun gerçekleştiğini, (-) ifadesi ise enkapsülasyonun gerçekleşmediğini ifade etmektedir.

Agar kaplama materyali kullanımında kapsül oluşumunun gerçekleşmemesi agar konsantrasyonunun kapsül stabilitesinin sağlanması için yetersiz kalması ile açıklanabilir. Jelatin/agar kaplama çözeltisi kullanımında ise iki materyalin birlikte kullanımının kümelenmeye neden olması sebebiyle enkapsülasyonun gerçekleşmediği düşünülmektedir (Erge ve Zorba, 2018).

3.3 Verim Analizi

İyonik jelleşme ve jelleşme yöntemleri ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon verimi, ZYE içeriğinde bulunan oleuropein fenolik bileşiği takip edilerek analiz edildi. Enkapsülasyon verimine ait sonuçlar Çizelge 3.4 'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon verimi.

Kaplama Materyalleri	Jelatin	Sodyum aljinat	Sodyum aljinat	Sodyum aljinat
			/ Jelatin	/ Agar
Enkapsülasyon Yöntemi	Jelleşme	İyonik Jelleşme	İyonik Jelleşme	İyonik Jelleşme
Enkapsülasyon Verimi (%)	98,2 ± 0,99 ^a	48,71 ± 1,26 ^d	61,54 ± 0,95 ^b	55,7 ± 0,60 ^c

Enkapsülasyon verim analizi, ZYE'deki oleuropeinin kapsüle edilme oranını göstermektedir. Çalışmada kullanılan enkapsülasyon yöntemleri arasında %98,2 oran ile en yüksek enkapsülasyon verimi, kaplama materyali olarak jelatinin kullanıldığı jelleşme yöntemi ile elde edildi. Gouin (2004) tarafından iyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kapsüllerin gözenekli yapıya sahip olduğu belirtilmiştir. Bu durum

oleuropeinin hidrofilitik bir bileşik olması nedeniyle iyonik jelleşme yönteminde kullanılan CaCl_2 sulu çözeltilisinde dağılarak kapsülün verimini azaltmasıyla açıklanabilir. Jelleşme yönteminde verimin yüksek olması ise çekirdek materyalin yağa geçişinin olmaması ve kapsülde hapsolmasıyla açıklanabilir.

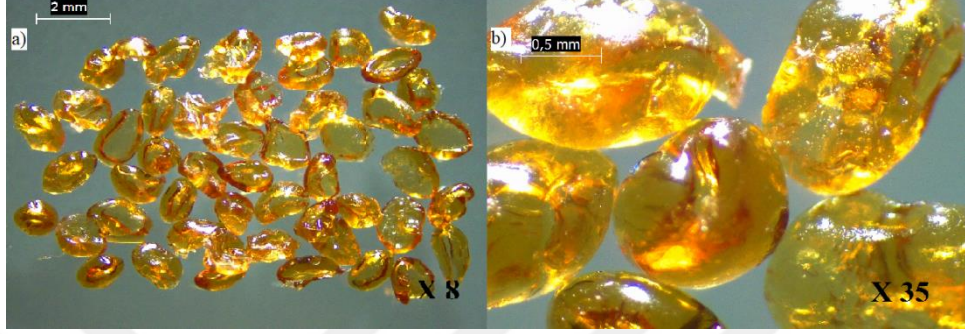
İyonik jelleşme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen enkapsülasyon işlemlerinde en düşük verim %48,71 oran ile sodyum aljinat kaplama çözeltilisi kullanıldığı durumda elde edildi. Verim analizi sonuçları; sodyum aljinatın yanısıra ikinci bir kaplama materyali kullanımının enkapsülasyon verimliliğini arttırdığını göstermektedir. İkinci kaplama materyali olarak jelatinin kullanıldığı durumda enkapsülasyon verimi agara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum kaplama çözeltilerindeki kuru madde oranının agarda daha düşük düzeyde olması ile açıklanabilir. Ayrıca jel yapıdan su ayrılması olarak tanımlanan sineresisin jelatinde olmaması agarda ise yüksek miktarda olmasıyla da açıklanabilir (Erge ve Zorba, 2018). Sineresis sonucunda kurutma aşamasında bekleme süresine bağlı olarak jel matriksteki sulu faz dışarı sızarak enkapsülasyon verimini düşürebilir.

Oral (2016) tarafından sodyum aljinat (%2 w/v) süspansiyonu ve ZYE (%0,5 w/v) kullanılarak gerçekleştirilen çapraz bağlama işleminde enkapsülasyon verimi %44,66 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada jelatin (%5 w/v) çözeltilisi kullanılarak ZYE'nin jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu sonucu enkapsülasyon verimi %98,64 olarak bulunmuştur.

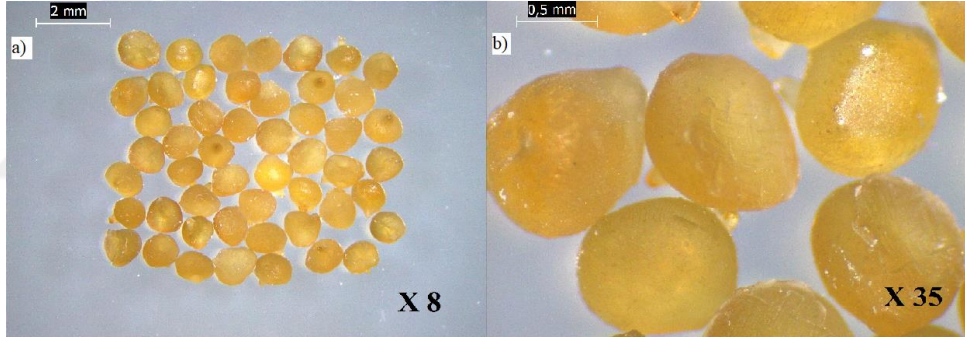
Oral (2016) tarafından iyonik jelleşme yönteminde CaCl_2 çözeltilisine düşen ilk damladaki ve son damladaki enkapsülasyon verimliliğinin aynı olmadığı, ilk damlayarak CaCl_2 çözeltilisinde bekleyen damlaların enkapsülasyon verimliliğinin daha düşük olduğu bu sebeple bu yöntemde enkapsülasyon verimliliği açısından heterojen kapsüller elde edildiği belirtilmiştir.

3.4 Partikül Boyutu

Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin ışık mikroskobu kullanılarak elde edilen görüntüleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4’de yer almaktadır.



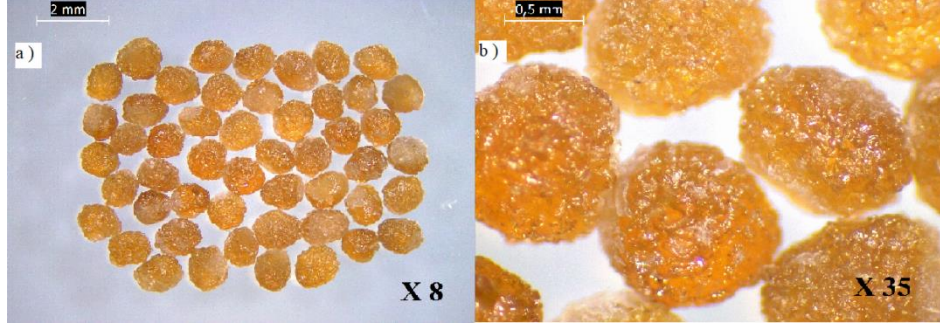
Şekil 3.1 : Jelleşme yöntemi ile jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)’deki mikroskobik görüntüleri



Şekil 3.2 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)’deki mikroskobik görüntüleri



Şekil 3.3 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)’deki mikroskobik görüntüleri



Şekil 3.4 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin x8 (a) ve x35 (b)'deki mikroskopik görüntüleri

Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3. ve Şekil 3.4'de yer alan kapsüllerin çapları LibreOffice Draw programı kullanılarak belirlendi. Partikül çapı ölçümleri mm boyutunda yapıldı. Denklem 2.1, Denklem 2.2 ve Denklem 2.3 kullanılarak sonuçlar Çizelge 3.5'de görüldüğü üzere mm³ olarak belirtildi.

Çizelge 3.5 : Mikroenkapsüllerin ortalama hacmi.

Enkapsülasyon Yöntemi	Kaplama Materyali	Ortalama Hacim (mm ³)
Jelleşme	Jelatin (%5 w/v)	1,31 ± 0,25 ^a
İyonik Jelleşme	Sodyum aljinat (%2 w/v)	0,58 ± 0,16 ^c
İyonik Jelleşme	Sodyum aljinat (%2 w/v) / Jelatin (%5 w/v)	1,39 ± 0,35 ^a
İyonik Jelleşme	Sodyum aljinat (%2 w/v) / Agar (%1,5 w/v)	0,75 ± 0,22 ^b

Çalışma kapsamında en büyük partikül hacmi iyonik jelleşme yöntemiyle sodyum aljinat/jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde görülmüş olup jelleşme yöntemiyle jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen mikrokapsüller ile aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edildi (p>0,05). En düşük partikül hacmi ise iyonik jelleşme yöntemiyle sodyum aljinat kaplama çözeltisi kullanıldığı durumda elde edildi.

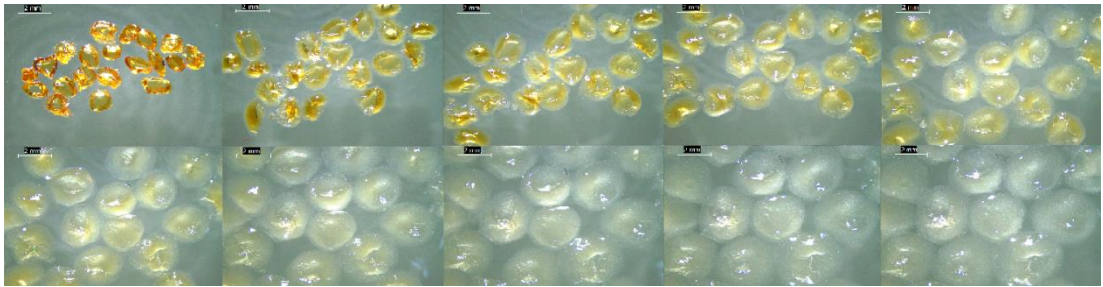
İyonik jelleşme yöntemi ile farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde ikinci bir kaplama materyali kullanımının partikül boyutunu arttırdığı anlaşılmıştır. Ayrıca ikinci kaplama materyali olarak jelatinin agara göre daha büyük boyutlu kapsül oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durum Erge ve Zorba

(2018)'nın çalışmasında belirtildiği üzere sineresisin jelatinde olmaması agarda ise yüksek miktarda olması sebebiyle kurutma aşamasında agar jel matrisindeki sulu fazın dışarı sızarak partikül boyutunu azaltmasıyla açıklanabilir.

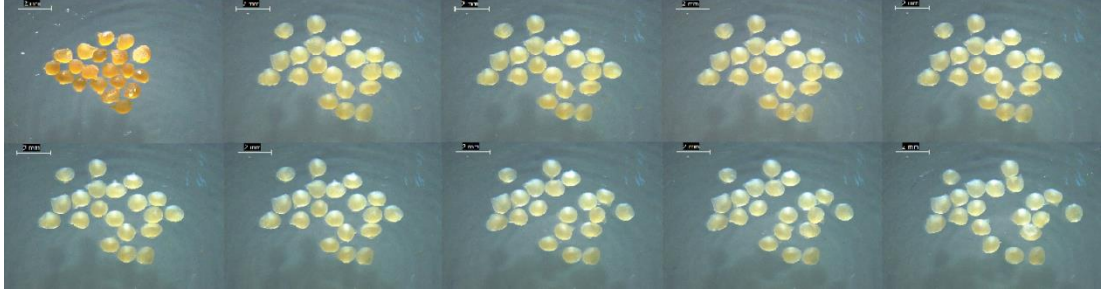
Oral (2016)'ın çalışmasında jelleşme yöntemi ile jelatin (%5 w/v) kaplama materyali ve ZYE çekirdek materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin partikül boyutu $0,69\pm 0,12$ mm³ olarak bulunmuştur. Lotfipour ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmada farklı oranlarda aljinat kaplama solüsyonu ve farklı oranlarda sertleştirici CaCl₂ çözeltisi kullanılarak 15, 30 ve 60 dakikalık sertleştirme sürelerinde Lactobacillus acidophilus probiyotik bakterisini içeren aljinat boncukları elde edildiği belirtilmiştir. Analiz sonucunda, çalışmada kullanılan %2 (w/v) aljinat ve %2 (w/v) CaCl₂ oranlarında farklı sertleştirme sürelerindeki kapsüllerin boyutları $1,40\pm 0,03$ mm³, $1,40\pm 0,02$ mm³ ve $1,42\pm 0,06$ mm³ olarak bulunmuştur.

3.5 Şişme Analizi

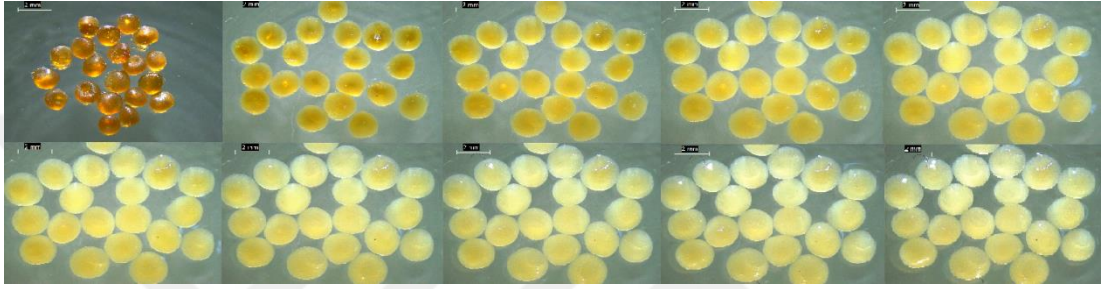
Jelleşme yöntemiyle jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisi kullanılarak; iyonik jelleşme yöntemiyle ise sodyum aljinat (%2 w/v) , sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) ve sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltileri kullanılarak elde edilen 20 adet mikrokapsülün, ışık mikroskobu kullanılarak oda sıcaklığındaki saf suda 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda oluşan görüntüleri Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8 'de yer almaktadır.



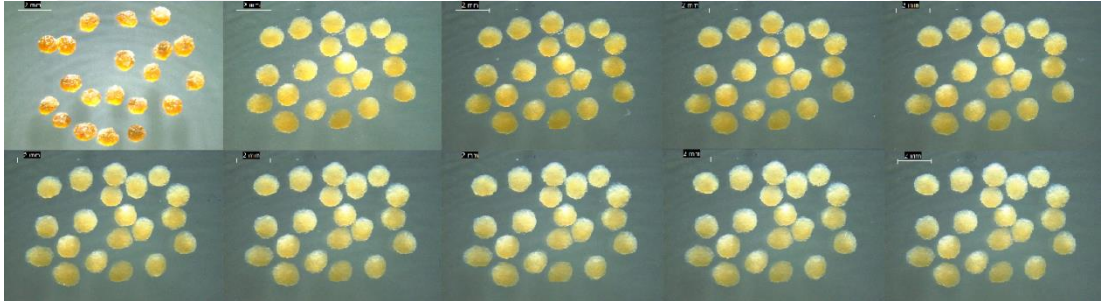
Şekil 3.5 : Jelleşme yöntemi ile jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri



Şekil 3.6 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri

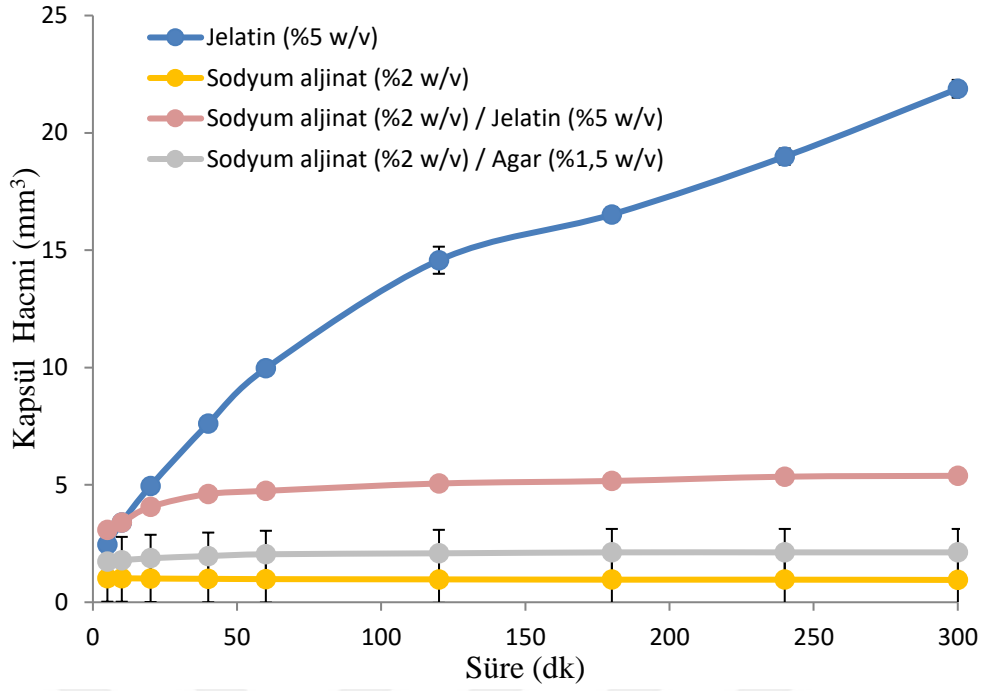


Şekil 3.7 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri



Şekil 3.8 : İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama materyali kullanılarak elde edilen kapsüllerin 0., 5., 10., 20., 40., 60., 120., 180., 240. ve 300. dakikalarda saf sudaki görüntüleri

Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'deki görüntülerde yer alan mikrokapsüller, 2 mm boyutunda skalalar ile ölçeklendirildi. Kapsüllerin çapları, LibreOffice Draw programı kullanılarak belirlendi. Denklem 2.1, Denklem 2.2 ve Denklem 2.3 kullanılarak mikrokapsüllerin ortalama hacimleri mm^3 olarak hesaplandı. Kapsüllerin ortalama hacimlerinin süreye bağlı değişim grafikleri Şekil 3.9'da belirtildi.



Şekil 3.9 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin hacimlerinin süreye bağlı değişim grafikleri

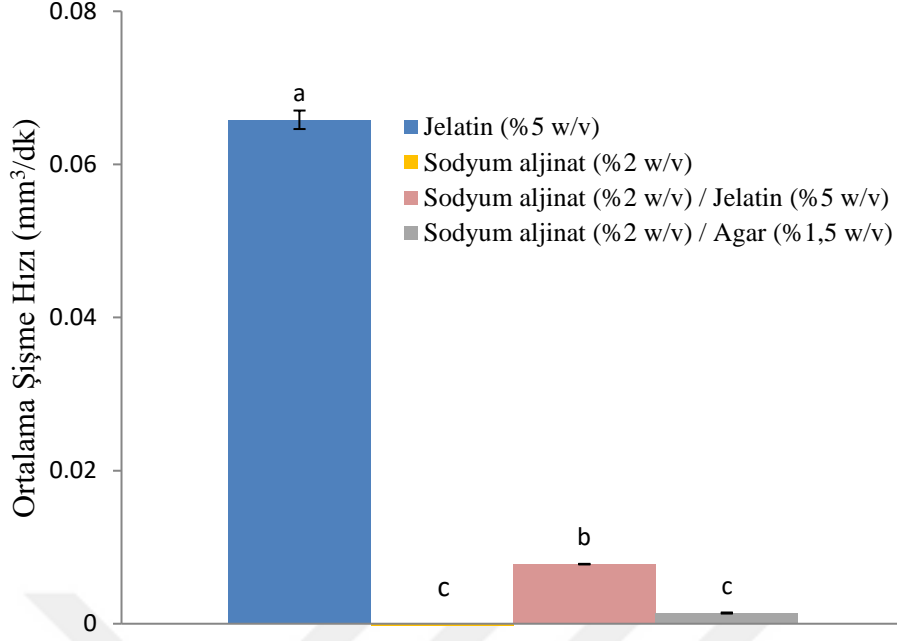
Çizelge 3.6’da farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin saf sudaki hacimlerinin zamana bağlı (0-300 dk) değişim grafiklerine ait hız denklemleri ve regreasyon katsayıları belirtildi.

Çizelge 3.6 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin hacimlerinin süreye bağlı değişim grafiklerine ait hız denklemleri ve regreasyon katsayıları.

Kaplama Materyali	Enkapsülasyon Yöntemi	Eğim Çizgisi Denklemi	R ²
Jelatin	Jelleşme	$y=1E-06x^3-0,0008x^2+0,1789x+1,6415$	0,9996
Sodyum aljinat	İyonik Jelleşme	$y=-8E-09x^3+4E-06x^2-0,0009x+1,0281$	0,9936
Sodyum aljinat / Jelatin	İyonik Jelleşme	$y=4E-07x^3-0,0002x^2+0,039x+3,1273$	0,9474
Sodyum aljinat / Agar	İyonik Jelleşme	$y=6E-08x^3-4E-05x^2+0,007x+1,7265$	0,9741

İstatistiksel analizde kullanılmak üzere farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin Denklem 3.1’e göre ortalama şişme hızları hesaplandı. Şekil 3.10’da kapsüllerin ortalama şişme hızları belirtildi.

$$\text{Ortalama Şişme Hızı} = (\text{Son Hacim} - \text{İlk Hacim}) / \text{Süre} \quad (3.1)$$



Şekil 3.10 : Saf suda bekletilen mikrokapsüllerin ortalama şişme hızları

Yapılan çalışmada en yüksek şişme hızı jelleşme yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerde görülmektedir. İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerdeki şişme oldukça kısıtlıdır. Bu durum kaplama materyali sodyum aljinat ile CaCl₂ çözeltisi arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyon sonucu oluşan çapraz bağlı kalsiyum-aljinat boncuklarının şişmeye karşı dayanıklı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca mikrokapsüllerdeki şişmenin kısıtlı olmasının bir başka nedeninin ise Gouin (2004)'in belirttiği üzere ekstrüzyon yöntemiyle elde edilen kapsüllerin gözenekli bir yapıya sahip olmasıyla da ilgili olabileceği düşünülmektedir. İyonik jelleşme yöntemi ile farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde en yüksek şişme oranı, ikinci kaplama materyali olarak jelatinin kullanıldığı uygulamada elde edildi.

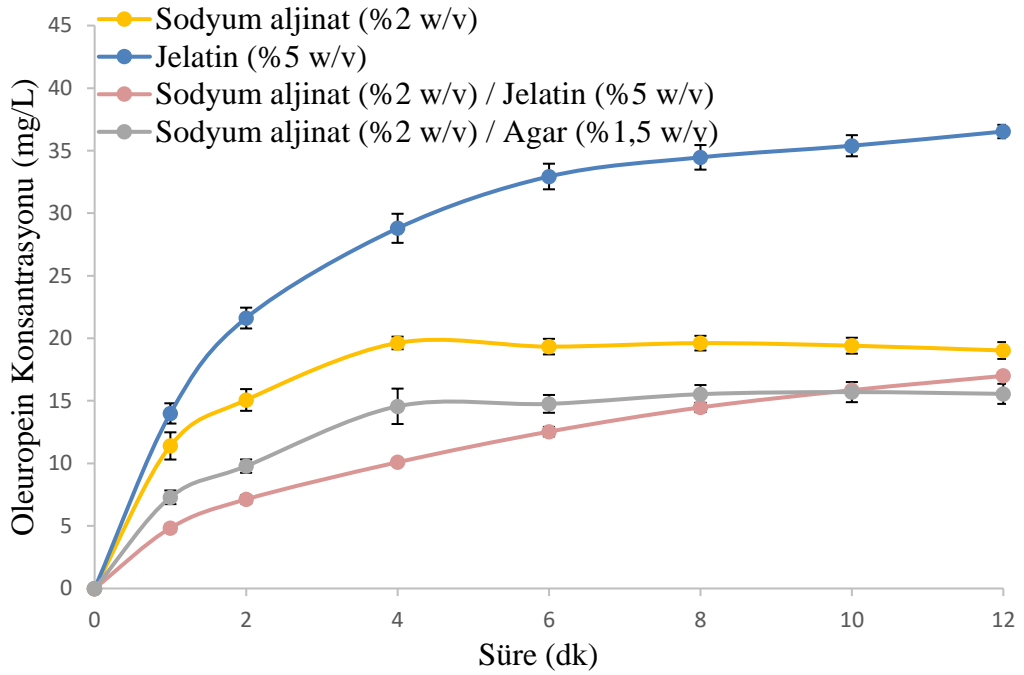
Oral (2016) tarafından yapılan çalışmada jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin şişme oranı 0,2556 mm³/dk olarak hesaplandı.

3.6 In vitro Salım Çalışmaları

Aktif bileşenlerin, çevresel faktörlerin olumsuz etkilerinden korunması amacıyla enkapsüle edilmesi ve bu sayede aktif bileşenlerin biyoyararlanımlarının en yüksek

seviyede tutulması hedeflenmektedir (Munin ve Edwards-Levy, 2011). Bu amaçla aktif bileşenin asidik mide koşullarından etkilenmeden ince bağırsağa ulaşarak biyoyararlılığının artırılması gerekmektedir.

In vitro çalışmada kapsül içeriğinin, enzim içermeyen mide ve bağırsak ortamının taklit edildiği sıvılara salımı gerçekleştirildi. Şekil 3.11’de farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin mide koşullarındaki (pH 1,1) oleuropein konsantrasyonları belirtildi.



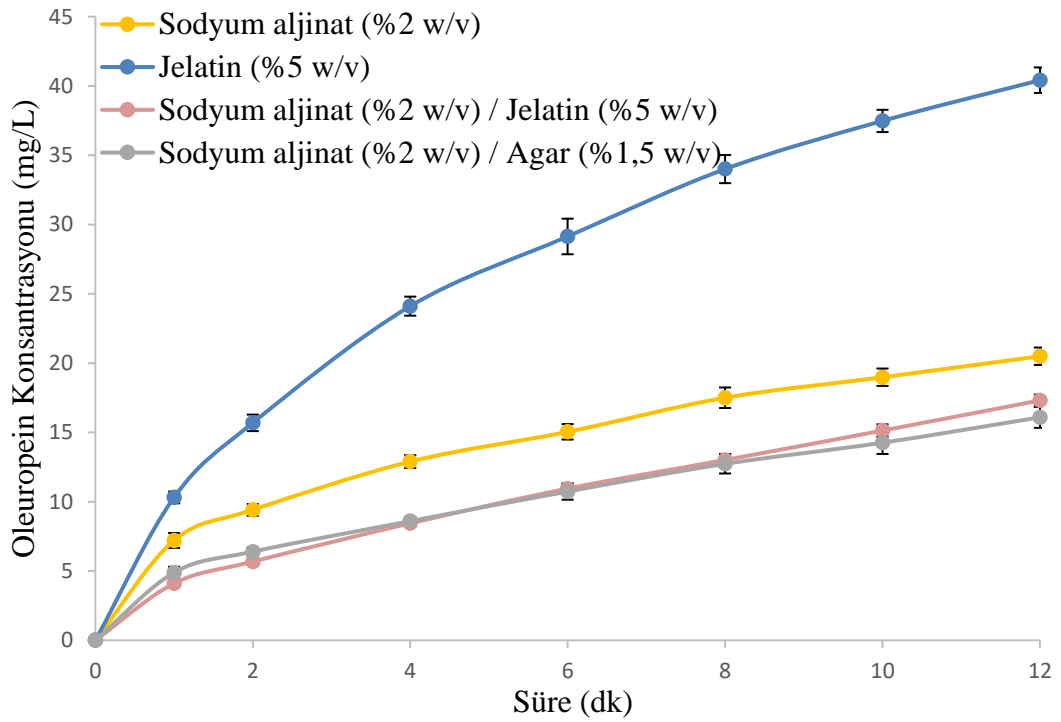
Şekil 3.11 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin mide koşullarındaki (pH 1,1) oleuropein konsantrasyonları

Şekil 3.11’de jelleşme yöntemiyle jelatin (J) kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen 50 mg/L oleuropein içeriğine sahip mikrokapsüllerin 0-12 dk içerisinde kapsül içeriklerinin %73,06’sını mide ortamında ortaya çıkardıkları görülmektedir. Bu durum jelleşme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin mide ortamında yapılarının bozularak bağırsağa ulaşmadan kapsül içeriklerinin büyük kısmını ortaya çıkardıklarını göstermektedir.

Aynı çalışmada iyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kapsüller arasında; kaplama materyali olarak sodyum aljinat (SA) kullanıldığı durumda sindirimin 12. dk’sında

kapsül içeriğinin %38,04'ünün, kaplama materyali olarak sodyum aljinat/jelatin (SA/J) kullanıldığı durumda %33,98'inin ve kaplama materyali olarak sodyum aljinat/agar (SA/A) kullanıldığı durumda %31,12'sinin ortaya çıktığı görülmektedir. Salım oranları, iyonik jelleşme yönteminde ikinci bir kaplama materyali kullanımının mide ortamına salımı azalttığını göstermektedir.

Şekil 3.12'de farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin bağırsak koşullarındaki (pH 7,4) oleuropein konsantrasyonları belirtildi.



Şekil 3.12 : Farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin bağırsak koşullarındaki (pH 7,4) oleuropein konsantrasyonları

Bağırsak koşullarındaki salım oranları incelendiğinde; jelleşme yöntemiyle jelatin kaplama materyali kullanılarak elde edilen 50 mg/L oleuropein içeriğine sahip kapsüllerin %80,82'si bağırsak ortamında ortaya çıkmaktadır. İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen 50 mg/L oleuropein içeriğine sahip mikrokapsüllerden kaplama materyali olarak sodyum aljinat kullanıldığı durumda oleuropein içeriğinin %41,00'i, sodyum aljinat/jelatin kullanıldığı durumda %34,62'si, sodyum aljinat/agar kullanıldığı durumda ise %32,16'sı bağırsak koşullarında salınmaktadır.

İstatistiksel analizde kullanılmak üzere farklı enkapsülasyon teknikleri ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin, mide (pH 1,1) ve bağırsak (pH 7,4) ortamının taklit edildiği sıvılarda ilk 6 dakikadaki salım hızı denklemleri, regresyon katsayıları ve 1. dakikadaki salım hızları hesaplanmış olup Çizelge 3.7’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.7 : Mikrokapsüllerin ilk 6 dakikadaki hız denklemleri, regreasyon katsayıları ve 1. dakikadaki salım hızı değerleri.

pH	Kaplama Materyali	Salım Hızı Denklemi	R ²	Salım Hızı (mg/L/dk)
1,1	J	$y=0,216x^3-3,4466x^2+16,758x+0,1003$	0,9997	$10,65 \pm 0,97^a$
	SA	$y=0,1948x^3-2,7302x^2+12,545x+0,3297$	0,9911	$7,67 \pm 0,78^b$
	SA / J	$y=0,0943x^3-1,1446x^2+5,5535x+0,0783$	0,9986	$2,95 \pm 0,23^{ed}$
	SA / A	$y=0,0699x^3-1,2418x^2+7,357x+0,2626$	0,9901	$5,08 \pm 0,97^c$
7,4	J	$y=0,1268x^3-1,8175x^2+11,17x+0,1973$	0,9984	$7,92 \pm 0,72^b$
	SA	$y=0,1472x^3-1,7898x^2+7,9178x+0,2205$	0,9924	$4,78 \pm 0,33^{dc}$
	SA / J	$y=0,0812x^3-0,9346x^2+4,4935x+0,1101$	0,9963	$2,87 \pm 0,14^e$
	SA / A	$y=0,1177x^3-1,3324x^2+5,5275x+0,1353$	0,9941	$3,22 \pm 0,31^e$

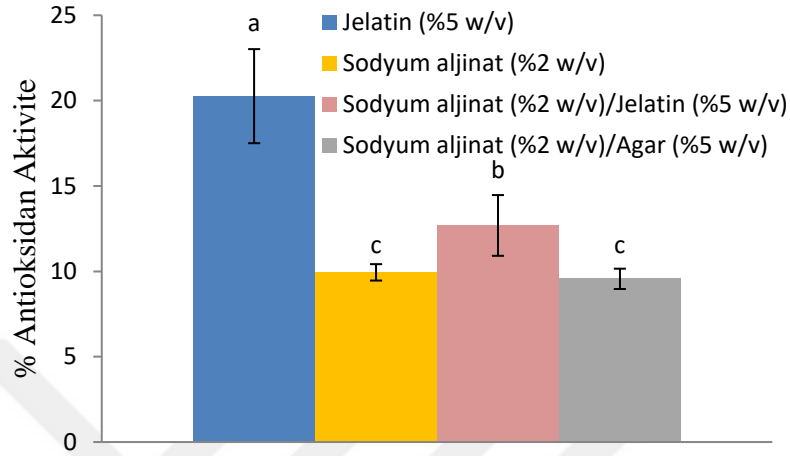
J: Jelatin (%5 w/v), SA: Sodyum aljinat (%2 w/v), SA / J: Sodyum aljinat (%2 w/v) / Jelatin (%5 w/v), SA / A: Sodyum aljinat (%2 w/v) / Agar (%1,5 w/v)

Analiz sonucunda mide (pH 1,1) ve bağırsak (pH 7,4) ortamlarında 1. dakikadaki salım hızı en yüksek olan kapsüllerin jelleşme yöntemi ile jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüller olduğu belirlendi. İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen mikrokapsüller arasında en yüksek salım hızı sodyum aljinat kaplama materyali kullanıldığı durumda elde edildi. Salım hızı bakımından sodyum aljinatı, sodyum aljinat/agar kaplama çözeltisi takip etmektedir. En düşük salım hızı ise sodyum aljinat/jelatin kaplama çözeltisi kullanıldığı durumda elde edildi. Salım sonuçları ikinci bir kaplama materyali kullanımının salım hızını düşürdüğünü göstermektedir.

Oral (2016) tarafından yapılan çalışmada jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin 37 °C’de 5. dakikadaki oleuropein salım hızları pH 1’de $2,81 \pm 0,21$; pH 7,4’de $2,64 \pm 0,13$ olarak bulunmuştur.

3.7 DPPH Antioksidan Aktivite Tayini

Mikrokapsüllerin DPPH metodu ile tayin edilen antioksidan aktivite değerleri Şekil 3.13'de belirtilmiştir.



Şekil 3.13 : Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri

Çalışma sonucunda en yüksek antioksidan aktivite değeri ($20,26 \pm 2,75$) jelleşme yöntemi ile jelatin kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde görüldü. İkinci yüksek antioksidan aktivite değeri ($12,69 \pm 1,78$) ise iyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat/jelatin kaplama çözeltisi kullanıldığı durumda elde edilen mikrokapsüllerde görüldü. İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat ($9,94 \pm 0,48$) ve sodyum aljinat/agar ($9,56 \pm 0,6$) kaplama çözeltileri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin en düşük antioksidan aktiviteye sahip oldukları ve antioksidan aktivite açısından istatistiksel olarak farklı olmadıkları belirlendi.

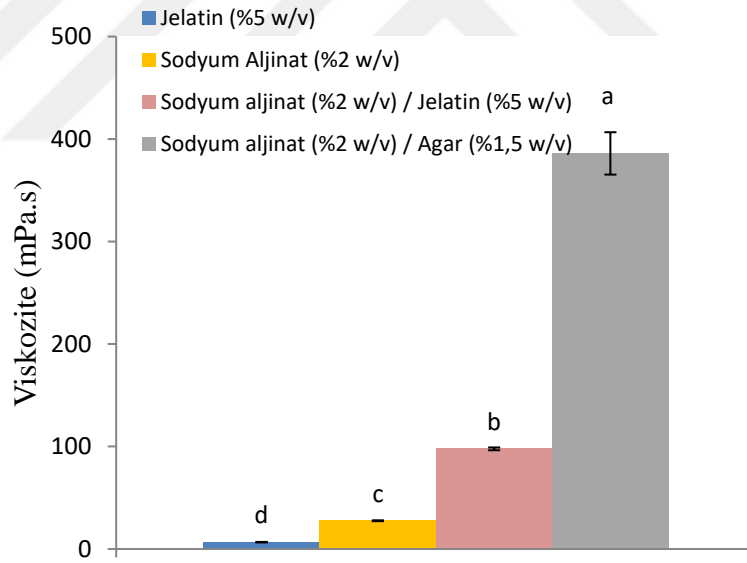
Çalışmada kullanılan mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri ile verim sonuçlarının orantılı olduğu tespit edildi.

3.8 Reolojik Ölçümler

Jelatin (%5 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v), sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) ve sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltilerinin 25 °C'de 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verileri tespit edilmiştir. Kullanılan kaplama çözeltilerinin 25 °C'de 1 – 100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerine göre

başlangıç kayma hızında en düşük viskoziteye sahip kaplama materyali jelatin çözeltisi'dir. Jelatin çözeltisini; sodyum aljinat çözeltisi (32,50 mPa.s) ve sodyum aljinat/jelatin çözeltisi (92,02 mPa.s) takip etmektedir. Sodyum aljinat/agar çözeltisi ise başlangıç kayma hızında en yüksek viskoziteye (7968,83 mPa.s) sahip çözeltidir. Bitiş kayma hızındaki viskozite verileri de başlangıç kayma hızında olduğu gibi en düşük jelatin çözeltisinde (7,69 mPa.s), jelatin çözeltisini takiben sodyum aljinat (27,43 mPa.s) ve sodyum aljinat/jelatin çözeltisinde (101,21 mPa.s), en yüksek ise sodyum aljinat/agar çözeltisinde (223,37 mPa.s) elde edilmiştir.

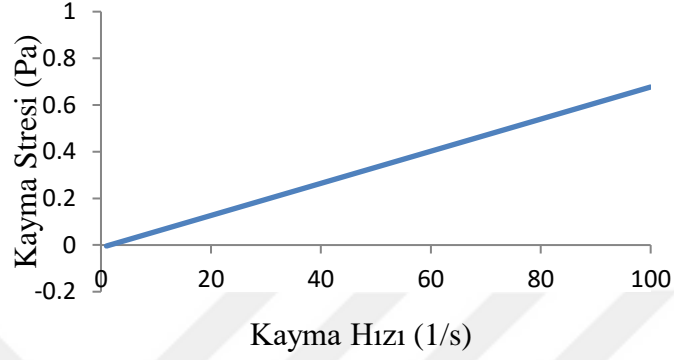
Enkapsülasyon işleminde kullanılan kaplama materyallerinin 50 s^{-1} 'deki görünür viskoziteleri Şekil 3.14'de belirtilmiştir. Jelatin kaplama çözeltisinin 50 s^{-1} 'deki görünür viskozitesi $6,67 \pm 0,26 \text{ mPa.s}$, sodyum aljinat kaplama çözeltisinin viskozitesi $27,61 \pm 0,42 \text{ mPa.s}$, sodyum aljinat/jelatin kaplama çözeltisinin viskozitesi $97,74 \pm 1,37 \text{ mPa.s}$, sodyum aljinat/agar kaplama çözeltisinin viskozitesi ise $386,01 \pm 20,68 \text{ mPa.s}$ olarak bulunmuştur.



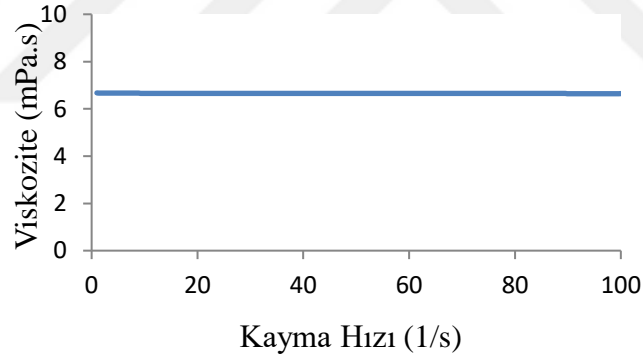
Şekil 3.14 : Kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri

Çalışmada kullanılan $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 'deki jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin $1-100 \text{ s}^{-1}$ kayma hızı aralığında sahip olduğu kayma stresi değerleri Şekil 3.15'de; viskozite değerleri ise Şekil 3.16'da belirtilmiştir. Şekil 3.15'de görüldüğü üzere kayma hızı arttıkça kayma stresi de artmaktadır. Kayma hızı ile kayma stresi arasında lineer bir ilişki söz konusudur. Şekil 3.16'da ise viskozitenin kayma hızından bağımsız olduğu

görülmektedir. Ölçüm sonuçlarına göre jelatin çözeltisi Newtonyen davranış göstermektedir. Marcotte ve diğ (2001), farklı konsantrasyonlardaki karragenan, pektin, jelatin, nişasta ve ksantan gam gibi gıda hidrokolloidlerinin 20, 40, 60 ve 80°C’lerdeki reolojik özellikleri üzerine yapmış oldukları çalışmada jelatinin Newtonyen davranış gösterdiğini tespit etmişlerdir.



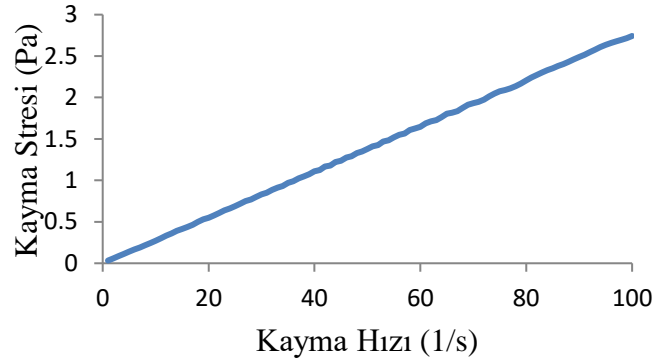
Şekil 3.15 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C’deki jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi



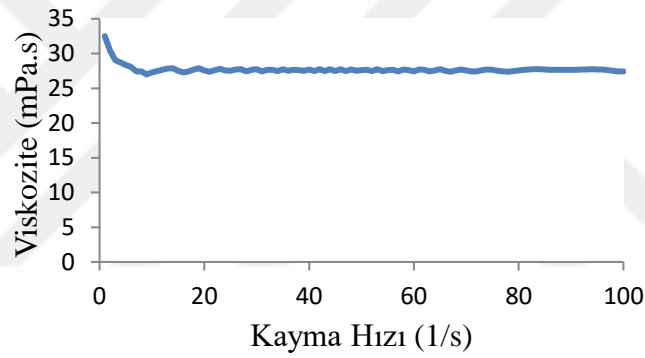
Şekil 3.16 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C’deki jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmada kullanılan 25 °C’deki sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığında sahip olduğu kayma stresi değerleri Şekil 3.17’de; viskozite değerleri ise Şekil 3.18’de belirtilmiştir. Şekil 3.17’de görüldüğü üzere kayma hızı arttıkça kayma stresi de artmaktadır. Şekil 3.18’de ise viskozitenin kayma hızına bağımlı olduğu ve kayma hızı arttıkça viskozitenin düştüğü görülmektedir. Ölçüm sonuçlarına göre sodyum aljinat çözeltisinin psödoplastik davranış gösterdiği

düşünülmektedir. Literatürde sodyum aljinat gibi materyallerin pseudoplastik davranış gösterdiği belirtilmiştir (Çelebi, 2009).

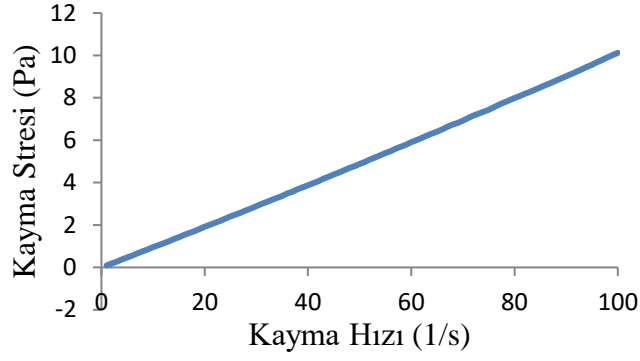


Şekil 3.17 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C’deki sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi

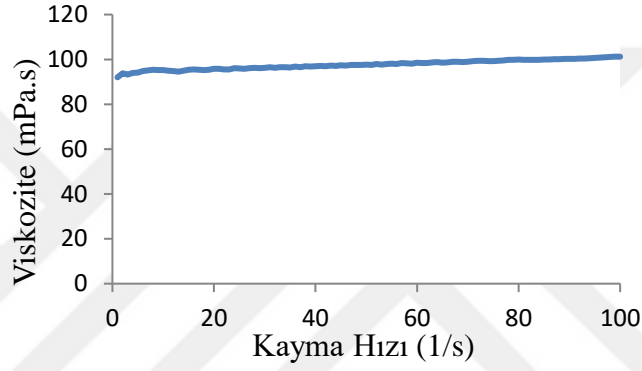


Şekil 3.18 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C’deki sodyum aljinat (%2 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmada kullanılan 25 °C’deki sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığında sahip olduğu kayma stresi değerleri Şekil 3.19’da; viskozite değerleri ise Şekil 3.20’de belirtilmiştir. Şekil 3.19 ve Şekil 3.20’de görüldüğü üzere kayma hızı arttıkça kayma stresi artmakta; viskozite ise sabit kalmaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre sodyum aljinat/jelatin çözeltisinin Newtonyen davranış gösterdiği düşünülmektedir.

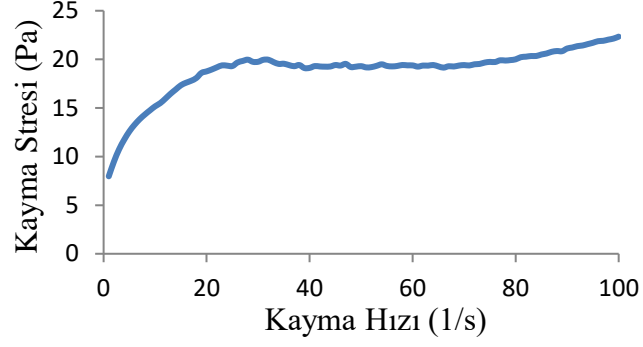


Şekil 3.19 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi

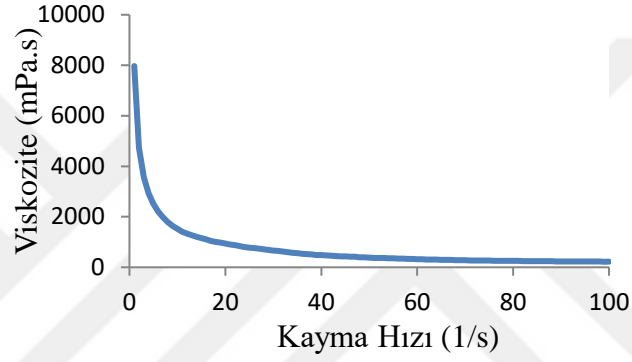


Şekil 3.20 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/jelatin (%5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmada kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığında sahip olduğu kayma stresi değerleri Şekil 3.21'de; viskozite değerleri ise Şekil 3.22'de belirtilmiştir. Şekil 3.21'de görüldüğü üzere kayma hızı arttıkça kayma stresi de artmaktadır. Şekil 3.22'de ise viskozitenin kayma hızına bağımlı olduğu ve kayma hızı arttıkça viskozitenin düştüğü görülmektedir. Ölçüm sonuçlarına göre sodyum aljinat/agar çözeltisinin Herschel-Bulkley modeline uygunluk gösterdiği düşünülmektedir. Kullanılan çözeltideki en düşük kayma stresi olan eşik değeri 7,96 Pa olarak ölçülmüştür. Kaneda ve Yanaki (2002), tarafından %1,3-1,7 agar içeren mikrojel dispersiyonu üzerine yapılan reoloji çalışmasında akış karakteristikleri Herschel-Bulkley eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.21 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki kayma stresi verilerinin grafiksel gösterimi



Şekil 3.22 : Enkapsülasyon işleminde kullanılan 25 °C'deki sodyum aljinat (%2 w/v)/agar (%1,5 w/v) kaplama çözeltisinin 1–100 s⁻¹ kayma hızı aralığındaki viskozite değerlerinin grafiksel gösterimi

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

İyonik jelleşme/ekstrüzyon ve jelleşme/emülsiyon yöntemleri ile farklı kaplama çözeltileri kullanılarak zeytin yaprağı ekstraktı enkapsüle edilmiş olup enkapsülasyon yöntemi ve kaplama materyali seçiminin; enkapsülasyon verimliliği, partikül boyutu, şişme hızı, in vitro salım profili, antioksidan kapasite ve akış davranışları üzerinde etkili önemli faktörler olduğu belirlenmiştir.

İyonik jelleşme yönteminde uygulanan akış hızı ve enjeksiyon sürelerinin, enkapsülasyon verimi üzerine etkileri arasında önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Enkapsülasyon verimi yüksek kapsüller elde etmek için akış hızı yüksek, enjeksiyon süresi ise düşük olan kapsülasyon prosesleri tavsiye edilebilir.

Uygulanan enkapsülasyon tekniklerinin, enkapsülasyon verimi üzerine etkileri arasında önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Jelleşme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon veriminin iyonik jelleşme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin verimine oranla önemli ölçüde daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Bu durum hidrofilik kapsül içeriğinin; $CaCl_2$ çözeltisine difüzyonuna karşın, hidrofobik karakter sergileyen yağ matriksine geçişinin çok sınırlı olmasıyla açıklanabilir. İyonik jelleşme yönteminde ise kaplama çözeltisi seçiminin enkapsülasyon verimi üzerine etkileri arasında önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0,05$).

Çeşitli kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen kapsüllerin partikül boyutları arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir. ($p<0,05$). Enkapsülasyon yöntemi seçiminin ise önemli fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmada uygulanan enkapsülasyon teknikleri ile elde edilen kapsüllerin şişme hızları arasındaki farkın önemli olduğu ortaya konmuştur ($p<0,05$). İyonik jelleşme yöntemiyle elde edilen kapsüller arasında kaplama materyali olarak sodyum aljinat/jelatin kullanımının diğer kaplama materyallerine göre istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir. Kullanılan kaplama materyalleri ve uygulanan pH

değerlerinin in vitro salım profilleri üzerine etkileri arasında önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0,05$).

Çalışmada kullanılan enkapsülasyon teknikleri ve kaplama çözeltileri ile elde edilen kapsüllerin antioksidan aktiviteleri arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Antioksidan aktivite değerleri ile verim sonuçlarının orantılı olduğu tespit edilmiştir. İyonik jelleşme yöntemi ile sodyum aljinat ve sodyum aljinat/agar kaplama çözeltileri kullanılarak elde edilen kapsüllerin antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görülmektedir.

Yapılan çalışmada kullanılan kaplama çözeltilerinin 25 °C'deki reolojik özellikleri incelenmiş olup viskoziteleri arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Bu veriler çerçevesinde zeytin yaprağı ekstraktı mikrokapsüllerinin pilot ve laboratuvar ölçekli üretimlere ışık tutabileceği ve gıda takviyesi olarak kullanılarak ürün spektrumunun gelişimine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada kullanılan kaplama materyalleri dışında farklı kaplama materyalleri ve kombinasyonlarının fonksiyonel özellik gösteren bileşenlerin stabilitesinin sağlanması üzerine etkisinin araştırılması gerektiği kanaati taşınmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., Zarrouk, M.** (2015). Olive Tree (*Olea europaea* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds, *Antioxidants*, 4, 682-698.
- Acar, J. & Gökmen, V.** (2016). Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. (Saldamlı, İ. Ed.) *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 5, 557.
- Al-Azzawie, H. F. & Alhamdani, M - S. S.** (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits, *Life Sciences*, 78, 1371-1377.
- Armutcu, F., Akyol, S., Hasgöl, R., Yiğitoğlu, M. R.** (2011). Zeytin Yaprağının Biyolojik Etkileri ve Tıpta Kullanımı, *Spatula DD*, 1(3), 159-165.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J. A.** (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves, *Food Chemistry*, 68, 457-462.
- Bourne, M. C.** (2002). *Food Texture and Viscosity*. Erişim adresi [http://154.68.126.6/library/Food%20Science%20books/batch1/Food%20Texture%20and%20Viscosity,%20Elsevier%20\(2002\),%2000121190625.pdf](http://154.68.126.6/library/Food%20Science%20books/batch1/Food%20Texture%20and%20Viscosity,%20Elsevier%20(2002),%2000121190625.pdf)
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J.** (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications, *Journal of Food Engineering*, 104, 467-483.
- Caleja, C., Ribeiro, A., Barreiro, M. F., Ferreira, I. C. F. R.** (2016). Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients, *Current Pharmaceutical Design*, 23(19), 2787-2806.
- Chàvarri, M., Marañón, I., Villaràn, M. C.** (2012). Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria. (Rigobelo, E. Ed.) *Probiotics* (ss.501-540). Erişim adresi <https://www.intechopen.com/books/probiotics/encapsulation-technology-to-protect-probiotic-bacteria>
- Çelebi, N.** (2009). Reoloji. (Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S., Tırnaksız, F. Eds.) *Modern Farmasötik Teknoloji* (ss.391-405). Erişim adresi http://e-kutuphane.teb.org.tr/arsiv.php?anabelge_no=420
- Desai, K. G. H. & Park, H. J.** (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients, *Drying Technology*, 23, 1361-1394.
- Dolça, C., Ferrándiz, M., Capablanca, L., Franco, E., Mira, E., Lòpez, F., García, D.** (2015). Microencapsulation of Rosemary Essential Oil by Co-Extrusion/Gelling Using Alginate as a Wall Material, *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 5, 121-130.
- Erge, A. & Zorba, Ö.** (2018). Jelatinin Fonksiyonel Özellikleri ve Gıda Sanayinde Kullanımı, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(7), 840-849.

- Giada, M. De L. R.** (2013). Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. (Morales-Gonzalez, J. A. Ed.) *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases – A Role for Antioxidants* (ss.87-112). Erişim adresi <https://www.intechopen.com/books/oxidative-stress-and-chronic-degenerative-diseases-a-role-for-antioxidants>
- Gouin, S.** (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, *Trends in Food Science & Technology*, 15, 330-347.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sariçoban, C.** (2012). Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.
- Guinda, À., Albi, T., Perez-Camino, M. C., Lanzòn, A.** (2004). Supplementation of oils with oleanolic acid from the olive leaf (*olea europaea*), *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 22-26.
- İzli, G.** (2017). Total phenolics, antioxidant capacity, colour and drying characteristics of date fruit dried with different methods, *Food Science and Technology Campinas*, 37(1), 139-147.
- Jamekhorshid, A., Sadrameli, S. M., Farid, M.** (2014). A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 531-542.
- Jeyakumari, A., Zynudheen, A. A., Parvathy, U.** (2016). Microencapsulation of Bioactive Food Ingredients and Controlled Release – A Review, *MOJ Food Processing & Technology*, 2(6), 214-224.
- Kailasapathy, K.** (2002). Microencapsulation of Probiotics Bacteria: Technology and Potential Applications, *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3, 39-48.
- Kaneda, I. & Yanaki, T.** (2002). Rheology of Agar Microgel Dispersion, *Nihon Reorji Gakkaishi*, 30(2), 89-94.
- Koç, M., Sakin, M., Kaymak-Ertekin, F.** (2010). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 77-86.
- Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü.** (2018). 2017 Yılı Zeytin ve Zeytinyağı Raporu. Ankara: Gümrük ve Ticaret Bakanlığı.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H.** (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt, *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Lafka, T. I., Lazou, A. E., Sinanoglou, V. J., Lazos, E. S.** (2013). Phenolic Extracts from Wild Olive Leaves and Their Potential as Edible Oil Antioxidants, *Foods*, 2, 18-31.
- Lotfipour, F., Mirzaeei, S., Maghsoodi, M.** (2012). Evaluation of the effect of CaCl₂ and alginate concentrations and hardening time on the characteristics of Lactobacillus acidophilus loaded alginate beads using response surface analysis, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(1), 71-78.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S.** (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.

- Marcotte, M., Hoshahili, A. R. T., Ramaswamy, H.S.** (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as function of concentration and temperature, *Food Research International*, 34, 695-703.
- Marinova, G. & Batchvarov, V.** (2011). Evaluation of the Methods for Determination of the Free Radical Scavenging Activity by DPPH, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 11-24.
- Mourtzinou, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A., Karathanos, V. T.** (2007). Encapsulation of Olive Leaf Extract in β -Cyclodextrin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8088-8094.
- Munin, A. & Edwards-Levy, F.** (2011). Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review, *Pharmaceutics*, 3, 793-829.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B.** (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications, *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815.
- Omar, S. H.** (2010a). Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 111-121.
- Omar, S. H.** (2010b). Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects, *Scientia Pharmaceutica*, 78, 133-154.
- Oral, R. A.** (2016). New Perspectives For the Encapsulation of Hydrophilic Compounds, *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e12967.
- Oskay, D. & Oskay, M.** (2009). Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi, *e-Journal of New World Sciences Academy*, 4(2), 31-41.
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., Pereira, J. A.** (2007). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves, *Molecules*, 12, 1153-1162.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., Di Fonzo, V.** (2006). Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 434-440.
- Rao, M. A.** (2007). Introduction: Food Rheology and Structure. (Rao, M. A. Ed.) *Rheology of Fluid and Semisolid Foods Principles and Applications*. 2nd ed. Springer, Geneva, USA, 2, 7-10.
- Risch, S. J.** (1995). Encapsulation: Overview of Uses and Techniques. (Risch, S. J. & Reineccius, G. A. Eds) *Encapsulation and Controlled Release of food Ingredients*, American Chemical Society, 2-7.
- Shetty, K., Clydesdale, F. M., Vatter, D. A.** (2005). Clonal Screening and Sprout Based Bioprocessing of Phenolic Phytochemicals for Functional Foods. (Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A. L., Levin, R. E. Eds) *Functional Foods and Biotechnology*, CRC Press, 1-24.
- Silva, S., Gomes, L., Leitao, F., Coelho, A.V., Vilas Boas, L.** (2006). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves, *International Food Science and Technology*, 12(5), 385-396.

Soni, M. G., Burdock, G. A., Christian, M. S., Bitler, C.M., Crea, R. (2006). Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods, *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 903-915.

Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, Freeman Press.

Steffe, J. F. & Daubert, C. R. (2006). *Bioprocessing Pipelines: Rheology and Analysis*, Freeman Press.

Tabilo-Munizaga, G., Barbosa-Canovas, G. V. (2005). Rheology for the food industry, *Journal of Food Engineering*, 67, 147-156.

Tarun, G., Onkar, S., Saahil, A., RSR, M. (2011). Patented Microencapsulation Techniques And Its Application, *Journal of Pharmacy Research*, 4(7), 2097-2102.

Tomaro-Duchesneau, C., Saha, S., Malhotra, M., Kahouli, I., Prakash, S. (2013). Microencapsulation for the Therapeutic Delivery of Drugs, Live Mammalian and Bacterial Cells, and Other Biopharmaceutics: Current Status and Future Directions, *Journal of Pharmaceutics*, e103527.

Zuidam, N. J. & Shimoni E. (2010). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. (Zuidam, N. J., Nedovic, V.Eds) *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, Springer, New York, 3-29.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Sinem KAHRAMAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 1989 / BALIKESİR
E-posta : kahraman_sinem@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2011, Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
- **Yüksek Lisans** : Devam ediyor, Bursa Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Kahraman, S., Demircan, H., Oral, R. A.** (2018). Investigation of the Effects of Some Wall Materials and Encapsulation Techniques on Microencapsulation of Olive Leaf Extract, *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies*, İzmir, Nisan 2-5.
- **Demircan, H., Kahraman, S., Oral, R. A.** (2018). The Effect of Flow Rate and Injection Time on Encapsulation Efficiency, *International Conference on Raw Materials to Processed foods*, Antalya, Nisan 11-13.