

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**MİKROENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN
KEKİK YAĞINDA BULUNAN TİMOL VE
KARVAKROL İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Meltem KARAGÖZLÜ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 19.09.2017

Bornova-İZMİR

2017

Meltem KARAGÖZLÜ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Mikroenkapsülasyon Parametrelerinin Kekik Yağında Bulunan Timol ve Karvakrol İçeriği Üzerine Etkileri” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 19/09/2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

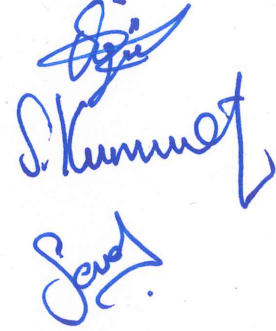
Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

Raportör Üye: Doç. Dr. Seher KUMCUOĞLU

Üye: Yrd. Doç. Dr. Seval DAĞBAĞLI

İmza

Three handwritten signatures in blue ink are visible on the right side of the page. The top signature is the most legible and appears to be 'Özgül ÖZDESTAN OCAK'. Below it is another signature, and at the bottom is a third signature, likely 'Seval DAĞBAĞLI'.

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Mikroenkapsülasyon Parametrelerinin Kekik Yağında Bulunan Timol ve Karvakrol İçeriği Üzerine Etkileri**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

19/09/2017

Meltem KARAGÖZLÜ

ÖZET**MİKROENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN KEKİK YAĞINDA BULUNAN TİMOL VE KARVAKROL İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

KARAGÖZLÜ, Meltem

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

İkinci Danışmanı: Doç. Dr. Buğra OCAK

Eylül 2017, 103 sayfa

Bu çalışmada, kompleks koaservasyon yöntemi kullanılarak tannik asit ile sertleştirilmiş, jelatin/arap zamkı duvarlı kekik yağı içeren mikrokapsüller elde edilmiştir. Bu kapsamda, mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%), mikrokapsülasyon verimi (%), salım oranı (%), DPPH ile antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, renk analizi ve morfolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Kapsüllenen kekik yağında timol ve karvakrol miktarları ile lutein içeriği yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yardımı ile belirlenmiştir. Ayrıca şeftali suyu üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen şeftali suyuna optimum koşullarda üretilen mikrokapsüller ilave edilmiştir. 7 günlük depolama süresince kontrol örneğinde ve zenginleştirilmiş örnekte pH ölçümü ile toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı yapılmıştır. GC/MS analizi ile kekik esansiyel yağı başlıca uçucu bileşenlerinin α -pinen, karvakrol ve timol olduğu tespit edilmiştir. En yüksek mikrokapsülasyon verimine (% $70,09 \pm 1,86$) sahip olan mikrokapsüller optimum koşul olarak belirlenmiştir. Jelatin ve tannik asit miktarları artırılınca, kekik esansiyel yağının mikrokapsüllerden salımı azalırken, mikrokapsüllerdeki kekik esansiyel yağ miktarı artırılınca salımın arttığı tespit edilmiştir. Kekik yağı miktarı mikrokapsüllerde arttıkça, timol ve karvakrol miktarları ile antioksidan ve toplam fenolik madde miktarlarında artış gözlenmiştir. Kekik esansiyel yağının lutein pigmentini içermediği belirlenmiştir. Optimum koşulda üretilen mikrokapsüllerin şeftali suyuna ilave edilmesi ve depolanması örneklere antimikrobiyal özellik kazandırmıştır. Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir ($p<0,05$).

Anahtar sözcükler: Jelatin, arap zamkı, kompleks koaservasyon, mikrokapsülasyon.

ABSTRACT**THE EFFECT OF MICROENCAPSULATION PARAMETERS ON
THYMOL AND CARVACROL CONTENT OF THYME OIL**

KARAGÖZLÜ, Meltem

MSc in Food Eng.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Buğra OCAK

September 2017, 103 pages

In this research, microcapsules containing thyme oil using gelatin/arabic gum wall materials, crosslinked with tannic acid were obtained. In this context, the oil loading (%), oil content (%), microencapsulation efficiency (%), release rate (%), antioxidant activity with DPPH, total phenolic compound, colour value and morphological analyzes of the microcapsules were performed. Thymol and carvacrol amounts and lutein content in the encapsulated thyme oil were determined with the help of high performance liquid chromatography (HPLC). In addition, peach juice production was carried out and microcapsules produced under optimum conditions were added to the obtained peach juice. During 7 days of storage, pH measurement and total mesophilic aerobic bacteria counts were performed in the control samples and the enriched samples. It was determined that the major volatile components of thyme essential oil by GC/MS analysis were α -pinene, carvacrol and thymol. Microcapsules, which have the highest microencapsulation efficiency value ($70.09 \% \pm 1.86$), was determined as optimum condition. It has been found that the release increased as the amount of thyme essential oil in the microcapsules increased, while the amounts of gelatin and tannic acid increased, the release of thyme essential oil from the microcapsules reduced. As the amount of thyme oil increased in microcapsules, amounts of thymol and carvacrol, antioxidant and total phenolic contents were increased. Thyme essential oil did not contain lutein pigment. Samples have been gained antimicrobial properties by addition to the peach juice of the microcapsules produced in optimum conditions and storage. All the results were evaluated statistically ($p < 0.05$).

Keywords: Gelatin, gum arabic, complex coacervation, microencapsulation.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü öğrenimime başladığım ilk günden itibaren her konuda benden bir an olsun yardımlarını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum tez danışman hocalarım Sayın Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK'a ve Sayın Doç. Dr. Buğra OCAK'a,

Tezimin gerçekleşmesi için gerekli olan maddi desteği sağladığı için Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Araştırma Fon Saymanlığına,

Katkıları ve yardımları için Ar. Gör. Dr. Emine NAKİLCİOĞLU TAŞ ve Ar. Gör. Gülşah ÇALIŞKAN KOÇ'a,

Mikrobiyolojik analizlerimde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde çalışan saygıdeğer Gıda Yüksek Mühendisi Ferište ÖZTÜRK GÜNGÖR ve saygıdeğer Gıda Teknikeri Özlem ASKER'e,

Çalışmalarım süresince yardımları ve destekleri için başta Tülay ÜZEL, Reyhan İNCE ve Mehmet Nuri TÜRKMEN olmak üzere tüm teknik personele,

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı başta Neslihan BOZDOĞAN ve Çisem SUCU olmak üzere manevi olarak desteklerinden dolayı tüm arkadaşlarıma,

Sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim, bana her zaman güven veren ve eğitimim için her türlü fedakarlıkta bulunan annem Semiye KARAGÖZLÜ, babam Gürkan KARAGÖZLÜ ve abim Mustafa KARAGÖZLÜ'ye,

Sonsuz teşekkür ederim.

Meltem KARAGÖZLÜ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
TEŞEKKÜR	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XVI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XVIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1 Mikroenkapsülasyon	4
2.1.1 Mikroenkapsülasyon yöntemleri	6
2.2 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Duvar Materyalleri	9
2.3 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Çekirdek Materyalleri	11
2.4 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Çapraz Bağlayıcı Ajanlar	18
2.5 Gıda Endüstrisinde Mikroenkapsülasyon Uygulamaları	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1 Materyal	26
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler	26
3.2. Yöntem	26
3.2.1 Kullanılan cihazlar	26
3.2.2 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin hazırlanışı	28
3.2.3 Kekik yağının GC/MS ile karakterizasyonu	29
3.2.4 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrumunun incelenmesi	30
3.2.5 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrofotometrik yöntemle standart eğrisinin hazırlanması	30
3.2.6 Mikroenkapsülasyon verimi ve mikrokapsüllerin yağ içeriği ve yağ yükünün saptanması	31
3.2.7 Kekik yağı salım çalışması	31
3.2.8 Kekik yağında bulunan timol ve karvakrol miktarlarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile bulunması	32

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.2.9 Kekik yağında bulunan lutein miktarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile Bulunması	33
3.2.10 Mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi.....	34
3.2.11 Toplam fenolik madde analizi.....	34
3.2.12 Mikrokapsüllerin renk analizi	35
3.2.13 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	36
3.2.14 Taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (SEM)	36
3.2.15 Ürünlerin hazırlanması ve depolanması.....	36
3.2.16 Mikrobiyolojik analiz ve pH ölçümü	37
3.2.17 İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	38
4.1 Kekik yağının GC/MS ile karakterizasyonu	38
4.2 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrumunun incelenmesi	40
4.3 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrofotometrik yöntemle standart eğrisinin hazırlanması	40
4.4 Mikroenkapsülasyon verimi ve mikrokapsüllerin yağ içeriği ve yağ yükünün saptanması.....	41
4.4.1 Jelatin/arap zamkı oranındaki değişiminin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi.....	44
4.4.2 Tannik asidin miktarındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi.....	48
4.4.3 Yağ konsantrasyonundaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi	51
4.5 Kekik yağı salım çalışması	54
4.6 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin timol ve karvakrol miktarları değişiminin HPLC ile Belirlenmesi	58

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.7 Kekik yağında bulunan lutein miktarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile belirlenmesi.....	63
4.8 Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri	69
4.8.1 Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı.....	69
4.8.2 Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri.....	71
4.9 Mikrokapsüllerin renk sonuçları.....	73
4.10 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR).....	76
4.11 Taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (SEM).....	80
4.12 Şeftali suyu örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında ve pH değerinde meydana gelen değişimler.....	82
5. SONUÇ.....	85
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	103
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Mikrokapsül yapısı.....	4
2.2 Farklı tiplerde mikrokapsül morfolojileri	5
2.3 Kompleks koaservasyon işleminin akış diyagramı	8
2.4 Kompleks koaservasyon yöntemi ile mikrokapsül eldesi	9
2.5 Kekik esansiyel yağı temel bileşenlerinin kimyasal yapısı.....	12
2.6 Tannik asidin kimyasal yapısı.....	20
3.1 Mikrokapsüllerin hazırlanışı akış şeması	29
3.2 Karvakrol standart çözeltisi kalibrasyon grafiği	33
3.3 Gallik asit çözeltisi kalibrasyon grafiği	35
4.1 Kekik yağının % 0,3'lük Tween 80 çözeltisi içerisindeki standart eğrisi.....	41
4.2 Salım oranı üzerine jelatin/arap zamkı oranı değişiminin etkisi.....	55
4.3 Salım oranı üzerine tannik asit miktarı değişiminin etkisi.....	56
4.4 Salım oranı üzerine kekik esansiyel yağı miktarı değişiminin etkisi.....	57
4.5 25 ppm karvakrol standardına ait olan HPLC kromatogramı	60
4.6 9 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı	61
4.7 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı	62
4.8 Lutein standardına ait olan HPLC kromatogramı	65
4.9 9 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı	66
4.10 Kekik esansiyel yağının HPLC kromatogramı	67
4.11 Kuru kekiğin HPLC kromatogramı	68
4.12 Jelatin (a), arap zamkı (b), kekik yağı (c) ve mikrokapsüllerin (d) FTIR spektrumları	77
4.13 Jelatin/arap zamkı duvar materyalleri ile elde edilen kekik yağı içeren mikrokapsüllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü	80

ÇİZELGELER DİZİNİ**Çizelge****Sayfa**

2.1 Mikroenkapsülasyonda kullanılan yöntemler.....	6
2.2 Jelatin-arap zamkı duvar materyalleri kullanılarak hazırlanan kompleks koaservasyon uygulamaları ve kullanılan çapraz bağlayıcı ajanlar.....	15
4.1 Kekik esansiyel yağının (<i>Thymus vulgaris</i> L.) temel uçucu bileşenleri	38
4.2 Jelatin, arap zamkı, tannik asit ve kekik esansiyel yağı miktarındaki değişimin mikroenkapsülasyon parametreleri üzerine etkisi	42
4.3 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin mg/kg cinsinden timol ve karvakrol miktarları.....	58
4.4 Mikrokapsüllerin ortalama toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri	69
4.5 Mikrokapsüllerin ortalama renk değerleri	74
4.6 Depolama süresince şeftali suyu örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki ve pH değerlerindeki değişimler.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler****Açıklamalar**

akb	Atomik kütle birimi
cfu	Koloni oluşturan birim
DAD	Diode array dedektör
dk	Dakika
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radikali
FTIR	Fourier transform kızılötesi spektroskopisi
g	Gram
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC/MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
mg	Miligram
MRD	Peptonlu Fizyolojik Tuzlu Su
ml	Mililitre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir kısım
PTFE	Politetrafloroetilen
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
UV	Ultraviyole
v/v	Hacim/hacim oranı
w/v	Ağırlık/hacim oranı
w/w	Ağırlık/ağırlık oranı
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

1. GİRİŞ

Kekik (*Thymus vulgaris* L.) ülkemizde üretimi yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler içinde ilk sırayı alan bir bitkidir. Kekik, bitkisel yem katkısı ve uçucu yağların bilinen bir kaynağıdır. Kekik uçucu yağı, aroma ve gıda endüstrisinde ve ayrıca parfüm ve kozmetik üretimlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kekik uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çoğunlukla karvakrol, sinemaldehit, timol, geraniol ve öjenolün varlığına bağlanmaktadır (Bakry et al., 2016). Özellikle biyolojik aktivitelere katkıda bulunan kekik uçucu yağının bileşenleri arasında timol ve onun izomeri karvakrol bulunmaktadır. Timol (2-izopropil-5-metilfenol) kekik uçucu yağında bulunan başlıca monoterpen fenolüdür. Timol ve karvakrol, anti-inflamatuar, bağışıklık düzenleyici, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal özellikler göstermektedirler (Angelov et al., 2013). Bu nedenle, timol ve karvakrol ağız çalkalama sularında, sabunlarda ve kremlerde farmasötik bileşik olarak kullanılmaktadırlar (Sipailiene et al., 2006; Bakry et al., 2016).

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, doğal uçucu bileşenlerin karışımlarıdır. Doğal uçucu bileşenler, bitkiye karakteristik koku verirler ve biyoaktif bileşenlerin ortak kaynaklarıdır (Bakry et al., 2016). Esansiyel yağlar, gıda, tekstil, parfümeri, kozmetik, tarım ve ilaç endüstrisinin değerli bileşenlerdendir. Genellikle, esansiyel yağların birçok bileşeni kararsız ve uçucu sıvılardır ve ısı, oksidasyon, kimyasal etkileşimler ve buharlaşma sonucu duyuşal algıyı değiştirebilmektedirler (Xiao et al., 2014a). Uçucu bileşenlerin kaybı özellikle oksijene, ışığa, neme ve ısıya maruz bırakıldığında söz konusudur. Yağlar ile zenginleştirilmiş bir ürünün kalitesi, oksidatif bozulma, hoş olmayan tat, istenmeyen lezzet ve serbest radikallerin oluşumu nedeniyle bozulabilmektedir. Bu değişiklikler, geliştirilen ürünlerin raf stabilitesi, duyuşal özellikleri ve genel kabul edilebilirlikleri üzerinde olumsuz etkiye sahiptirler (Velasco et al., 2003; Bakry et al., 2016).

Uçucu yağların biyolojik ve fonksiyonel özelliklerini korumak ve uçucu yağ içeren doğal sağlıklı ürünleri geliştirebilmek için mikroenkapsülasyon teknolojisi uygun bir seçenektir (Bakry et al., 2016). Özellikle son yıllarda fonksiyonel

gıdaların öneminin giderek artması ile birlikte mikroenkapsülasyon işlemi gıda sektörü için daha çok anlam ifade etmeye başlamıştır (Kunz et al., 2003; Koç vd., 2010). Mikroenkapsülasyon yöntemlerinden biri olan koaservasyon ile elde edilen mikrokapsüller, yüksek yükleme kapasitesine (% 99'a kadar) ve sıcaklık, sürekli salım veya mekanik strese bağlı mükemmel kontrollü salım özelliklerine sahiptir. Bu sebeple koaservasyon benzersiz ve gelecek vaat eden bir mikroenkapsülasyon yöntemidir (Gouin, 2004; Dong et al., 2011; Siow and Ong, 2013).

İki zıt yüklü biyopolimerden jelatin ve arap zankı biyopolimerlerinin fazla miktarlarda bulunması, biyoyumlu, biyobozunur ve güvenli olması nedeniyle kompleks koaservasyon, hidrofobik aktif maddelerin kapsüllenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang et al., 2011; Quan et al., 2013). Kompleks koaservasyon yönteminin temel problemi, koaservatların farklı koşullar altında oldukça kararsız olmaları ve kimyasal çapraz bağlanmanın onları sağlamlaştırmak için gerekli olmasıdır (Anvari and Chung, 2016). Tannik asit polifenolik bileşik olup jelatin gibi konformasyonel açıdan açık proteinler ile hidrojen bağlanması ve hidrofobik etkileşimler yoluyla kompleks yapma yeteneği nedeniyle, güvenli bir alternatif çapraz bağlayıcı olarak kullanılabilir (Xing et al., 2004; Zhang et al., 2011).

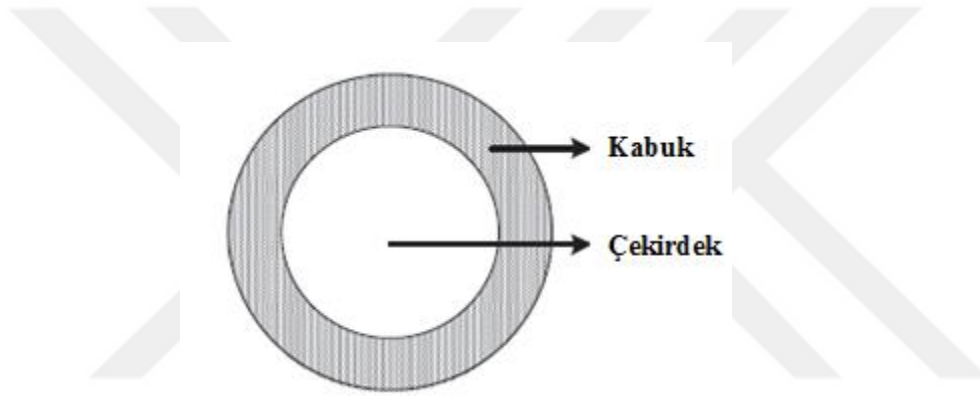
Son yıllarda, artan Dünya nüfusu ile birlikte toplumda sağlıklı beslenme eğiliminin gelişmesi sınırlı olan besin kaynaklarının daha verimli kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Çevre koşullarına karşı koruma ve stabilitelerinin geliştirilmesi amacıyla kafur yağı (Chang et al., 2006), güve otu yağı (Prata et al., 2008), keten tohumu yağı (Liu et al., 2010), nane yağı (Dong et al., 2011), yasemin yağı (Lv et al., 2012; 2014), sarımsak yağı (Siow and Ong, 2013), lavanta yağı (Xiao et al., 2014b), hardal tohumu yağı (Peng et al., 2014), haşhaş tohumu yağı (Yang et al., 2015) gibi esansiyel yağların mikroenkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Bununla birlikte yapılan literatür araştırması kapsamında, kompleks koaservasyon yöntemi ile kekik esansiyel yağı mikroenkapsülasyonunun parametreler üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Yapılan çalışmada, analizlerde kullanılan kekik yağı karakterize edilmiş ve kekik yağı bileşiminde bulunan timol ve karvakrol bileşenlerinin çevre koşullarına karşı stabilitesini arttırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla kekik yağı çekirdek materyal olarak, jelatin ve arap zankı duvar materyali olarak, tannik asit ise çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılmış ve kekik yağının kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Literatürde bu konuda herhangi bir çalışma bulunmamaktadır, bu konuda yapılan ilk çalışma olması bakımından özgün değeri yüksek bir çalışmadır. Elde edilen kekik yağı içeren mikrokapsüller üzerine mikroenkapsülasyon parametrelerindeki değişimlerin etkileri belirlenmiştir. Bu kapsamda mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%), mikroenkapsülasyon verimi (%), salım oranı (%), DPPH ile antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve morfolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Kapsüllenen kekik yağında timol ve karvakrol içerikleri ile lutein miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yardımı ile belirlenmiştir. Ayrıca şeftali suyu üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen şeftali suyuna mikroenkapsülasyon verimi en yüksek olan mikrokapsüller ilave edilmiş, depolama süresince kontrol örneğinde ve mikrokapsül ilave edilmiş örnekte pH ölçümü ile mikrobiyolojik analiz (toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı) yapılmıştır. Böylece mikrokapsül ilavesinin şeftali suyunun raf ömrü üzerine etkisi ortaya konulmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

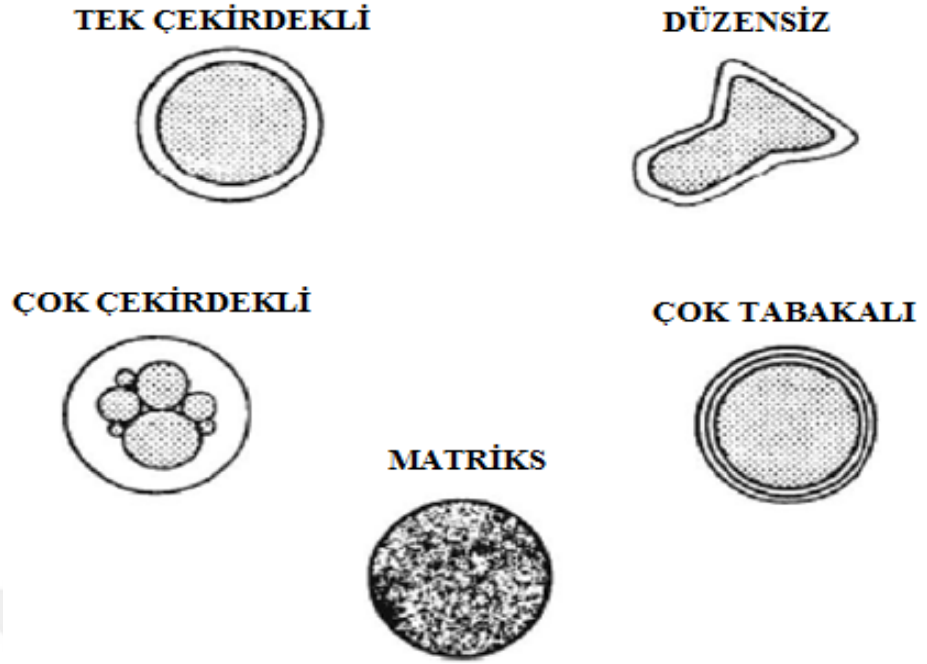
2.1 Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon bir materyalin veya materyaller karışımının başka bir materyal veya sistem ile kaplanmasını ya da içinde hapsedilmesini sağlayan bir teknolojidir (Madene et al., 2006; Koç vd., 2010). Kaplanacak materyal, öz, aktif materyal, çekirdek, dolgu ya da iç faz, kaplama materyali de duvar materyali, membran, kabuk, taşıyıcı, enkapsülant, matriks ya da dış faz olarak adlandırılabilir (Xiao et al., 2014a). Şekil 2.1’de mikrokapsül yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Mikroenkapsül yapısı (Jamekhorshid et al., 2014)

Kullanılan çekirdek ve duvar materyallerine ve mikroenkapsülasyon yöntemine bağlı olarak mikrokapsüllerin şekilleri ve boyutları arasında farklılıklar görülmektedir. Kapsüller boyutlarına göre, 5000 μm 'den daha büyük olduğunda makrokapsül, 0,2 ile 5000 μm arasında olduğunda mikrokapsül, 0,2 μm 'den daha küçük olduğunda da nanokapsül olarak isimlendirilmektedirler (Silva et al., 2014). Mikroenkapsüller şekillerine göre tek çekirdekli, düzensiz, çok çekirdekli, çok tabakalı ve matriks olarak elde edilebilmektedirler. Şekil 2.2’de farklı tiplerde mikrokapsül morfolojileri gösterilmiştir (Gibbs et al., 1999; Gharsallaoui et al., 2007).



Şekil 2.2 Farklı tiplerde mikrokapsül morfolojileri (Gibbs et al., 1999; Gharsallaoui et al., 2007).

Mikroenkapsülasyon ürünlerinin gelişimi, 1950'li yıllarda basınca duyarlı karbonsuz kopya kağıdının üretilmesine yönelik gerçekleştirilen araştırmalar ile başlamıştır (Madene et al., 2006). Mikroenkapsülasyon teknolojisi günümüzde eczacılık, kimya, gıda, kozmetik, parfümeri, tekstil gibi birçok alanda geniş ölçüde kullanılmaktadır (Xiao et al., 2014b). Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanım amaçları çekirdek materyalinin; çevresel faktörlere (ısı, nem, hava ve ışık gibi) karşı reaktivitesini azaltarak korunması, buharlaşmasının veya transfer hızının azaltılması, fiziksel özelliklerinin modifiye edilerek kullanımının kolaylaştırılması, doğru yerde ve doğru zamanda kontrollü olarak salımının sağlanması, aromasının maskelenmesi ve küçük miktarlarda kullanımı söz konusu olduğunda seyreltmenin homojen bir şekilde yapılması, bir karışım içindeki bileşenlerin birbirleriyle reaksiyona girmelerinin önlenmesi olarak özetlenebilir (Desai and Park, 2005; Koç vd., 2010).

Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanımının yararlarından dolayı probiyotik bakterilerin ve biyoaktif gıda bileşenlerinin mikroenkapsülasyonu ile stabilizasyonu ve elde edilen mikrokapsüllerin gıda ürünlerine ilave edilmesi ile fonksiyonel gıda üretiminin geliştirilmesi üzerine birçok çalışma yürütülmektedir (Nedovic et al., 2011). Ancak, bu teknolojinin kullanımını sınırlandıran çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerin başında, uygun mikroenkapsülasyon yönteminin ve duvar materyalinin seçimi gelmektedir (Tatar, 2012).

2.1.1 Mikroenkapsülasyon yöntemleri

Gıda bileşenlerinin mikroenkapsülasyonu işleminde çeşitli yöntemler mevcuttur (Nedovic et al., 2011). Mikroenkapsülasyon yönteminin seçimi; gerekli partikül büyüklüğü, çekirdek ve kaplama materyalinin fizikokimyasal özellikleri, salım mekanizmaları, işlem maliyeti gibi belirli uygulamalara ve parametrelere bağlıdır (Mahdavi et al., 2014; Mahdavi et al., 2016). Mikroenkapsülasyon yöntemleri kimyasal ve fiziksel olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Fiziksel yöntemlerde, fizikokimyasal ve fizikomekanik olarak sınıflandırılmaktadırlar (Ghosh, 2006). Çizelge 2.1'de mikroenkapsülasyon işleminde sık kullanılan yöntemler verilmiştir.

Çizelge 2.1 Mikroenkapsülasyonda kullanılan yöntemler (Ghosh, 2006)

Kimyasal Yöntemler	Fiziksel Yöntemler	
	Fizikokimyasal	Fizikomekanik
• Ara yüzey polimerizasyonu	• Koaservasyon	• Püskürterek kurutma
• In-situ polimerizasyonu	• Sol-jel yöntemi	• Dondurarak kurutma
	• Süperkritik akışkan yöntemi	• Sıcak eriyik yöntemi (Ekstrüder metodu)
		• Akışkan yatakta kaplama
		• Santrifüj yöntemi
		• Rotasyonel süspansiyon ayırma (Döner disk metodu)
		• Elektrostatik yöntem

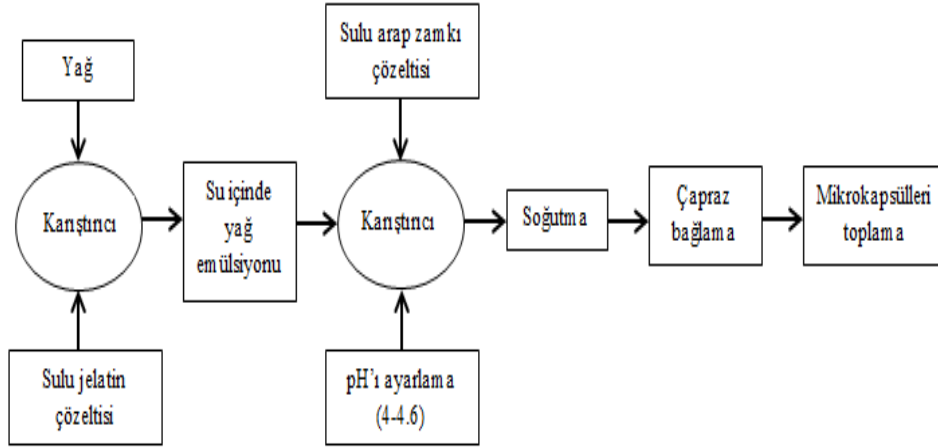
2.1.1.1 Koaservasyon yöntemi

Koaservasyon, ortamın sıcaklık, iyon şiddeti, pH ve polarite gibi fiziko-kimyasal özelliklerini değiştirerek çekirdek etrafında polimerin birikmesini sağlayan bir yöntemdir (Silva et al., 2014). Bu yöntem, polimerler ve tuzlar arasındaki elektrostatik etkileşime dayanmaktadır. Polimerce zengin (koaservat) ve polimerce fakir fazdan sıvı-sıvı faz ayrımı bu etkileşim neticesinde gerçekleşmektedir (Celli et al., 2015).

Koaservasyon, en eski ve en yaygın kullanılan mikroenkapsülasyon yöntemlerinden biridir (Bakry et al., 2016). Koaservasyon terimi, Latince’de yığın anlamına gelen “acervus” kelimesinden türemiştir (Jamekhorshid et al., 2014). Koaservasyon, yüksek sıcaklıklar veya organik çözücüler gerektirmeyen, diğer yöntemlere nazaran basit ve düşük maliyetli bir işlemdir. Koaservasyon yönteminin sadece kolloid ve elektrolit konsantrasyonlarının ve pH’nın sınırlı aralıkları içerisinde gerçekleşmesi bu işlemin en önemli dezavantajlarından biridir (Silva et al., 2014).

Koaservasyon işlemi, basit ve kompleks koaservasyon olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Basit koaservasyonda tek bir polimer kullanılmaktadır ve bu polimer suya karşı daha yüksek afiniteye sahip olan maddelerin (tuzlar, alkoller) ilave edilmesi ile ayrılmaktadır (Martins et al., 2009; Celli et al., 2015). Kompleks koaservasyonda iki ya da daha fazla polimer kullanılmaktadır (Madene et al., 2006). Kompleks koaservasyon, çözeltiler içinde veya kolloid olarak bulunan bu zıt yüklü polimerlerin çekim kuvvetleri ile gerçekleşmektedir (Martins et al., 2009; Ocak vd., 2011). Fizikokimyasal, kalınlık ve mikro yapı gibi duvar materyali özellikleri, mikrokapsül davranışlarının (kararlılık, tekrar dağılılabilirlik, mikroenkapsülasyon verimi vb.) belirlenmesinde kilit rol oynamaktadırlar. Bu sebeple, koaservasyon işleminin başarılı olabilmesi için, duvar materyalinin seçimi ve duvar materyali bileşenleri arasındaki etkileşim çok önemlidir (Katona et al., 2010). Jelatin ve arap zıncığı sistemi, kompleks koaservasyon işleminde en çok kullanılan biyopolimer çiftidir (Ach et al., 2015). Jelatin izoelektrik noktasının altındaki pH değerlerinde pozitif yüklüdür ve negatif yüklü olan arap zıncığı ile kompleks oluşturabilmektedir (Buldur, 2012). Bu sistemde, jelatin ve arap zıncığı 35 °C (jelatinin jelleşme sıcaklığı) üzerinde bir sıcaklıkta

karıştırılarak, pH 4'e ayarlanmış sulu faz içinde çözülür. Sistem soğutulduğunda, çapraz bağlanma gerçekleşmekte ve faz ayrımı meydana gelmektedir. Emülsiyona benzer şekilde, koaservatları toz formda elde etmek için kurutma işlemi uygulanabilir (Celli et al., 2015). Şekil 2.3'de kompleks koaservasyon işleminin akış diyagramı verilmiştir.

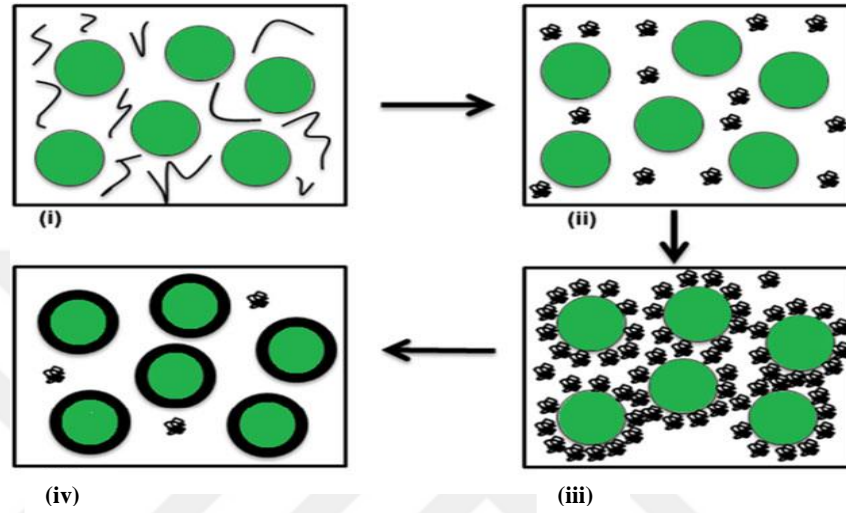


Şekil 2.3 Kompleks koaservasyon işleminin akış diyagramı (Jamekhorshid et al., 2014).

Kompleks koaservasyon yönteminin diğer yöntemlere göre en önemli avantajı, çok yüksek mikrokapsülasyon verimine (% 99'a kadar) ve kontrollü salım olanaklarına sahip olmasıdır (Gouin, 2004; Jun-xia et al., 2011; Ocak, 2012). Ayrıca, bu yöntem ile mikrokapsülenmiş yağları elde etmek basit, ölçeklenebilir, düşük maliyetli, solvent içermeyen ve tekrarlanabilir. Bu nedenle, kompleks koaservasyon endüstriyel ölçekte mikrokapsüllerin üretimi için kullanılmaktadır (Xiao et al., 2014a; Bakry et al., 2016).

Şekil 2.4'de görüldüğü gibi, kompleks koaservasyon yöntemi ile etken maddelerin (yağların) mikrokapsülasyonu ve mikrokapsüllerin elde edilmesi aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır. Şekil 2.4'de yeşil daireler yağı, çevresindeki siyahlar ise protein ve polisakaritleri göstermektedir. Kompleks koaservasyon ile yağların mikrokapsülasyonunda ilk aşama, proteinlerin izoelektrik noktası üzerindeki pH değerinde ve jelleşme noktası üzerindeki sıcaklıkta protein ve polisakarit gibi iki farklı polimeri bulandıran sulu çözelti içerisinde yağın emülsiyon haline getirilmesidir. İkinci aşama, proteinin izoelektrik noktası altındaki pH değerine çözeltinin düşürülmesi ile zıt yüklü polimerler arasındaki

elektrostatik çekim sonucunda çözünmeyen polimerce zengin fazdan sıvı fazın ayrılmasıdır. Üçüncü aşamada, jelleşme sıcaklığının altında yapılan kontrollü soğutmanın ardından, hidrofobik olan yağ damlacıklarının çevresinde polimerce zengin fazın birikmesinden dolayı duvar oluşumu meydana gelmektedir. Son aşamada, çapraz bağlayıcı ajanların eklenmesi ile mikrokapsüllerin duvarının sertleşmesi sağlanmaktadır (Piacentini et al., 2013; Bakry et al., 2016).



Şekil 2.4 Kompleks koaservasyon yöntemi ile mikrokapsül eldesi (Bakry et al., 2016)

2.2 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Duvar Materyalleri

Uygun duvar materyali seçimi, arzu edilen mikrokapsülasyon verimi, mikrokapsül stabilitesi ve uygulanabilirlik açısından çok önemlidir (Gonçalves et al., 2016). İdeal bir duvar materyali etken madde ile tepkimeye girmemeli, etken maddenin kapsülden sızmasını engelleyip, devamlılığını sağlayabilmeli, olumsuz koşullara karşı çekirdeğe maksimum koruma sağlayabilmeli, hoş olmayan tat içermemelidir (Silva et al., 2014). Ayrıca, duvar materyallerinin üretim maliyeti her geçen gün hızla arttığı için, mikrokapsülasyon işleminde öncelikli olarak çözgen yerine suda çözünen, en ucuz polimerlerin kullanılması ve mikrokapsülasyon işleminde basit alet ve minimum işgücü olması istenilmektedir (Ocak, 2010). Çoğu duvar materyali istenen tüm özelliklere sahip olmadığı için iki ya da daha fazla materyali karıştırmak gerekmektedir (Silva et al., 2014). Çekirdek materyaline ve mikrokapsüllerde olması istenilen özelliklere bağlı olarak, duvar materyalleri karbonhidratlar, selüloz türevleri, gamlar, lipidler ve proteinler gibi çeşitli polimerlerden seçilebilmektedirler (Buldur, 2012). Gıda

sanayisinde, genellikle karbonhidratlardan; nişasta, modifiye nişasta, dekstrin, sakaroz, selüloz ve kitosan, gamlardan; arap zamkı, aljinat ve karagenan, lipidlerden; vaks, parafin, hidrojene katı ve sıvı yağlar, mono- ve di-gliseritler, inorganik materyallerden; kalsiyum sülfat ve silikatlar, proteinlerden; gluten, kazein, jelatin ve albümin gibi materyaller duvar materyali olarak kullanılmaktadırlar (Silva et al., 2014).

Jelatin, hayvanların derisinden, beyaz bağ dokusundan ve kemiklerinden elde edilen kolajenin kısmi hidrolizi ile elde edilmektedir (Meng and Cloutier, 2014). Kullanılan kolajenin kaynağına ve hidrolitik muameleye göre jelatinin tipi farklılaşmaktadır. A tipi jelatin, kolajenin asit ile hidrolizi sonucu elde edilmektedir ve izoelektrik noktası 7-9'dur. B tipi jelatin ise, kolajenin alkali hidrolizi sonucu elde edilmektedir ve izoelektrik noktası 4,7-5,4'tür (Gülsünoğlu, 2013). Jelatin vücut sıcaklığında, biyouyumlu, biyobozunur, yenilebilir ve çözünebilir özelliklerinden dolayı gıda ve farmasötik uygulamalar için ideal bir malzemedir (Devi and Kakati, 2013). Mükemmel film oluşturma özelliğine sahip olan jelatin mikroenkapsülasyon işleminde sıkça kullanılmaktadır (Kaushik and Roos, 2007). Calvo et al. (2010), jelatinin ilave edilmesi ile mikrokapsül duvarının güçlendiğini ve jelatin miktarı arttırıldığında mikrokapsül içerisindeki yağ miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Maji et al. (2007) yaptıkları çalışmada sivrisinek kovucu özelliği olan limon yağını (*Zanthoxylum limonella*) çevresel etkilerden korumak için gözenekli yapıya sahip olan jelatin içerisine hapsetmişlerdir. Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kullandıkları jelatin, glutaraldehit ve limon yağı konsantrasyonlarının elde ettikleri mikrokapsüllerin salım özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kullandıkları yağ miktarının artırılması ile mikrokapsüllerden yağ salımının arttığını, jelatin konsantrasyonunun ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan glutaraldehit konsantrasyonunun artırılması ile salımın azaldığını tespit etmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon işleminde zamklar, film oluşturma ve emülsifiye edici özelliklerinden dolayı kullanılmaktadırlar. Zamklar arasında genellikle arap zamkı olarak adlandırılan akasya sakızı mükemmel emülsifiye edici özelliği nedeniyle

öne çıkmaktadır. Arap zımkı yaklaşık % 2 protein ile D-glukuronik asid, L-ramnoz, D-galaktoz ve L-arabinozu içeren bir polimerdir (Dickinson, 2003; Gharsallaoui et al., 2007). Arap zımkının emülsifiye edici özelliği protein fraksiyonunun varlığı ile film oluşturma özelliği ise arabinogalaktan fraksiyonunun varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Tatar, 2012). Ayrıca, arap zımkı doğal, toksisitesi olmayan, biyoyumlu ve biyobozunur olduğu için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Buldur, 2012). Karabiber oleoresininin mikroenkapsülasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada, oleoresini arap zımkının modifiye nişastadan daha iyi koruduğu belirtilmiştir (Shaikh et al., 2006). Linoleik asidin mikroenkapsülasyonu ile ilgili yürütölen bir çalışmada da, arap zımkı ile oluşturulan mikrokapsöllerin maltodekstrinle oluşturulan mikrokapsöllere nazaran oksidasyona karşı daha dirençli olduğu ifade edilmiştir (Minemoto et al., 2002).

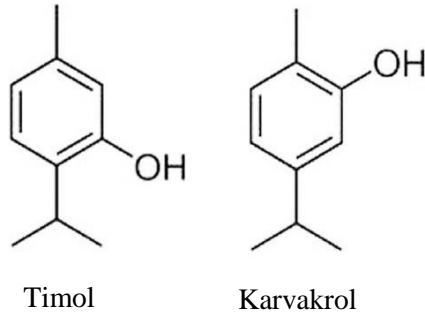
2.3 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Çekirdek Materyalleri

Kapsöllenmiş olan klasik gıda bileşenleri içinde lezzet ajanları (tatlandıcılar, baharatlar, esansiyel yağlar vb.), gıda asitleri ve bazları (sitrik asit, sodyum bikarbonat vb.), lipidler (bitkisel yağlar, süt yağı vb.), gıda katkı maddeleri (koruyucular, pigmentler vb.), mineraller (kalsiyum ve demir tuzları vb.), vitaminler (karoten vb.) ve renklendiriciler bulunmaktadır. Tüm bu gıda bileşenleri kimyasal, fiziksel ve fizyolojik özelliklerine göre farklılıklar göstermektedirler. Bu nedenle, gıda bileşenlerinin mikrokapsöl içerisinde hapsedilmesi ve stabilitelerinin sağlanması; etken madde özelliklerine (kimyasal yapı, moleköler ağırlık, polarite, uçuculuk vb.), duvar materyali ile etkileşimine ve mikrokapsöl matriksindeki yerine bağlı olarak değişmektedir (Augustin and Hemar, 2009).

Esansiyel yağlar uçucu aroma bileşenlerinden oluşmaktadır ve esansiyel yağların ana bileşenleri terpenler, seskiterpenler ve çeşitli oksijen türevi bileşenler (alkoller, aldehitler, ketonlar, asitler, fenoller, eterler, esterler vb.) dir. Bu bileşenlerin tümü karakteristik bitki kokusundan ve aromasından sorumlu bileşenlerdir (Angelov et al., 2013). Esansiyel yağların bileşimleri ve miktarları, bitkinin cinsine, bitkinin hangi kısmından elde edildiğine, üretim şekline,

yetiştirildiği bölgenin coğrafi yapısına ve iklime bağlı olarak değişmektedir (Angioni et al., 2006; Bayaz, 2014).

Kekik (*Thymus vulgaris* L.), *Lamiaceae* familyasına ait olan aromatik ve tıbbi bir bitkidir. *Thymus* cinsi bitkilerden elde edilen esansiyel yağlarda, farklı kimyasal bileşime neden olan otuza yakın monoterpen bulunmaktadır (Sakkas and Papadopoulou, 2017). Kekik esansiyel yağı kimyasal bileşiminde (Şekil 2.5) bulunan monoterpen fenollerinden en yaygın olanları timol ve onun izomeri karvakrol temel bileşenleridir (Pavel et al., 2010). Kekik esansiyel yağı, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etkilere sahip olmasından dolayı gıdalarda ve içeceklerde doğal gıda koruyucusu ve aromatik katkı maddesi olarak kullanılmakta, aynı zamanda kişisel bakım ürünlerinde (parfüm, kozmetik, sabun) (Sakkas and Papadopoulou, 2017) ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır (Angelov et al., 2013).



Şekil 2.5 Kekik esansiyel yağı temel bileşenlerinin kimyasal yapısı (Başyigit vd., 2017)

Mikroenkapsülasyon yöntemlerinden biri olan koaservasyon yöntemi ile genellikle esansiyel yağların mikroenkapsülasyonu yapılmaktadır (Silva et al., 2014). Basit koaservasyon yönteminden, neem tohumu yağı, limon otu yağı, çay ağacı yağı, idris otu yağı, fesleğen yağı gibi yağların mikroenkapsülasyonunda yararlanılmıştır (Devi and Maji, 2009a; Leimann et al., 2009; Ocak vd., 2011; Solomon et al., 2012; Sutaphanit and Chitprasert 2014). Kompleks koaservasyon yönteminden ise, çekirdek materyal olarak hidrofobik (çoğu aroma, esansiyel yağ, ilaç aktif maddeleri) veya hidrofilik (kazein hidrolizati, aspartam, sukraloz vb.) bileşenlerin kapsülasyonları için uygun olmasından dolayı yararlanılabilmektedir (Xiao et al., 2014b).

Nori et al. (2011), propolisin alkolde çözünmesinden ve güçlü lezzete sahip olmasından dolayı gıdalarda kullanımının sınırlı olduğunu ancak mikroenkapsülasyon ile gıdalarda doğal bir gıda katkı maddesi olarak kullanımının arttırılabileceğini bildirmişlerdir. Bu nedenle yaptıkları çalışmada, kompleks koaservasyon yöntemi ile duvar materyali olarak izole soya proteini ve pektin kullanarak propolis ekstraktını hapsetmişler ve elde ettikleri mikrokapsüllerin toz formda, alkol içermediğini, gıdalarda kontrollü koşullar altında salımlarının mümkün olduğunu ifade etmişlerdir.

Rocha-Selmi et al. (2013a), mikroenkapsülasyon ile sukraloz gibi tatlandırıcıların akışkanlıklarının, tatlılıklarının ve yüksek sıcaklıklara karşı dirençlerinin arttırılabileceğini ifade etmişlerdir. Hidrofilik bir bileşik olan sukralozun mikroenkapsülasyonu için çift emülsiyon yöntemini takiben kompleks koaservasyon yöntemi kullanımının uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Eratte et al. (2014), omega-3 yağ asitlerince zengin ton balığı yağının mikroenkapsülasyonu için kompleks koaservasyon yöntemi ile peyniraltı suyu proteini izolatu ve arap zımkı duvar materyallerini kullanmışlar, püskürterek ve dondurarak kurutma yöntemleri ile ton balığı yağı içeren mikrokapsüller elde etmişlerdir.

Bosnea et al. (2014), probiyotik suşların farklı işlem koşullarında (ısıtım işlem, yüksek tuz konsantrasyonu vb.), gastrointestinal koşullar altında ve depolama boyunca canlılıklarını arttırabilmek için yaptıkları çalışmada, süt ürünlerinden izole edilen iki probiyotik suşun (*Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* ve *Lactobacillus paraplantarum*) kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Duvar materyali olarak peyniraltı suyu proteini izolatu ve arap zımkı biyopolimerlerinden yararlanmışlardır. Elde ettikleri bulgular neticesinde, probiyotikleri içeren mikrokapsüllerin düşük pH'lı gıda sistemlerinde taşınabileceğini bildirmişlerdir.

Wang et al. (2015), yaptıkları çalışmada, birçok fonksiyonel özelliği olan lipofilik bileşenlerden koenzim Q10, kurkumin, A, D3, E ve K2 vitaminleri ile zenginleştirilen ton balığı yağının kompleks koaservasyon yöntemi ile

mikroenkapsülasyonunda jelatin ve sodyum heksametafosfat duvar materyallerini ve transglutaminaz çapraz bağlayıcı ajanını kullanmışlardır. Kompleks koaservasyon yönteminin, biyoaktif lipofilik bileşenleri içeren çok çekirdekli mikrokapsüllerin hazırlanması ve sağlamlaştırılmasında uygun bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir.

Shahgholian and Rajabzadeh (2016), suda çözünmeyen kurkumin pigmentinin sığır serum albümini ve arap zankı duvar materyallerini kullanarak kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri bulgular neticesinde, kurkuminin mikroenkapsülasyonu için koaservasyon yönteminin etkili ve gelecek vaat eden bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Kompleks koaservasyon işleminde farklı duvar materyali kombinasyonları kullanılmasına rağmen jelatin-arap zankı polimer çifti çeşitli faktörlerden dolayı en geleneksel kullanılan polimer çiftlerindedir. Yukarıda bahsi geçen faktörler; materyallerin polimerler ile tamamen kaplanması ve kötü çevre koşullarına karşı korunması, yuvarlak şekilli mikrokapsüllerin üretilip, morfolojilerinin sağladığı kolay akışkanlıklarından dolayı gıda ürünlerine uygulanmasında yardımcı olması olarak sıralanabilir (Comunian and Favaro-Trindade, 2016).

Çizelge 2.2’de jelatin-arap zankı duvar materyalleri kullanılarak hazırlanan kompleks koaservasyon uygulamaları ve kullanılan çapraz bağlayıcı ajanlar verilmiştir.

Çizelge 2.2 Jelatin-arap zamkı duvar materyalleri kullanılarak hazırlanan kompleks koaservasyon uygulamaları ve kullanılan çapraz bağlayıcı ajanlar

Çekirdek Materyal	Çapraz Bağlayıcı Ajan	Uygulama	Referans
• Kafur yağı	• Glutaraldehit	• İşlem optimizasyonu	• Chang et al. 2006
• Güve otu yağı	• Glutaraldehit/Transglutaminaz	• Yağ salımı	• Prata et al. 2008
• Limonen ve mentol	• Glutaraldehit	• Yöntem karşılaştırma	• Leclercq et al. 2009
• Keten tohumu yağı	-	• Gıda	• Liu et al. 2010
• Nane yağı	• Transglutaminaz	• Yağ salımı	• Dong et al. 2011
• Lutein	• Gliserin	• İşlem optimizasyonu	• Qv et al. 2011
• Alil izotiyosiyanat	• Tannik asit	• Gıda	• Zhang et al. 2011
• Yasemin yağı	• Transglutaminaz	• İşlem optimizasyonu	• Lv et al. 2012; 2014
• Fukoksantin	• Tannik asit	• Gıda	• Quan et al. 2013
• Sarımsak yağı	• Formaldehit	• Gıda	• Siow and Ong 2013
• Zerdeçal oleoresini	-	• Gıda	• Zuanon et al. 2013
• Krill yağı	-	• İşlem optimizasyonu	• Aziz et al. 2014
• Lavanta yağı	• Glutaraldehit/Transglutaminaz/ Tannik asit	• İşlem optimizasyonu	• Xiao et al. 2014b
• Hardal tohumu yağı	• Genipin	• Gıda	• Peng et al. 2014
• Haşhaş tohumu yağı	• Glutaraldehit	• Gıda	• Yang et al. 2015
• Engerek otu yağı	-	• Gıda	• Comunian et al. 2016

Chang et al. (2006), kafur yağının uçuculuğunun yüksek olması sebebi ile uygulandığı alanlarda çok kısa bir kullanım ömrüne sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçla, kafur esansiyel yağının bu dezavantajını gidermek için koaservasyon yöntemini kullanmışlardır. Mikrokapsül duvar malzemesi olarak arap zankı ile birlikte mikro gözenekli yapısından ötürü jelatini tercih etmişlerdir. Esansiyel yağların ortama çok az salım yaptıklarında verimsiz olduklarını, çok fazla salım yaptıklarında ise rahatsızlığa sebep olabildiklerini ifade etmişlerdir. Bu nedenle, uçucu esansiyel yağların, uygulandıkları farklı çevre koşullarında salım hızlarının kontrolünün oldukça önemli bir araştırma ve tartışma konusu olduğunu bildirmişlerdir. Mikroenkapsülasyon teknolojisinin, esansiyel yağların ortama kontrollü salımının gerçekleştirilmesi amacı ile günümüzde kullanılan en iyi yöntem olarak karşımıza çıktığını belirtmişlerdir.

Prata et al. (2008), güve otu esansiyel yağı içeren jelatin-arap zankı mikropartiküllerini, glutaraldehit ve transglutaminaz çapraz bağlayıcı ajanlarını kullanarak kompleks koaservasyon yöntemi ile elde etmişlerdir. Güve otu esansiyel yağına karıştırılmış floresan bileşiği olan khusimyl dansylate ile oluşturulan floresan karışımı, yağ modeli olarak kullanmışlardır. Jelatin-arap zankı mikropartiküllerinden toplam floresan khusimyl dansylate salımını incelediklerinde sırasıyla susuz etanol, tween 80 ve sodyum dodesil sülfat şeklinde azaldığını tespit etmişler ve elde ettikleri yağ mikropartiküllerin, dondurularak kurutulmuş olanlardan daha hızlı khusimyl dansylate salımı gösterdiklerini saptamışlardır.

Liu et al. (2010), keten tohumu yağının sulu gıdalardaki uyumsuzluğu (çözünürlük gibi) ve oksidasyona karşı dayanıklı olmamasından dolayı gıdalarda kullanımının sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Keten tohumu yağının kapsülasyonunu optimize etmek amacıyla, jelatin-arap zankı matriksi içerisine yağı kompleks koaservasyon yöntemi ile hapsetmişlerdir. Keten tohumu yağının gıdalarda kullanılabilirliğini arttırmak için çapraz bağlayıcı ajan kullanmamışlardır. Elde ettikleri kapsülleri, 25 gün boyunca oda sıcaklığında depolamışlar ve kapsüllenmemiş yağa kıyasla birincil (peroksitler) ve ikincil (aldehitler ve ketonlar) oksidasyon ürünlerinin üretimine karşı koruyucu etki göstermiş olduğunu bildirmişlerdir.

Dong et al. (2011), koaservat mikrokapsüllerinin salımında dağıtıcı ortamların etkisinin çok önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, jelatin ve arap zamkı duvar materyallerini kullanarak transglutaminaz ile çapraz bağlanmış nane yağı içeren mikrokapsüller elde etmişler ve koaservat mikrokapsüllerinden nane yağının salımı üzerine sıcaklıkları farklı dağıtıcı ortamların etkisini incelemişlerdir. Koaservat mikrokapsüllerinin salımının soğuk suda çok yavaş olduğunu ve çekirdek/duvar oranının salım üzerine etkisinin belirgin olmadığını tespit etmişlerdir. Elde ettiklere bulgulara göre, mikrokapsüllerin soğuk suda mükemmel depolama stabilitesine sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Zuanon et al. (2013), renklendirici olarak kullanılan zerdeçal oleoresininin ana pigmentinin kurkumin olması nedeniyle birçok fonksiyonel özelliğinin olduğunu, ancak zerdeçal pigmentlerinin yağda çözünüp, suda çözünmediğini, ışığa, ısıya, oksijene ve pH'ya duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Zerdeçal oleoresininin stabilitesini ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmek ve sulu ortamlarda kullanımlarını kolaylaştırmak amacıyla jelatin ve arap zamkı duvar materyallerini kullanarak kompleks koaservasyon yöntemi ile zerdeçal oleoresini içeren mikrokapsüller elde etmişlerdir. Zerdeçal oleoresinin doğal bir pigment olarak kuru veya sulu gıda formülasyonlarında kullanımının mikrokapsülasyon işlemi ile geliştirilebileceğini bildirmişlerdir.

Yang et al. (2015), haşhaş tohumu yağının, bileşiminde yüksek oranda bulunan linoleik asidin özel moleküler yapısı nedeniyle oksidasyona karşı duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Haşhaş tohumu yağının üretim ve depolama süreci boyunca kimyasal stabilitesini geliştirmek amacıyla kompleks koaservasyon yöntemi ile duvar materyali olarak doğal polisakkarit olan arap zamkı ve mikro gözenekli jelatin polimerlerini kullanarak haşhaş tohumu yağını hapsetmişlerdir. Haşhaş tohumu yağının uzun süreli depolama sonrasında, mikrokapsüllerde iyi korunduğunu, oksidatif ve fiziksel stabilite çalışmaları ile belirlemişlerdir. Böylece, haşhaş tohumu yağı için mikrokapsülasyonun gıda endüstrisinde iyi performans göstereceğini ifade etmişlerdir.

Comunian et al. (2016), kompleks koaservasyon yöntemi ile jelatin ve arap zamkı duvar materyallerini kullanarak omega-3 yağ asitlerince zengin engerek otu (*Echium plantagineum* L.) yağının mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Mikroenkapsülasyon sırasında, engerek otu yağının fenolik bileşenlerle (sinapik asit ve rutin) çift katlı emülsiyonunun yapılması sonucunda veya sinapik asidin kapsül duvarına doğrudan ilavesi sonucunda oluşan etkileri incelemişlerdir. Engerek otu yağının stabilitesinin kapsül duvarına sinapik asit ilave edilmesi ile yaklaşık dört kat arttığını tespit etmişlerdir.

2.4 Gıda Endüstrisinde Kullanılan Çapraz Bağlayıcı Ajanlar

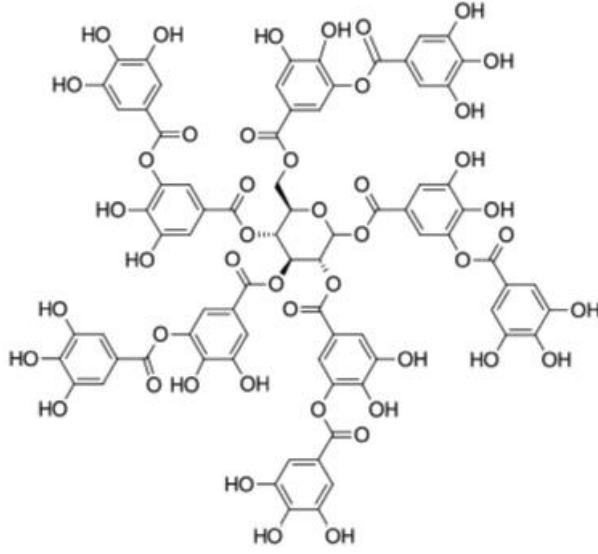
Duvar materyalleri arasındaki etkileşimlerin iyonik yapısından dolayı mikrokapsüllerin sabit yapı özellikleri korunamamaktadır. Bu nedenle ağ gibi saran belirli ajanların kullanımıyla mikrokapsül duvarlarının sağlamlaştırılması gerekmektedir (Koupantsis et al., 2016). Mikrokapsül duvarını sağlamlaştırmak için fiziksel veya kimyasal çapraz bağlama yöntemleri kullanılmaktadır. Fiziksel çapraz bağlama yöntemleri kurutma, ısıtma gibi işlemleri ve gama veya ultraviyole radyasyonuna maruz bırakma gibi işlemleri içermektedir (Yao et al., 2004). Kimyasal çapraz bağlama yöntemlerinde ise, çapraz bağlayıcılar ile moleküllerin hidroksil, karboksil veya amino gruplarına benzer fonksiyonel gruplarının bağlanması sağlanmaktadır (Buldur, 2012). Çapraz bağlayıcı ajan olarak genellikle formaldehit, glutaraldehit, poliaminler, transglutaminaz gibi enzimler ve bazı doğal bileşikler kullanılmaktadırlar (Leclercq et al., 2009). Klasik çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan ancak son derece toksik olduğu için gıda uygulamalarında yasaklanmış olan formaldehit ve glutaraldehit yerine ferulik asit, genipin, transglutaminaz ve tannik asit gibi doğal bileşiklerin çapraz bağlayıcı fonksiyonlarından yararlanılmaktadır (Comunian and Favaro-Trindade, 2016). Transglutaminaz ve tannik asit gibi toksik olmayan çapraz bağlayıcı ajanlar ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, transglutaminazın yüksek fiyatı ve tannik asidin özellikle tadı gıda sanayisinde uygulanabilirliklerini sınırlamaktadır (Peng et al., 2014).

Lv et al. (2014), ısıya dayanıklı yasemin yağı içeren nanokapsül elde etmek için kompleks koaservasyon yöntemi ile jelatin ve arap zamkı polimerlerini

kullanmışlar ve alkali koşullarda transglutaminaz ile çapraz bağlamışlardır. Yapılan yapısal özellik ve uçucu bileşen analizleri sonucunda elde edilen nanokapsüllerin 80 °C'ye kadar yüksek ısı direncine sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Peng et al. (2014), izotiyosiyanatların öncü maddesi olan birçok glukozinatı bulduran hardalın mikroorganizmalara karşı etkili biyosidal aktiviteye sahip olduğunu ancak hardal da kuvvetli uçucu olduğu için izotiyosiyanatların işlenmiş gıdalarda çok az etkisinin olacağını belirtmişlerdir. Bundan dolayı, hardal tohumu esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesini incelemişler ve hardal yağını jelatin-arap zamkı duvar materyallerini kullanarak doğal ve suda çözünür genipin ile sertleştirmişlerdir. Elde ettikleri hardal esansiyel yağını içeren mikrokapsüllerin sertleştirme etkinliği ile ilgili koşulların optimizasyonunu, farklı bağıl nem ve sıcaklık koşullarında fizikokimyasal özelliklerini ve depolama stabilitesini incelemişlerdir. Hardal tohumu esansiyel yağının antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve kapsüllenmemiş hardal tohumu esansiyel yağına kıyasla, genipin ile sertleştirilmiş mikrokapsüllerin farklı bağıl nem ve sıcaklık koşullarında kimyasal stabilitesini koruduğunu tespit etmişlerdir. Antimikrobiyal maddeler ile ilgili uygulamalar için genipin ile sertleştirilmiş mikrokapsüllerin güvenli ve gelecek vaat eden bir taşıyıcı olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Tannik asit glukoz başına ortalama 9-10 adet gallik asit molekülünden ayrılan atom grubu ile esterleştirilmiş merkezi bir glukoz çekirdeğini içeren bitkisel bir polifenoldür. Tannik asidin kimyasal yapısında (Şekil 2.6) çok sayıda fenolik grubun bulunması nedeniyle, tannik asit iyonik eşleştirme, hidrojen bağlama ve metal koordinasyonu yoluyla etkileşime girebilecek niteliktedir. Tannik asidin hem hidrojen bağlama hem de hidrofobik etkisi ile ilişkili benzersiz protein çöktürme yeteneğinden biyomedikal alanın yanı sıra gıda endüstrisi de (şarap ve bira klarifikasyonu vb.) büyük ölçüde yararlanmaktadır (Koupantsis et al., 2016).



Şekil 2.6 Tannik asidin kimyasal yapısı (Koupantsis et al., 2016)

Xing et al. (2004), kapsaisini içeren jelatin-arap zamkı duvarlı tannik asit ile çapraz bağlanmış mikrokapsüller elde etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, tannik asit ile çapraz bağlanmış mikrokapsüllerin yüksek mikrokapsülasyon verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Devi and Maji (2009b), neem tohumu yağının mikrokapsülasyonunda; κ -karagenan ve kitosan ile polielektrolit kompleks oluşturarak üç farklı çapraz bağlayıcı kullanmışlardır. Elde ettikleri mikrokapsüllerde kullandıkları çapraz bağlayıcılardan en etkili olanın glutaraldehit ardından genipin ve tannik asidin olduğunu ifade etmişlerdir.

Zhang et al. (2011), yaptıkları çalışmada alil izotiyosiyanatı çekirdek materyal olarak kullanılmışlar ve jelatin-arap zamkı duvarlı tannik asit ile çapraz bağlanmış mikrokapsüller elde etmişlerdir. Elde ettikleri tannik asit ile çapraz bağlanmış mikrokapsüllerin yüksek mikrokapsülasyon verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Quan et al. (2013), tannik asit ile çapraz bağlanmış balık jelatini-arap zamkı duvarlı çekirdek materyal olarak setil palmitat ile kanola yağı karışımından oluşan fukoksantin yüklü mikroküreler hazırlamışlar ve fukoksantin ağz yoluyla alımının etkin olması için karakterize etmişlerdir. Bu çalışmanın, gıda

uygulamalarında fukoksantin'in kolay oksidatif bozulma ve zayıf suda çözünürlük gibi başlıca sınırlamalarının üstesinden gelmek için basit fakat etkili bir yaklaşım sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Xiao et al. (2014b), jelatin ve arap zıncı duvar materyalleri ile hazırlanan lavanta yağı içeren çok çekirdekli mikrokapsüllerin boyutları, mikrokapsülasyon verimleri, yükleme kapasiteleri ve mikrokapsülasyon etkinliği üzerinde pH, çekirdek duvar oranı, duvar materyali konsantrasyonu, karıştırma hızı, çapraz bağlayıcı ajan ve homojenizasyon oranı gibi çeşitli faktörlerin etkisini incelemiştir. Yaptıkları çalışmada, glutaraldehit, transglutaminaz ve tannik asit çapraz bağlayıcılarını kullanmışlar ve tannik asidin diğer çapraz bağlayıcı ajanlara nazaran daha düşük yükleme kapasitesine sahip olduğunu, mikrokapsülasyon verimi açısından da çapraz bağlayıcıların benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.5 Gıda Endüstrisinde Mikrokapsülasyon Uygulamaları

Gıda endüstrisi son yıllarda, antioksidanlar, mineraller, vitaminler, fitosteroller, yağ asitleri, lutein, likopen gibi biyoaktif bileşenler ve probiyotikler gibi canlı hücreler ile zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdaların üretilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Buldur, 2012). Ancak zenginleştirmede yararlanılan bu bileşenlerin depolanması ve gıdalarla birlikte işlenmesi sırasında ve ayrıca gastrointestinal sistemde sindirim sonrası vücutta arzu edilen bölgeye ulaşana kadar korunmaya ihtiyacı bulunmaktadır (Augustin and Hemar, 2009). Bu nedenle, fonksiyonel gıda üretiminin geliştirilmesinde mikrokapsülasyon teknolojisinden yararlanılmaktadır. Mikrokapsülasyon teknolojisinde, hassas bileşenlerin (lezzet bileşenleri, esansiyel yağlar vb.) çevresel koşullardan (özellikle nem, pH ve oksidasyondan) korunması için çekirdek ve duvar materyali arasında fiziksel bir bariyer oluşturulmaktadır (Xiao et al., 2014a). Böylece, tat ve aromanın farklılaşması, kötü tat ve kokunun maskelenmesi, gıda bileşenlerinin sağlamlaştırılması ve biyoyararlılığın artırılması sağlanmaktadır (Nedovic et al., 2011).

Weinbreck et al. (2004), ayçiçek, limon ve portakal yağlarının mikroenkapsülasyonu için peyniraltı suyu proteini ve arap zankı duvar materyallerinden yararlanmışlardır. Mikrokapsül eldeinde kompleks koaservasyon yöntemini kullanarak; pH, biyopolimer konsantrasyonu ve mikrokapsül boyutu değişimlerinin etkilerini incelemişlerdir. Küçük damlacıkların mikroenkapsülasyonunun bir koaservat matriksi içinde, büyük damlacıklardan daha kolay gerçekleştiğini ifade etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin uygulanabilirliklerini göstermek için, büyük veya küçük boyutlarda, glutaraldehit ile çapraz bağlanmış veya çapraz bağlanmamış limon yağı içeren mikrokapsülleri Gouda peynirine ilave etmişler ve zamana karşı aroma salımlarını değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre, Gouda peynirine dahil edilmiş büyük mikrokapsüllerin aroma salımlarının daha kuvvetli olduğunu, çapraz bağlanmış mikrokapsüllerin aroma salımlarında daha az olduğunu bildirmişlerdir.

Maji and Hussain (2009), sivrisinek kovucu özelliği olan limon esansiyel yağının (*Zanthoxylum limonella*) çevre koşullarına karşı dayanıksız olmasından dolayı uygulamalarda sentetik kovuculardan daha az etkinliğe ve sürekliliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle, kompleks koaservasyon yöntemi ile limon esansiyel yağı içeren kitosan-jelatin duvarlı genipin ile çapraz bağlanmış mikrokapsüller elde etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, esansiyel yağın salım hızını ve çeşitli parametrelerin etkisini incelemişlerdir. Salım hızının yağ içeriğine, çapraz bağlayıcının miktarına ve polimer konsantrasyonuna bağlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Tamjidi et al. (2012), uzun zincirli omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerini içeren balık yağının jelatin-arap zankı duvarlı kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişler ve elde ettikleri mikrokapsülleri yoğurda ilave ederek zenginleştirilmiş yoğurt üretmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, balık yağı mikrokapsülleri ile zenginleştirilen yoğurdun depolama boyunca fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkilerini incelemişler ve elde ettikleri bulgulara göre, fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerin olumlu etkilendiğini bildirmişlerdir. Tamjidi et al. (2014), yaptıkları bir diğer çalışmada, balık yağı mikrokapsülleri ile zenginleştirdikleri yoğurdun reolojik özelliklerini

incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgular neticesinde, balık yağı mikrokapsülleri ile zenginleştirilmiş yoğurdun üretilmesinin mümkün olduğunu ve böylece yoğurdun sağlık üzerine etkilerinin gelişebileceğini bildirmişlerdir.

Rocha-Selmi et al. (2013b), likopenin işleme ve depolama sırasında izomerize olma ve oksitlenme eğilimi göstermesinin gıda endüstrisinde kullanımlarını zorlaştırmasından dolayı mikroenkapsülasyon ile likopenin stabilitesini arttırabilmenin ve gıda formülasyonlarına dahil edebilmenin sağlanabileceğini ifade etmişlerdir. Bu nedenle, kompleks koaservasyon yöntemi ile jelatin-arap zamkı duvarlı likopen içeren mikrokapsüller elde etmişler ve depolama boyunca karotenoidlerin stabilitesini ölçmüşlerdir. Ayrıca elde ettikleri mikrokapsülleri kek içerisine ilave ederek mikrokapsüllerden kek üzerine renk aktarımlarını incelemişlerdir. Stabilitate testinde likopenin mikroenkapsülasyon ile serbest formuna kıyasla daha fazla korunduğunu tespit etmişlerdir. Kek üzerine renk aktarımlarına göre incelediklerinde ise, dondurarak kurutulmuş koaservasyonlu likopen içeren mikrokapsüllerin kek üzerinde heterojen dağıldığını ve bazı noktalarda yoğunlaşmış likopen olduğunu dolayısıyla bu tür uygulamalarda dondurarak kurutulmuş koaservasyonlu mikrokapsüllerin doğrudan kullanımlarının kısıtlı olduğunu bildirmişlerdir.

Shoji et al. (2013), *Lactobacillus acidophilus*'u kompleks koaservasyonla kazein-pektin duvar materyalleri içerisinde hapsedmişler ve sonrasında elde ettikleri mikrokapsülleri yoğurda ilave etmişlerdir. *L. acidophilus*'un canlılığını, mikrokapsüller ile zenginleştirilen yoğurdun depolanması sürecinde ve insan midesine benzer pH değerlerinde incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre, *L. acidophilus* içeren mikrokapsüller ile hazırlanan yoğurtların depolama süresince *L. acidophilus*'un canlılığını koruduğunu, ancak insan midesine benzer pH değerlerine karşı koruma sağlayamadığını ifade etmişlerdir.

Wang and Chi (2013), yarı kimyasal özelliklere sahip olan esansiyel yağların ve onların bileşenlerinin çevre koşullarına karşı dayanıklılığını arttırarak haşere ile mücadele uygulamalarında daha fazla kullanılabilmesini belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, α -pinen içeren esansiyel yağ yüklü mikrokapsülleri kitosan ve arap zamkı duvar materyallerini kullanarak kompleks

koaservasyon yöntemi ile elde etmişlerdir. Ayrıca, α -pinen yüklü mikrokapsüllerin salım profilini incelemişlerdir. Mikroenkapsülasyon işlemi ile α -pinenin salım hızının yavaşlamasından dolayı salım süresinin uzadığını ifade etmişlerdir.

Dima et al. (2014a), kitosan ve κ -karagenan duvar materyallerini kullanarak basit ve kompleks koaservasyon yöntemi ile yenibahar yağının mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışma neticesinde elde ettikleri mikrokapsüllerin, et endüstrisinde ürünlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Santos et al. (2014), iki ya da daha fazla çekirdek materyalin birlikte kapsüllemesi ile birlikte bileşenlerin işlevselliğinin ve performanslarının artabileceğini belirtmişlerdir. Gıda endüstrisinde çoğunlukla ferahlatıcı özelliklerinden dolayı kullanılan ksilitol ve mentolün ferahlatıcı etkilerini yoğunlaştırmak ve bu bileşenlerin salımlarını kontrol altına almak için çift katlı emülsiyon yöntemini takiben kompleks koaservasyon yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları çalışmada, ksilitol ve mentol bileşenlerini jelatin ve arap zıncı duvar materyalleri içerisinde hapsetmişlerdir. Ardından, elde ettikleri mikrokapsülleri sakıza uygulamışlardır. Mikroenkapsülasyon ile çekirdek materyallerinin sakızdan kontrollü salımlarının gerçekleştiğini ve çiğneme sırasında mikrokapsül içeriğinin yavaş yavaş salım yaptığını tespit etmişlerdir.

Ahmadi et al. (2015), koenzim Q10'nun suda çözünmediğinden gıdaların zenginleştirilmesinde kullanımının kısıtlanmasından dolayı β -laktoglobulin ve arap zıncı duvar materyalleri içerisine koenzim Q10'u kompleks koaservasyon yöntemi ile hapsetmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsülleri, yoğurdun zenginleştirilmesinde kullanmışlar ve yoğurdun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Koenzim Q10 mikrokapsülleri ile zenginleştirmenin yoğurdun sertliğinin artması gibi fizikokimyasal özellikleri üzerinde depolama boyunca olumlu etkileri olduğunu tespit etmişlerdir.

Gomez-Estaca et al. (2016), karides atıklarından elde edilen astaksantin içeren lipid ekstraktının yeni bir biyopolimer kombinasyonu olan jelatin-kaşu

zamk1 kompleksini kullanarak kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Mikroenkapsüllerin renklendirme kapasitesini değerlendirebilmek için elde ettikleri mikroenkapsülleri bir gıda modeli olarak yoğurda ilave etmişler ve tek renkte bir ürün elde etmişlerdir. Yaptıkları duyu analizi sonucunda, lipid ekstraktının renklendirme kapasitesinin mikroenkapsülasyon ile geliştiğini tespit etmişlerdir.

Rutz et al. (2017), yüksek karotenoid içeren palm yağı içeren mikroenkapsüller elde etmek amacıyla kompleks koaservasyon yöntemi ile kitosan-ksantan zamk1 ve kitosan-pektin biyopolimerlerini kullanmışlardır. Elde ettikleri mikroenkapsülleri ekme ve yoğurt örneklerine ilave ederek gastrointestinal koşullar altında karotenoidlerin salım profillerini incelemiştir. Mikroenkapsüllerin gıdalara uygulanmasından sonra, karotenoidlerin salımının daha az olduğunu ve açığa çıkan bileşenlerin bozulmadığını tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, kitosan-ksantan zamk1 mikroenkapsüllerinin özellikle yoğurt örneklerinde kullanımının en iyi potansiyel uygulama olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Sığır derisinden elde edilen jel gücü yaklaşık 225 g bloom olan B tipi jelatin, arap zımkı, kekik yağı, tannik asit, tween 80, asetik asit, metanol (HPLC saflıkta), asetonitril (HPLC saflıkta), kloroform (HPLC saflıkta), diklorometan (HPLC saflıkta), amonyum asetat, trietil amin (HPLC saflıkta), sodyum karbonat (Na_2CO_3), gallik asit, DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazy), timol, karvakrol ve lutein standartları Sigma-Aldrich (USA) firmasından, Folin-Ciocalteu reaktifi ve Peptonlu Fizyolojik Tuzlu Su (MRD) Merck firmasından analitik saflıkta temin edilmiştir. TEMPO AC (Toplam bakteri) kitleri Biomerieux firmasından alınmıştır. Çalışma boyunca ultra saf su kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1 Kullanılan cihazlar

GC/MS cihazı: Kekik yağının karakterizasyonunun yapılması amacıyla Hewlett Packard 6890 Plus GC; Hewlett Packard –5973 Mass Selective Detector cihazı kullanılmıştır.

HPLC cihazı: Timol, karvakrol ve lutein miktarlarındaki değişimlerin belirlenmesi amacıyla Agilent Technology 1260 Infinity model HPLC cihazı kullanılmıştır.

Ultrasonik su banyosu: HPLC cihazında kullanılan mobil fazların degaz edilmesi amacıyla Selectra 10K model ultrasonik su banyosu kullanılmıştır.

Spektrofotometre: Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrumunun incelenmesinde ve standart eğrisinin hazırlanmasında, mikrokapsüllerin salım çalışmasında, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite analizlerinde Agilent Cary 60 UV-görünür bölge spektrofotometresi kullanılmıştır.

Mekanik karıştırıcı: Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin elde edilmesinde Isolab marka mekanik karıştırıcı kullanılmıştır.

Su banyosu: Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin hazırlanışında, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH ile antioksidan aktivite analizlerinin ekstraksiyon işleminde Falc WB U2 marka su banyosu kullanılmıştır.

pH metre: Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin hazırlanışında ve şeftali suyu örneklerinin pH analizlerinin gerçekleştirilmesinde Hanna Instrument 9124 model pH metre kullanılmıştır.

Liyofilizatör: Elde edilen mikrokapsülleri dondurarak kurutmak amacıyla Armfield-FT 33 model liyofilizatör kullanılmıştır.

Analitik terazi: Tüm tartım işlemleri Shimadzu ATX-224 model analitik terazide gerçekleştirilmiştir.

Çalkalayıcı: Mikroenkapsülasyon verimi, mikrokapsüllerin yağ içeriği ve yağ yükünün saptanmasında Wise Shake SHO-2d model çalkalayıcı, kekik esansiyel yağının salımı çalışmasında Gerhardt Thermoshake THO 500 model çalkalayıcı kullanılmıştır.

Santrifüj: Kekik yağında bulunan luteinin HPLC analizi, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH ile antioksidan aktivite analizlerinin ekstraksiyon işleminde Sigma 4-165 model santrifüj cihazı kullanılmıştır.

Renk ölçer: Elde edilen mikrokapsüllerin renk değerlerini tespit etmek amacıyla HunterLab ColorFlex (ABD) cihazı kullanılmıştır.

Fourier transform kızılötesi spektroskopisi: FTIR çalışmaları ATR ekipmanına sahip olan Perkin-Elmer Spectrum 100 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu: Elde edilen mikrokapsüllerin görüntülerinin alınması amacıyla Philips XL-30S FEG model taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır.

Katı meyve sıkacağı: Şeftali suyu üretiminde Premier PRJ6808 model katı meyve sıkacağı kullanılmıştır.

Otoklav: Mikrobiyolojik analize hazırlık aşamasında seyreltme çözeltilisinin, saf suyun ve cam malzemelerin sterilizasyonu için Hirayama marka otoklav kullanılmıştır.

Stomacher: Örneklerin mikrobiyoloji analizi için homojenize edilmesinde StomacherLab-Blender, SewardMedical, London, UK model stomacher cihazından yararlanılmıştır.

TEMPO: Şeftali suyu örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı analizleri Biomerieux TEMPO cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İnkübatör: Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için TEMPO AC kartları 35 °C'de iki gün boyunca Sanyo CO₂ inkübatör cihazında inkübe edilmiştir.

Buzdolabı: Hazırlanan stok çözeltisinin ve diğer tüm çözeltilerin saklanması için sıcaklığı +4 °C'ye ayarlanmış Uğur marka buzdolabı kullanılmıştır.

Ultra saf su cihazı: Tüm analizlerde Human Corporation Zeneer marka saf su cihazından elde edilen su kullanılmıştır.

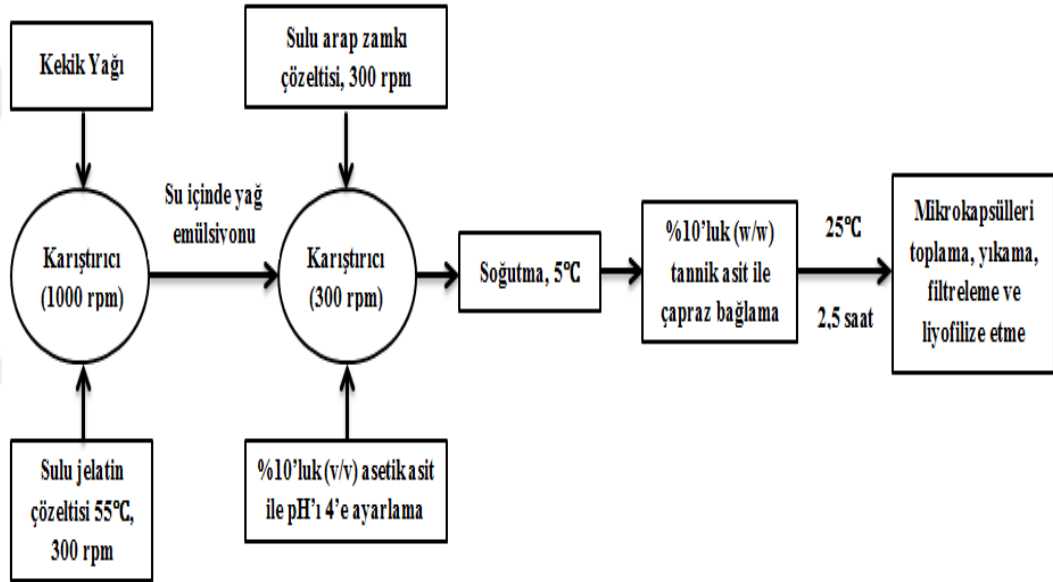
3.2.2 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin hazırlanışı

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kullanılan kekik yağı miktarı 11 ml'de, tannik asit miktarı 15 ml'de sabit tutularak jelatin:arap zankı oranları sırasıyla 1,5:4,5, 3:3, 4,5:1,5 şeklinde, ardından duvar materyalleri 3:3 oranında, yağ miktarı 11 ml'de sabit tutularak tannik asit miktarları sırasıyla 10, 15 ve 20 ml şeklinde, son olarak da duvar materyalleri 3:3 oranında ve tannik asit miktarı 10 ml'de sabit tutularak kekik yağı miktarları sırasıyla 9, 11, 13 ve 15 ml şeklinde değiştirilmiş ve 8 farklı formülasyon ile mikrokapsüller elde edilmiştir.

Mikrokapsüllerin hazırlanmasında Ach et al. (2015) tarafından kullanılan yöntem kısmen değiştirilerek kullanılmıştır. Ortam sıcaklığında 600 ml'lik beher içerisine 100 ml'lik % 1,5-4,5 (w/w)'luk jelatin çözeltisi hazırlandıktan sonra sıcaklık kontrollü su banyosu (Falc WB U2) içerisine beher yerleştirilmiş ve mekanik karıştırıcı (Isolab) ile 300 devir/dk altında karıştırırken sıcaklık 55 °C'e çıkartılmıştır. Aynı şekilde 250 ml'lik erlen içerisinde 100 ml'lik % 1,5-4,5 (w/w)'luk arap zankı çözeltisi hazırlanmıştır. Kekik esansiyel yağı (9-15 ml) mekanik karıştırıcı yardımıyla karıştırılan jelatin çözeltisi üzerine pipet yardımıyla damla damla ilave edilmiş ve 1000 devir/dk'da 15 dk emülsifiye edilmiştir. Emülsiyon oluşturulduktan sonra, 100 ml'lik % 1,5-4,5 (w/w)'luk sıcak arap zankı çözeltisi 300 devir/dk karıştırma hızında emülsiyona eklenmiştir. Bu aşamada pH değeri 4,9 olan emülsiyon üzerine % 10 (v/v)'luk asetik asit ilave edilerek pH değeri kademeli olarak 4,1 seviyesine düşürülmüş ve çözelti 5 °C'e soğutulmuştur. Son olarak tannik asit sisteme eklenmiş ve sıcaklık 25 °C'e

çıkartılmıştır. 2,5 saatlik çapraz bağlanma süresinden sonra karıştırma durdurulmuş, tepede biriken krema tabakası şeklindeki mikrokapsüller toplanıp deiyonize su ile durulanmış, filtreden geçirilmiş ve ayrılan mikrokapsüller liyofilize edilerek amber renkli cam şişeler içerisinde buzdolabında saklanmıştır.

Liyofilizasyon için, elde edilen mikrokapsüller paslanmaz çelikten yapılmış tepsilere aktarılmış ve 24 saat $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de dondurulmuştur. Daha sonra donan kapsüller, 48 saat boyunca liyofilizatör (Armfield, FT 33) içerisinde $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ta, 100 mTorr kurutma çemberi vakumunda kurutulmuşlardır (Leclercq et al., 2009). Mikrokapsüllerin hazırlanışı ile ilgili akış şeması Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1 Mikrokapsüllerin hazırlanışı akış şeması

3.2.3 Kekik yağının GC/MS ile karakterizasyonu

GC/MS analizi Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği bölümü laboratuvarlarında bulunan gaz kromatografisi-kütle spektrometresi cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan ön denemelerde fırın sıcaklık programı ve cihaz analiz koşulları için gerekli en uygun koşullar (sıcaklık ve süre) belirlenmiştir.

Kekik yağının karakterizasyonu amacıyla kullanılan GC/MS cihazının çalışma koşulları aşağıdaki belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir (Tschiggerl and Bucar, 2011).

Cihaz: HP-6890 Plus GC; HP-5973 Mass Selective Detector

Kolon: HP-5MS % 5 fenilmetilsiloksan (30 m uzunluk x 0,25 mm iç çap x 0,25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı gaz: Helyum, 0,9 ml/dk

Bölme (Split) oranı: 80:1

Enjeksiyon sıcaklığı: 240 °C

Kolon sıcaklığı programı: 45 °C – 2 dk.; 250 °C – 4 °C/dk.; 250 °C – 2 dk.

Arayüzey sıcaklığı: 280 °C

İyon kaynağı sıcaklığı: 230 °C

Elektron enerjisi: 70 eV

Kütle aralığı: 40-300 akb

MS kütüphanesi: NIST, WILEY kütüphaneleri

3.2.4 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrumunun incelenmesi

UV-Vis spektrofotometre (Agilent Cary 60) cihazı kullanılarak % 0,3 Tween 80 içeren distile su içerisinde bilinen bir konsantrasyonda kekik yağı çözeltisinin 200-400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları alınmış ve çözeltinin maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyu (λ_{max}) kaydedilmiştir (Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012).

Maksimum absorpsiyon gösteren dalga boyu (λ_{max}), ultraviyole spektrofotometrik yöntemle standart eğrisinin çizilmesinde ve mikrokapsüllerdeki yağın salım oranının belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.2.5 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrofotometrik yöntemle standart eğrisinin hazırlanması

% 0,3 Tween 80 içeren distile su içerisinde 0,02-0,32 g/100 ml aralığında konsantrasyonları bilinen kekik yağı çözeltilerinin absorpsiyon değerleri, önceden belirlenen kekik yağının maksimum absorpsiyon gösterdiği (λ_{max}) dalga boyunda PTFE kapaklı 1 cm'lik kuvarz küvetler (Aldrich) kullanılarak UV/Vis spektrofotometrede okunmuştur. Her bir konsantrasyon için üç deneme olacak şekilde kör çözeltilere karşı okunan absorpsiyon değerleri en küçük kareler

yöntemine göre değerlendirilip, ilgili noktaları içeren doğru denklemi hesaplanmıştır (Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012).

Standart eğri denkleminde yağ yükü (%) ve mikroenkapsülasyon verimi (%) hesaplamalarının yapılmasında yararlanılmıştır.

3.2.6 Mikroenkapsülasyon verimi ve mikrokapsüllerin yağ içeriği ve yağ yükünün saptanması

Hazırlanan mikrokapsüllerden bir miktar alınmış ve bu mikrokapsüller porselen havan kullanılarak tamamen toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilmiş mikrokapsüllerden hassas terazi (Shimadzu ATX-224) kullanılarak 50,0 mg tartılmış ve balon joje içerisine alınmıştır. Balon joje içerisine % 0,3 Tween 80 içeren distile su eklenmiştir. Balon joje çalkalayıcı (Wise Shake SHO-2d) üzerine sabitlenerek, çalkalayıcı tüm gece boyunca çalıştırılmıştır. Analizler üç paralel yapılmıştır. Kapsülasyon verimi (%), yağ içeriği (%) ve yağ yükü (%) standart eğrisi ve aşağıdaki formüller kullanılarak tespit edilmiştir (Maji et al., 2007; Hussain and Maji, 2008; Maji and Hussain, 2009).

$$\text{Kapsülasyon verimi (\%)} = w_1/w_2 \times 100$$

$$\text{Yağ içeriği (\%)} = w_1/w \times 100$$

$$\text{Yağ yükü (\%)} = w_2/w_3 \times 100$$

w = mikrokapsül ağırlığı

w₁ = bilinen miktar mikrokapsül içerisinde kapsülasyona uğrayan gerçek yağ miktarı

w₂ = aynı miktarda mikrokapsüle denk gelen yağ miktarı

w₃ = çapraz bağlayıcı dahil toplam kullanılan polimer miktarı

3.2.7 Kekik yağı salım çalışması

Duvar materyallerinin birbirine oranı, yağ miktarı ve çapraz bağlayıcı miktarı değiştirilerek elde edilen jelatin-arap zamkı duvarlı mikrokapsüllerden kekik esansiyel yağı salım hızı zamana karşı UV/Vis spektrofotometre kullanılarak tespit edilmiştir. % 0,3 Tween 80 içeren distile su bilinen miktarda mikrokapsülün üzerine erlen içerisinde ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında

çalkalayıcı (Gerhardt Thermoshake THO 500) yardımıyla çalkalanmıştır. 5 ml mikrokapsül-Tween 80 karışımı belirli aralıklarla filtrelenmiştir ve maksimum dalga boyu değerinde (230 nm) yağ salım hızı ölçülmüştür. Mikrokapsül-Tween 80 karışımlarının hacmini sabit tutmak amacıyla, UV ölçümlerinden sonra 5 ml % 0,3 Tween 80 çözeltileri erlenlerin içerisine geri aktarılmıştır. Tüm deneyler üçer kez gerçekleştirilmiştir ve ortalama absorbans değerleri % yağ cinsinden zamana karşı grafiklerde verilmiştir.

3.2.8 Kekik yağında bulunan timol ve karvakrol miktarlarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile bulunması

HPLC cihazı ile timol ve karvakrol miktarının belirlenmesi için aşağıdaki belirtilen koşullarda çalışılmıştır (Ramos et al., 2014).

Cihaz: Agilent Technology 1260 Infinity model HPLC

Akış hızı: 1,0 ml/dk

Enjeksiyon miktarı: 20 µl

Kolon: Waters, C₁₈, 10 µm; 4,6 × 150 mm

Kolon sıcaklığı: 25 °C

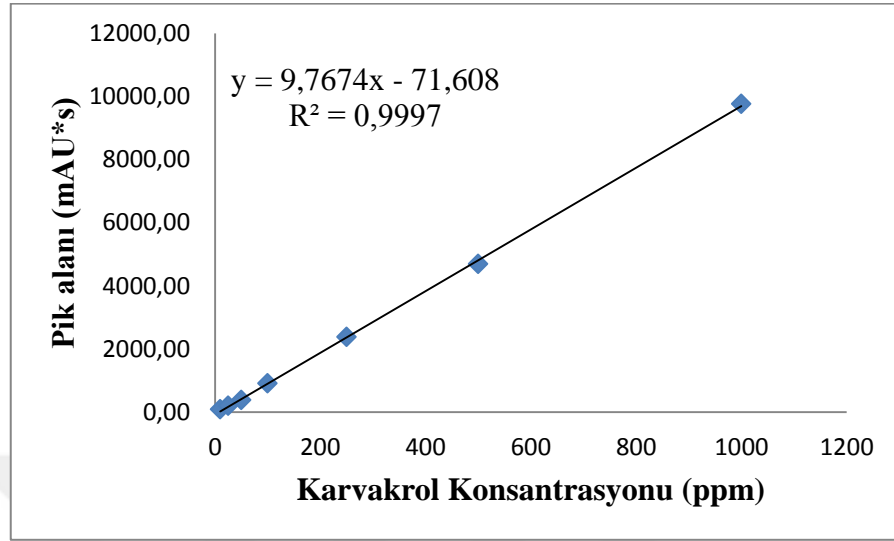
Dedektör: DAD dedektör, λ= 254 nm

Mobil faz: Asetonitril (% 40) ve saf su (% 60)

Mobil faz olarak % 40'lık (v/v) asetonitril/su karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım karıştırıldıktan sonra degaz işlemi için ultrasonik su banyosunda 10 dk bekletilmiştir. Degaz işlemi sonunda HPLC sisteminde (A) hattına bağlanmıştır. Kekik yağında bulunan timol ve karvakrol miktarlarının HPLC cihazı ile belirlenmesi için 25 ml % 3'lük derişik asetik asit çözeltisi ile 1,5 g mikrokapsül blendırda karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti mavi bantlı filtreden süzölmüş ve viyale alınarak HPLC cihazına enjeksiyon için yerleştirilmiştir. Analizler iki paralel olacak şekilde yapılmıştır.

1000 ppm'lik karvakrol stok çözeltisinden 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm konsantrasyonlarında karvakrol standart çözeltileri hazırlanmış ve çözeltilerde bulunan karvakrol miktarları HPLC ile belirlenmiştir. Belirlenen miktarlar ile Şekil 3.2'de görölen karvakrol standart çözeltisine ait

kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Timol stok ve standart çözeltileride karvakrol ile aynı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.



şekil 3.2 Karvakrol standart çözeltileri kalibrasyon grafiği

3.2.9 Kekik yağında bulunan lutein miktarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile Bulunması

Lutein miktarının ölçümü Abbo et al. (2010) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. 0,25 g örneğin üzerine 1 ml metanol ilave edilip 30 sn süreyle karıştırılmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 10 dk kadar bekletilmiştir. Karışıma 1 ml kloroform eklenmiş, 30 sn süreyle vortekslenmiştir ve 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. 0,5 ml saf su ilave edilmiş, 5 dk süreyle 4000 devir/dk'da santrifüj edilmiş ve süzölmüştür. Ekstraksiyon 0,5 ml kloroform eklendikten sonra tekrarlanmış ve örnek ekstraktları azot gazı altında kurutulmuştur. Kalıntı 150 µl diklorometan ve 1350 µl mobile fazda çözümlenerek (% 83 asetonitril, % 16 metanol, % 1 diklorometan, 1,54 g/l amonyum asetat, 1,0 ml/l trietilamin) 0,45 µm'lik filtreden geçirilmiş ve vialle alınarak HPLC'ye enjekte edilmiştir. Analizler iki paralel olacak şekilde yapılmıştır.

Akış hızı 1,5 ml/dk, enjeksiyon hacmi 20 µl olarak ayarlanmış ve Agilent 1200 HPLC Cihazın'da analizler yapılmıştır. Lutein dış standart yöntemi ile HPLC'de C₁₈ kolon ve DAD dedektörde 450 nm'de belirlenmiştir.

3.2.10 Mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi

Mikrokapsül örneklerinin antioksidan kapasitesinin ölçümü Brand-William et al. (1995) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. 0,6 g mikrokapsül örneği 60 ml metanol ile homojenize edilerek 40 °C'deki su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiş ve her 15 dk'da bir çalkalanmıştır. 2000 devir/dk hızla 5 dk santrifüj edilen örnekler süzülmüştür. Elde edilen ekstraktan 10 µl alınarak üzerine 1990 µl günlük olarak hazırlanan 100 µM DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) reaktifinden eklenmiştir. Elde edilen karışım vortekslelendikten sonra 20 dk karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin 515 nm dalga boyundaki absorbansları spektrofotometrede belirlenmiştir. Kör çözelti olarak saf metanol kullanılmıştır. Kontrol çözeltisi için ise 10 µl örnek ekstraktı yerine aynı miktarda saf su kullanılmıştır. Analizler iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar % inhibisyon cinsinden verilmiştir.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} * 100$$

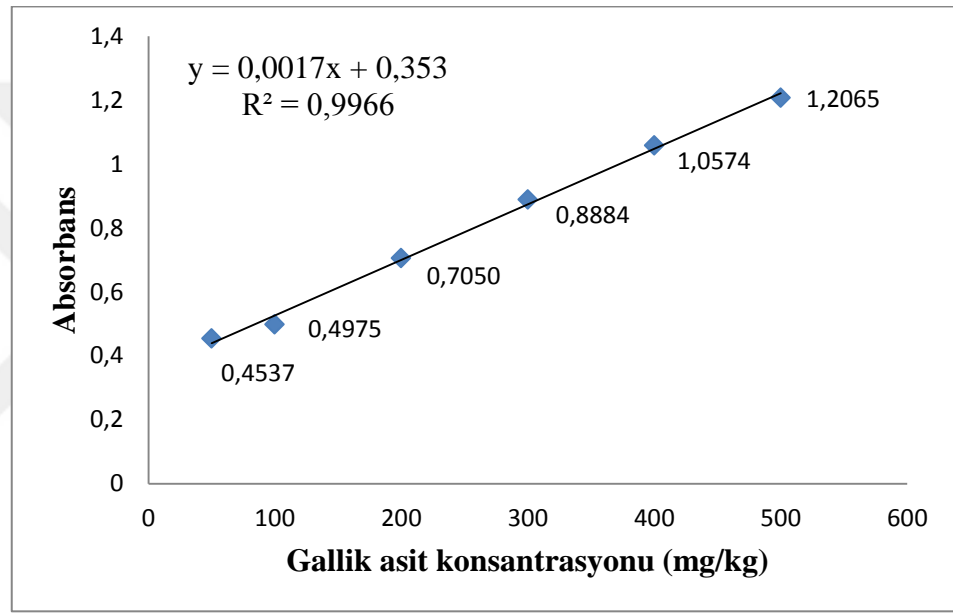
A_{kontrol} : Kontrol çözeltisinin absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansı

3.2.11 Toplam fenolik madde analizi

Mikrokapsül örneklerinde toplam fenolik madde miktarı analizi Xu and Chang (2007) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Buna göre 0,6 g mikrokapsül örneği 60 ml metanol ile homojenize edilerek 40 °C'deki su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiştir. Her 15 dk'da bir çalkalanmıştır. 2000 devir/dk hızla 5 dk santrifüj edilen örnekler süzülmüştür. Elde edilen ekstraktan 50 µl alınarak üzerine 3 ml su, 250 µl Folin Ciocalteu reaktifi ve 750 µl % 7'lik (w/v) Na_2CO_3 çözeltisi eklenmiştir. Vorteks cihazında karıştırılarak 8 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra karışıma 950 µl su eklenerek 2 saat daha oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda 760 nm'de spektrofotometrede absorbansı saptanmıştır. Analizler iki paralel yapılmıştır.

Gallik asit standart çözeltisi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon grafiği ile gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Stok çözelti hazırlamak amacıyla 100 mg gallik asit tartılarak metanol ile 100 ml'ye seyreltilmiştir. 1000 mg/kg'lık bu stok çözeltiden 500 mg/kg, 400 mg/kg, 300 mg/kg, 200 mg/kg, 100 mg/kg ve 50 mg/kg konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği oluşturmak üzere kullanılmıştır. Örnek ekstraktı yerine, standart çözeltiler kullanılarak, spektrofotometrede absorbanslar belirlenmiştir ve Şekil 3.3'de görülen gallik asit standart çözeltilerine ait kalibrasyon grafiği çizilmiştir.



Şekil 3.3 Gallik asit çözeltisi kalibrasyon grafiği

3.2.12 Mikrokapsüllerin renk analizi

Mikrokapsüllerde renk analizi HunterLab ColorFlex (ABD) model kolorimetrenin CIE modunda kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Renk ölçüm cihazı, her ölçüm öncesi siyah ve beyaz levhaların kullanımı ile kalibre edilmiştir. Renk ölçümü sırasında örneklerin 8 farklı bölgesinden ölçüm alınmıştır. Örneklerin renk değerleri CIE sisteminde L^* , a^* , ve b^* değerleri cinsinden ölçülmüştür. Bu değerlerden " L^* " parlaklık belirteçidir ve değeri "0" (siyah)'dan "100" (beyaz)'a kadar değişiklik göstermektedir. a^* değerinde " $-a^*$ " yeşilliği, " $+a^*$ " kırmızılığı ifade ederken; b^* değerinde ise " $-b^*$ " maviliğin, " $+b^*$ " sarılığın varlığını ortaya koymaktadır. a^* ve b^* değerleri -60 ile +60 arasında dağılım

göstermektedir. Bu verilerin ışığında güçlü, doymuş, saf renklerin, romantik renklerden ayrılmasını sağlayan Kroma değeri ve bir rengin diğer renkten ayrılmasını sağlayan Hue (°) açısı aşağıdaki formüller yardımıyla belirlenmiştir.

$$\Delta C = \sqrt{(a)^2 + (b)^2} \quad h^0 = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right)$$

ΔC : Kroma değeri

h^0 : Hue açısı

3.2.13 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Jelatin/arap zamkı duvarlı kekik yağı içeren mikrokapsüllerin kimyasal yapısının belirlenmesi için FTIR analizleri Ege Üniversitesi'nde yapılmıştır. FTIR çalışmaları ATR ekipmanına sahip olan Perkin-Elmer Spectrum 100 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla kekik yağı, kekik yağı içeren mikrokapsüller ile mikrokapsülasyon işlemi sırasında duvar materyali olarak kullanılan jelatin ve arap zamkı 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki IR spektrumları taranmış, sonuçlar FTIR Spectrum Software (Perkin Elmer) yazılımında değerlendirilmiş ve literatürde verilen spektrumlarla karşılaştırılmıştır.

3.2.14 Taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu çalışmasından önce, elde edilen mikrokapsüller İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezi'nde bulunan örnek tutucu üzerine konulmuş ve saçılımlı kaplayıcı kullanılarak (FEI Quanta 250 FEG) altın-paladyum ile kaplanmıştır. Daha sonra numuneler, taramalı elektron mikroskobuna (Philips XL-30S FEG) yerleştirilerek görüntüleri çekilmiştir.

3.2.15 Ürünlerin hazırlanması ve depolanması

Şeftali meyvesi, İzmir'de bulunan "Nergiz Halk Pazarı"ndan Temmuz 2017'de temin edilmiştir. Şeftalilere önce yıkama işlemi uygulanmış, ardından kabuk, sap ve çekirdek kısımları kesilerek ayrılmıştır. Yıkanan ve ayıklanıp

soyulan şeftaliler katı meyve sıkacağından (Premier PRJ6808) geçirilerek şeftali suyu üretimi yapılmıştır. Üretimler iki paralel şekilde gerçekleştirilmiştir.

Daha sonra elde edilen şeftali suyu örnekleri zenginleştirilmiş (150 ml şeftali suyuna 0,5 g kekik yağı içeren mikrokapsül ilavesi) ve zenginleştirilmemiş (kontrol) olarak cam kavanozlarda + 4 °C'de 7 gün boyunca mikrobiyolojik analiz ve pH ölçümü için depolanmıştır.

3.2.16 Mikrobiyolojik analiz ve pH ölçümü

Mikrobiyolojik analiz aşamasında TEMPO (Biomerieux) cihazı kullanılmıştır. Cam kavanozlarda bulunan şeftali suyu örneklerinden 10 g filtrelili poşetlere tartılmıştır. Bu örnekler üzerine, 90 ml MRD solüsyonu eklenerek stomacher cihazında (StomacherLab-Blender 400, SewardMedical, London, UK) homojenize edilmiştir. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için kullanılan TEMPO AC kitlerine 3,9 ml steril saf su ile elde edilen gıda homojenatının uygun dilüsyonlarından 0,1 ml ilave edilmiştir. Dolum ve kapatma işlemleri tamamlandıktan sonra kartlar 35 °C'de 40-48 saat inkübe edilmiştir (BAM, 2001). Analizler 2 paralel 2 tekrar olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar log cfu/g cinsinden verilmiştir.

3.2.17 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS Ver.16 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasında anlamlı bir fark olup olmadığının belirlenebilmesi için varyans analizi (One-way-ANOVA) yapılmıştır. Farklılığın derecesini belirlemek için Duncan testi uygulanmıştır. Bu analizlerde % 95 güven seviyesi ($p<0,05$) dikkate alınmıştır. Parametreler arasındaki korelasyonun belirlenebilmesi için Pearson korelasyon testi uygulanmıştır. Korelasyon analizinde % 95 güven seviyesi ($p<0,05$) dikkate alınmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kekik yağının GC/MS ile karakterizasyonu

GC/MS analizi ile kekik esansiyel yağının (*Thymus vulgaris* L.) tüm uçucu bileşenleri analiz edilmiş ve elde edilen bulgular Ek 1’de gösterilmiştir. Bu uçucu bileşenlere ait GC-MS kromatogramı ise Ek 2’de verilmiştir. Bileşenler Wiley7N ve NIST05a spektral kütüphaneleri kullanılarak tanımlanmışlardır. Kekik esansiyel yağı (*Thymus vulgaris* L.) temel uçucu bileşenlerinin pik alanları yüzde bazında çözgen ve düzeltme faktörleri kullanılmadan alıkonma zamanları ile birlikte Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kekik esansiyel yağının (*Thymus vulgaris* L.) temel uçucu bileşenleri

#	Temel bileşenler	Alıkonma zamanı (dk)	Alan (%)
1	α -Pinen	8,63	11,90
2	m-Simen	10,40	5,27
3	p-Simen	10,63	8,25
4	o-Simen	11,81	12,60
5	γ -terpinen	13,58	2,60
6	Linalool	14,43	8,93
7	2-(2-Butynyl)cyclohexanone	15,59	6,14
8	Timol	16,03	17,25
9	Karvakrol	18,95	1,03
10	Caryophyllene oxide	20,34	7,94
11	Chrysophanol dimethyl ether	22,25	1,21
12	2-ethyl-4,5-dimethylphenol	23,13	1,65

Kekik esansiyel yağının GC/MS analizi sonucunda yağ içeriğinin toplam % 90,3’ü belirlenmiş ve toplamda 24 bileşen tanımlanmıştır (Ek 1). % 5,53’lük kısmı eser düzeydeki bileşenlere (\leq % 1) karşılık gelmekte olup, geri kalan kısmı α -pinen (% 11,90), m-simen (% 5,27), p-simen (% 8,25), o-simen (% 12,60), γ -terpinen (% 2,60), linalool (% 8,93), 2-(2-butynyl)cyclohexanone (% 6,14), timol

(% 17,25), karvakrol (% 1,03), caryophyllene oxide (% 7,94), chrysophanol dimethyl ether (% 1,21) ve 2-ethyl-4,5-dimethylphenol (% 1,65) kekik yağı temel bileşenlerinden oluştuğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Kılıç ve Bağcı (2008), *Origanum vulgare* türü kekikten elde ettikleri esansiyel yağda timol, γ -terpinen, α -terpinolen, karvakrol, p-simen, karvakrol metil eter, timol metil eter ve cis-o-simen temel bileşenlerini tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışma neticesinde kekik bitkisinden farklı dönemlerde elde ettikleri esansiyel yağların bazı bileşenlerinin kalitatif ve kantitatif anlamda değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Martins et al. (2009), basit koaservasyon yöntemi ile kekik yağının mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirdikleri çalışmalarında GC/MS ile kekik esansiyel yağını (*Thymus vulgaris* L.) analiz etmişler ve bileşiminin % 54,6'sının timol (% 47,7) ve türevlerinden (karvakrol) oluştuğunu, daha düşük seviyelerde de γ -terpinen (% 6,2), p-simen (% 31,6) ve linalool (% 7,6) bileşenlerinin olduğunu saptamışlardır.

Tschiggerl and Bucar (2011), kekik yağı bileşiminin % 97,3'ünü belirlemişler ve bulunma yüzdesi % 2'den az olan bileşenler ile timol, p-simen, γ -terpinen, karvakrol ve linalool temel bileşenlerini içeren toplamda 40 bileşen tanımlamışlardır. Ayrıca bileşenlerin % 60'dan fazlasının oksijen içerdiğini tespit etmişlerdir.

Miladi et al. (2013), kekik esansiyel yağının (*Thymus vulgaris* L.) başlıca bileşenlerini timol (% 41,33), p-simen (% 18,08) ve γ -terpinen (% 13,12) olarak tespit etmişler ve kimyasal bileşimin % 50,88'inin oksijenli monoterpenerden, % 39,85'inin monoterpenerden hidrokarbonlarından, % 5,9'unun seskiterpenerden hidrokarbonlarından ve % 0,7'sinin oksijenli seskiterpenerden oluştuğunu saptamışlardır.

Borugă et al. (2014), kekik esansiyel yağının kimyasal bileşimini belirlemek için yaptıkları çalışmada bileşimin % 99,91'inin 15 adet bileşenden oluştuğunu

tespit etmişler ve p-simen (% 8.41), γ -terpinen (% 30.90) ve timol (% 47.59) bileşenlerinin başlıca bileşenler olduğunu belirtmişlerdir.

Tohidi et al. (2017), *Thymus* cinsi bitki türlerinden elde ettikleri esansiyel yağların kimyasal bileşimlerini incelemişler ve kekiğin kalitesini belirleyen timol (% 12,4-% 79,74) ve karvakrol (% 4,37-% 42,14) temel bileşenlerinin yanı sıra geraniol (% 0,3-% 22,44) ve p-simen (% 0,8-% 12,86) bileşenlerini de tespit etmişlerdir.

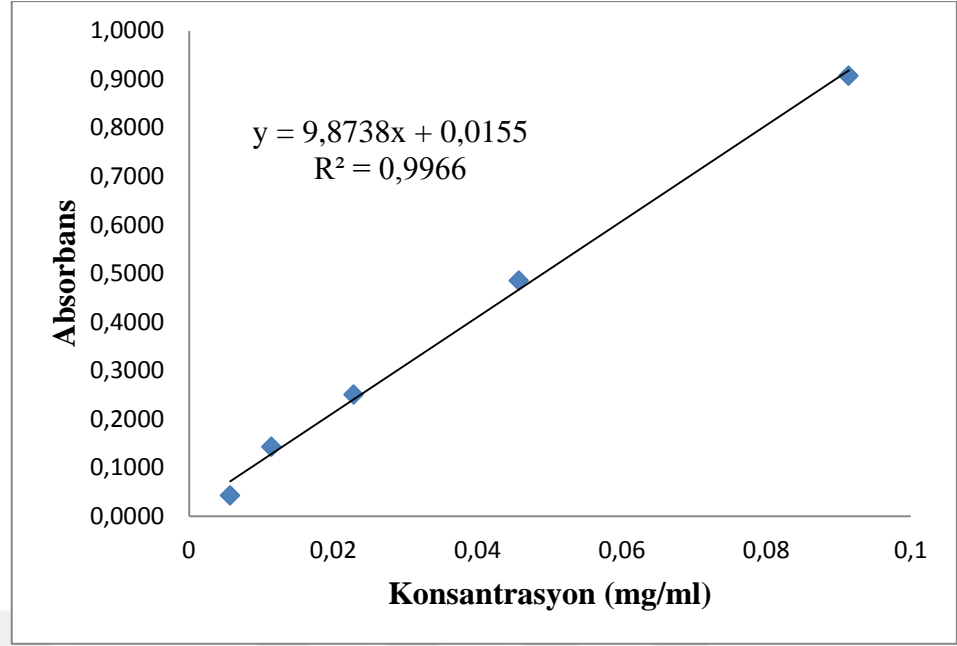
Kekik esansiyel yağının GC/MS ile karakterizasyonunu yaptığımız çalışmamızda tespit ettiğimiz bulgular ile literatürdeki çalışmaları karşılaştırdığımızda temel bileşenler benzerlik gösteriyor olsa da bileşenlerin sayısı ve bulunma yüzdeleri arasında farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılıkların analizde kullanılan esansiyel yağın elde edildiği kekik türünden veya kekiğin toplandığı dönemden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrumunun incelenmesi

Uv-Vis spektrofotometre cihazında, kekik yağının % 0,3 Tween 80 içerisindeki konsantrasyonları bilinen berrak çözeltilerinin 200-400 nm aralığında UV spektrumları alınmıştır ve çözeltilerin maksimum absorpsiyon gösterdikleri dalga boyu (λ_{max}) 230 nm olarak tespit edilmiştir.

4.3 Kekik yağının ultraviyole (UV) spektrofotometrik yöntemle standart eğrisinin hazırlanması

0,02-0,32 g/100 ml kekik esansiyel yağının % 0,3 Tween 80 içeren distile su içerisindeki farklı konsantrasyonları UV-Vis spektrofotometre cihazında 230 nm'de verdiği absorbans değerleri kaydedilmiş ve standart eğrisinin grafiği çizilmiştir. Absorbansa karşı konsantrasyonun yerleştirildiği grafik Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Kekik yağının % 0,3'lük Tween 80 çözeltisi içerisindeki standart eğrisi

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, standart eğri denklemi $y = 9,8738x + 0,0155$ iken, korelasyon katsayısı 0,9966 olarak bulunmuştur. Denklemden x: konsantrasyonu, y: absorbansı ifade etmektedir.

4.4 Mikroenkapsülasyon verimi ve mikrokapsüllerin yağ içeriği ve yağ yükünün saptanması

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kullanılan kekik esansiyel yağı ve tannik asit miktarları sabit tutularak jelatin/arap zankı oranı (3:1, 1:1, 1:3), ardından duvar materyali oranı ve yağ miktarı sabit tutularak tannik asit miktarı (10-15-20 ml), son olarak da duvar materyali oranı ve tannik asit miktarı sabit tutularak kekik yağı miktarı (9-15 ml) değiştirilmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi değerleri üzerine etkisi Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Jelatin, arap zamkı, tannik asit ve kekik esansiyel yağı miktarlarındaki değişimin mikroenkapsülasyon parametreleri üzerine etkisi

Jelatin (g)	Arap zamkı (g)	Yağ (ml)	Tannik asit (ml)	Yağ yükü (%)	Yağ içeriği (%)	Kapsülasyon verimi (%)
1,5	4,5	11	15	244,14 ^c	48,80 ^d ± 1,53	52,58 ^{cd} ± 1,34
3	3	11	15	244,14 ^c	54,46 ^c ± 1,88	55,28 ^c ± 1,28
4,5	1,5	11	15	244,14 ^c	65,47 ^b ± 1,26	70,09 ^a ± 1,86
3	3	11	20	244,14 ^c	55,72 ^c ± 1,76	60,09 ^b ± 0,97
3	3	9	10	122,08 ^d	41,95 ^e ± 0,57	53,40 ^{cd} ± 3,40
3	3	11	10	244,14 ^c	43,00 ^e ± 1,13	50,59 ^d ± 0,24
3	3	13	10	732,43 ^b	66,53 ^b ± 0,33	46,74 ^e ± 0,83
3	3	15	10	976,59 ^a	75,10 ^a ± 4,05	40,02 ^f ± 0,74

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Jelatin: 1,5-4,5 g, arap zamkı: 1,5-4,5 g, tannik asit çözeltisi 10-20 ml; kekik yağı: 9-15 ml; su: 100 ml; sıcaklık: 55 °C.

Çizelge 4.2 incelendiğinde, kekik yağı içeren mikrokapsüllerin eldesi için gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde çekirdek materyal olarak kullanılan kekik esansiyel yağının miktarı (11 ml) ile çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan tannik asidin miktarı (15 ml) sabit tutularak jelatin/arap zamkı oranı 1:3, 1:1, 3:1 şeklinde değiştirilmiştir. Jelatin/arap zamkı oranı değişimi sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%) ve mikroenkapsülasyon verimi (%) değerleri tespit edilmiştir. En yüksek yağ içeriği (% 65,47 ± 1,26) ve mikroenkapsülasyon verimi (% 70,09 ± 1,86) değerleri, jelatin miktarının en yüksek olduğu mikrokapsüllerde belirlenmiştir. En düşük yağ içeriği (% 48,80 ± 1,53) ve mikroenkapsülasyon verimi (% 52,58 ± 1,34) değerleri ise, jelatin miktarının en az olduğu mikrokapsüllerde gözlemlenmiştir.

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağının miktarı (11 ml) ve jelatin/arap zamkı oranı (1:1) sabit tutularak, çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan tannik asidin miktarı 10, 15 ve 20 ml olarak arttırılmıştır. Tannik asit miktarındaki değişimler ile elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%) ve mikroenkapsülasyon verimi (%) değerleri tespit edilmiştir. En yüksek yağ içeriği (% 55,72 ± 1,76) ve mikroenkapsülasyon verimi (% 60,09 ± 0,97) değerleri tannik asit miktarının en yüksek olduğu mikrokapsüllerde belirlenmiştir. En düşük yağ içeriği (% 43,00 ±

1,13) ve mikroenkapsülasyon verimi (% $50,59 \pm 0,24$) değerleri de tannik asit miktarının en az olduğu mikrokapsüllerde gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 incelendiğinde, kekik yağı içeren mikrokapsüllerin eldesi için gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan tannik asidin miktarı (10 ml) ve jelatin/arap zankı oranı (1:1) sabit tutularak, çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağının miktarı 9-15 ml arasında değiştirilmiştir. Kekik yağı miktarı değişimi sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%) ve mikroenkapsülasyon verimi (%) değerleri tespit edilmiştir. En yüksek yağ yükü (% $976,59$) ve yağ içeriği (% $75,10 \pm 4,05$) değerleri kekik yağı miktarının en yüksek olduğu mikrokapsüllerde tespit edilmiştir. En düşük yağ yükü (% $122,08$) ve yağ içeriği (% $41,95 \pm 0,57$) değerleri de kekik yağı miktarının en az olduğu mikrokapsüllerde gözlemlenmiştir.

Farklı formülasyonlar ile hazırlanan mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%) ve mikroenkapsülasyon verimi (%) değerleri kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi değerleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında toplam biyopolimer miktarı sabit tutulup jelatin miktarı arttırıldığında, ayrıca kullanılan çapraz bağlayıcı miktarının (10, 15 ve 20 ml) kademeli olarak arttırılması sonucunda yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi değerlerinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Kekik yağı miktarının (9, 11, 13 ve 15 ml) kademeli olarak arttırılması sonucunda ise mikroenkapsülasyon verimi değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenirken, yağ yükü ve yağ içeriği değerlerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere optimum koşulun, en yüksek mikroenkapsülasyon verim değeri % $70,09 \pm 1,86$ olan, 3. formülasyon (4,5 g jelatin/1,5 g arap zankı; 15 ml tannik asit; 11 ml kekik yağı) ile üretilen mikrokapsüller olduğu belirlenmiştir.

4.4.1 Jelatin/arap zankı oranındaki değişiminin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikrokapsülasyon verimi üzerine etkisi

4.4.1.1 Jelatin/arap zankı oranındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü üzerine etkisi

Mikrokapsülasyon işlemi sırasında duvar materyali olarak kullanılan jelatin ve arap zankı miktarları oranı 1:3, 1:1, 3:1 şeklinde değiştirildiğinde elde edilen mikrokapsüllerin yağ yüklerinin % 244,14 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Duvar materyali olarak kullanılan biyopolimerlerin miktarları toplamı ile çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağının ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asidin miktarları sabit tutulduğunda duvar materyalleri arasındaki oranın değişimi ile elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin değişmediği tespit edilmiştir.

Dong et al. (2007), mikrokapsülasyon işlemi sırasında duvar materyallerinin konsantrasyonlarını arttırmış olsalar da, çekirdek/duvar materyali oranını değiştirmedikleri için nane yağı içeren mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin % 75-80 aralığında yaklaşık değerlerde olduğunu tespit etmişlerdir.

Maji and Hussain (2009), mikrokapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları limon esansiyel yağı ve çapraz bağlayıcı olarak kullandıkları genipin miktarlarını sabit tutarak kitosan/jelatin oranı değişiminin (0,25:1, 0,66:1, 2:1, 4:1) mikrokapsüllerin yağ yükü üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin % 308,75 değerinde değişmeden kaldığını saptamışlardır.

Ocak (2012), yaptığı çalışmada glutaraldehit ve lavanta yağının miktarlarını sabit tutup kolajen hidrolizat/kitosan oranını değiştirmiş ve elde ettiği mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerini belirlemiştir. Mikrokapsülasyon işlemi sırasında 1:0, 0,75:0,25, 0,50:0,50, 0,25:0,75, 0:1 şeklinde beş farklı kolajen hidrolizat/kitosan oranını incelemiş, tek başına kolajen hidrolizatın kullanıldığı 1:0 oranında koaservasyon meydana gelmediğini tespit etmiştir. Diğer duvar

materyali oranları ile elde ettiği mikrokapsüllerin yağ yüklerini % 313,60 olarak saptamıştır.

Duvar materyalleri oranı değişiminin mikrokapsüllerin yağ yükü değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Dong et al., 2007; Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012).

4.4.1.2 Jelatin/arap zamkı oranındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ içeriği üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağı ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarlarını sabit tutarak duvar materyali olarak kullanılan jelatin/arap zamkı oranları 1:3, 1:1 ve 3:1 şeklinde değiştirilmiştir. Jelatin/arap zamkı oranındaki değişim ile birlikte elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriklerinin sırasıyla % $48,80 \pm 1,53$, % $54,46 \pm 1,88$ ve % $65,47 \pm 1,26$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Jelatin ve arap zamkı duvar materyallerinin birbirlerine oranında jelatin miktarı arttıkça arap zamkı miktarının azalması ile birlikte elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Maji and Hussain (2009), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları limon esansiyel yağı ve çapraz bağlayıcı olarak kullandıkları genipin miktarlarını sabit tutarak kitosan/jelatin oranı değişiminin (0,25:1, 0,66:1, 2:1, 4:1) mikrokapsüllerin yağ içeriği üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini sırasıyla % $26,45 \pm 1,20$, % $25,15 \pm 0,57$, % $30,65 \pm 0,54$ ve % $37,65 \pm 0,75$ olarak tespit etmişlerdir.

Ocak (2012), yaptığı çalışmada glutaraldehit ve lavanta yağının miktarlarını sabit tutup kolajen hidrolizat/kitosan oranını değiştirmiş ve elde ettiği mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini belirlemiştir. Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında 1:0, 0,75:0,25, 0,50:0,50, 0,25:0,75, 0:1 şeklinde beş farklı kolajen

hidrolizat/kitosan oranını incelemiş, tek başına kolajen hidrolizatın kullanıldığı 1:0 oranında koaservasyonun meydana gelmediğini tespit etmiştir. Diğer duvar materyali oranları ile elde ettiği mikrokapsüllerin yağ içeriklerinin sırasıyla % $23,22 \pm 1,14$, % $35,83 \pm 0,23$, % $42,20 \pm 2,70$ ve % $56,97 \pm 2,39$ olarak arttığını saptamıştır.

Tamjidi et al. (2013), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları balık yağı miktarını sabit tutarken, duvar materyallerinin oranını değiştirmişler ve elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini belirlemişlerdir. Jelatin/arap zamkı oranında 1,25:5 ve 5:1,25 şeklinde jelatin miktarını arttırıp, arap zamkı miktarını azalttıklarında yağ içeriği değerlerinin arttığını saptamışlardır.

Duvar materyalleri oranı değişiminin elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012; Tamjidi et al., 2013).

4.4.1.3 Jelatin/arap zamkı oranındaki değişimin mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağı ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarları sabit tutulurken, duvar materyali olarak kullanılan jelatin ve arap zamkının birbirlerine oranı 1:3, 1:1, 3:1 şeklinde değiştirildiğinde, elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimlerinin sırasıyla % $52,58 \pm 1,34$, % $55,28 \pm 1,28$ ve % $70,09 \pm 1,86$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Jelatin ve arap zamkı duvar materyalleri oranında jelatin miktarı artarken, arap zamkı miktarının azalması ile birlikte elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir.

Maji and Hussain (2009), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları limon esansiyel yağı ve çapraz bağlayıcı olarak

kullandıkları genipin miktarlarını sabit tutarak kitosan/jelatin oranı değişiminin (0,25:1, 0,66:1, 2:1, 4:1) mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerlerini sırasıyla % 34,14 ± 1,74, % 32,47 ± 1,07, % 39,56 ± 1,74 ve % 48,60 ± 1,14 olarak tespit etmişlerdir.

Ocak (2012), yaptığı çalışmada glutaraldehit ve lavanta yağının miktarlarını sabit tutup kolajen hidrolizat/kitosan oranını değiştirmiş ve elde ettiği mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerlerini belirlemiştir. Mikrokapsülasyon işlemi sırasında 1:0, 0,75:0,25, 0,50:0,50, 0,25:0,75, 0:1 şeklinde beş farklı kolajen hidrolizat/kitosan oranını incelemiş, tek başına kolajen hidrolizatın kullanıldığı 1:0 oranında koaservasyonun meydana gelmediğini tespit etmiştir. Diğer duvar materyali oranları ile elde ettiği mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimlerinin sırasıyla % 44,13 ± 1,39, % 46,74 ± 1,78, % 58,04 ± 2,17 ve % 73,73 ± 1,10 olarak arttığını saptamıştır.

Tamjidi et al. (2013), mikrokapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları balık yağı miktarını sabit tutarken, duvar materyallerinin oranını değiştirmişler ve elde ettikleri mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerlerini belirlemiştir. Jelatin/arap zımkı oranında 1,25:5 ve 5:1,25 şeklinde jelatin miktarını arttırıp, arap zımkı miktarını azalttıklarında mikrokapsülasyon verimi değerlerinin arttığını saptamışlardır.

Duvar materyalleri oranı değişiminin elde edilen mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012; Tamjidi et al., 2013).

4.4.2 Tannik asidin miktarındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi

4.4.2.1 Tannik asidin miktarındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağı miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zambının arasındaki oran sabit tutulurken, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarları sırasıyla 10, 15 ve 20 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin % 244,14 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Tannik asit miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin değişmediği tespit edilmiştir.

Hussain and Maji (2008), yaptıkları çalışmada kitosan ve jelatin duvar materyalleri ile çekirdek materyal olarak kullandıkları limon yağı (*Zanthoxylum limonella*) miktarlarını sabit tutup, çapraz bağlayıcı ajan olarak kullandıkları genipin miktarını 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g şeklinde arttırdıklarında mikrokapsüllerin yağ yüklerinin % 343,67 değerinde sabit kaldığını tespit etmişlerdir.

Ocak (2012), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kolajen hidrolizat/kitosan oranını ve lavanta yağının miktarını sabit tutup glutaraldehit miktarını 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g'a arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin yağ yüklerinin % 313,60 değerinde sabit kaldığını saptamıştır.

Tannik asit miktarı değişiminin mikrokapsüllerin yağ yükü değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Hussain and Maji, 2008; Ocak, 2012).

4.4.2.2 Tannik asidin miktarındaki değişimin mikrokapsüllerin yağ içeriği üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağı miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zamkının arasındaki oran sabit tutulurken, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarları sırasıyla 10, 15 ve 20 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin sırasıyla % 43,00 ± 1,13, % 54,46 ± 1,88 ve % 55,72 ± 1,76 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Tannik asit miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Devi and Maji (2009b), duvar materyali olarak kullandıkları κ-karagenan ve kitosan polimerlerinin ve çekirdek materyal olarak kullandıkları neem tohumu yağının miktarlarını sabit tutup glutaraldehit, genipin ve tannik asit miktarlarını 0,2, 0,4 ve 0,8 mmol olarak arttırdıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini incelemiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde çapraz bağlayıcı miktarı arttıkça mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Çapraz bağlayıcı olarak 0,2 ve 0,4 mmol tannik asit kullandıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini sırasıyla % 44 ± 1,0 ve % 46 ± 2,0 olarak saptamışlar, 0,8 mmol tannik asit kullandıklarında oluşan bulanıklılık nedeniyle değerlendirme yapamamışlardır.

Maji and Hussain (2009), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları limon esansiyel yağı miktarını ve duvar materyali olarak kullandıkları kitosan ve jelatin biyopolimerlerinin miktarları oranını sabit tutarak 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g miktarlarında genipin çözeltisini kullanmışlar ve elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini incelediklerinde sırasıyla % 42,0 ± 0,45, % 45,34 ± 0,87 ve % 46,50 ± 0,64 olduğunu saptamışlardır.

Ocak (2012), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kolajen hidrolizat/kitosan oranını ve lavanta yağının miktarını sabit tutup glutaraldehit miktarını 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini sırasıyla % 35,83 ± 0,23, % 39,30 ± 0,08 ve % 46,43 ± 1,16 olarak saptamıştır.

Tannik asit miktarı değişiminin mikrokapsüllerin yağ içeriği değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Devi and Maji, 2009b; Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012).

4.4.2.3 Tannik asidin miktarındaki değişimin mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullanılan kekik yağı miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zamkının arasındaki oran sabit tutulurken, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarları sırasıyla 10, 15 ve 20 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinin sırasıyla % $50,59 \pm 0,24$, % $55,28 \pm 1,28$ ve % $60,09 \pm 0,97$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Tannik asit miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. Mikroenkapsülasyon verimindeki artış, tannik asit ile jelatin-arap zamkı polimerleri arasındaki reaksiyondan kaynaklanan mikrokapsülün yağ tutma kapasitesinin artmasına bağlı olabilir (Hussain and Maji, 2008; Ocak, 2012).

Devi and Maji (2009b), yaptıkları çalışmada κ - karagenan ve kitosan duvar materyalleri ile çekirdek materyal olarak kullandıkları neem tohumu yağı miktarlarını sabit tutup glutaraldehit, genipin ve tannik asit miktarlarını 0,2, 0,4 ve 0,8 mmol olarak arttırdıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerini incelemiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde çapraz bağlayıcı miktarı arttıkça mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Çapraz bağlayıcı olarak 0,2 ve 0,4 mmol tannik asit kullandıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerini sırasıyla % $65 \pm 1,50$ ve % $71,60 \pm 2,72$ olarak saptamışlar, 0,8 mmol tannik asit kullandıklarında oluşan bulanıklılık nedeniyle değerlendirme yapamamışlardır.

Maji and Hussain (2009), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çekirdek materyal olarak kullandıkları limon esansiyel yağı miktarını ve duvar materyali

olarak kullandıkları kitosan ve jelatin biyopolimerlerinin miktarları oranını sabit tutarak 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g miktarlarında genipin çözeltisini kullanmışlar ve elde ettikleri mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerlerini incelediklerinde sırasıyla % 54,22 ± 1,12, % 58,53 ± 1,36 ve % 60,05 ± 0,89 olduğunu saptamışlardır.

Ocak (2012), mikrokapsülasyon işlemi sırasında kolajen hidrolizat/kitosan oranını ve lavanta yağının miktarını sabit tutup glutaraldehit miktarını 0,1, 0,2 ve 0,3 mmol/g arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerlerini sırasıyla % 46,74 ± 1,78, % 48,28 ± 0,91 ve % 60,09 ± 1,19 olarak saptamıştır.

Xiao et al. (2014b)'ın, çapraz bağlayıcı kullanmadan elde ettikleri mikrokapsüller en yüksek mikrokapsülasyon verimine sahip iken, çapraz bağlayıcılardan glutaraldehit, transglutaminaz ve tannik asiti kullandıklarında benzer mikrokapsülasyon verimi değerleri saptamışlardır.

Tannik asit miktarı değişiminin elde edilen mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Devi and Maji, 2009b; Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012).

4.4.3 Yağ konsantrasyonundaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikrokapsülasyon verimi üzerine etkisi

4.4.3.1 Yağ konsantrasyonundaki değişimin mikrokapsüllerin yağ yükü üzerine etkisi

Mikrokapsülasyon işlemi sırasında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zamburak arasındaki oran sabit tutulurken, çekirdek materyal olarak kullanılan kekik esansiyel yağının miktarları sırasıyla 9, 11, 13 ve 15 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü değerleri sırasıyla % 122,08, % 244,14, % 732,43 ve % 976,59 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Kekik esansiyel yağı

miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Hussain and Maji (2008), yaptıkları çalışmada kitosan-jelatin oranını ve genipin miktarını sabit tutup etken materyal olan limon yağının (*Zanthoxylum limonella*) miktarını 1, 2, 4, 6 ve 8 ml şeklinde arttırdıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerini sırasıyla % 85,92, % 171,83, % 343,67, % 515,50 ve % 687,34 olarak belirlemişlerdir.

Ocak (2012), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kolajen hidrolizat/kitosan oranını ve glutaraldehit miktarını sabit tutup lavanta yağının miktarını 2, 4, 6, 8 ve 10 ml'ye arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin yağ yükü değerlerinin sırasıyla % 77,54, % 313,60, % 454,65, % 562,66 ve % 615,17 olduğunu saptamıştır.

Ahmadi et al. (2015), yaptıkları çalışmada mikrokapsüllerin eldesinde kullandıkları β -laktoglobulin ve arap zankı miktarlarını sabit tutup yağ miktarını arttırdıklarında yağ yükü değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Yağ konsantrasyonu değişiminin mikrokapsüllerin yağ yükü değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Hussain and Maji, 2008; Ocak, 2012; Ahmadi et al., 2015).

4.4.3.2 Yağ konsantrasyonundaki değişimin mikrokapsüllerin yağ içeriği üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zankının arasındaki oran sabit tutulurken, çekirdek materyal olarak kullanılan kekik esansiyel yağının miktarları sırasıyla 9, 11, 13 ve 15 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin % $41,95 \pm 0,57$, % $43,00 \pm 1,13$, % $66,53 \pm 0,33$ ve % $75,10 \pm 4,05$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Kekik

esansiyel yağı miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Hussain and Maji (2008), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kitosan-jelatin oranını ve genipin miktarını sabit tutup etken materyal olan limon yağının (*Zanthoxylum limonella*) miktarını 1, 2, 4, 6 ve 8 ml şeklinde arttırdıklarında elde ettikleri mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerini sırasıyla % 25,17 ± 0,34, % 25,80 ± 1,01, % 37,59 ± 0,07, % 39,92 ± 0,20 ve % 45,06 ± 3,03 olarak belirlemişlerdir.

Ocak (2012), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında polimerlerin miktarını sabit tutup lavanta yağının miktarını 2, 4, 6, 8 ve 10 ml'ye arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinin sırasıyla % 22,72 ± 0,39, % 35,83 ± 0,23, % 36,10 ± 1,73, % 38,51 ± 1,92 ve % 40,44 ± 3,42 olarak arttığını saptamıştır.

Tamjidi et al. (2013), yaptıkları çalışmada duvar materyallerinin miktarları oranını sabit tutup etken materyal olan balık yağı miktarını arttırdıklarında mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerinde artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışmadaki yağ konsantrasyonu değişimi ile mikrokapsüllerin yağ içeriği değerlerine ait artışlar, literatürle benzerlik göstermektedir (Hussain and Maji, 2008; Ocak, 2012; Tamjidi et al., 2013).

4.4.3.3 Yağ konsantrasyonundaki değişimin mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkisi

Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarı ile duvar materyalleri olarak kullanılan jelatin ve arap zamkının arasındaki oran sabit tutulurken, çekirdek materyal olarak kullanılan kekik esansiyel yağının miktarları sırasıyla 9, 11, 13 ve 15 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimlerinin sırasıyla % 53,40 ± 3,40, % 50,59 ± 0,24, % 46,74 ± 0,83 ve % 40,02 ± 0,74 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Kekik esansiyel yağı miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir.

Maji and Hussain (2009), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kitosan ve jelatin biyopolimerlerinin miktarları oranı ile genipin çözeltisi miktarını sabit tutup etken materyal olan limon esansiyel yağı miktarını (1, 2, 3 ve 4 ml) değiştirmişler ve elde ettikleri mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerini incelemişlerdir. Mikroenkapsülasyon verimi değerlerini sırasıyla % $48,31 \pm 0,84$, % $44,3 \pm 0,35$ ve % $32,87 \pm 0,96$ olarak tespit etmişlerdir. Mikrokapsüllerin daha az mikroenkapsülasyon verimi değerine sahip olmalarının nedeni olarak elde edilmeleri sırasında yağ kaybı yüzdesinin daha yüksek olmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir.

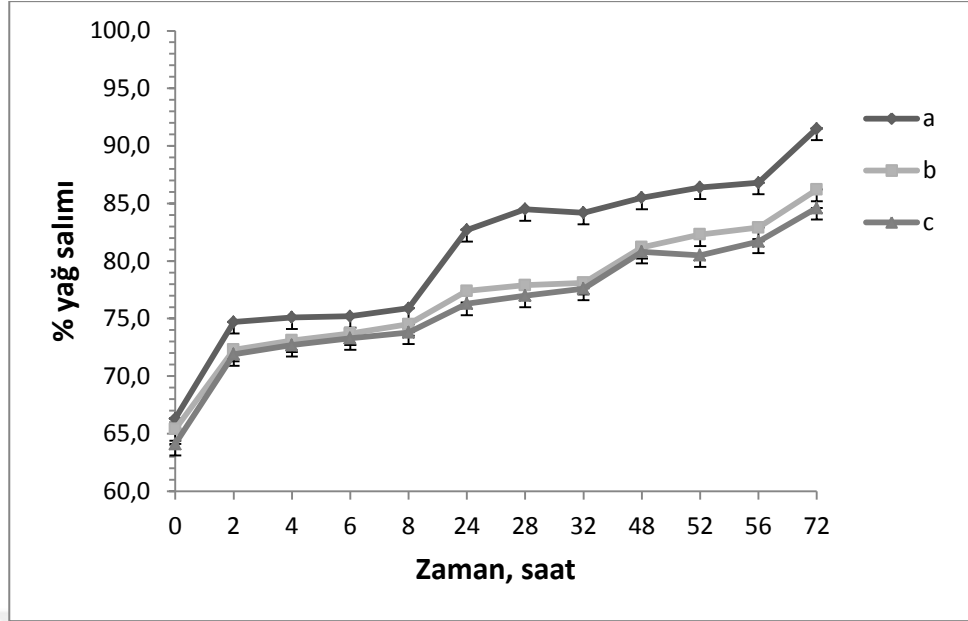
Ocak (2012), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kolajen hidrolizat/kitosan oranını ve glutaraldehit miktarını sabit tutup lavanta yağının miktarını 2, 4, 6, 8 ve 10 ml'ye arttırdığında elde ettiği mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinin sırasıyla % $49,29 \pm 0,68$, % $46,74 \pm 1,78$, % $46,31 \pm 3,11$, % $42,90 \pm 0,22$ ve % $36,84 \pm 1,44$ şeklinde azaldığını tespit etmiştir.

Tamjidi et al. (2013), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında yalnızca etken materyal olan balık yağı miktarını arttırdıklarında mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerlerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Yağ konsantrasyonu değişiminin mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi değerleri üzerine etkisini incelediğimizde, elde edilen bulguların kompleks koaservasyon yönteminin kullanıldığı çekirdek materyali esansiyel yağ olan literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Maji and Hussain, 2009; Ocak, 2012; Tamjidi et al., 2013).

4.5 Kekik yağı salım çalışması

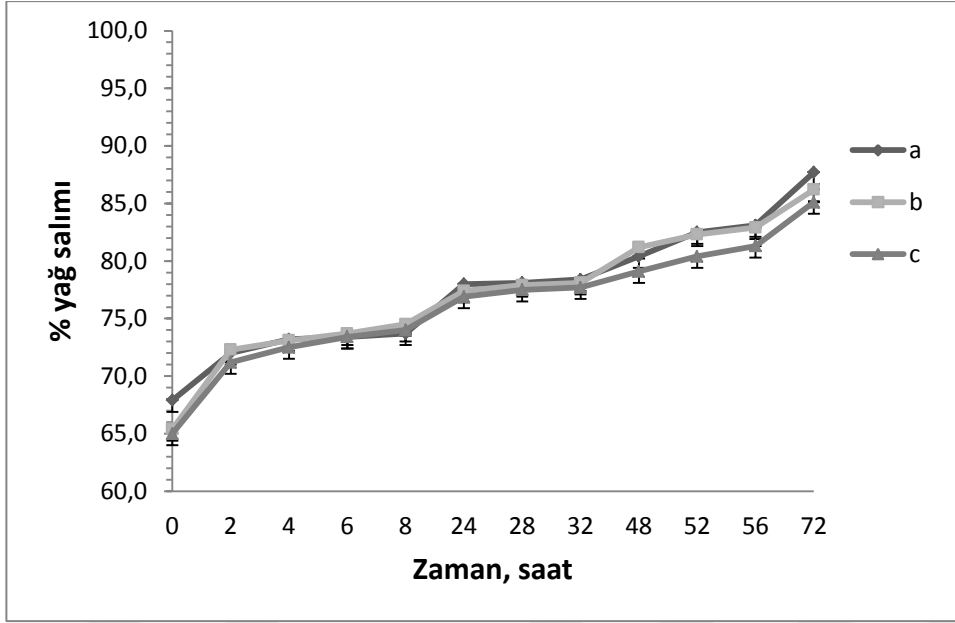
Mikrokapsüllerin eldesinde duvar materyali olarak kullanılan jelatin/arap zankı oranı, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit ve çekirdek materyal olarak kullanılan kekik esansiyel yağı miktarları değişimlerinin salım oranlarına etkisi Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.2 Salım oranı üzerine jelatin/arap zamkı oranı değişiminin etkisi. (a) 1,5 g jelatin/4,5 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (b) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (c) 4,5 g jelatin/1,5 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit.

Kompleks koaservasyon yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin duvar materyallerinin yapısı ve bileşimi, çekirdek materyalinin salım özelliklerini büyük ölçüde etkilemektedir (Fuguet et al., 2007; Ocak, 2012). Şekil 4.2’de görüldüğü üzere, jelatin/arap zamkı oranında jelatin miktarı arttıkça, mikrokapsüllerden kekik esansiyel yağı salım oranının azaldığı tespit edilmiştir.

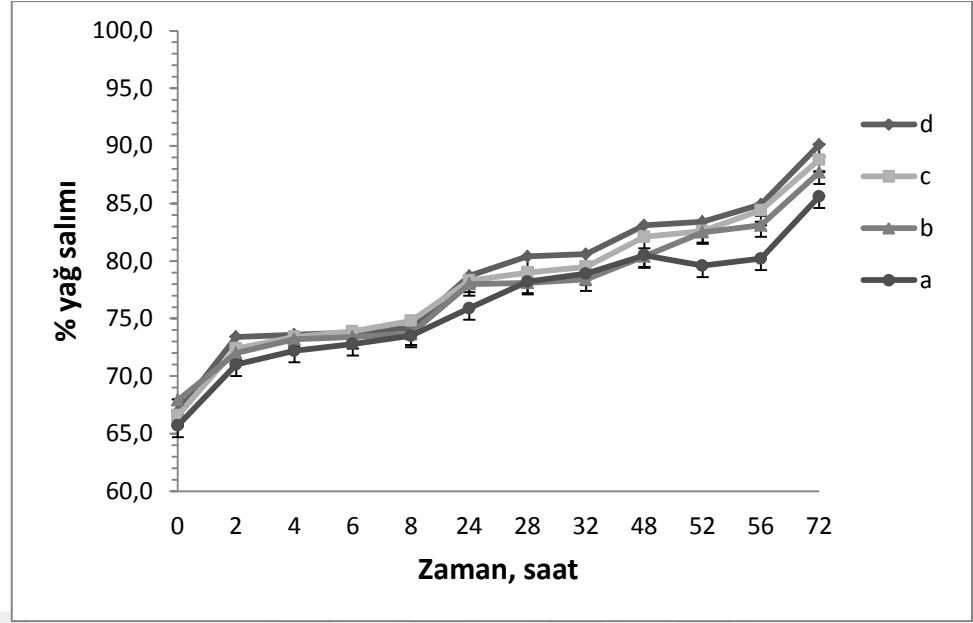
Dima et al. (2014a), kitosan ve κ -karagenan duvar materyallerini kullanarak elde ettikleri mikrokapsüllerden yenibahar yağının salımını incelediklerinde, κ -karagenan miktarı arttıkça salımın azaldığını saptamışlardır.



Şekil 4.3 Salım oranı üzerine tannik asit miktarı değişiminin etkisi. (a) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 10 ml tannik asit; (b) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (c) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 20 ml tannik asit.

Kekik esansiyel yağının mikrokapsüllerden salım oranı, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tannik asit miktarının artırılması ile birlikte azalma eğilimi göstermiştir (Şekil 4.3). Bunun nedeni, mikrokapsüllerin duvar materyalleri arasında çapraz bağlanmanın gerçekleşmesi ve duvarın daha sert hale gelmesi, dolayısıyla kekik esansiyel yağının mikrokapsüllerden salımının zorlaşmasıdır.

Alvim and Grosso (2010), paprika oleoresini ve soya yağı karışımını içeren jelatin-arap zamkı duvarlı mikrokapsüllerin salımında glutaraldehit miktarını arttırdıklarında salım oranının azaldığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.4 Salım oranı üzerine kekik esansiyel yağı miktarı değişiminin etkisi. (a) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 9 ml yağ, 10 ml tannik asit; (b) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 10 ml tannik asit; (c) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 13 ml yağ, 10 ml tannik asit; (d) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 15 ml yağ, 10 ml tannik asit.

Şekil 4.4’de görüldüğü üzere, mikrokapsüllerdeki yağ miktarı arttırıldıkça, jelatin/arap zamkı duvarlı mikrokapsüllerden kekik esansiyel yağının salım oranının arttığı tespit edilmiştir. Yağ salım oranındaki artış, mikrokapsüllerin hazırlanmasında kullanılan yağ miktarı arttırılırken, toplam biyopolimer miktarının sabit tutulması ve dolayısıyla mikrokapsüllerin duvar kalınlığının azalmasından kaynaklanabilir. Ayrıca karıştırıcının dağıtma gücü daha yüksek yağ yüklerinde daha az etkili olacağından daha büyük yağ damlacıklarının kapsüllenmesini sağlamıştır. Mikrokapsül duvar kalınlığındaki azalma, yağın difüzyon yolunu kısaltmış ve dolayısıyla yağ salım oranını arttırmıştır (Hussain and Maji, 2008; Ocak, 2012).

Hussain and Maji (2008), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında duvar materyali olarak kullandıkları kitosan/jelatin polimerlerinden kitosanın ve çapraz bağlayıcı ajan olarak kullandıkları genipinin miktarlarındaki artış, mikrokapsüllerin daha sıkılaşmasına neden olduğundan yağ salım oranlarının azaldığını tespit etmişlerdir. Çekirdek materyal olarak kullandıkları limon yağının

(*Zanthoxylum limonella*) miktarındaki artış ile de yağın salım oranının incelenen yağ konsantrasyonu aralığı boyunca arttığı saptanmıştır.

Ocak (2012), yaptığı salım çalışmasında kolajen hidrolizat/kitosan duvar materyali karışımında mevcut olan kitosanın ve çapraz bağlayıcı ajanın yoğunluğunun artmasıyla mikrokapsüllerdeki lavanta yağı salım oranının azaldığını, etken materyal olan lavanta yağının miktarını arttırdığında ise salım oranının arttığını tespit etmiştir.

Bu çalışmadaki mikrokapsüllerin salım oranlarına ait değişimler, literatürle uyum göstermektedir. Jelatin ve tannik asit miktarlarının artırılması ile birlikte mikrokapsüllerin duvar yapısının sıkılaştığı ve dolayısıyla kekik esansiyel yağının mikrokapsüllerden salımının zorlaştığı, mikrokapsüllerdeki kekik esansiyel yağı miktarının artırılması ile de mikrokapsüllerin duvar kalınlığının azalması ve akabinde salımın kolaylaştığı belirlenmiştir.

4.6 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin timol ve karvakrol miktarları değişiminin HPLC ile Belirlenmesi

Şekil 3.1'de bulunan karvakrol standart çözeltisi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem ile farklı miktarlarda kekik yağı içeren mikrokapsüllerin timol ve karvakrol miktarlarındaki değişim belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin mg/kg cinsinden ortalama timol ve karvakrol miktarları

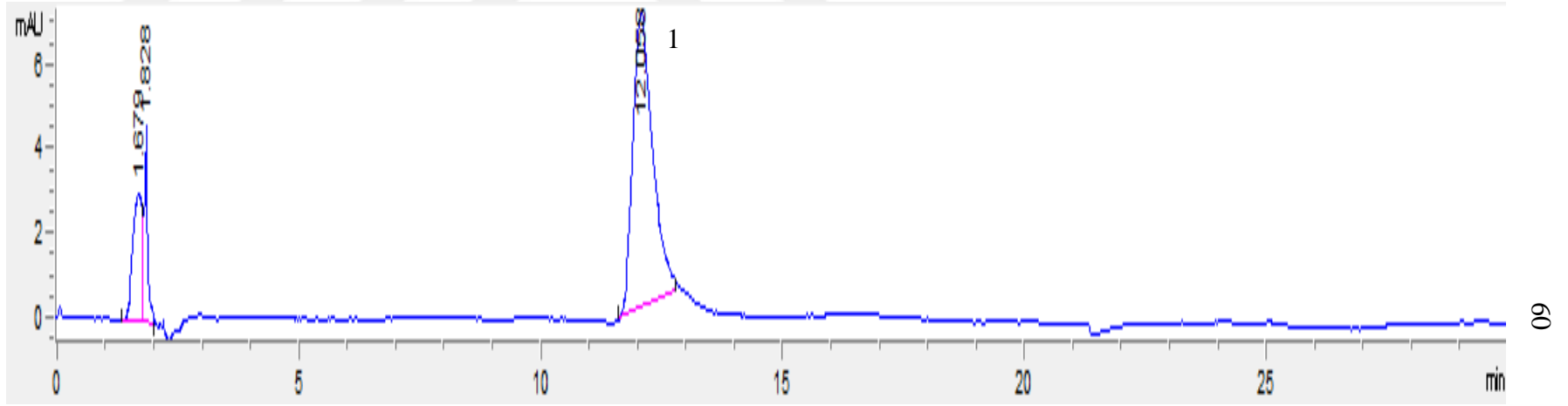
Kekik yağı (ml)	Karvakrol miktarları (mg/kg)	Timol miktarları (mg/kg)
9	984,6 ^d ± 2,227	12582,5 ^d ± 0,001
11	1122,7 ^c ± 3,903	12801,3 ^c ± 0,004
13	1208,3 ^b ± 0,004	15542,8 ^b ± 0,001
15	1431,3 ^a ± 0,003	15722,1 ^a ± 0,004

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($p < 0,05$).

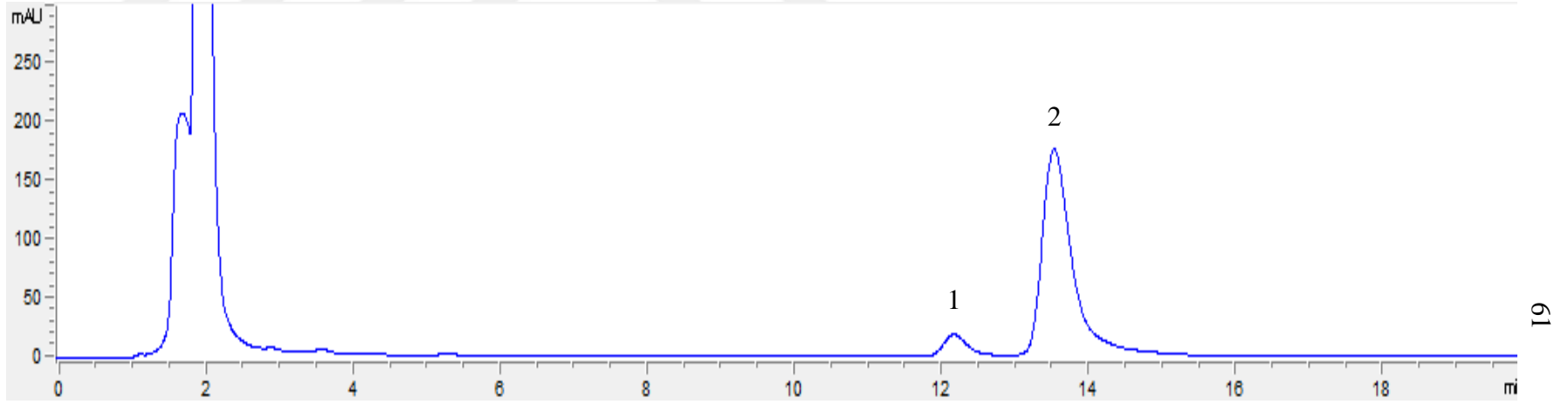
Farklı miktarlarda kekik esansiyel yağı kullanarak hazırlanan mikrokapsül örneklerinin timol ve karvakrol miktarları kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Çizelge 4.3’de kekik yağı miktarı kademeli olarak 9, 11, 13 ve 15 ml’ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin mg/kg cinsinden timol ve karvakrol miktarları verilmiştir. Kekik yağı miktarındaki değişim ile elde edilen mikrokapsüllerin timol ve karvakrol miktarları kendi içinde incelendiğinde miktarlar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmıştır ($p<0,05$). En yüksek timol ($15722,09 \pm 0,004$ mg/kg) ve karvakrol ($1431,30 \pm 0,003$ mg/kg) miktarı, kekik yağı miktarının en yüksek olduğu mikrokapsüllerde (3:3 jelatin/arap zımkı, 10 ml tannik asit ve 15 ml kekik yağı) belirlenmiş olup, kekik yağı miktarı arttıkça mikrokapsüllerin timol ve karvakrol içeriklerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Kekik yağı miktarındaki değişim ile örneklerin timol ve karvakrol miktarları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve aralarında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon elde edilmiştir ($p<0,01$).

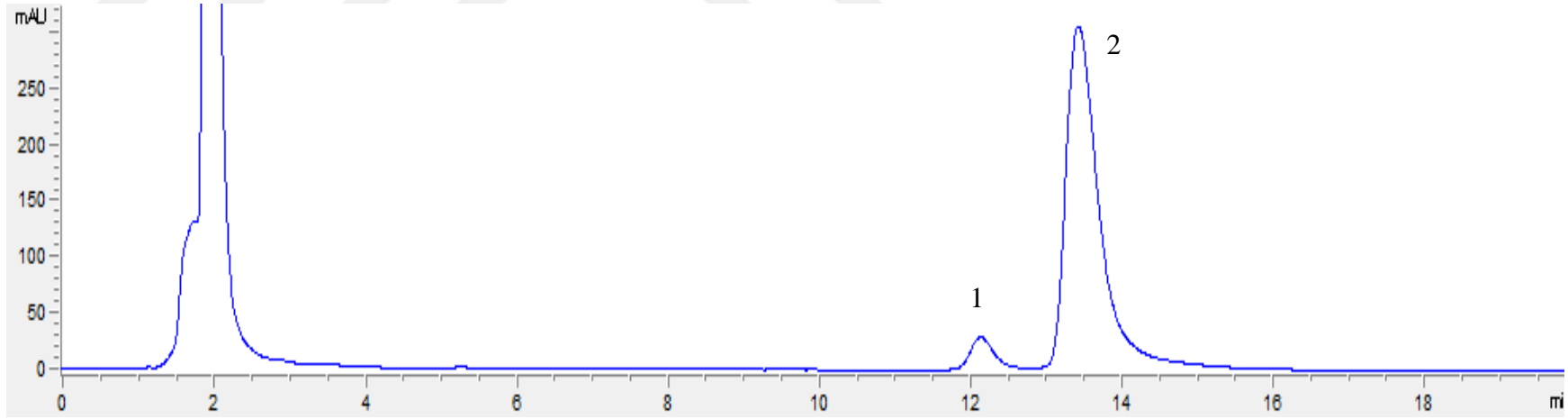
25 ppm’lik karvakrol standardına ait olan kromatogram Şekil 4.5’de, 9 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan kromatogram Şekil 4.6’de ve 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan kromatogram Şekil 4.7’de görülmektedir. Mikrokapsül örneklerine ait olan kromatogramlar incelendiğinde, karvakrol ve timol bileşenlerinin alıkonma zamanları sırasıyla yaklaşık 12. ve 13.dk’da tespit edilmiştir. Ek 4 ve Ek 5’de sırasıyla 11 ve 13 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramları verilmiştir.



Şekil 4.5 25 ppm karvakrol standardına ait olan HPLC kromatogramı (1: karvakrol; alıkonma zamanı: 12,058 dk)



Şekil 4.6 9 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı (1: karvakrol; alıkonma zamanı: 12,156 dk, 2: timol; alıkonma zamanı: 13,507 dk)



Şekil 4.7 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı (1: karvakrol; alıkonma zamanı: 12,163 dk, 2: timol; alıkonma zamanı: 13,526 dk)

Zekovic (2000), buhar destilasyonu, soxhlet ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemleri ile elde ettiği kekik esansiyel yağlarındaki karvakrol ve timol bileşenlerini HPLC analizi ile değerlendirmiştir. Karvakrol ve timol bileşenlerinin alıkonma sürelerini sırasıyla 5,943 ve 6,455 dk olarak tespit etmiş ve esansiyel yağların elde edilme yöntemlerine bağlı bir şekilde miktarlarda farklılıklar olduğunu ancak timolün karvakrolden daha fazla miktarda bulunduğunu saptamıştır.

Hajimehdipoor et al. (2010), kekik esansiyel yağının (*Thymus vulgaris* L.) HPLC analizini yaptıklarında karvakrol ve timol bileşenlerinin alıkonma sürelerini 13,1 ve 14,4 dk olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, esansiyel yağ içinde bulunan karvakrol ve timolün konsantrasyonlarını sırasıyla % $4,3 \pm 0,1$ ve % $41,2 \pm 0,4$ olarak hesaplamışlardır.

Ramos et al. (2014), karvakrol ve timol antioksidanlarının polipropilen aktif ambalaj filmlerinden sulu ve yağlı gıda örneklerine salımlarını ve antioksidan aktivitelerini incelemek amacıyla yaptıkları metod validasyonunda HPLC analizi için karvakrol ve timol bileşenleri alıkonma sürelerinin sırasıyla 18,9 ve 21.dk'larda olduğunu ifade etmişlerdir.

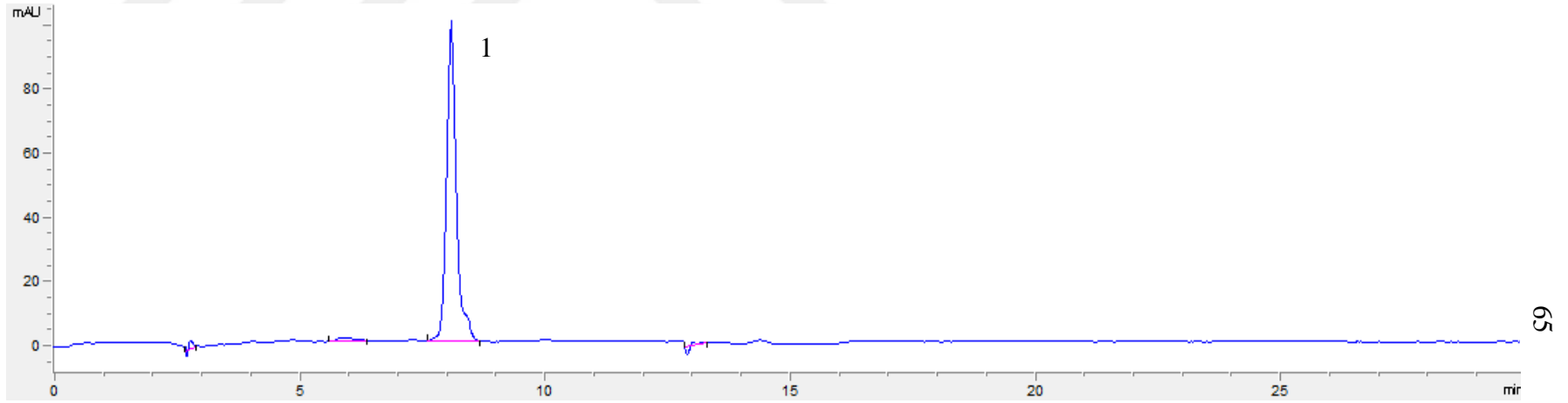
Bu çalışmada karvakrol ve timol bileşenleri literatürle benzer şekilde birbirlerini izleyen sürelerde tespit edilmiştir. Ancak çalışmada tespit edilen alıkonma süreleri ile literatürde bulunan alıkonma süreleri arasında farklılıklar gözlenmektedir. Bu farklılıkların esansiyel yağın elde edilme yöntemine ve analizlerde kullanılan yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir. Farklı miktarlarda kekik yağı içeren mikroenkapsüle ürünlerin timol ve karvakrol miktarlarının belirlendiği herhangi bir çalışmanın literatürde bulunamaması sebebiyle bu çalışmadan elde edilen veriler kıyaslanamamıştır.

4.7 Kekik yağında bulunan lutein miktarının enkapsülasyon ile değişiminin HPLC ile belirlenmesi

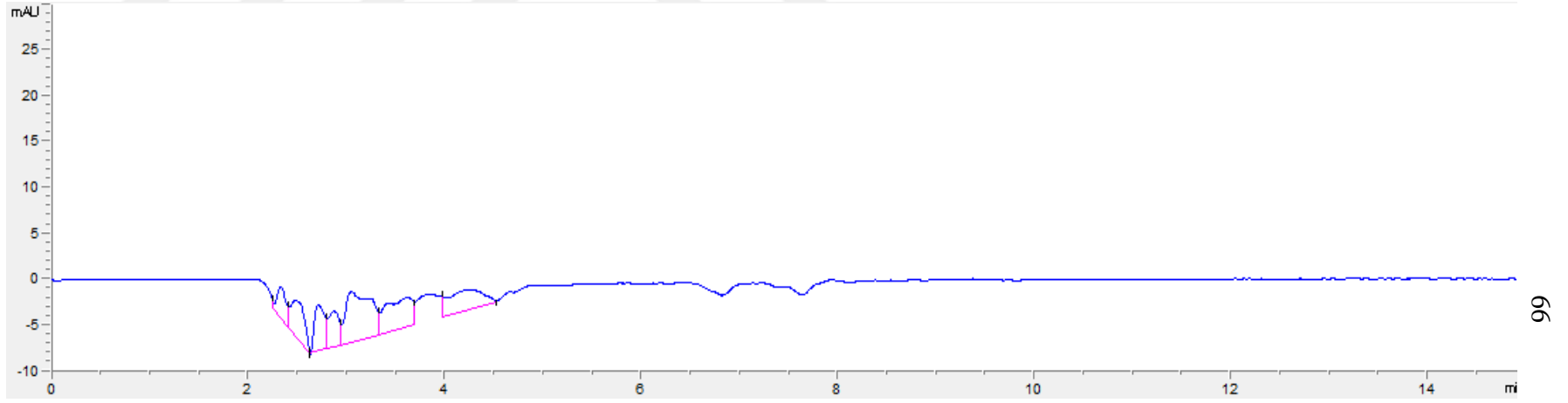
Lutein standardına ait olan kromatogram Şekil 4.8'de, 9 ml kekik esansiyel yağı ile hazırlanan mikrokapsüllere ait olan kromatogram Şekil 4.9'da, kekik

esansiyel yağına ait olan kromatogram Şekil 4.10'da ve kuru kekiğe ait olan kromatogram Şekil 4.11'de verilmiştir. Şekil 4.8 incelendiğinde, lutein pigmentinin alıkonma zamanı 8,072 dk olarak belirlenmiştir. Şekil 4.11 incelendiğinde de, kuru kekikte lutein pigmenti alıkonma zamanı 8,056 dk olarak tespit edilmiştir. Ek 6, Ek 7 ve Ek 8'de sırasıyla 11, 13 ve 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramları verilmiştir.

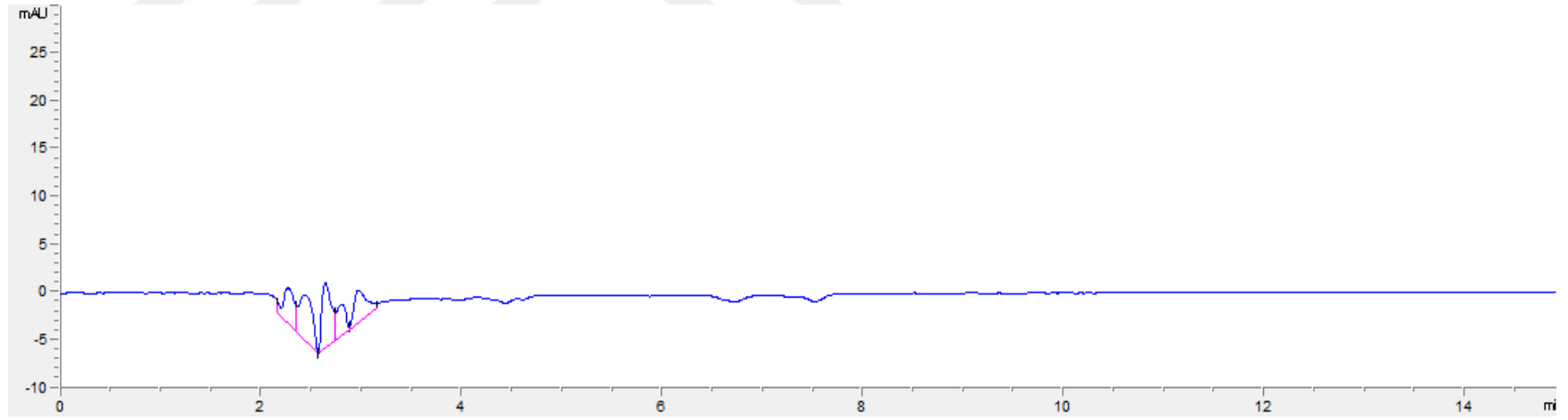
Bu çalışmada, analizlerde kullanılan kekik esansiyel yağının lutein pigmentini içermediği tespit edilmiştir. Bu sebeple kekik yağı içeren mikrokapsüllerde lutein miktarındaki değişim gözlenememiştir. Literatürde kekikte ya da kekik yağında lutein pigmentinin belirlendiği herhangi bir çalışmanın mevcut olmaması nedeniyle, bu çalışmadan elde edilen veriler herhangi bir kıyaslamaya tabi tutulamamıştır.



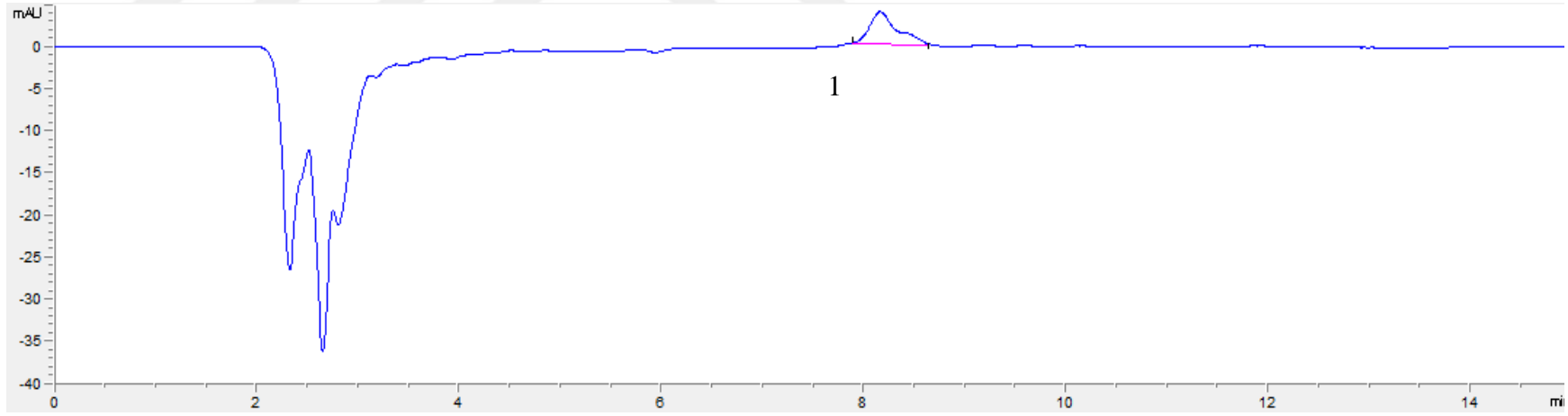
Şekil 4.8 Lutein standardına ait olan HPLC kromatogramı (1: lutein; alıkonma zamanı: 8,072 dk)



Şekil 4.9 9 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan HPLC kromatogramı



Şekil 4.10 Kekik esansiyel yağının HPLC kromatogramı



Şekil 4.11 Kuru kekiğin HPLC kromatogramı (1: lutein; alıkonma zamanı: 8,056 dk)

4.8 Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri

Mikroenkapsüle ürünlerde gerçekleştirilen antioksidan aktivite değerleri ve toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.4’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4 Mikrokapsüllerin ortalama toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri

Kekik yağı (ml)	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (mg GAE/kg)
9	42,31 ^d ± 0,17	158,88 ^d ± 0,08
11	43,14 ^c ± 0,01	188,94 ^c ± 0,25
13	46,89 ^b ± 0,01	216,94 ^b ± 0,08
15	54,65 ^a ± 0,04	248,50 ^a ± 0,04

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($p<0,05$).

Kekik yağı miktarındaki değişim ile örneklerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve aralarında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon elde edilmiştir ($p<0,01$). Aynı zamanda elde edilen her bir timol ve karvakrol miktarlarının toplam fenolik madde değerleri ve antioksidan aktivite değerleri ile aralarındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile incelendiğinde, aralarında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon elde edilmiştir ($p<0,01$).

4.8.1 Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı

Fenolik bileşenler hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktivitede etkin oldukları için esansiyel yağların karakterizasyonunda toplam fenolik madde miktarı önemli bir göstergedir (Dima et al. 2014b). Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarlarını tespit etmek amacıyla fenolik maddeler varlığında sodyum karbonat ile indirgenen Folin-Ciocalteu reaktifinin renk değişikliği incelenmiş ve miktarlar gallik asit cinsinden “mg/kg” olarak Çizelge 4.4’da verilmiştir. Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı analizine ait sonuçlar 158,88 ile 248,50 mg GAE/kg arasında belirlenmiştir.

Farklı miktarlarda kekik esansiyel yağı kullanarak hazırlanan mikrokapsül örneklerinin toplam fenolik madde miktarları kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Kekik yağı miktarındaki değişim ile elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklara rastlanılmıştır ($p<0,05$). Kekik yağı miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarlarında anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).

Çilek vd. (2012), vişneden elde ettikleri fenolik maddeleri içeren maltodekstrin ve arap zankı duvarlı dondurarak kurutma yöntemi ile elde ettikleri mikrokapsüllerin toplam fenolik madde içeriğini incelediklerinde çekirdek materyal/kaplama materyali oranı 1:10 olan mikrokapsüllerin 45,65 mg GAE/g ekstrakt, 1:20 olan mikrokapsüllerin 30,43 mg GAE/g ekstrakt olduğunu belirlemişlerdir.

Özdemir (2013), karabiber oleoresinini dondurarak kurutma tekniği ile beta-siklodekstrin kullanarak kaplamış ve elde ettiği mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarının $7637,63 \pm 263,62$ mg GAE/100 g oleoresin olduğunu tespit etmiştir.

Özgün (2015), HP- β -SD (2-hidroksipropil-beta-siklodekstrin) duvar materyalini kullanarak nane esansiyel yağının mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmiş ve elde ettiği mikrokapsüllerin içerdiği toplam fenolik madde miktarını $0,56 \pm 0,019$ mg GAE/100 mg yağ olarak tespit etmiştir.

Leong et al. (2016), kenaf tohumu yağını ko-ekstrüzyon teknolojisi ile sodyum aljinat, yüksek metoksil pektin ve kitosan duvar materyalleri ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin toplam fenolik madde içeriğini depolamanın ilk gününde $23,36 \pm 0,36$ mg GAE/100 g yağ olarak belirlemişlerdir.

Literatürde kompleks koaservasyon yöntemini takiben liyofilizatör ile kurutulan ürünlerin gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarlarının

belirlendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca, mikrokapsüllerde etken materyalin miktarı değiştirildiğinde toplam fenolik madde miktarı değişiminin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmamıştır. Bu sebeple elde edilen veriler, gallik asit cinsinden mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarlarının belirlendiği literatürle kıyaslanmış ve Leong et al. (2016)'nın çalışması haricinde literatürde bulunan toplam fenolik madde miktarlarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler, sadece Leong et al. (2016)'nın elde ettikleri değer ile benzerlik göstermektedir. Bu durumun mikrokapsülasyon işleminde yararlanılan yöntem farklılığından, çekirdek materyalin ve duvar materyallerinin cinsinden ve kullandıkları miktarlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.8.2 Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri

Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri, DPPH yöntemi ile % inhibisyon cinsinden ifade edilmiştir. DPPH yönteminde, DPPH serbest radikalinin antioksidanlara bağlanması sonucunda oluşan mor rengin şiddeti azalmaktadır. Bu azalmanın absorbans değerleri spektrofotometre yardımıyla ölçülmüş ve % inhibisyon cinsinden antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir. Kekik esansiyel yağının antioksidan aktiviteden sorumlu bileşenleri ana bileşenleri (karvakrol, timol) ve ikincil bileşenleridir (γ -terpinen, p-simen). Timol ve linalool gibi bileşenlerin yüksek antioksidan aktivite göstermesinin hidrojen verici olarak görev yapan hidroksil -OH grubu varlığının bir sonucu olduğu da yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (Bakkali et al., 2008; Dima et al., 2014b).

Farklı miktarlarda kekik esansiyel yağı kullanarak hazırlanan mikrokapsül örneklerinin antioksidan aktivite değerleri kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde, antioksidan aktiviteden sorumlu temel bileşenlere sahip olan kekik yağının mikrokapsülasyonu ile elde edilen mikrokapsüllerde de antioksidan özelliğinin devam ettiği, ayrıca kekik yağı miktarı arttıkça % inhibisyon değerlerinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$). Kekik yağı miktarındaki değişim ile elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar

olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Antioksidan aktivite analizi sonuçlarının % 42,31 ile % 54,65 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Nori et al. (2011), yaptıkları çalışmada iki farklı konsantrasyonda (2,5 ve 5 g/100 ml) propolis ekstraktı içeren mikrokapsüllerden tekrar 600, 1500 ve 3000 ppm konsantrasyonlarında örnekler hazırlayarak mikrokapsüllerin % inhibisyon cinsinden antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. 2,5 g/100 ml konsantrasyonu ile elde ettikleri mikrokapsüller için antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla % $15,97 \pm 1,20$, % $53,37 \pm 0,52$ ve % $84,10 \pm 0,45$ olduğunu, 5 g/100 ml konsantrasyonu ile elde ettikleri mikrokapsüller için antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla % $21,65 \pm 1,48$, % $56,40 \pm 0,81$ ve % $84,94 \pm 0,13$ olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri bulgular neticesinde, etken madde konsantrasyonunun artmasıyla antioksidan aktivite değerlerinin arttığını saptamışlardır.

Jain et al. (2016), kompleks koaservasyon yöntemi ile hazırladıkları kazein-geven otu zamlı duvarlı β -karoten yüklü mikrokapsüllerin üç aylık depolama süresince antioksidan aktivite değerlerini incelediklerinde yaklaşık olarak % 80 ile % 65 arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

Duman ve Kaya (2016), farklı konsantrasyonlarda (1, 2, 3, 4 ve 5 mg/ml) kişniş yağı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivitelerini incelediklerinde, 5 mg/ml konsantrasyonu ile elde ettikleri mikrokapsülün antioksidan aktivite değerinin % 49,8 olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları alışma sonucunda mikrokapsüllerin antioksidan etkisinin etken maddenin konsantrasyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Kekik esansiyel yağının farklı miktarlarda kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerinin belirlenmesi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple elde edilen analiz sonuçları antioksidan etkisi olan mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerinin belirlendiği literatürle kıyaslanmıştır. Etken maddelerin farklı olmasından ve etken maddenin kullanıldığı konsantrasyonların farklı olmasından kaynaklı antioksidan aktivite

değerleri arasında farklılıkların olduğu görülmektedir. Ayrıca, etken madde konsantrasyonunun artırılmasıyla elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerindeki artışın literatürle benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.9 Mikrokapsüllerin renk sonuçları

Mikrokapsül örneklerinin renk değerleri Çizelge 4.5’de görülmektedir. Ek 3’de ise mikrokapsül örneklerinin renkleri görülmektedir.

Farklı formülasyonlar ile hazırlanan mikrokapsüllerin aydınlık (L^*), kırmızılık (a^*), sarılık (b^*), kroma değeri (ΔC) ve Hue açısı (h^0) değerleri kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin renk değerleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında toplam biyopolimer miktarı sabit tutulup jelatin miktarı arttırıldığında aydınlık, sarılık ve kroma değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Kullanılan çapraz bağlayıcı miktarının (10, 15 ve 20 ml) ve kekik yağı miktarının (9, 11, 13 ve 15 ml) kademeli olarak arttırılması sonucunda ise aydınlık değeri ve Hue ($^\circ$) açısında anlamlı bir azalma, kırmızılık, sarılık ve kroma değerlerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.5 Mikrokapsüllerin ortalama renk değerleri

Jelatin (g)	Arap zamkı (g)	Yağ (ml)	Tannik asit (ml)	L^*	a^*	b^*	ΔC	h^0
1,5	4,5	11	15	88,13 ^c ± 0,005	0,61 ^e ± 0,005	14,39 ^a ± 0,004	14,40 ^a ± 0,004	87,58 ^c ± 0,019
3	3	11	15	87,02 ^e ± 0,005	1,41 ^c ± 0,000	14,15 ^c ± 0,005	14,22 ^b ± 0,005	84,31 ^e ± 0,002
4,5	1,5	11	15	84,62 ^h ± 0,021	0,00 ^h ± 0,015	13,13 ^e ± 0,019	13,13 ^d ± 0,019	89,99 ^a ± 0,003
3	3	11	20	84,89 ^g ± 0,004	1,46 ^b ± 0,007	14,32 ^b ± 0,005	14,39 ^a ± 0,005	84,19 ^f ± 0,029
3	3	9	10	89,08 ^a ± 0,067	0,06 ^g ± 0,016	11,45 ^h ± 0,062	11,45 ^g ± 0,062	89,68 ^b ± 0,080
3	3	11	10	88,55 ^b ± 0,012	0,51 ^f ± 0,004	12,16 ^g ± 0,025	12,17 ^f ± 0,026	87,61 ^c ± 0,021
3	3	13	10	87,49 ^d ± 0,000	1,02 ^d ± 0,004	12,53 ^f ± 0,005	12,57 ^c ± 0,007	85,34 ^d ± 0,016
3	3	15	10	85,48 ^f ± 0,005	1,47 ^a ± 0,005	13,67 ^d ± 0,005	13,75 ^c ± 0,005	83,85 ^g ± 0,021

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.5 incelendiğinde, jelatin/arap zamkı oranının 1:3, 1:1, 3:1 şeklinde değiştirilmesiyle elde edilen mikrokapsüllerin aydınlık (L^*) değerlerinin sırasıyla $88,13 \pm 0,005$, $87,02 \pm 0,005$ ve $84,62 \pm 0,021$, kırmızılık (a^*) değerlerinin sırasıyla $0,61 \pm 0,005$, $1,41 \pm 0,000$ ve $0,00 \pm 0,015$, sarılık (b^*) değerlerinin sırasıyla $14,39 \pm 0,004$, $14,15 \pm 0,005$ ve $13,13 \pm 0,019$, doygunluk indeksi olarak tanımlanan kroma (ΔC) değerlerinin sırasıyla $14,40 \pm 0,004$, $14,22 \pm 0,005$ ve $13,13 \pm 0,019$, renk tonunu gösteren Hue ($^\circ$) açısı değerlerinin ise $87,58 \pm 0,019$, $84,31 \pm 0,002$, $89,99 \pm 0,003$ olduğu tespit edilmiştir. Kroma değerindeki azalış sarı rengin canlılığını kaybedip soluklaştığını, Hue ($^\circ$) açısındaki azalışın ardından artış olması ise sarılığın içerisinde açık rengin ilk başta azaldığını daha sonra da arttığını ifade etmektedir. 4. formülasyon (3 g jelatin, 3 g arap zamkı, 11 ml kekik yağı, 20 ml tannik asit) ile üretilen mikrokapsüllerin aydınlık (L^*) değerinin $84,89 \pm 0,004$, kırmızılık (a^*) değerinin $1,46 \pm 0,007$, sarılık (b^*) değerinin $14,32 \pm 0,005$, kroma (ΔC) değerinin $14,39 \pm 0,005$ ve Hue ($^\circ$) açısı değerinin $84,19 \pm 0,029$ olduğu saptanmıştır. Kekik yağı miktarı (9, 11, 13 ve 15 ml) değiştirilerek elde edilen mikrokapsüllerin aydınlık (L^*) değerleri sırasıyla $89,08 \pm 0,067$, $88,55 \pm 0,012$, $87,49 \pm 0,000$ ve $85,48 \pm 0,005$, kırmızılık (a^*) değerleri sırasıyla $0,06 \pm 0,016$, $0,51 \pm 0,004$, $1,02 \pm 0,004$ ve $1,47 \pm 0,005$, sarılık (b^*) değerleri sırasıyla $11,45 \pm 0,062$, $12,16 \pm 0,025$, $12,53 \pm 0,005$ ve $13,67 \pm 0,005$, kroma (ΔC) değerleri sırasıyla $11,45 \pm 0,062$, $12,17 \pm 0,026$, $12,57 \pm 0,007$ ve $13,75 \pm 0,005$, Hue ($^\circ$) açısı değerleri ise sırasıyla $89,68 \pm 0,080$, $87,61 \pm 0,021$, $85,34 \pm 0,016$ ve $83,85 \pm 0,021$ olarak belirlenmiştir. Çapraz bağlayıcı miktarının (10, 15 ve 20 ml) ve kekik yağı miktarının (9, 11, 13 ve 15 ml) kademeli olarak artırılması ile mikrokapsüllerin kroma değerlerinde artış, Hue ($^\circ$) açısında azalış meydana gelmiştir. Bu durum mikrokapsüllerin renklerinde daha canlı sarılık ile artan belirginliği ve parlaklığın içerisinde koyu rengin şiddetinde artışı açıklamaktadır.

Zuanon et al. (2013), 35 günlük depolama süresinin zerdeçal oleoresini içeren jelatin-arap zamkı duvarlı mikrokapsüllerin renk özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Depolama süresi sonunda parlaklık değerlerinde artış olurken, kırmızılık, sarılık, kroma ve Hue ($^\circ$) açısı değerlerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Duvar materyalleri başlangıç konsantrasyonu % 2,5, çekirdek/duvar materyalleri oranı % 100 olduğunda elde ettikleri mikrokapsüllerin 0. günlerinde L^* , a^* , b^* , kroma değeri (ΔC) ve Hue açısı (h^0) değerlerinin sırasıyla 74,95,

11,06, 56,28, 78,88 ve 57,35 olarak, duvar materyalleri başlangıç konsantrasyonu % 5, çekirdek/duvar materyalleri oranı % 50 olduğunda da elde ettikleri mikrokapsüllerin 0. günlerinde L^* , a^* , b^* , kroma değeri (ΔC) ve Hue açısı (h°) değerlerinin sırasıyla 75,43, 11,23, 58,27, 79,09 ve 59,34 olduğunu saptamışlardır.

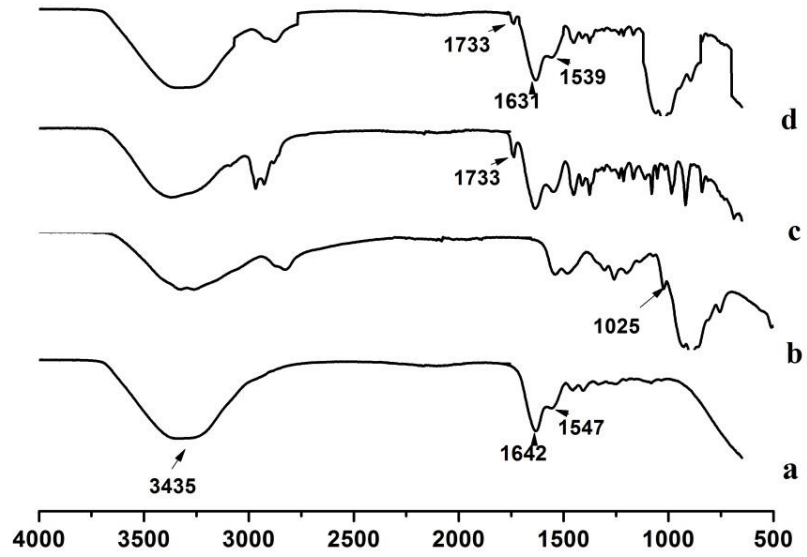
Gomez-Estaca et al. (2016), mikroenkapsülasyon işlemi sırasında kullandıkları jelatin-kaşu zankı kompleksi ile karides atıklarından elde ettikleri astaksantin içeren lipid ekstraktı mikrokapsüllerinin aydınlık (L^*) değerini $47,6 \pm 0,5$, kroma değerini (ΔC) $65,6 \pm 0,7$ ve Hue açısını (h°) $46,6 \pm 0,0$ olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen mikrokapsüllere ait renk özellikleri ile literatür kıyaslandığında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıkların mikroenkapsülasyonda kullanılan çapraz bağlayıcı ajan ile çekirdek ve duvar materyallerinin cinsine ve kullandıkları miktarlara bağlı olduğu düşünülmektedir.

4.10 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Duvar materyali olarak kullanılan jelatin ve arap zankı polimerleri ile çekirdek materyali olarak kullanılan kekik yağının ve elde edilen mikrokapsüllerin FTIR spektrumları Şekil 4.12'de verilmiştir.

Jelatinin ikincil yapısındaki değişiklikler ile jelatinin arap zankı ve çapraz bağlayıcılar arasındaki moleküler etkileşimleri, $3600-2300 \text{ cm}^{-1}$ (amid A, -OH ve NH gerilimini temsil eden), $3000-3100 \text{ cm}^{-1}$ (amid B, =C-H ve $-\text{NH}_3^+$ gerilimini temsil eden), $1600-1700 \text{ cm}^{-1}$ (amid I, C=O gerilimini ve NH eğilimini temsil eden) ve $1335-1560 \text{ cm}^{-1}$ (amid II, N-H eğilimini ve C-N gerilimini temsil eden) şeklinde dört bant bölgesinde incelenmektedir (Muyonga et al., 2004; Anvari and Chung, 2016).



Şekil 4.12 Jelatin (a), arap zamkı (b), kekik yağı (c) ve mikroapsüllerin (d) FTIR spektrumları

Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) çalışmasından elde edilen spektrumda, kekik yağının güçlü absorpsiyon pikinin 1733 cm^{-1} dalga boyunda olduğu tespit edilmiştir. Jelatin, farklı moleküler ağırlıklı polipeptitten oluşan amfoterik bir polimerdir (Peng et al., 2014). Şekil 4.9'da verilen jelatinin FTIR spektrumu incelendiğinde, amino grubu için 3435 cm^{-1} 'deki dalga boyunda karakteristik fonksiyonel grubun varlığının ortaya çıktığı ve diğer göze çarpan piklerin 1547 cm^{-1} 'deki bir amino bandından ve 1642 cm^{-1} 'deki bir karbonil pikinden kaynaklandığı saptanmıştır. Arap zamkı ise, L-arabinoz, L-ramnoz, D-galaktoz ve D-glukuronik asitten oluşan oldukça dallı bir polisakarittir (Yang et al., 2015). 1025 cm^{-1} 'deki arap zamkı bantlarının C-O-C yapısının asimetrik geriliminden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Şekil 4.12'de gösterildiği gibi kekik yağı içeren jelatin-arap zamkı duvarlı mikroapsüllerin FTIR spektrumu incelendiğinde, kekik yağı karbonil gerilim bandının 1733 cm^{-1} dalga boyunda değişmeden kaldığı için, kekik yağının jelatin-arap zamkı tarafından başarıyla kapsüllendiği ve kekik yağı içeren jelatin-arap zamkı mikroapsüllerinin elde edildiği sonucuna varılmıştır. Mikroapsüllerin FTIR spektrumunda, 1539 cm^{-1} dalga boyunda yeni bir bandın görünmesi ise, jelatin-arap zamkı polielektrolit kompleksinin meydana geldiğini göstermiştir.

Ayrıca, kekik yağı ile jelatin-arap zankı kompleksi arasında belirgin bir etkileşimin olmadığı tespit edilmiştir.

Rocha-Selmi et al. (2013a), jelatinin amin gruplarından dolayı asidik ortamda pozitif yüklü bir protein olduğunu ve arap zankının da bu moleküle negatif yük getiren serbest karboksil gruplarına sahip olan bir polisakkarit olduğunu bildirmişlerdir. Kompleks koaservasyon işlemi sırasında, polisakkaritlerden gelen karboksil gruplarının protein içeren amino grupları ile etkileşmesi sonucunda kompleks içeren bir amid oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Jelatin-arap zankı duvar materyalleri ile kapsüllenmiş ve kapsüllenmemiş sukralozun FTIR spektrumlarını incelediklerinde $1500-1640\text{ cm}^{-1}$ civarında görünen karakteristik piklerin, amidlerin oluşumunu gösterdiğini belirtmişlerdir.

Xiao et al. (2014b), yaptıkları FTIR çalışmasında jelatinin 1420 cm^{-1} 'de bir amino bandını ve 1594 cm^{-1} 'de bir karbonil pikini, arap zankının ise 1596 cm^{-1} 'de karboksil grupların karakteristik pikini gösterdiği belirlenmiştir. Boş spektrumda belirlenen amidlerin karakteristik pikleri yaklaşık $1482-1640\text{ cm}^{-1}$ 'de görüntülendiği için bir koaservat oluşumunun kanıtlandığını ifade etmişlerdir. Karbonil gerilim bandından kaynaklanan lavanta yağının güçlü absorpsiyon piki 1740 cm^{-1} dalga boyunda tespit edilmiştir. C-C ve C-O gerilim titreşimi lavanta yağı yüklü mikrokapsüllerin spektrumlarında neredeyse hiç değişmeden kalmıştır (Maji and Hussain, 2009). Spektrumlardan elde ettikleri sonuçlara göre, jelatin-arap zankı kompleksi ile lavanta yağı arasında önemli bir etkileşimin olmadığını belirlemişlerdir.

Peng et al. (2014), haşhaş tohumu yağı içeren jelatin-arap zankı mikrokapsüllerinin FTIR spektrumlarını incelediklerinde yaklaşık 1652 cm^{-1} ve 1541 cm^{-1} 'de amid bağının oluştuğunu gösteren ve mikrokapsüllerin duvar materyallerinin genipin ile çapraz bağlandığını onaylayan en yüksek piklerin görüldüğünü bildirmişlerdir.

Yang et al. (2015), yaptıkları FTIR çalışmasında jelatin ve arap zankı spektrumlarında, 3400 cm^{-1} 'deki bantların -OH gerilim grubundan kaynaklandığını, 1650 cm^{-1} dalga boyundaki absorbansın -C=O'nun asimetrik ve

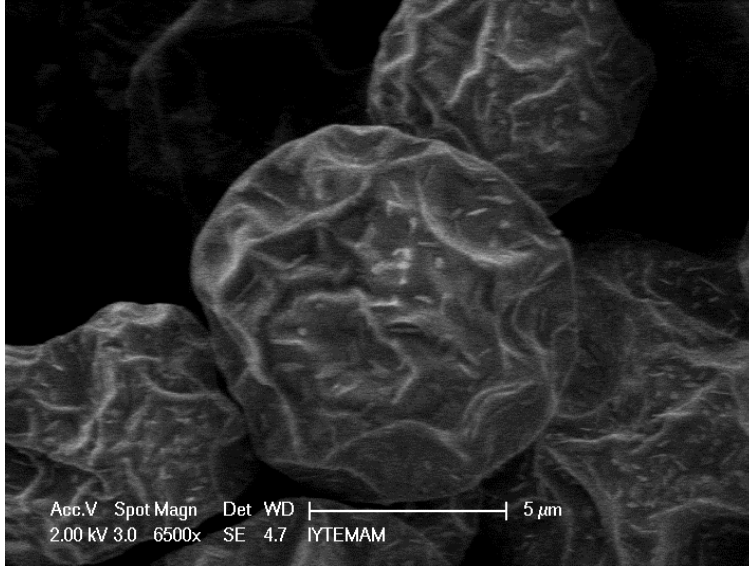
simetrik gerilimlerinden kaynaklandığını ve 2900 cm^{-1} dalga boyundaki karakteristik piklerin ise -CH geriliminden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Arap zımkı spektrumunda 1050 cm^{-1} 'de bulunan bantların C-O-C yapısının asimetrik gerilimine ait olduğunu ifade etmişlerdir. Jelatin spektrumunda -NH₂'nin gerilim titreşimi absorpsiyonunu 3400 cm^{-1} 'de, -NH₂'nin eğilim titreşimini de 1650 cm^{-1} 'de gözlemlenmişlerdir. Ayrıca mikrokapsüllerin spektrumunu incelediklerinde yukarıda bahsedilen karakteristik piklerin yağ ve duvar materyalleri arasında herhangi bir değişiklik veya etkileşime uğramadığını ifade etmişlerdir. Jelatin ve arap zımkı spektrumlarını karşılaştırdıklarında, 1650 cm^{-1} dalga boyunda bulunan -C=O'ya ait olan bantın hafifçe sola doğru hareket ettiğini ve elde ettikleri bulgulara göre haşhaş tohumu yağının mikrokapsüller içinde kapsüllenebilir olduğunu bildirmişlerdir.

García-Saldaña et al. (2016), brokoli tohum ekstraktlarından elde ettikleri sülforafanı içeren mikrokapsüllerin jelatin, arap zımkı ve jelatin-arap zımkı kompleksinin FTIR spektrumlarını incelediklerinde, jelatinin 600-1700 cm^{-1} bölgesinde karakteristik bantlara sahip olduğunu, özellikle C=O peptid bağlarının gerilim titreşiminden kaynaklanan 1600-1700 cm^{-1} bölgesindeki amid I bantının olduğunu bildirmişlerdir. Arap zımkının 600-3000 cm^{-1} 'lik bölgelerde karakteristik bantlara sahip olduğunu ve spektrumunu incelediklerinde 1013.16, 1418.37, 1595.89 ve 1654.55 cm^{-1} dalga boylarında pikler olduğunu tespit etmişlerdir. Mikrokapsüllerin FTIR spektrumunda, 1540-1640 cm^{-1} bölgesinde bulunan karakteristik amid bantlarının jelatin-arap zımkı kompleksinin oluşumunu gösterdiğini ve sülfoksit grubu titreşimine ait karakteristik sülforafan bantının 1020-1021 cm^{-1} bölgesinde değişmeden kalmasından dolayı sülforafanın jelatin-arap zımkı tarafından başarıyla kapsüllendiğini saptamışlardır.

Bu çalışmada elde edilen veriler ile literatürde bulunan jelatin-arap zımkı duvarlı mikrokapsüllerin incelendiği çalışmalar kıyaslandığında, mikrokapsül içerisindeki fonksiyonel yapıların enerji absorplamalarıyla ortaya çıkan piklerin dalga boylarının büyük ölçüde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.11 Taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (SEM)

Jelatin/arap zımkı duvar materyalleri ile elde edilen kekik yağı içeren mikrokapsüllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü 6500 kat büyütme oranı ile Şekil 4.13’de verilmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin morfolojileri SEM görüntüsünden incelendiğinde, liyofilizasyon işleminde sonra kurutulmuş kapsüllerin kümelenmeden küresel bir formda oldukları ve yüzeylerinde krater benzeri yapılara sahip oldukları gözlenmiştir. Belirgin gözeneklilikleri ve çatlakları olmayan mikrokapsüllerin kesiksiz duvarlara sahip olmasından ve mikrokapsüllerin zarar görmemesinden dolayı, liyofilizasyon işleminin yeterli olduğu görülmüştür.



Şekil 4.13 Jelatin/arap zımkı duvar materyalleri ile elde edilen kekik yağı içeren mikrokapsüllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü (6500x)

Dong et al. (2011), nane yağı içeren jelatin-arap zımkı duvar materyalleri ile elde ettikleri mikrokapsüllerin yüzey morfolojisini belirlemek amacıyla yaptıkları taramalı elektron mikroskobu çalışmasında kurutulmuş koaservat mikrokapsüllerinin küresel şekle ve monodispers özelliklere sahip olduğunu, aynı zamanda yüzeylerinin kesiksiz ve pürüzsüz olduğunu belirtmişlerdir.

Qv et al. (2011), püskürterek kurutma ve dondurarak kurutma işlemleri ile kurutulan lutein içeren mikrokapsüllerin morfolojik özelliklerini belirlemek ve

birbirleriyle kıyaslayabilmek için taramalı elektron mikroskobu çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada, püskürterek kurutma ile kurutulan mikrokapsüller küresel bir görünüme ve pürüzsüz bir yüzeye sahip iken, dondurarak kurutulan mikrokapsüllerin dondurarak kurutma işlemi sırasında su içeriğinin kaybı nedeniyle yüzeyinde kendine özgü katlanmaların ve hafif çatlakların olduğunu ifade etmişlerdir.

Siow and Ong (2013), A veya B tipi jelatin ile arap zankı duvar materyallerini kullanarak elde ettikleri sarımsak yağı içeren mikrokapsüllerin morfolojisini belirlemek için yaptıkları taramalı elektron mikroskobu çalışmasından elde ettikleri sonuçlara göre mikrokapsüllerin küre şeklinde ve pürüzsüz yüzeye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, yüksek büyütme oranında hem A hem de B tipi jelatin-arap zankı sistemleri için mikrokapsüllerin yüzeyinde küçük kubbe ve krater benzeri yapılar gözlemlendiğini, ancak yüzey üzerinde delik bulunmadığını bildirmişlerdir.

Xiao et al. (2014b), jelatin-arap zankı duvar materyalleri ile elde edilen ve dondurarak kurutulan lavanta yağı yüklü mikrokapsüllerin yapısının ve görünüşünün incelenmesi amacıyla yaptıkları taramalı elektron mikroskobu çalışmasında mikrokapsüllerin farklı boyutlarda dağılmış olduğunu, mükemmel olmasa da bir küresel şekle ve kırışık yüzeylere sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Peng et al. (2014), hardal tohumu esansiyel yağını içeren dondurarak kurutulmuş ve genipin ile çapraz bağlanmış mikrokapsüllerin yüzey morfolojisini belirlemek için yaptıkları taramalı elektron mikroskobu çalışmasında mikrokapsüllerin düzgün küresel bir şekle sahip olduğunu ve yüksek büyütme oranında mikrokapsüllerin bariz delikler olmaksızın pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Bununla birlikte, taramalı elektron mikroskobu çalışmasında pürüzlü mikrokapsüllere de rastlanılmıştır. Yüksek büyütme oranında bu mikrokapsüllerin küçük kırışıklıkları ve çatlakları olduğu tespit edilmiş ve dondurarak kurutma işlemi sırasında su içeriği kaybı nedeniyle olduğu ifade edilmiştir.

Yang et al. (2015), farklı jelatin-arap zankı duvar materyali oranları ile elde ettikleri mikrokapsüllerin morfolojilerini belirlemek için taramalı elektron mikroskobu çalışması yapmışlardır. Arap zankı ve jelatinin yüksek viskoziteye sahip olmasından dolayı arap zankı ve jelatin miktarı fazlasının mikrokapsülleri daha yapışkan hale getirdiğini ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışma da, jelatin miktarının en az olduğu mikrokapsüllerin pürüzsüz bir yüzeye, düzgün dağılıma ve küresel şekle sahip olduğunu, jelatin miktarını arttırdıklarında ciddi kümelenme problemleri gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Elde edilen bu sonuçlar ışığında, diğer araştırmacıların yürüttükleri çalışmaların sonuçlarını incelediğimizde sonuçların birbiriyle tutarlı olduğu tespit edilmiştir (Dong et al., 2011; Qv et al., 2011; Siow and Ong, 2013; Xiao et al., 2014b; Peng et al., 2014; Yang et al., 2015).

4.12 Şeftali suyu örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında ve pH değerinde meydana gelen değişimler

Depolama süresince kontrol ve zenginleştirilmiş şeftali suyu örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında ve pH değerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Zenginleştirilmiş (150 ml şeftali suyuna 0,5 g kekik yağı içeren mikrokapsül ilavesi) ve zenginleştirilmemiş (kontrol) şeftali suyu örneklerinin depolama süresince toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları ile pH değerleri kendi içinde incelenerek aralarındaki farklılık istatistiksel açıdan tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Kontrol örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar olduğu ($p<0,05$), ancak kontrol ve zenginleştirilmiş örneklerin 0. gün sonuçları arasında fark olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresince kontrol örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Şeftali suyu örneklerinin pH değerleri arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Depolama süresince kontrol ve zenginleştirilmiş örneklerin pH değerlerinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.6 Depolama süresince şeftali suyu örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki ve pH değerlerindeki değişimler

Örnekler	Depolama süresi	Toplam mezofilik aerobik bakteri (log cfu/g)	pH değerleri
Kontrol	0.Gün	2,83 ^c ± 0,11	3,44 ^d ± 0,02
	5.Gün	6,88 ^b ± 0,28	3,54 ^{bc} ± 0,01
	7.Gün	7,67 ^a ± 0,28	3,56 ^{ab} ± 0,01
Zenginleştirilmiş	0.Gün	2,33 ^c ± 0,37	3,50 ^c ± 0,01
	5.Gün	< 2,00	3,56 ^{ab} ± 0,01
	7.Gün	< 2,00	3,58 ^a ± 0,02

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.6 incelendiğinde, depolamanın 0., 5. ve 7. günlerinde kontrol örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları sırasıyla $2,83 \pm 0,11$, $6,88 \pm 0,28$ ve $7,67 \pm 0,28$ log cfu/g olarak tespit edilmiştir. Başlangıç toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının depolama sonunda 4,84 logaritmik birim arttığı belirlenmiştir. Kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüller ile zenginleştirilmiş şeftali suyu örneklerinin başlangıç toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı $2,33 \pm 0,37$ olarak bulunurken, depolamanın 5. ve 7. gününde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 2,00 log cfu/g'dan küçük olarak belirlenmiştir. Kekik esansiyel yağı bileşenlerinden timol, karvakrol, p-simen, α -pinen ve kamfenin antimikrobiyal etkileri olduğu bilinmektedir (Duman vd., 2012). Bu sebeple depolamanın 5. ve 7. gününde mikrokapsüllerin etkisini göstermesi ile birlikte toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı yapılamamıştır.

Depolama süresince kontrol örneklerinin pH değerleri sırasıyla $3,44 \pm 0,02$, $3,54 \pm 0,01$ ve $3,56 \pm 0,01$ olarak, zenginleştirilmiş örneklerin pH değerleri ise sırasıyla $3,50 \pm 0,01$, $3,56 \pm 0,01$ ve $3,58 \pm 0,02$ olarak arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Burgos et al. (2017), yaptıkları çalışmada yüksek hidrostatik basınç uygulamasının şeftali suyu içerisindeki şeftali küplerinin bakteriyel biyoçeşitliliği üzerine etkisini incelemişlerdir. Depolamanın 0., 1., 7. ve 15. günlerinde kontrol örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarını sırasıyla $4,36 \pm 0,09$, $4,00 \pm 0,23$, $5,89 \pm 0,22$ ve $6,02 \pm 0,17 \log_{10}$ cfu/mL olarak, pH değerlerini ise sırasıyla $3,71 \pm 0,01$, $3,68 \pm 0,03$, $3,80 \pm 0,04$ ve $3,90 \pm 0,02$ olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllerin şeftali suyuna ilave edilmesi ile birlikte depolamanın ilerleyen günlerinde antimikrobiyal özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde esansiyel yağ içeren mikrokapsüllerin bir gıda yapısına ilave edilmesi ve depolanması sonucunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı üzerine mikrokapsüllerin etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple, sadece kontrol örneklerinin verileri literatürle kıyaslanmış ve Burgos et al. (2017)'nin elde ettikleri değerler ile benzer şekilde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ve pH değerlerinin depolama süresince arttığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, analizlerde kullanılan kekik esansiyel yağı karakterize edilmiş ve kekik esansiyel yağının bileşiminde bulunan timol ve karvakrol bileşenlerinin çevre koşullarına karşı stabilitesini arttırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla çekirdek materyal olarak kekik esansiyel yağı, duvar materyali olarak jelatin ve arap zamkı, çapraz bağlayıcı ajan olarak da tannik asit kullanılmış ve kekik yağının kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Literatürde bu konuda herhangi bir çalışma bulunmamaktadır, bu konuda yapılan ilk çalışma olması bakımından özgün değeri yüksek bir çalışmadır. Elde edilen kekik yağı içeren mikrokapsüller üzerine mikroenkapsülasyon parametrelerindeki değişimlerin etkileri belirlenmiştir. Bu kapsamda mikrokapsüllerin yağ yükü (%), yağ içeriği (%), mikroenkapsülasyon verimi (%), salım oranı (%), DPPH ile antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve morfolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kekik esansiyel yağını içeren mikrokapsüllerin timol ve karvakrol miktarları ile lutein içerikleri tespit edilmiştir. Ayrıca şeftali suyu üretimi yapılmış ve optimum koşullarda üretilen mikrokapsüller örneklere ilave edilmiştir. 7 günlük depolama süresince kontrol örneğinde ve zenginleştirilmiş örnekte pH ölçümü ile toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı yapılmıştır.

Kekik esansiyel yağının GC/MS analizi sonucunda yağ içeriğinin % 5,53'lük kısmı eser düzeydeki bileşenlere (\leq % 1) karşılık gelmekte olup, geri kalan kısmı α -pinen (% 11,90), m-simen (% 5,27), p-simen (% 8,25), o-simen (% 12,60), γ -terpinen (% 2,60), linalool (% 8,93), 2-(2-butynyl)cyclohexanone (% 6,14), timol (% 17,25), karvakrol (% 1,03), caryophyllene oxide (% 7,94), chrysophanol dimethyl ether (% 1,21) ve 2-ethyl-4,5-dimethylphenol (% 1,65) kekik yağı temel bileşenlerinden oluştuğu tespit edilmiştir.

Kekik esansiyel yağının % 0,3 Tween 80 içerisindeki çözeltilerinin 200-400 nm aralığında UV spektrumları incelendiğinde, çözeltilerin maksimum absorpsiyon gösterdikleri dalga boyu (λ_{max}) 230 nm olarak tespit edilmiştir. Mikroenkapsülasyon işlemine kullanılan jelatin-arap zamkı duvar materyallerinin miktarları oranındaki, kekik esansiyel yağı (*Thymus vulgaris* L.)

ve tannik asit miktarlarındaki değişimlerin mikrokapsüllerin yağ yükü, yağ içeriği ve mikroenkapsülasyon verimi üzerine etkileri tespit edilmiştir. Buna göre jelatin içeriği 4,5 g, arap zımkı içeriği 1,5 g, tannik asit çözeltisi içeriği 15 ml ve kekik esansiyel yağı içeriği 11 ml olan 3. formülasyon ile elde edilen mikrokapsüllerin en iyi mikroenkapsülasyon verimi değerine % 70,09±1,86 sahip olduğu saptanmıştır. Jelatin ve tannik asit miktarlarının arttırılması ile birlikte mikrokapsüllerin duvar yapısının sıkılaştığı ve dolayısıyla kekik esansiyel yağının mikrokapsüllerden salımının zorlaştığı, mikrokapsüllerdeki kekik esansiyel yağı miktarının arttırılması ile de mikrokapsüllerin duvar kalınlığının azalması ve akabinde salımın kolaylaştığı belirlenmiştir.

Kekik yağı miktarı kademeli olarak 9, 11, 13 ve 15 ml'ye arttırıldığında elde edilen mikrokapsüllerin mg/kg cinsinden timol ve karvakrol miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile belirlenmiştir. En yüksek timol (15722,09 ± 0,004 mg/kg) ve karvakrol (1431,30 ± 0,003 mg/kg) miktarı, kekik yağı miktarının en yüksek olduğu mikrokapsüllerde (3:3 jelatin/arap zımkı, 10 ml tannik asit ve 15 ml kekik yağı) belirlenmiş olup, kekik yağı miktarı arttıka mikroenkapsüle ürünlerde timol ve karvakrol miktarlarının arttığı tespit edilmiştir. Mikrokapsül örneklerine ait olan kromatogramlar incelendiğinde, karvakrol ve timol bileşenlerinin alıkonma zamanları sırasıyla yaklaşık 12. ve 13.dk'larda olduğu belirlenmiştir.

Kekik yağı içeren mikrokapsüllerde lutein miktarlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile analizlerde kullanılan kekik esansiyel yağının lutein pigmentini içermediği tespit edilmiştir. Bu sebeple kekik yağı içeren mikrokapsüllerde lutein miktarındaki değişim belirlenememiştir.

Antioksidan aktiviteden sorumlu bileşenlere (karvakrol, timol, linolool, γ -terpinen, p-simen) sahip olan kekik esansiyel yağının mikroenkapsülasyonu ile elde edilen mikrokapsüllerde de antioksidan özelliğinin devam ettiği, ayrıca kekik yağı miktarı arttıka % inhibisyon değerinin arttığı gözlenmiştir. Antioksidan aktivite analizi sonuçlarının % 42,31 ile % 54,65 arasında değiştıği tespit edilmiştir. Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarı analizine ait sonuçlar

ise 158,88 ile 248,50 mg GAE/kg arasında belirlenmiştir. Kekik yağı miktarı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarlarında artış olduğu tespit edilmiştir.

Mikrokapsüllerin renk değerlerinin belirlendiği çalışmada, toplam biyopolimer miktarı sabit tutulup jelatin miktarı arttırıldıkça aydınlık (L^*), sarılık (b^*) ve kroma (ΔC) değerlerinde azalma gözlenmiştir. Mikrokapsüllerin eldesinde kullanılan çapraz bağlayıcı miktarının (10, 15 ve 20 ml) ve kekik yağı miktarının (9, 11, 13 ve 15 ml) kademeli olarak arttırılması sonucunda ise parlaklık değerinin ve Hue ($^\circ$) açısının azaldığı, kırmızılık, sarılık ve kroma değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Kekik esansiyel yağı içeren jelatin-arap zamkı duvarlı mikrokapsüllerin FTIR spektrumu incelendiğinde, kekik yağı karbonil gerilim bandının 1733 cm^{-1} dalga boyunda değişmeden kaldığı için, kekik yağının jelatin-arap zamkı tarafından başarıyla kapsüllendiği ve kekik yağı içeren jelatin-arap zamkı mikrokapsüllerinin elde edildiği sonucuna varılmıştır. Mikrokapsüllerin FTIR spektrumunda, 1539 cm^{-1} dalga boyunda yeni bir bandın görünmesi ise, jelatin-arap zamkı polielektrolit kompleksinin meydana geldiğini göstermiştir. Ayrıca, kekik yağı ile jelatin-arap zamkı kompleksi arasında belirgin bir etkileşimin olmadığı tespit edilmiştir.

Elde edilen mikrokapsüllerin morfolojileri SEM görüntüsünden incelendiğinde, liyofilizasyon işleminden sonra kurutulmuş kapsüllerin kümelenmeden küresel bir formda oldukları ve yüzeylerinde krater benzeri yapılara sahip oldukları gözlenmiştir.

Kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllerin şeftali suyuna ilave edilmesi ve depolanması örneklere antimikrobiyal özellik kazandırmıştır. Örneklerin pH değerlerinin ise depolama süresince arttığı belirlenmiştir.

Günümüzde gıda endüstrisinde kompleks koaservasyon yöntemi ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle gıda bileşenlerinin stabilitesini arttırmak için yapılmaktadır. Ancak, elde edilen mikrokapsüllerin gıdalara uygulanabilirliğini arttırmak için kullanılan çekirdek materyal, duvar materyali ve çapraz bağlayıcı

ajanın gıdaya ve sağlık üzerine uygunluğu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmalıdır. Gelecekte gıdaların zenginleştirilmesinde kompleks koaservasyon yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin kullanılacağı çalışmaların artacağı öngörülmektedir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbo, S., Bonfil, D.J., Kerem, Z., Berkovitch, Z. and Reifen, R.,** 2010, Towards enhancing lutein concentration in chickpea, cultivar and management effects, *Plant Breeding*, 129: 407-411 pp.
- Ach, D., Briançon, S., Broze, G., Puel, F., Rivoire, A., Galvan, J.M. and Chevalier, Y.,** 2015, Formation of microcapsules by complex coacervation, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93: 183-191 pp.
- Ahmadi, N., Nasirpour, A., Sheikhzeinodin, M. and Keramat, J.,** 2015, Microencapsulation of Ubiquinone Using Complex Coacervation for Functional Yoghurt, *Food Science and Biotechnology*, 24(3): 895-904 pp.
- Alvim, I.D. and Grosso, C.R.F.,** 2010, Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4): 1069-1076 pp.
- Angelov, I., Bermejo, D.V., Stateva, R.P., Reglero, G., Ibanez, E. and Fornari, T.,** 2013, Extraction of Thymol from Different Varieties of Thyme Plants Using Green Solvents, III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia), 1-7 pp.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., and Cabras, P.,** 2006, Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12): 4364-4370 pp.
- Augustin, M.A. and Hemar, Y.,** 2009, Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients, *Chemical Society Reviews*, 38: 902–912 pp.
- Anvari, M. and Chung, D.,** 2016, Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin-Gum arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid, *Food Hydrocolloids*, 60: 516-524 pp.
- Aziz, S., Gill, J., Dutilleul, P., Neufeld, D. and Kermasha, S.,** 2014, Microencapsulation of krill oil using complex coacervation, *Journal of Microencapsulation*, 31(8): 774-784 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- BAM (Bacteriological Analytical Manual)**, 2001, “Chapter 3, Aerobic Plate Count”, <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.htm> (Erişim tarihi: 14 Temmuz 2017).
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M.**, 2008, Biological effects of essential oils - A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475 pp.
- Bakry, A.M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M.Y., Mousa, A. and Liang, L.**, 2016, Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15: 143-182 pp.
- Başığit, B., Hayoğlu, İ. ve Atasoy, F.**, 2017, Kekik Esansiyel Yağı ve Mikroenkapsülasyon Uygulamaları, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 7(1/2): 63-70 s.
- Bayaz, M.**, 2014, Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Akademik Gıda*, 12(3): 45-53 s.
- Bosnea, L.A., Moschakis, T. and Biliaderis, C.G.**, 2014, Complex Coacervation as a Novel Microencapsulation Technique to Improve Viability of Probiotics Under Different Stresses, *Food and Bioprocess Technology*, 7: 2767-2781 pp.
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Golet, I., Gruia, A.T. and Horhat F.G.**, 2014, *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity, *Journal of Medicine and Life Volume*, 7(3): 56-60 pp.
- Brand-Williams, W., Cuveller, M., Berset, C.**, 1995, Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30 pp.
- Buldur, M.**, 2012, Encapsulation of Food Flavours via Coacervation Method, MSc Thesis, Istanbul Technical University, Graduate School of Science Engineering and Technology, 53p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burgos, M.J.G., Aguayo, M.C.L., Pulido, R.P., Gálvez, A. and Lucas, R.,** 2017, Analysis of the bacterial biodiversity of peaches under refrigerated storage after treatment by high hydrostatic pressure, *Food and Bioprocess Processing*, 102: 55-61 pp.
- Calvo, P., Hernandez, T., Lozano, M. and Gonzalez-Gomez, D.,** 2010, Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112: 852-858 pp.
- Celli, G.B., Ghanem, A. and Brooks, M.S.L.,** 2015, Bioactive encapsulated powders for functional foods-a review of methods and current limitations, *Food Bioprocess Technology*, 8:1825-1837 pp.
- Chang, C.P., Leung, T.K., Lin, S.M. and Hsu, C.C.,** 2006, Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 50: 136-140 pp.
- Comunian, T.A., Boillon, M.R.G., Thomazini, M., Nogueira, M.S., Castro, I.A. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2016, Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds, *Food Research International*, 88: 114-121 pp.
- Comunian, T.A. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2016, Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review, *Food Hydrocolloids*, 61: 442-457 pp.
- Çilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S. ve Sumnu, G.,** 2012, Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio, *European Food Research and Technology*, 235: 587-596 pp.
- Desai, K.G.H. and Park, H.J.,** 2005, Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying Technology*, 23: 1361-1394 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Devi, N. and Maji, T.K.**, 2009a, A novel microencapsulation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil (NSO) in polyelectrolyte complex of kappa-carrageenan and chitosan, *Journal of Applied Polymer Science*, 113: 1576-1583 pp.
- Devi, N. and Maji, T.K.**, 2009b, Effect of crosslinking agent on Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil (NSO) encapsulated microcapsules of κ -carrageenan and chitosan polyelectrolyte complex, *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 46: 1114-1121 pp.
- Devi, N. and Kakati, D.K.**, 2013. Smart porous microparticles based on gelatin/sodium alginate polyelectrolyte complex, *Journal of Food Engineering*, 117: 193-204 pp.
- Dickinson, E.**, 2003, Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocolloids*, 17: 25-39 pp.
- Dima, C., Cotârlet, M., Alexe, P. and Dima, S.**, 2014a, Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22: 203-211 pp.
- Dima, C., Cotârlet, M., Tiberius, B., Bahrim, G., Alexe, P. and Dima, S.**, 2014b, Encapsulation of Coriander Essential Oil in Beta-Cyclodextrin: Antioxidant and Antimicrobial Properties Evaluation, *Romanian Biotechnological Letters*, 19 (2): 9128-9140 pp.
- Dong, Z.J., Touré, A., Jia, C.S., Zhang, X.M. and Xu, S.Y.**, 2007, Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation, *Journal of Microencapsulation*, 24(7): 634-646 pp.
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S. and Zhang, X.**, 2011, Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation, *Journal of Food Engineering*, 104: 455-460 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Duman, M., Emir Çoban, Ö. ve Özpolat, E.,** 2012, Biberiye ve Kekik Esansiyel Yağları Katkısının Marine Edilmiş Kerevitlerin (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) Raf Ömrüne Etkisinin Belirlenmesi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(5): 745-751 s.
- Duman, F. ve Kaya, M.,** 2016, Crayfish chitosan for microencapsulation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil, *International Journal of Biological Macromolecules*, 92: 125–133 pp.
- Eratte, D., Wang, B., Dowling, K., Barrow, C.J. and Adhikari, B.P.,** 2014, Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil, *Food Function*, 5: 2743–2750 pp.
- Fuguet, E., Platerink, C. and Janssen, H.G.,** 2007, Analytical characterisation of glutardialdehyde cross-linking products in gelatine-gum arabic complex coacervates, *Analytica Chimica Acta*, 604: 45-53 pp.
- García-Saldaña, J.S., Campas-Baypoli, O.N., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D.I., Cantú-Soto, E.U. and Rodríguez-Ramírez, R.,** 2016, Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes, *Food Chemistry*, 201: 94–100 pp.
- Gibbs, B.F., Kermasha, S., Alli, I. and Mulligan, C.N.,** 1999, Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50: 213–224 pp.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R.,** 2007, Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40: 1107–1121 pp.
- Ghosh, S.K.,** 2006, Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGAA, Weinheim, 1-28 pp.
- Gonçalves, A., Estevinho, B.N. and Rocha, F.,** 2016, Microencapsulation of vitamin A: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 51: 76-87 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gomez-Estaca, J., Comunian, T.A., Montero, P., Ferro-Furtado, R. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2016, Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatine-cashew gum complex, *Food Hydrocolloids*, 61: 155-162 pp.
- Gouin, S.,** 2004, Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, *Trends in Food Science & Technology*, 15: 330-347 pp.
- Gülsünoğlu, Z.,** 2013, Koaservasyon Yönteminin Model Mikroorganizmalarda Canlılık Korunumuna Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 53s.
- Hajimehdipoor, H., Shekarchi, M., Khanavi, M., Adib, N. and Amri, M.,** 2010, A validated high performance liquid chromatography method for the analysis of thymol and carvacrol in *Thymus vulgaris* L. volatile oil, *Pharmacognosy Magazine*, 6(23): 154-158 pp.
- Hussain, M.R. and Maji, T.K.,** 2008, Preparation of genipin cross-linked chitosan-gelatin microcapsules for encapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) using salting-out method, *Journal of Microencapsulation*, 25(6): 414-420 pp.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O.P. and Shivhare, U.S.,** 2016, Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complexcoacervation using casein and gum tragacanth, *International Journal of Biological Macromolecules*, 87: 101–113 pp.
- Jamekhorshid, A., Sadrameli, S.M. and 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 pp.
- Jun-xia, X., Hai-yan, Y. and Jian, Y.,** 2011, Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic, *Food Chemistry*, 125(4): 1267-1272 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Katona, J.M., Sovilj, V.J., Petrović, L.B., and Milanović, J.L.,** 2010, Preparation and Characterization of Oil Containing Microcapsules Obtained by an Interaction Induced Coacervation, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(12): 1679-1684 pp.
- Kaushik, V. and Roos, Y.H.,** 2007, Limonene encapsulation in freeze-drying of Gum Arabic-sucrose-gelatin systems, *LWT-Food Science and Technology*, 40: 1381-1391 pp.
- Kılıç, Ö. ve Bağcı, E.,** 2008, *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (C.Koch) Ietswaart'nin uçucu yağ verimi, kompozisyonu ve çay olarak kullanılabilirliğinin araştırılması üzerine bir çalışma, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20(1): 83-89 s.
- Koupantsis, T., Pavlidou, E. and Paraskevopoulou, A.,** 2016, Glycerol and tannic acid as applied in the preparation of milk proteins-CMC complex coacervates for flavour encapsulation, *Food Hydrocolloids*, 57: 62-71 pp.
- Koç, M., Sakin, M. ve Kaymak-Ertekin, F.,** 2010, Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1): 77-86 s.
- Kunz, B., Kruckeberg, S. and Weissbrodt, J.,** 2003, Chancen und grenzen der mikroverkapselung in der modernen lebensmittelverarbeitung, *Chemie Ingenieur Technik*, 75: 1733-1740 pp.
- Leclercq, S., Harlander, K.R. and Reineccius, G.A.,** 2009, Formation and characterization of microcapsules by complex coacervation with liquid or solid aroma cores, *Flavour and Fragrance Journal*, 24: 17–24 pp.
- Leimann, F.V., Gonçalves, O.H., Machado, R.A.F. and Bolzan, A.,** 2009, Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology, *Materials Science and Engineering C*, 29: 430–436 pp.
- Leong, M.H., Tan, C.P. and Nyam, K.L.,** 2016, Effects of accelerated storage on the quality of kenaf seed oil in chitosan-coated high methoxyl pectin-alginate microcapsules, *Journal of Food Science*, 81(10): 2367-2372 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Liu, S., Low, N.H. and Nickerson, M.T.,** 2010, Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum arabic capsules, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 87: 809–915 pp.
- Lv, Y., Zhang, X, Abbas, S. and Karangwa, E.,** 2012, Simplified optimization for microcapsule preparation by complex coacervation based on the correlation between coacervates and the corresponding microcapsule, *Journal of Food Engineering*, 111: 225–233 pp.
- Lv, Y., Yang, F., Li, X., Zhang, X. and Abbas, S.,** 2014, Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation, *Food Hydrocolloids*, 35: 305-314 pp.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S.,** 2006, Flavour encapsulation and controlled release - a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1): 1-21 pp.
- Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Ghorbani, M. and Assadpoor, E.,** 2014, Spray-Drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review, *Drying Technology*, 5(32): 509-518 pp.
- Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Assadpoor, E. and Dehnad, D.,** 2016, Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum arabic and gelatin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 85: 379-385 pp.
- Maji, T.K., Baruah, I., Dube, S. and Hussain, M.R.,** 2007, Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application, *Bioresource Technology*, 98:840-844 pp.
- Maji, T.K. and Hussain, M.R.,** 2009, Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in genipin crosslinked chitosan- gelatin complex for mosquito repellent application, *Journal of Applied Polymer Science*, 111: 779-785 pp.
- Martins, I.M., Rodrigues, S.N., Barreiro, F. and Rodrigues, A.E.,** 2009, Microencapsulation of thyme oil by coacervation, *Journal Microencapsulation*, 26: 667–675 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Meng, Y. and Cloutier, S.,** 2014, Gelatin and other proteins for microencapsulation, (Ed. Goankar, A.G., Vasisht, N., Khare, A.R. and Sobel, R.), Microencapsulation in the Food Industry, The United States of America, 227-236 pp.
- Miladi, H., Slama, R.B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A. and Ammar, E.,** 2013, Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens, *Natural Science*, 5(6): 729-739 pp.
- Minemoto Y., Hakamata, K., Adachi, S. and Matsuno, R.,** 2002, Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying, *Journal of Microencapsulation*, 19(2): 181-189 pp.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., and Duodu, K.G.,** 2004, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*), *Food Chemistry*, 86: 325-332 pp.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B.,** 2011, An overview of encapsulation technologies for food applications, *Procedia Food Science*, 1: 1806–1815 pp.
- Nori, M.P., Favaro-Trindade, C.S., Alencar, S.M., Thomazini, M., Balieiro, J.C.C. and Castillo, C.J.C.,** 2011, Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation, *LWT - Food Science and Technology*, 44: 429-435 pp.
- Ocak, B.,** 2010, Antifungal Ayakkabı Üretiminde Mikrokapsülasyon Yönteminin Kullanımı Üzerine Araştırmalar, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 133s
- Ocak, B., Gulumser, G. ve Baloglu, E.,** 2011, Microencapsulation of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil by using simple coacervation method, *Journal of Essential Oil Research*, 23: 58–65 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ocak, B.**, 2012, Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil, *Journal of Environmental Management*, 100: 22-28 pp.
- Özdemir, N.**, 2013, Karabiber (*Piper nigrum* L.) Oleorezininin Dondurarak Kurutma Tekniği ile Mikroenkapsülasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 54s.
- Özgün, N.**, 2015, Nane Uçucu Yağının Siklodekstrinler ile Mikroenkapsülasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 57s.
- Pavel, M., Ristic, M. and Stevic, T.**, 2010, Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(1): 27-34 pp.
- Piacentini, E., Giorno, L., Dragosavac, M.M., Vladisavljevic, G.T. and Holdich, R.G.**, 2013, Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. *Food Research International*, 53: 362–372 pp.
- Peng, C., Zhao, S.Q., Zhang, J., Huang, G.Y. and Chen L.Y.**, 2014, Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation, *Food Chemistry*, 165: 560-568 pp.
- Prata, A.S., Zanin, M.H.A., Re, M.I. and Grosso, C.R.F.**, 2008, Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil, *Colloid Surf B-Biointerfaces*, 67: 171–178 pp.
- Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A.J.M. and Garrigós, M.C.**, 2014, Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films, *LWT - Food Science and Technology*, 58: 470-477 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rocha-Selmi, G.A., Theodoro, A.C., Thomazini, M., Bolini, H.M.A. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2013a, Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose, *Journal of Food Engineering*, 119: 28-32 pp.
- Rocha-Selmi, G.A., Favaro-Trindade, C.S. and Grosso, C.R.F.,** 2013b, Morphology, stability, and application of lycopene microcapsules produced by complex coacervation, *Journal of Chemistry*, 1-7 pp.
- Rutz, J.K., Borges, C.D., Zambiasi, R.C., Crizel-Cardozo, M.M., Kuck, L.S. and Noreña, C.P.Z.,** 2017, Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems, *Food Chemistry*, 220: 59-66 pp.
- Quan, J., Kim, S.M., Pan, C.H. and Chung, D.,** 2013, Characterization of fucoxanthin loaded microspheres composed of cetyl palmitate-based solid lipid core and fish gelatin–gum Arabic coacervate shell, *Food Research International*, 50: 31-37 pp.
- Qv, X.Y., Zeng, Z.P. and Jiang, J.G.,** 2011, Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability, *Food Hydrocolloids*, 25: 1596-1603 pp.
- Sakkas, H. and Papadopoulou, C.,** 2017, Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3): 429-438 pp.
- Santos, M.G., Carpinteiro, D.A., Thomazini, M., Rocha-Selmi, G.A., Da Cruz, A.G., Rodrigues, C.E.C. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2014, Coencapsulation of xylitol and menthol by double emulsion followed by complex coacervation and microcapsule application in chewing gum, *Food Research International*, 66: 454-462 pp.
- Shaikh, J., Bhosale, R. and Singhal R.,** 2006, Microencapsulation of black pepper oleoresin, *Food Chemistry*, 94: 105-110 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shahgholian, N. and Rajabzadeh, G.,** 2016, Fabrication and characterization of curcumin-loaded albumin/gum arabic coacervate, *Food Hydrocolloids*, 59: 17-25 pp.
- Shoji, A.S., Oliveira, A.C., Balieiro, J.C.C., Freitas, O., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Okuro, P.K. and Favaro-Trindade, C.S.,** 2013, Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt, *Food and Bioproducts Processing*, 91: 83–88 pp.
- Silva, P.T., Fries, L.L.M., Menezes, C.R., Holkem, A.T., Schwan, C.L., Wigmann, E.F., Bastos, J.O. and Silva, C.B.,** 2014, Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology, *Ciência Rural*, 7(44): 1304-1311 pp.
- Sipailiene, A., Venskutonis, P.R., Baranauskiene, R. and Sarkinas A.,** 2006, Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils, *Journal Essential Oil Research*, 18: 698–703 pp.
- Siow, L.F. and Ong, C.S.,** 2013, Effect of pH on Garlic Oil Encapsulation by Complex Coacervation, *Journal Food Processing and Technology*, 4(1): 1-5 pp.
- Solomon, B., Sahle, F.F., Gebre-Mariam, T., Asres, K. and Neubert, R.H.H.,** 2012, Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: formulation and in vitro permeation studies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 80: 61–66 pp.
- Sutaphanit, P. and Chitprasert, P.,** 2014, Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology, *Food Chemistry*, 150: 313–320 pp.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A. and Shahedi, M.,** 2012, Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil, *Food Science and Technology International*, 18(4): 381-390 pp.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A. and Shahedi, M.,** 2013, Mixture design approach for evaluation of fish oil microencapsulation in gelatin-acacia gum coacervates, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62(8): 444-449 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tamjidi, F., Nasirpour, A. and Shahedi, M.,** 2014, Rheological Characteristics of Yogurt Enriched with Microencapsulated Fish Oil, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 1073-1082 pp.
- Tatar, F.,** 2012, Balık (*Engraulis encrasicolus* L.) Yağının Mikroenkapsülasyonunda Hemiselülozun Kaplayıcı Madde Olarak Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 120s.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A.,** 2017, Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran, *Food Chemistry*, 220: 153–161 pp.
- Tschiggerl, C. and Bucar, F.,** 2011, Influence of saponin plants on the volatile fraction of thyme in herbal teas, *Fitoterapia*, 82: 903–910 pp.
- Velasco, J., Dobarganes, C. and Marquez-Ruiz, G.,** 2003, Variables affecting lipid oxidation in dried microencapsulated oils, *Grasas Aceites*, 54: 304–314 pp.
- Wang, D. and Chi, D.,** 2013, Morphology and release profile of microcapsules encapsulated alpha-pinene by complex coacervation, *Advanced Materials Research*, 602-604: 1285-1288 pp.
- Wang, B., Vongsvivut, J., Adhikari, B. and Barrow C.J.,** 2015, Microencapsulation of tuna oil fortified with the multiple lipophilic ingredients vitamins A, D3, E, K2, curcumin and coenzyme Q10, *Journal of Functional Foods*, 19: 893–901 pp.
- Weinbreck, F., Minor, M. and De Kruif, C.G.,** 2004, Microencapsulation of oils using whey protein/gum Arabic coacervates, *Journal of Microencapsulation*, 21(6): 667–679 pp.
- Xiao, Z., Liu, W., Zhu, G., Zhou, R. and Niu, Y.,** 2014a, A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 1482–1494 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Xiao, Z.B., Liu, W.L., Zhu, G.Y., Zhou, R.J. and Niu, Y.W.**, 2014b, Production and characterization of multinuclear microcapsules encapsulating lavender oil by complex coacervation, *Flavor and Fragrance Journal*, 29: 166–172 pp.
- Xing, F., Cheng, G., Yang, B. and Ma, L.**, 2004, Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins, *Journal of Applied Polymer Science*, 91: 2669-2675 pp.
- Xu, B. J., Chang, S. K. C.**, 2007, A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents, *Journal of Food Science*, 72: 159-166 pp.
- Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P. and Wang, Q.**, 2014, Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach, *Food Chemistry*, 145: 272–277 pp.
- Yang, X., Gao, N., Hu, L., Li, J. and Sun, Y.**, 2015, Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation, *Journal of Food Engineering*, 161: 87–93 pp.
- Yao, C.H., Liu, B.S., Chang, C.J., Hsu, S.H. and Chen, Y.S.**, 2004, Preparation of networks of gelatin and genipin as degradable biomaterials, *Materials Chemistry and Physics*, 83: 204-208 pp.
- Zekovic, Z.P.**, 2000, Analysis of thyme (*Thymus vulgaris* L.) extracts, *Acta Periodica Technologica*, 31: 617-622 pp.
- Zhang, Z.Q., Pan, C.H. and Chung, D.**, 2011, Tannic acid cross-linked gelatin–gum Arabic coacervate microspheres for sustained release of allyl isothiocyanate: Characterization and *in vitro* release study, *Food Research International*, 44: 1000-1007 pp.
- Zuanon, L.A.C., Malacrida, C.R. and Telis, V.R.N.**, 2013, Production of Turmeric Oleoresin Microcapsules by Complex Coacervation with gelatin–gum Arabic, *Journal of Food Process Engineering*, 36: 364–373 pp.

ÖZGEÇMİŞ



1992 yılında İzmir'in Karşıyaka ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Isparta'da tamamladı. 2010 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı. Ege Üniversitesi'nde İngilizce hazırlık bir yıl okuyarak, gıda mühendisliği bölümünden 2015 yılında mezun oldu. Lisans eğitimi sırasında Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü yan dal programını kazandı. 2016 yılında bu programdan mezun oldu ve aynı yıl içinde E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

Uluslararası toplantılarda sunulan bildirileri:

- Ocak, B., Karagozlu, M. Effect of tannic acid concentration on the release characteristics of thyme oil microcapsules. 1st International Conference on Engineering Technology and Applied Sciences, 21-22 April 2016, Afyon-Turkey.,
- Yıldız Turp, G., Sengun, I.Y., Eryigit, I., Karagozlu, M. The effects of quince puree on physicochemical, microbiological and sensory properties of low fat beef meatball. International Conference on Nutraceuticals and Functional Foods, 7-9 July 2016, Kalamata, Greece.,
- Ocak, B., Karagozlu, M. Effect of polymer concentration on the release characteristics of thyme oil microcapsules. International Conference on Thermophysical and Mechanical Properties of Advanced Materials, 1-3 September 2016, İzmir-Turkey.

Yayını:

- Karagözlü, M., Ocak, B. ve Özdehan Ocak, Ö., Ocak-Nisan 2017, Gıda sanayisinde kompleks koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon uygulamaları, Analiz 35, Sayı: 29, 29-35 s.

EKLER

Ek 1. Kekik yağında tespit edilen uçucu bileşenler

Ek 2. Kekik yağına ait olan GC-MS kromatogramı

Ek 3. Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin görünümü

Ek 4. 11 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan timol-karvakrol içeriği HPLC kromatogramı

Ek 5. 13 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan timol-karvakrol içeriği HPLC kromatogramı

Ek 6. 11 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı

Ek 7. 13 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı

Ek 8. 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı

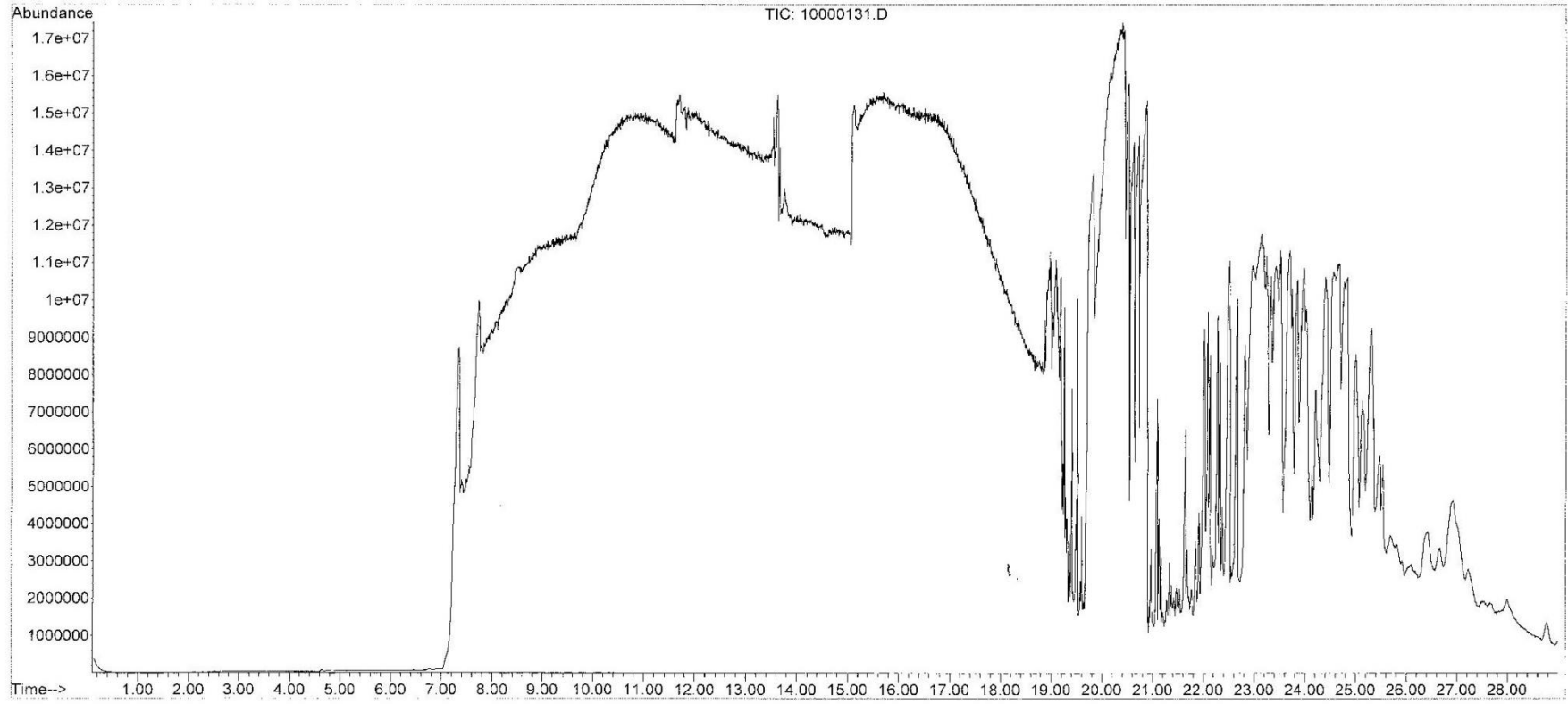
Ek 9. TEMPO cihazı

Ek 10. Kontrol ve zenginleştirilmiş şeftali suyu örneklerinin 0. ve 7. günlerdeki görünümü

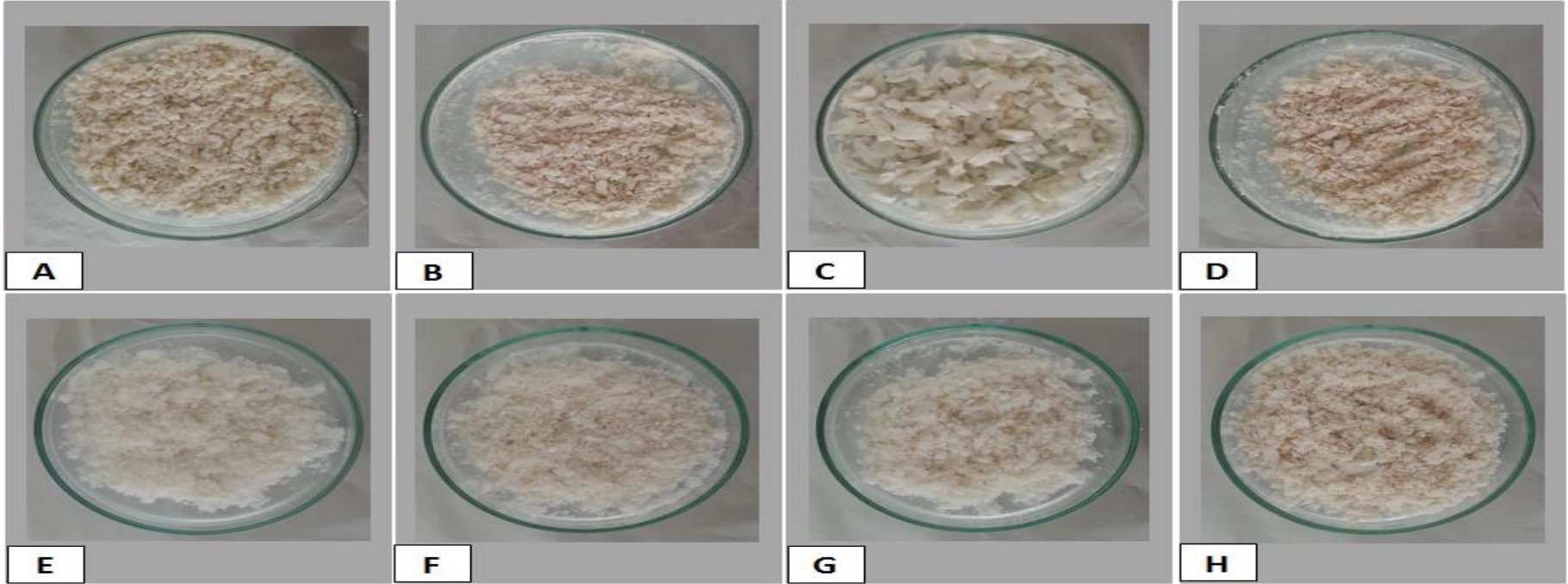
Ek 1. Kekik yağında tespit edilen uçucu bileşenler

#	Bileşenler	Altkonma zamanı (dk)	Alan (%)
1	α -Pinen	8,63	11,90
2	m- Simen	10,40	5,27
3	p- Simen	10,63	8,25
4	o- Simen	11,81	12,60
5	γ -terpinen	13,58	2,60
6	Linalool	14,43	8,93
7	2-(2-Butynyl)cyclohexanone	15,59	6,14
8	Timol	16,03	17,25
9	Karvakrol	18,95	1,03
10	Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)	19,40	0,10
11	Caryophyllene oxide	20,34	7,94
12	2,2,3,7-Tetramethyltricyclo-[5.2.2.0 ^{1,6}] undec-3-ene	21,33	0,23
13	Chrysophanol dimethyl ether	22,25	1,21
14	2-ethyl-4,5-dimethylphenol	23,13	1,65
15	5,8-Dimethoxy-2-methyl-4H-naphtho[2,3-b]pyran-4,6,9-trione	23,41	1,00
16	Benzo[j]fluoranthene, 4-methoxy-	23,83	0,44
17	1,4-Naphthalenedione, 2-(5-acetyl-2-thienyl)-	24,80	0,81
18	3-butoxy-4-(2-pyridyl)-2-t-butyl	25,29	0,64
19	1,3,5-tris(isopropylthio)benzene	25,45	0,45
20	1H-Naphtho[2,3-c]pyran-3-acetonitrile,3,4,5,10-tetrahydro-9-hydroxy-1-methyl-5,10-dioxo-, trans-	25,69	0,49
21	β -Ethyl-8-methoxy- α,α -dimethyl-2-naphthalenepropionic acid methyl ester	26,40	0,40
22	10-methoxy-1,4,6,9-tetramethylpyrido[3,2-g]quinoline-2,8(1H,9H)-dione	26,90	0,65
23	1H-Naphtho[2,3-c]pyran-3-acetonitrile, 3,4,5,10-tetrahydro-9-hydroxy-1-methyl-5,10-dioxo-, trans-	27,99	0,29
24	Pristane	28,77	0,03

Ek 2. Kekik yağına ait olan GC-MS kromatogramı

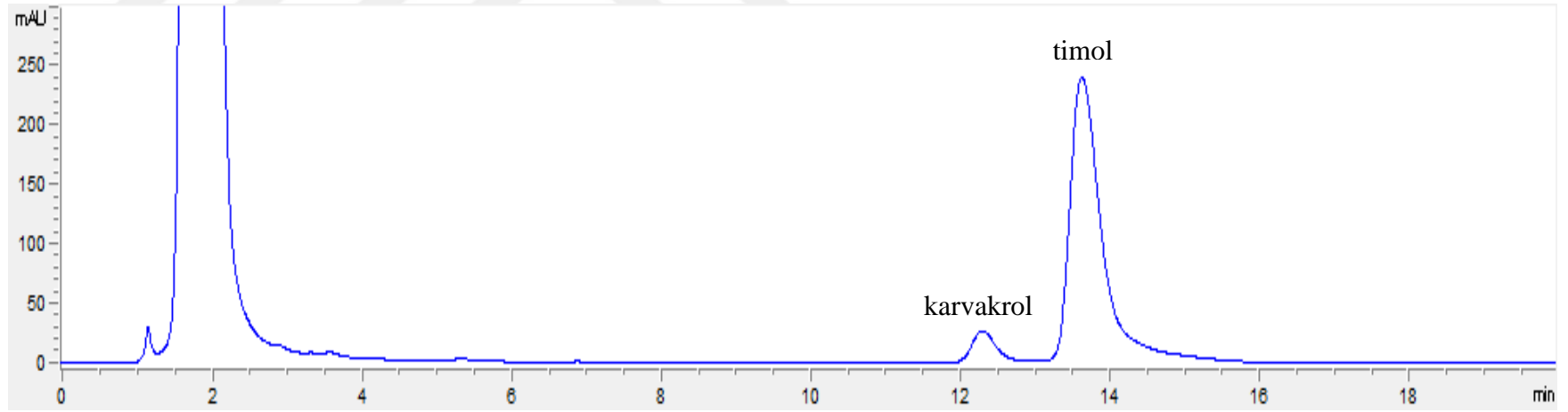


Ek 3. Kekik yağı içeren mikrokapsüllerin görünümü

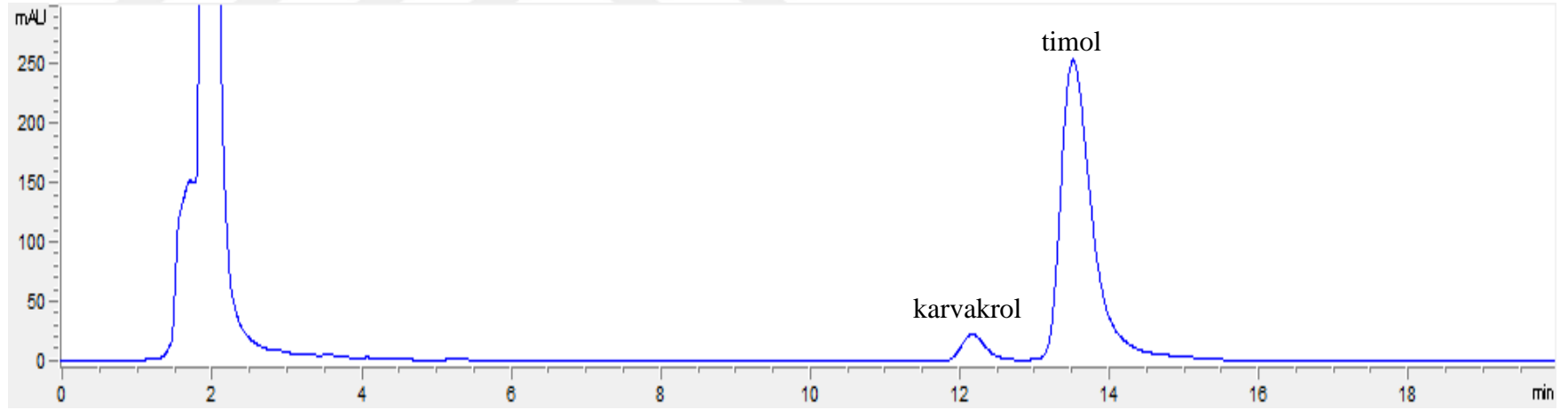


(A) 1,5 g jelatin/4,5 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (B) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (C) 4,5 g jelatin/1,5 g arap zamkı, 11 ml yağ, 15 ml tannik asit; (D) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 20 ml tannik asit; (E) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 9 ml yağ, 10 ml tannik asit; (F) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 11 ml yağ, 10 ml tannik asit; (G) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 13 ml yağ, 10 ml tannik asit; (H) 3 g jelatin/3 g arap zamkı, 15 ml yağ, 10 ml tannik asit.

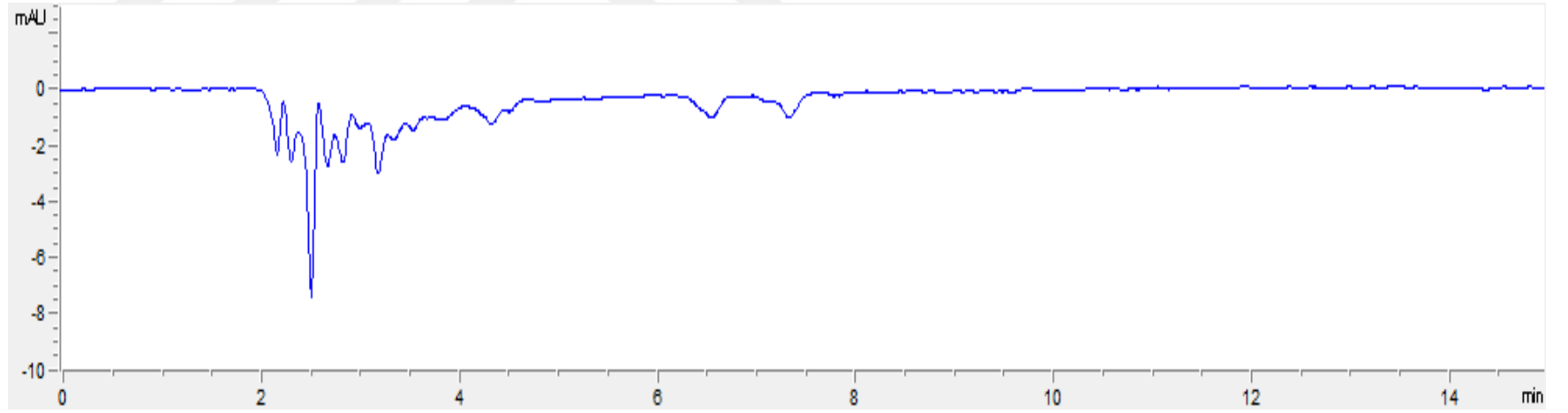
Ek 4. 11 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan timol-karvakrol içeriği HPLC kromatogramı



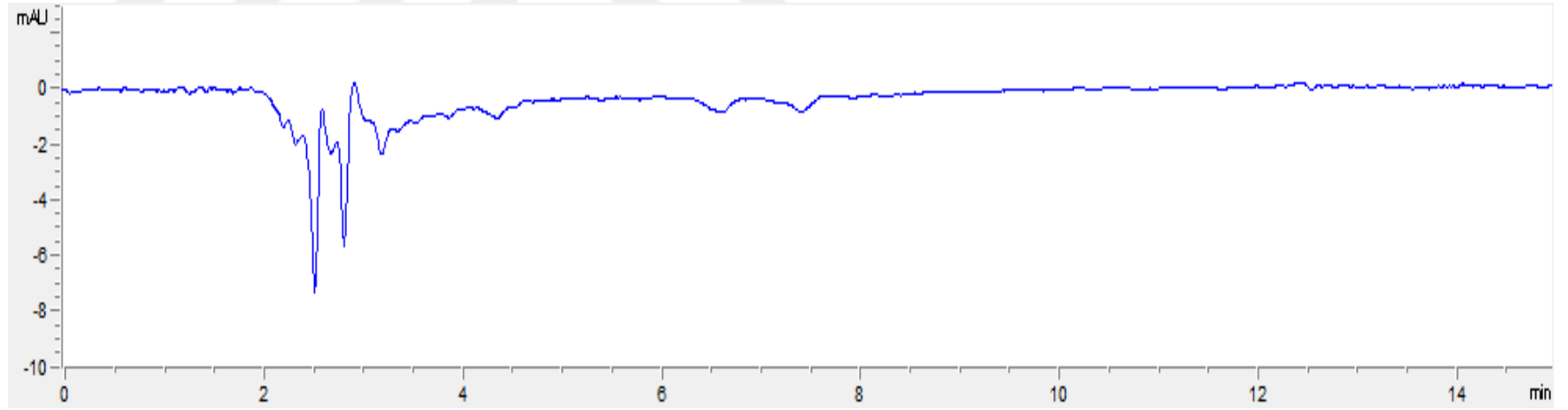
Ek 5. 13 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan timol-karvakrol içeriği HPLC kromatogramı



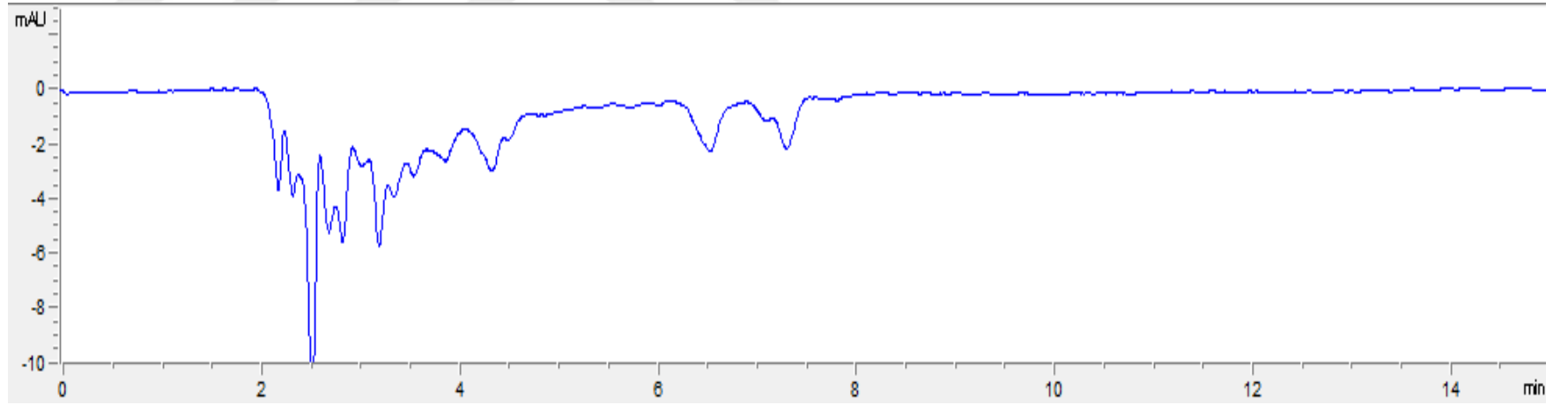
Ek 6. 11 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı



Ek 7. 13 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı



Ek 8. 15 ml kekik esansiyel yağı içeren mikrokapsüllere ait olan lutein içeriği HPLC kromatogramı



Ek 9. Tempo cihazı



Ek 10. Kontrol ve zenginleştirilmiş şeftali suyu örneklerinin 0. ve 7. günlerdeki görünümü

