

T.C.
TUNCELI ve ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ORTAK FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ GIDA SİSTEMLERİNİN ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARAYEMİŞ
POLİFENOLLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Kadir BAYRAMBAŞ

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat ÇİMEN

2. DANIŞMAN

Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL

TEMMUZ-2016

T.C.
TUNCELİ ve ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ORTAK FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ GIDA SİSTEMLERİNİN ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARAYEMİŞ
POLİFENOLLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Kadir BAYRAMBAŞ

(121108201)

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat ÇİMEN

2. DANIŞMAN

Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL

TEMMUZ-2016

T.C.
TUNCELİ ve ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ORTAK FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ GIDA SİSTEMLERİNİN ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARAYEMİŞ
POLİFENOLLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

Kadir BAYRAMBAŞ
DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 20/07/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/ oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Murat ÇİMEN
(T.Ü.)
DANIŞMAN

İmza:.....

Doç. Dr. Olcay K. İNCE
(T.Ü.)
ÜYE

İmza:.....

Doç. Dr. Muharrem İNCE
(T.Ü.)
ÜYE

İmza:.....

Yrd. Doç. Dr. İbrahim GÜLSEREN
(İ.Z.Ü.)
ÜYE

İmza:.....

Yrd. Doç. Dr. Nevin TURAN
(M.Ş.Ü.)
ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Durali DANABAŞ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, TAGEM (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü) tarafından desteklenmiştir.

Proje No: TAGEM-14/AR-GE/27

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.



Aileme,

ÖZET

Karayemiş meyvesinden (*Prunus laurocerasus*) ekstrakte edilen polifenoller enkapsülasyon işleminde çekirdek materyal olarak kullanıldı. Bu polifenollerin enkapsülasyonunda ise kaplayıcı materyal olarak farklı konsantrasyonlarda gam arabik tercih edildi.

Çalışmanın ilk kısmında Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edilen karayemiş örneklerinin karakterizasyon işlemi gerçekleştirildi. Karakterizasyon aşamasında meyve örneklerinde kurumadde, kül miktarı, su aktivitesi, briks, pH, renk, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, fenolik bileşik kompozisyonu, mineral madde, şeker profili analizleri yapıldı. İkinci kısmında ise karayemiş meyvelerinden polifenollerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışması yanıt yüzey metodu kullanılarak yapıldı. Çözücü konsantrasyonu (%50–100), ekstraksiyon zamanı (20–60 dakika) ve ekstraksiyon sıcaklığı (45–65°C) bağımsız değişkenler olarak seçildi. Bağımlı değişken olarak ise toplam fenolik madde miktarı seçildi. İstenilirlik fonksiyonuna göre optimum nokta %100 çözücü konsantrasyonu, 40 dakika ekstraksiyon zamanı ve 65°C ekstraksiyon sıcaklığı olarak tespit edildi. Çalışmanın bir diğer aşamasında ise, optimizasyon çalışması sonucu elde edilen polifenollerin enkapsülasyon işlemi gerçekleştirildi. Enkapsülasyon işlemi 0.1 g.100g⁻¹ ve 0.3 g.100g⁻¹ konsantrasyonlarda gam arabik çözeltileri ile gerçekleştirildi. Enkapsülasyon işlemi verimi çok yüksek olan ve laboratuvar şartları için oldukça elverişli olan iyonik jelasyon yöntemi ile yapıldı. Çalışmanın son aşamasında ise enkapsüle edilen karayemiş polifenollerini örnek gıda sistemi olarak seçilen kek örneklerinin zenginleştirilmesi yapıldı.

Karayemiş meyvelerinin karakterizasyonu aşamasında bu meyvenin fenolik bileşiklerce oldukça zengin olduğu tespit edildi. Özellikle klorojenik asit bakımından 55 K 06 (1603±39 mg.kg⁻¹ taze meyve) türü oldukça zengindir. Bu bileşik enkapsüle edilerek kek yapım aşamasının sonunda ısıya karşı dayanıklı hale getirildi. 55 K 06 türünün 0.1 g.100g⁻¹ gam arabik ile enkapsüle edilmesi ile üretilen kek örneğinde son üründe 980±4 mg.kg⁻¹ olarak tespit edildi. Bunun haricinde önemli bir antosiyanin olan prosiyanidin B₂ bileşiği de karayemiş meyvelerinde yüksek düzeyde tespit edildi ve kek üretimi sonunda enkapsülasyon işlemine tabi tutulan örneklerde son üründe 74–246 mg.kg⁻¹ seviyelerinde tespit edildi. Isıya karşı oldukça hassas olan fenolik bileşikler enkapsülasyon işlemi sayesinde kısmen dayanıklı hale getirilmişlerdir. Böylelikle yeni bir fonksiyonel gıda üretimi gerçekleştirildi.

Anahtar Kelimeler: Karayemiş, Enkapsülasyon, İyonik Jelasyon, Klorojenik Asit, Fonsiyonel Gıda

ABSTRACT

Enriching The Various Food Systems With Encapsulated Polyphenols of Cherry Laurel

The extraction of polyphenol from cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) was used as a core material in encapsulation. Also, the various concentration of Gum Arabic was chosen to cover on encapsulation of this polyphenol.

At the beginning of this study, cherry laurel samples were provided by Institution of Black Sea Agricultural Research and characterized. The analyze of dry matter, amount of ash, water activity, bricks, pH, color, total phenolic matter, activity of antioxidant, composition of phenolic compound, mineral materials and sugar profile were performed during characterization of fruit samples. In the second part of this study, the optimization of extraction of polyphenol from cherry laurel was done with the method of response surface. The independent variables were solvent concentration (50%-100%), extraction time (20-60 min) and extraction temperature (45–65°C) and the dependent variable was total phenolic matter. The optimum condition was determined as 100% solvent concentration, 40 min extraction time and 65°C extraction temperature. The next step of study was encapsulation of the polyphenol which was obtained after the optimization. The encapsulation was performed with the concentration of Gum Arabic 0.1 g.100g⁻¹ ve 0.3 g.100g⁻¹ solution. The encapsulation operation has been done with ionic gelatin which has high efficiency and suitable condition at laboratories. In the last part of this study, selected food system samples of cake samples were enriched with encapsulated of cherry laurel of polyphenols.

During characterization of this fruit, the plenty of phenolic compounds have been discovered in the fruit. Especially, the fruit is very rich in terms of chlorogenic acid 55 K 06 (1603±39 mg.kg⁻¹ dry fruit). This compound has been encapsuled to have resistant of heat during production of the cake. The last production sample of the cake from encapsulation of 55 K 06 with 0.1 g.100g⁻¹ Gum arabic has 980±4 mg.kg⁻¹. Also, an important anthocyanin, which compound of procainamide B₂, was found at high concentration in the fruit and the level of 74–246. mg.kg⁻¹ was discovered in encapsulation of samples at end of the production of cake. The phenolic compounds are sensitive to the heat but after encapsulation, the phenolic compounds become less sensitive to heat. Therefore, a new functional food has been produced.

Key Words: Cherry laurel, Encapsulation, Ionic Gelatin, Chlorogenic Acid, Functional Food

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her ihtiyaç duyduğumda yardımlarını benden esirgemeyen saygıdeğer danışmanlarım Prof. Dr. Murat Çimen ve Prof. Dr. Memnune Şengül'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince adeta danışmanım gibi benimle ilgilenen, fikirleriyle bana yol gösteren sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim Gülseren'e, Tez İzleme Komite'sinde bulunan değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Olcay Kaplan İnce ve sayın Yrd. Doç. Dr. Ragıp Adıgüzel'e, laboratuvar analizlerimde bana oldukça yardım eden değerli kardeşim Arş. Gör. Emrah Karakavuk'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının belirli bir kısmını, "Karayemiş Polifenollerinin Ayçiçeği Pektini Jellerinde Enkapsülasyonu ve Bu Sistemlerin Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi" (Proje No: TAGEM-14/AR-GE/27) konulu proje kapsamında destekleyen Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne ayrıca bu çalışmada SEM görüntülerinin çekildiği İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi, İBTAM'a teşekkür ederim.

Son olarak doktora çalışmalarım boyunca beni destekleyen ve fedakarlıklar gösteren sevgili eşim Nilay Bayrambaş'a, doktora tez aşaması sırasında dünyaya gelen ve yoğun çalışma temposu içerisinde oluşan stresten beni arındıran sevgili oğlum Hüseyin Bayrambaş'a, şimdiye kadarki tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak beni yalnız bırakmayan anneme ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Kadir BAYRAMBAŞ
TUNCELİ-2016

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
RESİMLER LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Karayemiş	1
1.2. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması ve Özellikleri	3
1.3. Gıda Sanayinde Aktif Bileşenler ve Enkapsülasyon Teknolojisi	7
1.4. Enkapsülasyon Prosesi	9
1.4.1. Enkapsülasyon Metotları	9
1.4.1.1. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi	9
1.4.1.2. Ekstrüzyon Yöntemi	10
1.4.1.3. Koaservasyon Yöntemi	11
1.4.1.4. Dondurarak Kurutma Yöntemi	11
1.4.1.5. İyonik Jelasyon Metodu	12
1.4.1.6. Akışkan Yataklı Kaplama Metodu	13
1.4.1.7. Sprey Soğutma ya da Sprey Dondurma	15
1.4.2. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplayıcı Maddeler	17
1.4.2.1. Karbonhidratlar	19
1.4.2.2. Gamlar	20
1.4.2.3. Proteinler	21
1.5. Fen Bilimlerinde Kemometri	22
1.5.1. Cevap Yüzey Yöntemi (RSM)	24
1.5.1.1. İkinci–derece Modelleri Uydurmak İçin Dizaynlar	26
1.5.1.2. Döndürülebilirlik (Rotatability)	27
1.5.1.3. Küresel CCD	27
1.5.1.4. CCD’de Merkez Çalışması	28
1.5.1.5. Verilerin İstatistiksel Çalışması	28
1.5.1.6. Optimum Şartların Belirlenmesi	28
2. MATERYAL – METOT	30
2.1. Materyal ve Kimyasal Maddeler	30
2.2. Metot	30
2.2.1. Toplam Kuru Madde Tayini	30
2.2.2. Toplam Kül Tayini	31
2.2.3. pH Tayini	32
2.2.4. Suda Çözünür Kuru Madde Tayini (Briks) Tayini	32
2.2.5. Su Aktivitesi Tayini	32
2.2.6. Renk Tayini	33
2.2.7. Mineral Madde Tayini	33
2.2.8. Antioksidan Aktivite Tayini	34
2.2.9. Toplam Fenolik Madde Tayini	34
2.2.10. Fenolik Bileşik Kompozisyonu Tayini	35
2.2.11. Şeker Kompozisyonu Tayini	36

2.2.12.	Cevap Yüzey Metodu İçin Deneysel Tasarımın Oluşturulması	36
2.2.13.	Karayemiş Polifenollerinin Ekstraksiyonu	38
2.2.14.	Karayemiş Polifenollerinin Enkapsülasyonu	39
2.2.14.1.	İyonik Jelasyon Yöntemi ile Enkapsülasyon	39
2.2.14.1.1.	Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması	39
2.2.14.1.2.	Jelleşme Ortamının Hazırlanması	39
2.2.14.1.3.	Gam Arabik Kaplı Aljinat Taneciklerinin Hazırlanması	40
2.2.15.	Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenollerinin Morfolojik Özellikleri	40
2.2.16.	Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenollerini ile Zenginleştirilmiş Kek Üretimi	41
2.2.17.	Kekten Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	43
2.2.18.	İstatistik Analiz Yöntemleri	43
3.	BULGULAR	44
3.1.	Kimyasal Analiz Sonuçları	44
3.1.1.	Toplam Kurumadde Analiz Sonuçları	44
3.1.2.	Kül Miktarı Analiz Sonuçları	44
3.1.3.	pH Tayini Analiz Sonuçları	44
3.1.4.	Suda Çözünür Kurumadde (Briks) Analiz Sonuçları	45
3.1.5.	Su Aktivite Tayini Analiz Sonuçları	45
3.1.6.	Mineral Madde Tayini Analiz Sonuçları	45
3.1.7.	Şeker Kompozisyonu Analiz Sonuçları	46
3.2.	Fiziksel Analiz Sonuçları	46
3.2.1.	Renk Değerleri Analiz Sonuçları	46
3.3.	Biyoaktivite Testleri Analiz Sonuçları	48
3.3.1.	Antioksidan Aktivite Tayini	48
3.3.1.1.	DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesi	48
3.3.2.	Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçları	50
3.3.3.	Fenolik Bileşik Kompozisyonu Analiz Sonuçları	50
3.4.	Karayemiş Polifenollerinin Ekstraksiyonunun Optimizasyonu	53
3.4.1.	Deneysel Tasarım Sonuçları	53
3.4.2.	Sıcaklığın Etkisi	57
3.4.3.	Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi	58
3.4.4.	Ekstraksiyon Süresinin Etkisi	58
3.4.5.	İkili Parametrelerin Ortaklaşa Etkileri	59
3.4.5.1.	Sıcaklık ve Konsantrasyon Etkisi	59
3.4.5.2.	Sıcaklık ve Sürenin Etkisi	60
3.4.5.3.	Çözücü Konsantrasyonu ve Ekstraksiyon Süresinin Etkisi	61
3.5.	Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenollerinin Morfolojik Özellikleri	62
4.	TARTIŞMA	67
4.1.	Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	67
4.2.	Fiziksel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	70
4.3.	Biyoaktivite Testleri Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	71
4.3.1.	Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	71
4.3.2.	Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	72
4.3.3.	Fenolik Bileşik Kompozisyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi	74
4.4.	Korelasyon Testi Analiz Sonuçları	76
4.5.	Enkapsüle Edilmiş Polifenollerin Morfolojik Özellikleri	78
4.6.	Fenolik Bileşik Ekstraksiyonunun Optimum Koşulları	78
5.	SONUÇ	79

6.	ÖNERİLER.....	81
7.	KAYNAKLAR.....	82
8.	EKLER	91
	ÖZGEÇMİŞ.....	94



SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Ülkemizde karayemiş meyvesinin yetiştiği bölgeler.....	2
Şekil 1.2. Flavanoidlerin basit monomerik yapısı	5
Şekil 1.3. C ₆ -C ₃ -C ₆ fenolik bileşiklerinin kimyasal yapıları	6
Şekil 1.4. Püskürtmeli kurutucu sistemi	10
Şekil 1.5. Koaservasyon yöntemi aşamaları	11
Şekil 1.6. Damlatma sistemi	12
Şekil 1.7. Kesikli sistemli akışkan yatak kurutucusun şekli.....	14
Şekil 1.8. Sürekli sistem akışkan yatak kurutucu	15
Şekil 1.9. Bir kemometrik plan şeması	23
Şekil 1.10. Kemometrinin bilim ve matematikteki rolü	24
Şekil 1.11. k=2 ve k=3 için merkez kompozit dizaynlar	26
Şekil 3.1. Kek örneklerinin renk değerlerine ait grafik	48
Şekil 3.2. Meyve türlerinin IC ₅₀ değerlerine ait grafik	49
Şekil 3.3. Meyve türlerinin DPPH inhibisyonu değerlerine ait grafik.....	49
Şekil 3.4. Toplam fenolik madde miktarında deneysel sonuçlar ile öngörülen sonuçlar arasındaki ilişki	55
Şekil 3.5. Artık değerlere ilişkin normal dağılım grafiği	56
Şekil 3. 6. Toplam fenolik madde üzerine sıcaklığın etkisi.....	57
Şekil 3.7. Toplam fenolik miktar üzerine derişiminin etkisi	58
Şekil 3.8. Toplam fenolik madde miktarına ekstraksiyon süresinin etkisi.....	59
Şekil 3.9. Toplam fenolik madde miktarı üzerine Sıcaklık- Çözücü konsantrasyonu etkisi60	
Şekil 3.10. Toplam fenolik madde miktarı üzerine Sıcaklık ve Ekstraksiyon Süresinin birlikte etkisi	61
Şekil 3.11. Toplam fenolik madde miktarı üzerine sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin birlikte etkisi	62

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Başlıca fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	4
Tablo 1.2. Gıda endüstrisinde kullanılan biyoaktif bileşenler ve enkapsülasyon işleminin potansiyel avantajları	8
Tablo 1.3. Gıda sanayiinde kullanılan enkapsülasyon metotları	16
Tablo 1.4. Mikroenkapsülasyonda kullanılan taşıyıcı materyaller ve menşei.....	19
Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin analizinde kullanılan çözücü programlaması.....	36
Tablo 2.2. Toplam fenolik madde miktarının ölçülmesinde kullanılan bağımsız değişkenlerin seviye ve aralıkları.....	37
Tablo 2.3. Box behnken deneme planı	38
Tablo 3.1. Karayemiş meyvelerine ait fizikokimyasal analiz sonuçları.....	47
Tablo 3.2. Kek örneklerine ait renk analiz sonuçları.....	47
Tablo 3.3. DPPH inhibisyonu ve IC ₅₀ sonuçları istatistiki analizi	50
Tablo 3.4. Meyve türlerinin toplam fenolik madde sonuçları istatistiki analiz sonuçları ...	50
Tablo 3.5. Karayemiş örneklerinin fenolik bileşik kompozisyonu ve istatistiki analiz sonuçları	51
Tablo 3.6. Zenginleştirilmiş kek örneklerinin fenolik bileşik kompozisyonu.....	52
Tablo 3.7. Toplam fenolik madde miktarının ölçülmesinde kullanılan bağımsız değişkenlerin seviye ve aralıkları.....	54
Tablo 3.8. Üç bağımsız değişkenle BBD (Box Behnken Design) modeline göre oluşturulan deney tasarımı	54
Tablo 3.9. Toplam fenolik madde miktarının bulunmasında regresyon modelinin ANOVA tablosu	55
Tablo 3.10. Regresyon analizine ait katsayılar, F ve P değerleri	56
Tablo 4.1. Karayemiş meyvelerine ait korelasyon analizi	77

RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1.1. Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edilen karayemiş meyve turleri	1
Resim 2.1. Vakumlu etuv ve Desikatör	31
Resim 2.2. Kvl fırını	31
Resim 2.3. Masaüstü refraktometre	32
Resim 2.4. Su aktivitesi tayin cihazı.	33
Resim 2.5. Spektrometre cihazı	35
Resim 2.6. Karayemiş polifenollerini ekstraktı	38
Resim 2.7. Gam arabik kaplı aljinat taneciklerinin kurutulmadan önceki hali	40
Resim 2.8. Enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmiş kekler.....	42
Resim 3.1. Enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) Görüntüleri.....	66

1. GİRİŞ

1.1. Karayemiş

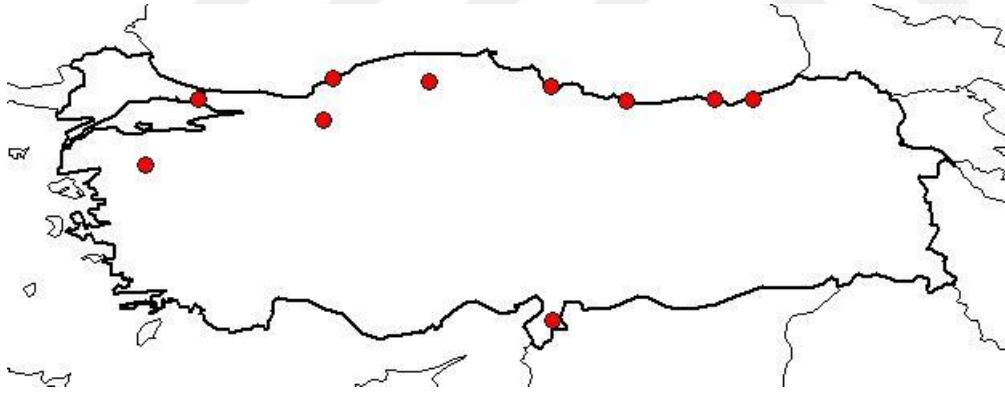
Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem., syn: *Prunus laurocerasus* L.), Rosaceae familyası ve Prunoideae subfamilyasına aittir. Prunoideae subfamilyası genel olarak çekirdekli meyveler olarak da bilinmektedir ve odunsu bitkilerin içerisinde en önemlilerindedir. Bu familyaya ait en bilinen beş tür şu şekildedir; Prunephora (erik, kayısı), Amygdalus (badem, şeftali), Cerasus, Padus, Laurocerasus (karayemiş) (Janick, 1996). Karayemiş meyvesi (*Laurocerasus officinalis* Roem.), Asya'nın batısında ve Türkiye'nin kuzeyinde yetişen, *Prunus* familyasında olan yenilebilir bir meyvedir (Colak ve ark., 2005). *Laurocerasus officinalis* Roem. (syn: *Prunus laurocerasus* L.) yaprak dökmeyen ve 6 metreye kadar uzayabilen bir bitkidir. Karayemiş meyvesi oval yapıda, yaklaşık 8 mm çapında, olgun hali kırmızıdan koyu mor veya siyaha kadar değişik renk alan bir meyvedir (F. A. Ayaz ve ark., 1997). Bu bitkinin meyveleri erken zamanlarda oldukça zehirlidir ancak olgunlaşma ile beraber çeşitli alkolik içeceklerin, reçel ve marmelatların hazırlanmasında kullanılabilir (F. A. Ayaz ve ark., 1997). Yabani formda bulunan türlerinin meyveleri buruk tadı nedeniyle çok fazla tercih edilmemektedir. Karayemiş meyvesinin sindirilmesi rahat ve tokluk hissi verme özelliği yüksektir. Çoğunlukla sofralık olarak tüketilmekte olup, kurutularak da tüketimi mevcuttur. Reçel, marmelat ve turşu olarak kullanılan meyveler; pasta, kek ve özellikle hoşaf ve kompostolara koku ve tat kazandırmak için kullanılmaktadır (Baytop, 1999).



Resim 1.1. Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edilen karayemiş meyve türleri (Soldan sağa; 55K06,61K04,61K05)

Türkiye’de yapılan morfolojik ve sitolojik karakterizasyon çalışmaları neticesinde, *Lauroserasus officinalis*’in “Oxygemmis”, “Globigemmis”, “Angustifolia” olmak üzere üç farklı form tespit edilmiştir. Bu formlardan Oxygemmis’in meyvelerinin büyük ve olgunlaştığında parlak siyah renkte, meyvelerinin tadının acı ve mayhoş olduğu; Globigemmis’in meyvelerinin Oxygemmis’in meyvelerine göre daha ince mezokarpı, sert ve olgunlaştığında siyah renkte, meyvelerinin tadının Oxygemmis’e göre daha iyi ve az mayhoş olduğu, bu yüzden de bu formun meyvelerinin daha çok tercih edildiği ifade edilmiştir. Angustifolia formu ise diğer iki türden daha geniş bir dağılım göstermektedir ve Avrupa’da süs bitkisi olarak değerlendirilmektedir (Sandallı, 2002).

Karayemiş meyvesi, Avrupa’nın güney doğusu, Balkanlar ve İran’ın kuzeyi başta olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde yetiştirilmektedir. Ülkemizde ise, mevcut doğal floramız içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Meyvenin doğal olarak görüldüğü yerler, Karadeniz Bölgesinin doğu kıyıları, Kafkaslar, Toroslar, Kuzey ve Doğu Marmara’dır (Macit, 2008). Ülkemizde sıklıkla karşılaşıldığı lokasyonlar aşağıdaki Şekil 1.1’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Ülkemizde karayemiş meyvesinin yetiştiği bölgeler

Ülkemizde karayemiş meyvesine ait ekonomik değeri olan bahçeler bulunmamaktadır. Karadeniz Bölgesi’nin doğu kıyılarında bulunan ağaçlar genellikle, evlerin, bahçelerin, çaylıkların ve fındık bahçelerinin kenarlarında bulunmaktadır.

Karayemiş geleneksel olarak, mide ülseri tedavisinde, sindirim ve solunum sistemi hastalıklarının tedavisi ile egzama, hemoroid gibi gibi sorunlarda, ateş düşürücü, ağrı kesici ve sakinleştirici ajan olarak kullanılmaktadır. Karayemiş meyvesinin, birçok besleyici özelliğinin yanı sıra antioksidan maddelerce de zengin olduğu rapor edilmiştir. Toplam fenolik madde içeriğinin serbest radikalleri bağlama kapasitesi, askorbik asit gibi

bazı referans malzemelerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Kolaylı ve ark., 2003). 58 ayrı uçucu esansiyel yağ bileşiği ve 3 farklı fenolik bileşik karayemiş meyvesinden saflaştırılmıştır (2-O-β-d-glucopyranosyl-2-hydroxyphenyl-acetic acid, kaempferol-3-O-β-d-xilopyranosyl-(1-→2)-O-β-d-glucopyranoside ve (+)-catechin) (Karabegović ve ark., 2013).

1.2. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması ve Özellikleri



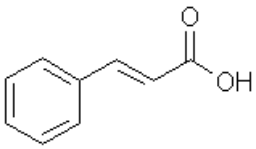
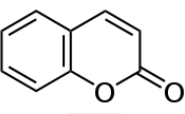
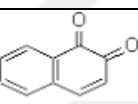
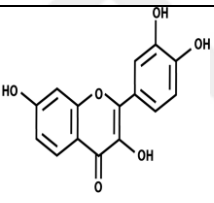
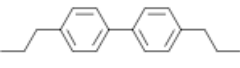
Fenolik bileşikler kimyasal olarak, en az bir adet hidroksil grubunun ortak kullanıldığı aromatik halkadan oluşmakta ve yapısal olarak basit fenolik bileşiklerden kompleks polimerleşmiş bileşiklere kadar çeşitlilik göstermektedirler. Bu yapılardan genel olarak polifenoller olarak bahsedilmektedir (Balasundram ve ark., 2006).

Fenolik bileşikler son zamanlarda tüketicilerin ve gıda üreticilerinin ilgisini bir hayli çekmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, fenolik bileşik ağırlıklı besinlerin ve içeceklerin tüketilmesinin hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir (Scalbert ve Williamson, 2000). Doğada bulunan bitkiler, basit fenoller, fenilpropanoitler, benzoik asit türevleri, flavanoidler, tanenler, lignanlar, ligninler gibi geniş bir yelpazede fenolik türevleri içermektedir (Shahidi ve Naczki, 2003). Tablo 1.1'de bu bileşiklerden bazılarının kaynağı ve kimyasal yapıları hakkında bilgiler verilmiştir.

Polifenoller her zaman bitkilerin en önemli bileşenlerinden olmuşlardır. Sekonder metabolit olarak adlandırılan bu bileşikler, farklı destekleyici veya koruyucu dokularda yapısal roller de dahil olmak üzere bitki yaşamının önemli fonksiyonel yönleri için oldukça gereklidir. Genel olarak, birçok bitki binlerce fenolik bileşik sentezlemektedir, bunların birçoğu karakterize edilebilmiş olsa da halen karakterizasyon işlemi devam etmektedir (Boudet, 2007).

Polifenol terimi, büyük yapısal çeşitlilikler ile 8000'den fazla bileşeni (en az bir tane aromatik halkası ve hidroksil grubu olan) içermektedir. Bu bileşikler kimyasal yapılarına göre yaklaşık 10 farklı şekilde gruplandırılabilirler. Tablo 1.1'de fenolik bileşiklerin doğada en fazla bulunan başlıca grupları verilmiştir.

Tablo 1.1. Başlıca fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Karbon (C) Sayısı	Sınıfı	Kimyasal Yapısı	Kaynağı
C ₆	Basit Fenoller		Yaygın şekilde bitkiler ve meyveler
	Benzokinonlar		
C ₆ -C ₃	Sinamik asit		Havuç, Narenciye, Domates, Ispanak, Şeftali, Tarçın, Armut, Patlıcan
	Kumarin		Havuç, Narenciye, Kereviz, Maydonoz
C ₆ -C ₄	Naftakinonlar		Fındık
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavanoidler		Yaygın bitkiler, meyveler
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanlar, neolignanlar		Çavdar, Susam, Buğday, Keten tohumu
(C ₆ -C ₁) _n	Hidrolize olabilen taninler	Fenolik asitler ve şekerlerden oluşan heterojen polimer	Nar, Ahududu
(C ₆ - C ₃) _n	Ligninler	Çapraz bağlanmış aromatik polimer	

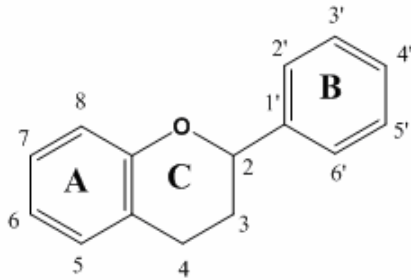
Beslenmemiz için en faydalı polifenoller fenolik asitler (benzoik asit ve sinamik asit) ve flavanoidlerdir (Balasundram ve ark., 2006; Escarpa ve Gonzalez, 2001; Naczki ve Shahidi, 2006). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir.

Fenolik asitler, bitkilerden, aglikon (serbest fenolik asitler), esterler, glikozitler ve bağlı kompleks yapılar gibi değişik formlarda zamanla oluşurlar. Fenolik asitlerin bu değişik formları, farklı ekstraksiyon koşulları için çeşitlilik göstermesine ve çeşitli degradasyonlara karşı stabilizasyon noktasında farklılıklar teşkil etmektedir (Ross ve ark.,

2009). Fenolik asitler, başlıca iki alt gruptan oluşmaktadırlar; hidroksibenzoik asitler (C_6-C_1) ve hidroksi sinamik asitler (C_6-C_3) (Balasundram ve ark., 2006).

Hidroksibenzoik asitler günlük diyetimizde tükettiğimizden gıdalardan sadece birkaçında bulunduğundan araştırmalara pek fazla konu olmamıştır. Hidroksi sinamik asitler ise daha yaygındır. Hidroksi sinamik asitler, donma, sterilizasyon, veya fermentasyona maruz kalmadıkça serbest halde pek bulunmazlar. Hem serbest hem de esterleşmiş yapıda en çok bulunan fenolik asit kafeik asittir ve birçok bitkide hidroksisinnamik asit miktarının en az %75'ini oluşturmaktadır (Manach ve ark., 2004).

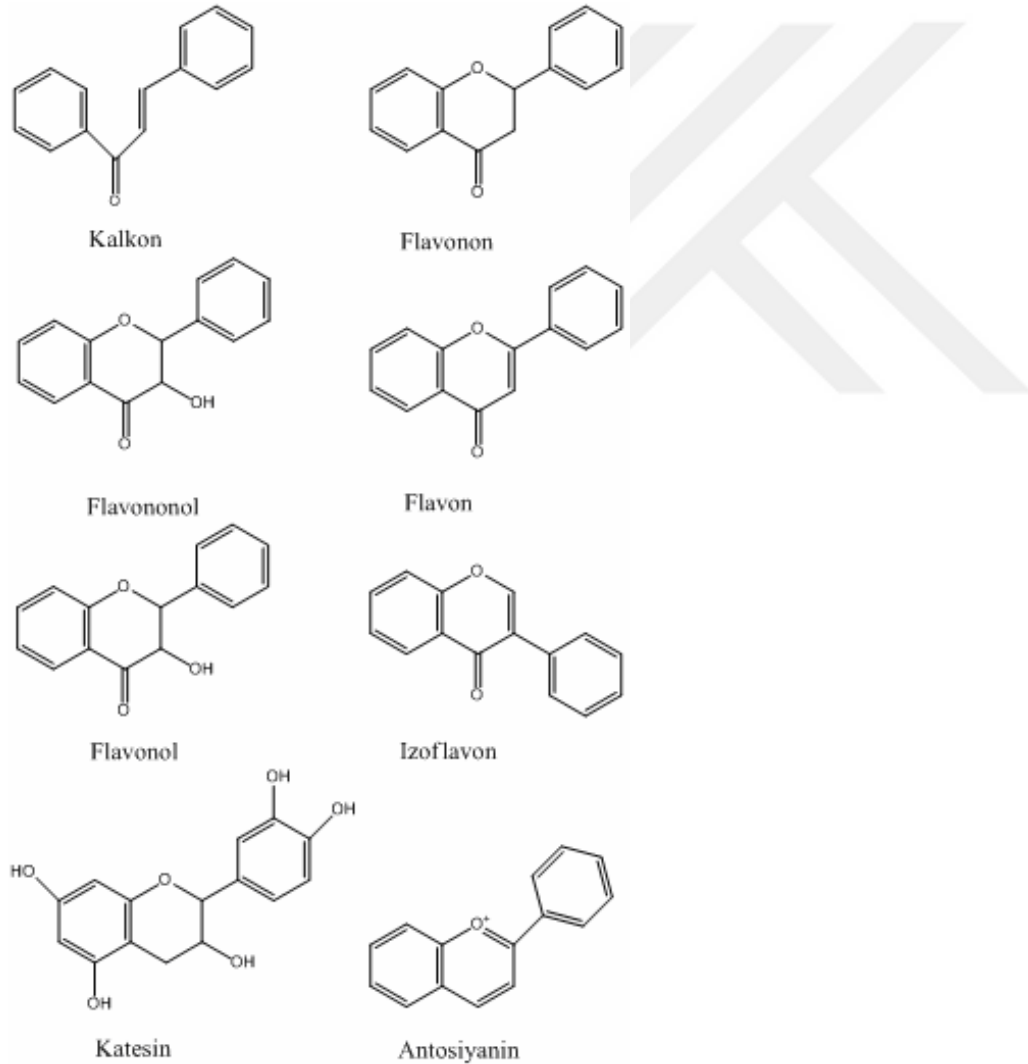
Flavanoidlerin ortak yapısı ise, iki aromatik halkadan oluşmaktadır ve fenil grupları arasındaki 3'lü karbon köprüsü oksijenle halka oluşturmaktadır. Flavanoidler, 3-melonil-CoA ile sinamik asitten türemiş olan, bitkilerin sekonder metabolitidir. Meyvelerin rengi çoğu zaman flavanoidlerden oluşsa da doğada birçok renksiz flavanoid de mevcuttur. Kimyasal yapılarındaki çok ufak değişiklikler, flavanoidlerin UV spektromunda farklı absorptans göstermelerini dolayısıyla birbirlerinden ayırmayı kolaylaştırmaktadır. Flavanoidlerin kimyasal yapıları Şekil 1.2'de gösterilmiştir. Burada gösterilen C halkasındaki oksidasyon derecesine göre, flavonlar, flavonoller, izoflavonlar, antosiyaninler, flavanoller, proantosiyanidinler ve flavanonlar olarak ayrılmaktadır (Scalbert ve Williamson, 2000; Y. Yılmaz ve Toledo, 2006).



Şekil 1.2. Flavanoidlerin basit monomerik yapısı (Yılmaz ve Toledo, 2006)

Şekil 1.3.'te ise $C_6-C_3-C_6$ fenolik bileşiklerinin kimyasal yapıları gösterilmiştir. Besinlerde aglikonlar olarak bulunan 200 çeşit flavon ve 100 çeşit flavonol çeşitli bitkilerde tanımlanmıştır. Bu iki bileşikte de C_2-C_3 arasında çift bağ bulunmaktadır. Flavonoller, flavonlardan 3 - konumunda hidroksil grubu içermelerinden dolayı ayrılırlar. Flavonol ve flavon glikozitleri oluşumunda ışığın rolü oldukça fazladır, bu yüzden yapraklarda ve meyve kabuklarında miktarı fazla olmasına karşın, toprak altında kalan kök

kısımlarında az miktarda bulunmaktadır. Flavonoller temel olarak mono-, di- ve triglikozitler olarak bulunurlar. Monoglikozitler çoğunlukla 3-O-glikozit olarak oluşurlar. Meyve ve sebzelerde flavonollerin 5, 7, 3' ve 4' pozisyonunda glikozitleşmesi nadirdir. Diglikozit durumunda, iki şeker yarımı aynı veya farklı iki karbona bağlanabilir. Bundan dolayı, 3-O-glikozitler ve 3,7-di-O-glikozit sıklıkla 3-rutinositler olarak bulunurlar. Rutin, meyve ve sebzelerde bulunan bir çeşit diglikozittir. Triglikozitler en az bulunan flavonol glikozitleridir. Flavanonlar aynı zamanda hidrokşiflavanon olarak da adlandırılır. Flavonoller flavononlardan 3- pozisyonunda hidroksil grubu içermelerinden dolayı ayrılmaktadır ve çoğunlukla dihidroflavanon olarak anılmaktadır (Shahidi ve Naczka, 2003).



Şekil 1.3. C₆-C₃-C₆ fenolik bileşiklerinin kimyasal yapıları (Shahidi ve Naczka, 2003)

1.3. Gıda Sanayinde Aktif Bileşenler ve Enkapsülasyon Teknolojisi

Aktif bileşenler, kimyasal olarak sentezlenebilir veya doğal kaynaklardan izole edilerek saflaştırılabilirler. Tüketiciler olarak bizler her zaman, tüketeceğimiz gıdalarda sentetik içeriklerden ziyade doğal bileşenlerin olmasına dikkat ederiz. Bu husus gıda üreticileri açısından aktif bileşenlerin seçimi noktasında bir hayli önem arz etmektedir. Genellikle gıdalarda kullanılan biyoaktif bileşenlerin moleküler, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir. Moleküler düzeyde, atomik kompozisyonu, molekül ağırlığı, 3 boyutlu yapıları, kendi esneklikleri, polariteleri ve elektrik yükleri karşılaştırılarak karakterize edilebilirler. Fizikokimyasal düzeyde, fiziksel durumlara (erime noktası, kaynama noktası), farklı çözücüler (su, yağ, vs.) içerisinde çözünme ve ayrılma durumlarına, reolojik özelliklerine, yüzey aktivitelerine, oksidasyon veya hidroliz karşısında kimyasal stabilitelere ve renk gibi optik özelliklerine göre karakterize edilebilirler. Biyolojik olarak ise, mikroorganizma, insanlar ve hayvanlar ile etkileşimleri (örneğin; antimikrobiyal aktivite, aroma, lezzet ya da biyoaktivite) dikkate alınarak karakterize edilebilirler (McClements, 2012).

Son yıllarda fonksiyonel gıdalara olan eğilimin artmasından dolayı, antioksidan bileşenler gıda sanayii için gayet ilgi çekici bir içerik haline gelmiştir. Bu bileşenler yukarıda bahsedildiği üzere yapay veya doğal olabilirler ve lipid oksidasyonunun hızını yavaşlatmak için gıda ürünlerinde kullanılmaktadırlar. Antioksidan bileşikler kimyasal yapılarına bağlı olarak, hidrofilik, lipofilik veya amfifilik yapıda olabilirler. Antioksidan bileşenlere genellikle, kullanımını kolaylığını artırmak, kimyasal bozunmalarını önlemek, gıda sistemleri içerisinde uyumluluğunu artırmak için enkapsülasyon işlemi uygulanır. Tablo 1.2’de çeşitli aktif bileşenlere uygulanan enkapsülasyon işleminin bazı avantajlarından bahsedilmiştir.

Tablo 1.2. Gıda endüstrisinde kullanılan biyoaktif bileşenler ve enkapsülasyon işleminin potansiyel avantajları

Aktif Bileşenler	Örnek	Enkapsülasyon İşleminin Avantajları
Aroma Maddeleri	Narenciye Yağları	*Sulu ortamda birleşim sağlar. *Depolama ve kullanım kolaylığı sağlar. *Kimyasal bozulmayı geciktirir. *Kontrollü salınım sağlanır.
Antimikrobiyal Bileşenler	Esansiyel Yağlar	*Matriks uyumluluğunu geliştirir. *Depolama ve kullanım kolaylığı sağlar. *Kimyasal bozulmayı geciktirir. *Kokuları maskeler. *Potansiyel yararlılığını artırır.
Antioksidan Bileşenler	Karotenoidler	*Sulu ortamda birleşim sağlar. *Depolama ve kullanım kolaylığı sağlar. *Kimyasal bozulmayı geciktirir. *Potansiyel yararlılığını artırır.
Biyoaktif Peptidler	Kolesistokinin	*Midede bozunmayı geciktirir. *Acılık ve burukluğu azaltır. *Kontrollü salınım sağlar.
Oligosakkaritler ve Lifler	Kitosan	*Olumsuz madde etkileşimlerini önler. *Ürün tekstürünü geliştirir. *Kontrollü taşınım sağlar.
Mineral Maddeler	Demir	*İstenmeyen oksidatif reaksiyonları önler. *Çökelmeyi önler. *Biyoyararlılığını artırır.
Vitaminler	D Vitamini	*Sulu ortamda birleşim sağlar. *Kullanımını kolaylaştırır. *Kimyasal bozulmayı önler. *Biyoyararlılığı geliştirir.
Biyoaktif Yağlar	ω -3 yağ asitleri	*Sulu ortamda birleşim sağlar. *Kullanımını kolaylaştırır. *Kimyasal degradesyonu (oksidasyon) önler. *Kontrollü taşınım sağlar. *Biyoyararlılığı geliştirir.
Probiotikler	Laktik asit bakterileri	*Midede bozunmayı geciktirir. *Ürün içerisinde hücre canlılığı sağlanır.

1.4. Enkapsülasyon Prosesi

Enkapsülasyon teknolojisi, katı, sıvı ve gaz bileşiklerinin polimerik yapıdaki materyaller ile sürekli filmler içerisinde kaplanmasıdır (Gonçalves ve ark., 2016). Son yıllarda çok fazla aktif bileşen, ilginin giderek arttığı fonksiyonel ürünlerde kullanılmakta ve bu aktif bileşenleri, gıdanın ürününün üretim prosesi boyunca zarar görmeden kalabilmesi için yeni yöntemler araştırılmaktadır. Enkapsülasyon işleminin amacı, çekirdek materyali olarak tanımlanan aktif bileşeni dış ortamdan kaynaklanacak olumsuzluklardan (oksidasyon, ısı işlem, ışık, vb.) korumak ve gıda işlenmesi aşamasında kontrollü salınımı sağlamaktır. Enkapsüle edilmiş materyalin ısı, ışık, oksidasyon ve neme karşı dayanıklılığı sağlanmış olur. Çeşitli bileşenlerin birleştirilerek enkapsüle edilmesi ile oluşan taneciklerin çapı 5 ile 300 mikron arasında değişmektedir.

Enkapsüle edilen aktif bileşenin etrafını saran katmana duvar materyali, kaplanan ve kapsülün içerisinde tutulan maddeye ise çekirdek materyali denir (Young ve ark., 1993). Enkapsülasyon işlemi için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan aşağıda kısaca bahsedilmiş olup, ilgili işlemler Tablo 1.2’de gösterilmiştir.

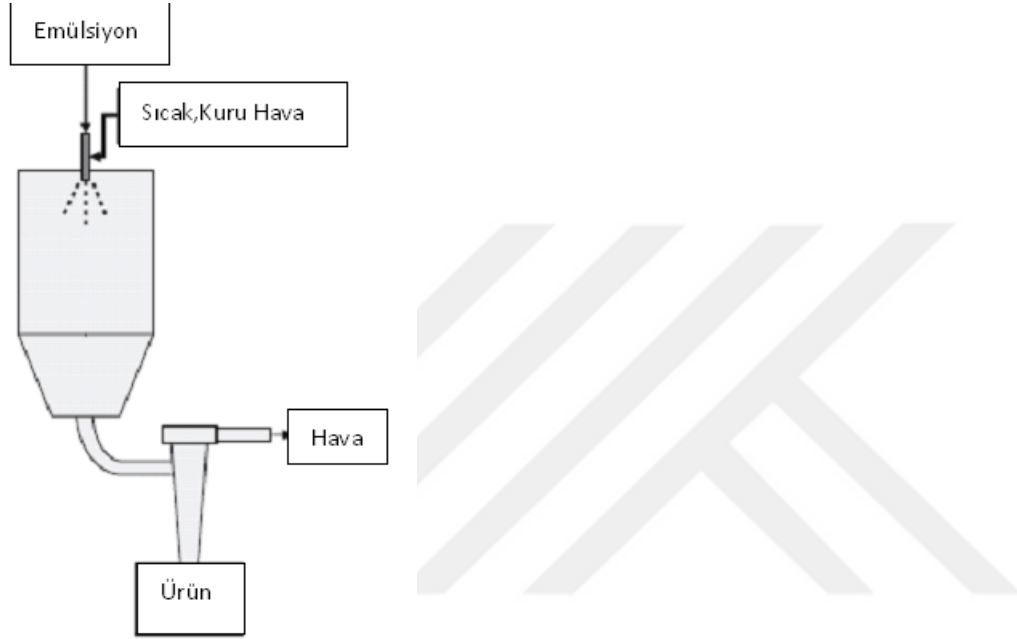
1.4.1. Enkapsülasyon Metotları

Gıda sanayinde ve daha çok laboratuvar ortamında kullanılan enkapsülasyon metotlarından daha sık kullanılanlarından aşağıda bahsedilmiştir. Diğer seçilmiş metotlar ile ilgili bilgiler ise Tablo 1.3’de toplanmıştır.

1.4.1.1. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi

Enkapsülasyon işleminde kullanılan en eski ve en yaygın yöntemdir. Bu yöntemin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasının başlıca sebepleri, kullanışlı ve devamlı sistem olması, yüksek kaliteli partikül sağlaması ve işletme maliyetinin dondurarak kurutma yöntemine göre düşük olmasıdır. Bu yöntem de duvar materyali olarak nişasta, maltodekstrin ve ticari gıdalar kullanılabilir. Proses aşamalarının uygulaması son derece basittir; çekirdek materyali, duvar materyali ile homojenize edilerek karıştırıldıktan sonra direk olarak cihaza verilerek, sıcaklık ve kuru hava ile temas ettirilerek mevcut su uzaklaştırılır ve mikro yapıdaki kapsüller (10–100 μm) elde edilmiş olur. Bu yöntemin

dezavantajları ise, suda çözünme özelliğine sahip duvar materyallerinin az olması ve ısıya duyarlı olan biyoaktif bileşenlerin bozulmasıdır (Fang ve Bhandari, 2010). Ancak her ne kadar bu yöntemin ısıya duyarlı biyoaktif bileşenler için dezavantaj olduğu belirtilse de, cihaz ile temas edilen zamanın az olması bu bozulma etkisini en aza indirmektedir (Vidhyalakshmi ve ark., 2009). Sistemin şekli, Şekil 1.4'de gösterilmiştir.



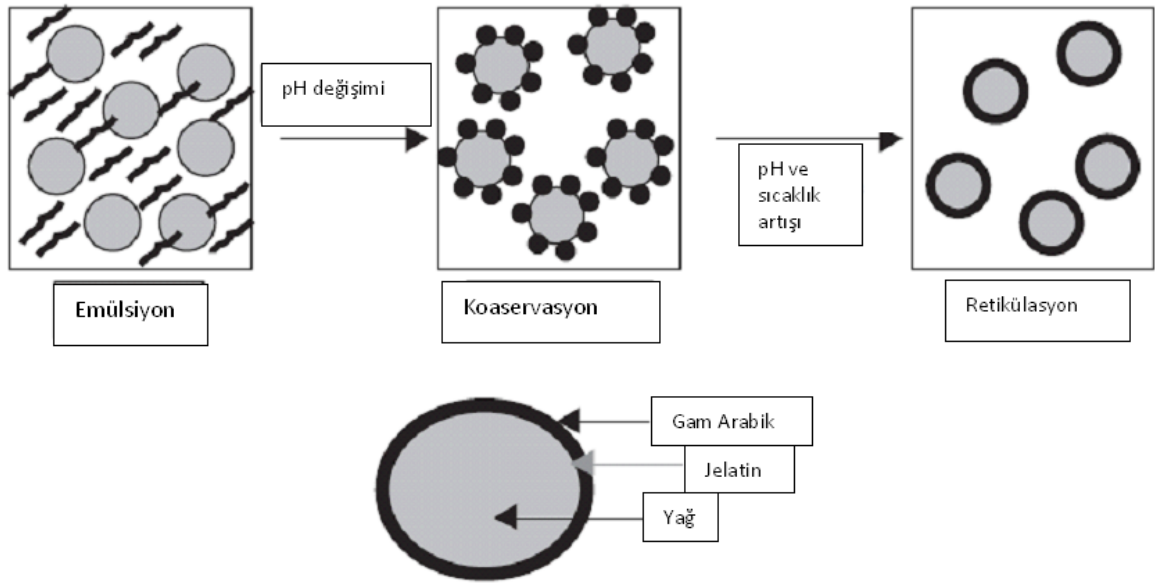
Şekil 1.4. Püskürtmeli kurutucu sistemi (Zuidam ve Shimoni, 2010)

1.4.1.2. Ekstrüzyon Yöntemi

Ekstrüzyon yönteminin patenti 1957'de Swisher ve ekibi tarafından alınmış olup daha sonra aynı grup tarafından geliştirilmiştir (F. Gibbs, 1999). Bu yöntemin işlem basamaklarına örnek verecek olursak; narenciye yağları gliserin içerisinde 125°C buhar ile ısıtılarak disperse edilir, daha sonra vakum altında isopropil alkol gibi sıvılar uzaklaştırılır. Katılaştırılmış materyal santrifüj veya filtrasyon ile ayrılır ve vakum kurutma işlemine alınır (Crocker ve Pritchett, 1978). Bu yöntemin avantajı, çekirdek materyali duvar materyali tarafından tamamen izole edilmektedir ve dışarıya herhangi bir sızma olmamaktadır. Ekstrüzyon yönteminde aroma maddeleri, C vitamini, renk bileşenleri enkapsüle edilmek için kullanılmaktadır.

1.4.1.3. Koaservasyon Yöntemi

Bu yöntemde mikron seviyelerinden santimetre seviyelerine kadar çeşitli boyutlarda kapsüller elde edilir. Son yıllarda bu yöntemde gıda sistemleri için kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu yöntem verimli olmasına karşın, işletme maliyeti yüksektir. Ancak bu yüksek maliyetinin yanında hassas bileşikler için uygun bir enkapsülasyon yöntemidir. Bu yöntem genellikle aroma yağlarının enkapsülasyonunda kullanılırken, vitaminler, balık yağları, koruyucu bileşenler ve enzimler içinde elverişli bir metottur. Koaservasyon yönteminde sadece bir kolloid kullanılabildiği gibi daha karmaşık proseslerde değişik kombinasyonlar kullanılabilmektedir (Fang ve Bhandari, 2010). İlgili yönetime ait işlem basamakları Şekil 1.5’de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Koaservasyon yöntemi aşamaları (Madene ve ark., 2006)

1.4.1.4. Dondurarak Kurutma Yöntemi

Liyofilizasyon olarak adlandırılan bu yöntem, ısıya duyarlı biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonu için oldukça elverişli bir yöntemdir. Dondurarak kurutma yöntemi, dondurulmuş üründeki suyu vakumlu ortamda uzaklaştırmayı amaçlar. Bu yöntem ürünün başlangıçta dondurulması (böylece gıdadaki su bulunduğu yerde buz halinde bağlanmakta) ve takip edilen süreçte düşük basınç altında buzdan süblimasyonu sağlamak için ısı

verilmesi şeklindedir. Dolayısıyla dondurarak kurutma işlemi “dondurma” ve “kurutma “ olmak üzere 2 aşamada oluşmaktadır. Bu yöntemin dezavantajları, işletme maliyetinin yüksek olması, işlem zamanının uzun süre alması, püskürtmeli kurutma yöntemine göre yaklaşık 30–50 kat daha pahalı olmasıdır (Zuidam ve Shimoni, 2010). Bu yöntem ile, püskürtmeli kurutma yönteminde kullanılan yüksek sıcaklık sonucu, son üründe meydana gelen yapı, tekstür, görünüm ve aroma değişimi ve bozulması sonucu oluşan ürün bozulması en aza indirgenebilir (Anwar ve Kunz, 2011).

1.4.1.5. İyonik Jelasyon Metodu

İyonik jelasyon veya damlatma metodu uygulanabilirliği kolay ve ekonomik bir yöntem olup, sanayi tipi üretime uygun olmadığından daha çok laboratuvar ortamında kullanılmaktadır. Bu yöntemde duvar materyali ile aktif madde homojenize edilerek şırınga vasıtasıyla dağıtıcı faz içerisine damlatılarak kapsüller elde edilir.

İyonik jelasyon metodu kalsiyum–aljinat taneciklerinin elde edilmesinde kullanılan metot olup, gerekli pH ortamı hazırlanıp kalsiyum klorür molekülündeki kalsiyum ile sodyum aljinat molekülündeki aljinatın bağlanması ilkesine dayanır. Şekil 1.6’da bu yöntemin çalışma mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Damlatma sistemi (McClements ve Li, 2010)

İyonik jelasyon yöntemi laboratuvar ölçeğinde kullanımının kolay olması, hidrofilik veya hidrofobik, ısıya duyarlı, akışkan veya viskoz, katı veya sıvı hemen hemen tüm bileşenlerin bu metotla enkapsüle edilebilmesi gibi olumlu özelliklerinden dolayı sıkça tercih edilmektedir. Ancak bu özelliklerinin yanında üretim prosesinin büyütülememesi gibi olumsuz yanları vardır. Ayrıca elde edilen kapsüller çok gözenekli olduğundan aljinat matriksinden suyun veya başka bir sıvının giriş çıkışı yoluyla difüzyonuna çok müsaittir (Gouin, 2004). Negatif yüklü aljinat ile zıt yüklü kitosan yarı geçirgen bir membran oluşturarak kapsül yüzeyinin daha düzgün ve suda çözünür molekülleri daha az geçiren bir yapı oluşturmaktadır (Nualkaekul ve ark., 2012).

Kalsiyum–aljinat taneciklerinin üretilmesinde tercih edilen aljinat konsantrasyonu % 0.6–3.0 arasında değişirken CaCl_2 çözeltisi 0.05–1.5 M olarak kullanılmaktadır. Üretilen kapsüllerin büyüklüğü şırınga çapına, titreşim sistemine, aljinat çözeltisinin viskozitesine ve kalsiyum klorür çözeltisi ile şırınga arasındaki mesafeye bağlıdır (Nualkaekul ve ark., 2012).

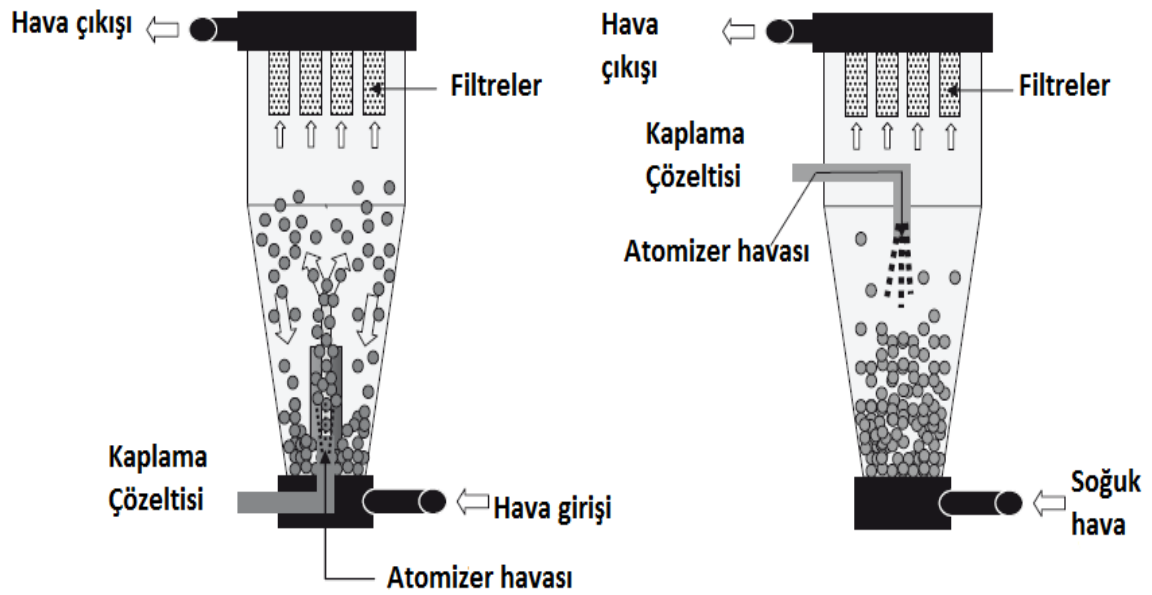
1.4.1.6. Akışkan Yataklı Kaplama Metodu

Akışkan yataklı kaplama, kesikli (Şekil 1.7) ya da sürekli (Şekil 1.8) proses içinde toz halindeki parçacık üzerine kaplama tekniğidir. Toz parçacıkları belirli bir sıcaklıktaki hava akımı ile süspansiyon haline getirilir ve bir atomizer ile kaplama materyaline püskürtülür. Zamanla, püskürtme noktasına gelen her parçacık kademeli olarak kaplanmaktadır. Kaplama materyali uygun pompalama ve atomizasyonu sağlanması için kabul edilebilir bir viskoziteye sahip olmalı ve termal olarak stabil olmalı ve partikül yüzeyinde film yapabilir olmalıdır. Genel olarak çekirdek materyalinin boyutuna ve enkapsülasyon uygulamasına bağlı olarak kaplama materyali %5-50 arasında uygulanır.

Kaplama materyali selüloz türevleri, dekstrinler, proteinler, gamlar ve/veya nişasta türevlerinin sulu çözeltisi olabilir ve kaplama materyalinin su içeriğinin evaporasyonu sprey oranı, kaplama materyalinin su içeriği, hava akışına, hava girişinin nem miktarına, kaplama çözeltisinin sıcaklığına, atomize edilen havaya, ve hava odasının malzemesi gibi birçok faktör kontrol edilir (Dewettinck ve Huyghebaert, 1999; Guignon ve ark., 2002; E Teunou ve Poncelet, 2002; E. Teunou ve Poncelet, 2005). Würster ayarlaması olarak da adlandırılan kaplamada kaplama solüsyonu alttan püskürtülür (Şekil 1.7). Hava akış hızı ana akışta ve iç kolonda %80 iken toz parçacıkları sirkülasyona getiren çevrede ise

%20'dir. Bu durum kurutma oranı ve aglomerasyonunu arttırmaktadır. Alttan püskürtme toz ile kaplama çözeltisi damlaları arasındaki mesafeyi azaltmaktadır ve böylece kaplamanın erken kuruma riski azalmaktadır.

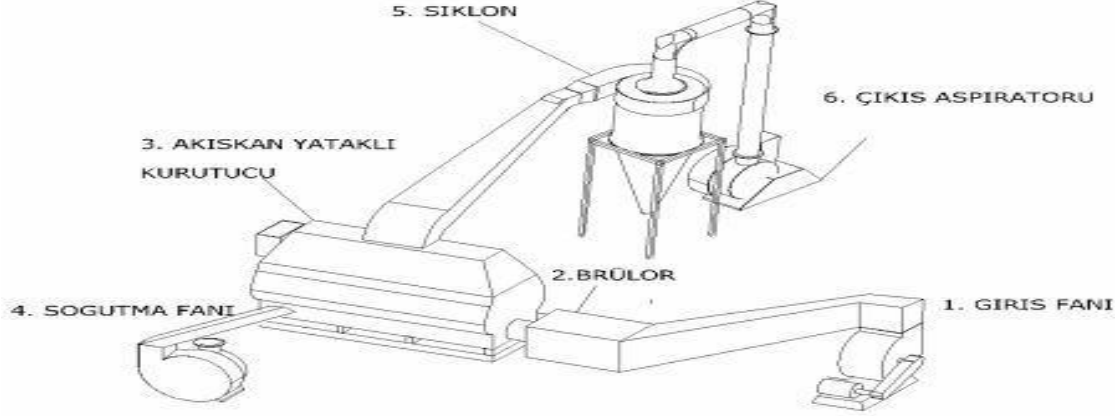
Alternatif olarak ise, kaplama olarak üstten veya alttan uygulanabilen erimiş lipid de kullanılabilir (Şekil 1.7). Kullanılan lipidlere; doyurulmuş sebze yağları, yağ asitleri, emülsifiyerler ve/veya mumlar örnek olarak verilebilir. Toz partiküller ulaşmadan önce lipidlerin katılaşmamasına dikkat edilmelidir. Yağın katılaşmasını önlemek amacıyla, yağın pompalandığı depolama kabının yanında atomizer memesi ve havanın ısıtılması suretiyle yapılabilmektedir. Lipit kapsülasyon odasına girer girmez, aplikasyon oranı tarafından katılaşma (dondurulma) oranı kontrol edilmekte ve giriş havası genellikle erime noktasının altına (10-20 °C) soğutulmaktadır. Ürün sıcaklığı ile yağın erime sıcaklığı birbirine çok yakın olması sonucunda yapışkan partiküller oluşmakta ve böylelikle aglomerasyon meydana gelebilmektedir. Düşük ürün sıcaklığında ise tam yayılma olmadan katılaşma meydana gelmekte ve böylece kaplama kusurları ve gözenekler oluşmaktadır.



Şekil 1.7. Kesikli sistemli akışkan yatak kurutucusun şekli

Akışkan yatak kurutucu ile kaplanan partiküller ideal olarak küresel ve yoğun olmalı ve sınırlı parçacık boyutuna ve iyi bir akışkanlığa sahip olmalıdır. Küresel parçacıklar, küresel olmayan parçacıklara göre en az yüzey alanına sahiptir ve aynı kabuk kalınlığını sağlamak için daha az kaplama materyaline gerek duymaktadırlar. Keskin

kenarlar taşıma sırasında kaplamaya zarar verebilmektedir. İnce ve düşük yoğunluklu partiküller ise makinanın üst filtre torbaları üzerinde birikme riski gibi karşı karşıya olabilir.



Şekil 1.8. Sürekli sistem akışkan yatak kurutucu

1.4.1.7. Sprey Soğutma ya da Sprey Dondurma

Sprey-soğutma ya da sprey-dondurma, lipid kaplamalı aktif materyal üretmek için kullanılan başka bir teknolojidir (Kjaergaard, 2001; Uhlemann ve ark., 2002; Gouin, 2004). Aktif materyal lipid ile çözünebilir, kuru partiküller ya da sulu emülsiyonlar halinde olabilir. İlk olarak erimiş lipid damlacıkları lipidlerin katılaşmasını sağlamak amacıyla soğutma odasına atomize edilmektedir ve sonuç olarak ince partiküller elde edilmektedir. Sprey soğutma başlangıç aşaması bakımında sprej kurutmaya oldukça benzerdir fakat sprej soğutmada suyun buharlaştırılması yoktur. Sprej dondurma tekniğinde akışkan yatak sprej gronülasyonua benzer bir şekilde partiküller düşük sıcaklıkta tutulmaktadır. Genel olarak sprej soğutma için kullanılan yağların sıcaklığı 34–42 °C arasında iken, sprej dondurma için daha düşüktür. Döner disk katı yağ partiküllerinin hazırlanmasına başka bir atomizasyon metodudur (Sparks ve Mason, 1987). Erimiş lipid partiküllerin bir süspansiyonu döner disk kenarında atomizasyon ile kaplanmış partikülleri ayırır, ardından disk üzerinde yayılır. Disk, düz veya kase şekilli olabilir ve ısıtılabilir. Diskten düştüğü sap damlacıklar katılaşmaktadır. Damlacık büyüklüğüne ve erime özelliklerine bağlı olarak diskin belli bir düşme yüksekliğine sahip olması gerekmektedir. Partiküllerin boyutu, çekirdek partiküllerine, erime sıcaklığı ve vizkositesine, disk konfigürasyona ve dönüş hızına bağlıdır.

Tablo 1.3. Gıda sanayinde kullanılan enkapsülasyon metotları

Kullanılan Metot	Proses Aşamaları	Morfolojik Yapı	Yükleme Kapasitesi (%)	Partikül Boyutu (µm)
Püskürtmeli Kurutma	1. Sulu kaplama materyali içinde aktif materyali çözme ya da dağıtma 2. Atomize etme 3. Kurutma	Matris	5 – 50	10 – 400
Akışkan Yatak Kaplama	1. Aktif tozu akışkan hale getirme 2. Sprey kaplama 3. Kurutma ya da soğutma	Rezervuar	5 – 50	5 – 5000
Püskürtmeli dondurucu/soğutucu	1. Isıtılmış lipit solüsyonunda aktif materyali çözme ya da dağıtma 2. Atomize etme 3. Soğutma	Matris	10 – 20	20 – 200
İyonik Jelasyon	1. Damlatma çözeltisinin hazırlanması 2. Jelleşme ortamının hazırlanması 3. Kapsüllerin eldesi	Matris	10	500 – 5000
Ekstrüzyon	1. Kaplama 2. Kaplama içinde aktif materyali çözme ya da dağıtma 3. İkiz vidalı ekstrüder ile ekstrüzyon 4. Soğutma	Matris	5 – 40	300 – 5000
Emülsifikasyon	1. Aktif materyali çözme ve yağ ve su fazında emülsifiye etme 2. Kesme altında su ve yağ fazlarını karıştırma	Matris	1-100	0,2-5000
Koaservasyon	1. Yağ fazında lipofilik aktif materyal ile o/w emülsiyon hazırlama 2. Türbülanslı koşullar altında karıştırma 3. Üçüncü karışmayan fazı indükleme 4. Soğutma 5. Çapraz bağlama (opsiyonel)	Rezervuar	40-90	100-800
Dondurarak Kurutma	1. Aktif ve taşıyıcı materyalin su içerisinde çözündürülmesi ya da dağıtılması 2. Örneklerin dondurulması 3. Düşük basınç altında kurutma 4. Ögütme	Matris	Çeşitli	20-5000

Çok Katmanlı Emülsiyon Hazırlama	1. Yağ fazında ve iyonik emülsifiyerler ile lipofilik aktif materyal ile o/w emülsiyon hazırlama 2. Zıt yüklü polielektrolit içeren sulu çözelti ile karıştırma 3. Serbert polielektrolitleri uzaklaştır 4. 2. ve 3. adımları tekrarla	Rezervuar	1-90	0.2-5000
Ko-Ekstrüksiyon	1. Aktif materyalin yağ içinde dağıtılması ya da çözündürülmesi 2. Sulu ya da yağlı kaplama materyalinin hazırlanması 3. Konstantirik meme kullanılması ve iç meme aracılığı ile yağ fazının, dış meme vasıtasıyla su fazından preslenmesi 4. Jelleşme ya da soğutma banyosuna damlatma	Rezervuar	70-90	150-8000
Lipozom tuzaklama	1. Aktif materyalli su ya da lipit fazını su içinde dağıtma 2. Yüksek kesme veya ekstrüzyon yoluyla boyut küçültme 3. Fazla aktif materyalin uzaklaştırılması	Çeşitli	5-50	10-1000

1.4.2. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplayıcı Maddeler

Enkapsülasyonda kullanılan kaplayıcı materyaller genellikle biyopolimerlerden meydana gelmektedir. Karbonhidratlar (sakaroz, maltodekstrin, modifiye nişasta, siklodekstrin, selüloz vs.), gamlar (gam arabik, guar gam, sodyum aljinat, ksantan gam vs.), proteinler (süt proteinleri, jelatin) ve lipitler enkapsülasyonda en çok kullanılan polimerik yapıdaki materyallerdir.

En uygun kaplayıcı materyal şu özelliklere sahip olmalıdır;

- Yüksek konsantrasyonda düşük viskozite özelliği göstermeli,
- Aktif materyal ile reaksiyona girmemeli,
- Ucuz olmalı,
- Dış etkenlere karşı aktif materyali iyi korumalı,
- İstenen yer ve zamanda aktif materyali serbest hale geçirmek için iyi bir çözünürlük göstermelidir (Desai ve Jin Park, 2005; Madene ve ark., 2006).

Ancak, genellikle kaplayıcı materyal bütün bu özellikleri tek başına taşıyamadığı için, belirli bir kompleks şekilde beraber kullanılmaktadır.

Gıda uygulamalarında kaplayıcı materyaller, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ve “genellikle güvenilir sayılan” (GRAS) materyaller olması gerekmektedir. Eczacılık ve kozmetik sektöründe birçok farklı kaplayıcı materyaller bulunmasına rağmen gıda alanında tüketilebilir (food-grade) nitelikte olması gerektiğinden kaplayıcı materyal miktarını sınırlandırmaktadır.

Duvar materyalinin seçimi mikroenkapsülasyon verimliliği ve mikro yapıdaki kapsüllerin stabiliteyi açısından önemlidir. Duvar materyalinin seçiminde

- çözünürlük,
- film oluşturma özelliği,
- emülsifiyer özelliği ve moleküler ağırlığı gibi birçok kriter önemlidir (Gharsallaoui ve ark., 2007; Turchiuli ve ark., 2005).

Taşıyıcı materyal seçimi sırasında cevaplanması gereken birçok sorular vardır (Wandrey ve ark., 2010);

- Son üründe istenen enkapsülasyon özellikleri için taşıyıcı materyalde bulunması gereken fonksiyonel özellikler nelerdir?
- Taşıyıcı materyal için çeşitli sınırlamalar var mı?
- Hangi konsantrasyonda verimli bir enkapsülasyon sağlanır?
- Nasıl bir salınım mekanizması gerekmektedir?
- Ekonomik sınırlamalar var mıdır?

Tablo 1.4. Mikroenkapsülasyonda kullanılan taşıyıcı materyaller ve menşei

Menşei	Karbonhidrat Polimeri	Protein	Lipid
Bitki	Nişasta – Derivatları	Gluten (mısır) Izolatları	Fatty acids/alcohols Glycerides Waxes Phospholipids
	Selüloz – Derivatları		
	Bitki gamları – Gum arabik – Gum karaya – Mesquite gum		
	Bitki ekstratları – Galaktomannanlar – Çözünbilir soya fasülyesi		
	Polisakkaritler		
Marine	Karragenan Aljinat		
Mikrobiyal/Hayvansal	Ksantan Gellan Dekstran Kitosam	Kazein Peynir altı proteinleri Jelatin	Yağ asitleri/alkoller Gliseridler Mumlar Fosfolipidler

1.4.2.1. Karbonhidratlar

Modifiye ve hidrolize nişasta, selüloz türevleri, siklodekstrin, pektin, çözünür soya polisakkaritleri mikroenkapsülasyon teknolojisinde yaygın olarak kullanılan karbonhidratlardır (Jafari ve ark., 2007). Tablo 1.4’de karbonhidratların farklı öz maddeler ile kullanım örnekleri verilmektedir. Karbonhidratlar iyi çözünürlük özelliği gösterdiğinden ve yüksek kuru madde çözeltilerinde düşük viskozite özelliği gösterdiğinden dolayı iyi birer kaplayıcı maddelerdir. Ayrıca ucuz olmaları mikroenkapsülasyon işleminde kullanımında önemli tercih edilme sebeplerindedir (Apintanapong ve Noomhorm, 2003; Madene ve ark., 2006; Wandrey ve ark., 2010). Jelleşme özellikleri sayesinde, emülsiyon ayrılma ve birleşmeye karşı stabilizasyon sağlayabilmektedirler. Fakat çoğunun ara yüzey özellikleri düşük olduğundan genellikle proteinler veya gamlar gibi kaplayıcı maddeler ile birlikte kullanılırlar (Gharsallaoui ve ark., 2007).

Mikroenkapsülasyon özelliklerini geliştirmek için karbonhidratların kimyasal modifikasyonları oluşturulmaktadır. Modifikasyon işlemi ile nişastanın özellikleri

geliştirilebilir. Örneğin oktenil süksinat nişastası (n-OSA), nişastanın alkenlenmiş dikarboksilik asit anhidriti ile bağlanması sonucu elde edilen bir modifiye nişasta türevidir. n-OSA nişastası, genellikle üç aşamada elde edilmektedir. Nişasta granülü, jelatinizasyon sıcaklığının altında sulu alkali içinde oktenil yerine süksinik asit ile bağlanırlar. İkinci adımda, jelatinizasyon ile nişasta esterleri çözünür hale getirilir ve son olarak viskoziteyi azaltmak için asit ile inceltir (Drusch ve Schwarz, 2006). Hidrofobik yan zincirlere sahiptir. Dolayısıyla yüzey aktif özelliğine sahiptir ve püskürtmeli kurutucu ile mikroenkapsülasyonda yaygın şekilde kullanılmaktadır. n-OSA nişastası, ticari adı Hi-Cap olarak geçmektedir (Krishnan ve ark., 2005).

Nişasta asit veya enzimle hidrolize edilerek yapıları değiştirildiğinde ise hidrolize nişastalar elde edilmektedir. Hidrolize nişastalar dekstroz eşdeğerliği (DE) değerine göre farklı isimler almaktadırlar (Wandrey ve ark., 2010). Örneğin maltodekstrinler DE 20'nin altında olan hidrofilik bileşenlerdir. Bu yüzden hidrofobik lezzet bileşenlerine karşı ilgileri düşüktür (Gharsallaoui ve ark., 2007). Maltodekstrin, mısır ununa asit veya enzim uygulanarak kısmi hidrolizasyon ile elde edilir. Mikroenkapsülasyonda kaplayıcı olarak seçilmelerinde ucuz olmaları, yüksek kuru maddede düşük viskozite göstermeleri ve farklı moleküler ağırlıklarda bulunabilir olmaları etkilidir (Apintanapong ve Noomhorm, 2003; Madene ve ark., 2006). Ayrıca yağların mikroenkapsülasyonunda iyi oksidatif stabilite sağlamaktadırlar (Gharsallaoui ve ark., 2007). Ancak düşük emülsifiye etme kapasitesine ve stabilitesine sahip olmaları, uçucu bileşenleri tutma oranlarının düşük olması nedeni ile maltodekstrin kullanımı kısıtlanmaktadır (Madene ve ark., 2006). Ayrıca maltodekstrinin zayıf film oluşturma özelliği olduğundan uçucu bileşenlerin mikroenkapsülasyonunda çok iyi sonuçlar verememektedir (Ré, 1998). Maltodekstrin farklı kaplayıcı maddelerle birlikte kullanımı daha yaygındır. Örneğin, soya yağının kapsülasyonunda farklı dekstroz eşdeğerliğinde maltodekstrinin (5.5-38 DE) %50 oranında gam arabik ile yer değiştirmesi ile başarılı şekilde enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir (McNamee ve ark., 2001).

1.4.2.2. Gamlar

Gamlar bitkilerin mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak salgıladıkları maddedir. Gıda endüstrisi için kullanılabilen çok az çeşit gam bulunmaktadır (Wandrey ve ark., 2010). Gam arabik, tragakant gam, guar gam, lokust bean gam (keçiboynuzu gamı),

mesquite gam önemli gamları oluşturmaktadır. Tablo 1.4'te gamların farklı öz maddeler ile kullanım örnekleri verilmektedir.

Gam arabik (GA), arabinogalaktan, olisakkaritler, polisakkaritler ve glikoproteinlerden ve içerisinde yaklaşık %2 proteinden oluşan kompleks bir hidrokolloiddir. Akasya ağaçlarının değişik çeşitlerinden üretilen doğal bir sızıntı olmasından dolayı "akasya gamı" olarak da adlandırılmaktadır. Gıda uygulamalarında kullanılan akasya gamı temel olarak *Acacia Senegal* türünden elde edilmektedir. Senegal, Sudan ve Somali'de daha çok yetişmektedir (Wandrey ve ark., 2010). İçerisinde bulunan proteinler emülsiyon oluşturma özelliği sağlarken, arabinogalaktan ise film oluşturma özelliği kazandırır (Ré, 1998). Gam arabik, geniş pH aralıklarında yağlar ile stabil bir emülsiyon oluşturabilmektedir. Gam arabik asite karşı stabil olduğundan içecek sektöründe emülsifiyer olarak kullanılabilir. Gam arabik yağların çökmesine ve birleşmesine karşı stabilite sağlar. Film oluşturma ve yüzey aktivitesi nedeniyle yağların mikroenkapsülasyonunda yaygın olarak kullanılırlar. Ancak oksidasyona karşı koruyucu bariyer özelliği sınırlıdır. Örneğin, portakal yağında soya ve serum proteini kadar etkili değildir. Ayrıca yüksek maliyeti, kaynak sıkıntısı, kalite farklılıkları kullanımını sınırlandırmaktadır (Gharsallaoui ve ark., 2007). Çözünürlüğü, düşük viskozitesi, emülsiyon özelliği ile ve uçucu maddelerin tutulmasında geniş şekilde kullanım alanı bulan bir maddedir. Bir çalışmada, linoleik asit ile gam arabik karışımından oluşan emülsiyonun maltodekstrine göre daha küçük partiküllerden oluştuğu ve daha stabil olduğu belirtilmiştir (Minemoto ve ark., 2002).

1.4.2.3. Proteinler

Gıda proteinlerinden soya proteinleri, süt proteinleri, kazeinler ve peynir altı proteinleri, yumurta proteinleri kaplayıcı madde olarak kullanılan proteinlerdir. Proteinler amfifilik yapılarından dolayı kendi başlarına mikroenkapsülasyon için yeterli olabilmektedirler (Augustin ve Hemar, 2009). Tablo 1.4'te proteinlerin farklı öz maddeler ile kullanım örnekleri verilmektedir.

Kazeinler, yağları emülsifiye etmede önemlidirler. Sodyum kazeinat en esnek ve en düşük viskozitede yüzey filmi oluşturabilen süt proteindir (Wandrey ve ark., 2010). Serfert ve arkadaşlarının (2010) yaptığı mikroenkapsüle edilen balık yağının duyuşal olarak değerlendirildiği çalışmada, sodyum kazeinatın n-OSA nişastasından daha az balık

kokusu olduğu bunun nedeninin ise, sodyum kazeinatın oksidasyona karşı daha fazla koruyucu özellik göstermesi olabileceği belirtilmiştir (Serfert ve ark., 2010).

Peynir altı suyu proteinleri (serum proteinleri), peynir ve kazein ürünlerinden üretilen bir üründür. Serum proteinleri, süttten kazein ve yağların uzaklaştırılması ile elde edilir. Serum protein konsantratu (SPK), serum protein izolatu (SPI), serum proteinlerinin izolasyonları ile elde edilirler. SPK, düşük yağ içerikli %35-80 (g.g⁻¹) oranında protein içermektedir. SPI ise, yağı ve laktozu uzaklaştırılmış %90 (g.g⁻¹)’dan fazla protein içermektedir. Portakal yağının mikroenkapsülasyon çalışmasında kaplayıcı olarak gam arabik, serum protein izolatu, soya protein izolatu ve sodyum kazeinat kullanılmıştır. Bu çalışmada serum protein izolatu ve soya protein izolatu ile kaplanan portakal yağının mikrokapsüllerinin gam arabik ve sodyum kazeinat ile kaplanan mikrokapsüllerden oksidasyona karşı daha stabil oldukları belirtilmiştir (Kim ve Morr, 1996). Jelatin, renksiz veya hafif sarı, tatsız ve kokusuz bir yapıdadır. Jelatinler, gam arabik, aljinat, çözünür ve hidroksi nişasta gibi diğer hidrokolloitlerle birlikte kullanılabilirler (Dursun ve Erkan, 2009).

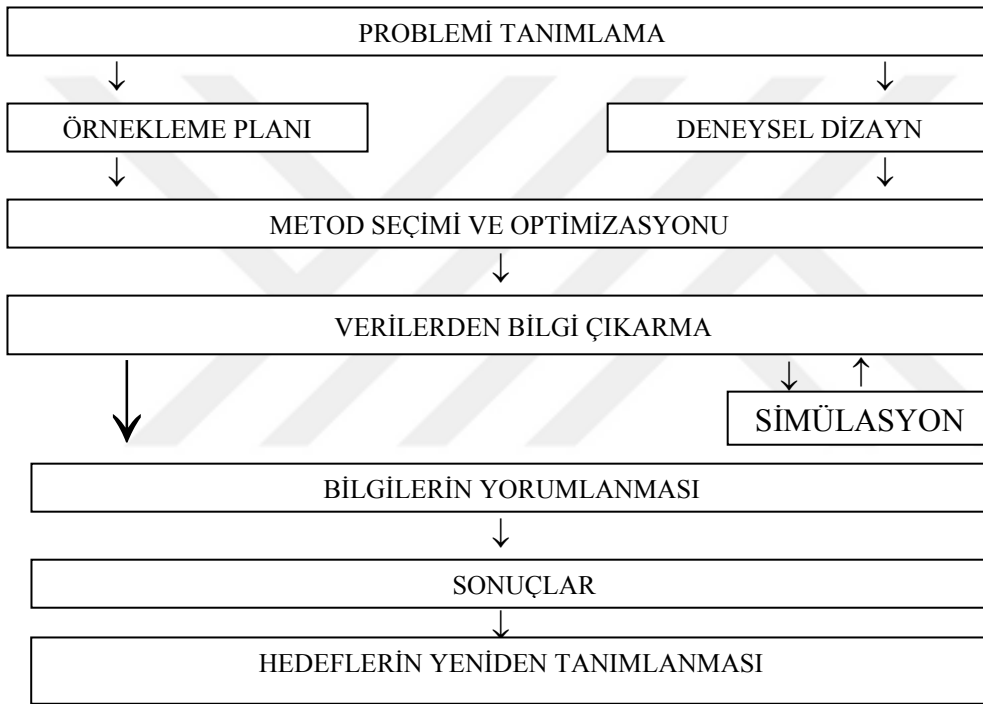
1.5. Fen Bilimlerinde Kemometri

Kemometri, kimyasal verilerin herhangi bir türü için matematiksel ve istatistiksel (tek değişkenli ve çok değişkenli) metodların uygulanması olarak tanımlanır. Kemometri, kapsamlı değerlendirme ve yorum için güçlü bir araçtır. Gıda teknolojisi, analitik kimya, çevre ve bilgisayar bilimi gibi pek çok araştırma alanlarında uygulanmıştır. İlk bilinen teknik, çoklu regresyonların küme (cluster) ve faktör analizidir. Son yıllarda, küme görüntüleme ve çoklu bölünmüş en küçük kareler regresyonu ve takip tasarımı geliştirilmiş ve kullanımı artmıştır (Uyanık, 2012).

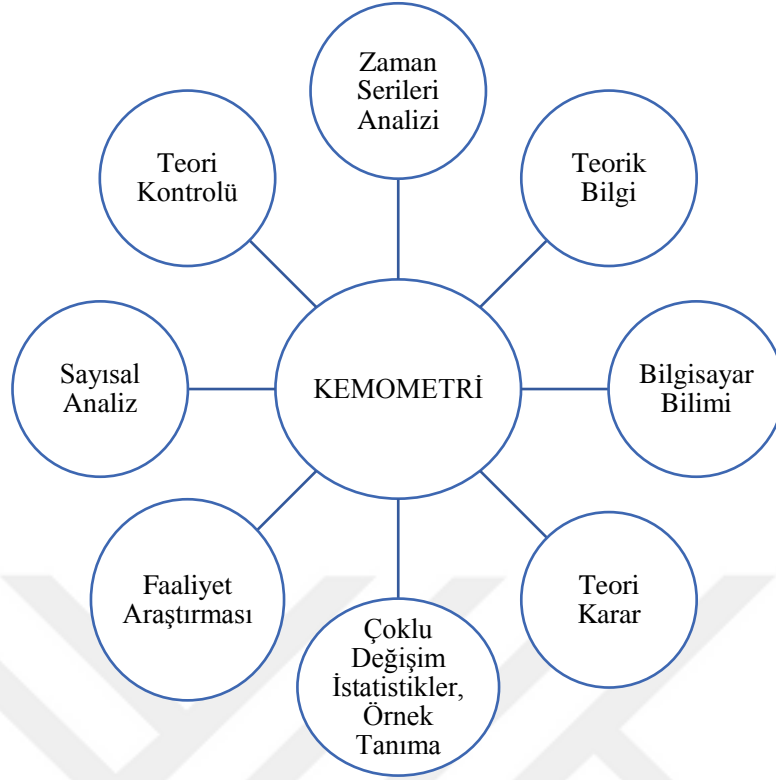
Kemometrik metodların temel faydası, çok boyutlu kompleks veri setlerinin analizindeki veri azaltmada ortaya çıkar. Bu araçlar gittikçe daha objektif değerlendirmeye ve verilerin yorumlanmasına olanak sağlar. Kemometrik metodlar, çok boyutlu veri setleri yapıları, benzerlikleri ve önemli etki faktörlerini tespit edebilir. Bir kemometrik plan şeması Şekil 1.9’da görülmektedir. Kemometrik metodların şu alanlarda etkili olduğu bilinmektedir: büyük veri setlerini küçültmesi, gizli kalmış bilgileri ortaya çıkarmak, fazlalık ve gürültüyü elemek, çok boyutlu veri setlerini gözde canlandırmak, bilgiyi

kuramlaştırmak ve kirlilik kaynaklarını ortaya çıkarmak veya değişik çevresel değişkenlerle bağ kurmak (Yılmaz ve Aslani, 2012).

Kemometrik araçlar 25 yıldan daha uzun süredir değişik alanlarda uygulanmaktadır. Kemometrinin bilim ve matematikteki rolü Şekil 1.10’da gösterilmiştir. Kemometrik çalışmayı içeren bilinen ilk makale, “gıda bilimi ve teknolojisi” alanında 1979’da yayınlanmıştır. Bundan sonra kemometrik metodlar analitik kimyada, enstrümantal analizde, uygulamalı kimyada, bilgisayar bilimleri ve çevre biliminde kullanılmıştır (Yılmaz ve Aslani, 2012).



Şekil 1.9. Bir kemometrik plan şeması (Einax ve ark., 1997).



Şekil 1.10. Kemometrinin bilim ve matematikteki rolü (Brown, 1995).

Bu çalışmada karayemiş meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun optimum şartlarının belirlenmesi amacı ile cevap yüzey yöntemi (Response Surface Method(RSM)) kullanıldığı için kısaca bahsedilecektir.

1.5.1. Cevap Yüzey Yöntemi (RSM)

Cevap Yüzey Metodolojisi (RSM) faktörlerin belirli aralıklar içerisinde optimum cevabı bulmak için matematiksel ve istatistiksel tekniklerin bir arada kullanılması ile dizayn edilmiş deneysel bir tekniktir. Bir prosesin verimini (y) maksimumda tutabilmek için farklı parametrelerin düzeylerini (x_i) bulmak gerekir. Proses verimi, ilgili parametrelerin düzeylerinin bir fonksiyonu olup ve matematiksel olarak şu şekilde ifade edilebilir;

$$y = f(x_1, x_2) + \varepsilon \quad (1.5.1.)$$

ki burada ε , y cevabında gözlenmiş olan gürültü veya hatayı ifade eder. Eğer beklenen cevabı $E(y) = f(x_1, x_2) = \eta$ ile gösterirsek, yüzey $\eta = f(x_1, x_2)$ ile ifade edilecek

olup, buda “cevap yüzey” olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak cevap yüzey grafiksel olarak gösterilmektedir.

Birçok RSM problemlerinde, cevap ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin oluşumu bilinmemektedir. Dolayısıyla, RSM’de ilk aşama bir takım bağımsız değişkenler ve y arasında doğru fonksiyonel ilişki için uygun bir yaklaşım bulmaktır. Genellikle, başlangıçta düşük–dereceli bir polinomial, bağımsız değişkenlerin bazı bölgelerinde ele alınır. Eğer cevap bağımsız değişkenlerin bir doğrusal fonksiyonu ile iyi modellenmiş ise, yaklaşık fonksiyon birinci-derece bir model olasıdır.

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \dots + \beta_kx_k + \epsilon \quad (1.5.2.)$$

Eğer sistemde eğrilik söz konusu ise, daha yüksek dereceli polinomial kullanılmalıdır. Örneğin aşağıdaki ikinci-derece model gibi,

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i<j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (1.5.3.)$$

Hemen hemen tüm RSM problemleri bu modellerin bir veya her ikisini kullanır. Tabii, bir polinomial model bağımsız değişkenlerin tüm alanı üzerinde doğru fonksiyonel ilişkiden tam olarak sorumlu olacağı muhtemel değildir, ancak genellikle bağıl olarak küçük bir bölge için tamamen iyi çalışır.

En küçük kareler yöntemi, polinomial yaklaşımlarda parametrelerin tahmini için kullanılmaktadır. Daha sonra fit edilen (uydurulan) yüzey kullanılarak cevap yüzey analizi gerçekleştirir. Eğer fitedilen yüzey doğru cevap fonksiyonuna uyumlu olarak yaklaşmış ise, bu durumda fitedilen yüzeyin analizi gerçek sistemin analizine yaklaşık olarak eşdeğer olacaktır. Veri toplamak için uygun deneysel dizayn kullanır ise model parametreleri daha etkin olarak tahmin edilebilir. Cevap yüzeylerini uyumlu hale getirmek için kullanılan tasarımlar cevap yüzey dizaynları olarak adlandırılır.

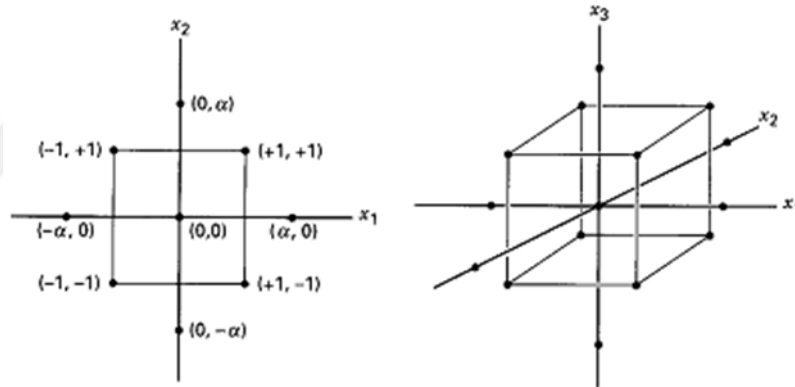
RSM ardaşık bir prosedürdür. Genellikle, cevap yüzey üzerinde optimumdan uzak olan bir noktada durulduğunda ve sistemde çok hafif bir eğrilik varken birinci derece model uygun olacaktır. RSM’deki amaç deney yapan kimseleri hızlı ve etkin biçimde optimumun genel bölgesine doğru yönlendirmektir. Optimumun bölgesi bulunduktan

sonra, ikinci derece model gibi, kusursuz bir model ele alınmalı ve optimumu saptamak için bir analiz yapılmalıdır. Cevap yüzeyin analizini bir “dağın tepesine doğru yükselme” gibi düşünülebilir. Burada dağın tepesi maksimum cevabın noktasını ifade eder. Ve eğer en düşük noktadaki cevap, doğru optimum ise bu durumda da “bir derenin içinden alçalma” gibi düşünmeliyiz.

RSM'nin diğer muhtemel amacı, sistem için optimum çalışma koşullarını veya çalışma gereksinimlerini ve faktör alanının bir bölgesini saptayarak sağlamaktır.

1.5.1.1. İkinci–derece Modelleri Uydurmak İçin Dizaynlar

Merkez kompozit dizaynı veya (CCD) ikinci derece modelleri uydurmalarında en çok kullanılan grup dizayndır. Genellikle, CCD n_F işlem, $2k$ eksen veya yıldız işlem ve n_C merkez işlem sayısı ile 2^k faktorial (veya resolasyonun kısmi faktoriyel) içermektedir. $k=2$ ve $k=3$ faktörler için CCD Şekil 1.11.'te gösterilmiştir.



Şekil 1.11. $k=2$ ve $k=3$ için merkez kompozit dizaynlar

Genellikle CCD'nin pratik düzeni ardaşık denemelerden oluşur. Yani birinci-derece modeli uydurmak için 2^k kullanılır, bu model uydurmanın yokluğunu gösterdiğinde, kuadratik terimleri modelin içinde yer almasını izin vermek için eksen üzerinde işlemler ilave edilir. CCD ikinci-derece modeli uydurma için çok etkin bir dizayndır. Dizaynda belirlenmesi gereken iki parametre mevcuttur; dizayn merkezinden eksen üzerindeki işlemlerin α mesafesi, diğer parametre ise merkez noktaların sayısı “ n_c ” dir.

1.5.1.2. Döndürülebilirlik (Rotatability)

İlgilendiğimiz bölgenin tümünden iyi tahminler oluşturmak ikinci derece model için önemlidir. “İyi” yi tanımlamanın bir yolu şudur ki model ilgili x 'in noktalarında tahmin edilen cevap kararlı varyansa ve uygun nedenlere sahip olmalıdır. Bazı x noktalarında tahmin edilen cevabın varyansını aşağıdaki denklem ile gösterebiliriz.

$$V[\hat{y}(x)] = \sigma^2 x'(X'X)^{-1}x \quad (1.5.4.)$$

Box ve Hunter (1957) ikinci derece cevap yüzey dizaynının döndürülebilir olmasını önermişlerdir. Bu $[y(x)]$ ifadesinin dizayn merkezinden aynı mesafede olan tüm x noktalar için aynı olduğunun anlamındadır. Yani tahmin edilen cevabın varyansı çalışma alanlar üzerinde sabittir. Eş yükseklikteki grafiksel gösterimlerde yoğun dairelerin varlığı tahmin edilen cevapların varyansının sabit olduğunun bir göstergesidir. Bu özelliğe sahip olan bir dizayn merkeze yakın $(0, 0, \dots, 0)$ döndürüldüğünde değişmeyen y 'nin varyansını bırakır, dolayısıyla dizayn döndürebilir dizayn adını alır.

Döndürülebilirlik bir cevap yüzey dizaynının seçilmesi için temel bir nedendir. RSM'in amacı optimizasyondur ve ayrıca deney gerçekleşmeden önce optimum bölgesi bilinmediğinden dolayı tüm yönlerde (herhangi bir birinci dereceden ortogonal dizayn döndürülebilirdir) tahminin eşit doğruluklarla yapılmasını sağlayabilmek için bir dizayn kullanmaya yönlendirir.

Merkezli bileşim dizayn α 'nin seçilmesi ile döndürülebilir olur. Döndürülebilirlik için α 'nin değeri dizaynın faktöriyel kısmındaki noktaların sayısına bağlıdır. Gerçekte $\alpha=(n_F)^{1/4}$ bir merkezli bileşim dizaynı verir burada n_F dizaynın faktöriyel kısmında kullanılan noktaların sayısını belirtir.

1.5.1.3. Küresel CCD

Döndürülebilirlik bir küresel özelliktir; buda ilgili bölge küre gibi iken dizaynın kriterini daha duyarlı yapar. Buna rağmen, mükemmel bir dizayn sahip olmak için mükemmel döndürülebilirlik sahip olmak önemli değildir. İlgili bölgenin küreselliği için, tahmini varyans bakımından α 'nin en iyi seçimi CCD için $\alpha=k^{1/2}$ ayarlamaktır. Bu dizayn,

küresel CCD olarak adlandırılır ve $k^{1/2}$ yarı çaplı bir kürenin yüzey üzerinde faktöriyel ve eksenli dizayn noktalarının tümüne yer verir (Myers ve ark., 2016).

1.5.1.4. CCD’de Merkez Çalışması

CCD’de α ’nin seçimi ilk önce ilgili bölge ile belirlenir. Bu bölge bir küre ise, tahmin edilen cevabını uygun biçimde kararlı varyansı sağlamak için dizaynın merkezinde çalışmalar içermelidir. Genellikle, üç ila beş merkez çalışması önerilir.

1.5.1.5. Verilerin İstatistiksel Çalışması

İstatistiksel metodlar elde edilen bilgilerin analizinin yapılarak, sonuçların tarafsız olarak değerlendirilmesini sağlar. Deneyi yapan araştırmacının merak ettiği soruların cevaplanmasında “hipotez testleri” ve “güven aralığı değerlendirmesi” ile sonuçların analiz edilmesinde yardımcı olur. Empirik model olarak verilerden elde edilen eşitlik, cevap değişkeni ve etkenler arasındaki ilişkiyi değerlendirmekte kullanılır.

Verilerin istatistiksel olarak analizinde, deneysel veri ve cevaplar kullanılarak regresyon analizi yapılmaktadır. Elde edilen her katsayının anlamlılığı t-testi ve olasılık değeri olan P değerleri kullanılarak saptanmaktadır. t değeri büyüdükçe ve P değerleri küçüldükçe ilgili katsayının anlamlılığı artmaktadır. Modelin istatistiksel olarak anlamlılığı varyans analizi (Analysis of Variance = ANOVA) ile değerlendirilmekte ve modelin uygunluğu ise R^2 katsayısı ile saptanmaktadır.

1.5.1.6. Optimum Şartların Belirlenmesi

Doğrusal olmayan kuadratik modellerde maksimum, minimum veya eyer noktalarını (saddle point) elde etmek için, cevap yüzeyini gösteren denklemin birinci dereceden türevi sıfıra eşittir. İki değişkenli kuadratik bir fonksiyon için,

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (1.5.5.)$$

$$\frac{dy}{dx_1} = b_1 + 2b_{11}x_1 + b_{12}x_2 = 0 \quad (1.5.6.)$$

$$\frac{dy}{dx_2} = b_2 + 2b_{22}x_1 + b_{12}x_1 = 0 \quad (1.5.7.)$$

Kritik noktaların koordinatlarının bulunabilmesi, yukarıdaki denklemlerin çözülüp x_1 ve x_2 değerlerinin hesaplanması ile mümkündür (Bezerra ve ark., 2008).



2. MATERYAL – METOT

2.1. Materyal ve Kimyasal Maddeler

Bu çalışma da kullanılan karayemiş meyveleri Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edildi. 2014 yılında hasat edilmiş olan 3 farklı tür bu enstitüden 2014 Ekim ayında temin edilmiş olup, laboratuvarında -20°C'de muhafaza edildi. 3 türden her biri 30 kg'lık paketler halinde alındı.

Çalışmada kullanmış olduğumuz sodyum aljinat tozu, sodyum klorür (NaCl), sitrik asit monohidrat (C₆H₈O₇.H₂O), asetik asit glasiyel %100 (CH₃COOH), metanol (CH₃OH), Folin Ciocalteu's phenol reagent, kalsiyum klorür (CaCl₂), sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), sodyum karbonat (Na₂CO₃), etanol (C₂H₆O), gallik asit, DPPH (di(phenyl)-(2,4,6-trinitrofenil)iminoazanyum) (C₁₈H₁₂N₅O₆) ve fenolik bileşik standartları Sigma-Aldrich & Fluka'dan temin edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Toplam Kuru Madde Tayini

Önceden sabit tartıma getirilmiş örnek kaplarına 3'er gram karayemiş örnekleri tartılarak vakumlu etüvde (ViseVan, Fuzzy Control System) 70°C'de (200 mmHg) sabit tartıma gelene kadar kurutma işlemi uygulandı. Etüvden çıkarılan numuneler desikatörde sabit sıcaklığa gelene kadar bekletildi ve son tartımlar yapıldı. Toplam kuru madde miktarı "g 100g⁻¹" şeklinde hesaplanmıştır.



Resim 2. 1. Vakumlu etiv (ViseVan, Fuzzy Control System) ve desikatör

2.2.2. Toplam Kül Tayini

Darası önceden alınmış porselen kroze içerisinde 3'er gram karayemiş örnekleri tartıldı. Krozelerin içerisine belli miktarda %95'lik etil alkol eklenerek örnekler kömürleşinceye kadar yakıldı. Kömürleşen örnek kül fırınında (Nüve Fırınca, MF110) 550 °C'de beyaz kül haline gelinceye kadar yakıldı. Toplam kül miktarı “g 100g⁻¹” olarak ifade edildi.



Resim 2.2. Kül fırını (Nüve Fırınca, MF110)

2.2.3. pH Tayini

Karayemiş örneklerinden 5'er g tartılarak üzerine 25 mL saf su eklendi. Ultra turrax (IKA T18) ile homojen hale getirilip 20 °C'de pH metrenin (Termo Scientific, Orion3Star, Singapur) cam elektrotu örneğe daldırılarak ölçüm yapıldı.

2.2.4. Suda Çözünür Kuru Madde Tayini (Briks) Tayini

Karayemiş örneklerinin suda çözünmeyen kısımları süzülerek ayrıldı ve örneklerin briks değerleri 20 °C'de refraktometre (Atago Refraktometre, Tokyo, Japan) ile tayin edildi, sonuçlar “g 100 g⁻¹” olarak verildi.



Resim 2.3. Masaüstü refraktometre (Atago Refraktometre, Tokyo, Japan)

2.2.5. Su Aktivitesi Tayini

Karayemiş örneklerinden yeterli miktarda alındı ve su aktivitesi tayin cihazı (Novasina, Labmaster) ile 25 °C'de ölçüm yapıldı.



Resim 2.4. Su aktivitesi tayin cihazı (Novasina, Labmaster)

2.2.6. Renk Tayini

Laboratuvar tipi blender ile homojen hale getirilen karayemiş örneklerinin ve enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmiş kek örneklerinin renk ölçümleri, Hunter (L*, a*, b*) renk ölçüm sisteminde renk ölçer (Konica, Minolta, CR-400, Japan) ile oda sıcaklığında, örnekler renk ölçüm haznesine koyulup uygun ışık ortamında yapıldı.

2.2.7. Mineral Madde Tayini

Her bir karayemiş meyvesi örneğinde 4 adet mineral madde (sodyum, kalsiyum, magnezyum ve potasyum) tayini yapıldı. Tüm örnekler şu yöntemle hazırlandı;

0.5 ± 0.0001 g hassasiyetle tartımı yapılan karayemiş meyvesi üzerine 5 mL derişik nitrik asit çözeltisi ilave edildi. Çözelti mikrodalga cihazında 55 dk belirli sıcaklık ve zaman dilimlerinde yakma işlemine tabi tutuldu. Böylelikle organik bileşikler uzaklaştırıldı. Mikrodalga yakma sisteminden alınan örnekler 50 mL'ye ultra saf suyla (İletkenliği <1µS cm⁻¹) tamamlanmıştır. 50 mL'ye tamamlanan çözelti analiz edilmek üzere Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) cihazı ile absorpsiyonları ölçüldü.

2.2.8. Antioksidan Aktivite Tayini

Karayemiş örneklerinin antioksidan kapasitesi Frankel ve ark. (1998) ve Chen ve ark. (2000) tarafından geliştirilen metotlar kullanılarak tayin edildi. Antioksidanın bulunduğu ortamda DPPH'nin rengi değişmektedir. Absorbans değişimi 517 nm dalga boyunda spektrometre ile ölçülüp hesaplandı. 5'er gram tartılan örnekler metanol ve saf su ile (1:1) 25 mL'ye tamamlandıktan sonra 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süzüldü. Daha sonra 1 mL örnek 1.5 mL DPPH (SigmaCompany, St. Louis, USA) ile karıştırıldı. Elde edilen karışımın absorbansı karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra spektrometrede (UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japan) 517 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı (Frankel ve ark., 1998; Chen ve ark., 2000) . Sonuçlar % DPPH indirgeme aktivitesi olarak ve IC₅₀ şeklinde hesaplanarak verildi.

$$\%DPPH \text{ İndirgeme Aktivitesi} = \frac{\text{Tanık Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Tanık Absorbansı}} \times 100$$

2.2.9. Toplam Fenolik Madde Tayini

Karayemiş örneklerindeki toplam fenolik madde miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve ark. (1999) metoduna göre belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Öncelikle kalibrasyon eğrisi çizmek amacıyla 25 mg gallik asit alınıp son hacim saf su ile 25 mL'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlandı ve bu stok çözülden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı ve bu farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltilerinden 1000 µL alınıp 100 mL lik erlenlere koyuldu. Toplam hacim saf suyla 46 mL'ye tamamlandı ve erlene sırasıyla 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra da %3'lük Na₂CO₃ çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalandı, daha sonra absorbanslar spektrometrede (UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan) 720 nm'de okundu. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Aynı işlemler karayemiş numunelerine de uygulandı. Çizilen grafiğe göre karayemiş ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı bulunarak, asıl numunelerin mg GAE (gallik asit eşdeğeri) kg⁻¹ taze örnek olarak fenolik madde miktarı hesaplandı.



Resim 2.5. Spektrometre cihazı (UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)

2.2.10. Fenolik Bileşik Kompozisyonu Tayini

Analizi yapılacak olan karayemiş meyvelerinden 5'er gram tartılarak üzerine 25 mL metanol eklendi. Bu karışım 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj (Centurion Scientific K3 Series) yapıldı. Süpernatant kısmından alınan örnekler 0.45 μ m'lik filtreler ile süzülerek HPLC cihazına enjekte edildi.

HPLC cihazı (Shimadzu, Japonya), degazör (DGU-20 A5 Promience), pompa (LC-20 AT Promience), dedektör (SPD-M10AVP DAD), otomatik örnekleyici (SIL-10AXL) ve kolon firından (CTO-10AS VP) oluşmaktadır. Diğer koşullar ise aşağıda sıralanmıştır;

- Kolon: C18 kolon (250x4mm ID) (Supelco Ascentis)
- Çözücü A: Metanol
- Çözücü B: %2 Asetik asit glasiyel

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin analizinde kullanılan çözücü programlaması

Süre (dk)	A Konsantrasyonu (%)	B Konsantrasyonu (%)
0	0	100
3	5	95
18	20	80
25	20	80
30	25	75
35	30	70
40	40	60
55	50	50
65	60	40
67	0	100
68	0	100

2.2.11. Şeker Kompozisyonu Tayini

Öncelikle kalibrasyon doğrularını oluşturmak için glikoz, fruktoz ve sakkaroz şekerler standartlarının %0.5, %1, %5 ve %10'luk çözeltileri hazırlanıp analiz edildi ve kalibrasyon doğruları oluşturuldu. Sonrasında 5'er gr örnek tartılıp üzerine 45'er mL saf su eklendi. Daha sonra 15 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilen örnekler 0.45 µm'lik filtreler ile filtre edildi ve örnekler HPLC'de analiz edildi. Kullanılan mobil faz asetonitril-su (80:20), kullanılan kolon amin fazlı 250x4.6 mm, kolon sıcaklığı 30°C, akış hızı 1 mL dk⁻¹ dır.

2.2.12. Cevap Yüzey Metodu İçin Deneysel Tasarımın Oluşturulması

Bu çalışma da karayemiş polifenollerinin ekstraksiyonunun optimum şartlarının belirlenmesi amacı ile Cevap Yüzey Metodu (RSM) kullanıldı. Bu bağlamda 3 seviye ve 3 bağımsız değişkenli yüzey merkezli deneme dizaynı Design Expert 10.0 ticari programı kullanılarak hazırlandı. Literatürdeki bu konu ile alakalı çalışmalara bakıldığında, ekstraksiyon zamanı, sıcaklık, basınç, ekstrakte edilecek materyal ve çözücü oranı, çözücü konsantrasyonu gibi pek çok değişkenin toplam fenolik madde, farklı serbest radikallere göre antioksidan aktivite tayini gibi bağımlı değişkenlere dizayn edildiği tespit edildi (Ćujić ve ark., 2016; Karabegović ve ark., 2013; Zeković ve ark., 2016).

Üç değişken üç seviyeli bu tasarımın sonucunda elde edilen polinomal denkleme göre, aşağıdaki (2.1, 2.2) eşitlik bize cevap yüzey grafiklerinin elde edilmesini sağladı.

$$y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (2.1.)$$

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (2.2.)$$

Bu eşitliklerde X_1 ekstraksiyon sıcaklığı, X_2 çözücü konsantrasyonu ve X_3 ekstraksiyon süresini ifade etmektedir.

Yapılan ön denemeler sonucu bu çalışmada kullanılan bağımlı değişken ise toplam fenolik madde miktarı olarak belirlenmiş olup, optimum şartların belirlendiği bağımsız değişkenlerin aralıkları (en az ve en fazla olarak kullanılan değerler) Tablo 2.2’de gösterilmektedir. Ekstraksiyon ortamının sıcaklığı, termostatlı ve ısı yalıtımı olan ultrasonik su banyosu ile sağlandı. Ekstraksiyon sıcaklığı için en az 45 °C en fazla 65 °C uygulandı. Çözücü konsantrasyonu ise %50, %75 ve %100 metanol konsantrasyonu olacak şekilde hazırlandı. Ekstraksiyon süresi için ise 20, 40 ve 60 dakika uygun bulunarak deneme planına göre analizler yapıldı. Box Behnken deneme planına göre uygulanan deneysel tasarım Tablo 2.3’te gösterilmektedir. Deneme dizaynında bağımsız değişkenlere karşılık gelen cevap olarak “Toplam Fenolik Madde Miktarı” belirlendi.

Tablo 2.2. Toplam fenolik madde miktarının ölçülmesinde kullanılan bağımsız değişkenlerin seviye ve aralıkları

Bağımsız Değişkenler	Değişken kodları	Seviyeler		
		-1	0	+1
Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	X1	45	55	65
Çözücü Konsantrasyonu (%)	X2	50	75	100
Ekstraksiyon Süresi (Dak.)	X3	20	40	60

Tablo 2.3. Box behnken deneme planı

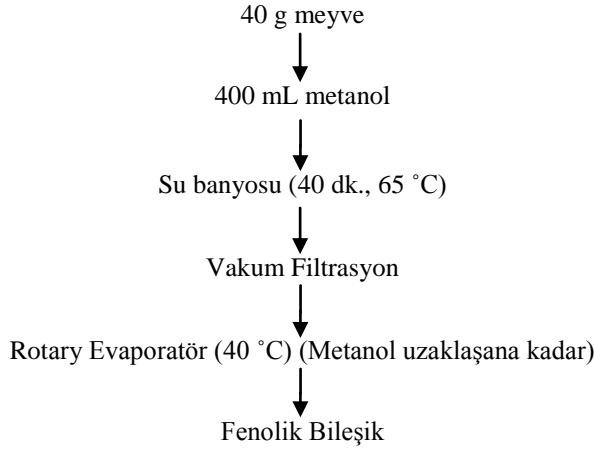
Deney No	Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (%)	Süre (Dak.)
	X1	X2	X3
1	45	75	20
2	55	50	60
3	55	100	60
4	65	75	60
5	65	100	40
6	45	100	40
7	55	75	40
8	55	50	20
9	45	50	40
10	55	75	40
11	65	50	40
12	55	100	20
13	55	75	40
14	55	75	40
15	65	75	20
16	55	75	40
17	45	75	60

2.2.13. Karayemiş Polifenollerinin Ekstraksiyonu

Karayemiş meyvelerinin ekstraksiyonunda, optimizasyon aşamasında belirlenen parametreler kullanıldı. Bu amaçla laboratuvar tipi blender ile öğütülerek pulp haline getirilmiş karayemiş meyveleri (40 g) metanol (400 mL) ile beher içerisinde karıştırılarak, ağzı kapalı şekilde termostatlı ultrasonik su banyosunda 40 dakika, $65\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi. Daha sonra vakum filtrasyon işlemi yapılarak, metanol uzaklaşana kadar rotary evaporatör de 40°C 'de vakum altında bekletildi. Ekstraksiyon aşamaları ve ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstrakt aşağıda gösterilmektedir.



Resim 2.6. Karayemiş polifenollerini ekstraktı



Şekil 2.1. Karayemiş meyvelerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu aşamaları

2.2.14. Karayemiş Polifenollerinin Enkapsülasyonu

Karayemiş meyvesinden elde edilen ekstraktlar aşağıda açıklandığı şekilde enkapsüle edildi.

2.2.14.1. İyonik Jelasyon Yöntemi ile Enkapsülasyon

Enkapsülasyon işleminde “İyonik Jelasyon Yöntemi” (damlatma yöntemi) kullanıldı.

2.2.14.1.1. Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması

Aljinat çözeltisi son çözeltideki aljinat oranı 20 g L^{-1} olacak şekilde gerekli miktarda toz sodyum aljinat distile suda çözülerek hazırlandı. Aljinat tamamen çözüldükten sonra 1N sitrik asit çözeltisi ile aljinat çözeltisinin pH'ı 4.5 olarak ayarlandı. Hazırlanan çözelti karıştırma esnasında oluşan hava baloncuklarının giderilmesi amacıyla kullanımından 24 saat önce $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi.

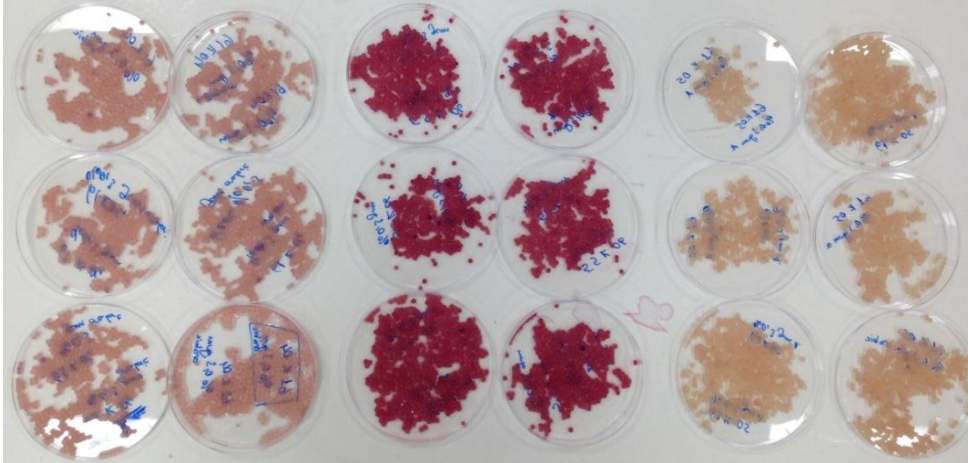
2.2.14.1.2. Jelleşme Ortamının Hazırlanması

Jelleşme ortamı son hacimde 20 g L^{-1} kalsiyum klorür olacak şekilde hazırlandı. Jelleşme çözeltisinin asitliği 1N sodyum hidroksit kullanılarak pH 4.5'e ayarlandı.

Kaplama materyali olarak kullanılacak olan gam arabik çözeltisi 1 g L^{-1} ve 3 g L^{-1} şeklinde hazırlandı.

2.2.14.1.3. Gam Arabik Kaplı Aljinat Taneciklerinin Hazırlanması

Karayemişten elde edilen fenolik bileşik ekstraktı ön denemelerle belirlenen konsantrasyonlarda alınarak sodyum aljinat çözeltisine ilave edildi. Ekstrakt/aljinat oranı 1/9 olacak şekilde alınarak 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Polifenol ekstraktlı aljinatlı karışım bir şırınga yardımıyla alınarak gum arabik ile karıştırılmış olan CaCl_2 çözeltisine damlatıldı. Damlatma çözeltisinin jelleşme ortamına oranı 1/10 olarak belirlendi (ön denemeler sonucunda). Belirli süre jelleşme ortamında sertleştirilen kapsüller saf su ile yıkanarak oda koşullarında kurumaya bırakıldı.



Resim 2.7. Gam arabik kaplı aljinat taneciklerinin kurutulmadan önceki hali

2.2.15. Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenollerinin Morfolojik Özellikleri

Morfolojik ölçümler, taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Carl Zeiss AG, Evo 40 Series) kullanılarak yapıldı. SEM analizleri İnönü üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezinde (İBTAM) gerçekleştirildi. Örneklere iletken özellik kazandırarak daha net görüntü elde etmek amacıyla, örnekler yaklaşık 10nm kalınlığında Altın-Paladyum ile kaplandı. Yüksek vakum altında, 15kV voltajda görüntüler elde edildi.

2.2.16. Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenolleri ile Zenginleştirilmiş Kek Üretimi

Karayemiş polifenollerinin enkapsülasyonundan sonra, bu kapsüllerin kullanılacağı gıda sistemi olarak, üretimi aşamasında yüksek sıcaklıklara (yaklaşık 180°C) çıkılan kek seçildi. Böylelikle karayemiş polifenollerinin ısıl stabilitesi üzerine enkapsülasyon işleminin etkisi araştırıldı.

Kek formülasyonunda, %19.72 şeker, %10.59 yumurta, %16.44 sıvı yağ, %22 süt, %30.12 un ve %1.09 kabartma tozu bulunmaktadır. Öncelikle şeker ve yumurta mikser yardımı ile yaklaşık 2 dakika yüksek hızda karıştırıldı. Daha sonra süt ve yağ ilave edilerek 1 dakika daha karıştırıldı. Daha sonra un ilave edilerek kek hamuru yaklaşık 4 dakika karıştırıldı. Sonrasında kek hamuru ikiye ayrıldı, ilk parçanın içerisine %2 enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerinden, diğer yarısına ise %2 polifenol ekstraktı ham halde ilave edildi. Son olarak kek hamurları önceden 180°C'ye ısıtılmış fırında (Arçelik 9540 HY; Arçelik, İstanbul; Türkiye) 30 dakika boyunca pişirilmiştir (Şekil 2.3).



Resim 2.8. Enkapsüle edilmiş karayemiş polifenolleri ile zenginleştirilmiş kekler

2.2.17. Kekten Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

10 g kek tartılarak, 50 mL metanol: saf su: asetik asit glasiyel (1:1) ile 18000 rpm de ultratıraks ile 5 dakika karıştırıldı. Daha sonra elde ettiğimiz dispersiyon 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutuldu. Süpernatant kısmından alınarak 0.45 µm filtreden geçirildi ve antioksidan aktivite, toplam fenolik madde tayini ve fenolik bileşik kompozisyonu için ayrıldı.

2.2.18. İstatistik Analiz Yöntemleri

Bu çalışmada örnekler 7 tekrarlı olarak analiz edildi. Gruplar arasında farklılıkların analiz edilmesinde Tek yönlü ve İki yönlü varyans analizi uygulandı. Görülen farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi uygulandı. Datalar SPSS 21.0 istatistik paket programı ile analiz edildi. Ekstraksiyon işleminin optimum koşullarda belirlenmesi için cevap yüzey yöntemi ile analiz gerçekleştirildi. Bu yöndemde belirlenen bağımsız değişkenlerin ikili etkileşimlerinin belirlenmesinde korelasyon ve regresyon analizi gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

3.1.Kimyasal Analiz Sonuçları

3.1.1. Toplam Kurumadde Analiz Sonuçları

Şekerce zengin ürünler 70°C'den fazla sıcaklıklara ısıtıldığı zaman, üründe bulunan şekerlerin yüzeyde kabuk oluşturması neticesinde sağlıklı sonuçlar elde edilememektedir. Dolayısıyla analizler vakumlu etüvde yapılarak hesaplamalar yapıldı. Analiz sonuçlarına ait dataların istatistiki analiz sonuçları Tablo 3.1'de verildi.

Bu çalışmada analiz sonuçları neticesinde en yüksek kurumadde değerine sahip olan karayemiş meyvesi 61 K 04 olarak bulundu. Bu meyveye ait en yüksek kurumadde değeri 39.01 g 100g⁻¹, en düşük kurumadde değeri ise 34.40 g 100g⁻¹ olarak bulunmuştur. İstatistiki olarak 55 K 06 ve 61 K 05 türleri kurumadde bakımından birbirine benzer olarak bulunmuş iken 61 K 04 türü bu iki meyve türünden farklı olduğu tespit edildi (p<0.05).

3.1.2. Kül Miktarı Analiz Sonuçları

Çalışmadaki analiz sonuçlarına göre en yüksek kül miktarı 61 K 05 türünde tespit edilmiştir. Bu meyveye ait en yüksek kül miktarı 0.7516 g 100g⁻¹ iken en düşük değer ise 0.7216 g 100g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. İstatistiki açıdan bakıldığında ise kül miktarları bakımından 3 meyve türü de birbirinden farklı bulunmuştur (p<0.05). En düşük kül miktarına sahip olan meyve türünün ise 61 K 04 olduğu tespit edilmiştir.

3.1.3. pH Tayini Analiz Sonuçları

Çalışmamız sonucunda en yüksek pH değerine sahip olan meyve türü 61 K 04 olarak tespit edilmiştir. İstatistiki olarak 55 K 06 ve 61 K 05 türleri arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05). Genel olarak bakıldığında tüm meyve türlerinin pH değerleri birbirine yakın seviye de ve asidik karakterdedir.

3.1.4. Suda Çözünür Kurumadde (Briks) Analiz Sonuçları

Bu çalışmada meyve türleri arasında Briks değerleri açısından toplam kurumadde içeriği bakımında da en yüksek değere sahip olan 61 K 04 türüdür. Bu türün en yüksek değeri $31.7 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ve en düşük değeri ise $29.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ olarak tespit edildi. İstatistikî analiz sonuçlarına baktığımızda briks değerleri neticesinde 3 meyve türünün de birbirinden farklı oldukları tespit edildi ($p<0.05$). En düşük briks değerine sahip olan meyve ise 61 K 05 türüdür.

3.1.5. Su Aktivite Tayini Analiz Sonuçları

Su aktivitesi (a_w), nem içeriğine kıyasla gıdaların fiziksel kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerinde daha önemli etkiye sahiptir.

Türler arasında istatistikî olarak farklılıklara bakıldığı zaman, 61 K 04 ve 61 K 05 türleri arasında farklılık tespit edildi ($p<0.05$) ve 55 K 06 türü diğer iki meyve türü ile su aktivitesi bakımından benzer olduğu bulundu (Tablo 3.1). En yüksek su aktivitesi değerine sahip olan meyve türü 55 K 06'dır.

3.1.6. Mineral Madde Tayini Analiz Sonuçları

Bu çalışma da her bir karayemiş meyvesinden 4 farklı mineral madde (Na, Ca, K, Mg) analizi yapılmıştır.

Bu mineral maddeler içerisinde genel olarak bakıldığında en fazla potasyum tespit edildi. Potasyum miktarı en fazla 61 K 05 meyve türünde tespit edildi. Potasyum bakımından en fakir bulunan meyve türü ise 55 K 06 olarak tespit edildi. İstatistikî olarak bakıldığında 55 K 06, 61 K 05 ve 61 K 04 türleri birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$).

Sodyum (Na) bakımından en zengin meyve türü 61 K 05 olarak bulundu. Bu meyvedeki sodyum miktarı ortalama 38.26 ppm olarak tespit edildi (Tablo 3.1). İstatistikî olarak her 3 tür de birbirinden sodyum miktarı bakımından birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$). Sodyumun en az bulunduğu meyve türü ise 55 K 06 türüdür. 61 K 05 meyve türünde sodyum miktarının $36.29\text{--}40.32 \text{ ppm}$ düzeyleri arasında değerler aldığı tespit edildi.

Meyve türleri arasında kalsiyum (Ca) miktarının en fazla ulunduğu tür 61 K 05 olduğu tespit edildi. Bu meyve türünde Ca^{2+} miktarı 805–1231 ppm seviyeleri arasında değerler aldığı tespit edilmiştir. Ca^{2+} miktarları bakımından 61 K 05, 61 K 04 ve 55 K 06 türleri istatistiki analiz bakımından birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$). Ca^{2+} bakımından en zayıf olan tür ise 55 K 06 türüdür.

Çalışmamızda magnezyum (Mg) bakımından diğer meyve türleri içerisinde en zengin meyve 61 K 05 türü olmuştur. Diğer mineral maddelere de bakıldığında 61 K 05 türü 4 mineral maddeyi de en fazla içeren tür olmuştur (Tablo 3.1.). 61 K 05 türünün Mg içeriği 270–362 ppm arasında değişmiştir. İstatistiki açıdan bakıldığında Mg miktarı bakımından 3 türün de birbirinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

3.1.7. Şeker Kompozisyonu Analiz Sonuçları

Çalışmada meyve örneklerinde fruktoz ve glukoz şekerlerine bakıldı. Fruktoz bakımından en zengin meyve türü 61 K 04 iken, glukoz bakımından en zengin meyve 61 K 05 olarak bulundu. İstatistiki olarak 61 K 04 ve 55 K 06 meyve türleri fruktoz bakımından birbirleri ile benzer iken ($p>0.05$), 61 K 05 meyve türü diğer iki meyve türünden daha az miktarda fruktoz içermektedir ve istatistiki olarak diğer meyve türlerinden farklı bulundu ($p<0.05$). Glukoz bakımından incelendiğinde istatistiki olarak 3 meyve türü de birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$).

3.2. Fiziksel Analiz Sonuçları

3.2.1. Renk Değerleri Analiz Sonuçları

Meyve türleri renk analiz sonuçlarına göre “*L*”, “*a*” ve “*b*” değerleri incelendi. *L* değeri en yüksek olan meyve türü 61 K 05 olarak bulundu (Tablo 3.1). İstatistiki olarak incelendiğinde 3 meyve türü de *L* değerleri bakımından birbirinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). *a* değerinin en yüksek olduğu meyve türü 61 K 05 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.1). 61 K 05 türünün *a* değeri 4.98 olarak bulunmuştur. İstatistiki analizler neticesinde 3 meyve türünün de *a* değerleri bakımından birbirlerinden farklı oldukları tespit edilmişlerdir ($p<0.05$). Bu meyve türleri içerisinde en düşük *a* değerine sahip olan tür 61 K 04 olarak tespit edildi. *b* değerleri açısından incelendiğinde en yüksek *b* değeri yine

61 K 05 meyve türünde olduğu tespit edildi. *b* değerleri bakımından 3 meyve türü de istatistik analiz sonucu birbirlerinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Tablo 3.1. Karayemiş meyvelerine ait fizikokimyasal analiz sonuçları

Fizikokimyasal Özellikler	Örnekler		
	55 K 06	61 K 04	61 K 05
Toplam Kurumadde (g.100g^{-1})	33.87±0.70 ^b	35.93±0.65 ^a	31.93±0.34 ^b
Kül Miktarı	0.66±0.003 ^b	0.60±0.005 ^c	0.74±0.003 ^a
pH	4.90±0.11 ^b	4.94±0.13 ^a	4.87±0.12 ^b
Briks	27.88±0.36 ^b	30.81±0.35 ^a	23.93±0.22 ^c
Su Aktivitesi (A_w)	0.96±0.001 ^{ab}	0.95±0.002 ^b	0.95±0.001 ^a
<i>L</i>	25.47±0.68 ^b	21.19±0.26 ^c	30.91±0.12 ^a
<i>a</i>	2.54±0.13 ^b	1.86±0.06 ^c	4.98±0.17 ^a
<i>b</i>	5.18±0.33 ^b	2.27±0.11 ^c	9.89±0.12 ^a
Na (ppm)	22.7080±0.3679 ^c	31.1340±0.7161 ^b	38.2552±0.4939 ^a
Ca (ppm)	488.4559±56.4188 ^c	690.7317±3.9576 ^b	1006.1138±52.6329 ^a
K (ppm)	3422.1536±122.7907 ^c	4915.1053±81.8419 ^b	7989.0234±115.2258 ^a
Mg (ppm)	116.1725±5.1152 ^c	232.8550±4.5559 ^b	318.6433±11.3786 ^a
Fruktoz (g.100g^{-1})	9.15±0.182 ^a	9.22±0.122 ^a	6.71±0.026 ^b
Glukoz (g.100g^{-1})	6.25±0.025 ^c	6.47±0.018 ^b	6.50±0.009 ^a

a-c: Aynı satır içerisindeki farklı harflendirmeler istatistiki açıdan farklı bulunmuştur ($p<0.05$).

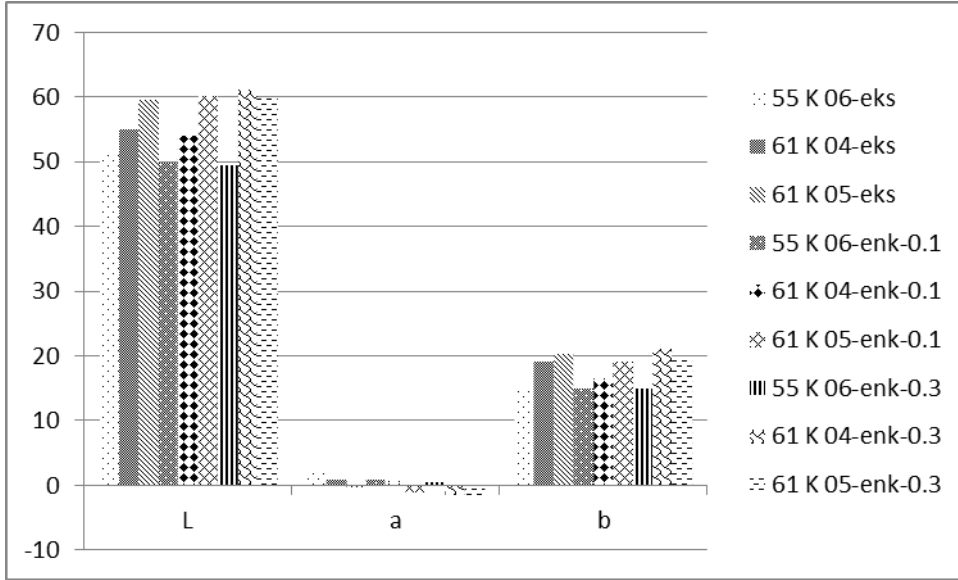
Tablo 3.2. Kek örneklerine ait renk analiz sonuçları

Örnekler	Renk Değerleri		
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
55K06-eks	51.05±0.87 ^{bc}	2.32±0.27 ^a	15.12±0.29 ^c
61K04-eks	54.96±1.18 ^b	0.78±0.10 ^b	19.13±0.42 ^{ab}
61K05-eks	59.51±0.64 ^a	-0.40±0.13 ^c	20.30±0.32 ^{ab}
55K06-enk-0.1	49.83±4.18 ^c	0.76±0.15 ^b	14.91±1.25 ^c
61K04-enk-0.1	53.99±3.49 ^{bc}	0.73±0.32 ^b	16.47±0.95 ^c
61K05-enk-0.1	60.06±0.45 ^a	-1.23±0.25 ^d	19.01±0.22 ^{ab}
55K06-enk-0.3	49.47±2.04 ^c	0.39±0.11 ^b	14.88±0.44 ^c
61K04-enk-0.3	61.05±4.11 ^a	-1.46±0.18 ^d	21.04±2.16 ^a
61K05-enk-0.3	59.74±2.83 ^a	-1.68±0.58 ^d	19.49±1.31 ^{ab}

a-c: Aynı sütun içerisindeki farklı harflendirmeler istatistiki açıdan farklı bulunmuştur ($p<0.05$).

Kek örneklerinin de renk analiz sonuçlarına göre “*L*”, “*a*” ve “*b*” değerleri incelendi. *L* değeri en yüksek olan kek türü 0.3 g.100g^{-1} gam arabik ile kaplanmış 61 K 04 türü meyve ekstraktı ile zenginleştirilmiş olanıdır (Tablo 3.2). *L* değerleri bakımından 61K04-enk-0.3, 61K05-enk-0.3, 61K05-enk-0.1 ve 61K05-eks türü kek örnekleri birbirleri ile istatistiki açıdan farklı bulundu ($p>0.05$). 55K06-enk-0.3 çeşidi kek örneği ise *L* değeri en düşük olan kek türüdür (Tablo 3.1b.). Kek örneklerinde *a* değerleri istatistiki olarak, 55K06-eks, 61K04-eks, 61K05-eks ve 61K05-enk-0.1 türü kekler farklı bulundu ($p<0.05$). *a* değeri en yüksek bulunan kek örneği 55K06-eks çeşit olanıdır. *b* değeri en yüksek olan

kek türü ise 61 K 04-enk-0.3'tür (Tablo 3.2). *b* değerleri istatistiki analiz sonucu 61 K 05-enk-0.3, 61K05-enk-0.1, 61K05-eks, 61K04-eks kek türleri birbirinden farklı olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).



Şekil 3.1. Kek örneklerinin renk değerlerine ait grafik

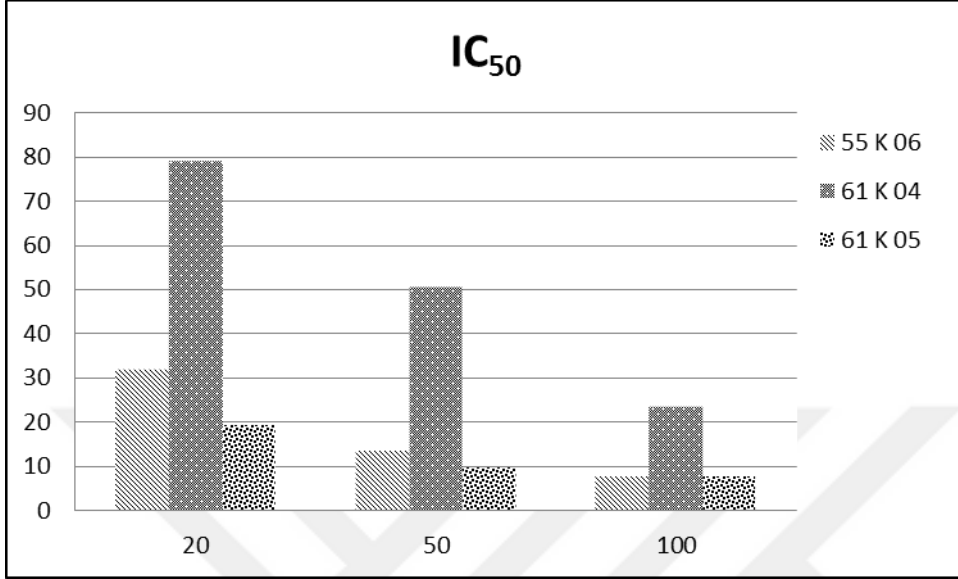
3.3. Biyoaktivite Testleri Analiz Sonuçları

3.3.1. Antioksidan Aktivite Tayini

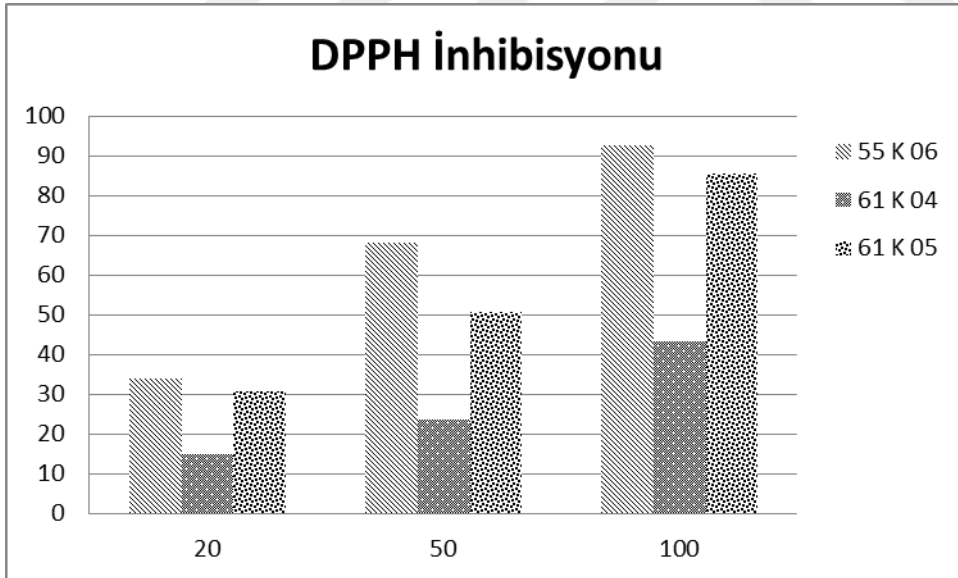
3.3.1.1. DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesi

Çalışmamızda antioksidan aktivite tayini, DPPH radikalininin % inhibisyonu ve IC_{50} değerlerinin hesaplanması şeklinde verildi. DPPH radikalininin % inhibisyonu ve IC_{50} değerlerinin analiz sonuçları Tablo 3.2'de gösterilmiştir. DPPH radikalinin indirgenmesi noktasında en etkili tür 55 K 06 olarak hesaplandı. Dolayısıyla IC_{50} değeri de en düşük olan meyve türü de 55 K 06 olduğu bildirildi. Meyvelerin ekstraktlarınının %20, %50 seyreltilip ve seyreltilmeden %100 şeklinde kullanılan örneklerin IC_{50} ve DPPH % inhibisyonları bakımından istatistiki analiz neticesinde tüm türlerin birbirinden farklı olduğu tespit edildi (Tablo 3.2) ($p<0.05$). Meyve türlerinin IC_{50} değerlerinde %20, %50 ve %100'lük ekstraktlar incelendiğinde oransal bir azalmanın söz konusu olduğu

görülmektedir (Şekil 3.2). Aynı zamanda DPPH inhibisyonunda ise oransal bir artışın olduğu tespit edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. Meyve türlerinin IC₅₀ değerlerine ait grafik



Şekil 3.3. Meyve türlerinin DPPH inhibisyonu değerlerine ait grafik

Tablo 3.3. DPPH inhibisyonu ve IC₅₀ sonuçları istatistiki analizi

Oranlar(%)	Örnekler	DPPH İnhibisyonu (%)	IC ₅₀
20	55K06	33.75±0.076 ^a	31.83±0.19 ^b
	61K04	14.88±0.52 ^c	78.89±6.05 ^a
	61K05	30.58±0.46 ^b	36.26±0.63 ^b
50	55K06	67.99±0.29 ^a	13.79±0.095 ^c
	61K04	23.59±0.05 ^c	50.50±0.11 ^a
	61K05	50.61±0.53 ^b	19.48±0.23 ^b
100	55K06	92.65±0.16 ^a	7.85±0.03 ^c
	61K04	43.27±0.10 ^c	23.64±0.04 ^a
	61K05	85.48±0.14 ^b	9.82±0.14 ^b

3.3.2. Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçları

Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu reaktantı yardımı ile hesaplandı. Karayemiş örneklerinin toplam fenolik madde analiz sonuçları ve ilgili sonuçlara ait istatistiki analiz sonuçları Tablo 3.3'te gösterilmektedir. Gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarları açısından en yüksek miktar 55 K 06 türünde (430±42mg kg⁻¹ taze meyve) tespit edildi. Ancak istatistiki analiz neticesinde 3 tür arasında bir fark bulunmadı (p>0.05).

Tablo 3.4. Meyve türlerinin toplam fenolik madde sonuçları istatistiki analiz sonuçları

Örnekler	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg kg ⁻¹ taze meyve)
55K06	430.58±42.18 ^a
61K04	373.82±33.02 ^a
61K05	421.67±97.38 ^a

a: Aynı sütun içerisindeki aynı harflendirmeler arasında istatistiki fark bulunmamıştır (p>0.05).

3.3.3. Fenolik Bileşik Kompozisyonu Analiz Sonuçları

Karayemiş meyvelerinde HPLC-DAD ile fenolik bileşik kompozisyonu analizi yapıldı. 14 farklı fenolik bileşik meyve türlerinde analiz edildi ve analiz edilen fenolik bileşikler Tablo 3.4'te gösterilmektedir. Fenolik bileşik parametrelerinin üzerine meyve çeşitlerinin değişkenliği istatistiki olarak önemli seviyede etkilemiştir (p<0.05). Örneğin (-)-kateşin miktarı meyve türlerine göre istatistiki analiz neticesinde 3 türde de farklı olarak tespit edildi (p<0.05). Klorojenik asit ise genel olarak tüm meyve türleri içerisinde diğer fenolik bileşiklere göre en fazla (50–1603 mg kg⁻¹ taze meyve) bulunan fenolik bileşik olarak hesaplandı. Rutin ise 55 K 06 türünde bulunurken (3.06 mg kg⁻¹ taze ekstrakt) diğer meyve türlerinde tespit edilemedi. Analizi yapılan fenolik bileşikler arasında 6 adet bileşik

(gallik asit, (-)-kateşin gallat, prosiyanidin B₂, epikateşin, (-)-gallokateşin gallat, (-)-kateşin) 280 nm dalga boyunda tespit edilirken, 1 adet bileşik (klorojenik Asit) 320 nm dalga boyunda, 1 adet bileşik (protokateşuik asit etil ester) 294 nm dalga boyunda, 2 adet bileşik (kuersetin-3-glukozit, rutin) 360 nm dalga boyunda, 1 adet bileşik (kerasiyanin klorit) 520 nm dalga boyunda ve 2 adet bileşikte ((-)-epigallokateşin gallat, (-)-epigallokateşin) 260 nm dalga boyunda analiz edilmiştir. Klorojenik asitten sonra bir diğer dikkat çekici bileşik ise prosiyanidin B₂ olarak bulunmuştur. 55 K 06 meyve türünde (52.19 mg.kg⁻¹ taze meyve) diğer meyvelere oranla daha fazla bulunmuştur. İstatistiki analiz sonucunda da, prosiyanidin B₂ bakımından 3 meyve türü de birbirinden farklı bulundu (p<0.05).

Tablo 3.5. Karayemiş örneklerinin fenolik bileşik kompozisyonu ve istatistiki analiz sonuçları

Fenolik Bileşikler	Pik No	Alınma Zamanı(dak)	Dalgaboyu (nm)	mg kg ⁻¹ taze meyve		
				55K06	61K04	61K05
Gallik Asit	1	7.257	280	8.03±0.22 ^a	1.83±0.01 ^b	7.78±0.15 ^a
(-)-Kateşin Gallat	2	40.902	280	42.91±1.15 ^a	8.45±0.04 ^c	21.05±0.38 ^b
Prosiyanidin B ₂	3	21.736	280	524.19±13.06 ^a	143.84±0.41 ^c	240.52±4.72 ^b
Epikateşin	4	30.707	280	172.20±4.44 ^a	2.96±0.01 ^c	32.29±0.62 ^b
(-)-Gallokateşin Gallat	5	32.805	280	63.89±1.63 ^a	14.83±0.54 ^b	13.81±0.27 ^b
(-)-Kateşin	6	19.424	280	232.72±6.03 ^a	0.25±0.01 ^c	48.99±0.94 ^b
Klorojenik Asit	1	22.317	320	1603.99±39.75 ^a	50.96±0.23 ^c	852.73±16.50 ^b
Protokateşuik Asit Etil Ester	1	42.673	294	100.07±2.42 ^b	0.36±0.08 ^c	190.36±3.75 ^a
Kuersetin-3-glukozit	1	47.141	360	27.97±0.69 ^a	11.10±0.06 ^b	9.67±0.21 ^b
Rutin	2	47.185	360	3.06±0.09 ^a	ND	ND
Kaempferol	1	52.112	350	5.19±0.14 ^c	8.34±0.03 ^b	38.26±0.70 ^a
Kerasiyanin klorit	1	33.287	520	149.69±3.67 ^a	36.81±0.17 ^b	23.83±0.37 ^c
(-)-Epigallokateşin Gallat	2	26.212	260	102.25±2.03 ^b	3.62±0.01 ^c	409.91±7.95 ^a
(-)-Epigallokateşin	1	19.515	260	78.54±1.94 ^b	16.84±0.03 ^c	272.02±5.62 ^a

a-c: Aynı satır içerisindeki farklı harflendirmeler arasında istatistiki fark bulunmaktadır (p<0.05).

Enkapsüle edilmiş ve enkapsüle edilmeden meyve ekstraktları ile zenginleştirilerek üretilen kek örneklerine ait fenolik bileşik kompozisyonu ve bu sonuçlara ait istatistiki analiz sonuçları Tablo 3.5'te gösterilmektedir. Kek örneklerinde 15 adet fenolik bileşik analizi yapılmış ancak bunlardan 5 adet fenolik bileşik ((-)-gallokateşin gallat, (+)-kateşin, kaempferol, kuersetin-3-glukozit, rutin) hiçbir kek örneğinde tespit edilemedi.

Tablo 3.6. Zenginleştirilmiş kek örneklerinin fenolik bileşik kompozisyonu

Fenolik Bileşikler (mg/kg)	Örnekler								
	55 K 06-eks	61 K 04-eks	61 K 05-eks	55 K 06-enk-0.1	61 K 04-enk-0.1	61 K 05-enk-0.1	55 K 06-enk-0.3	61 K 04-enk-0.3	61 K 05-enk-0.3
(-)-Kateşin gallat	2.78±0.01 ^g	2.43±0.01 ^h	2.18±0.01 ⁱ	30.9±0.03 ^a	7.52±0.01 ^e	18.74±0.03 ^c	28.59±0.09 ^b	7.36±0.01 ^f	9.740±0.01 ^d
(-)-Kateşin	6.94±0.07 ^e	ND	3.19±0.31 ^f	79.96±0.13 ^a	ND	29.87±0.01 ^c	63.49±0.37 ^b	ND	27.75±0.06 ^d
(-)-Epigallokateşin gallat	ND	ND	5.81±0.34 ^e	38.39±0.07 ^c	1.15±0.03 ^f	144.69±0.19 ^a	36.79±0.04 ^d	1.01±0.02 ^g	135.31±0.28 ^b
(-)-Epigallokateşin	17.75±0.39 ^e	0.90±0.02 ⁱ	11.18±0.22 ^g	67.64±0.44 ^c	11.89±0.05 ^f	151.03±0.16 ^a	63.46±0.03 ^d	9.85±0.23 ^h	147.42±0.73 ^b
(-)-Gallokateşin gallat	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(+)-Kateşin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Klorojenik asit	50.82±0.15 ^e	5.51±0.13 ⁱ	18.07±0.74 ^h	980.72±4.47 ^a	22.94±0.27 ^f	463.71±3.74 ^c	881.31±7.49 ^b	21.83±1.13 ^g	393.19±6.47 ^d
Epikateşin	ND	ND	ND	10.89±0.33 ^a	ND	ND	7.58±0.47 ^b	ND	ND
Gallik asit	1.16±0.03 ^e	0.83±0.01 ^g	0.94±0.08 ^f	6.46±0.11 ^a	5.07±0.05 ^c	4.46±0.13 ^d	5.69±0.11 ^b	4.41±0.18 ^d	4.41±0.03 ^d
Kaempferol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kerasiyenin klorit	ND	ND	ND	48.08±0.41 ^a	ND	ND	41.54±0.28 ^b	ND	ND
Prosiyanidin B ₂	84.46±0.47 ^e	10.78±1.74 ⁱ	21.70±1.61 ^h	246.45±0.63 ^a	74.95±0.30 ^f	143.57±0.36 ^d	194.03±1.16 ^b	68.76±0.16 ^g	175.05±1.16 ^c
Protokateşuik asit	1.35±0.06 ^d	ND	1.17±0.03 ^e	8.62±0.19 ^a	ND	6.97±0.28 ^b	6.08±0.44 ^c	ND	1.52±0.11 ^d
Kuersetin-3-glukozit	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rutin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

a-i: Aynı satırda farklı harflendirmeler arasında istatistiki olarak fark bulunmuştur (p<0.05).

Kek örnekleri içerisinde de en fazla bulunan fenolik bileşik klorojenik asit olarak belirlendi (Tablo 3.5). 55 K 06-enk-0.1 (980.72±4.47) örneği klorojenik asit bakımından en zengin olarak tespit edildi. Klorojenik asit bakımından tüm örnekler istatistiki açıdan birbirinden birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$). Prosiyanidin B₂ bileşiği de 55 K 06-enk-0.1 kek örneğinde diğer örneklere oranla daha fazla olarak bulundu. Prosiyanidin B₂ bakımından da tüm kek örnekleri istatistiki olarak birbirinden farklı bulundu ($p<0.05$). Genel olarak fenolik bileşik parametrelerinin üzerine, enkapsülasyonda kullanılan kaplayıcı materyal oranı ve enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmeden ekstrakt ile zenginleştirme işlemi etkili olmuştur ($p<0.05$).

3.4. Karayemiş Polifenollerinin Ekstraksiyonunun Optimizasyonu

3.4.1. Deneysel Tasarım Sonuçları

Tablo 3.6 ve 3.7'ye göre yapılan deney tasarımı sonucunda elde edilen verilerle, en küçük kareler yöntemi ile regresyon işlemi yapıldı. Üç değişken üç seviyeli bu tasarımın sonucunda elde edilen polinomal denkleme göre, aşağıdaki (3.1, 3.2) eşitlik bize cevap yüzey grafikleri elde edildi.

$$y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.1)$$

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (3.2)$$

uygulanen denemeler sonucunda istatistiksel olarak anlamlı değerler ve faktörler dikkate alındığında optimizasyon denlemi aşağıdaki (3.3) gibi tespit edildi.

$$y = +1422.08 + 1287.82 X_1 - 188.65 X_2 + 37.76 X_3 + 1058.88 X_1^2 + 164.61 X_2 X_3 \quad (3.3)$$

Tablo 3.7. Toplam fenolik madde miktarının ölçülmesinde kullanılan bağımsız değişkenlerin seviye ve aralıkları

Değişkenler	Değişken kodları	Seviyeler		
		-1	0	+1
Sıcaklık (°C)	X1	45	55	65
Konsantrasyon (%)	X2	50	75	100
Süresi (Dak.)	X3	20	40	60

Tablo 3.8. Üç bağımsız değişkenle BBD (Box Behnken Design) modeline göre oluşturulan deney tasarımı

Deney No	Kodlanmış Değerler			Cevap değerleri		
	X ₁	X ₂	X ₃	Toplam Fenolik Madde Miktarı (meq g GAE)	DeneySEL Değerler	Öngörülen Değerler
1	-1	0	-1	1115.00	1069.03	45.97
2	0	-1	+1	1441.59	1441.49	0.1
3	0	+1	+1	1349.41	1393.42	-44.01
4	+1	0	+1	3674.21	3720.18	-45.97
5	+1	+1	0	3609.21	3519.23	89.98
6	-1	+1	0	1011.41	1057.28	-45.87
7	0	0	0	1554.85	1455.99	98.86
8	0	-1	-1	1739.21	1695.20	44.01
9	-1	-1	0	1230.89	1320.87	-89.98
10	0	0	0	1559.24	1455.99	103.25
11	+1	-1	1	4056.08	4010.21	45.87
12	0	+1	-1	988.58	988.684	-0.1
13	0	0	0	1317.80	1455.99	-138.19
14	0	0	0	1489.00	1455.99	33.01
15	+1	0	-1	3735.63	3825.51	-89.88
16	0	0	0	1359.07	1455.99	-96.92
17	-1	0	+1	1415.26	1325.38	89.88

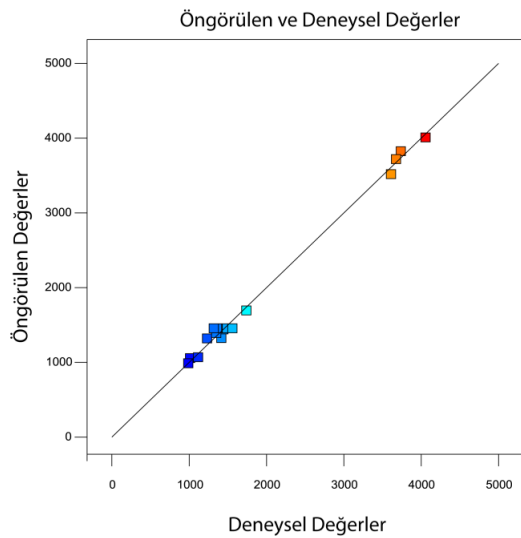
İkinci dereceden polinomial eşitlik esas alınarak, Toplam fenolik madde miktarının hesaplanmasında; ekstraksiyon sıcaklığı, çözücü konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin istatistiksel analizi yapıldı ve uygulanan modelin %95 güven aralığı içerisinde ANOVA (analysis of variance) analizi incelendi ve model ile deneysel bulguların uyumuna bakıldı. Anlamlılık F değerinin 0.05'ten küçük olması (%95 güven aralığında) modelin istatistiksel olarak önemli olduğunun göstergesidir (Garg ve ark., 2008). Uygun görülen quadratik model için korelasyon katsayısı (R^2) değerinin sırasıyla; çoklu $R=0.9974$, $R^2=0.9949$, ve ayarlı $R^2=0.9883$ olarak hesaplandı. R^2 değerinin 0.9949 olarak bulunmuş olması, gözlenen değerler ile öngörülen değerler arasında yüksek bir

uyumluluk olduğunu ve uygulanan modelin güven aralığı içerisinde yer aldığını göstermektedir. Çoklu R değerinin 0.9974 olması, regresyonun istatistiksel olarak önemli olduğunu ve toplam değişkenlerin sadece %0.26'lık bir kısmının bu modelle açıklanamayacağını belirtmektedir. Modelin istatistiksel olarak değerini belirlemek için ANOVA testi içerisindeki “Anlamlılık F” değerine bakıldı. Anlamlılık F değerinin 0,05’ ten küçük olması (Anlamlılık<0.0001) ve model F değerinin 151.82 olarak elde edilmesi, %95 güven aralığında modelin istatistiksel olarak değerli olduğunun göstergesidir (Tablo 3.8.).

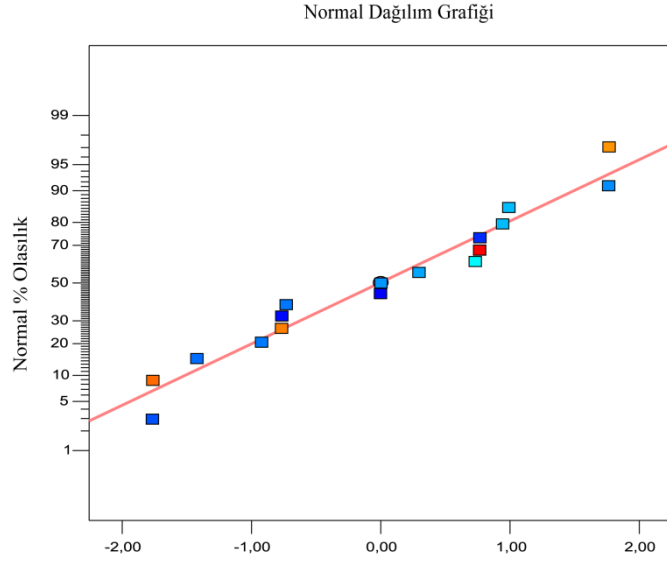
Tablo 3.9. Toplam fenolik madde miktarının bulunmasında regresyon modelinin ANOVA tablosu

ANOVA					
	df	SS	MS	F	Anlamlılık F
Regresyon	9	1.85x10 ⁷	20.05x10 ⁶	151.82	<0.0001
Artık değerler	7	94673.29	13524.76		
Toplam	16	1.86x10 ⁷			

Şekil 3.4’te elde edilen deneysel sonuçlar ile öngörülen sonuçların %99 oranında uyumlu olduğunu göstermektedir. Artık değerlere ilişkin normal dağılım grafiği ise Şekil 3.5.’te gösterilmiştir.



Şekil 3. 4. Toplam fenolik madde miktarında deneysel sonuçlar ile öngörülen sonuçlar arasındaki ilişki



Şekil 3.5. Artık değerlere ilişkin normal dağılım grafiği

Regresyon analizi sonucunda elde edilen katsayıların istatistiksel olarak değerlendirilmesi “F-değeri” ve “P değerleri” incelenerek yapıldı (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Regresyon analizine ait katsayılar, F ve P değerleri

Regresyon	Katsayılar	Standart Hata	F değeri	P-değeri
Kesişme	1455.99	52.01	151.82	<0.0001
X1	1287.82	41.12	981.01	<0.0001
X2	-188.65	41.12	21.05	0.0025
X3	37.76	41.12	0.84	0.3890
X1X1	1063.12	56.68	351.86	<0.0001
X2X2	-42.21	56.68	0.55	0.4807
X3X3	-34.08	56.68	0.36	0.5665
X1X2	-56.85	58.15	0.96	0.3608
X1X3	-90.42	58.15	2.42	0.1639
X2X3	164.61	58.15	8.01	0.0254

Yüksek “F değeri” ve düşük “P değeri” ($p < 0.05$), ilgili katsayının önemlilik değerini artırmaktadır (Uyanık, 2012).

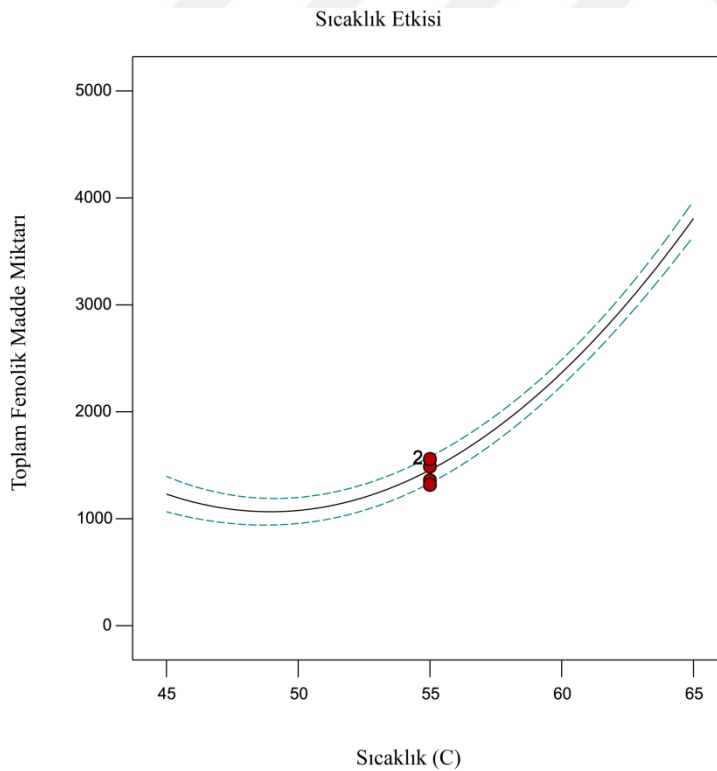
Yapılan değerlendirme sonucunda, ana etkilerden sıcaklık ve sürenin, toplam fenolik miktarının artırıcı yönde, konsantrasyonun ise azaltıcı yönde etkilediği sonucuna

varılmıştır. Katsayıların mutlak değerlerine bakıldığında etkime sırası; sıcaklık, konsantrasyon, ve süre şeklindedir.

Ana etkilerin karelerine (kuadratik etki) bakıldığında ise sıcaklığın artırıcı, diğerlerinin ise azaltıcı yönde önem taşıdığı görülmüştür. İkili etkileşimlerden çözücü konsantrasyonu – ekstraksiyon süresi etkileşiminin toplam fenolik madde miktarı üzerine önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

3.4.2. Sıcaklığın Etkisi

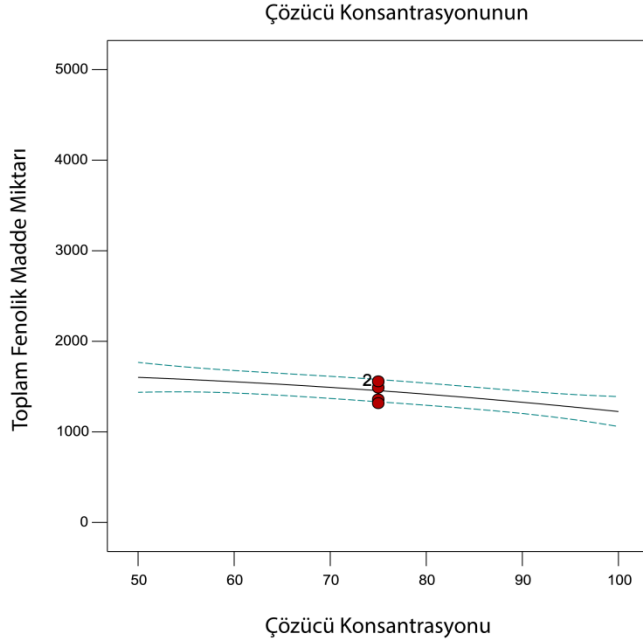
Regresyon analizi sonucu toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi önemli bulundu ($p < 0.05$). Sıcaklığa ait katsayının (1287.82) sıfırdan büyük olması, sıcaklığın toplam fenolik madde üzerine toplam etkisinin pozitif olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarının veriminin sıcaklığa bağlı olarak değişimi Şekil 3.6’da verilmiştir. Grafik incelendiğinde belirlenen aralıklarda (45–65°C) sıcaklık arttıkça, toplam fenolik madde miktarında artışı görülmektedir.



Şekil 3.6. Toplam fenolik madde üzerine sıcaklığın etkisi

3.4.3. Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi

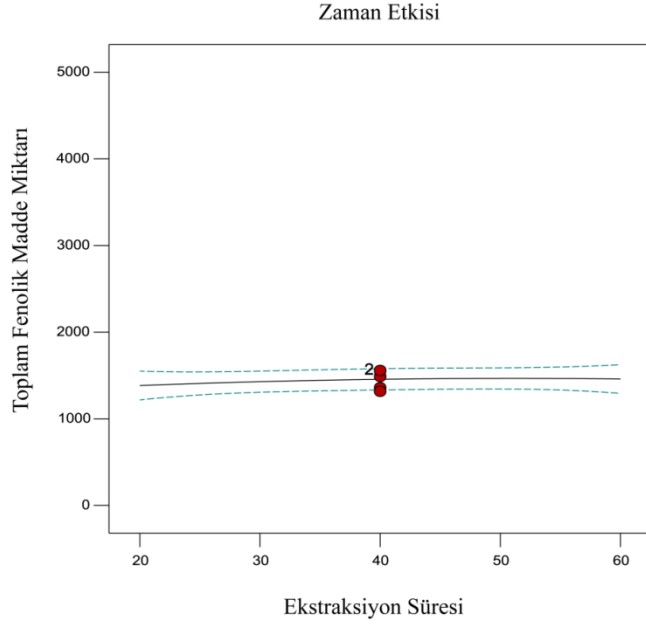
Regresyon analizi sonucu derişimin etkisi önemli bulundu ($p < 0.05$). Başlangıç derişimine ait katsayının (-188.65) sıfırdan küçük olması derişimin toplam fenolik madde miktarı üzerine toplam etkisinin negatif olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarının veriminin çözücü konsantrasyonuna bağılı olarak değişimi Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Toplam fenolik miktar üzerine derişiminin etkisi

3.4.4. Ekstraksiyon Süresinin Etkisi

Regresyon analizi sonucu Toplam fenolik miktara sürenin etkisi önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). Süreye ait katsayının (+37.76) sıfırdan büyük olması sürenin Toplam fenolik miktar üzerine toplam etkisinin pozitif olduğunu göstermektedir. Şekil 3.8’de toplam fenolik miktara üzerine sürenin etkisi 20-60 dakika aralığında arttığı görülmektedir.



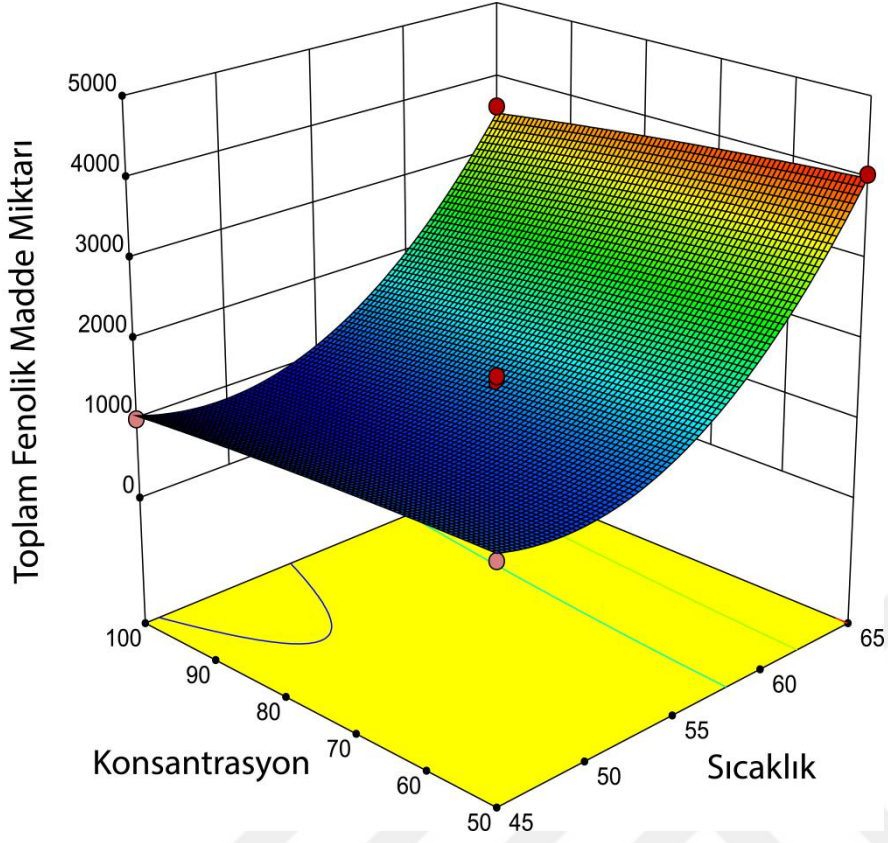
Şekil 3.8. Toplam fenolik madde miktarına ekstraksiyon süresinin etkisi

3.4.5. İkili Parametrelerin Ortaklaşa Etkileri

Toplam fenolik madde miktarı üzerine etki eden bağımsız değişkenler arasındaki ikili etkileşimler incelendi ve ikili etkileşimlere ait 3 boyutlu cevap yüzey grafikleri çizildi.

3.4.5.1. Sıcaklık ve Konsantrasyon Etkisi

Regresyon analizi sonucu toplam fenolik madde miktarı üzerine sıcaklık ve çözücü konsantrasyonunun birlikte etkisi istatistiksel olarak (Şekil 3.9.) önemli bulunmadı ($p < 0,05$).



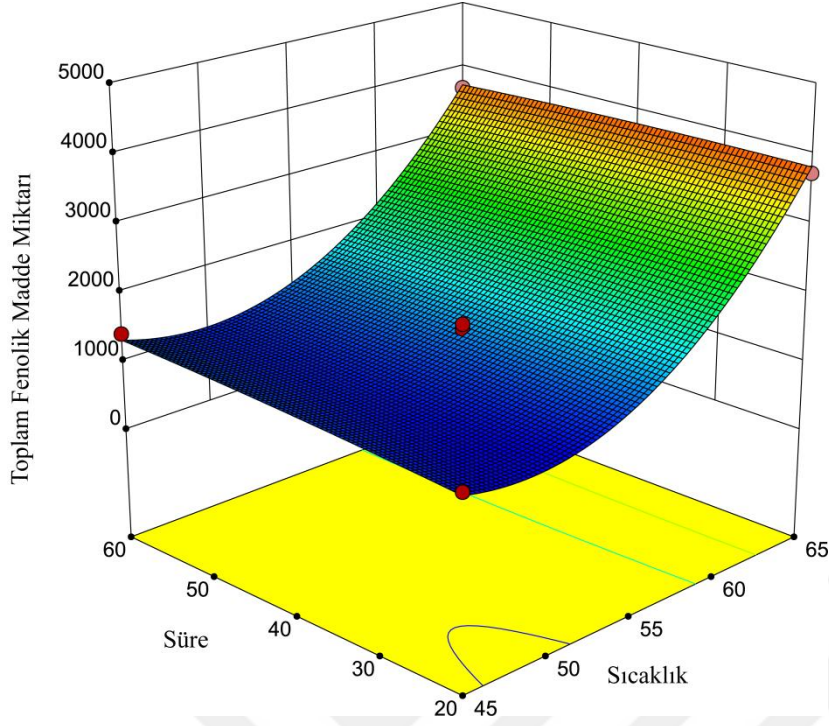
Şekil 3.9. Toplam fenolik madde miktarı üzerine sıcaklık- çözücü konsantrasyonu etkisi

Sıcaklık ve çözücü konsantrasyonu arasındaki ikili etkileşime ait katsayının sıfırdan küçük olması (-56.85), bu ikili etkileşimin toplam fenolik madde miktarı üzerine toplam etkisinin negatif olduğunu göstermektedir. Bunun sonucu olarak p değerinin 0.3608 ($p > 0.05$) çıkması istatistiksel olarak önemli etkilerde bulunmadığı sonucuna varıldı.

3.4.5.2.Sıcaklık ve Sürenin Etkisi

Regresyon analizi sonucu; toplam fenolik miktar üzerine sıcaklık ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmadı, ($p > 0.05$; $p = 0.1639$).

Sıcaklık ve derişimine ait katsayının sıfırdan küçük olması (-90.42), bu ikili etkileşimin etkisinin toplam fenolik miktar üzerine etkisinin negatif olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.10. Toplam fenolik madde miktarı üzerine sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin birlikte etkisi

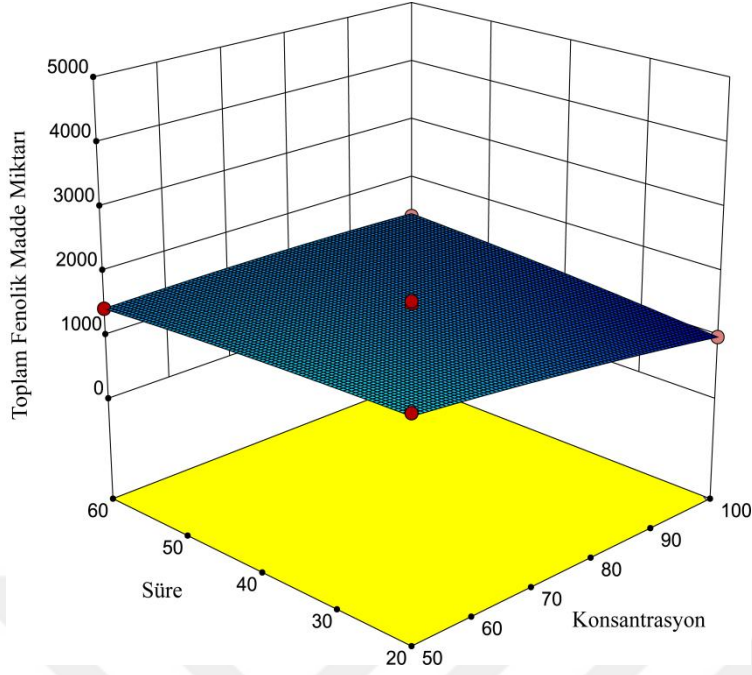
Ana etkilerin kareleri, etkilerin artış ya da azalış değişiminin şiddetini göstermektedir. Sıcaklığın karesi 1063.12 katsayısına sahipken, derişimin karesi -42.21 değerine sahiptir. Bu yüzden ikili değişimde sıcaklık etkisi daha baskın olmakta ve ikili etkileşimin incelenen aralıkta kümülatif etkisi negatif bir özellik göstermektedir.

3.4.5.3. Çözücü Konsantrasyonu ve Ekstraksiyon Süresinin Etkisi

Regresyon analizi sonucu toplam fenolik miktar üzerine derişim ve sürenin birlikte etkisi (Şekil 3.11.) önemli bulundu ($p < 0.05$).

Etkileşim süresi ve konsantrasyon arasındaki ikili etkileşime ait katsayının sıfırdan büyük olması (+164.61), bu ikili etkileşimin toplam fenolik madde miktarı üzerine kümülatif etkisinin pozitif olduğunu göstermektedir.

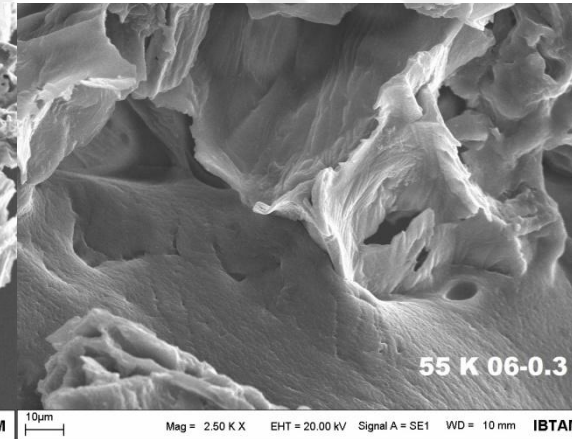
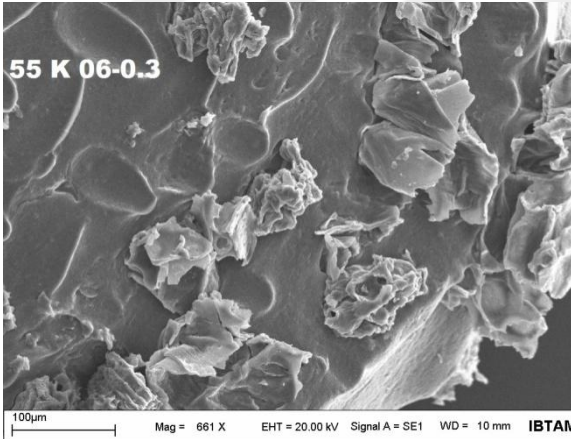
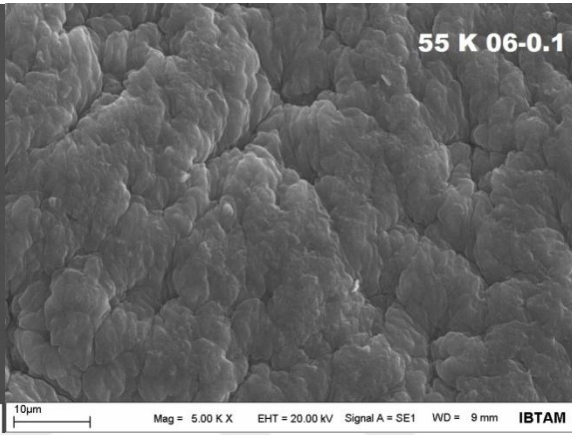
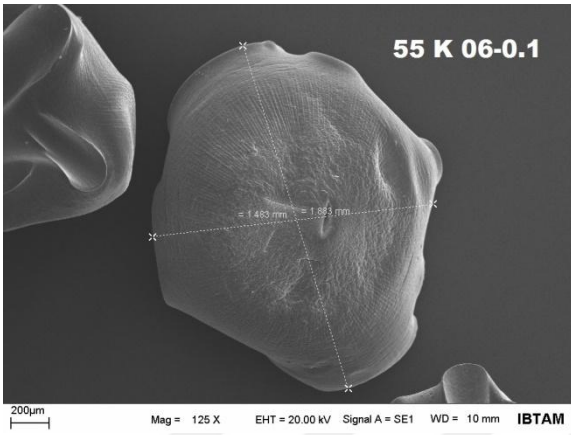
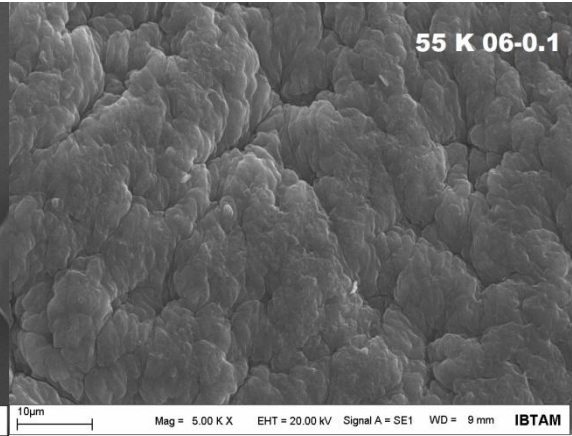
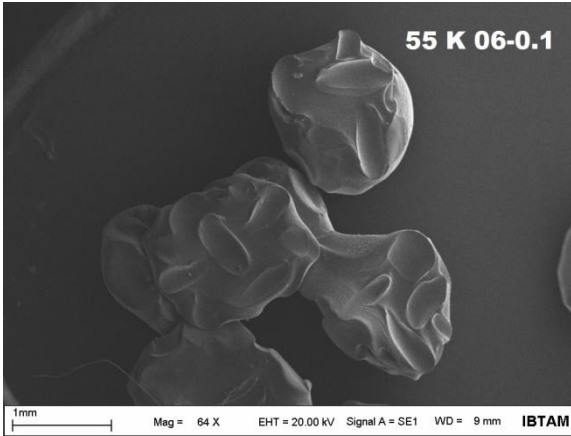
Şekil 3.11'deki zaman ve konsantrasyona bağlı yüzey grafiğinden, maksimum toplam fenolik miktar üzerine, süre arttıkça miktarın arttığı sonucuna varıldı.

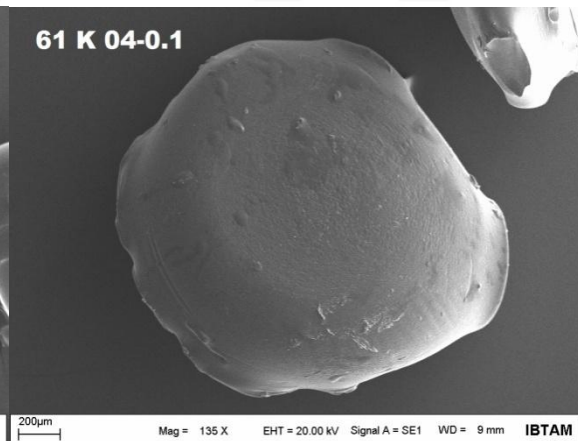
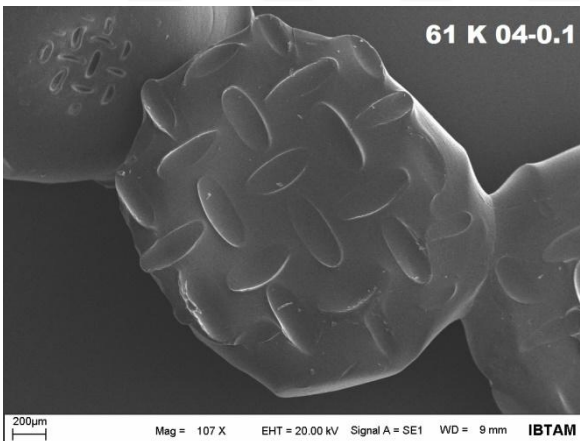
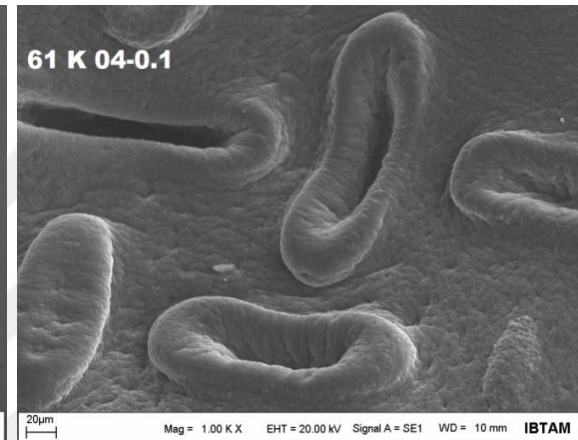
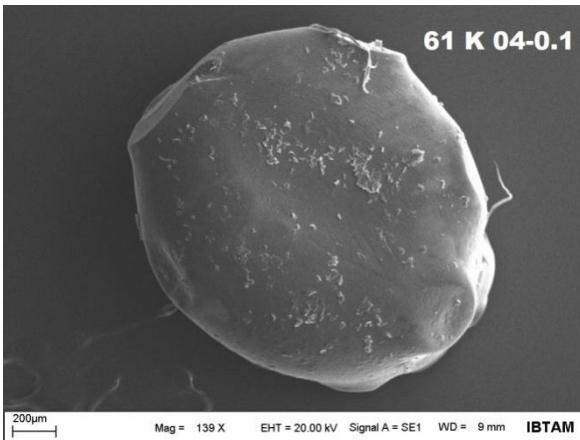
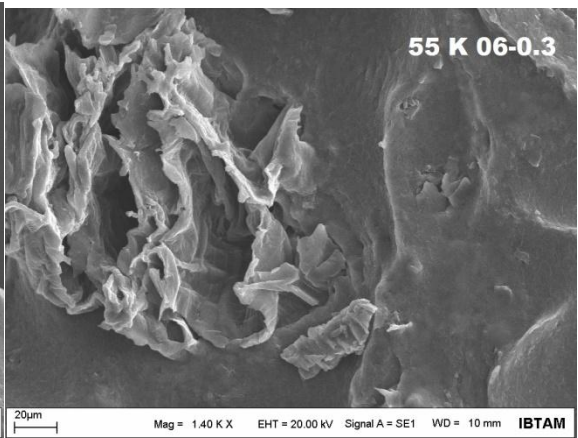
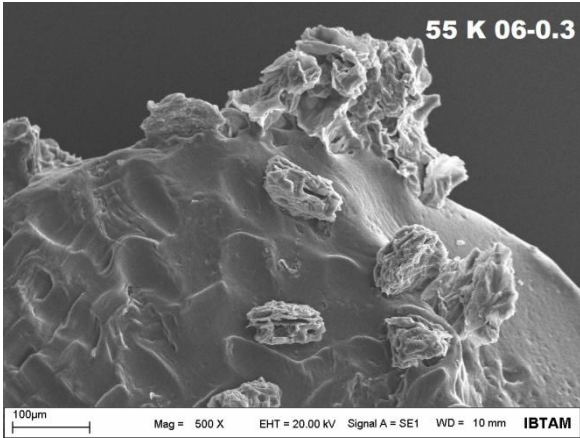


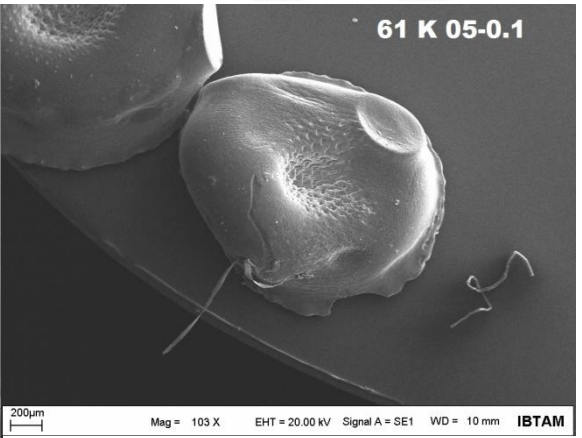
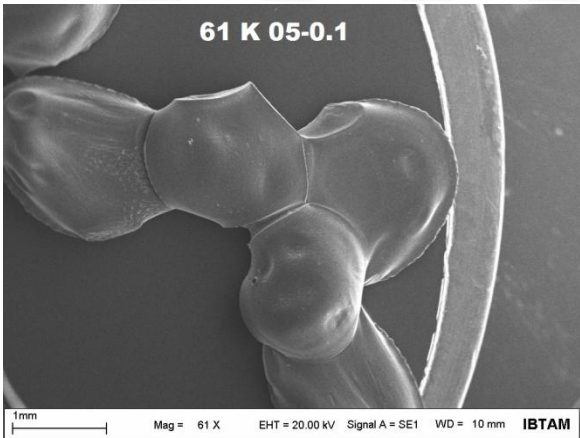
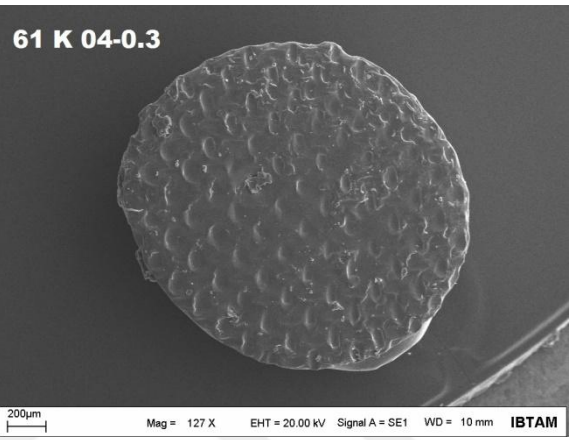
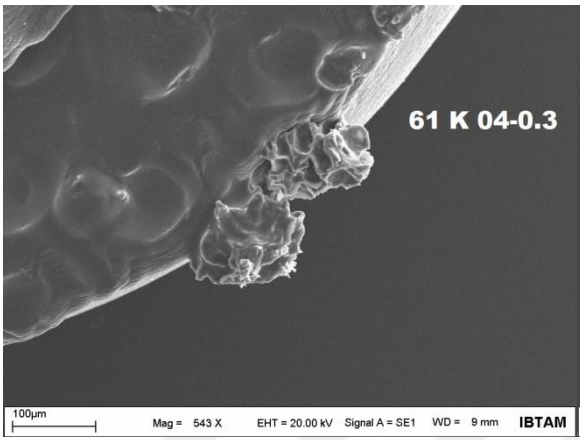
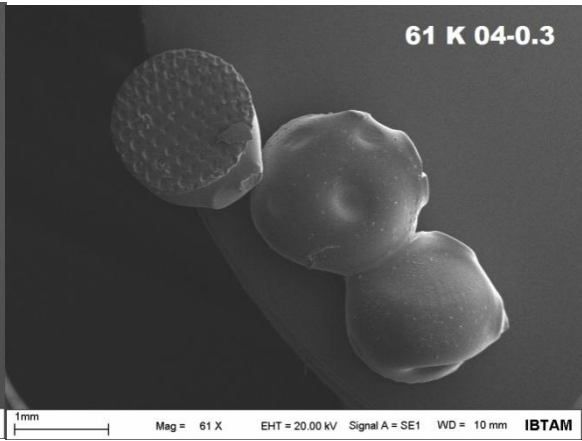
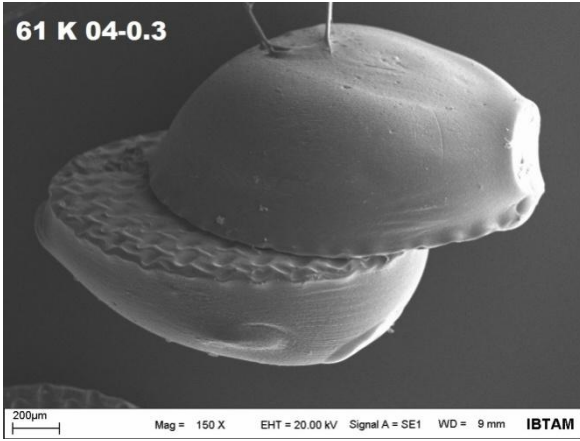
Şekil 3.11. Toplam fenolik madde miktarı üzerine sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin birlikte etkisi

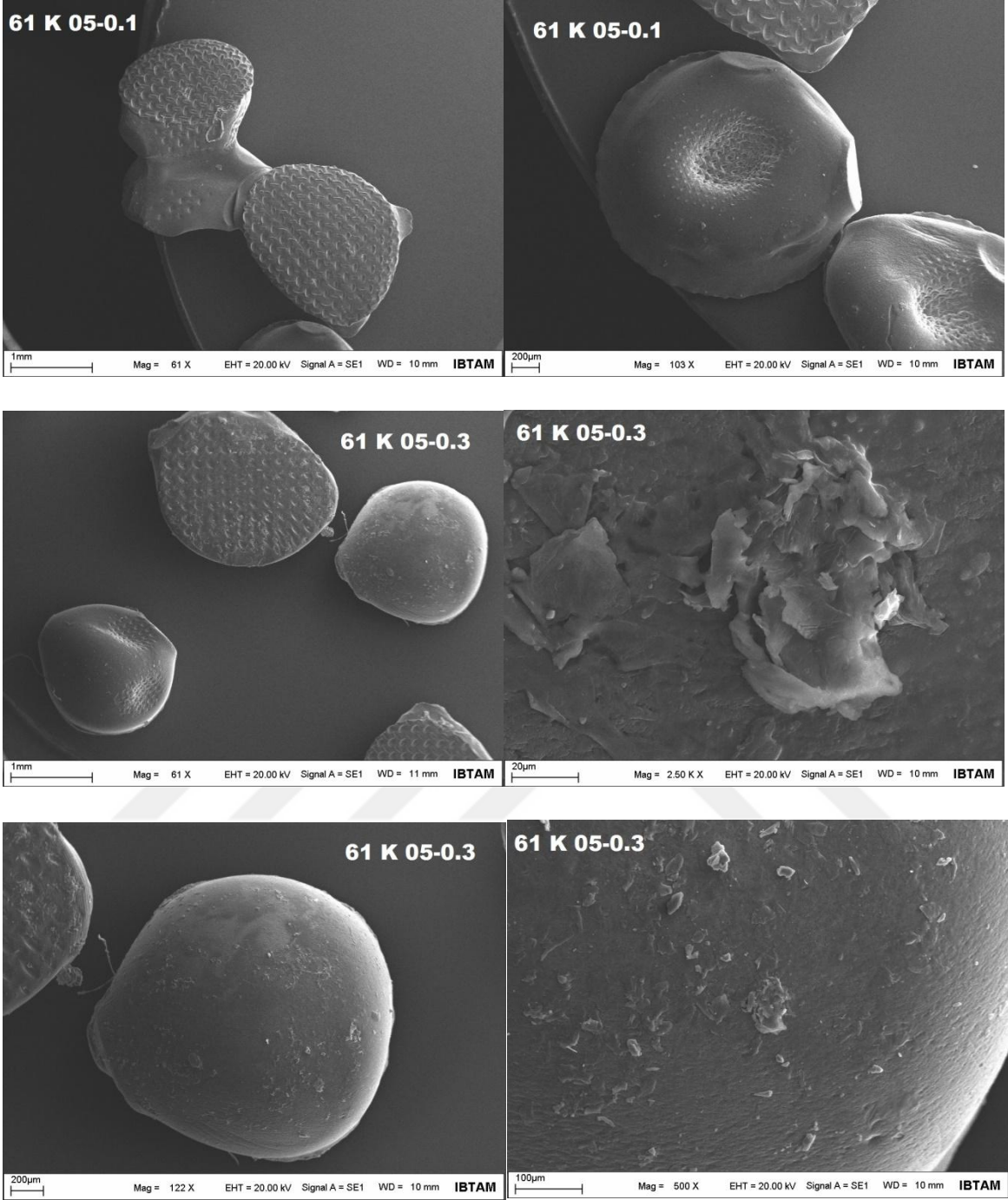
3.5. Enkapsüle Edilmiş Karayemiş Polifenollerinin Morfolojik Özellikleri

Karayemiş polifenollerinin enkapsülasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra taramalı elektron mikroskobu ile kapsüllerin yüzey morfolojileri incelenmiştir. Bu görüntüler neticesinde, kapsüllerin yüzeylerinde meydana gelen kırılma, çatlama, sızma, çökme ve çukurlar tespit edildi. Tüm polifenol türleri 0.1 ve 0.3 g 100g⁻¹ konsantrasyonlarında gam arabik kaplayıcı materyali ile kaplandı. Alınan görüntüler Resim 3.1'de gösterilmiştir.









Resim 3.1. Enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

4. TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kimyasal analiz sonuçlarında hammaddelerimizdeki toplam kurumadde miktarı, toplam kül miktarı tayini, pH tayini, suda çözünür kurumadde, su aktivitesi, şeker kompozisyonu ve mineral madde kompozisyonu sonuçlarının literatürdeki mevcut çalışmalarla arasında ilişkiler üzerinde duruldu. Mevcut çalışmalar ile arasındaki benzerlikler irdelendi.

Toplam kuru madde; suyun çeşitli yöntemler ile numuneden uzaklaştırılmasından sonra geriye kalan kısımdır. Suda çözünen ve çözünmeyen kısımdan oluşur. Suda çözünmeyen maddeler selüloz, nişasta gibi polisakkaritlerdir. Gıdalarda toplam kuru madde tayinin yapılmasının sebepleri; gıdanın standartlara uygun olup olmadığı hakkında bilgi sahibi olunması, gıdanın ticari değerinin belirlenmesi, gıdanın stabilitesinin veya raf ömrünün belirlenmesi ve gıdanın duyu kalite özelliklerinin belirlenmesi gibi sebeplerdir. Şeker içeriği bakımından zengin ürünler 70°C'den fazla sıcaklıkta kurutulmamalı, vakumlu fırında kurutulmalıdır. Her gıdanın parçalandığı belli bir sıcaklık derecesi vardır. Fruktoz gibi şekerler 70°C'nin üstündeki sıcaklıklarda yapısal olarak parçalanırlar. Şekerlerin yapısal olarak parçalanmış olması suyun çıkışını engeller (Dulf ve ark., 2016). Literatürde bulunan çalışmalarda karayemiş meyvesinin nem oranı yaklaşık %59.6 seviyelerinde bulunmuştur (Çalışır ve Aydın, 2004). Başka bir çalışmada ise Kaya ve Aydın (2008) yapmış oldukları analizler sonucunda karayemiş örneklerinde nem miktarını %77.78 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise karayemiş örneklerinde nem miktarı yaklaşık olarak %65 seviyelerindedir. Nem miktarlarında meydana gelen bu değişmelerin mevsimsel yağışların yıllara göre farklılık göstermesinden ve meyvelerin genotiplerinin farklı olduğundan ileri geldiği düşünülmektedir. Üstün ve Tosun (2003) ise yapmış oldukları bir çalışmada karayemiş meyvesinin toplam kurumadde miktarını %15–24 arasında tespit etmişlerdir. İslam ve Deligöz ise karayemiş meyvelerinin seleksiyonu amacıyla yapmış oldukları çalışma neticesinde ortalama kurumadde değerlerini %21.15 olarak tespit etmişlerdir.

Gıdaların yüksek sıcaklıkta anması sonucu arta kalan inorganik maddelere kül denilir. Kısaca organik bileşiklerin haricindeki gıda bileşenleridir. İnsan, hayvan ve

bitkilerin hayatlarını devam ettirebilmeleri için mineral maddelere gereksinimleri vardır. Mineral maddeler vücudumuzdaki asit-baz ve elektrolit dengesinin oluşumunda önemlidirler. Metabolik faaliyetler için de kullanılırlar.

Üstün ve Tosun (2003) yapmış oldukları analizler sonucunda kaayemiş meyvesinin kül miktarlarını %0.39–0.67 arasında bulmuşlardır. Bu çalışmada ise karayemiş meyvelerinin kül miktarları %0.6–0.74 arasında değişkenlik göstermektedir. Dolayısıyla yapılan bu çalışma kül miktarları bakımından literatür ile benzerlik göstermektedir.

Dil üzerinde algılanan ekşilik, dissosiyeye olmuş H^+ iyonları konsantrasyonlarından kaynaklanmaktadır ve bu da pH ile ifade edilmektedir (Roberfroid, 2000). Bostan (2001) yürütmüş olduğu bir çalışmada Trabzon ilinde yetiştirilen bir karayemiş çeşidinin pH değerini 4.55 olarak belirlemiştir. İslam (2002) kiraz karayemişi olarak adlandırılan bir türün bazı pomolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yürütmüş olduğu çalışmada bu meyvenin pH değerinin 4.8 olduğunu bildirmiştir. İslam ve Deligöz (2012) ise yapmış oldukları çalışma da ise çok çeşitli karayemiş meyvelerinin pH değerlerini ortalama 6.13, en küçük pH değerini 3.59, en yüksek pH değerini ise 6.98 olarak bildirmişlerdir. Beyhan (2010), Sakarya ilinde incelemiş olduğu 10 farklı karayemiş türünde pH değerlerini 4.63–4.92 aralığında tespit etmiştir. Çalışmamızda ise karayemiş meyvelerinin pH değerleri 4.87–4.94 arasında değerler almış olup, ilgili literatür ile benzerlik göstermektedir.

Suda çözünür kuru madde (SÇKM) miktarını şekerler, asitler, suda çözünür proteinler, aminoasitler, mineral maddeler ve tuzlar oluşturmaktadır (B. S. Cemeroğlu, 2011). Bostan (2001), gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada Trabzon ilinde yetişen su karayemiş türünün SÇKM miktarını %15.92 olarak belirlemiştir. İslam (2002), kiraz karayemişinin SÇKM değerini incelemiş ve bu meyvenin SÇKM miktarını %15.4 olarak belirlemiştir. Akbulut ve ark. (2007), bu çalışmada bizim de tedarikçimiz olan Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Samsun) arazisinde bulunan Karadeniz Bölgesine ait 28 karayemiş tipinde yaptıkları çalışmada SÇKM miktarını % 8.6-21.3 arasında bulmuşlardır. Macit (2008), 2005 - 2006 yıllarında Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Çınarlık deneme alanında yürütülen çalışmada 4 karayemiş tipinin analizleri yapılmış, elde edilen sonuçların ortalamalarına göre SÇKM içerikleri % 14.00-16.95 arasında tespit etmiştir. İslam ve Vardal (2006), 2005-2006 yıllarında Rize ilinin Pazar ilçesinde yerel karayemiş tiplerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada seçtikleri tiplerin SÇKM miktarlarını % 15.7-23.1 aralığında bulmuşlardır. Beyhan (2010), Sakarya ilinde yetişen 10 farklı karayemiş türü ile çalışmış ve meyvelerin SÇKM miktarının aralığını % 17-22,

ortalamasını % 18.80 olarak tespit etmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise karayemiş meyvelerinin SÇKM miktarları % 23.93-30.81 arasındadır. Araştırmamızın sonuçları; Bostan (2001), İslam (2002), Akbulut vd. (2007), Macit (2008) ve İslam ve Vardal (2009)'ın sonuçlarından daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın SÇKM sonuçlarının literatür ile farklılık göstermesinin sebebi analiz edilen meyvelerin ekolojik olarak farklı bölgelere ait olması ve mevsimsel yağışlardaki farklılıklar olarak düşünülmektedir.

Su aktivitesi (a_w) nem içeriğine kıyasla gıdaların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerinde daha önemli bir etkiye sahiptir. Nem (su) içeriği tek başına mikrobiyal ve kimyasal olaylarda kullanılabilir bir parametre değildir, ürün içerisindeki toplam su miktarı hakkında bilgi verir. Su aktivitesi ise, aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncının ürün içerisindeki suyun buhar basıncına oranını ifade etmektedir. Başka bir deyişle örnekteki nem değerinin havanın bağıl nemi ile dengeye geldiği noktadır. Bu noktada ürün ile hava arasında herhangi bir nem alış veriş gerçekleşmemektedir (Fontana, 2000). Literatürde karayemiş meyvesinin su aktivite değerlerine yönelik pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden bu çalışma bu bağlamda literatürdeki boşluğu doldurma noktasında fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Meyve sebzelerde ve bunlardan çeşitli prosesler (kurutma, pişirme, dondurma, vs.) ile üretilmiş olan gıdalarda genel olarak glukoz, fruktoz ve sakaroz bulunmaktadır (B. Cemeroğlu, 1992). Ayaz ve ark. (1996), karayemiş meyvesinin şeker türlerinin miktarlarını incelemişler ve glukoz miktarını $7.57 \pm 0.22 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, fruktoz miktarını ise $8.04 \pm 0.02 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir. Alaşalvar ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada 2 farklı karayemiş (fındık ve kiraz) türünü incelemiş ve fruktoz içeriklerini $4.84\text{--}5.16 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, glukoz miktarlarını ise $5.43\text{--}5.88 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ değerleri arasında bulmuştur. Var ve Ayaz (2004), karayemiş meyvesinin şeker türlerinin miktarlarını meyvenin gelişmesi ve olgunlaşması süresince analiz etmişler ve 44. günde meyvenin glukoz miktarını $5.9 \pm 0.6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ve fruktoz miktarını ise $7.0 \pm 1.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise fruktoz miktarları $6.71 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (61 K 05) ile $9.22 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (61 K 04) arasında değişmektedir. Glukoz miktarı ise $6.25 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (55 K 06) ile $6.50 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (61 K 05) arasında değişen değerler almaktadır. Dolayısıyla çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre daha yüksek bulundu.

Canlı hücrelerde bulunan elementlere biyoelement adı verilmektedir. Mineral maddeler enerji vermeyen gıda bileşeni grubuna girmektedirler. İnsanlar mineral madde ihtiyacını hayvansal ve bitkisel gıdalardan karşılamaktadırlar. Bitkiler ise yapılarına

bulunan mineral maddeleri topraktan karşılamaktadırlar. Bitkilerin mineral madde kompozisyonunu bulunduğu bölgenin toprağının yapısı belirlemektedir (Mayer, 1997). Kolaylı ve ark. (2003), karayemiş meyvelerinin kimyasal ve antioksidatif özelliklerini incelemiş oldukları bir çalışmada karayemiş meyvelerinde sırasıyla şu mineral maddeleri tespit etmişlerdir; makroelementlerden, K ($2215 \pm 10.5 \text{ mg kg}^{-1}$), Mg ($179 \pm 11.0 \text{ mg kg}^{-1}$), Ca ($153 \pm 0.8 \text{ mg kg}^{-1}$) ve Na ($55 \pm 0.3 \text{ mg kg}^{-1}$) iz miktarda bulunan elementlerden Mn ($24.2 \pm 1.3 \text{ mg kg}^{-1}$), Fe ($8.3 \pm 0.8 \text{ mg kg}^{-1}$), Zn ($1.9 \pm 0.2 \text{ mg kg}^{-1}$) ve Cu ($0.8 \pm 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$) tespit etmişlerdir. Bunlara ek olarak meyveler çok düşük miktarda Pb, Ni, Co ve Cr varlığı göstermiş ama belirlenebilir değerin altında kalmıştır. Albuquerque ve ark. (2013), Karadeniz Bölgesi geleneksel gıdalarının mineral kaynağı potansiyelini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Karadeniz'e kıyısı olan ülkelerde toplam 33 farklı geleneksel gıdayı araştırmışlar ve 10 farklı mineral madde tespit etmişlerdir. En fazla bulunan bileşenler sodyum ($40.0\text{--}619.0 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$), potasyum ($45.5\text{--}938.0 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) ve fosforu ($22.2\text{--}681.0 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) olarak tespit etmişlerdir. Bu minerallerin haricinde Ca, Mg, Fe, Cu ve Mn'da analiz edilen diğer mineral bileşiklerdir (Albuquerque ve ark., 2013). Mineral madde kompozisyonu açısından karşılaştırdığımızda literatürdeki dataların bu çalışma ile benzerlik göstermediği görülmektedir. Bunun sebebi önceden bahsedildiği üzere yetiştiği bölgedeki toprak farklılığı ve ekolojik şartlardan farklı bölgelerde yetişen meyvelerin farklı mineral içeriği olmasından kaynaklandığı öngörülmektedir.

4.2. Fiziksel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada numunelerin renk değerleri incelenirken CIE-Lab renk sistemi kullanılmıştır. *L* parlaklık-koyuluk değeridir (açık-koyu), *a* kırmızı ve yeşillik, *b* sarı ve mavilik değerlerini verir (Üren, 1999). Minolta *a* değerinin, minolta *b* değerine bölünmesiyle elde edilen minolta *a/b* değerindeki artış gıdalardaki kırmızılığın artışı göstermektedir (Batu ve ark., 1997). İslam ve Deligöz (2012), seçilen karayemiş tiplerinin meyve renklerinin kırmızı başta olmak üzere siyah ve kırmızı-siyah olduğunu ve *L* değerinin 17.63-25.10 aralığında, *a* değerinin 0.90-11.52 aralığında ve *b* değerinin ise 0.01-2.58 aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Kasım ve ark. (2011), karayemişlerde antosiyanin ve renk arasında bir korelasyon olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında karayemiş meyvesinin renk değerlerini araştırmışlar ve *L* değerinin ortalamasını 22.09, *a* değerinin ortalamasını 10.36 ve *b* değerinin ortalamasını 1.92 olarak belirlemişlerdir. Bu

çalışmada ise L değeri 21.19-30.99 aralığında, a değeri 1.86-4.99 aralığında, b değeri ise 2.27-9.82 aralığında olduğu belirlenmiş olup sonuçlar literatür ile benzer bulunmuştur.

Literatürde karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmiş herhangi bir gıda sistemi ile alakalı bir çalışma bulunmamaktadır. Analizi yapılan renk parametreleri arasında, meyvenin renginden de ileri geldiğinden *a* değeri diğer parametrelere göre daha önemlidir. Enkapsüle olan polifenollerle zenginleştirilen keklerin renginin kırmızılık miktarı, ham polifenoller ile zenginleştirilen keklere göre daha düşük bulundu. Polifenollerin yüzeylerini kaplayan gam arabik çözeltisinin renkleri maskeleyiği düşünülmektedir. Gam arabik çözeltisinin konsantrasyonu arttıkça kırmızılığın azaldığı tespit edildi.

4.3. Biyoaktivite Testleri Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Karayemiş meyvelerinin ve enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmiş kek örneklerinin biyoaktivite özelliklerinin analiz edilmesinde, antioksidan aktivitesinin belirlenmesi (DPPH radikalini indirgenmesi), toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi ve fenolik bileşik kompozisyonunun belirlenmesi şeklinde farklı analiz yöntemleri ile belirlendi.

4.3.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Orhan ve Akkol (2011) yapmış oldukları çalışmada Trabzon ilinden elde etmiş oldukları karayemiş meyvelerinin 5 farklı çözücü (diklorometan, etil asetat, aseton, metanol, su) ile ekstraktlarını elde etmiş ve bu ekstraktların antioksidan aktivitesini (% DPPH inhibisyonu) belirlemiştir. Diklorometan çözücü ile ekstrakte edilen karayemiş meyvesinin, DPPH radikalini %13.61±0.06'ini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Diğer çözücüler ile ekstrakte edilen meyveler ise sırasıyla; DPPH radikalini %20.23±0.47, %18.01±0.35, %22.70±0.25, %16.12±0.11'ini inhibe etmişlerdir. Karabegoviç ve ark. (2014)'da farklı ekstraksiyon teknikleri deneyerek karayemiş meyvesinin biyoaktivite özelliklerini belirlemiştir. Bu bağlamda mikrodalga yardımcı ekstraksiyon, ultrasound yardımcı ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon ve sokslet ekstraksiyon tekniklerini kullanmışlardır. Antioksidan kapasitesini hesaplariken sonuçları IC₅₀ şeklinde vermişlerdir. Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon sonucu IC₅₀ değeri 236.9±3.1 µg mL⁻¹, ultrasound yardımcı ekstraksiyon sonucu IC₅₀ değeri 245.7±3.4 µg mL⁻¹, klasik ekstraksiyon sonucu

IC₅₀ değeri 237.2±4.6 µg mL⁻¹ ve soksalet ekstraksiyon sonucu IC₅₀ değeri 271.2±7.6 µg mL⁻¹ şeklinde bildirmişlerdir. IC₅₀ değerinin en düşük olduğu değer, DPPH indirgeme aktivitesinin en yüksek olduğu yöntemi göstermektedir. Dolayısıyla Karabegović ve ark.'nın çalışmalarına göre klasik ekstraksiyon yönteminde karayemiş meyveleri en yüksek DPPH inhibisyonunu gerçekleştirmiştir (Karabegović ve ark., 2014). Bu çalışmada da klasik ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Liyana-Pathirana ve ark. (2006) karayemiş meyvesinin ve bu meyvenin pekmezini yaparak antioksidan kapasitesini belirlemişlerdir. İlgili çalışma neticesinde kiraz olarak adlandırdıkları karayemiş meyvesinin %DPPH inhibisyonunu 23.4±0.1 ve bu meyvenin pekmezinin %DPPH inhibisyonunu 50.8±0.7 taze meyve olarak tespit etmişlerdir. Celep ve ark. (2012) ise karayemiş meyvesi ile beraber benzer yapıya sahip olan kızılcık ve trabzon hurması meyvelerinin antioksidan potansiyelini araştırmışlardır. Bu çalışma neticesinde kızılcık meyvesinin IC₅₀ değerini 725±17.5 µg mL⁻¹, trabzon hurmasının IC₅₀ değerini 440±12.1 µg mL⁻¹ ve karayemiş meyvesinin IC₅₀ değerini 795±15.8 µg mL⁻¹ olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise DPPH radikalinin % inhibisyonu ve IC₅₀ değerleri, meyve ekstraktlarının 3 farklı konsantrasyonu (%20-50-100) hazırlanarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında %100 konsantrasyondaki 55 K 06 meyve türü DPPH radikalinin %92.65±0.16'sını inhibe etmiştir ve IC₅₀ değeri de 7.85±0.03 olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivite değerlerindeki bu farklılık meyvelerin fenolik kompozisyon farklılığından fenolik kompozisyonundaki bu farklılık da bitkilerin yetiştiği bölge değişkenliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca tüm meyvelerin yapısında doğal olarak bulunan lipoksigenaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz enzimleri, meyve ve sebzelerin depolanması sırasında kalite kayıplarına neden olmaktadır. Bu enzimler birincil substrat olarak polifenoller gibi bileşikleri kullanmaktadır (Sheu ve Chen, 1991; Williams ve ark., 1986). Dolayısıyla hasattan sonra geçen sürenin de antioksidan kapasite üzerine etkili olduğu düşünülebilir.

4.3.2. Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Uygun ve Özbey (2008) karayemiş meyvelerini Tip A, Tip B, Tip C ve Tip D olarak isimlendirip bu meyvelerin toplam fenolik madde miktarını incelemişler ve su ile ekstraksiyon işlemi uyguladıkları karayemiş örneklerinin toplam fenolik madde miktarını sırasıyla 311.33 mg GAE 100 g⁻¹, 235.22 mg GAE 100 g⁻¹, 84.08 mg GAE 100 g⁻¹ ve 205.70 mg GAE 100 g⁻¹ olarak bulmuşlardır. Karahalil ve Şahin (2011), karayemiş

meyvesinde toplam fenolik bileşik miktarı ve antioksidan kapasite analizlerini yapmışlar ve toplam fenolik madde miktarını 1.194 ± 0.06 mg GAE 100 g^{-1} kuru ağırlık olarak hesaplamıştır. Celep ve ark. (2012), karayemiş meyvesi de dâhil üç meyvenin toplam fenolik madde analizini yapmış ve karayemiş meyvesinin toplam fenolik madde miktarını 23.64 ± 0.84 mg GAE g^{-1} ekstrakt olarak tespit etmişlerdir. Alaşalvar ve ark. (2005), karayemiş meyvesinin ve bu meyveden elde etmiş oldukları pekmezin karakterizasyonu ve antioksidatif özellikleri üzerine araştırma yapmışlardır. Araştırma neticesinde kiraz adını verdikleri karayemiş türünün toplam fenolik madde miktarını 454 ± 14 mg 100 g^{-1} bulurken fındık adını vermiş oldukları bir diğer karayemiş türünün toplam fenolik madde miktarını 651 ± 19 mg 100 g^{-1} olarak hesaplamışlardır. Karabegovic ve ark. (2013), karayemiş meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda mikrodalga yardımcı ekstraksiyon işleminde farklı çözücüler ile ekstraksiyonu gerçekleştirmiş ve optimum çözücüyü bulmaya yönelik çalışma yürütülmüştür. Çalışma neticesinde su ile yapılan ekstraksiyon sonucunda toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden 11.07 ± 0.11 mg g^{-1} taze meyve, metanol ile yapılan ekstraksiyon sonucunda 13.06 ± 0.22 mg g^{-1} taze meyve ve 2-propanol ile yapılan ekstraksiyon sonucunda ise toplam fenolik madde miktarı 5.12 ± 0.08 mg g^{-1} taze meyve olarak tespit edilmiştir. Halilova ve Ercişli (2010) Trabzon ilinden temin ettikleri 8 adet farklı tür karayemiş meyvesinde antioksidatif özellik belirleme çalışması yapmış ve sonuç olarak toplam fenolik madde miktarının gallik asit cinsinden $24.36-75.27$ mg g^{-1} kuru meyve aralığında tespit edilmiştir. Karabegovic ve ark. (2014) bir başka çalışmalarında karayemiş meyvesinden ve yapraklarından farklı yöntemlerle ekstraksiyon işlemi yaparak optimum koşulları belirlemeye yönelik çalışma yapmışlardır. Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon, ultrasonik yardımcı ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon ve sokslet ekstraksiyon olmak üzere 4 farklı ekstraksiyon yöntemi uygulamışlardır. Toplam fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden sırasıyla; 46.3 ± 1.4 mg g^{-1} kuru ekstrakt, 42.2 ± 1.8 mg g^{-1} kuru ekstrakt, 41.3 ± 1.3 mg g^{-1} kuru ekstrakt, 36.2 ± 0.6 mg g^{-1} kuru ekstrakt olarak bulunmuşlardır. Bu çalışmada toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden ve taze ekstrakt miktarı üzerinden hesaplanmıştır. Karayemiş meyvesi örneklerinde 55 K 06, 61 K 04 ve 61 K 05 türleri incelenmiş ve sırasıyla toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden 430.58 mg kg^{-1} , 373.82 mg kg^{-1} , 421.67 mg kg^{-1} olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarlarındaki bu farklılık, mevsimsel yağışlar, meyvenin yetiştiği bölgenin coğrafi olarak (rakım, güneş ışınları vs.) farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.3. Fenolik Bileşik Kompozisyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada karayemiş örneklerinin fenolik bileşik kompozisyonuna bakılmış ve 14 farklı bileşik tespit edilmiştir.

Karahalil ve Şahin (2011) Trabzon ilinden tedarik etmiş oldukları karayemiş meyvelerinin fenolik bileşik kompozisyonunu incelemiş ve 10 adet fenolik bileşik tespit etmişlerdir. Bunları; gallik asit (0.02 ± 0.01 mg $100g^{-1}$), protokateşuik asit (3.72 ± 0.50 mg $100g^{-1}$), *p*-hidroksibenzoik asit (8.34 ± 0.42 mg $100g^{-1}$), klorojenik asit (33.00 ± 1.23 mg $100g^{-1}$), vanilik asit (7.69 ± 0.45 mg $100g^{-1}$), srinjik asit (1.30 ± 0.15 mg $100g^{-1}$), *p*-kumarik asit (2.55 ± 0.60 mg $100g^{-1}$), ferulik asit (0.58 ± 0.01 mg $100g^{-1}$), kateşin (3.40 ± 0.12 mg $100g^{-1}$) ve rutin (0.10 ± 0.02 mg $100g^{-1}$) olarak rapor edilmiştir. Ayrıca kafeik asit, benzoik asit, *o*-kumarik asit, *trans*-sinnamik asit, kuersetin ve epikateşin analiz edilen örneklerde tespit edilememiştir. Alaşalvar ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada kiraz ve fındık olarak adlandırdıkları 2 farklı karayemiş türünde fenolik bileşik kompozisyonunu incelemiş ve 7 farklı fenolik bileşeni karayemiş meyvelerinde aramışlardır. Bunlardan kiraz olarak adlandırdıkları türde; protokateşuik asit (1.12 ± 0.17 mg $100g^{-1}$), *p*-hidroksibenzoik asit (2.38 ± 0.28 mg $100g^{-1}$), klorojenik asit (136.06 ± 6.39 mg $100g^{-1}$), vanilik asit (12.41 ± 0.04 mg $100g^{-1}$), srinjik asit (56.15 ± 5.09 mg $100g^{-1}$) ve *p*-kumarik asit (49.70 ± 9.42 mg $100g^{-1}$) tespit edilirken, fındık olarak adlandırdıkları türde ise; *p*-hidroksibenzoik asit (3.01 ± 0.46 mg $100g^{-1}$), klorojenik asit (102.64 ± 4.27 mg $100g^{-1}$), vanilik asit (10.48 ± 1.73 mg $100g^{-1}$), srinjik asit (41.43 ± 0.68 mg $100g^{-1}$) ve *p*-kumarik asit (43.05 ± 4.56 mg $100g^{-1}$) tespit edilmiştir. Karabegoviç ve ark. (2014) 4 farklı ekstraksiyon yöntemi (mikrodalga yardımcı, ultrasound yardımcı, klasik, soksalet ekstraksiyon) ile karayemiş polifenollerini ekstrakte etmiş ve bunların fenolik bileşik kompozisyonunu incelemiştir. Araştırmaları neticesinde karayemiş meyvelerinde 4 farklı fenolik bileşik tespit etmişlerdir. Bunlar klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit ve rutindir. 4 farklı ekstraksiyon yönteminde de en fazla bulunan fenolik bileşik klorojenik asit (30.39 – 36.49 mg g^{-1} kuru ağırlık) olmuştur. En fazla klorojenik asit miktarını ise klasik ekstraksiyon ile yakalamışlardır.

Literatürdeki çalışmaların sonuçları ve bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında bazı bileşenlerin benzer bazı bileşenlerin ise farklı olduğu görülmektedir. Bunun nedeni toplam fenolik madde miktarının farklılığı ve antioksidan kapasitelerinin farklı olması ile

aynı sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yalnız burada dikkat çekici fenolik bileşen özellikle son zamanlarda popüler hale gelen klorojenik asittir. Klorojenik asit, literatürdeki çalışmalara bakıldığında ve bu çalışmaya bakıldığında en fazla bulunan fenolik bileşen olarak karşımıza çıkmaktadır. Klorojenik asit haricinde örneklerimizde, prosiyanidin B₂, epikateşin, kateşin, kerasiyanin klorit, epigallokateşin gallat ve protokateşinik asit de yüksek konsantrasyonda tespit edildi. Klorojenik asit, insülin hormonunun gelişimini engellerken, pankreasta bulunan bir başka hormon olan glukagon hormonunun gelişmesini artırır. Glukagon hormonu hücrelerden kana şeker emilimini sağlayan dolayısıyla hücrelerde şeker birikimini engelleyen bir hormondur (Olthof ve ark., 2003). Bu çalışmada analiz edilen meyve türlerinden özellikle 55 K 06 türü klorojenik asit bakımından diğer türlere göre daha zengin olduğu bulundu.

Literatürde enkapsüle edilmiş karayemiş polifenollerini ile zenginleştirilmiş gıda sistemleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda bu çalışma ile literatürdeki bir başka boşlukta doldurulmuş olacaktır. Bu çalışmada gıda sistemi olarak tercih edilen kek örnekleri 3 farklı şekilde üretildi. Bunlardan ilki enkapsülasyon işlemine tabi tutulmayan ekstraktlar ile üretilen kek örnekleridir (55 K 06-eks, 61 K 04-eks, 61 K 05-eks). Diğer iki üretim ise karayemiş polifenollerinin 0.1 ve 0.3 g.100g⁻¹ gam arabik ile kaplanması sonucu oluşan tanecikler ile gerçekleştirilmiştir (55 K 06-enk-0.1, 61 K 04-enk-0.1, 61 K 05-enk-0.1, 55 K 06-enk-0.3, 61 K 04-enk-0.3, 61 K 05-enk-0.3). Yapılan analizler sonucunda enkapsüle edilmeyen polifenoller ile zenginleştirilen keklerde yüksek miktarda fenolik bileşik kaybı meydana geldi (Tablo 3.5). Örneğin klorojenik asit miktarında enkapsüle edilmeyen polifenoller ile zenginleştirilen kek örneklerine göre yaklaşık 20 kat kayıp meydana geldi. Bu sonuçlara bakılarak enkapsülasyon işleminin polifenollerini ısıya karşı daha dayanıklı hale getirdiği görülmektedir. Yine klorojenik asit bakımından bir kıyaslama yapıldığında, 0.1 g 100g⁻¹ konsantrasyonda gam arabik ile kaplı olan polifenoller, 0.3 g 100g⁻¹ konsantrasyonda gam arabik ile kaplı olan polifenollere göre ısıya karşı daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Bu durumun, enkapsüle edilmiş taneciklerin morfolojik özelliklerinin anlatıldığı Bölüm 4.5'te de anlatıldığı üzere, 0.3 g 100g⁻¹ konsantrasyonda gam arabik ile kaplı polifenollerin yüzeyinde bulunan çatlak ve çökmelere bağlı olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Prosiyanidin B₂ miktarlarında da enkapsüle edilmiş bileşiklerle zenginleştirilmiş keklerde, ilgili bileşiğin son üründe ciddi miktarda korunduğu görülmektedir (Tablo 3.5). Epigallokateşin gallat, epikateşin ve kerasiyanin enkapsüle edilmemiş polifenollerle zenginleştirilmiş kek örneklerinde

tamamen parçalanarak kayba uğrarken, enkapsüle edilmiş taneciklerle zenginleştirilmiş kek örneklerinde son üründe bu bileşikler tespit edildi.

4.4. Korelasyon Testi Analiz Sonuçları

Analiz edilen karayemiş örneklerinin fenolik bileşik içeriklerinin, DPPH inhibisyonuna ve IC₅₀ değerlerine hangi seviyede etki ettiği korelasyon testi ile belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.1.'de verilmiştir. Gallik asit ($r=0.992$, $p<0.01$) ve klorojenik asit ($r=0.930$, $p<0.01$) lerin, DPPH inhibisyonu ile pozitif yönlü yüksek ilişki tespit edildi. Buradan meyvelerimizde Gallik asit ve klorojenik asit miktarı artıka DPPH inhibisyonu düzeyinin artacağı ve IC₅₀ miktarlarının da azalacağı sonucu çıkarılmaktadır. Bu bağlamda özellikle 55 K 06 türünde yüksek miktarda bulunan klorojenik asit (1603±39 ppm) meyvenin değerini daha da artırmaktadır.

Bitkisel dokulardaki antioksidatif etki gösteren yapılar; enzimatik sistemler ve antioksidan moleküllerden (askorbik asit, tokoferol, fenolik bileşikler, karotenoidler, vs.) meydana gelmektedir. Pekçok çalışmada meyvelerde bulunan polifenollerin meyvedeki diğer antioksidanlarla sinerjetik bir etki gösterdikleri bulgusuna rastlanmaktadır (Miller ve Rice-Evans, 1997; Pedrielli ve Skibsted, 2002; Roberts ve Gordon, 2003; Majchrzak ve ark., 2004). Dolayısıyla fenolik bileşiklerden, yukarıda bahsedildiği üzere özellikle gallik asit ve klorojenik asit antioksidan aktiviteye olumlu yönde etki ederken bunların yanında, kateşin gallat ($r=0.854$, $p<0.01$), protokateşuik asit ($r=0.807$, $p<0.01$) yüksek derecede antioksidan aktiviteye olumlu yönde etki etmektedir. Ek olarak kateşin ($r=0.756$, $p<0.05$), epikateşin ($r=0.731$, $p<0.05$) ve prosiyanidin B₂ ($r=0.784$, $p<0.05$)'de yüksek seviyede antioksidan kapasiteye olumlu etki yapmaktadır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Karayemiş meyvelerine ait korelasyon analizi

		Gallic Acid	Catechin Gallate	Procyanidin B2	Epicatechin	Gallocatechin Gallate	Catechin	Chlorogenic Acid	Protocatechuic Acid	Quercetin 3 glucoside	Rutin	Kaempferol	Keracyanin Chloride	Epigallocatechin gallate	Epigallocatechin	DPPH	IC50
Gallic Acid	Pearson Correlation	1															
	Sig. (2-tailed)																
Catechin Gallate	Pearson Correlation	,802**	1														
	Sig. (2-tailed)	0,009															
Procyanidin B2	Pearson Correlation	,723*	,993**	1													
	Sig. (2-tailed)	0,028	0														
Epicatechin	Pearson Correlation	0,662	,979**	,996**	1												
	Sig. (2-tailed)	0,052	0	0													
Gallocatechin Gallate	Pearson Correlation	0,517	,926**	,965**	,984**	1											
	Sig. (2-tailed)	0,154	0	0	0												
Catechin	Pearson Correlation	,689*	,985**	,999**	,999**	,976**	1										
	Sig. (2-tailed)	0,04	0	0	0	0											
Chlorogenic Acid	Pearson Correlation	,892**	,985**	,957**	,929**	,848**	,942**	1									
	Sig. (2-tailed)	0,001	0	0	0	0,004	0										
Protocatechuic Acid	Pearson Correlation	,862**	0,389	0,274	0,191	0,013	0,228	0,541	1								
	Sig. (2-tailed)	0,003	0,301	0,476	0,622	0,974	0,556	0,132									
Quercetin 3 glucoside	Pearson Correlation	0,472	,905**	,950**	,973**	,998**	,963**	,819**	-0,039	1							
	Sig. (2-tailed)	0,199	0,001	0	0	0	0,007	0,92									
Rutin	Pearson Correlation	0,532	,932**	,969**	,987**	1,000**	,980**	,857**	0,03	,997**	1						
	Sig. (2-tailed)	0,141	0	0	0	0	0,003	0,939	0								
Kaempferol	Pearson Correlation	0,391	-0,236	-0,352	-0,431	-0,585	-0,397	-0,066	,803**	-0,626	-0,571	1					
	Sig. (2-tailed)	0,298	0,541	0,352	0,247	0,098	0,29	0,866	0,009	0,071	0,108						
Keracyanin Chloride	Pearson Correlation	0,451	,895**	,942**	,967**	,997**	,957**	,805**	-0,064	,999**	,996**	-0,645	1				
	Sig. (2-tailed)	0,223	0,001	0	0	0	0,009	0,871	0	0	0,061						
Epigallocatechin Gallate	Pearson Correlation	0,661	0,082	-0,04	-0,125	-0,3	-0,088	0,252	,950**	-0,349	-0,284	,949**	-0,372	1			
	Sig. (2-tailed)	0,053	0,834	0,919	0,749	0,433	0,823	0,514	0	0,357	0,459	0	0,324				
Epigallocatechin	Pearson Correlation	0,661	0,081	-0,041	-0,125	-0,301	-0,088	0,251	,950**	-0,349	-0,284	,949**	-0,372	1,000**	1		
	Sig. (2-tailed)	0,053	0,835	0,917	0,748	0,432	0,821	0,515	0	0,357	0,458	0	0,324	0			
DPPH	Pearson Correlation	,992**	,854**	,784*	,731*	0,596	,756*	,930**	,807**	0,553	0,611	0,297	0,534	0,583	0,582	1	
	Sig. (2-tailed)	0	0,003	0,012	0,025	0,09	0,019	0	0,009	0,123	0,081	0,437	0,139	0,099	0,1		
IC50	Pearson Correlation	-,993**	-,843**	-,772*	-,717*	-0,58	-,743*	-,923**	-,818**	-0,536	-0,595	-0,315	-0,517	-0,598	-0,597	-1,000**	1
	Sig. (2-tailed)	0	0,004	0,015	0,03	0,101	0,022	0	0,007	0,137	0,091	0,408	0,154	0,089	0,089	0	

** Korelasyon 0.01 seviyesinde önemli

* Korelasyon 0.05 seviyesinde önemli

4.5. Enkapsüle Edilmiş Polifenollerin Morfolojik Özellikleri

Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen görüntüler incelendiğinde kaplayıcı madde konsantrasyonunun kapsüllerin dış morfolojilerini etkilediği görülmektedir. Kapsüllerin hiçbir tanesinde kırılma veya yarıma gözlenmedi. Ancak özellikle $0.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ konsantrasyonunda ufak çatlamların meydana geldiği tespit edildi. Kapsüllerde çatlama olayı, kapsül içerisinde hava kabarcıklarının kalması, genişlemesi ve sonunda da kuruyan partikül yüzeyini çatlatması şeklinde olmaktadır (Drusch ve Schwarz, 2006). Çatlamların oluşmaması kaplayıcı materyalin enkapsülasyon işleminin son aşaması olan kurutma aşamasında iyi bir viskoleastik özellik göstermesinden ileri gelmektedir (Jafari ve ark., 2007). Çatlamların olmaması, partikül yüzeyinden daha az geçirgenlik sağlayarak çekirdek materyalinin daha iyi korunmasını sağlamaktadır. Ancak enkapsüle edilmiş örnekler incelendiğinde yüzeyde çökmelerin olduğu görülmektedir. $0.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ konsantrasyonunda gam arabik ile kaplanan örneklerde $0.1 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ konsantrasyonunda kaplanan örneklerle göre daha fazla çökme ve çukur meydana geldiği görülmektedir. Vaidya ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada gam arabik ve maltodekstrin ile kapladıkları mikro yapıdaki kapsüllerin küre biçiminde olduğunu fakat yüzeylerinde çökmeler meydana geldiğini rapor etmiştir (Vaidya ve ark., 2006).

4.6. Fenolik Bileşik Ekstraksiyonunun Optimum Koşulları

Karayemiş meyvesinden polifenollerin ekstraksiyonunun optimum şartlarının belirlenmesi, Box Behnken Dizayn (BBD) tasarımı kullanılarak, farklı koşullarda 17 adet denemenin sonrasında yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucunda ortaya konmuştur. BBD tarafından optimum nokta olarak belirlenen farklı parametreler Ek1'de gösterilmiştir. Bu parametreler arasında toplam fenolik madde miktarı bakımından çok büyük farklılık olmayan ve işlem maliyetleri bakımından uygun olanı seçildi. Toplam 100 adet farklı parametre arasında uygulanabilirlikte göz önünde bulundurulduğunda 65°C sıcaklık, çözücü konsantrasyonu % 100 ve zaman olarakda 40 dakika uygun görüldü.

5. SONUÇ

Bu çalışma toplamda 4 aşamadan oluşmuştur. İlk aşamada karayemiş meyvelerinin karakterizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu karakterizasyon işleminde hammaddelere kurumadde, kül miktarı, su aktivitesi, briks, pH, renk, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, fenolik bileşik kompozisyonu, mineral madde, şeker profili analizleri yapıldı. İlgili analizler neticesinde karayemiş meyvesinin iyi bir potasyum (3422-7989 ppm) ve kalsiyum (488-1006 ppm) kaynağı olduğu anlaşıldı. Tüm meyve türleri analizi yapılan mineral meddeler bakımından oldukça zengin olduğu bulundu. Antioksidan aktivite bakımından özellikle 55 K 06 ve 61 K 05 türleri DPPH radikalini ciddi miktarda inhibe ettiği tespit edildi. Karayemiş meyvelerinin fenolik madde içeriği oldukça zengin olarak bulundu. Özellikle iyi bir Klorojenik asit, Prosiyanidin B₂, Epikateşin ve Kerasiyanin klorit kaynağı olarak dikkat çekmektedir. Son zamanlarda klorojenik asit insan sağlığına olumlu etkileri araştırılmaya başlanan bir bileşiktir.

Çalışmanın ikinci kısmında karayemiş polifenollerinin ekstraksiyonunun optimum şartlarda yapılması için çalışma yapıldı. Bu bağlamda yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyon çalışması gerçekleştirildi. Bağımsız değişkenler; ekstraksiyon sıcaklığı, çözücü konsantrasyonu ve ekstraksiyon zamanı olarak belirlendi. Yapılan 17 farklı deneysel çalışmada neticesinde optimum ekstraksiyon koşulu; 65°C ekstraksiyon sıcaklığı, 40 dakika ekstraksiyon zamanı ve %100 çözücü konsantrasyonu olarak belirlendi.

Karayemiş polifenollerinin ekstraksiyonundan sonra enkapsülasyon işlemi gerçekleştirildi. Enkapsülasyon işlemi 0.1 g.100g⁻¹ ve 0.3 g.100g⁻¹ gam arabik çözeltileri ile yapıldı. Enkapsülasyonu gerçekleştirilen polifenollerin yüzey morfolojilerini belirlemek amacıyla SEM görüntüleri alındı. Görüntüler incelendiğinde 0.1 g.100g⁻¹ konsantrasyonunda olan gam arabığın polifenollerini daha iyi muhafaza ettiği görülmektedir. Gam arabik konsantrasyonu belirli seviyenin üzerine çıktığında, enkapsüllerin kuruma esnasında çatladığından dolayı polifenol kayıplarının olduğu anlaşıldı. Düşük konsantrasyonlu gam arabik ile kaplı olan polifenollerin yüzeyinde herhangi bir çatlama veya çökme söz konusu olmamıştır.

Çalışmanın esas amacı olan son kısımda ise gıda sistemlerinin karayemiş polifenollerini ile zenginleştirme işlemi yapıldı. Bu kısımda polifenollerin gıda sistemlerine entegre edilerek son ürüne kadar stabil kalabilmesine yönelik çalışma yapıldı. İnsan sağlığı

için son derece faydalı olan bu bileşikler ısı karşısında son derece hassas bileşiklerdir. Enkapsülasyon işleminin esas amacı bu bileşiklerin ısıl stabilitesini arttırmaktır. Bu noktada örnek gıda sistemi olarak seçilen zenginleştirilmiş kek örneklerinde başarılı olundu. Örneğin Prosiyanidin B₂ değeri 55 K 06 meyve türünde 524±13 mg.kg⁻¹ taze meyve seviyesinde iken, düşük konsantrasyonlu gam arabik ile enkapsüle edilmiş olan 55 K 06 meyvesi polifenollerinde ise 246±0.63 mg.kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Aynı örnek türünde klorojenik asit miktarı ise 980.72±4.47 mg.kg⁻¹ olarak belirlendi.



6. ÖNERİLER

Ülkemizde gıda bileşenleri endüstrisinin gelişmişliği, tarımsal ve gıda işleme endüstrilerimize oranla daha kısıtlı kalmıştır. Dolayısıyla teknik ve biyolojik işlevsellik gösteren pek çok gıda bileşeni ülkemiz tarafından ithal edilmektedir. Yenilikçi bir yaklaşımla ve ülkemizde halihazırda fazlaca bulunan tarımsal ürünler kullanılarak üretilecek yeni gıda bileşenleri ve katkı maddelerinin üretimi, ekonomiye olumlu yansıyacaktır. Bu bağlamda karayemiş meyvesi, gıda bileşenleri anlamında ekonomik potansiyeline ulaşamamış meyvelerimizden birisidir. Önümüzdeki yıllarda bu bitkiden izole edilecek polifenolik bileşiklerin potansiyel anti-karsinogenik etkileri dolayısıyla daha farklı fonksiyonel gıda ürünlerinin üretiminde kullanılması mümkün görünmektedir.

Bu çalışma da enkapsülasyon işlemi laboratuvar şartlarında yüksek veriminden dolayı iyonik jelasyon ile yapıldı. Ancak ileriki zamanlarda karayemiş polifenollerinin başta püskürtmeli kurutucu ve dondurarak kurutucu olmak üzere farklı cihaz ve yöntemlerle enkapsülasyonunun yapılması düşünülebilir.

Karayemiş bitkisinin şuanda ülke ekonomimize herhangi bir katma değeri bulunmamaktadır. Ancak içerisinde başta klorojenik asit olmak üzere çok değerli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Özellikle yeşil kahvede fazla miktarda bulunduğu söylenen klorojenik asit bakımından karayemiş meyvesi de alternatif olarak düşünülmelidir.

7. KAYNAKLAR

- Akbulut, M., Macit, I., Ercisli, S., Koc, A.,** 2007. Evaluation of 28 cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) genotypes in the Black Sea region, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35:4; 463-465, DOI: 10.1080/01140670709510215
- Alasalvar, C., Al-Farsi, M., Shahidi, F.,** 2005. Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *Journal of Food Science*, 70(1); S47-S52. doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09064.
- Albuquerque, T. G., Costa, H. S., Sanches-Silva, A., Santos, M., Trichopoulou, A., D'Antuono, F., Finglas, P.,** 2013. Traditional foods from the Black Sea region as a potential source of minerals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(14); 3535-3544. doi: 10.1002/jsfa.6164
- Anwar, S. H., Kunz, B.,** 2011. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. *Journal of Food Engineering*, 105(2); 367-378.
- Apintanapong, M., Noomhorm, A.,** 2003. The use of spray drying to microencapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(2); 95-102.
- Augustin, M. A., Hemar, Y.,** 2009. Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(4); 902-912.
- Ayaz, F. A., Bertoft, E., Reunanen, M.,** 1996. Changes in the low molecular weight carbohydrate content of *Laurocerasus officinalis* roem. globigemmis during fruit development. *Bulg. J. Plant Physiol*, 22(3-4); 25-29
- Ayaz, F. A., Kadioglu, A., Reunanen, M., Var, M.,** 1997. Sugar composition in fruits of *Laurocerasus officinalis* roem. and its three cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(1); 82-86. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jfca.1997.0519>
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S.,** 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1); 191-203.
- Batu, A., Thompson, A. K., Ghafir, S. A., Abdel-Rahman, N. A.,** 1997. Minolta ve Hunter renk ölçüm aletleri ile domates, elma ve muzun renk değerlerinin karşılaştırılması. *Gıda Dergisi*, 22(4); 301-307.

- Baytop, T.**, 1999. *Türkiye’de bitkiler ile tedavi*. Ankara: Nobel Kitapevi.
- Beyhan, O.**, 2010. A study on selection of promising native Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus L.*) genotypes from Sakarya, Turkey. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(4); 231-233.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., Escaleira, L. A.**, 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5); 965-977.
- Bostan, S. Z.**, 2001. Pomological traits of 'Su'Cherry Laurel. *Journal of the American Pomological Society*, 55(4); 215.
- Boudet, A.-M.**, 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22); 2722-2735.
- Brown, S. D.**, 1995. Has the chemometrics revolution ended? Some views on the past, present and future of chemometrics. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 30(1); 49-58.
- Celep, E., Aydın, A., Yesilada, E.**, 2012. A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and chemical toxicology*, 50(9); 3329-3335.
- Cemeroğlu, B.**, 1992. Meyve ve sebze işleme endüstrisinde temel analiz metotları. *Biltav Yayınları, Ankara*, 338-351.
- Cemeroğlu, B.**, 2011. *Meyve ve sebze işleme teknolojisi*: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Chen, C., Yu, R., Owuor, E. D., Kong, A.-N. T.**, 2000. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Archives of Pharmacal Research*, 23(6); 605-612.
- Colak, A., Özen, A., Dincer, B., Güner, S., Ayaz, F. A.**, 2005. Diphenolases from two cultivars of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) fruits at an early stage of maturation. *Food Chemistry*, 90(4); 801-807. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.004>
- Crocker, D., Pritchett, D.**, 1978. Improved encapsulated citrus oils: modified matrix increases moisture resistance. *Food Technology*.
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., Ibrić, S.**, 2016. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194; 135-142. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>

- Çalışır, S., Aydın, C.,** 2004. Some physico-mechanic properties of cherry laurel (*Prunus lauracerasus* L.) fruits. *Journal of Food Engineering*, 65(1); 145-150. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.01.009>
- Desai, K. G. H., Jin Park, H.,** 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7); 1361-1394.
- Dewettinck, K., Huyghebaert, A.,** 1999. Fluidized bed coating in food technology. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4); 163-168.
- Drusch, S., Schwarz, K.,** 2006. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. *European Food Research and Technology*, 222(1-2); 155-164.
- Dulf, F. V., Vodnar, D. C., Socaciu, C.,** 2016. Effects of solid-state fermentation with two filamentous fungi on the total phenolic contents, flavonoids, antioxidant activities and lipid fractions of plum fruit (*Prunus domestica* L.) by-products. *Food Chemistry*, 209; 27-36. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.016>
- Dursun, S., Erkan, N.,** 2009. Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. *Journal of Fisheries Sciences. com*, 3(4); 352-373.
- Einax, J. W., Zwanziger, H. W., Geiss, S.,** 1997. *Chemometrics in environmental analysis*: John Wiley & Sons.
- Escarpa, A., Gonzalez, M.,** 2001. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(2); 57-139.
- F. Gibbs, S. K., Inteaz Alli, Catherine N. Mulligan, Bernard.,** 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3); 213-224.
- Fang, Z., Bhandari, B.,** 2010. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10); 510-523. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.08.003>
- Fontana, A.,** 2000. Water activity's role in food safety and quality. Paper presented at the 2nd NSF International Conference on Food Safety. Savannah, GA.
- Frankel, E. N., Bosanek, C. A., Meyer, A. S., Silliman, K., Kirk, L. L.,** 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3); 834-838.
- Garg, U. K., Kaur, M. P., Garg, V. K., Sud, D.,** 2008. Removal of Nickel(II) from aqueous solution by adsorption on agricultural waste biomass using a response

surface methodological approach. *Bioresource Technology*, 99(5); 1325-1331. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.011>

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9); 1107-1121.

Gonçalves, A., Estevinho, B. N., Rocha, F., 2016. Microencapsulation of vitamin A: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 51; 76-87. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>

Gouin, S., 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7); 330-347.

Guignon, B., Duquenoy, A., Dumoulin, E. D., 2002. Fluid bed encapsulation of particles: principles and practice. *Drying Technology*, 20(2); 419-447.

Halilova, H., Ercisli, S., 2010. Several Physico-Chemical Characteristics of Cherry Laurel (*Laurocerasos Officinalis* Roem.) Fruits. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(3); 1970-1973. doi: 10.2478/V10133-010-0059-6

I Ré, M., 1998. Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6); 1195-1236.

İslam, A., 2002. 'Kiraz' cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 30:4; 301-302, DOI: 10.1080/01140671.2002.9514227

İslam, A., Deligöz, H., 2012. Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu. *Akademik Ziraat Dergisi*, 1(1); 37-44.

İslam, A., Vardal, E., 2006. Pomological characteristics of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) Grown in Rize. Paper presented at the I International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits 818.

Jafari, S. M., He, Y., Bhandari, B., 2007. Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technology*, 25(6); 1069-1079.

Janick, J., Moore, J. N., 1996. *Fruit breeding. Tree and tropical fruit* (Vol. 1).

Karabegović, I. T., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L., 2013. Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. *Separation and Purification Technology*, 120; 429-436. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2013.10.021>

- Karabegović, I. T., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Todorović, Z. B., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L.,** 2014. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*, 54; 142-148. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.047>
- Karahalil, F. Y., Şahin, H.,** 2011. Phenolic composition and antioxidant capacity of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) sampled from Trabzon region, Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10(72); 16293-16299.
- Kaya, A., Aydın, O.,** 2008. Experimental investigation of drying kinetics of cherry laurel. *Journal of Food Process Engineering*, 31(3); 398-412. doi: 10.1111/j.1745-4530.2007.00159.
- Kim, Y. D., Morr, C. V.,** 1996. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray-dried orange oil emulsion particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(5); 1314-1320.
- Kolayli, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F., Dinçer, B.,** 2003. Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry Laurel) fruit grown in the Black Sea Region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25); 7489-7494. doi: 10.1021/jf0344486
- Krishnan, S., Kshirsagar, A. C., Singhal, R. S.,** 2005. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydrate polymers*, 62(4); 309-315.
- Liu, S., Ge, X., Xu, F., Li, Y.,** 2016. Effect of total solids content on giant reed ensilage and subsequent anaerobic digestion. *Process Biochemistry*, 51(1); 73-79. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.11.011>
- Liyana-Pathirana, C. M., Shahidi, F., Alasalvar, C.,** 2006. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, 99(1); 121-128. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.046>
- Macit, İ.,** 2008. Karadeniz bölgesi karayemiş seleksiyonu (*Prunus laurocerasus* L.) II. aşama. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 47s.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S.,** 2006. Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1); 1-21.
- Majchrzak, D., Mitter, S., Elmadfa, I.,** 2004. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. *Food Chemistry*, 88(3); 447-451.

- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L.,** 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5); 727-747.
- Mayer, A.-M.,** 1997. Historical changes in the mineral content of fruits and vegetables. *British Food Journal*, 99(6); 207-211.
- McClements, D. J.,** 2012. 1 - Requirements for food ingredient and nutraceutical delivery systems *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals* (pp. 3-18): Woodhead Publishing.
- McClements, D. J., Li, Y.,** 2010. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in Colloid and Interface Science*, 159(2); 213-228.
- McNamee, B. F., O'Riorda, E. D., O'Sullivan, M.,** 2001. Effect of partial replacement of gum arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7); 3385-3388.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C. A.,** 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60(3); 331-337.
- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S., Matsuno, R.,** 2002. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation*, 19(2); 181-189.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M.,** 2016. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*: John Wiley & Sons.
- Nacz, M., Shahidi, F.,** 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5); 1523-1542.
- Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V., Charalampopoulos, D.,** 2012. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. *Carbohydrate polymers*, 90(3); 1281-1287.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C., Buijsman, M. N., van Amelsvoort, J. M., Katan, M. B.,** 2003. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *The Journal of Nutrition*, 133(6); 1806-1814.

- Orhan, I. E., Akkol, E. K.,** 2011. Estimation of neuroprotective effects of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) by in vitro methods. *Food Research International*, 44(3); 818-822. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.037>
- Özbey, A.,** 2008. Karayemiş meyvesinin fenolik kompozisyonunun belirlenmesi ve meyve suyu üretiminin optimizasyonu. *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 115s.
- Pedrielli, P., Skibsted, L. H.,** 2002. Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin,(-)-epicatechin, and (+)-catechin on α -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24); 7138-7144.
- Roberfroid, M. B.,** 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition*, 16(7); 689-691.
- Roberts, W. G., Gordon, M. H.,** 2003. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5); 1486-1493.
- Ross, K., Beta, T., Arntfield, S.,** 2009. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, 113(1); 336-344.
- Sandalli, C.,** 2002. Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem.) bitkisinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markırları ile karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 46s.
- Scalbert, A., Williamson, G.,** 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8); 2073S-2085S.
- Serfert, Y., Drusch, S., Schwarz, K.,** 2010. Sensory odour profiling and lipid oxidation status of fish oil and microencapsulated fish oil. *Food Chemistry*, 123(4); 968-975.
- Shahidi, F., Naczk, M.,** 2003. Phenolics in food and nutraceuticals: CRC press.
- Sheu, S., Chen, A.,** 1991. Lipoxygenase as blanching index for frozen vegetable soybeans. *Journal of Food Science*, 56(2); 448-451.
- Sparks, R. E., Mason, N. S.,** 1987. Method for coating particles or liquid droplets: Patent US4675140 dated 23.6.1987.
- Teunou, E., Poncelet, D.,** 2002. Batch and continuous fluid bed coating–review and state of the art. *Journal of Food Engineering*, 53(4); 325-340.

- Teunou, E., Poncelet, D.,** 2005. Rotary disc atomisation for microencapsulation applications—prediction of the particle trajectories. *Journal of Food Engineering*, 71(4); 345-353. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.048>
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M., Dumoulin, E.,** 2005. Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1); 29-35.
- Ustun, N. S., Tosun, I.,** 2003. A research on composition of wild cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem). *Journal of Food Technology*, 1(2); 80-82.
- Uyanık, A.,** 2012. Analitik kimyacılar için istatistik ve kemometri. Ankara: Pegem Akademi.
- Üren, A.,** 1999. Üç boyutlu renk ölçme yöntemleri. *Gıda Dergisi*, 24(3); 193-200.
- Vaidya, S., Bhosale, R., Singhal, R. S.,** 2006. Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray drying using different wall materials. *Drying Technology*, 24(8); 983-992.
- Var, M., Ayaz, F. A.,** 2004. Changes in sugar composition in cherry laurel (cv oxygemmis) fruit during development and ripening. *Pakistan Journal of Botany*, 36(2); 389-394.
- Vidhyalakshmi, R., Bhakayaraj, R., Subhasree, R.,** 2009. Encapsulation “The future of probiotics”-A review. *Adv Biol Res*, 3(3-4); 96-103.
- Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E.,** 2010. Materials for encapsulation *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 31-100): Springer.
- Williams, D., Lim, M., Chen, A., Pangborn, R., Whitaker, J.,** 1986. Blanching of vegetables for freezing: which indicator enzyme to choose. *Food technology (USA)*.
- Yilmaz, C., Aslani, M.,** 2012. Overview of the Usage of Chemometric Methods for Remediation Techniques of Radionuclides *Technological Innovations in Sensing and Detection of Chemical, Biological, Radiological, Nuclear Threats and Ecological Terrorism* (pp. 367-371): Springer.
- Yilmaz, Y., Toledo, R. T.,** 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(1); 41-48.
- Young, S. L., Sarda, X., Rosenberg, M.,** 1993. Microencapsulating properties of whey proteins. 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. *Journal of Dairy Science*, 76(10); 2868-2877. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77625-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77625-0)

Zeković, Z., Kaplan, M., Pavlić, B., Olgun, E. O., Vladić, J., Canli, O., Vidović, S., 2016. Chemical characterization of polyphenols and volatile fraction of coriander (*Coriandrum sativum L.*) extracts obtained by subcritical water extraction. *Industrial Crops and Products*, 87; 54-63. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.024>

Zuidam, N. J., Shimoni, E., 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 3-29): Springer.



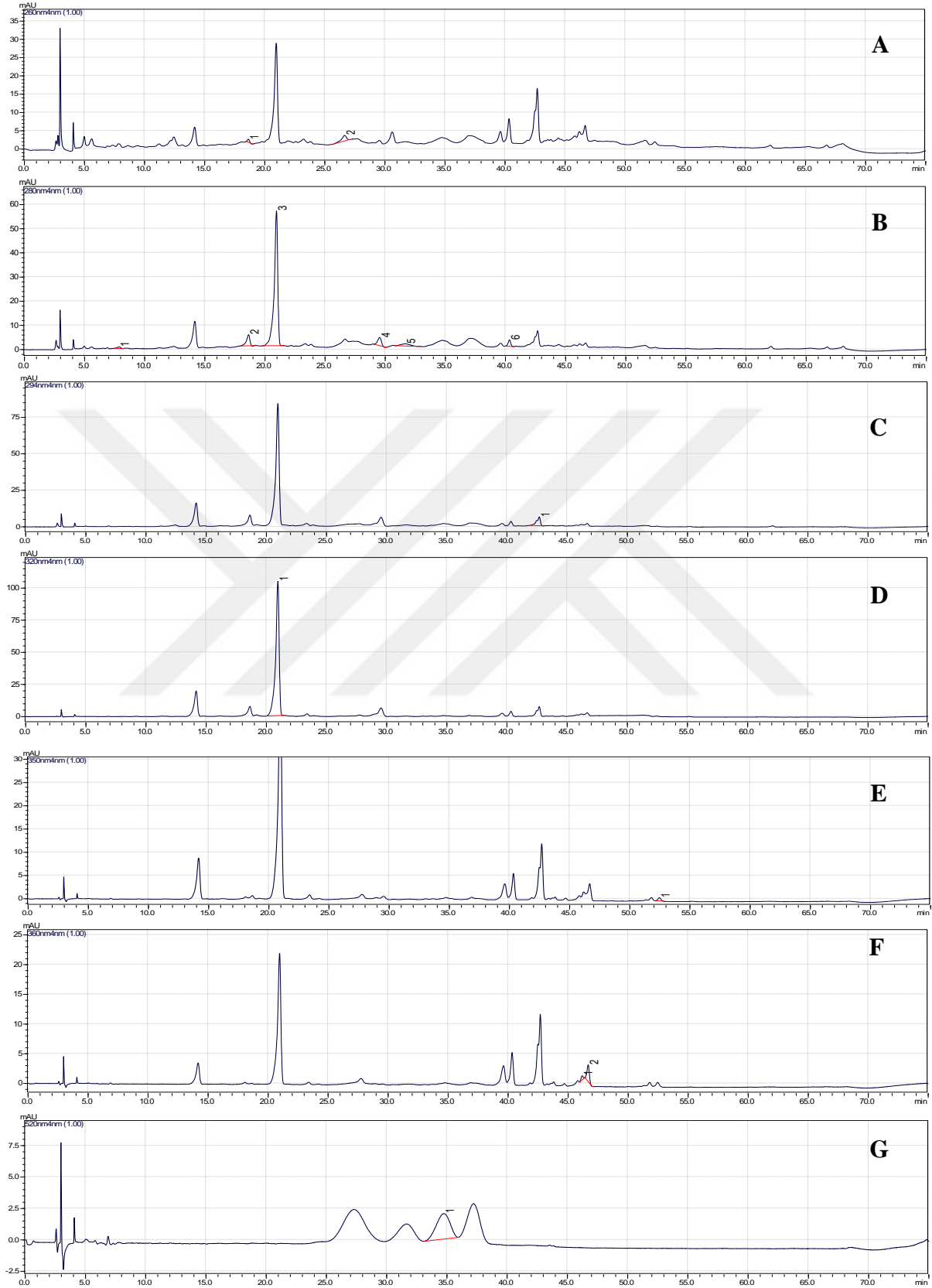
8. EKLER

Ek1. Karayemiş polifenollerinin ekstraksiyon işleminin optimum noktaları

Sıra	Sıcaklık	Konsantrasyon	Zaman	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE.kg ⁻¹)
1	64.195	73.668	33.136	3566.247
2	64.998	92.343	57.709	3643.504
3	63.652	51.414	20.852	3708.928
4	65	100	40	4010.211
5	65	75	20	3825.51
6	65	50	40	3519.226
7	64.868	93.322	37.895	3552.281
8	65	75	60	3720.182
9	64.931	63.164	55.78	3766.318
10	64.235	57.369	56.944	3539.389
11	64.772	54.165	36.136	3938.891
12	64.824	87.809	53.264	3617.95
13	64.206	65.957	53.491	3537.996
14	64.978	77.142	25.312	3787.926
15	64.784	60.837	24.772	3948.363
16	64.356	77.556	37.22	3569.96
17	64.944	87.183	23.087	3610.151
18	64.97	94.375	31.109	3541.097
19	64.8	66.749	45.883	3781.349
20	64.408	80.914	30.945	3545.669
21	64.414	51.619	58.026	3590.99
22	64.737	77.241	56.193	3644.509
23	64.82	66.746	58.097	3698.834
24	64.91	69.181	27.243	3874.683
25	64.767	55.854	46.67	3827.415
26	63.757	51.716	41.56	3568.925
27	64.643	87.342	44.506	3561.28
28	64.074	75.377	20.169	3504.114
29	64.721	51.041	41.18	3894.964
30	64.331	74.438	41.701	3584.243
31	64.545	68.826	38.591	3717.401
32	63.971	53.198	37.228	3669.029
33	64.09	65.571	40.21	3588.719
34	63.627	58.854	36.295	3520.012
35	63.954	57.101	44.031	3577.548
36	64.41	81.881	32.714	3535.571
37	64.498	83.131	26.626	3536.062
38	64.912	89.343	41.246	3625.112
39	64.393	68.439	53.1	3590.472
40	63.62	52.67	22.284	3673.84
41	64.021	56.227	34.287	3684.4
42	64.44	81.919	25.716	3532.978
43	64.801	87.623	38.235	3602.221
44	63.971	51.67	31.143	3734.454
45	64.38	69.848	52.031	3586.26
46	64.905	66.617	34.002	3880.905
47	64.554	54.283	31.67	3900.263
48	64.8	67.255	43.75	3790.481
49	63.545	52.435	23.816	3642.3
50	64.353	81.921	48.812	3513.113
51	64.274	71.006	54.574	3531.175
52	64.08	70.486	42.84	3532.578
53	65	50.244	57.756	3790.236
54	64.549	65.316	48.427	3689.633
55	63.905	58.441	28.476	3661.818
56	64.342	77.568	34.277	3567.41

57	64.997	74.959	45.45	3789.248
58	64.34	79.452	53.837	3513.37
59	63.552	50.01	25.451	3660.467
60	64.649	84.776	25.416	3557.826
61	64.559	56.405	40.61	3810.435
62	64.778	82.851	48.047	3645.682
63	64.71	95.968	58.408	3526.849
64	63.839	64.146	24.346	3588.646
65	64.541	57.495	52.411	3687.051
66	64.21	60.56	44.192	3637.851
67	64.92	79.441	21.872	3727.236
68	64.846	72.106	55.589	3706.913
69	64.638	77.984	22.641	3655.13
70	64.657	80.138	54.492	3609.994
71	64.11	61.305	26.72	3705.018
72	64.915	86.574	33.978	3645.024
73	64.427	74.627	53.758	3567.767
74	64.618	83.305	26.832	3574.074
75	64.996	70.798	27.923	3881.616
76	64.834	72.076	38.636	3783.262
77	64.899	87.153	38.384	3641.155
78	64.587	88.39	33.794	3510.098
79	64.909	77.491	38.125	3754.309
80	64.482	83.135	37.752	3548.492
81	64.894	50.045	58.289	3747.284
82	63.193	50.993	28.883	3509.058
83	64.517	74.381	41.585	3646.056
84	63.747	58.301	38.477	3547.554
85	63.735	55.563	39.163	3558.963
86	64.83	74.494	58.534	3674.254
87	64.756	90.582	41.65	3559.786
88	64.27	70.001	40.686	3607.102
89	64.453	60.22	38.399	3763.382
90	64.778	71.206	27.119	3802.325
91	64.235	65.739	40.666	3632.028
92	64.204	53.534	21.944	3858.555
93	64.459	73.647	42.442	3630.869
94	64.59	83.759	20.409	3537.134
95	64.139	72.681	36.858	3551.313
96	64.549	74.611	51.332	3619.081
97	64.022	73.828	29.868	3511.682
98	64.964	87.468	26.443	3625.89
99	64.104	67.612	28.724	3618.768
100	63.575	58.488	33.257	3526.523

Ek2. HPLC-DAD sonuçlarına ait kromatogramlar



A: 260 nm; B: 280 nm; C: 294 nm; D: 320 nm; E: 350 nm; F: 360 nm ve G: 520 nm' lerdeki kromatogramlara aittir.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Çankırı'da doğdu. İlköğretim ve lise tahsilini Çankırı'da tamamladı. 2009 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 2011 yılında Tunceli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2012 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını tamamlayarak aynı yıl Tunceli Üniversitesi-Atatürk Üniversitesi ortak doktora programında doktora eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.

