

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YEŞİL ÇAY (*Camellia sinensis*) EKSTRAKTLARININ  
FARKLI TEKNİKLERLE ENKAPSÜLASYONU**

**DOKTORA TEZİ**

**Sevinç TAY**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN**

**OCAK 2022**

T.C  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEŞİL ÇAY (*Camellia sinensis*) EKSTRAKTLARININ  
FARKLI TEKNİKLERLE ENKAPSÜLASYONU

DOKTORA TEZİ

Sevinç TAY  
(23613200322)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

OCAK 2022

## TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında yardım, öneri, bilgi, tecrübe ve destekleri ile beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN'e, tez sürecimde çıkmaz noktalarımda her daim bilgi, tecrübe ve manevi desteklerini esirgemedi her zaman yol gösterici olan Sayın Prof. Dr. İhsan KARABULUT'a, maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan Sayın Doç Dr. Sibel ULUATA'ya, manevi desteklerinden dolayı Sayın Prof. Dr. Gökhan DURMAZ hocama, Sayın Prof. Dr. A. Adnan HAYALOĞLU'na ve şu ana kadar hayatıma dokunmuş ve yön vermiş tüm kıymetli hocalarıma, maddi ve manevi yardımlarıyla her zaman yanımda olan dostum Dr. Öğr. Üyesi Hacer GÜRKAN'a, Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu çalışmalarım süresince de benden her türlü desteklerini esirgemeyen canım annem ve babama, zorlu süreçlerimde varlıkları ve neşeleriyle bana motivasyon olan yeğenlerim İbrahim Noah ve Zübeyr Musa'ya, canım ablam Serap TAY STAMOULAS'a, canım kardeşlerim Ebubekir ve Muhammed'e, manevi desteklerinden ötürü eniştem Stamatios STAMOULAS'a,

Tezin uygulama aşamasında FDK-2018-1236 nolu proje ile vermiş oldukları maddi ve manevi destekten dolayı, İnönü Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

## ONUR SÖZÜ

Doktora veya yüksek lisans tezi olarak sunduğum “**Yeşil Çay (*Camellia sinensis*) Ekstraktlarının Farklı Tekniklerle Enkapsülasyonu**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığıın bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Sevinç TAY



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ .....	i
ONUR SÖZÜ .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR .....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT .....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER .....</b>	<b>6</b>
2.1 Çay ve Yeşil Çay .....	6
2.2 Yeşil Çayın Bileşimi.....	6
2.3 Polifenoller .....	7
2.3.1 Yeşil çay polifenollerini .....	10
2.4 Yeşil Çay Kateşinlerinin Metabolizması .....	13
2.5 Yeşil Çay Polifenollerini ve Sağlık İlişkisi.....	15
2.6 Yeşil Çay Polifenollerini ve Antioksidan Özellikleri .....	16
2.7 Yeşil Çay Polifenollerinin Biyoyararlılıkları.....	18
2.8 Enkapsülasyon .....	20
2.8.1 Enkapsülasyonda kullanılan duvar materyalleri.....	22
2.9 Enkapsülasyon Yöntemleri .....	24
2.9.1 Püskürtmeli kurutma .....	26
2.9.1.1 Püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyonun avantaj ve dezavantajları.....	30
2.10 Katı Lipit Nanopartikül (SLN) .....	30
2.10.1 Katı lipit nanopartikül üretim yöntemleri.....	35
2.10.1.1 Yüksek basınçlı homojenizasyon .....	36
2.10.1.2 Melt dispersiyon .....	38
2.11 Ekstrüzyon .....	38
2.12 Literatürde Yapılmış Çalışmalar.....	44
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>50</b>
3.1 Materyal .....	50
3.1.1 Yeşil çay .....	50
3.1.2 Kaplama materyalleri .....	50
3.1.3 Sürfaktanlar .....	50
3.1.4 Kalsiyum Klorür (CaCl <sub>2</sub> ).....	50
3.2 Yeşil Çayın Ekstraksiyonu .....	50
3.3 Yeşil Çay Ekstraktlarının Farklı Tekniklerle Enkapsülasyonu.....	51
3.3.1 Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu... 51	
3.3.2 Elektrostatik ekstrüzyon ile mikrokapsül üretimi.....	52
3.3.3 Melt dispersiyon tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu .....	54
3.4 Analizler .....	55
3.4.1 Toplam fenolik madde tayini.....	55
3.4.2 Çözünürlük .....	56
3.4.3 Yığın yoğunluğu .....	56
3.4.4 Nem tayini .....	56
3.4.5 Enkapsülasyon verimi ve enkapsülasyon etkinliği.....	57
3.4.6 Su aktivitesi tayini .....	58
3.4.7 Renk analizi .....	58

3.4.8 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM).....	58
3.4.9 Partikül boyut dağılımı .....	59
3.4.10 Termogravimetrik analiz .....	59
3.4.11 Antioksidan aktivite.....	60
3.4.12 Statik <i>in vitro</i> sindirim.....	61
3.4.13 İstatiksel analiz .....	62
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>64</b>
4.1 Püskürtmeli Kurutma Tekniği ile Elde Edilen Mikrokapsüllere Ait Bulgular .64	
4.1.1 Çözünürlük .....	64
4.1.1.1 Çözünürlüğe ait varyans analizi sonuçları.....	66
4.1.2 Yığın yoğunluğu .....	67
4.1.2.1 Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları .....	70
4.1.3 Nem içerikleri .....	71
4.1.3.1 Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları .....	74
4.1.4 Enkapsülasyon verimi .....	75
4.1.4.1 Enkapsülasyon verimine ait varyans analizi sonuçları .....	80
4.1.5 Su aktivitesi .....	80
4.1.5.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları .....	84
4.1.6 Renk analizi .....	84
4.1.6.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları.....	88
4.1.7 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM).....	89
4.1.8 Partikül boyut dağılımı .....	95
4.1.9 Termogravimetrik analiz (TGA) .....	102
4.1.10 Antioksidan aktivite.....	109
4.1.10.1 Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonucu .....	114
4.1.11 <i>In vitro</i> sindirim.....	114
4.1.11.1 <i>In vitro</i> sindirime ait varyans analizi sonuçları .....	117
4.2 Elektrostatik Ekstrüzyon Tekniği ile Yeşil Çay Ekstraktının Enkapsülasyonuna Ait Bulgular .....	118
4.2.1 Nem içerikleri .....	118
4.2.1.1 Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları .....	120
4.2.2 Enkapsülasyon etkinliği.....	120
4.2.2.1 Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları .....	123
4.2.3 Su aktivitesi .....	124
4.2.3.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.....	126
4.2.4 Renk analizi .....	126
4.2.4.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları.....	128
4.2.5 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM).....	129
4.2.6 Partikül boyut dağılımı .....	131
4.2.7 Termogravimetrik analiz (TGA) .....	136
4.2.8 Antioksidan aktivite.....	142
4.2.8.1 Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonuçları .....	144
4.2.9 <i>In vitro</i> sindirim.....	144
4.2.9.1 <i>In vitro</i> sindirime ait varyans analizi sonuçları .....	147
4.3 Melt Dispersiyon Tekniği ile Yeşil Çay Ekstraktının Enkapsülasyonuna Ait Bulgular .....	147
4.3.1 Yığın yoğunluğu .....	148
4.3.1.1 Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları .....	149
4.3.2 Nem içerikleri .....	150
4.3.2.1 Nem içeriğine ait varyans analizi sonuçları.....	151

4.3.3 Enkapsülasyon etkinliği.....	151
4.3.3.1 Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları .....	154
4.3.4 Su aktivitesi .....	155
4.3.4.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.....	156
4.3.5 Renk analizi .....	157
4.3.5.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları.....	159
4.3.6 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM).....	160
4.3.7 Partikül boyut dağılımı .....	164
4.3.8 Termogravimetrik analiz (TGA) .....	169
4.3.9 <i>In vitro</i> sindirim.....	177
4.3.9.1 <i>In vitro</i> sindirime ait varyasyon analizi sonuçları .....	178
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>179</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>186</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>209</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>210</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 : Yeşil çay, siyah çay ve infüzyonlarının kimyasal bileşimi (%).....	7
Çizelge 2.2 : Polifenollerin yapıları ve sınıfları .....	8
Çizelge 2.3 : Başlıca polifenoller, kaynakları ve özellikleri.....	9
Çizelge 2.4 : Kateşin flavanol yapıları .....	12
Çizelge 2.5 : Çay polifenollerinin diğer antioksidanlara göre redüksiyon potansiyelleri ve antioksidan aktiviteleri. ....	17
Çizelge 2.6 : Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyonda kullanılan duvar maddeleri .....	22
Çizelge 2.7 : Enkapsülasyon metoduna göre kapsüllerin özellikleri. ....	24
Çizelge 2.8 : Farklı enkapsülasyon tekniklerinin gıda endüstrisinde kullanımı. ....	25
Çizelge 2.9 : SLN hazırlarken yaygın olarak kullanılan lipitler .....	30
Çizelge 2.10 : Katı lipit nanopartikül ve mikropartikül üretim teknikleri .....	34
Çizelge 3.1 : Püskürtmeli kurutucuya ait proses şartları.....	52
Çizelge 3.2 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyona ait deneme planı.....	52
Çizelge 3.3 : Elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyonda uygulanan proses koşulları .....	53
Çizelge 3.4 : Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyona ait üretim planı.....	54
Çizelge 3.5 : Melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyona ait üretim planı.....	54
Çizelge 3.6 : Simüle sindirim sıvılarının kompozisyonları.....	61
Çizelge 4.1 : Çözünübilirliğe ait varyans analizi sonuçları.....	67
Çizelge 4.2 : Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları.....	71
Çizelge 4.3 : Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları.....	74
Çizelge 4.4 : Mikrokapsüllerin enkapsülasyon verimleri .....	75
Çizelge 4.5 : Enkapsülasyon verimine ait varyans analizi sonuçları .....	80
Çizelge 4.6 : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.....	84
Çizelge 4.7 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin renk değerleri.....	84
Çizelge 4.8 : Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları .....	89
Çizelge 4.9 : Püskürtmeli kurutma ile elde edilen kapsüllerin partikül boyutları.....	96
Çizelge 4.10 : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.....	103
Çizelge 4.11 : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.....	106
Çizelge 4.12 : Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonuçları .....	114
Çizelge 4.13 : <i>In vitro</i> sindirime ait varyasyon analizi sonuçları.....	117
Çizelge 4.14 : Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları.....	120
Çizelge 4.15 : Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları .....	124
Çizelge 4.16 : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları .....	126
Çizelge 4.17 : Hidrojel mikroboncuklara ait renk değerleri .....	127
Çizelge 4.18 : Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları. ....	128
Çizelge 4.19 : Elektrostik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen hidrojel mikroboncukların partikül boyutları .....	132
Çizelge 4.20 : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.....	136
Çizelge 4.21 : Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonucu.....	144
Çizelge 4.22 : <i>In vitro</i> sindirime ait varyans analizi sonucu .....	147
Çizelge 4.23 : Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları.....	150
Çizelge 4.24 : Melt dispersiyon ile elde edilen partiküllerin nem içerikleri.....	150

<b>Çizelge 4.25</b> : Nem içeriğine ait varyans analizi sonuçları.....	<b>151</b>
<b>Çizelge 4.26</b> : Karnaba vaks ve balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerin enkapsülasyon etkinlikleri.....	<b>151</b>
<b>Çizelge 4.27</b> : Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları. ....	<b>154</b>
<b>Çizelge 4.28</b> : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları .....	<b>157</b>
<b>Çizelge 4.29</b> : Melt dispersiyon ile elde edilen mikropartiküllerin renk değerleri ..	<b>157</b>
<b>Çizelge 4.30</b> : Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları .....	<b>159</b>
<b>Çizelge 4.31</b> : SLN-melt dispesiyon tekniğiyle elde edilen kapsüllerin partikül boyutları .....	<b>165</b>
<b>Çizelge 4.32</b> : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.....	<b>169</b>
<b>Çizelge 4.33</b> : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.....	<b>173</b>
<b>Çizelge 4.34</b> : <i>In vitro</i> sindirime ait varyans analizi sonuçları.....	<b>178</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 : Yeşil ve siyah çaydaki toplam flavonoid içerikleri .....	11
Şekil 2.2 : Kateşin flavanol yapıları .....	12
Şekil 2.3 : Yeşil çayda bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları .....	13
Şekil 2.4 : Polifenollerin sindirimden sonrası rotasının basit taslağı .....	14
Şekil 2.5 : Sindirim esnasında epigallokateşinin (EGCG) muhtemel degradasyonu ve metabolit ürünleri. ....	15
Şekil 2.6 : Püskürtmeli kurutma prosesi .....	26
Şekil 2.7 : Mikrokapsül yapıların iki farklı şekli .....	28
Şekil 2.8 : Püskürtmeli kurutmada enkapsülasyon etkinliği üzerinde etkili olan parametreler.....	29
Şekil 2.9 : Kaplama materyali olarak vaks kullanımında labirent etkisinin şematik gösterimi.....	32
Şekil 2.10 : SLN'lerin yapısal görünümü .....	32
Şekil 2.11 : SLN üretmek için kullanılan sıcak ve soğuk homojenizasyon tekniklerinin uygulama aşamaları.....	37
Şekil 2.12 : Çoklu emülsiyon öncülü ile katı lipit partikül eldesi.....	38
Şekil 2.13 : Mikroküre oluşturmada farklı tekniklerin kullanıldığı ekstrüzyon yöntemleri a. Aljinat ve çekirdek materyalinin oluşturduğu sıvı çözeltinin jet-cutter aracılığı ile atomize edilmesi b. Pipet veya titreşimli nozul ile atomize edilmesi c. disk ile atomize edilmesi d. Eşmerkezli hava akışı ile atomize edilmesi e. Elektrostatik potansiyel ile atomize edilmesi.....	40
Şekil 2.14 : Aljinatın kimyasal yapısı .....	40
Şekil 2.15 : Kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncukların oluş mekanizması .....	41
Şekil 2.16 : Elektrostatik ekstrüzyon prosesi .....	42
Şekil 2.17 : Elektrostatik ekstrüzyon prosesinin şematik diyagramı .....	43
Şekil 3.1 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu ..	51
Şekil 3.2 : Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile mikroboncuk eldesi.....	53
Şekil 3.3 : Melt dispersiyon tekniği ile katı lipit mikropartikül üretimi .....	55
Şekil 3.4 : CIE $L^* a^* b^*$ renk sistemi. ....	58
Şekil 3.5 : Malvern Mastersizer 2000 .....	59
Şekil 3.6 : DTA-TG Cihazı. ....	60
Şekil 3.7 : Tez çalışmasının grafiksel özeti.....	63
Şekil 4.1 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin suda çözünübilirlikleri .....	64
Şekil 4.2 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin yığın yoğunlukları .....	67
Şekil 4.3 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin nem içerikleri.....	71
Şekil 4.4 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin $a_w$ değerleri .....	81
Şekil 4.5 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%20 maltodekstrin ile 120 °C ve 140 °C'de elde edilen mikrokapsüller); A:40.00 KX, B:20.00 KX.....	90
Şekil 4.6 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%40maltodekstrin ile 120 °C ve 140 °C'de elde edilen mikrokapsüller); A:40.00 KX, B:20.00 KX.....	90
Şekil 4.7 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%20 nişasta ile 120 °C ve 140 °C'de elde edilen mikropartiküller); A:20.00 KX, B: 1.00KX.....	93
Şekil 4.8 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%40 nişasta ile 120 °C ve 140 °C'de elde edilen mikrokapsüller); A:20.00 KX, B: 1.00 KX.....	94

Şekil 4.9 : Maltodekstrin ile elde edilen partiküllerin partikül boyut dağılım grafikleri .....	99
Şekil 4.10 : Nişasta ile elde edilen partiküllerin partikül boyut dağılım grafikleri ..	100
Şekil 4.11 : Maltodekstrine ait TGA eğrisi .....	103
Şekil 4.12 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	104
Şekil 4.13 : Mikroenkapsüle yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	104
Şekil 4.14 : Nişastaya ait TGA eğrisi.....	107
Şekil 4.15 : Mikroenkapsüle yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	107
Şekil 4.16 : Mikropartiküllerin antioksidan aktiviteleri.....	110
Şekil 4.17 : <i>In vitro</i> sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%) .....	115
Şekil 4.18 : Hidrojel mikroboncukların nem yüzdesi .....	118
Şekil 4.19 : Hidrojel mikroboncukların enkapsülasyon etkinlikleri .....	120
Şekil 4.20 : Hidrojel mikroboncuklara ait su aktivitesi değerleri .....	124
Şekil 4.21 : Hidrojel mikroboncukların optik mikroskop ve SEM görüntüleri; A, B, C, D: Optik mikroskop görüntüleri; A', B', C', D'-A", B", C", D": SEM görüntüleri .....	129
Şekil 4.22 : Hidrojel mikroboncuklara ait partikül boyut dağılım grafikleri .....	135
Şekil 4.23 : Sodyum aljinata ait TGA eğrisi .....	137
Şekil 4.24 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	137
Şekil 4.25 : Hidrojel mikroboncuya ait TGA eğrisi.....	138
Şekil 4.26 : Enkapsüle mikroboncukların antioksidan aktiviteleri .....	142
Şekil 4.27 : <i>In vitro</i> sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%) .....	144
Şekil 4.28 : Karnauba vaks mikropartiküllerin yığın yoğunlukları .....	148
Şekil 4.29 : SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen partiküllerin $a_w$ değerleri.....	155
Şekil 4.30 : Karnauba vaks ile elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri .....	161
Şekil 4.31 : Balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri .....	162
Şekil 4.32 : Karnauba vaks kullanılarak elde edilen SLM'lerin partikül boyut dağılım grafikleri .....	168
Şekil 4.33 : Karnauba vaksına ait TGA eğrisi.....	170
Şekil 4.34 : CW4 kodlu örneğe ait TGA eğrisi.....	170
Şekil 4.35 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	171
Şekil 4.36 : Balmumuna ait TGA eğrisi.....	173
Şekil 4.37 : BW4 kodlu örneğe ait TGA eğrisi.....	174
Şekil 4.38 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.....	174
Şekil 4.39 : <i>In vitro</i> sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%). .....	177
Şekil A.1 : Toplam fenolik madde tayininde gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi .....	209
Şekil A.2 : Elektrostatik ekstrüzyon tekniğinde toplam fenolik tayininde gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi .....	209
Şekil A.3 : Troloks standardı ile elde edilen kalibrasyon eğrisi .....	209

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

<b>PIT</b>	: Faz İncersiyon Sıcaklığı
<b>SLN</b>	: Katı Lipit Nanopartikül
<b>SLM</b>	: Katı Lipit Mikropartikül
<b>GAE</b>	: Gallik Asit Eşdeğeri
<b>TPC</b>	: Toplam Fenolik İçeriği
<b>WSI</b>	: Suda Çözünebilirlik İndeksi
<b>EE</b>	: Enkapsülasyon Etkinliği
<b>m<sub>b</sub></b>	: Mikroboncuklardaki Fenolik Madde İçeriği
<b>m<sub>s</sub></b>	: Başlangıçtaki Toplam Fenolik İçeriği
<b>EC</b>	: Enkapsüle Partiküllerdeki Toplam Fenolik İçeriği
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskopisi
<b>MD</b>	: Maltodekstrin
<b>NŞ</b>	: Nişasta
<b>SP</b>	: Soya Proteinini
<b>GA</b>	: Arap zımkı
<b>CSP</b>	: Kakao Kabuk Pektini
<b>TGA</b>	: Termogravimetrik Analiz
<b>a<sub>w</sub></b>	: Su Aktivitesi
<b>WPI</b>	: Serum Protein İzolatı
<b>PPI</b>	: Bezelye Protein izolatu
<b>WPC</b>	: Peyniraltı Suyu Protein Konsantresi
<b>EC</b>	: Epikateşin
<b>ECG</b>	: Epikateşingallat
<b>EGC</b>	: Epigallokateşin
<b>EGCG</b>	: (-)-Epigallokateşin-3-gallat
<b>YÇ</b>	: Yeşil Çay

# ÖZET

Doktora Tezi

## YEŞİL ÇAY EKSTRAKTLARININ FARKLI TEKNİKLERLE ENKAPSÜLASYONU

SEVİNÇ TAY

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

212+XII sayfa

2022

Danışman: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

Bu çalışmada, yeşil çaydan elde edilen sulu ekstrakt püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon, katı lipit nanopartikül olmak üzere 3 farklı teknikte enkapsüle edilmiştir. Her bir enkapsülasyon tekniğinde farklı kaplama materyalleri ve farklı işlem parametreleri çalışılmış ve elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyonda kaplama materyali olarak %20 ve %40 (%w/v) konsantrasyonlarda maltodekstrin ve nişasta kullanılarak 120°C ve 140°C giriş sıcaklıklarında mikrokapsüller elde edilmiştir. Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyonda kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda (%3.5 ve %4.5, kütle/hacim) sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk'lık jelasyon sürelerinde hidrojel mikrobuncuklar elde edilmiştir. Katı lipit nanopartikül tekniğinde ise kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak farklı emülsiyon elde etme sürelerinde (5 ve 10 dk) ve farklı ekstrakt miktarları ile (15 ve 30 mL) kapsüller oluşturulmuştur. Kaplama materyallerinin ve uygulanan bazı işlem parametrelerinin enkapsülasyon etkinliği üzerine etkileri araştırılmış ve kapsüllerde yığın yoğunluğu, çözünübilirlik, partikül boyutu, SEM, su aktivitesi, nem, renk, antioksidan aktivite, termal stabilite analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca mikrokapsüllerin gastrointestinal sistem boyunca stabilitesi de *in vitro* sindirim modeli ile araştırılmıştır.

Püskürtmeli kurutma tekniğinde enkapsülasyon veriminin %35.19-89.28 arasında olduğu, elektrostatik ekstrüzyon tekniğinde enkapsülasyon etkinliklerinin %38.93-78.32 arasında, SLN-melt dispersiyon tekniğinde ise %30.38-52.71 arasında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek verimin kaplama materyali olarak MD kullanılarak elde edilen partiküllere ait olduğu saptanmıştır. Kaplama materyali konsantrasyonu ve jelasyon süresindeki artışın ise %EE'yi arttırdığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon ve SLN-melt dispersiyon teknikleri ile elde edilen partiküllerin boyutlarının sırasıyla 8.44-30.80 µm, 362.90-406.13 µm ve 0.31-119.19 µm arasında olduğu, MD ile elde edilen mikropartiküllerin yüzey ağırlıklı ortalama çaplarının NŞ'ye nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali konsantrasyonu ve jelasyon süresindeki artışın ise hidrojel mikrobuncukların çaplarını arttırdığı saptanmıştır. Enkapsüle örneklerde termal degradasyonunun başladığı sıcaklıkların her üç teknikte de ~200°C ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Her üç teknik için de mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdelerinin (%78.29-91.03) enkapsüle olmayan örneğe kıyasla (%69.13) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; elde edilen kapsüllerin her üç metotta da mikron boyutta olduğu (0.31-406.13 µm), tekniğe ve kullanılan kaplama materyaline bağlı olarak mikrokapsüllerin farklı karakteristik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca her üç teknikte de elde edilen mikrokapsüllerin enkapsüle olmayan yeşil çay ekstraktına kıyasla gastrointestinal sistem boyunca korunduğu belirlenmiştir. Bunun yanında enkapsülasyonun ekstraktların termal stabilitesini arttırdığı ve bu sayede birçok gıda işleme prosesinde kullanıma daha elverişli olduğu ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Yeşil çay, Enkapsülasyon, Püskürtmeli Kurutma, Elektrostatik Ekstrüzyon, Katı Lipit Nanopartikül

## ABSTRACT

PhD. Thesis

### ENCAPSULATION OF GREEN TEA EXTRACTS BY DIFFERENT ENCAPSULATION TECHNIQUES

Sevinç TAY

Inonu University  
Graduate School of Nature and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

212+XII sayfa

2022

Supervisor: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

In this study, the aqueous extract obtained from green tea was encapsulated with 3 different techniques: Spray drying, electrostatic extrusion, solid lipid nanoparticle. In each encapsulation technique, different coating materials and different process parameters were studied, and the capsules were characterized. In encapsulation by spray drying, microcapsules were obtained at 120°C and 140°C inlet temperatures by using maltodextrin and starch at 20% and 40% (w/v) concentrations as coating material. In encapsulation by electrostatic extrusion technique hydrogel microbeads were obtained in gelation times of 30 and 60 minutes by using sodium alginate at different concentrations (3.5% and 4.5% (w/v)) as a coating material. In the solid lipid nanoparticle technique, by using carnauba wax and beeswax as coating material, capsules were formed with different emulsion acquisition times (5 min and 10 min) and with different extract amounts (15 mL and 30 mL). The effects of coating materials and some applied process parameters on the encapsulation efficiency were investigated and bulk density, solubility, particle size, SEM, water activity, moisture, color, antioxidant activity, thermal stability analyzes were performed on the capsules. In addition, the stability of the microcapsules throughout the gastrointestinal tract was investigated with *in vitro* digestion model.

It was determined that the encapsulation yield was between 35.19-89.28% in the spray drying technique, the encapsulation efficiency was between 38.93-78.32% in the electrostatic extrusion technique, and between 30.38%-52.71% in the SLN-melt dispersion technique. It was determined that the highest yield belonged to the particles obtained by using MD as the coating material. The increase in the coating material concentration and gelation time increased the %EE ( $P<0.05$ ). The sizes of the particles obtained by spray drying, electrostatic extrusion and SLN-melt dispersion techniques are between 8.44-30.80 µm, 362.90-406.13 µm and 0.31-119.19 µm, respectively and the surface weighted average diameters of the microparticles obtained by MD compared to NS was found to be lower. It was determined that the increase in coating material concentration and gelation time increased the diameters of the hydrogel microbeads. It was determined that the temperatures at which thermal degradation started in the encapsulated samples were ~200°C and above in all three techniques. For all three techniques, the percentage of bioaccessibility of microparticles (78.29-91.03%) was found to be higher than the non-encapsulated sample (69.13%).

According to the results obtained from this study; it was observed that the obtained capsules were in micron size (0.31-406.13 µm) in all three methods and the microcapsules had different characteristics depending on the technique and the coating material used. In addition, it was determined that the microcapsules obtained by all three techniques were preserved throughout the gastrointestinal tract compared to the non-encapsulated green tea extract. In addition, it has been demonstrated that encapsulation increases the thermal stability of the extracts, making it more suitable for use in many food processing processes.

**Keywords:** Green tea, Encapsulation, Spray Drying, Electrostatic Extrusion, Solid Lipid Nanoparticle

## 1. GİRİŞ

Çay, *Camellia sinensis* (çay bitkisi) yapraklarının demlenmiş halidir. Yeşil çay *Camellia sinensis* yapraklarının, siyah çay ve oolong çaya göre çok az fermente edilmesi veya hiç fermente edilmemesi ile elde edilen bir üründür (James ve diğ, 2016; Pasrija ve Anandharamakrishnan, 2015). Yeşil çayın daha çok fermente edilen siyah çay ve oolong çaya göre daha çok sağlığa faydalı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Zokti ve diğ, 2016). Yeşil çayın sahip olduğu bu faydaları sağlayan başlıca bileşenler polifenollerdir. Polifenoller tüm damarlı bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerdir ve basit moleküllerden kompleks yapılara kadar geniş bir çeşitliliktedirler. Bu doğal maddeler bir veya daha fazla benzen halkası ve bu halkaya bağlı bir veya daha çok hidroksil grubunun bağlanması ile oluşur ve şikimik asit ve/veya poliasetat metabolizmasından türerler (Bruneton, 2009; Munin ve Levy, 2011). Preklinik ve epidemiyolojik çalışmaların büyük bir kısmı bitki polifenollerinin bazı kanser türlerinin ilerleyişini yavaşlatabildiğini, kardiyovasküler, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet veya osteoporoz riskini azaltabildiğini ileri sürmekte ve bitki polifenollerinin insanlarda potansiyel kemopreventif ve anti kanser ajanları olarak rol oynayabildiğini belirtmektedir (Arts ve Hollman, 2005; Fang ve Bhandaria, 2010; Scalbert ve diğ, 2005a; Scalbert ve diğ, 2005b; Surh, 2003). Buna rağmen hücre dışında etkin kalan polifenollerin konsantrasyonu hücre içinde ölçülen seviyelerden genellikle daha yüksektir. Yeşil çayda bulunan başlıca polifenoller; epikateşin (EC), epikateşingallat (ECG), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşingallat (EGCG)'dır. Epidemiyolojik çalışmalar, çay tüketiminin bazı kanser türlerinin, kardiyovasküler rahatsızlıkların, diyabetin, obezite, alzheimer gibi bazı kronik ve dejeneratif hastalıkların riskini azaltabildiğini göstermiştir (Basu ve Lucas, 2007; Khan ve Mukhtar, 2007; Zokti ve diğ, 2016). Aynı zamanda yeşil çaydan elde edilen kateşinlerin antioksidan, antikarsinogenik ve antiinflamatuvar gibi çeşitli biyolojik özellikleri sergilediği bildirilmektedir (Kuroda ve Hara, 1999; Zokti ve diğ, 2016). Yeşil çayda en çok bulunan kateşin, (-) epigallokateşin-3-gallat (EGCG)'dır. EGCG, yüksek antioksidan aktivitesi, antitümör, kardiyovasküler rahatsızlıkları riskini azaltma, cildi iyonize radyasyondan koruma, kilo kaybı ve antiaging gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (Nagle ve diğ, 2006; Zhu ve diğ, 2016; Zou ve diğ, 2014).

Nutrasötik ürünlerin hastalıkları önlemedeki etkinliği aktif ingredientin biyoyararlılığını gösterebilmesine bağlıdır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Bu durum büyük bir zorluktur. Midedeki kalış süresinin yetersizliliği, bağırsaktaki düşük geçirenlik ve/veya çözünürlükten dolayı ağız yolu ile verildikten sonra sadece çok az bir orandaki moleküller mevcut kalır. Dolayısıyla hücre dışında etkin kalan polifenollerin konsantrasyonu hücre içinde ölçülen seviyelerden genellikle daha yüksek olur. Bunun yanı sıra yeşil çay kateşinleri sıcaklık, pH (özellikle nötre yakın veya alkali pH'da), ışık, oksijen ve enzimatik olaylar gibi çevresel etkilere maruz kaldıklarında degradasyon/epimerizasyona uğradıkları bildirilmiştir (Peters ve diğ, 2010; Su ve diğ, 2003; Zokti ve diğ, 2016; Zou ve diğ, 2014). Ayrıca bu kateşinlerin çoğu birçok tüketicinin sevmediği acı ve buruk bir tada sahiptir (Drewnowski ve Gomez-Carneros, 2010). Bu durum yeşil çay tüketimini etkilemektedir. Bahsedilen bu engeller söz konusu polifenollerin sağlıksal etkilerinden yararlanmak için fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılması durumunda da birçok problemlere sebebiyet vermektedir. Yeşil çay kateşinleri fonksiyonel gıda üretmek amacı ile ekmekek, kek, bisküvi, et ürünleri, yoğurt gibi çeşitli gıda ürünlerine eklenmektedir (Anandharamakrishnan, 2014; Yılmaz, 2006). Fonksiyonel gıda üretiminde karşılaşılan önemli problemlerden biri biyoaktif ingredientlerin gıda işleme, depolama ve gastrointestinal sistem boyunca aktivitelerinin koruyamamasıdır (Dube ve diğ, 2010). Doğal polifenollerin kullanımı fiziksel, kimyasal ve biyolojik şartları içeren çevresel koşullara karşı önemli derecede duyarlılığından dolayı hassasiyet gerektirir. Diğer bir ifadeyle bu bileşenler çok kolay bir şekilde okside olabilirler. Bunun sonucunda aktivitelerindeki önemli kayıplarla esmer rengin ve istenmeyen aromanın oluşumuna da sebep olurlar. Diğer taraftan, polifenollerle ilgili önemli diğer bir problem ise doğal kaynaklardan elde edilen birçok fenolik bileşenlerin farklı birtakım özelliklere sahip olmasıdır. Serbest formda sınırlı çözünürlük gösterirler. Aynı zamanda bu bileşenlerin istenmeyen bir tada sahip olması (buruk tat) gıda ürünlerine eklenmeden önce maskelenmesi gereken bir durumdur (Fang ve Bhandaria, 2010; Munin ve Levy, 2011). Bunun yanı sıra gıdaların işlenmesi ve depolanması esnasında karşılaşılan şartlar altında (sıcaklık, oksijen, ışık) veya gastrointestinal sistemde (enzimler, pH veya diğer besinlerin varlığı) bu bileşenlerin stabil olmayışı, polifenollerini de içeren nutrasötik bileşenlerin potansiyel sağlık etkilerini ve aktivitelerini sınırlandırır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Ayrıca fenolik bileşenler proteinler gibi gıda bileşenleri ile ilişkiye girebilirler ve bu durum da agregasyona ve çökmelere sebep olarak polifenollerin miktar ve/veya fonksiyonel kaybına sebep olurlar (Rashidinejad ve diğ, 2014). Dolayısıyla söz konusu polifenolik bileşenlerin eklendiği gıdalarda hedeflediği fizyolojik etkileri

gösterebilmesi, yapısal özelliklerini koruyabilmesi, tadının maskelenebilmesi, suda çözünürlüğünün ve biyoyararlılığının artırılabilmesi, fizyolojik hedefine doğru tam olarak iletilebilmesi için tüketilene kadar ve tüketim esnasında bir takım koruyucu mekanizmalara ihtiyaç vardır (Chen ve diğ, 2006). Bu amaçla yeşil çay polifenollerinin biyoyararlılığını arttırmakta birçok strateji kullanılmıştır. Özellikle kateşinlerin sükroz ve askorbik asit ile muamele edilmesi, kateşinlerin çaydan bağırsağa alınımı ve biyoerişimini arttırarak biyoyararlılığını arttırırken (Peters ve diğ, 2010; Puligundla ve diğ, 2017), vitamin C, ksilitol ile formülasyonlar ise gallatlanmamış kateşinlerin transport oranını arttırmıştır (Chung ve diğ, 2013). Bu yaklaşımlara ilave olarak nanoteknolojik yöntemler yeni ve gelecek vadeden yöntemlerdir (Wang ve diğ, 2016). Yeşil çay polifenollerinin farklı enkapsülasyon teknikleri ile enkapsülasyonu dikkate alınabilecek yöntemlerden biridir. Enkapsüle polifenollerin kullanımı polifenollerin stabilitesini arttırır, istenmeyen tat ve aromayı ortadan kaldırır, biyoyararlılığı ve bileşenin hücre içi ve hücre dışı yarılanma ömrünü arttırır (Fang ve Bhandaria, 2010; Munin ve Levy, 2011).

Yukarıda verilen bilgiler ışığında, yeşil çayda bulunan polifenollerin biyoyararlılığının artırılması ve gerek depolama gerekse fonksiyonel gıda üretimi sırasında stabilitesinin korunması amacıyla enkapsülasyon gibi etkili bir yöntemin kullanımının araştırılması gerekmektedir. Polifenollerin ve yeşil çay polifenollerinin farklı yöntemlerle enkapsülasyonu konusunda literatürde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Ancak yeşil çay ekstraktlarının elektrostatik ekstrüzyon ve katı lipit nanopartikül yöntemiyle enkapsülasyonu konusundaki çalışmaların olmadığı görülmektedir.

Bu çalışmanın öncelikli amaçları;

- Farklı yöntemler kullanarak (püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon ve katı lipit nanopartikül) yeşil çay ekstraktlarını enkapsüle etmek.
- Elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu ve yöntemlerin kendi içerisinde değerlendirmelerini gerçekleştirmek.
- Kullanılan yöntemlerde farklı kaplama maddeleri ve farklı proses parametreleri kullanılarak başta enkapsülasyon etkinliği ve verimini tespit etmek, en iyi üretim koşullarını belirlemek.
- Elde edilen kapsüllerin gastrointestinal sistem boyunca stabilitesini *in vitro* sindirim modeli ile araştırmak.
- Dolayısıyla gıdaların işlenmesi ve depolanması esnasında karşılaşılan şartlar altında (sıcaklık, oksijen, ışık) ve gastrointestinal sistemde (enzimler, pH veya

diğer besinlerin varlığı) kullanılan enkapsülasyon yöntemleri ile polifenollerin stabilitesini arttırmak, potansiyel sağlık etkilerini ve aktivitelerini devam ettirilmesine olanak tanımak. Söz konusu polifenollerin hedeflediği fizyolojik etkileri gösterebilmesi için tüketilene kadar ve tüketim esnasında korunmasını sağlamak.

- Bu bileşenlerin biyoaktivitelerinin korunması ile fonksiyonel gıda üretiminde karşılaşılan problemlerin üstesinden gelinerek bileşenlerin fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabilirliğini arttırmak.

Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada yeşil çay ekstraktı püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon, katı lipit nanopartikül (SLN)-melt dispersiyon tekniği olmak üzere 3 farklı enkapsülasyon tekniği kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Bu enkapsülasyon tekniklerinin seçilmesinde ana etken bu tekniklerinin diğer tekniklere nispeten sahip olduğu bazı avantajlardır. Her bir enkapsülasyon tekniğinde farklı kaplama maddeleri ve farklı deneme parametreleri çalışılarak bu parametrelerin başta enkapsülasyon etkinliği olmak üzere elde edilen partiküllerin karakterizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu bağlamda çalışmamızın birinci kısmında püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Kaplama materyali olarak %20 ve %40 (w/v) konsantrasyonlarda maltodekstrin ve nişasta kullanılarak 120 °C ve 140 °C giriş sıcaklıklarında mikrokapsüller elde edilmiştir. Kaplama materyali çeşidinin, konsantrasyonunun ve kurutma giriş sıcaklığının başta enkapsülasyon verimi üzerindeki etkileri araştırılmış ve elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızın ikinci kısmında ise bir diğer enkapsülasyon tekniği olan elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Kaplama materyali olarak %3.5 ve %4.5 (w/v) sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk'lık jelasyon sürelerinde hidrojel mikroboncuklar elde edilmiştir. Kaplama materyali konsantrasyonunun ve jelasyon süresinin başta enkapsülasyon etkinliği olmak üzere elde edilen mikroboncukların özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızın üçüncü ve son kısmında ise yeşil çay ekstraktı çoklu emülsiyon (w/o/w) oluşturularak bir diğer enkapsülasyon tekniği olan SLN-melt dispersiyon tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak mikropartiküller elde edilmiştir. Emülsiyon süresinin ve ilk emülsiyonda kullanılan aktif maddenin (yeşil çay miktarının) başta enkapsülasyon etkinliği olmak üzere partikül karakterizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Her üç metotla elde edilen kapsüllerde

enkapsülasyon etkinliği açısından en yüksek etkinliğin saptandığı enkapsülasyon metodu tespit edilmiştir. Bunun yanısıra her üç metotla elde edilen kapsüllerin gastrointestinal sistem boyunca stabilitesi *in vitro* sindirim modeli ile araştırılmıştır.



## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 Çay ve Yeşil Çay

Çay yaklaşık 30 ülkede yetiştirilen fakat dünya çapında tüketilen içeceklerden biridir. Sudan sonra dünya çapında en çok tüketilen içecektir. Türkiye’de kişi başına çay tüketimi yaklaşık 3.16 kg’dır ve dünya sıralamasında ilk sırada yer almaktadır (Anonymous, 2016). Çay, *Camellia sinensis* (çay bitkisi) yapraklarının demlenmiş halidir. Yeşil çay *Camellia sinensis* yapraklarının, siyah çay ve oolong çaya göre çok az fermente edilmesi veya hiç fermente edilmemesi ile elde edilen bir üründür. (Cabrera ve diğ, 2006; Chacko ve diğ, 2010; Pasrija ve Anandharamakrishnan, 2015; Zokti ve diğ, 2016). İlk yeşil çay 17. yüzyılda Hindistan’dan Japonya’ya ihraç edilmiştir. Çay, ilk olarak Çin, Japonya ve Kuzey Afrika ve Orta Doğudaki birkaç ülkede tüketilmeye başlanmıştır. Dünya çapında siyah çay üretimi yıllık %2.9 artış ile 2023 yılında 4.17 milyon tona, yeşil çayın ise %8.2 artış ile 2.97 milyon tona ulaşığı öngörülmektedir (Chang, 2015). Siyah çay çoğunlukla Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika’da (Fas hariç) tüketilirken yeşil çay Çin, Japonya Kore ve Fas’da büyük ölçüde tüketilmektedir (Cabrera ve diğ, 2006).

Yeşil çay ve siyah çay üretim esnasında farklı proseslere tabi tutulurlar. Yeşil çay üretmek için hasat edilen taze çay yaprakları fermantasyonu önleyebilmek ve kuru ve dayanıklı ürün elde etmek için derhal buharlanır. Bu buharlama prosesi yapraklardaki renk pigmentlerinin bozulmasından sorumlu olan enzimlerin denatürasyonunu sağlar ve çayın kıvrılma ve kurutma esnasında yeşil renginin muhafaza edilmesine olanak tanır. Bu proses, sağlığı geliştirici etkileri olan doğal polifenollerin korunmasını da sağlar. Yeşil çay, oolong ve siyah çaya fermente edildiğinde yeşil çaydaki polifenol bileşenleri (kateşinler) farklı çeşitlilikteki teafavinlere dimerize olurlar. Bunlar da farklı biyolojik aktivitelere sahiptir (Chacko ve diğ, 2010). Bu durumdan dolayı yeşil çayın daha çok fermente edilen siyah çay ve oolong çaya göre daha iyi sağlığa faydalı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Cabrera ve diğ, 2006; Chacko ve diğ, 2010; Pasrija ve Anandharamakrishnan, 2015; Zokti ve diğ, 2016;).

### 2.2 Yeşil Çayın Bileşimi

Yeşil çayın kimyasal bileşimi kompleks bir yapıya sahiptir. Proteinler (kuru ağırlığın %15-20’si), enzim bileşenlerinin önemli fraksiyonu; theanin veya 5-N-etilglutamin,

glutamik asit, triptofan, glisin, serin, aspartik asit, tirozin, valin, lösin, threonin, arjinin ve lizin gibi amino asitler (kuru ağırlığın %1-4'ü); selüloz, pektinler, glukoz, fruktoz ve sükröz gibi karbonhidratlar (kuru ağırlığın %5-7'si), mineraller ve iz elementler, iz miktarda lipitler (linoleik ve  $\alpha$ -linolenik asitler), stereoller, vitaminler (B, C, E), pigmentler (klorofil, karotenoidler), uçucu bileşenler (aldehitler, alkoller, esterler, laktonlar, hidrokarbonlar) içermektedir (Çizelge 2.1). Bunun yanı sıra gallik asit gibi fenolik asitler de bulunur (Belitz ve Grosch, 1997; Chacko ve diğ, 2010;).

Yeşil çay flavanoller, flavanoidler, flavandioller ve fenolik asitler gibi polifenolleri %30'a kadar içerebilirler (kuru ağırlık üzerinden). Yeşil çay polifenollerinin birçoğu genellikle kateşinler olarak bilinen flavanollerdir. Yeşil çaydan elde edilen sıvı ekstraktlar veya toz formlar %45-90 düzeylerinde polifenoller ve kafein (%0.4-10) içerirler. Yeşil çaydaki major flavonoidler, siyah ve oolong çaydaki miktarlara nazaran daha yüksek miktarlarda bulunan çeşitli kateşinlerdir (Chacko ve diğ, 2010; Vinson, 2000).

**Çizelge 2.1** : Yeşil çay, siyah çay ve infüzyonlarının kimyasal bileşimi (%) (Chacko ve diğ, 2010).\*

Bileşen	Yeşil Çay	Siyah Çay	İnfüzyon
Protein	15	15	İz miktarda
Amino asitler	4	4	3.5
Lif	26	26	0
Diğer karbonhidratlar	7	7	4
Lipitler	7	7	İz miktarda
Pigmentler	2	2	İz miktarda
Mineraller	5	5	4.5
Fenolik bileşenler <sup>ψ</sup>	30	5	4.5
Okside fenolik bileşenler <sup>ε</sup>	0	25	4.5

\* Çay yapraklarının kuru ağırlıkları üzerinden miktarları

İnfüzyon süresi: 3dk

<sup>ψ</sup>Özellikle flavonoidler

<sup>ε</sup>Özellikle tearubujin ve teafllavinler

### 2.3 Polifenoller

Polifenoller tüm damarlı bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerdir ve basit moleküllerden kompleks yapılara kadar geniş bir çeşitlilikteki maddelerden oluşurlar. Bu doğal maddeler bir veya daha fazla benzen halkası ve bu halkaya bağlı bir veya daha çok hidroksil grubunun bağlanması ile oluşur. Şikimik asit ve/veya poliasetat metabolizmasından türerler (Bruneton, 2009; Munin ve Levy, 2011). Polifenoller kimyasal yapılarına bağlı olarak flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler olmak üzere farklı

sınıflara ayrılırlar (Çizelge 2.2). Polifenollerin en büyük sınıfı, difenilpropan ( $C_6-C_3-C_6$ ) olarak tanımlanan flavonoidlerden oluşur (Clarke, 2013; Ross ve Kasum, 2002). Flavonoidler heterosiklik karbon halkasındaki modifikasyonlara bağlı olarak alt sınıflara ayrılırlar. Flavonlar, isoflavonlar, flavonoller, flavanonlar, kateşinler (flavan-3-ol) ve antosiyanidinler alt sınıfları oluşturur (Clarke, 2013; Ross ve Kasum, 2002).

**Çizelge 2.2** : Polifenollerin yapıları ve sınıfları (Balasundram ve diğ, 2006).

Sınıf	Yapı
Basit fenolikler	$C_6$
Hidroksibenzoik asitler	$C_6-C_1$
Fenilasetik asitler	$C_6-C_2$
Hidroksinnamik asit	$C_6-C_3$
Stilbenler	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoidler	$C_6-C_3-C_6$
Lignanlar	$(C_6-C_3)_2$
Proantosiyanidinler	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Preklinik ve epidemiyolojik çalışmaların büyük bir kısmı bitki polifenollerinin belirli kanserlerin ilerleyişini yavaşlatabilmesi, kardiyovasküler hastalık, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet veya osteoporoz riskini azaltabildiğini ileri sürmekte ve bitki polifenollerinin insanlarda potansiyel kemopreventif ve anti kanser ajanları olarak rol oynayabildiğini ileri sürmektedir (Arts ve Hollman, 2005; Fang ve Bhandaria, 2010; Scalbert ve diğ, 2005a; Scalbert ve diğ, 2005b; Surh, 2003). Başlıca polifenoller kaynakları ve özellikleri Çizelge 2.3’de verilmiştir.

**Çizelge 2.3 : Başlıca polifenoller, kaynakları ve özellikleri (Fang ve Bhandaria, 2010).**

<b>Polifenol Grupları</b>	<b>Örnekler</b>	<b>Kaynaklar</b>	<b>Özellikleri</b>
Antosiyanidinler	Siyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, petunidin ve onların glikozitleri	Meyveler, Çiçekler	Doğal pigmentler; Sıcaklık, oksijen, pH ve ışığa karşı oldukça hassas; suda çözünür.
Kateşinler	Kateşin, epikateşin, gallokateşin, epigallokateşin, epigallokateşingallat	Çay	Oksidasyona, ışığa ve pH'ya karşı hassas; acı ve buruk tat; suda daha az çözünür.
Flavanonlar	Hesperetin, hesperidin, naringenin, naringin	Turunçgil	Oksidasyona, ışığa ve pH'ya karşı hassas; aglikonlar suda çözünmez ancak glikozitler suda çözünür.
Flavonlar	Apigenin, luteolin, tangeritin	Meyve, sebzeler	Doğal pigmentler: Oksidasyona, ışığa ve pH'ya karşı hassas; aglikonlar suda daha az çözünürler ancak glikozitler suda çözünür.
Flavonoller	Kaempferol, mirisetin, kuersetin ve onların glikozitleri	Meyve, sebzeler	Oksidasyona, ışığa ve pH'ya karşı hassas; aglikonlar suda daha az çözünürler ancak glikozitler suda çözünür.
Izoflavonlar	Daidzein, genistein, glisitein	Soya, yer fıstığı	Alkali pH'ya karşı hassas; acı ve buruk tat; soya kokusu; suda çözünür.
Hidroksibenzoik asit	Gallik asit, p-hidroksibenzoik, Vanilik asit	Çay, buğday ve üzümü meyveler	Sıcaklık, oksijen, pH ve ışığa karşı hassas; suda daha az çözünür.
Lignanlar	Pinoresinol, steganasin.	Keten, susam, sebzeler	Normal koşullar altında nispeten daha stabil; istenmeyen aroma; suda çözünür.
Tanninler	Kastalin, pentagalloylglukoz, prosiyanidinler	Çay, üzümü meyveler, şarap ve çikolata	Yüksek sıcaklık ve oksidasyona karşı hassas; acı ve buruk tat; suda çözünür.

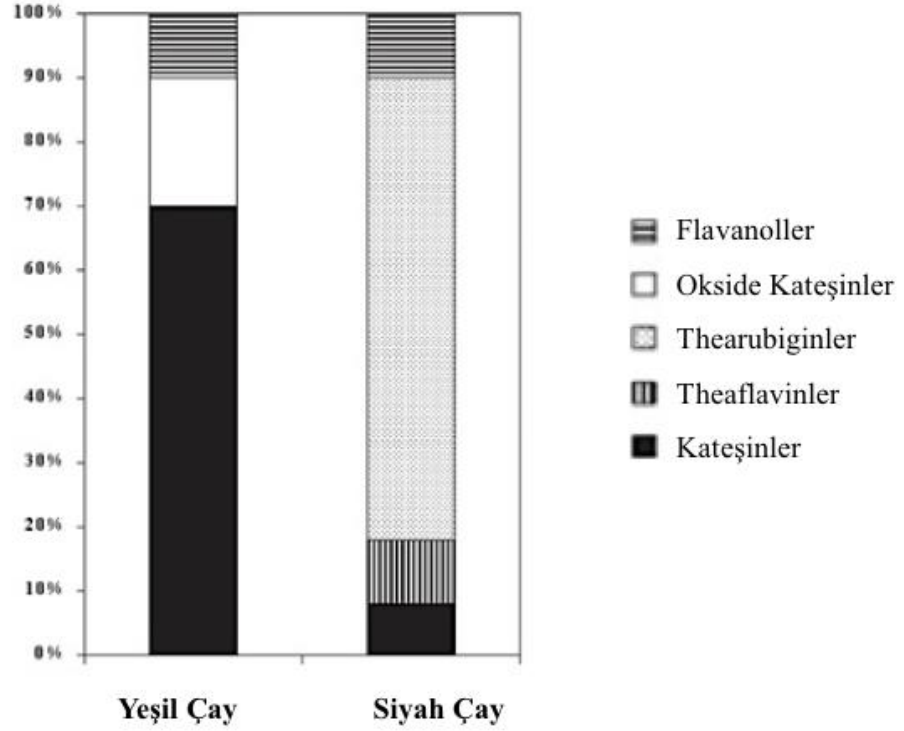
Polifenollerin *in vitro* ortamda etkin kalan konsantrasyonu *in vivo* ortamda ölçülen seviyelerden genellikle daha yüksektir. Nutrasötik ürünlerin hastalıkları önlemedeki

etkinliği aktif ingredientlerin biyoyararlılığını korumasına bağlıdır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Bu durum büyük bir zorluktur. Midedeki kalış süresinin yetersizliği, bağırsaktaki düşük geçirenlik ve/veya çözünürlükten dolayı ağız yolu ile verildikten sonra sadece çok az bir orandaki moleküller mevcut kalır. Bunun yanısıra gıdaların işlenmesi ve depolanması esnasında karşılaşılan şartlar altında (sıcaklık, oksijen, ışık) veya gastrointestinal sistemde (enzimler, pH veya diğer besinlerin varlığı) bu bileşenlerin stabil olmayışı, polifenolleri de içeren nutrasötik bileşenlerin potansiyel sağlık etkilerini ve aktivitelerini sınırlandırır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Dolayısıyla bu bileşenlerin hedeflediği fizyolojik etkileri gösterebilmesi için tüketilene kadar ve tüketim esnasında bir takım koruyucu mekanizmalara ihtiyaç vardır (Chen ve diğer, 2006). Doğal polifenollerin kullanımı fiziksel, kimyasal ve biyolojik şartları içeren çevresel şartlara karşı önemli derecede duyarlılığından dolayı hassas bir aşamadır. Maalesef bu bileşenler çok kolay bir şekilde okside olabilirler. Aktivitelerindeki önemli kayıplarla esmer rengin ve istenmeyen aromanın oluşumuna sebep olurlar. Bunun yanısıra polifenollerle ilgili önemli diğer bir problem ise doğal kaynaklardan elde edilen birçok fenolik bileşenler farklı birtakım özelliklere sahiptirler; serbest formda sınırlı çözünürlük gösterirler. Aynı zamanda bu bileşenlerin istenmeyen bir tada sahip olması (buruk tat) gıda ürünlerine eklenmeden önce maskelenmesi gereken bir durumdur (Fang ve Bhandaria, 2010; Munin ve Levy, 2011). Dolayısıyla fenolik bileşenlerin tüketilene kadar veya tüketim esnasında yapısal özelliklerini koruyabilmesi, tadının maskelenebilmesi, suda çözünürlüğünün ve biyoyararlılığının artırılabilmesi, fizyolojik hedefine doğru tam olarak iletebilmesi gerekmektedir. Polifenollerin enkapsülasyonu bu olumsuzlukların üstesinden gelebilen bir yöntemdir. Enkapsüle polifenollerin kullanımı polifenollerin stabilitesini artırır, istenmeyen tat ve aromayı ortadan kaldır, biyoyararlılığı ve bileşenin hücre içi ve hücre dışı yarılanma ömrünü artırır (Fang ve Bhandaria, 2010; Munin ve Levy, 2011).

### **2.3.1 Yeşil ay polifenolleri**

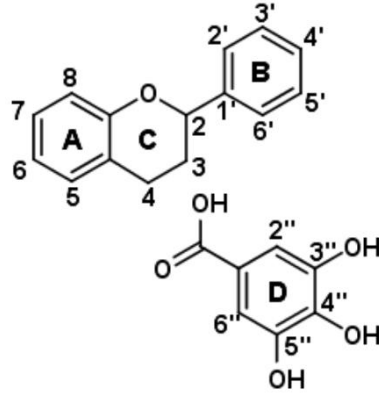
Yeşil ayın diğer çaylarla kıyasla en yüksek flavanol içeriğine sahip olduğu bilinmektedir (Chow, 2005; Clarke, 2013). Yeşil çaydaki 10lze flavonoidler, siyah ve oolong çaydaki miktarlara nazaran daha yüksek miktarlarda bulunan çeşitli kateşinlerdir (Chacko ve diğer, 2010; Vinson, 2000) (şekil 2.1). 200 ml veya 1 fincan yeşil çay ekstraktı yaklaşık 200 mg'a kadar kateşin içerir (Lakenbrink ve diğer, 2000; Puligundla ve diğer, 2017). Yeşil ayda bulunan majör kateşinler; (-)-Kateşin , (-)-Epikateşin (EC), (-)-Epigallokateşin (EGC), (-)-Epikateşin-3-gallat (ECG), (-)-Epigallokateşin-3-gallat (EGCG) ve (-)-

Gallokateşin-3-gallat (GCG)'dır. Yeşil çaydaki toplam kateşinler içerisinde en çok bulunan kateşin, (-)-Epigallokateşin-3-gallat (EGCG)'dır (yaklaşık olarak tüm kateşinlerin %50'sinden fazlasını oluşturur). Kateşin flavanol yapıları B halkasında dihidroksil veya trihidroksil dallanmaları, aynı zamanda A halkasında 5,7-dihidroksil dallanmaları ile, C halkasında çift bağ içermemekle ve C halkasındaki 3-OH yapıları ile karakterize edilirler (Şekil 2.2 ve Çizelge 2.4) (Balantine ve diğ, 1997; Yang ve diğ, 2001).



Flavanoller	7-9%	7-9%
Okside kateşinler	20-30%	63-74%
Thearubiginler	60-80%	5-12%
Theaflavinler	6-24%	6-24%
Kateşinler	6-24%	6-24%

**Şekil 2.1 :** Yeşil ve siyah çaydaki toplam flavonoid içerikleri (Higdon ve Frei, 2010).

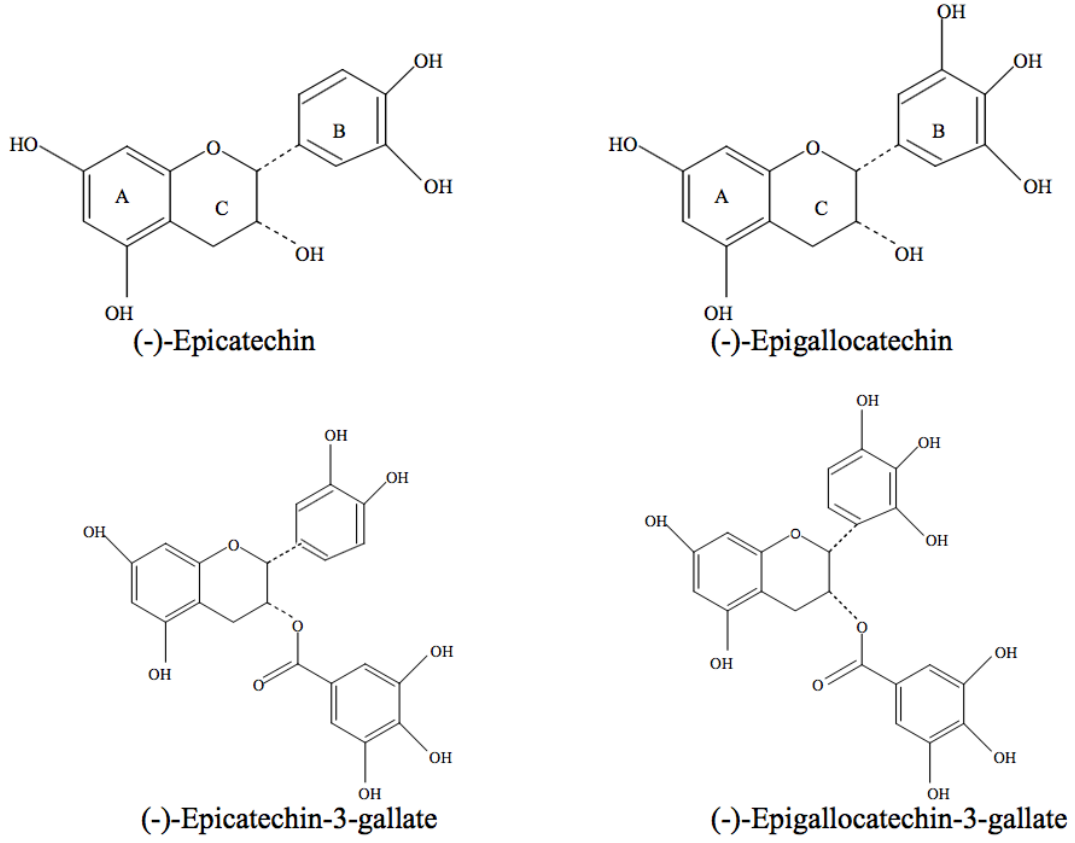


Şekil 2.2 : Kateşin flavanol yapıları (Clarke, 2013).

Çizelge 2.4 : Kateşin flavanol yapıları (Clarke, 2013).

Kateşin	3	5	7	3'	4'	5'
(+)-Kateşin	OH	OH	OH	OH	OH	
(-)-Epikateşin	OH	OH	OH	OH	OH	
(-)-Epikateşin Gallat	D	OH	OH	OH	OH	OH
(-)-Epigallokateşin	OH	OH	OH	OH	OH	OH
(-)-Epigallokateşingallat	D	OH	OH	OH	OH	OH

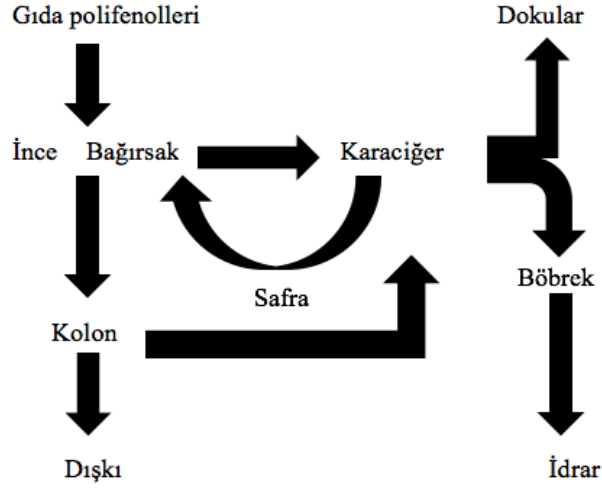
Yeşil çay kateşinleri B zincirinde dihidroksi veya trihidroksi grupları ve A zincirinde meta-5,7-dihidroksi grupları ile karakterize edilir (Balantine ve diğ, 1997) (Şekil 2.3). B zinciri antioksidan reaksiyonlarının temel kısmı olarak görünmektedir (Roh ve diğ, 2017; Valcic ve diğ, 2000). Yeşil çay polifenollerinin genel kimyasal yapıları ve yeşil çayda en çok bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.3'de gösterilmiştir. EGCG aynı zamanda terapötik etkilerinden dolayı geniş bir şekilde çalışılan fenolik bileşenlerdendir (Dulloo ve diğ, 1999; Mckay ve Blumberg, 2002; Roh ve diğ, 2017).



**Şekil 2.3 :** Yeşil çayda bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları (Sajilata ve diğ, 2008).

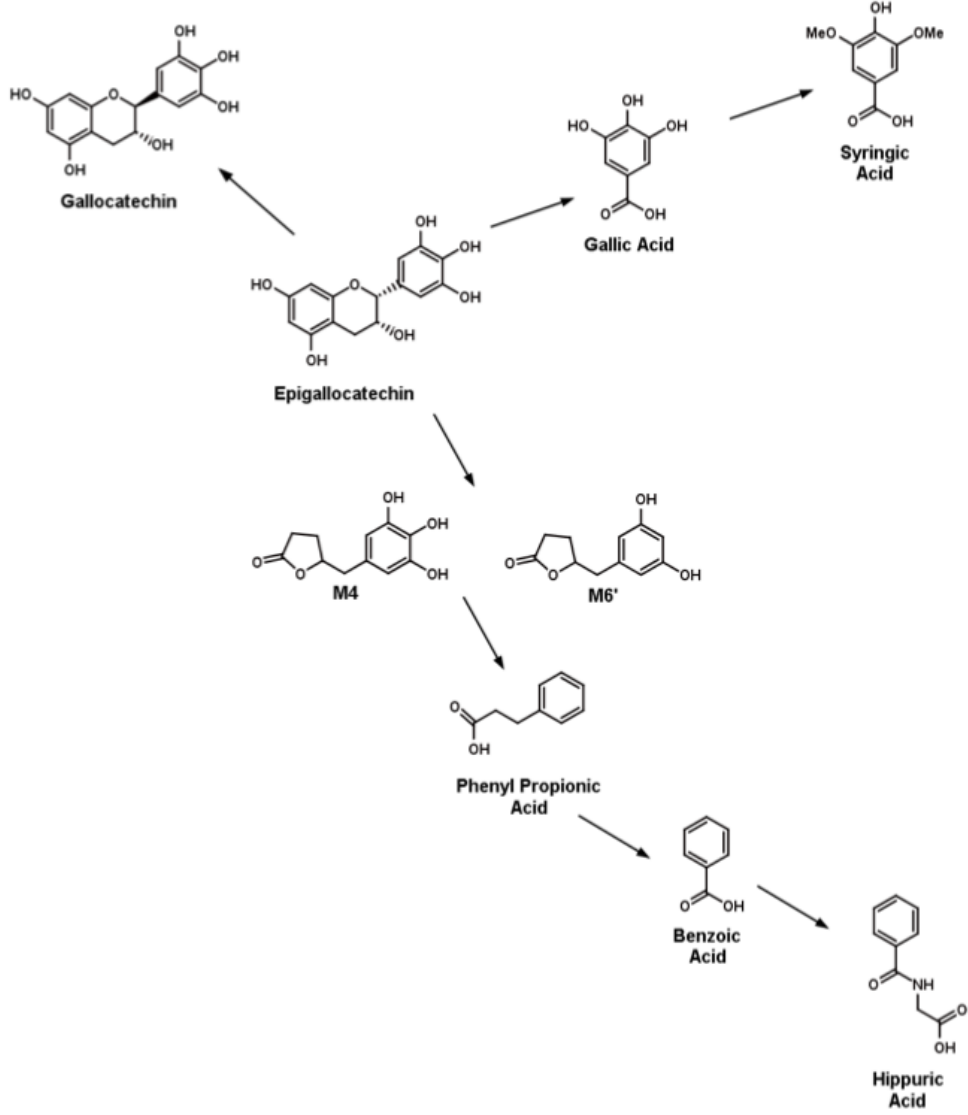
#### 2.4 Yeşil Çay Kateşinlerinin Metabolizması

Yeşil çayın tüketiminden sonra flavonoidler, sindirim sistemine giriş yaparak ve faz II metabolizması aracılığıyla birtakım modifikasyonlara uğramaktadırlar (Şekil 2.4). Flavonoid bağları doğal olarak glukozitler laktaz phylorizin hidrolaz enzimi aracılığı ile ince bağırsaktaki enterosit hücrelerinden aglikonun absorpsiyonundan önce deglikozilasyona uğramaktadırlar. Yeşil çay flavonoidlerinin hidroksil grupları metilasyon, sülfasyon ve glukuronidasyon ile flavonoidlerin polaritesi artırılarak faz II biyodönüşümüne uğramaktadır (Clarke, 2013; Day ve diğ, 2000; Lambert ve diğ, 2007; Spencer ve diğ, 1999).



**Şekil 2.4 :** Polifenollerin sindirimden sonrası rotasının basit taslağı (Scalbert ve Williamson, 2000).

Karaciğerden metabolize edildikten sonra, yeşil çay flavonoidleri (hem serbest hem de konjuge) ya safraya salgılanır veya vücut boyunca dokulara dolaşır veya idrara salgılanması için böbreklere yayılır. Safra salgısından sonra kolondaki yeşil çay flavonoidleri buradaki mikroorganizmalar aracılığıyla fenolik asitler olarak bilinen daha küçük bileşenlere metabolize edilmektedir (Şekil 2.5). Kolondaki kateşin metabolitleri hidroksifenilpropiyonik asit, hidroksibenzoik asit, hidroksihippurik asit, hippurik asit, p-kumarik asit, vanilik asit ve hidroksifenilasetik asiti içermektedir (Clarke, 2013; Gonthier ve diğ, 2003).



**Şekil 2.5 :** Sindirim esnasında epigallokateşinin (EGCG) muhtemel degradasyonu ve metabolit ürünleri. Epimerizasyonun nötral pH’da gerçekleştiği bilinmektedir (Clarke, 2013).

## 2.5 Yeşil Çay Polifenoller ve Sağlık İlişkisi

Çay tüketiminin sağlık üzerinde faydalı etkileri arasındaki ilişki, ilk olarak Japonya’ya yeşil çay tohumlarını 1191 yılında ilaç olarak getiren Eisai adında Japon papaz tarafından 1211 yılında yazılan “Kitsusa youjouki” (yeşil çay içerek sağlığı devam ettirmek) adlı yayında belirtilmiştir (Fujiki, 2005). 1211’den beri ve özellikle son on yıllarda yapılan yaygın çalışmalar yeşil çay tüketimi ile inflamasyona ve hastalıklara karşı koruma arasındaki pozitif ilişkiyi göstermiştir (Clarke, 2013). Epidemiyolojik çalışmalar, çay tüketiminin bazı kanser türlerinin, kardiovasküler rahatsızlıkların, diyabetin, obezite, Alzheimer gibi bazı kronik ve dejeneratif hastalıkların riskini azaltabildiğini göstermiştir (Basu ve Lucas, 2007;

Khan ve Mukhtar, 2007; Zokti ve diğ, 2016). Örneğin 1985 yılında yapılan bir çalışmaya göre; günlük sigara tüketiminin Amerikan bireylerden daha fazla olduğu Japon bireylerde, akciğer kanserinin görülme düzeyinin daha düşük olduğu belirtilmiştir. Bu durumu Japonyada'ki yeşil çay tüketiminin Amerikada'ki tüketime göre daha fazla olması ile ilişkilendirmişlerdir (Clarke, 2013; Fujiki, 2005). Yeşil çay tüketimi ile kardiovasküler hastalıkların görülme sıklığındaki azalış ilişkilendirilmiştir (Clarke, 2013). Dört farklı çalışmada yeşil çay kateşinleri ile LDL kolesterol düzeyindeki düşüş ilişkilendirilmiştir. Yeşil çay içecekleri veya ekstraktlarının tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olan toplam kolesterol ve LDL kolesterol düzeyindeki düşüşte pozitif etkisinin olduğu belirtilmiştir (Clarke, 2013; Williamson ve diğ, 2011; Zheng ve diğ, 2011). Aynı zamanda yeşil çaydan elde edilen kateşinlerin antioksidan, antikarsinogenik ve antiinflamatuvar gibi çeşitli biyolojik özellikleri sergilediği bildirilmektedir (Kuroda ve Hara, 1999; Zokti ve diğ. 2016). Yeşil çayda en çok bulunan kateşin (-)-Epigallokateşin-3-gallat (EGCG)'dir. EGCG'nin yüksek antioksidan aktivitesi, antitümör, kardiovasküler rahatsızlıkları riskini azaltma, cildi iyonize radyasyondan koruma, kilo kaybı, antiaging gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. (Nagle ve diğ. 2006; Zou ve diğ. 2014; Zhu ve diğ. 2016). Polifenollerin günlük alımı 1 g olarak tahmin edilmektedir (Clarke, 2013; Scalbert ve Williamson, 2000; Scalbert ve diğ, 2005). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, günlük 5-10 fincan yeşil çay tüketimi ile bahsedilen bu sağlığa yararlı etkileri elde etmenin mümkün olduğunu göstermiştir (Vuong ve diğ, 2011).

## **2.6 Yeşil Çay Polifenoller ve Antioksidan Özellikleri**

Antioksidan aktivitesi, bir molekül veya iyonun diğer moleküllerin oksidatif reaksiyonlarını önleme kapasitesi olarak tanımlanmaktadır (Lorenzo ve Munekata, 2016). Polifenoller güçlü antioksidanlar ve serbest radikal süpürücülerdir. Çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksi radikalleri ve nitrik oksit'in güçlü süpürücüleridir (Lin ve Liang, 2000). Polifenollerin antioksidan aktivitesi onların yapısı ve hidrosil gruplarının sayısına bağlı olduğu gibi pozisyonuna da bağlı olarak değişmektedir (Sajilata ve diğ, 2008). Yeşil çay kompozisyonu ve antioksidan aktivitesi arasındaki ilişki son zamanlarda artan bir ilgi görmektedir. Yeşil çay yapraklarında bulunan fenolik bileşenler antioksidan potansiyelini oksidantlara, oksidatif reaksiyonlara ve reaktif türlerine karşı ek koruma sağlama gibi farklı mekanizmalarla göstermektedir. (Lorenzo ve Munekata, 2016). Yeşil çay ekstraktlarının siyah çaydan daha yüksek antioksidan

potansiyeye sahip olduğu bilinmektedir. Bu durumun güçlü bir şekilde yeşil çayın toplam fenolik içeriğiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (Benzie ve Szeto, 1999; Langley-Evans, 2000; Puligundla ve diğ., 2017).

Çay kateşinleri ve polifenollerinin birtakım *in vitro* sistemlerde çalışılmış ve etkili bir serbest radikal süpürücü olduğu tespit edilmiştir. (Evans, 1999; Higdon ve Frei, 2003). Bir bileşenin serbest radikal süpürme yeteneği onun bir elektron redüksiyon potansiyeli, hidrojen veya elektron donörü olarak antioksidanların reaktiflerinin ölçümü ile kısmen ilişkilidir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Higdon ve Frei, 2003). Düşük redüksiyon potansiyeli, hidrojen veya elektron vermesi için daha düşük enerjinin gerektiğini göstermekte ve antioksidan aktivitesinin saptanması için bir faktör olarak bilinmektedir. Yeşil çayda yüksek miktarlarda bulunan EGCG ve EGC'nin E vitamininden daha düşük redüksiyon potansiyeline sahip olduğu görülmektedir (Jovanovic ve diğ., 1996; Higdon ve Frei, 2003) (Çizelge 2.5). Hidrojen veya elektron verme aktivitesine ek olarak, antioksidan aktivitesi etkinliği serbest radikallerle reaksiyona girme oranı ve açığa çıkan antioksidan radikallerinin stabilitesi ile de tespit edilmektedir. Çay kateşinlerinin radikal süpürme aktivitesi bir takım *in vitro* sistemlerde incelenmiştir. Spektrofotometre kullanılarak yapılan çalışmalarda singlet oksijen ( $^1O_2$ ),  $O_2^{\cdot-}$ ,  $\cdot OH$ , ve peroksi radikallerinin ( $\cdot OOH$ ) etkili süpürücüleri olduğunu göstermiştir (Guo ve diğ., 1999; Higdon ve Frei, 2003; Nanjo ve diğ., 1999; Zhao ve diğ., 2001). Bu çalışmalar EGCG'nin, ECG, EGC ve EC'den daha etkili radikal süpürücü olduğunu göstermiştir. Bu durumun B halkasındaki trihidroksil grubu ve C halkasındaki 3 pozisyonunda gallat dallanmasına bağlı olarak antioksidan aktivitesini arttırıcı bir durum olduğu belirtilmiştir (Higdon ve Frei, 2003).

**Çizelge 2.5 :** Çay polifenollerinin diğer antioksidanlara göre redüksiyon potansiyelleri ve antioksidan aktiviteleri (Higdon ve Frei, 2003).

Antioksidan	Redüksiyon potansiyeli (V) <sup>a</sup>	Antioksidan Aktivite (mM) <sup>b</sup>
(-)-Epikateşin	0.57	2.4±0.02
(-)-Epigallokateşin	0.43	3.8±0.06
(-)-Epikateşingallat	0.55	4.9±0.02
(-)-Epigallokateşin gallat	0.43	4.8±0.06

**Çizelge 2.5** : Çay polifenollerinin diğer antioksidanlara göre redüksiyon potansiyelleri ve antioksidan aktiviteleri (devam).

Teaflavin	0.51	2.9±0.08
Teaflavin digallat	0.54	6.2±0.43
Yeşil çay (1 ppm)	-	3.8±0.03
Siyah Çay (1ppm)	-	3.5±0.03
Vitamin E	0.48	1±0.03
Vitamin C	0.28	1±0.02

<sup>a</sup>Redüksiyon potansiyeli, pH 7, 20 °C

<sup>b</sup>TEAC (Troloks eşdeğeri antioksidan aktivite)

Yapılmış bir dizi çalışmalar, kuersetin ve EGCG'nin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğunu göstermiştir (Huang ve diğ, 1992; Wiseman ve diğ, 1997; Sajilata ve diğ, 2008; Skibola ve Smith, 2000; Yang ve diğ, 1998a, 1998b). Shaidi ve Alexander (1998), et lipitlerinin oksidasyonunu önlemede yeşil çay kateşinlerinin, alfa tokoferol ve kateşin gallatlar'dan daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda metal iyonları ile şelat oluşturduklarından, genellikle metal iyon prooksidant aktivitesini düşürdükleri bilinmektedir. Yeşil çayın radikal süpürme yeteneğinin, genellikle siyah çaydan yüksek olduğu bildirilmiştir (Yang ve diğ, 2000). Çay polifenollerinin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) süpürme yetenekleri EGCG>ECG>EGC>EC=TF-2>TF-1>TF şeklinde sıralanmaktadır (Chen ve Ho, 1994). Teaflavinler kateşinlere kıyasla daha düşük lipit oksidasyon-inhibisyon aktivitesine sahiptir. Aynı zamanda yeşil çay ve siyah çay, kırmızı kan hücrelerini oksidatif hasara karşı koruma sağlamaktadır (Halder ve Bhaduri, 1998).

## 2.7 Yeşil Çay Polifenollerinin Biyoyararlılıkları

Biyoyararlılık, bir besinin normal metabolik yollar aracılığıyla sindirildiği, absorbe edildiği ve metabolize edildiği oran olarak tanımlanmaktadır (Pandey ve Rizvi, 2009). Bir başka tanıma göre ise biyoyararlılık, bir ilaç ürününden absorbe edilen aktif bileşenin veya aktif molekülün bir fonksiyonel grubunun veya parçasının oranı veya derecesi olarak tanımlanmaktadır (Clarke, 2013; FDA, 2003). Flavonoidlerin sağlık üzerindeki etkileri değerlendirilirken, emilimi, biyoyararlılığı ve metabolizması hakkındaki bilgilere ihtiyaç

duyulmaktadır (Güven ve diğ, 2010). Flavonoidlerin biyoyararlılıkları, flavonoidlerin gıda matriksinin içerisinde bulunan proteinlerle bağlanması, bağırsak hücrelerinden dışarı sızma, sindirim sistemi boyunca karşılaşılan pH değişiklikleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Yeşil çayda en çok bulunan flavonoidler olarak yeşil çay kateşinleri için pH, degradasyon üzerinde çok etkisi olan bir parametre olmaktadır. Kateşinler düşük pH'da stabil fakat nötral pH ve yukarısında hızlıca degradasyona uğramaktadırlar. Kateşinlerin stabilitesi midede etkilenmezken (gastrik sıvı, pH 1-3) bağırsağa girdiğinde (pankreatik sıvı ve ince bağırsağın epitel hücrelerinden salgı, pH 7-8) stabilitesi hızlıca azalmaktadır (Chen ve diğ. 1998; Clarke, 2013; Desesso ve Jacobson, 2001). Kateşinlerin bağırsağın nötral pH'sına ulaştığında yaklaşık olarak %80'nin azaldığı tahmin edilmektedir (Clarke, 2013; Ferruzzi, 2010). Ayrıca yeşil çay kateşinlerinin sıcaklık, ışık, oksijen ve enzimatik olaylar gibi çevresel etkilere maruz kaldıklarında degradasyon/epimerizasyona uğradıkları bildirilmiştir (Peters ve diğ, 2010; Su ve diğ, 2003; Zokti ve diğ, 2016; Zou ve diğ, 2014). Bunun yanısıra hücre dışında etkin kalan polifenollerin konsantrasyonu hücre içinde ölçülen seviyelerden genellikle daha yüksektir (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Midedeki kalış süresinin yetersizliliği, bağırsaktaki düşük geçirenlik ve/veya çözünürlükten dolayı bu bileşenler ağız yolu ile verildikten sonra sadece çok az bir oranı mevcut kalır. Bunun yanısıra gıdaların işlenmesi ve depolanması esnasında karşılaşılan şartlar altında (sıcaklık, oksijen, ışık) veya gastrointestinal sistemde (enzimler, pH veya diğer besinlerin varlığı) bu bileşenlerin stabil olmayışı, polifenolleri de içeren nutrasötik bileşenlerin potansiyel sağlık etkilerini ve aktivitelerini sınırlandırır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Ayrıca fenolik bileşenler proteinler gibi gıda bileşenleri ile ilişkiye girebilirler ve bu durum da agregasyona ve çökmelere sebep olarak polifenollerin miktar ve/veya fonksiyonel kaybına sebep olurlar (Rashidinejad ve diğ, 2014). Karşılaşılan bu şartlar da kateşinlerin biyoyararlılıklarını düşürmektedir. Söz konusu flavonoidlerin sağlık üzerindeki etkilerini devam ettirebilmesi onların biyoyararlılıklarını koruyabilmesine bağlıdır. Dolayısıyla bu bileşenlerin hedeflediği fizyolojik etkileri gösterebilmesi için tüketilene kadar ve tüketim esnasında bir takım koruyucu mekanizmalara ihtiyaç vardır (Chen ve diğ, 2006). Yeşil çay polifenollerinin biyoyararlılığını artırmakta birçok strateji kullanılmıştır. Özellikle kateşinlerin sükroz ve askorbik asit ile formülasyonu, kateşinlerin çaydan bağırsağa alınımı ve biyoerişimini arttırarak biyoyararlılığını (Peters ve diğ, 2010; Puligundla ve diğ, 2017), vitamin C, ksilitol ile formülasyonlar gallatlanmamış kateşinlerin transport oranını arttırmıştır (Chung ve diğ, 2013). Bu birçok yaklaşımın içerisinde nanoteknolojik yöntemler yeni ve gelecek vaat eden

yöntemlerdir (Wang ve diğ, 2016). Yeşil çay polifenollerinin farklı enkapsülasyon teknikleri kullanılarak enkapsülasyonu bu yöntemlerden biridir.

## 2.8 Enkapsülasyon

Enkapsülasyon, bir maddeyi (aktif ajan) diğeri bir madde ile hapsederek veya paketleyerek nanometreden milimetre çaplarına kadar partikül üreten bir proses olarak tanımlanmaktadır (Nedovic ve diğ, 2011; Zuidam ve Shimoni, 2009). Paketlenen madde saf madde veya bir karışım olabilir. Paketlenen madde veya başka bir ifade ile enkapsüle olan madde; kaplanmış madde (coated material), çekirdek madde (core material), aktif faz, dolgu, iç faz veya yük (payload) olarak adlandırılır (Fang ve Bhandari, 2010). Öte yandan paketleme materyali veya enkapsülasyonu gerçekleştiren madde, kaplama materyali, duvar materyali (wall material), kapsül, membran, taşıyıcı, kabuk, dış faz veya matriks olarak adlandırılır (Fang ve Bhandari, 2010; Nedovic ve diğ, 2011; Zuidam ve Shimoni, 2009). Bu kaplama materyalleri, şekerlerden, gumlardan, proteinlerden, doğal veya modifiye polisakkaritlerden, lipitler veya sentetik polimerlerden oluşabilmektedirler (Fang ve Bhandari, 2010). Mikrokapsüller basitçe küre şeklinde olup görünüşleri çekirdek materyali ve duvar materyalinin fizikokimyasal özelliklerine, kompozisyonuna ve uygulanan enkapsülasyon tekniğine göre değişiklik göstermektedir (Koç ve diğ, 2010). Enkapsülasyon esnasında oluşan partikül boyutlarına göre enkapsülasyon: makro (>5000 µm), mikro (1.0-5000 µm) ve nano (<1 µm) enkapsülasyon olarak sınıflandırılır. 1 µm'nin altındaki boyutlardaki kapsüller nanokapsül olarak adlandırılmaktadır.

Enkapsülasyon köken olarak biyoteknoloji alanında ilk kez ortaya çıkmıştır. Bu sayede üretim prosesini daha etkili hale getirmek için hücrelerin etrafındaki matriks ile üretici hücrelerin metabolitleri daha hızlı ve etkili ayırımı gerçekleştirebilmiştir (Nedovic ve diğ, 2011). Mikroenkapsülasyon yaklaşık olarak 60 yıl önce geliştirilmiş bir teknolojidir (Fang ve Bhandari, 2010). Mikroenkapsülasyonun ilk ticari kullanımı 1954 yılında karbonsuz kopya kâğıdı üretimi olup farklı enkapsülasyon teknikleri farmakoloji, kimya, kozmetik ve gıda endüstrisinde geliştirilmiştir (Jafari ve diğ, 2008). Son zamanlarda, gıda endüstrisi fonksiyonel bileşenlerin ürünlere eklenmesine ihtiyaç duymuştur. Bu bileşenler çevresel, işleme ve gastrointestinal şartlardan yüksek derecede etkilenen bileşenlerdir. Dolayısıyla enkapsülasyon, bu bileşenlerin etkili bir şekilde korunmasına olanak sağlayan yaklaşım olarak görülmektedir (Nedovic ve diğ, 2011).

Gıda endüstrisinde katı ve sıvı yağlar, esansiyel yağlar, aroma bileşenleri, oleoresinler, fitokimyasallar, antioksidanlar, vitaminler, mineraller, renk maddeleri, probiyotikler ve enzimler gibi birçok bileşen enkapsüle edilmiştir (Madene ve diğ, 2006). Bunun yanısıra tüm bileşenlerin kaplandığı (şekerleme ürünleri, üzüm, finfık gibi) makrokaplama gibi enkapsülasyon teknolojisi uygulamaları da mevcuttur (Desai ve Park, 2005). Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları aşağıda yer alan birçok sebepten dolayı uygulanmaktadır;

- Enkapsülasyon çekirdek materyalinin çevresel şartlara karşı reaktivitesini azaltarak degravasyondan koruyabilir (Sıcaklık, nem, UV radyasyon ve diğer maddelere karşı intereaksiyon gibi).
- Çekirdek materyalinin dış çevreye evaporasyonu veya transfer oranı azalır veya yavaşlatır.
- Orijinal materyalin fiziksel karakterleri modifiye edilebilir ve ele alınması kolaylaştırılmış olunur. Kullanım kolaylığı sağlanmış olunur (sıvı formdaki aroma maddeleri toz forma dönüştürülebilmesi gibi) (Desai ve Park, 2005; Jeon ve diğ, 2003).
- Ürünün (çekirdek materyalinin) istenilen zamanda istenilen etkiyle salınımı gerçekleştirilebilir.
- Çekirdek materyalinin aroması maskelenebilir.
- Küçük miktarlarda kullanımı istendiğinde homojen bir şekilde seyreltilebilmesi sağlanabilir.
- Bir karışım içinde bulunup, aksi halde birbirleriyle reaksiyona girebilecek bileşenlerin birbirinden ayrılması dolayısıyla bileşenlerin reaksiyona girmesinin önlenir (Desai ve Park, 2005; Gharsallaoui ve diğ, 2007; Re, 1998).
- Depolama esnasında hassas gıda bileşenlerinin korunmasını sağlar (Re, 1998).
- Besinsel kayıplara karşı koruma hatta proses sonrası gıdalara besleyici materyallerin eklenmesi (Re, 1998).
- Tat ve aroma bileşenlerinin maskelenmesi veya korunması (Re, 1998).
- Ayrıca gıda ürünlerinin satışında ve sergilenmesinde ekstra çekicilik katabilmekte (daha esneklik, daha aromatik ve besleyici gıdaların geliştirilmesinde kontrol, günümüz tüketicilerin isteklerinin daha iyi karşılanması) (Re, 1998).
- Enkapsülasyon ayrıca biyoaktif bileşenlerin işleme ve depolama sırasında stabilitesini korur.

- Oksidasyon ve hidroliz gibi degradasyon proseslerini yavaşlatır (Nedovic ve diğ, 2011).
- Dolayısıyla biyoaktif bileşenler biyoaktivitesini de tam olarak sürdürmüş olurlar (Nedovic ve diğ, 2011).
- Ayrıca bu uygulama gıda bileşenlerini stabilize eder veya onların biyoyararlılığını artırır (Nedovic ve diğ, 2011).

### 2.8.1 Enkapsülasyonda kullanılan duvar materyalleri

Bir gıda bileşeninin enkapsülasyonunda ilk aşama uygun duvar materyalinin seçimi ve uygun enkapsülasyon tekniğinin seçimidir. Duvar materyalinin seçimine karar verirken etkili olan birtakım parametreler mevcuttur. Bu parametreler genel olarak; arzu edilen ürünün hedefleri ve gereklilikleri, çekirdek materyalinin yapısı, enkapsülasyon prosesi, ekonomik sebepler, kaplama materyalinin FDA ve EFSA tarafından onaylanmış olması, enkapsüle edilen materyalin fiziksel ve kimyasal özellikleri (çözünürlük, polarite, uçuculuk gibi) ayrıca elde edilen son ürünün formu, (toz, kristal...) ve kullanım alanıdır. Mikroenkapsülasyon etkinliği ve depolama süresince mikroenkapsülasyon stabilitesi büyük oranda duvar materyalinin kompozisyonuna bağlıdır (Gharsallaoui ve diğ, 2007; Madene ve diğ, 2006).

Duvar materyalleri temel olarak çekirdek materyaline ve son mikrokapsülün arzu edilen karakteristik özelliklerine bağlı olarak film oluşturucu biyopolimerler, geniş bir aralıktaki doğal veya sentetik polimerler olabilmektedir (Desai ve Park, 2005; Jafari ve diğ, 2008). Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan duvar materyalleri çeşitli karbonhidratlar, proteinler ve lipitlerden oluşmaktadır (Çizelge 2.6).

**Çizelge 2.6 :** Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyonda kullanılan duvar maddeleri (Wandrey ve diğ, 2010).

Kaynak	Karbonditratlar	Proteinler	Lipitler
Bitki	Nişasta ve türevleri	Gluten	Yağ asitleri/alkoller
	Selüloz ve türevleri	(Mısır kaynaklı)	Gliseritler
	Arabik gum	İzolatlar	Wakslar
	Karaya gum	(Soya, bezelye)	Fosfolipitler
	Mesquite gum		
	Bitki ekstraktları		

	Galaktomannanlar		
	Çözünebilir soya		
	Polisakkarit		
Deniz	Karregenat		
	Aljinat		
Mikrobiyal/Hayvansal	Ksantan	Kazeinler	Yağ asitleri/alkoller
	Dekstran	Whey proteinleri	Gliseritler
	Kitosan	Jelatin	Wakslar
	Gellan		Fosfolipitler (Şellak)

Ayrıca duvar materyali seçerken kullanılan teknik de önemlidir. Enkapsülasyon uygulamasını gerçekleştirdiğimiz tekniğe bağlı olarak kullanılan duvar materyalleri de farklılık gösterebilmektedir. Duvar materyalinin kompozisyonu mikrokapsülün fonksiyonel özelliklerini belirleyen asıl faktördür. Genel olarak ideal bir duvar materyali aşağıdaki karakteristik özellikleri taşımalıdır;

- Yüksek konsantrasyonlarda iyi reolojik özelliklere sahip olmalı ve enkapsülasyon esnasında işlenebilirliğinin kolay olması
- Aktif materyale dispersiyonu veya emülsifiye olma yeteneği ve üretilen emülsiyondaki stabilize yeteneği
- Enkapsüle edilen maddeyle hem işleme hem de depolama süresince reaktivitesi olmamalı
- Aktif materyali işleme ve depolama süresince kendi yapısı içerisinde sızdırmadan tutuklayabilme yeteneğine sahip olması
- Aktif materyali çevre şartlarına (Oksijen, ısı, ışık, nem gibi) karşı maksimum derecede koruyabilme yeteneğine sahip olması
- Gıda endüstrisinde kabul edilebilir solventlerde çözünebilir olmalı (örneğin su, etanol gibi)
- Aktif çekirdek materyali ile kimyasal olarak reaktivitesi olmamalı
- Ucuz ve gıda olarak tüketilebilir olması
- Kullanımı kolay olmalı (Desai ve Park, 2005; Madene ve diğ, 2006).

Tek bir kaplama materyalinin yukarıda sayılan tüm özellikleri karşılayamaması sebebi ile uygulamada ya kaplama materyalleri kombinasyonlarla kullanılmakta veya antioksidanlar, çelat oluşturucu ajanlar, okijen temizleyiciler ve sürfaktanlar eklenebilmektedir (Desai ve Park, 2005).

## 2.9 Enkapsülasyon Yöntemleri

Enkapsülasyon yönteminin seçimi, çekirdek materyalinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve enkapsüle edilecek materyalinin kullanım alanına bağlı olarak değişebilmektedir. Enkapsülasyon yönteminin ve kaplama materyalinin seçimi birbirine bağımlı parametrelerdir. Kaplama materyaline bağlı olarak veya uygulanacak alana bağlı olarak uygun metod ve kaplama materyali seçilmektedir. Uygun enkapsülasyon yöntemi kaplanacak materyalin özelliklerine ve son üründe arzu edilen özellikleri elde edecek şekilde seçilmektedir (Madene ve diğ, 2006).

Enkapsülasyon prosesinin seçimi aşağıdaki parametrelere bağlı olarak değişebilmektedir;

- Gerekli olan ortalama partikül boyutu
- Hem çekirdek hem de kaplama materyalinin fiziksel/kimyasal özellikleri
- Mikroenkapsüle edilen materyalin kullanım alanı
- Arzu edilen salınım mekanizması
- Endüstriyel ölçekte tasarlanabilirliği
- Makul proses maaliyeti (Re, 1998)

Kullanılan enkapsülasyon prosesine bağlı olarak elde edilen kapsüllerin partikül boyutları farklı aralıklarda olabilmektedir (Çizelge 2.7).

**Çizelge 2.7 :** Enkapsülasyon metoduna göre kapsüllerin özellikleri (Madene ve diğ, 2006).

	<b>Enkapsülasyon Metodu</b>	<b>Partikül Boyutu (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Maksimum Yükleme (%)</b>
Kimyasal teknikler	Basit koaservasyon	20-200	<60
	Kompleks koaservasyon	5-200	70-90
	Moleküler enklüzyon	5-50	5-10
	Mekanik teknikler	Spray drying	1-50
	Spray chiling	20-200	10-20
	Ekstrüzyon	200-2000	6-20
	Akışkan yatak	>100	60-90

Polifenollerin enkapsülasyonunda kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bunlar fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal yöntemlerdir.

- Fiziksel yöntemler: Püskürtmeli kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, süper kritik akışkanların kullanıldığı prosesler.
- Fizikokimyasal yöntemler: Püskürtmeli soğutma, iyonik jelasyon, sıcak erime kaplama (hot melt coating), solvent evaporasyon-ekstraksiyon, basit veya kompleks koaservasyon
- Kimyasal yöntemler: Arayüzey polikondensasyon, yerinde polimerizasyon, arayüzey polimerizasyon, arayüzey çapraz bağlama (Munin ve Levy, 2011).

Bunun yanı sıra gıda endüstrisinde uygulama alanlarına bağlı olarak farklı enkapsülasyon teknikleri kullanılmaktadır (Çizelge 2.8).

**Çizelge 2.8 :** Farklı enkapsülasyon tekniklerinin gıda endüstrisinde kullanımı (Madene ve diğ, 2006).

Enkapsülasyon Tekniği	Enkapsüle Form	Uygulama Alanı
Koaservasyon	Toz/kapsül	Sakızlar, fırıncılık ürünleri
Püskürtmeli Kurutma	Toz	Gıda aromaları, şekerlemeler, süt tozu, instant tatlılar ve içecekler
Akışkan yatak kurutma	Toz/granül	Hazır yemekler, şekerlemeler
Spray Cooling/Chiling	Toz	Hazır yemekler, buzlar
Ekstrüzyon	Toz/granül	Instant içecekler, şekerlemeler, çaylar
Moleküler enklüzyon	Toz	Şekerlemeler, instant içecekler, ekstüre çerezler

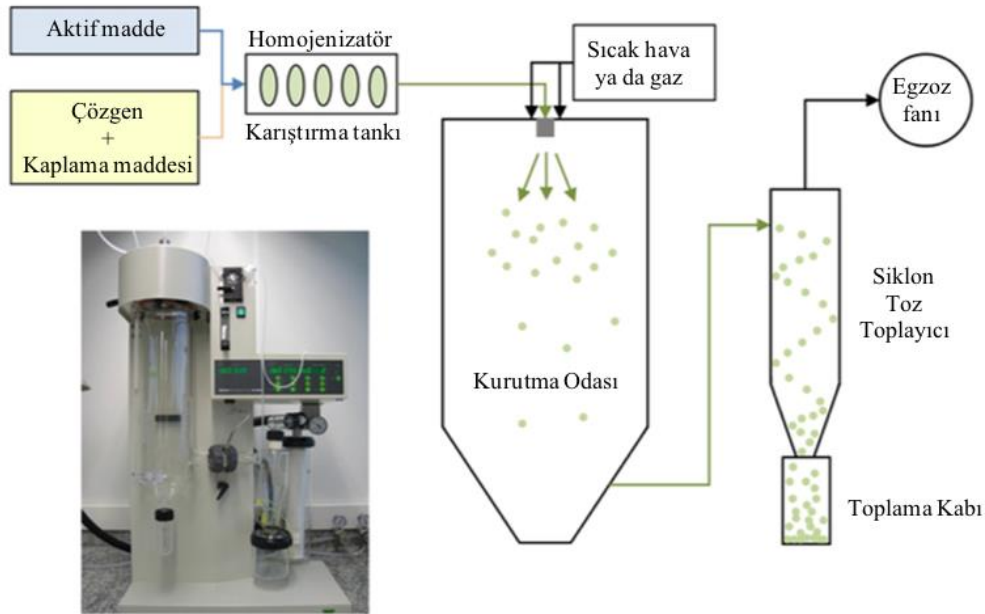
Biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda yaygın olarak kullanılan teknikler püskürtmeli kurutma ve moleküler enklüzyon tekniğidir. Buna rağmen bu yöntemler polifenoller gibi hassas bileşenlerden enkapsulant üretimi esnasında yüksek sıcaklıktan dolayı bu bileşenlerin degravasyonuna sebebiyet verirler (Balanc ve diğ, 2016).

Bu yöntemler arasından katı lipit nanopartikül ve elektrostatik ekstrüzyon yöntemi diğer yöntemlere olan üstünlükleri nedeniyle öne çıkan enkapsülasyon tekniklerindedir.

Yeşil çay ve kateşinlerinin enkapsülasyonunda mikropartiküller, mikrokapsüller, nanopartiküller ve lipid nanokapsüllerden liposomlar, miseller ve mikroemülsiyonlar gibi yaklaşımlar uygulanmıştır. Aşağıda bu çalışmada kullanılan enkapsülasyon teknikleri hakkında bilgi verilmiştir.

### 2.9.1 Püskürtmeli kurutma

Püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyon gıda endüstrisinde 1950'lerden beri kullanılmakta olan en eski ve en çok kullanılan enkapsülasyon teknolojisidir. Püskürtmeli kurutma tekniği; ekonomik, esnek, sürekli uygulanabilir oluşu, boyutları 40 µm'den daha düşük iyi kalitede partikül üretmesinden dolayı gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan mikroenkapsülasyon tekniği olarak karşımıza çıkmaktadır (Fang ve Bhandari, 2010; Nedovic ve diğ., 2011). Bu özellik son ürünün duyuusal ve tekstürel açıdan arzu edilen bir özelliğidir (Nedovic ve diğ., 2011). Püskürtmeli kurutma yönteminde sıvı ürün atomizer yardımı ile çok küçük damlacıklar halinde sıcak hava ortamına verilir. Yapıdaki su yüksek buharlaşma hızından dolayı kısa süre içinde üründen uzaklaşır. Ürün uygulanan yüksek sıcaklıklara rağmen kuruma süresinin kısa olmasından dolayı zarar görmeden elde edilmektedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 : Püskürtmeli kurutma prosesi (Charvarri ve diğ., 2012).

Püskürtmeli kurutma yöntemi ile enkapsülasyon işleminde 4 aşama vardır;

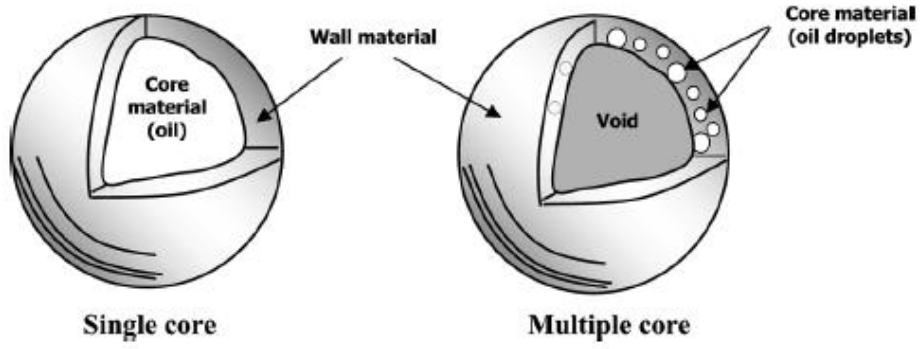
1. Dispersiyon veya emülsiyon hazırlama

2. Dispersiyonun homojenizasyonu

3. Atomizasyon

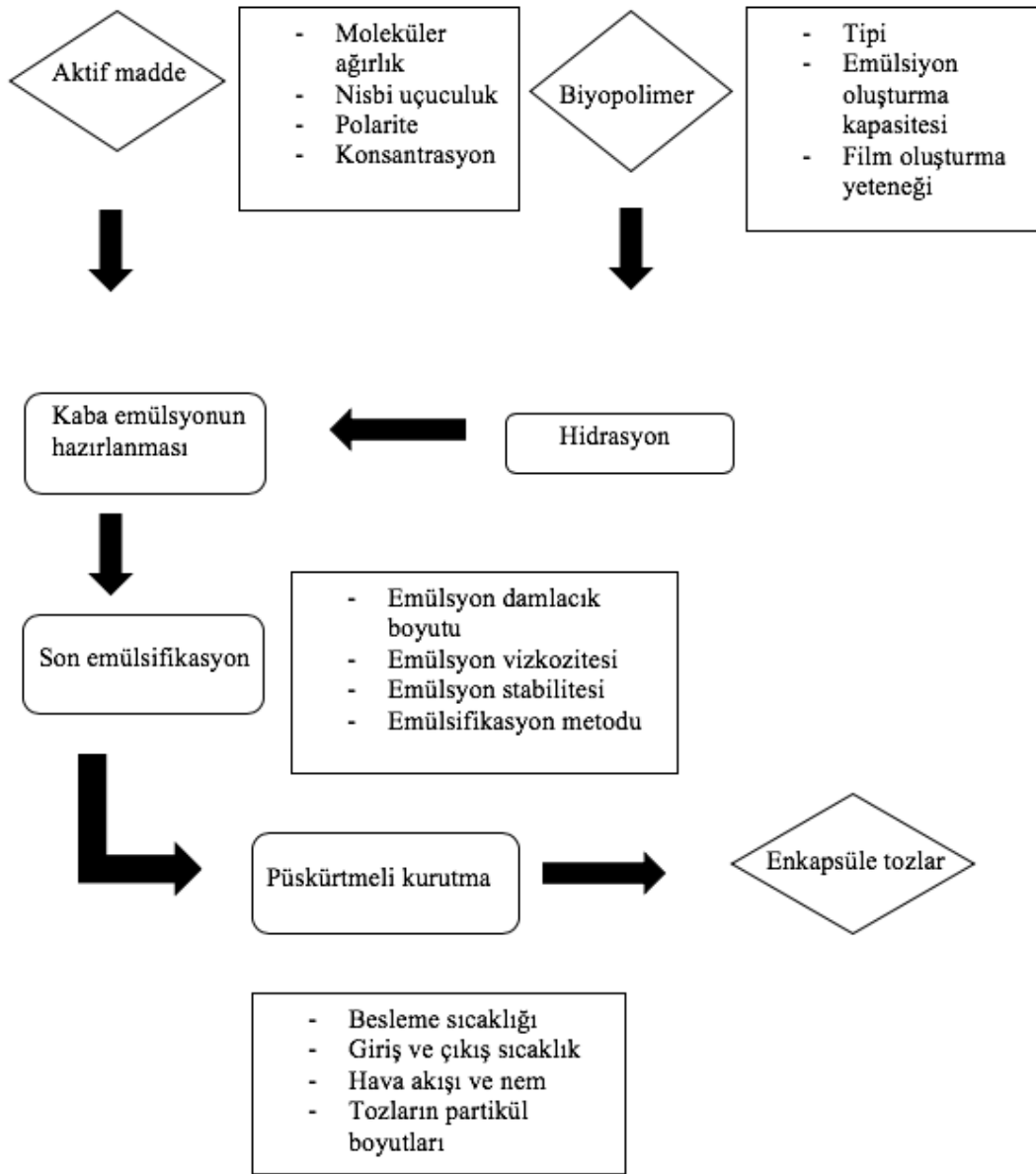
4. Kurutma (Koç ve Sakin, 2010).

Püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyonda polisakkaritler (nişasta, maltodekstrin, mısır şurupları ve arabik gum), proteinler (Jelatin, kazein, serum proteinleri ve buğday), lipitler (stearik asit, mono ve digliseritler) gibi farklı duvar materyalleri kullanılmaktadır (Saenz ve diğ, 2009). Karbonhidratlar, süt proteinleri ve yeni geliştirilen biyopolimerler püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonda en uygun ve mevcut duvar materyallerinin 3 temel sınıfını oluşturmaktadır (Jafari ve diğ, 2008). En uygun duvar materyali seçildikten sonra su içerisinde rehidrate edilmektedir (bazen bu işlem ısıtma eşliğinde de gerçekleştirilebilir). Bu durum yüzey aktif biyopolimerlerin emülsiyon oluşturması esnasında emülsifiye edici özelliğini sergilemesi açısından önemlidir. Duvar materyali hidrate edildiğinde, çekirdek materyali yüksek hızlı karıştırma veya yüksek kesmeli emülsifikasyon aracılığı ile iri taneli emülsiyon oluşturmak için eklenmelidir. Ardından yüksek basınçlı homojenizasyon, mikrofludizasyon gibi diğer emülsifikasyon yöntemleri ile son emülsiyon oluşturulur. Besleme emülsiyonunun hazırlanmasının ardından, püskürtmeli kurutmanın kurutma haznesine pompalanılır. İki farklı atomizer kullanılır; yüksek basınçlı nozul ve santrifüjlü dönen başlık. Endüstride bu iki ataomizerde eşit olarak kullanılmaktadır. Her tip atomizer kendi içinde avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Literatürde birinin diğerinden daha iyi olduğuna dair bilgi henüz mevcut değildir. Atomize edilen damlacıklar kurutma odasında sıcak hava boyunca düştükçe küresel bir şekil alırlar. Gıda aromalarının ve yağlarının emülsiyonunda genellikle eş yönlü hava akışı kullanılır. Suyun damlacıklardan hızlı bir şekilde evaporasyonu dış yüzey filminin katılaşmasını sağlar ve bu durum proste yüksek sıcaklığın kullanılmasına rağmen (150 °C) merkez sıcaklığın daha aşağıda olmasını sağlar (100 °C). Partiküller en çok birkaç saniye içerisinde sıcaklığa maruz kalırlar. Çünkü çekirdek materyali aroma maddeleri gibi birçok farklı kaynama noktalarına sahip bileşenleri içerebilir. Kuruma esnasında düşük kaynama noktalı aromatiklerin kaybı mümkündür. (Jafari ve diğ. 2008). Kuruma prosesi esnasında damlacık yüzeyinde bir tabaka oluşur ve kuruyan damlacık içerisindeki bileşenlerin konsantrasyonu artar. Sonuç olarak gözenekli kuru bir materyal elde edilir (Zuidam ve Shimoni, 2009). Püskürtmeli kurutma ile elde edilen enkapsüle tozlar çoklu çekirdek yapısıyla çok küçük partikül boyutlarına sahiptir (Şekil 2.7) (Jafari ve diğ, 2008).



**Şekil 2.7 :** Mikrokapşül yapıların iki farklı şekli (Jafari ve diğ, 2008).

Püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyonda enkapsülasyon etkinliğini etkileyen birçok parametre bulunmaktadır (Şekil 2.8). Bunlar enkapsülasyonda kullanılan duvar materyalinin özellikleri, çekirdek materyalinin özellikleri, besleme emülsiyonunun özellikleri ve püskürtmeli kurutma prosesinin şartlarıdır (Jafari ve diğ, 2008).



**Şekil 2.8 :** Püskürtmeli kurutmada enkapsülasyon etkinliği üzerinde etkili olan parametreler (Jafari ve diğ., 2008).

Püskürtmeli kurutma tekniğinde optimum kurutma şartları ayarlanarak aroma maddelerinin yaklaşık olarak hepsi korunmaktadır. Bu görüşe göre 2 farklı teori öne sürülmektedir. Selektif difüzyon teorisine göre; atomize olan damlacıkların yüzey nemi %7-23 düzeylerine azaldığında bu kuru yüzey suyun difüzyonuna izin veren fakat aroma maddelerini etkili bir biçimde tutan yarı geçirgen membran gibi davranmaktadır. Kurutma devam ettikçe su molekülleri ile kıyaslandığında aroma moleküllerinin difüzivitesi gittikçe azalmaktadır. Dolayısıyla kayıpların çoğu püskürtmeli kurutmanın ilk aşamalarında gerçekleşmektedir. Kısmi uçuculuk teorisine göre; suya nispeten yüksek uçuculuğa sahip aroma maddeleri daha düşük uçuculuğu olanlara göre ilk kurutma aşamalarında daha fazla

kaybolmaktadırlar. Dolayısıyla uçuculuğun en çok olduğu kısımlar tespit edilip bu kısımlar hakkında optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmelidir (Jafari ve diğ, 2008).

### **2.9.1.1 Püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyonun avantaj ve dezavantajları**

Püskürtmeli kurutma tekniği; düşük operasyon maliyeti, iyi verimde yüksek kalitede kapsül üretimi, elde edilen kapsüllerin hızlı çözünübilirliği, küçük boyut eldesi, yüksek stabilitede kapsüllerin eldesi, çekirdek materyalinin iyi derecede korunması, geniş bir çeşitlilikteki duvar materyalinin uygulanabilirliği gibi birçok avantaja sahipken, uniform olmayan mikrokapsüllerin üretimi, partikül boyutunun kontrol edilebilirliğinin zor olması, kaplama materyallerindeki sınırlamalar (yüksek konsantrasyonlarda düşük vizkozite), ısıya hassas materyaller için iyi bir uygulama olmaması gibi bir çok dezavantaja da sahiptir (Madene ve diğ, 2006; Maswal ve Dar, 2014; Nedovic ve diğ, 2011).

### **2.10 Katı Lipit Nanopartikül (SLN)**

Katı lipit nanopartiküller (SLN) ilk olarak 1991'de bahsedilen, vücut ve oda sıcaklığında katı olan kolloidal lipit taşıyıcılarıdır. SLN'ler GRAS listesindeki lipit ve sürfaktanlar kullanılarak elde edilirler. Dolayısıyla toksik değildirler (Almeida ve Souto, 2007; Lasoń ve Ogonowski, 2011; Silva ve diğ, 2011). Duvar materyali olarak oda ve vücut sıcaklığının üzerinde erime noktasına sahip bazı trigliseritler, mono ve digliserit karışımları, vakslar, sert yağlar ve diğer tip lipitler kullanılarak elde edilirler (Çizelge 2.9) (Campos ve diğ, 2017).

**Çizelge 2.9** : SLN hazırlarken yaygın olarak kullanılan lipitler (Campos ve diğ, 2017).

---

#### **Trigliseritler**

Gliseril tristearat

Gliseril tripalmitat

Gliseril trimiristat

Orta zincirli trigliseritler

Gliseril trioleat

#### **Monogliseritler**

Gliseril monostearat

#### **Karışımlar**

Gliseril behenat

Gliseril palmitostearat

---

**Çizelge 2.9** : SLN hazırlarken yaygın olarak kullanılan lipitler (devam).

---

Witepsol

**Serbest yağ asitleri**

Behenik asit

Stearik asit

Miristik asit

Palmitik asit

Oleik asit

**Serbest yağ alkolleri**

Stearil alkol

Setil alkol

Miristil alkol

Lauril alkol

**Vakslar**

Setil palmitat

Balmumu vaksı

Karnauba vaks

**Diğerleri**

Hint yağı

Hidrojenize hint yağı

Hidrojenize palm yağı

Kakao yağı

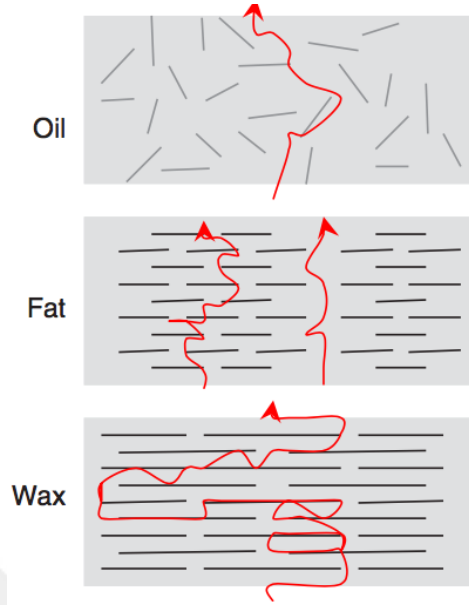
Keçi yağı

Anhidrat süt yağı

---

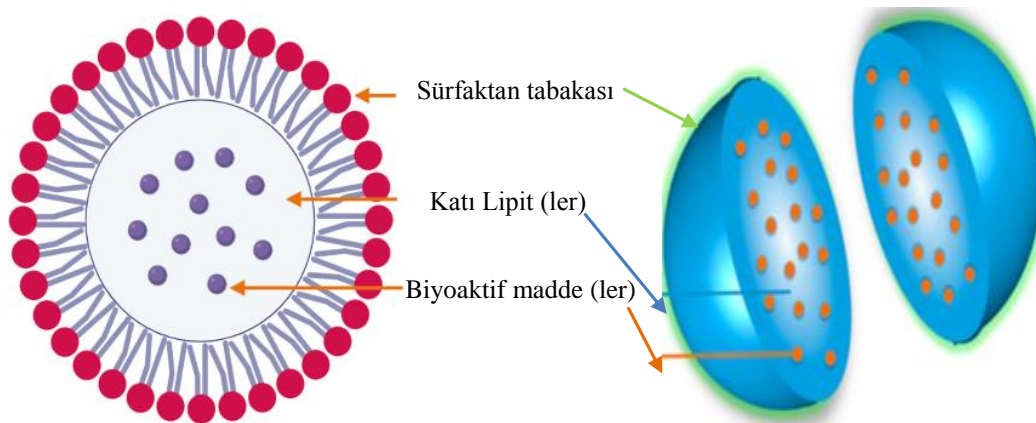
Yenilebilir vaksların kullanımı enkapsülasyonda birçok açıdan avantajlar sağlamaktadır. Özellikle balmumu ve karnauba vaksın doğal olması, toksik olmaması ve GRAS listesinde yer alması bu avantajlar içerisinde sayılabilir (Galvao ve diğ, 2020). Farmakolojide suda çözünabilir etken maddelerin enkapsülasyonunda gastrointestinal sistemde salınımını geciktirmek amacıyla taşıyıcı sistem olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Mellema ve diğ, 2006). Ayrıca vakslarda tabaka benzeri kristallerin oluşumu enkapsüle edilen küçük bileşenlerin difüzyonunu engellemesinde diğer kaplama maddelerine kıyasla daha etkili olduğuna dair göstergeler mevcuttur. Bu hipotez “labirent etkisi” şeklinde tanımlanmakta olup Şekil 2.9’da gösterilmiştir. Tüm bu özellikler suda

çözünebilir bileşenlerin enkapsülasyonunda vaksların kullanımında yüksek potansiyeller sunmaktadır (Mellema ve diğ, 2006).



**Şekil 2.9 :** Kaplama materyali olarak vaks kullanımında labirent etkisinin şematik gösterimi (Mellema ve diğ, 2006).

Emülsifiyer olarak ise lipit dispersiyonunu stabilize eden tüm çeşitler kullanılabilir. Bunun yanı sıra çeşitli emülsifiyerlerin kombinasyonunun kullanımının partikül aglomerasyonunda daha etkili olabildiği kanıtlanmıştır. Bu yöntem, emülsiyonlar, lipozomlar ve polimerik mikro ve nanopartiküller gibi birçok geleneksel taşıyıcı sistemlere alternatiftir. Aynı zamanda 50-1000 nm boyutlarında farklı yapısal görünüme sahip partikül üretimi sağlarlar (Şekil 2.10) (Ekambaram ve diğ, 2012).



**Şekil 2.10 :** SLN'lerin yapısal görünümü (Mishra ve diğ, 2018; Sastri ve diğ, 2020).

SLN diğer kolloidal taşıyıcıların tüm avantajlarına sahipken dezavantajlarından yoksundur (Lasoń ve Ogonowski, 2011). SLN'lerin avantaj ve dezavantajları aşağıdaki gibidir;

#### Avantajlar:

- Akut veya kronik toksisite tehlikesini azaltan biyobozunur fizyolojik lipitlerin kullanımı
- Kullanılan lipitlerin GRAS listesinde yer alması
- Organik solvent kullanmaksızın üretimin gerçekleştirilmesi
- Kimyasal olarak dayanıksız olan bileşenlerin sindirim sisteminde degradasyondan korunması
- Çevresel şartlara karşı koruma
- Nispeten suda çözünür moleküllerin biyoyararlılığının artırılması
- Endüstriye uygulanabilirliği ve sterilizasyon kolaylığı
- SLN'ler lipozom tekniğiyle karşılaştırıldığında daha iyi stabilite gösterirler
- Hapsedilmiş biyoaktif bileşenin biyoyararlılığını arttırmak
- Fonksiyonel bileşene erişimde yüksek konsantrasyon
- Liyofilizasyonun mümkün olması
- Yüksek yükleme
- Aktif bileşenin kontrollü salınımı ve hedef edilen yere ulaşması
- Biyopolimerik nanopartiküllerin üretiminden çok daha kolay olması
- Çok yüksek ve uzun süreli stabilite
- Ticari sterilizasyon prosedürlerine tabi tutulabilir (Ekambaram ve diğ, 2012; Garud ve diğ, 2012; Lasoń ve Ogonowski, 2011).

#### Dezavantajları:

- Depolama esnasında polimerik geçişten sonra ilaç salınması
- Dispersiyonların nispeten daha yüksek su içeriği (%70-99.9) (Garud ve diğ, 2012; Schwarz ve diğ, 1994).

Katı lipit nanopartikül ve mikropartikül üretiminde birçok farklı yöntem vardır. Nanopartikül ve mikropartiküllerin üretimi öncül olarak disperse sistemlere ihtiyaç duyar. En önemli öncüller emülsiyonlar (sıcak homojenizasyon tekniği, melt dispersiyon tekniği, emülsiyonlardan solvent evaporasyon-difüzyonu), mikroemülsiyonlar (mikroemülsiyon dilüsyon ve mikroemülsiyon soğutma tekniği), misel solüsyonlarıdır (koaservasyon tekniği).

Emülsiyonlar birbiri içerisinde karışmayan (örn. Su-W ve yağ-O) emülsifiye ajanların kullanımını ile biri diğeri içerisinde damlacıklar halinde disperse olan iki sıvının karışımından oluşan sistemlerdir. Sürekli ve disperse fazın özelliklerine göre emülsiyonlar; su içinde yağ emülsiyonu (O/W), yağ içinde su emülsiyonu (W/O) ve çoklu (W/O/W ve O/W/O) emülsiyonlardır. Katı lipit partiküllerin üretiminde emülsiyonlar öncüller olarak kullanılırlar. Oda sıcaklığında katı olan lipitler sıvı lipit fazı elde etmek için erime noktalarının 5-10 °C üzerine ısıtılırlar. Aynı sıcaklıktaki su fazı ile emülsiye edilirler. Elde edilen sıcak emülsiyonlar daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutulurlar. Damlacıklar katı lipit partiküller olarak katılaşırlar (Şekil 2.12). Sıcak emülsiyon damlacıklarının boyutlarına göre nano- veya mikropartiküller elde edilir (Battaglia ve diğ, 2014).

SLN, sıcak O/W nanoemülsiyonlarından elde edilebilirler (damlacık boyutu < 1µm). Bu teknik sıcak homojenizasyon tekniği olarak bilinir. Sıcak homojenizasyon eldesinde yüksek basınçlı homojenizasyon, yüksek kesmeli homojenizasyon ve ultrasound homojenizasyon gibi farklı teknikler kullanılır (Battaglia ve diğ, 2014).

SLM ise sıcak emülsiyonlardan elde edilir (damlacık boyutu > 1µm). Bu teknik melt dispersiyon tekniği olarak bilinir. O/W veya çoklu W/O/W öncül emülsiyonları kullanılır.

Katı lipit nanopartikül ve mikropartikül üretiminde kullanılan temel teknikler Çizelge 2.10'da gösterilmiştir (Battaglia ve diğ, 2014).

**Çizelge 2.10 :** Katı lipit nanopartikül ve mikropartikül üretim teknikleri (Battaglia ve diğ, 2014).

Öncül sistem	Teknik	Nanopartikül Türü
Emülsiyon	Sıcak homojenizasyon	SLN
Emülsiyon	Melt dispersiyon	SLM
Emülsiyon	PIT tekniği	SLN
Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyon dilüsyon	SLN
Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyon soğutma	SLN
Misel solüsyon	Koaservasyon	SLN
Organik solvent solüsyon	Solvent enjeksiyon	SLN

**Çizelge 2.10 : Katı lipit nanopartikülve mikropartikül üretim teknikleri (devam).**

Organik solvent emülsiyon	Emülsiyonlardan solvent evaporasyonu	SLN
Organik solvent emülsiyon	Emülsiyonlardan solvent difüzyonu	SLN
Doygun gaz solüsyonu	Doygun gaz solüsyonundan partiküller	SLN/SLM
Süperkritik akışkan emülsiyonu	Emülsiyonların süperkritik akışkan ekstraksiyonu	SLN
	Membran kontaktör tekniği	SLN
	Kriyojenik mikronizasyon	SLM
	Püskürtmeli kurutma	SLM
	Elektrospray	SLN/ SLM
	Püskürtmeli dondurma	SLM

### 2.10.1 Katı lipit nanopartikül üretim yöntemleri

Katı lipit nanopartiküller lipit, emülsifiyer ve su/solvent ile aşağıdaki farklı yöntemlerden biri kullanılarak hazırlanırlar (Ekambaram ve diğ, 2012).

SLN'ler hazırlanırken kullanılan yöntemler:

1. Yüksek basınçlı homojenizasyon
  - a. Sıcak homojenizasyon
  - b. Soğuk homojenizasyon
2. Ultrasonikasyon/Yüksek hızlı homojenizasyon
3. Solvent evaporasyon
4. Solvent emülsifikasyon-difüzyon metodu
5. Süperkritik akışkan metodu
6. Mikroemülsiyon bazlı yöntem
7. Püskürtmeli kurutma yöntemi
8. Çift katlı emülsiyon yöntemi

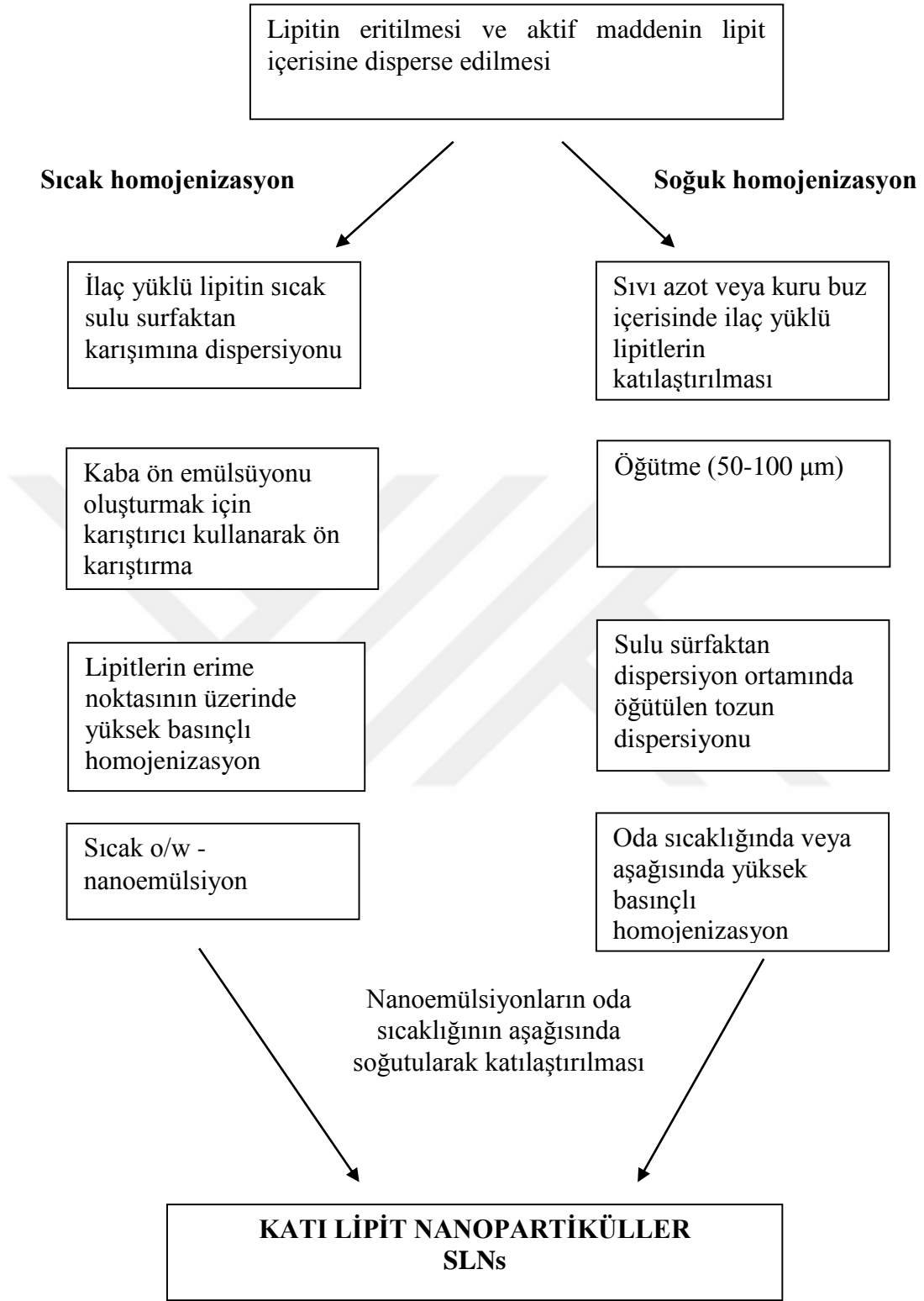
9. Çöktürme tekniği

10. Film-ultrasound dağılım (Ekambaram ve diğ, 2012)

### 2.10.1.1 Yüksek basınçlı homojenizasyon

Katı lipit nanopartikül üretiminde kullanılan etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Bu yöntemde sıvı yüksek bir basınçta (100-2000 bar) dar bir aralıktan geçirilir. Akışkan çok kısa bir mesafede çok yüksek hızlara ulaşır (1000 km/h üzerine). Çok yüksek kesme kuvveti ve kavitasyon güçleri partikülleri mikronaltı boyutlara parçalar. Genellikle lipit içeriği %5-10 arasındadır. Hatta daha yüksek lipit konsantrasyonları (%40'a kadar) da homojenize edilmiştir. Yüksek basınçlı homojenizasyonda sıcak ve soğuk homojenizasyon olmak üzere 2 yöntem vardır.

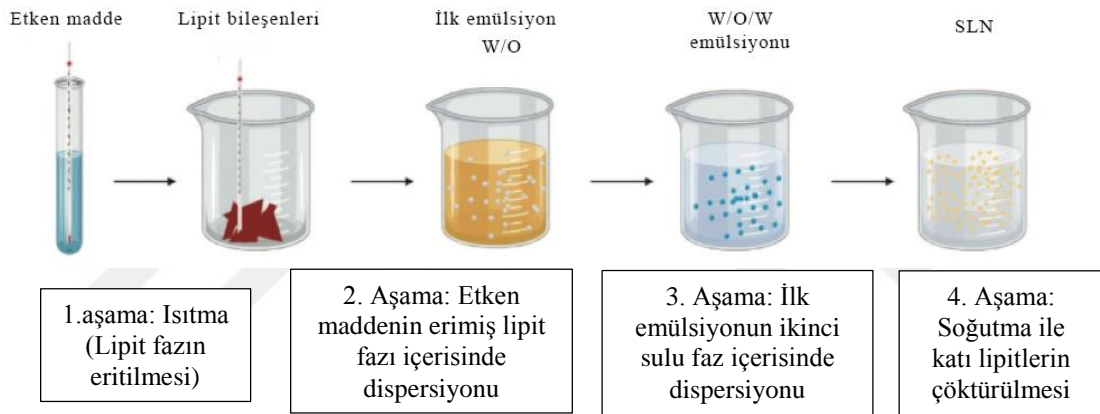
- a. Sıcak homojenizasyon: Sıcak homojenizasyon lipitin erime noktasının üzerinde gerçekleştirilir ve dolayısıyla bir emülsiyonun homojenizasyonu olarak görülebilir. Aktif materyal yüklü lipit eriyiğinin ön emülsiyonu ve aynı sıcaklıktaki sıvı emülsifiyer faz yüksek kesme-karıştırma cihazı (Ultra-Turrax) kullanılarak hazırlanır (Ekambaram ve diğ. 2012; Mehnert ve Mader, 2001). Yüksek basınçlı homojenizasyonda ön emülsiyon lipitin erime noktasının üzerinde gerçekleştirilir. Genellikle, yüksek sıcaklıklar iç fazın vizkozitesinin azalmasından dolayı daha yüksek partikül boyutlarının eldesi ile sonuçlanır. Bunun yanısıra, yüksek sıcaklıklar taşıyıcı materyal ve aktif fazın degradasyonunu arttırabilir. Homojenizasyon basıncının ve homojenizasyon sayısının artması partiküllerin kinetik enerjilerindeki artıştan dolayı partikül boyutunun artmasıyla sonuçlanır. Genellikle 500-1500 barda 3-5 kez homojenizasyon yeterli olmaktadır (Şekil 2.11) (Ekambaram ve diğ, 2012; Mehnert ve Mader, 2001).
- b. Soğuk homojenizasyon: Soğuk homojenizasyon, sıcak homojenizasyonda karşılaşılan; sıcaklık bazlı ilaç degradasyonu, homojenizasyon esnasında sıvı faza ilaç dağılımı gibi çeşitli problemlerin üstesinden gelmek için geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu teknikte, ilaç (aktif madde) içeren lipit eriyiği soğutulur, katı lipit mikropartikülleri soğuk surfaktan solüsyonu içerisine disperse edilir ve ön süspansiyon elde edilir. Ardından bu ön süspansiyon oda sıcaklığında veya oda sıcaklığının aşağısında homojenize edilir (Ekambaram ve diğ, 2012). Sıcak homojenizasyonla karşılaştırıldığında daha büyük partikül boyutları ve daha geniş boyut dağılımı gösterirler (Şekil 2.11) (Garud ve diğ, 2012).



**Şekil 2.11** : SLN üretmek için kullanılan sıcak ve soğuk homojenizasyon tekniklerinin uygulama aşamaları (Mehnert ve Mader, 2001).

### 2.10.1.2 Melt dispersiyon

Melt dispersiyon tekniğinde SLM'ler aktif materyalin lipofilik veya hidrofilik olmasına bağlı olarak O/W veya çoklu W/O/W emülsiyonlarından elde edilir. İlk durum için, lipofilik aktif materyal eritilmiş lipit fazı içerisinde çözündürülür, sıcak sürfaktan solüsyonu ile yüksek parçalayıcı karıştırıcı aracılığı ile emülsifiye edilir. Elde edilen O/W emülsiyonu katılaştırılmış lipit mikropartiküllerinin eldesi için oda sıcaklığına kadar soğutulur (Bodmeier ve diğ, 1992a). İkinci durum için ise, ısıtılmış hidrofilik aktif materyal solüsyonu ilk W/O emülsiyonu eldesi için eritilmiş lipit ile emülsifiye edilir. Daha sonra W/O/W çoklu emülsiyonu eldesi için aynı sıcaklıkta dış sulu faz ile birleştirilir. Elde edilen bu emülsiyon mikropartikül eldesi için soğutulur (Bodmeier ve diğ, 1992b). Çoklu emülsiyon öncül sistemleri kullanılarak partikül eldesi Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



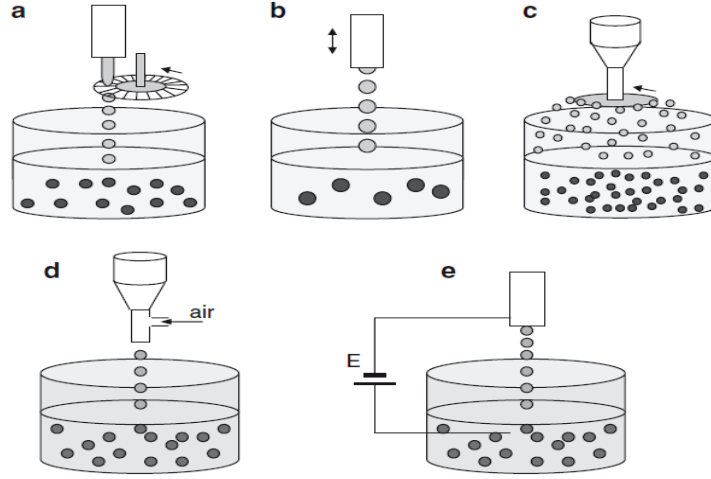
Şekil 2.12 : Çoklu emülsiyon öncülü ile katı lipit partikül eldesi (Sastri ve diğ, 2020).

### 2.11 Ekstrüzyon

Ekstrüzyon teknolojisi çeşitli şartlar altında bir materyalin farklı çaplardaki bir açıklık boyunca akışına zorlanarak tüketici istekleri ve üretici spesifikasyonlarına bağlı olarak farklı özelliklerde ürün üretmeyi sağlayan teknoloji olarak tanımlanmaktadır. Ekstrüzyon ilk kez 1957 yılında uygulanan düşük sıcaklıkta kapsül üretebilen enkapsülasyon yöntemi olarak bilinmektedir. Bu yöntem, uçucu ve ısı stabilitesi düşük olan aroma maddelerinin enkapsülasyonunda daha çok kullanılmaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı, aroma bileşenlerinin oksidasyona karşı stabilitesini arttırmaktır (Bamidele ve Emmambux, 2021; Madene ve diğ, 2006; Özcan ve Altun, 2013). Kullanılan farklı ekstrüder tiplerine, ekstrüzyon şartlarına, üretilen ekstrüdat tipine bağlı olarak farklı ekstrüzyon teknikleri mevcuttur. Bu ekstrüzyon teknolojileri 5 kategorye ayrılmaktadır:

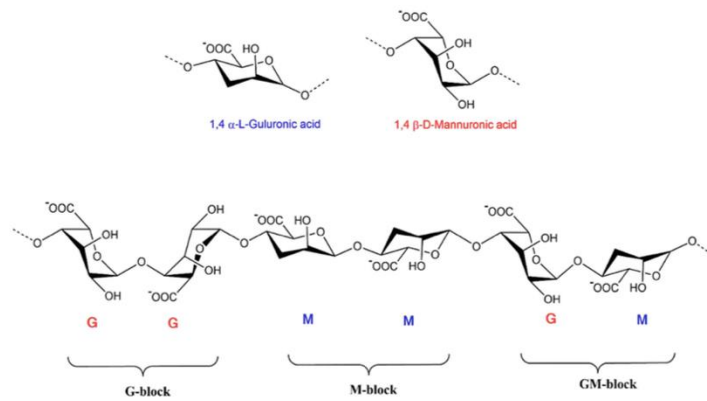
- Sıcak-eriyik ekstrüzyonu
- Eriyik enjeksiyonu
- Santrifüjlü/birlikte ekstrüzyon
- Elektrostatik/Elektrospining
- Doygun gaz solüsyonunda partikül eldesi (PGSS)

Elektrostatik ekstrüzyon, elektrostatik yüklerin uygulandığı ve iğne düzeneğinden oluşan bir sistemdir (Şekil 2.16). Elektrostatik ekstrüzyon biyoaktif bileşenlerin elektrostatik güçler ile ekstrüzyon iğnesi boyunca elektrostatik yüklerin geçtiği bir sertleştirme çözeltisi (jealasyon çözeltisi, hardening solüsyonu) içerisine damlatılmasıyla polimerik mikrokürelerin eldesini sağlayan bir sistemdir (Bamidele ve Emmambux, 2021; Low ve Lim, 2014). Bu sistem, yüklü (pozitif) iğne ve toplama solüsyonu arasında elektriksel alan uygulayarak sıvının iğne ucundan iplik şeklinde akışını bozarak yüklü küçük damlacıkların oluşmasını sağlar (Balanc ve diğ, 2016; Low ve Lim, 2014). Üretilen mikrokürelerin boyutları 50-1000 µm arasında olmaktadır (Paques ve diğ, 2014). Üretilen polimer mikrokürelerin boyutları proses değişkenleri, sistemin etkisi ve kullanılan polimerin özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Bugarski ve diğ, 2005). Ayrıca proses uygulanan elektriksel potansiyelinin, iğne ucunun, iğne ucu yüksekliğinin, akış hızının, enkapsülant konsantrasyonunun değiştirilmesi ile kolaylıkla kontrol edilebildiğinden istenilen boyutlarda daha küçük mikroboncukların eldesine olanak tanır. Aynı zamanda elektrostatik ekstrüzyon yüksek konsantrasyondaki biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonuna yardımcı olur (Bamidele ve Emmambux, 2021). Biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda küresel hidrojel mikroboncuklar elde etmek için farklı ekstrüzyon teknikleri kullanılmaktadır (Kostic ve diğ, 2012). Bu tekniklerin arasından elektrostatik ekstrüzyon tekniğinin istenilen boyutlarda küçük uniform partiküllerin üretiminde uygun teknik olduğu belirtilmiştir (Stojanovic ve diğ, 2012). Kaplama materyali olarak genellikle hidrokolloidlerin (aljinat ve karragenan) kullanıldığı bir tekniktir. Çekirdek materyalini içeren çözeltinin yüksek basınçla küçük açıklıklardan geçirilmesi ana prensiptir. Ucuz, basit ve verimli bir yöntemdir. Teknolojisi zararlı çözücüler içermez, aerobik ve anaerobik koşullar altında uygulanabilmektedir. Dezavantajı ise, mikroboncuk oluşumunun yavaş olması nedeniyle büyük ölçekli üretimlerde kullanımının zorluğudur (Özcan ve Altun, 2013). Ekstrüzyon teknolojisinde mikrokürecikler farklı teknikler kullanılarak oluşturulmaktadır (Şekil 2.13).



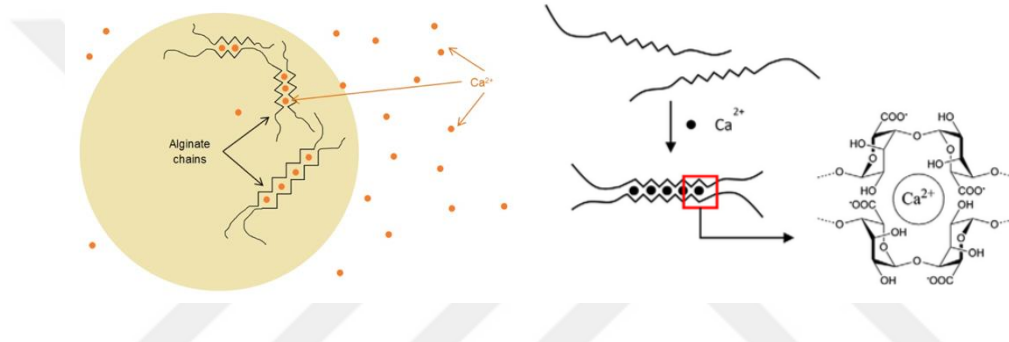
**Şekil 2.13 :** Mikroküre oluşturmada farklı tekniklerin kullanıldığı ekstrüzyon yöntemleri **a.** Aljinat ve çekirdek materyalinin oluşturduğu sıvı çözeltinin jet-cutter aracılığı ile atomize edilmesi **b.** Pipet veya titreşimli nozul ile atomize edilmesi **c.** disk ile atomize edilmesi **d.** Eşmerkezli hava akışı ile atomize edilmesi **e.** Elektrostatik potansiyel ile atomize edilmesi (Zuidam ve Shimoni, 2009).

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği, polimer karışımının katılaştırma solüsyonu ( $\text{CaCl}_2$  gibi) içerisine şırınga sistemi kullanılarak elektrostatik alan altında damlatılması ile polimer boncukların eldesinde kullanılan enkapsülasyon tekniğidir (Şekil 2.16). Aljinat, bu teknikte enkapsülasyonda kullanılan en yaygın polimerik materyallerdendir. Aljinat kahverengi algerin hücre duvarlarından elde edilen doğal bir polisakkarittir (Lee ve diğ, 2013). Aljinatın kimyasal yapısı Şekil 2.14’de görüldüğü gibi  $\alpha$ -L Gluronik asit (G blokları) ve  $\beta$ -D Mannuronik asit ünitelerinin 1-4 bağı ile bağlanması ile oluşan M blokları ve G blokları veya MG blokları şeklinde sekanslar içeren suda çözünebilir lineer bir polisakkarittir (Abasalizadeh, 2020; Lee ve diğ, 2013; Puscaselu ve diğ, 2020). Kimyasal yapısındaki M blokları ve G bloklarının miktarı elde edilen kaynağa bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir (Puscaselu ve diğ, 2020).



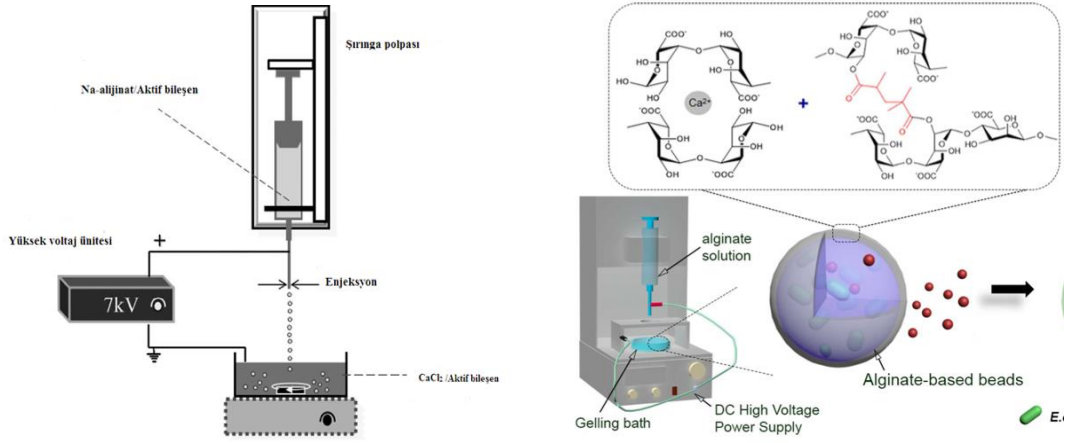
**Şekil 2.14 :** Aljinatın kimyasal yapısı.

Aljinik asitin suda çözünmez özelliğine karşın tek değerlikli aljinat tuzları çözünebilir ve stabil solüsyonlar oluşturma özelliğine sahiptir. Sodyum aljinat ise ekstrakte edilen aljinik asitin NaCl ile muamele edilmesi ile oluşan yapıdır. Sodyum aljinatın en önemli özelliklerinden biri yapısındaki gluronik asit kısmındaki sodyum iyonlarının divalent katyonlar ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Sr}^{+2}$ ) ile yer değiştirmesiyle oluşan hidrojel mikroboncuk yapıları oluşturma yeteneğidir. Dolayısıyla  $\alpha$ -L Gluronik asit bloklarının (G bloklarının) farklı iki zinciri arasına divalent katyonların bağlanması ile "egg-box" olarak bilinen üç boyutlu ağ yapı oluşur (Abasalizadeh, 2020; Paquesve diğ, 2014). Bunun sonucunda aljinat ile sertleştirme (jelasyon, hardening) çözeltisindeki  $\text{CaCl}_2$  arasında Şekil 2.15'deki gibi kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncukları oluşur.



**Şekil 2.15 :** Kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncukların oluş mekanizması (Charvarri ve diğ, 2012; Paques ve diğ, 2014)

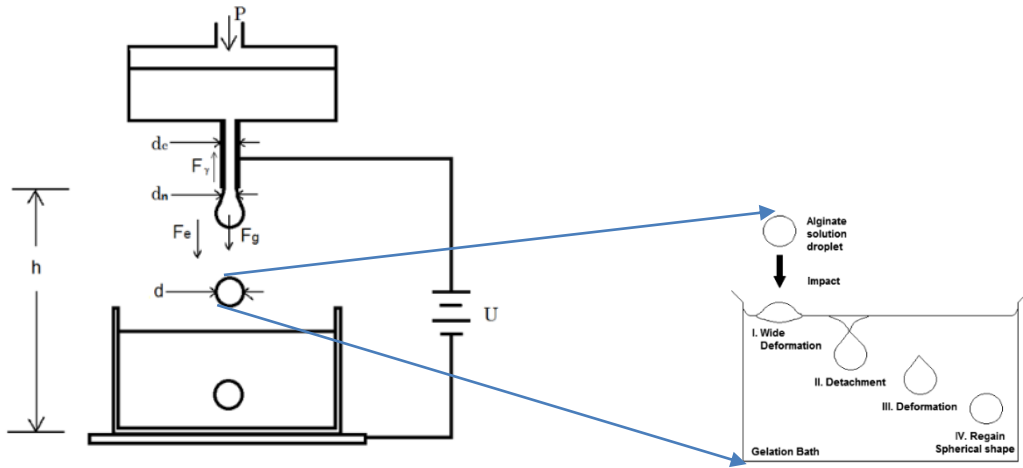
Damlatma metodu mikroboncuk eldesinde aljinat çözeltisinin dispersiyonu ve basit araçların gerektiği yaygın kullanılan bir tekniktir. Sıvı aljinat damlacıkları bir nozul boyunca hava ortamına ekstrüde edilir ve divalent katyonları (Örn:  $\text{Ca}^{+2}$ ) içeren jelasyon çözeltisi içerisine çapraz bağlı aljinat boncukları oluşturmak üzere damlacıklar halinde düşürülür. Damlatma esnasında Şekil 2.13'deki gibi farklı mekanizmalar kullanılarak mikrokürecikler (mikroboncuklar) elde edilebilmektedir. Elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyon temelde damlatma metodunu kullanarak mikroboncuk eldesini sağlayan enkapsülasyon metodudur (Leong ve diğ, 2016). Elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyonda uygulanan elektriksel potansiyel altında daha küçük çaplı mikroboncukların eldesi mümkündür (Lee ve diğ, 2013). Damlacık oluşumunda yüzey gerilimi etkili olan temel kuvvetlerdendir. Elektriksel alan uygulayarak yüklü moleküllerin damlacık yüzeyine göçü sağlanır. Bu moleküller birbirini iterek yüzey geriliminin azalmasında neden olur. Yüzey gerilimi düştüğü için iğne ucundan kesintisiz sıvı akışı bozularak iğne ucundan akışın kesintili ve kolye şeklinde damlacıklar halinde gelmesi ile daha küçük çaplı mikroboncukların eldesi gerçekleşir (Lewinska ve diğ, 2008).



**Şekil 2.16 :** Elektrostatik ekstrüzyon prosesi (Balanc ve diğ, 2016; Li ve diğ, 2017b).

Damlacıkların ekstrüzyonu, multikomponent boncukları üreterek bileşenlerin polimer boncukları içerisine enkapsülasyonunu sağlar. Damlacık oluşumundan sorumlu iğne üzerine elektriksel güçler uygulanarak ekstrüzyon performansı artırılabilir (Amsden ve Goosen, 1997; Low ve Lim, 2014; Nedovic ve diğ, 2006). Elektrostatik ekstrüzyon sistemi iğne düzeneği ve elektrostatik alanın uygulandığı bir sistemdir (Şekil 2.16 ve Şekil 2.17) (Amsden ve Goosen, 1997; Low ve Lim, 2014; Poncelet ve diğ, 1999).

Mikroboncuk eldesinde aljinat çözeltisinin dispersiyonundan sonra damlatma ve jelasyon olmak üzere iki aşama vardır. Literatürdeki çalışmalar elde edilen kalsiyum aljinat mikroboncukların şekillerinde damlacıkların sertleştirme solüsyonunu (hardening solüsyonu, jelasyon çözeltisi) yüzeyine çarpmasının önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Damlacıklar iğne ucundan koptuktan sonra jelasyon çözeltisinin yüzeyine çarptığında bir deformasyon meydana gelir. Deformasyondan sonra damlacıkların jelasyon çözeltisinin yüzeyinden kopması gerçekleşir. Ardından damlacık yüzey gerilimi kuvvetlerinden ve jelasyon prosesinden dolayı tekrar deforme olur. En sonunda damlacık (boncuk) tekrardan küresel şeklini alır (Şekil 2.17). Damlacığın tekrardan küresel şeklini kazanması yüzey gerilimi ve vizkozite gibi fiziksel özelliklerine bağlıdır (Lee ve diğ, 2013).



**Şekil 2.17 :** Elektrostatik ekstrüzyon prosesinin şematik diyagramı (Low ve Lim, 2014; Lee ve diğ, 2013).

Jelasyon aşamasında ise aljinat polimer zincirler (G blokları ile) ile divalent katyonlar arasında çapraz bağların oluşması gerçekleşir. Divalent katyonların aljinat polimer zincirindeki G bloklarına bağlanarak ‘egg-box’ yapısını oluşturduğu bilinir (Şekil 2.15). Aljinat polimeri farklı divalent katyonlara karşı farklı affiniteler sergiler. Aljinatın affinite derecesi;  $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co > Ni > Zn > Mn$  şeklindedir.  $Ca^{+2}$  aljinatın iyonotropik jelasyonu için diğer katyonlara kıyasla toksik olmayan özelliğinden dolayı yaygın kullanılan divalent katyondur. Kalsiyum kaynakları içerisinde  $CaCl_2$  jelasyonda yaygın olarak kullanılan tuzdur.  $CaCl_2$  suda kolay çözünebilir dolayısıyla  $Ca^{+2}$  iyonları aljinat damlacıkları ile hemen çapraz bağ oluşturarak hidrojel partikülleri (mikroboncukları) oluştururlar (Leong ve diğ, 2016). Jelasyon aşamasında aljinatın -OH ve -COOH gruplarına bağlı olan suyun yerine  $CaCl_2$ 'den gelen  $Ca^{+2}$  iyonlarının çapraz bağlar ile bağlanması yapıdaki suyun uzaklaşmasına neden olur. Bu ise oluşan mikroboncuklarda büzüşme (shrinkage) meydana getirerek elde edilen mikroboncukların çaplarının küçülmesine neden olur. Suyun uzaklaşması ve  $Ca^{+2}$ 'un yapıya girmesi ile mikroboncuklarda sertleşme meydana gelir (Nouridin ve diğ, 2016).

İstenilen özelliklerde mikrokapsül elde etmek için proses parametrelerinin optimizasyonu üzerinde çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalara göre elde edilen aljinat boncukları, aljinat solusyonunun konsantrasyonu ve akış hızı gibi parametrelerden etkilenmektedir (Low ve Lim, 2014; Nedovic ve diğ, 2006). Bir başka çalışmada ise voltajın ve iğne ucu büyüklüğünün elde edilen boncukların özelliklerini etkilediği belirtilmiştir (Amsden ve Goosen, 1997; Lim ve Chen, 2007; Low ve Lim, 2014). Diğer işlem

parametreleri ise akış hızı ve sistemin elektrot uzaklığıdır (Lim ve Chen, 2007; Low ve Lim, 2014; Nedovic ve diğ, 2006; Ohashi ve diğ, 2009).

Elektrostatik ekstrüzyon sistemi birçok avantaja sahiptir. Bu avantaj ve dezavantajlar aşağıdaki gibidir.

Elektrostatik ekstrüzyonun yönteminin avantajları;

- Yüksek sıcaklık ve organik solvent kullanılmaz.
- Aljinat gibi duvar materyali olarak kullanılan materyaller FDA ve EFSA tarafından onaylıdır.
- Toksik değil, biyouyumlu, termal ve kimyasal stabiliteye sahiptir (Balanc ve diğ, 2016).

Dezavantajları;

- Aljinatın duvar materyali olarak kullanımında düşük mekanik stabilite görülmektedir. Özellikle dondurarak kurutma aşamasında mikroküreciklerde yılgılma görülebilmektedir (Balanc ve diğ, 2016).
- Kullanılan duvar materyallerinin sınırlı olması (Bamidele ve Emmambux, 2021).
- Biyoaktif maddelerin büyük ölçekte enkapsülasyonunun zor olması (Bamidele ve Emmambux, 2021).

## 2.12 Literatürde Yapılmış Çalışmalar

Bedawi ve diğ. (2018), nar ekstraktı yüklü katı lipit nanopartiküller üretmişlerdir. Bu çalışma ile polifenol içeriğinden dolayı doğal antioksidan ve antikanserojen potansiyele sahip nar ekstraktını katı lipit nanopartiküllere yükleyerek kemoterapotik etkinliğini maksimize etmeyi hedeflemişlerdir. Bu çalışmada lipit konsantrasyonu, sürfaktan konsantrasyonu ve ko-sürfaktan konsantrasyonunun partikül boyutu, zeta potansiyeli, polidispersite indeksi, enkapsülasyon etkinliği ve kümülatif salınım üzerine etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen nanokapsüllerin partikül boyutlarının 407.5-651.9 nm arasında, enkapsülasyon etkinliğinin ise %56.02-65.23 arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

Campos ve diğ. (2017), rosmarinik asit ve bitki ekstraktlarını (adaçayı ve kekik otu ekstraktları) Witepsol ve karnauba vaks kullanarak katı lipit nanopartikül yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Witepsol ve karnauba vaks kullanılarak elde edilen Rosmarinik asit ve bitki ekstraktları yüklü katı lipit nanopartiküller dondurarak kurutulmuştur. İki farklı konsantrasyonda (%5 ve %10) üç farklı kriyoprotektan (glikoz, mannitol ve trehaloz)

kullanımı değerlendirilmiştir. Bunun yanısıra üretilen katı lipit nanopartiküller farklı şartlar altında (atmosfer, sıcaklık, ışığın varlığı veya yokluğu) ve farklı paketleme materyalleri içerisinde 365 gün boyunca depolanmıştır. Bu sürecin katı lipit nanopartiküllerin fiziksel stabilitesi ve biyoaktivitesine etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile bu sistemlerin stabilitelerinin ve biyoaktivitelerinin artırılması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda en iyi kriyoprotektanın %10 konsantrasyonlarda mannitol olduğu tespit edilmiştir. Katı lipit nanopartiküllerin biyoaktivitelerin 365 gün boyunca sürdürülebilmesinde en iyi şartların ise oda sıcaklığında, cam ambalajlarda, ışıktan korunarak, azot gazı altında kontrollü atmosferde depolanması olduğunu tespit etmişlerdir.

Ballesteros ve diğ. (2017), kahve telvesinden ekstrakte edilen fenolik bileşenleri dondurarak kurutma ve püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin, gum arabik ve bu maddelerin karışımı (1:1 oranında) duvar materyali olarak kullanılmış fenolik bileşenlerin ve antioksidan aktivitelerinin korunması değerlendirilmiştir. Çalışılan her bir şartın etkinliğini tespit etmek için enkapsüle örneklerin fenolik bileşen içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Aynı zamanda elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu için ileri analizler de gerçekleştirilmiştir. Hem kullanılan enkapsülasyon tekniğinin hem de kaplama materyalinin polifenollerin enkapsülasyonunu önemli derecede etkilediğini tespit etmişlerdir. En iyi sonuçların maltodekstrinin duvar materyali olarak kullanıldığı dondurarak kurutma tekniği ile enkapsülasyonda elde edildiğini belirtmişlerdir. Bu şartlar altında enkapsüle bileşenlerde kalan polifenol bileşenleri ve flavonoidlerin sırasıyla %62 ve %73 olduğu belirtilmiştir.

Balanc ve diğ. (2016), duvar materyali olarak kalsiyum-aljinat-inülin kullanarak Carqueja ekstraktından elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile mikroboncuk üretmişlerdir. Böylelikle sıvı ekstrakttaki doğal antioksidanları enkapsülasyon yöntemi ile Ca-aljinat mikroboncukları ve %10 ve %20 inülin içeren Ca-aljinat mikroboncukları içerisinde korumayı amaçlamışlardır. Elde edilen mikroboncukların çaplarının inülin konsantrasyonu oranına bağlı olarak 625-830 µm aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Hidrojel mikroboncukların küresellik faktörlerinin 0.014 ve 0.026 arasında olduğunu belirtmişlerdir. ABTS VE DPPH radikallerine karşı radikal süpürme aktivitesi enkapsüle ekstraktlar için %30 ve %40 arasında olduğunu, enkapsüle olmayan ekstraktlarda ise ABTS ve DPPH radikalleri için radikal süpürme aktivitesinin %47 ve %57 etrafında olduğunu belirtmişlerdir. İnülin varlığının hidrojellerin sertliklerini düşürdüğü ve mikroboncukların yapısının dondurarak kurutma esnasında yığılmasını önlediğini tespit etmişlerdir.

James ve diğ. (2016), yeşil çay ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Duvar materyali olarak maltodekstrin, gum arabik, kitosan ve bunların farklı oranlardaki kombinasyonunu kullanmışlardır. Elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, toplam fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi araştırılarak bunlar arasında en iyi ekinliğe, fenolik içeriğe ve en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olan mikrokapsüller seçilerek mango içeceklerine eklenmiş ve ürünün depolanması esnasında fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda enkapsülasyon etkinliği, toplam fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesinin sırasıyla %71.41-88.04, 19.32-24.90 (g GAE/100 g) ve %29.52-38.05 aralıklarında olduğu tespit edilmiştir. Mango içeceğine eklenen yeşil çay biyoaktiflerinin stabilitesi araştırıldığında ise mango içecekleri içerisinde bulunan biyoaktiflerin degradasyon oranının %16.47-29.72 oranları arasında yer aldığını enkapsüle olmayan biyoaktiflerde ise bu oranın %46.46 olduğunu tespit etmişlerdir. Mango içeceklerine eklenen enkapsüle bileşenlerin stabilitesinin enkapsüle edilmeden eklenen bileşenlere göre daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir.

Pasukamonset ve diğ. (2016), mavi kelebek sarmaşığı (*Clitoria ternatea*) çiçeğinden elde edilen polifenolik ekstraktları duvar materyali olarak aljinatı kullanarak ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğinin *Clitoria ternatea* ekstraktı (CT) yüzdesine (%5-20), aljinat yüzdesine (%1-2) ve CaCl<sub>2</sub> yüzdesine (%1,5-5) bağlı olarak %74.17-84.87 aralığında değiştiğini belirtmişlerdir. CT yüklü aljinat boncukları için optimize koşulların; %10 CT, %1.5 aljinat ve %3 CaCl<sub>2</sub> (w/v) olduğunu belirtmişlerdir. Bu koşullar altında maksimum antioksidan kapasitesinin 11.76±0.07 mg GAE/g<sub>boncuk</sub> ve enkapsülasyon etkinliğinin %84.83±0,40 olduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen mikroboncukların düzgün bir yüzey şekline sahip olduğunu ve enkapsülasyonun termal stabiliteyi arttırabildiğini (188 °C) belirtmişlerdir.

Wang ve diğ. (2016), duvar materyali olarak hidroksipropil metilselüloz kullanarak püskürtmeli kurutma metoduyla çay polifenollerini mikroenkapsüle etmişlerdir. Elde edilen mikrokapsüllerin fiziksel özellikleri, enkapsülasyon etkinlikleri, *in vitro* sindirim çalışması, depolama stabilite ve antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır. Mikrokapsüllerin SEM görüntüleri aracılığıyla 10-200 µm partikül boyut dağılımında yumuşak yüzey şekline sahip olduğu belirtilmiştir. Mikroenkapsüle çay polifenollerinin enkapsülasyon etkinliği %70.98 olarak saptanmıştır. Mikroenkapsüle çay polifenollerinin simüle bağırsak sıvısındaki salınımı simüle mide sıvısındaki salınımıyla karşılaştırıldığında önemli derecede arttığı

tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Çay polifenollerinin depolama stabilitesi mikroenkapsülasyon ile çevresel koşullara karşı (yüksek sıcaklık, aşırı asit ve alkali gibi) önemli derecede arttığı belirtilmiştir ( $P<0.05$ ). Çay polifenollerinin antioksidan aktivitesinin mikroenkapsülasyon ile etkili bir şekilde korunduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla mikroenkapsülasyonun çay polifenollerinin gıda endüstrisinde uygulanması ve depolanması için daha iyi bir yol olacağı belirtilmiştir.

Madureira ve diğ. (2015), birçok biyoaktivitesi ile tanınan bir polifenolik bileşen olan rosmarinik asiti karnauba vaks kullanarak katı lipit nanopartikül yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda vaks (%0.5, 1 ve 1.5) ve emülsifiyer (%1, 2, 3) kullanarak elde ettikleri nanokapsüllerin karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri kapsüllerin üretim anında ve 28 günlük depolama süreci sonucunda fiziksel özellikleri, yüzey morfolojisi ve etkinliği araştırılmıştır. Aynı zamanda termal özellikleri ve vaks ile rosmarinik asit arasındaki kimyasal interreaksiyonlar da değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda yüksek enkapsülasyon etkinliği (%99) tespit edilmiştir. Düşük lipit ve yüksek sürfaktan konsantrasyonunun küçük partiküllerin eldesini bunun yanı sıra sürfaktan kullanımının agregasyonunu da önlediğini belirtmişlerdir. Tüm bu özelliklerin 28 günlük buzdolabında depolama süresince de devam ettiğini ve bu esnada rosmarinik asitin katı lipit nanopartiküllerden salınımının olmadığını belirtmişlerdir. Fonksiyonel gıdalara katılımı için arzu edilen özelliklerde kapsüllerin üretiminin optimum koşullarının %1 ve 1.5 lipit (%w/v) ve %2 sürfaktan (%v/v) olduğunu tespit etmişlerdir.

Pasrija ve diğ. (2015), yeşil çay polifenollerinin mikroenkapsülasyonu ve ekmek üretiminde kullanılması ile ekmek kalitesine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada maltodekstrin,  $\beta$ -siklodekstrin ve bu ikisinin kombinasyonunu duvar materyali olarak kullanarak dondurarak kurutma ve püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktı mikroenkapsüle edilmiştir. Dondurarak kurutma tekniği ile elde edilen enkapsülantların püskürtmeli kurutma tekniğine göre daha yüksek enkapsülasyon etkinliği (%60-76) ve antioksidan aktivitesi ( $IC_{50}$  değeri 54.77-60.26  $\mu\text{g/mL}$ ) sergilediğini belirtmişlerdir. Maltodekstrin enkapsülantlarını diğerleri ile karşılaştırdıklarında daha yüksek enkapsülasyon etkinliği ve antioksidan aktivitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bundan dolayı püskürtmeli kurutulmuş ve dondurarak kurutulmuş maltodekstrin enkapsülantları ekmek üretiminde kullanılmış ve kalite özelliklerini arttırmışlardır.

Stojanovic ve diğ. (2012), kekikten elde ettikleri sulu ekstraktları kalsiyum aljinat boncukları içerisine enkapsüle etmişlerdir. Kekik sulu ekstraktındaki polifenolik bileşenleri

aljinat jel boncuklarının içerisinde enkapsüle etmekte elektrostatik ekstrüzyon yöntemini kullanmışlardır. Farklı materyaller kullanarak elde ettikleri hidrojel boncukların ve farklı tekniklerle kurutulmuş hidrojel boncukların özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda elde ettikleri hidrojel boncukların düzgün ve küresel bir formda yaklaşık 730 µm boyutlarında eşit dağılımlı olduklarını, enkapsülasyon etkinliğinin ise uygulanan enkapsülasyon tekniğine göre %50-80 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Bunun yanısıra uygulanan enkapsülasyon metodunun ve kullanılan materyallerin biyoaktif bileşenleri düşürmediğini ve toplam antioksidan içeriğinin değişmeden kaldığını tespit etmişlerdir. Sükroz ve inülin eklenmesi ile boncukların kurutma esnasındaki yığılması ve küreselliklerinin bozulmasının azaldığını tespit etmişlerdir.

Barczak ve diğ. (2011), beş farklı çeşitten elde ettikleri siyah havuç polifenollerince zengin ekstraktları dekstroz eşdeğerleri (DE) farklı maltodekstrinler ve inülin kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada siyah havuç polifenolik bileşenlerinin ve onların antioksidan aktivitelerinin püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyondan sonra da devam ettirmelerini hedeflemişlerdir. Enkapsüle polifenolik bileşenlerin 12 ay boyunca 8°C ve 25°C'de depolanması ile stabiliteleri araştırılmıştır. DE18 ve DE21 ile karşılaştırıldığında DE11 maltodekstrini kullanarak elde edilen mikrokapsüllerin yüksek verime sahip olmadığını ancak depolama esnasında polifenolik bileşenlere daha iyi koruma sağladığını belirtmişlerdir. Radikal süpürme aktivitesi çalışmaları mikroenkapsüle tozların depolamadan önce ve sonra önemli derecede antioksidan aktivitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla fonksiyonel gıda üretiminde sahip olmuş olduğu antioksidan içeriğinden dolayı mikroenkapsüle siyah havuç polifenolik ekstraktlarının gelecek vadeden bir gıda katkısı olduğunu belirtmişlerdir.

Belscak-Cvitanovic ve diğ. (2011), tıbbi bitki ekstraktlarından polifenolik antioksidanların askorbik asitle geliştirilmiş aljinat-kitosan sistemde elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmiştir. Altı farklı tıbbi bitkinin polifenolik ekstraktları kullanılmıştır. Bunlar; ısırganotu (*Urtica dioica L.*), Alıç (*Crataegus laevigata*), ahududu yaprağı (*Rubus idaeus*), zeytin yaprağı (*Olea europea L.*), civanperçemi (*Achillea millefolium L.*) ve *Glechoma hederacea L.*'dir. Kapsüllenen bitki ekstraktları polifenol miktarı ve bileşimi, mineral içeriği ve antioksidan kapasitesine göre karakterize edilmiştir. Ahududu yaprağı ekstraktı kapsüllerinin en yüksek toplam polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesine sahip olduğu, bunu alıç kapsüllerinin takip ettiğini bildirmişlerdir.

En düşük toplam fenol içeriğinin ise zeytin yaprağı mikroboncuklarında olduğu tespit edilmiştir (%80-89).

Fu ve diğ. (2011), EGCG mikropartiküllerini antioksidan aktivitesini yüksek derecede korunması amacıyla monodispers damlacık oluşturan atomizer eklenmiş püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsüle etmişlerdir. Duvar materyali olarak da laktoz kullanmışlardır. EGCG antioksidan mikropartiküllerinin monodispers boyutta başarılı bir şekilde elde edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, püskürtmeli kurutucuda 95-130 °C’de elde edilen mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinin birçoğunu sürdürdüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışma aynı zamanda monodisperse EGCG’nin tek aşamalı bir proseste püskürtmeli kurutucu kullanarak kaplanmasının mümkün olduğunu da göstermiştir. Sonuçlar, laktoz ile kaplamanın EGCG’yi ısı etkisi ile bozulmadan koruduğunu göstermiştir. Aynı zamanda bu çalışma ile püskürtmeli kurutma tekniğinin yüksek potansiyelde antioksidan korunmasıyla antioksidan mikropartiküllerinin eldesinde uygulanabilir ve hızlı bir yaklaşım olduğunu belirtmişlerdir.

Robert ve diğ. (2010), nardan nar suyu ve etanol kullanılarak elde edilen ekstraktlardaki biyoaktif bileşenleri (polifenol ve antosiyaninler) kaplama materyali olarak maltodekstrin (MD) ve soya proteini izolatlarını (SPI) kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enenkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin yoğurtlara ekleyerek depolama süresince mikrokapsüllerin stabilitelelerini araştırmışlardır. Polifenollerin enkapsülasyon etkinliğinin daha iyi olduğu SPI matrisi iken antosiyaninlerin enkapsülasyon etkinliği için MD matrisi olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanısıra depolama esnasında MD mikrokapsüllerin polifenoller ve antosiyaninler üzerinde SPI mikrokapsüllerden önemli derecede daha yüksek koruyucu etkiyi sağladığı belirtilmiştir.

Deladino ve diğ. (2008), antioksidan bileşenleri, mineral ve vitaminlerce zengin olan *Yerba mate* (Paraguay çayı) ekstraktını liyofilize ederek kalsiyum aljinat ve kalsiyum aljinat-kitosan sistemlerini kullanarak enkapsülasyon gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri kapsülleri çevre şartlarında (20 °C, %65 nisbi nem), etüvde (80 °C, 24 saat) ve dondurarak kurutma tekniklerini kullanarak kurutmuşlardır. Elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu, yükleme kapasitesi, farklı destabilizasyon ajanlarının boncukların stabilizasyonu üzerine etkileri, antioksidan içerikleri araştırılmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Yeşil çay

Kapsül üretiminde aktif materyal olarak kullanılan yeşil çay Malatya'daki yerel marketlerden bardak poşet yeşil süzen çay (Çaykur, Rize) olarak temin edilmiştir.

##### 3.1.2 Kaplama materyalleri

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği için mikrokapsül üretiminde kaplama materyali olarak kullanılan sodyum aljinat Almanya'dan (Sigma-Aldrich, Steinheim) temin edilmiştir. Püskürtmeli kurutma tekniği için mikrokapsül üretiminde kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrin (DE 17-19.9) Almanya'dan (PanReac AppliChem, Darmstadt) ve nişasta Almanya'dan (Isolab, Wertheim) temin edilmiştir. Katı lipit nanopartikül tekniği için ise Karnuba vaks (Carl Roth, Karlsruhe) ve balmumu vaksı Almanya'dan (Carl Roth, Karlsruhe) temin edilmiştir.

##### 3.1.3 Sürfaktanlar

Çalışmada kullanılan Tween-80 ve yumurta lesitini Almanya'dan (Sigma-Aldrich, Steinheim) temin edilmiştir.

##### 3.1.4 Kalsiyum Klorür (CaCl<sub>2</sub>)

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği kullanılarak üretilen mikroboncuklarda jelasyon çözeltilisini hazırlamak için çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan CaCl<sub>2</sub> Almanya'dan (Sigma-Aldrich, Steinheim) temin edilmiştir.

#### 3.2 Yeşil Çayın Ekstraksiyonu

Yeşil çayın ekstraksiyonunda Cvitanovic ve diğ. (2015)'in kullandığı ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 80 °C'ye ısıtılmış 100 mL distile suyun 8 g yeşil çay üzerine ilave edilmesi ile iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi su banyosunda, 80 °C'de 15 dk süre ile gerçekleştirilmiştir. İşlem sonucunda elde edilen

ekstrakt kaba filtreden geçirilmiş ve aynı yeşil çay kullanılarak 80 °C'ye ısıtılmış 100 mL distile su kullanılarak 15 dk sure ile ikinci kez ekstrakte edilmiştir. İkinci ekstraksiyondan sonra da edilen ekstrakt kaba filtreden filtre edilmiştir. Elde edilen filtratlar birleştirilip karıştırıldıktan sonra enkapsülasyonda kullanılmak üzere -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.3 Yeşil ay Ekstraktlarının Farklı Tekniklerle Enkapsülasyonu

#### 3.3.1 Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu

Püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyonda kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda (%20 ve %40) maltodekstrin (DE 17-19.9) ve nişasta kullanılarak yeşil çay ekstraktı enkapsüle edilmiştir. Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay kapsleri eldesinde mini püskürtmeli kurutucu (Buchi, B-290, Switzerland) kullanılmıştır. Öncelikle farklı konsantrasyonlardaki maltodekstrin ve nişasta zelteleri yeşil çay ekstraktı içerisinde manyetik karıştırıcıda 40-60 °C'de 30 dk zundrlerek hazırlanmıştır (James ve diğ, 2016). Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki bu zelteler giriş sıcaklığı 120 °C ve 140 °C olacak şekilde püskürtmeli kurutucuya beslenmiştir (şekil 3.1).



şekil 3.1 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu.

Giriş ve çıkış sıcaklıkları, besleme akış oranı gibi püskürtmeli kurutma cihazına ait çalışma parametreleri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Püskürtmeli kurutma sonucunda elde edilen yeşil çay kapsülleri falkon tüplerine doldurularak nem absorpsiyonunu önlemek amacıyla bir süre desikatörde muhafaza edilmiş ve ardından ileri analizleri yapılincaya kadar -18 °C’de muhafaza edilmiştir. Üretimlere ait üretim planı Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1 :** Püskürtmeli kurutucuya ait proses şartları.

Giriş Sıcaklığı (°C)	Çıkış Sıcaklığı (°C)	Pompa%	Aspiratör%
120	64±2	25	100
140	75±2	25	100

**Çizelge 3.2 :** Püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyona ait deneme planı.

Kaplama materyali	Konsantrasyon (%w/v)	Giriş sıcaklığı (°C)
Maltodekstrin (DE 17-19.9)	20	120
	20	140
	40	120
	40	140
Nişasta	20	120
	20	140
	40	120
	40	140

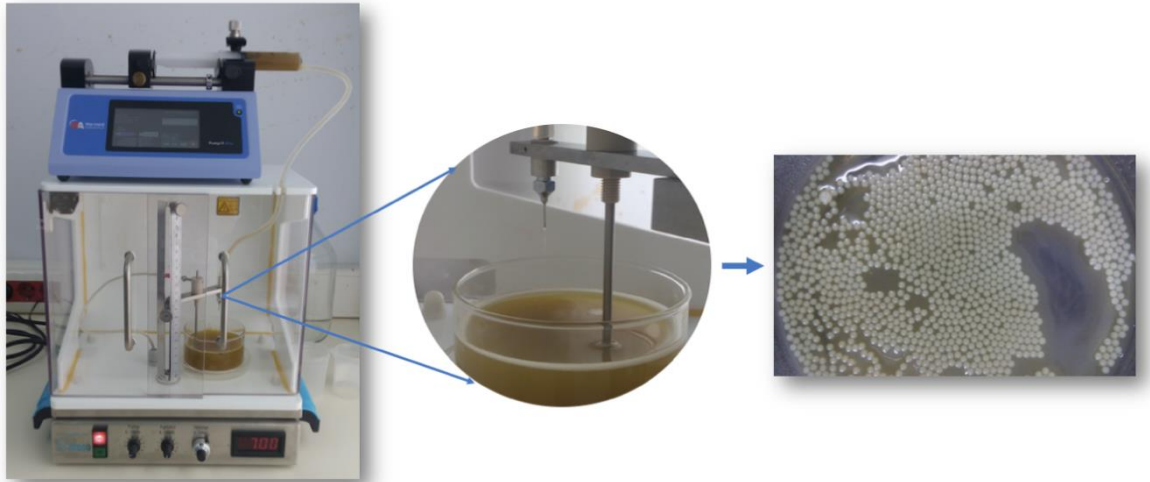
### 3.3.2 Elektrostatik ekstrüzyon ile mikrokapsül üretimi

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile yeşil çay mikrobuncuklarının üretiminde Stojanovic ve diğ. (2012)’nin kullandığı metot modifikasyonlar yapılarak kullanılmıştır. Yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu kaplama materyali olarak sodyum aljinat kullanılarak enkapsülasyon (Nisco, Switzerland) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. %3.5 ve %4.5 (w/v) konsantrasyonlarda sodyum aljinat çözeltisi, 80 °C’de su ile çift ekstraksiyon yapılarak 30 dakika süre ile yeşil çay ekstraktı içerisinde manyetik karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti daha sonra enjeksiyon çözeltisi olarak kullanılmak üzere +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Çapraz bağlayıcı ajan olarak enjeksiyon çözeltisine eşit konsantrasyonda %3.5 ve %4.5 (w/v) CaCl<sub>2</sub> çözeltileri, aynı şartlar altında elde edilen yeşil çay ekstraktı içerisinde hazırlanmıştır. CaCl<sub>2</sub> çözeltilerinin enjeksiyon çözeltisine eşit konsantrasyonda hazırlanması ile difüzyonda itici güç olan konsantrasyon farkı ortadan kaldırılmış dolayısıyla jelasyon işlemi esnasında mikrobuncuklardan ekstrakt difüzyonunu önlemiştir (Stojanovic ve diğ, 2012). Elde edilen bu çözelti aynı zamanda jelasyon çözeltisi

olarak kullanılmıştır. Elde edilen enjeksiyon çözeltileri 20 mL'lik plastik enjektörler ile Çizelge 3.3'deki proses şartlarında ekstrüzyon cihazı ile enjeksiyon çözeltisine eşit konsantrasyonda çapraz bağlayıcı ajan içeren jelasyon çözeltisi içerisine 22 gauge iğne kullanılarak sabit bir akış hızında ve sabit elektiriksel alan altında (7.0 kV) damlatılmıştır (Şekil 3.2). Çalışılan bu proses şartları ön denemelerde en iyi küreselliğin ve uniform mikroboncukların üretildiği proses şartlarıdır.

**Çizelge 3.3** : Elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyonda uygulanan proses koşulları.

Proses koşulları	
Voltaj	7.0 kV
Akış hızı	25.2 mL/sa
İğne ucu yüksekliği	4 cm
İğne çapı	22 gauge



**Şekil 3.2** : Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile mikroboncuk eldesi.

Aljinat damlacıklarının elektriksel alan altında  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi içerisine damlaması sonucunda yeşil çay ekstraktını içine hapseden kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncukları elde edilmiştir. Elde edilen bu mikroboncukların çapraz bağlayıcı çözeltisi içerisinde 30 ve 60 dk jelasyonu gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.4). Jelasyon işleminin sonunda mikroboncuklar jelasyon çözeltisinden kaba filtre kâğıdı kullanılarak ayrılmıştır. Mikroboncuklar üzerindeki kalıntı ekstraktı uzaklaştırmak için ise  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi (enjeksiyon çözeltisine eşit konsantrasyonda, 20 mL) ile yıkama işlemi yapılmıştır. Elde edilen mikroboncuklar  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 24 saat muhafaza edildikten sonra dondurarak kurutucuda

16 saat kurutulmuştur. Elde edilen kuru mikroboncuklar falkon tüplerine konularak ileri analizleri gerçekleştirmek üzere -18 °C’de muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 3.4 :** Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyona ait üretim planı.

Kaplama materyali	Konsantrasyon (%w/v)	Jelasyon süresi (dk)
	3.5	30
Sodyum Aljinat	3.5	60
	4.5	30
	4.5	60

### 3.3.3 Melt dispersiyon tekniği ile yeşil çay ekstraktının enkapsülasyonu

Kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak yeşil çay ekstraktı melt dispersiyon tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Çoklu emülsiyon (w/o/w) ile melt dispersiyon tekniği kullanılarak üretimler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.5).

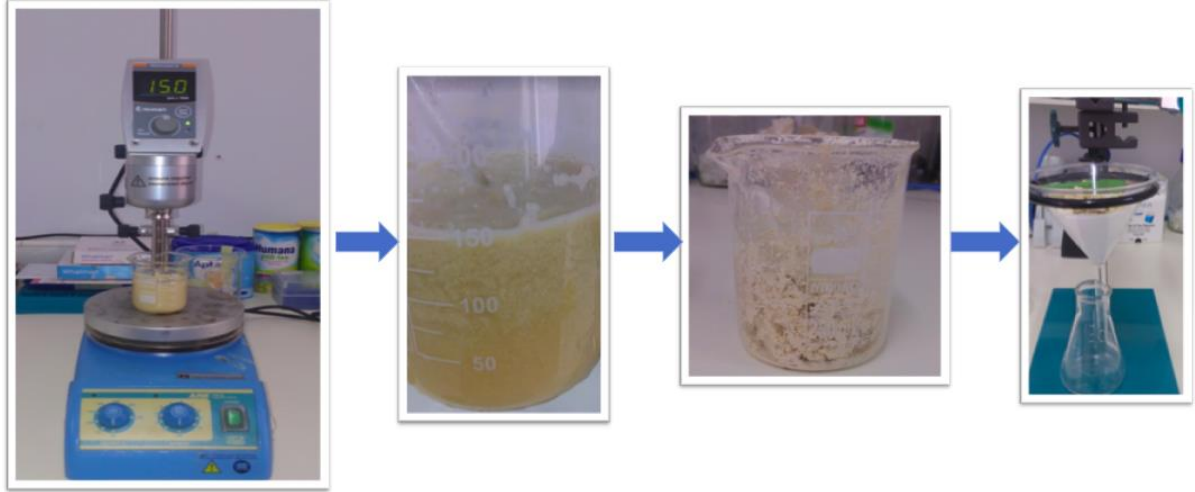
**Çizelge 3.5 :** Melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyona ait üretim planı.

Örnek kodu*	Yeşil çay miktarı (İlk emülsiyon için) (mL)	Emülsiyon süresi (dk)
CW1	15	5
CW2	15	10
CW3	30	5
CW4	30	10
BW1	15	5
BW2	15	10
BW3	30	5
BW4	30	10

\*CW: Karnauba vaks; BW: Balmumu

Mikropartiküllerin üretiminde Bodmeier ve diğ. (1992b)’in kullandığı metot küçük modifikasyonlar yapılarak kullanılmıştır. İlk emülsiyonda kullanılacak yeşil çay, vaksın erime noktasına kadar ısıtılmıştır. Yağ fazı (vaks ve %2 (%m/v) yumurta lesitini) eritilmiştir. Eritilmiş yağ fazı içerisine vaksın erime noktasına kadar ısıtılan sulu faz (yeşil çay) ilave edilerek 15000 rpm’de yüksek hızlı homojenizatör ile deneme dizaynındaki sürelerle göre (5 ve 10 dk) ilk w/o emülsiyonu oluşturulmuştur. Oluşturulan bu w/o emülsiyonu, vaksın erime noktasına kadar ısıtılmış 120 mL yeşil çay ve %2 (%m/v) Tween-80 içeren başka bir sulu faz içerisine eklenmiştir. Yüksek hızlı homojenizatör (Heidolph, Schwabach, Almanya) ile

15000 rpm’de ilk emülsiyondaki süreye eşit sürede homojenize edilerek w/o/w çoklu emülsiyonu oluşturulmuştur. Emülsiyon sonunda elde edilen bu karışım buz banyosunda hızlıca soğutularak lipidlerin katılaştırılması ile enkapsüle partiküller elde edilmiştir (Şekil 3.3). Elde edilen bu partiküller, Whatman No-1 filtre kâğıdı kullanılarak filtrasyon ile sulu fazdan ayrılmıştır. Yüzeydeki kapsüllenmeyen yeşil çayı uzaklaştırmak amacıyla saf su ile yıkama yapılmıştır. Karnauba vaks kullanılarak elde edilen kapsüller için 50 °C’de (Milanovic ve diğ., 2011) balmumu vaks için kullanılarak elde edilen kapsüller ise 35 °C’de etüvde sabit tartıma gelene kadar (1 gün) kurutulmuştur. Kurutma sonucunda karnauba vaks kullanılarak üretilen kapsüller öğütülerek toz haline getirilmiştir. Öğütülen kapsüller 425 µm gözenek büyüklüğündeki eleklerde elenmiştir. Elde edilen kapsüller falkon tüplerine konularak ileri analizler için -18 °C’de muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.3** : Melt dispersiyon tekniği ile katı lipid mikropartikül üretimi.

### 3.4 Analizler

Yeşil çay ekstraktı püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon ve katı lipid nanaopartikül tekniğine göre enkapsüle edildikten sonra enkapsüle mikropartiküllere uygulanan analizler aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Her bir analiz en az iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.4.1 Toplam fenolik madde tayini

Yeşil çay ekstraktındaki ve mikrokapsüllerdeki toplam fenolik içeriğinin (TPC) hesaplanmasında Balanc ve diğ. (2016)’da belirtilen Folin-Ciocalteu spektrofotometrik

yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre 70 µl örnek (yeşil çay ekstraktı ve çözünmüş mikroboncuklar) 15 mL'lik falkon tüplerine alınarak üzerine 350 µl folin reaktifi, 4.2 ml saf su ve 1.05 mL %20'lik (w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiştir. Hacim saf su ile 15 mL'ye tamamlanmıştır. Numunelerin 2 saat bekletilmesinin ardından 765 nm'de UV-visible spektrofotometrede (Shimadzu, UV- 1800, Kyoto, Japan) absorbans değerleri okunmuştur.

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için ise farklı konsantrasyonlardaki (25, 50, 100, 200, 400, 800 mg/L) gallik asit standardı kullanılmıştır. 765 nm'de okunan absorbans değerleri (Y-ekseni) ve konsantrasyon değerleri (X-ekseni) ile kalibrasyon grafiği çizilmiştir (EK A1 ve EK A2). Elde edilen sonuçlar mg/L gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (mg GAE/L).

### 3.4.2 Çözünürlük

Suda çözünürlük indeksi (WSI) için püskürtmeli kurutulmuş enkapsüle örneklerden eppendorflara 0.1 g tartılmış, üzerine 1 mL distile su ilave edilerek distile su içerisinde disperse edilmiş ve 1 dk süre ile vortekslenerek karıştırılmıştır. Sonrasında 37 °C ye ayarlanmış su banyosunda 30 dk süre ile bekletilmiştir. Ardından 9500 rpm'de 10 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant, sabit tartıma getirilmiş alüminyum kaplara aktararak etüvde 105 °C de sabit tartıma ulaşınca kadar kurutulmuştur (Do ve Nyugen, 2018). Suda çözünürlük indeksi Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Suda Çözünürlük İndeksi (\%)} = \frac{\text{Kurutulmuş süpernatant ağırlığı}}{\text{İlk örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.4.3 Yığın yoğunluğu

Enkapsüle toz örneklerden 2'şer g 10 mL'lik dereceli silindire aktarılmıştır. Yığın yoğunluğu enkapsüle toz örneklerin kütesinin dereceli silindirde denk gelen hacmine oranı olarak hesaplanmıştır (Susantikarn ve Donlao, 2016).

### 3.4.4 Nem tayini

Yaklaşık 0.1 g enkapsüle örnekler alüminyum tartım kaplarında tartılarak 105 °C'de etüvde sabit tartıma ulaşınca kadar kurutulmuştur. Nem içeriği kurutma öncesi ve sonrası arasındaki ağırlık farkının yüzdesi olarak hesaplanmış ve % nem içeriği olarak belirtilmiştir (Moreno ve diğ, 2018).

### 3.4.5 Enkapsülasyon verimi ve enkapsülasyon etkinliği

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon verimlerinin belirlenmesinde Kaderides ve Goula (2019)'ın kullandığı yöntem küçük değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Püskürtmeli kurutma ile elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon veriminin belirlenmesinde Eşitlik 3.2 kullanılmıştır (Can, 2017; Kha ve diğ., 2010; Tamsone ve diğ., 2020; Tan ve diğ., 2015). Enkapsülasyon verimi enkapsüle edilen toz partiküllerin distile su içerisinde çözündürülmesi sonucunda elde edilen solventteki toplam fenolik içeriğinin, enkapsüle edilecek yeşil çaydaki toplam fenolik içeriğine oranı olarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik madde tayininde ise Balanc ve diğ. (2016)'da belirtilen Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır (Metot 3.4.1'de açıklanmıştır).

$$EE (\%) = \frac{EC}{TPC} \times 100 \quad (3.2)$$

Elektrostatik ekstrüzyon ile elde edilen mikroboncukların enkapsülasyon etkinliği (EE) Balanc ve diğ. (2016) ve Stojanovic ve diğ. (2012) kullandığı metot ile belirlenmiştir. Enkapsülasyon etkinliği Eşitlik 3.3 kullanılarak mikroboncuklardaki toplam fenolik madde miktarının ( $m_b$ ) ve mikroboncuk oluşumunda kullanılan kaplama materyali-ekstrakt solüsyonundaki toplam fenolik madde miktarı ( $m_s$ ) üzerinden hesaplanmıştır. Mikroboncuklardaki toplam fenolik madde miktarının hesaplanması için mikroboncuklardaki fenolik maddelerin açığa çıkması sağlanmıştır. Bu amaçla, mikroboncuklar %2'lik (w/v) sodyum sitrat çözeltisi içerisinde (1:10 oranında) 15 dk vortekslenerek çözündürülmüştür. Toplam fenolik madde tayininde Balanc ve diğ. (2016)'da belirtilen Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır.

$$EE (\%) = \frac{m_b}{m_s} \times 100 \quad (3.3)$$

Katı lipit nanopartikül ile elde edilen yeşil çay kapsüllerinin enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesinde ise Eşitlik 3.4 kullanılmıştır. Başlangıçta enkapsüle edilecek yeşil çaydaki toplam fenolik içeriği (TPC) ile enkapsülasyon işlemi sonucunda geriye kalan süzüntüdeki ve yüzeyde kalan fenolik maddelerin yıkama işlemi ile uzaklaştırılmasıyla elde edilen süzüntüdeki toplam fenolik içeriğinin (STPC) farkının enkapsüle edilecek yeşil çaydaki toplam fenolik içeriğe (TPC) oranı olarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik madde tayininde Balanc ve diğ. (2016)'da belirtilen Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır.

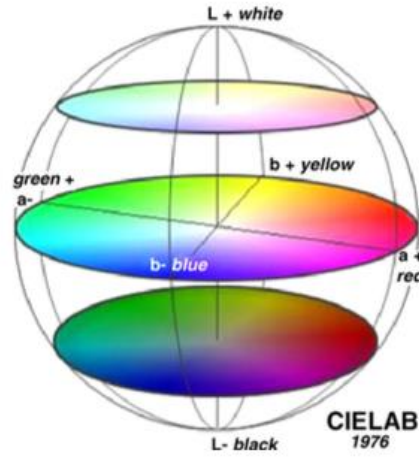
$$EE (\%) = \frac{TPC - STPC}{TPC} \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.4.6 Su aktivitesi tayini

Örneklerin su aktivitesi, su aktivitesi cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Novasina, Switzerland).

### 3.4.7 Renk analizi

Elde edilen enkapsüle örneklerin renkleri masaüstü CR-5 Chroma Metre (Konica Minolta Chroma Meter CR-5, Japan) kullanılarak tespit edilmiştir. CIE (Commission Internationale de L'Eclairage)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  tarafından geliştirilmiş renk model sistemi kullanılmıştır. Bu sistem Şekil 3.4'deki gibi bir rengin üç boyutlu görünür renk uzayı içerisinde kesin yerleşimini tanımlamak için  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  gibi üç değeri kullanır (Quek ve diğ., 2007). Enkapsüle örneklerin parlaklık ( $L^*$ ), kırmızılık ( $+a^*$ ) /yeşillik ( $-a^*$ ) ve sarılık ( $+b^*$ ) /mavilik ( $-b^*$ ) durumları ölçülmüştür.



Şekil 3.4 : CIE  $L^*$   $a^*$   $b^*$  renk sistemi.

### 3.4.8 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Mikrokapsüllerin genel görüntülerinin, küresel formlarının, morfolojik yapılarının belirlenmesi amacıyla SEM mikroskobu görüntüleri incelenmiştir. SEM görüntüleri Taramalı Elektron Mikroskopisi (Leo EVO-40 VPX, Carl Zeiss SMT, Cambridge, UK) ile alınmıştır.

### 3.4.9 Partikül boyut dağılımı

Partikül boyutu ölçümü için enkapsüle örnekler kaplama materyalinin özelliğine bağlı olarak farklı solventler (etil alkol, saf su, hekzan) içerisinde süspanse edilmiş olup, partikül boyutları Şekil 3.5'deki Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., UK) kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek için 3 ölçüm yapılarak ortalama değerler saptanmıştır.



Şekil 3.5 : Malvern Mastersizer 2000.

### 3.4.10 Termogravimetrik analiz

Termogravimetrik analiz (TGA) örneklerin (mikrokapsüller, kaplama maddeleri ve dondurularak kurutulmuş yeşil çay) 30 ile 1000°C arasında ısıtmaya bağlı kütle kaybını saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu yolla mikrokapsüllerin ısıtmaya bağlı stabiliteleri tespit edilmiştir. Analiz Şekil 3.6'deki DTA-TG cihazında (DTG- 60H, Shimadzu) 10±2 mg örneğin 30 mL/dk azot gazı akışında ve 10 °C /dk ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir (Balanc ve diğ, 2016).



**Şekil 3.6 : DTA-TG Cihazı.**

### **3.4.11 Antioksidan aktivite**

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürme metodu kullanılmıştır. Analiz Tonon ve diğ. (2010)'da belirtilen yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikle DPPH'ın metanolik çözeltisi ( $6 \times 10^{-5}$  M) hazırlanmıştır. Elde edilen kapsüllerden 10'ar mg tartılarak 20 mL solvent içerisinde manyetik karıştırıcıda 500 rpm'de 30 dk çözündürülmüş ve antioksidan aktivite ölçümünde kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlardan 100'er  $\mu$ l alınarak tüplere ilave edilmiştir. Üzerlerine DPPH çözeltisinden 3.9'ar mL ilave edilerek vorteksenerek karıştırılmıştır. Ardından 45 dk karanlıkta bekletilmiş ve sürenin sonunda metanole karşı UV-visible spektrofotometrede (Shimadzu, UV- 1800, Kyoto, Japan) 517 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için aynı analiz farklı konsantrasyonlardaki Troloks standardının metanolik çözeltilerine uygulanmıştır. 517 nm'de absorbansları (Y-ekseni) kaydedilerek konsantrasyona karşı (X-ekseni) absorbans grafiği çizilmiştir (EK A3). Antioksidan aktivite değerleri %inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

### 3.4.12 Statik *in vitro* sindirim

Ağız, mide ve bağırsaklardaki sindirim deneyi Flores ve diğ. (2014)'de belirtilen statik *in vitro* sindirim modeli ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle simüle tükürük, gastrik, bağırsak ve safra sıvılarının kompozisyonları Çizelge 3.6'da gösterildiği gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan simüle sindirim sıvılarının pH'ları 1M HCl ve 1M NaOH kullanarak ayarlanmıştır. Enkapsüle örneklerden (1 gr 100 mL'lik erlenmayerlere koyularak sırası ile her bir simüle sindirim sıvısından aşağıda belirtilen miktarlarda koyularak çalkalamalı inkübatörde 200 rpm'de 37 °C de inkübe edilmiştir. Sindirim aşağıda verilen sıralamaya göre gerçekleştirilmiştir:

- Ağız- 6 mL tükürük sıvısının eklenmesi ve 5 dk karıştırma;
- Mide- 12 mL gastrik sıvısının eklenmesi ve 2 saat karıştırma;
- Bağırsaklar- 12 mL duodenal sıvısının ve 6 mL safra sıvısının eklenmesi ve 2 saat karıştırma.

4 saatlik süre boyunca 1'er saat aralıklarla sıvı kısım (1.5 mL) toplanmış, 6238×g 5 dk santrifüj edilerek toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir.

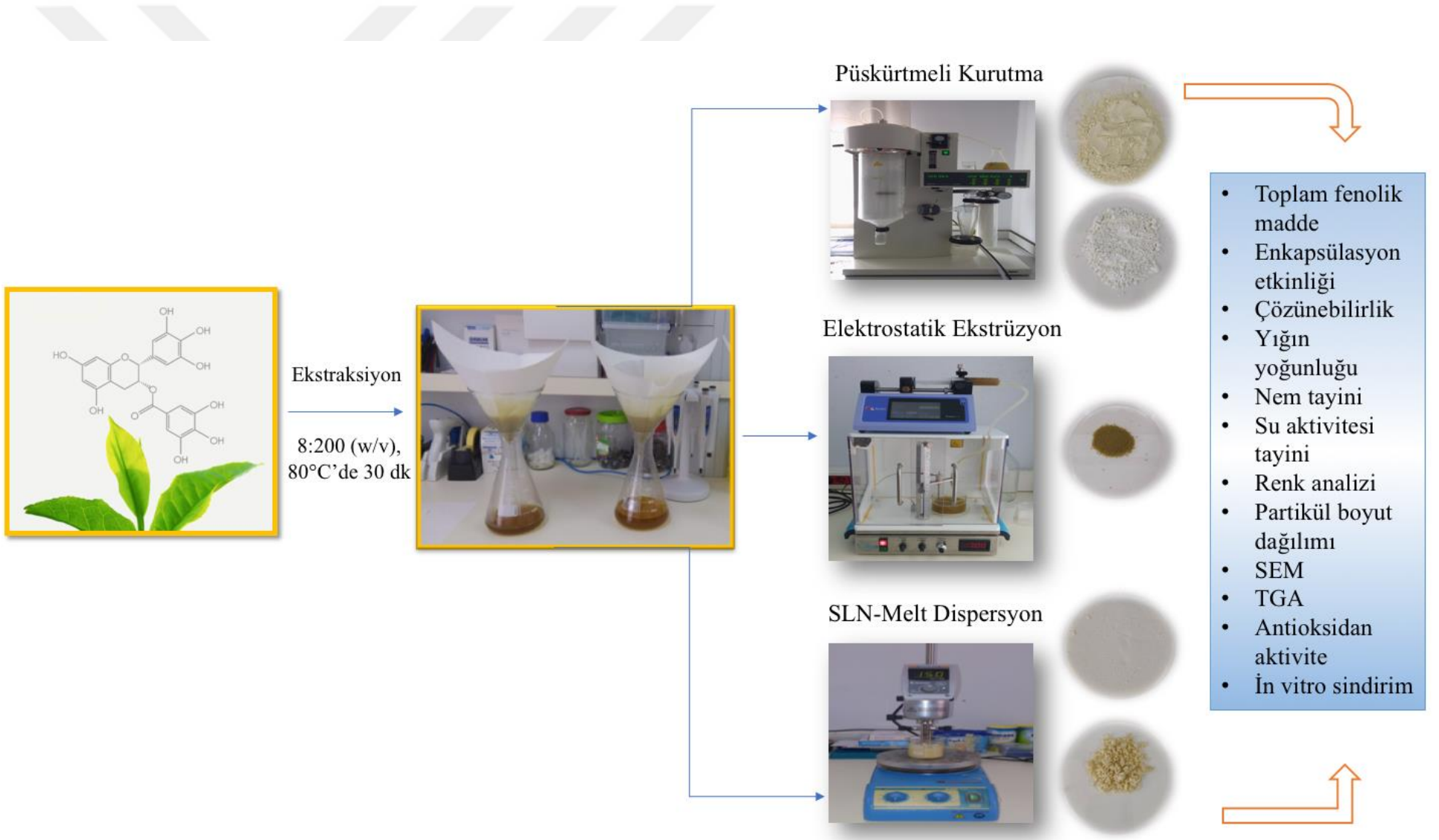
**Çizelge 3.6 : Simüle sindirim sıvılarının kompozisyonları.**

Tükürük solüsyonu	Gastrik solüsyonu	Bağırsak solüsyonu	Safra solüsyonu
500 mL saf su	500 mL saf su	500 mL saf su	500 mL saf su
58.5 mg NaCl	2.752 g NaCl	7.012 g NaCl	5.259 g NaCl
74.5 mg KCl	0.824 g KCl	0.564 g KCl	0.376 g KCl
1.05 g NaHCO <sub>3</sub>	0.266 g NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3.388 g NaHCO <sub>3</sub>	5.785 g NaHCO <sub>3</sub>
0.2 g Üre	0.399 g CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	80.0 mg KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	
	0.306 g NH <sub>4</sub> Cl	50.0 mg MgCl <sub>2</sub>	
	0.085 g Üre	0.1 g Üre	0.25 g Üre
	6.5 mL HCl	0.180 mL HCl	0.150 mL HCl
<b>Ek olarak</b>			
0.5 g Müsin	2.5 g Pepsin	9.0 g Pankreatin	30 g Safra tuzu
1.0 g α-Amylase	3.0 g Müsin	1.5 g Lipaz	
pH			
6.8 ± 0.2	1.30 ± 0.02	8.1 ± 0.2	8.2 ± 0.2

### 3.4.13 İstatiksel analiz

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli çıkan gruplar arası farklılıklar Duncan testine göre saptanmıştır. Bu amaçla, SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistiksel paket programı kullanılmıştır.





Şekil 3.7 : Tez çalışmasının grafiksel özeti.

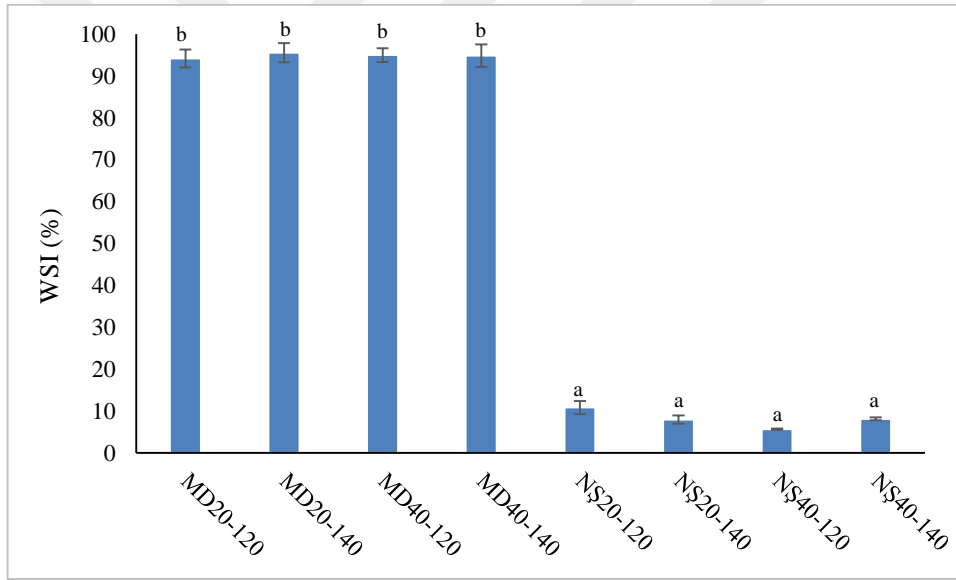
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Püskürtmeli Kurutma Tekniği ile Elde Edilen Mikrokapsüllere Ait Bulgular

Püskürtmeli kurutma tekniği kullanılarak elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerine ait bulgular aşağıdaki gibidir.

#### 4.1.1 Çözünürlük

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin çözünürlük değerleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin suda çözünürlükleri.

Kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve nişasta (%20 ve %40) kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C ve 140 °C) elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin suda çözünürlük indeksi (WSI), %5.70-95.57 arasında değişiklik göstermiştir. WSI değeri en yüksek olan örneklerin kaplama materyali olarak maltodekstrin (%94.20-95.57) kullanılarak elde edilen yeşil çay mikrokapsülleri olduğu, en düşük olan örneklerin ise kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen örnekler olduğu görülmüştür. Bu durum maltodekstrinin nişastaya göre yüksek çözünürlüğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca nişastadaki amiloz ve amilopektin

gruplarının varlığı suda çözünübilirliğin düşük olmasında etken bir durumdur (Lim ve diğ., 2019). Araştırmamızda elde edilen sonuçlara göre enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyali cinsinin suda çözünübilirliği etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında elde edilen mikrokapsüllerin suda çözünübilirlik indekslerinin %94.20 ile %95.57 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Suravanichnirachorn ve diğ. (2018), *Antidesma bunius* (L.) Spreng (mao) tozu eldesi için farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve gum arabik (%25, %30 ve %35) kullanmışlardır. Maltodekstrinle elde ettikleri mikrokapsüllerin suda çözünübilirlik indekslerinin (%91.64-96.87) yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kaplama materyali tipinin çözünübilirliği güçlü bir şekilde etkilediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızdaki bulguların literatürdeki veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca çalışmamızda kullanılan her iki kaplama materyali içinde kaplama materyali konsantrasyonu ve giriş sıcaklığının mikrokapsüllerin suda çözünübilirlik indeksleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

Susantikarn ve Donlo (2016), farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin kullanarak yeşil çay ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin suda çözünübilirlik değerlerinin %94-98 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Maltodekstrin konsantrasyonunun ve giriş sıcaklığının artırılmasının çözünübilirlik indeksini önemli derecede etkilemediğini saptamışlardır. Rocha ve diğ. (2019), farklı fenolik ekstraktlarını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik ve whey protein konsantratu kullanarak mikroenkapsüle etmişler ve en yüksek çözünübilirlik değerinin (%90.27) kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımı ile mümkün olduğunu belirlemişlerdir. Lim ve diğ. (2019) atık mango çekirdekleri özlerindeki fenolik bileşenleri farklı konsantrasyonlarda (%10, %20 ve %30) maltodekstrin, gum arabik ve nişasta kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (130 °C, 150 °C ve 170 °C) püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullanılarak elde ettikleri mikrokapsüllerin en yüksek suda çözünübilirliğe (%88.75-94.94) sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Maltodekstrin konsantrasyonunun ve giriş sıcaklığının artırılmasının mikroenkapsüle ekstraktlarının çözünübilirliklerini önemli derecede etkilemediğini belirtmişlerdir. Jafari ve diğ. (2017), nar suyunu farklı maltodekstrin konsantrasyonları kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Elde edilen mikrokapsüllerin suda çözünübilirlik indeksinin %92 ile %97 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca maltodekstrin konsantrasyonundaki ve giriş sıcaklığındaki artışın suda çözünübilirliği önemli derecede

etkilemediğini tespit etmişlerdir. Kha ve diğ. (2010), maltodekstrin konsantrasyonunun ve giriş sıcaklığının WSI (%)’yi önemli derecede etkilemediğini tespit etmişlerdir. Araştırmamızda bulunan sonuçların literatür ile benzer olduğu görülmüştür.

Tran ve Nguyen (2018), maltodekstrin, gum arabik ve bunların karışımını kaplama materyali olarak kullanarak limon otu yaprağı ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde edilen kapsüller içerisinde en yüksek çözünürlüğün (%91.57) kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüller olduğunu tespit etmişlerdir. Maltodekstrinlerin çözünürlükleri DE değerine ve hidroliz metoduna göre değişiklik göstermektedir. Hatta aynı DE değerine sahip olsalar bile enzim hidroliz ürünleri olan maltodekstrinlerin asit hidroliz ürünlerine oranla yüksek moleküllü sakkaritleri daha az içermesi sebebiyle suda daha iyi çözünbildiği bilinmektedir (Söbüçovalı ve Özer, 2014). Dolayısıyla literatürdeki çözünürlük değerleri ile çalışmamız arasında gözlemlenen küçük farklılıkların kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrinlerin DE değerlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca enkapsüle olan etken maddenin çözünürlüklerinin farklı oluşu da suda çözünürlük değerlerinde farklılıklara neden oldabileceği düşünülmüştür. Araştırmamızda bulunan sonuçların literatür ile benzer olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen kapsüllerin suda çözünürlüklerinin yüksek olduğu (%94.20-95.57) görülmüştür. Yüksek çözünürlük indeksi elde edilen maltodekstrin kapsüllerinin sulu sistemlerde biyoaktif bileşenlerin kullanımı için kolaylıkla ve etkili bir şekilde su içerisinde rekonstitüye edilebilirliğini göstermiştir (Tan ve diğ, 2015).

#### **4.1.1.1 Çözünürlüğe ait varyans analizi sonuçları**

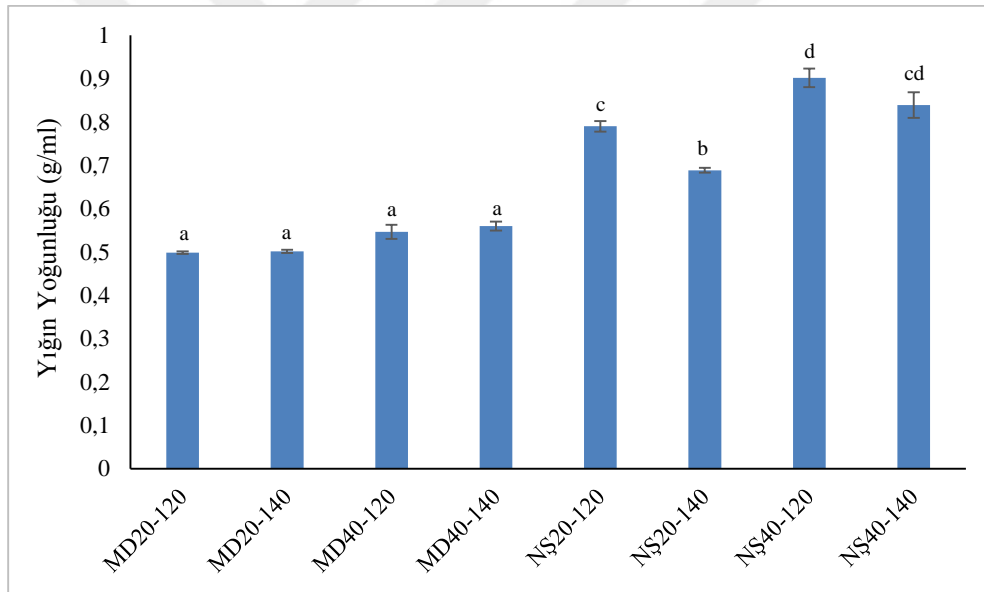
Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin ve kaplama materyali × konsantrasyon × sıcaklık interaksiyonunun çözünürlük üzerindeki etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.1 : Çözünürlüğe ait varyans analizi sonuçları.**

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	43772.473	11487.163	<b>0.000</b>
Konsantrasyon	8.730	2.291	0.15
Sıcaklık	0.262	0.068	0.800
Kaplama materyali × Konsantrasyon	9.458	2.482	0.130
Kaplama materyali × Sıcaklık	0.990	0.259	0.620
Konsantrasyon × Sıcaklık	5.250	1.377	0.260
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	16.814	4.412	<b>0.050</b>

#### 4.1.2 Yığın yoğunluğu

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen yeşil çay mikropsüllerinin yığın yoğunluklarına ait bulgular Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.2 : Yeşil çay mikrokapsüllerinin yığın yoğunlukları.**

Fonksiyonel nitelikler ve ekonomik sebeplerden dolayı yığın yoğunluğu toz ürünlerde önemli bir özelliktir. Yüksek yığın yoğunluğu nakliye ve paketleme maliyetini düşürmesi sebebiyle arzu edilen bir özelliktir. Düşük yığın yoğunluğu genellikle aglomera ürünlerde görülür. Akışkanlık ve instant nitelik gibi diğer toz özelliklerini de etkiler (Şahin-Nadeem ve diğ., 2013). Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C ve 140 °C) elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunlukları 0.50-0.56 g/mL arasında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarının ise 0.69-0.90 g/mL arasında olduğu tespit edilmiştir.

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarının kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Bu durumun sebebi elde edilen mikropartiküllerin yüzey morfolojileri ile açıklanabilir. Nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz ve çıkıntısız olduğu mikropartiküllerin SEM görüntülerinden görülmüştür (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Dolayısıyla pürüzsüz yapıda olan mikropartiküller daha akışkan bir özellik göstererek partiküller arasındaki boşluklara daha kolay bir şekilde dolmaktadır. Bu durum daha az hacim kaplamasına neden olmaktadır. Yığın yoğunluğu hacimle ters orantılı olduğundan bu durum nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarının daha yüksek olmasına neden olmuş olabilir. Ayrıca kaplama materyalinin yığın yoğunluğu da elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarını etkilemiş olabilir (Şahin-Nadeem, 2013). Lim ve diğ. (2019) atık mango çekirdekleri özlerindeki fenolik bileşenleri farklı konsantrasyonlarda (%10, %20 ve %30) maltodekstrin, gum arabik ve nişasta kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (130 °C, 150 °C ve 170 °C) püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullanılarak elde ettikleri mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarının nişasta kullanarak elde ettikleri kapsüllerinkinden daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmamızda elde edilen sonucun literatürdeki bu bilgi ile uyumlu olduğu görülmüştür. Kausadikar ve diğ. (2015), limon yağını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik, modifiye nişasta ve bunların karışımlarını kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali olarak sadece maltodekstrin kullanarak elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluğunu 0.46 g/mL olarak tespit etmişlerdir. Çalışkan ve Dirim (2016) sumak ekstraktını farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin (%20, %25 ve %30) kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (100 °C ve 200 °C) enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri kapsüllerin yığın yoğunluklarını 0.369-0.508 g/mL arasında olduğunu bulmuşlardır.

Nişasta ile elde edilen kapsüllerin yığın yoğunluklarının daha yüksek olması nişastanın yapısında yer alan amiloz ve amilopektin gruplarından ileri geldiği bildirilmiştir. Nişastanın yapısı %20-30 amiloz ve %70-80 amilopektin polimerlerinden oluşur. Bu oran nişastanın kaynağına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Nişastanın molekül ağırlığının yüksek olması yapısındaki amilopektin oranıyla orantılı bir durumdur. Materyalin molekül ağırlığı ne kadar yüksekse partiküller arasındaki boşluklara o kadar kolay bir şekilde yerleşir ve dolayısıyla daha az hacim kaplamasına sebep olur. Yığın yoğunluğu partiküllerin kapladığı hacimle ters orantılı olduğundan dolayı bu durumun partiküllerin yığın

yoğunluklarının daha yüksek olmasına sebep olduğu düşünülmüştür (Lim ve diğ, 2019; Tanon ve diğ, 2010).

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen kapsüllerde ise maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça yığın yoğunluklarının da arttığı görülmüştür. Ancak bu artış istatistiki olarak önemli görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde uygulanan giriş sıcaklıkları arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarında önemli düzeyde bir artış gözlemlenmediği tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ). Tewa-Tagne ve diğ. (2007), kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarında önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Lim ve diğ. (2019)'ın yapmış olduğu çalışmada maltodekstrin kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında elde edilen mikrokapsüllerde giriş sıcaklığındaki artış ile elde edilen kapsüllerin yığın yoğunluklarında önemli düzeyde bir artış olmadığını belirtmişlerdir. Bu durumun kaplama materyalinin sudaki çözünürlüğü veya su ile oluşturulan güçlü bağlarla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Maltodekstrinin kimyasal yapısındaki -OH terminal fonksiyonel grupların su ile hidrojen bağları oluşturabileceğini bundan dolayı da maltodekstrin ile enkapsülasyonun sıcaklık değişimlerine karşı nispeten daha stabil, damlacık genişlemesini engelleyen damlacık yapısına sahip olması ile açıklamışlardır. Çalışmamızdaki bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde ise kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça yığın yoğunluklarının arttığı gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ). Şahin-Nadeem ve diğ. (2013) kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça yığın yoğunluğunun arttığını belirtmişlerdir. Lim ve diğ. (2019) atık mango çekirdekleri özlerindeki fenolik bileşenleri farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça elde edilen kapsüllerin yığın yoğunluklarının arttığını belirlemişlerdir. Maltodekstrin konsantrasyonundaki artışın ekstrakt başına düşen kaplama materyali miktarını arttığını, bu durumun ise üretilen toz kapsüllerin yığın yoğunluklarında artışa sebep olduğunu belirtmişlerdir. Çalışkan ve Dirim (2016) ise maltodekstrin partiküllerinin ekstrakttaki çözünebilir kuru madde içeriğindeki partiküllerden daha büyük olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla maltodekstrin ilavesindeki artışın yığın yoğunluğundaki artışa sebep olduğu ile açıklamışlardır. Bae ve Lee (2008)'de yapmış oldukları çalışmada maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça elde ettikleri avakado yağı mikrokapsüllerinin yığın yoğunluklarının arttığını bulmuşlardır.

Çalışmamızda kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde giriş sıcaklıkları arttıkça elde edilen kapsüllerin yığın yoğunluklarının azaldığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Lim ve diğ. (2019) atık mango çekirdekleri özlerindeki fenolik bileşenleri farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin, gum arabik ve nişasta kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmada nişasta kullanılarak elde edilen kapsüllerde giriş sıcaklığı arttıkça yığın yoğunluklarının önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir.

Mishira ve diğ. (2014) giriş sıcaklığı arttıkça elde ettikleri amla suyu tozlarının yığın yoğunluklarının azaldığını tespit etmişlerdir. Cai ve Corke (2000), Goula ve diğ. (2004), Kha ve diğ. (2010), Walton ve Mumford (1999) de benzer şekilde sıcaklık artışının yığın yoğunluğunda azalışa sebep olduğunu belirtmişlerdir. Jumah ve diğ. (2000), Mishira ve diğ. (2014), Walton (2000), Chegini ve Ghobadian (2005) bu durumu yüksek sıcaklıklarda püskürtmeli kurutmada kuruma oranının daha hızlı gerçekleştiği, bu durumun da damlacık büzüşmesinin daha az olmasına dolayısıyla da daha düşük yığın yoğunluğuna sebep olması şekliyle açıklamışlardır.

Yığın yoğunluğu, elde edilen partiküllerin boyutu ve dağılımından etkilenmektedir. Küçük partikül boyutu oranının fazla olması elde edilen kapsüllerin daha az hacim kaplamasına dolayısıyla yığın yoğunluklarının daha yüksek olmasına sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra düşük yığın yoğunluğu paketlemede daha yüksek hacime sebep olmaktadır (Can, 2017; Vardin ve Yaşar, 2012; Santhalakshmy ve diğ, 2015). Yığın yoğunluğunun düşük olması daha fazla havanın partiküllere adsorbe olduğunu göstermektedir. Bu durumun da oksidatif hasarın gerçekleşme ihtimalini arttırdığını ve dolayısıyla stabiliteyi azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca yığın yoğunluğu beslemedeki katı düzeyi ile doğrudan ilişkilidir (Cai and Corke, 2000; Can, 2017; Santhalakshmy ve diğ, 2015; Tan ve diğ, 2015). Yüksek yığın yoğunluğu, oksidatif hasara karşı daha dayanıklı ve daha stabil partikül eldesini ve daha az paketleme hacmine ihtiyaç duyulması açısından arzu edilen bir özelliktir (Can, 2017). Bu bilgiler ışığında kaplama materyali olarak nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarının yüksek olması sebebiyle yığın yoğunluğu açısından daha tercih edilebilir olduğunu söylemek mümkündür.

#### **4.1.2.1 Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları**

Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Gerçekleştirilen varyans analizi

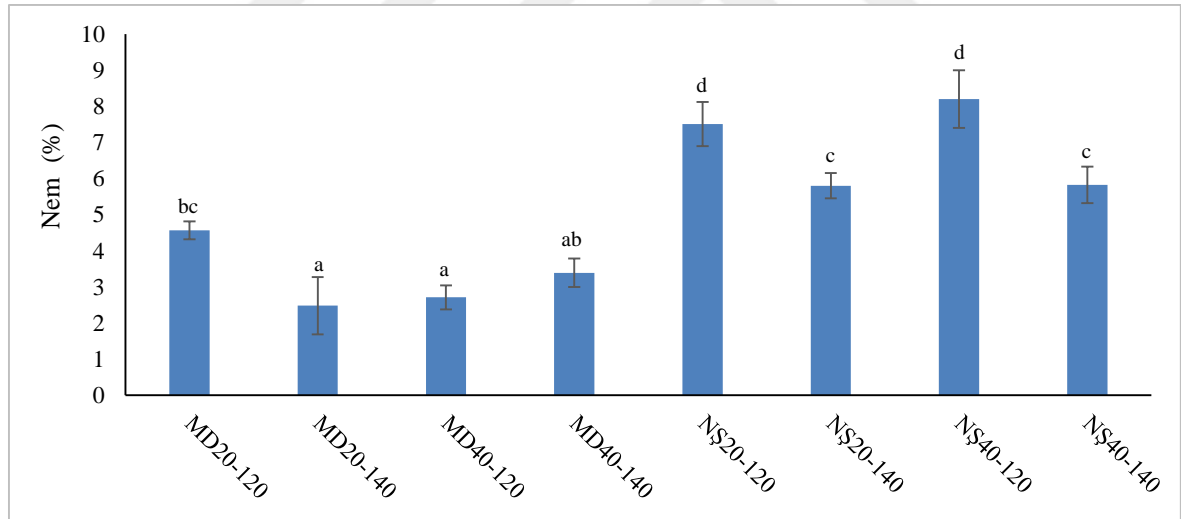
sonucuna göre yığın yoğunluğu bakımından, konsantrasyonun ve kaplama materyali × sıcaklık interaksiyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.2 :** Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	0.618	184.614	9.16
Konsantrasyon	0.067	20.201	<b>0.000</b>
Sıcaklık	0.011	3.288	0.082
Kaplama materyali × Konsantrasyon	0.012	3.600	0.069
Kaplama materyali × Sıcaklık	0.016	4.853	<b>0.037</b>
Konsantrasyon × Sıcaklık	0.001	0.359	0.554
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	0.000	0.120	0.731

#### 4.1.3 Nem içerikleri

Püskürtmeli kurutma sonucu elde edilen kapsüllerin nem içerikleri ile ilgili bulgular Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.3 :** Yeşil çay mikrokapsüllerinin nem içerikleri.

Çalışmamız sonucunda kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin nem içerikleri %2.48-4.56 arasında, nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin ise %5.80-8.20 arasında olduğu saptanmıştır. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen kapsüllerin nem içeriklerinin maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllere kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumu kaplama materyalinin kimyasal özellikleri ve kaplama materyalinin su ile olan ilişkisi ile açıklamak

mümkündür. Nişastanın yapısındaki -OH grupları sayısının maltodekstrine kıyasla daha fazla olması ve nişastanın H<sub>2</sub>O ile daha fazla etkileşime girmesi dolayısıyla kurutma esnasında daha fazla suyu yapısında tutması ile açıklanabilir (Bağış, 2019). Ayrıca nişastada su, kapanlanmış su formunda bulunur. Bu su formunun makroskopik akışının engellenmiş olması yapıdaki suyun uzaklaştırılmasını zorlaştırmış dolayısıyla bu durum nem değerlerinin maltodekstrine kıyasla daha yüksek olmasına neden olmuş olabilir. Bağış ve Karabulut (2020), Karvakrol'u maltodekstrin, nişasta ve gum arabik ve bunların farklı oranlarda karışımını kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak edilen mikrokapsüllerin nem içeriğinin diğer kaplama materyallerine kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Özdemir (2019), Fesleğen uçucu yağını maltodekstrin, akaya gum ve whey proteini kullanarak mikroenkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali kompozisyonuna MD ilave ettiklerinde elde ettikleri mikrokapsüllerin nem içeriklerinin daha da düştüğünü belirtmişlerdir. Du ve diğ. (2014) yapmış oldukları çalışmada, hurma pulpunun enkapsülasyonu için kaplama materyali olarak MD kullanıldığında diğer kaplama maddelerine kıyasla daha düşük nem içeriğine sahip mikrokapsüller elde ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin nişastaya kıyasla en düşük nem içeriklerine sahip mikrokapsüller olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz bu sonucun söz konusu literatürler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Ma ve Dolan (2011), Yaban mersini ekstraktının püskürtmeli kurutma ile enkapsülasyonunda elde edilen mikrokapsüllerin nem içeriğinin %6.84-8.08 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Tamsone ve diğ. (2020), farklı kaplama maddeleri kullanarak bayır turpu yaprakları ve kökünün ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada kaplama materyali olarak nişasta kullanarak elde ettikleri mikropartiküllerin nem içeriklerinin sırası ile %7.46-8.29 ve %7.54-8.04 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Rajabi ve diğ. (2015), Safran biyoaktif bileşenlerini püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin nem içeriklerinin %2.70-5.33 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Couto ve diğ. (2013), *Eugenia dysenterica* DC ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin nem içeriklerinin %2.90-4.66 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı kaplama materyali kullanarak elde ettiğimiz mikrokapsüllerin nem içeriklerinin literatürde bulunanlar ile çok yakın değerler olduğu görülmüştür. Görülen küçük

farklılıkların kullanılan kaplama materyali çeşidi, konsantrasyonu, püskürtmeli kurutma prosesinin şartları ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Daza ve diğ. (2016), Fazaeli ve diğ. (2012), Frascareli ve diğ. (2012), and Tonon ve diğ. (2008) sırasıyla cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), karadut suyu, kahve yağı ve açai suyunun mikroenkapsülasyonunda giriş sıcaklığındaki artışa bağlı olarak elde edilen kapsüllerin nem içeriğinin azaldığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu görüşmüştür. Bu durumu şu şekilde açıklamak mümkündür; giriş sıcaklığındaki artış partiküllerden daha yüksek ısı transferine neden olur. Bu durum da suyun evaporasyonu için daha büyük itici güç ile sonuçlanır ve dolayısıyla elde edilen toz mikropartiküllerin nem içeriğinin daha düşük olmasına neden olur (Bastias-Montes ve diğ, 2018, Daza ve diğ, 2016; Do ve Nguyen, 2018; Lourenço ve diğ, 2020, Susantikarn ve Donlao, 2016). Ayrıca hava akış oranındaki ve hava sıcaklığındaki artış daha hızlı difüzyon oranından dolayı elde edilen partiküllerin nem içeriğinin daha düşük olmasına neden olmaktadır (Bhattarai ve diğ, 2001; Pellicer ve diğ, 2019; Simon-Brown ve diğ, 2016). Maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde de benzer durum gözlemlenmiştir. Sadece %40 (w/v) maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde giriş sıcaklığı arttıkça nem içeriğinin arttığı saptanmıştır. Santhalakshmy ve diğ. (2015) giriş sıcaklığı arttıkça nem içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu durumu yüksek sıcaklıkta damlacık yüzeyinde kabuk oluşumu ile ilişkilendirmişlerdir.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça mikrokapsüllerin nem içeriğindeki artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Çalışmamızda kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımında ise 120 °C'deki üretimde maltodekstrin konsantrasyonunun %20'den %40'a arttırılması durumunda nem içeriğinin düştüğü görülmüştür (%4.57'dan 2.71'e). Maltodekstrin suda çözünebilen bir maddedir. Besleme sıvısında maltodekstrin konsantrasyonunun artması ile besleme sıvısının kuru madde içeriği artmış, su içeriği azalmıştır. Dolayısıyla kurutma işlemi esnasında düşük miktardaki su yapıdan daha kolay uzaklaşmış elde edilen partiküllerin daha düşük nem içeriklerine sahip olması ile sonuçlanmıştır (Lingua ve diğ, 2020; Rajabi ve diğ, 2015). Fernandes ve diğ. (2008), *Lippia sidoides* esansiyel yağını püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Kuru madde içeriğindeki artışa (%30'dan %60'a) bağlı olarak nem içeriğinin %5'den %4'e düştüğünü belirtmişlerdir.

Rajabi ve diğ. (2015), Safran biyoaktif bileşenlerini püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin nem içeriklerinin besleme sıvısının kuru madde içeriğindeki artışa (%30'dan %40'a) bağlı olarak azaldığını belirtmişlerdir (%5.33'den %2.70'e). Çalışmamızda bulduğumuz bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Maltodekstrin kullanılarak gerçekleştirilen 140 °C'deki üretimde ise nem içeriğinin kaplama materyalinin konsantrasyonundaki artışına bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bu durum yüksek sıcaklıkta damlacık yüzeyinde kabuk oluşumu ile ilişkilendirilebilir. Kabuk oluşumu kurutma esnasında yapıdaki suyun uzaklaştırılmasını zorlaştırmış ve dolayısıyla elde edilen partiküller daha yüksek nem içeriğine sahip olmuş olabilir.

Düşük nem içeriğinin mikropartiküllerin kalitesini etkileyen ve depolama esnasında hızlı bozulmayı önlemesinden dolayı önemli bir parametredir (Tupuna ve diğ, 2018). Gıda tozlarının nem içeriklerinin %4-6 arasında olması istenir. Bu durum uzun süreli depolamaya imkân sağlar (Mahdi ve diğ, 2019). Çalışmamızda en düşük nem içeriği değerlerine kaplama materyali olarak MD kullanıldığında ulaşılmıştır. Dolayısıyla bu partiküllerin depolama ömürlerinin daha uzun olabileceğini söylemek mümkündür.

#### 4.1.3.1 Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları

Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin, sıcaklığın, kaplama materyali × sıcaklık ve kaplama materyali × konsantrasyon × sıcaklık interaksiyonlarının nem içerikleri üzerindeki etkilerinin önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ).

**Çizelge 4.3 : Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları.**

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	100.683	140.216	<b>0.000</b>
Konsantrasyon	0.025	0.035	0.852
Sıcaklık	15.077	20.998	<b>0.000</b>
Kaplama materyali × Konsantrasyon	1.377	1.917	0.180
Kaplama materyali × Sıcaklık	3.582	4.989	<b>0.040</b>
Konsantrasyon × Sıcaklık	2.198	3.062	0.092
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	5.896	8.212	<b>0.008</b>

#### 4.1.4 Enkapsülasyon verimi

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerine ait enkapsülasyon verimi değerleri Çizelge 4.4'deki gibidir.

**Çizelge 4.4 : Mikrokapsüllerin enkapsülasyon verimleri.**

Örnek Kodu*	Verim (%)
MD20-120	89.28 <sup>d</sup> ±3.79
MD20-140	89.14 <sup>d</sup> ±2.85
MD40-120	82.61 <sup>cd</sup> ±2.04
MD40-140	83.56 <sup>cd</sup> ±4.93
NŞ20-120	77.73 <sup>c</sup> ±11.04
NŞ20-140	75.66 <sup>c</sup> ±2.64
NŞ40-120	35.19 <sup>a</sup> ±3.30
NŞ40-140	48.49 <sup>b</sup> ±13.59

\*MD20-120: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD20-140: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; MD40-120: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD40-140: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ20-120: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ20-140: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ40-120: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ40-140: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim. <sup>a-d</sup>Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

Yapmış olduğumuz çalışmada farklı kaplama maddeleri kullanılarak elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin enkapsülasyon verimlerinin %35.19-89.28 arasında olduğu görülmüştür. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanıldığında enkapsülasyon veriminin %82.61-89.28 arasında olduğu, kaplama materyali olarak nişasta kullanıldığında ise enkapsülasyon veriminin %35.19-77.73 arasında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimine kaplama materyali olarak %20 maltodekstrin kullanıldığında ve 120 °C'deki üretimlerde (%89.28) ulaşılmıştır. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılması durumunda ise enkapsülasyon veriminin nispeten daha düşük olduğu görülmüştür. Biyoaktif bileşenlerin enkapsüle partiküllerde alıkonması enkapsülasyon etkinliğinin bir ölçümü olmaktadır (Can, 2017; Kha ve diğ, 2010; Tan ve diğ, 201). Murali ve diğ. (2014), siyah havuç ekstraktını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik

ve tapyoka nişastası kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (150, 175, 200 ve 225 °C) enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullandıklarında enkapsülasyon etkinliklerinin nişastaya nazaran daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Maltodekstrin kullanımında enkapsülasyon etkinliğinin %60.78-87.24 aralığında iken nişastada kullanıldığında ise %56.96-64.82 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Cano-Higuita ve diğ. (2015), Zerdaçal oleoresinini farklı kaplama maddeleri ve bunların karışımı ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullanarak elde ettikleri mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin nişastaya nazaran daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Varavinitt ve diğ. (2001), aroma enkapsülasyonunda, Nunes ve Mercadante (2007) likopen enkapsülasyonunda duvar materyali olarak gum arabik ve maltodekstrinin hem bireysel hem de birlikte kullanımında iyi bir taşıyıcı madde olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanısıra bazı çalışmalar (Bayram ve diğ, 2005; Gharsallaoui ve diğ, 2007) püskürtmeli kurutmada nişastanın karamelize olması, püskürtmeli kurutma duvarına yapışması, kurutma esnasında nozulu tıkaşından dolayı uygun bir kaplama materyali olmadığını belirtmiştir (Eun ve diğ, 2019). Akdeniz ve diğ. (2017), soğan kabuğu fenolik bileşenlerini maltodekstrin ve gum arabik kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. En yüksek enkapsülasyon etkinliğini kaplama materyali olarak sadece MD kullanıldığında elde ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Papoutsis ve diğ. (2018) ve Tao ve diğ. (2017), kaplama maddelerinin polifenollerini enkapsülasyon etkinliği onların dispersiyon ortamında çözünübilirliği, yapısı ve film oluşturma kapasitesi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgiler göz önüne alındığında kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımında elde edilen yüksek enkapsülasyon etkinliğini maltodekstrinin fizikokimyasal özellikleri ile açıklamak mümkündür. Maltodekstrin suda çözünebilir ve nişastanın hidrolize ürünüdür. Fenolik maddelerin suda çözünebilir özelliği de göz önüne alındığında bu iki maddenin iyi emülsiyonunun oluşması kurutma işleminden sonra fenolik maddelerin yapı içerisinde daha fazla tutulması ile ilişkilendirmek mümkündür.

Yapmış olduğumuz çalışmada hem maltodekstrin hem de nişasta kullanılması durumunda da kaplama materyali konsantrasyonunun %20'den %40'a artması durumunda enkapsülasyon veriminin azaldığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Her iki kaplama materyali kullanıldığında da en yüksek verim değerine %20 konsantrasyonda ve 120 °C'deki üretimlerde ulaşılmıştır. (MD20-120 ve NŞ20-120 kodlu örneklerde). Kaplama materyali konsantrasyonunun enkapsülasyon verimi üzerinde etkili bir parametre olduğu tespit

edilmiştir. Sun ve diğ. (2020), yüksek sıcaklıklarda elde ettikleri mikrokapsüllerin etkinliğinin nispeten daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Purnamayati ve diğ. (2018), fikosiyaniyi farklı giriş sıcaklıkları (90 °C, 110 °C ve 130 °C) uygulayarak enkapsüle etmişlerdir. En yüksek enkapsülasyon etkinliğine en düşük giriş sıcaklığı (90 °C) uygulamasında ulaştıklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızda da en yüksek enkapsülasyon etkinliği her iki kaplama materyali için de düşük giriş sıcaklığı uyguladığımızda (120 °C) düşük kaplama materyali konsantrasyonlarında (%20) tespit edilmiştir. Mazumder ve diğ. (2020), izoflavon enkapsülasyonunda enkapsülasyon etkinliğinin kaplama materyali miktarından etkilendiğini belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada kaplama materyali miktarı azaldıkça enkapsülasyon etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir. Correa-Filho ve diğ. (2019), Beta karoten enkapsülasyonunda kaplama materyali konsantrasyonunun (gum arabik) artışına bağlı olarak enkapsülasyon etkinliğinin azaldığını tespit etmişlerdir. Literatürdeki bu bilgilerin çalışmamızdaki sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Correa-Filho ve diğ. (2019), duvar materyali konsantrasyonunun püskürtmeli kurutucuya beslenen besleme sıvısının vizkozitesini etkilemesinden dolayı biyoaktif materyalin alıkonmasını etkileyen önemli bir faktör olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanısıra besleme sıvısının çok yüksek vizkoziteye sahip olması püskürtmeli kurutma esnasında partiküllerin kesintili oluşumunu ertelemesi, düşük vizkozitenin ise yarıgeçirgen yüzey tabakası oluşumunu ertelemesinden dolayı biyoaktif bileşenin daha fazla kaybına neden olduğunu dolayısıyla besleme solüsyonunun çözünürlüğüne ve vizkozitesine bağlı olarak yüksek enkapsülasyon etkinliğine ulaşabilmek için her bir kaplama materyalinin ideal besleme konsantrasyonunu belirlemek gerektiğini belirtmişlerdir. Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça artan vizkozite eğer çok yüksek değilse bu durum etken maddenin korunmasına yardımcı olur. Ancak konsantrasyon artışıyla vizkozite çok yüksek değerlere ulaşırsa bu durum da kurutma süresini arttıracığından etken maddenin kaybına neden olmaktadır. Çalışmamızda kaplama materyali olarak konsantrasyonun artışı ile enkapsülasyon veriminin azalışını yukarıda bahsedilen yüksek kaplama materyali konsantrasyonlarında besleme sıvısının vizkozitesindeki artış ile ilişkilendirmek mümkündür. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda en yüksek etkinliğe ulaşılan ideal maltodekstrin ve nişasta konsantrasyonlarının %20 (%w/v) olduğu saptanmıştır. De Barros Fernandes ve diğ. (2014b) biberiye esansiyel yağının enkapsülasyonunda kaplama materyali olarak maltodekstrin ve modifiye nişasta kullanarak en yüksek enkapsülasyon etkinliğine %22 konsantrasyonda maltodekstrin kullanımında ulaştıklarını belirtmişlerdir. %22 MD

konsantrasyonunun kaplama materyali olarak ideal konsantrasyon olduğunu belirtmişlerdir. Ahmadian ve diğ. (2019), safran taç yaprakları fenolik ekstraktının püskürtmeli kurutma tekniği ile kaplama materyali olarak maltodekstrin ve maltodekstrin-pektin karışımı kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak enkapsülasyon etkinliğinin arttığını (%68.20'den % 86.77'ye) tespit etmişlerdir. Boyano-Orazco ve diğ. (2020), besleme sıvısındaki kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça fenolik maddelerin besleme sıvısındaki konsantrasyonunun seyrelmesine bağlı olarak elde edilen mikropartiküllerin fenolik madde içeriklerinin de azaldığını dolayısıyla enkapsülasyon etkinliğinin azaldığını belirtmişlerdir. Literatürde tespit edilen bu sonuçların çalışmamızdaki sonuçlarla uyumlu olduğu saptanmıştır.

Paini ve diğ. (2015), pirina fenolik bileşenlerini farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin kullanarak farklı sıcaklıklarda (130 °C ve 160 °C) püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğini %77-65 arasında saptamışlardır. En yüksek etkinliğe (%77) 130 °C'deki 100 g/L MD kullanımında ulaşmışlardır.

Zorzenon ve diğ. (2020), stevia ekstraktını kaplama materyali olarak farklı DE değerlerine (DE10 ve DE19) sahip maltodekstrin kullanarak 130 °C'de püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliği değerini %87.70 (DE10 için) ve %76.70 (DE19 için) olarak saptamışlardır.

Navarro-Flores ve diğ. (2020), fenolik bileşenlerce zengin doğal bitki ekstraktlarını farklı kaplama maddeleri ile püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanıldığında enkapsülasyon etkinliğini %65.40 olarak saptamışlardır.

Kaderides ve Goula (2019), nar kabuğu ekstraktını portakal suyu atıklarından elde edilen kaplamamaddesi ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğinin %85.00-98.73 arasında tespit etmişlerdir. Cheraghali ve diğ. (2018), yeşil ceviz kabuğu ekstraktını duvar materyali olarak maltodekstrin, pektin ve aljinatın farklı oranda kombinasyonunu kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğini %72.50-79.35 arasında saptamışlardır.

Çalışmamızda kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde (%20 MD) giriş sıcaklığındaki artış ile enkapsülasyon veriminde azda olsa bir azalış görülmüştür ( $P>0.05$ ). %40 MD konsantrasyonlarında da giriş sıcaklığının

enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Ren vd diğ. (2020), turunçgil yağını farklı giriş sıcaklıkları uygulayarak maltodekstrin kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığının 130 °C'dan 150 °C'ye, 150 °C'den 170 °C'e çıkması durumunda elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinde az bir düşüş olduğunu ancak bu düşüşün de istatistiki olarak önemli olmadığını belirtmişlerdir. Ancak 110 °C'den 150 °C'ye çıkılması durumunda enkapsülasyon etkinliğinin azaldığını belirtmişlerdir. Yüksek giriş sıcaklıklarında hızlı evaporasyon oluşmaktadır. Aktif maddeye kıyasla duvar materyalinin daha hızlı kurumasına neden olmaktadır. Bu durum da yüzeyde oluklar, kırışıklıklar, porların oluşmasına neden olarak aktif maddenin sızması ve kaybı ile ilişkilendirilmiştir (Mohammed ve diğ, 2017). Kaplama materyali olarak nişasta kullanımında ise %20 NŞ konsantrasyonlarında giriş sıcaklığının artması enkapsülasyon etkinliği üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz olurken %40 nişasta konsantrasyonunda ise giriş sıcaklığının artmasıyla enkapsülasyon etkinliğinin arttığı saptanmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda giriş sıcaklığı arttıkça enkapsülasyon etkinliğinin artması yüksek kuru madde konsantrasyonunun kurutmanın erken aşamalarında çok kalın bir tabakanın oluşmasına neden olmuş bu da etken maddenin kurutmanın erken aşamalarında yüksek sıcaklığa rağmen kaybını önlemiş ve korunmasını sağlamış olabilir. Ayrıca kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça püskürtmeli kurutucuya beslenen sıvının vizkozitesi artmaktadır. Yüksek vizkozitede atomizasyon esnasında daha geniş damlacıklar oluşmakta dolayısıyla püskürtmeli kurutma ile daha büyük partiküller oluşmaktadır (Pang ve diğ, 2014; Tonon ve diğ, 2008). Pang ve diğ. (2014), aynı konsantrasyonda nişasta ile elde edilen partiküllerin çaplarının daha yüksek olduğu ve o konsantrasyonda nişastanın vizkozitesinin maltodekstrine kıyasla daha yüksek olmasından kaynaklandığı şeklinde açıklamışlardır. Dolayısıyla enkapsülasyon etkinliğinin yüksek olması yüksek konsantrasyonda (%40) nişastanın sıcaklık artışına rağmen etken maddeyi daha iyi koruması ile açıklanabilir. Bu durum da etkinliğin yüksek olmasına neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak kaplama materyali çeşidinin enkapsülasyon verimi üzerinde etkili olduğu kaplama materyali konsantrasyondaki artışın ise enkapsülasyon verimini düşüren bir faktör olduğu saptanmıştır. Literatürde görülen enkapsülasyon verimi değerleri ile çalışmamızda görülen farklılıkların ise kullanılan kaplama materyali çeşidi, kaplama materyalinin esterleşme derecesi (DE), kaplama materyali kombinasyonu, aktif maddenin özelliği (hidrofilik, lipofilik oluşu), etken maddenin yüksek sıcaklık karşısındaki davranışı,

duvar materyali ile biyoaktif bileşen arasındaki interreaksiyon, kurutma parametreleri (giriş sıcaklığı gibi), besleme akış oranı, püskürtmeli kurutma prosesinin aygıtları (kullanılan nozzıl tip gibi) faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Baron ve diğ, 2021).

#### 4.1.4.1 Enkapsülasyon verimine ait varyans analizi sonuçları

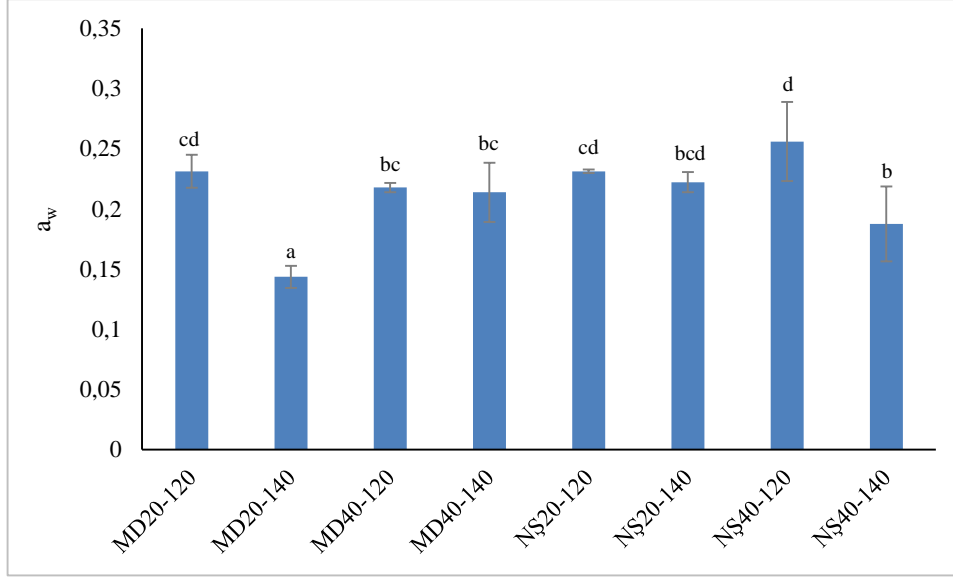
Enkapsülasyon verimine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin, konsantrasyonun ve kaplama materyali × konsantrasyon interaksiyonunun enkapsülasyon verimi üzerinde önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.5 : Enkapsülasyon verimine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	5781.358	123.060	<b>0.000</b>
Konsantrasyon	3358.458	71.487	<b>0.000</b>
Sıcaklık	72.700	1.547	0.226
Kaplama materyali × Konsantrasyon	1651.236	35.148	<b>0.000</b>
Kaplama materyali × Sıcaklık	54.255	1.155	0.293
Konsantrasyon × Sıcaklık	135.436	2.883	0.102
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	101.821	2.167	0.154

#### 4.1.5 Su aktivitesi

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin su aktivitesi ( $a_w$ ) değerleri Şekil 4.4’deki gibidir.



**Şekil 4.4 :** Yeşil çay mikrokapsüllerinin  $a_w$  değerleri.

Su aktivitesi gıdaların raf ömrü ve güvenliği ile ilişkili bir ölçümdür. Su aktivitesi, mikrobiyal aktivite ve biyokimyasal degradasyonlar için kullanılabilir serbest suyun bir göstergesidir. Su aktivitesinin 0.6'dan düşük olduğu ( $a_w < 0.6$ ) durumlar genellikle mikrobiyolojik ve biyokimyasal olarak güvenilir olarak nitelendirilir (Lekshimi ve diğ., 2019; Rahman ve Labuza, 2007). Ayrıca kurutulmuş ürünlerde mikrobiyal ve biyokimyasal reaksiyonların sebep olduğu kalite kayıplarının su aktivitesinin 0.6'dan daha düşük olması durumunda önlenemediği belirtilmiştir (Lekshimi ve diğ., 2019). Toz esaslı ürünlerde ise topaklaşma ve kekleşme eğiliminin daha düşük olması sebebiyle endüstriyel hedef 0.3'den daha düşük su aktivitesi değerleridir (Damodaran ve Parkin 2017; Zhang ve diğ., 2020a).

Çalışmamızda püskürtmeli kurutma tekniği ile elde ettiğimiz yeşil çay mikrokapsüllerinin su aktivitesi değerlerinin 0.14-0.26 arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin su aktivitesi değerleri 0.14-0.23 arasında olduğu, nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin ise 0.19-0.26 arasında olduğu tespit edilmiştir. En düşük su aktivitesi değeri ( $a_w=0.14$ ) kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanarak elde edilen mikrokapsülde (MD20-140) saptanmıştır. Suravanichnirachorn ve diğ. (2018), *Antidesma bunius* (L.) Spreng (mao) tozu eldesi için farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve gum arabik (%25, %30 ve %35) kullanmışlardır. Elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.149-0.353 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Rezende ve diğ. (2018), *Malpighia emarginata* DC pulpundan elde ettikleri biyoaktif bileşenleri püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma ile enkapsüle etmişlerdir. En yüksek su aktivitesi değerini

püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsülasyonda elde ettiklerini belirtmişlerdir ( $a_w=0.26$ ). Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin normal aralıkta ve toz stabilitesini sağlamak için önerilen aralıkta olduğunu ( $a_w<0.30$ ) ifade etmişlerdir (Nunes ve diğ., 2015; Tonon ve diğ., 2019). Tonon ve diğ. (2009), su aktivitesinin 0.3'den daha düşük olduğunda mikrobiyal gelişim ve biyokimyasal reaksiyonlar için daha az serbest suyun olmasından toz stabilitesinin daha iyi olduğunu ve dolayısıyla bu durumun raf ömrünü arttırdığını belirtmişlerdir. Zhang ve diğ. (2020b), su aktivitesi değerlerini 0.20-0.24 olarak bulmuşlardır. Dadi ve diğ. (2019), ise yapmış oldukları çalışmada moringa yaprakları ekstraktını enkapsüle etmişlerdir.  $a_w$  değerlerini 0.19-0.21 arasında bulmuşlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz mikrokapsüllerin de su aktivitesi değerlerinin 0.30'dan düşük olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla elde ettiğimiz mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin normal aralıkta ve toz stabilitesini sağlamak için önerilen aralıkta olduğu görülmüştür.

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin su aktivitesi değerinin genellikle kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllere kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum nişastanın daha fazla sayıda hidrofilik grup içermesi dolayısıyla bu grupların su molekülü ile daha fazla bağ oluşturmasıyla açıklamak mümkündür. Dolayısıyla kaplama materyali çeşidinin su aktivitesi üzerinde önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

Janiszewska-Turak ve diğ. (2017), havuç suyunu maltodekstrin, gum arabik ve bunların karışımından oluşan kaplama maddeleri ile püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.26'dan düşük olduğunu saptamışlardır. Zhang ve diğ. (2020a), yaban mersini fenolik bileşenlerini farklı DE değerlerinde maltodekstrin, gum arabik ve bunların karışımlarını kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.16-0.27 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Literatürdeki bu sonuçların çalışmamızla uyumlu olduğu görülmüştür. Daza ve diğ. (2016), Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) meyvesini farklı sıcaklıklarda püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri tüm mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.3'den düşük olduğunu belirtmişlerdir. Moreno ve diğ. (2018), üzüm posası fenoliklerini kaplama materyali olarak MD, WPI, PPI kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.14-0.29 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Bastias-Montes ve diğ. (2018), Maqui berry (*Aristotelia chilensis*) ekstraktını maltodekstrin ve gum arabik kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile

enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.15-0.24 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Her iki kaplama materyali kullanılarak elde ettiğimiz kapsüllerin  $a_w$  değerlerinin 0.30'dan düşük olduğu görülmüştür. Bu durum ise elde ettiğimiz mikrokapsüllerin mikrobiyal olarak stabil olduğunu göstermiştir. Düşük su aktivitesi ortamında ( $a_w=0.00-0.25$ ) lipit oksidasyonunun sınırlanması, enzim aktivitesi ve esmerleşme reaksiyonlarının azalması beklenir. 0.30-0.50 su aktivitesi aralığında ise toz materyaller topaklaşmaya, kekleşmeye eğilim gösterir. Su aktivitesinin 0.60'ın üzerinde olması durumunda ise küf, bakteri ve mayaların gelişimi beklenir (Janiszewska-Turak ve diğ., 2017; Labuza ve Altunkar, 2007). Elde ettiğimiz tüm mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.26'dan düşük olduğu görülmüştür. Dolayısıyla mikrokapsüllerin mikrobiyal ve söz konusu biyokimyasal reaksiyonlara karşı (lipit oksidasyonu, esmerleşme reaksiyonları, enzim aktivitesi gibi) stabilitesinin yüksek olduğu söylenebilir.

Ayrıca çalışmamızda kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin su aktivitesi değerleri düşmüştür ( $P<0.05$ ). Çalışmamızda kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımında da giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin su aktivitesi değerlerinin düştüğü saptanmıştır. Bu düşüş %20 MD konsantrasyonunda istatistiki olarak önemli bulunurken ( $P<0.05$ ), %40 MD konsantrasyonlarında istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Tülek ve diğ. (2020), limonotundaki fenolik bileşenleri püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin su aktivitesi değerlerinin düştüğünü saptamışlardır. Watson ve diğ. (2017), nar suyunu kaplama materyali olarak maltodekstrin ve maltodekstrin/siklodekstrin kombinasyonu ile farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C, 140 °C ve 160 °C) enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığı arttıkça elde ettikleri mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin düştüğünü belirtmişlerdir. Bunu yüksek giriş sıcaklıklarında daha fazla suyun yapıdan uzaklaşması ile ilişkilendirmişlerdir. Ashokkumar ve diğ. (2018), Bastias-Montes ve diğ. (2018), Meena ve diğ. (2021) de giriş sıcaklığı arttıkça elde ettikleri mikropartiküllerin su aktivitesi değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz sonucun literatürdeki bu sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Sadece kaplama materyali olarak %40 MD kullanıldığında giriş sıcaklığındaki artış ile su aktivitesindeki bu düşüş istatistiki olarak önemli görülmemiştir ( $P>0.05$ ).

#### 4.1.5.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları

Genel bir değerlendirme yapmak amacıyla gerçekleştirilen su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin, sıcaklığın, kaplama materyali × konsantrasyon × sıcaklık interaksyonunun su aktivitesi üzerindeki etkisinin istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.6 : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	0.004	7.413	<b>0.011</b>
Konsantrasyon	0.001	1.967	0.173
Sıcaklık	0.014	25.787	<b>0.000</b>
Kaplama materyali × Konsantrasyon	0.002	4.011	0.056
Kaplama materyali × Sıcaklık	0.000	0.182	0.672
Konsantrasyon × Sıcaklık	0.000	0.529	0.473
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	0.010	18.473	<b>0.000</b>

#### 4.1.6 Renk analizi

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin renk değerleri Çizelge 4.7'deki gibidir.

Çizelge 4.7 : Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin renk değerleri.

Örnek Kodu*	$L^*$	$a^*$	$b^*$
MD20-120	92.02 <sup>c</sup> ±0.069	-0.58 <sup>e</sup> ±0.005	0.84 <sup>g</sup> ±0.026
MD20-140	92.06 <sup>c</sup> ±0.005	-0.58 <sup>e</sup> ±0.005	0.86 <sup>g</sup> ±0.005
MD40-120	92.17 <sup>d</sup> ±0.024	-0.59 <sup>e</sup> ±0.00	0.74 <sup>f</sup> ±0.005
MD40-140	92.18 <sup>d</sup> ±0.011	-0.58 <sup>e</sup> ±0.005	0.73 <sup>f</sup> ±0.005
NŞ20-120	91.75 <sup>a</sup> ±0.020	-0.56 <sup>e</sup> ±0.005	0.98 <sup>h</sup> ±0.015
NŞ20-140	91.85 <sup>a</sup> ±0.112	-0.57 <sup>e</sup> ±0.011	0.96 <sup>h</sup> ±0.035
NŞ40-120	91.88 <sup>b</sup> ±0.005	-0.58 <sup>e</sup> ±0.017	0.94 <sup>h</sup> ±0.034
NŞ40-140	91.94 <sup>b</sup> ±0.015	-0.58 <sup>e</sup> ±0.011	0.93 <sup>h</sup> ±0.015

\*MD20-120: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD20-140: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; MD40-120: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD40-140: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ20-120: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ20-140: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ40-120: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ40-140: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim. <sup>a-h</sup>Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

Kaplama materyali olarak MD kullanıldığında elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin  $L^*$  değerlerinin  $92.02\pm 0.069-92.18\pm 0.011$  arasında olduğu, kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinin ise  $91.75\pm 0.020-91.94\pm 0.015$  arasında olduğu saptanmıştır. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanarak elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllere kıyasla  $L^*$  değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.  $L^*$  değeri rengin parlaklığı (0: Siyah, 100: Beyaz),  $a^*$ : Kırmızılık/Yeşillik (-60: Yeşil, +60: Kırmızı),  $b^*$ : Sarılık/Mavilik (-60: Mavi, +60: Sarı) şeklinde üç boyutla ifade edilir (Keskin ve diğ., 2017). Bu durumda maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin nişastaya kıyasla daha beyaz (parlak) renge eğimli olduğu görülmüştür. Bu durumu kaplama materyalinin doğal rengi ile açıklamak mümkündür. Maltodekstrin nişastaya nazaran daha beyaz bir renge sahiptir. Bu durum son ürünün rengini etkilediği düşünülmüştür (Sarabandi ve diğ., 2018). Dolayısıyla maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  (parlaklık) değerleri daha yüksek çıkmıştır. Sarabandi ve diğ. (2018), elma suyu konsantresini Maltodekstrin, Gum arabik ve WPC kullanarak  $160\text{ }^\circ\text{C}$ 'de püskürtmeli kurutma tekniği ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullanılarak elde ettikleri mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinin diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Maltodekstrinle elde edilen mikrokapsüllerin  $a^*$  değerlerinin  $-0.58\pm 0.005$  ile  $-0.59\pm 0.00$  arasında olduğu saptanmıştır. Bu durum maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin yeşil renge meyilli olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda maltodekstrin konsantrasyonundaki artışın (%20'den %40'a) elde edilen mikrokapsüllerin  $a^*$  değerleri üzerinde önemli bir artışa neden olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Ancak maltodekstrin konsantrasyondaki artışın mikrokapsüllerin  $L^*$  değerleri üzerindeki artışı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Suravanichnirachorn ve diğ. (2018), *Antidesma bunius* (L.) Spreng (mao) tozu eldesi için farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve gum arabik (%25, %30, %35) kullanmışlardır. Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça  $L^*$  değerlerinin arttığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrin konsantrasyonunun %20'den %40'a artması ile mikrokapsüllerin  $L^*$  değerinde gözlemlenen artışın maltodekstrinin doğal beyaz renginden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Ayrıca kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılması durumunda giriş sıcaklığının artırılması ile elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerindeki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). İçyer (2012), nar kabuğu fenolik

maddelerini farklı giriş sıcaklıklarında ve farklı DE değerlerine sahip maltodekstrinler kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Farklı sıcaklıklarda yapılan mikroenkapsülasyon işlemleri sonucu elde edilen kurutulmuş ürünlerin renk ölçümlerinde giriş kurutma sıcaklıklarındaki artışın elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  ve  $a^*$  değeri üzerinde istatistiki olarak bir fark oluşturmadığını belirtmişlerdir. Kha ve diğ. (2010), Gac meyvesi tohumundaki karotenoid bileşenlerini farklı konsantrasyonda maltodekstrin kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (120,140,160,180, 200 °C) püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinin sıcaklıktaki artıştan önemli düzeyde etkilenmediğini belirtmişlerdir. Watson ve diğ. (2017), nar suyunu kaplama materyali olarak maltodekstrin ve maltodekstrin/siklodekstrin kombinasyonu ile farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C, 140 °C, 160 °C) enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığındaki artışın mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerin önemli derecede etkilemediğini belirtmişlerdir. Literatürdeki bu bulguların çalışmamızdaki bulgularla uyumlu olduğu görülmektedir.

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde ettiğimiz mikrokapsüllerin  $b^*$  değerlerinin  $0.73\pm 0.005$ - $0.86\pm 0.005$  arasında olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla maltodekstrin kullanılarak elde edilen tüm mikrokapsüllerin sarı renge meyilli olduğu saptanmıştır. %40 MD kullanarak elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin  $b^*$  değerlerinin %20 MD kullanılması ile elde edilen mikrokapsüllere kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Maltodekstrin konsantrasyonundaki artışın elde edilen mikrokapsüllerin sarılık değerlerinde azalışa neden olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). İçyer (2012), maltodekstrin oranı arttıkça  $b^*$  değerlerinde yani sarı rengin azaldığını belirtmişlerdir. Bu durum maltodekstrinin doğal renginden kaynaklanabilmesi ile ilişkilendirilebilir (Sarabandi ve diğ, 2018). Çalışmamızda hem %20 MD hem de %40 MD konsantrasyonlarında giriş sıcaklığındaki artışın  $b^*$  değerleri üzerinde önemli düzeyde etki etmediği saptanmıştır ( $P>0.05$ ).

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinin ise  $91.75\pm 0.020$ - $91.94\pm 0.015$  arasında,  $a^*$  değerlerinin  $-0.56\pm 0.005$  ile  $-0.58\pm 0.017$  arasında olduğu,  $b^*$  değerlerinin ise  $0.93\pm 0.015$  ile  $0.98\pm 0.015$  arasında olduğu saptanmıştır. Buna göre nişasta kullanılarak elde edilen tüm mikrokapsüllerin de beyaz, yeşil ve sarı renge meyilli olduğu söylenebilir. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde nişasta konsantrasyonundaki artışın  $L^*$  değerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Giriş sıcaklığındaki artışın ise elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel açıdan önemli görülmemiştir

( $P>0.05$ ). Sıcaklık ve konsantrasyondaki artışın ise mikrokapsüllerin  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı saptanmıştır.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak farklı konsantrasyonlarda (%20 ve %40) ve farklı giriş sıcaklıklarında (120 ve 140 °C) elde edilen tüm mikrokapsüllerin kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ve farklı giriş sıcaklıklarında elde edilen tüm mikrokapsüllerde  $b^*$  değerlerinin nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla nişasta ile elde edilen mikrokapsüllerin maltodekstrine kıyasla daha sarı renge meyilli olduğu görülmüştür. Bu durumun maltodekstrinle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin nişastaya nazaran yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kaplama materyalinin doğal renginden veya yüksek sıcaklıkta nişastanın karamelizasyondan kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Mahdi ve diğ. (2019), parmaklı ağaç kavunu (fingered citron) ekstraktını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik, modifiye nişasta ve whey proteini kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Farklı kaplama maddeleri ile elde edilen mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinin 94.62-95.61 arasında  $a^*$  değerlerinin -0.53 ile -0.79 arasında  $b^*$  değerlerinin ise 7.14-9.01 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin  $L^*$  değerlerinde önemli bir farklılık görülmediğini belirtmişlerdir.  $b^*$  değerindeki yüksekliğin aktif maddenin (ağaç kavunu ekstraktı) doğal renginden kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca bu çalışmada kaplama materyali kombinasyonlarında maltodekstrinin ve nişastanın yanında gum arabik veya whey protein de kullanılmıştır. Gum arabik D-glukuronik asit, L-ramnoz, D-galaktoz ve L-arabinoz ile yaklaşık %2 oranda glikoprotein içeren bir karbonhidrat polimeridir (Demirci, 2010). Kurutma esnasında glikoproteinlerin amino grupları ve şekerlerin karbonil grupları arasında enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonunun derecesine bağlı olarak son üründe sarıya daha yakın bir renk görülmesi muhtemeldir (Sarabandi ve diğ, 2018). Bu durum ise  $b^*$  değerlerinin daha yüksek çıkmasına neden olmuş olabilir.

Sousa ve diğ. (2008), püskürtmeli kurutma tekniği ile domates tozunun eldesinde en yüksek  $L^*$  değerine en yüksek giriş sıcaklığı uygulamasında elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu durumun pigment oksidasyonundan dolayı daha az koyuluğun oluşması ile ilişkilendirmişlerdir.

Quek ve diğ. (2007), karpuz ekstraktını farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin (%3.5 ve%4.5) ve farklı giriş sıcaklığı uygulamaları ile (145, 155, 165, 175 °C) enkapsüle etmişlerdir. %5 MD kullanılarak elde ettikleri mikrokapsüllerin renk değerlerinin ölçümü sonucu giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin  $b^*$  değerlerinin (sarılık) arttığını,  $L^*$  değerlerinin (beyazlık/parlaklık) ise azaldığını belirtmişlerdir. Yüksek sıcaklıklarda elde edilen mikrokapsüllerin daha koyu renkte olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumu karpuzun içermiş olduğu şekerlerin yüksek sıcaklıklarda esmerleşmesi ile ilişkilendirmişlerdir.

Goula ve Adamopoulos (2005) domates tozu üretiminde, Kha ve diğ. (2010) ise gac meyvesi tohumundaki karotenoid bileşenlerinin yüksek sıcaklıklardaki üretimlerde pigmentlerde termal degradasyon gerçekleşmesinden kırmızılık renk kaybının oluştuğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise yüksek sıcaklıklarda enkapsülasyonda elde edilen mikrokapsüllerin  $-a^*$  değerlerinde (yeşillik) bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Bu durumda çalışmamızda uygulanan sıcaklık normlarında enkapsüle olan yeşil çaydaki renk pigmentlerinin stabilitesini koruduğu düşünülmüştür.

Literatürde tespit edilen farklı bulguların uygulanan püskürtmeli kurutma proses şartlarının farklı oluşu, enkapsüle edilen aktif maddenin doğal renklerindeki farklılık, kaplama materyalinin çeşidi ve bileşimi (protein içermesi gibi) ve kaplama materyali ile etken madde arasında gerçekleşebilecek enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

#### **4.1.6.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları**

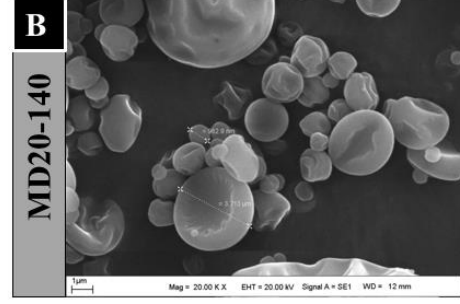
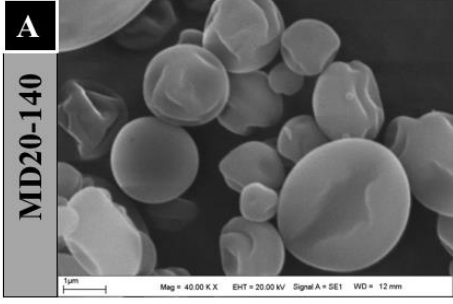
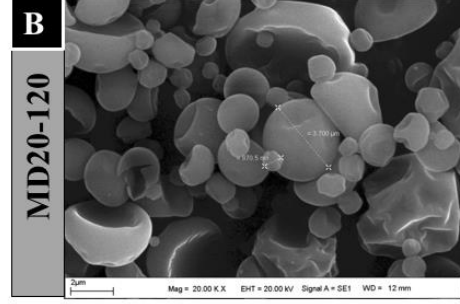
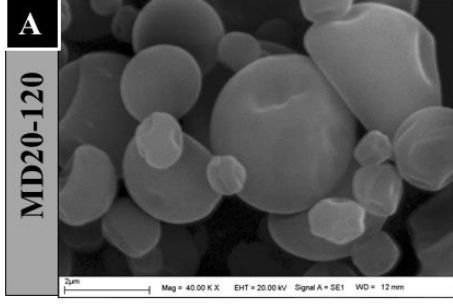
Renk analizine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Sıcaklığın  $L^*$  değeri üzerinde, kaplama materyali, konsantrasyon, kaplama materyali  $\times$  konsantrasyon ve konsantrasyon  $\times$  sıcaklık interaksiyonunun  $a^*$  değerleri üzerinde, kaplama materyali  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun ise  $b^*$  değeri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.8 :** Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları.

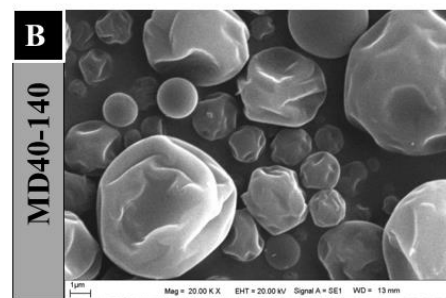
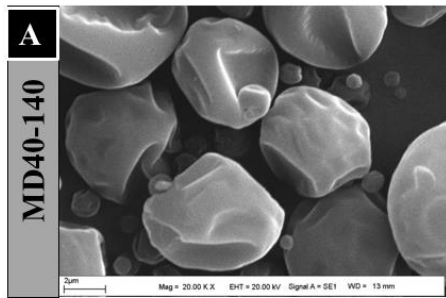
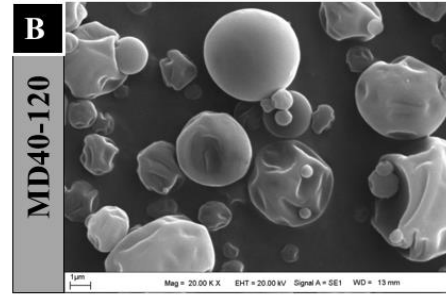
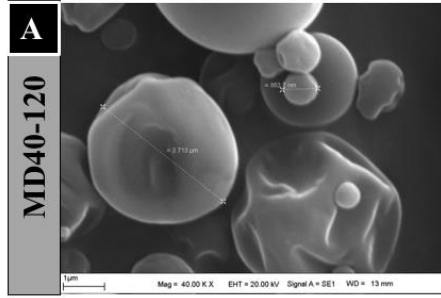
Varyasyon kaynakları		KO	F	P
Kaplama materyali	$L^*$	0.512	216.487	1.650
	$a^*$	0.001	15.939	<b>0.000</b>
	$b^*$	0.200	433.469	7.182
Konsantrasyon	$L^*$	0.118	50.186	2.529
	$a^*$	0.001	13.048	<b>0.001</b>
	$b^*$	0.047	102.453	3.877
Sıcaklık	$L^*$	0.022	9.535	<b>0.005</b>
	$a^*$	0.000	0.325	0.573
	$b^*$	0.000	1.144	0.295
Kaplama materyali × Konsantrasyon	$L^*$	0.000	0.381	0.542
	$a^*$	0.000	6.108	<b>0.020</b>
	$b^*$	0.014	30.399	<b>0.000</b>
Kaplama materyali × Sıcaklık	$L^*$	0.000	2.218	0.149
	$a^*$	0.000	0.903	0.351
	$b^*$	0.000	0.819	0.374
Konsantrasyon × Sıcaklık	$L^*$	0.003	1.616	0.215
	$a^*$	0.000	4.373	<b>0.047</b>
	$b^*$	0.000	0.331	0.569
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	$L^*$	0.000	0.064	0.801
	$a^*$	0.000	0.903	0.351
	$b^*$	0.001	2.444	0.131

#### 4.1.7 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Elde edilen mikrokapsüllerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla SEM görüntüleri incelenmiştir. Mikrokapsüllere ait SEM görüntüleri Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7, Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Örnek kodları ile ilgili açıklama ise Çizelge 3.2’de verilmiştir.



**Şekil 4.5 :** Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%20 maltodekstrin ile 120 °C ve 140 °C’de elde edilen mikrokapsüller); A:40.00 KX, B:20.00 KX.



**Şekil 4.6 :** Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%40maltodekstrin ile 120 °C ve 140 °C’de elde edilen mikrokapsüller); A:40.00 KX, B:20.00 KX.

Farklı kaplama materyali (maltodekstrin ve nişasta) kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 4.5-Şekil 4.8) kaplama materyali çeşidinin elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojisi ve şekilleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen mikrokapsüllerin kaplama materyali çeşidine bağlı olarak küresel, yarı küresel ve elipsoid şekilde olduğu görülmüştür. Maltodekstrin kullanılarak elde edilen kapsüllerin küresel ve yarı küresel formda, nişasta kullanılarak elde edilen kapsüllerin ise elipsoid şeklinde olduğu saptanmıştır. Maltodekstrin ile elde edilen kapsüllerin kısmen çanak şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Robert ve diğ. (2012) nişasta kullanarak gallik asidi püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin SEM görüntülerinin çalışmamızda elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri ile çok benzer olduğu görülmektedir. Ballesteros ve diğ. (2017), Cheraghali ve diğ. (2018), Nguyen ve diğ. (2021) maltodekstrin kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile farklı ekstraktları enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin SEM görüntülerinin çalışmamızdaki görüntülerle uyumlu olduğu görülmektedir.

Partikül morfolojisi, mikroenkapsüle olan biyoaktif bileşenin stabilitesi üzerinde etkili olan bir parametredir. Örneğin partikül yüzeyinde çatlak ve yarıkların olması gaz geçirgenliğini arttırması sebebiyle enkapsüle olan aktif maddenin stabilitesini azaltan, duvar materyalinin koruyuculuk görevini zayıflatan bir durumdur (Carneiro ve diğ, 2013; Zang ve diğ, 2020). Çalışmamızda her iki kaplama materyali kullanarak farklı konsantrasyonlarda ve farklı giriş sıcaklıklarında üretilen tüm mikropartiküllerin yüzeylerinde herhangi bir çatlak ve yarıklık görülmemiştir. Bu durum aktif maddemizin kaplama materyali olarak seçilen maltodekstrin ve nişasta tarafından iyi bir şekilde korunabileceğini göstermektedir.

Eşit kaplama materyali konsantrasyonlarında maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojilerinin nişastaya kıyasla daha çıkıntılı ve çukurlu bir yapıda olduğu görülmüştür. Çukurlu yapının oluşması kurutma esnasında partiküllerin büzüşmesi ile ilişkili bir durumdur (Pang ve diğ, 2014). Çukurlu yapının oluşmasında yapıdaki suyun difüzyon hızı ve kurutma sıcaklığı etkili olmaktadır. Kurutma esnasında suyun yapıdan hızlı difüzyonu partiküllerin büzüşmesine, bu durumda yüzey yapısının buruşuk ve çıkıntılı olmasında neden olmaktadır (Ahmadian ve diğ, 2019; Yingngam ve diğ, 2018). Ayrıca bu durumu kaplama maddelerinin kimyasal özellikleri ile de açıklamak mümkündür. Maltodekstrinin suda çözünür. Su molekülleri ile maltodekstrindeki -OH grupları arasında hidrojen bağları oluşmaktadır. Hidrojen bağı iyonik ve kovalent bağlardan daha zayıf bir bağıdır (Us, 2014). Bu durum püskürtmeli kurutma prosesinde suyun yapıdan

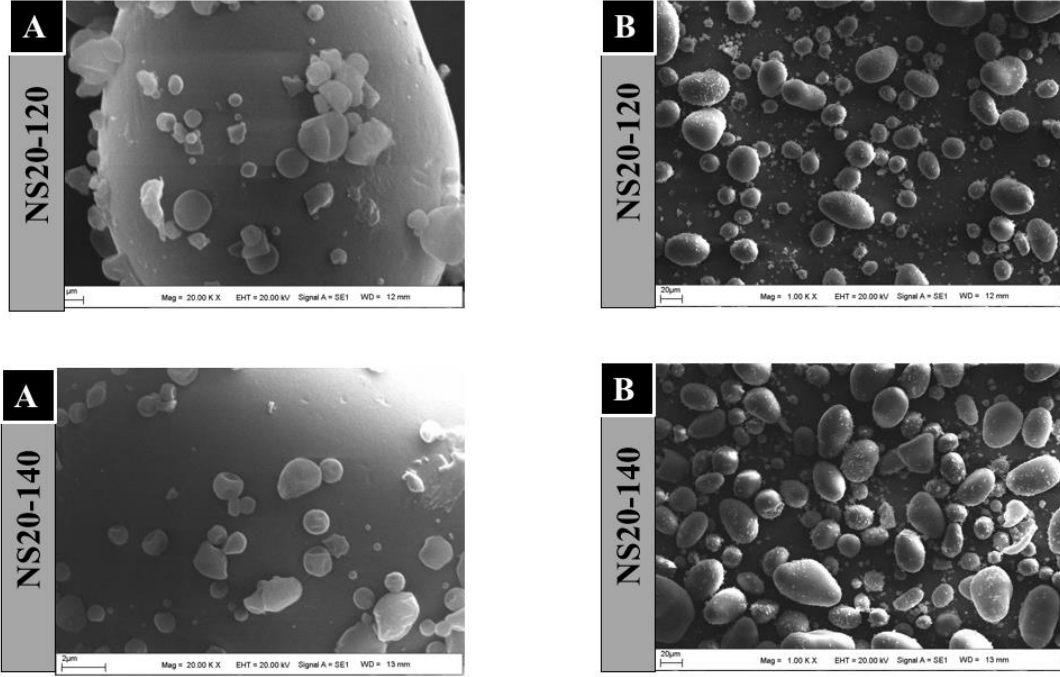
hızlı bir şekilde evaporasyonunu sağlamaktadır. Suyun yapıdan hızlı dehidrasyonu yapının içe doğru çökük olmasına ve yüzeyin hem çıkıntılı hem de buruşuk olmasına neden olmuştur.

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanarak aynı giriş sıcaklıklarında elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri incelendiğinde düşük maltodekstrin konsantrasyonunda ve düşük sıcaklıkta (%20 MD ve 120 °C'de) elde edilen mikropartiküllerin yüzeylerinin daha pürüzsüz olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça elde edilen mikropartiküllerin şekillerinde değişiklik olmadığı ancak yüzey morfolojilerinin daha buruşuk ve çıkıntılı olduğu gözlemlenmiştir. Kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrinin konsantrasyonu arttıkça püskürtmeli kurutucuya beslenen besleme sıvısının vizkozitesi de artış göstermektedir. Tüm üretimlerde aynı nozul kullanıldığından vizkozitedeki artış püskürtülen damlacıkların daha büyük olmasına neden olur (Ahmadian ve diğ, 2019). Ayrıca maltodekstrin konsantrasyonun artışı besleme sıvısındaki kuru madde miktarını arttırmıştır. Düşük maltodekstrin konsantrasyonlarında ise besleme sıvısındaki kuru madde içeriği az, su içeriği daha fazladır. Bu durum püskürtmeli kurutma esnasında nozuldaki damlacık oluşumunu kolaylaştırmıştır (düşük vizkoziteden kaynaklı olarak). Bu durumda yapıdan suyun daha kolay bir şekilde ayrılması sağlanarak daha düzgün yüzeyli mikrokapsüllerin oluşması sağlanmıştır (Pang ve diğ, 2014). Dolayısıyla yüksek MD konsantrasyonunda elde edilen yüksek vizkoziteye sahip sıvının enkapsülasyonunda ise elde edilen mikropartiküllerin yüzeyleri daha çıkıntılı ve buruşuk bir yapıda olmuştur.

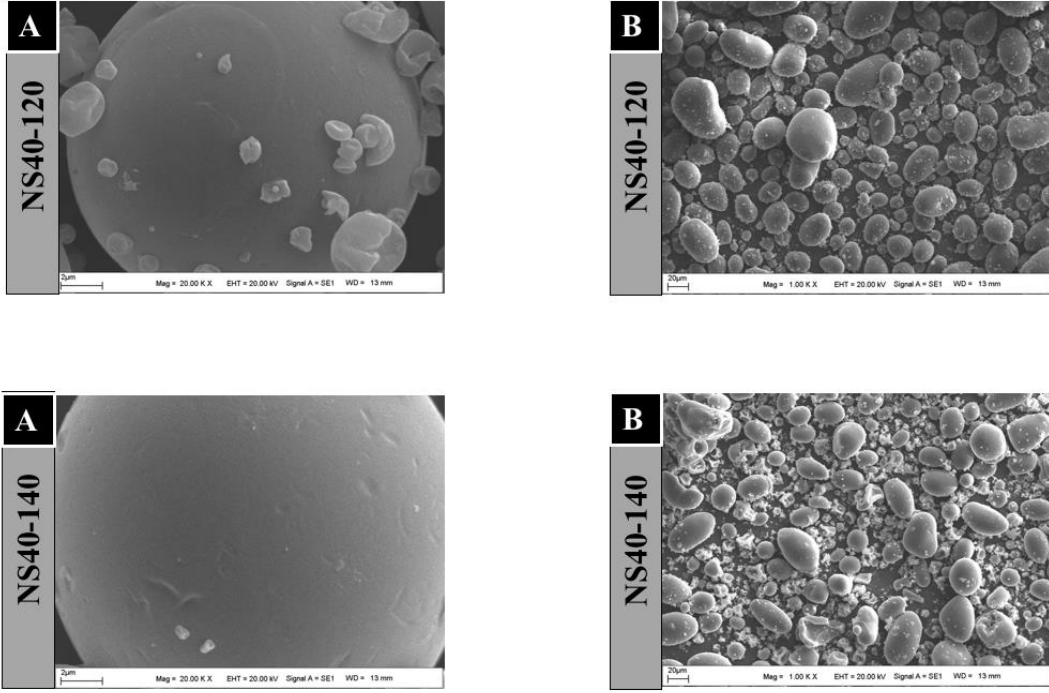
Giriş sıcaklığı arttıkça (120 °C'den 140 °C'ye) elde edilen mikropartiküllerin yüzeylerinin daha çok çıkıntılı ve buruşuk olduğu saptanmıştır. Bu durumda giriş sıcaklığı 140 °C olan üretimlerde elde edilen mikropartiküllerin yüzey yapılarının daha buruşuk ve çıkıntılı olduğu görülmüştür. Robert ve diğ. (2012), girintili çıkıntılı yüzey yapısının oluşmasını kurutma prosesi esnasında partikül büzüşmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Partikül büzüşmesi ise düşük veya yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Düşük sıcaklıklarda daha az su difüzyona uğramaktadır ve partiküllerin büzüşmesi için daha çok zamanı vardır. Yüksek giriş sıcaklıklarda ise kurutma esnasında suyun yapıdan hızlı evaporasyonu ve partiküllerin içinde yüksek basınç gerçekleşmekte bu durum ise partiküllerin büzüşmesine dolayısıyla yüzey yapılarının girintili çıkıntılı olmasına neden olmuştur (Alamilla-Beltran ve diğ, 2005; Robert ve diğ, 2012). Ayrıca kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanarak elde edilen mikropartiküllerde nişasta kullanımına kıyasla

daha fazla aglomerasyon görülmüştür. Bu durum maltodekstrinin yüksek nem absorpsyon özelliğinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla partiküller birbirine yapışmış ve aglomerasyon oluşturmuştur (Ahmadian ve diğ., 2019; de Barros Fernandes ve diğ., 2014a).

Kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda nişasta kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.7 :** Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%20 nişasta ile 120 °C ve 140 °C’de elde edilen mikropartiküller); A:20.00 KX, B: 1.00KX.



**Şekil 4.8 :** Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri (%40 nişasta ile 120 °C ve 140 °C’de elde edilen mikrokapsüller); A:20.00 KX, B: 1.00 KX.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz olduğu görülmüştür. Bu durumu nişastanın su ile olan davranışıyla açıklamak mümkündür. Nişasta granülleri suda çözünmezler. Ancak su ile temas ettirildiklerinde suyu absorbe ederek şişerler. Bu durum kurutma esnasında yapıdaki suyun daha yavaş evaporasyonuna neden olmuş olabilir. Yavaş evaporasyon partiküllerde büzüşme oluşturmadığı için daha düzgün yapılı, çıkıntısız partiküller oluşmuştur. Ayrıca kaplama materyali olarak nişasta kullanıldığında nişasta konsantrasyonunun artması partiküllerin yüzey morfolojilerinde ve şekillerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Aynı zamanda uygulanan giriş sıcaklığının artması ile de elde edilen nişasta partiküllerinin şekil ve yüzey morfolojilerinde değişiklik gözlemlenmemiştir. Ayrıca elde edilen partiküllerin yüzey morfolojileri yığın yoğunluğunu da etkilemektedir. Nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz ve çıkıntısız olduğu mikropartiküllerin SEM görüntülerinden görülmüştür (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de). Dolayısıyla pürüzsüz yapıda olan mikropartiküller daha akışkan bir özellik göstererek partiküller arasındaki boşluklara daha kolay bir şekilde dolmaktadır. Bu durum daha az hacim kaplamasına neden olmaktadır. Yığın yoğunluğu hacimle ters orantılı

olduğundan bu durum nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarının daha yüksek olmasıyla sonuçlanmıştır (Şekil 4.2).

Pürüzlü yüzey yapısına sahip olan partiküller, daha geniş yüzey alanına sahip olmasından pürüzsüz yüzeye sahip olanlara kıyasla oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha fazla duyarlı olduğu bilinmektedir (Tolun ve diğ, 2016). Çalışmamızda kaplama materyali olarak nişasta kullanıldığında elde edilen partiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz olduğu görülmüştür. Bu durumda nişasta kullanarak elde edilen partiküllerin oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha dirençli olduğu söylenebilir.

#### 4.1.8 Partikül boyut dağılımı

Farklı kaplama materyali (maltodekstrin ve nişasta), farklı kaplama materyali konsantrasyonu (%20 ve %40) ve farklı giriş sıcaklıkları (120 °C ve 140 °C) uygulanarak püskürtmeli kurutma metodu ile elde edilen kapsüllerin partikül boyutları ve span değerleri Çizelge 4.9’da, partikül boyut dağılım grafikleri ise Şekil 4.9 ve 4.10’da gösterilmiştir. Çizelgede yer alan span değeri partikül boyut dağılımının homojenliğini göstermektedir. Span değeri partikül boyut ölçümünde kullanılan Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., UK) cihazının yazılımı tarafından Eşitlik 4.1 kullanılarak hesaplanmıştır. Aynı örnek için cihazda 3 ölçüm alınmıştır ve bunların ortalama değerleri çizelgede gösterilmiştir. Bu yüzden standart sapma değerleri çizelgede yer almamaktadır.

$$\text{Span} = \frac{d(0.9) - d(0.1)}{d(0.5)} \quad (4.1)$$

Çizelgedeki ve denklemdaki d (0.1), d (0.5), d (0.9) değerleri partiküllerin sırasıyla %10, %50, %90’ının çizelgede verilen boyutlardan küçük olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.9 :** Püskürtmeli kurutma ile elde edilen kapsüllerin partikül boyutları.

Örnek kodu*	Spesifik yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	Yüzey ağırlıklı ortalama D[3,2] (µm)	Hacim ağırlıklı ortalama D[4,3] (µm)	d (0.1) (µm)	d (0.5) (µm)	d (0.9) (µm)	Span
MD20-120	0.43	8.91	21.82	7.06	19.43	40.36	1.71
MD20-140	0.45	8.44	19.61	6.50	17.25	35.60	1.69
MD40-120	0.24	15.77	39.61	13.64	34.26	74.45	1.78
MD40-140	0.22	16.94	40.63	13.18	30.97	84.99	2.32
NŞ20-120	0.18	18.27	35.71	12.26	32.93	63.80	1.57
NŞ20-140	0.16	19.82	31.65	11.97	27.77	57.64	1.64
NŞ40-120	0.11	30.80	38.87	18.06	34.93	65.83	1.37
NŞ40-140	0.15	22.31	36.73	14.48	32.35	66.02	1.59

\* MD20-120: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD20-140: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; MD40-120: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; MD40-140: %40 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ20-120: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ20-140: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim; NŞ40-120: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim; NŞ40-140: %40 nişasta, giriş sıcaklığı 140 °C olan üretim.

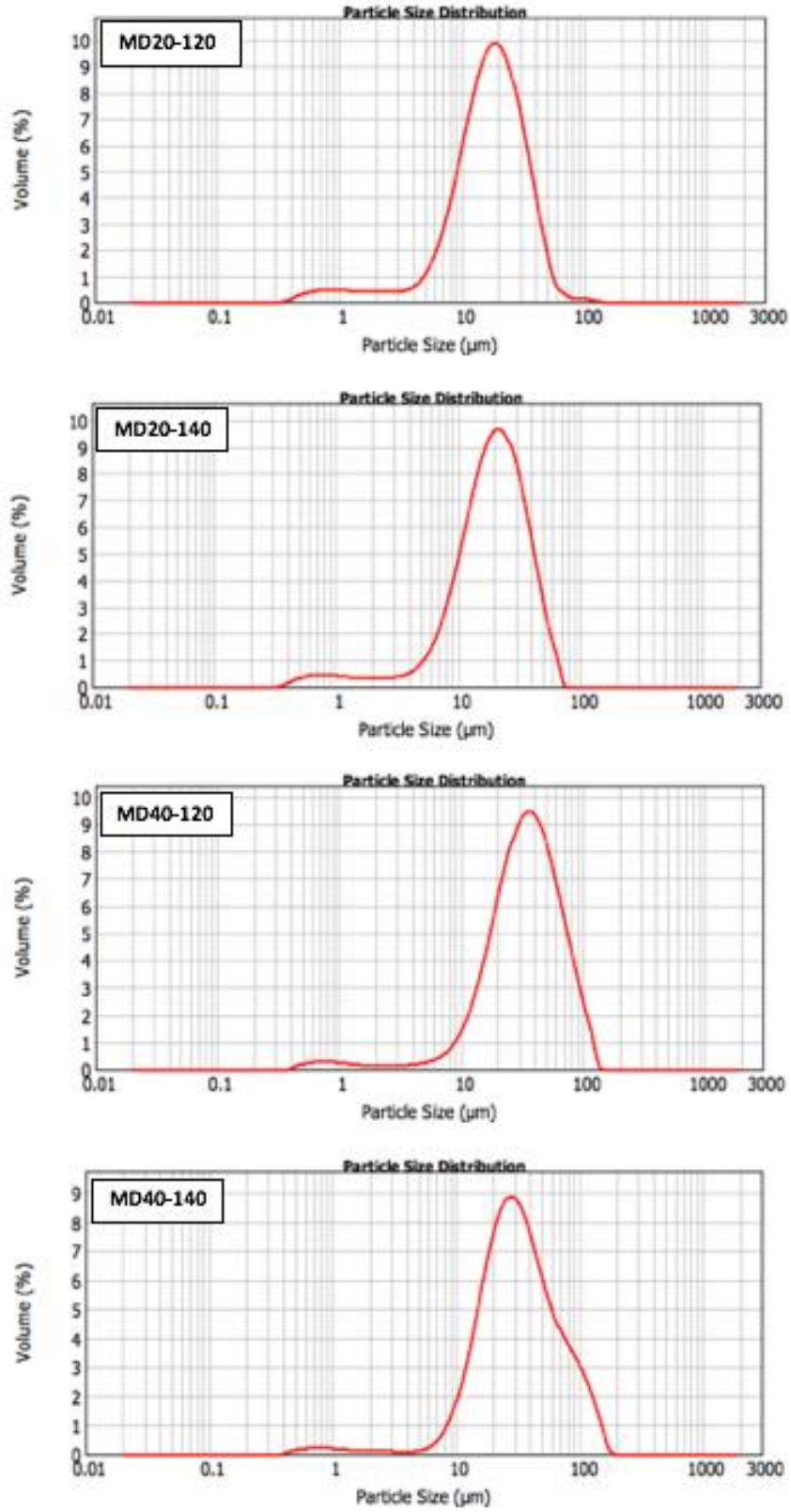
Partikül boyutu renk, çözünebilirlik, yoğunluk ve duyuşal özellikleri etkileyen en önemli fiziksel özelliklerden biridir (Ahmadian ve diğ, 2019). Ayrıca partikül boyutunun, partiküllerin akışkanlığı, rehidrasyon kapasitesi, çözünebilirliği ve yığınlığı etkilemesinden dolayı endüstriyel uygulamalarını da etkiler (Laurenço ve diğ, 2020; Paim ve diğ, 2016). Dolayısıyla mikrokapsüllerin partikül boyutları gıda ürünlerinin duyuşal ve teknolojik özellikleri üzerinde etkili olan bir parametredir (Rocha ve diğ, 2018). Tercih edilen partikül boyutu onun gelecekteki uygulama alanına bağlıdır. Daha büyük partiküller, enkapsüle edilen bileşenin sürekli ve uzun süreli salınımını sağlarken daha küçük olan partiküller gıda ve farmakolojik ürünlere uygulanması durumunda organoleptik özellikler açısından daha iyidir (Cujic ve diğ, 2016a; Nikolic ve diğ, 2018). Uygulanan enkapsülasyon prosesi partikül boyutunu en çok etkileyen faktörlerdendir (Pellicer ve diğ, 2019). Elde edilen partiküllerin boyutları püskürtülen damlacıkların boyutları tarafından direkt etkilenir. Bu damlacıkların boyutları ise kullanılan atomizasyon metoduna, atomizer tipine, atomizer rotasyonu, atomizer basıncı, besleme sıvısının kuru madde konsantrasyonuna, besleme sıvısının vizkozitesine, materyalin özelliğine ve kurutma koşullarına bağlıdır (de Barros Fernandes ve diğ, 2014a; Lourenço ve diğ, 2020; Nogueira ve diğ, 2018).

Çalışmamızda her iki kaplama materyali kullanılarak püskürtmeli kurutma tekniği ile elde ettiğimiz partiküllerin boyutlarının 8.44 µm ile 30.80 µm arasında olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen partiküller mikron boyutunda olup elde edilen partiküller mikropartikül, mikrokapsül olarak adlandırmak mümkündür. Pellicer ve diğ. (2019), çilek

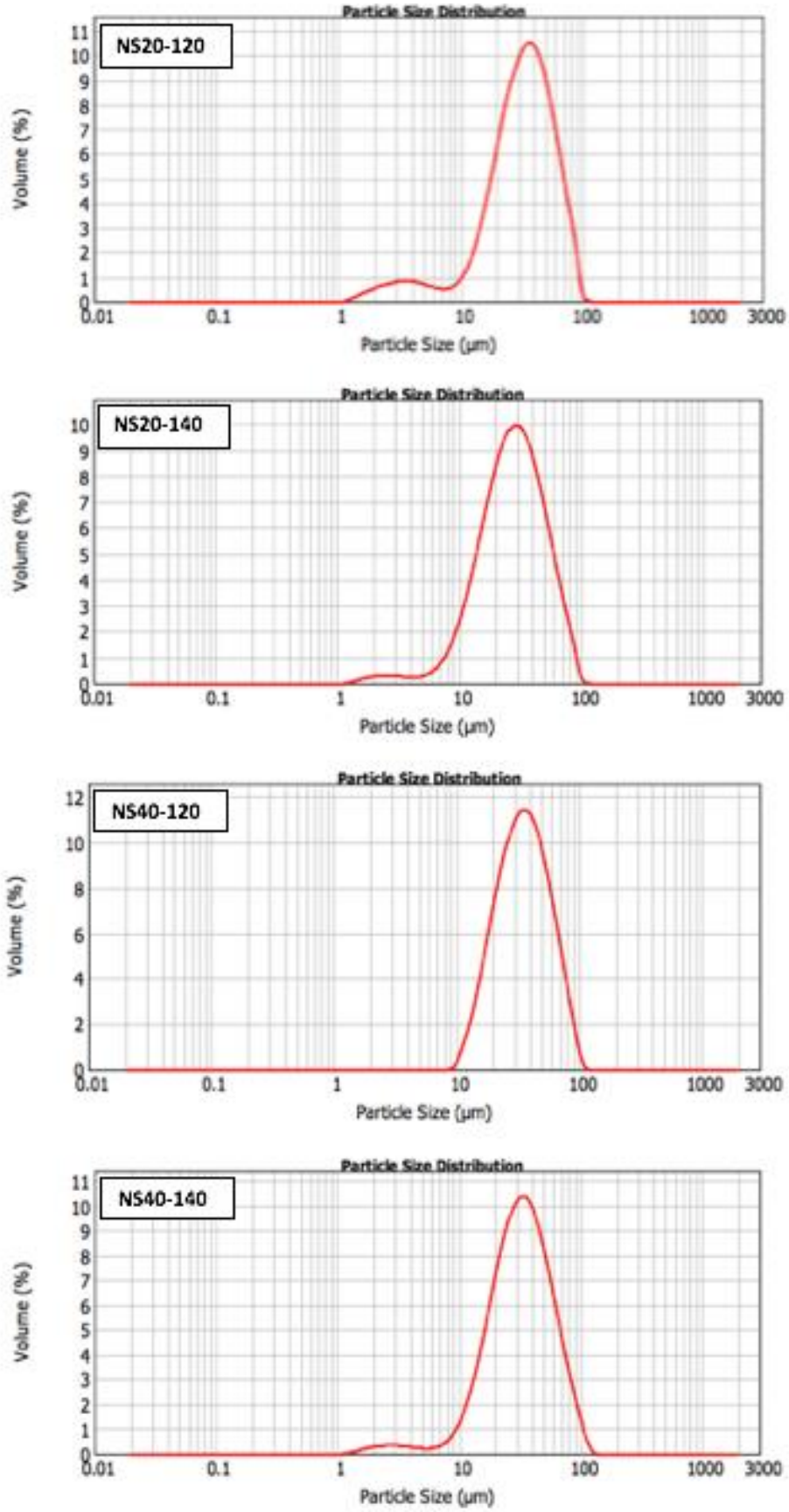
aromasını kaplama materyali olarak maltodekstrin, modifiye nişasta ve siklodekstrinin karışımı ile püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri kapsüllerin partikül boyutunun 8.76 µm olduğunu bulmuşlardır. Murali ve diğ. (2014), siyah havuç ekstraktını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik ve tapyoka nişastası kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (150, 175, 200 ve 225 °C) enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullandıklarında elde ettikleri partiküllerin 23.14 µm olduğunu belirtmişlerdir. Mahdi ve diğ. (2019), maltodekstrin, modifiye nişasta, gum arabik ve whey proteini kombinasyonunu duvar materyali olarak kullanarak *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri kapsüllerin boyutlarının 14.34 ile 26.47 µm arasında olduğunu saptamışlardır. Lourenço ve diğ. (2020), ananas kabuğu ekstraktını kaplama materyali olarak maltodekstrin, inülün ve gum arabik kullanarak farklı sıcaklıklarda enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri kapsüllerin boyutlarının 1.3 ile 18.2 µm arasında olduğunu ve çoğunluğunun 12 µm'den düşük olduğunu belirtmişlerdir. Rocha ve diğ. (2018), fenolik ekstrakt karışımlarını kaplama materyali olarak maltodekstrin, gum arabik ve whey proteini kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin boyutlarının 5 ile 25 µm arasında olduğunu saptamışlardır. Medina-Torres ve diğ. (2019), gallik asidi kaplama materyali olarak aloe vera müsilağı ve maltodekstrin kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin kullanarak elde ettikleri kapsüllerin partikül boyutunun 20.53±6.45 µm olduğunu belirtmişlerdir. Mohammed ve diğ. (2017), *Nigella sativa* yağını kaplama materyali olarak maltodekstrin ve Sodyum kazeinat kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin boyutlarının 15.5-31.0 µm arasında olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz değerlerin bu değerlere yakın olduğu görülmüştür. Partikül boyutunda görülen küçük farklılıkların ise kullanılan kaplama materyali konsantrasyonu, kaplama materyali çeşidi ve kombinasyonları, kaplama materyali: aktif madde oranı, uygulanan giriş sıcaklığı derecelerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kullanılan maltodekstrinin DE değeri de elde edilen kapsüllerin partikül boyutlarını etkileyen bir parametredir. Çünkü kullanılan kaplama materyalinin DE değerinin azalması ile besleme sıvısının vizkozitesi artmaktadır. Yüksek vizkozitedeki besleme sıvısının atomizasyonu sonucunda büyük partiküller oluşmakta bu durum da elde edilen kapsüllerin partikül boyutunun daha yüksek olmasına neden olmuş olabilir. Ghani ve diğ. (2017), farklı DE'lerde maltodekstrin kullanarak balık yağını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. DE 11 kullanarak elde ettikleri partiküllerin boyutlarının 24±12 µm olduğunu,

DE 19 kullandıklarında ettikleri partiküllerin boyutlarının  $8.6\pm 5.6$   $\mu\text{m}$ , DE 25 kullandıklarında ise partiküllerin boyutlarının  $5.8\pm 3.6$   $\mu\text{m}$  olduğunu saptamışlardır. Dolayısıyla en yüksek partikül boyutunu en düşük DE değerinde saptadıklarını belirtmişlerdir.

Yapmış olduğumuz çalışmada kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımında elde edilen mikrokapsüllerin boyutlarının 8.44 ile 16.94  $\mu\text{m}$  arasında olduğu, nişasta kullanıldığında ise elde edilen mikropüllerin 18.27 ile 30.80  $\mu\text{m}$  arasında olduğu saptanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin kullanılarak ve farklı giriş sıcaklıklarında elde edilen mikrokapsüllerin partikül boyut dağılım grafikleri Şekil 4.9’da, kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin partikül boyut dağılım grafikleri ise Şekil 4.10’daki gibidir.



Şekil 4.9 : Maltodekstrin ile elde edilen partiküllerin partikül boyut dağılım grafikleri.



Şekil 4.10 : Nişasta ile elde edilen partiküllerin partikül boyut dağılım grafikleri.

Maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin partikül boyutlarının nişastaya kıyasla daha küçük olduğu görülmüştür. Kaplama materyali çeşidinin elde edilen partiküllerin boyutlarını etkilediği saptanmıştır. Ahmadian ve diğ. (2019), safran taç yaprağı fenoliklerini maltodekstrin, pektin ve bunların karışımını kaplama materyali olarak kullanarak enkapsüle etmişlerdir. En düşük partikül boyutunu maltodekstrin kullanımında saptamışlardır. Maltodekstrin kullanım oranı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin boyutlarının azaldığını belirtmişlerdir. Tamsone ve diğ. (2020), kaplama materyali olarak maltodekstrin, maltodekstrin/gum arabik, nişasta, soya proteini izolatu kullanarak bayır turpu yaprakları ve kökünün ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada maltodekstrin kullanarak elde ettikleri mikrokapsüllerin partikül boyutlarının nişastaya kıyasla daha küçük olduğunu saptamışlardır. Ayrıca kaplama materyali çeşidinin elde edilen partiküllerin boyutlarını önemli derecede etkilediğini belirtmişlerdir. Lacerda ve diğ. (2016), Navarro-Flores ve diğ. (2020), Pang ve diğ. (2014), yapmış oldukları çalışmalarda kaplama materyali olarak nişasta kullanımında elde ettikleri mikropartiküllerin diğer kaplama maddelerine kıyasla daha büyük boyutlara sahip olduklarını belirtmişlerdir. Dadi ve diğ. (2019), maltodekstrinle elde edilen mikropkapsüllerin daha küçük çapta olduklarını belirtmişlerdir. Bu sonuçların çalışmamızda bulduğumuz sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmamızda nişasta kullanılarak elde ettiğimiz mikrokapsüllerin partikül boyutlarının maltodekstrine kıyasla daha büyük olmasını bu polisakkaritin yüksek vizkozitesi ile açıklamak mümkündür. Besleme sıvısının vizkozitesi arttıkça atomizasyon esnasında daha büyük partiküller oluşmuş, bu durum da partikül boyutlarının daha yüksek olmasına neden olmuştur (Ahmadian ve diğ, 2019; Carneiro ve diğ, 2013; de Barros Fernandes ve diğ, 2014a; Ding ve diğ, 2020; Tamsone ve diğ, 2020; Pang ve diğ, 2014; Tao ve diğ, 2019; Tonon ve diğ, 2008). Ayrıca literatürde elde edilen mikropartiküllerin partikül boyutunun kaplama materyalinin moleküler boyutuyla ve polimerizasyon derecesiyle alakalı olabileceği belirtilmiştir (Tonon ve diğ, 2008).

Kaplama materyali olarak maltodekstrin ve nişasta kullanarak elde ettiğimiz kapsüllerde kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça elde ettiğimiz partiküllerin boyutlarının da arttığı saptanmıştır. Dadi ve diğ. (2019) ve Pang ve diğ. (2014), kaplama materyali oranının partikül boyut dağılımında önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek konsantrasyonlarda kaplama materyali kullanılması durumunda elde edilen partiküllerin daha büyük (geniş) boyutlarda olduğunu belirtmişlerdir. Tamsone ve diğ.

(2020), Mohammed ve diğ. (2017), Tonon ve diğ. (2008), maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça elde ettikleri mikrokapsüllerin boyutlarının arttığını saptamışlardır. Bu durumu besleme sıvısının vizkozitesi ile açıklamak mümkündür. Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça püskürtmeli kurutucuya beslenen sıvının vizkozitesi artmaktadır. Yüksek vizkozitede atomizasyon esnasında daha geniş damlacıklar oluşmakta dolayısıyla püskürtmeli kurutma ile daha büyük partiküller oluşmaktadır (Pang ve diğ, 2014; Tonon ve diğ, 2008). Aynı konsantrasyonda nişasta ile elde edilen partiküllerin çaplarının daha yüksek olmasını Pang ve diğ. (2014), o konsantrasyonda nişastanın vizkozitesinin maltodekstrine kıyasla daha yüksek olmasından kaynaklandığı şeklinde açıklamışlardır. Çalışmamızda bulduğumuz sonuçların literatürdeki bu bulgular ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Span değeri partikül boyut dağılımı ile ilişkili bir ifadedir. Daha düşük span değeri daha homojen dağılımı göstermektedir. Bu istenen bir özelliktir (Pellicer ve diğ, 2019). Elde ettiğimiz kapsüllerin span değerlerinin 1.37 ile 2.32 arasında olduğu görülmüştür. Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin span değeri 1.69 ile 2.32 arasında iken nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküller için 1.37 ile 1.64 arasındadır. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin span değerlerinin maltodekstrine kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır (1.37 ile 1.64 arasında). Şekil 4.10 grafiklerine göre nişasta ile elde edilen mikropartiküller daha dar bir partikül boyut dağılım grafiğine sahipken, Şekil 4.9'a göre maltodekstrinle elde edilen partiküllerin daha geniş bir partikül boyut dağılım grafiğine sahip olduğu görülmektedir. Daha dar bir dağılım grafiği daha düşük span değerinin göstergesi olmaktadır. Dolayısıyla kaplama materyali olarak nişasta kullanımı ile elde ettiğimiz mikropartiküllerin maltodekstrine kıyasla daha düşük span değerine yani daha homojen dağılıma sahip olduğu saptanmıştır.

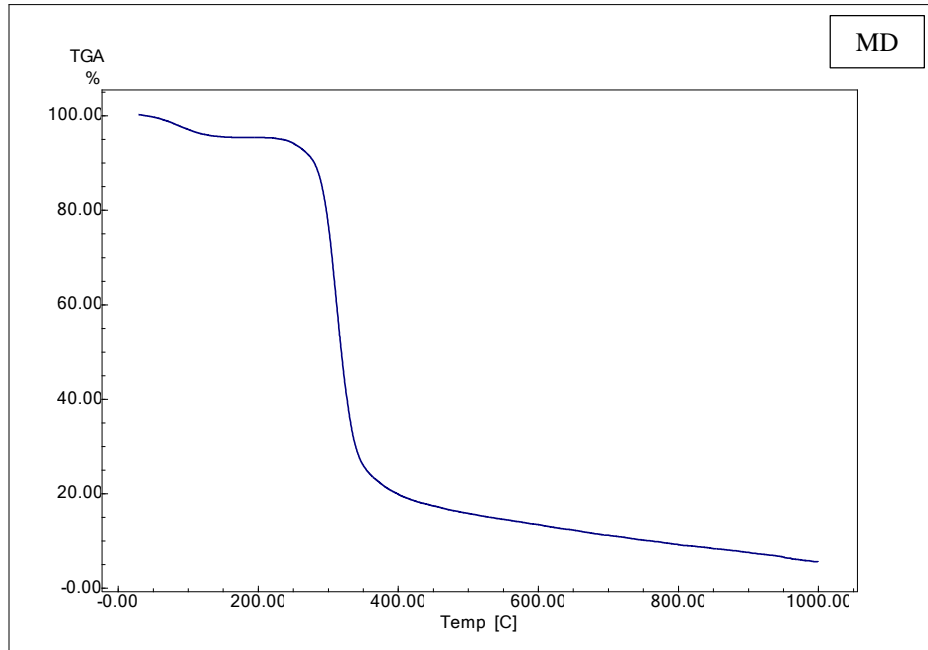
#### **4.1.9 Termogravimetrik analiz (TGA)**

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen en yüksek enkapsülasyon verimine sahip mikropartiküllerin, enkapsülasyonda kullanılan kaplama maddelerinin ve aktif maddenin (dondurarak kurutulmuş yeşil çay ekstraktının) termal stabiliteyi termogravimetrik analiz gerçekleştirilerek saptanmıştır. TGA sonucunda elde edilen termal değişiklik sıcaklıkları ve basamakları Çizelge 4.10-4.11'de termal karakteristik eğrileri ise Şekil 4.11-4.15'deki gibidir.

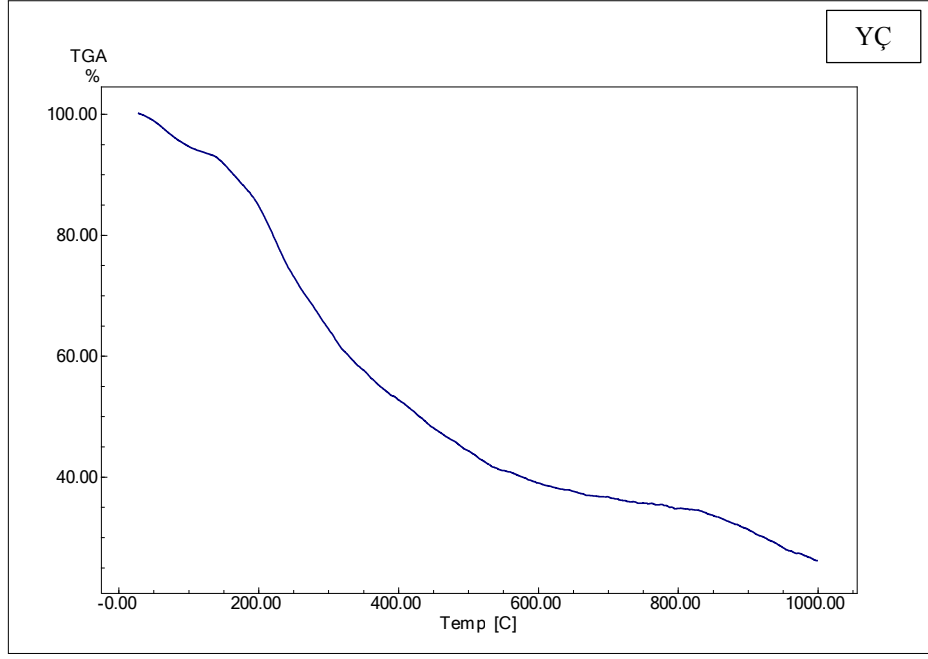
**Çizelge 4.10 :** TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.

Örnek Kodu*	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	M <sub>loss</sub> (%)
<b>1. Basamak</b>			
MD	63.24	119.36	4.480
YÇ	52.66	93.06	6.135
MD20-120	62.00	95.47	4.359
<b>2. Basamak</b>			
MD	292.30	336.08	74.806
YÇ	192.48	359.78	51.732
MD20-120	251.97	333.15	58.810
<b>3. Basamak</b>			
MD	-	-	-
YÇ	626.69	846.85	13.966
MD20-120	746.33	899.58	22.793

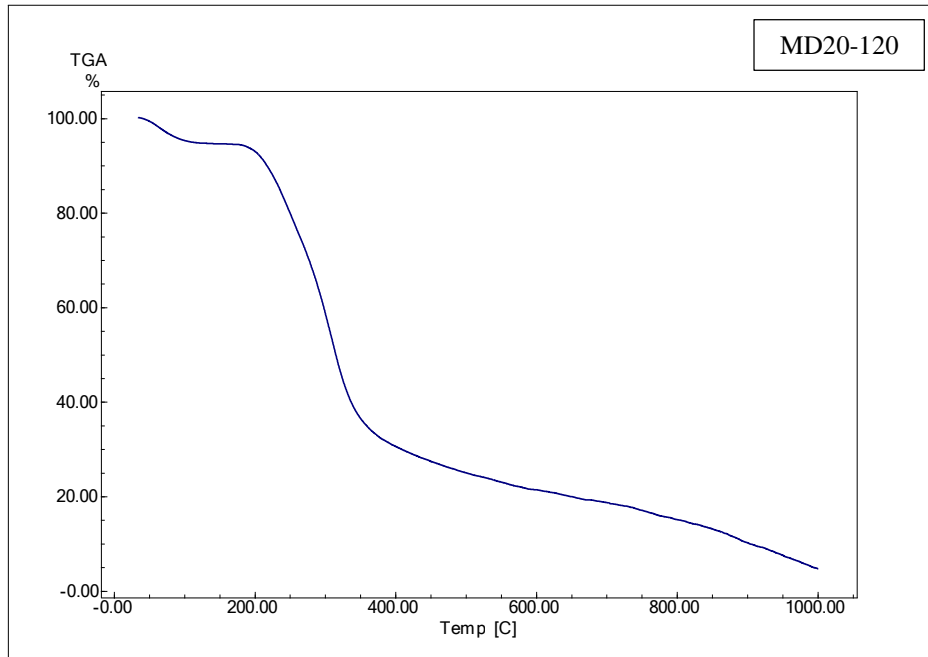
\*MD: Maltodekstrin; YÇ: Yeşil çay; MD20-120: %20 maltodekstrin, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim.



**Şekil 4.11 :** Maltodekstrine ait TGA eğrisi.



Şekil 4.12 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.



Şekil 4.13 : Mikroenkapsüle yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.

Kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrinin (MD) uygulanan sıcaklık karşısında Şekil 4.11'de görülen iki aşamalı termal dekompozisyon grafiği saptanmıştır. Birinci aşamada %4.480 oranda kütle kaybı 63.24-119.36 °C arasında gerçekleşmiştir. Birinci aşamadaki kütle kaybı genellikle yapıdaki suyun evaporasyonundan veya uçucu bileşenlerden kaynaklı olduğu bilinmektedir (Akyüz ve diğ, 2017; Comunian ve diğ, 2011;

Gomes da Costa ve diğ, 2015). Dolayısıyla birinci aşamadaki söz konusu kütle kaybının maltodekstrinin nem içeriğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Yeşil çayda ise birinci aşamadaki kütle kaybı %6.135 olup 52.66-93.06 °C arasında daha düşük sıcaklıkta ve daha yüksek oranda kütle kaybı başlamıştır. Yeşil çayda birinci aşamada görülen bu kütle kaybının dondurarak kurutulmuş yeşil çay ekstraktı içerisindeki nemden kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yeşil çay fenolik bileşenlerinin 80 °C üzerindeki sıcaklıklarda epimerizasyona uğradığı bilinmektedir (Vuong ve diğ, 2010). Söz konusu kütle kaybının bu durum ile ilişkili olabileceği de düşünülmüştür. Maltodekstrin ile enkapsüle edilmiş MD20-120 kodlu örnekte ise termal dekompozisyon üç aşamada gerçekleşmiştir. Birinci aşamadaki termal dekompozisyon 62.00-95.47 °C arasında %4.359 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Birinci aşamadaki kütle kaybını ve termal dekompozisyon sıcaklığının başlangıç noktasını enkapsüle olmayan yeşil çay ekstraktı ile kıyasladığımızda, termal dekompozisyonun daha yüksek sıcaklıkta (62.00 °C), daha dar bir sıcaklık aralığında ve daha düşük kütle kaybı (%4.359) ile gerçekleştiğini söylemek mümkündür. Dolayısıyla yeşil çay ekstraktının maltodekstrin ile enkapsülasyonu birinci aşamadaki termal bozunma sıcaklığını yükselttiği ve yeşil çay ekstraktının termal stabilitesini arttırdığı düşünülmüştür.

Maltodekstrin için ikinci aşamadaki termal dekompozisyon 292.30-336.08 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybı %74.806 olarak saptanmıştır. Söz konusu kaybın polisakkarit yapısının degradasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Yeşil çay ekstraktında ise ikinci aşamadaki termal degradasyon 192.48-359.78 °C arasında gerçekleşmiştir. Maltodekstrin ile mikropaksüle edilmiş yeşil çay ekstraktında (MD20-120) ise ikinci aşamadaki termal degradasyon sıcaklığının 251.97-333.15 °C arasında gerçekleşmiştir. Yeşil çay ekstraktının mikroenkapsülasyonu ile ikinci aşamadaki termal degradasyonun yeşil çay ekstraktına nispeten daha yüksek bir sıcaklıkta (251.97 °C) ve dar bir sıcaklık aralığında gerçekleştiği görülmüştür. Bu durum ise bize enkapsülasyon işleminin ikinci aşamadaki termal degradasyon sıcaklığını da arttırdığını dolayısıyla enkapsüle maddenin termal stabilitesini arttırdığını göstermiştir. Enkapsüle örneğin (MD20-120) bu aşamadaki kütle kaybı ise %58.810 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybının çoğunlukla maltodekstrin polisakkaritinin degradasyonuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Çünkü MD'nin 292.30-336.08 °C arasındaki kütle kaybı %74.806 olarak saptanmıştı. Enkapsüle yeşil çay ekstraktı için üçüncü aşamadaki termal dekompozisyon sıcaklığı 746.33-899.58 °C arasında ve %22.793 oranında kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Bu basamak ise yapıda yanma olayının gerçekleştiği basamaktır. Enkapsüle örnekte üçüncü

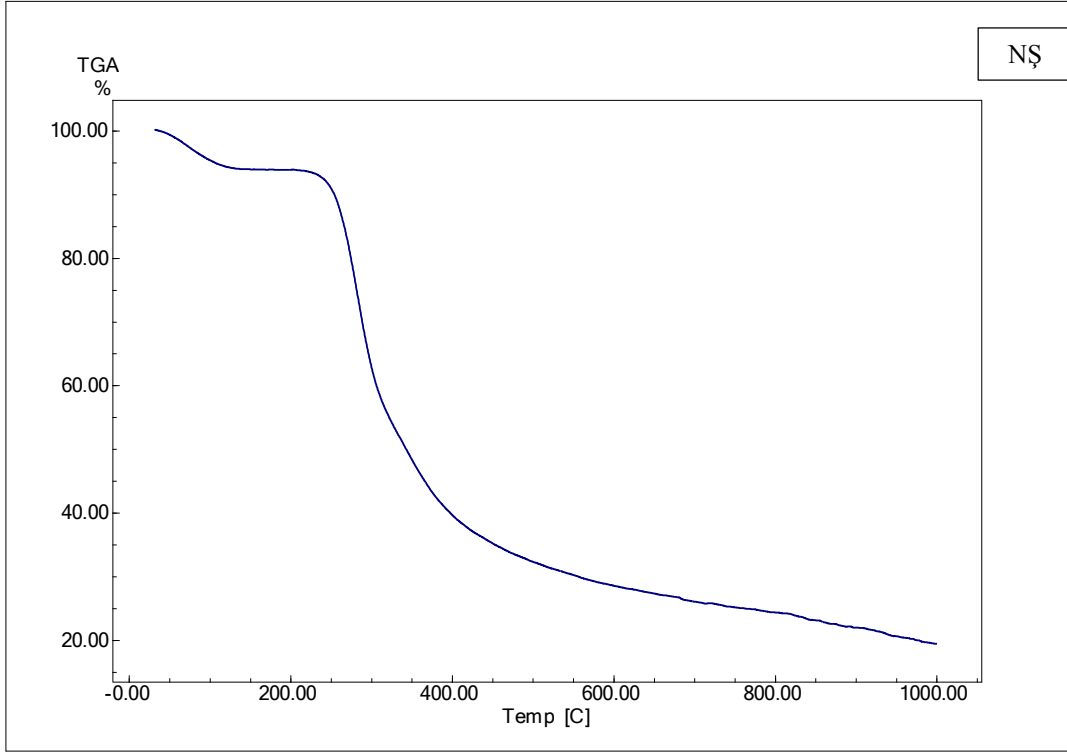
basamaktaki termal dekompozisyon sıcaklığının da yeşil çay ekstraktına kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip olan mikroenkapsüle yeşil çay ekstraktına (NŞ20-120) ve kaplama materyaline (NŞ) ait TGA analizi sonucunda elde edilen termal değişiklik sıcaklıkları ve basamakları Çizelge 4.11’de termal karakteristik eğrileri ise Şekil 4.14-4.15’deki gibidir.

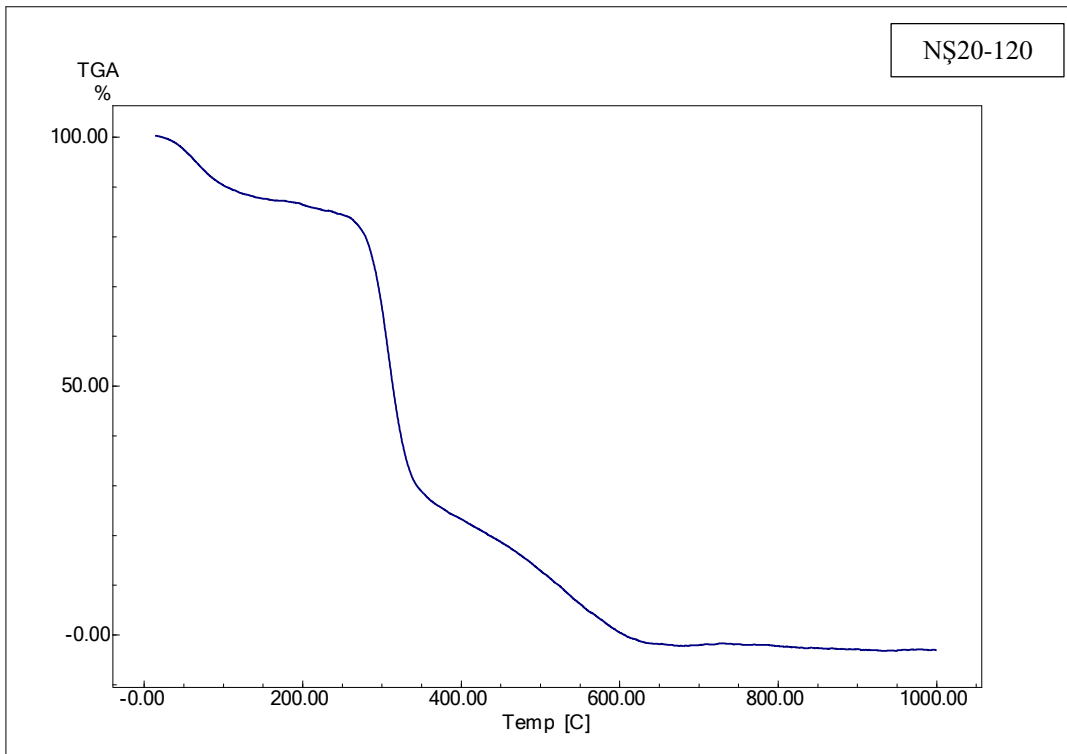
**Çizelge 4.11 : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.**

Örnek Kodu*	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	M <sub>loss</sub> (%)
<b>1. Basamak</b>			
NŞ	58.60	107.34	5.637
YÇ	52.66	93.06	6.135
NŞ20-120	44.87	106.64	11.858
<b>2. Basamak</b>			
NŞ	258.23	308.18	49.933
YÇ	192.48	359.78	51.732
NŞ20-120	292.69	330.99	58.070
<b>3. Basamak</b>			
NŞ	377.20	507.67	23.798
YÇ	626.69	846.85	13.966
NŞ20-120	590.92	594.31	26.280

\*NŞ: Nişasta; YÇ: Yeşil çay; NŞ20-120: %20 nişasta, giriş sıcaklığı 120 °C olan üretim.



Şekil 4.14 : Nişastaya ait TGA eğrisi.



Şekil 4.15 : Mikroenkapsüle yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.

Kaplama materyali olarak kullanılan nişastanın (NŞ), uygulanan sıcaklık karşısında Şekil 4.14’de görülen üç aşamalı termal dekompozisyon grafiği saptanmıştır. Birinci aşamada 58.60-107.34 °C arasında %5.637 oranda kütle kaybı görülmüştür. Birinci aşamadaki kütle kaybı genellikle yapıdaki suyun evaporasyonundan veya uçucu bileşenlerden kaynaklı olduğu bilinmektedir (Akyüz ve diğ, 2017; Comunian ve diğ, 2011; Gomes da Costa ve diğ, 2015). Nişasta higroskopik bir materyaldir. Ortamın bağıl neminden kolaylıkla etkilenir. Dolayısıyla bu aşamada nişastada görülen kütle kaybının nişastanın yapısına adsorbe ettiği nemin uzaklaşmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Nişasta ile enkapsüle edilmiş NŞ20-120 kodlu örnekte ise termal dekompozisyon Şekil 4.15’deki gibi üç aşamada gerçekleşmiştir. Birinci aşamadaki termal dekompozisyon 44.87-106.64 °C arasında %11.858 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Enkapsüle örnekte bu aşamadaki kütle kaybı kaplama materyali olarak MD kullanılması durumunda elde edilen mikrokapsüllerdeki kütle kaybına (%4.359) kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Birinci aşamadaki yüksek kütle kaybının oluşması NŞ ile elde edilen mikroenkapsüle örneklerin nem içeriklerinin MD’ye kıyasla daha yüksek olması ile ilişkilendirilmiştir (Şekil 4.3). Çünkü bu aşamadaki kütle kaybının yapıdaki sudan kaynaklı olduğu bilinmektedir.

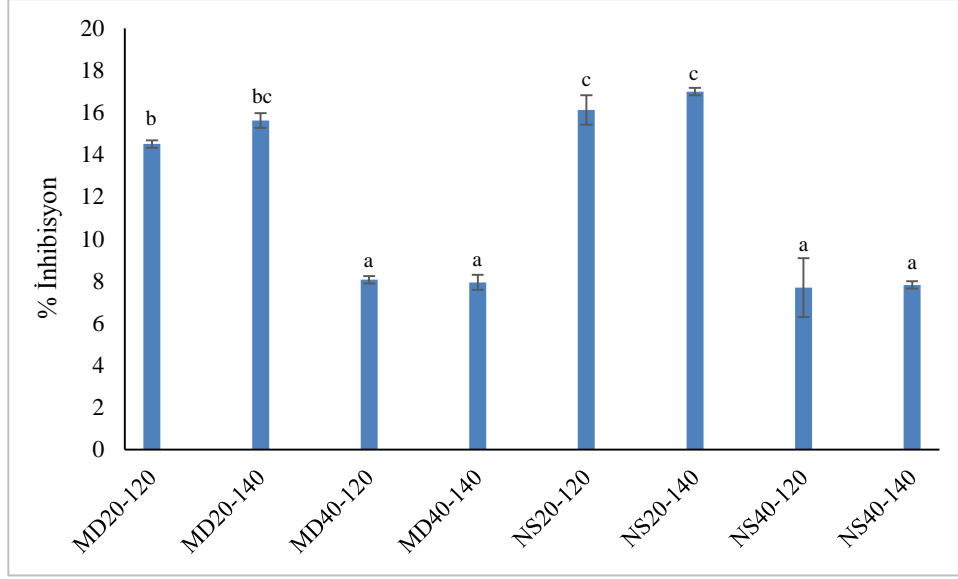
Nişasta için ikinci aşamadaki termal dekompozisyon 258.23-308.18 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybı %49.933 düzeyindedir. Söz konusu kaybın bu sıcaklık aralığında nişasta yapısındaki bozunmadan kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Yeşil çay ekstraktında ise ikinci aşamadaki termal degradasyon 192.48-359.78 °C arasında gerçekleşmiştir. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen enkapsüle örneğin (NŞ20-120) ikinci aşamadaki termal dekompozisyonu ise 292.69-330.99 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybı %58.070 düzeyindedir. Yeşil çay ekstraktının mikroenkapsülasyonu ile ikinci aşamadaki termal degradasyonun yeşil çay ekstraktına nispeten daha yüksek bir sıcaklıkta (292.69 °C) ve daha dar bir sıcaklık aralığında gerçekleştiği görülmüştür. İkinci aşamadaki termal dekompozisyon sıcaklığının artması enkapsüle örneklerin termal dayanımının arttığını göstermektedir. Bu aşamadaki kütle kaybı %58.070 olarak tespit edilmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybının çoğunluğunun kaplama materyalindeki dekompozisyondan kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Çünkü nişastanın 258.23-308.18 °C arasındaki kütle kaybı %49.933 düzeyindedir. MD20-120 ve NŞ20-120 kodlu enkapsüle örneklerin ikinci aşamadaki termal dayanım sıcaklıkları kıyaslandığında; kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen enkapsüle örneklerin termal dekompozisyon sıcaklığının (292.69 °C) maltodekstrin kullanılarak elde edilen enkapsüle

örneğin termal dekompozisyon sıcaklığına (251.97 °C) kıyasla daha yüksek olduğu dolayısıyla enkapsüle bu örneklerin termal dayanımlarının da daha yüksek olduğu saptanmıştır. Kyriakoudi ve diğ. (2018), safran ekstraktını maltodekstrin kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Enkapsüle safran ekstraktının ikinci aşamadaki dekompozisyon sıcaklığının duvar materyali konsantrasyonuna bağlı olarak 340-330 °C arasında olduğunu belirtmişlerdir. Enkapsüle olmayan safran ekstraktında ise dekompozisyon sıcaklığının ise 236 °C olduğunu belirtmişlerdir. Dekompozisyon sıcaklığındaki artışı maltodekstrin tarafından gerçekleştirilen koryuculuk etkisinden kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Duvar materyali konsantrasyonu arttıkça dekompozisyon sıcaklığının arttığını belirtmişlerdir. Bu durumu yüksek miktarlarda kullanılan duvar materyalinin aktif maddenin çeperinde daha kalın bir tabaka oluşturması dolayısıyla sıcaklığa daha dirençli bir hal alması ile ilişkilendirmişlerdir. Ballesteros ve diğ. (2017); Paini ve diğ. (2015); Saavedro-leos ve diğ. (2015) da benzer sonuçlar tespit etmiştir. Literatürde bulunan bu bulguların çalışmamızdaki bulgularla benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Elde edilen mikropartiküllerin termal stabilitesi partiküllerin gıda ürünlerine eklenmesi durumunda önemli rol oynar (Castro-Lopez ve diğ, 2021). Gıda işleme ve hazırlama proseslerinde uygulanan sıcaklığın genellikle maksimum 250 °C'ye kadar olduğu (Balanc ve diğ, 2016) göz önüne alındığında enkapsüle yeşil çay ekstaktlarından MD20-120 için termal dekompozisyonunun 251.97-333.15 °C arasında, NŞ20-120 için ise 258.23-308.18 °C arasında başladığının tespit edilmesiyle söz konusu enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşıacağı sıcaklık uygulamalarında stabil olduğunu söylemek mümkündür. Dolayısıyla bu durum enkapsüle örneklerin fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olmuştur.

#### **4.1.10 Antioksidan aktivite**

Püskürtmeli kurutma tekniği ile yeşil çay ekstraktının farklı konsantrasyonlarında (%20 ve %40) maltodekstrin ve nişasta kullanılarak ve farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C ve 140 °C) elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren enkapsüle mikropartiküllerin antioksidan aktivite sonuçları Şekil 4.16'daki gösterilmiştir.



**Şekil 4.16 :** Mikropartiküllerin antioksidan aktiviteleri.

Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait % inhibisyon değerlerinin %7.94-15.63 arasında iken nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait %İnhibisyon değerlerinin %7.69-17.00 arasında olduğu tespit edilmiştir. Her iki kaplama materyali kullanılarak elde edilen mikropartiküller için kaplama materyali konsantrasyonunun antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça (%20'den %40'a) antioksidan aktivitenin azaldığı saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Şahin-Nadeem ve diğ. (2013) farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin, gum arabik ve siklodekstrin kullanarak adaçayını püskürtmeli kurutma tekniği ile farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığını tespit etmişlerdir. Kha ve diğ. (2010), gac meyvesi tohumlarını farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali konsantrasyonunun %20'den %30'a çıkması durumunda mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinin azaldığını saptamışlardır. Suravanichnirachorn ve diğ. (2018), *Antidesma bunius* (L.) Spreng (mao) tozu eldesi için farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve gum arabik (%25, %30 ve %35) kullanmışlardır. Kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığını belirtmişlerdir. Bu durumun dilüsyon etkisinden kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca elde ettikleri mikrokapsüllerin %DPPH inhibisyon değerlerinin 18.60-15.13 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Tamsone ve diğ. (2020), maltodekstrin, gum arabik, nişasta, soya proteini izolatu ve maltodekstrin/gum arabik kullanarak bayır turpu yaprakları ve kökünün suyunu farklı kaplama materyali konsantrasyonu ve giriş

sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Maltodekstrin ve nişasta kullanarak elde ettikleri mikrokapsüllerde kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça DPPH%'sinin azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca kaplama materyali olarak nişasta kullanarak elde ettikleri mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinin (%DPPH) maltodekstrine kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Karim ve diğ. (2017), Clinacantus nutans bitkisi yapraklarının ekstraktını kaplama materyali olarak karregen ve sodyum karboksimetil selülozun kombinasyonunu kullanarak enkapsüle etmişlerdir.  $M_{core}/M_{wall}$  oranının yani kaplama materyali konsantrasyonunun değişmesinin antioksidan aktivite üzerinde önemli derecede etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Literatürdeki bu bilgilerin çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmamızda en yüksek antioksidan aktivite her iki kaplama materyali için de düşük kaplama materyali konsantrasyonlarında (%20) ve giriş sıcaklığı 140 °C olan üretimler sonucu elde edilen mikropartiküllerde saptanmıştır (MD20-140 ve NŞ20-140). En yüksek antioksidan aktivite ise kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde saptanmıştır (NŞ20-140). Şahin-Nadeem ve diğ. (2013), nişasta bazlı materyallerde ısı uygulaması ile fenolik bileşenlerin oluşumu vasıtasıyla antiradikal aktivitenin arttığını belirtmişlerdir. Tamsone ve diğ. (2020), kaplama materyali olarak nişasta kullanarak elde ettikleri mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinin (%DPPH) maltodekstrine kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Kaplama materyali çeşidinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisinin önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Ballesteros ve diğ. (2017) farklı kaplama maddeleri kullanarak atık kahve telvesinden ekstrakte edilen fenolik bileşenleri püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyali çeşidinin antioksidan fenolik bileşenlerin alıkonmasında önemli bir rolü olduğunu ayrıca kaplama materyali çeşidinin antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda nişasta ile elde edilen mikropartiküllerin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz bir yapıda olduğu SEM görüntülerinden görülmektedir (Şekil 4.7-4.8). Literatürde pürüzlü yüzey yapısına sahip olan partiküllerin daha geniş yüzey alanına sahip olmasından pürüzsüz yüzeye sahip olanlara kıyasla oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha fazla duyarlı olduğu bildirilmiştir (Tolun ve diğ, 2016). Çalışmamızda kaplama materyali olarak nişasta kullanıldığında elde edilen partiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz olduğu görülmüştür. Bu durumda nişasta kullanarak elde edilen partiküllerin oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha dirençli olduğu söylenebilir. Bu sebepten dolayı antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu düşünülmüştür. Ayrıca kaplama maddelerinin fenolik bileşenleri depolama stabilitelerindeki farklılık ile alakalı olabileceği

de düşünölmüştür. Lourenço ve diğ. (2020), maltodekstrin, gum arabik ve inölün kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında ananas kabuğu ekstraktlarını enkapsüle etmişlerdir. Elde edilen kapsüllerin 6 ay süresince buzdolabı koşullarında muhafazası durumunda fenolik içeriğinde az da olsa kayıpların olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek fenolik kaybının kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanımında ve 190 °C üretimlerde olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla çalışmamızda maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivitelerinin nişastaya nispeten düşük olması maltodekstrinin söz konusu fenolik bileşenleri depolama süresince daha az, nişastanın ise daha iyi muhafaza edebilmesi ile alakalı olabileceği düşünölmüştür. Çalışmamızda da enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyali çeşidinin antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki bu bilgilerin literatürdeki bilgilerle uyumlu olduğu görölmüştür.

Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde giriş sıcaklığının antioksidan aktivite üzerinde etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüller için ise giriş sıcaklığının antioksidan aktivite üzerindeki etkisi %40 MD konsantrasyonlarında istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). %20 MD konsantrasyonlarında ise sıcaklık arttıkça çok az bir artış saptanmıştır ve bu artış istatistiki olarak önemli görölmüştür ( $P<0.05$ ). Tölek ve diğ. (2020), limonotundaki (melisa) fenolik bileşenleri pöskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinde önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Şahin-Nadeem ve diğ. (2013), farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin, gum arabik ve siklodestrin kullanarak adaçayını pöskürtmeli kurutma tekniği ile farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Yüksek giriş sıcaklığı uygulamasının elde edilen mikropartiküllerin antioksidan aktivitelerinin arttırdığını belirtmişlerdir. Bu durumu ısı uygulaması esnasında fenolik bileşen oluşumu ile ilişkilendirmişlerdir. Nişasta bazlı materyallerde ısı uygulaması ile fenolik bileşenlerin oluşumu vasıtasıyla antiradikal aktivitenin arttığını belirtmişlerdir. Tonon ve diğ. (2010), mailard reaksiyonu renksiz ara ürünlerinin antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun da antioksidan aktiviteyi arttırabilecek bir etken olabileceğini belirtmişlerdir. Gu ve diğ. (2009), kazein-glukoz model sistemden elde edilen mailard reaksiyonu ürünlerinin antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Mailard reaksiyon ürünleri konsantrasyonu arttıkça DPPH radikal süpürme etkisinin arttığını belirtmişlerdir.

Tran ve Nguyen (2018), limonotu yapraklarının ekstraktını gum arabik, maltodekstrin ve maltodekstrin-gum arabik kombinasyonlarını duvar materyali olarak farklı giriş sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığı arttıkça antioksidan kapasitenin arttığını belirtmişlerdir. Bu durumu yüksek giriş sıcaklıklarının bazı fenolik bileşenlerin aktivasyonunu sağlaması bunun da antioksidan aktiviteyi arttırması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Tengse ve diğ. (2017), yapmış oldukları çalışmada giriş sıcaklığı arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığını belirtmişlerdir. Karim ve diğ. (2017), Clinacanthus Nutans yaprakları ekstraktını farklı konsantrasyonlarda kaplama materyali kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Konsantrasyonun ve giriş sıcaklığının etkisini araştırmışlardır. Giriş sıcaklığındaki artışın elde edilen mikropartüküllerin antioksidan aktivitelerini önemli derecede etkilemediğini belirtmişlerdir. Meena ve diğ. (2021), kaplama materyali olarak maltodekstrin-gum arabik ve whey proteinlerinin farklı oranlarda kombinasyonunu kullanarak zerdeçalı farklı giriş sıcaklıklarında enkapsüle etmişlerdir. Giriş sıcaklığının 165 °C'den 180 °C'ye artmasıyla %DPPH'nin değişmediğini 180 °C'den 195 °C'ye artmasıyla ise %DPPH'nin arttığını tespit etmişlerdir.

Bastias-Montes ve diğ. (2018), giriş sıcaklığı arttıkça kontrol grubuna göre toplam fenol içeriğinin ve antioksidan aktivitenin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Giriş sıcaklığı arttıkça elde edilen mikropariküllerin antioksidan aktivitelerinin de arttığını belirtmişlerdir. Bu durumu yüksek giriş sıcaklığının daha yüksek su kaybına neden olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Yüksek giriş sıcaklıklarında kurutma daha hızlı gerçekleşerek bileşenlerle sıcak havanın temas süresinin daha düşük olmasına neden olup söz konusu bileşenlerin kaybının da daha düşük olması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. En yüksek antioksidan aktiviteye en yüksek giriş sıcaklığı uygulamasında (170 °C) elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu sonuçların Cai ve Corke (2000), Quek ve diğ. (2007) ve Tonon ve diğ. (2009) tarafından belirtilen sonuçlarla zıt olduğunu belirtmişlerdir. Bunun sebebini ise sıcaklığa yüksek derecede hassas bileşiklerin sıcaklık yükseldikçe daha yüksek miktardaki kaybı ile açıklamışlardır.

Krisnaiah ve diğ. (2012), *Morinda citrifolia* (noni meyvesi) ekstraktını farklı konsantrasyonlarda k-karregen ve maltodekstrin kullanarak farklı giriş sıcaklıklarında (90-140 °C) mikroenkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsüllerin %DPPH süpürme aktivitesinin %4.50-25.32 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz %inhibisyon değerlerinin literatürdeki bu inhibisyon değerleri arasında olduğu ancak

farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu durumun birçok sebebi olmakla beraber en temel sebebinin enkapsüle olan aktif maddenin antioksidan kapasiteleri arasındaki farklılık olmakla beraber enkapsülasyonda kullanılan duvar materyali çeşidi, konsantrasyonu, giriş sıcaklıkları, akış hızı farklılıkları gibi proses parametreleri ile de alakalı olabileceği düşünülmüştür.

#### 4.1.10.1 Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonucu

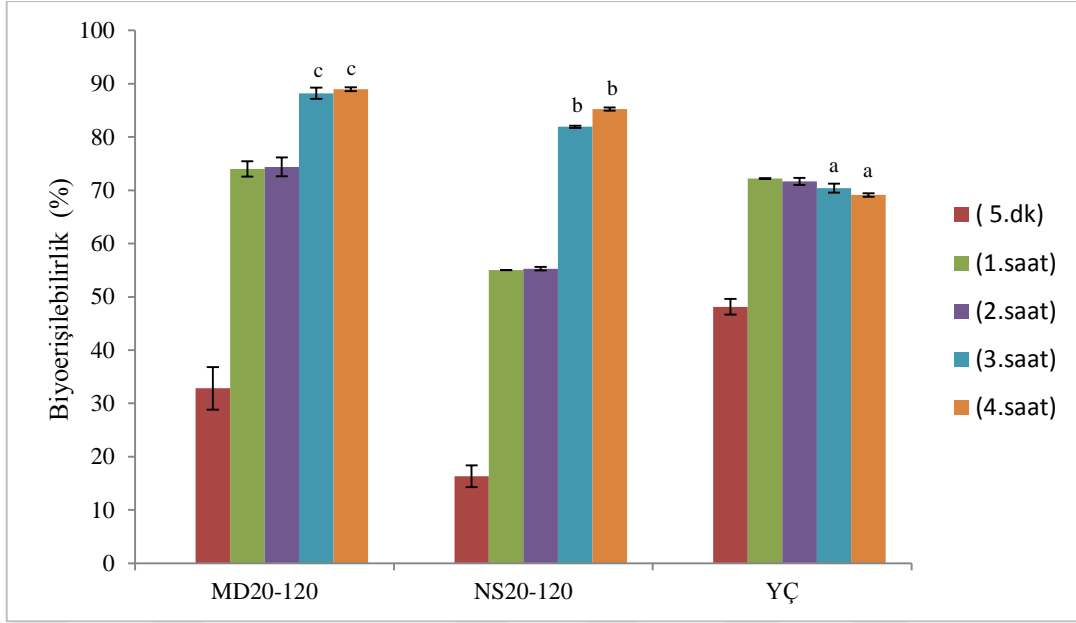
Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonucu Çizelge 4.12’de verilmiştir. Konsantrasyon ve kaplama materyali × konsantrasyon interaksiyonunun %inhibisyon üzerindeki etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.12 : Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonuçları.**

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	1.539	4.347	0.070
Konsantrasyon	252.202	712.347	<b>0.000</b>
Sıcaklık	0.985	2.782	0.133
Kaplama materyali × Konsantrasyon	3.017	8.521	<b>0.020</b>
Kaplama materyali × Sıcaklık	0.000	0.000	1.000
Konsantrasyon × Sıcaklık	0.985	2.782	0.133
Kaplama materyali × Konsantrasyon × Sıcaklık	0.0615	0.173	0.687

#### 4.1.11 *In vitro* sindirim

Püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren en yüksek enkapsülasyon verimine sahip olan mikropartiküllerin (MD20-120 ve NŞ20-120) simüle sindirim sıvısındaki davranışları metot 3.4.12’de belirtilen statik *in vitro* sindirim modeli ile incelenmiştir. Elde edilen bulgular ise Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.17 :** *In vitro* sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%).

Gıdalar sindirim esnasında absorbe olabilen ya da absorpsiyon/asimilasyon için yararlanılabilir hale gelen çok sayıda bileşenleri (temel besin öğeleri ve biyoaktif bilşenler) içerirler. Bu bileşenler veya fraksiyonların öncelikle gıda matriksi içerinden salınması gerekmektedir. Bu bileşenlerin ve/veya onların fraksiyonlarının gastrointestinal sistemde (GIT) absorpsiyonu için kullanıma sunulması (yararlanılabilir) ifadesine biyoerişilebilirlik (bioaccessibility) denir. Biyoerişilebilirlik bir bileşenin biyoyararlanımı için ilk basamaktır. Fenolik bileşenlerin GIT sistemdeki koşullar altında stabil olmaması bu bileşenlerin absorpsiyon oranlarının da düşük olmasına neden olmaktadır ve birçoğunun intestinal membran boyunca geçişinin olmaması onların biyoyararlanımlarını da düşürmektedir (Grgic ve diğ, 2020; Li ve diğ, 2015). Bunun yanısıra gastroistestinal sistemde farklı pH şartları fenolik fitokimyasalların degradasyonuna neden olmaktadır. Örneğin EGCG asidik mide ortamı (pH 1.5 altında) ve bağırsağın nötral pH ortamında stabil değildir (Li ve diğ, 2015). Kateşinlerin çoğunun degradasyonu en çok yüksek pH olan bağırsak koşullarında gerçekleşir (Neilson ve diğ, 2007). Dolayısıyla söz konusu bileşenlerin düşük biyoyararlılığı, GIT sistemde degradasyonu ve düşük geçirgenliği kateşinlerin sağlıksal etkilerinden maksimum düzeyde yararlanmayı kısıtlayan etkenler olmaktadır. Enkapsülasyon hassas olan bu biyoaktif bileşenlerin organlara taşınıncaya kadar istenmeyen çevresel şartlar boyunca güvenli bir taşıyıcı sistem oluşturur. Dolayısıyla aktif maddenin sindirim koşullarında stabiliteleri korunarak ve sindirimin diğer bileşenleri ile interrekasyonunu önleyerek hedefine ulaşmadan önce gerçekleşebilecek degradasyona

karşı koruyarak biyoerişilebilirlik ve dolayısıyla biyoyararlılığı arttırılmış olunur (Ahmad ve diğ, 2019).

Biyoerişilebilirlik (%) sindirimden sonraki örneklerdeki toplam fenolik içeriğinin sindirimden önceki örneklerde bulunan toplam fenolik içeriğine oranının yüzdesi olarak hesaplanmıştır (Juaniz ve diğ, 2016). Yapılan çalışmalar fenolik bileşenlerin sindirim sonunda gıda matriksinden biyoerişilebilirliğinin biyoyararlanıma ışık tutmasından ve sindirilen bileşenlerin insan sağlığı üzerindeki faydalı etkilerine dönüştürülmesi açısından önemli bir etken olduğunu belirtmiştir (Peanparkdee ve Iwamoto ve diğ, 2020). Sindirimin ilk aşaması ağızda tükürük salgısında bulunan  $\alpha$ -amilazın enzimatik hidrolizi ile gerçekleşir. Tükürük fazında tükürükteki proteinlerle fenoliklerin interreaksiyonuna bağlı olarak polifenollerin kayba uğradığı ve çözünmeyen agregatların oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Pineda-Vadillo ve diğ, 2016; Sarni-Manchado ve diğ, 1999). Birçok çalışma epikateşin ve kateşini de içeren bitkisel polifenollerin tükürük ortamının nötral veya alkali pH'sında degradasyona uğrayarak stabil olmadığını belirtmiştir (Sanz-Buenhombre ve diğ, 2016). Gastrik fazda (pH 1.2-2.0) ise sindirim devam etmekte bitki polifenollerinde önemli bir azalış meydana gelmektedir. Li ve diğ. (2014) ve Mosele ve diğ. (2016), bitki polifenollerinin büyük bir kaybının simüle gastrik fazdaki sindirim sonunda görüldüğünü belirtmişlerdir. Pankreatin içeren simüle bağırsak fazında (pH 6.8-8.0) bağırsak sindirimi esnasında bitkisel polifenollerin biyogeçişliliği değerlendirilir. Antosiyaninler, fenolik asitler, kateşinler, kuersetin, resveratrol gibi bitkisel polifenollerin simüle bağırsak sıvısının zayıf alkali ortamında stabil olmadıkları görülmüştür (Gayaso ve diğ, 2016; Liang ve diğ, 2012; Tagliazucchi ve diğ, 2010; Oliveira ve diğ, 2015).

Çalışmamızda 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonunda yeşil çay ekstraktı içeren mikrokapsüllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin %88.96-85.24 iken yeşil çayda bu değer %69.13 olduğu saptanmıştır. En yüksek biyoerişilebilirlik yüzdesinin (%88.96) kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikropartiküllere (MD20-120) ait olduğu görülmüştür. Dolayısıyla bu durum bize enkapsülasyon işlemi ile yeşil çayda bulunan toplam fenolik içeriğinin gastrointestinal sistem boyunca bağırsağa ulaşmaya kadar geçen sürede çoğunluğunun korunduğunu göstermiştir. Gonzelez ve diğ. (2020), maltodekstrin ve inulin kullanarak zeytin yaprakları ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Oleuropeinin gastrointestinal sistem boyunca davranışını *in vitro* sindirim modeli ile incelemişlerdir. Oleorupin biyoerişilebilirliğinin bağırsak sindiriminde (120 dk) maltodekstrin ile kaplı mikrokapsüllerde enkapsüle olmayan formuna

kıyasla %15 daha fazla olduğunu, inulin kaplı mikropartiküllerde ise % 12 daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlarda ise maltodekstrin kaplı mikroenkapsüle partiküllerin bağırsak sindiriminin sonunda biyoerişilebilirliği enkapsüle olmayan yeşil çay ekstraktının biyoerişilebilirliğine kıyasla yaklaşık % 19 fazla iken nişasta kaplı mikrokapsüllerde ise %16 daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Maltodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin biyoerişilebilirliklerinin (%) nişasta ile elde edilen mikrokapsüllerin biyoerişilebilirlik (%) değerlerine yakın ancak önemli derecede ( $P<0.05$ ) yüksek olduğu görülmüştür. Görülen bu farklılığın polisakkarit yapısındaki farklılığa bağlı olarak polifenol ve polisakkarit yapıda kaplama materyali arasında kurulan farklı interreaksiyonlar (iyonik ve/veya hidrojen bağları ve/veya van der Waals kuvvetleri) ile alakalı olabileceği düşünülmüştür (Gonzelez ve diğ., 2020; Jakobek ve Matic, 2019; Jakobek, 2015). Polifenol-polisakkarit kompleksinin oluşumunun polifenollerin *in vitro* sindirim sistemi içerisinde biyoerişilebilirliğini yükselttiği düşünülmüştür (Gonzelez ve diğ., 2020). Dolayısıyla püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen maltodekstrin ve nişasta bazlı yeşil çay ekstraktı içeren mikrokapsüllerin yeşil çaydaki fenolik bileşenler için gastrointestinal sistemde iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir. Ferreira-Santos ve diğ. (2021), polifenollerce zengin pine bark (*P. pinaster* bark) ekstraktını maltodekstrin kullanarak püskürtmeli kurutma tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde edilen mikrokapsüllerin *in vitro* sindirim boyunca davranışını izlediklerinde bağırsak sindiriminin sonunda biyoerişilebilirliklerinin %14 düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bağırsak sindirimi sonunda enkapsüle olmayan ekstraktta biyoerişilebilirlik yüzdesinin % 40.4 iken enkapsüle mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin %54.3 olduğunu tespit etmişlerdir. Cujic-Nikolic ve diğ. (2019) kuş kirazı (chokeberry) polifenollerini püskürtmeli kurutma tekniği ile kaplama materyali olarak maltodekstrin ve yağsız süt kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Edilen mikropartiküllerin *in vitro* sindirimi sonucunda davranışını incelediklerinde maltodekstrinin *in vitro* sindirim koşullarında fenolik maddeleri daha iyi koruduğunu ve stabilize ettiğini belirtmişlerdir.

#### 4.1.11.1 *In vitro* sindirime ait varyans analizi sonuçları

*In vitro* sindirime ait varyans analizi sonucu Çizelge 4.13’de verilmiştir. Biyoerişilebilirlik (%) açısından, 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda kaplama materyalinin etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.13 : *In vitro* sindirime ait varyasyon analizi sonuçları.**

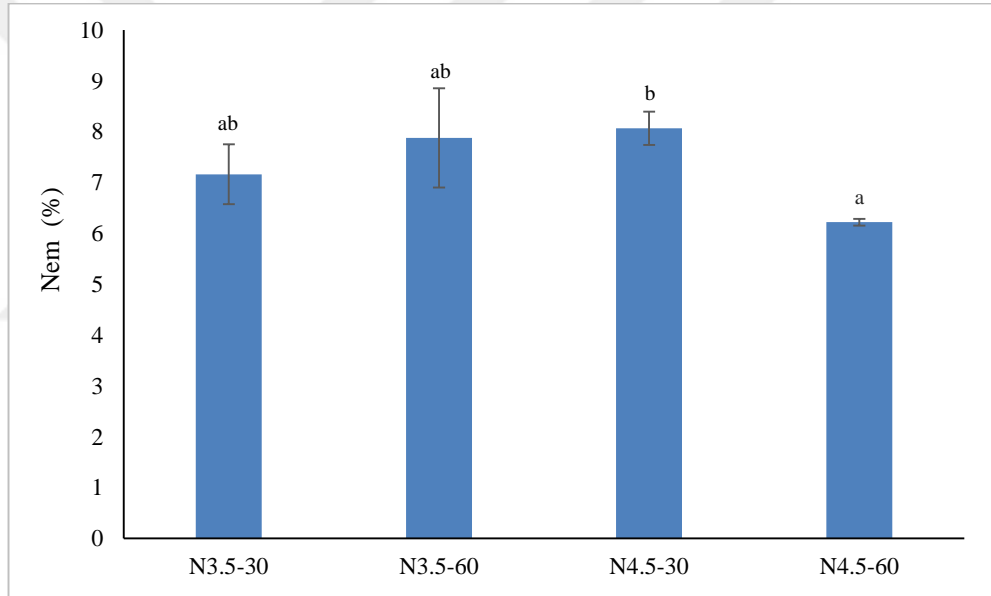
Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	222.254	2131.942	<b>0.000</b>

## 4.2 Elektrostatik Ekstrüzyon Tekniği ile Yeşil Çay Ekstraktının Enkapsülasyonuna Ait Bulgular

Yeşil çay ekstraktı elektrostatik ekstrüzyon tekniği kullanılarak kaplama materyali olarak farklı konsantrasyonlarda sodyum aljinat (%3.5 ve %4.5) ile farklı jelasyon süreleri uygulanarak (30 ve 60 dk) hidrojel yapıda mikrobuncuk oluşturularak enkapsüle edilmiştir. Bu teknik ile elde edilen enkapsüle mikrobuncuklara ait bulgular aşağıda verilmiştir.

### 4.2.1 Nem içerikleri

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile farklı sodyum aljinat konsantrasyonlarında (%3.5 ve %4.5) ve farklı jelasyon sürelerinde (30 ve 60 dk) elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikrobuncuklara ait nem değerleri Şekil 4.18'deki gibidir.



Şekil 4.18 : Hidrojel mikrobuncukların nem yüzdesi.

Elde edilen hidrojel mikrobuncuklara ait nem yüzdesinin  $6.22\pm 0.06$  ile  $8.07\pm 0.32$  arasında olduğu tespit edilmiştir. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların nem yüzdesi  $7.16\pm 0.58$ - $7.87\pm 0.97$  iken % 4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların nem yüzdesinin sırasıyla ise  $8.07\pm 0.32$ - $6.22\pm 0.06$  olduğu tespit edilmiştir. En küçük nem içeriği %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ile 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncuklarda saptanmıştır. En yüksek nem içeriği ise %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ile 30 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncuklarda saptanmıştır. %3.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ile elde edilen mikrobuncuklar için jelasyon süresinin 30 dk'dan 60 dk'ya

artması ile elde edilen mikrobuncukların nem yüzdesindeki artışın istatistikî olarak önemli olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Dolayısıyla %3.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ile elde edilen mikrobuncuklar için jelasyon süresinin nem yüzdesi üzerinde etkili bir parametre olmadığı görülmüştür. Ancak %4.5 sodyum aljinat kullanılarak elde edilen mikrobuncuklar için jelasyon süresindeki artışın nem yüzdesi üzerinde etkili bir parametre olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonunda jelasyon süresindeki artışa bağlı olarak nem yüzdesinde azalış saptanmıştır. Bu durumu şu şekilde açıklamak mümkündür; Aljinat ağırlığının 200-300 katı suyu absorbe etme özelliğine sahip bir biyopolimerdir (Puscaselu ve diğ, 2020). Aljinat konsantrasyonunun artması ile su ile olan interreaksiyon artmıştır dolayısıyla bu durum yapıda daha fazla suyun tutulmasına neden olmuştur. Jelasyon aşamasında ise kalsiyum aljinat mikrobuncukları oluşunca yapıdaki su kayba uğramaktadır (Lee ve diğ, 2013). Jelasyon aşamasında  $CaCl_2$  ile temas ettiği sürenin artması kaybolan bu su miktarındaki artışın daha fazla olmasına neden olmuş olabilir. 30 dk'lık jelasyon için sodyum aljinat konsantrasyonunun %3.5'dan %4.5'a çıkması ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların nem içeriğinde artış saptanmıştır. Bu durumu sodyum aljinat konsantrasyondaki artışa bağlı olarak su ile olan interreaksiyondaki artış ile ilişkilendirmek mümkündür. Dolayısıyla 30 dk'lık jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların nem yüzdesi üzerinde sodyum aljinat konsantrasyonunun etkili bir parametre olduğu saptanmıştır. 60 dk'lık jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların nem yüzdesinin ise sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum yüksek konsantrasyonda yapıda tutulan fazla suyun jelasyon süresinin uzun olması durumunda fazla miktardaki kaybı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Nem içeriği su aktivitesi, akışkanlık, yapışkanlık, kurutma etkinliği, biyoaktif maddenin oksidasyonu ve mikrobiyal gelişim ile ilişkili önemli bir mikrokapsül özelliğidir. Bunun yanısıra mikrokapsüllerin yüksek nem içeriği depolama stabilitesini etkileyen bir etkidir. Yüksek nem içeriği mikrokapsülasyonda kullanılan duvar materyalinin camsı durumdan amorf kauçuk duruma geçmesine neden olur. Bu durum da degradasyona ve aktif materyalin salınımına neden olmaktadır (Kang ve diğ, 2019; Mahdi ve diğ, 2019). Düşük nem içeriği ise suyun plastikleştirici gibi davranma yeteneğini azaltır ve camsı geçiş sıcaklığının düşürür (Abdin ve diğ, 2021).

#### 4.2.1.1 Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları

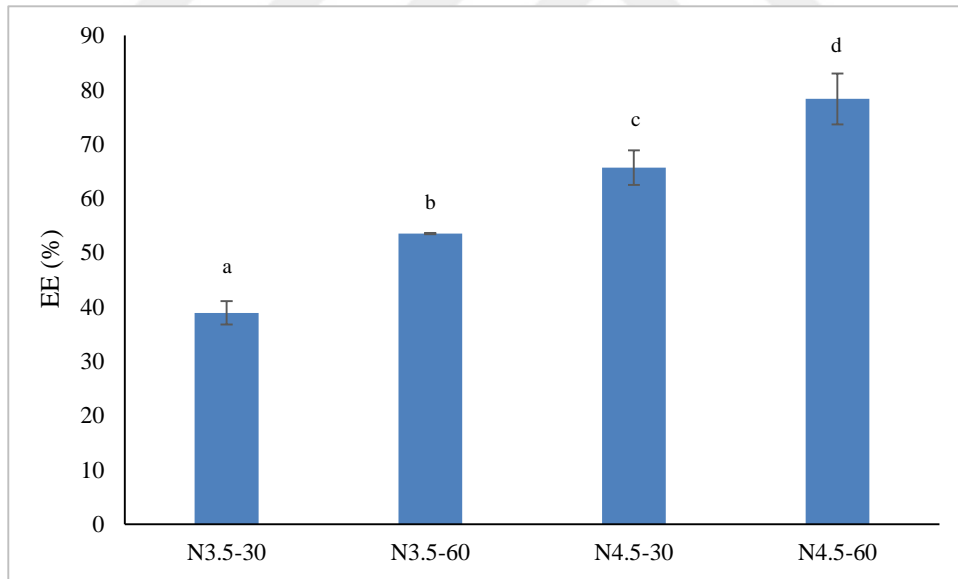
Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre konsantrasyon × jelasyon süresi interaksyonunun nem içerikleri üzerindeki etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.14 :** Nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Konsantrasyon	0.278	0.791	0.423
Jelasyon süresi	0.641	1.820	0.248
Konsantrasyon × Jelasyon süresi	3.278	9.306	<b>0.038</b>

#### 4.2.2 Enkapsülasyon etkinliği

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile farklı konsantrasyonlarda sodyum aljinat kullanılarak elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikrobuncukların enkapsülasyon etkinliğine ait bulgular Şekil 4.19’daki gibidir.



**Şekil 4.19 :** Hidrojel mikrobuncukların enkapsülasyon etkinlikleri.

Enkapsülasyon etkinliği enkapsüle edilebilen yeşil çay ekstraktı içeriğinin bir ifadesidir. Enkapsülasyon etkinliği Balanc ve diğ. (2016) ve Stojanovic ve diğ. (2012) kullandığı metot ile Eşitlik 3.3’e göre mikrobuncuklardaki toplam fenolik madde miktarı ve enkapsülasyonda kullanılan yeşil çay ekstraktı-polimer solüsyonundaki toplam fenolik madde miktarı üzerinden hesaplanmıştır. Çalışmamızda %3.5 ve %4.5 sodyum aljinat

kullanılarak farklı jelasyon süreleri denenerek üretilen hidrojel mikrobuncukların enkapsülasyon etkinliklerinin  $38.93 \pm 2.16$ - $78.32 \pm 4.67$  arasında olduğu saptanmıştır. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların enkapsülasyon etkinlikleri sırasıyla  $38.92 \pm 2.16$  ve  $53.54 \pm 0.12$  iken %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların enkapsülasyon etkinliklerinin sırasıyla  $65.67 \pm 3.16$  ve  $78.32 \pm 4.67$  olduğu saptanmıştır. Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde elde edilen hidrojel mikrobuncukların enkapsülasyon etkinliklerinin %49 ile  $98.4 \pm 4.3$  arasında olduğu görülmüştür (Arriola ve diğ., 2016; Balanc ve diğ., 2016; Cvitanovic, 2011; İsaïilovic ve diğ., 2012; Seregelj ve diğ., 2020; Stojanovic ve diğ., 2012; Yılmaztekin ve diğ., 2019). Çalışmamızdaki sonuçların literatürle benzerlik gösterdiği görülmektedir. Literatüre göre aljinat bazlı hidrojel mikrobuncuklarda enkapsülasyon etkinliği üzerinde etkili olan faktörlerin sodyum aljinat ve  $\text{CaCl}_2$  konsantrasyonu, mikrobuncukların  $\text{CaCl}_2$  solüsyonu içerisindeki jelasyon süresi, enkapsülasyon metodu ve üretim teknikleri olduğu belirtilmiştir (Gholamian ve diğ., 2021; Sevgi ve diğ., 2008; Zeeb ve diğ., 2015). Dolayısıyla çalışmamızda görülen küçük farklılıkların bu sebeplerden kaynaklandığı düşünülmüştür. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon sonucu elde edilen mikrobuncuklar (N3.5-30) için EE (%)  $38.93 \pm 2.16$  iken sodyum aljinat konsantrasyonu %4.5'e çıktığında (N4.5-30) EE (%)'nin  $65.67 \pm 3.16$ 'ya arttığı saptanmıştır. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 60 dk jelasyon sonucu elde edilen mikrobuncuklar için EE (%)  $53.54 \pm 0.12$  iken sodyum aljinat konsantrasyonu %4.5'a çıktığında EE (%)'nin  $78.32 \pm 4.67$ 'ye arttığı tespit edilmiştir. Her iki jelasyon süresi (30 dk ve 60 dk) için de sodyum aljinat konsantrasyonu arttıkça enkapsülasyon etkinliğinin arttığı saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Sodyum aljinat konsantrasyonu,  $\text{CaCl}_2$  konsantrasyonunu ve jelasyon süresinin artması sodyum aljinat ve  $\text{Ca}^{2+}$  interreaksiyonunun artmasına neden olmuş ve bu durum da daha kalın bir membran ile çevrili daha sıkı ağ yapısının oluşturmuştur. Dolayısıyla enkapsüle olan maddenin mikrobuncuklardan dış solüsyona sızması azalmıştır. Bu durum da enkapsülasyon etkinliğinin daha yüksek olmasında neden olmuştur (Gholamian ve diğ., 2021; Najafari-Soulari ve diğ., 2016; Yadava ve diğ., 2014). Cong ve diğ. (2018) ve Praven ve diğ. (2015)'e göre yüksek aljinat konsantrasyonlarında elde edilen aljinat mikrobuncuklarında enkapsülasyon etkinliğinin arttığını ve bu durumu difüzyonun daha az olduğu daha sıkı boncuk matriksinin oluşmasından kaynaklanması ile açıklamışlardır. Bunun yanısıra sodyum aljinat konsantrasyonundaki artış aljinatın polimerik zincirindeki aktif bölgelerin daha fazla olmasına bu durum da  $\text{Ca}^{2+}$  ile sodyum aljinat arasında daha yüksek derecede çapraz bağların

oluşmasına ve dolayısıyla enkapsüle edilen miktarda artışa neden olduğu düşünülmüştür (El-kamel ve diğ., 2003). Nedovic ve diğ. (2006), yüksek sodyum aljinat konsantrasyonlarında elde edilen mikrobonduktan difüzyonun daha düşük olduğunu ve dolayısıyla EE (%)’nin daha yüksek olabileceğini belirtmişlerdir. Chatterjee ve Bhattacharjee (2015), patlıcandan elde edilen koyu mor renk bileşenlerinin farklı sodyum aljinat konsantrasyonlarında elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsüle etmişler ve mikrobonduk elde etmişlerdir. Sodyum aljinat konsantrasyonu arttıkça enkapsülasyon etkinliğinin arttığını belirtmişlerdir. Sodyum aljinat konsantrasyonunun artmasının duvar materyalinin sertliğini arttırması ve bu durumun da renk maddelerinin daha etkin tutulmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enkapsülasyon etkinliğinin artması ile benzer sonuçlar Nimase ve Vidyasagar (2010) tarafından da saptanmıştır. Pasukamonset ve diğ. (2016), Mavi kelebek sarmaşığı (*Clitoria ternatea*) çiçeğinden elde edilen polifenolik ekstraktları duvar materyali olarak aljinatı kullanarak ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğinin *Clitoria ternatea* ekstraktı yüzdesine (%5-20), aljinat yüzdesine (%1-2) ve CaCl<sub>2</sub> yüzdesine (%1.5-5) bağlı olarak %74.17-84.87 aralığında değiştiğini belirtmişlerdir. Sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak elde edilen mikrobondukların enkapsülasyon etkinliklerinin arttığını saptamışlardır. Literatürdeki bu bilgilerin çalışmamızda bulduğumuz sonuç ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca Şekil 4.21 incelendiğinde %3.5 sodyum aljinat konsantrasyonlarında elde edilen mikrobondukların yüzey morfolojilerinde gözenekli yapının daha fazla olduğu % 4.5 sodyum aljinat kullanılarak elde edilen mikrobondukların yüzey morfolojilerinin ise daha sıkı olduğu görülmüştür. Gözenekli yüzey morfoloji oluşması zamanla yapıdaki etken maddenin kolaylıkla difüze olmasına neden olmuş bu durumun da enkapsülasyon etkinliğinin daha düşük olmasına neden olduğu düşünülmüştür. Sodyum aljinat konsantrasyonu arttıkça elde edilen mikrobondukların yüzey gözeneklerinin azaldığı daha sıkı yüzey morfolojisinin olduğu SEM görüntülerinden görülmektedir (Şekil 4.21). Dolayısıyla bu durumun etken maddenin daha az difüzyonuna bağlı olarak EE (%)’nin daha yüksek olmasını sağladığı düşünülmüştür. Li ve diğ. (2016), aljinat mikrobonduklarının yüzeylerinin gözenekli bir yapıda olması aktif maddenin korunmasında zayıf bir bariyer etkisi oluşturduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca sodyum aljinatın polimerizasyon derecesinin moleküler ağırlığı, vizkozite ve sodyum aljinat konsantrasyonu arasındaki ilişkiye dayalı olduğu belirtilmiştir (Lee ve diğ., 2013; Ouwerx ve diğ., 1998). Dolayısıyla bu parametrelerin kalsiyum aljinat küreselliğini de önemli derecede etkilediği bildirilmiştir (Fundueanu vd., 1999; Ouwerx ve diğ., 1998; Woo ve diğ., 2007). Zayıf enkapsülasyon etkinliğinin açıklayan

bir diğer durum kullanılan sodyum aljinatın moleküler ağırlığıdır. Düşük moleküler ağırlıklı sodyum aljinat kullanılması durumunda enkapsülasyon etkinliğinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Orta ve yüksek molekül ağırlıklı aljinatların kullanılarak mikroboncukların üretilmesinde ise enkapsülasyon etkinliğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Aizpurua-Olaizola ve diğ, 2016; Bojana ve diğ, 2013). Bunun yanısıra orta ve yüksek molekül ağırlıklı aljinatların kullanılarak üretilen mikroboncukların daha büyük boyutta olduğu ve etken maddenin salınım oranının daha yavaş olduğu belirtilmiştir (Alsberg ve diğ, 2003). Dolayısıyla literatürde yapılan çalışmalarda elde edilen mikroboncukların enkapsülasyon etkinlikleri ile çalışmamızdaki farklılıkların kullanılan sodyum aljinatın moleküler ağırlığındaki farklılıklardan da kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

%3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen enkapsüle mikroboncukların (N3.5-30) EE (%)’nin  $38.93 \pm 2.16$  olduğu jelasyon süresi 60 dk olması durumunda ise EE (%)’nin  $53.54 \pm 0.12$  olduğu saptanmıştır. %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen enkapsüle mikroboncukların (N4.5-30) EE (%)’nin  $65.67 \pm 3.16$  olduğu jelasyon süresinin 60 dk olması durumunda ise EE (%)’nin  $78.32 \pm 4.67$  olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla jelasyon süresindeki artışın her iki konsantrasyonda da elde edilen mikroboncukların enkapsülasyon etkinliğinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ).

Sevgi ve diğ. (2008), jelasyon süresi arttıkça enkapsülasyon etkinliğinin arttığını ve durumu  $Ca^{2+}$  iyonları ile aljinat arasındaki temas süresinin artmasıyla mikroboncukların daha güçlü jelasyonunun sağlanması ile ilişkilendirmişlerdir. Rousseau ve diğ. (2004), hidrojelatin yapısı ve sürekliliğinin jelasyon süresine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Jelasyon süresi arttırıldıkça daha güçlü jel yapı oluştuğunu dolayısıyla bu durumun yapıdan enkapsüle olan maddenin difüzyonunu da azalttığını belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar Jeong ve diğ. (2020), Lee ve diğ. (2013) ve Zeeb ve diğ. (2015) tarafından da bulunmuştur. Bu durum da enkapsülasyon etkinliğinin daha yüksek olmasına neden olmuştur.

#### **4.2.2.1 Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları**

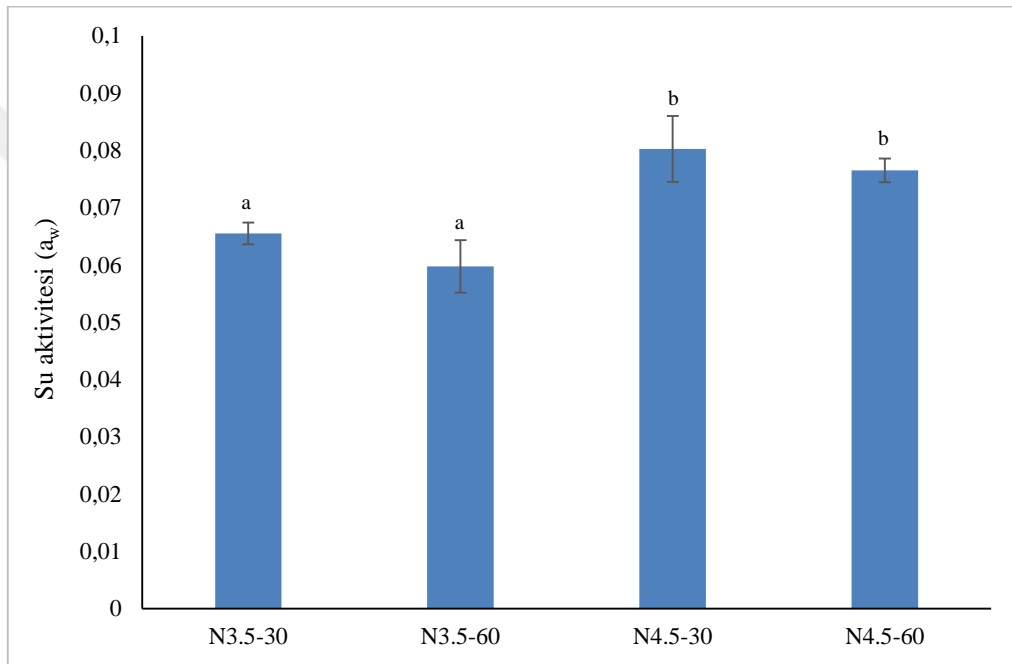
Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.15’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre enkapsülasyon etkinliği bakımından, konsantrasyonun ve jelasyon süresinin etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Çizelge 4.15 :** Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Konsantrasyon	1327.16	145.240	<b>0.000</b>
Jelasyon süresi	371.781	40.686	<b>0.003</b>
Konsantrasyon × Jelasyon süresi	1.919	0.210	0.670

### 4.2.3 Su aktivitesi

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile farklı sodyum aljinat konsantrasyonlarında (%3.5 ve %4.5) ve farklı jelasyon sürelerinde (30 ve 60 dk) elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikrobuncukların su aktivitesi ( $a_w$ ) değerleri Şekil 4.20'deki gibidir.



**Şekil 4.20 :** Hidrojel mikrobuncuklara ait su aktivitesi değerleri.

Farklı konsantrasyonlarda (%3.5 ve %4.5) sodyum aljinat kullanılarak elde edilen hidrojel mikrobuncukların su aktivitesi ( $a_w$ ) değerlerinin  $0.059 \pm 0.004$ - $0.080 \pm 0.005$  arasında olduğu tespit edilmiştir. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların  $a_w$  değerleri  $0.059 \pm 0.004$ - $0.065 \pm 0.001$  iken, %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların  $a_w$  değerleri  $0.076 \pm 0.002$ - $0.080 \pm 0.005$  olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen tüm mikrobuncukların  $a_w$  değerlerinin 0.1'den düşük olduğu görülmüştür.

En yüksek su aktivitesi değerleri %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonunda elde edilen mikrobuncuklarda görülmüştür. Çalışmamızda kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça elde edilen mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin arttığı saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Sodyum

aljinat konsantrasyonunun artması sodyum aljinat ve  $Ca^{2+}$  interreaksiyonunun artmasına neden olmuş ve bu durum da daha kalın bir membran ile çevrili daha sıkı ağ yapısını oluşturmuştur (Gholamian ve diğ, 2021; Najafari-Soulari ve diğ, 2016; Yadava ve diğ, 2014). Genellikle jelasyon aljinat solüsyon damlacıklarının  $CaCl_2$  solüsyonuna düşmesi ile başlar. Sonrasında ise çapraz bağlama sırasında hidrojel ağı oluşumu aljinat tarafından işgal edilen boşlukları azaltır. Bu durum su kaybına neden olur (Lee ve diğ, 2013). Dolayısıyla kalın membran ve sıkı ağ yapısı jelasyon aşamasında yapıdan kaybedilen su miktarının daha düşük olmasına neden olmuş ve yapıdaki su miktarının fazla olması da su aktivitesi değerinin yüksek olmasına neden olmuş olabilir. Ayrıca diğer bir etken aljinat polimerinin su tutma kapasitesi olabilir. Aljinat ağırlığının 200-300 katı suyu absorbe etme özelliğine sahip bir biyopolimerdir (Puscaselu ve diğ, 2020). Aljinat konsantrasyonunun artması yapıda daha fazla suyun tutulmasına neden olmuş bu durum da elde edilen mikrobuncukların su aktivitesinin daha yüksek olmasını sağlamış olabilir.

%3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların (N3.5-30) su aktivitesi değeri  $0.065 \pm 0.001$  iken, 60 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların (N3.5-60) su aktivitesi değerinin  $0.059 \pm 0.004$  olduğu saptanmıştır. %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların (N4.5-30)  $a_w$  değeri  $0.080 \pm 0.005$  iken 60 dk jelasyon ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların (N4.5-60)  $a_w$  değerinin  $0.076 \pm 0.002$  olduğu saptanmıştır. Her iki konsantrasyon için de su aktivitesi değerlerinin jelasyon süresinin artmasına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Jelasyon işlemi esnasında çapraz bağlama sırasında hidrojel ağı oluşumu aljinat tarafından işgal edilen boşlukları azaltır. Bu durumun yapıdan su kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Lee ve diğ, 2013). Jelasyon süresi arttıkça daha güçlü bir jel oluşur. Jelasyon işleminin uzun sürmesi yapıdaki suyun daha fazla kaybedilmesine neden olmuş olabilir. Bu durumun da elde edilen mikrobuncukların su aktivitesi değerlerinin düşük olmasına sebep olduğu düşünülmüştür.

Su aktivitesi gıdaların raf ömrü ve güvenliği ile ilişkili bir ölçümdür. Su aktivitesi, mikrobiyal aktivite ve biyokimyasal degradasyonlar için kullanılabilir serbest suyun bir göstergesidir. Su aktivitesinin 0.6'dan düşük olduğu ( $a_w < 0.6$ ) durumlar genellikle mikrobiyolojik ve biyokimyasal olarak güvenilir olarak nitelendirilir (Lekshimi ve diğ, 2019; Rahman ve Labuza, 2007). Ayrıca mikrobiyal ve biyokimyasal reaksiyonların sebep olduğu kalite kayıplarının su aktivitesinin 0.6'dan daha düşük olması durumunda önlenemediği belirtilmiştir (Lekshimi ve diğ, 2019). Toz esaslı ürünlerde ise topaklaşma ve

kekleşme eğiliminin daha düşük olması sebebiyle endüstriyel hedef 0.3'den daha düşük su aktivitesi değeridir (Zhang ve diğ, 2020a; Damodaran ve Parkin 2017).

Elde edilen liyofilize hidrojel mikroboncukların su aktivitesi değerlerinin 0.1'den düşük olduğu görülmüştür. Bu su aktivitesi değeri çok düşük bir değerdir. Bu durum ise elde ettiğimiz mikrokapsüllerin mikrobiyal olarak stabil olduğunu göstermiştir. Düşük su aktivitesi ortamında ( $a_w=0.00-0.25$ ) lipid oksidasyonunun sınırlanması, enzim aktivitesi ve esmerleşme reaksiyonlarının azalması beklenir (Janiszewska-Turak ve diğ, 2017; Labuza ve Altunkar, 2007). Dolayısıyla elde edilen hidrojel mikrokapsüllerin mikrobiyal ve söz konusu biyokimyasal reaksiyonlara karşı (lipit oksidasyonu, esmerleşme reaksiyonları, enzim aktivitesi gibi) stabilitesinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Bu durumda elde edilen mikroboncukların yapılarında bozulma olmadan uzun süre stabil bir şekilde muhafaza edilebilirliğinin mümkün olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.3.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları

Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Gerçekleştirilen varyans analizi sonucuna göre konsantrasyonun ve jelasyon süresinin su aktivitesi üzerindeki etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.16** : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Konsantrasyon	0.000	64.188	<b>0.000</b>
Jelasyon süresi	0.000	5.838	<b>0.032</b>
Konsantrasyon × Jelasyon süresi	0.000	0.258	0.620

#### 4.2.4 Renk analizi

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile farklı konsantrasyonlarında (%3.5 ve %4.5) sodyum aljinat kullanılarak ve farklı jelasyon sürelerinde (30 ve 60 dk) elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikroboncuklara ait renk değerleri Çizelge 4.17'deki gibidir.

**Çizelge 4.17 : Hidrojel mikroboncuklara ait renk değerleri.**

Örnek Kodu*	$L^*$	$a^*$	$b^*$
N3.5-30	90.785 <sup>b</sup> ±0.012	-0.4725 <sup>a</sup> ±0.005	0.53 <sup>a</sup> ±0.018
N3.5-60	90.745 <sup>a</sup> ±0.005	-0.4625 <sup>a</sup> ±0.005	0.5125 <sup>a</sup> ±0.009
N4.5-30	90.875 <sup>b</sup> ±0.096	-0.5 <sup>b</sup> ±0.020	0.5975 <sup>b</sup> ±0.078
N4.5-60	90.7575 <sup>a</sup> ±0.009	-0.47 <sup>a</sup> ±0.008	0.49 <sup>a</sup> ±0.011

\* N3.5-30: %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen mikroboncuklar; N3.5-60: %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 60 dk jelasyon ile elde edilen mikroboncuklar; N4.5-30; %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon elde edilen mikroboncuklar; N4.5-60: %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 60 dk jelasyon ile elde edilen mikroboncuklar. <sup>a-b</sup>Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

$L^*$  değeri rengin parlaklığı (0: Siyah, 100: Beyaz),  $a^*$ : Kırmızılık/Yeşillik ( $-a$ : Yeşil,  $+a$ : Kırmızı),  $b^*$ : Sarılık/Mavilik ( $-b$ : Mavi,  $+b$ : Sarı) şeklinde üç boyutla ifade edilir (Keskin ve diğ., 2017). Renk tüketicilerin kalite algılarını etkileyen önemli özelliklerden biridir (Seregelj, 2019). Mikroboncukların rengi fonksiyonel gıdalara uygulanması durumunda önemli bir özellik olmaktadır. Elde edilen tüm mikroboncukların  $L^*$  değerlerinin 90.74±0.005-90.88±0.096,  $a^*$  değerlerinin -0.46±0.005 ile -0.5±0.02 arasında,  $b^*$  değerlerinin ise 0.49±0.011-0.60±0.078 arasında olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen tüm hidrojel mikroboncuk yapılarının renginin beyaz, yeşil ve sarı renge meyilli olduğu söylenebilir. En yüksek  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değeri N4.5-30 kodlu örnekte saptanmıştır. Sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışın enkapsüle örneklerin  $L^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiki açıdan önemsiz görülmüştür ( $P>0.05$ ). Jelasyon süresinin artması ise enkapsüle örneklerin  $L^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiki açıdan önemli görülmüştür ( $P<0.05$ ). Jelasyon süresi arttıkça enkapsüle örneklerin  $L^*$  değerlerinin azaldığı saptanmıştır.

%3.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ile elde edilen mikroboncukların jelasyon süresinin artması mikroboncukların  $a^*$ ,  $b^*$  değeri üzerinde bir etki oluşturmazken, %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonunda  $a^*$ ,  $b^*$  değerlerinde azalışa neden olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla yüksek aljinat konsantrasyonlarında jelasyon süresi arttıkça hidrojel mikroboncuklarda yeşil ve sarı rengin azaldığı görülmüştür. Bu durumu şu şekilde açıklamak mümkündür; aljinat konsantrasyonunun ve jelasyon süresinin artması sodyum aljinat ve  $Ca^{+2}$  interreaksiyonunu arttırmış bu durum da daha sıkı bir ağ yapısı oluşturarak aktif maddeyi çevreleyen membranın daha kalın olmasına neden olmuştur (Gholamian ve diğ., 2021). Yeşil ve sarı renk yeşil çay ekstraktından yani aktif maddeden kaynaklı bir

renktir. Dolayısıyla kalın membran bu rengin daha az algılanmasına neden olmuş bu durumun ise  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin daha düşük çıkmasına neden olduğu düşünülmüştür.

30 dk'lık jelasyon işlemi ile elde edilen hidrojel mikrobocuklarda sodyum aljinat konsantrasyonu arttıkça (%3.5'dan %4.5'a)  $L^*$  değeri değişmezken  $a^*$  ve  $b^*$  değerinin arttığı saptanmıştır. Bu durumu sodyum aljinatın doğal rengi ile ilişkilendirmek mümkündür. Ayrıca sodyum aljinat konsantrasyonunda artışa bağlı olarak yeşil çay ekstraktının enkapsülasyon etkinliğinin de arttığı gözlemlenmişti (Şekil 4.19). Dolayısıyla enkapsüle olan aktif maddenin yani yeşil çay ekstraktının artması yeşil çayın doğal renginden kaynaklı olarak  $a^*$  ve  $b^*$  değerini arttırdığı düşünülmüştür. 60 dk'lık jelasyon işleminde ise sodyum aljinat konsantrasyonunun artmasının (%3.5'dan %4.5'a)  $L^*$  ve  $a^*$  ve  $b^*$  değerinin üzerinde etkisi istatistiki olarak önemsiz olduğu edilmiştir ( $P>0.05$ ). Aljinat konsantrasyonunun ve jelasyon süresinin artması sodyum aljinat ve  $Ca^{+2}$  interreaksiyonunu arttırmış bu durum da daha sıkı bir ağ yapısı oluşturarak aktif maddeyi çevreleyen membranın daha kalın olmasına neden olmuştur (Gholamian ve diğ, 2021). Dolayısıyla bu durumu yüksek konsantrasyonda ve uzun jelasyon süresinde mikrobocukların membran yapısının daha kalın olmasına neden olmuş bundan dolayı da enkapsüle olan aktif maddenin (yeşil çay ekstraktının) renginin daha düşük algılanması ile sonuçlanmış olabilir. Yani kalın membranın transparan olmayışı aktif maddenin renginin algılanmamasına neden olmuş olabilir.

#### 4.2.4.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları

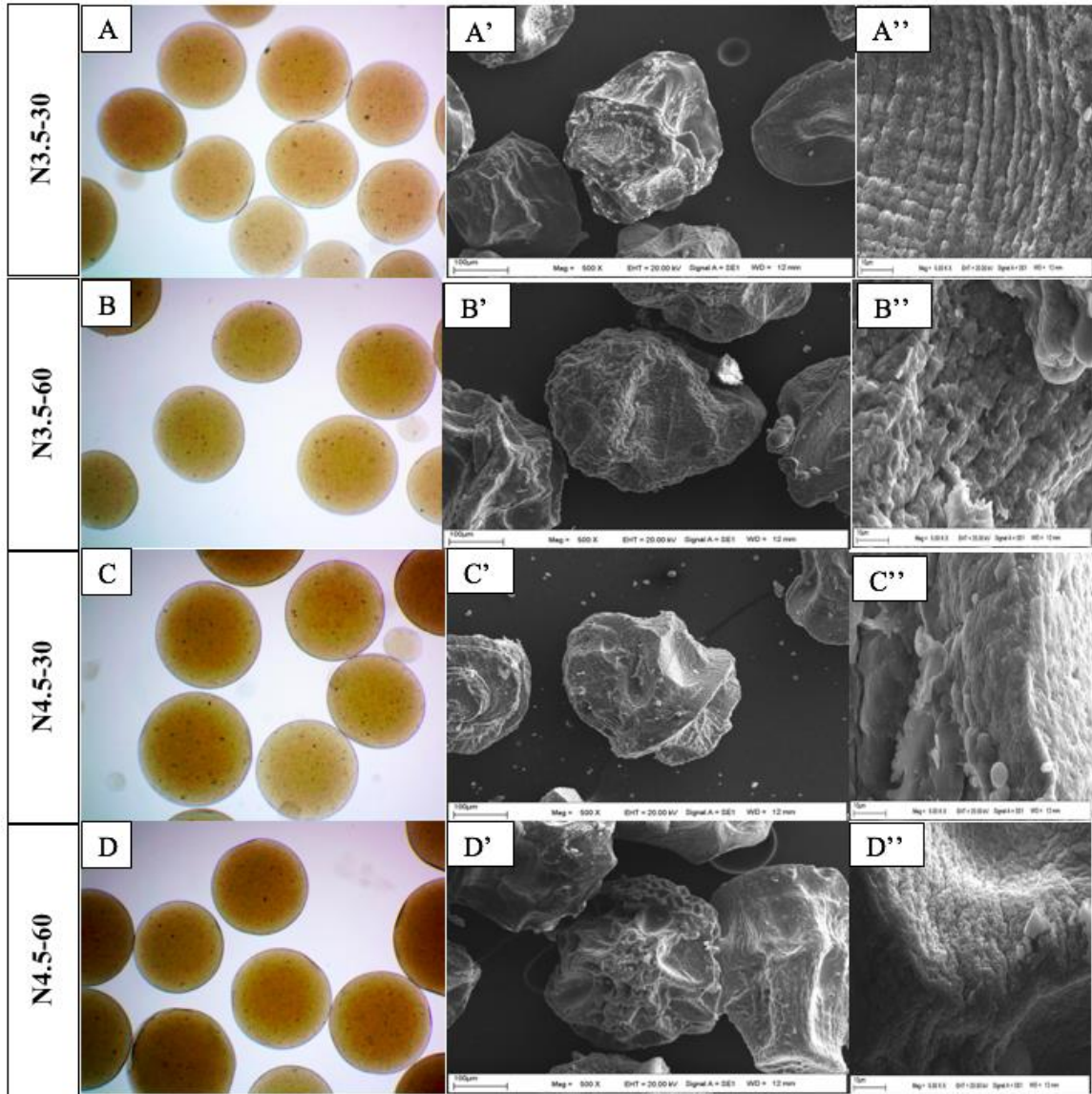
Renk analizine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre konsantrasyonun  $a^*$  değeri, jelasyon süresinin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değeri, konsantrasyon  $\times$  jelasyon süresi interaksiyonunun ise  $b^*$  değeri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.18 :** Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları		KO	F	P
Konsantrasyon	$L^*$	0.010	4.351	0.058
	$a^*$	0.001	9.483	<b>0.009</b>
	$b^*$	0.002	1.194	0.295
Jelasyon süresi	$L^*$	0.024	10.273	<b>0.007</b>
	$a^*$	0.001	12.387	<b>0.004</b>
	$b^*$	0.015	9.213	<b>0.010</b>
Konsantrasyon $\times$ Jelasyon süresi	$L^*$	0.006	2.487	0.140
	$a^*$	0.000	3.096	0.103
	$b^*$	0.008	4.776	<b>0.049</b>

#### 4.2.5 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen yeşil çay ekstraktı yüklü hidrojel mikroboncukların genel görüntülerinin, küresel formlarının, morfolojik yapılarının belirlenmesi amacıyla SEM görüntüleri incelenmiştir. Mikroboncuklara ait optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 4.21'deki gibidir.



**Şekil 4.21 :** Hidrojel mikroboncukların optik mikroskop ve SEM görüntüleri; A, B, C, D: Optik mikroskop görüntüleri; A', B', C', D'-A'', B'', C'', D'': SEM görüntüleri.

Mikroboncukların şekil ve yüzey morfolojisi gibi özellikleri partiküllerin akış hızını etkileyen özellikleridir. Bu durum da bazı farmakolojik ürünlerin üretiminde oldukça önemli olmaktadır (Cujic ve diğ, 2016b). %3.5 ve %4.5 konsantrasyonlarda sodyum aljinat kullanarak 30 dk ve 60 dk jelasyon sonucu elde edilen tüm yaş hidrojel mikroboncukların

optik mikroskop görüntülerinde küresel şekilde olduğu görülmüştür. Yaş mikroboncukların küresel ve homojen boyutlarda olduğu optik mikroskop görüntülerinden saptanmıştır. Kalsiyum aljinat mikroboncukların küreselliği mikroboncukların mekanik ve kimyasal stabiliteyi üzerinde önemli etkiye sahip bir özelliktir (Lee ve diğ, 2013). Örneğin küresel olmayan boncukların küresel olanlara kıyasla jel boncuk mukavemetinin daha düşük olduğu belirtilmiştir (Hajry ve diğ, 1999). Damlacık şekilli ve küresel olmayan mikroboncuklarda kırılma çatlama meydana getirmekte bu durumun da enkapsüle olan maddenin salınmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Woo ve diğ, 2007). Bunun yanısıra küresel boncuklar farmakoloji ve gıda ürünlerinde ürünlerin estetik kalitesini de arttıran bir durumdur. Ayrıca mükemmel küresellikteki mikroboncuklar kontrollü salınımın gerçekleştirilmesi açısından arzu edilen bir özelliktir (Lee ve diğ, 2013). Dondurarak kurutma işleminden sonra ise dondurarak kurutma prosesinin boncukların büzülmesine neden olmasıyla mikroboncukların yüzeylerinde buruşma oluşmuş ve daha az küresel yapı SEM görüntülerinden saptanmıştır. Ayrıca elde edilen mikroboncukların yüzey morfolojilerinin dondurarak kurutma prosesine bağlı olarak A", B", C", D" yapılarında görüldüğü gibi süngerimsi (gözenekli) bir yapıda olduğu tespit edilmiştir. Dondurarak kurutma prosesine bağlı olarak yüzey morfolojilerinde çok sayıda oyukların oluştuğu görülmüştür. Benzer sonuç Arriola ve diğ. (2016) tarafından da saptanmıştır. Bu durumun dondurarak kurutma prosesinde yapıdaki suyun önce buz kristalleri halinde donması ardından süblimasyonla hızlıca yapıdan uzaklaşmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Seregelj ve diğ, 2020; Yan ve diğ, 2014). Stojanovic ve diğ. (2012), kekik sulu ekstraktını elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile sodyum aljinat kullanarak enkapsüle etmişler ve kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncuklar elde etmişlerdir. Elde edilen mikroboncukların SEM görüntülerinin çalışmamızdaki SEM görüntüleri ile benzer olduğu görülmüştür. Çalışmamızda sodyum aljinat konsantrasyonundaki artış ile elde edilen mikroboncukların küresel yapıları ve genel görüntüleri üzerinde farklılık saptanmadığı görülmüştür. Ancak yüzey morfolojileri incelendiğinde %4.5 sodyum aljinat kullanılarak elde edilen mikroboncukların yüzey yapılarının (C" ve D" görüntüleri için) daha sıkı ve daha az gözenekli olduğu görülmüştür. Sodyum aljinat konsantrasyonu, CaCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ve jelasyon süresinin artması sodyum aljinat ve Ca<sup>2+</sup> interreaksiyonunun artmasına neden olmuş ve bu durum da daha kalın bir membran ile çevrili daha sıkı ağ yapısının oluşturmuştur (Gholamian ve diğ, 2021; Najafari-Soulari ve diğ, 2016; Yadava ve diğ, 2014). Dolayısıyla bu durumun %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonlarında elde edilen mikroboncukların yüzey

morfolojilerinin %3.5'a nispeten daha sıkı ve az gözenekli olmasını sağladığı düşünülmüştür.

Cujic ve diğ. (2016b), kuş kirazı (*Aronia melanocarpa*) ekstraktını elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikroboncuk yapılarının küresel, uniform formda olduğunu ve yapıda parçalanmaların olmadığını belirtmişlerdir. Mikroboncukların hem optik mikroskop görüntüleri hem de SEM görüntüleri ve yüzey morfolojik yapılarının çalışmamızdaki görüntülerle oldukça benzer olduğu görülmüştür. Arriola ve diğ. (2016), *Stevia rebaudiana* Bertoni yapraklarının sulu ekstraktını elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile sodyum aljinat kullanarak enkapsüle etmiş ve hidrojel mikroboncuklar elde etmişlerdir. Elde ettikleri yaş mikroboncukların oldukça küresel, yüzey morfolojilerinin pürüzsüz ve homojen boyut dağılımına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Liyofilizasyon sonucu elde edilen mikroboncuklarda büzüşmeye bağlı olarak yüzey yapılarında çıkıntılarının olduğu ve yüzey morfolojilerinin süngerimsi yapıda gözenekli olduğunu belirtmişlerdir. Benzer SEM görüntüleri Deladino ve diğ. (2008), Fontes ve diğ. (2013), Pagues ve diğ. (2013) tarafından da saptanmıştır. Dolayısıyla çalışmamızdaki elde ettiğimiz bulguların literatür bilgisiyle uyumlu olduğu saptanmıştır.

#### 4.2.6 Partikül boyut dağılımı

Yeşil çay ekstraktı elektrostatik ekstrüzyon tekniği kullanılarak farklı konsantrasyonlarda sodyum aljinat (%3.5 ve %4.5) kullanılarak farklı jelasyon süreleri uygulanarak (30 dk ve 60 dk) hidrojel yapıda mikroboncuk oluşturularak enkapsüle edilmiştir. Bu teknik ile elde edilen liyofilize mikroboncukların partikül boyutlarına ait bulgular Çizelge 4.19 ve Şekil 4.22'de verilmiştir. Çizelgede yer alan span değeri partikül boyut dağılımının homojenliğini göstermektedir. Span değeri partikül boyut ölçümünde kullanılan Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., UK) cihazının yazılımı tarafından eşitlik 4.2 kullanılarak hesaplanmıştır. Aynı örnek için cihazda 3 ölçüm alınmıştır ve bunların ortalama değerleri Çizelge 4.19'da gösterilmiştir. Bu yüzden standart sapma değerleri çizelgede bulunmamaktadır.

$$\text{Span} = \frac{d(0.9) - d(0.1)}{d(0.5)} \quad (4.2)$$

Çizelgedeki ve denklemdeki d (0.1), d (0.5), d (0.9) değerleri partiküllerin sırasıyla %10, %50, %90'ının çizelgede verilen boyutlardan küçük olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.19 :** Elektrostik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen hidrojel mikrobuncukların partikül boyutları.

Örnek kodu*	Spesifik yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	Yüzey ağırlıklı ortalama D[3,2] (µm)	Hacim ağırlıklı ortalama D[4,3] (µm)	d (0.1) (µm)	d (0.5) (µm)	d (0.9) (µm)	Span
N3.5-30	0.01	339.61	362.90	251.32	350.97	490.88	0.68
N3.5-60	0.01	367.28	396.73	265.31	382.14	548.83	0.74
N4.5-30	0.01	309.03	398.26	276.37	398.37	542.99	0.67
N4.5-60	0.01	313.35	406.13	284.33	405.87	552.35	0.66

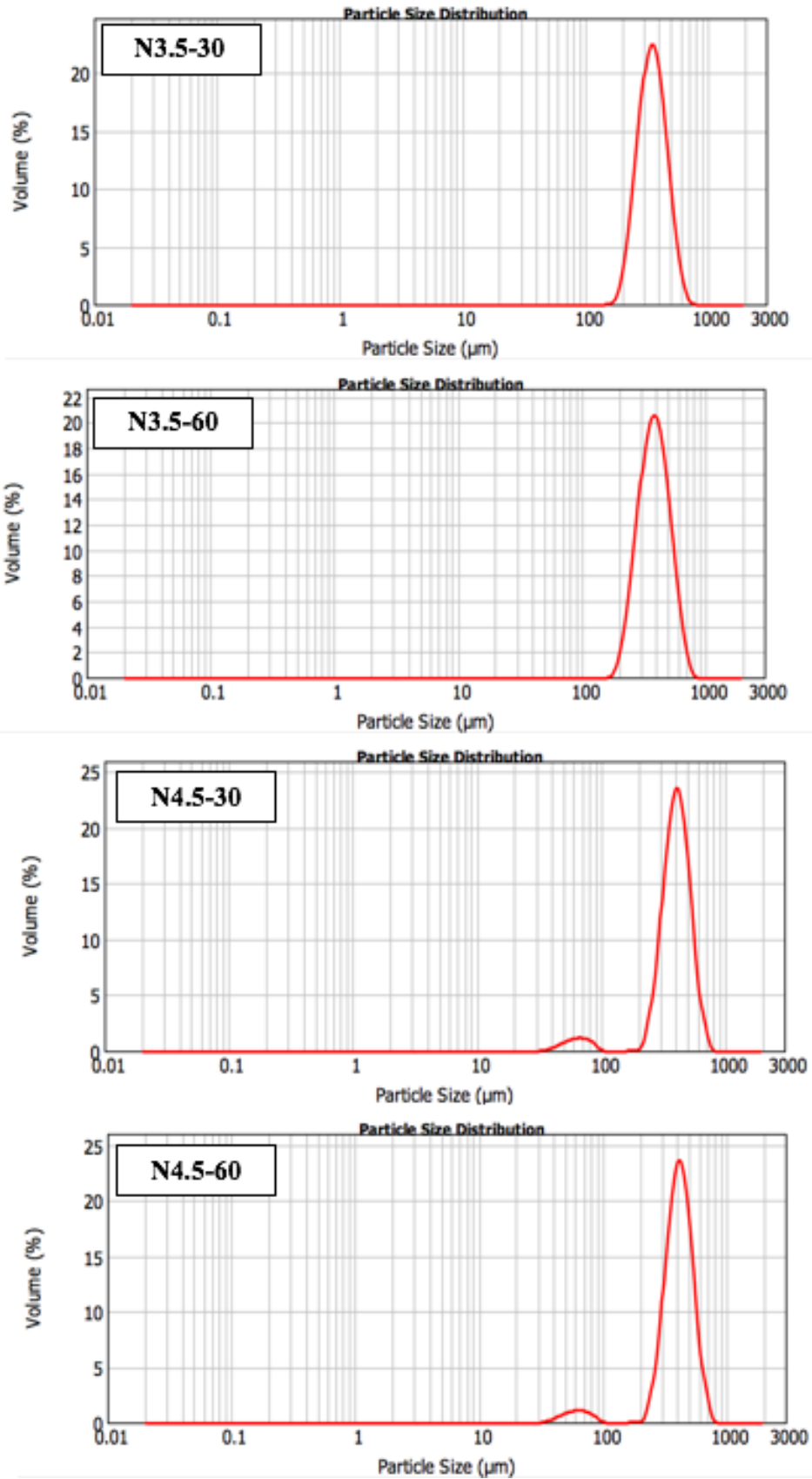
\* N3.5-30: %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncuklar; N3.5-60: %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncuklar; N4.5-30; %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon elde edilen mikrobuncuklar; N4.5-60: %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 60 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncuklar.

Çalışmamızda elektrostik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen liyofilize mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 362.90-406.13 µm arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak %3.5 sodyum aljinat kullanıldığında elde edilen mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 362.90-396.73 µm arasında olduğu saptanmıştır. %4.5 sodyum aljinat kullanılması durumunda ise bu değer 398.26-406.13 µm arasında olduğu görülmüştür. Kaplama materyali olarak %3.5 sodyum aljinat kullanılarak elde edilen mikrobuncukların 30 dk jelasyonu ile elde edilen liyofilize mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çapları 362.90 µm iken sodyum aljinat konsantrasyonu %4.5'e çıkarıldığında hacim ağırlıklı ortalama çapının 398.26 µm çıktığı görülmüştür. Kaplama materyali olarak %3.5 sodyum aljinat kullanılarak elde edilen mikrobuncukların 60 dk jelasyonu ile elde edilen liyofilize mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çapları 396.73 µm iken sodyum aljinat konsantrasyonu %4.5'e çıkarıldığında elde edilen mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 406.13 µm'ye yükseldiği görülmüştür. Dolayısıyla kaplama materyali konsantrasyonunun %3.5'dan %4.5'e artmasının elde edilen mikrobuncukların ortalama çaplarını arttırdığı saptanmıştır. Huang ve diğ. (2011), sodyum aljinat konsantrasyonunun %1'den %5'e artmasıyla ve vizkozitesinin de artışıyla elde edilen hidrojel boncukların çaplarının arttığını belirtmişlerdir. Kaur ve diğ. (2018), sodyum aljinat konsantrasyonunun %1'den %3'e çıkarılmasıyla elde edilen boncukların çaplarının arttığını belirtmişlerdir. Celli ve diğ. (2016), yüksek konsantrasyonlarda aljinat kullanılarak elde edilen mikrobuncukların çaplarının da daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Lotfipour ve diğ. (2012), sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışın elde edilen boncukların çaplarında artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulguların çalışmamızda elde ettiğimiz bulguyla uyumlu olduğu görülmüştür. Literatürde elektrostik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen

polimer mikrobuncukların (mikrokürelerin) boyutlarının çeşitli işlem parametrelerine (iğne ucu boyutu, iğne ucu yüksekliği, uygulanan voltaj, akış hızı gibi), yöntemin etkilerine, polimerin özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir (Bamidele ve Emmambux, 2021; Bugarski ve diğ., 2005). Bu teknik ile elde edilen polimer küresel mikrobuncuk yapılarının boyutlarının birçok proses parametrelerinin ve ayrıca polimer solüsyonunun özelliklerinin kompleks fonksiyonu (Balanc ve diğ., 2016; Kostic ve diğ., 2012) şeklinde olduğu belirtilmiştir. Bunlar arasında ortalama çapı yüzey gerilimi direkt olarak etkilerken (Poncelet ve diğ., 1999) vizkozite de elektriksel alan altında oluşan polimer damlacıklarının şeklini dolaylı yoldan da çaplarını da etkilediği (Balanc ve diğ., 2016) belirtilmiştir. Aljinat solüsyonunun vizkozitesinin ise aljinat konsantrasyonuna, molekülün uzunluğuna yani zincirde tekrar eden blokların sayısına bağlı olduğu bilinmektedir (Kong ve diğ., 2002). Dolayısıyla çalışmamızda aljinat konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enjeksiyon çözeltisinin vizkozitesi artmıştır. Yüksek vizokitede akıcılığın daha düşük olmasından dolayı oluşan damlacıkların iğne ucundan kopma zamanı artmıştır. Bu durum da daha geniş damlacıklar oluşturmuş, dolayısıyla hidrojel buncukların daha büyük çaplarda oluşmasına neden olmuş olabilir (Celli ve diğ., 2016; Das ve diğ., 2007; Huang ve diğ., 2011; Soni ve diğ., 2010; Zhang ve diğ., 2016). Hidrojel mikrobuncuklara ait partikül boyut dağılım grafikleri ise Şekil 4.22’de gösterilmiştir. Buna göre %4.5 sodyum aljinat konsantrasyonlarında elde edilen mikrobuncukların span değerlerinin daha düşük olduğu dolayısıyla mikrobuncukların partikül boyut dağılımının daha homojen olduğu görülmüştür. %3.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon sonucu elde edilen mikrobuncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 362.90 µm iken 60 dk jelasyonu sonucu elde edilen mikrobuncuklarda ise ortalama çapların 396.73 µm olduğu görülmüştür. %4.5 sodyum aljinat kullanılarak 30 dk jelasyon ile elde edilen mikrobuncukların ortalama çapları 398.26 µm iken 60 dk jelasyon sonucu elde edilen mikrobuncuklarda ortalama çapların 406.13 µm olduğu saptanmıştır. Jelasyon süresinin her iki konsantrasyonda da çap üzerinde etkili bir işlem parametresi olduğu tespit edilmiştir. Jelasyon süresi arttıkça mikrobuncukların ortalama çaplarının arttığı tespit edilmiştir. Jelasyon sodyum aljinat polimerinin G blokları ile iki değerlikli ( $Ca^{+2}$ ) iyonlar arasında iyonik bağların yer değiştirmesinden üç boyutlu yapının oluşmasıyla gerçekleşir. Jelasyon sodyum aljinat polimeri yapısındaki guluronik asitten sodyum iyonlarının iki değerlikli iyonlarla ( $Ca^{+2}$ ) yer değiştirmesi ile gerçekleşir. İki değerlikli iyonlar üç boyutlu yapıyı çapraz bağlar ile stabilize eder (Kaur ve diğ., 2018; Sathali ve Varun 2012). Jelasyon solüsyonunda ( $CaCl_2$  çözeltisi) mikrobuncukların bekleme süresi aljinat polimeri ile

arasında gerçekleşen iç ağ örgüsü yapısının oluşumunu etkiler (Celli ve diğ, 2015). Dolayısıyla jelasyon süresinin artması daha fazla substratın kalsiyum iyonları ile bağ yapmasını sağlayacaktır (Kaur ve diğ, 2018). Jel oluşumunda  $Ca^{+2}$  iyonlarının varlığı iyonlar ile aljinat interreaksiyon süresinin artmasına bağlı olarak matriks yapı oluşumu artmış, dolayısıyla bu durumun da elde edilen mikroboncukların çaplarındaki artışa neden olduğu düşünülmüştür. Ayrıca literatürde bu durumun elde edilen mikroboncukların mekanik dirençlerini de etkilediği bildirilmiştir (Kaur ve diğ, 2018).

Stojanovic ve diğ. (2012), kekik sulu ekstraktını elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile sodyum aljinat kullanarak enkapsüle etmişler ve hidrojel mikroboncuklar elde etmişlerdir. Elde ettikleri mikroboncukları farklı şekillerde kurutmuşlardır. Elde edilen yaş hidrojel mikroboncukların  $727\pm 16$   $\mu m$  olduğunu, liyofilize mikroboncukların ise  $443\pm 32$   $\mu m$  olduğunu belirtmişlerdir. Balanc ve diğ. (2016), Cargueja (*Pterospartum tridentatum*) sulu ekstraktını sodyum aljinat ve sodyum aljinat-inülün kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle ederek kalsiyum aljinat, kalsiyum aljinat-inülün mikroboncukları elde etmişlerdir. Elde ettikleri mikroboncukların ortalama çaplarının inülün konsantrasyonuna bağlı olarak 625-830  $\mu m$  arasında olduğunu belirtmişlerdir. Levic ve diğ. (2015), D-Limonen'i farklı konsantrasyonlarda sodyum aljinat kullanarak farklı proses koşullarında elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri kuru mikroboncukların çaplarının 331-1287  $\mu m$  arasında olduğunu saptamışlardır. Belscak-Cvitanovic ve diğ. (2011), tıbbi bitki ekstraktlarını elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikroboncukların ortalama çaplarının 780-1785  $\mu m$  olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen liyofilize mikroboncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 362.90-406.13  $\mu m$  arasında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki bu bulguların literatürdeki bulgular ile benzer olduğu ancak daha düşük olduğu görülmüştür. Elektrostatik ekstrüzyon geleneksel enjeksiyon metoduna kıyasla daha küçük boncuk oluşumunu sağlar. Proses uygulanan mevcut şartların (iğne ucu, uygulanan voltaj, kaplama mddesi konsantrasyonu, yükleme oranı gibi) değiştirilmesi ile kontrol edilebilir (Bamidele ve diğ, 2021). Dolayısıyla çalışmamızda uygulanan proses şartları ile (uygulanan voltaj, iğne ucu yüksekliği, iğne ucu boyutu) 362.90-406.13  $\mu m$  boyutu gibi literatüre kıyasla daha düşük çapta mikroboncuklar elde edilmiştir. Ayrıca görülen farklılığın kaplama materyali konsantrasyonu ve çeşidi, jelasyon çözeltisi ve konsantrasyonu, söz konusu uygulanan proses şartlarına bağlı olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.22 : Hidrojel mikroboncuklara ait partikül boyut dağılım grafikleri.

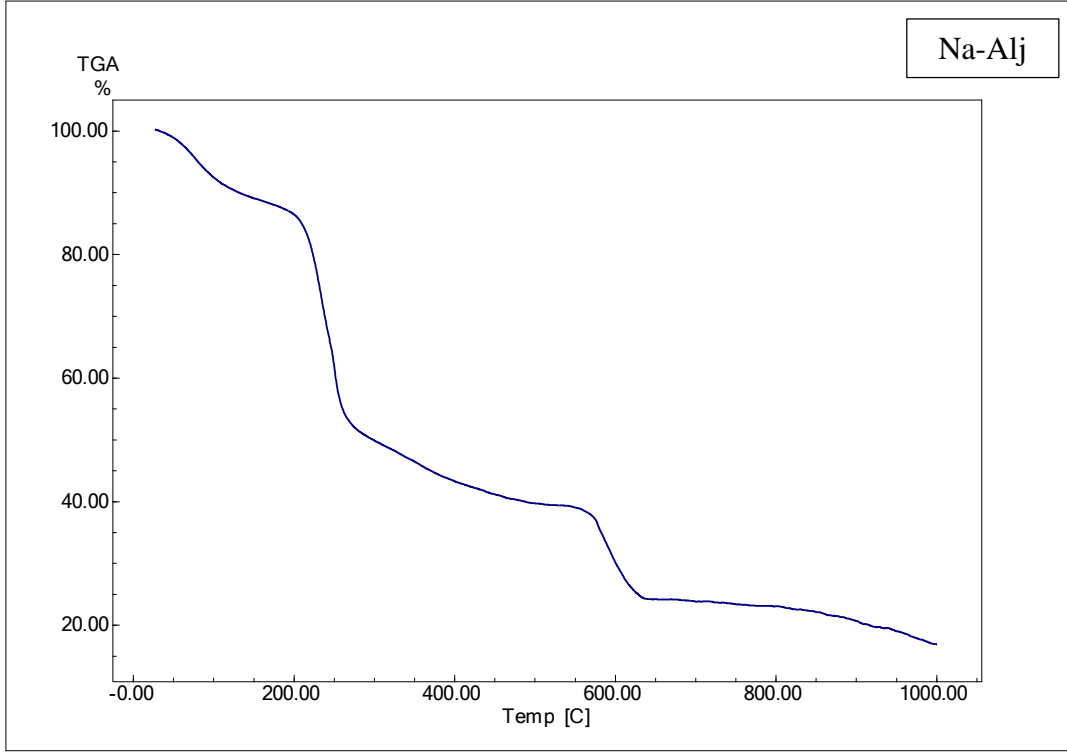
#### 4.2.7 Termogravimetrik analiz (TGA)

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği kullanılarak elde edilen en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip yeşil çay ekstaktı içeren kalsiyum aljinat mikroboncuğun (N4.5-60), enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyalinin ve aktif maddenin (dondurarak kurutulmuş yeşil çay ekstraktının) termal stabiliteleri termogravimetrik analiz gerçekleştirilerek saptanmıştır. TGA sonucunda elde edilen termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları Çizelge 4.20’de, termal karakteristik eğrileri ise Şekil 4.23-4.25’deki gibidir.

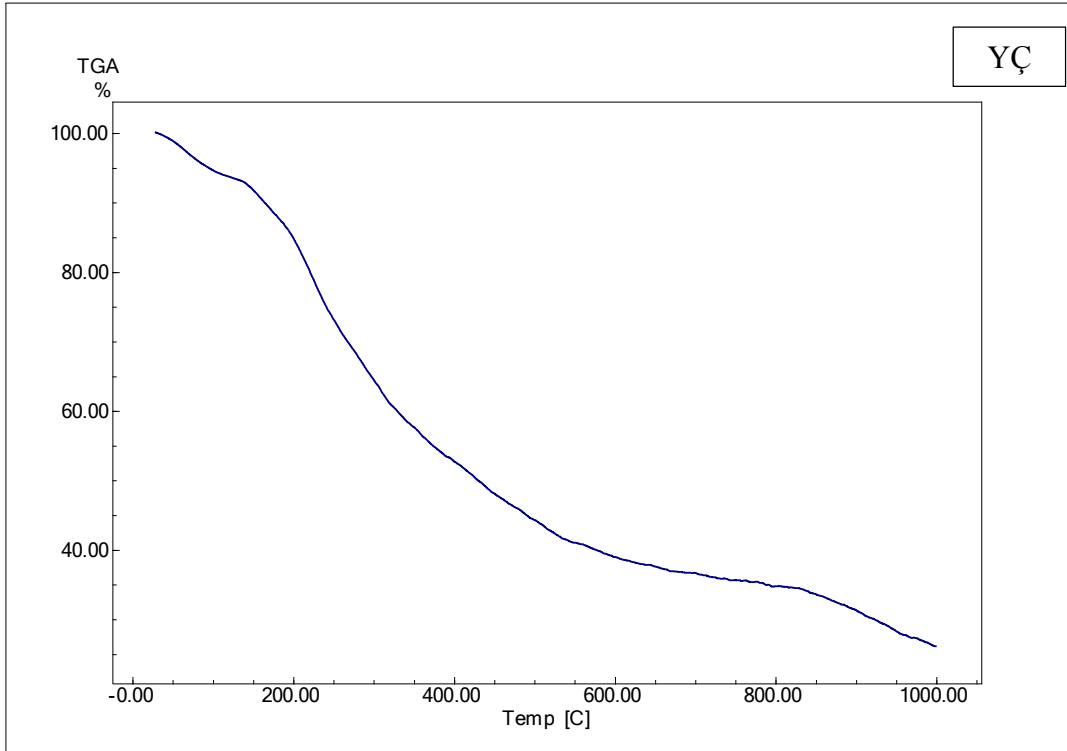
**Çizelge 4.20 :** TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.

Örnek Kodu*	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	M <sub>loss</sub> (%)
<b>1. Basamak</b>			
Na-Alj.	58.15	100.63	8.381
YÇ	52.66	93.06	6.135
N4.5-60	67.30	85.10	14.133
<b>2. Basamak</b>			
Na-Alj.	220.53	257.45	36.392
YÇ	192.48	359.78	51.732
N4.5-60	200.51	227.90	12.484
<b>3. Basamak</b>			
Na-Alj.	577.06	618.34	15.215
YÇ	626.69	846.85	13.966
N4.5-60	293.74	311.09	15.479
<b>4. Basamak</b>			
Na-Alj.	-	-	-
YÇ	-	-	-
N4.5-60	351.39	457.41	19.449
<b>5. Basamak</b>			
Na-Alj.	-	-	-
YÇ	-	-	-
N4.5-60	873.49	961.71	12.777

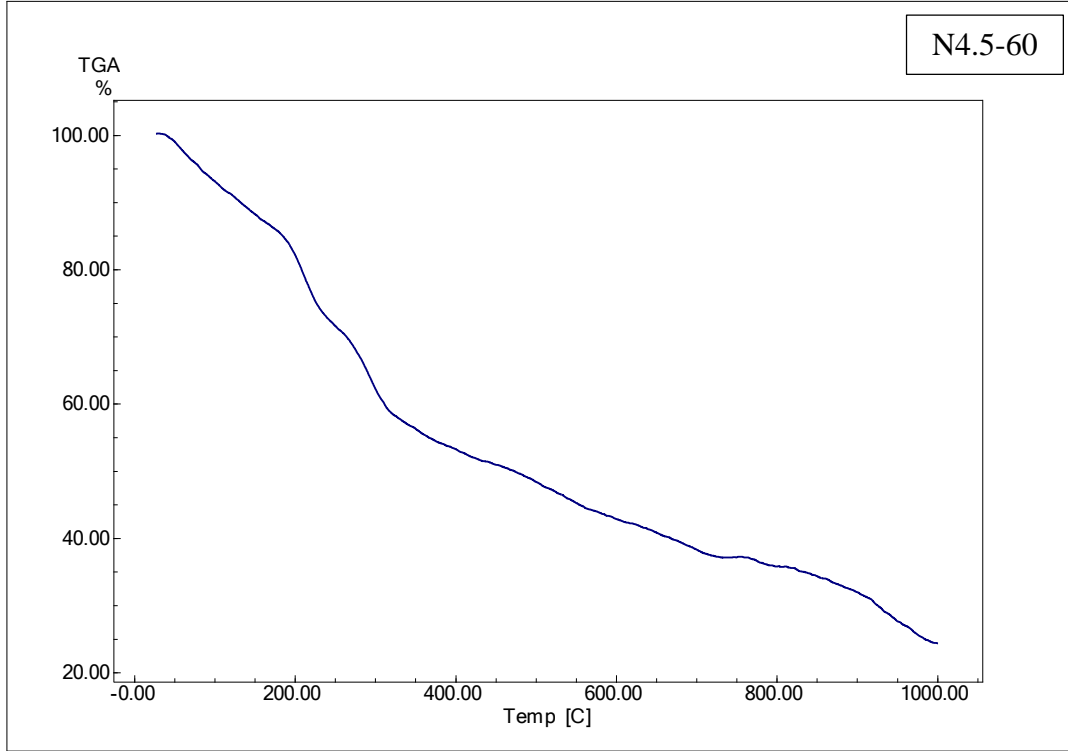
\*Na-Alj: Sodyum aljinat; YÇ: Yeşil çay; N4.5-60: %4.5 sodyum aljinat-60 dk jelasyon ile oluşan hidrojel.



Şekil 4.23 : Sodyum aljinata ait TGA eğrisi.



Şekil 4.24 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.



**Şekil 4.25 :** Hidrojel mikroboncuğa ait TGA eğrisi.

Kaplama materyali olarak kullanılan sodyum aljinatın (Na-alj) uygulanan sıcaklık karşısında Çizelde 4.20’de görülen üç aşamalı termal dekompozisyonu saptanmıştır. Birinci aşamada %8.381 oranda kütle kaybı 58.15-100.63 °C arasında gerçekleşmiştir. Polisakkaritlerin termal degradasyonu genellikle 3 ayrı fazda gerçekleşir: (1) fiziksel olarak absorbe olan suyun desorpsiyonu, yapısal suyun ayrılması (dehidrasyon reaksiyonları); (2) C-C, C-O bağlarının kırılması CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O oluşması ile sonuçlanan depolimerizasyonun gerçekleşmesi; (3) polinükleer aromatik ve grafitik karbon yapılarının oluşması (Parikh ve Madamwar, 2006; Zamora ve diğ, 2002). Dolayısıyla birinci aşamadaki söz konusu kütle kaybının sodyum aljinatın su içeriğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Yeşil çayda ise birinci aşamadaki kütle kaybı %6.135 olup 52.66-93.06 °C arasında daha düşük sıcaklıkta ve daha yüksek oranda kütle kaybı başlamıştır. Yeşil çayda birinci aşamada görülen bu kütle kaybının dondurarak kurutulmuş yeşil çay ekstraktı içerisindeki nemden kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yeşil çay fenolik bileşenlerinin 80 °C üzerindeki sıcaklıklarda epimerizasyona uğradığı bilinmektedir (Vuong ve diğ, 2010). Söz konusu kütle kaybının bu durum ile ilişkili olabileceği de düşünülmüştür. Sodyum aljinat ile enkapsüle edilmiş hidrojel yapıdaki yeşil çay ekstraktı yüklü kalsiyum aljinat mikroboncuğunda (N4.5-60 kodlu örnekte) ise termal dekompozisyon beş basamakta ve aşama aşama daha düşük miktarlarda kütle kaybının gerçekleştiği görülmüştür. Birinci aşamadaki termal

dekompozisyon 67.30-85.10 °C arasında %14.133 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Birinci aşamadaki kütle kaybının genellikle yapıdaki suyun evaporasyonundan veya uçucu bileşenlerden kaynaklı olduğu bilinmektedir (Akyüz ve diğ, 2017; Comunian ve diğ, 2011; Gomes da Costa ve diğ, 2015). Enkapsüle örneğin birinci aşamadaki termal dekompozisyon sıcaklığının (67.30 °C) enkapsüle olmayan yeşil çay örneğine (52.66 °C) kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca daha dar bir sıcaklık aralığında gerçekleştiğini söylemek mümkündür. Dolayısıyla yeşil çay ekstraktının kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncukları içerisine enkapsülasyonu birinci aşamadaki termal bozunma sıcaklığını yükselttiği ve yeşil çay ekstraktının termal stabilitesini arttırdığı düşünülmüştür.

Sodyum aljinat için ikinci aşamadaki termal dekompozisyon 220.53-257.45 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybı %36.392 olarak saptanmıştır. Söz konusu kaybın C-C, C-O bağlarının kırılması CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O oluşması ile sonuçlanan depolimerizasyondan kaynaklandığı düşünülmüştür. Yeşil çay ekstraktında ise ikinci aşamadaki termal degradasyon 192.48-359.78 °C arasında gerçekleşmiştir. Sodyum aljinat ile enkapsüle edilmiş hidrojel yapıdaki yeşil çay ekstraktı yüklü kalsiyum aljinat mikroboncuğunda (N4.5-60 kodlu örnekte) ise ikinci aşamadaki termal degradasyonu 200.51-227.90 °C arasında %12.484 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Yeşil çay ekstraktının mikroenkapsülasyonu ile ikinci aşamadaki termal degradasyonun yeşil çay ekstraktına nispeten daha yüksek bir sıcaklıkta (200.51 °C) ve dar bir sıcaklık aralığında gerçekleştiği görülmüştür. Ayrıca bu aşamadaki kütle kaybı (%12.484) enkapsüle olmayan örneğe kıyasla (%51.732) çok daha düşük olduğu görülmüştür. Elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyonda kaplama materyali olarak kullanılan sodyum aljinat ile çapraz bağlayıcı solüsyon (CaCl<sub>2</sub>) arasında gerçekleşen iyon değişimi reaksiyonu sonucu kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncuk yapıları oluşmaktadır. Oluşan bu yapının termal dekompozisyonunun daha yüksek sıcaklıkta başladığı ve birçok aşamada gerçekleştiği saptanmıştır. Bu durum ise bize enkapsülasyon işleminin ikinci aşamadaki termal degradasyon sıcaklığını da arttırdığını dolayısıyla enkapsüle maddenin termal stabilitesini arttırdığını göstermiştir. Enkapsüle örneğin (N4.5-60) bu aşamadaki kütle kaybı ise %12.484 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamadaki kütle kaybının çoğunlukla kaplama materyalinin yapısındaki C-C, C-O bağlarının kırılması CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O oluşması ile sonuçlanan depolimerizasyonun gerçekleşmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ancak bu sıcaklıkta gerçekleşen depolimerizasyonun daha düşük kütle kaybı tespit edilmesinden dolayı sodyum aljinata kıyasla daha az gerçekleştiği düşünülmüştür. Bu durum ise oluşan yeni kalsiyum aljinat yapısının termal davranışının

farklı olması ile ilişkilendirilmiştir. Pasukamonset ve diğ. (2016), Mavi kelebek sarmaşığı (*Clitoria ternatea*) çiçeğinden elde edilen polifenolik ekstraktları duvar materyali olarak sodyum aljinatı kullanarak ekstrüzyon tekniğı ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen ekstrakt yüklü mikrobuncukların termal degradasyonlarının 188 °C’de gerçekleşmeye başladığını ekstraktta ise bu sıcaklığın 114.2 °C olduğunu dolayısıyla elektrostatik ekstrüzyon tekniğı ile enkapsülasyonun termal stabiliteyi arttırabildiğini (188 °C) belirtmişlerdir. Literatürdeki bu bilginin çalışmamızda bulduğumuz sonuç ile uyumlu olduğu görülmüştür. Termal degradasyon sıcaklık derecesinin (188 °C) çalışmamızda saptadığımız sıcaklık ile (200.51 °C) yakın olduğu görülmüştür. Farklılığın ise kullanılan duvar materyali konsantrasyonu ve etken madde çeşidindeki farklılıklardan kaynaklanabileceğı düşünölmüştür.

Sodyum aljinatın üçüncü aşamadaki termal dekompozisyonu 577.06-618.34 °C arasında ve %15.215 kütle kaybı ile saptanmıştır. Üçüncü aşamadaki kütle kaybının sodyum aljinat yapısında gerçekleşen polinökleer aromatik ve grafitik karbon yapılarının oluşması (Parikh ve Madamwar, 2006; Zamora ve diğ, 2002) ile ilişkilendirmek mümkündür. Enkapsüle hidrojel mikrobunuğa ait üçüncü aşamadaki termal dekompozisyon 293.74-311.09 °C arasında %15.479 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Enkapsülasyon aşamasında oluşan yeni kalsiyum aljinat hidrojel mikrobuncuk yapısının termal dekompozisyon basamaklarını arttırdığı görülmüştür. Üçüncü basamağı kadar uygulanan ısıl işlem karşısında kaybolan kütle miktarı enkapsüle olmayan örnekte yaklaşık %71.833 düzeyinde iken enkapsüle örnekte ise üçüncü aşamaya kadar olan kütle kaybı yaklaşık %42.046 düzeyindedir.

Oluşan yeni kalsiyum aljinat hidrojel mikrobuncuk yapısının termal dekompozisyonu dördüncü aşama olan 351.39-457.41 °C arasında %19.449 kütle kaybı ile devam etmiştir. Bu sıcaklık aralığının enkapsüle örnekteki en yüksek kütle kaybının görüldüğü sıcaklık aralığı olduğu saptanmıştır. Depolimerizasyonun bu aşamada devam ettiğı düşünölmüştür. Termal davranıştaki bu farklılığın enkapsülasyonda oluşan yeni kalsiyum aljinatın yapısının termal stabilitesindeki farklılık ile ilişkili olduğu düşünölmüştür. 351.39-457.41 °C’nin birçok gıda prosesi için çok yüksek bir sıcaklıktır. Elde edilen mikropartiküllerin termal stabilitesi partiküllerin gıda ürünlerine eklenmesi durumunda önemli rol oynar (Castro-Lopez ve diğ, 2021). Gıda işleme ve hazırlama proseslerinde uygulanan sıcaklığın genellikle maksimum 250 °C’ye kadar olduğu (Balanc ve diğ, 2016) göz önüne alındığında yeşil çay ekstraktı içeren enkapsüle hidrojel mikrobunuğun termal dekompozisyonun 200.51-227.90

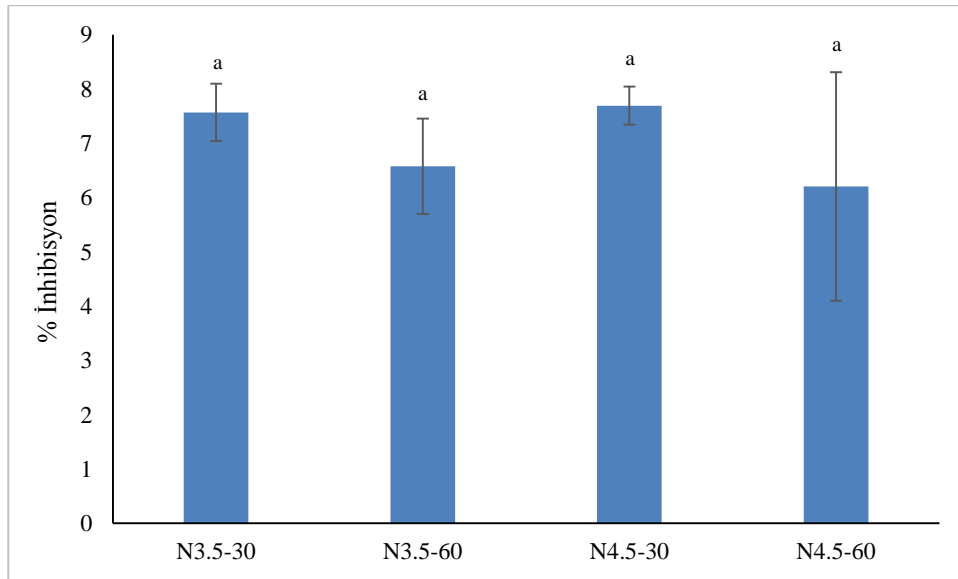
°C’de %12.484 kütle kaybı, 293.74-311.09 °C’de %15.479 kütle kaybı ve en yüksek kütle kaybının 351.39-457.41 °C’de %19.449 oranda gerçekleştiğinin tespit edilmesiyle söz konusu enkapsüle hidrojel mikroböncüğün birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşıcağı sıcaklık uygulamalarında oldukça stabil olduğunu söylemek mümkündür. Dolayısıyla bu durum enkapsüle örneğın fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olmuştur. Enkapsüle hidrojel mikroböncük yapısında beşinci aşamadaki termal dekompozisyon 873.49-961.71 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamanın ise enkapsüle örnek için polinükleer aromatik ve grafitik karbon yapılarının oluştuğı (Parikh ve Madamwar, 2006; Zamora ve diğ., 2002) aşama olduğu düşünölmüştür.

Balanc ve diğ. (2016), Cargueja ekstraktını kalsiyum-aljinat-inülin mikroböncükleri şeklinde elektrostatik ekstrüzyon tekniğı ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri aljinat mikroböncüklerinin 150 °C’ye kadar daha stabil olduklarını, kalsiyum-aljinat-inülin mikroböncüklerinin ise inülin konsantrasyonuna bağılı olarak 180 ve 200 °C’ye kadar daha az kütle kaybı ile stabil olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulunan sonuçların bu sonuç ile benzer olduğu görölmüştür. Çalışmamızda ikinci aşamadaki termal dekompozisyon 200 °C’den itibaren başlamıştır. Bu farklılığın kaplama materyali olarak kullanılan sodyum aljinat konsantrasyonundaki farklılıktan ve ayrıca etken maddenin sıcaklık karşısındaki termal davranışındaki farklılıktan kaynaklı olduğu düşünölmüştür. Ayrıca kaplama materyali olarak aljinat yanısıra kullanılan inülinin termal stabilite sağladığını da belirtmişlerdir. Söz konusu farklılığın bir diğeri sebebinin de kaplama materyali çeşidi olduğu düşünölmüştür. Stojanovic ve diğ. (2012), kekik sulu ekstraktını sodyum aljinat kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniğı ile hidrojel mikroböncükler oluşturarak enkapsüle etmişlerdir. İlk kütle kaybının 50-150 °C arasında gerçekleşerek polimer yapısındaki dehidrasyondan kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. İkinci aşamadaki kütle kaybının 220 °C’de başladığını belirtmişlerdir. Bu aşamada kekik ekstraktındaki bileşenlerin salınımından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Genellikle kekikteki major fenoliklerin 200 °C üzerinde erime noktasına sahip olduğunu belirtmişlerdir. 225-300 °C arasındaki kütle kaybının ise kalsiyum aljinat degradasyonundan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Kalsiyum-aljinat-inülin mikroböncüklerinde ise termal degradasyonun maksimum sıcaklığının 285 °C civarında olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun yapıdaki inülinde kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Kekik sulu ekstraktını içeren liyofilize hidrojel kalsiyum aljinat mikroböncüklerinin 230 °C’ye kadar kütle kaybının yaklaşık %80’inin korunduğı, %20 kütle kaybının olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonucun çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla

benzerlik gösterdiği görülmüştür. Manajlovic ve diğ. (2008), etil vanilini sodyum aljinat kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile aljinat hidrojel mikrobuncukları oluşturarak enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrobuncukların termal stabiliteleri için gerçekleştirdikleri TGA analizi sonucunda; ilk kütle kaybının 50-150 °C arasında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bu kaybın polimer yapısındaki dehidrasyondan kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. İkinci kütle kaybının 220-325 °C arasında vanilinin salınımından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Bu salınımın birçok aşamada ve çok geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleşmesi vanilinin polimer yapısı içinde enkapsüle olduğunu (yüzeye fiziksel olarak adsorbe olmadığını) desteklediğini belirtmişlerdir. 230 °C'ye kadar termal dekompozisyonun yaklaşık %20 kütle kaybı ile olduğunu belirtmişlerdir. Literatürdeki bu bulguların çalışmamızdaki bulgularla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda 227 °C'ye kadar olan termal dekompozisyonda yaklaşık %26 kütle kaybının olduğu görülmüştür. Küçük farklılıkların kullanılan kaplama materyali konsantrasyonu, enkapsüle edilen etken maddenin bileşiminin termal davranışı, proses şartları ve jelasyon süresi ile alakalı olabileceği düşünülmüştür.

#### 4.2.8 Antioksidan aktivite

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile farklı konsantrasyonlarında (%3.5 ve %4.5) sodyum aljinat kullanılarak ve farklı jelasyon sürelerinde (30 ve 60 dk) elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikrobuncukların antioksidan aktiviteleri Şekil 4.26'daki gibidir.



Şekil 4.26 : Enkapsüle mikrobuncukların antioksidan aktiviteleri.

Elde edilen hidrojel mikrobuncukların % inhibisyon değerlerinin %6.20-%7.69 arasında olduğu saptanmıştır. En yüksek % inhibisyon değeri yani en yüksek antioksidan aktivite 30 dk'lık jelasyon işlemi sonucu elde edilen hidrojel mikrobuncuklarda saptanmıştır (N4.5-30 ve N3.5-30). En düşük antioksidan aktivite ise 60 dk'lık jelasyon işlemi sonucu elde edilen hidrojel mikrobuncuklarda saptanmıştır (N3.5-60 ve N4.5-60). Jelasyon süresi arttıkça hidrojel mikrobuncukların antioksidan aktivite değerlerinde bir azalış görülmüştür. Ancak bu azalış istatistiki olarak önemli görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Fenolik bileşenler hidrofilik bileşenlerdir jelasyon işlemi esnasında ve depolama esnasında difüzyon aracılığıyla kayba uğrayabilirler (Abdin ve diğ, 2021). Dolayısıyla jelasyon işlem süresi arttıkça söz konusu kayıplardan dolayı antioksidan aktivitenin düşük çıktığı düşünülmüştür. Sodyum aljinat konsantrasyondaki artışın da antioksidan aktivite üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Balanc ve diğ. (2016), Cargujea ekstraktını aljinat-inülün kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Kaplama materyali içerisinde yer alan inülün konsantrasyonundaki artışın (%10'dan %20'ye) antioksidan aktivite üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığını belirtmişlerdir. İsaïilovic ve diğ. (2012), *Pterospartum tridentatum* ekstraktını sodyum aljinat-inülün kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrobuncukların DPPH(%) inhibisyonunun inulin konsantrasyonuna bağlı olarak %33.6-40.7 arasında bulmuşlardır. Mota ve diğ. (2017), iyonik jelasyon metoduyla zeytinyağı yüklü hidrojel mikrobuncuklar elde etmişlerdir. Hidrojel mikrobuncukların antioksidan aktivitelerini (%) %24.34-45.83 arasında tespit etmişlerdir. Balanc ve diğ. (2016), Cargujea ekstraktını aljinat-inülün kullanarak elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. Antioksidan aktivite değerlerini %30-40 arasında saptamışlardır. Jain ve diğ. (2020) Likopeni hidrojel mikrobuncuklar şeklinde enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikrobuncukların DPPH(%) inhibisyonunun farklı depolama sıcaklıklarına ve sürelerine bağlı olarak %13.04-7.43 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz antioksidan aktivite sonuçlarındaki farklılığın kullanılan kaplama materyali çeşidi ve konsantrasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Çünkü enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyali aktif maddenin enkapsülasyonunda önemli rol oynayan bir parametredir. Ayrıca enkapsüle edilen aktif maddenin antioksidan aktivitesindeki farklılık da enkapsülasyon sonucunda elde edilen mikrobuncukların antioksidan aktivitelerinin farklı olmasına neden olduğu düşünülmüştür.

#### 4.2.8.1 Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonuçları

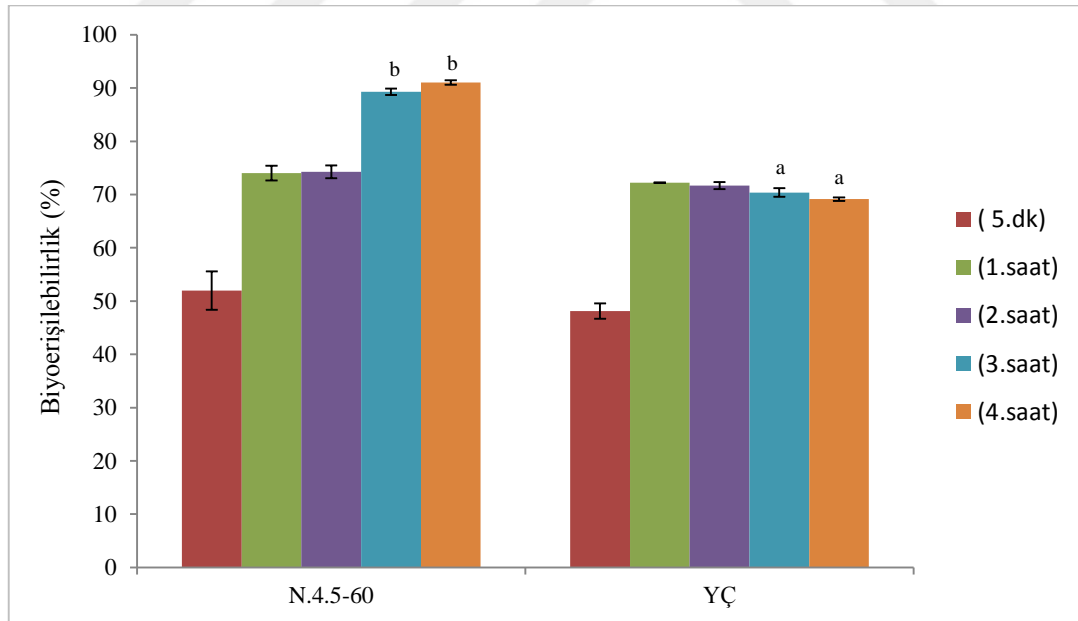
Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.21’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre konsantrasyonun, jelasyon süresinin ve konsantrasyon × jelasyon süresi interaksyonunun ise %inhibisyon üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ).

Çizelge 4.21 : Antioksidan aktiviteye ait varyans analizi sonucu.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Konsantrasyon	0.030	0.021	0.889
Jelasyon süresi	3.078	2.197	0.212
Konsantrasyon × Jelasyon süresi	0.123	0.087	0.781

#### 4.2.9 *In vitro* sindirim

Elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip olan mikroboncuğun (N4.5-60) simüle sindirim sıvısındaki davranışı metot 3.4.12’de belirtilen statik *in vitro* sindirim modeli ile incelenmiştir. Elde edilen bulgular ise Şekil 4.27’de gösterilmiştir.



Şekil 4.27 : *In vitro* sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%)

Biyoerişilebilirlik (bioaccessibility) gastrointestinal sistem boyunca gıda matriksinden açığa çıkan bileşenlerin miktarı olarak tanımlanır. Dolayısıyla bileşenler bağırsaktaki absorpsiyon ve dokulara dağılımı için yararlanabilir hale gelirler. Biyoerişilebilirlik (%) sindirimden sonraki örneklerdeki toplam fenolik içeriğinin sindirimden önceki örneklerde

bulunan toplam fenolik içeriğine oranının yüzdesi olarak hesaplanmıştır (Juaniz ve diğ., 2016). Polifenollerin gastrointestinal sistem şartlarında (enzimler, pH veya diğer besinlerin varlığı) hassas olması bu bileşenlerin ağız yolu ile verildikten sonra sadece çok az bir oranının mevcut kalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla bu durum polifenoller gibi nutrasötik bileşenlerin potansiyel sağlık etkilerini ve aktivitelerini sınırlandırır (Bell, 2001; Fang ve Bhandaria, 2010). Ayrıca fenolik bileşenler proteinler gibi gıda bileşenleri ile ilişkiye girebilirler ve bu durum da agregasyona ve çökmelere sebep olarak polifenollerin miktar ve/veya fonksiyonel kaybına sebep olurlar (Rashidinejad ve diğ., 2014). Karşılaşılan bu şartlar ise dolaylı olarak kateşinlerin biyoyararlılıklarını da düşürmektedir. Biyoyararlılık alınan besinin normal fizyolojik fonksiyonlarda kullanılmak ve depolanmak için erişilebilir durumdaki kısmıdır (Güven ve diğ., 2010). Söz konusu flavonoidlerin sağlık üzerindeki etkilerini devam ettirebilmesi onların biyoyararlılıklarını koruyabilmesine bağlıdır. Dolayısıyla polifenolik bileşenlerin hedeflediği fizyolojik etkenleri gösterebilmesi, yapısal özelliklerini koruyabilmesi, biyoyararlılığının artırılabilmesi, fizyolojik hedefine doğru tam olarak iletilebilmesi ile gerçekleşmektedir. Bu durum ise tüketilene kadar ve tüketim esnasında bir takım koruyucu mekanizmalar sayesinde olmaktadır (Chen ve diğ., 2006). Enkapsülasyon işlemi polifenollerin hapsedildiği ve gastrointestinal şartlarda koruyuculuk sağlayan bu mekanizmalardan biridir (Peanparkdee ve Iwamoto ve diğ., 2020).

Çalışmamızda 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonunda yeşil çay ekstraktı içeren mikroboncukların biyoerişilebilirlik yüzdesinin %91.03 iken yeşil çayda bu değer %69.13 olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla bu durum bize enkapsülasyon işlemi ile yeşil çayda bulunan toplam fenolik içeriğinin gastrointestinal sistem boyunca bağırsağa ulaşmaya kadar geçen sürede çoğunluğunun enkapsülasyon işlemi ile korunduğunu göstermiştir. Dolayısıyla elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile elde edilen aljinat bazlı yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikroboncukların yeşil çaydaki fenolik bileşenler için gastrointestinal sistemde iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir. Zhang ve diğ. (2016),  $\beta$  karotenoidi hidrojel mikroboncuk sistemlerine farklı aljinat konsantrasyonları (%0.5 ve %0.1) kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Simüle sindirim işlemi sonucunda ilk karotenoid mikratının %87'sinin ince bağırsak fazının sonunda stabil kaldığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla gıdaların depolanması ve gastrointestinal sistemde  $\beta$  karotenin kimyasal degradasyonunu önlemesi açısından bu tür hidrojel mikroboncukların faydalı olduğunu belirtmişlerdir.

Aljinat hidrojel asidik ortamda çözünmez formdadırlar dolayısıyla asidik gastrik sıvısına karşı korunma sağlayan taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilirler (Hamsilawat ve diğ, 2006; Kwiecien ve Kwiecien, 2018). Çalışmamızda da elde ettiğimiz mikrobuncukların simüle gastrik fazlardaki (1. ve 2. saat) biyoerişilebilirlikleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Bu sonucun aljinat hidrojellerin asidik ortamda çözünmez formda oluşu ve asidik gastrik sıvısına karşı korunma sağlayan taşıyıcı sistemler olması ile desteklendiği görülmüştür. İyonik çapraz bağlı aljinat hidrojellerin davranışı çoğunlukla kendisini çevreleyen ortamın pH'sına bağlıdır (Matyash ve diğ, 2014). Kalsiyum aljinat hidrojel boncukları simüle gastrik sıvısında (pH 1.0) stabil kalırlar ve yapılarında %110 düzeyinde şişme meydana gelir, simüle bağırsak sıvısı koşullarında ise %600 düzeyde şişerek parçalanmaya başlarlar ve sonuç olarak tamamen çözünürler (Kwiecien ve Kwiecien, 2018; Li ve diğ, 2017a). Aljinat boncuklarının ağızdan mideye geçişi esnasında partikül boyutlarının küçüldüğü literatürde bildirilmiştir (Jain ve diğ, 2020; Zhang ve diğ, 2016). Bu durumun ise aljinat moleküllerinin negatif yüklerinin kaybolması ve onlarla düşük pH ortamında protonlanan karboksil grupları arasındaki elektrostatik itme gücünün azalmasından kaynaklandığı bildirilmiştir. Aljinat moleküllerindeki karboksil grupları pKa değeri olan 3.5'dan daha düşük pH ortamlarında negatif yüklerini kaybetme eğilimindedirler (Zhang ve diğ, 2015). Bu durumda mikrobuncuklarda küçülme (shrinkage) meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu küçülme olayı mikrobuncukların yüzeyindeki porların da boyutlarının küçülmesine neden olarak enkapsüle olan aktif maddenin difüzyonunu da sınırlandırdığı için faydalı bir durumdur. Dolayısıyla mikrobuncukların düşük pH'da yani mide pH'sında daha stabil olmasını sağlayan olay budur (Jain ve diğ, 2020; Zhang ve diğ, 2016). Ancak pKa değeri olan 3.5'dan daha yüksek olduğu pH ortamlarında aljinat moleküllerindeki karboksil gruplarının negatif yükleri artmakta bu durumda elektrostatik itme gücünün artmasıyla hidrojel ağının genişlemesine neden olmaktadır (Zhang ve diğ, 2015). Bu durum da şişmenin artmasıyla partikül boyutunun artmasına neden olmaktadır. Partikül boyutunun artması ise partikül üzerindeki por boyutlarının da artmasına neden olarak enkapsüle olan etken maddenin mikrobuncuktan dışarı difüzyonunun artmasına neden olmaktadır (Jain ve diğ, 2020). Simüle bağırsak ortamında ise enkapsüle olan maddenin açığa çıkmasında etken olan olaylardan biri de budur. Ayrıca alkali ortamda (pH 7.4) su kalsiyum aljinat mikrobuncuk yapısındaki -COOH ve -OH grupları ile hidrojen bağları oluşturmak üzere kalsiyum aljinat mikrobuncuk yapısına sızar ve boş zincir boyunca bu gruplar ile bağ yapar. Bu olay ise kalsiyum aljinat mikrobuncuk yapısından (sıkı egg-box yapısı) Ca<sup>2+</sup> iyonlarının çözünme ortamına difüze olmasına neden olmaktadır. Bu durum ise

mikroboncukların hızlıca parçalanmasına neden olmaktadır (Norudin ve diğ, 2016). Hidrofilik aljinat bazlı mikroboncukların mide ortamında çözünmemesi ve küçülmeye bağlı olarak göstermiş olduğu dirençli davranışı çözünme ortamından sindirim sıvılarının penetrasyonunu ve enkapsüle olan maddenin ise çözünme ortamına difüzyonunu sınırlandırarak aktif maddenin (yeşil çay ekstraktı polifenollerinin) mide ortamı boyunca taşınarak hedeflediği ince bağırsağa kadar korunarak ulaşmasını sağlamıştır. Dolayısıyla aljinat bazlı hidrojel mikroboncukların yeşil çay polifenollerinin enkapsülasyonu için potansiyel bir taşıyıcı sistem olduğu söylenebilir. Literatürdeki bu bilgilerin çalışmamızdaki yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikroboncuğun simüle sindirim sıvısındaki davranışı ile paralellik gösterdiği saptanmıştır.

Ayrıca literatürde tek katlı aljinat mikroboncukları asidik koşullar karşısında enkapsüle edilen madde için tam olarak koruma sağlamadığı bildirilmiştir. Bu durum hidrojellerin yüzeyindeki gözeneklerin boyutlarıyla alakalı bir durumdur. Yapılan çalışmalarda hidrojel mikroboncukların katmanlarının artırılmasının enkapsüle olan probiyotik hücrelerin canlılıklarını arttırdığı görülmüştür (Mokarram ve diğ, 2009). Bunun yanısıra çok katmanlı kalsiyum aljinat hidrojel mikroboncuklarının simüle bağırsak sıvısında (pH 6.8) daha yavaş degrade oldukları (Norudin ve diğ, 2016) simüle kolon sıvısında (pH 7.2) ise hızlıca degrade oldukları bildirilmiştir (Kwiecien ve Kwiecien, 2018; Li ve diğ, 2012). Dolayısıyla çok katmanlı hidrojel mikroboncukların üretimi ile enkapsüle ettiğimiz maddenin daha yüksek derecede korunması önerilebilir.

#### 4.2.9.1 *In vitro* sindirime ait varyans analizi sonuçları

*In vitro* sindirime ait varyans analizi sonucu Çizelge 4.22’de verilmiştir. 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda sodyum aljinat kullanılarak enkapsülasyonun biyoerişilebilirlik (%) üzerinde önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.22 : *In vitro* sindirime ait varyans analizi sonucu.**

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Enkapsülasyon	639.153	3638.108	<b>0.000</b>

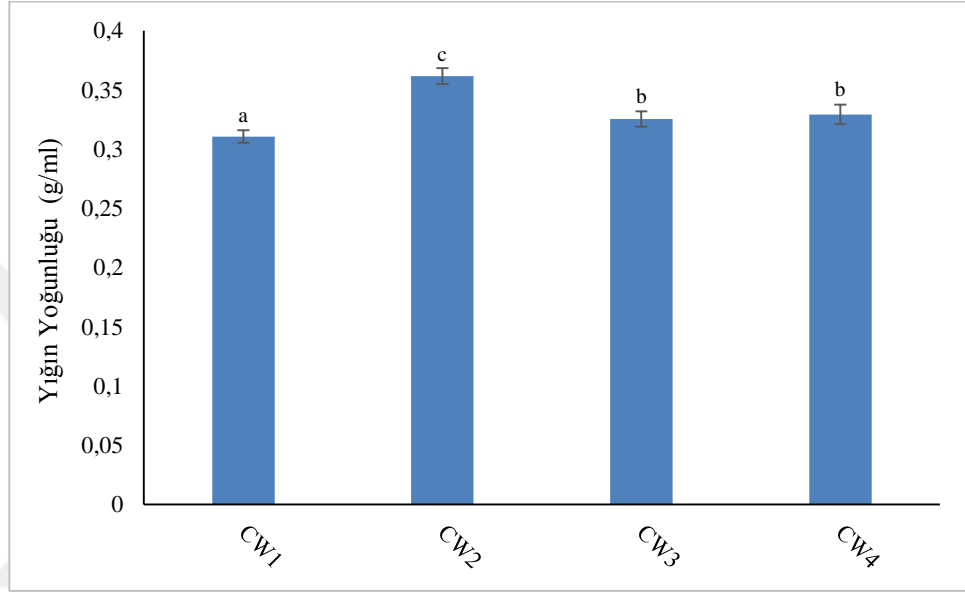
### 4.3 Melt Dispersiyon Tekniği ile Yeşil Çay Ekstraktının Enkapsülasyonuna Ait Bulgular

Yeşil çay ekstraktı kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak SLN metodu ile enkapsüle edilmiştir. Çoklu emülsiyon (w/o/w) oluşturularak melt

dispersiyon tekniği kullanılarak katı lipid mikropartiküller (SLM) elde edilmiştir. Üretimlerde emülsiyon süresinin (5 ve 10 dk) ve ilk emülsiyon (w/o) oluşumunda kullanılan yeşil çay miktarının (15 mL ve 30 mL) etkisi araştırılmıştır.

#### 4.3.1 Yığın yoğunluğu

SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen karnauba vaks mikropartiküllerine ait yığın yoğunluğu bulguları Şekil 4.28'deki gibidir.



Şekil 4.28 : Karnauba vaks mikropartiküllerin yığın yoğunlukları.

Literatürde balmumunun karnauba vaksıya kıyasla (82-86 °C) daha düşük erime noktasına (56-60 °C) sahip olması erime ve donma noktaları arasında daha az farkın olmasından mikropartikül eldesinde son aşamada daha yavaş katılaşmasına ve dolayısıyla bu durumun da aglomerasyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Milanovic ve diğ., 2017). Literatürdeki bu bilginin sonucu olarak çalışmamızda da elde edilen balmumu partiküllerin SEM görüntülerinden görüldüğü üzere yapışkan ve aglomera yapısı balmumu ile elde edilen partiküllerin öğütülerek toz forma dönüştürülmesine engel olmuştur. Yığın yoğunluğu toz partiküllere uygulanabilen ve toz ürünler için önemli olan bir analiz olduğundan balmumu ile elde edilen mikropartiküllerde yığın yoğunluğu analizi gerçekleştirilmemiştir.

Karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarının 0.31-0.36 g/mL aralığında olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon süresinin 5 dk'dan 10 dk'ya çıkmasının ilk emülsiyon miktarının 15 mL olduğu örneklerin (CW1 ve CW2) yığın yoğunlukları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Emülsiyon süresindeki artışın yığın yoğunluğunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Bu durum

emülsiyon süresindeki artış ile yeşil çayın yağ fazı içerisinde daha etkin bir şekilde emülsiyonu ve daha küçük mikropartiküllerin eldesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Partiküllerin daha küçük olması elde edilen katı partiküllerin daha az hacim kaplamasına neden olur. Yığın yoğunluğu partiküllerin kapladığı hacimle ters orantılı olduğundan bu durumun yığın yoğunluğunun daha yüksek olmasına neden olduğu düşünülmüştür. CW3 ve CW4 kodlu örneklerde ise ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarı 30 mL'dir. Emülsiyon süresinin arttırılmasının (5 dk'dan 10 dk'ya) elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarında az da olsa artışa neden olduğu ancak bu artışın istatistiki olarak önemli olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Benzer durumun bu örneklerde gerçekleşmemesinin sebebinin ilk emülsiyondaki emülsiyon miktarının daha yüksek olması sabit olan karıştırma hızında (15000 rpm) emülsiyon süresindeki bu artışın yetersiz kalması ile açıklanabilir.

5 dakikalık emülsiyonlar için (CW1 ve CW3) emülsiyon miktarındaki artışın (15 mL'den 30 mL'ye) partiküllerin yığın yoğunluğunun artmasına neden olduğu saptanmıştır. 10 dk'lık emülsiyonlar için (CW2 ve CW4) emülsiyon miktarındaki artışın yığın yoğunluğunda azalışa neden olduğu saptanmıştır. Uzun süren emülsiyon süresinde (10 dk'da) vaksın zamanla katılaşmaya başlaması ve katılaştıran vaks partiküllerin partikül hacminde artışa dolayısıyla yığın yoğunluğunda azalışa neden olduğu düşünülmüştür. Dolayısıyla katı lipid partiküllerin eldesinde optimum bir karıştırma süresinin tespit edilmesi gerektiği düşünülmüştür. Literatüre göre toz partiküller için yüksek yığın yoğunluğu, oksidatif hasara karşı daha dayanıklı ve daha stabil partikül eldesini ve daha az paketleme hacmine ihtiyaç duyulması açısından arzu edilen bir özelliktir (Can, 2017). Literatürdeki bilgiler göz önüne alındığında en yüksek yığın yoğunluğunun CW2 kodlu örneğe ait olduğu saptanmıştır. Yani İlk emülsiyonda 15 mL yeşil çay ekstraktı kullanılarak 10 dk'lık emülsiyon sonucunda elde edilen partiküllerin diğerlerine kıyasla daha yüksek yığın yoğunluğuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun da Çizelge 4.31'de partikül boyut dağılım tablosundan görüldüğü üzere CW2 kodlu örneklerin diğerlerine kıyasla daha küçük partikül boyutuna sahip olması bu sebeple daha az hacim kaplaması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

#### **4.3.1.1 Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları**

Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonucu Çizelge 4.23'de verilmiştir. Yığın yoğunluğu açısından emülsiyon hacmi, emülsiyon süresi, emülsiyon hacmi × emülsiyon süresi interaksiyonunun etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.23** : Yığın yoğunluğuna ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Emülsiyon hacmi	0.000	6.792	<b>0.023</b>
Emülsiyon süresi	0.003	66.090	<b>0.000</b>
Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	0.002	49.009	<b>0.000</b>

#### 4.3.2 Nem içerikleri

SLN-melt dispersiyon tekniğiyle lipit taşıyıcılar olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait nem değerleri Çizelge 4.24 gösterilmiştir.

**Çizelge 4.24** : Melt dispersiyon ile elde edilen partiküllerin nem içerikleri.

Örnek Kodu*	Nem İçeriği (%)
CW1	3.97 <sup>d</sup> ±0.13
CW2	1.57 <sup>ab</sup> ±0.43
CW3	0.89 <sup>a</sup> ±0.09
CW4	2.79 <sup>bcd</sup> ±0.55
BW1	2.59 <sup>bc</sup> ±0.01
BW2	2.14 <sup>abc</sup> ±0.21
BW3	3.09 <sup>cd</sup> ±0.56
BW4	2.01 <sup>abc</sup> ±0.84

\*Örnek kodları ile ilgili açıklama Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Elde edilen tüm mikropartiküllerin nem içeriklerin %0.89-3.97 arasında olduğu tespit edilmiştir. Karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin nem içerikleri %0.89-3.97 arasında iken balmumu ile elde edilen mikropartiküllerin nem içeriklerinin %2.01-3.09 arasında olduğu tespit edilmiştir. Karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküller için emülsiyon süresi ve emülsiyon miktarının elde edilen mikropartiküllerin nem içerikleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde ise emülsiyon süresinin elde edilen mikropartiküllerin nem içeriği üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Emülsiyon miktarının ise 5 dk emülsiyon süresi ile elde edilen mikropartiküllerin nem içerikleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli bulunurken 10 dk emülsiyon süresi ile elde edilen mikropartiküllerin nem içerikleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ).

#### 4.3.2.1 Nem içeriğine ait varyans analizi sonuçları

Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen nem içeriklerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.25’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre emülsiyon hacmi × emülsiyon süresi ve kaplama materyali × emülsiyon hacmi × emülsiyon süresi interaksiyonunun nem içerikleri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.25 :** Nem içeriğine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	0.109	0.299	0.595
Emülsiyon hacmi	0.622	1.698	0.217
Emülsiyon süresi	1.183	3.229	0.098
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi	1.430	3.905	0.072
Kaplama materyali × Emülsiyon süresi	0.300	0.819	0.383
Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	3.863	10.548	<b>0.007</b>
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	6.960	19.004	<b>0.001</b>

#### 4.3.3 Enkapsülasyon etkinliği

SLN-melt dispersiyon tekniğiyle lipit taşıyıcı sistem olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinlikleri Çizelge 4.26’daki gibidir.

**Çizelge 4.26 :** Karnauba vaks ve balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerin enkapsülasyon etkinlikleri.

Örnek Kodu*	Etkinlik (%)
CW1	50.97 <sup>bc</sup> ±4.90
CW2	47.37 <sup>b</sup> ±2.04
CW3	52.62 <sup>c</sup> ±0.58
CW4	52.71 <sup>c</sup> ±1.45
BW1	31.98 <sup>a</sup> ±4.14
BW2	31.98 <sup>a</sup> ±0.78
BW3	30.38 <sup>a</sup> ±1.94
BW4	31.99 <sup>a</sup> ±1.65

\*Örnek kodları ile ilgili açıklama Çizelge 3.5’de verilmiştir.

<sup>a-c</sup>Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %30.38-52.71 arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %47.37-52.71 arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin ise %30.38-31.99 arasında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enkapsülasyon etkinliği değerlerinin kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait olduğu saptanmıştır. Bu durumun kaplama materyali ile etken madde arasındaki ilişki ile alakalı olabileceği düşünülmüştür. Rocha ve diğ. (2020) kurkuminin SLN metoduyla enkapsülasyonunda elde edilen mikropartiküllerin yüksek enkapsülasyon etkinliği gösterdiğini belirtmişlerdir (%81.7). Bu durumu kaplama materyalinin hidrofobik yapısı ve kurkuminin hidrofobik yapılı polifenolik yapıda olması (Tamahkar, 2016) ile açıklamışlardır. Enkapsülasyon etkinliği çoğunlukla kaplama materyali ve enkapsüle olan bileşen arasındaki ilişkiye ve aynı zamanda kullanılan enkapsülasyon tekniğine bağlıdır (Rocha ve diğ, 2020). Balmumun bileşimindeki serbest yağ alkol oranının karnauba vaksın bileşimindeki orana kıyasla daha düşük olması (Soleimanian ve diğ, 2020) hidrofilik karakterdeki yeşil çay ekstraktı ile serbest yağ alkolünün hidrofilik grupları (-OH grupları) arasındaki interreaksiyonun daha az olmasına bu durumun da enkapsülasyon etkinliğinin daha düşük olmasına neden olduğu düşünülmüştür.

Katı lipit partikül eldesinde araştırma parametreleri olan emülsiyon süresi ve ilk emülsiyondaki yeşil çay miktarının değiştirilmesinin balmumu ile elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinlikleri üzerinde etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde ise emülsiyon süresindeki artışın ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının 15 mL olduğu üretimlerde (CW1 ve CW2) etkili olduğu ve enkapsülasyon etkinliğinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu durumu karnauba vaksın balmumuna kıyasla hızlı katılaşması ile alakalı olduğu düşünülmüştür. Emülsiyon süresi arttıkça o süre boyunca etkin emülsiyon tam olarak elde edilemeden gerçekleşen hızlı katılaşma enkapsülasyon etkinliğinin daha düşük olmasına neden olmuş olabilir. Shaki ve diğ. (2014), hidrofilik KCl'nin vaks bazlı sistemlerle enkapsülasyonunda emülsiyon oluşturma süresindeki artışın enkapsülasyon etkinliğinde azalışa neden olduğunu belirtmişlerdir. İlk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının 30 mL olduğu üretimlerde ise emülsiyon oluşturma süresinin 5 dk'dan 10'dk ya çıkmasında enkapsülasyon etkinliğinde bir etki oluşturmadığı tespit

edilmiştir. Bu durumu artan yeşil çay miktarına bağlı olarak sürenin tek başına artışının etkin emülsiyon oluşumunda yetersiz kalması ile alakalı olduğu düşünülmüştür. Çünkü tüm denemelerde kullanılan karıştırma hızı sabit ve 15000 rpm olarak ayarlanmıştır. Karnaubaya vaks için ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının artması ise her iki emülsiyon süresi için de (5 ve 10 dk) enkapsülasyon etkinliğini arttırdığı tespit edilmiştir (CW1 ve CW3). Bu durumun artan hidrofilik karakterdeki yapı ile karnaubaya vakstaki hidrofilik karakterdeki gruplar arasındaki interreaksiyonun artışı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Literatürde kurkuminin katı lipit nanopartikül ile enkapsülasyonunda kullanılan duvar materyaline ve deneysel koşullara bağlı olarak enkapsülasyon etkinliğinin %47-90 arasında olduğu belirtilmiştir (Rocha ve diğ., 2020; Sun ve diğ., 2013). Peres ve diğ. (2016), sulforhodamine hidrofilik ilaç etken maddesinin katı lipit nanopartikül-emülsiyon/melt dispersiyon tekniğiyle enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %28-63 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Trapani ve diğ. (2019), peptit glutasyon ve üzüm çekirdeği ekstraktı proantosiyanidinleri W/O emülsiyon öncül sistemi kullanarak benzer teknikle enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %40.1-82.7 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğini hidrofilik etken maddenin eriyik haldeki lipit içerisindeki çözünürlüğü, katı lipitin fizikokimyasal yapısı ve lipit materyalin katılma esnasında sergilediği polimorfik yapının etkilediği belirtilmiştir. Hajj Ali ve diğ. (2015), hidrofobik polifenol olan kurkumini karite yağı (shea butter) kullanarak SLN metodu ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %27-92 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Campos ve diğ. (2015), rosmarinik asit ve bitkisel ekstraktları (adaçayı ve kekik otu) karnaubaya vaks ve witepsol kullanarak SLN metodu sıcak eriyik-ultrasonikasyon tekniğiyle enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğinin ekstakt tipine bağlı olarak %79-87.4 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Lipit matriks yapısı içerisindeki bileşenlerin enkapsülasyon etkinliğinin yapı içerisinde lipofilik bileşenlerin yerleşmesini arttıran trigliseritlerle esterleşmiş uzun zincirli yağ asitlerinin yüksek hidrofobik yapısı tarafından etkilenebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu lipofilik bileşenlerin SLN yapı içerisinde yüksek oranlarda tutuklanması beklenmektedir. Çalışmada kullanılan fenolik bileşenlerden rosmarinik asitin literatüre göre suda daha yüksek çözünürlük göstermesi (hidrofilik karakteri) lipit matriksi içerisinde diğerlerine kıyasla daha düşük oranda tutuklanmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Hamishehkar ve diğ. (2014), kafein yüklü katı lipit nanopartikül yüklü partiküllerin eldesinde enkapsülasyon etkinliğinin %86 olduğunu

belirtmişlerdir. Ezhilarasi ve diğ. (2016), hidrofilik etken madde ile lipofilik kaplama materyali arasındaki uyumsuzluktan dolayı SLN metodu hidrofilik materyaller için çok fazla uygulanmamakla birlikte etkinliğin artırılmasını geliştirmek amacıyla hidrokisisitrik asit mikro ve nanopartiküller olarak katı lipit nanotaşıyıcılarla enkapsüle edilmiştir. Elde edilen enkapsülasyon etkinliğinin yaklaşık %57 olduğu tespit edilmiştir. Baviskar ve diğ. (2012), suda zayıf çözünürlüğe sahip ilaç etken maddesi flurbiprofeni karnauba vaks ve balmumu kullanarak katı lipit nanopartiküller şeklinde emülsiyon öncül sistem kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Lipit fazı içerisinde balmumu konsantrasyonunun artmasıyla enkapsülasyon etkinliğinin artmadığını belirtmişlerdir. Enkapsülasyon etkinliğini %96.4-96.9 arasında saptamışlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz enkapsülasyon etkinliğinin literatürdeki bulgularla benzer ancak birçok çalışmaya kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Yine literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında bu durumun birçok sebebi olmakla beraber en önemli sebebinin enkapsüle olan aktif maddenin karakteri yani hidrofilik veya lipofilik oluşu ile alakalı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yine literatürde de bildirildiği gibi enkapsülasyon etkinliğinin aynı zamanda kullanılan enkapsülasyon tekniğine (Rocha ve diğ, 2020), katı lipit olarak kullanılan kaplama materyali çeşidine, katı lipitin fizikokimyasal yapısı ve lipit materyalin katılma esnasında sergilediği polimorfik yapıya, kullanılan sürfaktan tipi ve konsantrasyonuna, emülsiyon karıştırma hızı ve emülsiyon oluşturma süresi gibi deneme parametrelerine de (Rocha ve diğ, 2020; Sun ve diğ, 2013; Trapani ve diğ, 2019) bağlı olabileceği düşünülmüştür.

#### 4.3.3.1 Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları

Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.27’de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyali ve kaplama materyali × emülsiyon hacmi interaksiyonunun enkapsülasyon etkinliği üzerindeki etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.27 :** Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları.

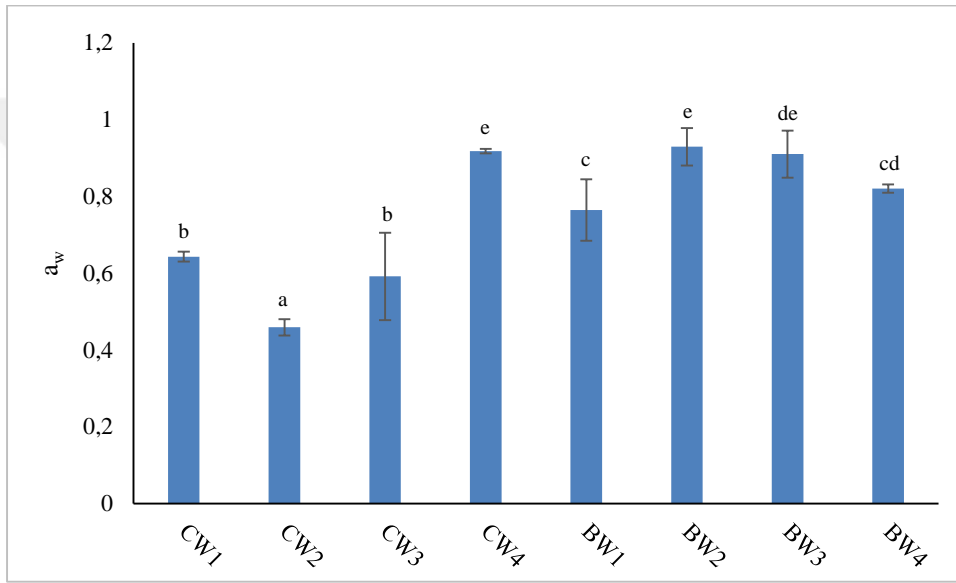
Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	2990.79	435.015	<b>0.000</b>
Emülsiyon hacmi	14.600	2.124	0.158
Emülsiyon süresi	1.792	0.261	0.614
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi	36.683	5.336	<b>0.030</b>

**Çizelge 4.27 :** Enkapsülasyon etkinliğine ait varyans analizi sonuçları (devam).

Kaplama materyali × Emülsiyon süresi	13.135	1.910	0.180
Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	14.180	2.063	0.164
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	2.154	0.313	0.581

#### 4.3.4 Su aktivitesi

Katı lipit nanopartikül (SLN) melt dispersiyon tekniğiyle lipit taşıyıcı sistem olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait su aktivitesi ( $a_w$ ) değerleri Şekil 4.29’da gösterilmiştir.



**Şekil 4.29 :** SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen partiküllerin  $a_w$  değerleri.

SLN-melt dispersiyon tekniği ile elde edilen mikropartiküllerin  $a_w$  değerlerinin 0.46-0.93 arasında olduğu tespit edilmiştir. Lipit taşıyıcı sistem olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen partiküllerin su aktivitesi değerlerinin 0.46-0.92 arasında olduğu, balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerin ise 0.76-0.93 arasında olduğu tespit edilmiştir. Balmumu ile elde edilen mikropartiküllerin  $a_w$  değerlerinin genellikle karnauba vaks ile elde edilenlere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki kaplama materyali için de emülsiyon oluşturma süresinin 5 dk’dan 10 dk’a artışının elde edilen mikropartiküllerin  $a_w$  değerleri üzerinde etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Lipit taşıyıcı sistem olarak karnauba vaks kullanılarak 5 dk’lık emülsiyon süresi ile elde edilen partiküller için (CW1 ve CW3) ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki artışın (15 mL’den 30 mL’ye)  $a_w$  değeri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemsiz olurken 10 dk’lık emülsiyon süresi ile elde edilen partiküller için (CW2 ve CW4) ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay

miktarındaki artışın (15 mL'den 30 mL'ye)  $a_w$  değerini arttırdığı saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Balmumu ile elde edilen mikropartiküllerde ise 5 dk'lık emülsiyon süresi ile elde edilen partiküller için (BW1 ve BW3) ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki artışın (15 mL'den 30 mL'ye)  $a_w$  değeri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli olup  $a_w$ 'de artış görülürken 10 dk'lık emülsiyon süresi ile elde edilen partiküller için (BW2 ve BW4) ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki artışın (15 mL'den 30 mL'ye) su aktivitesi değerini azalttığı saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Campos ve diğ. (2017), rosmarinik asit ve bitki ekstraktlarını (adaçayı ve kekik otu ekstraktları) witepsol ve karnauba vaks kullanarak katı lipit nanopartikül yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Rosmarinik asit ve bitki ekstraktları yüklü dondurarak kurutulmuş katı lipit partiküllerin  $a_w$  değerlerinin 0.60 civarında olduğunu belirtmişlerdir. De Medeiros ve diğ. (2019), karnauba vaks kullanılarak üre mikroenkapsülasyonunda elde ettikleri dondurularak kurutulmuş mikropartiküllerin  $a_w$  değerlerinin 0.60 olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettiğimiz vaks bazlı mikropartiküllerin çoğunun  $a_w$  değerlerinin literatüre kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun en son aşamada kullanılan kurutma yöntemindeki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Su aktivitesinin 0.60'ın üzerinde olması durumunda küf, bakteri ve mayaların gelişimi beklenir (Janiszewska-Turak ve diğ, 2017; Labuza ve Altunkar, 2007). Elde ettiğimiz mikrokapsüllerin çoğunun su aktivitesi değerlerinin 0.6 ve üzerinde olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla mikrokapsüllerin mikrobiyal ve söz konusu biyokimyasal reaksiyonlara karşı (lipit oksidasyonu, esmerleşme reaksiyonları, enzim aktivitesi gibi) stabilitesinin düşük olabileceği düşünülmüştür.

#### **4.3.4.1 Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları**

Genel bir değerlendirme yapmak amacıyla gerçekleştirilen su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.28'de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin, emülsiyon hacminin, emülsiyon süresinin, kaplama materyali  $\times$  emülsiyon hacmi, emülsiyon hacmi  $\times$  emülsiyon süresi ve kaplama materyali  $\times$  emülsiyon hacmi  $\times$  emülsiyon süresi interaksiyonunun su aktivitesi üzerinde önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.28** : Su aktivitesine ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	0.240	83.474	<b>0.000</b>
Emülsiyon hacmi	0.072	24.983	<b>0.000</b>
Emülsiyon süresi	0.017	6.009	<b>0.025</b>
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi	0.050	17.357	<b>0.000</b>
Kaplama materyali × Emülsiyon süresi	0.002	0.568	0.461
Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	0.024	8.287	<b>0.010</b>
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	0.213	73.999	<b>0.000</b>

#### 4.3.5 Renk analizi

Karnauba vaks ve balmumu kullanılarak SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen mikropartiküllere ait renk değerleri Çizelge 4.29'deki gibidir.

**Çizelge 4.29** : Melt dispersiyon ile elde edilen mikropartiküllerin renk değerleri.

Örnek Kodu*	$L^*$	$a^*$	$b^*$
CW1	91.78 <sup>c</sup> ±0.016	-0.46 <sup>a</sup> ±0.005	0.84 <sup>c</sup> ±0.005
CW2	91.77 <sup>c</sup> ±0.071	-0.46 <sup>a</sup> ±0.009	0.86 <sup>c</sup> ±0.005
CW3	91.90 <sup>c</sup> ±0.000	-0.48 <sup>b</sup> ±0.009	0.84 <sup>c</sup> ±0.009
CW4	91.88 <sup>c</sup> ±0.012	-0.48 <sup>b</sup> ±0.005	0.84 <sup>c</sup> ±0.005
BW1	91.09 <sup>b</sup> ±0.042	-0.49 <sup>b</sup> ±0.009	0.58 <sup>b</sup> ±0.027
BW2	90.99 <sup>b</sup> ±0.075	-0.49 <sup>b</sup> ±0.008	0.50 <sup>ab</sup> ±0.068
BW3	91.06 <sup>b</sup> ±0.067	-0.49 <sup>b</sup> ±0.005	0.58 <sup>b</sup> ±0.075
BW4	90.85 <sup>a</sup> ±0.102	-0.48 <sup>ab</sup> ±0.009	0.42 <sup>a</sup> ±0.060

\*Örnek kodları ile ilgili açıklama Çizelge 3.5'de verilmiştir.

<sup>a-c</sup>Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

$L^*$  değeri rengin parlaklığı (0: Siyah, 100: Beyaz),  $a^*$ : Kırmızılık/Yeşillik (-60: Yeşil, +60: Kırmızı),  $b^*$ : Sarılık/Mavilik (-60: Mavi, +60: Sarı) şeklinde üç boyutla ifade edilir (Keskin ve diğ., 2017). Renk tüketicilerin kalite algılarını etkileyen önemli özelliklerden biridir (Seregelj, 2019). Mikrokapsüllerin rengi fonksiyonel gıdalara uygulanması durumunda önemli bir özellik olabilmektedir. Elde edilen tüm mikropartiküllerin  $L^*$  değerlerinin 90.85±0.102-91.90±0.000 arasında,  $a^*$  değerlerinin -0.46±0.005 ile -0.49±0.009

arasında  $b^*$  değerlerinin ise  $0.42\pm 0.060-0.86\pm 0.005$  arasında olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen tüm mikropartiküllerin renginin beyaz, yeşil ve sarı renge meyilli olduğu söylenebilir.

Kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin  $L^*$  ve  $b^*$  değerlerinin balmumuna kıyasla daha yüksek,  $a^*$  değerlerin ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Yani karnauba vaks ile elde edilen mikropartiküllerin balmumuna kıyasla daha beyaz ve sarı renge meyilli olduğu balmumu mikropartiküllerinin ise karnauba vaks partiküllerine kıyasla daha yeşil renge meyilli olduğu tespit edilmiştir. Renk analizi sonucu elde edilen bu bulguların görsel olarak elde edilen bulgularla uyumlu olduğu görülmüştür. Karnaubu vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde emülsiyon miktarının ve emülsiyon süresinin elde edilen mikropartiküllerin  $L^*$  ve  $b^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz olduğu saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Emülsiyon süresindeki artışın  $a^*$  değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiki olarak önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunurken emülsiyon miktarındaki artışın  $a^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). İlk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarı arttıkça elde edilen mikropartiküllerin  $a^*$  değerlerinin negatif yönde arttığı tespit edilmiştir. -  $a^*$  değerlerinin artması partiküllerdeki yeşil rengin arttığının bir göstergesidir. Bu durumun yeşil çay miktarının artmasına bağlı olarak yeşil çayın doğal renginden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerde ise ilk emülsiyonda 15 mL yeşil çayın kullanıldığı üretimlerde (BW1 ve BW2) elde edilen mikropartiküllerde emülsiyon süresinin  $L^*$  ve  $a^*$  değerleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz olurken, ilk emülsiyonda 30 mL yeşil çayın kullanıldığı üretimlerde (BW3 ve BW4) elde edilen mikropartiküllerin  $L^*$  ve  $a^*$  değerleri üzerinde etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Bu durumun artan emülsiyon miktarına bağlı olarak emülsiyon işlem süresinin artmasıyla fazlar arasında daha homojen bir dağılımın sağlanmasıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür. Emülsiyon süresinin artışının (her iki emülsiyon miktarı için de)  $b^*$  değeri üzerindeki etkisi ise istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Yani emülsiyon süresi arttıkça elde edilen partiküllerin sarılık değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Sarı renk balmumunun doğal renginden kaynaklı bir renktir. Emülsiyon süresinin artmasına bağlı olarak eriyik haldeki balmumunun emülsiyon içerisinde daha homojen dağılımının sağlanması ile balmumundan kaynaklı sarı rengin daha da azalabileceği düşünülmüştür. Balmumu kullanılarak 5 dk'lık emülsiyon sürelerinde elde edilen mikropartiküllerde (BW1 ve BW3) ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki artışın  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değeri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz olduğu

saptanırken ( $P>0.05$ ), 10 dk'lık emülsiyon süresinde elde edilen mikropartiküllerde (BW2 ve BW4) ise ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki artışın  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değeri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemli olduğu ( $P<0.05$ ) ve  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Campos ve diğ. (2017), rosmarinik asit ve bitki ekstraktlarını (adaçayı ve kekik otu ekstraktları) witepsol ve karnauba vaks kullanarak katı lipit nanopartikül yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin rosmarinik asit ve/veya bitki ekstraktlarının eklenmesinden etkilendiğini belirtmişlerdir. Rosmarinik asit eklenmesinin  $L^*$  değerini arttırdığını,  $a^*$  değerlerinde negatif yönde olduğunu,  $b^*$  değerlerinin pozitif olduğunu elde edilen partiküllerin yeşil ve sarı renkte olduklarını belirtmişlerdir.

#### 4.3.5.1 Renk analizine ait varyans analizi sonuçları

Faktörlerin etkisinin genel bir değerlendirmesini yapmak amacıyla gerçekleştirilen renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.30'da verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucuna göre kaplama materyalinin, emülsiyon süresinin, kaplama materyali  $\times$  emülsiyon hacmi, kaplama materyali  $\times$  emülsiyon süresi interaksiyonunun  $L^*$  değeri üzerinde, kaplama materyalinin, emülsiyon hacminin, kaplama materyali  $\times$  emülsiyon hacmi, emülsiyon hacmi  $\times$  emülsiyon süresi interaksiyonunun  $a^*$  değeri üzerinde, kaplama materyalinin, emülsiyon süresinin, kaplama materyali  $\times$  emülsiyon süresi interaksiyonunun  $b^*$  değeri üzerindeki etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.30 : Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları.**

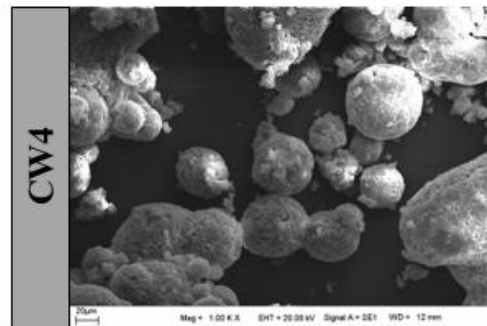
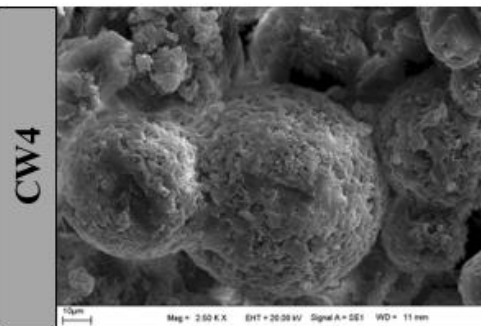
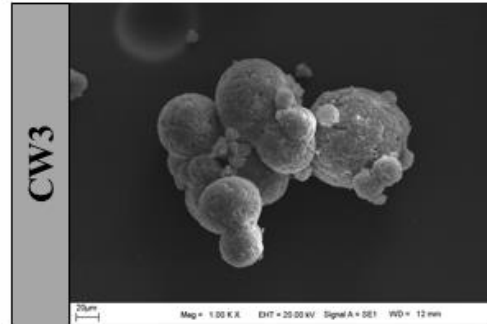
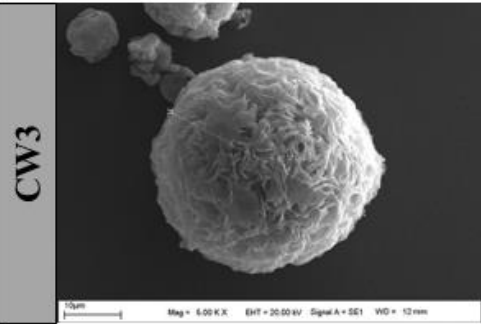
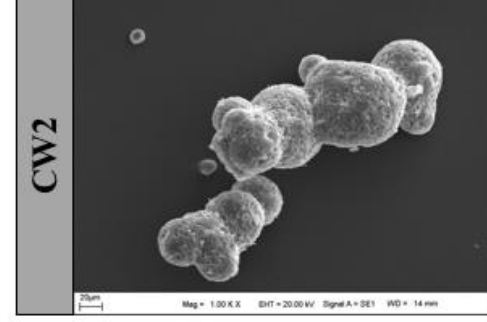
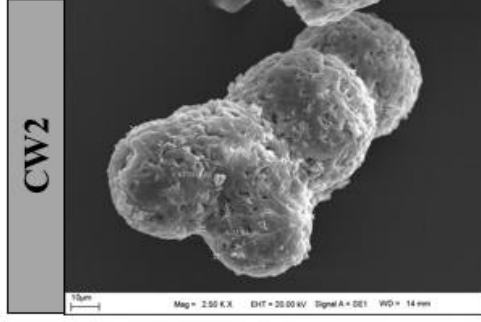
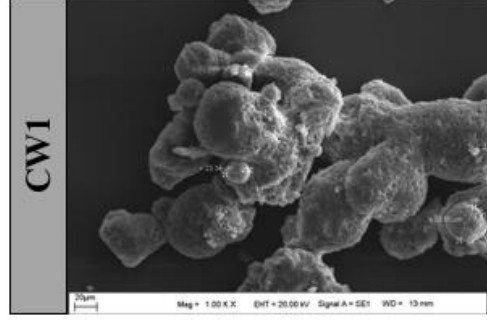
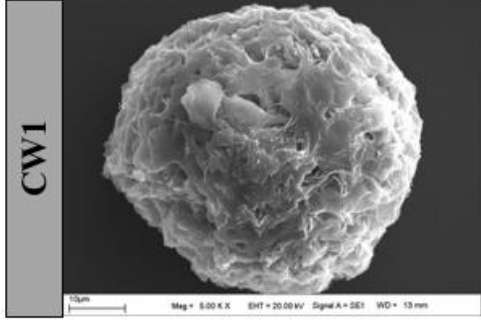
Varyasyon kaynakları		KO	F	P
Kaplama materyali	$L^*$	5.544	1575.687	<b>0.000</b>
	$a^*$	0.002	32.709	<b>0.000</b>
	$b^*$	0.845	453.691	<b>0.000</b>
Emülsiyon hacmi	$L^*$	0.002	0.430	0.518
	$a^*$	0.000	4.839	<b>0.038</b>
	$b^*$	0.005	2.423	0.133
Emülsiyon süresi	$L^*$	0.061	17.407	<b>0.000</b>
	$a^*$	0.000	3.097	0.091
	$b^*$	0.026	14.201	<b>0.000</b>
Kaplama materyali $\times$ Emülsiyon hacmi	$L^*$	0.078	22.170	<b>0.000</b>
	$a^*$	0.000	12.387	<b>0.002</b>

**Çizelge 4.30** : Renk değerlerine ait varyans analizi sonuçları (devam).

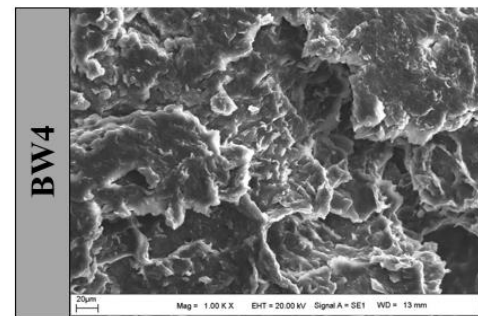
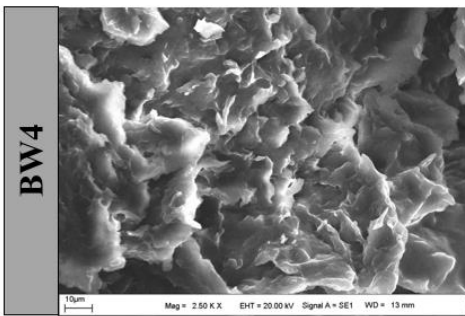
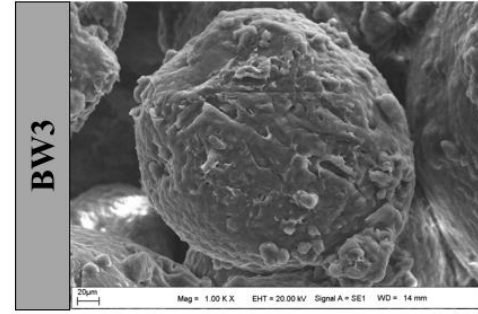
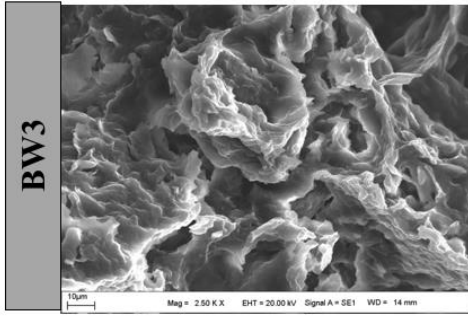
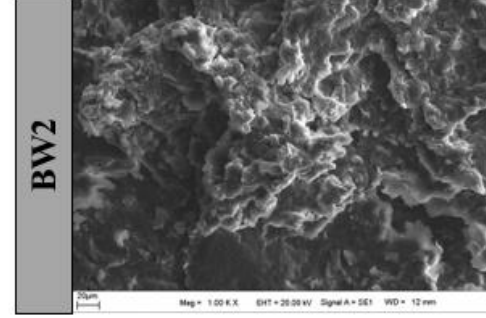
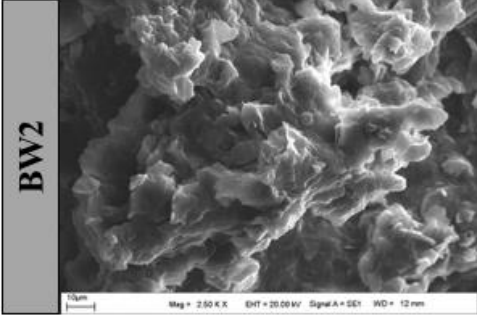
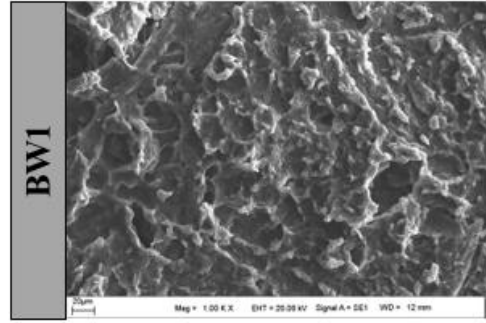
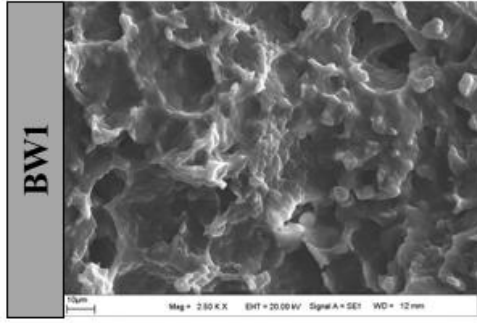
	$b^*$	0.002	0.966	0.335
	$L^*$	0.039	11.140	<b>0.003</b>
Kaplama materyali × Emülsiyon süresi	$a^*$	0.000	0.194	0.664
	$b^*$	0.035	18.852	<b>0.000</b>
	$L^*$	0.008	2.220	0.149
Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	$a^*$	0.000	4.839	<b>0.038</b>
	$b^*$	0.003	1.718	0.202
	$L^*$	0.005	1.282	0.269
Kaplama materyali × Emülsiyon hacmi × Emülsiyon süresi	$a^*$	0.000	0.774	0.388
	$b^*$	0.002	1.134	0.297

#### 4.3.6 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Melt dispersiyon tekniği ile elde edilen yeşil çay ekstraktı yüklü mikrokapsüllerin genel görüntülerinin, küresel formlarının, morfolojik yapılarının belirlenmesi amacıyla SEM görüntüleri incelenmiştir. Mikrokapsüllere ait SEM görüntüleri Şekil 4.30-31'deki gibidir.



Şekil 4.30 : Karnauba vaks ile elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri.



Şekil 4.31 : Balmumu kullanılarak elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri.

Şekil 4.30 incelendiğinde karnauba vaks ile elde edilen mikropartiküllerin düzgün küresel formda olduğu saptanmıştır. Mikropartiküllerin yüzeylerinin çoğunlukla pürüzsüz olduğu ancak gözenekli bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Mikropartiküllerin yüzeylerinde çatlakların olmadığı saptanmıştır. Katı lipit partikül eldesinde uygulanan emülsiyon süresi ve ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarındaki farklılığın partiküllerin yüzey morfolojilerinde ve şekillerinde büyük bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır. Ayrıca karnauba vaks ile elde edilen partiküllerin yer yer birbirlerine aglomere olduğu görülmüştür. Kim ve diğ. (2012), vitamin C'yi kozmetik alanında kullanmak üzere karnauba vaks ile enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin küresel formda ve yer yer aglomera olduğu saptanmıştır. Elde ettikleri partiküllerin yüzey morfolojilerinin çalışmamızdaki ile benzer ve pürüzsüz bir yapıda olduğu tespit edilmiştir. Cabrera ve diğ. (2014), Costa ve diğ. (2020), Milanovic ve diğ. (2010), Milanovic ve diğ. (2011), Milanovic ve diğ. (2017), Nandy ve diğ. (2020), Rocha ve diğ. (2020), Shaki ve diğ. (2014) karnauba vaks kullanarak melt dispersiyon tekniğiyle elde ettikleri mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin çalışmamızdaki kapsüllerin yüzey morfolojileri ile oldukça benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Elde ettikleri partiküllerin düzgün küresel formda olduğunu çoğunluğunun pürüzsüz yapıya sahip olduğunu belirtmişlerdir. Milanovic ve diğ. (2011), elde ettikleri mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin ise çalışmamıza kıyasla daha da pürüzsüz olduğu görülmüştür. Bu durumun kullanılan emülsifiyer çeşidindeki ve emülsifiyer konsantrasyonundaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Şekil 2.10'da görüldüğü üzere katı lipit nanopartiküllerin dış tabakasının surfaktan tabakasının katkısıyla oluştuğu görülmüştür. Dolayısıyla kullanılan surfaktan tipinin dış tabakanın morfolojik yapısını etkilediği düşünülmüştür. Costa ve diğ. (2020) karnauba vaks bazlı taşıyıcı sitem kullanarak emülsiyon bazlı öncül sistemlerle katı lipit mikropartikül (SLM) eldesinde karıştırma hızı ve süresinin etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri mikropartiküllerin SEM görüntülerinden mikrokapsüllerin çalışmamızdakine oldukça benzer ve küresel formda olduğu görülmüştür. 15000 rpm'de 5 dk süre ile elde ettikleri mikropartiküllerin SEM görüntüleri incelendiğinde elde ettikleri mikropartiküllerin hem şekilleri hem de yüzey morfolojilerinin çalışmamızdaki mikropartiküllerin (aynı karıştırma hızı ve süresi ile elde edilen) şekil ve yüzey morfolojileriyle oldukça benzer olduğu görülmüştür. Bu durum bize SLM eldesinde emülsiyon oluşumunda kullanılan emülsifiyer tipinin aynı olmasının, karıştırma hızı ve süresinin aynı olmasının partiküllerin şekilleri ve morfolojilerinde önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Yüksek karıştırma hızında elde ettikleri mikropartiküllerin yüzeylerinin daha da pürüzsüz olduğu görülmüştür. Karıştırma hızı azaldıkça elde ettikleri

mikropartiküllerin çaplarının arttığını belirtmişlerdir. Karıştırma süresinin azalması ile emülsifiye olmayan vaks kristallerinin saptandığını belirtmişlerdir.

Balmumunun karnauba vaksıya kıyasla (82-86 °C) daha düşük erime noktasına (56-60 °C) sahip olması erime ve donma noktaları arasında daha az farkın olmasından daha yavaş katılaşmasına ve dolayısıyla bu durumun da aglomerasyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Milanovic ve diğ., 2017). Bu durumun balmumu ile elde edilen mikropartiküllerin Şekil 4.31'deki gibi yapışkan bir yapıdaki aglomera yapı içerisinde kalmasına neden olduğu düşünülmüştür. Ayrıca karnauba vaks ile elde edilen partiküllerin düzenli küresel yapısı ve daha pürüzsüz yüzey yapısına sahip olmasına karşın balmumu ile elde edilen partiküllerin karnauba vaks partiküllerine kıyasla yüzey yapısında düzensizlikler ve çıkıntılar olduğu saptanmıştır. Bu durumun balmumu partiküllerin hızlıca katılaşmaması ile alakalı olduğu bildirilmiştir (Milanovic ve diğ., 2017). Milanovic ve diğ. (2017), karnauba vaks ve balmumu vaksı ve bunların karışımını kaplama maddesi olarak kullanmış ve melt dispersiyon tekniğiyle hidrofobik aroma maddelerinin enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Saf balmumu kullanılarak elde ettikleri mikropartiküllerin de yüzey morfolojilerinin oldukça benzer olduğu görülmüştür. Milanovic ve diğ. (2017), kaplama materyali karışımı içerisinde kullanılan balmumu konsantrasyonunun artmasıyla katılaşma esnasında daha pürüzlü bir yüzey yapısının oluştuğunu saptamışlardır. Ayrıca karnauba vaks ve balmumu vaksının SEM görüntülerindeki bu farklılığın katılaşma sırasında vakslerin kristalizasyonu esnasında polimorfik formlarındaki farklılıkla da alakalı olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda bulduğumuz partiküllerin SEM görüntülerinin literatürdeki bulgularla oldukça benzer olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz mikropartiküllerin SEM görüntüleri incelendiğinde katı lipit mikropartikül eldesinde kullanılan lipit taşıyıcı sistemlerin partiküllerin yüzey morfolojilerinde, şekillerinde ve boyutları üzerinde etkili olduğu saptanmıştır.

#### **4.3.7 Partikül boyut dağılımı**

Yeşil çay ekstraktı karnauba vaks ve balmumu gibi farklı kaplama materyali ile SLN-melt dispersiyon tekniğiyle vaks bazlı taşıyıcı sistemler aracılığıyla Çizelge 3.5'deki deneme dizaynı kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Elde edilen kapsüllerin partikül boyutları ve span değerleri Çizelge 4.31'de, partikül boyut dağılım grafikleri ise Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Çizelgede yer alan span değeri partikül boyut dağılımının homojenliğini göstermektedir. Span değeri partikül boyut ölçümünde kullanılan Malvern Mastersizer 2000 (Malvern

Instruments Ltd., UK) cihazının yazılımı tarafından eşitlik 4.3 kullanılarak hesaplanmıştır. Aynı örnek için cihazda 3 ölçüm alınmıştır ve bunların ortalama değerleri çizelgede gösterilmiştir. Bu yüzden standart sapma değerleri çizelgede bulunmamaktadır.

$$\text{Span} = \frac{(d(0.9) - d(0.1))}{d(0.5)} \quad (4.3)$$

Çizelgedeki ve denklemdaki d (0.1), d (0.5), d (0.9) değerleri partiküllerin sırasıyla %10, %50, %90'ının çizelgede verilen boyutlardan küçük olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.31 : SLN-melt dispesiyon tekniğiyle elde edilen kapsüllerin partikül boyutları.**

Örnek kodu*	Spesifik yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	Yüzey ağırlıklı ortalama D[3,2] (µm)	Hacim ağırlıklı ortalama D[4,3] (µm)	d (0.1) (µm)	d (0.5) (µm)	d (0.9) (µm)	Span
CW1	0.0508	119.191	215.760	62.371	184.869	419.205	1.930
CW2	19.4	0.312	0.326	0.241	0.322	0.419	0.554
CW3	0.0782	77.544	171.844	36.669	138.368	359.035	2.330
CW4	0.0836	72.479	160.408	34.982	134.660	325.787	2.160
BW1	-	-	-	-	-	-	-
BW2	-	-	-	-	-	-	-
BW3	-	-	-	-	-	-	-
BW4	-	-	-	-	-	-	-

\* Örnek kodlarına ait bilgi Çizelge 3.5'de gösterilmiştir.

Karnauba vaks kullanılarak SLN-melt dispesiyon tekniğiyle elde edilen partiküllerin yüzey ağırlıklı ortalama çaplarının 0.312-119 µm arasında olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon süresinin 5 dk'dan 10 dk'ya artması ile elde edilen partiküllerin çaplarının azaldığı tespit edilmiştir. En düşük partikül çaplarının 10 dk'lık emülsiyon sonucu elde edilen partiküllere ait olduğu saptanmıştır. Bu durum uzun süren karıştırma işlemi ile yağ fazında sulu fazın (yeşil çay ekstraktı) daha küçük damlacıklar şeklinde dağılmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Yağ fazı ve sulu fazın hacimsel oranının elde edilen mikropartiküllerin boyutlarını etkileyen parametrelerden biri olduğu belirtilmiştir (McClements, 1999). Çalışmamızda CW1 kodlu örnekte yağ fazı ve su fazı oranı 30:15 (g:mL) iken ve CW3 kodlu örneklerde yağ fazı ve su fazı oranı 30:30 (g:mL) olacak şekilde 5 dk'lık emülsiyon süresi ile oluşturulmuştur. Benzer durum 10 dk emülsiyon ile oluşturulan örnekler için de geçerlidir (CW2 ve CW4 kodlu örnekler). Elde edilen partiküllerin yüzey

ağırlıklı ortalama çaplarının farklı olduğu görülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgunun literatür bilgisiyle uyumlu olduğu görülmüştür.

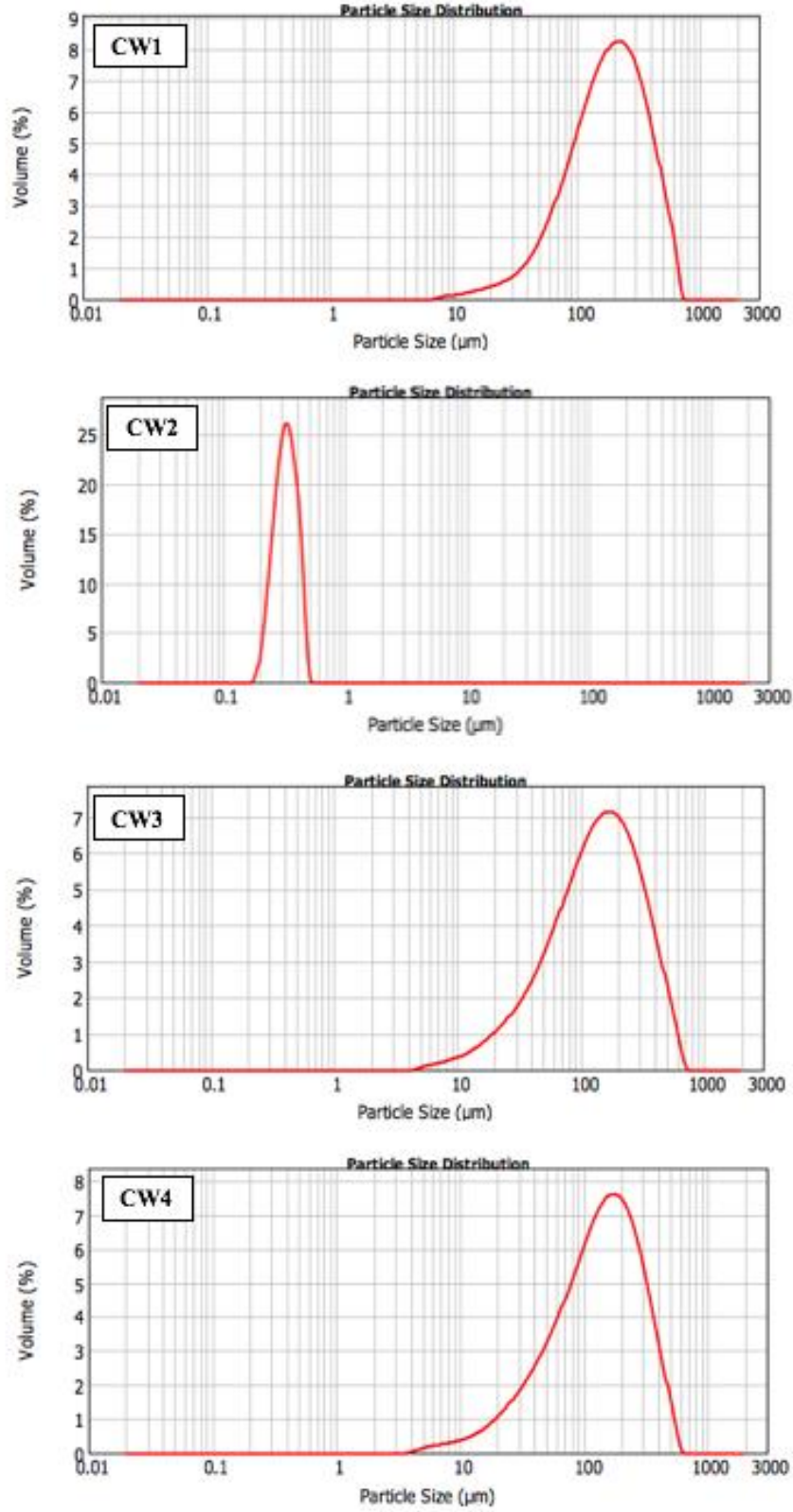
Damlacık veya mikrokürelerin boyutları fazlar arasında oluşan arayüzey kuvvetleri arasındaki denge ile oluşur. Karıştırma işlemi ile arayüzey kuvvetleri kırılarak daha küçük mikropartiküllerin eldesi sağlanır (Milanovic ve diğ., 2011). Dolayısıyla karıştırma süresi arttıkça fazların birbiri içerisinde dağılım oranı artmaktadır. Bu da partikül boyut dağılımının daha dar bir aralıkta ve daha küçük olmasını sağladığı düşünülmüştür. Aynı zamanda karıştırma işlemindeki karıştırma hızının da sözkonusu ara yüzey kuvvetlerini yeterli düzeyde kırarak güçlükte (hızda) olması daha küçük mikropartiküllerin eldesini sağlamaktadır (Milanovic ve diğ., 2011).

Katı lipit nanopartikül üretiminde farklı öncülleri kullanan çeşitli metotlar mevcuttur. Emülsiyon, mikroemülsiyon gibi öncüller SLN (katı lipit nanopartikül) üretirken bazı öncüller ve metotlar SLM (katı lipit mikropartikül) üretirler. SLN-melt dispersiyon tekniğiyle emülsiyonlardan mikropartiküller elde edilir. Elde edilen partiküllerin çaplarının 1-250 µm arasında olduğu bildirilmiştir (Singh, 2019). Dolayısıyla çalışmamızda da bu teknikte elde edilen kapsüllerin mikron boyutta olduğu tespit edilmiştir. Kurutma sonucunda karnauba vaks kullanılarak üretilen kapsüller öğütülerek toz haline getirilmiş ve 425 µm laboratuvar test eleklerinde eilenmiştir. Balmumu kullanılarak elde edilen kapsüllerin yapışkan yapısından kaynaklı olarak partiküllerin birbirine yapışması bu öğütme işlemini mümkün kılmamıştır. Dolayısıyla balmumu kullanarak elde edilen partiküller toz formuna getirilemediğinden Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., UK) cihazı aracılığıyla partikül boyutları ölçülemediği görülmüştür. Ancak balmumu kullanılarak elde edilen kapsüllerin SEM görüntüleri incelendiğinde elde edilen partiküllerin yaklaşık olarak 10 µm'den düşük olduğu görülmektedir.

Vaks kapsüllerinin üretiminde sıklıkla kullanılan iki teknik mevcuttur. Birincisi "katı" teknik ikincisi "sıvı" tekniktir. Katı teknikte enkapsüle edilen fonksiyonel bileşeni içeren sıcak vaksın bir tabaka üzerinde katılaştırılmasını içerir ve 0.1-1 cm çap aralığında partiküllerin oluşmasını sağlar. Sıvı teknik ise fonksiyonel bileşeni içeren sıcak vaksın yüksek kesmeli karıştırıcı ile karışma eşliğinde soğuk yağ içerisine enjeksiyonunu içeren tekniktir. Bu teknik ise 150-500 µm çaplarında partikül üretimini sağlar. Gelecek vaat eden diğer bir teknik ise erimiş vaksın sulu faz içerisine emülsifikasyonu ve ardından soğutmaya dayalı katılaştırma olan "Melt Dispersiyon" tekniğidir (Mellema ve diğ., 2006). SLN, sıcak

O/W nanoemülsiyonlarından elde edilebilirler (damlacık boyutu  $< 1\mu\text{m}$ ). Bu teknik sıcak homojenizasyon tekniği olarak bilinir. Sıcak homojenizasyon eldesinde yüksek basınçlı homojenizasyon, yüksek kesmeli homojenizasyon ve ultrasound homojenizasyon gibi farklı teknikler kullanılır. SLM ise sıcak emülsiyonlardan elde edilir (damlacık boyutu  $> 1\mu\text{m}$ ). Bu teknik ise melt dispersiyon tekniği olarak bilinir. O/W veya çoklu W/O/W öncül emülsiyonları kullanılır (Battaglia ve diğ, 2014). Melt dispersiyon tekniği 50-150  $\mu\text{m}$  boyutlarında kendiliğinden akan partiküllerin eldesini sağlayan bir metottur (Nandy ve diğ, 2020). Dolayısıyla bu teknikle elde ettiğimiz partiküllerin mikron boyutta olmasından elde edilen partikülleri katı lipid mikropartiküller (SLMs) olarak adlandırmak mümkündür. Vakslar yaygın olarak farmakolojik uygulamalarda lipid taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadır. (Mellema ve diğ, 2006). Lipid nanotaşıyıcı sistemler genellikle resveratrol veya kurkumin gibi hidrofobik polifenollerin ve hidrofobik bileşenlerin enkapsülasyonunda kullanılmaktadır. Aynı zamanda hidrofilik polifenollerin lipid taşıyıcı sistemlere başarılı bir şekilde yüklenmesi konusunda birkaç çalışma da mevcuttur (Moral, 2019). Milanovic ve diğ. (2011), karnauba vaks kullanarak vaks konsantrasyonu, emülsifiyer konsantrasyonu, karıştırma hızı ve karıştırma süresi gibi parametrelerin elde edilen partiküllerin şekilleri, boyutları, yüzey morfolojisi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri partiküllerin ortalama partikül çaplarının 169.4-480.8  $\mu\text{m}$  arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Milanovic ve diğ. (2010), etil vanilini karnauba vaks kullanarak melt dispersiyon tekniğiyle enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri partiküllerin çoğunluğunun ortalama çaplarının emülsifiyer konsantrasyonuna bağlı olarak 210-360  $\mu\text{m}$  arasında olduğunu küçük bir miktarının ortalama çaplarının ise 500  $\mu\text{m}$  üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Mellema ve diğ. (2006), indigo karmin yüklü karnauba vaks partiküllerinin hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 170-350  $\mu\text{m}$  aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Milanovic ve diğ. (2010) ve Mellema ve diğ. (2006), literatürde en yüksek ortalama partikül boyutunun  $\sim 40\mu\text{m}$  olduğunu en düşük ortalama partikül boyutunun ise Heath ve Prinz (1999) tarafından tespit edilen  $\sim 22\mu\text{m}$  olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen boyutların literatürde yapılan çalışma sonuçlarıyla benzer olduğu ancak en düşük ve en yüksek partikül boyutuna kıyasla da yüksek olduğu görülmüştür. Mellema ve diğ. (2006), bu durumun Turraksın vaks partiküllerinin vaksın katılaşmasından hemen önce yeterli hızda dağıtamamasından ve vaksın diğer lipid bazlı taşıyıcı sistemlere kıyasla hızlı katılaşmasından kaynaklanabileceği şeklinde açıklamışlardır. Ayrıca bu durumun karıştırma hızı ve süresi, kullanılan emülsifiyer tipi ve konsantrasyonu,

katılaştırmada kullanılan teknikteki farklılıklardan da kaynaklı olabileceği düşünölmüştür. Daha küçük partiköl boyutu eldesi için karıştırma hızının arttırılması önerilebilir.



şekil 4.32 : Karnauba vaks kullanılarak elde edilen SLM'lerin partiköl boyut dağılım grafikleri.

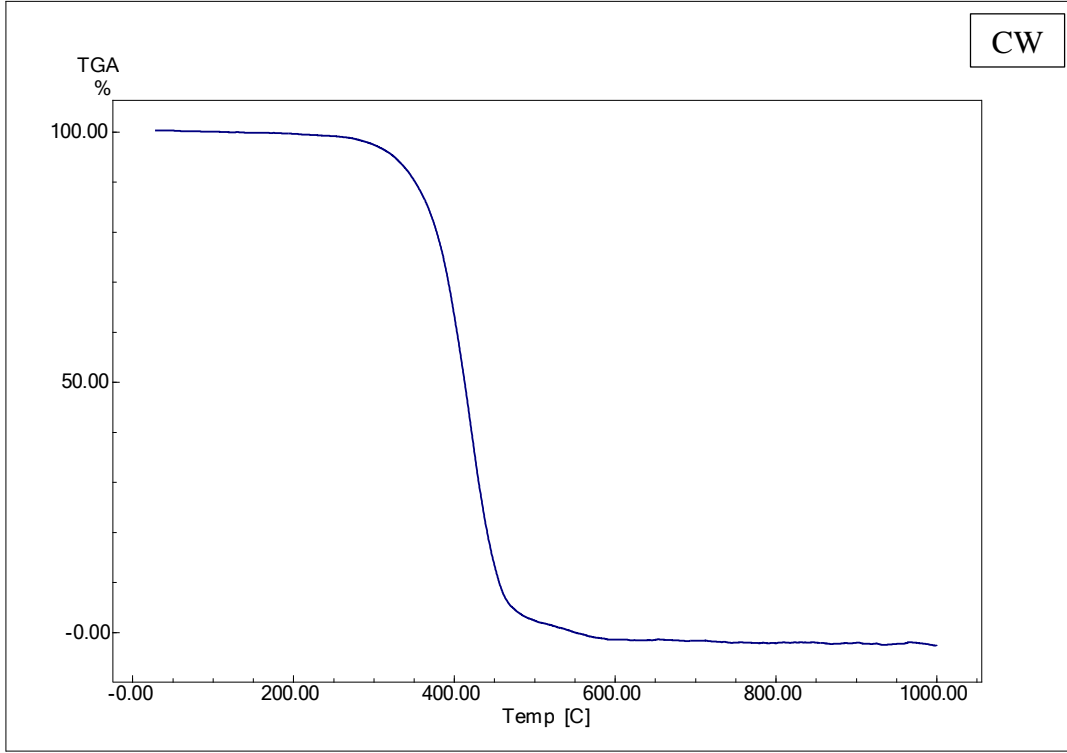
#### 4.3.8 Termogravimetrik analiz (TGA)

Katı lipid nanopartikül (SLN) melt dispersiyon tekniği ile elde edilen en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip SLM'lere ait mikropartiküllerin (CW4 ve BW4), enkapsülasyonda kullanılan kaplama maddelerinin (karnauba vaks ve balmumu) ve aktif maddenin (dondurularak kurutulmuş yeşil çay ekstraktının) termal stabiliteleri termogravimetrik analiz gerçekleştirilerek saptanmıştır. TGA sonucunda elde edilen termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları Çizelge 4.32-4.33'de termal karakteristik eğrileri ise Şekil 4.33-4.38'deki gibidir.

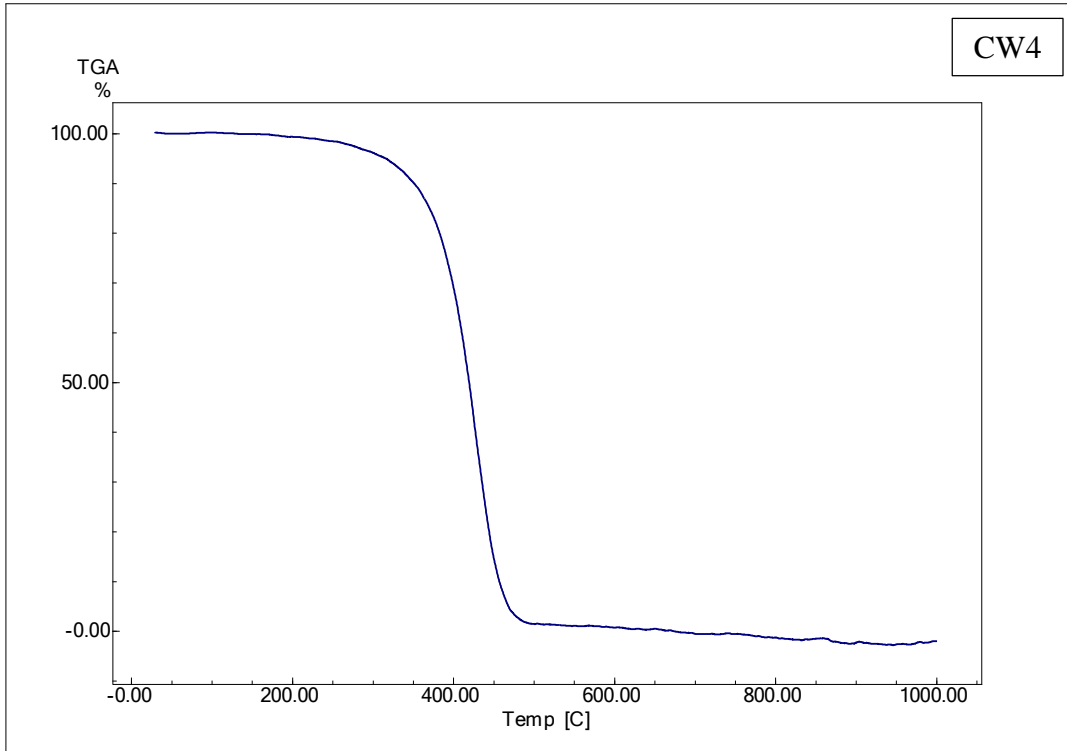
**Çizelge 4.32 : TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.**

Örnek Kodu*	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	M <sub>loss</sub> (%)
<b>1. Basamak</b>			
CW	378.34	450.22	93.879
YÇ	52.66	93.06	6.135
CW4	388.67	456.46	95.902
<b>2. Basamak</b>			
CW	-	-	-
YÇ	192.48	359.78	51.732
CW4	-	-	-
<b>3. Basamak</b>			
CW	-	-	-
YÇ	626.69	846.85	13.966
CW4	-	-	-

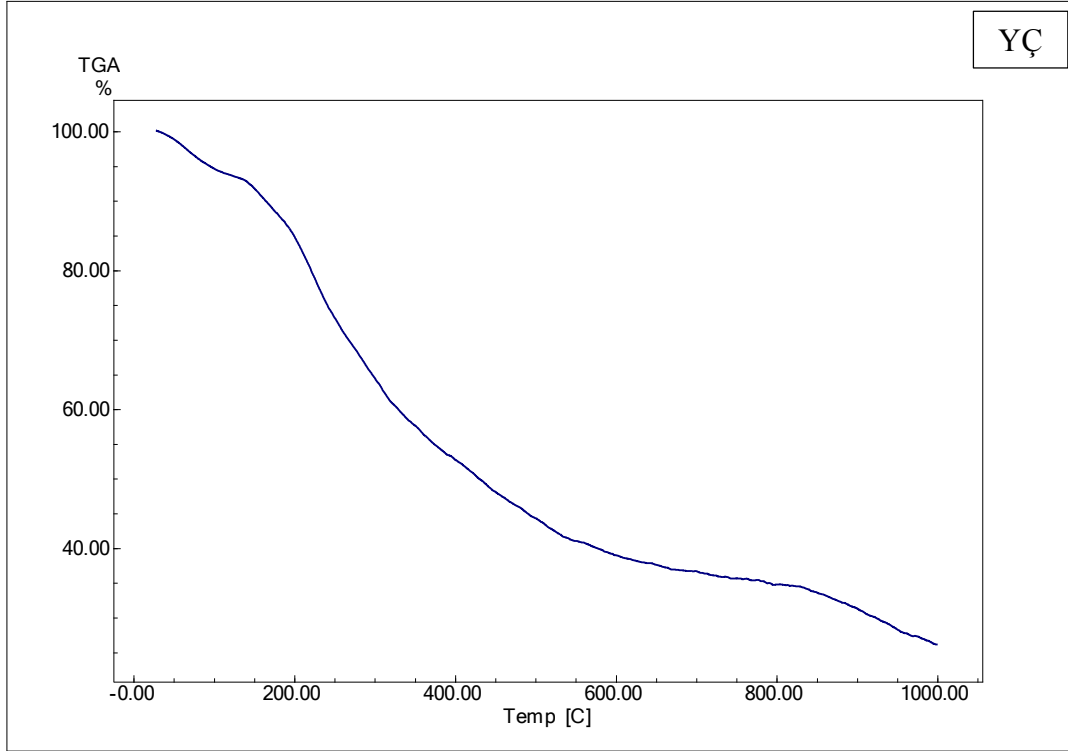
\*CW: Karnauba vaks; YÇ: Dondurularak kurutulmuş yeşil çay ekstraktı; CW4: İlk emülsiyondaki yeşil çay miktarı 30 mL, emülsiyon süresi: 10 dk olan üretim.



Şekil 4.33 : Karnauba vaksa ait TGA eğrisi.



Şekil 4.34 : CW4 kodlu örneğe ait TGA eğrisi.



**Şekil 4.35 :** Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.

Kaplama materyali olarak kullanılan karnauba vaksın (CW) uygulanan sıcaklık karşısında Çizelge 4.32’de görülen tek aşamalı termal dekompozisyonu saptanmıştır. 378.34-450.22 °C arasında gerçekleşen termal dekompozisyonda kütle kaybı %93.879 olarak saptanmıştır. Enkapsüle olan yeşil çay ekstraktında (CW4) da uygulanan sıcaklık karşısında tek aşamalı termal dekompozisyon saptanmıştır. Termal dekompozisyonun saptandığı sıcaklık aralığı ise 388.67-456.46 °C iken bu sıcaklık aralığında gerçekleşen kütle kaybının %95.902 olduğu saptanmıştır. Tek aşamada gerçekleşen bu kütle kaybının karnauba vaksın termal dekompozisyonundan, etken maddenin termal bozunmasından ve dehidrasyon reaksiyonlarından kaynaklandığı düşünülmüştür. Milanovic ve diğ. (2010), etil vanilinin enkapsülasyonunda 250 °C üzerindeki termal dekompozisyonun yüksek sıcaklık altında karnauba vaksın transformasyonunun sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Karnauba vaksınla ilgili kütle kaybının 360-520 °C aralığı civarında gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. En yüksek kütle kaybının ise yaklaşık 360 °C civarında gerçekleştiğini saptamışlardır. Dolayısıyla etil vanilinin vaks ile enkapsülasyonu aroma maddesinin 200 °C ye kadar tamamen koruduğunu enkapsüle etil vanilinin fırıncılık ürünlerindeki en yüksek sıcaklığa kadar dayanıklı olduğunu belirtmişlerdir. Freitas ve diğ. (2016), karnauba vaks p-methoksisinnamik diesterlerin en yüksek kütle kaybının 333.81-389.49 °C aralığında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Galvao ve diğ (2020), Karvakrolü stearik asit, karnauba vaks

ve balmumu kullanarak SLN metoduyla enkapsüle etmişlerdir. Karnauba vaks ve balmumu vaksın termogravimetrik kurveleri incelendiğinde bizim çalışmamızdaki gibi tek aşamada termal dekompozisyon görülerek sadece tek aşamada kütle kaybının olduğunu belirtmişlerdir. Balmumu için bu sıcaklık aralığının 180-480 °C aralığında  $T_{peak} = \sim 396.7$  °C olduğu ve kütle kaybının %99.5 olduğunu, karnauba vaks için ise bu sıcaklık aralığının 250-500 °C aralığında  $T_{peak} = \sim 426.21$  °C olduğu kütle kaybının ise %98.5 olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz sonuçların literatürdeki bu sonuçlarla benzer olduğu görülmüştür. Literatürdeki kütle kaybının çalışmamızda bulduğumuz kütle kaybindan fazla oluşu enkapsüle edilen bileşenin (karvakrol) uçucu monoterpenoid fenol yapısı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

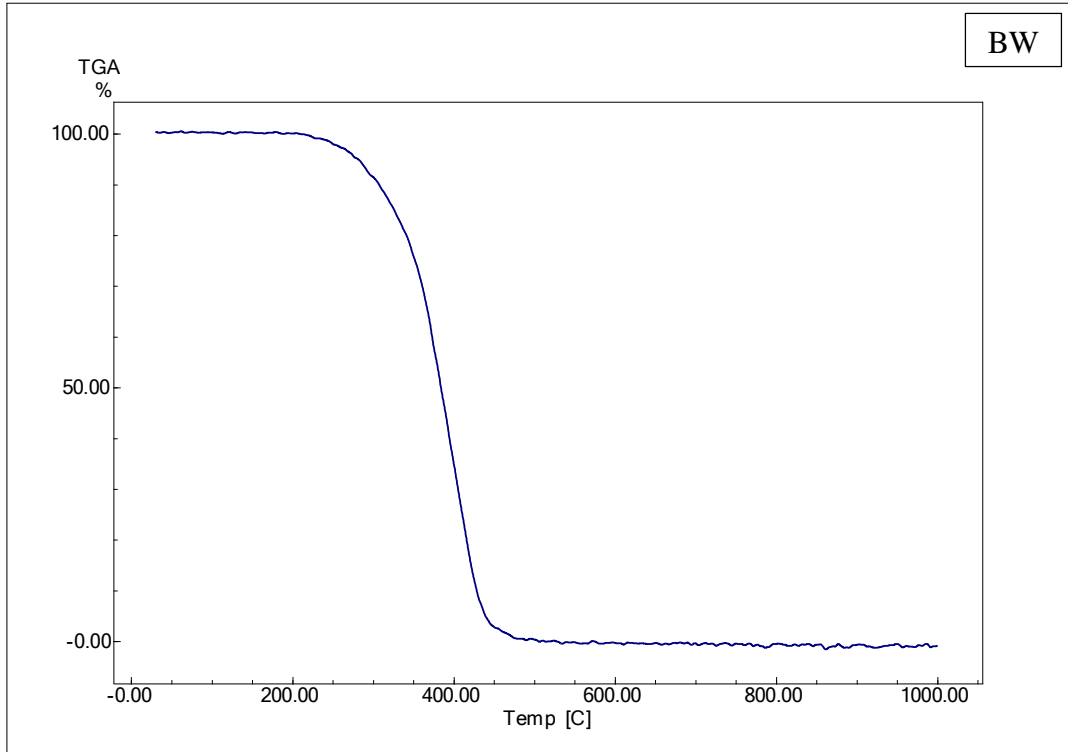
Yeşil çay ekstraktında ise termal dekompozisyonun üç aşamada gerçekleştiği saptanmıştır. 1. aşamadaki termal dekompozisyon 52.66-93.06 °C arasında %6.135 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. Yeşil çay ekstraktında birinci aşamada görülen bu kütle kaybının dondurarak kurutulmuş yeşil çay ekstraktı içerisindeki nemden kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yeşil çay fenolik bileşenlerinin 80 °C üzerindeki sıcaklıklarda epimerizasyona uğradığı bilinmektedir (Vuong ve diğ, 2010). Söz konusu kütle kaybının bu durum ile ilişkili olabileceği de düşünülmüştür. Yeşil çayda ikinci basamakta gerçekleşen termal dekompozisyonun 192.48-359.78 °C arasında olduğu saptanmıştır. Enkapsüle örneğin birinci aşamadaki termal dekompozisyon sıcaklığının (388.67 °C) enkapsüle olmayan yeşil çay örneğine (192.48 °C) kıyasla çok yüksek olduğu görülmüştür. Dolayısıyla yeşil çay ekstraktının karnauba vaks kullanılarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyonunun termal bozunma sıcaklığını yükselttiği ve yeşil çay ekstraktının termal stabilitesini arttırdığı düşünülmüştür. Elde edilen mikropartiküllerin termal stabilitesi partiküllerin gıda ürünlerine eklenmesi durumunda önemli rol oynayan bir faktördür (Castro-Lopez ve diğ, 2021). Yeşil çay ekstraktının karnauba vaks kullanılarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyonu ile elde edilen örneklerin termal dekompozisyonun başlangıcının 388.67-456.46 °C'de gerçekleştiğinin tespit edilmesiyle söz konusu enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşacağı sıcaklık uygulamalarında oldukça stabil olduğunu söylemek mümkündür. Dolayısıyla bu durum enkapsüle örneğin fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olmuştur.

Kaplama materyali olarak balmu kullanılarak elde edilen en yüksek enkapsülasyon etkinliğe sahip SLM'ye ait termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları Çizelge 4.33'de, termal karakteristik eğrileri ise Şekil 4.36-4.38'de gösterilmiştir.

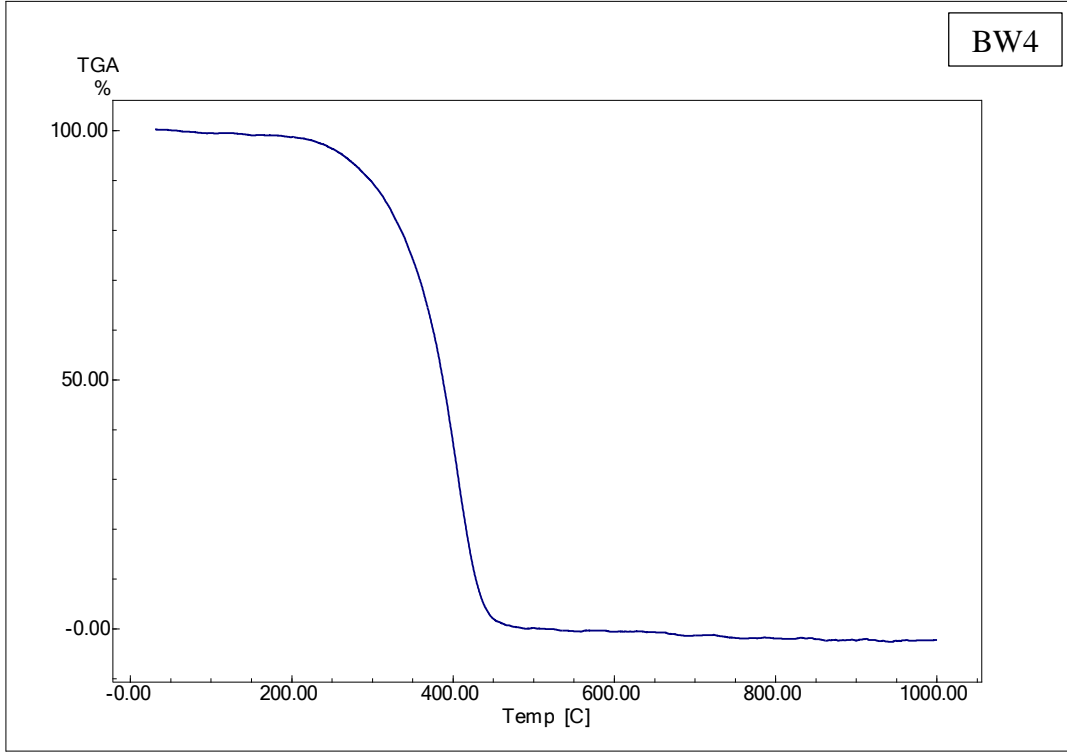
**Çizelge 4.33 :** TGA analizi sonucunda termal dekompozisyon sıcaklıkları ve basamakları.

Örnek Kodu*	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>endset</sub> (°C)	M <sub>loss</sub> (%)
<b>1. Basamak</b>			
BW	344.55	432.39	98.589
YÇ	52.66	93.06	6.135
BW4	352.53	434.87	98.388
<b>2. Basamak</b>			
BW	-	-	-
YÇ	192.48	359.78	51.732
BW4	-	-	-
<b>3. Basamak</b>			
BW	-	-	-
YÇ	626.69	846.85	13.966
BW4	-	-	-

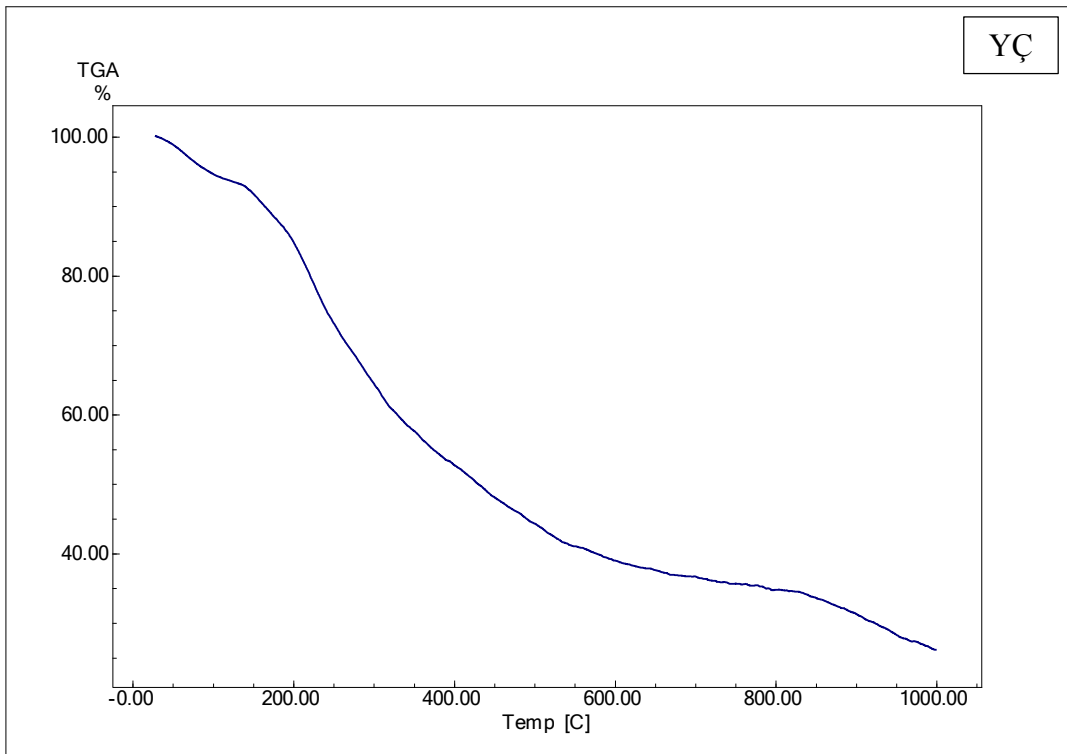
\*BW: Balmumu; YÇ: Dondurularak kurutulmuş yeşil çay ekstraktı; BW4: İlk emülsiyondaki yeşil çay miktarı 30 mL, emülsiyon süresi: 10 dk olan üretim.



**Şekil 4.36 :** Balmumuna ait TGA eğrisi.



Şekil 4.37 : BW4 kodlu örneğe ait TGA eğrisi.



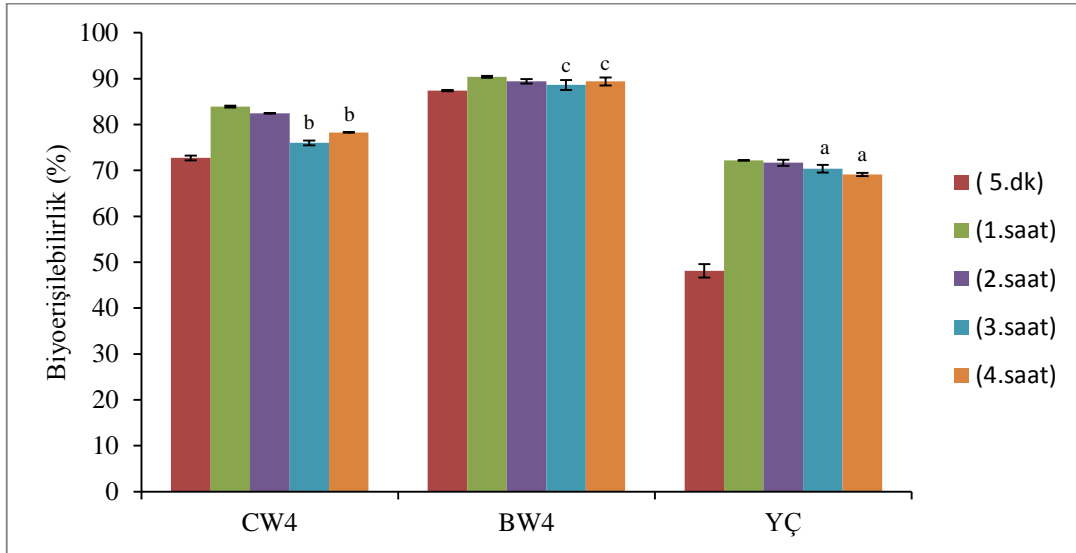
Şekil 4.38 : Yeşil çay ekstraktına ait TGA eğrisi.

Kaplama materyali olarak kullanılan balmumunun (BW) uygulanan sıcaklık karşısında Çizelge 4.33’de görülen tek aşamalı termal dekompozisyonu saptanmıştır. 344.55-432.39 °C arasında gerçekleşen termal dekompozisyonda kütle kaybı %98.589 olarak saptanmıştır. Balmumu ile yeşil çayın enkapsülasyonu (BW4) sonucunda da uygulanan sıcaklık karşısında tek aşamalı termal dekompozisyon saptanmıştır. Termal dekompozisyonun saptandığı sıcaklık aralığı ise 352.53-434.87 °C iken bu sıcaklık aralığında gerçekleşen kütle kaybının %98.388 olduğu saptanmıştır. Enkapsüle yeşil çay ekstraktında (BW4) termal dekompozisyonunun başladığı sıcaklığın kaplama materyali olarak kullanılan balmumunun termal dekompozisyon sıcaklığından yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun etken madde ile balmumu arasında gerçekleşen reaksiyondan kaynaklandığı düşünülmüştür. Tek aşamada gerçekleşen bu kütle kaybının balmumunun termal dekompozisyonundan, etken maddenin termal bozunmasından ve dehidrasyon reaksiyonlarından kaynaklandığı düşünülmüştür. Galvao ve dig. (2020), Karvakrolü stearik asit, karnauba vaks ve balmumu kullanarak SLN metoduyla enkapsüle etmişlerdir. Karnauba vaks ve balmumu vaksın termogravimetrik kurveleri incelendiğinde bizim çalışmamızdaki gibi tek aşamada termal dekompozisyon görülerek sadece tek aşamada kütle kaybının olduğunu belirtmişlerdir. Balmumu için bu sıcaklık aralığının 180-480 °C aralığında  $T_{peak} = \sim 396.7$  °C olduğu ve kütle kaybının %99.5 olduğunu belirtmemişlerdir. Literatürdeki bu bulgunun çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızdaki kütle kaybının (%98.589) literatürdekinden (%99.5) daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durumu enkapsüle olan etken maddenin kimyasal özellikleri ile açıklamak mümkündür. Etken maddenin uçucu monoterpenoid fenol yapısı çalışmamıza kıyasla kütle kaybının daha yüksek olmasına neden olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yine bu çalışmada kaplama materyali olarak balmumu kullanıldığı durumlarda kütle kaybının karnauba vaksı kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da aynı sonuç saptanmıştır. Balmumu için bu sıcaklık aralığının 180-480 °C aralığında  $T_{peak} = \sim 396.7$  °C olduğu ve kütle kaybının %99.5 olduğunu, karnauba vaks için ise bu sıcaklık aralığının 250-500 °C aralığında  $T_{peak} = \sim 426.21$  °C olduğu kütle kaybının ise %98.5 olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise balmumu için kütle kaybı %98.589 olarak saptanırken karnauba vaks kullanılması durumunda kütle kaybının %93.879 olduğu saptanmıştır. Bu durumu balmumunun erime noktasının karnauba vaksın erime noktasından daha düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Nandy ve diğ. (2020), retinil palmitatı kozmetik uygulamalarında kullanmak amacıyla parafin vaks, balmumu ve karnauba vaks kullanarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsüle etmişlerdir. TGA analizi sonucunda balmumu örneklerinin termal dekompozisyonunun tek aşamada olarak 312-465 °C aralığında en yüksek dekompozisyonun 375 °C'de gerçekleştiğini belirtmişlerdir. 465 °C'den sonra dekompozisyonun tamamlandığını belirtmişlerdir. Karnauba vaksta ise yine tek aşamalı termal dekompozisyon görülüp termal dekompozisyonun başlama sıcaklığının 381 °C olduğu en yüksek termal dekompozisyonun ise 426 °C de gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Karnauba vaks ile elde ettikleri mikrokapsüllerin termal dekompozisyon başlama sıcaklığının balmumuna kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla enkapsülasyonda kullanılan vakslar arasında termal stabilitesi en yüksek vaksın karnauba vaks, sonra balmumu sonra da parafin vaks olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da Karnauba vaks ile elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin termal dekompozisyon sıcaklığının daha yüksek olması sebebiyle termal stabilitesinin balmumu vakstan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgunun literatürdeki bu sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Yeşil çayda birinci aşamadaki kütle kaybının yapıdaki nemin uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. İkinci basamakta gerçekleşen termal dekompozisyonun ise 192.48-359.78 °C arasında olduğu saptanmıştır. Enkapsüle örneğin birinci aşamadaki termal dekompozisyon sıcaklığının (388.67 °C) enkapsüle olmayan yeşil çay örneğine (192.48 °C) kıyasla çok yüksek olduğu görülmüştür. Dolayısıyla yeşil çay ekstraktının balmumu kullanılarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyonunun termal bozunma sıcaklığını yükselttiği ve yeşil çay ekstraktının termal stabilitesini arttırdığı düşünülmüştür. Elde edilen mikropartiküllerin termal stabilitesi partiküllerin gıda ürünlerine eklenmesi durumunda önemli rol oynar (Castro-Lopez ve diğ, 2021). Gıda işleme ve hazırlama proseslerinde uygulanan sıcaklığın genellikle maksimum 250 °C'ye kadar olduğu (Balanc ve diğ, 2016) göz önüne alındığında yeşil çay ekstraktının balmumu kullanılarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyonu ile elde edilen örneklerin termal dekompozisyonun başlangıcının 352.53-434.87 °C'de gerçekleştiğinin tespit edilmesiyle söz konusu enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşacağı sıcaklık uygulamalarında oldukça stabil olduğunu belirtmek mümkündür. Dolayısıyla bu durum karnauba vaksta olduğu gibi balmumu ile enkapsüle yeşil çayın da fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olduğunu göstermiştir.

#### 4.3.9 *In vitro* sindirim

SLN-melt dispersiyon tekniğiyle kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu ile elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip olan mikropartiküllerin (CW4 ve BW4) simüle sindirim sıvısındaki davranışları metot 3.4.12’de belirtilen statik *in vitro* sindirim modeli ile incelenmiştir. Elde edilen bulgular ise Şekil 4.39’da gösterilmiştir.



Şekil 4.39 : *In vitro* sindirim sonucunda biyoerişilebilirlik (%).

Çalışmamızda 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonunda yeşil çay ekstraktı içeren katı lipid mikropartiküllerin (SLMs) biyoerişilebilirlik yüzdesinin %78.29-89.41 arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesi %89.41 iken kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin %78.29 olduğu tespit edilmiştir. 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda balmumu ile elde edilen partiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin karnauba vaks ile elde edilen mikropartiküllerinkine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki kaplama materyali kullanılarak elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren katı lipid mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin enkapsüle olmayan forma kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen vaks bazlı yeşil çay ekstraktı içeren katı lipid mikropartiküllerin yeşil çaydaki fenolik bileşenler için gastrointestinal sistemde iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir. Baviskar ve diğ. (2012), suda zayıf çözünürlüğe sahip ilaç etken maddesi flurbiprofeni karnauba vaks ve balmumu kullanarak katı lipid nanopartiküller şeklinde emülsiyon öncül sistem kullanarak

enkapsüle etmişlerdir. Partiküllerin *in vitro* salınımları incelendiğinde karnauba vaks ile elde edilen partiküllerden salınımın balmumuna kıyasla daha yavaş olduğunu belirtmişlerdir. Campos ve diğ. (2015), rosmarinik asit ve bitkisel ekstraktları (adaçayı ve kekik otu) karnauba vaks ve witepsol kullanarak SLN metodu sıcak eriyik-ultrasonikasyon tekniğiyle enkapsüle etmişlerdir. Elde ettikleri mikropartikülleri simüle sindirim sıvılarında sindirime tabi tuttuklarında rosmarinik asitin açığa çıkmasıyla lipit matriksinin kompozisyonunun sindirim esnasında SLN stabilitesinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin esterlerini yüksek konsantrasyonda bulunduran vaksların sindirim hızı ve oranının çoğunlukla uzun zincirli yağ asitlerinden oluşan vaksların sindirim hızı ve oranlarının farklı olduğuna dair farklı raporların olduğunu belirtmişlerdir. Orta zincirli yağ asitleri esterlerini içerenlerin uzun zincirli olanlara kıyasla daha hızlı ve daha yüksek oranda sindirildiğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla çalışmamızda da farklı zincir uzunluğuna sahip yağ asitlerinden oluşan trigliseritleri farklı oranlarda içeren vaksların sindirimindeki bu farklılıktan kaynaklı olarak biyoerişilebilirlik yüzdelerinin farklı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yine aynı çalışmada bağırsaktaki *in vitro* sindirim sonunda karnauba vaksle enkapsüle edilmiş adaçayı ve kekik otunun hakim bileşeni olan rosmarinik asit yüzdelerinin sırasıyla %91.79 ve %83.98 olduğunu saptamışlardır. Bugarski ve diğ. (2008), vaksların değişen pH ve nem koşullarına karşı iyi bir stabilite göstermesi, gastrointestinal sistemde gıdalar üzerinde minimal etkiden kaynaklı avantajlara sahip olduğunu belirtmişlerdir. Machado ve diğ. (2019), lipozom tekniğiyle mikroalgden elde edilen fenolik ekstraktları enkapsüle etmişlerdir. Elde edilen partiküllerin *in vitro* sindirimi sonucunda biyoerişilebilirlik değerlerinin enkapsüle olmayan örnekte %31.65 iken enkapsüle örneklerde %35.83 ve %45.89 olduğunu saptamışlardır. Davidov-Pardo ve diğ. (2015), resveratrol (bir polifenol çeşidi) yüklü nanosistemlerin *in vitro* sindirimi sonucunda enkapsüle olmayan formda biyoerişilebilirliğin %60 iken enkapsüle formda ise biyoerişilebilirlik yüzdesinin %73 olduğunu saptamışlardır.

#### 4.3.9.1 *In vitro* sindirime ait varyasyon analizi sonuçları

Bioerişilebilirlik (%) bakımından, 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda kaplama materyalinin etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Çizelge 4.34 :** *In vitro* sindirime ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	KO	F	P
Kaplama materyali	205.8757	701.084	<b>0.000</b>

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada yeşil çay ekstraktı püskürtmeli kurutma, elektrostatik ekstrüzyon, SLN-melt dispersiyon tekniği gibi farklı enkapsülasyon teknikleri kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Her bir enkapsülasyon tekniğinde farklı kaplama maddeleri ve farklı deneme parametreleri çalışılarak bu parametrelerin başta enkapsülasyon verimi ve etkinliği olmak üzere elde edilen partiküllerin karakterizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Bu bağlamda çalışmamızın birinci kısmında püskürtmeli kurutma tekniği ile kaplama materyali olarak %20 ve %40 (% w/v) konsantrasyonlarda maltodekstrin ve nişasta kullanılarak 120°C ve 140°C giriş sıcaklıklarında mikrokapsüller elde edilmiştir. Çalışmamızın bu kısmında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Elde edilen yeşil çay mikrokapsüllerinin suda çözünübilirlik indekslerinin (WSI), en fazla olduğu örneğin kaplama materyali olarak maltodekstrin (%94.20-%95.57) kullanılarak elde edilen yeşil çay mikrokapsülleri olduğu, en düşük olan örneklerin ise kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen örnekler olduğu görülmüştür. Yüksek çözünübilirlik indeksi elde edilen kapsüllerinin sulu sistemlerde biyoaktif bileşenlerin kullanımı için kolaylıkla ve etkili bir şekilde su içerisinde rekonstitüye edilebilirliğini göstermektedir. Bu durum da maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin sulu sistemlerde biyoaktif bileşenlerin kullanımı için etkili bir şekilde rekonstitüye edilerek kullanılabileceğini göstermektedir.

- Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak farklı giriş sıcaklıklarında (120 °C ve 140 °C) elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarının (0.69-0.90 g/mL) en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Nişasta ile elde edilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluklarının yüksek olması sebebiyle daha akışkan ve instant nitelik taşıdığı, oksidatif hasara karşı daha dayanıklı ve daha stabil partikül eldesini ve daha az paketleme hacmine ihtiyaç duyulması açısından yığın yoğunluğu olarak daha tercih edilebilir olduğunu söylemek mümkündür.

-Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen kapsüllerin nem içeriklerinin maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllere kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Düşük nem içeriğinin mikropartiküllerin kalitesini etkileyen ve depolama esnasında hızlı bozulmayı önlemesinden dolayı önemli bir parametre olması göz önüne alındığında çalışmamızda en düşük nem içeriği değerlerine kaplama materyali olarak MD kullanıldığında ulaşılmıştır. Dolayısıyla bu partiküllerin depolama ömürlerinin daha uzun olabileceğini söylemek mümkündür.

- Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin 0.26'dan düşük olduğu saptanmıştır. Toz esaslı ürünlerde endüstriyel hedef 0.3'den daha düşük su aktivitesi değeridir. Dolayısıyla mikrokapsüllerin mikrobiyal ve söz konusu biyokimyasal reaksiyonlara karşı (lipit oksidasyonu, esmerleşme reaksiyonları, enzim aktivitesi gibi) stabilitesinin yüksek olduğu söylenebilir.

-Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanıldığında enkapsülasyon veriminin %89.28-82.61 arasında olduğu, kaplama materyali olarak nişasta kullanıldığında ise enkapsülasyon veriminin %77.73-35.19 arasında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimine kaplama materyali olarak %20 maltodekstrin kullanıldığında ve 120 °C'deki üretimlerde (%89.28) ulaşılmıştır. En yüksek verime ulaşılan ideal maltodekstrin ve nişasta konsantrasyonlarının %20 (%w/v) olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda en yüksek enkapsülasyon verimi her iki kaplama materyali için de düşük giriş sıcaklığı uygulamamızda (120 °C) düşük kaplama materyali konsantrasyonlarında (%20) elde edilmiştir.

-Elde edilen mikrokapsüllerin SEM görüntüleri incelendiğinde ise kaplama materyali çeşidinin elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojisi ve şekilleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Maltodekstrin kullanılarak elde edilen kapsüllerin küresel ve yarı küresel formda, nişasta kullanılarak elde edilen kapsüllerin ise elipsoid şeklinde olduğu saptanmıştır. Partikül morfolojisi, mikroenkapsüle olan biyoaktif bileşenin stabilitesi üzerinde etkili olan bir parametredir. Çalışmamızda her iki kaplama materyali kullanarak farklı konsantrasyonlarda ve farklı giriş sıcaklıklarında üretilen tüm mikropartiküllerin yüzeylerinde herhangi bir çatlak ve yarıklık görülmemiştir. Bu durum aktif maddemizin kaplama materyali olarak seçilen maltodekstrin ve nişasta tarafından gelecekte iyi bir şekilde korunacağını göstermektedir. Eşit kaplama materyali konsantrasyonlarında maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojilerinin nişastaya kıyasla daha çıkıntılı ve çukurlu bir yapıda olduğu görülmüştür. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin yüzey morfolojilerinin maltodekstrine kıyasla daha pürüzsüz olduğu görülmüştür. Pürüzlü yüzey yapısına sahip olan partiküller, daha geniş yüzey alanına sahip olmasından pürüzsüz yüzeye sahip olanlara kıyasla oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha fazla duyarlı olduğu bilinmektedir. Bu durumda nişasta kullanılarak elde edilen partiküllerin oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha dirençli olduğu düşünülmüştür.

- Çalışmamızda maltodekstrinle elde edilen mikropartiküllerin yüzey ağırlıklı ortalama çaplarının (8.44 ile 16.94 µm) nişastaya (18.27 ile 30.80 µm) nispeten daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla kaplama materyali çeşidinin elde edilen partiküllerin boyutlarını etkilediği saptanmıştır. Her iki kaplama maddesi için de kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça artan vizikoziteyle ilişkili olarak elde ettiğimiz partiküllerin boyutlarının da arttığı saptanmıştır. Kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin span değerlerinin maltodekstrine kıyasla daha düşük olduğu (1.37 ile 1.64 arasında) dolayısıyla kaplama materyali olarak nişasta kullanımı ile elde ettiğimiz mikropartiküllerin maltodekstrine kıyasla daha homojen dağılıma sahip olduğu saptanmıştır.

-Kaplama materyali olarak maltodekstrin ve nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin termal dekompozisyonunun sırasıyla 251.97-333.15°C ve 258.23-308.18 °C arasında başladığı dolayısıyla elde edilen mikropartiküllerin termal stabilitesinin enkapsülasyon işlemi ile arttığı tespit edilmiştir. Söz konusu enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşılabilecek sıcaklık uygulamalarında stabil olduğunu söylemek mümkündür. Bu durum enkapsüle örneklerin fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olmuştur.

- Kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait % İnhibisyon değerlerinin %7.94-15.63 arasında olduğu, en yüksek antioksidan aktiviteye ise kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde (NŞ20-140) saptanmıştır. Maltodekstrin ve nişasta kullanarak elde ettiğimiz mikrokapsüllerde kaplama materyali konsantrasyonu arttıkça DPPH%'sinin azaldığını tespit edilmiştir.

-4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda yeşil çay ekstraktı içeren en yüksek verimine sahip enkapsüle örneklerin biyoerişilebilirlik yüzdelerinin %88.96-85.24 olduğu tespit edilmiştir. En yüksek biyoerişilebilirlik yüzdesinin (%88.96) kaplama materyali olarak maltodekstrin kullanılarak elde edilen mikropartiküllere (MD20-120) ait olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen maltodekstrin ve nişasta bazlı yeşil çay ekstraktı içeren mikrokapsüllerin yeşil çaydaki fenolik bileşenler için gastrointestinal sistemde iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızın ikinci kısmında ise bir diğer enkapsülasyon tekniği olan elektrostatik ekstrüzyon tekniği ile enkapsülasyon kullanılmıştır. Kaplama materyali olarak %3.5 ve %4.5 (%w/v) soduyum aljinat kullanılarak 30 ve 60 dk'lık jelasyon sürelerinde hidrojel mikroboncuklar elde edilmiştir. Kaplama materyali konsantrasyonunun ve jelasyon

süresinin başta enkapsülasyon etkinliği olmak üzere elde edilen mikroboncukların karakterizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın bu kısmından elde edilen sonuçlar ise aşağıdaki gibidir;

- Çalışmamızda %3.5 ve %4.5 (%w/v) sodyum aljinat kullanılarak farklı jelasyon süreleri denenerek üretilen hidrojel mikroboncukların enkapsülasyon etkinliklerinin (%EE) %38.93-78.32 arasında olduğu, kaplama materyali konsantrasyonunun ve jelasyon süresinin enkapsülasyon etkinliği üzerinde etkili faktörler olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Konsantrasyondaki ve jelasyon süresindeki artışa bağlı olarak enkapsülasyon etkinliklerinin arttığı saptanmıştır.

- Elde edilen liyofilize mikroboncukların hacim ağırlıklı ortalama çaplarının 362.90-406.13 µm arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali konsantrasyonunun ve jelasyon süresinin artışının elde edilen mikroboncukların ortalama çaplarını arttırdığı saptanmıştır. Uygulanan elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyon geleneksel enjeksiyon metoduna kıyasla daha küçük mikroboncuk eldesi sağlanmıştır.

-Elde edilen tüm yaş hidrojel mikroboncukların optik mikroskop görüntülerinde oldukça küresel ve homojen boyutlarda olduğu saptanmıştır. Küresel boncuklar farmakoloji ve gıda ürünlerinde ürünlerin estetik kalitesini artırması, kontrollü salınımın gerçekleştirilmesi ve jel boncuk mukavemetinin daha yüksek olması sebebiyle elde edilen mikroboncukların mekanik ve kimyasal stabiliteilerinin yüksek olduğu söylenebilir.

- Elde edilen hidrojel mikroboncukların termal davranışı incelendiğinde yeşil çay ekstraktı yüklü hidrojel mikroboncukların ikinci aşamadaki termal dekompozisyonunun yeşil çay ekstraktına nispeten daha yüksek bir sıcaklıkta (200.51 °C) ve dar bir sıcaklık aralığında gerçekleştiği saptanmıştır. Dolayısıyla enkapsülasyonun termal bozunma sıcaklığını yükselttiği ve yeşil çay ekstraktının termal stabilitesini arttırdığı düşünülmüştür. Gıda işleme ve hazırlama proseslerinde uygulanan sıcaklığın genellikle maksimum 250 °C'ye kadar olduğu göz önüne alındığında yeşil çay ekstraktı içeren enkapsüle hidrojel mikroboncukun birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşacağı sıcaklık uygulamalarında oldukça stabil olduğu tespit edilmiştir.

- Elde edilen tüm mikroboncukların  $a_w$  değerlerinin 0.1'den düşük (0.059-0.080) olduğu görülmüştür. Dolayısıyla elde edilen hidrojel mikrokapsüllerin mikrobiyal ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı (lipit oksidasyonu, esmerleşme reaksiyonları, enzim aktivitesi gibi) stabilitesinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

-Elde edilen hidrojel mikroboncukların % inhibisyon değerlerinin %6.20-%7.69 arasında olduğu saptanmıştır. Jelasyon süresinin ve kaplama materyali konsantrasyonunun elde edilen mikroboncukların antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

- Yeşil çay ekstraktı içeren hidrojel mikroboncunun 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonunda biyoerişilebilirlik yüzdesinin %91.03 olduğu enkapsüle olmayan örneğe kıyasla biyoerişilebilirlik yüzdesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu durum bize sodyum aljinat kullanılarak elektrostatik ekstrüzyon ile enkapsülasyon işleminin yeşil çayda bulunan toplam fenolik içeriğinin çoğunluğunun gastrointestinal sistem boyunca bağırsağa ulaşmaya kadar geçen sürede korunabildiğini göstermiştir.

Çalışmamızın üçüncü kısmında ise yeşil çay ekstraktı bir diğer enkapsülasyon tekniği olan SLN-melt dispersiyon tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Kaplama materyali olarak karnauba vaks ve balmumu kullanılarak mikropartiküller elde edilmiştir. Emülsiyon süresinin ve ilk emülsiyonda kullanılan aktif maddenin (yeşil çay miktarının) başta enkapsülasyon etkinliği olmak üzere partikül karakterizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

-SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %30.38-52.71 arasında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enkapsülasyon etkinliği değerlerinin kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait olduğu saptanmıştır. Emülsiyon süresi ve ilk emülsiyondaki yeşil çay miktarının değiştirilmesinin balmumu ile elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinlikleri üzerinde etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerde ise emülsiyon süresindeki artışın ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının 15 mL olduğu üretimlerde etkili olduğu ve enkapsülasyon etkinliğinin düştüğü tespit edilmiştir. Karnauba vaks için ilk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının artması ise her iki emülsiyon süresi için de (5 ve 10 dk) enkapsülasyon etkinliğini arttırdığı saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

- Karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin yığın yoğunluklarının 0.31-0.36 g/mL aralığında olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon süresinin emülsiyon miktarına bağlı olarak yığın yoğunluğunu etkileyen bir faktör olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon miktarının da yığın yoğunluğunu etkilediği tespit edilmiştir.

-Karnauba vaks ile elde edilen mikropartiküllerin SEM görüntülerinden düzgün küresel formda olduğu, yüzeylerinin çoğunlukla pürüzsüz olduğu ancak gözenekli bir yapıya sahip olduğu ve çatlakların olmadığı görülmüştür. Balmumu ile elde edilen partiküllerin ise karnauba vaks partiküllerine kıyasla yüzey yapısında düzensizlikler ve çıkıntılar olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla kullanılan lipit taşıyıcı sistemlerin partiküllerin yüzey morfolojilerinde, şekillerinde ve boyutları üzerinde etkili olduğu saptanmıştır.

- Karnauba vaks kullanılarak SLN-melt dispersion tekniğiyle elde edilen partiküllerin yüzey ağırlıklı ortalama çaplarının 0.312-119 µm arasında olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon süresindeki artışın elde edilen partiküllerin çaplarını azaltan bir faktör olduğu tespit edilmiştir. En düşük partikül çaplarının 10 dk'lık emülsiyon sonucu elde edilen partiküllere ait olduğu saptanmıştır. İlk emülsiyonda kullanılan yeşil çay miktarının (su fazı) elde edilen mikropartiküllerin boyutlarını etkilediği tespit edilmiştir. Gıda alanında kullanılan ön karışımların (aroma maddeleri gibi) partikül boyut dağılımının 150-300 µm olması gerektiği bildirilmiştir. Bu bilgi ışığında elde ettiğimiz toz mikrokapsüllerin gıda uygulamalarında ön karışım olarak kullanılması durumunda hedeflenen partikül boyut aralığından daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

- Yeşil çay ekstraktının karnauba vaks kullanılarak melt dispersiyon tekniği ile enkapsülasyonu ile elde edilen en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip örneklerin termal dekompozisyonun tek aşamada 388.67-456.46 °C'de %95.902 kütle kaybıyla gerçekleştiği, kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin ise termal dekompozisyonun yine tek aşamada 352.53-434.87 °C'de %98.388 kütle kaybıyla gerçekleştiği saptanmıştır. Dolayısıyla enkapsülasyonda kullanılan vakslar arasında termal stabilitesi en yüksek vaksın karnauba vaks, sonra balmumu olduğu tespit edilmiştir. Gıda işleme ve hazırlama proseslerinde uygulanan sıcaklığın genellikle maksimum 250 °C'ye kadar olduğu göz önüne alındığında söz konusu enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesi esnasında karşılaşılabilecek sıcaklık uygulamalarında oldukça stabil olduğunu söylemek mümkündür. Bu durum karnauba vaksta olduğu gibi balmumu ile enkapsüle yeşil çayın da fonksiyonel gıda uygulamalarını da destekleyen bir sonuç olduğunu göstermiştir.

-4 saatlik simüle sindirim işlemi sonunda yeşil çay ekstraktı içeren katı lipit mikropartiküllerin (SLMs) biyoerişilebilirlik yüzdesinin %89.41-78.29 arasında olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesi %89.41 iken kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin

%78.29 olduğu tespit edilmiştir. 4 saatlik simüle sindirim işlemi sonucunda balmumu ile elde edilen partiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin karnauba vaks ile elde edilen mikropartiküllerinkine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki kaplama materyali kullanılarak elde edilen yeşil çay ekstraktı içeren katı lipit mikropartiküllerin biyoerişilebilirlik yüzdesinin enkapsüle olmayan forma kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla SLN-melt dispersiyon tekniğiyle elde edilen vaks bazlı yeşil çay ekstraktı içeren katı lipit mikropartiküllerin yeşil çaydaki fenolik bileşenler için gastrointestinal sistemde iyi bir taşıyıcı sistem olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmada yeşil çay ekstraktı farklı enkapsülasyon teknikleri kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Elde edilen kapsüllerin her üç metotta da mikron boyutta olduğu, tekniğe ve kullanılan kaplama materyali çeşidine bağlı olarak mikrokapsüllerin farklı karakteristik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Sahip olduğu bu farklı karakteristik özellikler elde edilen mikrokapsüllere geniş bir uygulama alanında kullanılabilirlik imkanı sunacağı düşünülmüştür. Ayrıca her üç teknikle de elde edilen mikrokapsüllerin enkapsüle olmayan yeşil çay örneğine kıyasla gastrointestinal sistem boyunca korunduğu, kullanılan kaplama maddelerinin yeşil çay ekstraktının taşınmasında iyi birer taşıyıcı sistemler olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra elde edilen enkapsüle örneklerin termal stabilitesinin yüksek olması da (~200 °C ve üzeri) enkapsüle örneklerin birçok gıda işleme prosesinde karşılaşılabilecek sıcaklık koşullarında korunabilir olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla bu çalışma yeşil çay ekstraktının söz konusu tekniklerle enkapsüle edilmesi örneklerin fonksiyonel gıdalara uygulanmasına olanak tanımıştır. Bir sonraki çalışmalarda enkapsüle örneklerin fonksiyonel gıdalara uygulanması, elde edilen mikrokapsüllerin salınımının çalışılması önerilmektedir. Ayrıca elektrostatik ekstrüzyon tekniğinde kullanılan tekli iğne sisteminden kaynaklı olarak birim zamanda üretilen kapsül miktarı düşük olmaktadır. Bu durumun da sistemin endüstriye uygulanabilirliğinde bir problem oluşturacağı düşünülmüştür. Dolayısıyla çoklu iğne sisteminden oluşan tekniğin de araştırılması gerektiği önerilmektedir. Ayrıca elektrostatik ekstrüzyon tekniğiyle enkapsülasyonda tek katlı aljinat mikrobuncukları asidik koşullar karşısında yüzeyindeki gözeneklerin boyutlarıyla alakalı olarak enkapsüle edilen madde için tam olarak koruma sağlayamadığından çok katmanlı hidrojel mikrobuncukların üretiminin araştırılması önerilmektedir. SLN-melt dispersiyon tekniğinde ise daha küçük partikül eldesi için karıştırma hızı gibi parametrelerin de araştırılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abasalizadeh, F., Moghaddam, S. V., Alizadeh, E., Akbari, E., Kashani, E., Fazljou, S., Torbati, M. & Akbarzadeh, A. (2020). Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting, *Journal of Biological Engineering*, 14, 8.
- Abdin, M., Salama, M. A., Gawad, R. M. A., Fathi, M. A. & Alnadari, F. (2021). Two-steps of gelation system enhanced the stability of *syzygium cumini* anthocyanins by encapsulation with sodium alginate, maltodextrin, chitosan and gum arabic, *Journal of Polymers and Environment*, 29, 3679-3692.
- Ahmad, M., Mudgil, P., Gani, A., Hamed, F., Masoodi, F. A., & Maqsood, S. (2019). Nano-encapsulation of catechin in starch nanoparticles: Characterization, release behavior and bioactivity retention during simulated *in vitro* digestion, *Food Chemistry*, 270, 95–104.
- Aizpurua-Olaizola, O., Navarro, P., Vallejo, A., Olivares, M., Etxebarria, N. & Usobiaga, A. (2016). Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes, *Food Chemistry*, 190, 614–621.
- Akdeniz, B., Sumnu, G. & Şahin, S. (2017). The effects of maltodextrin and gum arabic on encapsulation of onion skin phenolic compounds, *Chemical Engineering Transactions*, 57, 1891-1896.
- Akyüz, L., Duman, F. & Kaya, M. (2017). Encapsulation of flurbiprofen by chitosan using a spray-drying method with *in vitro* drug releasing and molecular docking, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 34-39.
- Alamilla-Beltran, L., Chanona-Perez, J. J., Jimenez-Aparicio, A. R. & Gutierrez-Lopez, G. F. (2005). Description of morphological changes of particles along spray drying, *Journal of Food Engineering*, 67, 179–184.
- Al-Hajry, H. A., Al-Maskry, S. A., Al-Kharousi, L. M., El-Mardi, O., Shayya, W. H. & Goosen, M. F. (1999). Electrostatic encapsulation and growth of plant cell cultures in alginate, *Biotechnology Progress*, 15(4), 768–774.
- Almeida, A. J. & Souto, E. (2007). Solid lipid nanoparticles as drug delivery system for peptides and proteins, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 478-490.
- Alsberg, E., Kong, H. J., Hirano, Y., Smith, M. K., Albeiruti, A. & Mooney, D. J. (2003). Regulating bone formation via controlled scaffold degradation, *Journal of Dental Research*, 82(11), 903–908.
- Anandharamakrishnan, C. (2014). *Techniques for nanoencapsulation of food ingredients*. New York, NY: Springer-Verlag New York.
- Ahmadian, Z., Niazmand, R. & Pourfarzad, A. (2019). Microencapsulation of saffron petal phenolic extract: their characterization, *in vitro* gastrointestinal digestion, and storage stability, *Journal of Food Science*, 84(10), 2745-2757.
- Amsden, B. G. & Goosen, M. F. A. (1997). An examination of factors affecting the size, distribution and release characteristics of polymer microbeads made using electrostatics, *Journal of Controlled Release*, 43, 183-196.
- Anonymous. (2016). Erişim: 17 Aralık 2021, <https://www.statista.com/statistics/507950/global-per-capita-tea-consumption-by-country/>
- Arriola, N. A., Medeiros, P. M., Prudêncio, E. S., Müller, C. & Amboni, R. D. (2016). Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content, *Food Bioscience*, 13, 32-40.

- Arts, I. C. W. & Hollman, P. C. H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies, *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 317-325.
- Ashokkumar, C., Murugan, B., Baskaran, D., Veerapandian, V. & Karthiayani, A. (2018). Effect of wall material and inlet air temperatures on physical properties of microencapsulated olive oil powder, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5), 2391-2402.
- Badawi, N. M., Teaima, M. H., El-Say, K. M., Attia, D. A., El-Nabarawi, M. A. & Elmazar, M. M. (2018). Pomegranate extract-loaded solid lipid nanoparticles: design, optimization, and *in vitro* cytotoxicity study, *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1313-1326.
- Bae, E. K. & Lee, S. J. (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin, *Journal of Microencapsulation*, 25(8): 549-560.
- Bağış, Ü. (2019). Enkapsüle karvakrol içeren hamurun kızartılmasında kullanılan ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesindeki değişimin belirlenmesi (Yüksek lisans tezi). İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Bağış, Ü. & Karabulut, İ. (2020). Efficacy of microencapsulated carvacrol in oxidative stability of sunflower oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122, 1-12.
- Bakowska-Barzack, A. M. & Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation, *Industrial Crops and Products*, 34, 1301-1309.
- Balanc, B., Kalusevic, A., Drvenica, I., Coelho, M. T., Djordjevic, V., Alves, V. D., Sousa, I., Moldao-Martins, M., Rakic, V., Nedovic, V. & Bugarski, B. (2016). Calcium-Alginate-Inulin microbeads as carriers for aqueous carqueja extract, *Journal of Food Science*, 81(1), E65-E75.
- Balentine, D.A., Wiseman, S.A. & Bouwens, L.C. (1997). The chemistry of tea flavonoids, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(8), 693-704.
- 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.
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C.E., Teixeira, J. A. & Musatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials, *Food Chemistry*, 237, 623-631.
- Bamidele, O. P. & Emmambux, M. N. (2021). Encapsulation of bioactive compounds by "extrusion" technologies: a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(18), 3100-3118.
- Bastias-Montes, J. M., Choque-Chavez, M. C., Alarcon-Enos, J., Quevado-Leon, R., Munoz-Farina, O. & Vidal-San-Martin, C. (2018). Effect of spray drying at 150, 160, and 170 °C on the physical and chemical properties of maqui extract (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz), *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(1), 144-152.
- Basu, A. & Lucas, E. (2007). Mechanisms and effects of green tea on cardiovascular health, *Nutrition Reviews*, 65, 361-375
- Battaglia, L., Gallarate, M., Panciani, P.P., Ugazio, E., Sapino, S., Peira, E., Chirio, D. (2014). Application of Nanotechnology in Drug Delivery. Sezer, A.D. (Ed.), *Techniques For the Preparation of Solid Lipid Nano and microparticles*. Retrieved from: <https://www.intechopen.com/books/application-of-nanotechnology-in-drug-delivery/techniques-for-the-preparation-of-solid-lipid-nano-and-microparticles>.
- Baron, R. D., Valle-Vargas, M. F., Quintero-Gomero, G., Quintanilla-Carvajal, M. X., Alean, J. (2021). Encapsulation of citrulline extract from watermelon (*Citrullus*

- lanatus*) by-product using spray drying, *Powder Technology*, 385, 455-465.
- Baviskar, D. T., Amritkar, A. S., Chaudhari, H. S., & Jain, D. K. (2012). Modulation of drug release from nanocarriers loaded with a poorly water soluble drug (flurbiprofen) comprising natural waxes, *Die Pharmazie*, 67(8), 701–705.
- Bayram, O.A., Bayram, M. & Tekin, A.R. (2005). Spray drying of sumac flavour using sodium chloride, sucrose, glucose and starch as carriers, *Journal of Food Engineering*, 69 (2), 253–69.
- Bell, L.N. (2001). Stability testing of nutraceuticals and functional foods. In R.E.C. Wildman (Ed.), *Handbook of nutraceuticals and functional foods* (pp. 501-516). Boca Raton: CRC Press.
- Belitz D.H, Grosch W. (1997). *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Belscak-Cvitanovic, A.B., Stojanovic, R., Manojlovic, V., Komes, D., Cindric, I.J., Nedovic, V. & Bugarski, B. (2011). Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion, *Food Research International*, 44, 1094-1101.
- Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins, *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13, 184-196.
- Benzie, I.F.F. & Szeto, Y.T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 633–636.
- Bhattarai, S., Tran, V.H. & Duke, C.C. (2001). The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(10), 1658-1664.
- Bodmeier R., Wang J. & Bhagwatwatar H. (1992a). Process and formulation variables in the preparation of wax microparticles by a melt dispersion technique. I. Oil-in water technique for water-insoluble drugs, *Journal of Microencapsulation*, 9(1), 89-98.
- Bodmeier R., Wang J. & Bhagwatwatar H. (1992b). Process and formulation variables in the preparation of wax microparticles by a melt dispersion technique. II. W/O/W multiple emulsion technique for water-soluble drugs, *Journal of Microencapsulation*, 9(1), 99-107.
- Bojana, I., Verica, D., Viktor, N. & Branko, B. (2013). Liposome-in-alginate systems for encapsulation of natural antioxidants, *Inside Food Symposium*, Leuven, Belgium: 9–12 April 2013.
- Boyano-Orozco, L., Gallardo-Velázquez, T., Meza-Márquez, O.G. & Osorio-Revilla, G. (2020). Microencapsulation of rambutan peel extract by spray drying, *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(7), 899.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales*. Paris, France: Tec&Doc Lavoisier.
- Bugarski, D., Obradović, B., Petakov, M., Jovčić, G., Stojanović, N., & Bugarski, B. (2005). Alginate microbeads as potential support for cultivation of bone marrow stromal cells, *Materials Science Forum*, 494, 525–530.
- Cabrera, C., Artacho, R. & Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea: a review, *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
- Cabrera, C. G., Madrid, J. F. P., Arteaga, J. D. P., Echeverry, A. M. (2014). Characterization of encapsulation process of avobenzonone in solid lipid microparticle using a factorial design and its effect on photostability, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(12), 035-043.
- Cai, Y. Z. & Corke, H. (2000). Production and properties of spray dried *Amaranthus* Betacyanin pigments, *Journal of Food Science*, 65 (7), 1248–1252.
- Campos, D. A., Madureira, A. R., Sarmiento, B., Gomes, A. M., & Pintado, M. M. (2015). Stability of bioactive solid lipid nanoparticles loaded with herbal extracts when

- exposed to simulated gastrointestinal tract conditions, *Food Research International* (Ottawa, Ont.), 78, 131–140.
- Campos, D. A., Madureira, A. R., Sarmiento, B., Pintado, M. M. & Gomes, A. M. (2017). Technological stability of solid lipid nanoparticles loaded with phenolic compounds: Drying process and stability along storage, *Journal of Food Engineering*, 196, 1-10.
- Can, S. (2017). Spray drying of strawberry and blueberry extracts (Yüksek lisans tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Cano-Higuita, D. M., Vélez, H. A. V. & Telis, V. R. N. (2015). Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum arabic, maltodextrin and modified starch, *Ciência e Tecnologia*, 39(2), 173-182.
- Carneiro, H. C. F., Tonon, R. V., Grosso, C. R. F. & Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials, *Journal of Food Engineering*, 115, 443-451.
- Card, Q. P., Deerfield, N. K., & Palatine, S. (1960). Flavor premixes for animal feeds. U. S. Patent No. 2,921,853. U.S. Patent Office.
- Castro-López, C., Espinoza-González, C., Ramos-González, R., Daniel Boone-Villa, V., Aguilar-González, M.A., Martínez-Ávila, G.C.G., Aguilar, C.N. & Ventura-Sobrevilla, J. M. (2021). Spray-drying encapsulation of microwave-assisted extracted polyphenols from moringa oleifera: influence of tragacanth, locust bean, and carboxymethyl-cellulose formulations, *Food Research International*, 144, 110291.
- Celli, G., Ghanem, A. & Brooks, M. (2016). Optimized encapsulation of anthocyanin-rich extract from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) in calcium-alginate microparticles, *Journal of Berry Research*, 6(1), 1-11.
- Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R. & Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: A literature review, *Chinese Medicine*, 5(13), 1-9.
- Chang, K. (2015). World tea production and trade current and future development. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Chatterje, D. & Bhattacharjee, P. (2015). Encapsulation of colour from peels of eggplant in calcium alginate matrix, characterization and food application, *Nutrafoods*, 14, 87–96.
- Chavari, M., Maranon, I., Villaran, C.M. (2012). Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria (pp. 501-540). Retrieved from <https://www.intechopen.com/books/probiotics/encapsulation-technology-to-protect-probiotic-bacteria>
- Cheraghali, F., Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, S. M., Mirmoghtadaie, L., Mortazavian, A. M., Ghanati, K., Abedi, A. S. & Moslemi, M. (2018). Characterization of Microcapsule Containing Walnut (*Juglans regia* L.) Green husk extract as preventive antioxidant and antimicrobial agent, *International Journal of Preventive Medicine*, 9, 101.
- Chen, C. W. & Ho, C. T. (1994). Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas, *Journal of Food Lipids*, 2(1), 35–46.
- Chen, Z. Y., Zhu, Q. Y., Wong, Y. F., Zhang, Z. S. & Chung, H. Y. (1998). Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2512-2516.
- Chen, L., Remondetto, G. E. & Subirade, M. (2006). Food protein based materials as nutraceutical delivery systems, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 272-283.
- Chegini, G. R. & Ghobadian, B. (2005). Effect of spray drying conditions on physical properties of orange juice powder, *Drying Technology*, 23 (3), 657–658.

- Chung, J. H., Kim, S., Lee, S.-J., Chung, J.-O., Oh, Y.-J. & Shim, S.-M. (2013). Green tea formulations with vitamin c and xylitol on enhanced intestinal transport of green tea catechins, *Journal of Food Science*, 78(5), 685-690.
- Chow, H. H., Hakim, I. A., Vining, D. R., Crowell, J. A., Ranger-Moore, J., Chew, W. M., Celaya, C. A., Rodney, S. R., Hara, Y. & Alberts, D. S. (2005). Effects of dosing condition on the oral bioavailability of green tea catechins after single-dose administration of polyphenol E in healthy individuals, *Clinical Cancer Research: An Official Journal of The American Association For Cancer Research*, 11(12), 4627-4633.
- Clarke, K. A. (2013). Bioavailability and Bioactivity of Green Tea Catechins in Skin (Phd thesis). Retrieved from <http://etheses.whiterose.ac.uk/6354/>
- Comunian, T., Monterrey-Quintero, E. S., Thomazini, M., Balieiro, J. C., Piccone, P., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2011). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried chlorophyllide, a natural food colourant, using gum Arabic, maltodextrin and soy protein isolate-based carrier systems, *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1259-1265.
- Cong, Z., Shi, Y., Wang, Y., Wang, Y., Niu, J., Chen, N. & Xue, H. (2018). A novel controlled drug delivery system based on alginate hydrogel/chitosan micelle composites, *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 855–864.
- Correa-Filho, L. C., Lourenço, M. M., Maldao-Martins, M. & Alves, V. D. (2019). Microencapsulation of  $\beta$ -carotene by spray drying: effect of wall material concentration and drying inlet temperature, *International Journal of Food Science*, 2019, 1-12.
- Costa, L. C., Louchard, B.O., Neto, E. M., Giffony, P. D., Campos, F. M., & Araújo, T. (2020). Development and characterization of kojic acid and carnaúba wax-based solid lipid microparticles, *Journal of Young Pharmacists*, 12, 309-313.
- Couto, O. R., Martins, F. S., Chaul, L. T., Conceição, E. C., Freitas, L. A. P., Bara, M. T. F. & Paula, C. R. (2013). Spray drying of *Eugenia dysenterica* extract: effects of in-process parameters on product quality, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(1), 115-123.
- Cujic, N., Savikin, K., Jankovic, T., Pljevljakusic, D., Zdunic, G. & Ibric, S. (2016a). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique, *Food Chemistry*, 194, 135–142.
- Ćujić, N., Trifković, K.T., Bugarški, B., Ibrić, S., Pljevljakušić, D., & Šavikin, K. (2016b). Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system, *Industrial Crops and Products*, 86, 120-131.
- Ćujić-Nikolić, N., Stanisavljević, N., Šavikin, K., Kalušević, A., Nedović, V., Samardžić, J., & Janković, T. (2019). Chokeberry polyphenols preservation using spray drying: effect of encapsulation using maltodextrin and skimmed milk on their recovery following *in vitro* digestion, *Journal of Microencapsulation*, 36(8), 693–703.
- Cvitanovic, A., Levic, S., Kalusevic, A., Spoljaric, I., Dordevic, V., Komes, D., Mrcic, G. & Nedovic, V. (2015). Efficiency assessment of biopolymers as encapsulants of green tea (*Camellia sinensis* L.) bioactive compounds by spray drying, *Food and Bioprocess Technology*, 8, 2444-2460.
- Çalışkan, G. & Dirim, S. N. (2016). The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders, *Powder Technology*, 287, 308-14.

- Dadi, D. W., Emire, S. A., Hagos, A. D. & Eun, J. B (2019). Effects of spray drying process parameters on the physical properties and digestibility of the microencapsulated product from *Moringa stenopetala* leaves extract, *Cogent Food & Agriculture*, 5, 1.
- Damodaran, S., Parkin, K.L. (2017). *Fennema's Food Chemistry*. Boca-Raton: CRC press.
- Davidov-Pardo, G., Pérez-Ciordia, S., Marín-Arroyo, M. R., & McClements, D. J. (2015). Improving resveratrol bioaccessibility using biopolymer nanoparticles and complexes: impact of protein-carbohydrate maillard conjugation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(15), 3915–3923.
- Day, A. J., Canada, F. J., Diaz, J. C., Kroon P. A., Mclauchlan, R., Faulds, C. B., Plumb, G. W., Morgan, M. R. A. & Williamson, G. (2000). Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase, *FEBS Letters*, 468, 166-170.
- Daza, L. D., Fujita, A., Favaro-Trindade, C. S., Rodrigues-Ract, J. N., Granato, D., Genovese, M. I. (2016). Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts, *Food and Bioproducts Processing*, 97, 20-29.
- de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V. & Botrel, D. A. (2014a). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil, *Carbohydrate Polymers*, 101, 524–532.
- de Barros Fernandes R. V., Marques, G.R., Borges, S.V. & Botrel, D.A. (2014b). Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil, *Industrial Crops and Products*, 58, 173-181.
- de Medeiros, T., de Azevedo Silva, A. M., da Silva, A. L., Bezerra, L. R., da Silva Agostini, D. L., de Oliveira, D., Mazzetto, S. E., Kotzebue, L., Oliveira, J. R., Souto, G., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., & Oliveira, R. L. (2019). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087.
- Deladino, L., Anbinder, P. S., Navarro, A. S. & Martino, M. N. (2008). Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*, *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 126-134.
- Demirci, M. (2010). Gıda Kimyası, İstanbul, Türkiye.
- Desai, K. G. H. & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying Technology*, 23, 1361-1394.
- Desesso, J. M. & Jacobson, C. F. (2001). Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats, *Food and Chemical Toxicology*, 39(3), 209-228.
- Ding, Z., Tao, T., Wang, X., Prakash, S., Zhao, Y., Han, J. & Wang, Z. (2020). Influences of different carbohydrates as wall material on powder characteristics, encapsulation efficiency, stability and degradation kinetics of microencapsulated lutein by spray drying, *International Journal of Food Science and Technology*, 55, 2872-2882.
- Do, T. T. H. & Nguyen, V. H. (2018). Effects of spray drying temperatures and ratios of gum arabic to microcrystalline cellulose on antioxidant and physical properties of mulberry juice powder, *Beverages*, 4, 101.
- Drewnowski, A. & Gomez-Carneros, C. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(6), 1424-1435.
- Dube, A., Nicolazzo, J. A. & Larson, I. (2010). Chitosan nanoparticles enhance the intestinal absorption of the green tea catechins (+)-catechin and (-)-epigallocatechin gallate, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(2), 219-225.
- Dulloo, A. G., Duret, C., Rohrer, D., Girardier, L., Mensi, N., Fathi, M., Chantre, P. & Vandermander, J. (1999). Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols

- and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (6), 1040–1045.
- Ekambaram, P., Abdul Hasan Sathali, A. & Priyanka, K. (2012). Solid lipid nanoparticles: a Review, *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 2(1), 80-102.
- El-Kamel, A. H., Al-Gohary, O. M. N. & Hosny, E.A. (2003). Alginate-diltiazem hydrochloride beads: Optimization of formulation factors, *in vitro* and *in vivo* availability, *Journal of Microencapsulation*, 20(2), 211–225.
- Eun, J. B., Maruf, A., Das, P. R. & Nam, S-H. (2020). A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3547-3572.
- Ezhilarasi, P. N., Muthukumar, S. P., Anandharamakrishnan, C. (2016). Solid lipid nanoparticle enhances bioavailability of hydroxycitric acid compared to a microparticle delivery system, *RSC Advances*, 6, 53784–53793.
- Fang, Z. & Bhandari B. (2010). Encapsulations of polyphenols-A Review, *Trends in Food Science and Technology*, 21, 510-523.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi Ashtari, A. & Omid, M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder, *Food and Bioproducts Processing*, 90 (4), 667–675.
- FDA. Erişim: 13.04.2020. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general considerations, <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Guidance-for-Industry-Bioavailability-and-Bioequivalence-Studies-for-Orally-Administered-Drug-Products-General-Considerations.PDF>.
- Fernandes, L. B., Turatti, I. C. C., Lopes, N. P., Ferreira, J. C., Candido, R. C. & Oliveira, W. (2008). Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of lippia sidoides essential oil, *Drying Technology*, 26, 1534-1542.
- Ferruzzi, M. G. (2010). The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea, *Physiology & Behavior*, 100(1), 33-41.
- Ferreira-Santos, P., Ibarz, R., Fernandes, J. M., Pinheiro, A. C., Botelho, C., Rocha, C., Teixeira, J. A. & Martín-Belloso, O. (2021). Encapsulated pine bark polyphenolic extract during gastrointestinal digestion: bioaccessibility, bioactivity and oxidative stress prevention, *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(2), 328.
- Flores, F. P., Singh, R. K., Kerr, W. L., Pegg, R. B. & Kong, F. (2014). Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during *in vitro* digestion, *Food Chemistry*, 153, 272–278.
- Fontes, G. C., Calado, V., Rossi, A., & Rocha-Leão, M. H. (2013). Characterization of antibiotic-loaded alginate-osa starch microbeads produced by ionotropic pregelation, *BioMed Research International*, 2013.
- Frascareli, E., Silva, V. M., Tonon, R. V. & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying, *Food and Bioproducts Processing*, 90(3), 413–424.
- Freitas, C. A., Vieira, Í.G., Sousa, P. H., Muniz, C. R., Gonzaga, M. L., & Guedes, M. I. (2016). Carnauba wax p-methoxycinnamic diesters: Characterisation, antioxidant activity and simulated gastrointestinal digestion followed by *in vitro* bioaccessibility, *Food Chemistry*, 196, 1293–1300.
- Fu, N., Zhou, Z., Jones, T. B., Tan, T. T. Y., Wu, W. D., Lin, X. S., Chen, X. D. & Chan, P. P. Y. (2011). Production of monodisperse epigallocatechin gallate (EGCG) microparticles by spray drying for high antioxidant activity retention, *International Journal of Pharmaceutics*, 413, 155-166.
- Fujiki, H. (2005). Green tea: Health benefits as cancer preventive for humans, *Chemical*

*Record*, 5(3), 119-132.

- Fundueanu, G., Nastruzzi, C., Carpov, A., Desbrieres, J. & Rinaudo, M. (1999) Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods, *Biomaterials*, 20, 1427–1435.
- Galvão, J. G., Santos, R. L., Lira, A. A. M., Kaminski, R., Sarmiento, V. H., Severino, P., Dolebella, S. S., Scher, R., Souto, E. B., Nunes, R. S. (2020). Stearic Acid, Beeswax and Carnauba Wax as Green Raw Materials for the Loading of Carvacrol into Nanostructured Lipid Carriers, *Applied Sciences*, 10(18), 6267.
- Gayoso, L., Claerbout, A. S., Calvo, M. I., Caverro, R. Y., Astiasarán, I. & Ansorena, D. (2016). Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: influence of the *in vitro* gastrointestinal digestion models, *Journal of Functional Foods*, 26, 428–438.
- Garud, A., Singh, D. & Garud, N. (2012). Solid lipid nanoparticles (SLN): method, characterization and applications, *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(11), 384-393.
- Ghani, A. A., Adachi, S., Shiga, H., Neoh, T. L., Adachi, S. & Yoshii, H. (2017). Effect of different dextrose equivalents of maltodextrin on oxidation stability in encapsulated fish oil by spray drying, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 81(4), 705-711.
- Gharsallaoui, A., Roudant, G., Chambin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Gholamian, S., Nourani, M., & Bakhshi, N. (2021). Formation and characterization of calcium alginate hydrogel beads filled with cumin seeds essential oil, *Food Chemistry*, 338, 128143.
- Gomes da Costa, J. M., Silva, E. K., Hijo, A. A. C. T., Azevedo, V. M. & Borges, S. V. (2015). Physical and thermal stability of spray-dried swiss cheese bioaroma powder, *Drying Technology*, 33(3), 346-354.
- Gonthier, M. P., Cheynier, V., Donovan, J. L., Manach, C., Morand, C., Mila, I., Lapiere, C., Remesy, C. & Scalbert, A. (2003). Microbial aromatic acid metabolites formed in the gut account for a major fraction of the polyphenols excreted in urine of rats fed red wine polyphenols, *The Journal of Nutrition*, 133, 461-467.
- González, E., Gómez-Caravaca, A. M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Parada, J., Martínez-Férez, A., Segura-Carretero, A., & Robert, P. (2020). Role of maltodextrin and inulin as encapsulating agents on the protection of oleuropein during *in vitro* gastrointestinal digestion, *Food Chemistry*, 310, 125976.
- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. & Kazakis, N. A. (2004). Influence of spray drying conditions on tomato powder properties, *Drying Technology*, 22(5), 1129–1151.
- Goula, A.M., & Adamopoulos, K.G. (2005). Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp, *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 479- 487.
- Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M. & Bucić-Kojić, A. (2020). Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds, *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(10), 923.
- Gu, F., Kim, J. M., Hayat, K., Xia, S., Feng, B., & Zhang, X. (2009). Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein- glucose model system, *Food Chemistry*, 117(1), 48–54.
- Guo Q., Zhao B., Shen S., Hou J., Hu J. & Xin W. (1999). ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1427(1), 13–23.
- Güven, E., Otkun, G.T. & Boyacıoğlu, D. (2010). Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler, *Gıda*, 35(5), 387-394.

- Goula, A. M. & Adamopoulos, K. G. (2005). Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties, *Journal of Food Engineering*, 66(1), 35-42.
- Hajj Ali, H., Michaux, F., Ntsama, I. S. B., Durand, P., Jasniewski, J., Linder, M. (2015). Shea butter solid nanoparticles for curcumin encapsulation: Influence of nanoparticles. Size on drug loading, *European Journal of Lipid Science and Technology*, Wiley-VCH Verlag.
- Halder, J. & Bhaduri, A. N. (1998). Protective role of black tea against oxidative damage of human red blood cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 244(3), 903–907.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*, New York: Oxford University Press.
- Hamishehkar, H., Shokri, J., Fallahi, S., Jahangiri, A., Ghanbarzadeh, S., & Kouhsoltani, M. (2015). Histopathological evaluation of caffeine-loaded solid lipid nanoparticles in efficient treatment of cellulite, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41(10), 1640–1646.
- Harnsilawat, T., Pongsawatmanit, R. & McClements, D.J. (2006). Characterization of lactoglobulin sodium alginate interactions in aqueous solutions: a calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study, *Food Hydrocolloids*, 20(5), 577–585.
- Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action, *Journal of Natural Product*, 59, 205-215.
- Heath MR, Prinz JF. 1999. In: Rosenthal AJ, editor. Oral processing of foods and the sensory evaluation of texture. Gaithersburg, MD, USA: Aspen Publishers Inc. pp 18–29.
- Higdon, J. V. & Frei, B. (2003). Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 89-143.
- Huang, M. T, Ho, C. T, Wang, Z. Y, Ferro, T., Finnegan-olive, T., Lou, Y. R., Mitchell, J. M., Laskin, J. D., Newmark, H., Yang, C. S. & Conney, A. H., (1992). Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin, *Carcinogenesis*, 13(6), 947–954.
- Huang, K. S., Yang, C. H., Lin, Y. S., Wang, C. Y., Lu, K., Chang, Y. F. & Wang, Y. L. (2011). Electrostatic droplets assisted synthesis of alginate microcapsules, *Drug Delivery and Translational Research*, 1(4), 289–298.
- İçyer, C. (2012). Nar kabuğu fenolik bileşenlerinin su ile ekstraksiyonu ve ekstraktların mikroenkapsülasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- İsailovic, B., Kalusevic, A., Zurzul, N., Coelho, M. T., Dordevic, V., Alvesi V. N., Sousa, I., Maldao-Martins, M., Bugarski, B., Nedovic, V. A. (2012). Microencapsulation of natural antioxidants from *pterispartum tridentatum* in different alginate and inulin systems, *6th Central European Congress on Food*, Novi sad, Serbia, May 23-26.
- James, Z., Baharin, B. S., Mohammed, A. S. & Abas, F. (2016). Green tea leaves extract: Microencapsulation, physicochemical and storage stability study, *Molecules*, 21(8), 940.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying, *Drying Technology*, 26, 816-835.
- Jafari, S. M., Ghalenoei, M. G. & Denhad, D. (2017). Influence of spray drying on water solubility index, apparent density and anthocyanin content of pomegranate juice powder, *Powder Technology*, 311, 59-65.
- Jain, S., Winuprasith, T. & Suphantharika, M. (2020). Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization,

- stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion, *Food Hydrocolloids*, 104, 105730.
- Jeon, J. Y., Vasanthan, T., Temelli, F. & Song, B. K. (2003). The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavour encapsulation, *Food Research International*, 36, 349-355.
- Jeong, C., Kim, S., Lee, C., Cho, S., & Kim, S. B. (2020). Changes in the physical properties of calcium alginate gel beads under a wide range of gelation temperature conditions, *Foods*, 9(2), 180.
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins, *Food Chemistry*, 175, 556–567.
- Jakobek, L. & Matic, P. (2019). Non-covalent dietary fiber-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility, *Trends in Food Science & Technology*, 83, 235–247.
- James, Z., Baharin, B.S., Abdulkarim, S.M. & Abas, F. (2016). Microencapsulation of green tea extracts and its effects on the physico-chemical and functional properties of mango drinks, *International Journal of Basic&Applied Sciencis*, 16(2), 16-32.
- Janiszewska-Turak, E., Dellarosa, N., Tylewicz, U., Laghi, L., Romani, S., Rosa, M.D. & Witrowa-Rajchert, D. (2017). The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules, *Food Chemistry*, 236, 134-141.
- Juaniz, I., Ludwig, I., Bresciani, L., Dall'Asta, M., Mena, P., Rio, D., Cid, C., & Peña, M. D. (2016). Catabolism of raw and cooked green pepper (*Capsicum annuum*) (poly)phenolic compounds after simulated gastrointestinal digestion and faecal fermentation, *Journal of Functional Foods*, 27, 201-213.
- Jumah, R. Y., Tashtoush, B., Shakher, R. R. & Zraiy, A. F. (2000). Manufacturing parameters and quality characteristics of spray dried jameed, *Drying Technology*, 18 (4-5), 967–984.
- Jovanovic, S. V., Steenken, S., Hara, Y. & Simic, M.G. (1996). Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals, *J. Chem. Soc. Perkins Trans.*, 2, 2497– 2504.
- Kaderides, K. & Goula, A. M. (2019). Encapsulation of pomegranate peel extract with a new carrier material from orange juice by-products, *Journal of Food Engineering*, 253, 1-13.
- Kang, Y. R., Lee, Y. K., Kim, Y. & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin, *Food Chemistry*, 272, 337- 346.
- Karim, N. A., Muhamad, I., Pae, N. & Aziz, R.A (2017). Effect of spray drying conditions on the antioxidant and physicochemical properties of clinacanthus nutans leaves extracts, *Chemical Engineering Transactions*, 56, 961-966.
- Kaur, N., Singh, B., & Sharma, S. (2018). Hydrogels for potential food application: Effect of sodium alginate and calcium chloride on physical and morphological properties, *The Pharma Innovation Journal*, 7, 142-148.
- Kha, T., Nguyen, M., & Roach, P. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder, *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
- Khan, N. & Mukhtar, H. (2007). Tea polyphenols for health promotion, *Life Sciences*, 81(7), 519–533.
- Kim, B., Kim, D-M., Lee, S-H., Shin, H-J. (2012). Coating of vitamin c using natural wax as a cosmetic additive, *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 27, 319-323.
- Kwiecień, I. & Kwiecień, M. (2018). Application of polysaccharide-based hydrogels as probiotic delivery systems, *Gels*, 4(2), 47.

- Kuroda, Y. & Hara, Y. (1999). Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols, *Mutation Research*, 436(1), 69–97.
- Koç, M., Sakin, M. & Kaymak-Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16, 77-86.
- Kong, H., Lee, K., & Mooney, D. (2002). Decoupling the dependence of rheological/mechanical properties of hydrogels from solids concentration, *Polymer*, 43, 6239-6246.
- Kostic, I., Isailovic, B., Ćordevic, V., Levic, S., Nedovic, V. & Bugarski B. (2012). Electrostatic extrusion as a dispersion technique for encapsulation of cells and bioactive compounds, *Hemijaska Industrija*, 66(4), 505–517.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R. & Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray drying, *Chemical Engineering Research and Design*, 90, 622-632.
- Kyriakoudi, A., & Tsimidou, M. Z. (2018). Properties of encapsulated saffron extracts in maltodextrin using the Büchi B-90 nano spray-dryer, *Food chemistry*, 266, 458–465.
- Labuza, T. P. & Altunakar, B. (2007). Water activity in foods: Fundamentals and applications. In Barbosa-Canovas, G.V., Fontana, A.J., Schmidt, S.J., Labuza, T.P. (Eds.), *Water Activity Prediction and Moisture Sorption Isotherms*. (pp. 109–154). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Lacerda, E. C. Q., Calado, V. M. A., Monteiro, M., Finotelli, P. V., Torres, A. G. & Perrone, D. (2016). Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles, *Carbohydrate Polymers*, 151, 500-510.
- Lakenbrink, C., Lapczynski, S., Maiwald, B. & Engelhardt U. H. (2000). Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 2848–2852.
- Lambert, J. D., Sang, S. & Yang, C. S. (2007). Biotransformation of green tea polyphenols and the biological activities of those metabolites, *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 819-825.
- Langley-Evans, S. C. (2000). Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 181–188.
- Lasoń, E. & Ogonowski, J. (2011). Solid lipid nanoparticles—Characteristics, application and obtaining, *Chemik.*, 65(10), 960-967.
- Lee, B.- B., Ravindra, P. & Chan, E.- S. (2013). Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping, *Chemical Engineering & Technoogy.*, 36(10), 1627-1642.
- Lekshmi, R., Rahima, M., Chatterjee, N. S., Tejpal, C. S., Anas, K. K., Vishnu, K. V., Sarika, K., Asha, K. K., Anandan, R., & Suseela, M. (2019). Chitosan -Whey protein as efficient delivery system for squalene: Characterization and functional food application, *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 855–863.
- Leong, J., Lam, W. H., Ho, K., Voo, W., Lee, M. F., Lim, H., Lim, S., Tey, B., Poncelet, D. & Chan, E. (2016). Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems, *Particuology*, 24, 44-60.
- Levic, S., Lijaković, I. P., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Knudsen, T. Š., Pavlović, V., Bugarski, B., & Nedovic, V. (2015). Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion, *Food Hydrocolloids*, 45, 111-123.

- Lewińska, D., Bukowski, J., Kozuchowski, M., Kinasiewicz, J., Werynski, A. (2008). Electrostatic microencapsulation of living cells, *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, 28, 69-84.
- Liang, L., Wu, X., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zou, Y., Mao, G. & Yang, L. (2012). *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* roxb.) Following simulated gastro-intestinal digestion, *Food Research International*, 46(1), 76–82.
- Li, Y., Kong, M., Feng, C., Liu, W.F., Liu, Y., Cheng, X.J. & Chen, X.G., (2012). Preparation and property of layer-by-layer alginate hydrogel beads based on multi-phase emulsion technique, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 62(2), 217–226.
- Li, Z., Jiang, H., Xu, C. & Gu, L. (2015). A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals, *Food Hydrocolloids*, 43, 153–164.
- Li, H., Deng, Z., Liu, R., Loewen, S. & Tsao, R. (2014). Bioaccessibility, *in vitro* antioxidant activities and *in vivo* anti-inflammatory activities of a purple tomato (*Solanum lycopersicum* L.), *Food Chemistry*, 159, 353–360.
- Li, Y., Feng, C., Li, J., Mu, Y., Liu, Y., Kong, M., Cheng, X. & Chen, X. (2017a). Construction of multilayer alginate hydrogel beads for oral delivery of probiotics cells, *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 924–930.
- Li, P., Müller, M., Chang, M. W., Frettlöh, M. & Schönherr, H. (2017b). Encapsulation of autoinducer sensing reporter bacteria in reinforced alginate-based microbeads, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(27), 22321–22331.
- Li, Y., Wu, L., Weng, M., Tang, B., Lai, P. & Chen, J. (2018). Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* Lindl.), *Powder Technology*, 340 (2018), 459-464.
- Lim, S. F. & Chen, J.P. (2007). Synthesis of an innovative calcium-alginate magnetic sorbent for removal of multiple contaminants, *Applied Surface Science*, 253, 5772–5775.
- Lim, K. J. A., Cabajar, A. A., Migallos, M. K. V., Lobarbio & C. F. Y., Taboada, E. B. (2019). Microencapsulation of phenolic compounds from waste mango seed kernel extract by spray drying technology, *Nature Environment and Pollution Technology*, 18, 765-775.
- Lin, J. & Liang, Y. (2000). Cancer chemoprevention by tea polyphenols, *Proceedings of the National Science Council, Republic of China Part B Life sciences*, 24(1), 1–13.
- Lingua M. S, Salomón, V., Baroni, M. V, Blajman, J. E, Maldonado, L. M. & Páez, R. (2021). Effect of spray drying on the microencapsulation of blueberry natural antioxidants, *Proceedings*, 70(1), 26.
- Lorenzo, J. M. & Munekata, P. E. S. (2016). Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6, 709-719.
- Lotfipour, F., Mirzaeei, S. & Maghsoodi, M. (2012). Evaluation of the effect of CaCl<sub>2</sub> and alginate concentrations and hardening time on the characteristics of *Lactobacillus acidophilus* loaded alginate beads using response surface analysis, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(1), 71–78.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2020). Microencapsulation of pineapple peel extract by spray drying using maltodextrin, inulin, and arabic gum as wall matrices, *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(6), 718.

- Low, K. G. & Lim, S. F. (2014). Study on electrostatic extrusion method for synthesizing calcium alginate encapsulated iron oxide, *Journal of Applied Science & Process Engineering*, 1(1), 9-27.
- Ma, K. L. M. & Dolan, K. D. (2011). Effects of spray drying on antioxidant capacity and anthocyanidin content of blueberry by-products, *Journal of Food Science*, 76(7), 156-164.
- Machado, A.R., Pinheiro, A., Vicente, A., Souza-Soares, L.A., & Cerqueira, M. (2019). Liposomes loaded with phenolic extracts of Spirulina LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions, *Food Research International*, 120, 656-667 .
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.
- Madureira, A. R., Campos, D. A., Fonte, P., Nunes, S., Reis, F., Gomes, A. M., Sarmiento, B. & Pintado, M. M. (2015). Characterization of solid lipid nanoparticles produced with carnauba wax for rosmarinic acid oral delivery, *RSC Advances*, 5, 22665-22673.
- Mahdi, A. A., Mohammed, K. J., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I. & Wang, H. (2019). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying, *International Journal of Biological Macromolecules*, 152(1), 1125-1134.
- Matyash, M., Despang, F., Ikonomidou, C. & Gelinsky, M. (2014). Swelling and mechanical properties of alginate hydrogels with respect to promotion of neural growth, *Tissue Engineering Part C Methods*, 20(5), 401-411.
- Manojlovic, V., Rajic, N., Djonlagic, J., Obradovic, B., Nedovic, V. & Bugarski, B. (2008). Application of Electrostatic Extrusion-Flavour Encapsulation and Controlled Release, *Sensors*, 8(3), 1488-1496.
- Maswal, M. & Dar, A.A. (2014). Formulation changes in encapsulated and delivery of citral for improved food quality, *Food Hydrocolloids*, 37, 182-195.
- Mazumder, M. A., & Ranganathan, T. V. (2020). Encapsulation of isoflavone with milk, maltodextrin and gum acacia improves its stability, *Current Research in Food Science*, 2, 77-83.
- McKay, D. L. & Blumberg, J. B. (2002). The role of tea in human health: An update, *Journal of the American College of Nutrition*, 21(1) 1-13.
- McClements, D. J. (1999). Food emulsions: Principles, practice, and techniques (2nd ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Medina-Torres, L., Nunez-Ramirez, D. M., Calderas, F., Gonzalez-Loredo, R. F., Minjares-Fuentes, R., Valadez-Garcia, M. A., Bernard-Bernard, M. J. & Monero, O. (2019). Microencapsulation of gallic acid by spray drying with aloe vera mucilage (aloe barbadensis miller) as wall material, *Industrial Crops & Products*, 138, 111461.
- Meena, S., Prasad, W., Khamrui, K., Mandal, S. & Suheela, B. (2021). Preparation of spray-dried curcumin microcapsules using a blend of whey protein with maltodextrin and gum arabica and its in-vitro digestibility evaluation, *Food Bioscience*, 41, 100990.
- Mehnert, W. & Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 165-196.
- Mellema, M., Van Benthum, W. A., Boer, B., Von Harras, J., & Visser, A. (2006). Wax encapsulation of water-soluble compounds for application in foods, *Journal of Microencapsulation*, 23(7), 729-740.
- Milanovic, J., Manojlovic, V., Levic, S., Rajic, N., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2010). Microencapsulation of flavors in carnauba wax, *Sensors (Basel, Switzerland)*, 10(1), 901-912.

- Milanovic, J., Levic, S., Manojlovic, V., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2011). Carnauba wax microparticles produced by melt dispersion technique, *Chemical Papers*, 65, 213-220.
- Milanovic, J., Sevic, G. I., Gavrilovic, M., Milosavljevic, M., Bugarski, B. (2017). Blend of natural waxes as a matrix for aroma encapsulation, *Physics, Chemistry and Technology*, 15(2), 103-111.
- Mishra, P., Mishra, S. & Mahanta, C. L. (2014). Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physi- cochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder, *Food Bioproducts Processing*, 92(3), 252-258.
- Mishra, V., Bansal, K. K., Verma, A., Yadav, N., Thakur, S., Sudhakar, K., & Rosenholm, J. M. (2018). Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems, *Pharmaceutics*, 10(4), 191.
- Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Alhelli, A. M. & Hussin, A. S. M. (2017). Process conditions of spray drying microencapsulation of *Nigella sativa* oil, *Powder Technology*, 315, 1-14.
- Mokarram, R. R., Mortazavi, S. A., Najafi, M. B. H. & Shahidi, F. (2009). The influence of multistage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice, *Food Research International*, 42, 1040–1045.
- Moral, S. P. (2019). Development of nanoencapsulated phenolic green extracts for functional food and nutraceutical: *Hibiscus sabdariffa* as example (Doktora tezi). Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Granada.
- Moreno, T., Cocero, M. J. & Rodriguez-Rojo, S. (2018). Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics, *Food and Bioproducts Processing*, 112, 96-107.
- Mosele, J. I., Macià, A., Romero, M. P. & Motilva, M. J. (2016). Stability and metabolism of arbutus unedo bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation, *Food Chemistry*, 201, 120–130.
- Munin, A. & Lévy F.E. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; A review, *Pharmaceutics*, 3, 793-829.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D. & Kalia, P. (2014). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying, *Food Science and Technology International*, 21(8), 604-612.
- Nagle, D. G., Ferreira, D. & Zhou, Y-D. (2006). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Chemical and biomedical perspectives, *Phytochemistry*, 67(17), 1849–1855.
- Najafi-Soulari, S., Shekarchizadeh, H. & Kadivar, M. (2016). Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 27(16), 1631–1644.
- Nandy, A., Lee, E., Mandal, A., Saremi, R., & Sharma, S. (2020). Microencapsulation of retinyl palmitate by melt dispersion for cosmetic application, *Journal of Microencapsulation*, 37(3), 205–219.
- Nanjo, F., Mori, M., Goto, K. & Hara, Y. (1999). Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 63, 1621–1623.
- Navarro-Flores, M. J., Ventura-Canseco, L., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. & Abud-Archila, M. (2020). Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials, *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4111–4122.
- Nedovic, V., Manojlovic, V., Pruesse, U., Bugarski, B., Djonlagic, J. & Vorlop, K. (2006). Optimization of the electrostatic droplet generation process for controlled microbead production-single nozzle system, *Chemical Industry & Chemical Engineering*

- Quarterly*, 12(1), 53-57.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications, *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815.
- Neilson, A. P., Hopf, A. S., Cooper, B. R., Pereira, M. A., Bomser, J. A., & Ferruzzi, M. G. (2007). Catechin degradation with concurrent formation of homo-and heterocatechin dimers during *in vitro* digestion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8941–8949.
- Nguyen, P. T. N., Vo, T. T., Tran, T. Y. N., Le, T. H. N., Mai, H. C., Tran, T. T. & Long, G. B. (2021). Encapsulation efficiency and thermal stability of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil microencapsulated by the spray-drying process, *Food Research*, 5(1), 195-202.
- Nikolic, N. C., Stanisavljevic, N., Savikin, K., Kalusevic, A., Nedovic, V., Bigovic, D. & Jankovic, T. (2018). Application of gum Arabic in the production of spray-dried chokeberry polyphenols, microparticles characterisation and *in vitro* digestion method, *Lekovite Sirovine*, 38, 9-16.
- Nimase, P. K. & Vidyasagar, G. (2010). Preparation and evaluation of floating calcium alginate beads of clarithromycin, *Der Pharmacia Sinica*, 1, 29–35.
- Nunes, G. L., Boaventura, B. C. B., Pinto, S. S., Verruck, S., Murakami, F. S. & Prudêncio, E. S. (2015). Microencapsulation of freeze concentrated Ilex paraguariensis extract by spray drying, *Journal of Food Engineering*, 151, 60–68.
- Nunes, I. L. & Mercadante, A. Z. (2007). Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(5), 893-900.
- Nogueira, G. F., Fakhouri, F. M. & Oliveira, R. A. (2018). Blackberry pulp microencapsulation with arrowroot starch and gum arabic mixture by spray drying and freeze drying, *21st International Drying Symposium*, Valencia, Spain: September 18-21.
- Norudin, N. S., Mohamed, H. N., Yahya, N. A. M. Controlled released alginate-inulin hydrogel: Development and in-vitro characterization. CAST'18. Proceedings of 3rd International Conference On Applied Science And Technology (ICAST'18), (pp. 020113-1-020113-6). India: University of Mumbai, April 6-7.
- Ohashi, T., Kuyama, H., Suzuki, K. & Nakamura, S. (2009). Control of aqueous droplets using magnetic and electrostatic forces, *Analytica Chimica Acta*, 612, 218-225.
- Oliveira, A. & Pintado, M. (2015). Stability of polyphenols and carotenoids in strawberry and peach yoghurt throughout *in vitro* gastrointestinal digestion, *Food Function*, 6(5), 1611–1619.
- Ouwerx, C., Velings, N., Mestdagh, M. M. & Axelos M. A. V. (1998). Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads formed with various divalent cations, *Polymer Gels and Networks*, 6(5), 393–408.
- Özcan, T. & Altun, B. (2013). Süt Ürünlerinde Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu I: Enkapsülasyon teknikleri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 93-104.
- Özdemir, N. (2019). Fesleğen (*Ocimum basilicum l.*) uçucu yağının püskürterek kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyonu ve model üründe uygulanması (Doktora tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Paques, J. P., van der Linden, E., van Rijn, C. J. M. & Sagis, L. M. C. (2013). Alginate submicron beads prepared through w/o emulsification and gelation with CaCl<sub>2</sub> nanoparticles, *Food Hydrocolloids*. 31 (2), 428–434.

- Paim, D. R. S. F., Costa, D. O. S., Walter, E. H. M., Tonon, R. V. (2016). Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying, *LWT-Food Science and Technology*, 74, 21-25.
- Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Lagazzo, A., Botter, R., & Perego, P. (2015). Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters, *Lwt -Food Science and Technology*, 62, 177-186.
- Pandey, K. B. & Rizvi, S. Í. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Pang, S. F., Yusoff, M. M. & Gim bun, J. (2014). Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of *Orthosiphon stamineus* extracts, *Food Hydrocolloids*, 37, 159-165.
- Papoutsis, K., Golding, J. B., Vuong, Q., Pristijono, P., Stathopoulos, C. E., Scarlett, C. J. & Bowyer, M. (2018). Encapsulation of citrus by-product extracts by spray-drying and freeze-drying using combinations of maltodextrin with soybean protein and  $\gamma$ -carrageenan, *Foods (Basel, Switzerland)*, 7(7), 115.
- Parikh, A. & Madamwar, D. (2006). Partial characterization of extracellular polysaccharides from cyanobacteria., *Bioresource technology*, 97(15), 1822–1827.
- Puscaselu, G. R., Lobiuc, A., Dimian, M. & Covasa, M. (2020). Alginate: from food industry to biomedical applications and management of metabolic disorders, *Polymers*, 12(10), 2417.
- Paques, J. P., van der Linden, E., van Rijn, C. J. & Sagis, L. M. (2014). Preparation methods of alginate nanoparticles, *Advances in Colloid and Interface Science*, 209, 163–171.
- Pasrija, D., Ezhilarasi, P. N., Indrani D. & Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality, *LWT – Food Science and Technology*, 64(1), 289-296.
- Pasukamonset, P., Kwon, O. & Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions, *Food Hydrocolloids*, 61, 772-779.
- Peanparkdee, M. & Iwamoto, S. (2020). Encapsulation for Improving *In Vitro* Gastrointestinal Digestion of Plant Polyphenols and Their Applications in Food Products, *Food Reviews International*, 1-19.
- Pellicer, J. A., Fortea, M. I., Trabal, J., Rodriguez-Lopez, M. I., Gabaldon, J.A. & Nuznez-Delgado, E. (2019). Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed, *Powder Technology*, 347, 179-185.
- Peres, B. L., Peres, B. L., de Araújo, P., & Sayer, C. (2016). Solid lipid nanoparticles for encapsulation of hydrophilic drugs by an organic solvent free double emulsion technique, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 140, 317–323.
- Peters, C. M., Green, R. J., Janle, E. M. & Ferruzzi, M. G. (2010). Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea, *Food Research International*, 43(1), 95-102.
- Pineda-Vadillo, C., Nau, F., Dubiard, C. G., Cheynier, V., Meudec, E., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Tóth, T., Csavajda, É. & Hingyi, H. (2016). *In vitro* digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity, *Food Research International*, 88, 284–292.
- Puligundla, P., Mok, C., Ko, S., Liang, J. & Recharla, N. (2017). Nanotechnological approaches to enhance the bioavailability and therapeutic efficacy of green tea polyphenols, *Journal of Functional Foods*, 34, 139-151.
- Poncelet, D., Babak, V. G., Neufeld, R. J., Goosen, M. F. A. & Burgarski, B. (1999). Theory

- of electrostatic dispersion of polymer solutions in the production of microgel beads containing biocatalyst, *Advances in Colloid and Interface Science*, 79, 213-228.
- Praveen, R., Verma, P. R. P., Singh, S. K. & George, J. K. (2015). Cross linked alginate gel beads as floating drug delivery system for cefdinir: Optimization using Box–Behnken design, *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 45(2), 187–199.
- Purnamayati, L., Dewi, E.N. & Kurniasih, R. A. (2018). Phycocyanin stability in microcapsules processed by spray drying method using different inlet temperature. In *Earth and Environmental Science. Proceeding of the 3rd International Conference on Tropical and Coastal Region Eco Development (116012076)* Indonesia: Yogyakarta, October 2-4.
- Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
- Quideau, S. & Feldman, K. S. (1996). Ellagitannin chemistry, *Chemical Reviews*, 96, 475-503.
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S. & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials, *Food Hydrocolloids*, 51, 327-337.
- Rahman, M.S, Labuza, T.P. (2007). Handbook of food preservation. *Water activity and food preservation*. (pp.448-471).
- Rashidenejad, A., Birch, E.J., Sun-Waterhouse, D. & Everett, D.W. (2014). Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese, *Food Chemistry*, 156, 176-183.
- Re, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying, *Drying Technology* 16(6), 1195-1236.
- Ren, W., Tian, G., Zhao, S., Yang, Y., Gao, W., Zhao, C., Zhang, H., Lian, Y., Wang, F., Du, H., Xiao, H. & Zheng, J. (2020). Effects of spray-drying temperature on the physicochemical properties and polymethoxy avone loading efficiency of citrus oil microcapsules, *LWT-Food Science and Technology*, 133,109954.
- Rezende, Y., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization, *Food Chemistry*, 254, 281–291.
- Rice-Evans, C. (1999). Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants *in vitro* for chemoprevention in humans, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, 220(4), 262–266.
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying, *International Journal of Food Science & Technology*, 45, 1386-1394.
- Robert, P., Garcia, P., Reyes, N., Chavez, J. & Santos, J. (2012). Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system, *Food Chemistry*, 134, 1-8.
- Rocha, J. C. G., Barros, F. A. R., Perrone, Í. T., Viana, K. W. C., Tavares, G. M., Stephani, R. & Stringheta, P. C. (2018). Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts, *Powder Technology*, 343, 317-325.
- Rocha, B., Francisco, C., Almeida, M., Ames, F.Q., Bona, E., Leimann, F., Gonçalves, O.H., & Bersani-Amado, C. (2020). Antiinflammatory activity of carnauba wax microparticles containing curcumin. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 59, 101918.

- Roh, E., Kim, J. E., Kwon, J. Y., Park, J. S., Bode, A. M., Dong, Z. & Lee, K.W. (2017). Molecular mechanisms of green tea polyphenols with protective effects against skin photoaging, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1631-1637.
- Ross, J. A. & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety, *Annual Review of Nutrition*., 22, 19-34.
- Rousseau, I., Le Cerf, D., Picton, L., Argillier, J. F. & Muller, G. (2004). Entrapment and release of sodium polystyrene sulfonate (SPS) from calcium alginate gel beads, *European Polymer Journal*, 40(12), 2709–2715.
- Saavedra-Leos, Z., Leyva-Porras, C., Araujo-Díaz, S. B., Toxqui-Terán, A., & Borrás-Enríquez, A. J. (2015). Technological application of maltodextrins according to the degree of polymerization, *Molecules*, 20(12), 21067–21081.
- Saenz, C., Tapia, S., Chavez, J. & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*), *Food Chemistry*, 114, 616–622.
- Sajilata, M. G., Bajaj, P. R. & Singhal, R. S. (2008). Tea polyphenols as nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 229-254.
- Santhalakshmy, S., Bosco, S. J. D., Francis, S. & Sabeena, M. (2015). Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray dried jamun fruit juice powder, *Powder Technology*, 274, 37-43.
- Sarabandi, K., Peighambaroust, S. H., Sadeghi Mahoonak, A. R. & Samaei, S. P. (2018). Effect of different carriers on microstructure and physical characteristics of spray dried apple juice concentrate, *Journal of Food Science and Technology*, 55(8), 3098-3109.
- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. & Moutounet, M. (1999). Interactions of grape seed tannins with salivary proteins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 42–47.
- Sastri, K. T., Radha, G., Pidikiti, S., & Vajjhala, P. (2020). Solid lipid nanoparticles: Preparation techniques, their characterization, and an update on recent studies, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(6), 126-141.
- Sathali A. A. H & Varun J. (2012). Formulation, development and *in vitro* evaluation of candesartan cilexetil mucoadhesive microbeads, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 4, 109-118.
- Scalbert, A. & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols, *The Journal of Nutrition*, 130, 2073-2085.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306.
- Scalbert, A., Johnson, I. T. & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond, *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 215-217.
- Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J. S. & Muller, R.H. (1994). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization, *Journal of Controlled Release*, 30(1), 83-96.
- Shahidi, F. & Alexander, D. M. (1998). Green tea catechins as inhibitors of oxidation of meat lipids, *Journal of Food Lipids*, 5(2), 125–133.
- Šeregelj, V., Tumbas Šaponjac, V., Lević, S., Kalušević, A., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Nedović, V., Stajčić, S., Vulić, J., & Vidaković, A. (2019). Application of encapsulated natural bioactive compounds from red pepper waste in yogurt, *Journal of Microencapsulation*, 36(8), 704–714.
- Šeregelj, V., Pezo, L., Šovljanski, O., Levic, S., Nedovic, V., Markov, S., Tomić, A., Canadanovic-Brunet, J., Vulić, J., Šaponjac, V., & Četković, G. (2020). New concept

- of fortified yogurt formulation with encapsulated carrot waste extract, *Lwt-Food Science and Technology*, 110732.
- Sevgi, F., Kaynarsoy, B. & Ertan, G. (2008). An anti-inflammatory drug (Mefenamic Acid) incorporated in biodegradable alginate beads: Development and optimization of the process using factorial design, *Pharmaceutical Development and Technology*, 13(1), 5–13.
- Shaki, H., Vasheghani-Farahani, E., Shojaosadati, S., & Ganji, F. (2014). Optimizing formulation variables of KCl loaded waxy microspheres, *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 37-54.
- Silva, A. C., Gonzalez-Mira, E., Garcia, M. L., Egea, M. A., Fonseca, J., Silva, R., Santos, D., Souto, E. B. & Ferreira, D. (2011). Preparation, characterization and biocompatibility studies on risperidone-loaded solid lipid nanoparticles (SLN): High pressure homogenization versus ultrasound, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86, 158-165.
- Simon-Brown, K., Solval, K. M., Chotiko, A., Alfaro, L., Reyes, V., Liu, C., Dzandu, B., Kyereh, E., Barnaby, A.G., Thompson, I., Xu, Z. & Sathivel, S. (2016). Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology, *LWT - Food Science and Technology*, 70, 119–125.
- Singh, R. (2019). Preparation of solid lipid nanoparticles through various methods using different precursors, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9, 415-419.
- Skibola, C. F. & Smith, M. T. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake, *Free Radical Biology & Medicine*, 29, 375–383.
- Söbüçovalı, S. & Özer, M. S. (2014). Maltodekstrin üretiminde bazı parametrelerin kalite üzerine etkisi, *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 31(1), 51-62.
- Sousa, A. S., Borges, S. V., Magalhães, N. F., Ricardo, H. V. & Azevedo, A. (2008). Spray-dried tomato powder: reconstitution properties and colour, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51, 607-614.
- Soleimanian, Y., Goli, S. A. H., Shirvani, A., Elmizadeh, A. & Marangoni, A. G. (2020). Wax -based delivery systems: Preparation, characterization, and food applications, *Comprehensive Reviews in Food Science*, 19(6), 2994-3030.
- Soni, M. L., Kumar, M. & Namdeo, K. P. (2010). Sodium alginate microspheres for extending drug release: formulation and *in vitro* evaluation, *International Journal of Drug Delivery*, 2, 64-68.
- Stojanovic, R., Belisicak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V. & Bugarski, B. (2012). Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads, *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 92(3), 685–696.
- Su, Y. L., Leung, L. K., Huang, Y. & Chen, Z. Y. (2003). Stability of tea theaflavins and catechins, *Food Chemistry*, 83(2), 189-195.
- Sun, J., Bi, C., Chan, H. M., Sun, S., Zhang, Q., & Zheng, Y. (2013). Curcumin-loaded solid lipid nanoparticles have prolonged *in vitro* antitumour activity, cellular uptake and improved *in vivo* bioavailability, *Colloids and surfaces. B. Biointerfaces*, 111, 367–375.
- Sun, X., Cameron, R. G., Manthey, J. A., Hunter, W. B., & Bai, J. (2020). Microencapsulation of tangeretin in a citrus pectin mixture matrix, *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(9), 1200.
- Suravanichnirachorn, W., Haruthaithanasan, V., Suwonsichon, S., Sukatta, U., Maneeboon, T., & Chantrapornchai, W. (2018). Effect of carrier type and concentration on the properties, anthocyanins and antioxidant activity of freeze-dried mao [*Antidesma bunius* (L.) Spreng] powders, *Agriculture and Natural Resources*, 52(4), 354–360.

- Surh, Y. J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals, *Nature Reviews Cancer*, 3, 768-780.
- Susantikarn, P. & Donlao, N. (2016). Optimization of green tea extracts spray drying as affected by temperature and maltodextrin content, *International Food Research Journal*, 23(3), 1327-1331.
- Şahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A. & Özdemir, F. (2013). Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying, *LWT- Food Science and Technology*, 52(1), 31-38.
- Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D. & Conte, A. (2010). *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols, *Food Chemistry*, 120(2), 599–606.
- Tamahkar, E. (2016). Poli(bütülenadipat-ko-tereftalat) (pbat) mikro ve nanopartiküller: sentez, karakterizasyon ve kurkumin salım kinetiğinin incelenmesi (Yüksek lisans tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tan, S. P., Tuyen, C. K., Parks, S. E., Stathopoulos, C. E. & Roach, P. D. (2015). Effects of the spray-drying temperatures on the physicochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder, *Powder Technology*, 281, 65-75.
- Tanon, V. R., Brabet, C. & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents, *Food Research International*, 43, 907-914.
- Tao Y., Wang P., Wang J., Wu Y., Han Y. & Zhou J. (2017). Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties, *Powder Technology*, 311, 77-87.
- Tao, T., Ding, Z. & Hou, D. (2019). Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying, *Journal of Food Engineering*, 252, 10–17.
- Tengse, D. D, Priya, B., & Kumar, P. Arun Raj. (2017). Optimization for encapsulation of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract by spray drying technology, *Journal of Food Measurement & Characterization*, 11, 85-92.
- Tewa-Tagne, P., Briançon, S., & Fessi, H. (2007). Preparation of redispersible drynanocapsules by means of spray-drying: development and characterisation, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30, 124-135.
- Tolun, A., Altıntaş, Z. & Artık, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization, *Journal of Biotechnology*, 239, 23-33.
- Tomsone, L., Galoburda, R., Kruma, Z., Durrieu, V. & Cinkmanis, I. (2020). Microencapsulation of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) juice using spray drying, *Foods*, 9, 1332.
- Tanon, R.V., Brabet, C. & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying, *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411-418.
- Tanon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., & Hubinger, M.D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*tonon* Mart.) powder produced with different carrier agents, *International Journal of Food Science & Technology*, 44(10), 1950–1958.
- Tanon, R.V., Brabet, C., & Hubinger, M. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents, *Food Research International*, 43, 907-914.

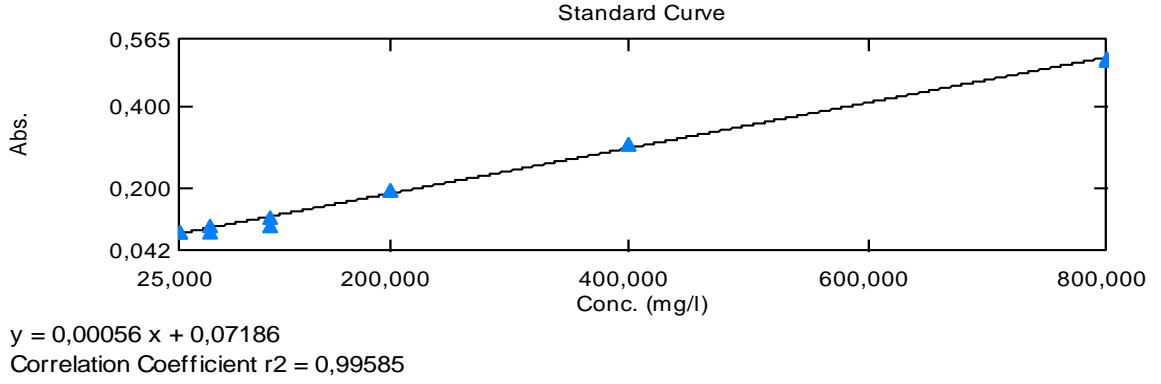
- Tran, T. T. A. & Nguyen, V. H. (2018). Effects of spray drying temperatures and carriers on physical and antioxidant properties of lemon grass leaf extract powder, *Beverages*, 4, 84.
- Trapani, A., Mandracchia, D., Tripodo, G., Di Gioia, S., Castellani, S., Cioffi, N., Ditaranto, N., Estaban, M. A. & Conese, M. (2019). Solid lipid nanoparticles made of self-emulsifying lipids for efficient encapsulation of hydrophilic substances, *AIP Conference Proceedings*, 2145, 020004.
- Tülek, Z., Alaşalvar, H., Başıyığıy, B., Berktaş, S., Salum, P., Erbay, Z., Telci, I. & Çam, M. (2020). Extraction optimization and microencapsulation of phenolic antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis L.*): Instant soluble tea production, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), 1-13.
- Us, F. (2014). Gıda Kimyası. In Saldamlı, İ. (Eds.), *Su ve Buz* (4. baskı, Vol. 1, pp. 9-46). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Valcic, S., Burr, J. A., Timmermann, B. N. & Liebler, D.C. (2000). Antioxidant chemistry of green tea catechins. New oxidation products of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epigallocatechin from their reactions with peroxy radicals, *Chemical Research in Toxicology*, 13(9), 801–810.
- Varavinit, S., Chaokasem, N. & Shobsngob, S. (2001). Studies of flavor encapsulation by agents produced from modified sago and tapioca starches, *Starch-Starke*, 53(6), 281–287.
- Vardin, H. & Yasar, M. (2012). Optimisation of pomegranate (*Punica Granatum L.*) juice spray- drying as affected by temperature and maltodextrin content, *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1), 167-176.
- Vinson, J. A. (2000). Black and green tea and heart disease: a review, *Biofactors*, 13, 127-132.
- Vuong, Q., Golding, J. B., Nguyen, M. & Roach, P. D. (2010). Extraction and isolation of catechins from tea, *Journal of Separation Science*, 33, 3415-3428.
- Vuong, Q. V., Stathopoulos, C. E., Golding, J. B., Nguyen, M. H. & Roach, P. D. (2011). Isolation of green tea catechins and their utilisation in the food industry, *Food Reviews International*, 27, 227–247.
- Walton, D. E. & Mumford, C. J. (1999). Spray dried products characterization of particle morphology, *Chemical Engineering Research and Design*, 77 (1), 21–38.
- Walton, D. E., (2000). The morphology of spray dried particles a qualitative view, *Drying Technology*, 18 (9), 1943–1986.
- Wang, J., Li, H., Chen, Z., Liu, W. & Chen, H. (2016). Characterization and storage properties of a new microencapsulation of tea polyphenols, *Industrial Crops and Products*, 89,152–156.
- Watson, M. A., Lea, J. M., & Bett-Garber, K. L. (2017). Spray drying of pomegranate juice using maltodextrin/cyclodextrin blends as the wall material, *Food Science & Nutrition*, 5(3), 820–826.
- Williamson, G., Coppens, P., Serra-Majem, L. & Dew, T. (2011). Review of the efficacy of green tea, isoflavones and aloe vera supplements based on randomised controlled trials, *Food & Function*, 12, 753-759.
- Wiseman, S. A., Balentine, D. A. & Frei, B. (1997). Antioxidants in tea, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(8), 705–718.
- Woo, J. W., Roh, H. J., Park, H. D., Lee, Y. B., Kim, S. B. & Ji, C. I. (2007). Sphericity optimization of calcium alginate gel beads and the effects of processing conditions on their physical properties, *Food Science and Biotechnology*, 16(5), 715–721.

- Yadava, S. K., Patil, J. S., Mokale, V. J. & Naik, J. B. (2014). Sodium alginate/HPMC/ liquid paraffin emulsified (o/w) gel beads, by factorial design approach; and *in vitro* analysis, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 71(1), 60–68.
- Yan, M., Liu, B., Jiao, X., & Qin, S. (2014). Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties, *Food and Bioproducts Processing*, 92, 89-97.
- Yang, C. S., Chen, L., Lee, M. L., Balentine, D., Kuo, M. C. & Schantz, S. (1998). Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 7(4), 351–354.
- Yang, G., Liao, J., Kim, K., Yurkow, E. J. & Yang, C. S. (1998). Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols, *Carcinogenesis*, 19, 611– 616.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T. & Newmark, H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds, *Annual Review of Nutrition*, 21, 381-406.
- Yang, C. S., Chung, J. Y., Yang, G., Chhabra, S. K. & Lee, M. (2000). Tea and tea polyphenols in cancer prevention, *The Journal of Nutrition*, 130, 472–478.
- Yilmaz, Y. (2006). Novel uses of catechins in foods, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 64-71.
- Yilmaztekin, M., Lević, S., Kalušević, A., Cam, M., Bugarski, B., Rakić, V., Pavlović, V. & Nedović, V. (2019). Characterisation of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil encapsulates, *Journal of Microencapsulation*, 36(2), 109–119.
- Yingngam, B., Tantiraksaroj, K., Taweetao, T., Rungseevijitprapa, W., Supaka, N. & Brantner, A. H. (2018). Modeling and stability study of the anthocyanin-rich maoberry fruit extract in the fast-dissolving spray-dried microparticles, *Powder Technology*, 325, 261–270.
- Zamora, F., Gonzalez, M. C., Duenas, M. T., Irastorza, A., Velasco, S. & Ibarburu, I., (2002). Thermo degradation and thermal transitions of an exopolysaccharide produced by *Pediococcus damnosus* 2.6, *Journal of Macromolecular Science-Physics*, 41, 473–486.
- Zeeb, B., Saberi, A. H., Weiss, J. & McClements, D. J. (2015). Retention and release of oil-in-water emulsions from filled hydrogel beads composed of calcium alginate: Impact of emulsifier type and pH, *Soft Matter*, 11(11), 2228–2236.
- Zhang, Z., Zhang, R., Chen, L., Tong, Q. & McClements, D. J. (2015). Designing hydrogel particles for controlled or targeted release of lipophilic bioactive agents in the gastrointestinal tract, *European Polymer Journal*, 72, 698–716.
- Zhang, Z., Zhang, R., & McClements, D. (2016). Encapsulation of  $\beta$ -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility, *Food Hydrocolloids*, 61, 1-10.
- Zhang, J., Zhang, C., Chen, X. & Quek, S. Y. (2020a). Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage, *Journal of Food Engineering*, 269,109744.
- Zhang, C., Ada Khoo, S. L., Chen, X. D. & Quek, S. Y. (2020b). Microencapsulation of fermented noni juice via micro-fluidic-jet spray drying: evaluation of powder properties and functionalities, *Powder Technology*, 361, 995-1005.
- Zhao, B., Guo, Q. & Xin, W. (2001). Free radical scavenging by green tea polyphenols, *Methods Enzymology*, 335, 217–231.
- Zheng, X-X., Xu, Y-L., Li, S-H., Liu, X-X., Hui, R. & Huang, X-H. (2011). Green tea intake lowers fasting serum total and LDL cholesterol in adults: a meta-analysis of 14

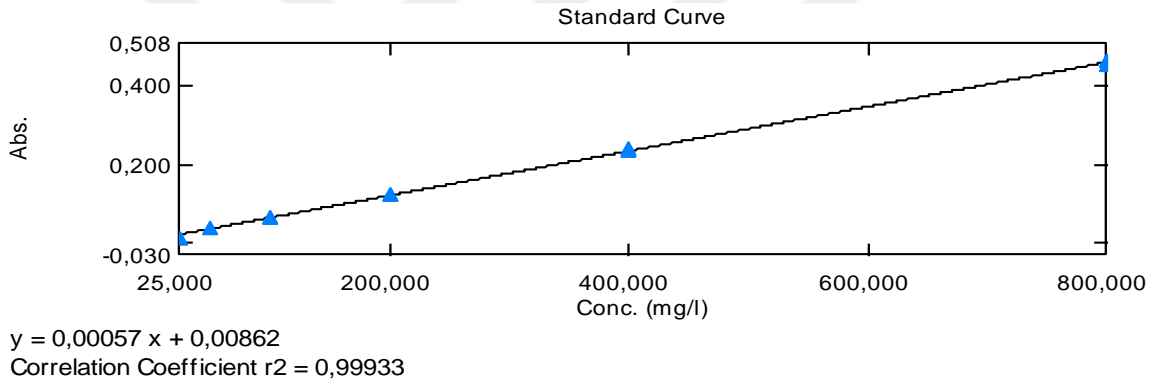
- randomized controlled trials, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94(2), 601-610.
- Zhu, Y., Pang, J., Zhang, Z., Zheng, T-Z., Bassing, B.A., Mao, C., Liu, X., Shi, K., Ge, J., Yang, Y-J., Huang, D., Bai, M. & Peng, Y. (2016). Green tea consumption and risk of cardiovascular and ischemic related diseases: A meta-analysis, *International Journal of Cardiology*, 202, 967-974.
- Zokti, J. A., Baharin, B. S., Mohammed, A. S. & Abbas, F. (2016) Green tea leaves extract: microencapsulation, physicochemical and storage stability study, *Molecules*, 21, 940.
- Zorzenon, M. R. T., Formigoni, M., da Silva, S. B., Hodas, F., Piovan, S., Ciotta, S. R., Jansen, C. A., Dacome, A. S., Pilau, E. J., Mareze- Costa, C. E., Milani, P. G. & Costa, S. C. (2020). Spray drying encapsulation of stevia extract with maltodextrin and evaluation of the physicochemical and functional properties of produced powders, *Journal of Food Science*, 85, 3590-3600.
- Zou, L., Peng, S., Liu, W., Gan, L., Liu, W., Liang, R., Liu, C., Niu, J., Cao, Y., Liu Z. & Chen, X. (2014). Improved *in vitro* digestion stability of (-)-epigallocatechin gallat through nanoliposome encapsulation, *Food Research International*, 64, 492–499.
- Zuidam, N. J. & Shimoni, E. (2009). Encapsulation Technologies For Food Active Ingrediens And Food Processing. Zuidam, N. J., Nedovic, V. A. (Eds), *Overview Of Microencapsulates For Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them* (pp. 3-31). Dordrecht, The Netherlands: Springer.

## EKLER

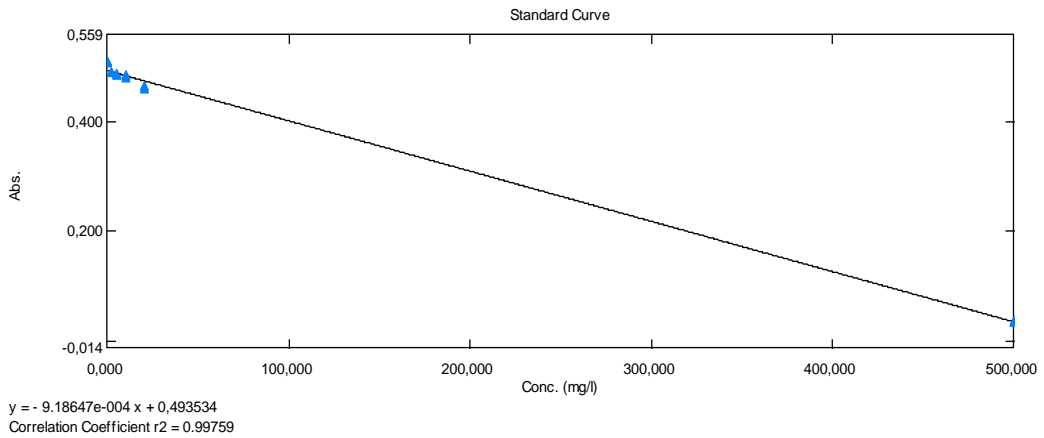
### EK A: Kalibrasyon Eğrileri



Şekil A.1 : Toplam fenolik madde tayininde gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi.



Şekil A.2 : Elektrostatik ekstrüzyon tekniğinde toplam fenolik tayininde gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi.



Şekil A.3 : Troloks standardı ile elde edilen kalibrasyon eğrisi.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Sevinç TAY

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lise** : Malatya Atatürk Kız Lisesi, Yabancı Dil Ağırlıklı
  - Lise Birinciliği
- **Lisans** : 2011, İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
  - Bölüm Birinciliği
  - Dönem Birinciliği
  - Fakülte Birinciliği
- **Yüksek Lisans** : 2013, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği
- **Doktora** : 2022, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği

### MESLEKİ DENEYİM:

- 2012-2015 Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Araştırma görevlisi
- 2015-2018 İnönü Üniversitesi, Darende Bekir Ilıcak M.Y.O, Öğretim Görevlisi
- 2018- Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Darende Bekir Ilıcak M.Y.O, Öğretim Görevlisi

### YAYINLAR

- YILMAZTEKİN, M., BİLCANOĞLU, B., TAY, S. (2018). Production of functional catechin extracts from waste green tea, 4th International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST), Kiev, Ukrayna, 19-23 Eylül 2018, ss.80
- TAY, S., YILMAZTEKİN, M. (2018). Increasing The Bioavailability of Green Tea Polyphenols by Encapsulation, 1st International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies, Antalya, Türkiye, 11- 13 Nisan 2018, cilt.2, ss.142-143.
- TAY, S., YILMAZTEKİN, M. (2017). An Effective Carrier System For Bioactive Food Components: Solid Lipid Nanoparticles. 8th International Advanced Technologies Symposium, Elâzığ, Türkiye, 19- 22 Ekim 2017, ss.33.
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2016). Whole Cell Biotransformation of Fusel Oil into Banana Flavour by Lindnerasaturnus, Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, 31(2), 43-52.
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2016). Whole Cell Biotransformation of Fusel Oil into Banana Flavour by Lindnera saturnus. 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana, Türkiye, 26- 28 Ekim 2016, ss.4833.
- TAY, S., YILMAZTEKİN M. (2016). Aroma Maddelerinin Enkapsülasyonu. 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana, Türkiye, 26 -28 Ekim 2016, ss.4077-4085

- GÜRKAN, H., TAY, S. (2015). Biyoaktif Bileşenlerin Süt Türlerine Göre Değişimi. 2. İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi (TARGİD 2015), Nevşehir, Türkiye, 28-30 Nisan 2015, ss.350.
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2014). The effects of in situ product removal on batch and fed batch biotransformation of fusel oil into isoamyl acetate with *Lindnera saturnus* var *saturnus* a bioreactor study, 5th European Yeast Flavour Workshop, Montreux, İsviçre, 5-07 Mayıs 2014, ss.48.
- TAY, S. (2014) Buğday Çimi Marmelatı, Uhut. 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Adana, Türkiye, 17-19 Nisan 2014, ss868.
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2013). Recovery of Isoamyl Acetate From Aqueous Solution Using Macroporous Adsorption Resins, 1st International Porous and Powder Materials Symposium and Exhibition, İzmir, Türkiye, 3-06 Eylül 2013, ss.232.
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2013). The use of fed batch and in situ product removal techniques for efficient biotransformation of isoamyl alcohol into isoamyl acetate by *Lindnera saturnus*. 9th European Congress of Chemical Engineering and 2nd European Congress of Applied Biotechnology, The Hague, Hollanda, 21-25 Nisan 2013, ss.12
- YILMAZTEKİN, M., TAY, S. (2013). Enhanced production of isoamyl acetate via biotransformation with *Lindnera saturnus* by in situ product removal with macroporous adsorption resins, 4th European Yeast Flavour Workshop, Frising, Almanya, 22-23 Temmuz 2013, ss.18
- Koruyucu Sağlık Rehberi, Bölüm adı:(Gıda Katkı Maddeleri) (2012)., TAY, S., ALPASLAN, M., Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi, Editör: YAKINCI Cengiz, YEŞİLADA Erdem, Türkçe (Bilimsel Kitap)
- HAYALOĞLU, A., SARIMEŞELİ, A., ZENCİR, M., ELEK, M., BİLCANOĞLU, B., MEMİŞ, D., TAY, S., USLU, O. (2011). Yağsız Yoğurt Üretiminde İnülin Kullanımının Yoğurdun Reolojisi Duyusal Özellikleri ve Aromasına Etkileri. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi.

## PROJELER

- Yeşil Çay (*Camellia sinensis*) Ekstraktlarının Farklı Tekniklerle Enkapsülasyonu, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: YILMAZTEKİN MURAT, Araştırmacı: TAY SEVİNÇ (ULUSAL)
- Biyodönüşüm Yoluyla Doğal Muz Aroması Üretiminde Yerinde Ürün Kazanımı Tekniğinin Kullanımı, BAP, Araştırmacı, 2012-2013 (ULUSAL)
- Biyodönüşüm Yoluyla Fuzel yağından Doğal İzomil Asetat Üretiminde Yerinde Ürün Kazanım Tekniğinin Kullanım Olanaklarının Araştırılması, AB Çerçeve Programı Projesi, COST ACTION FA0907-TUBİTAK-TOVAG-1110369 Yürütücü: YILMAZTEKİN MURAT; Bursiyer: TAY SEVİNÇ, 2011-2013.

## DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN ÇALIŞMALAR (Makaleler, Bildiriler, Patentler v.b.)

- TAY, S., YILMAZTEKİN, M. (2018). Increasing The Bioavailability of Green Tea Polyphenols by Encapsulation. In 1st International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies.

- **TAY, S., YILMAZTEKİN, M. (2017).** An Effective Carrier System For Bioactive Food Components: Solid Lipid Nanoparticles. In IATS 17 International Advanced Technology Ssymposium.
- **TAY, S., YILMAZTEKİN, M. (2016).** Aroma Maddelerinin Enkapsülasyonu. In International Mediterranean Science and Engineering Conference (IMSEC).

