

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SPOROPOLLENİN EKZİN KAPSÜL İLE BALIK YAĞI
ENKAPSÜLASYONUNA ULTRASES TEKNOLOJİSİNİN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurçipek DEDETAŞ

Gıda Mühendisliğı Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliğı Programı

HAZİRAN 2016

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SPOROPOLLENİN EKZİN KAPSÜL İLE BALIK YAĞI
ENKAPSÜLASYONUNA ULTRASES TEKNOLOJİSİNİN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Nurçipek DEDETAŞ
(506131518)**

Gıda Mühendisliğı Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliğı Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK

HAZİRAN 2016

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506131518 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Nurçipek DEDETAŞ**, ilgili yönetmeliklerin belirlediğı gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**Sporopollenin Ekzin Kapsül İle Balık Yağı Enkapsülasyonuna Ultrases Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesi**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Yrd. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Zeynep TACER CABA
İstanbul Aydın Üniversitesi

Teslim Tarihi : **2 Mayıs 2016**
Savunma Tarihi : **13 Haziran 2016**

Aileme,

ÖNSÖZ

‘Sporopollenin Ekzin Kapsül İle Balık Yağı Enkapsülasyonuna Ultrases Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesi’ konulu yüksek lisans tez çalışmam süresince görüş ve önerileri ile çalışmama yön veren değerli danışmanım Sn. Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK’a tüm katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Hande Nur AKHAN’a, değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Dilek BOYACIOĞLU, Sn. Ayşe SAYGÜN ve Sn. Nalan DEMİR’e, Arçelik Ar-Ge Teknolojileri Takım Lideri Sn. Dr. Alper YEŞİLÇUBUK’a teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca sevgisini ve desteğini benden asla esirgemeyen, aldığım her kararda arkamda duran canımın içi AİLEME, bu zorlu süreçte karşılaştığım zorluklarda yanımda olan yol arkadaşım Göker KURUCU’ya, üniversite hayatımın bana kazandırdığı en önemli insan olan sevgili arkadaşım Sinem DOĞAL’a ve tez yazım aşamamda bana hep destek olan MEY Alkollü İçkiler - Kalite Müdürlüğü çalışanlarına sevgilerimi sunarım. İyi ki varsınız!

Mayıs 2016

Nurççek DEDETAŞ
(Kimyager)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xxix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Balık Yağı.....	3
2.1.1 Balık yağının içeriği ve sağlık üzerine etkileri.....	3
2.1.2 Lipid oksidasyonu	5
2.1.3 Lipid oksidasyonun kontrolü.....	7
2.2 Mikroenkapsülasyon Teknolojisi.....	9
2.2.1 Mikroenkapsülasyonun tanımı	9
2.2.2 Mikroenkapsülasyon teknikleri	12
2.2.3 Balık yağının mikroenkapsülasyonu üzerine yapılmış çalışmalar	13
2.3 Sporopollenin.....	15
2.3.1 Sporopollenin ekzin kapsül(SEC)ile mikroenkapsülasyon uygulamaları.....	18
2.3.2 SEC enkapsüle yağların karakterizasyonu	19
2.3.2.1 Mikrokapsüllerin morfolojisi.....	19
2.4 Ultrases Teknolojisi	20
2.4.1 Ultrases teknolojisinin gıda sektöründe kullanımı.....	20
2.4.2 Ultrases teknolojisinin gıda maddeleri üzerine etkisi	22
2.4.2 Ultrases teknolojisinin enkapsülasyon uygulamalarında kullanımı.....	23
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1 Materyal	25
3.2 Metod.....	25
3.2.1 Balık yağının enkapsülasyonu	25
3.2.2 Mikrokapsüllerin karakterizasyonu.....	25
3.2.2.1 Mikroskop görüntülerinin alınması	26
3.2.3 Elde Edilen Mikrokapsüllerin Stabilitesi	26
3.2.3.1 Peroksit sayısı tayini.....	26
3.2.3.2 P-Anisidin değeri tayini.....	27
3.2.3.3 TOTOX değerinin hesaplanması	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1 Balık Yağının Enkapsülasyonu	29

4.2. Mikroenkapsülasyonun Karakterizasyonu	29
4.2.1 Mikroskop Görüntülerinin Alınması	29
4.3 Elde Edilen Mikro kapsüllerin Stabilitesi	31
4.3.1 Peroksit sayısı tayini	32
4.3.2 P-Anisidin sayısı tayini	39
4.3.3 TOTOX değerinin hesaplanması	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	55

KISALTMALAR

DHA	: Dokosahekzaenoik Asit
EPA	: Eikozapentaenoik Asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
SEC	: Sporopollenin Ekzin Kapsül
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	: Ultra Viyole
DLS	: Işın Saçılması
TEM	: Aktarım Elektron Mikroskobu
PV	: Peroksit Değeri
AV	: p-Anisidin Değeri
GOED	: EPA ve DHA Küresel Organizasyonu
OSI	: Oksidatif Stabilité İndeksi
AOCS	: Amerikan Yağ Kimyagerleri Topluluğu
TOTOX	: Toplam Oksidasyon Değer
P 1:1	: Pasif Difüzyon, 1:1 Oran
P 1:2	: Pasif Difüzyon, 1:2 Oran
US 1:1	: Ultrases, 1:1 Oran
US 1:2	: Ultrases, 1:2 Oran

SEMBOLLER

A° : absorbsiyon
 $^{\circ}\text{C}$: derece
 μ : mikro
% : yüzde

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Mikroenkapsülasyon uygulamasında kullanılan duvar materyalleri.....	11
Çizelge 2.2: Bazı mikroenkapsülasyon tekniklerinin işlem basamakları	13
Çizelge 2.3: Ultrases teknolojisinin gıda sektöründe kullanıldığı alanlar ve kullanım amaçları.....	22
Çizelge 2.4: Ultrases teknolojisinin gıdalar üzerine olan olumsuz etkileri	23
Çizelge 4.1: Depolama sırasında kapsüllerin peroksit değerleri.	33
Çizelge 4.2: Depolama sırasında kapsüllerin p-anisidin değerleri	39
Çizelge 4.3: Örneklere ait 0-24 aylık TOTOX değerleri.	42

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : DHA ve EPA'nın kimyasal gösterimi	3
Şekil 2.2 : Linoleik asitten omega-3 ve omega-6 yağ asiterinin oluşumu.....	4
Şekil 2.3 : Lipid oksidasyonu başlatma (indüksiyon).....	6
Şekil 2.4 : Lipid oksidasyonu ilerleme aşaması.....	6
Şekil 2.5 : Lipid oksidasyonu sonlandırma aşaması	6
Şekil 2.6 : Antioksidan-yağ asidi reaksiyon mekanizması-1.....	8
Şekil 2.7 : Antioksidan-yağ asidi reaksiyon mekanizması-2.....	9
Şekil 2.8 : Mikrokapsülün şematik olarak gösterimi; sırasıyla duvar materyali, kaplanacak materyal, mikrokapsül.....	10
Şekil 2.9 : Çeşitli bitkilere ait spor örnekleri.....	16
Şekil 2.10 : Spor taneciğinin morfolojik yapısı	17
Şekil 2.11 : Lycopodium clavatum sporları.....	17
Şekil 2.12 : Kavitasyon oluşum mekanizması.....	21
Şekil 2.13 : Ultrases banyo ve prob	21
Şekil 4.1 : Mikrokapsüllere ait sırasıyla 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülmüş mikroskop görüntüleri a) SEC, b) P 1:1, c) P 1:2, d) US 1:1, e) US 1:2.....	30
Şekil 4.2 : Mikrokapsüllerin 0. ve 24. aylara ait fotoğraf görüntüleri a) P 1:1, b) P 1:2, c) US 1:1, d) US 1:2.....	32
Şekil 4.3 : Pasif enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince peroksit değerleri a) 1:1, b) 1:2	34
Şekil 4.4 : Ultrases destekli enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince peroksit değerleri a) 1:1, b) 1:2	35
Şekil 4.5 : Örneklere ait 0-24 günlük peroksit değerleri	36
Şekil 4.6 : Pasif enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince p- anisidin değerleri a) 1:1, b) 1:2	40
Şekil 4.7 : Ultrases destekli enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince p-anisidin değerleri a) 1:1, b) 1:2	41
Şekil 4.8 : Örneklere ait 0-24 günlük p-anisidin değerleri	42
Şekil 4.9 : Örneklere ait 0-24 günlük TOTOX değerleri.....	43

SPOROPOLLENİN EKZİN KAPSÜL İLE BALIK YAĞI ENKAPSÜLASYONUNA ULTRASES TEKNOLOJİSİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Gıdalarda enkapsülasyon işlemi, gıda içeriğinde sıcaklık, ıstık, nem gibi ortam şartları nedeniyle meydana gelebilecek değışimleri önlemek amacıyla gıda maddesinin gıdaya uyumlu bir duvar materyali ile çevrenmesi olarak tanımlanır. Gıda maddelerine uygulanan bu işlem sayesinde gıda maddesi ile bulunduğu ortam arasında bir bariyer oluşturulur ve gıdanın organoleptik özelliklerinin ve besin değerlerinin korunması sağlanır. Bu sayede gıdaların stabilizasyonunun artmasına, yani raf ömrünün uzamasına katkıda bulunulmuş olur. Elde edilen kapsüller mikro boyutlarda olduğunda bu işlem “mikroenpasülasyon” olarak adlandırılır.

Lipofilik biyoaktif bileşenler açısından zengin bir yağ olan balık yağının, uzun zincirli çoklu doymamamış omega-3 yağ asitleri olan Dokosaheksaenoik asit (DHA) ve Eikozapentaenoik asit (EPA) içeriğı oldukça yüksektir. Balık yağının insan sağlığı üzerinde çok büyük etkisi olduğü bilinmektedir. Eldeki en eski bilgilere göre Eskimo’lar gibi çok fazla balık tüketen toplumlarda kalp rahatsızlıklarının ve buna bağılı ölümlerin sayısı oldukça düşüktür. Yapılan çalışmalarda balık yağının koroner kalp hastalıklarına, yüksek tansiyona, romatoid artrite iyi geldiğı görülmüştür. Bunlara ek olarak beyin gelişimine de etki ettiğı bilinmektedir. Depresyon, bilinç zayıflaması, Alzheimer gibi sorunların oluşmasını engellemede de balık yağı büyük bir rol oynamaktadır.

Sağlık üzerine olan olumlu etkilerinden dolayı balık yağının gıda takviyesi olarak tüketimi önem kazanmıştır. Ancak balık yağının yapısında bulunan doymamamış yağ asitleri, yağın havadaki oksijene karşı direncini azaltırken, oksidasyonunu arttırmaktadır. Oksidasyon sonucunda hem balık yağının besin değerlerinde düşme hem de istenmeyen kötü koku ve tatlar meydana gelir. Bu nedenle balık yağının raf ömrü kısılır. Oluşan oksidasyon reaksiyonunu önlemek için balık yağına enkapsülasyon uygulamaları yapılarak raf ömrünün artırılması çalışmaları yapılmaktadır. Ayrıca balık yağının kendine has, hoş olmayan kokusunu maskelemek için de enkapsülasyon yöntemi tercih edilir. Enkapsülasyon işleminin temelinde, kullanılan gıda matriksi ve duvar materyaline bağılı olarak yağ içinde su veya su içinde yağ emülsiyonlarının oluşturulması ve çeşitli yöntemler ile bir potansiyel fark oluşturularak duvar materyalinin gıda maddesini çevrelemesi vardır. Enkapsülasyon işleminde duvar materyali olarak şeker, nişasta, selüloz, malto dekstrin, pektin ve glikoz şurubu gibi polisakkaritler; soya, kazein, peynir altı suyu gibi proteinler ve kitosan gibi polimer maddeler kullanılır. Elde edilen kapsüllerin maksimum dayanıklılıkta ve stabilitede olması için püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon ve kokristalizasyon gibi yöntemlerden ve duvar materyali alternatiflerinden en uygun olanı seçilerek mikrokapsüller oluşturulur.

Balık yağının enkapsülasyonu ile ilgili son yıllarda çalışılmaya başlanan bir diğerkonu ise mikro boyutlarda olan sporopollenin ekzin kapsül ile kaplama metodudur. Sporopollenin ekzin kapsül (SEC), kurtpençesi (*Lycopodium clavatum*) bitkisinin sporlarının iç materyalinin boşaltılmasıyla elde edilen, küre şeklindeki içi boş organik yapıdır. Sporun “ekzin” olarak adlandırılan dış duvarı oldukça sağlam

yapıdadır. Ekzin duvar lipofilik porlardan oluşur ve sporun yapısında bulunan protein, yağ ve karbonhidratın bu porlardan ekstraksiyon yöntemiyle çıkarılmasının ardından spor içinde boşluk oluşur. Elde edilen SEC balık yağı ile karıştırıldığında, balık yağı bu lipofilik porlardan geçerek SEC'in içine doğru difüze olur. Bu yöntemde enkapsülasyon için herhangi bir emülsiyon oluşturmaya gerek yoktur, balık yağı lipofilik çekim kuvvetleri vasıtasıyla SEC ile kaplanır. Bu enkapsülasyon yöntemi sadece balık yağının değil, daha yüksek viskozitedeki yağların da kaplanması için kullanılır. Yapılan işlemin etkinliğini arttırmak için vakum / basınç uygulaması veya santrifüj gibi destekleyici yöntemlerden de yararlanılır.

Bu çalışmada, son yıllarda önemi ve tüketimi artan balık yağının, bilinen polimer maddeler yerine, doğadan elde edilen bitki sporları ile kaplanması üzerinde durulmuştur. SEC ile yapılan enkapsülasyon işleminin etkinliğini arttırmak amacıyla balık yağı SEC karışımları ultrases dalgalarına maruz bırakılmıştır. Çalışmada iki yöntem denenmiştir. 1.sinde pasif difüzyon ile 1:1 ve 1:2 oranlarında SEC:Balık Yağı karışımları hazırlanarak enkapsülasyon için 24 saat bekletilmiş; 2.sinde ise 1:1 ve 1:2 oranlarında SEC:Balık Yağı karışımları hazırlanmış, ardından 15 dakika ultrases banyosunda bekletildikten sonra 24 saatlik bekleme süresine tabi tutulmuştur. Elde edilen mikrokapsüllerin karakterizasyonunu yapmak için 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülmüş mikroskop görüntüleri ve SEM görüntüleri alınmıştır. Ultrases uygulanan enkapsülasyon işleminin enkapsülasyon verimini, uygulanan işlemin enkapsülasyonu artırıcı bir etki yapıp yapmadığını anlamak için her iki yöntemle de elde edilen mikrokapsüller stabilite testine tabi tutulmuştur. Enkapsülasyonun hemen ardından peroksit ve p-anisidin analizleri yapılan mikrokapsüller 65°C'lik etüvde 6, 12, 18 ve 24 gün bekletilmiş ve ardından tekrar peroksit ve p-anisidin analizleri yapılarak her iki yöntemin sonuçları karşılaştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlarda her iki yöntemde de SEC içine difüze olmayan yağ damlalarının kaldığı mikroskop görüntüleri ile belirlenmiştir. Ultrases dalgalarının SEC'in yapısına zarar vermediği ise SEM görüntülerinde görülmektedir. Ancak ultrases uygulamasının enkapsülasyon verimini arttırmak yerine azalttığı ve istenilen etkiyi yaratmadığı, stabilite testine tabi tutulan örneklerin oksidasyon değerlerinin ölçülmesi ile ortaya çıkmıştır.

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ULTRASOUND TECHNOLOGY ON FISH OIL ENCAPSULATION WITH SPOROPOLLENIN EXINE CAPSULE

SUMMARY

The process of encapsulation is to surround a food material with a wall, which is compatible with the food, in order to prevent changes due to environmental circumstances such as light, humidity and temperature. A barrier is created between the food material and its environment and therefore organoleptic properties and nutritive value of food are protected. Also, it has a contribution to the stabilization of food products which means that shelf-life of the food increases. When the capsules are in micro size, this process is called as “microencapsulation”.

The fish oil contains lots of bioactive lipophilic components. Long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) such as Docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) are quite high in fish oil. It is known that fish oil has important effect on human health. According to the earliest information, heart diseases and deaths from heart diseases are quite low in the societies who consume fish a lot, like Eskimos. According to previous studies, it is found that fish oil is good for heart diseases, hypertension, and rheumatoid arthritis. It is also known that fish oil is good for brain development. Fish oil has an important role to prevent the problems such as Alzheimer and depression.

Since fish oil has positive effects on human health, its consumption as food complement became important. However, the unsaturated fatty acids in fish oil's structure increase its oxidation value while decrease its resistance to the oxygen. As a consequence of oxidation, nutritive values of the foods decrease and some unpleasant tastes and smells occur. For these reasons, shelf-life of fish oil shortens. To prevent oxidation and to lengthen shelf-life of fish oil, encapsulation applications are being used. Furthermore, encapsulation method is preferred to mask the bad smell of natural fish oil. Forming oil -in-water or water -in-oil emulsions depending on the type of food matrix and wall material, and creating potential difference by using several methods to encapsulate or surround active material by wall materials are the basis of encapsulation process. During encapsulation process, polysaccharides such as sucrose, starch, cellulose, maltodextrin, pectin and glucose syrup, proteins such as soy, casein, and whey and polymer substances such as chitosan are used. To make the resulting capsules at the maximum strength and stability, the most appropriate method among spray drying, freeze-drying, fluidized bed coater, extrusion and co-crystallization and the most appropriate wall materials are selected.

Another recently studied topic related with fish oil encapsulation is the method of covering with micro-sized sporopollenin exine capsules. Sporopollenin exine capsule (SEC) is a hollow spherical organic structure which is obtained by draining the inner materials of spores of *Lycopodium clavatum*. The outer wall of the spore is durable and it is called as “exine”. Exine wall consists of lipophilic pores and after ejecting protein, fats and carbohydrates which are in the structure of the spore, out of these pores with extraction method, a gap is created inside of the spore. When empty SEC is mixed with fish oil, it diffuses into the SEC through these lipophilic pores. In this method, there is no need for preparation for an emulsion for

encapsulation because fish oil is covered with SEC by means of lipophilic force of attraction. This encapsulation method is not only used for fish oil, but also used to cover high viscosity oils. To increase the efficiency of this process, supportive methods, such as vacuum-pressure or centrifuge, can also be used.

This study aimed at covering fish oil, which is commonly used in nowadays, with plants spores instead of polymer substances. To increase the efficiency of encapsulation process done with SEC, fish oil and SEC combinations are exposed to ultrasound waves. The study was conducted in two parts. The first one is with passive diffusion, SEC:Fish oil combinations are prepared and waited for 24 hours with the ratios of 1:1 and 1:2. For the second one, 1:1 and 1:2 ratio SEC:Fish oil combinations are prepared but waited for 24 hours after being exposed to ultrasound waves for 15 minutes. For the characterization of the obtained microcapsules, 10, 20, 40, and 100 times zoomed microscope images and SEM images were taken. To understand whether the ultrasound method increases the efficiency of the encapsulation process, all of the capsules obtained from two different ways were subjected to stability test. Immediately after encapsulation, peroxide and p -anisidine analysis were applied to microcapsules, and they were waited in the 65°C oven for 6, 12, 18 and 24 days and analysis were being performed. Results were compared according to the initial values.

Obtained results are determined with the microscope images of oil droplets which did not diffuse into the SEC. It can be seen from SEM images that, ultrasound application did not damage the structure of SEC. Nonetheless, by measuring oxidation values of the samples which are exposed to stability test, it can be revealed that ultrasound applications did not create expected effect, and instead of increasing, it caused a decrease in the efficiency of encapsulation.

1. GİRİŞ

Tüketicilerde artan bilinç ile birlikte balık yağı tüketiminde de kontrollü bir şekilde artış gözlemlenmektedir. Balık yağına olan bu ilgi, gıda takviyesi olarak tüketilmesinin de önünü açmıştır. Ancak balık yağının çabuk okside olma özelliği, ürünlerin raf ömrünü olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle araştırmacılar balık yağının enkapsülasyonu için çeşitli arayışlara girmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon en basit haliyle; mikroskobik boyuttaki kaplama materyaliyle, katı, sıvı, hatta gaz fazındaki moleküllerin çevrenmesi işlemi olarak tanımlanır (Venkatesan ve diğ., 2009). Kaplanan materyal ince partikül veya damlacıklardan oluşurken, bu materyali kaplayan küçük küre şeklindeki düzgün duvar yapısı mikrokapsül olarak adlandırılmaktadır (Sri ve diğ., 2012). Son yıllarda yapılan bir çalışmada Dr. Barrier (2012), mikrokapsülleri polimer maddelerden, ekstra işlemler uygulayarak elde etmek yerine, doğada küre şeklinde bulunan bitki sporlarını kullanmıştır. Bu sporların dayanıklı ve lipofilik yapıda olan ekzin duvarını kaplama materyali olarak kullanmış ve balık yağının bu spor tanecikleri için difüze olması ile mikroenkapsülasyon işlemini gerçekleştirmiştir.

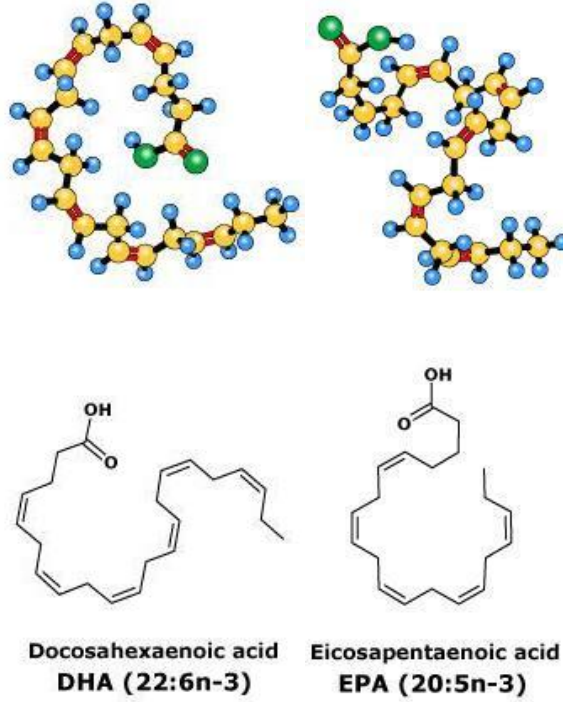
Bu çalışmada, sporopollenin ekzin kapsül (SEC) ile balık yağı enkapsülasyonunda enkapsülasyon etkinliğini artırılması adına yeni bir yöntem incelenmiştir. Balık yağının polimer maddeler ile enkapsülasyonunda daha stabil mikrokapsüller elde etmek için, destek işlem olarak kullanılan ultrases yöntemi, bu çalışmada balık yağının SEC içine daha fazla difüze olmasını sağlamak amacıyla kullanılmıştır. 1:1 ve 1:2 SEC :balık yağı oranlarında hazırlanan örnekler ultrases dalgalarına maruz bırakılmış ve ardından stabilite testi ile enkapsülasyon etkinliklerindeki değişim oksidasyon testleri ile belirlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

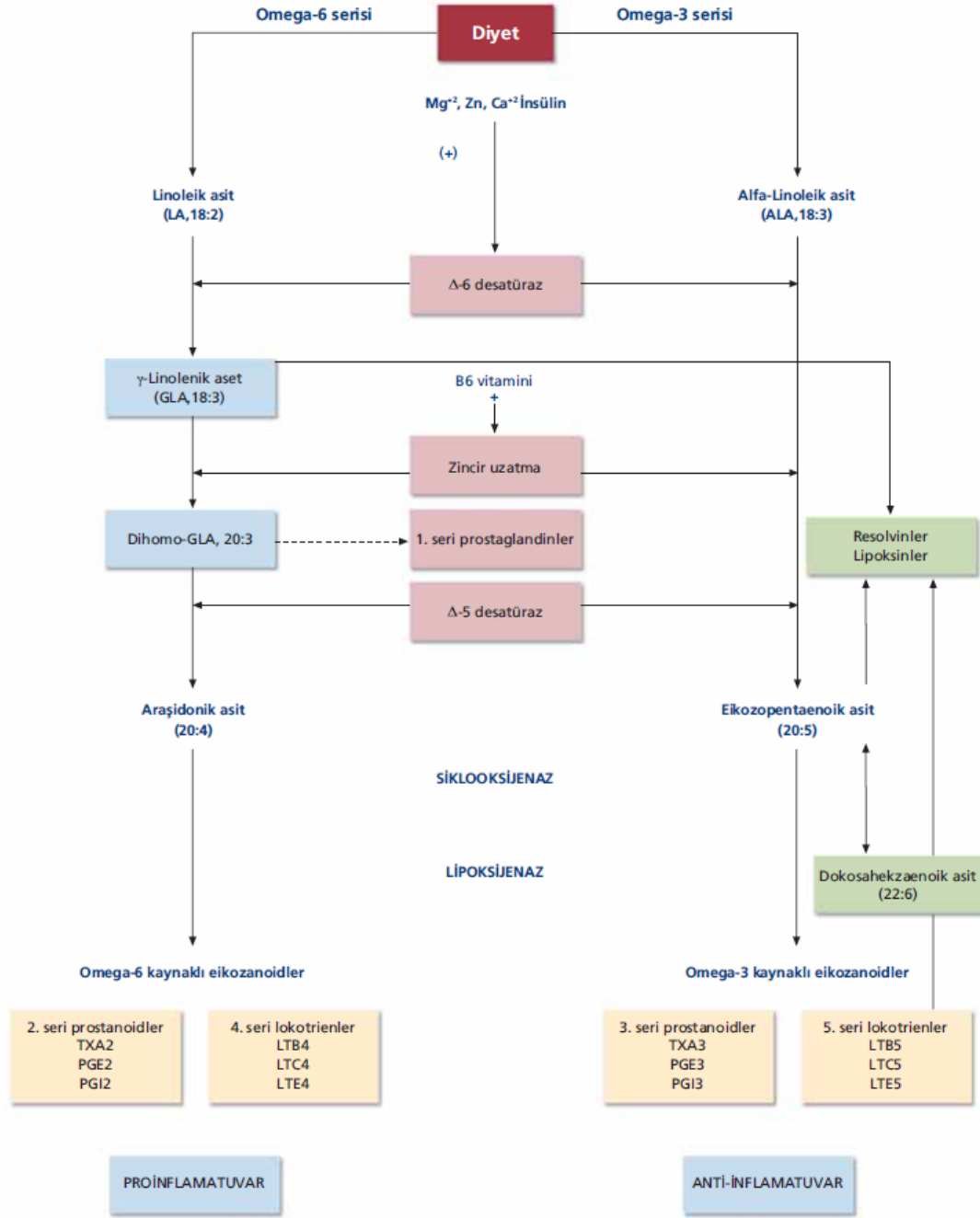
2.1 Balık Yağı

2.1.1 Balık Yağının İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri

Lipoflik biyoaktif bileşenlerce zengin olan balık yağı DHA (dokosahekzaenoik asit) ve EPA (eikozapentaenoik asit) gibi uzun zincirli çoklu doymamış omega-3 yağ asitlerini içermektedir (Chen ve diğ., 2013). Bu yağ asitleri memeli hücrelerinde sentezlenemezken, metabolize edilebilmektedir (Patch ve Brown, 2008). 18 karbonlu ve üç çift bağ içeren α -linoleik asitten (ALA, 18:3) omega-3 yağ asitleri, 18 karbonlu ve iki çift bağ içeren cis-linoleik asit (LA, 18:2)'ten omega-6 yağ asitleri oluşur (Konukoğlu, 2008).



Şekil 2.1: DHA ve EPA'nın kimyasal gösterimi (Yi ve diğ., 2014).



Şekil 2.2: Linoleik asitten omega-3 ve omega-6 yağ asiterinin oluşumu (Konukoğlu., 2008)

DHA ve EPA'nın beyin gibi önemli dokuların gelişmesine önemli derece etki ettiği uzun yıllardır bilinmektedir (Patch ve Brown, 2008). Ayrıca balık yağlarının birçok hastalığa karşı koruyucu olduğu da çalışmalarla kanıtlanmıştır (Nasopoulou ve Zabetakis, 2012). Elde edilen en eski bilgilere göre, fazla miktarda balık tüketen Greenland Eskimo'larında düşük miktarlarda kardiyovasküler hastalık ve buna bağlı ölümler tespit edilmiştir (Nash ve diğ., 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise

omega-3 yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıkların azalmasında önemli rol oynadığı belirtilmektedir. (Opperman ve diğ., 2011). Silvia Pedroza ve diğ. (2015) 'ne göre düzenli olarak yapılan egzersizlerin kardiyovasküler hastalıkları ve bu hastalıklar için risk teşkil eden yüksek tansiyon ve obeziteyi azaltmaktadır. Buna ek olarak balık yağı takviyesi ve orta düzeyde yapılan fiziksel egzersizlerin yaşam kalitesi için faydalı olabileceği söylenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada bu yağ asitlerinin koroner kalp hastalıklarından, yüksek tansiyondan, romatoid artiriten ve diğer otoimmün ve iltihaplı hastalıktan korumada önemli rol oynadığı, DHA'nın özellikle beyin gelişimine etki ettiği belirtilmiştir (Pak ve Province, 2005). Bütün bu hastalıkların yanında balık yağının, depresyon, bilinç zayıflaması, nörolojik hastalıklar (örneğin Alzheimer) gibi sorunların oluşmasını engellemede rol aldığı görülmektedir (Nasopoulou ve Zabetakis, 2012).

Balık yağının günlük tüketimi farklı bilimsel otoritelerce farklı miktarlarda önerilmektedir. EFSA'nın 2012 verilerine göre kardiyovasküler riski olan Avrupa'lı yetişkinlerin 250-500 mg/gün EPA ve DHA tüketmesi uygun görülmüştür. Pak ve Province (2005) çalışmasında yer alan bilgilere göre ise Kanada Sağlık ve Yardım Kuruluşu (Health and Welfare Canada) bu değeri 1,0-1,8 g omega-3/gün; İngiliz Beslenme Vakfı (British Nutrition Foundation, BNF) kadınlarda 1,1g DHA ve EPA/gün, erkeklerde 1,4 g DHA ve EPA/gün olarak belirlemiştir.

2.1.2 Lipid Oksidasyonu

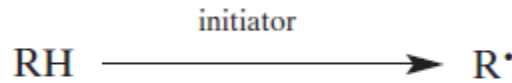
EPA ve DHA'nın sağlık açısından faydalı olduğunun bilinci gün geçtikçe artmaktadır. Ancak bu yağ asitlerinin birincil kaynağı olan balık yağının tüketimi ile önerilen dozlarda EPA ve DHA alınması günümüz diyetleriyle ve beslenme alışkanlıklarıyla pek mümkün değildir. Bu nedenle balık yağı fonksiyonel gıdalara eklenerek EPA ve DHA kaynağı olarak tüketiciye sunulmaktadır (Jimenez-Martin ve diğ., 2015). Doymamış uzun zincirli omega-3 yağ asitleri olan EPA ve DHA atmosferde bulunan oksijene karşı dirençsizdir (Wang ve diğ., 2011). Bu zayıflıktan dolayı meydana gelen oksidasyon ile birlikte balık yağının besin değerinde düşme olurken, tadında kabul edilemeyen bir acılık ve bozulmuş balık kokusu oluşur (Jimenez-Martin ve diğ., 2015). Ayrıca balık yağı içeren gıdanın raf ömrü azalır, tüketicinin kabul edebilirliği düşer ve gıda güvenliği açısından istenmeyen bir durum meydana gelir (Vandamme ve diğ., 2015).

Oksidasyon gıda sistemlerinde meydana gelen en önemli proseslerden birisi olup, yağların oksidasyona duyarlı olması, üretim, depolama, dağıtım ve sunum aşamalarında oksidasyon reaksiyonlarını yağların ve yağlı gıdaların bozulmasında bir numaralı nedeni yapar (Wasowicz ve diğ., 2004).

Yağların oksidatif bozulmasının yoğunluğu yağın doymamışlık derecesine ve diğer dış faktörlere bağlıdır (Vandamme ve diğ., 2015). Bunlar çeşitli katalitik ajanlar olan bazı metaller, sıcaklık, gün ışığı, kısa dalga boyuna sahip ışıklar, bazı oksidatif enzimler ve hemoglobin gibi biyolojik maddeler katalizörlere örnek verilebilir (Pak ve Province, 2005).

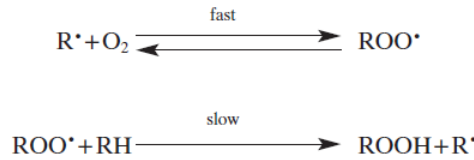
Bu yağ asitlerinin otooksidasyonu serbest radikallerin oluşmasıyla gerçekleşir (Wang ve diğ., 2011). Bu oluşum 3 aşamada meydana gelir:

- 1) Başlatma (indüksiyon) aşaması: Alkali radikal ($R^\bullet$) oluşumu meydana gelir.



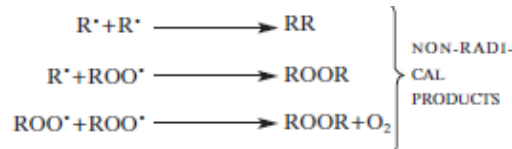
Şekil 2.3: Lipid oksidasyonu başlatma (indüksiyon) aşaması (Wasowicz ve diğ., 2004)

- 2) İlerleme aşaması: Doymamış yağ ile reaksiyona girecek peroksi radikalleri oluşur.



Şekil 2.4: Lipid oksidasyonu ilerleme aşaması (Wasowicz ve diğ., 2004)

- 3) Sonlandırma aşaması: $R^\bullet$ ve $ROO^\bullet$ radikallerinin tepkimesiyle oksidasyon ürünü olan aldehit / ketonlar meydana gelir.



Şekil 2.5: Lipid oksidasyonu sonlandırma aşaması (Wasowicz ve diğ., 2004)

Balık yağının otooksidasyonu sırasında düşük peroksit değerlerinde ve oksidasyonun ilk aşamalarında, genelde indüksiyon (giriş) aşamasında istenmeyen tat ve kokular oluşmaktadır. Bu kokulara neden olan maddelerin çoğu doymuş veya doymamış aldehitler ve ketonlardır (Pak ve Province, 2005). Meydana gelen uçucu maddelerin farklı duyuşal eşik değerleri vardır. Burada önemli olan omega-3 doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan bileşiklerin insanların duyu organları tarafından algılanıyor olmasıdır. Çünkü insanlara ait duyu organlarının eşik değeri düşüktür. Örneğin (Z)-4-heptenal olarak bilinen 1-penten-3-on, (E,Z)-2,6-nonadienal ve 2,4,7-decatrienal gibi balık yağının oksidasyonu sonucu oluşan maddelerin keskin, yanık ve bozuk balık aroması gibi olan tat ve kokuları kolayca anlaşılmaktadır (Decker ve diğ., 2010).

Jimenez-Martin ve diğ (2005)'nin çalışmasında belirttiği üzere, lipit oksidasyonu sonucunda kötü tat ve kokunun oluşmasının yanı sıra gıdanın besin değeri de düşmektedir. Lipit oksidasyonu sırasında oluşan aldehit bileşikleri proteinlerle ve nükleik asitlerle çapraz bağ oluşturduğundan toksik etki göstermektedirler. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, okside olmuş yağların tüketiminin ishal, karaciğerde büyüme, depresyon ve doku bozuklukları gibi hastalıklara neden olduğu raporlanmıştır (Pak ve diğ., 2005).

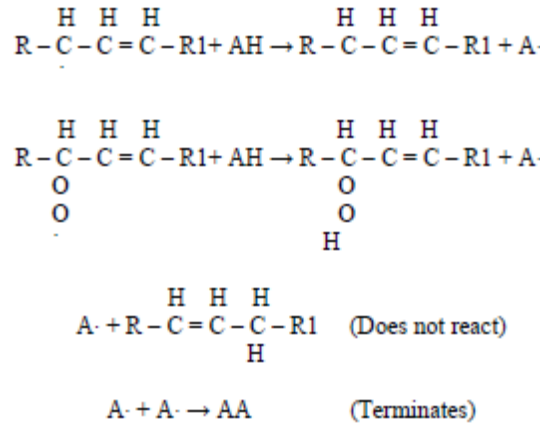
2.1.3 Lipid Oksidasyonun Kontrolü

Omega-3 yağ asitlerince zengin gıdaların raf ömrü testlerinde yağların oksidasyonu üzerine yoğunlaşılmaktadır. Çünkü depolama sırasında yağın oksidasyonu ile istenmeyen organoleptik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu nedenle balık yağı gibi omega-3 yağ asitlerince zengin gıdaların raf ömrünün artışı hedefleyen çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmaların başta geleni ise gıda bileşimine doğal veya sentetik antioksidanların eklenmesidir (Vandamme ve diğ., 2015).

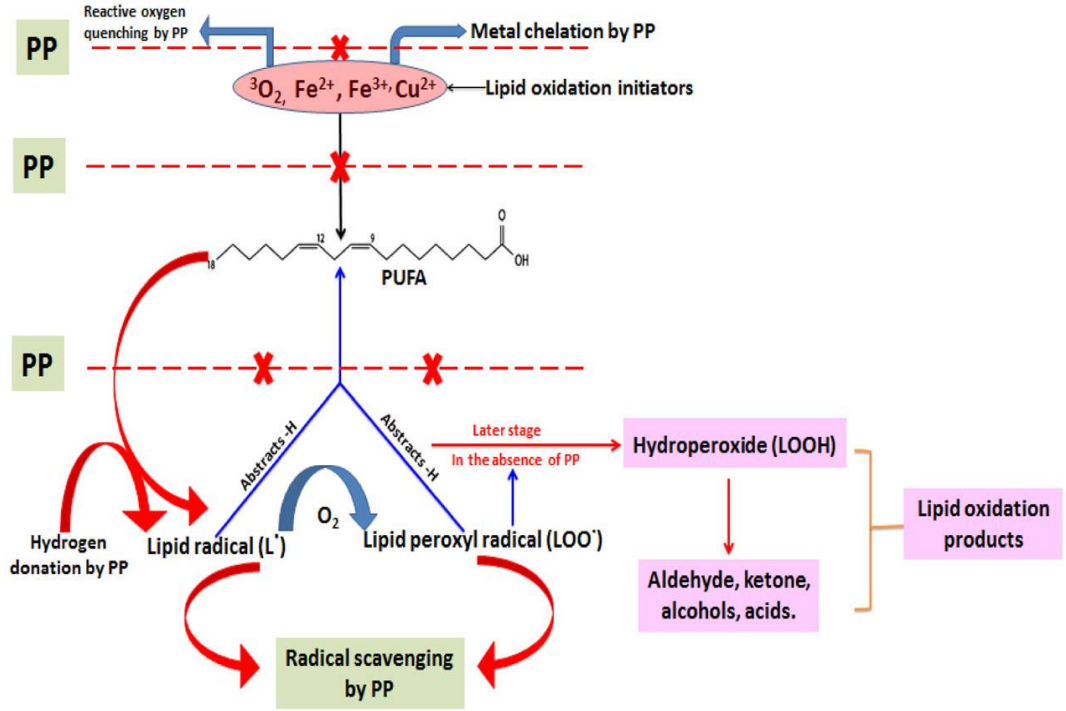
Oksidasyonu engelleyen ya da azaltan bileşikler antioksidan olarak adlandırılır (Wasowicz ve diğ., 2004). Düşük konsantrasyonlardaki antioksidanlar bile gıdanın oksijen ile reaksiyona girme oranını düşürmektedir (Pak ve Province, 2005). Oksidatif bozulmayı engellemek amacıyla hem doğal hem de sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır (Wang ve diğ., 2011). Sentetik olanlar ucuz olmasına rağmen bunların kullanılması, sağlık üzerine olumsuz etkileri sebebiyle, pek çok ülkede yasaklanmıştır (Wasowicz ve diğ., 2004, Wang ve diğ., 2011). Tüketicilere güvenli

olarak sunulan doğal antioksidanlara örnek olarak fenolik asitler, flavonoidler, tokoferoller, karetonoidler ve sitrik asit verilebilir. Bu antioksidanların doğadaki kaynakları bitkiler, baharatlar, meyveler, sebzeler, tohumlar / çekirdekler ve çaylardır (Wasowicz ve diğ., 2004). Ancak yine de potansiyel toksisiteleri ve karsinojeniteleri göz önüne alınarak gıdalarda kullanımlarına izin verilmektedir (Maqsood ve diğ., 2014).

Antioksidan yapıdaki fenolik maddeler hidrojen veya elektron verici yapıdadır. Bu fenolik maddeler radikallık reaksiyonları sonlandırarak yağların okside olmasını engellemektedir (Maqsood ve diğ., 2014). Antioksidanlar, gıdalarda meydana gelen oksidasyonun ya başlangıç aşaması ya da ilerleme aşamasının ilk adımlarında müdahale ederler. Antioksidan olan madde oluşan serbest radikalle ile reaksiyona girer (Pak ve Province, 2005). Şekil 2.6 ve Şekil 2.7’de bu reaksiyonlara ait mekanizmalar şematize edilmiştir.



Şekil 2.6: Antioksidan-yağ asidi reaksiyon mekanizması-1 (Pak ve Province, 2005) (AH: antioksidan)



Şekil 2.7: Antioksidan-Yağ Asidi Reaksiyon Mekanizması-2 (Maqsood ve diğ., 2014) (PP: Polifenol)

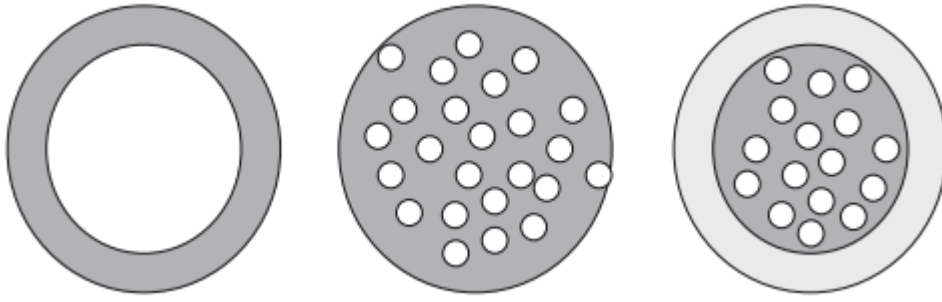
Antioksidanların katkı maddesi olarak eklenmesi yerine; oksidatif stabilitesinin artırılması ve aynı zamanda balık yağının kokusunun hapsedilmesine olanak vermesi nedeniyle balık yağının mikroenkapsülasyonu son yıllarda oldukça fazla çalışılan konular arasındadır. Depolama sırasında tat ve koku kayıplarının meydana gelmesi gıda endüstrisinde çokça karşılaşılan sorunlar arasındadır. Bunun yanı sıra gıda bileşeni içerisinde yer alan aromaların birbirleri ile etkileşerek kötü kokular oluşturması da mümkündür (Açu ve diğ., 2014). Balık yağının kendine has güçlü kokusu sebebiyle gıdalara direkt uygulanması zordur. Ayrıca çok çabuk okside olması sebebi ile istenmeyen kokular da meydana gelmektedir. Bu dezavantajların üstesinden gelebilmek sıvı balık yağının mikroenkapsülasyon teknolojisi ile toz forma dönüştürülmesi ile mümkün olabilir (Czerniak ve diğ., 2015).

2.2 Mikroenkapsülasyon Teknolojisi

2.2.1 Mikroenkapsülasyonun Tanımı

Mikroenkapsülasyon, katı, sıvı, hatta gaz fazındaki moleküllerin mikroskobik boyuttaki duvar (kaplama) materyaliyle çevrelenmesi işleminin adıdır (Venkatesan ve diğ., 2009). En basit haliyle; kaplanan materyal ince partikül veya damlacıklardan

oluşurken, bu materyali kaplayan küçük küre şeklindeki düzgün duvar yapısı mikrokapsül olarak adlandırılmaktadır (Sri ve diğ., 2012). Mikrokapsülün iç materyali öz (core), iç faz (internal phase) veya dolgu (fill) olarak adlandırılırken, duvar materyaline kabuk (shell), kaplama (coating) veya membran da denilmektedir. Bir mikrokapsülün çapı birkaç mikrometre veya birkaç milimetre büyüklüğündedir (Umer ve diğ., 2011). Mikrokapsüllerin çoğu küre şeklinde olmasına rağmen, mikrokapsülasyon tekniği, duvar materyalinin bileşimi ve kaplanan materyalin fiziko-kimyasal özellikleri mikrokapsüllerin görünüşüne etki etmektedir (Koç ve diğ., 2009). Şekil 2.8’de mikrokapsül şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.8: Mikrokapsülün şematik olarak gösterimi; sırasıyla duvar materyali, kaplanacak materyal, mikrokapsül (Zuidam ve diğ., 2010).

Mikrokapsülasyon yönteminin gıda endüstrisinde kullanım amaçlarından biri, aktif bileşen olan iç materyali korumak için onu çevreleyen ortama [nem, sıcaklık, hava ve ışık (Koç ve diğ., 2009)] karşı kalkan oluşturmaktır (Dubey ve diğ., 2009). Ayrıca kaplanan materyalin stabilitesini arttırmak ve kontrollü salınımını gerçekleştirmek de mikrokapsülasyonun amaçları arasındadır (Ünal & Erginkaya, 2010). Bunlara ek olarak aşağıda sıralanan sebepler de mikrokapsülasyon uygulamasına teşvik etmektedir:

- Uyumsuz bileşenlerin ayrılması (Dubey ve diğ., 2009). Özellikle ilaç sektöründe mikrokapsülasyon uygulamalarıyla toksik maddeler enkapsüle edilir ve kişinin hassasiyeti düşürülebilir (Shekhar ve diğ., 2010).
- Sıvı halde bulunan aktif bileşenin katı hale dönüştürülmesi (Umer ve diğ., 2011).
- Kaplama ile maddenin taşınmasının kolaylaştırılması,

- Kaplanacak maddenin tat ve kokusunun maskelenmesi (Koç ve diğ., 2009).

Kaplanacak olan iç materyal doğada sıvı veya katı halde bulunabilir (Sri.S. ve diğ., 2012). Bu sıvı bileşen çözülmüş (dissolved) veya dağılmış (dispersed) olarak bulunabilir (Umer ve diğ., 2011). Katı haldeki iç materyal ise aktif bileşenlerden, stabilizatörlerden, çözücülerden ve ilaç ara maddelerinden oluşan bir karışım olabilir (Venkatesan ve diğ., 2009).

Kaplama işleminde kullanılacak olan duvar materyali ise aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Sri.S. ve diğ., 2012):

- Aktif bileşenlere karşı inert olmalıdır
- Belirli bir duvar genişliği olmalıdır
- Kaplanacak materyal ile uyumlu olmalıdır
- İç materyali stabilize hale getirmelidir
- Spesifik şartlar altında kontrollü salınımı gerçekleşmelidir
- Esnek, kırılğan, sağlam veya ince olabilir
- Kolay temin edilebilir ve ucuz olmalıdır

Genellikle tek bir kaplama materyalinin bütün bu özellikleri karşılaması beklenmez. O nedenle birden fazla materyalin karıştırılması mümkündür. Mikroenkapsülasyon işleminde genellikle nişasta, maltodekstrin, pullulan, sakkaroz, maltoz gibi karbonhidratlar; jelatin, peynir altı suyu proteinleri, kazein ve kazeinatlar gibi proteinler ve gam arabik gibi gamlar kaplama materyali olarak tercih edilmektedir (Koç ve diğ., 2009). Tablo X'de hidrofobik maddelerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan duvar materyalleri görülmektedir (Karaca, 2012).

Çizelge 2.1 : Mikroenkapsülasyon uygulamasında kullanılan duvar materyalleri (Karaca, 2012).

Malzeme Çeşidi	Örnek
Polisakkaritler	Şeker, nişasta, maltodekstrin, dekstrin, siklodekstrin, glukoz şurubu, selüloz, gum arabic, aljinat, karregenat, pektin
Proteinler	Soya, buğday, mısır, jelatin, kazein, kazeinat, peynir altı suyu proteini, peynir altı suyu izolatu
Diğer Polimerler	Kitosan, polietilen glikol, polivinil asetat, selüloz ve türevleri

2.2.2 Mikroenkapsülasyon Teknikleri

Kaplanmak istenen aktif materyalin, seçilen uygun duvar materyaliyle hangi yöntem kullanılarak kaplanacağı, bu materyallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve elde edilen mikrokapsülün uygulama alanına bağlı olarak değişmektedir (Koç ve diğ., 2009).

Mikroenkapsülasyon için kullanılan bazı teknikler ve uygulamalara yönelik özet bilgiler aşağıdaki gibidir:

- 1) Püskürtmeli Kurutma: Kaplanacak olan aktif materyal koruyucu polimer bir madde içinde tutulur ve bu materyalin kaplama çözeltisi içindeki dispersiyonu hazırlanır. Aktif materyal ve duvar materyali kurutma odasına doğru püskürtülür ve ısınan hava santrifüj yardımıyla alınarak numunenin kurutulması sağlanır (Gharsallaoui ve diğ., 2007).
- 2) Dondurarak Kurutma: Genellikle aroma maddeleri gibi ısıya duyarlı bileşenlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan bir yöntemdir. Aromanın duvar materyaline tutunması için aroma çözeltisinin içerisinde şeker çözündürüldükten sonra dondurularak kurutulması ile mikroenkapsüller elde edilir (Gökmen ve diğ., 2012).
- 3) Akışkan Yatak Kaplama: Aktif materyel akışkan yatak içerisine yerleştirildikten sonra duvar materyali olarak kullanılan sıvı püskürtme işlemi ile yatak üzerine aktarılır ve katman şeklinde mikrokapsüller meydana gelir. Maliyeti yüksek bir işlem olduğu için gıda endüstrisinde püskürterek kurutma yöntemi kadar tercih edilmez (Koç ve diğ., 2009).
- 4) Ekstrüzyon: Bu yöntemde duvar materyali olarak karbonhidrat matriksleri ve iç materyal olarak uçucu aroma bileşikleri kullanılmaktadır (Dubey ve diğ., 2009).
- 5) Kokristalizasyon: Bu yöntemde duvar materyali olarak sakkaroz kullanılmaktadır. Sakaroz olmayan aktif materyal sakaroz kristalleri içinde sürüklenirken 3-30 µm çapta değişen mikrokapsüller oluşturur (Gökmen ve diğ., 2012).

Yukarıda bahsedilen mikroenkapsülasyon tekniklerinin işlem basamakları Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2 : Bazı mikroenkapsülasyon tekniklerinin işlem basamakları (Koç ve diğ., 2009).

Mikroenkapsülasyon Tekniği	İşlem Basamakları
Püskürtmeli kurutma	• Dispersiyon ve emülsiyon hazırlama • Yüksek basınçlı homojenizasyon • Atomizasyon • Kurutma
Akışkan yatakta kaplama	• Kaplama sıvısının hazırlanması • Kaplanacak olan maddenin akışkanlaştırılması • Maddenin kaplanması • Soğutma
Ekstrüzyon	• Paçallama • Ekstrüzyon • Soğutma
Koaservasyon	• Emülsiyonun hazırlanması • Karıştırma • Kurutma

2.2.3 Balık Yağının Mikroenkapsülasyonu Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Balık yağının insan sağlığı üzerindeki etkisinin incelenmesi ile olumlu sonuçlara ulaşılmıştır. Bu durum araştırmacıları balık yağının raf ömrünün arttırılması üzerine çalışmaya teşvik etmiştir. Son yıllarda, gelişen teknoloji ile birlikte, mikroenkapsülasyon yöntemi ile balık yağının stablizasyonunun sağlanmasına ilişkin pek çok aşatırma yapıldığı görülmektedir.

Klaypradit & Huang (2007) farklı duvar materyalleri (kitosan, maltodekstrin ve peynir altı suyu) kullanarak, ton balığı yağı ile oluşan mikrokapsüllerin optimizasyonu üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmada ultrasonik atomlaştırıcı cihazını kullanmışlardır ve çalışma 3 temel işlemde oluşmaktadır: emülsifikasyon, ultrasonik atomizasyon ve dondurarak kurutma. Mikroenkapsülasyon ile toz halinde

kapsüller elde edilmiştir. Bu yöntem kullanılarak balık yağının gıda endüstrisindeki uygulanabilirliğini ve stabilitesini arttırmak amaçlanmıştır.

Liao ve diğ. (2011) yayınladıkları çalışmada balık yağı ve SDWG (Succinic acid deamidated wheat gluten) mikroküreler ile O/W/O ikili-emülsiyon oluşturarak ısı polimerizasyon yöntemi ile kaplamıştır. Bu yöntemde uygulanan ısı işlem, disülfid bağları, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler ile glutenin sıkı bir ağ yapısı oluşturmaya sebep olmaktadır. Böylece bu modifiye biyopolimer madde hidrofilik maddelerin enkapsülasyonunda kullanılmaktadır.

Chen ve diğ. (2013)'de yayınladıkları çalışmada içinde balık yağı da bulunan 3 çeşit biyoaktif bileşen mikroenkapsülasyon yöntemi ile kaplanmıştır. Yapılan çalışmada duvar materyali olarak, süt proteinleri olan peynir altı suyu ve sodyum kazeinatın 4:1 oranında karıştırılması ile elde edilen çözelti kullanılmıştır. Yağ-su emülsiyonlarının hazırlanmasının ardından püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

2014 yılında yayınlanan bir çalışmada Zhang ve diğ. balık yağını pektin ve kazeinat ile kaplayarak hidrojel mikroküreler oluşturmuşlardır. Hidrojel mikroküreler O/W₁/W₂ yapısında sistemlerdir. Bu sistemlerde yağ damlacıkları biyopolimer mikroküre (W₁) ile tutulur ve oluşan bu mikroküreler sürekli sıvı fazda (W₂) askıda durur. Bu çalışmada mikroküreler kompleks koaservasyon metoduyla elde edilmiştir. Kullanılan yöntem biyopolimerin yük yoğunluğuna, molekül yapısına ve konsantrasyonuna bağlıdır. Bu yöntem ile hidrojel kürelerin oluşması pH veya iyonik kuvvet ile kontrol edilir.

2014 yılı içinde yayınlanan başka bir çalışmada Jeyakumari ve diğ. balık yağı-süt bazlı emülsiyon hazırlanmış ve püskürterek kurutma yöntemini kullanılmışlardır. Duvar materyali olarak ise balık jelatini veya maltodekstrin tercih edilmiştir. Ayrıca bu çalışma kapsamında antioksidanların mikrokapsüller üzerindeki etkisini de incelemek isteyen araştırmacılar, kapsüllerin üzerine zencefil yağı da eklemişlerdir ve ürünlerin oksidatif stabilitelerini değerlendirmişlerdir.

Balık yağının mikroenkapsülasyonu ile ilgili yayınlanan bir diğer çalışmada Chatterjee & Judeh (2015) kaplama (duvar) materyali olarak kitosan (N-stearoyl O-

butylglyceryl chitosan) kullanmışlardır. Membran emülsifikasyon ve ultrasonik emülsifikasyon yöntemleri ile elde edilen mikrokapsüllerin morfolojileri, koloidal stabiliteleri, yükleme kapasiteleri ve salınım profilleri karşılaştırılmıştır.

Chatterjee ve Judeh (2015) yaptıkları çalışmada balık yağını N-lauroyl kitosan ile kaplamışlardır ve membran emülsifikasyon yöntemini kullanarak mikrokapsülasyon işlemi gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntemde yağ fazı basınç yardımıyla çok dar olan porlara sahip membrandan geçirilir ve (su içinde yağ) emülsiyon oluşturulur. Çalışmada, elde edilen kapsüllerin fizikokimyasal özellikleri ve gastrointestinal stabilitesi incelenmiştir.

Czerniak ve diğ. (2015) çalışmasında balık yağında meydana gelen oksidasyonu azaltmak için doğal mikrokapsül olarak kabul edilen maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücreleriyle mikrokapsülasyon uygulaması yapılmıştır. Diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, maya hücreleri ile enkapsülasyon uygulaması çok basit bir yöntemdir ve ekstra bir materyale ihtiyaç duyulmamaktadır. Proses, emülsiyon oluşturma, homojenizasyon, inkübasyon gibi temel işlemleri içermektedir.

Yapılan tüm bu araştırmaların sonucunda, farklı duvar materyalleri ve farklı yöntemler kullanılarak balık yağının mikrokapsülasyonu için farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Bütün çalışmalarda ayrı bir yöntem ele alınmış olmasına rağmen, hepsinin ortak amacı balık yağının oksidasyonunu engellemek / azaltmaktır ve araştırmacılar bu doğrultuda başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

Son zamanlarda balık yağının mikrokapsülasyonu üzerine yapılan çalışmalarda yukarıda özetlenen yöntemlerin dışında, doğadaki bitki sporlarının içlerinin boşaltılması ile elde edilen “Sporopollenin Ekzin Kapsüller” (SEC) de enkapsülasyonda duvar materyali olarak kullanılmaya başlanmıştır.

2.3 Sporopollenin

Balık yağının çok iyi korunamamasından yola çıkılarak başlatılan mikrokapsülasyon uygulamalarında son zamanlarda yeni bir yöntem denenmeye başlanmıştır. Doğada mikro boyutlarda olan polen veya spor taneciklerinin içleri

boşaltılarak, elde edilen kabuklar balık yağı ile doldurulmuştur ve böylece sıvı balık yağı enkapsüle edilerek toz partikül halini almıştır (Beckett & Mackenzie, 2010).

Sporlar, eğrelti otu ve yosun gibi tohumu olmayan bitkilerin üremek için ürettikleri yapılardır. Spor taneciklerinin çapları 5-250 µm arasında değişse de, tek bir türe ait sporlar düzgün (tek düze) bir büyüklük ve morfolojiye sahiptir (Souza ve diğ., 2015). Spor çeşitlerine örnek teşkil edecek görseller Şekil 2.9’da verilmiştir.

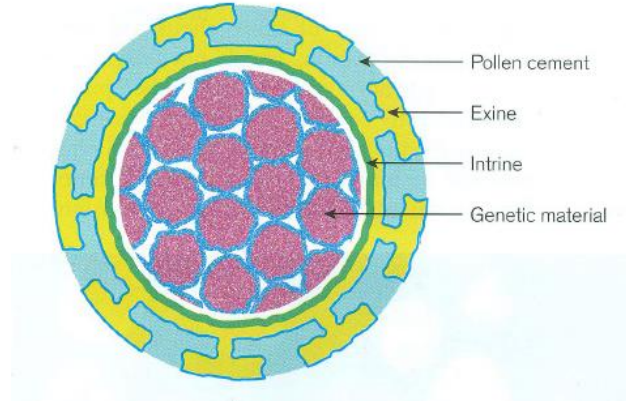


Şekil 2.9: Çeşitli bitkilere ait spor örnekleri (Sporomex, 2013).

Sporların yapısında genellikle yağlar, bazı vitaminler, karbonhidrat ve proteinler bulunmaktadır (Barrier, 2008). Bir spor/polen taneciğinin iç kısmını genetik materyaller oluştururken dışında iki katmanlı bir duvar bulunmaktadır. İç katman olan intin selülozdan oluşmaktadır (Beckett & Mackenzie, 2010, Souza ve diğ., 2015). Spor veya polenin bir tür biyopolimer olan ve “ekzin” olarak adlandırılan dış duvarının ana bileşenine ise “sporopollenin” denilmektedir (Sporomex, 2013). Genellikle yuvarlak hatlı olan sporlar, 1-2 µm kalınlığında duvarlara sahiptir (Tutar ve diğ., 2009). Şekil 2.10’da bir spor taneciğinin morfolojik yapısı şematize edilmiştir.

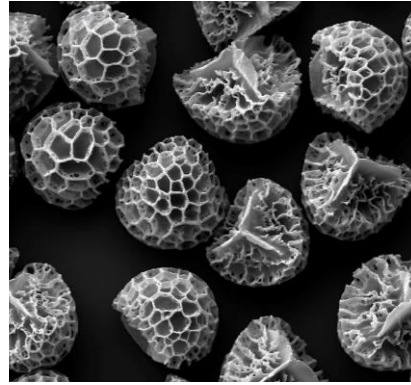
Kimyasal ve biyolojik reaksiyonlara karşı oldukça dayanıklı olan sporopollenin biyopolimerinin kimyasal yapısının çözülmesi için birçok analitik test uygulanmıştır ancak hala netleştirilmesi beklenen, sınırlı sayıda bilgiye ulaşılmıştır (Sargın & Arslan, 2015). İyi bir fiziksel güce ve kimyasal stabiliteye sahip olan sporopolleninin yapısında karbon, hidrojen ve oksijen gibi elementlerin olduğu bilinirken, kesin kimyasal yapısına ulaşılamamıştır. Yapılan çalışmalarda birçok toksik metal iyonunu absorbe ettiği, bu nedenle hidroksil, karbonil ve karboksil gibi şelat oluşturan

grupları içerdği söylenmektedir (Şener ve diğ., 2014). Ayrıca yapılan başka bir analizde ise sporopolleninin uzun doymuş alifatik zincirler ve orijinine göre değişen miktarlarda aromatik yapılar içerdği belirtilmektedir (Domínguez ve diğ., 1999).



Şekil 2.10: Spor taneciğinin morfolojik yapısı (Beckett & Mackenzie, 2010).

Mikroenkapsülasyon çalışmalarında kullanılan spor tanecikleri genellikle otsu ve çiçeksiz bir bitki türü olan “Kurtpençesi (*Lycopodium Clavatum*)”nden elde edilmektedir (Diego-Taboada ve diğ., 2014). Şekil 2.11’de Kurtpençesi’ne ait sporların SEM görüntüsü bulunmaktadır.



Şekil 2.11: *Lycopodium clavatum* sporları (Diego-Taboada ve diğ., 2014).

Sporların ekzin kabukları elastik bir yapıya sahiptir ve tonlarca basınca maruz kaldığında bile yapısı bozulmaz (Beckett & Mackenzie, 2010). Kimyasallara karşı iyi derecede dayanıklı olan sporopolleninin stabilitesi oldukça yüksektir ve mineral asitleri ve alkalilere maruz kaldığında dahi değişmeyen bir kimyasal yapısı vardır (Tutar ve diğ., 2009). Ayrıca 250°C’den daha yüksek sıcaklıklarda bile stabil kalabilmektedir (Beckett & Mackenzie, 2010). Yapılan çalışmalarda 500 milyon

yıldan eski kayaların altında zarar görmeden kalmış spor taneciklerine de rastlanmıştır (Barrier, 2008). Bahsedilen ekzin kabukların UV bölgedeki ışığın yarısını geçirdiği de yapılan çalışmalarda görülmüştür (Beckett & Mackenzie, 2010).

2.3.1 Sporopollenin Ekzin Kapsül (SEC) ile Mikroenkapsülasyon Uygulamaları

Mikroenkapsülasyon teknolojisinde araştırmacıların en çok zorlandığı şeyler arasında aynı morfolojik yapıda (uniform) kapsüller elde edememe, elde edilen kapsüllerin işlemler sırasında fiziksel ve kimyasal olarak zarar görmesi gibi başlıca sorunlar yer almaktadır (Diego-Taboada ve diğ., 2014). Sporların yukarıda bahsedilen dayanıklı yapısı ve genetik iç materyalinin kimyasal ekstraksiyonla kolayca çıkarılıyor olması mikroenkapsülasyon teknolojisinde kullanımına ön ayak olmuştur (Souza ve diğ., 2015, Beckett & Mackenzie, 2010). Sporların yapısında bulunan alerjenik proteinler, belirtilen kimyasal ekstraksiyon sırasında kolayca yapıdan uzaklaştırılabilmektedir (Beckett & Mackenzie, 2010).

Sporlardan elde edilen ekzin kapsüller lipofilik yapıdadır (Barrier, 2008). İçi boş ekzin duvar, içinden alınan genetik materyalin yerine yağ ile doldurabilmektedir. Yağ tanecikleri lipofilik duvardan yavaşça içeriye doğru hareket etmektedir ve bu enkapsülasyonun hızı kabuk içine doğru bir vakum oluşturarak (örneğin çalkalama ile) arttırılabilmektedir (Beckett & Mackenzie, 2010). Ekzin mikroenkapsülasyon teknolojisi balık yağının kötü kokusunun ve tadının maskelenmesinde önemli bir rolü olan, gelişime açık yeni bir metottur (Wakil ve diğ., 2010).

Yeni yeni kullanılmakta olan ekzin ile mikroenkapsülasyon uygulamalarında en geniş kapsamlı çalışmayı Dr. Barrier doktora tezi çalışmaları sırasında yapmıştır (2008). Sporopollenin ekzin kapsüllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini inceleyen Dr. Barrier, çalışmalarında balık yağının, kakao yağının, balmumunun ve kolza tohumu yağının ekzin ile mikroenkapsülasyonuna yer vermiştir. Çalışma boyunca pasif enkapsülasyon, basınç ile enkapsülasyon ve vakum ile enkapsülasyon yöntemlerini kullanmıştır. Balık yağı ile yaptığı çalışmada yağ : ekzin oranının 1:1, 1:2, 1:4 ve 1:6 olarak seçip çalışmalarını sürdürmüş ve kayda değer sonuçlar elde etmiştir.

2.3.2 SEC Enkapsüle Yağların Karakterizasyonu

Mikroenkapsüle yağların fiziksel özelliklerinin ve stabilitelerinin bilinmesi hem tüketici hem de tedarikçi açısından önem arz etmektedir (Sanguansri, L. ve diğ., 2007). SEC ile enkapsüle edilmiş balık yağının karakterizasyonu fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal analizler ile sağlanabilir (Kaushik ve diğ., 2014). Mikroenkapsülün partikül büyüklüğü ve partikül şekli, rengi, nem miktarı ve su aktivitesi bilinmesi istenen fiziksel özelliklerdendir (Nickerson ve diğ., 2014). Oksidasyon stabilitesi ise balık yağı için ölçülebilir önemli bir kimyasal özelliktir. Duyusal analiz ve raf ömrü çalışmaları da omega-3 ve omega-6 serbest yağ asitleri için kritiktir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda tamamlanmalıdır (Nickerson ve diğ., 2014).

2.3.2.1 Mikroenkapsüllerin Morfolojisi

Oksidasyon gıda sistemlerinde meydana gelen en önemli değişimlerden birisidir. Gıda yağlarının oksijene karşı hassas olması, üretim, depolama, dağıtım ve sunum aşamalarında oksidasyon reaksiyonlarına sebep olur ve bu durum gıda bozulmasının en önemli sebeplerinden biridir (Wasowicz ve diğ., 2004). Bu nedenle enkapsülasyon uygulamaları balık yağında bulunan omega-3 ve omega-6 gibi doymamış yağ asitlerinin, belirtilen bu aşamalarda, oksijenden olabildiğince az etkilenmesini amaçlamaktadır (Kaushik ve diğ., 2014).

Doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyonu sonrasında hidroperoksitler ve ikincil oksidasyon ürünleri meydana gelir. Oluşan hidroperoksit seviyesinin belirlenmesi peroksit değerinin (PV), ikincil oksidasyon ürünlerinin seviyesinin belirlenmesi anisidin değerinin (AV) ölçülmesiyle sağlanır. EPA ve DHA Küresel Organizasyonu (GOED) peroksit değeri için üst limiti 5 meq/kg, anisidin değeri için ise 20 meq/kg olarak belirlemiştir (Nickerson ve diğ., 2014). Ayrıca mikroenkapsülasyon uygulaması ile elde edilen enkapsüle yağların oksidatif stabilitesini belirlemede Ransimat yönteminin kullanılması ve oksidatif stabilite indeksinin (OSI) belirlenmesi de yararlanılan yöntemler arasındadır (Carneiro ve diğ., 2012).

Balık yağında oksidasyon ürünlerinin oluşmasından dolayı kabul edilemeyen acılık ve bozulmuş balık kokusu oluşur (Jimenez-Martin ve diğ., 2015). Bu nedenle duyusal analiz metodu ile panelistler oluşan ilk oksidasyon ürünlerini de belirleyebilirler (Carneiro ve diğ., 2012).

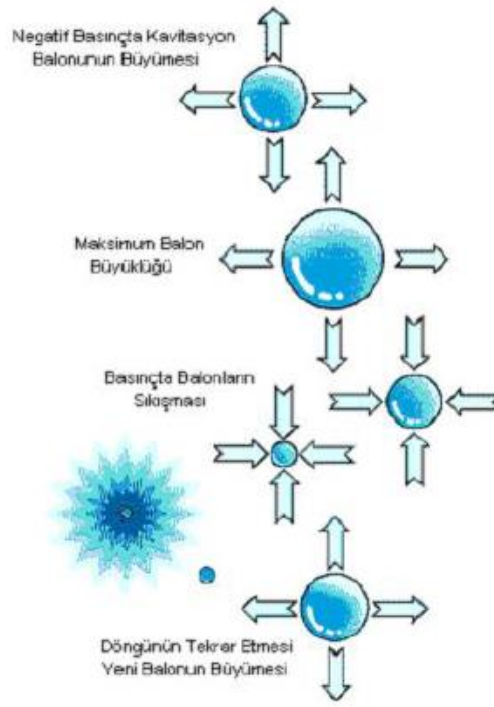
2.4 Ultrases Teknolojisi

Ultrases, insanların işitemeyeceği kadar yüksek frekanstaki ses dalgaları olarak tanımlanır (Rojas ve diğ., 2016). Ultrases dalgaları yayılabilmek için elastik bir ortama ihtiyaç duyar ve çalıştığı frekans 20 kHz'den 10 MHz'e kadardır (Pingret ve diğ., 2012). Ultrasesin sıvı bir ortamdaki en büyük etkisi, sıvı içerisindeki çözünmeyen gazlarla balonlar oluşturup bu balonların genişleyip küçülmesini sağlayarak fiziksel bir proses olan kavitasyonu oluşturmaktır (Mc Clement, 1995). Oluşan bu kavitasyon balonları stabilizasyonlarının bozulması ile birlikte patlar ve sıvı içerisinde 5000°C'ye varabilen anlık yüksek sıcaklık noktalarının, 5000 atm'e varabilen yüksek basınçların oluşmasına neden olur (Alarcon-Roja, 2015). Bu durum ortamdaki kimyasal reaksiyonların hızlanmasını sağlayabilir (Pingret ve diğ., 2012). Şekil 2.12'de kavitasyon oluşumu şematize edilmiştir.

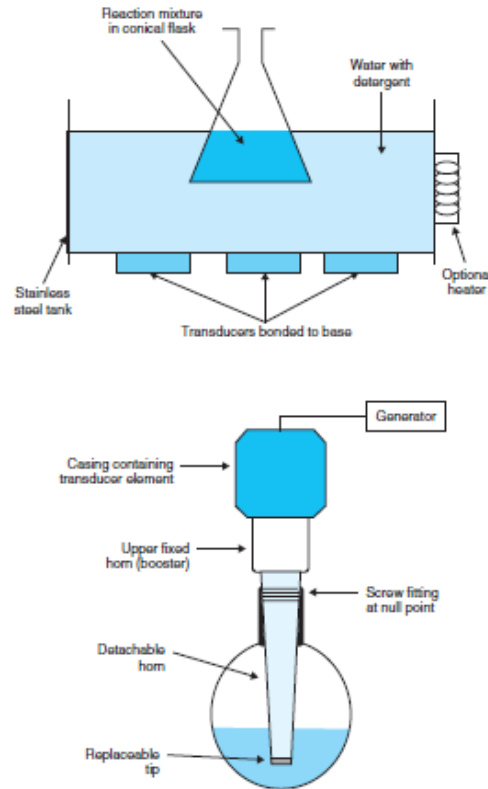
Ultrases teknolojisi sıvı bir ortama uygulanacaksa ultrases probalar, katı bir ortama uygulanacaksa ultrases banyolar kullanılmaktadır.

2.4.1 Ultrases Teknolojisinin Gıda Sektöründe Kullanımı

Şeker, yağ, protein, vitamin, aroma ve lif gibi yapıları içeren kompleks gıda bileşenleri ticarileştirilmeden önce, raf ömrünü arttırmak ve gıda korumasını sağlamak için kızartma, kurutma, filtre etme veya dondurma gıda proseslerden geçerler (Chemat ve diğ., 2010). Bu gibi konveksiyonel ısıtma işlemlerinin gıda güvenliğini arttırmak için uygulanması sırasında gıdaların besin değerlerinde ve duyu özelliklerinde (koku, görünüm, tat) istenmeyen değişiklikler olabilmektedir (Açı ve diğ., 2014). Kavitasyon ile meydana gelen sıcaklık ve basınç değişimleri konveksiyonel ısıtma işlemlerindeki gibi olmadığından, ultrases teknolojisi gıda proseslerinde gıda güvenliğini ve kalitesini arttırmak için kullanılmaya başlanmıştır (Alarcon-Roja, 2015). Böylece proses sırasında su, enerji ve zaman tasarrufu da yapılmaktadır (Chemat ve diğ., 2010). Gıda teknolojisinde kullanılan ultrases dalgaları ikiye ayrılmaktadır: yüksek frekans – düşük yoğunluklu ultrases (>1 MHz, <1 W cm⁻²) ve düşük frekanslı – yüksek yoğunluklu ultrases (20–100 kHz, 10–1000 W cm⁻²) (Mason ve diğ., 2005).



Şekil 2.12: Kaviteasyonun oluşum mekanizması (Anon., t.y.).



Şekil 2.13: Ultrases banyo ve prob uygulamaları (Mason ve diğ., 2005).

Ultrases teknolojisinin gıda sektöründe kullanıldığı alanlar ve kullanım amaçları Çizelge 2.3.de özetlenmiştir.

2.4.2 Ultrases Teknolojisinin Gıda Maddeleri Üzerine Etkisi

Gıda sektöründe konveksiyonel ısı işlemlere alternatif olarak kullanılan ultrases teknolojisinin en büyük avantajı gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizma ve enzimleri inaktif hale getirerek güvenli gıda oluşturmak ve raf ömrünün artmasını sağlamaktır (Yüksel, 2013). Ultrases uygulaması sırasında oluşan kavitasyon balonlarının patlaması ile ortamda oluşan anlık yüksek sıcaklık ve basınç gıda içeriğinde bulunan mikroorganizmanın hücre zarını tahrip etmekte ve inaktif hale gelmesine sebep olmaktadır (Açu ve diğ., 2014). Ultrasesin enzimler üzerine etkisine bakıldığında ise oluşan anlık yüksek sıcaklığın enzimleri tahrip ettiği ve depolimezasyonuna sebep olduğu görülmektedir (Sayın & Tamer, 2014).

Çizelge 2.3 : Ultrases teknolojisinin gıda sektöründe kullanıldığı alanlar ve kullanım amaçları (Tüfekçi & Özkal, 2015).

Uygulama Alanı	Amacı
Ekstraksiyon	Verim ve etkinliğin artırılması
Emülsifikasyon / Homojenizasyon	Uygun maliyetle emülsiyon üretimi
Kristalizasyon	Daha küçük boyutta kristal oluşumu ve birlikte kristallerin modifikasyonu
Filtrasyon	Kirlenmenin azaltılması
Seperasyon	Kimyasal tekniklere olan ihtiyacın azalması, basınç – düğüm noktalarında partiküllerin aglomerasyonu
Köpük giderme	Köpük giderici ajan kullanımını azaltma ve verimi artırma
Kurutma	Verim ve etkinliğin artırılması
Mikrobiyal ve enzimatik inaktivasyon	Kavitasyon ile hücre zarına zarar vererek yüksek sıcaklık kullanmadan inaktivasyonu sağlama
Fermantasyon	Prosesi hızlandırma, metabolit üretimini artırma, canlı dokuyu uyarma, substrat transferini iyileştirme
Kesme	Düzgün yüzey oluşumu ve madde kaybının azalması

Ultrases gıdalarda sterilizasyon ve enzim inaktivasyonu gibi çok önemli iki uygulama için kullanılsa da, gıda üzerinde olumlu olmayan etkiler olduğu da görülmektedir.

Bu etkiler Çizelge 2.4’de özetlenmiştir. Ancak bu olumsuz etkiler konveksiyonel ısıtma işlemleri ile meydana gelen duysal özellik bozuklukları kadar önem arz etmemektedir.

Çizelge 2.4 : Ultrases teknolojisinin gıdalar üzerine olan olumsuz etkileri (Pingret ve diğ., 2012).

Uygulanan Gıda	Gıda Üzerindeki Etkisi
Domates ve portakal suyu	Renk değişimi & askorbik asit degradasyonu
Domates püresi	Likopenin biyoyararlılığında düşüş & viskozitesinde değişim
Mısır nişastası	Kitosan ve nişasta degradasyonu & granül yapısında bozulma
Çikolata kreması	Koyu renk oluşumu & viskozitede düşüş & istenmeyen koku oluşumu
Çilek suyu	Antosiyanin ve askorbik asit içeriğinin düşmesi
Elma Sirkesi	Koyu renk oluşumu & bulanıklığın azalması
Süt	Kötü koku oluşumu

2.4.3 Ultrases Teknolojisinin Enkapsülasyon Uygulamalarında Kullanımı

Enkapsülasyon yöntemlerine bakıldığında, kaplama materyali ile kaplanacak gıda maddesi yağ içinde su veya su içinde yağ emülsiyonlarını oluşturur ve elde edilen bu emülsiyonlarla farklı yöntemler (püskürterek kurutma, dondurarak kurutma vb.) kullanılarak mikrokapsüller elde edilir (Fuchs ve diğ., 2005). Ultrases teknolojisinin sıklıkla kullanıldığı alanlardan biri de emülsifikasyon uygulamasıdır (Grieser, 2016). Ultrases teknolojisinin uygulanması ile daha stabil ve raf ömrü yüksek olan emülsiyonlar oluşturulur (Leong ve diğ., 2016). Bu durum göz önüne alınarak, emülsiyonlardan yararlanılarak elde edilen mikrokapsüllerin, enkapsülasyon işlemi sırasında ultrases teknolojisi ile muamele edilmesinin enkapsülasyon etkinliğini ve stabilitesini arttıracakı düşünülmüştür. Ultrases teknolojisinin asiste ettiği enkapsülasyon çalışmaları yeni uygulanmaya başlanmıştır. Silva diğ. (2015) enkapsülasyon üzerine yaptıkları çalışmada, dondurarak kurutma ve püskürtmeli kurutma yöntemlerini kullanarak, önceden US uygulanmış emülsiyon ile hazırlanan mikro kapsüllerde daha yüksek stabilite elde etmişlerdir.

Sporopollenin ekzin kapsül ile balık yağı enkapsülasyonunda diğer enkapsülasyon yöntemlerinden farklı olarak emülsiyon oluşturulmaz. SEC'lerin kendi lipofilik yapıları pasif difüzyon ile balık yağını içine çekmektedir. Bu işlemin etkinliğini arttırmak için Dr. Barrier (2008) yaptığı çalışmada vakum ve basınç uygulaması yapmıştır. Son dönemlerde gıda proseslerinde yaygın olarak kullanılan ultrases yönteminin ve kavitasyon etkisinin SEC ile balık yağı enkapsülasyonuna etkisi bu çalışmada araştırılmıştır.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Materyal

Bu araştırmada saf alabalık yağının mikroenkapsülasyonu üzerine çalışılmıştır. Çalışmada Destek marka alabalık yağı kullanılmıştır. Enkapsülasyon yöntemi için gerekli olan ve *Lycopodium clavatum* sporlarından elde edilen sporopollenin mikrokapsüller ise İngiltere’de bulunan Sporomex Limited şirketinden bilimsel araştırmada kullanılmak üzere temin edilmiştir. Enkapsülasyon çalışmalarında uygulanan ultrases işlemi için VWR Symphony marka (ABD) ultrasonic temizleyici kullanılmıştır. p-anisidin değerinin analizi için Optima SP 3000 Nano marka (Japonya) spektrofotometre kullanılmıştır. Çalışma boyunca kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

3.2 Metod

3.2.1 Balık Yağının Enkapsülasyonu

Çalışmada duvar materyali olarak kullanılan, *Lycopodium clavatum* sporlarından elde edilen sporopollenin mikrokapsüller sadece ekzin duvardan oluşmaktadır. Bu ekzin duvar lipofilik porlar içermekte olup, bu nedenle enkapsülasyon için ekstra bir işleme gerek duyulmamaktadır. Sporopollenin ekzin kapsül ile balık yağı (1:1 ve 1:2) oranlarında üst üste tartılarak kapalı bir kapta kapiler kuvvetlerin etkisiyle enkapsülasyonun gerçekleşmesi için 24 saat bekletilmiştir. Ayrıca lipofilik çekim kuvveti ile gerçekleşen bu yöntemde enkapsülasyon verimini artırmak için, hazırlanan sporopollenin ekzin kapsülü ve balık yağı karışımları ultra ses teknolojisi ile 15 dakika 60 Hz frekansta ultrases dalgası ile muamele edilip enkapsülasyon işlemi için 24 saat bekletilmiştir.

3.2.2 Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Elde edilen mikrokapsüllerin aşağıda belirtilen analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1 Mikroskop Görüntülerinin Alınması

Enkapsülasyon işleminin ardından elde edilen kapsüller mikroskop altında incelenmiştir. Bunun için 1:1 ve 1:2 oranlarında hazırlanarak enkapsüle edilmiş balık yağı örneklerinin 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülerek mikroskop görüntüleri Bresser Duolux marka 20-1280x model mikroskop (Almanya) kullanarak alınmıştır.

3.2.3 Elde Edilen Mikrokapşüllerin Stabilitesi

Mikrokapşüllerin oksidasyon analizinde elde edilen mikrokapşüllerin stabilitesini değerlendirmek için ürünler belirli bir zaman aralığında, belirli bir sıcaklığa maruz bırakılır ve ardından peroksit (PV), p-anisidin (AV) ve toplam oksidasyon (TOTOX) değerleri ölçülerek ürünlerin oksidatif stabilitesi değerlendirilir.

Yağların 1 gün boyunca 65 °C’de sıcaklığa maruz bırakılması, 1 ay oda sıcaklığında depolanmasına karşılık gelmektedir (Shearer, 2010). Bu nedenle hazırlanan ürünlerin ve kullanılan balık yağının PV ve AV değerleri enkapsülasyon işleminin hemen ardından (t=0 anında) ölçülüp kaydedilmiş ve balık yağı ile mikrokapşüller 6., 12., 18. ve 24. günlerde değerlendirilmek üzere 65 °C’lik etüve yerleştirilmiştir. 6 günlük periyotlarda PV ve AV ölçümleri yapılarak alınan sonuçların karşılaştırılması ile mikroenkapsülasyon etkinliği değerlendirilmiştir.

3.2.3.1 Peroksit Sayısı Tayini

Peroksit sayısı yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup, 1 kg yağdaki aktif oksijenin mikrogram olarak miktarıdır.

Peroksit sayısı tayini titrimetrik bir metot olan AOCS Cd 8b-90 metodu kullanılarak belirlenmiştir (AOCS, 2009). Enkapsüle edilmiş yağ örneğinin üzerine 30 ml asetik asit: izooktan (3:2 v/v) karışımı ilave edildikten sonra üzerine 0,5 ml doymuş potasyum iyodür çözeltisi eklenmiş ve sonra 5 dak. karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda karışıma 30 ml saf su ilave edilerek indik特or nişasta çözeltisi damlatıldıktan sonra 0,01 N ayarlı sodyum tiyosülfat ile titre edilip elde edilen değer metotta belirtilen formülde yerine konularak peroksit sayısı meq/kg yağ olarak hesaplanmıştır. 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi etüvde kurutulup soğutulan potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ile hazırlanan 0,01 N çözelti ile standardize edilmiştir.

$$\text{Peroksit Sayısı (PV) (meq O}_2\text{/kg yağ)} = \frac{[(V-V_{\text{kör}}) \times N \times 1000]}{M}$$

V: Titrasyonda sarfedilen sodyum tiyosülfatın miktarı (ml)

V_{kör}: Kör titrasyonunda sarfedilen sodyum tiyosülfatın miktarı (ml)

N: Sodyum tiyodülfat çözeltisinin normalitesi

M: Örnek miktarı (g)

3.2.3.2 p-Anisidin Değeri Tayini

p-Anisidin, yağların ikincil oksidasyon ürünleri olan aldehitlerle reaksiyon verir ve oluşan ürünler 350 nm dalga boyundaki UV ışığı absorbe eder. Böylelikle yağların oksidasyonu ile meydana gelen aldehitlerin miktarı belirlenmiş olur.

Bu işlem için spektrofotometrik bir yöntem olan AOCS Cd-18-90 kullanılmıştır (AOCS, 2009). Enkapsüle edilmiş yağ örneği 25 ml'lik balon jode seyretilmiştir. İşlemin birinci basamağında spektrofotometre 350 nm'ye ayarlanarak, izooktan çözeltisi (kör çözelti) ile sıfırlama yapılmış ve elde edilen yağ çözeltisinin absorbans değeri (As) ölçülmüştür. İkinci basamakta ise izooktan-yag çözeltisinden 5 ml alınarak üzerine 1 ml p-anisidin çözeltisi (25 g p-anisidin/100 ml asetik asit) ilave edilmiş, 10 dk bekletilmiştir. Kör çözelti olarak ise izooktan üzerine 1 ml p-anisidin eklenerek 10 dk bekletilmiştir. Kör çözelti ile cihaz sıfırlanmış ve yağ örneği ile hazırlanan çözeltinin 350 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür (As). Elde edilen absorbans değerleri metotta belirtilen formülde yerine konularak p-anisidin değeri hesaplanmıştır:

$$\text{p-Anidin Sayısı (p-AV)} = \frac{25 \times (1.2 \times \text{As} - \text{Ab})}{m}$$

As = yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonu sonrası absorbans değeri

Ab = yağ çözeltisinin absorbansı

m = örnek miktarı, g

3.2.3.3 TOTOX Değerinin Hesaplanması

Toplam oksidasyon değeri (TOTOX) yağların oksidatif bozunmalarını hesaplanmasında kullanılır ve aşağıdaki formüle göre hesaplanır (Moigradean ve diğ., 2012).

$$\text{TOTOX} = (2 \times \text{PV}) + (\text{p-AV})$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Balık Yağının Enkapsülasyonu

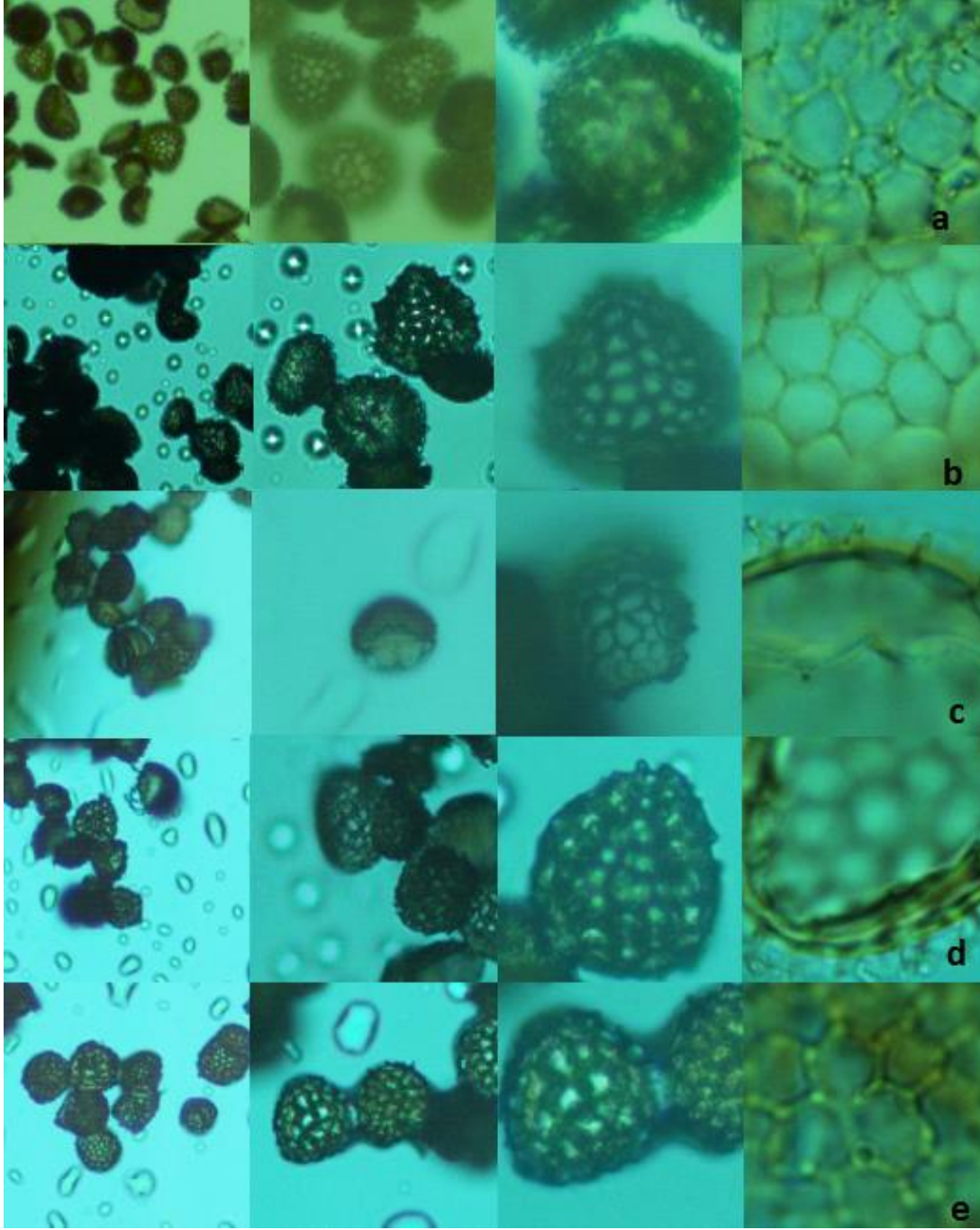
Çalışma boyunca kullanılan ve içleri boş olan sporopollenin ekzin kapsüllerin (SEC), pasif enkapsülasyon ve ultrases teknolojisi destekli enkapsülasyon ile elde edilen 1:1 ve 1:2 oranlarındaki mikrokapsüllerin mikroskop görüntüleri incelendiğinde, hem normal hem ultrases ile 1:2 oranıyla elde edilen mikrokapsüllerin daha koyu renkli, 1:1 oranıyla elde edilenlerin ise daha açık renkli ve birbirinden ayrı bir şekilde görüldüğü bulgusuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, daha önce pasif enkapsülasyon ve vakum uygulaması yöntemi kullanılarak yapılan SEC ile balık yağı enkapsülasyonu çalışmasını desteklemektedir. Yapılan çalışmada 1:1, 1:4, 1:6 oranlarında örnekler hazırlanmış ve 1:1 oranında olan mikrokapsüller çalışmaya uygun bulunmuştur. Mikroenkapsülasyonda balık yağı oranı arttıkça yapının yapışkan özellikte olduğu görülmüştür. Benzer bulgulara kakao yağı ile yapılan çalışmada da ulaşılmıştır (Barrier ve diğ., 2010).

4.2 Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

4.2.1 Mikroskop Görüntülerinin Alınması

1:1 ve 1:2 oranlarıyla pasif enkapsülasyon ve ultrases teknolojisi destekli enkapsülasyon kullanılarak hazırlanan mikroenkapsüle edilmiş balık yağı örneklerine ve içleri boş olan sporopollenin ekzin kapsüllerine ait, 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülmüş mikroskop görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir.

Elde edilen mikroskop görüntülerinde hem pasif işlemde hem de ultrases teknolojisi kullanımında mikrokapsüllerin dış kısımlarında balık yağı kaldığı görülmektedir. Bu görüntüler, kullanılan her iki enkapsülasyon yönteminin %100 verimle çalışmadığını göstermektedir.



Şekil 4.1: Mikrokapsüllere ait sırasıyla 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülmüş mikroskop görüntüleri a) SEC, b) P 1:1, c) P 1:2, d) US 1:1, e) US 1:2

(P: Pasif; US: Ultrases)

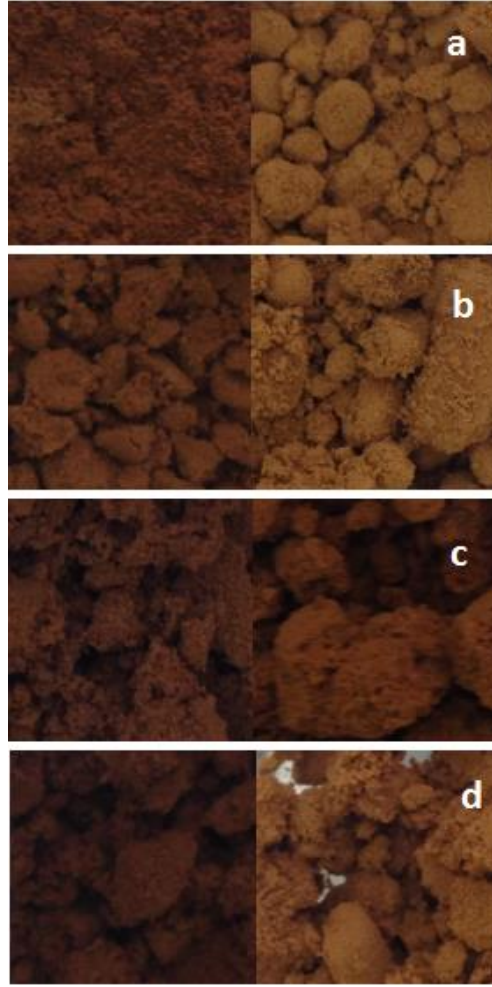
Dr. Barrier (2010)'ın yaptığı çalışmasında uyguladığı vakum enkapsülasyon işleminin %100 verimle gerçekleşmesine yetmemiştir. Buna ek olarak 0.5:1, 1:1, 1:2 ve 1:4 SEC:Balık yağı oranlarında vakum uygulaması ile hazırlanan örneklerin 20 gönüllü panelist ile duyusal analizini gerçekleştirmiştir. Yapılan duyusal testler ve istatistiksel çalışmaların sonucunda 1:2 ve 1:4 oranlarında hazırlanan örnekler en kötü puanlar verilmiş ve istenmeyen balık yağı kokusu ve tadıyla karşılaşılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda vakum uygulamasının 1:2 ve 1:4 oranlarında hazırlanan mikrokapsüllerin enkapsülasyon performansını istenildiği gibi maskeleyici bir etki yapmadığı görülmüştür.

Dr. Barrier (2010) tarafından yapılan çalışmalarda vakum yönteminin de verimi artırmadığı görüldüğünden, bu çalışmada ultrases teknolojisinin verim üzerine ve kapsüllerin morfolojisi üzerine etkisi incelenmiştir.

Yeni bir metot olarak uygulanan ultrases teknolojisinin de vakum uygulamasına benzer olarak duvar materyali olan SEC'in yapısına zarar vermediği mikroskop görüntülerinden anlaşılmaktadır. *Lycopodium clavatum* sporlarını inceleyen çalışmalarda 500 milyon yıldan eski kayaların altında zarar görmeden kalmış spor taneciklerine de rastlandığı görülmektedir (Barrier, 2008). Ultrases yöntemiyle yapılan bu çalışmayla da sporopollenin ekzin kapsüllerinin ultrases dalgalarına karşı dayanıklılığı da görülmüş oldu.

4.3 Elde Edilen Mikrokapsüllerin Stabilitesi

Yeni uygulanan bir yöntem olan ultrases teknolojisinin, enkapsülasyon verimini etkileyip etkilemediğini gözlemlemek için hem pasif enkapsülasyon ile hem de US uygulaması ile hazırlanan mikrokapsüllerde hızlandırılmış stabilite testleri 65°C'de yapılmış olup, 6 günlük periyotlar ile alınan ölçümlerle peroksit, p-anisidin ve toplam oksidasyon değerleri aşağıda açıklandığı şekilde elde edilmiştir. Örneklerin 0. ve 24. günlere ait görüntüleri Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2: Mikrokapsüllerin 0. ve 24. Güne ait fotoğraf görüntüleri

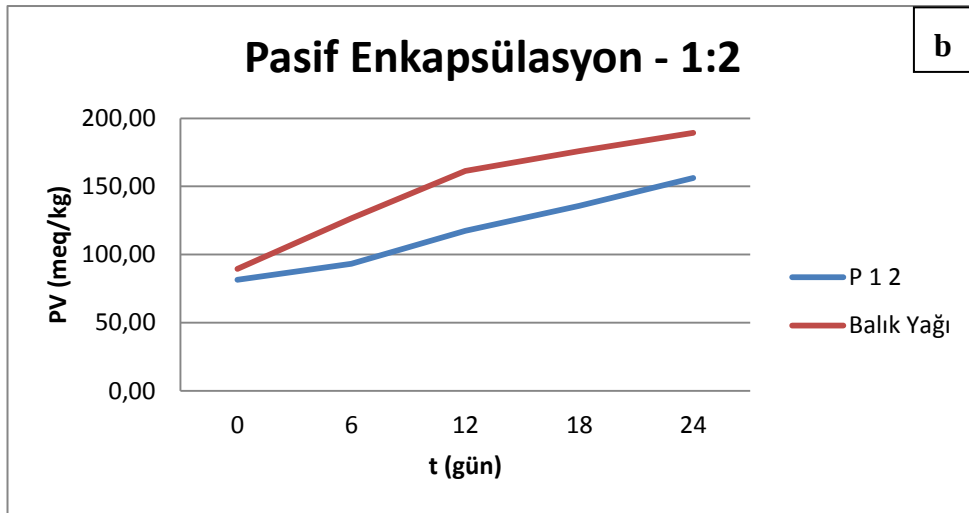
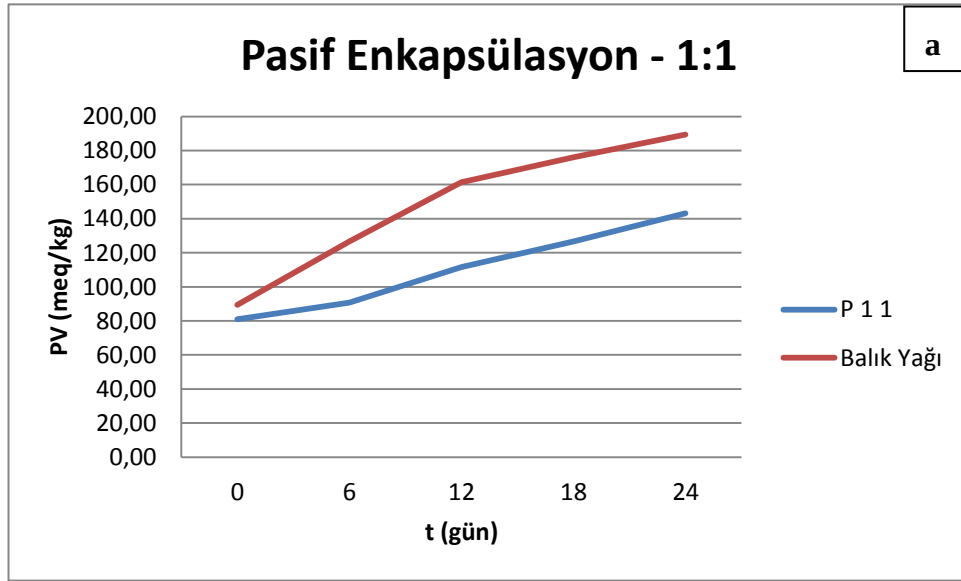
a) P 1:1, b) P 1:2, c) US 1:1, d) US 1:2

4.3.1. Peroksit Sayısı Tayini

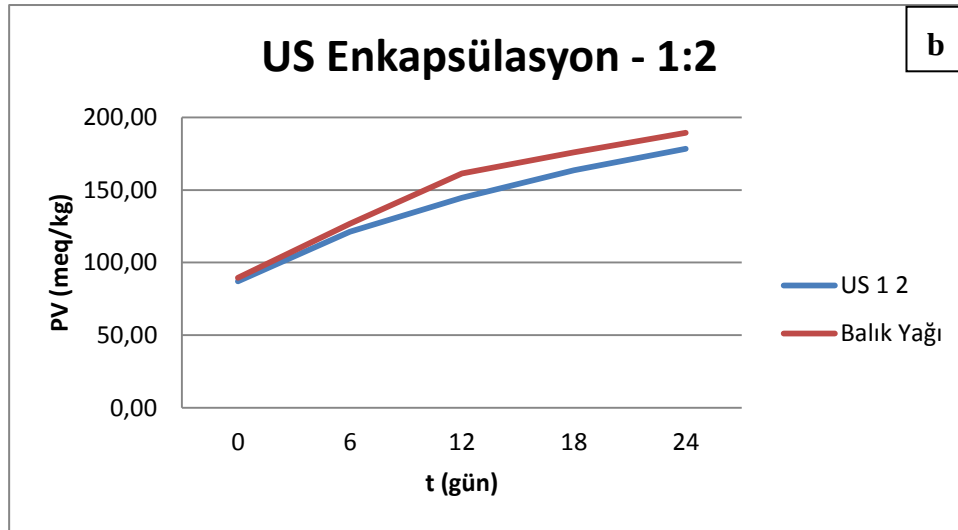
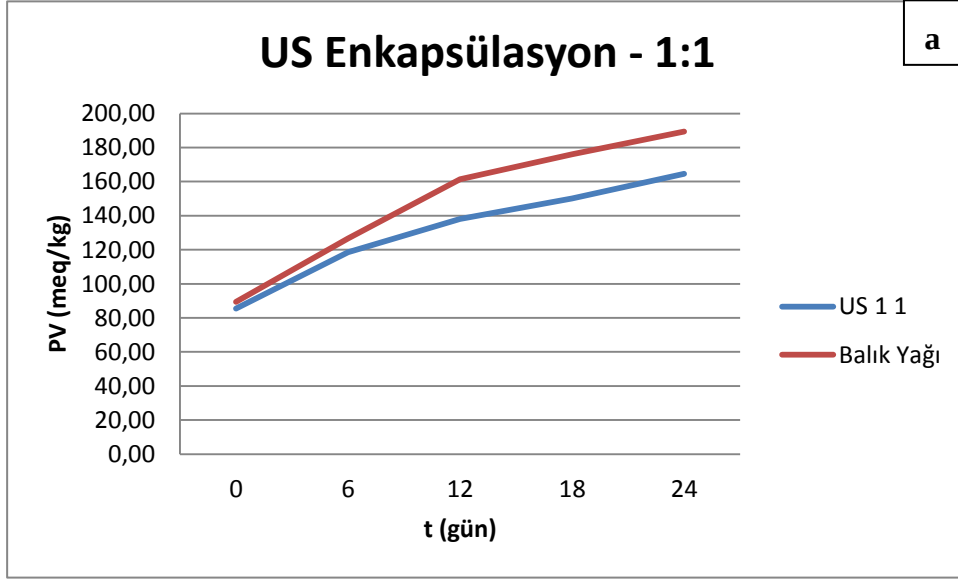
Enkapsülasyonun ardından, 65°C’de 0, 6, 12, 18 ve 24 gün bekledikten sonra yapılan peroksit deneyi sonuçları Çizelge 4.1, Şekil 4.1 ve 4.2’deki gibidir. Deneylere ait sonuçlar incelendiğinde referans olarak kullanılan balık yağının peroksit değerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Pasif enkapsülasyon ile gerçekleşen yöntemin sonuçları incelendiğinde, sonuçların mikroskop görüntülerini destekler nitelikte olduğu görülmektedir. 1:1 ve 1:2 olarak hazırlanan örneklerin 65°C’de 6., 12., 18. ve 24. gün (oda sıcaklığında 6., 12., 18. ve 24. ay) peroksit değerleri kontrole göre daha düşük çıkmıştır. 0. güne göre peroksit değerlerinin artması enkapsüle olmamış balık yağları olduğunun göstergesidir. Ayrıca 1:2 oranındaki kapsüllere ait değerlerin 1:1 oranındakilerden yüksek ama kontrolden düşük çıkması enkapsülasyonun gerçekleştiği ancak 1:1’deki kadar etkin olmadığını düşündürmüştür.

Çizelge 4.1. Depolama sırasında kapsüllerin peroksit değerleri

		0. Gün	6. gün	12. gün	18. gün	24. gün
Yöntem	Oran	PV (meq/kg)	PV (meq/kg)	PV (meq/kg)	PV (meq/kg)	PV (meq/kg)
Kontrol	-	89,4	126,7	161,5	176,0	189,4
Pasif	P 1:1	80,9	90,8	111,6	126,6	143,2
	P 1:2	81,6	93,2	117,4	135,9	156,3
Ultra Ses	US 1:1	85,5	118,5	138,1	150,2	164,7
	US 1:2	87,0	121,2	144,6	163,5	178,2

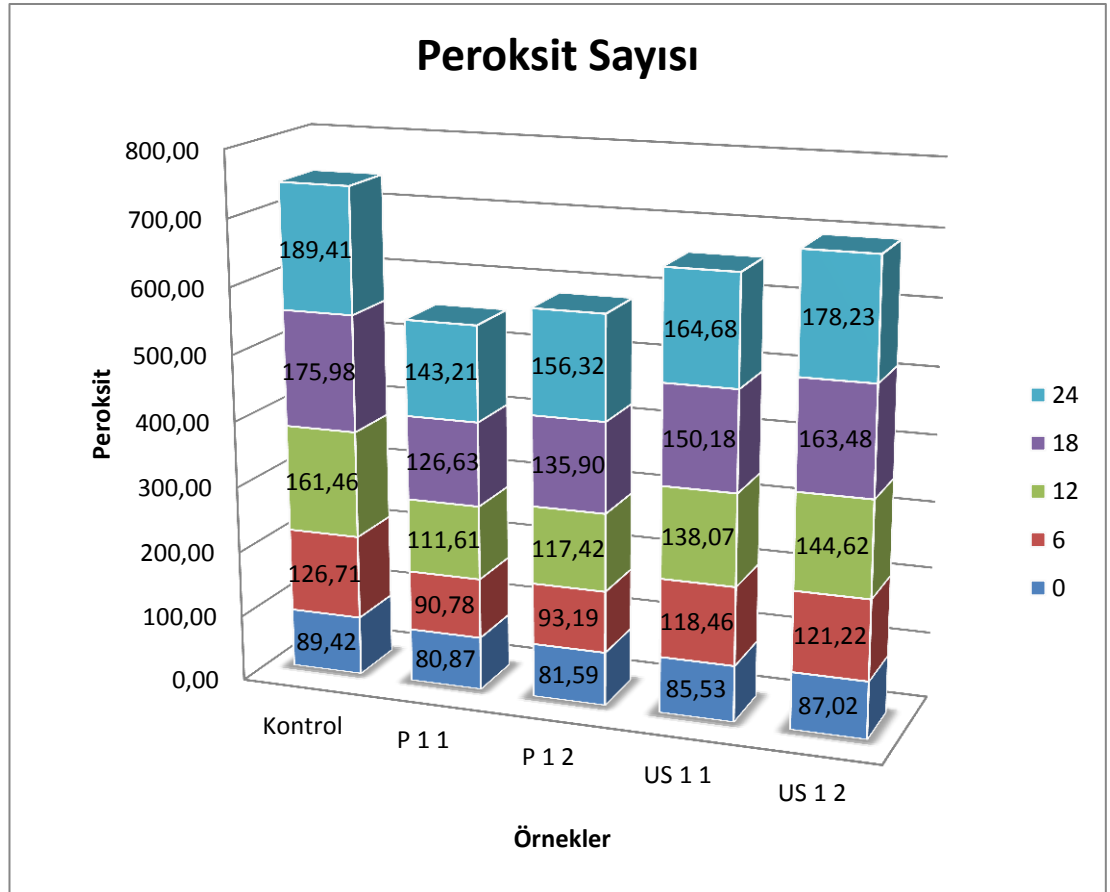


Şekil 4.3: Pasif enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince peroksit değerleri a) 1:1, b) 1:2



Şekil 4.4: Ultrases destekli enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince peroksit değerleri a) 1:1, b) 1:2

65°C’de 12 günlük süre içerisinde, oda sıcaklığında muhafaza edilen balık yağı örneğinin peroksit değerinin % 80, 1:1 oranında pasif enkapsülasyonla kaplanmış balık yağı örneğinin peroksit değerinin %38, 1:2 oranında pasif enkapsülasyonla kaplanmış balık yağı örneğinin peroksit değerinin %43, 1:1 oranında US uygulaması ile enkapsüle edilmiş balık yağı örneğinin peroksit değerinin %61 ve 1:2 oranında US uygulaması ile enkapsüle edilmiş balık yağı örneğinin peroksit değerinin %66 oranında arttığı görülmektedir. Şekil 4.4’de verilen 0’den 24. Güne kadar olan peroksit değerlerine ve elde edilen artış miktarlarına bakıldığında US uygulamasının enkapsülasyon verimini düşürdüğü görülmektedir. US ile hazırlanan mikrokapsüllerin enkapsüle edilmemiş balık yağı kadar yüksek peroksit değerine sahip olmaması, kullanılan balık yağının çok az bir kısmının SEC içerisine alındığını göstermektedir.



Şekil 4.5: Örneklere ait 0-24 günlük peroksit değerleri.

Balık yağının mikroenkapsülasyonu ile ilgili yayınlanan bir çalışmada kaplama (duvar) materyali olarak kitosan (N-stearoyl O-butylglyceryl chitosan) kullanmışlardır. Membran emülsifikasyon ve ultrasonik emülsifikasyon yöntemleri ile elde edilen mikrokapsüllerin morfolojileri, koloidal stabiliteleri, yükleme kapasiteleri ve salınım profilleri karşılaştırıldığında membran emülsifikasyonu ile elde edilen mikrokapsüllerin ultrases ile elde edilenden daha daha büyük bir yarıçapa sahip olduğu; ancak daha yüksek enkapsülasyon etkinliği gösterdiği görülmüştür (Chatterjee & Judeh, 2015).

Chatterjee ve Judeh (2015) yaptıkları diğer bir çalışmada balık yağını N-lauroyl kitosan ile kaplamışlardır ve membran emülsifikasyon yöntemini kullanarak mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda mikrokapsüllerin yükleme kapasitesinin çok yüksek olduğu (%53,5) sonucuna ulaşılmıştır.

2014 yılında yayınlanan bir çalışmada Jeyakumari ve diğ. balık yağı-süt bazlı emülsiyon hazırlanmış ve püskürterek kurutma yöntemini kullanılmışlardır. Duvar materyali olarak ise balık jelatini veya maltodekstrin tercih edilmiştir ve duvar materyali : balık yağı oranı 1:2 olarak seçilmiştir. Çalışma sonucunda enkapsülasyon etkinliğinin %35-49 arasında değiştiği görülmüştür. Elde edilen mikrokapsüllerin oksidatif stabilitesini değerlendirmek için mikrokapsüller vakum pakatleme ile oda sıcaklığında bekletilmişlerdir ve işlem sonucunda balık jelatini ile elde edilen mikrokapsüllerin daha düşük peroksit değerine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca enkapsülasyon işleminden önce doğal antioksidan olan esansiyel yağ eklenmesinin de balık yağının oksidatif stabilitesini arttıracağı belirtilmektedir.

Czerniak ve diğ. (2015) çalışmasında balık yağında meydana gelen oksidasyonu azaltmak için doğal mikrokapsül olarak kabul edilen maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücreleriyle mikroenkapsülasyon uygulaması yapılmıştır. Diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, maya hücreleri ile enkapsülasyon uygulaması çok basit bir yöntem olup ekstra bir materyale ihtiyaç duyulmamaktadır. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda enkapsülasyon etkinliği %90'a kadar yükseltmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin 30 gün boyunca bağıl nemi %70'in altında olan ortamda bekletilmesi sonucunda oksidasyon değerinin sabit kaldığı görülmüştür.

US destekli enkapsülasyon ile elde edilen mikrokapsüllerin peroksit değerleri incelendiğinde hem 1:1 hem de 1:2 oranındaki örneklerin peroksit değerlerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara bakılarak, ultrases teknolojisinin meydana getirmiş olduğu kavitasyonun, balık yağının difüzyonunu desteklemek yerine, SEC içerisine girmesinin önüne geçtiği görülmektedir.

Grieser (2015) ultrases teknolojisinin yüzey temizlemelerinde kullanıldığını belirtmiştir. Ultrases dalgalarının sıvı ortamda yayılması ve oluşan balonların yüzeylere çarpması ile yüzeyde bulunan kontaminantları temizlediği görülmüştür. Grieser (2015) ayrıca bitkilerin kök, yaprak ve çekirdek gibi kısımlarını ayırmada ultrases yönteminin kullanıldığını belirtmiştir. Oluşan kavitasyon balonlarının bitki yüzeyinde basınç oluşturarak ve geçici fiziksel bir etki meydana getirdiği ve ekstraksiyonu arttırdığı görülmüştür.

Silva ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada ultrases yöntemi enkapsülasyon işlemine yardımcı olması için kullanmışlardır. Yağlı tohumlardan elde edilen bitkisel yağların peynir altı suyu izolatu ve modifiye nişasta ile ultrases teknolojisi kullanılarak emülsiyonları oluşturulmuş ve dondurarak kurutma ve püskürterek kurutma yöntemleri ile enkapsülasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda ultrases ile desteklenen emülsiyonların yüksek kinetik stabiliteye sahip olduğu görülmüştür. Kullanılan ultrases dalgasının yoğunluğunun damlacık boyutunu düşürmede pozitif bir etki yapmadığı da çalışmanın sonuçları arasında yer almaktadır.

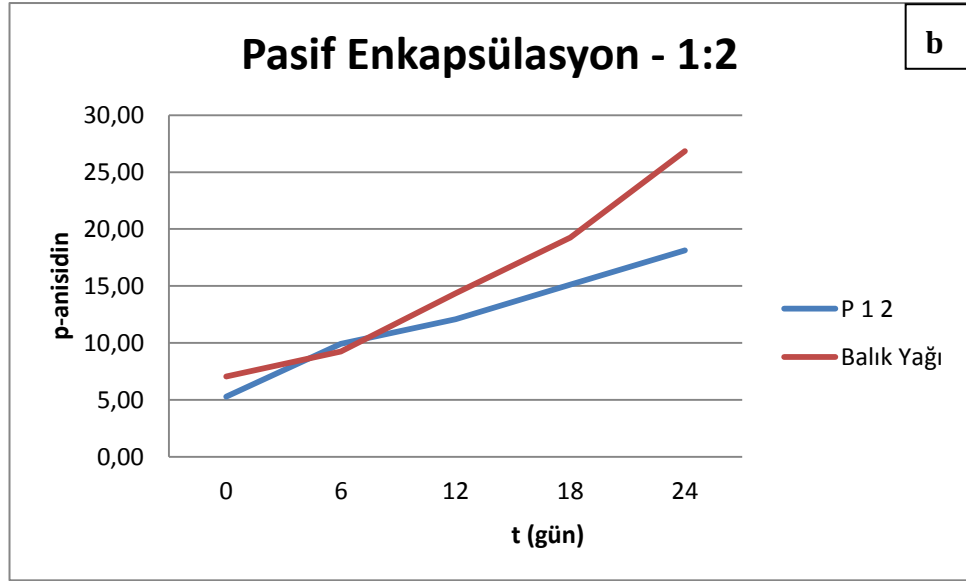
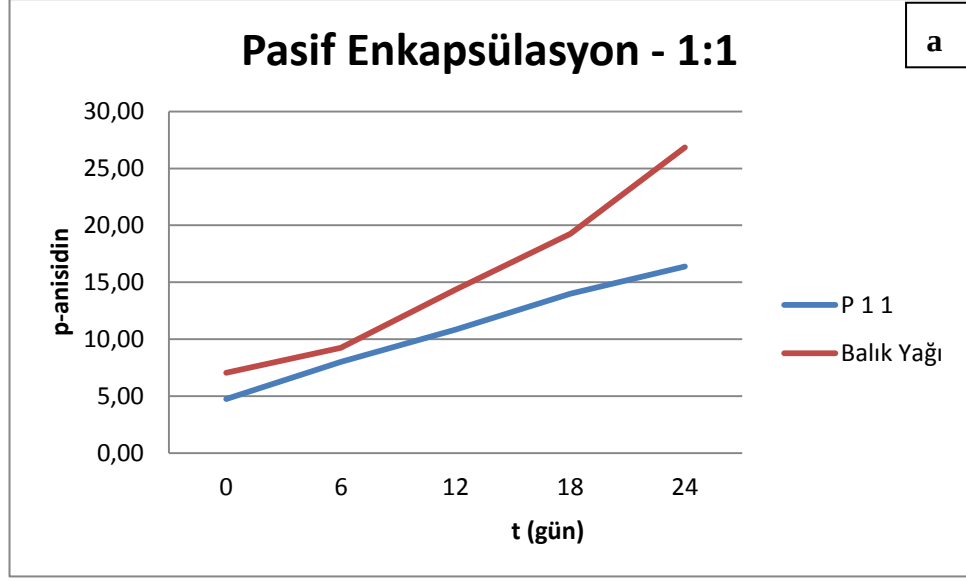
Ultrases teknolojisinin incelendiği diğer bir çalışmada ise Pingret ve diğ. (2012) yağ içeriği yüksek olan gıdalara ultrases uygulamasının nasıl etki ettiğini incelemişlerdir. Çalışma boyunca zeytinyağı, ayçiçeği yağı, soya yağı, kekik yağı, palm yağı ve süt gibi gıdalar belirli frekanslarda ve güçlerde, ultrases probu veya banyosu kullanılarak, belirli bir sıcaklıkta ve 15-40 dk arasında sürelerde ultrases dalgalarına maruz bırakılmışlardır. Bu işlemin ardından gıdaların yağ asidi içerikleri ve oksidasyon seviyeleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kullanılan bütün örneklerin oksidasyon seviyelerinin arttığı, örneklerde kötü kokular meydana geldiği görülmüştür.

4.3.2. p-Anisidin Değeri Tayini

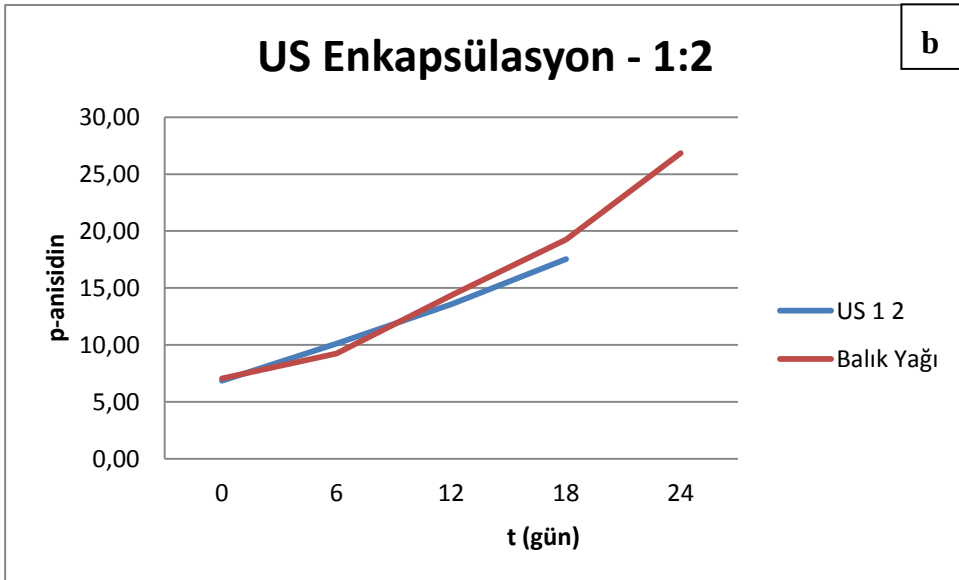
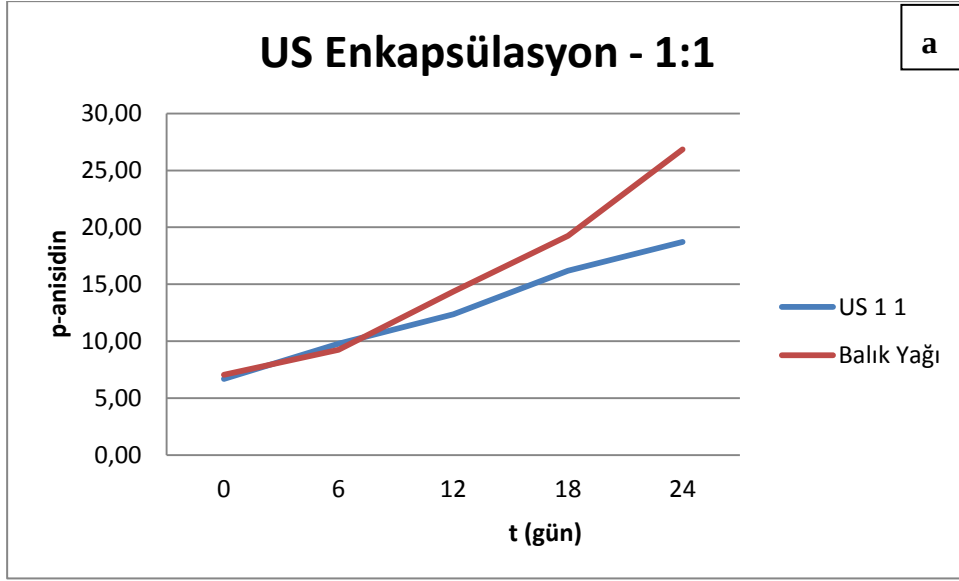
Elde edilen p-anisidin değerleri Çizelge 4.2’de verildiği gibidir. Elde edilen sonuçların peroksit değerleri ile paralel olduğu, referanstan sonra en yüksek p-anisidin değerinin 1:2 oranında US uygulanmış örneğe ait olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ile US teknolojisinin SEC ile mikroenkapsülasyon yöntemi için olumsuz etki yarattığı bir kez daha görülmüştür.

Çizelge 4.2. Depolama sırasında kapsüllerin p-anisidin değerleri

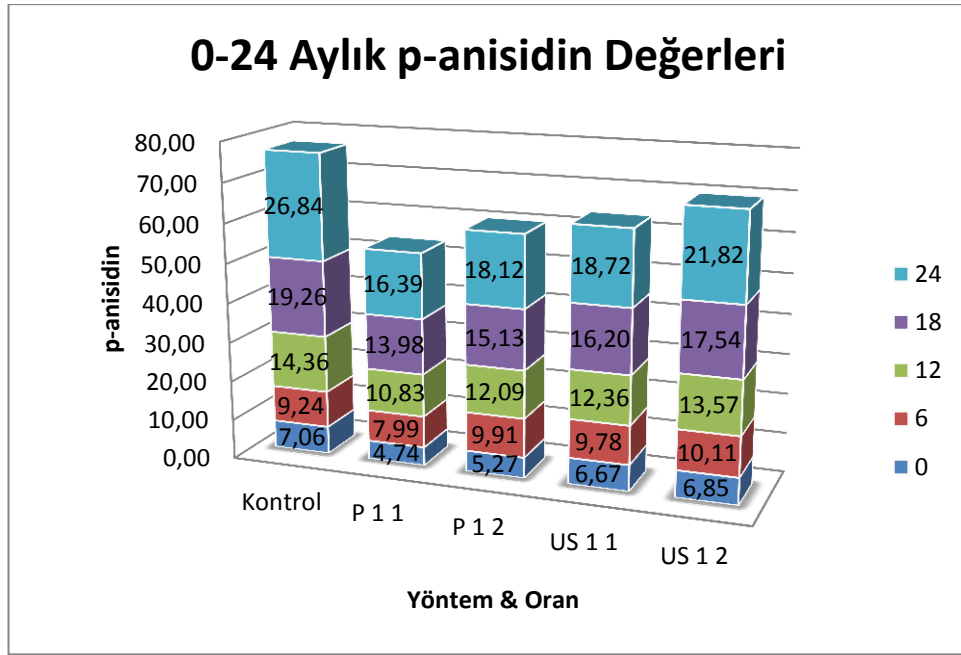
		0. Gün	6. Gün	12. Gün	18. Gün	24. Gün
Yöntem	Oran	p-anisidin	p-anisidin	p-anisidin	p-anisidin	p-anisidin
Kontrol		7,1	9,2	14,4	19,26	26,84
Pasif	P 1 1	4,7	8,0	10,8	13,98	16,39
	P 1 2	5,3	9,9	12,1	15,13	18,12
Ultra Ses	US 1 1	6,7	9,8	12,4	16,20	18,72
	US 1 2	6,9	10,1	13,6	17,54	21,82



Şekil 4.6: Pasif enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince p-anisidin değerleri a) 1:1, b) 1:2



Şekil 4.7: Ultrases destekli enkapsülasyonda elde edilen kapsüllerin depolama süresince p-anisidin değerleri a) 1:1, b) 1:2



Şekil 4.8: Örneklere ait 0-24 günlük p-anisidin değerleri.

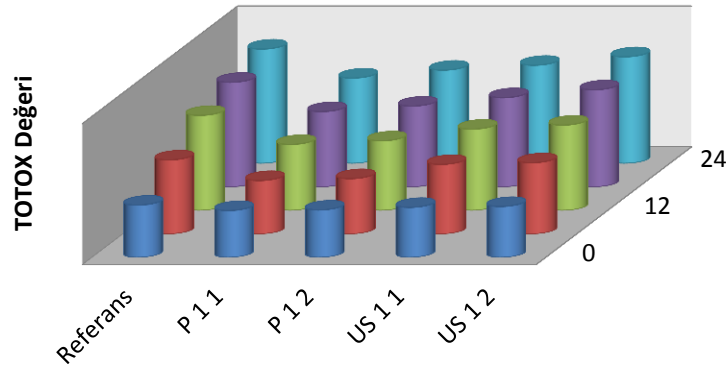
4.3.3. TOTOX Değerinin Hesaplanması

Elde edilen peroksit ve p-anisidin değerleri kullanılarak örneklere ait olan TOTOX değerleri Çizelge 4.3'deki gibidir.

Çizelge 4.3. Örneklere ait 0-24 günlük TOTOX değerleri.

Yöntem	Oran	0.Gün	6. Gün	12. Gün	18. Gün	24. Gün
Balık Yağı	Kontrol	185,9	262,6	337,3	371,2	405,7
	P 1 1	166,5	189,6	234,1	267,2	302,8
Pasif	P 1 2	168,5	196,3	247,0	286,9	330,8
	US 1 1	177,7	246,7	288,5	316,6	348,1
Ultra Ses	US 1 2	180,9	252,6	302,8	344,5	378,3

0-24 Günlük TOTOX Değerleri



Şekil 4.9: Örneklere ait 0-24 aylık TOTOX değerleri.

Her iki yöntemle ve her iki oranda elde edilen mikrokapsüllerin 2 yıllık stabilizasyonu göz önüne alındığında pasif difüzyon yöntemi ile balık yağı stabilitesinin %50'den fazlasının korunduğu ancak ultrases teknolojisinin SEC ile balık yağı enkapsülasyonunda kullanılabilecek uygun bir yöntem olmadığı sonucuna varılmıştır. Ultrases teknolojisinin özellikle kurutma ile enkapsülasyon uygulamalarında stabiliteyi artırdığı ve kapsül boyutları üzerinde çaplarını düşürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Sporopollenin ekzin kapsülleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamış olup, bu çalışmada ultrases teknolojisi uygulamasının verim ve stabiliteye etkisinin olmadığı görülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Toplumsal bilincin artması ve yaşam şartlarının değişmesi ile birlikte tüketicilerin balık yağına verdiği önem de artmıştır. Bu nedenle, balık yağının kötü kokusunun engellenmesine ve uzun ömürlü olmasına duyulan ihtiyaçta da artış olmuştur. Son zamanlarda insanlar arasında yaygınlaşan doğal gıda tüketimine yönelimin de artmasıyla, araştırmacılar balık yağı enkapsülasyonunda mikro boyutlarda olan bitki sporlarını kullanmaya başlamışlardır.

Bu çalışmada, beyin gelişimi ve kalp rahatsızlarından korunmada büyük rol oynayan balık yağının bitkilerden elde edilen sporlar ile nasıl enkapsüle edildiği, işlem sırasında ultrases teknolojisi uygulanmasının hedeflenen maksimum enkapsülasyon etkinliğini nasıl değiştirdiği araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında, alabalık yağı örneği ve kurtpençesi bitkisine ait sporlardan elde edilen sporopollenin ekzin kapsüller kullanılmıştır. İlk olarak, literatürden yola çıkarak pasif enkapsülasyon ile üretilen mikrokapsüller hazırlanmıştır. Daha sonra yeni metot olarak geliştirilen ultrases teknolojisinin uygulandığı mikrokapsüller üzerinde çalışılmıştır. SEC – balık yağı karışımları 15 dakika boyunca 60 Hz frekansındaki ultrases dalgalarına maruz bırakılmıştır. Hem pasif hem de ultrases teknolojisinin kullanıldığı enkapsülasyon yöntemleri için 1:1 ve 1:2 oranlarında SEC:balık yağı örnekleri hazırlanmıştır.

Hazırlanan örneklerin mikroskop altında 10, 20, 40 ve 100 kat büyütülmüş görüntüleri alınmış ve balık yağının etkin olarak SEC içine yerleşip yerleşmediği kontrol edilmiştir. Ancak elde edilen görüntülerde her iki yöntemle hazırlanmış hem 1:1 hem 1:2 örneklerin balık yağının tamamen enkapsüle olmadığı gözlemlenmiştir.

%100 performansla gerçekleşmediği görünen ultrases uygulamasının enkapsülasyon üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla numuneler, hızlandırılmış stabilite testine tabii tutulmuştur. Uygulanan stabilite testinde yağ örneklerinin 65 °C’de 1 gün bekletilmesi, oda sıcaklığında 1 ay bekletilmesine denk gelmektedir. Bu nedenle 2

yıllık değişimi gözlemlemek amacıyla örneklerin 0., 6., 12., 18. ve 24. günlerinde etüvden örnekler alınarak ve yağ oksidasyonundaki değişimleri gözlemlemek için peroksit ve p-anisidin analizleri yapılmış ve toplam oksidasyon değeri hesaplanmıştır.

Analiz sonuçlarına göre peroksit ve p-anisidin değerleri 0. günden 24. güne gittikçe artan bir eğilim göstermektedir. Bu durum mikroskop görüntülerinde de görünen, enkapsüle olmamış balık yağları olduğunun kanıtı olmuştur.

Kontrol örneği olarak enkapsüle edilmemiş balık yağının oksidasyon değerleri, diğer iki yöntemle elde edilen kapsüllerinkinden çok daha fazla çıkmıştır. Bu sonuç SEC ile enkapsülasyonun gerçekteştiğinin, mikroskopta görünen yağ damlalarının numuneler hazırlanırken kullanılan yağın tamamı olmadığının göstergesidir.

Enkapsülasyon etkinliğini arttırmak için uygulanan ultrases yöntemi ile hazırlanmış numunelerin oksidasyon değerleri, pasif enkapsülasyonla hazırlananlara göre daha yüksek çıkmıştır. Elde edilen sonuçlar, her ne kadar kontrol balık yağınıninkinden düşük olsa da pasif enkapsülasyonla hazırlanan örneklerinki oldukça yüksek çıkmıştır. Bu durum ultrases uygulamasının çok az da olsa enkapsülasyona izin verdiğini ancak enkapsülasyon verimini artırmadığı için serbest halde daha fazla balık yağı kaldığından dolayı stabilitesinin daha düşük olduğu görölmüştür. Enkapsülasyon sırasında balık yağı ve ekzin duvarda bulunan lipofilik porlar arasında oluşan çekim kuvvetinin US uygulanması sırasında engellendiği düşünölmektedir.

Ultrases teknolojisi ile yapılan araştırmalar göz önüne alındığında yağın porlar içine difüzyonunun engellenmesine ya da oksidasyon değerlerinin artmasına neden olabilecek iki durum ön görölebilir:

1. US yöntemi ile açığa çıkan kavitasyon balonlarının yüzeylede yarattığı güçlü etki balık yağının SEC içine difüze olmasını engellemiş olabilir. SEC taneciklerinin lipofilik porları ile yağ damlalarının arasına giren kavitasyon balonlarının bariyer oluşturup difüzyonu engellediği söylenebilir.
2. Elde edilen oksidasyon değerlerinin yüksek çıkmasının bir diğer nedeni ise uygulanan ultrases dalgalarının yağın yapısına zarar vermesi ve 15 dakikalık uygulama süresi içerisinde düfüzyon başlamadan ve difüzyon devam ederken örneğin oksidasyon değerini arttırmış olması olabilir.

Bu çalışmada, tüketicilerin kullanımlarına uygun olabilecek, balık yağının sporopollenin ekzin kapsül ile enkapsülasyonu üzerine çalışılmış, bu enkapsülasyon işlemini arttırması için ultrases uygulaması yapılmıştır. Ancak elde edilen deneysel verilerin ışığında, kullanılan frekans ve sürenin enkapsülasyonu arttırmak yerine azalttığı görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen verilerin yardımıyla daha sonraki çalışmalarda, farklı ultrases frekansları ve farklı işlem süreleri kullanılarak enkapsülasyonun optimum olabileceği koşullar ile ilgili yeni çalışmalar yapılabilir. Ayrıca elde edilen kapsüllerin özelliklerinin belirlenmesi sırasında eğitimli panelistler ile duyuşal panel çalışmalarının eklenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Açu, M.** 2014. Non-thermal new methods and their effects on microorganisms. *Journal of Food and Feed Science – Technology*,14, 23-35.
- Alarcon-Rojo, A.D.** 2015. Power ultrasound in meat processing. *Meat Science*, 107, 86-93.
- Anonim.** (t.y.). Gıda Endüstrisinde Ultrason Kullanımı. Alındığı tarih: 27.04.2016, adres:
http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/meyve_ve_sebze_muhafazasinda_yeni_teknolojiler.pdf
- AOCS.** 2009. p-Aniside value. *AOCS Official Method Cd 18-90*.
- AOCS.** 2009. Peroxide value acetic acid-isooctane method. *AOCS Official Method Cd 8b-90*.
- Barrier, S.** 2008. Physical and chemical properties of sporopollenin exine particles. Doctorate Thesis of Philosophy, University of Hull.
- Barrier, S.** 2010. Viability of plant spore exine capsules for microencapsulation *Journal of Materials Chemistry*.
- Beckett, S., Mackenzie, G.** 2010. Using nature to preserve fish oil. *Chemistry Review*, 20, 10-13.
- Carcel, J.A., Garcia-Perez, J.V., Benedito, J. ve Mulet, A.** 2011. Food process innovaiton through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110, 200-207.
- 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.
- Chatterjee, S., Judeh,Z.M.A.** 2015a. Encapsulation of fish oil with N-stearoyl O-butylglyceryl chitosanusing membrane and ultrasonic emulsification processes. *Carbohydrate Polymers*, 123, 432–442.
- Chatterjee, S., Judeh,Z.M.A.** 2015a. Impact of encapsulation on the physicochemical properties and gastrointestinal stability of fish oil. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 206-213.
- Chemat, F., Huma, Z., ve Khan, M.K.** 2010. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemisrty*, 18, 813-835.

- Chen, Q., McGillivray, D., Wen, J., Zhong, F. and Quek, S.Y.** 2013. Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*, 117, 506-512.
- Czerniak, A., Kubiak, P., Białas, W. and Jankowski, T.** 2015. Improvement of oxidative stability of menhaden fish oil by microencapsulation within biocapsules formed of yeast cells. *Journal of Food Engineering*, 167, 2-11.
- Diego-Taboada, A., Beckett, S.T., Atkin, S.L. ve Mackenzie, G.** 2014. Hollow Pollen Shells to Enhance Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 6, 80-96.
- Diego-Taboada, A., Maillet, L., Banoub, J.H., Lorch, M., Rigby, A.S., Boa, A.S., Atkin, S.L. ve Mackenzie, G.** 2012. Protein free microcapsules obtained from plant spores as a model for drug delivery: ibuprofen encapsulation, release and taste masking. *Journal Of Materials Chemistry B*, 1, 707-713.
- Dominguez, E., Mercado, J.A., Quesada, M. ve Heredia, A.** 1999. Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation. *Sex Plant Reprod*, 12, 171-178.
- Dubey, R., Shami, T.C. and Rao, K.U.B.** 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*, 59 (1), 82-95.
- EFSA.** 2012. Scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA), EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal*, 10(7):2815.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M.N., Dumoulin, E.** 2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75, 27-35.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sariçoban, C.** 2012. Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.
- Grieser, F.** 2015. Ultrasound in heterogeneous systems and applications in food processing. *Sonochemistry and the Acoustic Bubble*, ss. 251- 276.
- Jeyakumari, A., Kothari, D. C. and Venkateshwarlu, G.** 2014. Microencapsulation of fish oil-milk based emulsion by spray drying: Impact on oxidative stability. *Fishery Technology*, 51, 31 – 37.
- Jiménez-Martín, E., Gharsallaoui, A., Pérez-Palacios, T., Carrascal, J.R. and Rojas, T.A.** 2015. Volatile compounds and physicochemical characteristics during storage of microcapsules from different fish oil emulsions. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 52-64.
- Karaca, A. C.** 2012. Encapsulation of flaxseed oil using plant proteins. Doctorate Thesis of Philosophy, Department of Food and Bioproduct Sciences University of Saskatchewan Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C.J. and Adhikari, B.** 2014. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of

- microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, 19, 868-881.
- Klaypradit, W. and Klaypradit, Y.** 2008. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT*, 41, 1133-1139.
- Koç, M., Sakin, M. ve Kaymak-Ertekin, F.** 2009. Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (1), 77-86.
- Konukoğlu, D.** 2008. Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin özellikleri, etkileri ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkileri. *Türk Aile Hekimleri Dergisi*, 12, 121-129.
- Leong, T.S.H., Martin, G.J.O. ve Ashokkumar, M.** 2015. Ultrasonic encapsulationns – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*.
- Liao, L., Luoa, Y., Zhao, M. and Wang, Q.** 2012. Preparation and characterization of succinic acid deamidated wheat gluten microspheres for encapsulation of fish oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 92, 305– 314.
- Mason, T., Riera, E., Vercet, A. ve Lopez-Buesa, P.** 2005. Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review. *Application of Ultrasound*, ss. 323-351.
- McClements, J.D.** 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. ss. 293-299.
- Moigradean, D., Poiana, M. and Gogoasa, I.** 2012. Quality characteristics and oxidative stability of coconut oil during storage. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18 (4), 272-276.
- Nash, S.M.B., Schlabach, M. ve Nichols, P.** 2014. A Nutritional-Toxicological assessment of antarctic krill oil versus fish oil dietary supplements. *Nutrients*, 6, 3382-3402.
- Nasopoulou, C. ve Zabetakis, I.** 2011. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. *LWT – Food Science and Technology*, 47, 217-224.
- Nickerson, M., Yan, C., Cloutier, S. and Zhang, W.** 2014. Protection and masking of omega-3 and -6 oils via microencapsulation. *Microencapsulation in the Food Industry*, ss. 485-500.
- Pak, C.S., ve Province, K.** 2005. Stability and quality of fish oil during typical domestic application. *Fisheries Training Programme*, ss. 4-27.
- Patch, C.S. ve Brown, I.I.** 2008. Long-chain omega-3 PUFAs and their role in healthy ageing. *Faculty of Health and Behavioural Sciences – Papers (Archive)*, ss. 14-16.
- Pedroza, A.A.S., Lopes, A., Silva, R.F.M., Braz, G.R., Nascimento, L.P., Ferreira, D.S., Santos, A.A., Hornsby, M.B.O. ve Lagranha, C.J.** 2015. Can fish oil supplementation and physical training improve oxidative metabolism in aged rat hearts? *Life Sciences*, 137, 133-141.

- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. ve Chemat, F.** 2012. Degradation during application of ultrasound in food processing. *Food Control*, 31, 593-606.
- Rojas, M.L., Letie, T.S., Cristianini, M., Alvim, I.D. ve Augusto, P.E.D.** 2016. Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22–33.
- Sargın, İ. ve Arslan, G.** 2015. Chitosan/sporopollenin microcapsules: Preparation, characterisation and application in heavy metal removal. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 230–238.
- Sayın, L. ve Tamer, C.E.** 2014. Yüksek Hidrostatik Basınç ve Ultrasonun Gıda Koruma Yöntemi Olarak Kullanımı. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 28, Sayı 1, ss. 83–94.
- Shekhar, K., Madhu, M.N., Pradeep, B. and Banji, D.** 2010. A Review on microencapsulation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(2), 58-62.
- Silva, E.K, Azevedo, V.M., Cunha, R.L., Hubinger, M.D. ve Meireles, M.A.A.** 2015. Ultrasound-assited encapsulation of annatto seed oil: Whey protein isolate versus modified starch. *Food Hydrocolloids*, 56, 71-83.
- Souza, S.P., Bassut, J., Marquez, H.V., Junior, I.I., Miranda, L.S.M., Huang, Y., Mackenzie, G., Boa, A.N. ve Souza, R.O.M.A.** 2015. Sporopollenin as an efficient green support for covalent immobilization of a lipase. *Catalysis Science & Technology*, 5, 3130-3136.
- Sri, J., Seethadevi, A., Prabha, K.S., Muthuprasanna, P. and Pavitra, P.** 2012. Microencapsulation: A Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1), 509-531.
- Tüfekçi, S. ve Özkal, S.G.** 2015. Gıdaların kurutulmasında ultrases kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(9), 408-413.
- Umer, H., Nigam, H., Tamboli, A.M. and Nainar, M.S.M.** 2011. Microencapsulation: Process, techniques and applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(2), 474-481.
- Ünal, E. ve Erginkaya, Z.** 2010. Probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonu. *Gıda*, 35 (4), 297-304.
- Vandamme, J., Nikiforov, A., Dujardin, K., Leys, C., Cooman, L. ve Durme, J.V.** 2015. Critical evaluation of non-thermal plasma as an innovative accelerated lipid oxidation technique in fish oil. *Food Research International*, 72, 115–125.
- Venkatesan, P., Manavalan, R. and Valliappan, K.** 2009. Microencapsulation: A vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1 (4), 26-35.
- Wang, H., Liu, F., Yang, L., Zu, Y., Wang, H., Qu, S. ve Zhang, Y.** 2011. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid

compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128, 93–99.

- Węsiwicz, E., Gramza, A., Hes, M., Jelen, H.H., Korczak, J., Malecka, M., Mildner-Szkudlarz, S., Rudzinska, M., Samotyha, U. ve Zawirska-Wojtasiak, R.** 2004. Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13/54, 87-100.
- Yi, T., Li, S., Fan, J., Fan, L., Zhang, Z., Luo, P., Zhang, X., Wang, J., Zhu, L., Zhao, Z. ve Chen, H.** 2014. Comparative analysis of EPA and DHA in fish oil nutritional capsules by GC-MS. *Lipids in Health and Disease*, ss. 13-190.
- Yüksel, F.** 2013. Gıda teknolojisinde ultrases uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt: 8, No: 2, ss. 29-38.
- Zhang, Z., Decker, E.A. and McClements, D.J.** 2014. Encapsulation, protection, and release of polyunsaturated lipids using biopolymer-based hydrogel particles. *Food Research International*, 64, 520-526.
- Zuidam, N. J. ve Shimoni, E.** 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, Chapter 2, pp. 3-26.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad : Nurçipek DEDETAŞ
Doğum Yeri ve Tarihi : Kadıköy (İSTANBUL) / 09.04.1990
E-Posta : nurcicekdedetas@gmail.com
ÖĞRENİM DURUMU:
Lisans : İstanbul Teknik Üniversitesi
Kimya (2008-2013)

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Kalite Mühendisi : MEY Alkollü İçkiler (Aralık 2015-Temmuz 2016)