

NANE UÇUCU YAĞININ ENKAPSÜLASYONU İÇİN ZEİN-KAZEİN MİKROKAPSÜLLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

İncilay GÖKBULUT *

Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

ÖZET

Bu çalışma, yaygın olarak kullanılan nane uçucu yağının zeine farklı oranlarda kazein ilave edilerek hazırlanan zein-kazein kompleksi ile mikroenkapsülasyonu ve elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği ve salım özelliklerinin incelenmesini içermektedir. Sadece zein kullanılarak hazırlanan mikrokapsüller ile zein-kazein kompleksi ile hazırlanan mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği ve salım düzeyleri kıyaslanmıştır. Zein ve kazeinin yapısında bulunan aminoasitlerin hidrofilik/hidrofobik özellikleri sayesinde apolar yapıdaki nane uçucu yağının mikroenkapsülasyonu ile enkapsülasyon etkinliği artış göstermiştir. Nane uçucu yağı mikroenkapsülasyonu için zein kaplama materyaline %1, %3, %5, %7, %9, %11, %13 ve %15 oranlarında kazein ilavesi gerçekleştirilmiştir. Zeine farklı oranlardaki kazein ilavesi ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği en yüksek %54.66±3.76 olarak %13'lük zein-kazein formülasyonu ile sağlanırken, sadece zein kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği % 46.84±0.22 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca salım hızı testinde nane uçucu yağının mikrokapsüllerden salımı 9. günün sonunda sadece zein kullanılarak hazırlanan mikrokapsüllerinde % 64.27±3.48 olarak, zein-kazein mikrokapsüllerinde ise % 37.86±2.73 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zein, Kazein, Nane uçucu yağı, Mikroenkapsülasyon

DEVELOPMENT OF ZEIN-CASEIN MICROCAPSULES FOR ENCAPSULATION OF MINT ESSENTIAL OIL

ABSTRACT

This study is about to microencapsulation of mint essential oil prepared using casein added at different ratios to zein and determination of efficiency effect and release properties of obtained microcapsules. The encapsulation efficiency and release levels of microcapsules prepared using zein and casein-zein complex are compared. Due to the hydrophilic / hydrophobic properties of the amino acids in the structure of zein and casein, the encapsulation efficiency of microencapsulation of mint volatile oil in the apolar structure has increased. For the microencapsulation of mint volatile oil, casein was added at ratios of 1%, 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15% to zein. The highest encapsulation efficiency value was 54.66 ± 3.76% with 13% casein-zein formulation. The encapsulation efficiency value of microcapsules obtained by using only zein was 46.84 ± 0.22%. In addition, in the release rate test, release of mint volatile oil from microcapsules was determined as 64.27 ± 3.48% at the end of the ninth day in microcapsules obtained by using only zein. The release rate of the microcapsules zein-casein was determined as 37.86 ± 2.73%.

Keywords: Zein, Casein, Mint essential oil, Microencapsulation

1. GİRİŞ

Uçucu yağlar, aromatik bitkilerde bulunan, güçlü kokularıyla bilinen, doğal, uçucu ve kompleks bileşikler olup, bitkilerden buhar ya da su distilasyonu ile elde edilen bileşenlerdir [1,2]. Son yıllarda gıda üretici ve tüketicileri oksidasyon ve mikrobiyal aktivitelerden gıdaları korumak amacıyla, sentetik kimyasalların yerine, doğal koruyucuları (bitki ekstreleri, uçucu yağları veya saf halde bileşenlerini) tercih etmektedirler [3]. Nane (*Mentha* türleri), uçucu yağının değerli olması nedeniyle, birçok ülkede ticari olarak tarımı yapılmakta olan bir bitkidir. Mevsim ve çeşide bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilen nane uçucu yağının bileşiminde, oksijenli monoterpener sınıfından menton (*Mentha piperita*), mentol (*Mentha arvensis*) ve karvon (*Mentha spicata*) majör bileşen olarak tespit edilmiştir [4]. Çeşitli nane türlerinden elde edilen uçucu yağlarda yer alan bu bileşenlerden pek çoğunun antimikrobiyal,

*Sorumlu Yazar: incilay.gokbulut@inonu.edu.tr

antioksidan, radikal süpürücü ve sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [5-6]. Nane uçucu yağında bulunan bileşenler, işleme ve depolama esnasında bozunuma uğrarlar ve nane yağı duyuşal özelliklerinde bazı istenmeyen değışiklikler meydana gelir. Nane uçucu yağının suda çözünürlüğünün az olması, kararlı bir dispersiyon oluşumunu sınırlandırır. Nane uçucu yağı içeren ürünlerin stabilitesini arttırmak için en iyi seçenek mikroenkapsülasyon yöntemidir [7]. Mikroenkapsülasyon; belirli koşullar altında, küçük katı partiküllerin, sıvı ya da gaz damlacıkların tutuklanmasına dayanan ve kontrollü bir salım sağlayan fiziksel bir tutuklama yöntemi olarak tanımlanır [8-9]. Uçucu yağların bir katman ile kaplanarak uçuculuklarının geciktirilmesi ve bu sayede içerisinde bulunan bileşenlerin korunmasına yönelik girişimler son yıllarda dikkat çekmektedir. Mikro kapsül formdaki uçucu yağların, gıdada bulunan diğer bileşenlerle daha az etkileşime girerek, daha uzun bir stabilite gösterdikleri, ayrıca antioksidan etkili uçucu yağların mikrokapsül formuna dönüştürülmesiyle etkinliklerinin arttığı da yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [10]. Uçucu yağların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda; nane türlerinden elde edilen uçucu yağ ve çeşitli ekstraktlarının ve içeriğinde yer alan başlıca bileşenlerden bazılarının antimikrobiyal, antioksidan, radikal süpürücü ve sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [11].

Mısır prolamini olan zein, amfifilik yapısı, etanol-su ikili karışımlarında kendiliğinden mikroküreler oluşturma özelliği, biyo-parçalanabilir olması ve GRAS (Generally Recognized as Safe- Genellikle Güvenli Kabul Edilir) listesinde yer almasından dolayı son yıllarda nano ve mikrokapsül üretiminde kullanılan materyaller arasında dikkat çekmektedir. Gıda endüstrisinde zein yüksek hidrofobisiteye sahip olması nedeniyle lipofilik merkez materyallerin korunmasında, taşınmasında, kontrollü salımında yani mikroenkapsülasyonunda başarı ile kullanılabilir [12-13].

Süt proteinlerinin yaklaşık %80'ini oluşturan kazein fosfolipid yapısında bir protein olup, 2/3'ünü oluşturan karbon ucu (N-terminal) hidrofobik iken, 1/3'nü oluşturan karbon ucu (C-terminal) güçlü derecede hidrofildir [14]. Bu yapısal özellik kazein misellerinin stabilitesi ve özellikleri açısından çok önemlidir. Bu sayede emülsiyon yapılarında kazein molekülünün kullanımı güçlü kapsül yapılarının oluşumunu sağlayabilecektir.

Bu çalışmada nane uçucu yağının mikroenkapsülasyonu, zein kaplama materyali kullanımıyla ve emülsiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Zein, uçucu yağların mikroenkapsülasyonunda yaygın kullanılan, protein yapısında zayıf bir emülgatördür. Elde edilen mikrokapsül yapısının güçlendirilmesi ve yapının emülsiyon kararlılığının artırılması amacıyla, yüksek yüzey aktif özelliğe sahip olduğu bilinen kazein farklı oranlarda zeine ilave edilmiştir. Zeine farklı oranlarda kazein ilave edilerek oluşturulan mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği değerlerinin arttırılabileceği ve daha kararlı yapıların oluşturulabileceği öngörülmüştür.

2. MATERYAL METOD

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan nane (*Mentha spicata*) yerel bir marketten alınmış ve nane uçucu yağı Clevenger aparatı kullanılarak 3 saatlik bir sürede su distilasyonu yöntemi ile elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan zein Acros Organics firmasından, kazein, fosfat tamponu (PBS) Pan Biotcech GmbH firmasından, Etanol Carlo Erba Group, Etil asetat, silikon yağı DPPH• (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), Trolox, Bütillenmiş Hidroksi Anisol, D-carvone, Sigma Aldrich firmasından firmasından temin edilmiştir.

2.2. Metod

Mikrokapsül üretimi

Çalışmada kuru nane bitkisinden Clevenger düzeneğinde su distilasyonu yöntemi ile nane uçucu yağ elde edilmiştir.

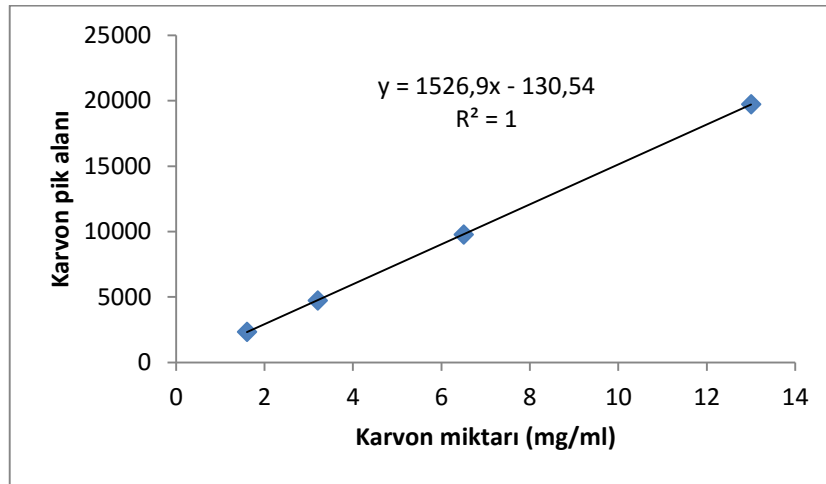
Nane uçucu yağının mikroenkapsülasyonu, Parris ve ark. (2005) tarafından uygulandığı şekilde emülsiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir [10]. Mikrokapsül üretimi için zein kaplama materyaline %1, %3, %5, %7, %9, %11, %13 ve %15 oranlarında kazein ilave edilmiştir. Mikrokapsül üretiminde 250 mg nane uçucu yağı, 1.0g zein, 0.13mg kazein, 15 mL %85 etanol içerisinde çözündürülmüştür. Elde edilen solüsyona %0.01 silikon yağı içeren 40 mL saf su ilave edilmiş tek bir faz oluşuncaya kadar homojenize edilmiş, 1000 rpm'de 2dk'lık santrifüjün ardından, oluşan süpernatant uzaklaştırılmış ve örnek liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuştur (*zein-kazein-nane*). Aynı işlemler kazein ilavesi yapılmadan tekrarlanmış (*zein-nane*) ve elde edilen toz mikrokapsüller kullanılıncaya kadar hava geçirmez kaplarda +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

Enkapsülasyon Etkinliği

Mikrokapsüllerde hapsedilen ve salınan nane uçucu yağ miktarları gaz kromatografisi (GC-FID) kullanılarak belirlenmiştir. Gaz kromatografisi analizinde Agilent 7890A kapiler kolon (TRB-WAX, TR-140232; 30 m× 0.25 mm i.d, 0.25 µm; Teknokroma, Barselona, İspanya) kolon, oto enjektör (Agilent 7683B), alev iyonizasyon dedektörü (Flame Ionization Detector (FID)) kullanılmış ve splitless modda çalışılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 200°C, detektör sıcaklığı 270 °C, kolon sıcaklığı 260°C olup, taşıyıcı gaz He (30mL/dk) olarak belirlenmiştir. Belirtilen koşullar kullanılarak GC' de analiz gerçekleştirilerek nane uçucu yağının majör bileşeni karvon olarak tespit edilmiş ve karvon standartı kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Şekil 1'de karvon standartının farklı konsantrasyonları ile oluşturulan kalibrasyon grafiği gösterilmektedir.

Mikrokapsüllerde bulunan majör bileşenin (karvon) pik alanı, kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem kullanılarak mg'a dönüştürülmüştür ($R^2= 1$). Şekil 1'de karvon standartının farklı konsantrasyonları ile oluşturulan kalibrasyon grafiği gösterilmiştir. Karvonun mg olarak belirlenen miktarı, GC verilerinden yararlanılarak uçucu yağ olarak ifade edilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiş ve % olarak ifade edilmiştir [15].

$$\% \text{ Enkapsülasyon etkinliği} = \frac{\text{Deneysel olarak tespit edilen toplam uçucu yağ miktarı (g / g toz)}}{\text{Teorik olarak yüklenen uçucu yağ miktarı (g/g toz)}} \times 100$$



Şekil 1. Karvon standartının farklı konsantrasyonları ile oluşturulan kalibrasyon grafiği

Kapsül Morfolojisi

Elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojilerindeki değişiklik ve partikül boyut dağılımları Quispe-Condori ve ark. (2011) uyguladığı yöntemle göre Scanning Electron Microscopy (SEM) ile belirlenmiştir [16].

Salım Hızı

Salım hızı testi Luo ve ark. uyguladığı yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir [17]. Nane uçucu yağı içeren kapsüllerin en iyi salım hızını belirlemek için; %25 etanol içeren 25 mL PBS (1:4 v/v) üzerine 100 mg mikrokapsül ilave edilmiş ve 37°C’ de salım testine bırakılmıştır. Periyodik olarak her saatte bir kez 3 mL örnek alınmış, alınan örnek kadar (3 mL) PBS mevcut kap içerisine ilave edilmiştir. Alınan örnek üzerine 1 mL etil asetat ilave edilerek karıştırılmış, daha sonra 4000 rpm de 3 dk santrifüj edilmiş ve kapsüllerden salınan nane uçucu yağ miktarı GC-FID’ de analiz edilmiştir. Daha önceden majör bileşen olarak belirlenen karvon standartı kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Mikrokapsüllerde bulunan majör bileşenin (karvon) pik alanı, kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem kullanılarak mg’a dönüştürülmüştür. Karvonun mg olarak belirlenen miktarı GC verilerinden yararlanılarak uçucu yağ olarak ifade edilmiştir.

3. BULGULAR

Mikrokapsül Üretimi

Kuru nane bitkisinden (100gr) her bir Clevenger aparatı ile su distilasyonu uygulamasından sonra yaklaşık % 1 oranında nane uçucu yağı (kuru drog üzerinden hesaplanarak) elde edilmiştir.

Çalışma kapsamında farklı bileşim oranlarında enkapsüle formlar hazırlanmıştır. Nane yağının uçucu olmasından kaynaklanan kısa süreli etkisinin elimine edilmesi, sistemik metabolizmasının yüksek olması nedeniyle mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve bu işlemde yağ/su emülsiyon yöntemi ile *zein-nane* ve *zein-kazein -nane* mikrokapsülleri elde edilmiştir.

Enkapsülasyon Etkinliği

Farklı (%1-15) kazein oranlarında emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi sonrasındaki enkapsülasyon etkinliği değerleri incelenmiştir. Zeine farklı oranlarda kazein ilavesiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği verileri Tablo 1’de verilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği sonuçlarına göre zeine farklı oranlarda kazein ilavesi ile elde edilen mikrokapsüllerin farklı enkapsülasyon etkinliği değerlerine sahip oldukları saptanmıştır. Farklı oranlardaki zein- kazeinle yapılan mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği en yüksek %54.66±3.76 değeri ile zeine ilave edilen %13’lük kazein formülasyonu ile sağlanırken, kaplama materyali olarak sadece zein kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği % 46.84±0.22 olarak tespit edilmiştir.

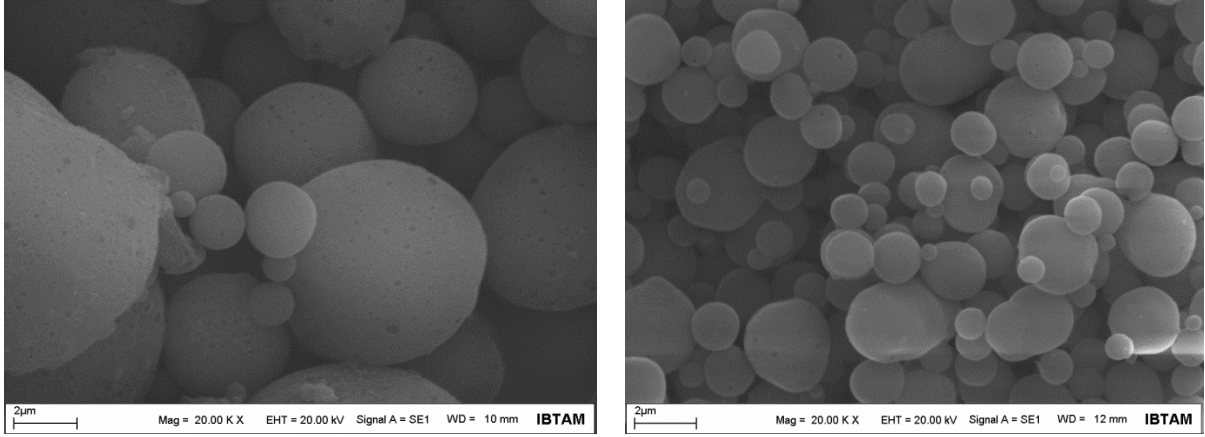
Tablo 1. Zeine farklı oranlarda kazein ilavesiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği verileri

Örnek	Kazein Oranı (%)	Enkapsülasyon Etkinliği Değerleri (%)
A	0	46.84±0.22
B	1	43.24±3.17
C	3	45.60±3.68
D	5	44.01±2.84
E	7	45.98±3.22
F	9	52.47±2.08
G	11	52.97±2.79
H	13	54.66±3.76
I	15	48.81±3.98

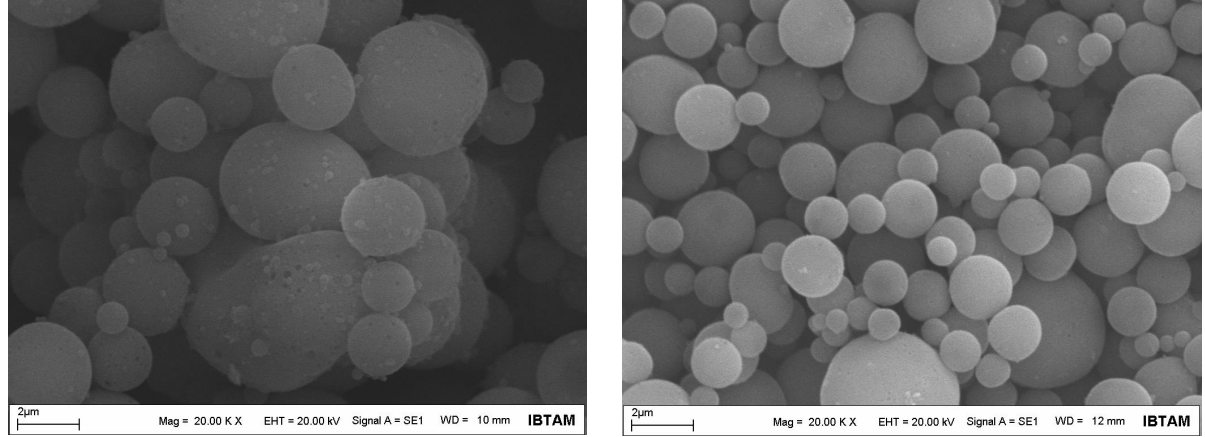
Kapsül Morfolojisi

Elde edilen mikrokapsüllerin yüzey morfolojilerindeki değişiklik ve partikül boyut dağılımları Scanning Electron Microscopy (SEM) ile belirlenmiştir. Şekil 1(a) ve (b)'de *zein-nane* mikrokapsülü ve *boş zein* mikrokapsülüne ait SEM görüntüleri, Şekil 2(a) ve (b)'de ise *zein-kazein-nane* ve *boş zein-kazein* kapsül görüntülerine ait SEM görüntüleri verilmiştir.

Yüzey morfolojilerinin belirlendiği şekillerde, *zein-nane* kapsül yüzeyinde yer alan boşluklar göze çarpmaktadır. *Zein-kazein-nane* mikrokapsüllerinde ise zein üzerinde adsorbe olmuş kazeinat tanecikleri görülmektedir. Kazein zein yüzeyinde yer alan boşluklara adsorbe olarak, kapsül dayanıklılığını arttırmaktadır.



Şekil 1 (a) Zein-nane uçucu yağ mikrokapsülü ve (b) Boş zein mikrokapsülüne ait SEM görüntüsü



Şekil 2(a) Zein-kazein-nane mikrokapsülü ve (b) Boş zein-kazein mikrokapsülüne ait SEM görüntüsü

Salım Hızı

Nane uçucu yağı merkezli mikrokapsüllerdeki uçucu yağın salım hızlarını ve salım oranlarını belirlemek amacıyla in vitro salım testleri yapılmıştır. %25 etanol içeren 25 mL PBS (Phosphate buffered saline) (1:4) tamponu içerisine 100 mg mikrokapsül tartılmış, 37°C' de karıştırılarak, salım testine bırakılmıştır. Periyodik olarak (belirli zamanlarda) 3 mL örnek alınmış, örnek kabına alınan örnek kadar (3 mL) PBS ilave edilmiştir. Alınan örnek üzerine 1 mL etil asetat ilave edilerek karıştırılmış, daha sonra 4000 rpm de 3 dk santrifüj edilmiş ve GC vialine üst faz alınarak GC-FID' de analiz edilmiştir. Nane uçucu yağının majör bileşeni karvon olarak tespit edilmiştir. Karvon standartı kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri çizilmiştir (R^2 : 1). Analizden elde edilen karvonun pik alanı, karvon standartının farklı konsantrasyonları ile oluşturulan kalibrasyon

eğrisi kullanılarak mg'a dönüştürülmüş, mg olarak belirlenen majör bileşen (karvon) uçucu yağın GC verileri kullanılarak uçucu yağ olarak ifade edilmiştir. Kümülatif salım yüzdesi inkübasyon süresinin bir fonksiyonu olarak grafiğe çizilmiştir. 9 günlük süre içerisinde mikrokapsüllerden salınan uçucu yağ miktarı tespit edilmiştir.

Tablo 2. Nane uçucu yağının mikrokapsüllerden zamana bağlı salım düzeyleri

Örnek alma süresi (gün)	Zein-kazein-nane salım değeri (%)	Zein-nane salım değeri (%)
1	27.34±1.61	45.66±2.65
2	28.68±1.58	47.84±2.80
3	29.77±1.56	50.14±2.99
4	31.10±2.07	52.55±3.20
5	32.53±2.37	54.89±3.38
6	33.89±2.82	57.16±3.57
7	35.13±3.16	59.53±3.57
8	36.34±3.32	61.91±3.52
9	37.86±2.73	64.27±3.48

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Son yıllarda uçucu yağlar, gıdalara aroma vermek, gıdanın kalitesini arttırmak, oksidasyon ve mikrobiyel aktivite sonucunda oluşabilecek bozulmaları minimize etmek amacıyla kullanılmaktadır. Hava, ışık, nem ve yüksek sıcaklıkta kimyasal olarak stabil olmayan uçucu yağlar, oldukça hızlı bozunuma uğrarlar [18]. Antimikrobiyel ve antioksidan çalışmalarında uçucu olmaları ve düşük çözünürlük özelliğine sahip olmaları özellikle de dilüsyon ve difüzyona dayanan analiz yöntemleri söz konusu olduğunda bazı sorunlara sebep olmaktadır [19]. Mikroenkapsülasyon teknolojisi ile sıvı gıda bileşenleri kuru toz formlara dönüştürüldüğünden, işleme ve depolama sürecinde karşılaşılabilecek olası problemler azaltılabilmektedir [20]. Uçucu yağların mikroenkapsülasyonu ile mevcut materyalin fiziksel yapısında hedeflenen değişimi gerçekleştirmek mümkün olmaktadır. Uçucu yağların bir katman ile kaplanarak uçuculuklarının geciktirilmesi ve bu sayede içerisinde bulunan bileşenlerin korunmasına yönelik girişimleri içeren mikroenkapsülasyon yöntemi son yıllarda dikkat çekmektedir. Mikroenkapsülasyon belirli koşullar altında ince film tabakaları veya polimer kapsüller yardımı ile küçük katı partiküllerin, sıvı damlaların ya da gazların tutuklanmasına dayanan ve kontrollü salım sağlayan fiziksel bir tutuklama yöntemidir [8-9].

Uçucu yağların farklı majör bileşenlerine sahip olmaları ve bu majör bileşenlerin de çözünürlük ve uçuculuk gibi karakterlerinin farklı olması farklı enkapsülasyon etkinliği değerlerinin açığa çıkmasına neden olmaktadır. Nane uçucu yağının zein ve zein-kazein kompleksi ile ayrı ayrı mikrokapsül formuna dönüştürüldüğü mevcut çalışmada, sadece zein ile kapsüllenen nane uçucu yağının enkapsülasyon etkinliği % 46.84, zeine %13 oranında kazein ilavesi ile gerçekleştirilen kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği %54.46 ise olarak tespit edilmiştir. Öjenol ve timolün aynı oranda zein-kazein kompleksi kullanımı ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği %21,49 olarak belirlenmiştir [21]. Balık yağının zein kullanılarak enkapsüle edildiği bir çalışmada enkapsülasyon etkinliği %90 olarak belirlenirken [22], bir başka çalışmada farklı pH derecelerinde kekik uçucu yağ bileşenleri (karvakrol ve timol) zein kullanılarak kapsüllemiş, timol merkezli kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği %70-100 arasında değişirken, karvakrol merkezli mikrokapsüllerin etkinliği %60-70 olarak tespit edilmiştir [23]. Uçucu yağların enkapsülasyon etkinliği değerlerindeki kayıp ve azalmalar, uçucu karakterde olmaları nedeniyle üretim prosesinde yer alan liyofilizasyon işlemi süresince düşük basınca maruz kalmaları ile açıklanabilir.

Başlıca zein, kazein, peyniraltı suyu proteini izolatu, buğday glütenu gibi proteinler gıdalarda yapı oluşturma, tekstür artırma ve stabil emülsiyonlar oluşturma, karbondioksit ve lipidlere karşı iyi bariyer olma, iyi sayılabilecek mekaniksel dayanım gibi özellikleri vardır [24-25]. Lipofilik merkez

materyallerin korunmasında, taşınmasında, kontrollü salımında yani enkapsülasyonunda başarı ile kullanılabilen zein, nişasta üretimi esnasında ortaya çıkan, genellikle hayvan yemi olarak kullanılan, yüksek hidrofobik özellikte, etanol-su karışımlarında kendiliğinden mikroküreler oluşturma özelliğine sahip bir mısır prolaminidir [26]. Kekik, kırmızı kekik ve tarçın uçucu yağlarının zein kullanarak enkapsüle edildiği bir çalışmada, mikrokapsül formdaki uçucu yağların serbest uçucu yağlara kıyasla çevre şartlarına daha dayanıklı oldukları, daha stabil bir yapı kazandıkları, midede sınırlı bir sindirime uğradıkları, ince bağırsaktan daha yavaş emildikleri ve kalın bağırsaktan daha hızlı salındıkları, mikrokapsül formdayken serbest uçucu yağlara kıyasla gıdada bulunan diğer bileşenlerle daha az etkileşime girdikleri ve dolayısıyla stabiliteilerinin daha uzun sürdüğü belirlenmiştir [10]. Zein ayrıca ilaç endüstrisinde kapsüllerin kaplanmasında koruma amaçlı ve tatların yayılması ya da maskelenmesini kontrol etmek amacıyla da kullanılmaktadır [27].

Hamaker ve ark. (2009) tarafından alınan bir patent, zeinin %3'ü kadar eklenen kazein ve gluten gibi yardımcı proteinlerin (co-proteins) zeinin yapısını güçlendirdiği ve oluşan viskoelastik yapının zamanla kaybolmadığı belirtilmiştir [28]. Kaplama materyali olarak kullanılan proteinlerden biri olan kazein güçlü amfipatik özelliklere sahip olduğundan, emülsiyon yapıda daha güçlü bir kapsül oluşumuna imkân vermektedir [29]. Süt proteinlerinin yaklaşık %80'ini oluşturan kazein fosfolipid yapısında, nispeten hidrofobik özellikte bir proteindir. Hidrofobik, polar ve yük içeren bileşenler, aminoasit dizilimleri boyunca homojen dağılmamıştır. Dolayısıyla bu güçlü amfipatik kısımlar yüksek aktif özellik kazandırmaktadır. K-kazeinin 2/3'ünü oluşturan karbon ucu (N-terminal) hidrofobik iken, 1/3'nü oluşturan karbon ucu (C-terminal) güçlü derecede hidrofilitir. Bu yapısal özellik kazein misellerinin stabilitesi ve özellikleri açısından çok önemlidir. Bu sayede emülsiyon yapılarında kazein molekülünün kullanımı güçlü kapsül yapılarının oluşumunu sağlayabilecektir [14].

Çalışma salım açısından incelendiğinde 9. günün sonunda *zein-nane* mikrokapsüllerinin salım hızlarının % 64.27±3.48, *zein-kazein-nane* mikrokapsüllerinin ise %37.86±2.73 olduğu tespit edilmiştir. Luo ve ark. (2017) α - tokoferol merkez materyalini zein/kitosan kullanarak ürettikleri mikrokapsüllerin zamana bağlı salım testini 6.5 saat süreyle takip etmiş ve 6.5 saat sonunda kapsül merkez materyalinin %93 oranında salım gösterdiğini belirlemişlerdir [30]. Blanco ve ark. (1998) sığır serum albumin ve lizozim proteinlerini merkez materyal olarak, poly(lactideoglycolide) (PLGA) kullanarak elde ettikleri mikrokapsülleri zamana bağlı salım testine tabi tutmuşlardır. Albumin merkezli mikrokapsüllerin 30 gün süren salım testi sonunda salınan merkez materyalin kümülatif toplam yüzdesi %0-40 oranında belirlenirken, lizozim merkezli mikrokapsüllerden 30 günün sonunda salınan merkez materyalin kümülatif toplam yüzdesi % 0-20 olarak tespit edilmiştir [31].

Kazeinin asitle çöktürülmesiyle elde edilen sodyum kazeinat, suda çözünen bir polimerdir [32]. Sodyum kazeinat, oldukça iyi bir termal stabiliteye sahip olup, doğada rastgele sarmal yapı oluşturmaya ve geniş molekül içi hidrojen, elektrostatik ve hidrofobik bağlar oluşturmaya sebebiyle sulu çözeltilerden kolaylıkla film yapı oluşturabilmektedir [33-34]. Kazeinat, sulu çözeltilerde zein partiküllerinin yüzeylerine adsorbe olmak ve polar olmayan yamaları örtmek için gereklidir. Bu emülsüfieri yokluğunda, çıplak zein partikülleri polar olmayan yamalar arasında güçlü bir hidrofobik çekimden ötürü topaklanmaya eğilimlidir. Kazeinat moleküllerinin adsorpsiyonu, yüzey hidrofobisitesini azaltır ve partiküller arasındaki sterik ve elektrostatik itme gücünü artırır, böylece topaklanma stabilitesini artırabilir [35].

Nispeten hidrofilik bir yapıya sahip olan kazeinin emülsiyon yapılarında kullanımı güçlü kapsül yapılarının oluşumuna katkı sağlamaktadır. Kazein, güçlü amfipatik özelliklere sahip olduğundan, emülsiyon yapıda daha güçlü bir kapsül oluşumuna imkân vermektedir. Zeine %13 oranında kazein ilavesi, elde edilen mikrokapsülleri yapısal olarak daha dayanıklı kılmıştır. Böylece kapsül içerisine hapsolunan nane uçucu yağı, serbest formdaki nane uçucu yağına göre daha uzun süreli korunmuş, belirtilen sürede daha az miktarda salınarak, daha uzun stabilite göstermiştir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Bakkalı F, Averbek S, Averbek D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 46–475.
- [2] Mimica-Dukić N, Bugarin D, Grbović S, Mitić-Ćulafić D, Vuković-Gačić B, Orčić D, Jovin E, Couladis M. Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules* 2010; 15: 2759–2770.
- [3] Pascal JD, Stanich K, Girard B, Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol* 2002; 74: 101–109.
- [4] Ozguven M, Kirici S. Research on yield, essential oil, contents and components of mint (*Mentha*) species in different ecologies. *Turk J Agric For* 1999; 23: 465-472.
- [5] Hussain AI, Anwar F, Nigam PS, Ashraf M, Gilani AH. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four mentha species. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 1827-1836.
- [6] Gulluce M, Shain F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *mentha longifolia* L. spp. *longifolia*. *Food Chem* 2007; 103: 1449-1456
- [7] Sarkar S, Gupta S, Variyar PS, Sharma A, Singhal RS. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *Carbohydr Polym* 2013; 95: 177–182.
- [8] Fang Z, Bhandari B. Encapsulation of polyphenols – a review, *Trends Food Sci Technol* 2010; 21: 510- 523.
- [9] Kınık Ö, Kavas G, Yılmaz E. Mikroenkapsülasyon tekniği ve süt tenolojisinde kullanım olanakları. *Gıda* 2003; 28, 401-407.
- [10] Parris N, Cooke PH, Hicks KB. Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 4788–4792.
- [11] Moldão-Martins M, Beirão-da-Costa S, Neves C, Cavaleiro C, Salgueiro L, Beirão-da-Costa ML. Olive oil flavoured by essential oils of *mentha* × *piperite* and *thymus mastichina* L. *Food Qual Prefer* 2004; 15: 447-452.
- [12] Muthuselvi L, Dhathathreyan A. Simple coacervates of zein to encapsulate Gitoxin.A. *Colloid Surf B* 2006; 51: 39-43.
- [13] Wu Y, Luo Y, Wang Q. Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid method. *LWT-Food Sci Technol* 2012; 48: 283-290.
- [14] Hayaloglu A, Ozer B. Peynir Biliminin Temelleri. In: Hayaloglu A, Ozer B. editörler. *Kazein Kimyası ve Sütün Pıhtılaşma Mekanizması*. Sidas Yayıncılık, Türkiye, 2011; 53-56.

- [15] Sarkar S, Gupta S, Variyar PS, Sharma A, Singhal RS. Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum Arabic for microencapsulation of mint oil. *Carbohydr Polym* 2012; 90:1685–1694.
- [16] Quispe-Condori S, Saldaña MDA, Temelli F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT Food Sci Technol* 2011; 44: 1880–1887.
- [17] Luo Y, Zhang B, Whent M, Yu L, Wang Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study. *Coll Sur B: Biointerfaces* 2011; 85: 145-152.
- [18] Beristain CI, Garcia HS, Carter VEJ. Spray dried encapsulation of cardamom (*elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) Gum. *LWT Food Sci Technol* 2001; 34, 398–401.
- [19] Nychas GJE. Natural Antimicrobials from plants. Chapman & Hall, New York, Shelef, L., Antimicrobial Effects of Spices. *J Food Safe* 1995; 6, 29–44.
- [20] Jackson LS, Lee K. Microencapsulation and the Food Industry. *LWT Food Sci Technol* 1991; 24, 289–297.
- [21] Chen H, Zhang Y, Zhong Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein–casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. *J Food Eng* 2015; 144: 93-102.
- [22] Zhong QX, Tian HI, Zivanovic S. Encapsulation of fish oil in solid zein particles by liquid – liquid dispersion. *J Food Process Preserv* 2009; 33: 255-270.
- [23] Wu Y, Luo Y, Wang Q. Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid method. *LWT- Food Sci Technol* 2012; 48, 283-290.
- [24] Krochta JM, De Mulder-Johnston C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *J Food Technol* 1997; 51: 61-74.
- [25] Krochta JM. Edible Protein Films and Coatings, In: Food Proteins and Their Applications, Damodaran S, Paraf A. (Eds.), Marcek Dekker Inc., U.S.A., 1997. 529-549.
- [26] Shukla R, Cheryan M. Zein: the industrial protein from corn. *Ind Crops Prod* 2001; 13: 171–192.
- [27] Gennadios A, McHugh TH, Weller CL, Krochta JM. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo M, editors. Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, Pa.: Technomic Publ Co 1994; 201–277.
- [28] Hamaker B, Campanella O, Mauer L, Mejia C. Leavened products made from nonwheat cereal protein. 2009. United States Patent Application 20090304861
- [29] Dalgleish DG. On the structural models of bovine casein micelles—review and possible improvements. *Soft Matter* 2011; 7: 2265-2272.
- [30] Luo Y, Zhang B, Whent M, Yu L, Wang Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in-vitro controlled release study. *Coll Sur B: Biointerfaces* 2011; 85: 145-152.

- [31] Blanco D, Alonso MJ. Protein encapsulation and release from poly (lactide-co-glycolide) microspheres: effect of the protein and polymer properties and of the co-encapsulation of surfactants. *Eu J Pharm Biopharm* 1998; 45: 285–294.
- [32] Audic JL, Chauffeur B. Influence of plasticisers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *Eur Polym J* 2005; 41: 1934–1942.
- [33] Arvanitoyannis I, Biliaderis CG. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. *Food Chem* 1998; 62: 333-342.
- [34] Janjarasskul T, Krochta JM. Edible packaging materials. *Annu Rev Food Sci Technol* 2010; 1: 415-448.
- [35] Ebert S, Koo CKW, Weiss J, McClements DJ. Continuous production of core-shell protein nanoparticles by antisolvent precipitation using dual-channel microfluidization: Caseinate-coated zein nanoparticles. *Food Res Int* 2017; 92: 48–55.