

Zeytin çekirdeği antioksidanlarının dondurarak kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyonu: toz ürünün fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu

Microencapsulation of olive stone antioxidants by freeze-drying technique: physical and chemical characterization of powder product

Emine Nakilcioğlu Taş^{1,*} , Semih Ötleş¹ 

¹ Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35040, İzmir, Türkiye

Özet

Sürdürülebilir gıda üretimini geliştirmeye yönelik yaklaşımlardan biri, gıda sanayi atıklarına değer katmaktır. Zeytin ve zeytinyağı atıklarından olan zeytin çekirdeği, yapısındaki fenolik bileşikler nedeniyle doğal bir antioksidan kaynağıdır. Bu çalışmada zeytin çekirdeği su ekstraktının, kitosan varlığında dondurarak kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu amaçlanmıştır. Toz ürünün bazı fiziksel, yağm, partikül ve rekonstitüsyon özellikleri ile in vitro salınım değerleri, fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlendi. Düşük nem içeriğine (% 3.58), yağm (0.06 g/cm³) ve sıkıştırılmış yoğunluğa (0.10 g/cm³) sahip toz üründeki fenolik bileşiklerin in vitro salınımı, simüle mide sıvısında % 25.18 ve bağırsak sıvısında ise % 41.01 idi. Yüksek toplam fenolik içeriğe (565.61 mg GAE/100 g) ve antioksidan aktiviteye (EC50: 1.85 mg ve demir indirgeme yeteneği: 1330.80 mg FeSO₄/100 g) de sahipti. Hidroksitirozol, (+)-kateşin, vanilik asit, şiringik asit ve oleuropeinin varlığı, kalitatif ve kantitatif olarak tespit edildi. Elde edilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun gıdaların fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi için doğal katkı maddesi olarak kullanılabilceği öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, Dondurarak kurutma, Fenolik bileşik, Higroskopik, Zeytin çekirdeği

Abstract

One of the approaches improving sustainable food production is to add value to the food industry wastes. Olive stone, which is one of the olive and olive oil wastes, is a natural antioxidant source due to its phenolic compounds. In this study, microencapsulation of olive stone water extract by freeze-drying in the presence of chitosan is aimed. Some physical, bulk, particle, and reconstitution properties, in vitro release values, phenolic content, and antioxidant activity of the powder were determined. The in vitro release of phenolic compounds in the powder with low moisture content (3.58 %), bulk (0.06 g/cm³), and tapped density (0.10 g/cm³) was 25.18 % in simulated gastric fluid and 41.01 % in simulated intestinal fluid. It also had high total phenolic content (565.61 mg GAE/100 g) and antioxidant activity (EC50: 1.85 mg, and ferric reducing antioxidant power: 1330.80 mg FeSO₄/100 g). The presence of hydroxytyrosol, (+)-catechin, vanilic acid, syringic acid and oleuropein was determined qualitatively and quantitatively. It is predicted that the obtained olive stone antioxidant powder can be used as a natural additive to improve the functional properties of foods.

Keywords: Antioxidant activity, Freeze-drying, Phenolic compound, Hygroscopicity, Olive stone

1 Giriş

Meyve ve sebzelerin tarımsal ve endüstriyel atıkları, iyi biyoaktif bileşik kaynaklarıdır ve bunların nutrasötik olarak kullanımına ilişkin literatürde yer alan pek çok çalışma vardır. Ekonomik açıdan bakıldığında ise bu ürünlerin geri kazanımı, gıda atıklarına katma değer kazandıracak ve çevreye atılmasını azaltabilecektir. Böylece sürdürülebilir endüstriyel üretim sistemine katkı sağlanarak yeni gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerinin eldesi mümkün kılınacaktır [1]. Zeytinyağı ve çekirdeksiz sofralık zeytin, özellikle Akdeniz ülkelerinde önemli ekonomik değere sahip ürünlerdir. Zeytin çekirdeği, zeytinyağı ekstraksiyonunda ve çekirdeksiz sofralık zeytin üretiminde açığa çıkan bir atıktır [2]. Meyvenin ağırlıkça % 10-30'undan sorumludur ve bu da yıllık yaklaşık 360000 tonluk zeytin çekirdeği atığının ortaya çıktığı anlamına gelmektedir [2, 3]. Zeytin çekirdeği pek çok alanda kullanılmasına rağmen, büyük çoğunluğu biyoyakıt olarak değerlendirilmektedir ve gıda sektöründe kullanımı bulunmamaktadır [3]. Selüloz, hemiselüloz ve lignin içeriğiyle lignoselülozik bir materyal olarak bilinen zeytin çekirdeği önemli miktarlarda antioksidan özelliklere sahip

fenolik bileşikleri de içermektedir [4]. Antioksidanlar, hücreleri serbest radikaller olarak bilinen kararsız moleküllerin neden olduğu kanser, diyabet, osteoporoz, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklardan korumaktadır [5, 6]. Gıdalarda doğal antioksidanların (gıda kaynaklı fenolik bileşikler ve vitaminler) kullanımı, sentetik olanlarının muhtemel zararlı etkileri nedeniyle tercih edilmektedir [7]. Fakat antioksidanlar, moleküler yapılarında doymamış bağların varlığı nedeniyle ışık, oksijen ve neme karşı oldukça savunmasızdır. Bu nedenle, depolama stabilitelerini artırmak, bazılarının hoş olmayan lezzetlerini maskeleyerek ve gıda ingredientleri olarak daha güvenli hale getirmek için mikroenkapsüle edilmelidirler [8]. Gıda sektöründe sıklıkla kullanılan mikroenkapsülasyon teknolojileri, ince ve kuru tozlar oluşturan püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma gibi desolvasyon mekanizmalarına dayanmaktadır [9]. Özellikle dondurarak kurutma, antioksidanlar gibi ısıya duyarlı moleküllerin mikroenkapsülasyonunda sıklıkla tercih edilen ve püskürtmeli kurutmaya alternatif bir yöntemdir [9, 10]. Bu proseste, kaplama materyali ile matris çözeltisi homojenize

* Sorumlu yazar / Corresponding author, e-posta / e-mail: emine.nakilcioglu@ege.edu.tr (E. Nalkilcioğlu-Taş)
Geliş / Received: 21.05.2020 Kabul / Accepted: 03.11.2020 Yayınlanma / Published: 15.01.2021
doi: 10.28948/ngmuh.740797

edilir ve daha sonra birlikte liyofilize edilerek kuruma sağlanır [1]. Dondurarak kurutma, minimum termal ve oksidatif degradasyon ile yüksek kapsülleme verimi sonucunda daha kaliteli mikrokapsüllerin elde edilmesini sağlamaktadır [9]. Ayrıca elde edilen tozlar genellikle düşük kütle yoğunlukları, yüksek gözeneklilikleri, aroma ve lezzetin iyi korunumu ile karakterize edilmektedir [10]. Bu ve benzeri olumlu fiziksel özellikler, toz ürünlerin düşük taşıma maliyeti, ambalajlama ve depolama kolaylığı açısından üretici için önem arz etmektedir [11].

Bu çalışmanın amacı, zeytin ve zeytinyağı endüstrisinin atığı olarak karşımıza çıkan zeytin çekirdeğinden ekstrakte edilen antioksidanlarca zengin ekstraktın, kitosan varlığında dondurarak kurutma yöntemiyle mikrokapsüle edilmesi ve mikrokapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesidir. Bunun için elde edilen toz ürünün fiziksel özellikleri (nem içeriği, su aktivitesi (aw), renk, partikül özellikleri (SEM)), yığın özellikleri (yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk, akabilirlik, yapışkanlık, kekleşme derecesi ve higroskopisi), ve rekonstitüsyon özellikleri (ıslanabilirlik ve dağılılırılık) tespit edilmiştir. Ayrıca zeytin çekirdeği antioksidan tozlarının in vitro fenolik bileşik salınımları, antioksidan aktiviteleri ve hem toplam hem de bireysel fenolik bileşik içerikleri ortaya konulmuştur.

2 Materyal ve metot

2.1 Zeytin çekirdeğinden antioksidan bileşiklerce zengin su ekstraktının eldesi

Bu çalışmada kullanılmak üzere Domat tipi zeytinlere ait çekirdekler, Manisa'nın Akhisar ilçesindeki bir ticari salamura işletmesinden temin edilmiştir. Çekirdekler, bir hafta boyunca güneş görmeyen ortamda serilerek kurutulmuş ve analize kadar oda koşullarında depolanmıştır. Ekstraksiyon öncesi çekiçli değirmen (Brook Crompton series 2000, UK) yardımıyla öğütülmüştür. Öğütülmüş çekirdeklerin antioksidan bileşiklerini ekstrakte etmek için Nakilcioğlu-Taş ve Ötles [12]'in çalışması temel alınmıştır. Çekirdek materyali olarak kullanılan antioksidan bileşiklerce zengin su ekstraktı, pilot ölçekte basınçlı su ekstraktörü kullanılarak optimum ekstraksiyon koşullarında (50°C-50 bar-90 dk) elde edilmiştir.

2.2 Dondurarak kurutma yöntemiyle zeytin çekirdeği antioksidanlarının mikrokapsülasyonu

Zeytin çekirdeğinin antioksidan bileşiklerce zengin su ekstraktı ile 1:1.25 (v/v) oranında kaplama materyali olarak kullanılan %1'lik (w/v) kitosan çözeltisi karıştırılmış ve manyetik karıştırıcı (Stuart Scientific, UK) ile 5 saat süreyle homojenize edilmiştir [13]. Daha sonra karışım, -45°C'lik sabit sıcaklıkta 0.045 bar basınçta bir liyofilizatör (Labconco 2.5 FreeZone, ABD) yardımıyla dondurarak kurutulmuştur. Kurutulmuş ürün, havanda öğütülmüştür. Elde edilen mikrokapsüllerin bir kısmı bekletmeden fiziksel özelliklerinin belirlenmesi için analize alınmış ve kalanları ise alüminyum kaplı polietilen (ALPE) ambalajlarda paketlenmiştir. Ambalajlı ürünler, analize kadar -20°C'de depolanmıştır.

2.3 Mikrokapsüllerin karakterizasyonu

Elde edilen toz ürünün nem içeriği, gravimetrik olarak vakumlu etüv yöntemiyle 65 °C'lik kurutma sıcaklığı kullanılarak belirlenmiştir [14]. Su aktivitesi değeri ± 0.001 hassasiyete sahip su aktivitesi ölçüm cihazıyla (Testo AG 400, Almanya) ve renk değerleri (L, a, b) ise kolorimetrenin (HunterLAB ColorFlex, ABD) Hunter modunda tespit edilmiştir. Kroma (C), Hue açısı (h°) ve renk değişimi (ΔE) değerleri, **Denklem(1-3)**'den hesaplanmıştır:

$$C = \sqrt{(a^2 + b^2)} \quad (1)$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b}{a} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{\begin{matrix} (L_{ekstrakt} - L_{toz \text{ ürün}})^2 \\ + (a_{ekstrakt} - a_{toz \text{ ürün}})^2 \\ + (b_{ekstrakt} - b_{toz \text{ ürün}})^2 \end{matrix}} \quad (3)$$

Toz ürünün partikül morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI, QUANTA 250 FEG, Hillsboro, Oregon, ABD) kullanılarak 5000x ve 20000x büyütme oranıyla değerlendirilmiştir. Yığın özelliklerinin tespiti ise toz ürünün yığın yoğunluğu (ρ_b) ve sıkıştırılmış yoğunluk (ρ_t) değerlerinin belirlenmesiyle başlamıştır [15]. Daha sonra bu veriler ile toz ürünün **Denklem (4)**'ten akabilirlik (Carr indeks (CI) [16, 17]) ve **Denklem (5)**'den yapışkanlık (Hausner oranı (HR) [18]) değerleri hesaplanmıştır. Toz ürünün % higroskopisi değeri, Cai ve Corke [19] ile Fernandes ve ark. [20]'nin yöntemlerine göre tespit edilmiştir. Higroskopisi analizine tabi tutulmuş toz ürünün kullanımıyla da % kekleşme derecesi, **Denklem (6)**'da verilen denklem vasıtasıyla ortaya konulmuştur [21–23].

$$CI = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \times 100 \quad (4)$$

$$HR = \frac{\rho_t}{\rho_b} \quad (5)$$

$$\% \text{ Kekklesme derecesi} = \frac{100 \times b}{a} \quad (6)$$

Toz ürünlerin rekonstitüsyon özellikleri ise “dk” cinsinden ıslanabilirlik değerinin [20, 24] ve % dağılılırılık değerinin [25] belirlenmesiyle ifade edilmiştir.

2.4 Mikrokapsüllerin in vitro salınım, fenolik bileşik ve antioksidan içeriğinin tespiti

2.4.1 Ekstraksiyon

Toz ürün, 4:1 (mg/mL) oranında %1 asetik asit (v/v) çözeltisiyle karıştırılmış ve manyetik karıştırıcı yardımıyla ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstrakt, toz ürünün toplam fenolik madde miktarının, in vitro koşullarda gastrointestinal sistemde salınan fenolik madde oranının, bireysel fenolik bileşik içeriğinin, toplam flavonoid miktarının ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Toz ürün, 1:10 (mg/mL) oranında metanol:etanol (1:1, v/v) çözeltisiyle manyetik karıştırıcı

varlığında ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstraktan ise toz ürünün yüzey fenolik madde miktarının belirlenmesinde faydalanılmıştır [26, 27].

2.4.2 Spektroskopik analizler

Toz ürünün toplam fenolik ve yüzey fenolik madde miktarları, Singleton ve Rossi [28] tarafından geliştirilen ve Li ve ark. [29] tarafından modifiye edilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre tespit edilmiştir. Sonuçlar, “gallik asit eşdeğeri (GAE)” cinsinden ifade edilmiştir. Toz ürünün toplam flavonoid miktarı, Heimler ve ark. [30]’nın yöntemi kullanılarak ortaya konulmuş ve “(-)-epikateşin eşdeğeri ((-)-EE)” olarak verilmiştir. Toz ürünün mikroenkapsülasyon etkinliği (%) ise Denklem (7)’de verilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır [31]:

$$\% \text{ Mikroenkapsülasyon etkinliği} = \frac{\text{Toplam fenolik madde miktarı} - \text{Yüzey fenolik madde miktarı}}{\text{Toplam fenolik madde miktarı}} \times 100 \quad (7)$$

Luca ve ark. [27] ve Konecsini [32] tarafından kullanılan yöntemler esas alınarak; in vitro koşullarda enzimsiz simüle edilmiş gastrik ve intestinal sıvılarda zeytin çekirdeği su ekstraktının ve toz ürünün fenolik bileşiklerinin salınım oranları, Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuçlar “% salınım” cinsinden ifade edilmiştir. Toz ürünün antioksidan aktivitesi ise hem DPPH radikal süpürme aktivitesi hem de demir indirgeyici/antioksidan güç (FRAP) denemesiyle tespit edilmiştir. Brand-Williams ve ark. (1995) [33]’nin yöntemine göre gerçekleştirilen DPPH analizinin sonuçları, antiradikal etkinlik (AE) ve EC50 cinsinden verilmiştir. DPPH radikalının % 50’sini inhibe eden antioksidan maddenin “mg” cinsinden miktarını gösteren EC50 değeri, Graph Pad 5.0 programı kullanılarak hesaplanmıştır. AE, “1/EC50” olarak ortaya konulmuştur. Toz üründe Guo ve ark. [34] ile Xu ve ark. [35] tarafından uygulanan FRAP yönteminden elde edilen sonuçlar, “FeSO4 eşdeğeri” cinsinden ifade edilmiştir.

2.4.3 Fenolik bileşiklerin yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile analizi

Toz ürünün fenolik bileşikleri, otomatik enjeksiyon, kuaterner pompa ve diyot dizinli dedektör (DAD) sistemlerine sahip Agilent 1200 serisi bir HPLC (Agilent Technologies Ltd, ABD) cihazı kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmiştir. Bu amaçla 20 µl ekstrakt, 40 °C sıcaklıktaki Nucleosil C18 kolona (5µm, 4.6 mm x 250 mm) enjekte edilmiştir. Mobil faz olarak metanol (çözücü A) ve % 2.5 (v/v) asetik asit/su (çözücü B) kullanılmış ve akış hızı 0.7 ml/dk’ya ayarlanmıştır. Kullanılan dereceli elüsyon programı, Tablo 1’de verildiği gibidir:

Fenolik bileşik standartlarının 190-400 nm arasında spektrumu alınarak, DAD dedektörde maksimum absorbans yaptıkları dalga boyları belirlenmiştir. Toz üründe hidroksitirozol, (+)-kateşin, şiringik asit ve oleuropein varlığı 280 nm’de, vanilik asit ise 265 nm’de tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde standart katma tekniği, dış standart metodu ve polifenol standartlarının spektrumlarının örnekle kıyaslanması

yöntemlerinden faydalanılmıştır. Sonuçlar “mg/100 g” cinsinden ifade edilmiştir.

2.5 İstatistiksel analiz

Analizler 2 tekrar 2 paralel şekilde gerçekleştirilmiş ve tüm sonuçlar “ortalama ± standart sapma” şeklinde ifade edilmiştir. Zeytin çekirdeği su ekstraktı ile toz ürünün in vitro salınım değerleri, SPSS 20.0 paket programı yardımıyla bağımsız örneklem t-testi ile istatistiksel bakımdan değerlendirilmiştir. Toz ürünün bireysel fenolik bileşikleri ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan testi kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Bireysel fenolik içerikleri arasında anlamlı bir farklılığın olup olmadığı % 95 güven aralığında ortaya konmuştur.

3 Bulgular ve tartışma

3.1 Mikrokapsüllerin bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri

Zeytin çekirdeğinden elde edilen ve antioksidan bileşiklerce zengin su ekstraktı ile kitosan karışımının liyoflizatörle kurutulması işlemi 43 saat sürmüştür. Elde edilen toz ürünün bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidan tozlarının nem içeriği ve su aktivitesi sırasıyla % 3.58 ve 0.14 olarak bulunmuştur. Mikrokapsüllerin raf ömrü, nem içeriğine ve hazırlama/depolama sıcaklığına bağlıdır. Gıda endüstrisindeki çoğu kurutulmuş toz için nem, maksimum % 3-4 civarındadır [10]. Bu çalışmadaki toz ürünün nem içeriği, dondurarak kurutulmuş süt tozları (% 1.78-2.22) [36] ile dondurarak kurutulmuş çilek aroması mikrokapsüllerinin (% 3.9-4.1) [10] nem içeriği değerleri arasındadır. Toz ürünün su aktivitesi görüldüğü gibi oldukça düşüktür ve Tontul ve ark. [37]’nin dondurarak kurutulmuş yoğurt tozunda tespitledikleri su aktivitesi değerine (0.14) benzer bulunmuştur. Dondurarak kurutma, genellikle daha düşük su aktiviteli ürün oluşumuna yol açmaktadır. Bu durum, kurutma mekanizmasıyla ilişkilidir. Dondurarak kurutmada su, buz kristallerinin süblimasyonu ile uzaklaştırılır ve daha gözenekli bir yapı oluşur. Bu gözenekli yapı, kapiler kuvvetleri arttırmakta ve böylece toz ürünün su aktivitesi azalmaktadır [37]. Su aktivitesi, kurutulmuş ürünün depolama stabilitesi açısından oldukça önemlidir. Toz ürünlerin kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan stabil ve güvenli olarak kabul edilebilmesi için su aktivitesi değerinin 0.30’un altında olması gerekmektedir [38].

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının nem ve su aktivitesi değerlerinin düşük olması, nispeten uzun raf ömrüne sahip ve mikrobiyolojik ve kimyasal reaksiyonlar açısından güvenli bir ürün elde edildiğinin göstergesidir.

Tablo 1. Dereceli elüsyon programı

Süre (dk)	Çözücü A (%)	Çözücü B (%)
0	5	95
2	5	95
5	25	75
15	40	60
23	50	50
37	100	0

Tablo 2. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri

Özellikler	Değerler
Nem içeriği (%)	3.58 ± 0.06
Su aktivitesi (a _w)	0.14 ± 0.00
L	79.43 ± 0.02
A	3.11 ± 0.01
B	25.43 ± 0.02
Kroma (C)	25.62 ± 0.02
Hue Açısı (h°)	1.45 ± 0.00
ΔE	73.25 ± 0.01
Yığın yoğunluğu (ρ _b) (g/cm ³)	0.06 ± 0.00
Sıkıştırılmış yoğunluk (ρ _s) (g/cm ³)	0.10 ± 0.01
Akabilirlik (Carr indeks, CI)	43.51 ± 3.11
Yapışkanlık (Hausner oranı, HR)	1.77 ± 0.10
Islanabilirlik (dk)	21.00 ± 1.57
Dağılılırlik (%)	45.42 ± 0.03
Higroskopik (%)	33.01 ± 0.24
Kekleşme (%)	53.17 ± 1.20

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Kurutulmuş ürünlerde renk, hem duyuşal açıdan ürünün çekiciliğini etkileyen hem de kalitesini yansıtan önemli bir kriteridir. Fonksiyonel gıdalar, birçok sağlık yararlarına rağmen tüketicileri görsel olarak etkilemeden pazarlanamazlar. Bu nedenle genellikle kullanılan ingredientlerin renginin, katıldığı ürünün rengini değiştirmemesi istenmektedir [39]. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının da çok az kırmızımı (a = 3.11) açık parlak (L = 79.43 ve C = 25.62) sarı renge (b = 25.43 ve h° = 1.45) sahip olduğu tespit edilmiştir. Sarı rengin varlığı, zeytin çekirdeğinin kendi renginden sorumlu olan pigmentlerden kaynaklanmaktadır. Düşük kırmızılık değeri, dondurarak kurutma işlemleriyle esmerleşme reaksiyonlarının ve karotenoid degradasyonunun düşük olduğunun göstergesidir [38]. González-Ortega ve ark [9], bu çalışmaya benzer şekilde dondurarak kurutma yöntemiyle üretilen zeytin yaprağı ekstraktı mikrokapsüllerinin L değerini yüksek (46.07-55.32), a değerini 0'a yakın (0.03-2.41) ve b değerini 0'dan büyük (11.90-21.73) olarak bulgulamıştır. Toz ürünün toplam renk değişimi (ΔE) ise 73.25 olarak belirlenmiştir. Bu renk değişiminin en önemli sebepleri kurutma sırasında karotenoid kayıpları, renk pigmentlerinin parçalanması ve L-askorbik asitin okside olmasıdır [38]. Ergüney ve ark. [40] tarafından dondurularak kurutulmuş karayemiş tozunun toplam renk değişimi (27.58-35.87), bu çalışmadan daha düşüktür.

Şekil 1'de gösterildiği gibi, dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun partikül morfolojisi, küçük ve değişken boyutlarda kırık cam yapısına benzemektedir. Bu yapı, dondurarak kurutma yöntemiyle üretilen mikrokapsüllerin ortak özelliğidir [1]. Pellicer ve ark. [10]'nın ürettiği çilek aroması mikrokapsüllerinde ve Yamashita ve ark. [1] tarafından böğürtlen yan ürününden elde edilen antosiyaninlerce zengin ekstraktın mikrokapsülasyonunda da benzer morfoloji gözlenmiştir.

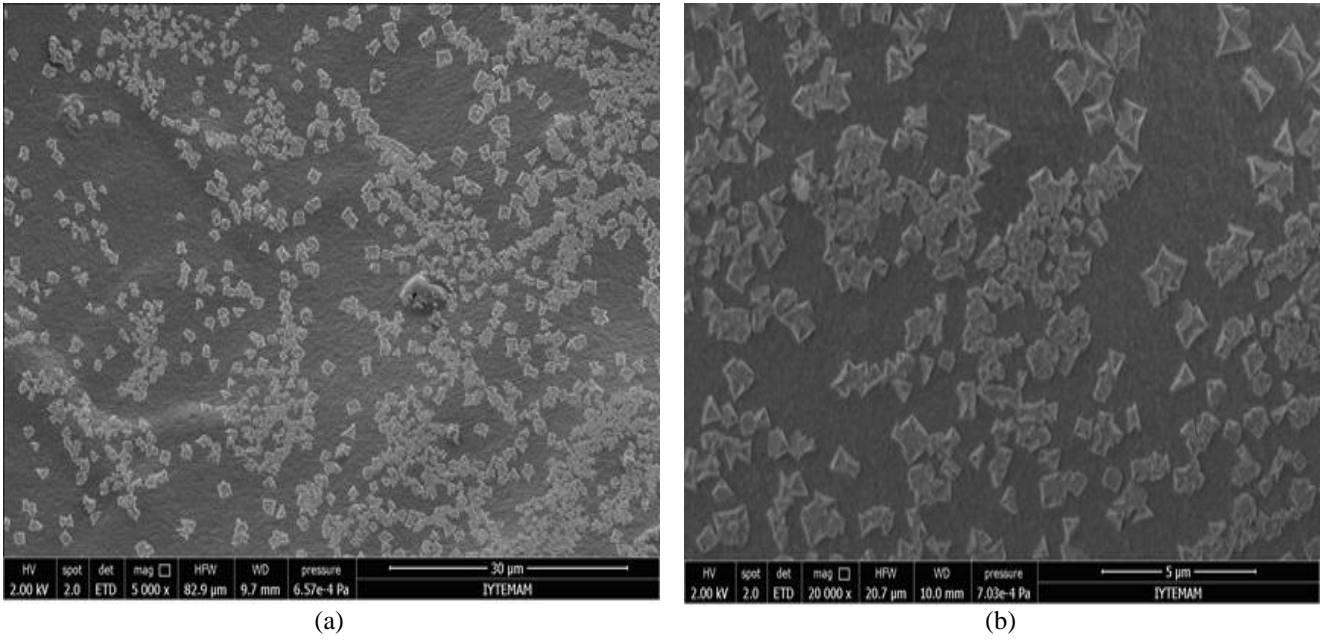
Düzensiz şekilli bu camsı yapı fenolik bileşikleri, ısıya ve oksijene maruz kalmaya karşı koruyabilir [1, 10]. Ayrıca partiküller, aglomere mikrokapsüller gibi görünmektedir. Benzer davranış Quispe-Condori ve ark. [41] tarafından dondurarak kurutma kullanılarak keten yağının zein ile mikrokapsülasyonunda da gözlenmiştir.

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun yığın yoğunluğu 0.06 g/cm³ ve sıkıştırılmış yoğunluğu 0.10 g/cm³ olarak tespit edilmiştir. Dondurarak kurutulmuş tozların hem yığın hem de sıkıştırılmış yoğunluğunun oldukça düşük olduğu gözlenmiştir ve bu istenilen bir durumdur. Örneğin gözenekli yapıda olması, düşük yığın ve sıkıştırılmış yoğunluğa sahip olmasının sebebi olabilir [37]. Yığın yoğunluğunun düşük olması, toz ürünlerin paketleme maliyetini ve taşıma verimliliğini olumlu yönde etkilediğinden üretici ve tüketici tarafından önemlidir. Fakat düşük yığın yoğunluklu kurutulmuş gıdaların oksidatif bozunmaya yatkın olabileceği ve depolanma stabiliteilerinin azalabileceği unutulmamalıdır [42]. Zeytin çekirdeği antioksidanı tozu için bulunan yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri, Dirim ve ark. (2015) (0.16-0.32 g/ml ve 0.25-0.42 g/ml) [11] ile Laokuldilok ve Kanha (yığın yoğunluğu 0.33-0.35 g/ml) [42]'nin buldukları değerlerden daha düşüktür.

Bu çalışmada elde edilen toz ürünün akabilirliği ve yapışkanlığı sırasıyla Carr indeksi (CI) ve Hausner oranı (HR) ile hesaplanmıştır. Bu değerler, toz ürünlerin depolanması, taşınması, işlenmesi sırasında kullanılacak ekipmanların tasarımları ve dizaynlarıyla ilgili önemli yol göstericilerdir [11]. CI değeri 38'den ve HR değeri 1.60'dan büyük olması durumunda toz ürünün akabilirliği çok çok zayıf ve yapışkanlığı oldukça yüksek olarak değerlendirilmektedir [17]. Bu sınıflandırmaya dayanarak zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun akabilirliği çok çok zayıf ve yapışkanlığı oldukça yüksek olarak bulgulanmıştır. Yüksek HR değeri, toz ürünün daha yapışkan ve serbestçe daha az akabileceği anlamına gelmektedir [41]. CI değerinin yüksek olan toz ürünün HR değerinin de yüksek olması beklenen bir durumdur. Ayrıca toz ürünün oldukça küçük partiküllü olmasının, ürünün akışkanlık davranışını olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer şekilde dondurarak kurutulmuş maltodekstrin ilaveli kamkat tozunun [38] ve maltodekstrinsiz kivi tozunun [43] akabilirliği çok çok zayıf ve yapışkanlığı da oldukça yüksek olarak tespit edilmiştir.

Islanabilirlik ve dağılılırlik partikülün boyutuna, gözenekliliğine, yoğunluğuna ve yüzey alanına bağlı olarak değişmektedir [44]. Islanabilirlik, toz ürünün kapiler kuvvetlerle sıvıya nüfuz etme kabiliyetidir. Daha düşük ıslanma süresi arzu edilen bir özelliktir [37]. Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun ıslanabilirliği 21.00 dk olarak belirlenmiştir. Islanabilirliğin yüksek olması, toz ürünün düşük yoğunluğu ve nem içeriği ile ilişkili olabilir [11, 37].

Toz ürünün dağılılırliği ise ürünün hafifçe karıştırarak suda dağıldığında, ayrı ayrı parçacıklara ayrılma yeteneğidir. Bu değer, gıda işleme endüstrisi için önemli bir indekstir. Yüksek dağılılırlik değeri, daha az topaklanmanın ortaya çıkması anlamına gelmektedir [42].



Şekil 1. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ((a) - x5000, (b) – x20000 (ölçeklendirilmiş))

Tablo 3. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının polifenol içerikleri, simüle mide ve bağırsak sıvılarında salınan fenolik bileşik miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Özellikler	Değerler
Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/100 g)	565.61 ± 6.64
Yüzey fenolik madde miktarı (mg GAE/100 g)	147.24 ± 5.42
Mikroenkapsülasyon etkinliği (%)	73.95 ± 1.26
Toplam flavonoid miktarı (mg (-)-EE/100 g)	264.00 ± 6.75
<i>in vitro</i> salınım-simüle mide (SGF) (% w/v)	25.18 ± 0.48
<i>in vitro</i> salınım-simüle ince bağırsak (SIF) (% w/v)	41.01 ± 0.56
DPPH-EC ₅₀ (mg)	1.85 ± 0.13
DPPH-Antiradikal Etkinliği (AE)	0.54 ± 0.04
FRAP (mg FeSO ₄ /100 g)	1330.80 ± 14.73

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun dağılılabirlik değeri % 45.42'dir ve orta düzeydedir. Bu çalışmada elde edilen toz ürünün ıslanılabilirlik değerinin, dondurarak kurutma yöntemiyle üretilmiş yoğurt tozu (71 sn) [37] ile maltodekstrinsiz ve maltodekstrinli kumkat tozunun ıslanılabilirliğinden (196.33 ve 774.66 sn) [38] daha yüksek olduğu görülmüştür. Toz ürünün dağılılabirlik değeri ise vakksız propolis tozunun (% 83.2-98.7) [45] ve karayemiş tozunun dağılılabirliğinden (% 87-95) [40] daha düşüktür.

Higroskop, toz ürünün yüksek bağıl nemli ortamda nem absorplama yeteneği olarak tanımlanır. Genellikle ürünün gözenekliliği veya gıdada bulunan şekerin amorf camı durumu ile ilgilidir [37]. Depolama sırasında fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik stabilite sağlamak için toz üründe düşük higroskop istenmektedir [37, 46]. Ayrıca toz ürünlerin higroskop değeri, nem içerikleriyle de ters orantılıdır. Toz ürün ile ortam havası arasındaki nem farkı arttıkça, ürün tarafından daha fazla nem absorbe

edilebilmektedir [46]. Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun higroskop değeri % 33.01'dir. Kekleşme ise çökme durumudur. Toz ürünün partiküllerine yüzey teması için yeterli zaman tanındığında, kalıcı agregasyon meydana gelmektedir. Kekleşme durumunda toz ürünün akış özellikleri yok olmaktadır [44]. Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun kekleşme derecesi ise % 53.17 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen ürünün higroskop değeri ve kekleşme derecesi, dondurarak kurutulmuş karayemiş tozunun kekleşme derecesinden (% 16-24) [40] ve yoğurt tozunun higroskop değerinden (% 9.78-10.16) [37] daha yüksektir.

3.2 Mikrokapsüllerin *in vitro* salınım, fenolik bileşik ve antioksidan içeriği

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının fenolik bileşik içerikleri, *in vitro* fenolik bileşik salınımları ve antioksidan içerikleri Tablo 3'de verilmiştir. Toz ürünün toplam

fenolik madde miktarı % 0.57, toplam flavonoid miktarı % 0.26 ve yüzey fenolik madde miktarı % 0.15 olarak tespit edilmiştir. Nakilcioğlu-Taş ve Ötleş [12] tarafından püskürtmeli kurutma yöntemi ile elde edilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının toplam fenolik içeriğinin (% 1.72), dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarınıninkine kıyasla daha yüksek olduğunu belirlenmiştir. Buna paralel olarak püskürtmeli kurutmaya elde edilen toz ürünün dondurarak kurutma yöntemine kıyasla daha yüksek toplam flavonoid (% 0.46) ve yüzey fenolik içerdiği (% 0.40) de görülmektedir. Dondurarak kurutma işlemi, ısıya duyarlı fenolik bileşikler üzerinde yüksek sıcaklığın yarattığı olumsuz etkiyi önleyebilmektedir [42].

Tablo 4. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının bireysel fenolik miktarları

Fenolik bileşikler	Alıkonma zamanı (dk)	Miktar (mg/100 g)
Hidroksitirozol	10.783	11.15 ± 0.21 ^c
(+)-kateşin	12.412	90.93 ± 0.51 ^a
Vanilik asit	15.966	6.42 ± 0.15 ^d
Şiringik asit	16.941	1.93 ± 0.10 ^e
Oleuropein	25.130	25.91 ± 0.08 ^b

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı sütündeki farklı harfler, fenolik bileşikler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

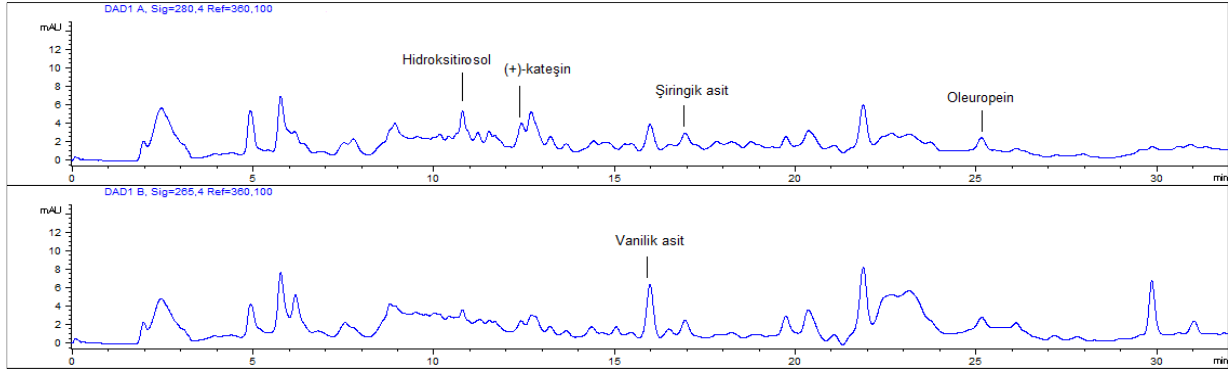
Bununla birlikte, dondurarak kurutma yönteminde fenolik ve antioksidan içeriğiyle ilgili gözlenen kayıplar, kurutma işleminden sonra ürünün öğütülmesi ile ilişkilidir ve benzer sonuçlar Barbados kirazı posasını püskürtmeli ve dondurarak kurutma ile mikroenkapsüle eden Rezende ve ark. [47] tarafından da belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların, dondurarak kurutulmuş kamkat tozunun toplam fenolik içeriği (%0.45-0.70) ile benzer ve toplam flavonoid içeriğinden (%0.15-0.22) yüksek olduğu belirlenmiştir.

Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının mikroenkapsülasyon etkinliği % 73.95 olarak hesaplanmıştır. Bu durum zeytin çekirdeği antioksidanlarının % 26.05'inin yüzeyde kalıp kapsüllemediğinin ve oksidasyona yatkın olduğunun bir göstergesidir. Mikroenkapsülasyon etkinliğinin yüksek olması istenilen bir durumdur ve fenolik bileşiklerin % 73.95'inin kapsülenebilmesi oldukça iyi bir orandır. Benzer sonuçlar, püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarında (% 65.35-76.89) [12] ve dondurarak kurutulmuş zeytin yaprağı ekstraktında (% 50.22-91.60) [9] da elde edilmiştir. Quispe-Condori ve ark [41], dondurarak kurutulmuş keten yağı mikroenkapsülasyon etkinliğini % 32.68 ile % 59.63 aralığında bulmuş ve bu çalışmaya göre daha düşük bir mikroenkapsülasyon etkinliği tespit etmişlerdir. Bu değerlerin çalışmalarda farklı olmasının sebebi, mikroenkapsülasyon etkinliğinin kapsülleme bileşiklerine ve kullanılan kaplama materyaline büyük ölçüde bağlı olmasıdır [8].

Zeytin çekirdeği su ekstraktının simüle SGF'de salınan toplam fenolik madde miktarı % 54.67 ± 2.58 ve SIF'de salınan toplam fenolik madde miktarı ise % 88.59 ± 1.99 olarak belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunda ise kapsüllerin parçalanmasıyla midede toplam fenolik içeriğinin % 25.18'i salınmakta ve kalan mikrokapsüllerin bir kısmında ince bağırsakta parçalanmasıyla kalan toplam fenolik içeriğinin % 41.01'i de ince bağırsakta salınmaktadır. Bu durumda zeytin çekirdeği su ekstraktının tüketimiyle fenolik bileşiklerin sadece % 5.17'si kolona ulaşabilirken, dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozu tüketimiyle fenolik bileşiklerin % 44.14'ü kolona ulaşabilmektedir. Bu da gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminin fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı üzerinde olumlu etkiler yarattığının en iyi göstergesidir. Su ekstraktı ile toz ürün arasında simüle SGF'de salınan toplam fenolik madde miktarı ve SIF'de salınan toplam fenolik madde miktarı açısından istatistiksel bakış açısıyla anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Ayrıca su ekstraktında SGF'de salınan toplam fenolik madde miktarı ile SIF'de salınan toplam fenolik madde miktarı arasında ve toz üründe SGF'de salınan toplam fenolik madde miktarı ile SIF'de salınan toplam fenolik madde miktarı arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın varlığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Toz ürünün mikroenkapsüle edilmesindeki nedenlerden biri fenolik bileşiklerin gıda matriksiyle interaksyonunu önleme ve gastrointestinal yolda kontrollü salınımlarını sağlamaktır. Bağırsak koşullarında korunarak kontrollü biçimde plazmadaki konsantrasyonlarının artırımı ana hedefdir. Fenolik bileşiklerin absorpsiyonunu etkileyen en önemli faktörler olan protein interaksyonu ve bağırsak mukozasındaki enzimlerle etkileşim, mikroenkapsülasyonla engellenebilmektedir ve bu durum bileşiklerin biyoyararlılıklarını artırmaktadır [31]. Luca ve ark. [27], santrifüjlenme sonrasında dondurarak kurutulmuş vişne posası fenoliklerinin SGF'de in vitro salınım değerlerini % 11.88-14.41 ve SIF'de in vitro salınım değerlerini ise % 31.74-38.28 olarak belirtmiştir. Santrifüjlenmiş kontrol örneklerinde ise salınım oranları daha yüksektir ve % 26.79-41.09 (SGF) ile % 47.07-49.22 (SIF) aralığındadır. Dondurarak kurutulmuş kateşin nanopartikülünün simüle edilmiş SGF'deki fenolik salınımı % 5-15 ve simüle edilmiş SIF'deki salınımı ise % 9-25 olarak tespit edilmiştir [31]. Bu çalışmadaki in vitro salınım değerlerinin daha yüksek belirlenmesinin sebebi, mikroenkapsülasyon verimi, kapsülleme fenolik bileşikler ve kaplama materyalindeki farklılıklar olduğu kanısına varılmıştır.

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun antioksidan aktivitesi incelendiğinde, 1.85 mg toz ürünün DPPH serbest radikalının % 50'sini süpürme yeteneğinde olduğu ya da başka bir ifadeyle toz ürünün antiradikal etkinliğinin (AE) 0.54 olduğu ortaya çıkmıştır. Kıyaslamak açısından fenolik bileşiklerden gallik asidin EC50 değerinin 0.001 mg ve AE değerinin ise 960.42 olduğu tespit edilmiştir. Zeytin çekirdeğinin DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi gallik asidinkine göre düşük iken, dondurarak



Şekil 2. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun HPLC ile belirlenen fenolik bileşikleri

kurutulmuş kamkat tozundan (EC50: 76.16-137.16 mg/mg) oldukça yüksektir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun antioksidan aktivitesinden (EC50: 1.56 mg ve AE: 0.64) çok az düşük olduğu görülmektedir. Dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi ise 1330.80 mg FeSO₄/100 g'dır. Toz ürünün FRAP yöntemiyle tespitlenen antioksidan aktivitesi fenolik içeriğiyle bağlantılı olarak Nakilcioğlu-Taş ve Ötles [12] tarafından püskürtmeli kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozununkinden daha düşük (4724.61 mg FeSO₄/100 g) olduğu görülmüştür. Literatürde dondurarak kurutulmuş Japon ayvasının FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi 3.3-6.7 mmol Trolox/100 g kuru madde [48] iken, dondurarak kurutulmuş kahve telvesinininki ise 1.21-1.58 mmol Fe+2/100 ml [8] olduğu ifade edilmiştir. Antioksidan aktivitenin güvenli ve kesin bir şekilde belirlenmesi için farklı testlerin kullanılması önemlidir. Çünkü her yöntemin kendine özgü bir özelliği vardır ve belirli bir etki alanına sahiptir [47]. Sonuçlar dondurarak kurutulmuş zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun yüksek indirgeme gücüne sahip olduğunu ve kontrolsüz oksidasyona karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir.

3.3 Mikrokapsüllerin bireysel fenolik bileşikleri

Zeytin çekirdeği antioksidanı tozunda HPLC-DAD kullanılarak belirlenen fenolik bileşiklerin miktarları Tablo 4'te verilmiştir. Toz üründe beş adet fenolik bileşik (hidroksitirozol, (+)-kateşin, vanilik asit, şiringik asit ve oleuropein) tespit edilmiştir (Şekil 2). Bunlardan hidroksitirozol ve oleuropein, zeytin ve zeytin ürünlerinde bulunan baskın fenolik bileşiklerdir [49].

Toz üründe en fazla miktarda bulunan fenolik bileşimin (+)-kateşin olduğu, daha sonra ise onu sırasıyla oleuropein, hidroksitirozol, vanilik asit, şiringik asit takip ettiği bulunmuştur (p<0.05). En düşük miktarda tespitlenen fenolik bileşik ise şiringik asittir (p<0.05).

Püskürtmeli kurutmayla elde edilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun fenolik bileşiklerinin belirlendiği çalışmada, örnekte bu çalışmaya benzer şekilde hidroksitirozol, (+)-kateşin, vanilik asit, şiringik asit ve oleuropein varlığı belirlenmiş ve baskın fenolik bileşimin (+)-kateşin (231.5 mg/100 g), miktarı en düşük olanın da şiringik

asit (2.73 mg/100 g) olduğu ifade edilmiştir [12]. Püskürtmeli kurutmayla elde edilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozunun bireysel fenolik bileşik miktarları, bu çalışmadakine kıyasla daha yüksektir. Bu sonuç diğer analiz sonuçlarıyla da uyumludur ve sebebi daha önce ifade edildiği gibi dondurarak kurutma işleminden sonra ürünün havanda ezilerek öğütülmesidir [47]. Bu aşamada mikrokapsüller zarar görmüş ve polifenollerin oksidasyonunun gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir. Dondurarak kurutma yönteminde uygulanan düşük sıcaklık ve vakum basıncının fenolik bileşiklerin bozunmasına yol açan termal ve oksidatif reaksiyonları büyük oranda sınırlandırdığı bilinmektedir [38]. Buna rağmen bu çalışmada kullanılan kaplama materyali: çekirdek materyali oranı, kurutma kalınlığı ve dondurarak kurutma koşulları gibi parametrelerin optimize edilmemiş olması, püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen kadar yüksek polifenol ve antioksidan içeriğe sahip toz ürünün elde edilememesindeki diğer bir neden olabileceği kanısına varılmıştır.

4 Sonuçlar

Bu çalışmada hem fonksiyonel gıda tasarımında kullanılabilecek bir ingredient hem de doğal katkı maddesi elde etmek amacıyla, antioksidan bileşiklerini koruyabilen bir kurutma yöntemi olan dondurarak kurutma yöntemi kullanılmış ve zeytin çekirdeğinin antioksidan bileşiklerce zengin su ekstraktı, kitosan ile mikrokapsüle edilerek toz formuna getirilmiştir. Geliştirilen toz ürünün bazı fiziksel ve toz ürün özellikleri ile polifenol ve antioksidan içeriği incelenmiştir. Zeytin çekirdeği antioksidanı tozlarının nem içeriği ve su aktivitesi değerleri güvenli depolama için uygun sınırlardadır. Açık sarı renge sahip ürünün, katıldığı gıdanın rengini ciddi derecede değiştirmeyeceği düşünülmektedir. Partiküller arası aglomerasyon gözlenmiştir ve partiküller, değişken boyutlarda, küçük ve kırık cam yapısındadır. Yüksek kekleşme derecesine, yapışkanlığa, higroskopik ve ıslanabilirlik değerine, orta düzeyde dağılıbilirlik değerine, zayıf akabilirliğe, düşük yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerine sahip bir ürünün elde edildiği söylenebilir. Ayrıca geliştirilen zeytin çekirdeği antioksidanı tozu dikkate değer düzeyde fenolik bileşik içerdiği ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen fizikokimyasal özelliklere ek olarak,

toz ürünün depolama süresi ve koşullarında stabilitesinin değerlendirileceği çalışmaların da gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Benzerlik oranı (iThenticate): %7

Kaynaklar

- [1] C. Yamashita, M. M. S. Chung, C. dos Santos, C. R. M. Mayer, I. C. F. Moraes, and I. G. Branco, Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 256–262, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.063>.
- [2] V. Hernández, J. M. Romero-García, J. A. Dávila, E. Castro, and C. A. Cardona, Techno-economic and environmental assessment of an olive stone based biorefinery. *Resources, Conservation and Recycling*, 92, 145–150, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.09.008>.
- [3] F. J. Gomez-de la Cruz, P. J. Casanova-Pelaez, J. M. Palomar-Carnicero, and F. Cruz-Peragon, Drying kinetics of olive stone: A valuable source of biomass obtained in the olive oil extraction. *Energy*, 75, 146–152, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.06.085>.
- [4] A. Moubarik and N. Grimi, Valorization of olive stone and sugar cane bagasse by-products as biosorbents for the removal of cadmium from aqueous solution. *Food Research International*, 73, 169–175, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.050>.
- [5] E. Shannon, A. K. Jaiswal, and N. Abu-Ghannam, Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: a kinetic study. *Food Research*, 2(1), 1–11, 2017. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).117](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).117)
- [6] M. Al-Farsi, A. Al-Amri, A. Al-Hadhrami, and S. Al-Belushi, Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*, 4, e00874, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00874>.
- [7] V. G. L. Souza, A. L. Fernando, J. R. A. Pires, P. F. Rodrigues, A. A. S. Lopes, and F. M. B. Fernandes, Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.056>.
- [8] L. F. Ballesteros, M. J. Ramirez, C. E. Orrego, J. A. Teixeira, and S. I. Mussatto, Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 237, 623–631, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>.
- [9] R. Gonzalez-Ortega, M. Faieta, C. D. Di Mattia, L. Valbonetti, and P. Pittia, Microencapsulation of olive leaf extract by freeze-drying: effect of carrier composition on process efficiency and technological properties of the powders. *Journal of Food Engineering*, 285, 110089, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110089>.
- [10] J. A. Pellicer, M. I. Fortea, J. Trabal, M. I. Rodríguez-López, J. A. Gabaldon, and E. Núñez-Delgado, Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed. *Powder Technology*, 347, 179–185, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.03.010>.
- [11] S. N. Dirim, G. Çalışkan, and K. Ergun, Dondurularak kurutulmuş bazı meyve tozlarının toz ürün özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 40(2), 85–92, 2015. <https://doi.org/10.15237/gida.GD14059>.
- [12] E. Nakilcioğlu-Taş and S. Ötleş, Polyphenols from olive stones: extraction with a pilot scale pressurized water extractor, microencapsulation by spray-dryer and storage stability evaluation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 849–861, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00333-y>.
- [13] S. L. Kosaraju, L. D'ath, and A. Lawrence, Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate. Polymers*, 64(2), 163–167, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.11.027>.
- [14] S. L. Young, X. Sarda, and M. Rosenberg, Microencapsulating properties of whey proteins.1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. *Journal of Dairy Science*, 76, 2868–2877, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77625-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77625-0).
- [15] E. M. Littringer, M. F. Noisternig, A. Mescher, H. Schroettner, P. Walzel, U. J. Griesser, and N. A. Urbanetz, The morphology and various densities of spray dried mannitol. *Powder Technology*, 246, 193–200, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.05.04>
- [16] R. L. Carr, Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering*, 72, 163–168, 1965.
- [17] M. R. I. Shishir, F. S. Taip, N. A. Aziz, and R. A. Talib, Physical properties of spray-dried pink guava (*Psidium guajava*) powder. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 74–81, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.011>.
- [18] Hausner H.H., Friction conditions in a mass of metal powder. *The International Journal of Powder Metallurgy*, 3(4), 7–13, 1967.
- [19] Y. Z. Cai and H. Corke, Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65(6), 1248–1252, 2000. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- [20] R. V. B. Fernandes, S. V. Borges, and D. A. Botrel, Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 171–178, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013000500025>.
- [21] S. Jaya and H. Das, Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, 63(2), 125–134, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00135-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00135-3)

- [22] A. M. Goula and K. G. Adamopoulos, Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I. Drying kinetics and product recovery. *Drying Technology*, 26(6), 714–725, 2008. <https://doi.org/10.1080/07373930802046369>.
- [23] M. Koç, Ö. Güngör, A. Zungur, B. Yalçın, İ. Selek, F. Kaymak-Ertekin, and S. Ötles, Microencapsulation of extra virgin olive oil by spray drying: Effect of wall materials composition, process conditions, and emulsification method. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 301–318, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1404-9>.
- [24] M. Fuchs, C. Turchiuli, M. Bohin, M. E. Cuvelier, C. Ordonnaud, M. N. Peyrat-Maillard, and E. Dumoulin, Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27–35, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>
- [25] N. Jinapong, M. Suphantharika, and P. Jammong, Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194–205, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032>.
- [26] C. Saénz, S. Tapia, J. Chávez, and P. Robert, Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>.
- [27] A. Luca, B. Cilek, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu, Storage and baking stability of encapsulated sour cherry phenolic compounds prepared from micro- and nano-suspensions. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 204–211, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1048-1>.
- [28] V. L. Singleton and J. A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–153, 1965.
- [29] Y. Li, C. Guo, J. Yang, J. Wei, J. Xu, and S. Cheng, Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254–260, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>.
- [30] D. Heimler, P. Vignolini, M. G. Dini, and A. Romani, Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(8), 3053–3056, 2005. <https://doi.org/10.1021/jf049001r>.
- [31] L. Zhang and S. L. Kosaraju, Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. *European Polymer Journal*, 43(7), 2956–2966, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.04.033>.
- [32] K. Konecni, Analysis and entrapment of select antioxidants from chokecherry and saskatoon berry fruits. Master Thesis, The University of Saskatchewan, Saskatchewan, Canada, 2011.
- [33] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*, 28, 25–30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [34] C. Guo, J. Yang, J. Wei, Y. Li, J. Xu, and Y. Jiang, Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719–1726, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>.
- [35] J. Z. Xu, S. Y. V. Yeung, Q. Chang, Y. Huang, and Z.-Y. Chen, Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. *British Journal of Nutrition*, 91(6), 873–881, 2004. <https://doi.org/10.1079/BJN20041132>.
- [36] S. Yerlikaya and H. Şen Arslan, Dondurularak ve püskürtülerek kurutulmuş süt tozlarının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 677–687, 2019.
- [37] İ. Tontul, F. Ergin, E. Eroğlu, A. Küçükçetin, and A. Topuz, Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying. *International Dairy Journal*, 85, 169–176, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.002>.
- [38] D. Yıldız Turgut and A. Bayır Yeğin, Kamkat tozunun fizikokimyasal özellikleri üzerine farklı kurutma uygulamalarının etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(4), 477–488, 2019. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.569808>.
- [39] S. N. Dirim and G. Çalışkan, Determination of the effect of freeze drying process on the production of pumpkin (*Cucurbita moschata*) puree powder and the powder properties. *Gıda*, 37(4), 203–210, 2012.
- [40] E. Ergüney, Z. Gülsünoğlu, E. Fıratlıgil-Durmuş, and M. Kılıç-Akyılmaz, Karayemiş tozu fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi. *Akademik Gıda*, 13(2), 108–114, 2015.
- [41] S. Quispe-Condori, M. D. A. Saldaña, and F. Temelli, Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1880–1887, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.005>.
- [42] T. Laokuldilok and N. Kanha, Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 405–411, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.015>.
- [43] G. Çalışkan, K. Ergün and S. N. Dirim, Freeze drying of kiwi (*Actinidia deliciosa*) puree and the powder properties. *Italian Journal of Food Science*, 27, 385–397, 2015. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v282>.
- [44] İ. Türker, B. Koç, and H. İşleroğlu, Effect of spray-freeze drying process on physical properties of maltodextrin. *Gıda*, 43(2), 197–210, 2018. <https://doi.org/10.15237/gida.GD17101>.

- [45] L. Sturm, I. G. O. Črnivec, K. Istenič, A. Ota, P. Megušar, A. Slukan, M. Humar, S. Levic, V. Nedović, R. Kopinč, M. Deželak, A. P. Gonzales, and N. P. Ulrich, Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioproducts Processing*, 116, 196–211, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.05.008>.
- [46] H. Baykal, K. Karais, G. Çalışkan Koç, and S. N. Dirim, Tarçın, keçiyoynuzu ve zencefil ile zenginleştirilerek üretilmiş keçi sütü tozlarının özellikleri. *Gıda*, 43(4), 716–732, 2018. <https://doi.org/10.15237/gida.gd18046>.
- [47] Y. R. R. S. Rezende, J. P. Nogueira, and N. Narain, Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254(February), 281–291, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>.
- [48] I. P. Turkiewicz, A. Wojdyło, K. Tkacz, K. Lech, A. Michalska-Ciechanowska, and P. Nowicka, The influence of different carrier agents and drying techniques on physical and chemical characterization of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) microencapsulation powder. *Food Chemistry*, 323, 126830, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126830>.
- [49] S. H. Omar, P. G. Kerr, C. J. Scott, A. S. Hamlin, and H. K. Obied, Olive (*Olea europaea* L.) biophenols: a nutraceutical against oxidative stress in SH-SY5Y cells. *Molecules*, 22, 1–20, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22111858>

