



Yanıt Yüzey Metodolojisi Kullanılarak Brassica oleracea var. capitata L. (Lahana) Bitki Ekstresinin Mikroenkapsülasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

*Makale Bilgisi / Article Info
Alındı/Received: 20.02.2023
Kabul/Accepted: 26.01.2024
Yayımlandı/Published: 27.02.2024

Microencapsulation and Characterization Studies of Brassica oleracea var. capitata L. (Cabbage) Plant Extract Using Response Surface Methodology

Elif KÖKSAL^{1*}, Fethiye GÖDE²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, 32000, Isparta, Türkiye

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32000, Isparta, Türkiye

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

Öz

Çalışmamızda S-metilmetyonin (vitamin U) etken maddesini içeren lahana bitki ekstraktının, Jelatin-Arap zamkı (GE-GA) ve Jelatin-Sodyum aljinattan(GE-SA) oluşan iki farklı doğal polimerik duvar materyali kullanılarak kompleks koaservasyon yöntemiyle başarılı bir şekilde mikroenkapsüle edilmiştir. Kapsülleme verimliliği koşulları optimize etmek için bir yanıt yüzeyi metodolojisi (RSM) kullanılmıştır. Mikroenkapsülenmiş lahana ekstraktının kapsülleme verimliliği farklı polimerler kullanılarak iki değişken açısından araştırılmıştır: çekirdek madde miktarı(g) ve çapraz bağlayıcı miktarı (mL). Deneysel sonuçta elde edilen en yüksek verimler jelatin- arap zamkı için %67,72 ve jelatin-sodyum aljinat için de %54,68 olarak bulunmuştur. En yüksek verimlilik elde edilen mikrokapsüllerin morfolojik yapıları optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Etken maddenin ve mikrokapsülasyonda kullanılan bileşiklerin sistemdeki varlığının belirlenmesi ve elde edilen mikrokapsüllerde etken maddenin spektrum değişiminin gözlenmesi için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: S-metilmetyonin (vitamin U); Mikroenkapsülasyon; Yanıt Yüzey Metodolojisi; Enkapsülasyon Verimliliği.

Abstract

In our study, cabbage plant extract containing the active ingredient S-methylmethionine (vitamin U) was successfully microencapsulated by complex coacervation method using two different natural polymeric wall materials consisting of Gelatin-Gum Arabic (GE-GA) and Gelatin-Sodium alginate (GE-SA). A response surface methodology (RSM) was used to optimize the encapsulation efficiency conditions. The encapsulation efficiency of the microencapsulated cabbage extract was investigated using different polymers in terms of two variables: the amount of core material (g) and the amount of crosslinker (mL). The highest yields obtained as a result of the experiments were 67.72% for gelatin-gum arabic and 54.68% for gelatin-sodium alginate. The morphological structures of the microcapsules with the highest efficiency were examined by optical microscope and scanning electron microscope (SEM). The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) was used to determine the presence of the active substance and the compounds used in microencapsulation in the system and to observe the spectrum change of the active substance in microcapsules.

Keywords S-Methylmethionine (Vitamin U); Microencapsulation; Response Surface Methodology; Encapsulation Efficiency

1. Giriş

Son yıllarda vücutta fizyolojik etkiler sağlayan, bazı hastalıkların oluşma riskini azaltan, koruyucu, önleyici ve tedavi edici özellikleri olan fonksiyonel gıdalara kullanma eğilimi artmıştır. Besleyici bileşikler açısından yüksek değere sahip olan lahana bitkisi bu fonksiyonel gıda besinleri içerisinde yer almaktadır. Brassicaceae familyasının en çeşitli türlerinden birisi olan lahana (Brassica oleracea var. capitata L.) bitkisi, geniş adaptasyon kabiliyeti, maliyet açısından uygun olmasının yanında içerdiği fitokimyasallar, polifenoller,

glukosinolatlar, karotenoidler, vitaminler sayesinde insan diyetinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Warwick et al. 2006, Jahangir et al. 2009, Cvetković et al. 2019). Lahana bitkisi, yüksek antioksidan ve antibakteriyel, anti-inflamatuar ve anti-oksidatif biyoaktiviteleri ve sağlık açısından faydaları nedeniyle geleneksel tıpta da ciddi bir yere sahiptir (Şamec et al. 2011, Williams et al. 2013, Siddiqui 2019). Bununla birlikte yapılan tıbbi araştırmalarda, peptik ülser tedavisinde lahana bitkisinin olumlu etkileri olduğunu bildirmiştir. Peptik ülser, gastrointestinal hastalıklar arasında ciddi bir hastalık olarak bilinmektedir. Bu hastalıkların tedavisinde birçok

tıbbi ilaç kullanılmaktadır. Alternatif tedaviler olarak tıbbi değeri olan bitkilerin bu tür hastalıkların önlenmesi ve iyileştirici özelliklerine yönelik araştırmalar yapılmaktadır. U vitamini (S-metilmetyonin), gastrointestinal mukoza üzerindeki faydalı etkileri ile iyileştirici özelliğine sahip ve doğal fizyolojik olarak aktif bileşikler grubuna ait maddedir. Özellikle Brassicaceae familyası bitkilerinde (beyaz lahana, karalahana, brokoli vb.) bulunan bu madde, iyi bir anti-ülser faktörü kaynağı olarak bilinmektedir (Kim et al. 2010). Yapılan çalışmalarda bitkiye özgü aktif bileşen S-metilmetyonin varlığının yanı sıra lahana bitkisinde L-metyonin, L-glutamin, L-histidin, L-lisin, aspartik asit gibi çeşitli aminoasitlerin de olduğu belirtilmiştir (Song vd. 2017; Köksal vd., 2023).

Fonksiyonel özelliklere sahip bitkilerde yer alan bu biyoaktif bileşenler çoğunlukla kararsız bir yapıya sahiptir ve dış çevresel faktörlerde (ısı, nem, sıcaklık, oksijen gibi) kolayca bozulma reaksiyonları gösterebilmektedir. Bu nedenle bu önemli aktif bileşenlerin dış ortam koşullarından korunması ve uzun süreli, etkili ve amaca yönelik kullanımlarını sağlamak önemlidir. Mikroenkapsülasyon tekniği bu bileşenlerin korunması için yararlanılan en önemli tekniklerden birisidir. Mikroenkapsülasyon, mikron boyutundaki katı partikülleri veya sıvı veya gaz damlacıklarını polimerik, inert bir kabuk içine yerleştirmek, onları dış ortamdan koruyan, izole eden ve aktif bileşiğin istenilen koşullar altında kontrollü salınımını sağlayan bir işlem olarak tanımlanır (Dubey et al. 2009, Jyothi et al. 2010, Devi et al. 2012, Pérez-Limiñana et al. 2014, Tözüm 2019, Köksal et al. 2022). Mikrokapsüller çekirdek (aktif) bileşen ve kabuk veya duvar (kaplama) malzemesi olarak iki kısımdan oluşur (Nesterenko et al. 2014, Moral vd. 2021). Çekirdek malzeme mikrokapsüllenecek aktif bileşeni içerirken, kabuk malzemesi ise çekirdek malzemeyi çevreleyen ve aktif bileşeni koruyan malzemedir. Çekirdek malzemenin kapsülleme için farklı teknikler vardır.

Mikrokapsüle edilecek çekirdek malzemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak kullanılan teknikler de değişmektedir (Kwak, 2014, Siddiqui, 2019). Bu çalışmada faz ayrımı olarak tanımlanan bir fiziko-kimyasal yöntem olarak bilinen kompleks koaservasyon yöntemi kullanılarak mikroenkapsülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kompleks koaservasyon metodu esas olarak iki veya daha fazla zıt yüklü polimer çözeltisi arasındaki elektrostatik etkileşimler yoluyla meydana gelen faz ayrımına dayanan bir yöntem olarak bilinmektedir (Wang et al. 2014, Bayram vd. 2020; Köksal

vd. 2022). Kompleks koaservasyon yönteminde pH, karıştırma hızı, sıcaklık ve konsantrasyon kapsüllemeyi etkileyen önemli faktörlerdir (Eghbal and Choudhary 2018, Timilsena et al. 2019, Moral vd. 2021).

Yanıt yüzeyi metodolojisi (RSM), süreç değişkenlerinin sonuç ve deneysel optimizasyon üzerindeki etkilerini belirlemek için kullanılır. Bu yöntem, deney tasarlamayı, deneysel verilerin yanıtlar (bağımlı değişkenler) üzerindeki etkilerinin belirlenmesini ve bu etkilerin matematiksel modellerle ifade edilmesini ve parametrelerin optimizasyonunu içerir (Pilkington et al. 2014, Li et al. 2017, Köksal et al. 2022). Çalışmamızda öncelikli olarak fonksiyonel özelliklere sahip olduğu bilinen lahana bitki ekstresinin mikroenkapsülasyon prosesini etkileyen iki bağımsız değişkenin (çekirdek miktarı ve çapraz bağlayıcı miktarı) yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanılarak ile oluşturulan deney setinden yararlanarak mikroenkapsülasyon, enkapsülasyon verimliliği ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Deneysel proseste kullanılan kimyasallar

Çalışmada mikrokapsül çekirdek (etken) maddesi olarak kullanılan *Brassica* sebzeleri, lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) yerel bir marketten satın alındı. Çalışmada aktif bileşen (etken madde) olan DL- Metionin Metilsülfonyum Klorür (S-metilmetyonin, vitamin –U) TCI'den (Tokyo Chemical Industry, Japonya) temin edilmiştir. Mikroenkapsülasyon prosesinde kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 1'de ve kullanılan kimyasal maddelerin kimyasal formülleri Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Lahana bitki ekstraktının enkapsülasyonundaki deneysel tasarım, yanıt yüzey metodolojisi ile Miniatab16 yazılımı (Geçerlilik tarihi: Süresiz) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel tasarım oluşturulurken kompleks koaservasyon sürecini etkileyebilecek iki bağımsız değişken seçilmiştir. Bunlar; çekirdek (etken madde) miktarı (5.000-7.000 g) ve çapraz bağlayıcı miktarıdır (3 mL-5mL).

2.3. Mikroenkapsülasyon prosesi

Çekirdek malzemesi olarak lahana bitki ekstresinin ekstraksiyon prosesi bir önceki çalışmamızdan yararlanılarak sokslet ekstraksiyon metodu uygulanarak hazırlanmıştır (Köksal et al. 2023). Lahana bitki ekstraktı içeren mikrokapsüller küçük değişikliklerle literatürden yararlanarak kompleks koaservasyon yöntemine göre hazırlandı (Köksal ve Gode 2017, Kim et al. 2019). Duvar


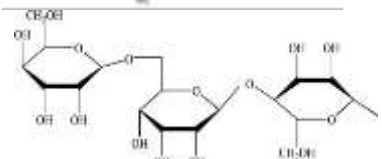
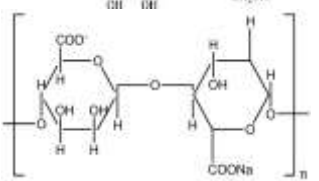
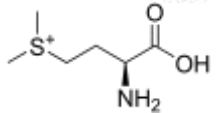
malzemesi olarak iki farklı polimer karışımı hazırlanmıştır.

Çizelge1. Mikroenkapsülasyon prosesinde kullanılan kimyasal maddeler ve kullanım özellikleri

Kimyasal Madde	Marka	Kullanım amacı
Jelatin	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, ABD)	Mikroenkapsülasyon prosesinde duvar materyali olarak kullanılmıştır.
Arap Zamkı	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, ABD)	Mikroenkapsülasyon prosesinde duvar materyali olarak kullanılmıştır.
Sodyum Aljinat	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, ABD)	Mikroenkapsülasyon prosesinde duvar materyali olarak kullanılmıştır.
Gluteraldehit	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, ABD)	Mikroenkapsül duvarının sertlik özelliği kazanması için çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır.
Asetik Asit	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, ABD)	pH ayarlaması için kullanılmıştır.

2.2. Deneyel tasarım

Çizelge2. Mikroenkapsülasyon prosesinde kullanılan kimyasal maddelerin kimyasal yapıları

Kimyasal Maddeler	Kimyasal yapısı
Jelatin	
Arap Zamkı	
Sodyum Aljinat	
S-Metilmetyonin	

Birinci polimer karışımı Jelatin-Sodyum aljinat (3.5:1) kullanılarak hazırlandı ve ikinci polimer karışımı Jelatin-Arap zamkı (1:1) kullanılarak hazırlandı. Bu oranlar benzer çalışmalardan yararlanarak oluşturulmuştur ve koaservat oluşumu için tüm deneyler için polimerlerin optimize ağırlık oranları korunmuştur. Çekirdek malzeme (lahana bitkisi özü), Jelatin-Arap zamkı ve Jelatin-Sodyum

aljinat polimer karışım çözeltilerine ayrı ayrı damla damla ilave edildi. Karışımlar 50°C, 1500 rpm'de 15 dakika homojenize edildi. Emülsiyonların pH'ı, %10 (%v/v) asetik asit ilave edilerek Jelatin-Arap zamkı solüsyonu için 4-4,5'e ve Jelatin/Sodyum aljinat solüsyonu için 3,5-3,75'e düşürüldü. Bu pH değerleri, polimerler ile kompleks koaservasyon oluşumunu sağlayan izoelektronik noktalar arasındaki elektrostatik etkileşime göre belirlendi (Devi et al. 2012, Gomez-Estacaab et al. 2016, Köksal ve Göde 2017, Köksal vd. 2022). Sistemlerin sıcaklığı buzlu su banyosu yardımıyla 5-10 °C'ye düşürüldü ve çözeltiler manyetik karıştırıcı ile 500 rpm'de 1 saat karıştırıldı. Daha sonra her sisteme çapraz bağlayıcı olarak 3 mL glutaraldehit ilave edildi ve aynı koşullarda bir saat daha karıştırıldı. Elde edilen mikrokapsüller daha sonra deiyonize su ile yıkandı ve 48 saat dondurularak (freeze dryer) kurutuldu. Nihai mikrokapsüller daha sonra analiz için buzdolabında saklandı.

2.4. Mikrokapsüllerin karakterizasyonu

Yanıt yüzey metodolojisi yardımıyla oluşturulan deney setinden en yüksek verimlilik elde edilen her iki polimer kompleksinde hazırlanan mikrokapsüllerin optik mikroskop (Bueco, BM-2000) ve SEM cihaz (FEI-Quanta FEG250) görüntüleri alınarak mikrokapsüllerin kabuk, yüzey morfolojileri hakkında gözlemler yapılmıştır. JASCO FT/IR 4700 spektrofotometre cihazı ile FTIR spektroskopisi, üretilen mikrokapsüllerde duvar ve çekirdek malzemelerinin varlığını belirlemek, kimyasal yapıları ve etkileşimlerini incelemek için kullanıldı.

2.5. Enkapsülasyon verimliliği

Deney tasarımındaki parametrelere göre deneyler sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin verimi Denklem 1 yardımıyla gravimetrik olarak hesaplanmıştır. Enkapsülasyon verimliliği (EV) benzer çalışmalardan yararlanılarak belirlenmiştir (Ocak 2012, Sittipummonkol et al. 2019). Denklemde toplam ekstrakt miktarı deney setine göre kullanıldığı bilinen ekstrakt miktarını (Ocak 2012), yüzey ekstrakt miktarı ise kapsül ile yüzey arasında kalan kapsüllenmemiş ekstrakt miktarını temsil etmektedir.

$$EV\% = \frac{T_{EM} - Y_{EM}}{T_{EM}} \quad (1)$$

T_{EM}: Toplam ekstrakt miktarı

Y_{EM}: Yüzey ekstrakt miktarı

Yüzey ekstraktı miktarı hesaplanırken kapsül numunesi 50 mL n-hekzan içeren bir erlenmeyer şişesine

yerleştirildi ve karışım kapsül tahribatı ve yapısı bozulmadan 3 dk hafifçe çalkalandı. Bu prosedür üç kez tekrarlandı. Daha sonra çözelti filtre kağıdı ile süzülde ve n-hekzan döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırıldı. Bu işlem deney tasarımındaki tüm mikrokapsül numuneleri için ayrı ayrı uygulanmıştır.

3. Bulgular

3.1. Deneysel tasarımın oluşturulması

Lahana bitki ekstraktının iki farklı polimer kompleksinde mikrokapsülleme etkinliği yanıt yüzey metodolojisi ile iki bağımsız değişken kullanılarak oluşturulan deney seti Çizelge 3’de verilmiştir.

Yanıt yüzey metodolojisi ile iki faktörlü ve on üç adet deney seti elde edilmiştir. On üç adet deney için belirtilen koşullar altında Jelatin- Sodyum aljinat ve Jelatin-Arap zamkı kompleksinde sırasıyla denklem 2 ve denklem 3 yardımıyla hesaplanan deneysel verimler (%EV) Çizelge 3’de verilmiştir.

Deneysel %EV değerleri yanıt yüzey metodolojisi ve varyans analizi (ANOVA) ile analiz edildi. ANOVA test sonuçları Çizelge 4 ve Çizelge 5’de gösterilmiştir. Belirlenen iki değişkenin deneysel verimlilik üzerindeki etkileri 3D yüzey grafikleri ile Şekil 1 ve Şekil 2’de gösterilmiştir.

$$\%EV = 68,4 - 18,44 * A + 19,23 * B + 0,742 * A * A - 4,099 * B * B + 2,305 * A * B \quad (2)$$

$$\%EV = -115,0 + 37,8 * A + 12,78 * B - 2,399 * A * A - 1,004 * B * B - 0,167 * A * B \quad (3)$$

iki farklı polimer kompleksinde hazırlanan mikrokapsül numunelerinin ANOVA sonuçlarına bakıldığında incelendiğinde, her iki mikrokapsül numuneleri için doğrusal çekirdek miktarı ($p < 0,050$) ve çapraz bağlayıcı ($p < 0,050$) anlamlılık önemlilik göstermektedir. Modelde Jelatin-Sodyum aljinat mikrokapsül numunesinde çekirdek miktarı ve çapraz bağlayıcı miktarı kareleri anlamlılık önemlilik göstermektedir ($p < 0,050$). Bununla birlikte Jelatin/Arap zamkı mikrokapsül numunesinde çekirdek miktarı kareleri önemli iken ($p < 0,050$), çapraz bağlayıcı karesi anlamlı değildir ($p > 0,050$).

Model uyumsuzluğu uyumsuzluk değeri p değerleri Jelatin-Sodyum aljinat mikrokapsül numunesi için 0,145, Jelatin-Arap zamkı mikrokapsül numunesi için ise 0,078 gösterdi bulunmuştur. Bu durum model ile verilerin uyduğunu göstermektedir (Bayram vd. 2020, Moral vd.

2021). R^2 değerleri sırasıyla %99,42 ve %91,86 bulunmuştur.

Çizelge 3. RSM deney tasarımı ile iki bağımsız değişkenli ve deneysel olarak elde edilen %EV değerleri

Deney No	Çekirdek Miktarı (g)	Çapraz Bağlayıcı (mL)	Enkapsülasyon verimliliği (% EV) Jelatin- Sodyum Aljinat	Enkapsülasyon verimliliği (%EV) Jelatin- Arap Zamkı
1	7,00000	4,00000	51,31	60,28
2	6,00000	3,00000	46,35	51,78
3	8,41421	4,00000	54,68	63,58
4	7,00000	2,58579	40,28	54,58
5	5,58579	4,00000	51,64	53,14
6	7,00000	4,00000	51,65	62,78
7	8,00000	5,00000	54,64	63,47
8	8,00000	3,00000	44,25	58,78
9	6,00000	5,00000	47,52	57,14
10	7,00000	4,00000	51,82	62,49
11	7,00000	4,00000	51,30	62,48
12	7,00000	4,00000	51,98	62,85
13	7,00000	5,41421	46,68	67,72

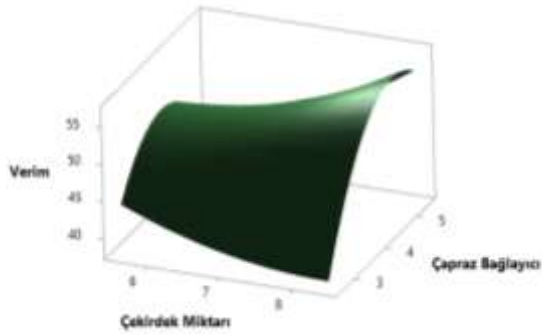
Çizelge 4. Lahana ekstraktının kapsülleme verimliliği Jelatin-Sodyum aljinat için ANOVA sonuçları

	DF	Ardışık kareler toplamı	Kareler toplamı	F-Değeri	P-Değeri
Model	5	213,587	42,717	238,39	0,000
Doğrusal	2	63,957	31,979	178,46	0,000
Çekirdek Miktarı	1	10,856	10,856	60,58	0,000
Çapraz Bağlayıcı	1	53,101	53,101	296,34	0,000
Kare	2	128,378	64,189	358,22	0,000
Çekirdek Miktarı*Çekirdek Miktarı	1	3,825	3,825	21,35	0,002
Çapraz Bağlayıcı*Çapraz Bağlayıcı	1	116,854	116,854	652,12	0,000
2-Yönlü Etkileşim	1	21,252	21,252	118,60	0,000
Çekirdek Miktarı*Çapraz Bağlayıcı	1	21,252	21,252	118,60	0,000
Hata	7	1,254	0,179		
Uyum Eksikliği	3	0,886	0,295	3,20	0,145
Saf Hata	4	0,369	0,092		
Toplam	12	214,842			
S	R²	R²(düzeltilmiş)	R²(tahmini)		
0,423308	99,42%	99,00%	96,80%		

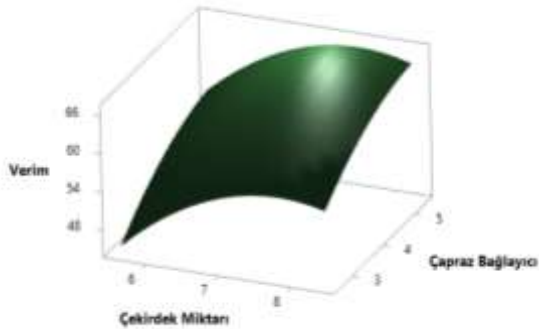
Çizelge 5. Lahana ekstraktının kapsülleme verimliliği Jelatin-Arap zamkı için ANOVA sonuçları

	DF	Ardışık kareler toplamı	Kareler toplamı	F-Değeri	P-Değeri
Model	5	244,654	48,931	15,81	0,001
Doğrusal	2	201,141	100,571	32,49	0,000
Çekirdek Miktarı	1	98,662	98,662	31,88	0,001
Çapraz Bağlayıcı	1	102,479	102,479	33,11	0,001
Kare	2	43,400	21,700	7,01	0,021
Çekirdek Miktarı*Çekirdek Miktarı	1	40,024	40,024	12,93	0,009
Çapraz Bağlayıcı*Çapraz Bağlayıcı	1	7,007	7,007	2,26	0,176
2-Yönlü Etkileşim	1	0,112	0,112	0,04	0,854
Çekirdek Miktarı*Çapraz Bağlayıcı	1	0,112	0,112	0,04	0,854
Hata	7	21,666	3,095		
Uyum Eksikliği	3	17,061	5,687	4,94	0,078
Saf Hata	4	4,605	1,151		
Toplam	12	266,320			
S	R²	R²(düzeltilmiş)	R²(tahmini)		
1,75930	91,86%	86,05%	51,74%		

Belirlenen iki değişkenin deneysel verimlilik üzerindeki etkileri 3D yüzey grafikleri ile Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde her iki mikrokapsül numuneleri için çapraz bağlayıcı miktarının deneysel verimi arttırdığı görülmüştür. Öte yandan çekirdek miktarının artmasıyla Jelatin-Sodyum aljinat mikrokapsül verimliliğinde azalma (Şekil 1), Jelatin-Arap zamkı mikrokapsül verimliliğinde artma gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. Üç boyutlu tepki yüzey çizimleri (jelatin- sodyum aljinat için): % EV (Z eksen) ile çekirdek madde (g, X eksen) ve çapraz bağlayıcı miktarı (mL, Y eksen) grafiği



Şekil 2. Üç boyutlu tepki yüzey çizimleri (jelatin- arap zamkı için): % EV (Z eksen) ile çekirdek madde (g, X eksen) ve çapraz bağlayıcı miktarı (mL, Y eksen) grafiği

3.2. Mikrokapsüllerin morfolojik analizleri

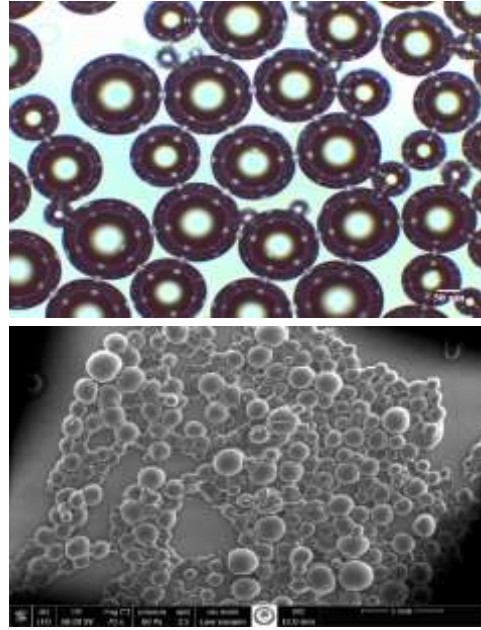
Yanıt yüzey metodolojisinden oluşturulan deney setinden elde edilen değerler kullanılarak en yüksek verimliliğe sahip mikrokapsüllerin morfolojik analizi optik mikroskop ve SEM ile yapılmıştır. Şekil 3'te Jelatin-Arap zamkı mikrokapsüllerine ait, Şekil 4'te ise Jelatin-Sodyum aljinat mikrokapsül numunelerine ait optik mikroskop ve SEM görüntüleri verilmiştir.

Mikrokapsül numunelerinin morfolojik görüntüleri incelendiğinde (Şekil 3 ve Şekil 4), mikrokapsüllerin genellikle küresel şeklinde olduğu gözlenmiştir. Mikrokapsüllerin yüzey morfolojilerinin homojen ve çeşitli boyutlarda genel olarak 20-100 µm arasında

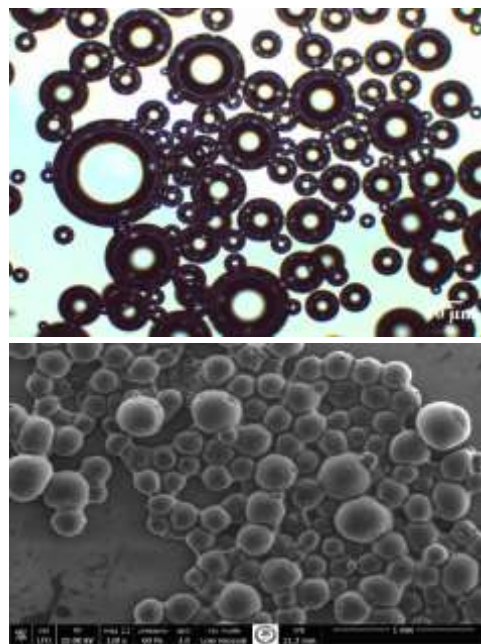
olduğu görülmüştür. Mikrokapsüllerin SEM görüntülerindeki farklı boyutlarda mikrokapsüllerin oluşumu ve kapsüllerin kümelenmiş görünümü kurutma ve ayırma işlemlerinden kaynaklanmıştır.

3.3. FTIR analizleri

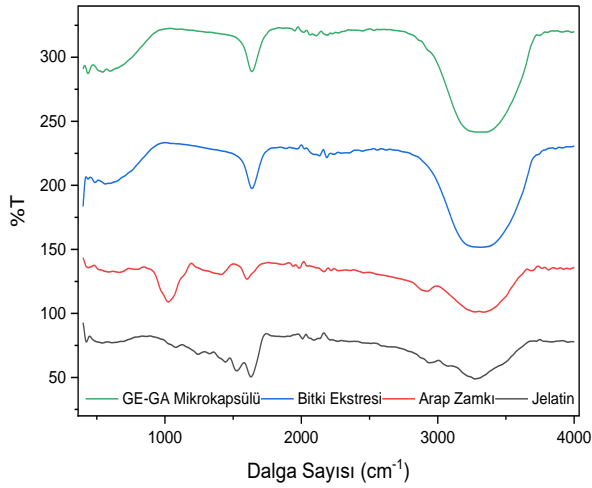
Jelatin-Sodyum aljinat ve Jelatin-Arap zamkı mikrokapsüllerin, lahana bitkisi ekstresinin, jelatin, sodyum aljinat ve arap zamkı duvar malzemelerinin FTIR spektrumları Şekil 5-7'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Jelatin-Arap zamkı mikrokapsüllerine ait (a) optik mikroskop; (b) SEM görüntüleri



Şekil 4. Jelatin-Sodyum aljinat mikrokapsüllerine ait (a) optik mikroskop; (b) SEM görüntüleri

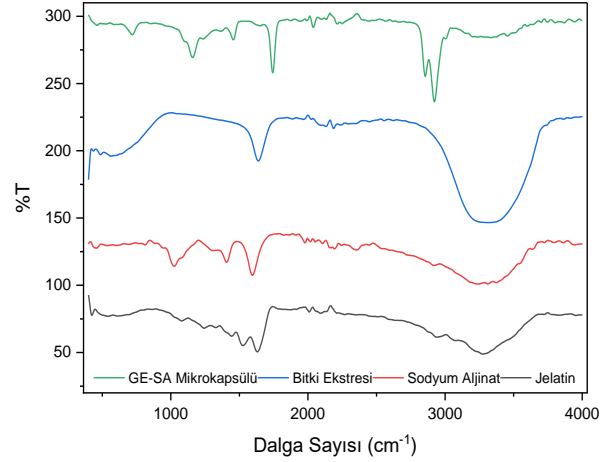


Şekil 5. Jelatin-Arap zamkı (GE-GA) mikrokapsül, lahana bitki ekstresi, Jelatin ve Arap zamkı duvar polimerlerine ait IR spektrum grafiği

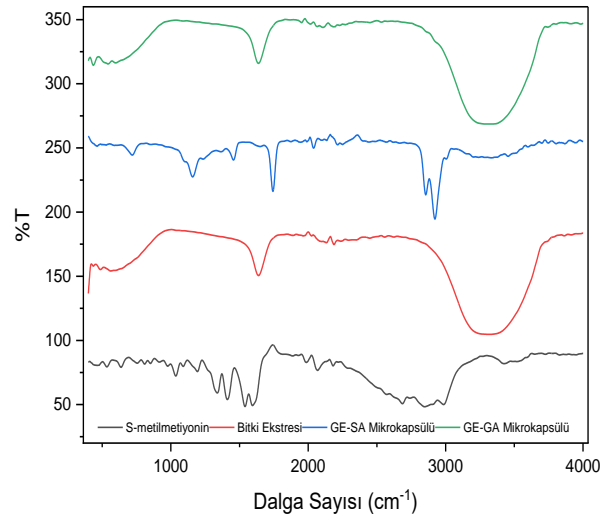
Şekil 5'teki IR spektrumları incelendiğinde Jelatin ve Arap zamkında $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ aralığında geniş bir bant gözlenmiştir. Bu bantlar, yapıdaki amino ve hidroksil gruplarının gerilme titreşimine karşılık gelmektedir. Jelatin- Arap zamkı mikrokapsülün IR spektrumunda, mikrokapsülde jelatin ve arap zamkı varlığını destekleyen yaklaşık 3250 cm^{-1} civarında geniş bir bant gözlemlendi. Lahana ekstraktının 2900 cm^{-1} civarında C-H gerilme titreşimine karşılık gelen bantlar, her iki mikrokapsül yapısında da benzer bantlarda gözlemlendi. Ekstraktın yaklaşık 1600 cm^{-1} bandı, Zhang vd. (2011) tarafından da gözlemlendiği gibi, yapıdaki amid grubuna atanabilir. Arap zamkı spektrumunda 2900 cm^{-1} 'de görülen zayıf bant, negatif yüklü karboksilik grupların karakteristik zirvesidir. Jelatinin pozitif yüklü amino gruplarının ve Arap zamkının negatif yüklü karboksil gruplarının koaservasyonunda, Jelatin- Arap zamkı bazlı mikrokapsül spektrumunda yaklaşık 1600 cm^{-1} 'de amid oluşumu gözlemlendi. Mikrokapsüllerin IR spektrumunda 1600 cm^{-1} civarında görülen bu bant, yapıya duvar polimerlerinin ve lahana ekstraktının varlığını desteklemiştir.

Jelatin-Sodyum aljinat koaservasyonunda gözlemlenen amid zirvesi, Jelatin-Sodyum aljinat bazlı mikrokapsül spektrumunda hafif bir kayma gösterdi (Şekil 6). Bu durum, negatif yüklü Sodyum aljinat gruplarının, pozitif yüklü Jelatin gruplarıyla etkileşime girdiğini gösterdi. Jelatin ve lahana bitki ekstresinin spektrumunda 1740 cm^{-1} civarında görülen ve yapıdaki C=O bağına ait gerilme titreşimleri GE-SA mikrokapsülün spektrumunda da aynı bölgede gözlenmiş olup bu sonuç mikrokapsülün istenilen kompozisyonda oluştuğunu ifade etmektedir. 1100 cm^{-1} civarında görülen ve Sodyum aljinatın IR spektrumlarında daha yoğun ve şiddetli ortaya çıkan C-O gerilme titreşimleri GE-SA mikrokapsülün IR

spektrumunda da 1100 cm^{-1} civarında gözlenmektedir. Bu durum da mikrokapsülün yapısını doğrulamaktadır. IR spektrumları incelendiğinde GE-SA mikrokapsülüne kıyasla GE-GA mikrokapsülün yüzeyinde bitki ekstresinin daha iyi tutunduğu gözlenmiştir. Bu durum Arap zamkının yapısından kaynaklı olabileceği, arap zamkının yapısındaki -OH bağının sıvı bitki ekstresiyle etkileşimini ve artış göstermesi şeklinde açıklanabileceği düşünülmektedir (Singh vd. 2010; Goh vd. 2012; Köksal vd. 2023).



Şekil 6. Jelatin-Sodyum aljinat (GE-SA) mikrokapsül, lahana bitki ekstresi, Jelatin ve Sodyum aljinat duvar polimerlerine ait IR spektrum grafiği



Şekil 7. S-Metilmetyonin (Vitamin U), lahana bitki ekstresi, Jelatin-Arap zamkı (GE-GA) mikrokapsül, Jelatin-Sodyum aljinat (GE-SA) mikrokapsülüne ait IR spektrum grafiği

Şekil 7'de S-metilmetyonine ait spektrumlar incelendiğinde, 3100 cm^{-1} civarında görülen pik $-\text{NH}_2$ bandına, yaklaşık 3300 cm^{-1} görülen zayıf yayvan pik ise karboksil grubuna ait $-\text{OH}$ grubuna karşılık gelmektedir. Bu bantlar lahana bitki ekstresinin spektrumunda ise yaklaşık $3100-3500\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen geniş yayvan bant içerisinde kalmaktadır. S-metilmetyonin yaklaşık

1120 cm⁻¹'de görülen -C-S-C- bandı zayıf bir bant olduğu için aynı bant aralığında bitki ekstresi ve mikrokapsül numunlerinin bantlarının altında kalmıştır. Bu nedenle metiyonine ait C-S bantı bitki ekstresi ve mikrokapsül numunelerinde net bir şekilde gözlemlenememiştir. Öte yandan, S-metilmetiyonin IR spektrumunda 1700 cm⁻¹ civarında görülen bantın metiyonin yapısında bulunan karbonil (-C=O) grubuna atfedilebilir. Bitki ekstresinin IR spektrumunda da 1700 cm⁻¹ civarında görülen bu bant, yapıda etken maddeye ait karbonil grubunun varlığını desteklemiştir. S-metilmetiyonin ve bitki ekstresinde karbonil grubuna karşılık gelen bu bantlar her iki mikrokapsül numunlerinin IR spektrumlarında da hafif bir kayma göstererek yaklaşık 1720 cm⁻¹ civarında gözlenmiştir. Bu durumda bitki ekstresinin (çekirdek malzemesinin) mikrokapsül numuneleriyle etkileşime girdiğini, kapsül içerisinde çekirdek malzemesinin ve etken maddenin girdiğini göstermektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Çalışmamızda S-metilmetiyonin (Vitamin U) etken maddesi içeren lahana bitki ekstresi, iki farklı doğal polimerik duvar malzemeleri kullanılarak kompleks koaservasyon metodu ile iki farklı bağımsız değişken ile yanıt yüzey metodolojisinde oluşturulmuş on üç adet deney seti ile mikroenkapsüle edilmiştir. Deneysel sonuçlar incelendiğinde en yüksek enkapsülasyon verimliliği Jelatin-Sodyum aljinat bazlı mikrokapsüller için 8,414 g çekirdek malzeme miktarı ve 4,000 mL çapraz bağlayıcı miktarında %54,68; Jelatin-Arap zamkı bazlı mikrokapsüller için ise 7,000 g çekirdek malzeme miktarı ve 5,414 mL çapraz bağlayıcı miktarında %67,72 olarak elde edilmiştir. Deneysel tasarımında en yüksek verimliliğe sahip mikrokapsüllerin optik mikroskop ve SEM karakterizasyon görüntüleri literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermiştir (Ahn et al. 2008, Mancer et al. 2018, Bayram vd. 2020). Yüzey morfolojilerinin genel olarak 20 ile 100µm arasında homojen ve çeşitli boyutlarda olduğu gözlemlendi. Yüksek verimlilikli mikrokapsüllerin FTIR spektrumları mikrokapsül yapılarının hem çekirdek malzemesi hem de duvar malzemeleri arasındaki etkileşimi doğrulamıştır ve bitki ekstresi ve ekstrenin etken maddesi ile mikrokapsüllerin bantlarındaki benzerlikler ekstrenin kapsüllendiğini göstermiştir. İstatistiksel sonuçlar incelendiğinde her iki polimer kompleksinde hazırlanan mikrokapsüllerde çapraz bağlayıcı miktarındaki artış ile birlikte enkapsülasyon verimliliğinde de artış gözlenmiştir. Öte yandan çekirdek miktarındaki artışın Jelatin-Arap zamkı bazlı mikrokapsüllerin verimliliğinde artmaya, Jelatin-Sodyum aljinat bazlı mikrokapsüllerin

verimliliğinde ise azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. ANOVA sonuçları incelendiğinde modeller anlamlıdır (p<0,05). Uyum eksikliği ve R² değerleri model ile verilerin uyumlu olduğunu göstermiştir. Yanıt yüzey metodolojisinin deneysel süreç tasarımı açıklandığında etkili olduğunu göstermiştir.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar tüm etik standartlara uyduklarını beyan ederler.

Yazarlık Katkı Beyanı

Elif Köksal: Kaynaklar, Araştırma, Deney, Yazma-orijinal taslak
Görselleştirme, Yazma-orijinal taslak
Fethiye Göde: Biçimsel analiz, Doğrulama, Görselleştirme

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak beyan edecekleri hiçbir çıkar çatışması yoktur.

Verilerin Kullanılabilirliği

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, yayınlanan bu makaleye dahil edilmiştir.

Teşekkür

Bu araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: FDK-2019-7330).

5. Kaynaklar

- Ahn, J. H., Kim, Y. P., Lee, Y. M., Seo, E. M., Lee, K. W., and Kim, H. S., 2008. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry*, **107**(1), 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.067>.
- Aksoylu Özbek, Z., and Günç Ergönül, P., 2020. Optimisation of wall material composition of freeze-dried pumpkin seed oil microcapsules: Interaction effects of whey protein, maltodextrin, and gum Arabic by D-optimal mixture design approach. *Food Hydrocolloids*, **107**, 105909. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105909>.
- Bayram, O., Köksal, E., ve Göde, F., 2020. Yanıt Yüzey Metodolojisi Şartlarında Karabaş Otu Yağının Kompleks Koaservasyon Yöntemi ile Enkapsülasyonu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **24**(2), 508-515. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.687943>.
- Devi, N., Hazarika, D., Deka, C., and Kakati, D. K., 2012. Study of complex coacervation of gelatin A and sodium alginate for microencapsulation of olive oil. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **49**, 936-945.

- <https://doi.org/10.1080/10601325.2012.722854>.
- Dubey, R., Shami, T.C., and Rao, K.U.B., 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*, **59**, 82–95. <http://dx.doi.org/10.14429/dsj.59.1489>.
- Goh, C.H., Heng, P.W.S., and Chan, L.W. 2012. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydrate Polymers*, **88(1)**, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.012>.
- Gomez-Estacaab, J., Comuniana, T.A., Monterob, P., Ferro-Furtadoc, R., and Favaro-Trindade, C.S., 2016. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin–cashew gum complex. *Food Hydrocolloids*, **61**, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.005>.
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., and Srawan, G. Y., 2010. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, **27(3)**, 187-197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>.
- Kim, W.-S., Yang, Y. J., Min, H. G., Song, M. G., Lee, J. S., Park, K.-Y., Kim, J.-J., Sung, J.-H., Choi, J.-S., and Cha, H.-J., 2010. Accelerated Wound Healing by S - Methylmethionine Sulfonium: Evidence of Dermal Fibroblast Activation via the ERK1/2 Pathway. *Pharmacology*, **85**, 68–76. <https://doi.org/10.1159/000276495>.
- Köksal, E., Bayram, O., Moral, E., and Gode, F., 2023. Microencapsulation of quinoa extract (*Chenopodium quinoa* Willd.) in response surface methodology conditions: Preparation and Characterization. *Particulate Science and Technology*, **41(2)**, 231-240. <https://doi.org/10.1080/02726351.2022.2072429>.
- Köksal, E., Gode, F., Ozaltın, K., Karakurt, I., Suly, P., and Saha, P., 2023. Controlled Release of Vitamin U from Microencapsulated *Brassica oleracea* L. var. *capitata* Extract for Peptic Ulcer Treatment. *Food and Bioprocess Technology*, **16**, 677-689. <http://doi.org/10.1007/s11947-022-02965-3>.
- Köksal, E., and Gode, F., 2017. Production of microcapsules containing vitamin E with complex coacervation method. *Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Sciences Journal of Science*, **12(1)**, 1-14.
- Kwak, H.-S. 2014. Nano-and Microencapsulation for Foods. John Wiley&Sons Incorporated, New York. 20-28.
- Liu, H., Wang, L., Yang, T., Zhang, G., Huang, J., Sun, J., and Huo, J., 2016. Optimization and evaluation of fish oil microcapsules. *Particology*, **29**, 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2016.04.001>.
- Mancer, D., Allemann, E., and Daoud, K., 2018. Metformin hydrochloride microencapsulation by complex coacervation: Study of size distribution and encapsulation yield using response surface methodology. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **45**, 184-195. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.03.015>.
- Moral, E., Bayram, O., Köksal, E., Danaş, F., ve Göde, F., 2021. Kabak Çekirdeği Yağının Kompleks Koaservasyon Yöntemi ile Mikroenkapsülasyonu. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, **11(2)**, 91-97.
- Muhoza, B., Xia, S., Wang, X., Zhang, X., Li, Y., and Zhang, S., 2020. Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **62(5)**, 1363-1382. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843132>
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., and Durrieu, V., 2014. Comparative study of encapsulation of vitamins with native and modified soy protein. *Food Hydrocolloids*, **38**, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.011>.
- Obradović, N., Volić, M., Nedović, V., Rakin, M., and Bugarski, B., 2022. Microencapsulation of probiotic starter culture in protein–carbohydrate carriers using spray and freeze-drying processes: Implementation in whey-based beverages. *Journal of Food Engineering*, **321**, 110948. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.110948>.
- Ocak, B. 2012. Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil. *Journal of environmental management*, **100**, 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.01.026>.
- Pérez-Limiñana, M. Á., Payá-Nohales, F. J., Francisca Arán-Ais, F., and Orgilés-Barceló, C., 2014. Effect of the shell-forming polymer ratio on the encapsulation of tea tree oil by complex coacervation as a natural biocide. *Journal of Microencapsulation*, **31(2)**, 176–183. <https://doi.org/10.3109/02652048.2013.824512>.

- Pilkington, J. L., C. Preston, and R. L. Gomes. 2014. Comparison of response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANN) towards efficient extraction of artemisinin from *Artemisia annua*. *Industrial Crops and Products*, **58**, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.016>.
- Podsedek, A., Sosnowska, D., Redzynia, M., and Anders, B., 2006. Antioxidant capacity and content of *Brassica oleracea* dietary antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 49–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01260.x>.
- Šamec, D., Piljac-Žegarac, J., Bogović, M., Halojanić, K., and Gruz, J., 2011. Antioxidant potency of White (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and Chinese (*Brassica rapa* L. var. *pekinensis* (Lour.)) cabbage: The influence of development stage, cultivar choice and seed selection. *Scientia Horticulturae*, **128(2)**, 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.01.009>.
- Siddiqui, A. O. 2019. Determination of chemical and physical parameters of different cabbage varieties under good agricultural practices (GAPs). Masters Thesis, Niğde Ömer Halis Demir University, Niğde, 64.
- Singh, M.N., Hemant, K.S.Y., Ram, M., and Shivakumar, H.G. 2010. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Research in Pharmaceutical Sciences*, **5(2)**, 65–77. PMID: 21589795; PMCID: PMC3093624
- Sittipummongkol, K., Chuysinuan, P., Techasakul, S., Pisitsak, P., and Pechyen, C., 2019. Core shell microcapsules of neem seed oil extract containing azadirachtin and biodegradable polymers and their release characteristics. *Polymer Bulletin*, **76**, 3803–3817. <https://doi.org/10.1007/s00289-018-2456-1>.
- Song, J.-H., Lee, H. -R., and Shim, S.-M. 2017. Determination of S-methyl-L-methionine (SMM) from Brassicaceae family vegetables and characterization of the intestinal transport of SMM by Caco-2 cells. *Journal of Food Science*, **82(1)**, 36–43. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13556>.
- Tözüm, M., S. 2019. Renk Değiştiren Boyarmaddelerin Mikrokapsülasyonu Ve Tekstil Materyallerine Uygulanması. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 279.
- Umer, H., Nigam, H., Tamboli, A.M., and Nainar, M.S., 2011. Microencapsulation: Process, Techniques and Applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, **2(2)**, 474–481.
- Williams, A. J., Henley, W. E., Williams, C. A., Hurst, A. J., Logan, S., and Wyatt, K. M., 2013. Systematic review and meta-analysis of the association between childhood overweight and obesity and primary school diet and physical activity policies. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, **10(1)**, 1–22. <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5868-10-101>.
- Zhang, Z.-Q., Pan, C.-H., and Chung, D., 2011. Tannic acid cross-linked gelatin– gum arabic coacervate microspheres for sustained release of allyl isothiocyanate: Characterization and in vitro release study. *Food Research International*, **44**, 1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.044>.