



NAR SUYUNUN ALJİNAT KÜRECİKLERİ İLE ENKAPSÜLASYONU: İŞLEM KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

Ferhan BALCI TORUN*

Akdeniz Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş/Received: 07.02.2024; Kabul /Accepted: 16.08.2024; Online baskı /Published online: 24.08.2024

Balcı Torun, F. (2024). Nar suyunun aljinat kürecikleri ile enkapsülasyonu: İşlem koşullarının optimizasyonu. GIDA (2024) 49 (5) 805-819 doi: 10.15237/ gida.GD24024

Balcı Torun, F. (2024). Encapsulation of pomegranate juice using alginate beads: Optimization of processing conditions. GIDA (2024) 49 (5) 805-819 doi: 10.15237/ gida.GD24024

ÖZ

Bu çalışmada nar suyunun aljinat kürecikleri ile enkapsülasyonunda işlem parametrelerinin elde edilen kapsüllerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Enkapsülasyon işleminin optimizasyonunda aljinat konsantrasyonu, CaCl_2 konsantrasyonu, damlama hızı ve damlama yüksekliği bağımsız işlem değişkenleri olarak, kapsüllerin şekil faktörü, küreselliği ile toplam fenolik madde ise bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir. Optimizasyon sonunda en uygun işlem koşulları aljinat konsantrasyonu %1.6, kalsiyum konsantrasyonu %3, damlama hızı 0.77 ve damlama yüksekliği 10 cm olarak belirlenmiştir. Sonuçlar mikrokapsüllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklı işlem koşullarından etkilendiğini göstermiştir. Damlama hızı ve yüksekliğinin artması ile kapsüllerin şeklinin mükemmel küreselliğe yaklaştığı, aljinat konsantrasyonunun artmasının ise damlacıkların küreselliğinin bozulmasına neden olduğu görülürken, aljinat konsantrasyonu ile damlama yüksekliğinin azalmasının elde edilen kapsüllerin toplam fenolik madde miktarını olumlu yönde etkilediği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Aljinat kürecikleri, enkapsülasyon, nar konsantresi, küresellik, şekil faktörü

ENCAPSULATION OF POMEGRANATE JUICE USING ALGINATE BEADS: OPTIMIZATION OF PROCESSING CONDITIONS

ABSTRACT

This study examines the effects of process parameters on the physical and chemical properties of capsules obtained by encapsulating pomegranate juice concentrate using the alginate beads. Alginate concentration, CaCl_2 concentration, dripping speed, and dripping height were selected as independent variables, while shape factor, sphericity, and total phenolic content of the capsules were the dependent variables. The optimum process conditions were determined as alginate concentration 1.6%, CaCl_2 3%, drip rate 0.77 and drip height 10 cm. Results indicated that the physical and chemical properties of the microcapsules were influenced by different process conditions. Results indicated that the physical and chemical properties of the microcapsules were influenced by different process conditions. Increased dripping rate and height improved capsule sphericity, while higher alginate concentrations negatively affected droplet sphericity. Additionally, decreased alginate concentration and dripping height positively influenced the total phenolic content of the capsules.

Keywords: Alginate beads, encapsulation, pomegranate concentrate, sphericity, shape factor

* Sorumlu yazar /Corresponding author

✉: ferhanbalci@akdeniz.edu.tr

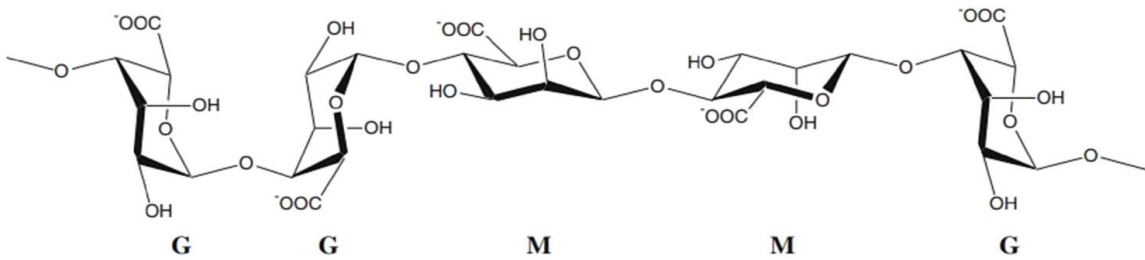
☎: (+90) 242 310 2047

Ferhan Balcı Torun; ORCID no: 0000-0002-8972-1087

GİRİŞ

Aljinat, özellikle kahverengi deniz yosunlarından ve ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* gibi bazı bakterilerden ekstrakte edilen üronik asitlerin (mannuronik ve guluronik asitler) doğal bir polimeri olan aljinik asidin tuzudur (Bennacef vd. 2021). Gıda, nutrasötik ve farmasötik gibi alanlarda biyoaktif malzemelerin kapsülleme teknolojisi yoluyla kontrollü salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılan hidrokolloidlerden biri olan aljinat; toksik ve antijenik olmayan, biyoyoumlu bir malzemedir (Ramdhan vd. 2020).

Aljinat, (1,4) glikozidik bağları ile bir araya gelen β -D-mannuronik asit (M blokları) ve α -L-guluronik asit (G blokları) zincirinden oluşmaktadır (Şekil 1). Bu zincirlerin miktarı aljinat özelliklerini doğrudan etkilemektedir (Bennacef vd. 2021). M blokları ile zengin bir aljinat daha esnek bir yapı göstermekte iken G blokları ile zengin bir aljinat ise daha sert bir yapı göstermektedir (Vold vd. 2006). Nitekim aljinatın elde edildiği kaynak ve ekstraksiyon yöntemi de viskozite, jelleşme, çözünürlük gibi özellikleri etkilemektedir (Da Silva vd. 2017).



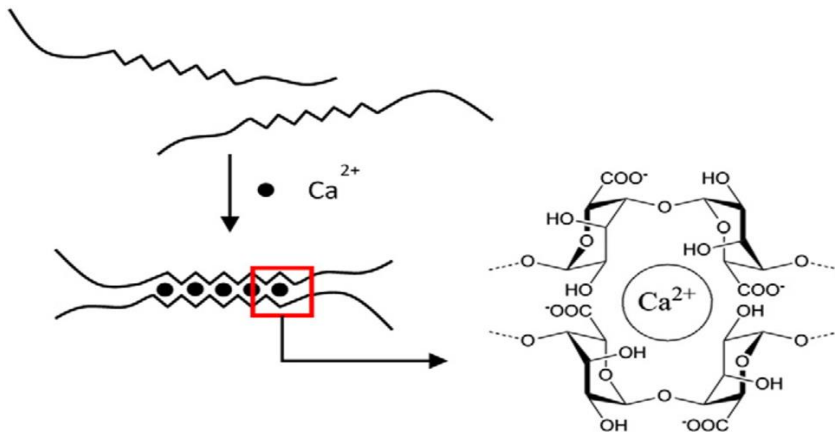
Şekil 1. Aljinatın yapısal özellikleri (M: mannuronik blokları, G: guluronat blokları)

Figure 1. Structural characteristics of alginate. M: mannuronate units; G: guluronate units

Aljinatın en önemli özelliği; aljinat jellerinin, filmlerinin, mikroparçacıklarının ve nanoparçacıklarının oluşumu için bir ön koşul olan iyonik çapraz bağlama yeteneği olarak da bilinen, özellikle kalsiyum iyonları olmak üzere çok değerlikli katyonlara seçici bağlanmasıdır (Selimoğlu ve Elibol 2010). Çapraz bağlı iyonların (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}) varlığında aljinat jel oluşumu oda sıcaklığında ve hatta daha düşük sıcaklıklarda meydana gelebilmekte ve elde edilen

yapı yüksek sıcaklıklarda bile stabilitesini koruyabilmektedir (Li vd. 2021).

Bu süreç, glukuronik asidin katyonlara doğru katlanıp birikmesi, ardından gerilen moleküler zincirlerinin sıralı bir bant yapısına dönüşmesi ve sonunda üç boyutlu bir molekül ağına sahip bir "yumurta kutusu" modelin (Şekil 2) oluşması ile gerçekleşmektedir (Leirvåg 2017, Ramdhan vd. 2020).



Şekil 2: Kalsiyum Aljinat için "Yumurta kutusu" modeli

Figure 2. "Egg-box" model for Calcium Alginate

Gıda ve kozmetik gibi sektörlerde en yaygın kullanılan Ca^{+2} iyonu olup, literatürde de kalsiyum aljinat kürecikleri ile ilgili birçok araştırma mevcuttur. Ca-aljinat kürecikleri, mikrobiyal hücrelerin, enzimlerin, hormonların, yağların, bitkisel ekstraktların ve aroma maddelerinin kapsüllemesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda kapsüllenen aktif materyalin stabilitesinin yanı sıra oluşan kapsülün

şeklini etkileyen faktörler de göz önüne alınmaktadır. Ca-aljinat küreciklerinin kapsülasyon etkinliği üzerine kapsül büyüklüğü, kapsüllerin şekli, kütle taşıma özellikleri, biyoyumluluğu, şişme kapasitesi, çözünürlüğü, yüzey morfolojisi gibi faktörlerin etkili olduğu bildirilmekte olup bu faktörler Çizelge 1’de özetlenmiştir (Lee vd. 2013, Balcı-Torun 2019).

Çizelge 1. Aljinat kürecikleri işleme etki eden faktörler

Table 1. Factors affecting the alginate beads

İşlem parametreleri <i>Process Parameters</i>	Büyükük <i>Size</i>	Şekil <i>Shape</i>
Aljinatın molekül ağırlığı (<i>Molecular weight of alginate</i>)	-	+
Aljinat çözeltisinin yoğunluğu (<i>Density of alginate solution</i>)	+	+
Aljinat çözeltisinin yüzey gerilimi (<i>Surface tension of alginate solution</i>)	++	++
Aljinat çözeltisinin viskozitesi (<i>Viscosity of alginate solution</i>)	+	++
CaCl ₂ çözeltisinin konsantrasyonu (<i>Concentration of CaCl₂</i>)	++	++
CaCl ₂ çözeltisinin vizkozitesi (<i>Viscosity of CaCl₂</i>)	+	++
Damlama ucunun çapı (<i>Dripping tip diameter</i>)	++	++
Damlama mesafesi (<i>Collecting distance</i>)	+	++
CaCl ₂ çözeltisinin karıştırma hızı (<i>Stirring rate of CaCl₂</i>)	+	++
CaCl ₂ çözeltisinin sıcaklığı (<i>Temperature of CaCl₂</i>)	+	+
Boncukların depolama şartları (<i>Bead storage conditions</i>)	++	+

++ Major etki, +minör etki, - etkisiz

++ Major effect, + minor effect, – no effect.

Aljinat kürecikleri yönteminden elde edilen kapsülün boyutunun küçük olması etken madde salınımını sınırlaması nedeni ile kapsülasyonun verimini ve performansını arttırmaktadır. Kapsüllerin küreselliği ise mekanik ve kimyasal stabilize üzerine oldukça etkilidir. Daha önceki bir çalışmada küresel olmayan kapsüllerin küresel olan kapsüllere göre mukavemetinin az olduğu bildirilmiştir (Lee vd. 2013). Başka bir çalışmada ise gözyaşı şeklindeki (kuyruklu) ve küresel olmayan kapsüllerde kırılma ve çatlamaların meydana gelerek kapsülün açıldığı rapor edilmiştir (Woo vd. 2007, Balcı-Torun 2019).

Aljinat damlacıkları belirli bir hacme ulaştıktan sonra damlaya uygulanan yerçekimi kuvveti ya da uygulanan dış kuvvetler etkisi ile ayrılmaktadır. Nitekim aljinat çözeltisinin damlatılma mesafesinin aljinat küreciklerinin şekli üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. Genel olarak kısa damlama mesafesi kısa kuyruklu küreciklerin

oluşumuna yol açarken, uzun mesafelerde elde edilen küreciklerin deformasyona uğradığı gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin ise uzun mesafelerde deformasyona uğrayan aljinat küreciklerinin jelasyon banyosunda sertleşmeden önce yeniden küresel forma dönme zamanının artmasından kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Lee vd. 2013)

Literatürde aljinat kürecikleri yönteminin daha çok mikrobiyal hücrelerin enkapsülasyonunda yaygın olarak kullanıldığı gözlenmiştir. Ancak bu yöntem son yıllarda yağların, aroma maddelerinin ve biyoaktif bileşenlerin kapsülasyonunda da sıklıkla kullanılmaktadır.

Nar (*Punica granatum*) ülkemizin önemli tarım ürünlerinden biri olup, Antalya başta olmak üzere Muğla, Mersin ve Adana illerimizde önemli miktarda üretimi yapılmaktadır. 2022 yılı verilerine göre, Türkiye’de yaklaşık 291 bin

dekarlık alanda ve yaklaşık 14 milyon meyve veren ağaçtan toplam 681 bin ton nar üretilmektedir. 2023 yılında Türkiye’de toplam yaş meyve ve sebze ihracatında en fazla ihracatı yapılan ilk on meyve arasında beşinci sırada yer almakla birlikte meyve suyu ya da meyve suyu konsantresi olarak ihracatı da yüksek oranda yapılmaktadır (Hepaksoy vd 2023).

Nar meyvesinde bulunan fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler gibi önemli miktarlarda biyoaktif bileşiklerin varlığı önemini arttırmıştır. Son yıllarda yetiştirme ve işleme teknolojilerindeki gelişmelerle birlikte, tüketicilerin sağlığa yararlı gıdalara olan yönelimlerinin artmasına bağlı olarak ülkemizde nar üretimi ve ticareti artış göstermiştir. Nar meyvesi doğrudan sofralık olarak tüketiminin yanında nar ekşisi, nar suyu ve nar suyu konsantresi olarak da önemli miktarda tüketilmektedir. Özellikle ülkemizde nar suyu konsantresinin katma değeri yüksek ürünlerin üretimine yönelik ekonomik yöntem ve yaklaşımlar geliştirilmesi ve farklı ürünlere işlenebilir formlarına dönüştürülmesi ve bununla birlikte içeriğindeki önemli biyoaktif bileşenlerin korunması oldukça önem arz etmektedir. Nar, içerdiği yüksek antioksidanlar, vitaminler ve mineraller sayesinde sağlık üzerinde birçok olumlu etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalar, narın özellikle kalp sağlığını korumada etkili olduğunu göstermektedir. Nar, kan basıncını düşürmeye yardımcı olmakta, kötü kolesterol seviyelerini düşürerek kalp hastalıkları riskini azaltmaktadır (Aviram ve Dornfeld, 2001). Ayrıca, narın anti-inflamatuar özelliği olduğu, kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatarak kanserle mücadelede de önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Adams vd. 2006, Shukla et al., 2008). Özellikle narın içerisinde bulunan elajik asit önemli bir antioksidan ve antikanserijen bir bileşiktir. Nar suyunun içerisindeki elajik asidin püskürtürerek kurutma yöntemi ile kapsülendiği birçok çalışma mevcuttur (Yekdane ve Goli 2019, Şavikin vd. 2021). Ancak nar suyu konsantresinin aljinat kürecikleri ile kapsüllemesinde işlem koşullarının son ürün üzerindeki etkilerini konu alan bir araştırmaya rastlanılamamıştır. Bu doğrultuda çalışmada aljinat kürecikleri ile nar suyunun kapsüllemesi ve elde edilen kapsüllerin boyutuna

farklı konsantrasyonlardaki aljinat ve kalsiyum çözeltilerinin etkileri ile, aljinat çözeltisinin damlama yüksekliği ve hızının etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Literatürde aljinat kürecikleri yöntemi ile kapsülasyon tekniği daha çok mikroorganizmaların (Covarrubias vd 2012; Börner vd 2013) kapsüllemesinde kullanılmış olup meyve suyu veya bitkisel ekstraktların kapsülendiği çalışmalar (Yamdech vd 2012; Toprakçı vd 2022) oldukça azdır. Bu çalışmada daha çok mikroorganizmaların korunumu veya bitkisel ekstraktlarda etken maddenin enkapsülasyon etkinliği üzerine odaklanılmış olup çalışmada işlem parametrelerinin kapsüllerin şekilsel ve morfolojik özelliklerine etkisinin optimize edildiği bir çalışmaya da rastlanılamamıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan nar konsantresi MEYKON Meyve ve Kaynak Suları San. ve Tic. A.Ş firması tarafından temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan diğer kimyasallar analitik saflıkta Sigma-Aldrich’den (Darmstadt, Almanya) temin edilerek kullanılmıştır.

Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması

Çalışmada kapsüllenecek nar suyu konsantresi firmadan temin edildikten sonra kullanılmadan hemen önce 65 °Briks’den 10 °Briks’e getirilmiştir. Optimizasyonda duvar materyali olarak kullanılan farklı konsantrasyonlardaki (%1, %1,5 ve %2) sodyum aljinat, seyreltilen nar suyu (10 °Briks) içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım 10.000 rpm’de 5 dk boyunca homojenizatör yardımı ile (Ultraturrax T25 Basic Staufen, Almanya) karıştırılmış ve köpük oluşumunun giderilmesi için 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda bekletilmiştir. Elde edilen homojen aljinat-nar suyu karışımı şırınga pompası (Thermo Fisher Syringe Fusion 100, Massachusetts, ABD) ve şırınga (500µl, 22 G, Thermo Syringe, Massachusetts, ABD) ile manyetik karıştırıcıda balık yardımı ile karışmakta olan CaCl₂ çözeltisine (deneme deseninde belirtilen konsantrasyonlarda ve belirtilen yüksekliklerde) damlatılmıştır. Oluşan kapsüller 30 dk CaCl₂ çözeltisinde bekletildikten

sonra saf suya alınmış ve kapsüllerin sertleşmesi için manyetik karıştırıcıda 750 rpm'de bekletilmiştir. Saf sudan kaba filtre kağıdı yardımı ile süzülen kapsüller, başka bir kaba filtre kağıdında 10 dk boyunca fazla suyu uzaklaştırıldıktan sonra analizlerde kullanılmıştır.

Sodyum Aljinat Çözeltilerinin Viskozite Değerlerinin Belirlenmesi

Elde edilen kapsüllerin üretiminde sınır koşullarının belirlenebilmesi amacıyla viskozite değerleri Brookfield DV3T (ABD) viskozimetresi kullanılarak ölçülmüştür. Viskozimetre ölçümleri 25 °C'de TC spindile ile 200 rpm'de gerçekleştirilmiştir (Köksoy ve Kılıç, 2004).

Aljinat Kürecikleri Yöntemi ile Elde Edilen Kapsüllerinin Boyutlarının ve Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kapsüllerin boyut ve morfolojisinin belirlenmesinde stereo-mikroskop (Stemi 2000-C, Zeiss, Germany) ve AxioCamERc5 kamera (Stemi 2000-C, Zeiss, Göttingen, Germany) kullanılmıştır. Kapsüllerin boyut ölçümleri Zeiss (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Almanya) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kapsüllerin boyutunun belirlenmesinde D_{min} , D_{maks} ve D_{ort} değerleri ölçülmüştür. Elde edile aljinat küreciklerin şekillerinin tanımlanmasında, küreselliğe ne kadar yakın olduğunun tanımlanabilmesi için şekil faktörü (SF) ve küresellik değeri (KD) hesaplanmıştır. Şekil faktörünün hesaplanmasında Eşitlik 1, küreselliğin hesaplanmasında ise Eşitlik 2 kullanılmıştır (Lee vd. 2013).

$$\text{Şekil Faktörü (SF)} = \frac{4\pi A}{P^2} \quad (1)$$

$$\text{Küresellik Değeri (K)} = \frac{D_{maks}-D_{min}}{D_{maks}+D_{min}} \quad (2)$$

A=alan
P= çevre

D_{maks} =Merkezden geçen maksimum çap (mm)
 D_{min} =Merkezden geçen minimum çap (mm)

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Kapsüllerin toplam fenolik madde miktarının belirlenebilmesi için mikrokapsüller öncelikle içerisinde kırık cam parçaları olan metanol ile 10 dk boyunca vortekste parçalanarak karıştırılmıştır.

Parçalanmış kapsüllerin üst fazından alınan ekstrakt 0.45 µm filtreden süzülerek analiz edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (Skerget vd. 2005). Bu amaçla, ön çalışma ile elde edilen seyreltme oranından elde edilen ekstraktlardan 0.5 mL örnek üzerine 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (%10) ve 2 mL %7.5'lik (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vortekste (DragonLab, MX-S) 30 sn karıştırıldıktan sonra 50°C'deki su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Su banyosundan alınan örnekler 10 dk karanlık bir ortamda bekletildikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A) 760 nm dalga boyunda absorbansları okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan eğri yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır.

Optimizasyon ve İstatistiksel Yaklaşım

Nar suyu konsantrasyonunun aljinat kürecikleri ile enkapsülasyon işleminin optimizasyonunda aljinat konsantrasyonu, CaCl_2 konsantrasyonu, damlama hızı ve damlama yüksekliği bağımsız işlem değişkenleri olarak, elde edilen kapsüllerin SF ve KD değerleri ile toplam fenolik madde miktarı ise cevaplar olarak seçilmiştir. Enkapsülasyonun optimizasyonunda Design Expert 10 (Stat-Ease, MN, USA) paket programında cevap yüzey metodu (Box Behnken) kullanılmış ve sonuçlar ANOVA analizi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sodyum Aljinat Çözeltilerinin Viskozite Değerleri

Optimizasyonda kullanılan deneme desenine göre farklı oranlarda sodyum aljinat ile hazırlanan çözeltilerin viskozite değerleri 965 cP ve 5440 cP aralığında bulunmuştur. En düşük viskozite değeri 965 cP ile %1 sodyum aljinat içeren çözeltide tespit edilmişken, en yüksek viskozite değeri 5440 cP ile %2 sodyum aljinat içeren çözeltide tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalar aljinat konsantrasyonunun elde edilen kapsüllerin şekillerinde oldukça etkili olduğunu, viskozite artışının aljinat küreciklerinin küreselliğe daha yaklaştırdığını ancak oldukça yüksek viskozite değerlerinde ise gözyaşı şeklinde küreciklerin

oluşturduğu bildirilmektedir (Bennacef vd. 2021). Başka bir çalışma da ise yine aljinat çözeltisinin viskozitesinin elde edilen kapsüllerin çapı üzerinde etkili olduğu, viskozitenin artması ile ortalama küre çapının azaldığı belirtilmiştir (Lee vd. 2013).

Aljinat Kürecikleri İşleminin Optimizasyonu

Nar suyunun kapsülasyonunda kullanılan sodyum aljinat çözeltisi farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ve kapsül oluşumunun gözlemlendiği değerler ile oluşturulan deneme desenine göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar SF değeri ($\cong 1$), KD değeri

($\cong 0$) ve toplam fenolik madde içeriği (en yüksek) kullanılarak belirlenmiştir.

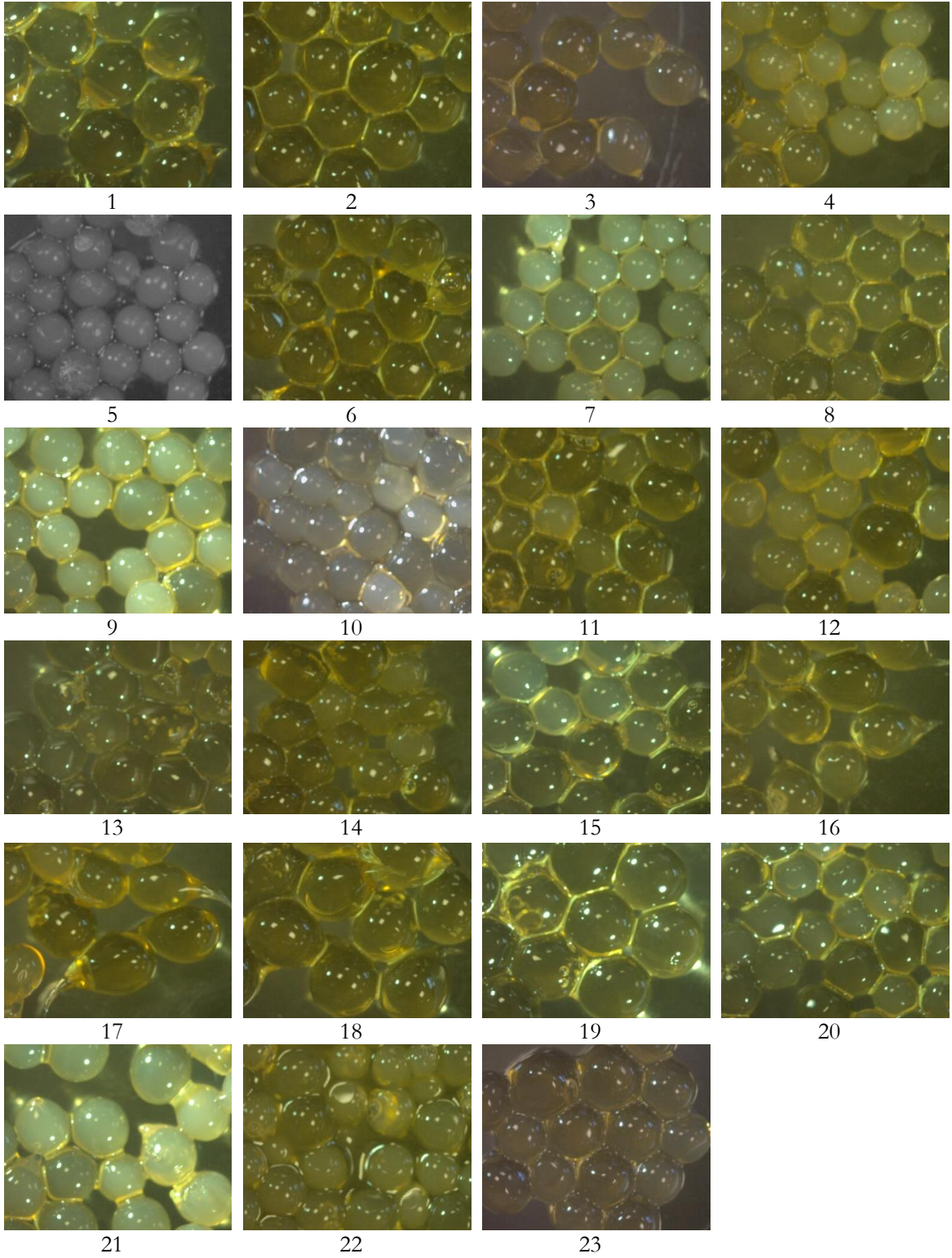
Aljinat Kürecikleri Proses Parametrelerinin Elde Edilen Kapsüllerin Boyutları ve Morfolojik Özelliklerine Etkisi

Mikrokapsüllerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için D_{min} , D_{maks} , D_{ort} değerleri ile şekil faktörü (SF) ve küresellik değerleri (KD) hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 2’de verilmiştir. Ayrıca aljinat kürecikleri ile elde edilen kapsüllerinin mikroskop görüntüleri Şekil 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 2. Aljinat kürecikleri ile elde edilen mikrokapsüllerin morfolojik özelliklerini veren D_{min} , D_{maks} , D_{ort} , SF ve KD değerleri

Table 2. D_{min} , D_{maks} , D_{mean} , SF and KD values that give the morphological characteristics of microcapsules obtained by the alginate beads

Run	D_{min}	D_{maks}	D_{ort}	SF	KD
1	56.82±0.88	74.48±1.65	61.39±0.71	0.74±0.03	0.13±0.01
2	48.77±0.94	50.09±0.82	49.11±0.90	0.87±0.00	0.01±0.00
3	48.14±0.84	68.78±2.79	52.00±0.52	0.74±0.01	0.17±0.01
4	41.57±0.45	42.69±0.41	42.13±0.44	0.85±0.00	0.01±0.00
5	36.40±0.19	36.41±0.12	36.40±0.12	0.86±0.00	0.00±0.00
6	45.30±2.16	60.32±0.85	51.61±0.59	0.75±0.01	0.14±0.02
7	37.20±0.33	40.11±0.16	39.20±0.19	0.86±0.01	0.04±0.01
8	43.58±0.40	45.14±0.89	44.59±0.81	0.84±0.01	0.02±0.01
9	42.60±0.61	43.71±0.88	43.04±0.69	0.86±0.00	0.01±0.01
10	40.16±1.15	41.95±0.86	40.80±0.99	0.86±0.01	0.02±0.01
11	43.54±1.74	45.62±1.76	44.40±1.76	0.84±0.01	0.02±0.01
12	40.17±0.76	42.19±0.67	43.01±0.37	0.86±0.01	0.02±0.00
13	39.50±0.74	42.43±0.29	41.78±0.19	0.83±0.02	0.04±0.01
14	41.94±0.35	44.04±0.41	43.37±0.44	0.87±0.00	0.02±0.00
15	43.71±0.67	45.75±1.21	44.56±0.92	1.38±0.30	0.02±0.01
16	47.03±1.09	76.94±1.34	55.52±0.69	0.68±0.00	0.24±0.00
17	35.00±8.77	106.75±5.80	62.32±2.36	0.51±0.02	0.77±0.10
18	59.35±0.36	90.50±2.39	67.01±0.46	0.68±0.02	0.21±0.02
19	60.92±0.65	64.45±1.21	63.82±1.13	0.85±0.01	0.03±0.00
20	39.26±0.54	42.95±1.18	43.14±1.31	0.87±0.00	0.04±0.01
21	48.93±1.77	61.08±0.86	52.54±0.05	1.21±0.01	0.11±0.02
22	38.10±0.39	38.63±0.41	38.37±0.37	0.99±0.06	0.02±0.00
23	45.22±0.75	47.59±0.71	47.36±0.60	0.87±0.00	0.03±0.01



Şekil 3. Box Behnken deneme deseninde aljinat kürecikleri ile elde edilen kapsüllerinin mikroskop görüntüleri

Figure 3. Microscope images of capsules obtained by the alginate beads in Box Behnken design

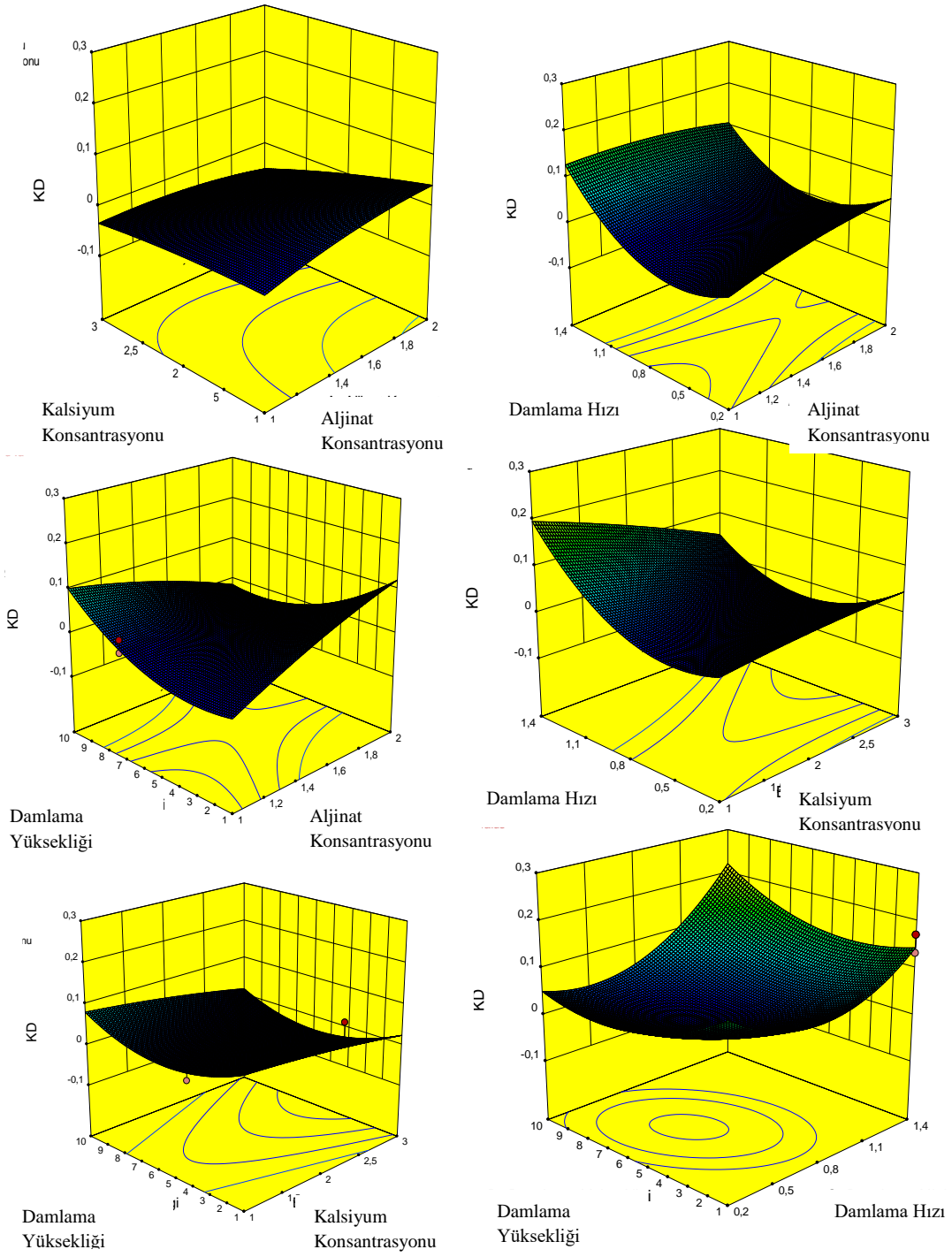
Elde edilen aljinat kapsüllerinin küreselliğe ne kadar yakın olduğunu gösteren SF değeri, 1'e ne kadar yakınsa kapsüllerin o kadar mükemmel bir küresellik gösterdiğini ifade etmektedir. Aljinat küreciklerinde kuyruk oluşumu söz konusu olduğunda ise SF değeri sifıra yaklaşmaktadır. SF değeri genellikle küresel ve elips şeklindeki partiküllerin tanımlamasında kullanılmaktadır. KD ise bir kürenin en uzun ve en kısa çaplarının oranı ile mükemmel bir kürenin değerini sifır olarak kabul etmekte iken bu değer 1'e yaklaştıkça kürenin şeklinin uzadığını ifade etmektedir. KD daha çok gözyaşı ve armut şeklindeki partiküller için kullanılmakta olup, KD değeri 0.05'den küçük partiküllerin küresel olduğu kabul edilmektedir (Lee vd. 2013). Nitekim yapılan çalışmalarda yüzey alanının difüzyon hızında etkili bir rol

oynadığı, küreselliğin sifıra yakın olması durumunun bir birim hacim başına daha az yüzey alanını ifade ettiği, böylece difüzyonun azalmasına etki ettiği bildirilmiştir (Morales vd. 2017, Piornos vd. 2017).

Aljinat kürecikleri ile elde edilmiş olan kapsüllerin bağımlı değişkenleri olan şekil faktörü ve küresellik değerlerine ait ANOVA analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir. ANOVA analiz sonuçlarına göre hem şekil faktörü hem de küresellik değerleri için model uyumsuzluğu önemsiz ($p > 0.05$), model ise önemli ($p < 0.05$) olarak bulunmuştur. Şekil faktörü ve küresellik değerlerine ait yanıt yüzey ve izohips eğrileri sırasıyla Şekil 4 ve 5'de gösterilmiştir.

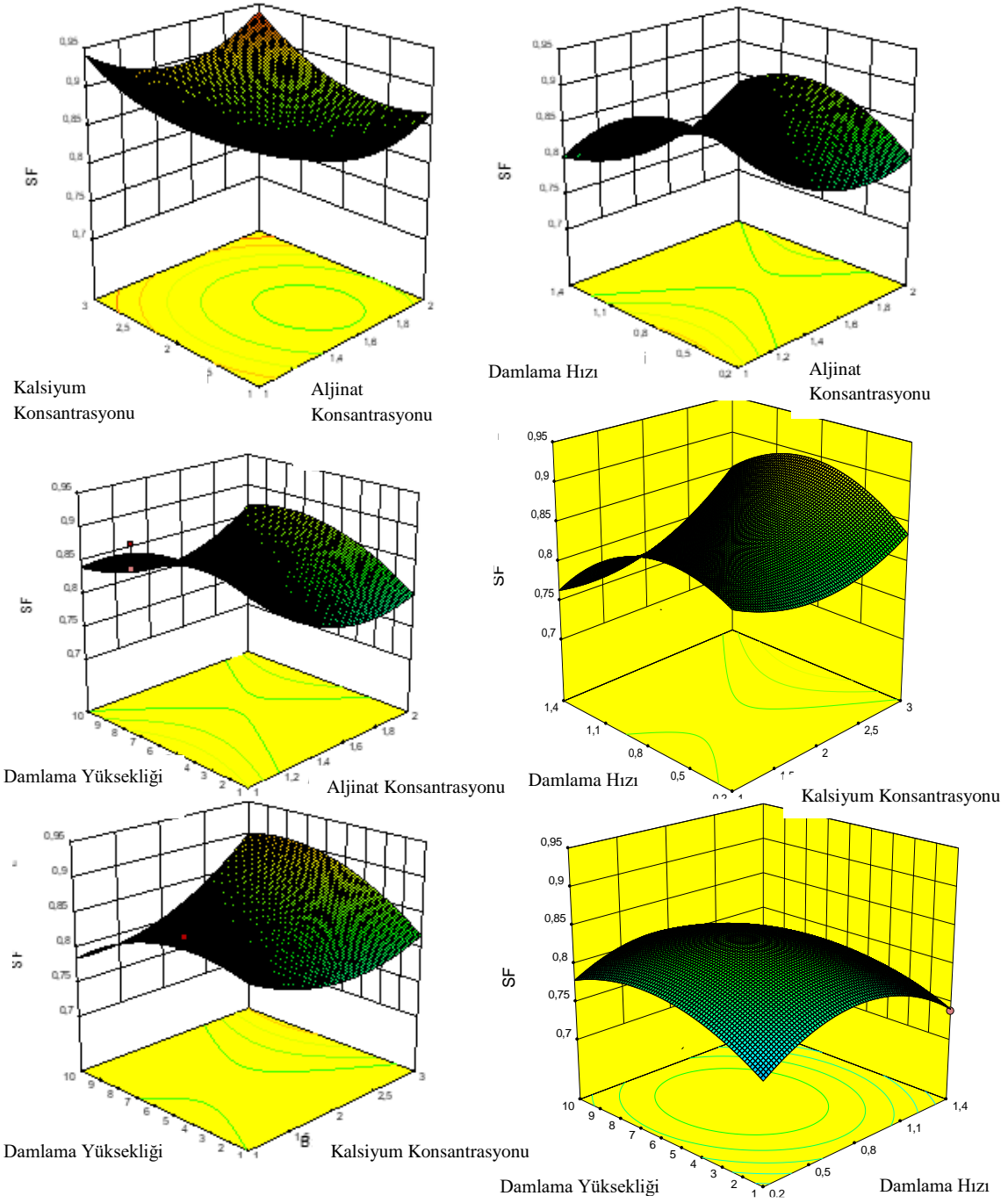
Çizelge 3. Bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren varyans ve regresyon analiz sonuçları
 Table 3. Results of variance and regression analyzes showing the effect of independent variables

Varyasyon Kaynakları <i>Variation Source</i>	KD						
	SD <i>Standart Deviation</i>	Kareler Ortalaması <i>Mean Square</i>	p değeri <i>p-value</i>	SD <i>Standart Deviation</i>	Kareler Ortalaması <i>Mean Square</i>	p değeri <i>p-value</i>	SD <i>Standart Deviation</i>
Model	14	0.004	0.004	14	0.009	0.007	14
A	1	0.001	0.097	1	0.000	0.484	1
B	1	0.007	0.006	1	0.012	0.022	1
C	1	0.001	0.086	1	0.028	0.002	1
D	1	0.000	0.331	1	0.000	0.949	1
AB	1	0.000	0.193	1	0.002	0.251	1
AC	1	0.005	0.010	1	0.002	0.230	1
AD	1	0.004	0.021	1	0.026	0.003	1
BC	1	0.004	0.021	1	0.019	0.008	1
BD	1	0.009	0.003	1	0.000	0.807	1
CD	1	0.000	0.280	1	0.013	0.018	1
A ²	1	0.008	0.004	1	0.000	0.509	1
B ²	1	0.003	0.036	1	0.000	0.779	1
C ²	1	0.008	0.004	1	0.022	0.005	1
D ²	1	0.003	0.036	1	0.007	0.052	1
Kalıntı <i>Residual</i>	6	0.000		7	0.001		5
Model Uyumsuzluğu <i>Lack of Fit</i>	5	0.000	0.736	5	0.0017	0.266	3
			<u>Values</u>		<u>Values</u>		
R ²			0.9326				0.9294
Düzeltilmiş R ² / <i>R²adj</i>			0.7987				0.7318
Tahmin edilen R ² / <i>R²pred</i>			0.7805				0.6283



Şekil 4. Aljinat kürecikleri ile elde edilen nar suyu mikrokapsüllerinin küresellik değeri (KD) yanıt yüzey grafikleri

Figure 4. Response surface graphs of pomegranate microcapsules obtained by alginate bead for sphericity value (KD)



Şekil 5. Aljinat kürecikleri ile elde edilen nar suyu mikrokapsüllerinin şekil faktörü (SF) değeri yanıt yüzey grafikleri

Figure 5. Response surface graphs of pomegranate microcapsules obtained by alginate bead for shape factor value (SF)

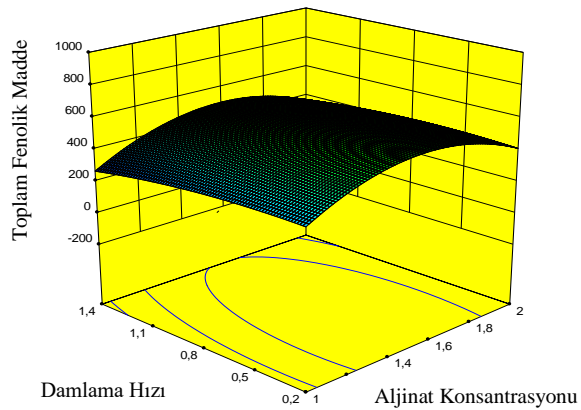
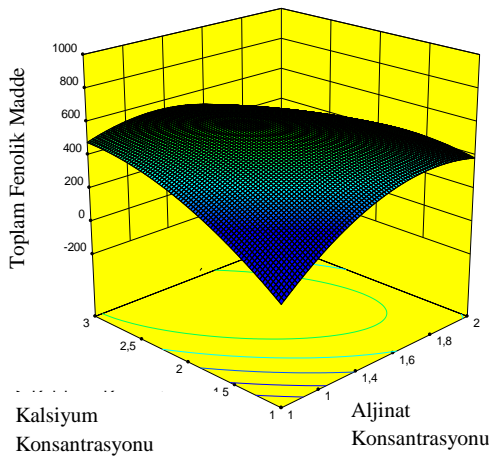
Şekiller incelendiğinde sabit kalsiyum konsantrasyonunda aljinat konsantrasyonunun artması ile damlacıkların küreselliğinin bozulduğu görülmektedir. Benzer şekilde aljinat konsantrasyonunun ve damlama hızının artması ile damlacıklar küresellikten uzaklaşarak damlacıklarda kuyruk oluşumu gerçekleşmiştir. Damlama hızı ve yüksekliğinin küreselliğe etkisi incelendiğinde ise her iki bağımsız değişkenin artması ile kapsüllerin şeklinin mükemmel küreselliğe yaklaştığı görülmüştür. Damlama yüksekliğinin kapsül şekline etkisi incelendiğinde aljinat konsantrasyonu artışından olumsuz etkilendiği, damlama hızının ise çok yüksek ya da çok düşük olduğu durumlarda yine şeklin bozulduğu gözlenmiştir.

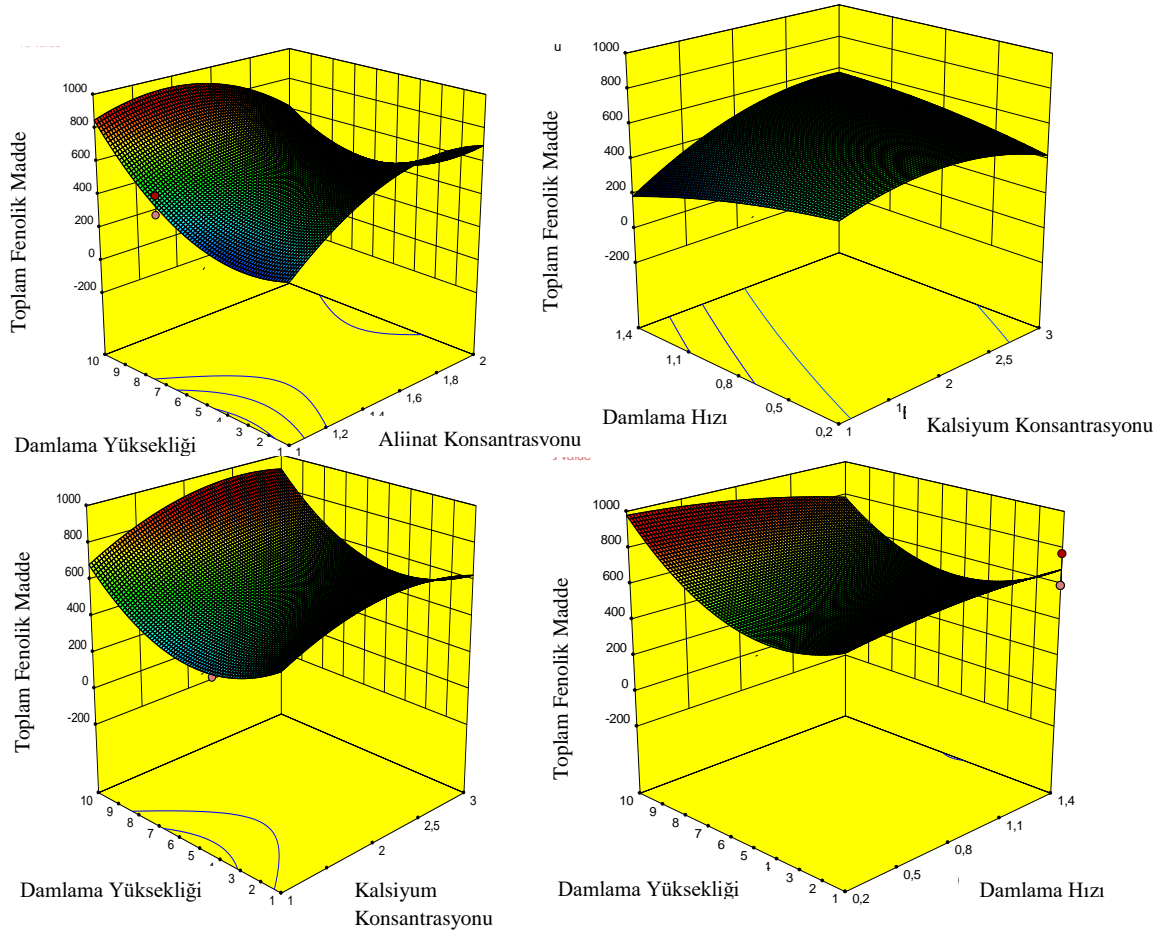
Aljinat kürecikleri yöntemi ile yapılan çalışmalar gün geçtikçe artış göstermektedir. Farklı ekipmanlar ile kullanılan tekniklerin yanı sıra basit laboratuvar ekipmanları ile de kapsüllerin oluşturulabilir olması ve aynı zamanda elde edilen kapsüllerin stabil olması birçok araştırmacının konu ile ilgilenmesini sağlamaktadır. Aljinat kürecikleri ile yağların mikrokapsülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada farklı damlama yükseklikleri (5, 15 ve 30 cm) ile farklı damlama hızlarının (30, 60 ve 90 mL/sa) küreselliğe etkileri araştırılmış ve sonuç olarak belirtilen damlama hızlarının küreselliğe istatistiksel olarak bir etkisinin olmadığı, ancak aljinat çözeltisinin damlama hızının artması ile küreselliğin sıfırdan uzaklaştığı bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca küresel boncukların küresel olmayan boncuklara göre

daha stabil olduğu ve bağırsak sindiriminde mide sindirimine göre daha fazla yağın salındığı bildirilmiştir (Morales vd. 2017). Farklı tekniklerle aljinat kürecikleri üretimi üzerine yapılan bir çalışma kapsamında şırınga yardımı ile elde edilen aljinat küreciklerinde aljinat konsantrasyonunun artması ile kapsüllerin gittikçe deformasyona uğradığı, %3 ve %4 aljinat konsantrasyonlarında vizkozitenin artışı ile boncuk büyüklüğü dağılımının ve şeklinin bozulduğu belirtilmiştir (Prüsse vd. 2008)

Aljinat Kürecikleri Proses Parametrelerinin Elde Edilen Kapsüllerin Toplam Fenolik Madde Miktarı Üzerine Etkisi

Aljinat kürecikleri işlemi ile elde edilen kapsüllerinin toplam fenolik madde miktarlarına ait yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrileri Şekil 6'da, ANOVA analiz sonuçları ise Çizelge 3'de verilmiştir. Şekiller incelendiğinde aljinat kapsüllerinin oluşum süreci esnasında kalsiyum konsantrasyonu ile aljinat konsantrasyonunun azalmasının toplam fenolik madde miktarını azalttığı görülmektedir. Aljinat konsantrasyonu ile damlama yüksekliğinin etkisi incelendiğinde ise her iki değer azalışının kapsüllenen fenolik madde miktarında artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Damlama yüksekliğinin damlama hızıyla etkileşimini incelendiğinde ise damlama hızı ile birlikte damlama yüksekliğinin de azaldığı işlem koşullarında kapsüllenen toplam fenolik madde miktarının arttığı belirlenmiştir (Şekil 6).





Şekil 6. Aljinat kürecikleri yöntemi ile elde edilen nar suyu mikrokapsüllerinin toplam fenolik madde miktarı değeri yanıt yüzey grafikleri

Figure 6. Response surface graphs of pomegranate microcapsules obtained by alginate bead methods for total phenolic content

Aljinat kürecikleri ile elde edilen kapsüllerin özellikle sindirim sisteminde stabil olduğunun belirlenmesi nedeni ile biyoaktif bileşenlerin bu yöntem ile kapsüllemesinin çalışıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Biyoaktif içeriği oldukça yüksek olan natal eriğinin (*Carissa macrocarpa*) aljinat kürecikleri ile kapsüllediği bir çalışmada sonuçlar aljinat kürecikleri işleminin meyvede bulunan bileşenlerin stabilitesini arttırdığını ve aynı zamanda antosiyaninlerin salınımında önemli rol oynadığını göstermiştir (Seke vd. 2022). Tarçın esansiyel yağının aljinat kürecikleri ile kapsüllediği benzer bir çalışmada da yine elde edilen mikrokapsüllerin kontrollü salınım ve bağırsak sisteminde spesifik açılım için

oldukça iyi bir yöntem olduğu vurgulanmıştır (Farahmand vd. 2022).

Teorik Olarak Belirlenen Optimum Koşulların Deneysel Olarak Doğrulanması

Nar suyu konsantrasyonu kullanılarak elde edilen aljinat küreciklerinin optimum işlem koşulları aljinat konsantrasyonu %1.6, kalsiyum konsantrasyonu %3, damlama hızı 0.77 ve damlama yüksekliği 10 cm olarak Design Expert 10 paket programı tarafından hesaplanmıştır. Optimum koşullarda üretilerek analiz edilen parametrelerin tahminlenen değerleri deneysel olarak doğrulanmış ve sonuçlar Çizelge 4'de verilmiştir. Tahminlenen değer ile deneysel veriler

arasında hata payı oldukça düşüktür. SF ve KD değerlerinin deneysel verileri sırasıyla %4.85 ve %1.00 oranında tahminlenen değerden yüksek iken TFM değeri %1.05 oranında tahminlenen

değerden düşük bulunmuştur. Nitekim bu değerlerin kabul edilebilir seviyede olduğunu söylemek mümkündür.

Çizelge 4. Nar suyu konsantresi kullanılarak elde edilen aljinat küreciklerinin optimizasyonunda deneysel ve teorik olarak elde edilen analiz sonuçları

Table 4. *Experimental and theoretical analysis results in the optimization of alginate beads obtained by using pomegranate juice concentrate*

	SF	KD	TFM (mg/100 g)
Teorik <i>Theoretical</i>	0.907	0.00	859.07
Deneysel <i>Experimental</i>	0.951	0.01	850.74
Farklılık (%) <i>Difference (%)</i>	4.85	1.00	1.05

SONUÇ

Farklı biyoaktif bileşenlerin proses, taşıma ya da depolama sırasındaki stabilitesinin yanı sıra gastrointestinal sistemde kontrollü salınımı için farklı kapsülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Enkapsülasyonda kullanılan farklı tekniklerin proses koşulları (sıcaklık, besleme hızı, duvar/aktif materyal oranı vb) veya her bir yöntemde özgü kaplama materyali gibi parametreler işlem başarısını ve etkinliğini doğrudan etkilemektedir. Mikroorganizmaların immobilizasyonunda sıklıkla kullanılan aljinat kürecikleri işlemi günümüzde farklı biyoaktif bileşenlerin, yağların veya aromaların kapsülasyonunda da kullanılmaya başlanmıştır. Ancak aljinat kürecikleri yöntemindeki işlem koşullarının elde edilen kapsülün oluşumundan morfolojik özelliklerine ve hatta stabilitesine kadar etki ettiği bildirilmektedir. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda kullanılan aljinat çözeltisinin damlacık yapısını oluşturamayıp kuyruklu uzayan bir yapıyla kapsülasyonun gerçekleşemediği belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen kapsülün boyutunda oldukça önemli bir faktör olarak tespit edilen damlama yüksekliği aynı zamanda kapsüllenen aktif materyalin miktarında da etkili olmaktadır. Çalışma sonuçları aljinat kürecikleri ile nar suyu konsantresinin kapsüllemesinde optimum koşulların aljinat konsantrasyonunun %1.6, kalsiyum konsantrasyonunun %3, damlama hızının 0.77 ve damlama yüksekliğinin ise 10 cm olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile sıvı formdaki farklı ürünlerin aljinat kürecikleri ile kapsülenerik

katma değeri yüksek mikrokapsüllerin elde edilebileceği görülmüştür.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada nar suyu konsantresinin teminindeki desteklerinden dolayı MEYKON Meyve ve Kaynak Suları San. ve TİC. A.Ş'ye teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Adams, L. S., Seeram, N. P., Aggarwal, B. B., Takada, Y., Sand, D., Heber, D. 2006. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 980-985.
- Aviram, M., Dornfeld, L. 2001) Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*, 158(1), 195-198.
- Balcı-Torun, F. 2019. Farklı enkapsülasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen aroma kapsüllerinin depolama stabilitesinin ve gıda katkı maddesi olarak kullanımının araştırılması. *Akdeniz üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye*, 182:
- Bennacef, C., Desobry-Banon, S., Probst, L., Desobry, S. 2021. Advances on alginate use for

- spherification to encapsulate biomolecules. *Food Hydrocolloids*, 118: 106782.
- Börner, R. A., Aliaga, M. T. A., Mattiasson, B., 2013. Microcultivation of anaerobic bacteria single cells entrapped in alginate microbeads. *Biotechnology letters*, 35, 397-405.
- Covarrubias, S. A., de-Bashan, L. E., Moreno, M., Bashan, Y., 2012. Alginate beads provide a beneficial physical barrier against native microorganisms in wastewater treated with immobilized bacteria and microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 93(6), 2669-2680.
- Da Silva, T.L., Vidart, J.M.M., Da Silva, M.G.C., Gimenes, M.L., Vieira, M.G.A. 2017. Alginate and sericin: Environmental and pharmaceutical applications. *Biological activities and application of marine polysaccharides*: 57-86.
- Farahmand, A., Emadzadeh, B., Ghorani, B., Poncelet, D. 2022. Droplet-based millifluidic technique for encapsulation of cinnamon essential oil: Optimization of the process and physicochemical characterization. *Food Hydrocolloids*, 129: 107609.
- Hepaksoy, S., Pakyürek, M., Sürücü, A., Ak, B. E., Oğuz, H. İ., Hayoğlu, İ., ... Şaşkin, Z. M. N. 2023. Nar Yetiştiriciliği. *İksad Yayınları*, ss 31, Ankara, Türkiye.
- Koksoy, A., ve Kilic, M. 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food hydrocolloids*, 18(4), 593-600.
- Lee, B.B., Ravindra, P., Chan, E.S. 2013. Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping. *Chemical Engineering & Technology*, 36 (10): 1627-1642.
- Leirvåg, I.T. 2017. Strategies for stabilising calcium alginate gel beads: Studies of chitosan oligomers, alginate molecular weight and concentration. NTNU, s.
- Li, D., Wei, Z., Xue, C. 2021. Alginate-based delivery systems for food bioactive ingredients: An overview of recent advances and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20 (6): 5345-5369.
- Morales, E., Rubilar, M., Burgos-Díaz, C., Acevedo, F., Penning, M., Shene, C. 2017. Alginate/shellac beads developed by external gelation as a highly efficient model system for oil encapsulation with intestinal delivery. *Food hydrocolloids*, 70: 321-328.
- Piornos, J.A., Burgos-Díaz, C., Morales, E., Rubilar, M., Acevedo, F. 2017. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. *Food Hydrocolloids*, 63: 139-148.
- Prüsse, U., Bilancetti, L., Bučko, M., Bugarski, B., Bukowski, J., Gemeiner, P., Lewińska, D., Manojlovic, V., Massart, B., Nastruzzi, C. 2008. Comparison of different technologies for alginate beads production. *Chemical Papers*, 62: 364-374.
- Ramdhan, T., Ching, S.H., Prakash, S., Bhandari, B. 2020. Physical and mechanical properties of alginate based composite gels. *Trends in Food Science & Technology*, 106: 150-159.
- Šavikin, K., Nastić, N., Janković, T., Bigović, D., Miličević, B., Vidović, S., Menković, N., Vladić, J. 2021. Effect of type and concentration of carrier material on the encapsulation of pomegranate peel using spray drying method. *Foods*, 10 (9): 1968.
- Seke, F., Manhivi, V.E., Slabbert, R.M., Sultanbawa, Y., Sivakumar, D. 2022. In vitro release of anthocyanins from microencapsulated natal plum (*Carissa macrocarpa*) phenolic extract in alginate/psyllium mucilage beads. *Foods*, 11 (17): 2550.
- Selimoglu, S.M., Elibol, M. 2010. Alginate as an immobilization material for mAb production via encapsulated hybridoma cells. *Critical reviews in biotechnology*, 30 (2): 145-159.
- Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K. A., Haqqi, T. M. 2008. Consumption of hydrolyzable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. *Journal of Inflammation*, 5(1), 9.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonić, M., Knez, Ž. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in

some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89 (2): 191-198.

Toprakçı, İ., Torun, M., Torun, F. B., Şahin, S.,2022. Alginate-based hydrogels for trapping the polyphenols of Hibiscus sabdariffa: use of a statistical experimental design approach. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-11.

Vold, I.M.N., Kristiansen, K.A.,Christensen, B.E. 2006. A study of the chain stiffness and extension of alginates, in vitro epimerized alginates, and periodate-oxidized alginates using size-exclusion chromatography combined with light scattering and viscosity detectors. *Biomacromolecules*, 7 (7): 2136-2146.

Woo, J.-W., Roh, H.-J., Park, H.-D., Ji, C.-I., Lee, Y.-B.,Kim, S.-B. 2007. Sphericity optimization of

calcium alginate gel beads and the effects of processing conditions on their physical properties. *Food Science and Biotechnology*, 16 (5): 715-721.

Yamdech, R., Aramwit, P., Kanokpanont, S. 2012. Stability of anthocyanin in mulberry fruits extract adsorbed on calcium alginate beads. In International Conference Chulalongkorn University, Bangkok Thailand.

Yekdane, N.,Goli, S.a.H. 2019. Effect of pomegranate juice on characteristics and oxidative stability of microencapsulated pomegranate seed oil using spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 12: 1614-1625.