



# Farklı Emülgatörler Kullanılarak Oluşturulan Nanoemülsiyonların Domates Posasındaki $\beta$ -Karotenin Biyoerişilebilirliğine Etkisi

Merve Tomas<sup>1\*</sup>

<sup>1\*</sup> İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye, (ORCID: 0000-0003-1057-7914), [mervetomas@gmail.com](mailto:mervetomas@gmail.com)

(İlk Geliş Tarihi 11 Ekim 2021 ve Kabul Tarihi 6 Aralık 2021)

(DOI: 10.31590/ejosat.1007976)

**ATIF/REFERENCE:** Tomas, M. (2021). Farklı Emülgatörler Kullanılarak Oluşturulan Nanoemülsiyonların Domates Posasındaki  $\beta$ -Karotenin Biyoerişilebilirliğine Etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (31), 176-181.

## Öz

Domatesin endüstriyel olarak işlenmesi ile posa açığa çıkmakta ve bu posalar çevresel ve ekonomik yönlerden sorun teşkil etmektedir. Domates posası sağlık üzerine yararlı etkileri ile iyi bilinen  $\beta$ -karoten bileşimini içermektedir.  $\beta$ -karotenin suda çözünürlüğünün düşük olması ve lipofilik yapısından dolayı biyoerişilebilirliği düşüktür. Bu çalışmada, sodyum kazeinat, tween 20 ve tween 80 emülfiyerleri ve mısır yağı ile nanoemülsiyonlar oluşturulup domates posası ile homojenize edilerek içerisinde bulunan  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğinin artırılması amaçlanmıştır. *In vitro* sindirim sonrasında emülsiyonların partikül boyutları (273-351 nm), sindirim öncesine (150-185 nm) kıyasla artış göstermiştir. Sindirim sonrasında, örneklerin toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitelerinde posaya kıyasla nanoemülsiyon ile homojenize edilmiş posa örneklerinde istatistiksel olarak önemli artış tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).  $\beta$ -karotenin yüzde biyoerişilebilirliği azalan sıralamaya göre sodyum kazeinat (%93) > Tween 20 (%92) > Tween 80 (%58) > posa+yağ (%11) > posa (%9) olarak bulunmuştur. *In vitro* sindirim sonrasında, sodyum kazeinat ile hazırlanan nanoemülsiyon ile homojenize edilen domates posasının toplam fenolik madde miktarı, toplam antioksidan kapasitesi ve yüzde  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği diğer emülgatörlere kıyasla en yüksek değerde bulunmuştur. Sonuç olarak, nanoemülsiyon uygulaması domates posasındaki  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini arttırmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** beta karoten, Domates posası, Nanoemülsiyon, *In vitro* gastrointestinal sindirim, Toplam antioksidan kapasite.

## Effect of Nanoemulsions Formed Using Different Emulsifiers on the Bioaccessibility of $\beta$ -Carotene in Tomato Pomace

### Abstract

The tomato pulp contains a well-known beta carotene compound with positive health effects. However, the bioaccessibility of beta carotene is low due to the lipophilic structure and the poor water solubility. The aim of this study was to evaluate the effect of different emulsifiers on beta carotene from tomato pomace bioaccessibility using an *in vitro* gastrointestinal digestion model. The mean particle diameter of the particles in the nanoemulsions increased after digestion (273 to 351) compared to the values prior to digestion (150 to 185 nm). After *in vitro* digestion, nanoemulsions caused increases in total phenolic content and total antioxidant capacity values in pomace with nanoemulsion, compared to undigested samples pomace (without nanoemulsion) ( $p<0.05$ ). The sequence of the bioaccessibility of beta carotene followed the order of sodium caseinate (93%) > Tween 20 (92%) > Tween 80 (58%) > pomace+oil (11%) > pomace (9%). After *in vitro* digestion, the total phenolic content, total antioxidant capacity and percentage beta carotene bioaccessibility of tomato pomace homogenized with nanoemulsion prepared by sodium caseinate were found to be the highest value compared to other emulsifiers. As a result, nanoemulsions could increase the bioaccessibility of beta carotenes in tomato pomace.

**Keywords:** Beta carotene, Tomato pomace, Nanoemulsion, *In vitro* gastrointestinal digestion, Total antioxidant capacity.

\* Sorumlu Yazar: [mervetomas@gmail.com](mailto:mervetomas@gmail.com)

## 1. Giriş

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar yüksek oranda meyve ve sebze tüketiminin kalp-damar hastalıkları, kanser ve diyabet gibi kronik hastalık risklerinin azalması ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. Bu potansiyel faydalar özellikle polifenoller, karotenoidler gibi antioksidan özellik gösteren biyoaktif bileşiklerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Mithul Aravind vd., 2021; Rodriguez-Amaya, 2021). Dünyada en çok tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelen domates (*Solanum lycopersicum*), insan beslenmesi için büyük öneme sahip olup dünyada birçok ülkede yetiştirilmektedir. Ülkemiz ise uygun iklim koşulları nedeniyle domates üretimi yapan önemli ülkelerden birini temsil etmektedir (Capanoglu vd., 2008). Domates tüm dünyada ve ülkemizde taze olarak tüketilebildiği gibi, son yıllardaki gıda teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak salça, sos, domates suyu, püre, ketçap, doğranmış ve kurutulmuş olarak da yaygın bir şekilde tüketilmektedir (Tomas vd., 2017). Domatesin endüstriyel olarak işlenmesiyle büyük miktarlarda kabuk ve çekirdekten oluşan yaklaşık olarak ağırlığının %3-5'i kadar posa şeklinde domates atıkları açığa çıkmaktadır (Zuorro vd., 2011). Dünya domates işleme konseyinin verilerine göre yıllık yaklaşık olarak 130 milyon ton domatesin proses edildiği ve bu proses sonucunda yaklaşık 8 milyon ton domates posası açığa çıktığı rapor edilmiştir. Bu elde edilen posa, hem çevresel hem de ekonomik açıdan sorun teşkil etmektedir. Posanın içerisinde bulunan biyoaktif bileşiklerin değerlendirilmesi ile önemli antioksidan kaynakları sağlanabileceği de vurgulanmaktadır (Z. Lu vd., 2019; Trombino vd., 2021). Diğer taraftan, domates posasının içerisinde yer alan  $\beta$ -karoten bileşiğinin bağışıklık sistemini güçlendirmesi, kalp-damar hastalıklarını önlemesi, kanser riskini azaltması gibi sağlık üzerine birçok faydası rapor edilmiştir (Gul vd., 2015). Fakat,  $\beta$ -karoten gibi biyoaktif bileşiklerin potansiyel biyoaktivitelerini göstermeleri sindirim sonunda ulaşılabilir olmalarına bağlıdır. Bu bileşiklerin hidrofobik yapıda olmaları, sudaki çözünürlüklerinin düşük olması, gastrointestinal sistemde düşük kimyasal stabilite göstermeleri, gıda matrisinden kolaylıkla açığa çıkamamaları, ısı, ışık, sıcaklık gibi faktörler nedeni ile biyoerişilebilirlikleri ve biyoyararlılıkları düşüktür (Priyadarshani, 2017). Bu nedenlerle, bu bileşiklerin potansiyel sağlık etkilerinden yeterince yararlanılamamaktadır. Bu bileşiklerin aktiviteyi ortaya çıkarabilmeleri için biyoerişilebilirliklerini arttıracak yöntemlerin geliştirilmesi önem taşımaktadır. Son yıllarda ise bu kapsamda ele alınan en yeni yaklaşımlardan birisi hidrofobik yapıdaki karotenoid bileşiklerinin nanoemülsiyon içeren formülasyonlarla tasarlanmasıdır (Dima vd., 2020; McClements, 2018). Nanoemülsiyonların bileşimi karotenoidlerin biyoerişilebilirliğini farklı şekillerde etkilemektedir. Literatürde yapılan araştırmalarda, yağ olarak mısır yağı ve emülgatör olarak tween 20, tween 80 ve sodyum kazeinat kullanılarak karotenlerin biyoerişilebilirliğinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Yukarıda sunulan bilgiler dikkate alınarak bu çalışmanın amacı, sodyum kazeinat, tween 20 ve tween 80 emülgatörleri ve mısır yağı ile nanoemülsiyonlar oluşturmak, bu emülsiyonlar ile domates posasını homojenize ederek, domates posasındaki  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğinin *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak değerlendirilmesidir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1 Materyal

Domates posaları, endüstriyel bir domates işleme fabrikasından üretim sonucu temin edilmiştir ve dondurarak kurutma tekniği ile -35 C'de 36 saat kurutulmuş toz haline getirilmiştir. Su içinde yağ emülsiyonları için yağ çeşidi olarak mısır yağı (%8 w/w), emülgatör (%1 w/w) olarak sodyum kazeinat, Tween 20, Tween 80, basınç olarak 20000 psi ve mikrofluidizasyondan geçiş sayısı 5 geçiş olarak emülsiyonlar oluşturulmuştur. Hazırlanan posa örnekleri ile hazırlanan emülsiyonlar kütlece eşit miktarda 2 dakika ev tipi mikserde karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.

### 2.2 Emülsiyonların Karakterizasyonu

Emülsiyondaki partiküllerin kararlılıklarının belirlenmesi amacıyla zeta potansiyelleri ve partikül boyutları ölçülmüştür. Parçacık boyutları Malvern Mastersizer 3000 cihazı ile ölçülmüştür ve parçacık boyutu yüzey alanı bazlı ortalama çap olarak (D[3,2]) olarak verilmiştir. Emülsiyonların yüzey yükü Malvern Nano-ZS cihazı ile ölçülmüştür. Örnekler belirli konsantrasyonlarda 10 mM'lık fosfat tampon ile seyreltilerek ölçüm yapılmıştır (Qian vd., 2012b).

### 2.3 Ekstraksiyon

Sindirilmemiş örneklerin, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitesi analizleri için tüm örneklerden 2 g numune tartılarak, üzerine 5 mL %0.1 formik asit içeren %75 metanol çözeltisi ile muamele edilmiştir. Daha sonra örnekler ultrasonik banyoda 15 dk. sonike edilmiş ve 4 °C'de, 2700 x g devirde 10 dk. süreyle santrifüjlenerek üst faz toplanmıştır (Capanoglu vd., 2008). Hazırlanan ekstraktlar analizlerden önce -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.4 *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim

Biyoerişilebilirliğinin tespiti için ağız, mide ve bağırsak sindirimini simüle eden INFOGEST metodu uygulanmıştır (Minekus vd., 2014). Ağız, mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları metoda göre hazırlanmıştır. Ağız sindirimi için her bir örnek ağız elektrolit solüsyonu,  $\alpha$ -amilaz enzimi (1500 U/mL), CaCl<sub>2</sub> ve distile su ile karıştırılıp, pH 7'ye ayarlanarak çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de 2 dk. boyunca inkübe edilmiştir. Hemen ardından mide sindirimi için ağız sindirimi sonucu elde edilen karışım mide elektrolit solüsyonu, pepsin enzimi (25,000 U/mL), ve CaCl<sub>2</sub> ile karıştırılmış ve 1 M'lık HCl ile pH 3'e ayarlanarak çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bağırsak sindirimi için, mide sindiriminden elde edilen karışım bağırsak elektrolit solüsyonu, pankreatin (800 U/mL), pankreatik lipaz (2000 U/mL), CaCl<sub>2</sub> ile karıştırılmış ve 1 M NaOH ile pH 7'ye ayarlanarak çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Son basamak olan, bağırsak sindirimini hemen ardından her bir numunedan analizler için örnek alınmıştır.

### 2.5 Spektrofotometrik Analizler

Toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite ölçümleri spektrofotometre ile yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı Singleton vd. (1965) metoduna göre yapılmıştır. 725 nm'de absorbans ölçülmüştür ve mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g olarak ifade edilmiştir. Toplam antioksidan kapasitesi iki farklı yöntem (bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi (CUPRAC), 2,2-difenil-1-

pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu (ABTS) ile analizi yapılmıştır. CUPRAC yöntemi Apak vd. (2004) ve DPPH yöntemi Kumaran ve Karunakaran, (2006) metotlarına göre ölçümleri yapılmıştır. Tüm toplam antioksidan kapasite sonuçları mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edilmiştir.

## 2.6 $\beta$ -karoten ekstraksiyonu ve HPLC ile analizi

Karoten ekstraksiyonu için örneklerden 1 g tartılarak 1 mL hekzan/aseton/etanol (50:25:25 v/v/v) çözeltisi ile muamele edilmiştir. Daha sonra 4 °C'de, 4000 rpm devirde 10 dk. süreyle santrifüjlenerek (Himac CR22N, Hitachi Koki, Japonya) üst faz toplanmıştır. Bu faz azot gazında uçurulduktan sonra 2 mL THF:metanol (50:50 v/v) eklenerek vorteksle iyice karıştırılarak dipte kalan kalıntı çözündürülmüştür. 0.45  $\mu$ m PTFE filtreden geçirilerek viallere konulmuştur.  $\beta$ -karoten miktarı HPLC-UV kullanılarak daha önce literatürde tarif edilen şekilde belirlenmiştir (Olives Barba vd., 2006). Kolon olarak C8 kolonu (5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  250 mm), mobil faz olarak metanol/asetonitril (90:10 v/v) kullanılmıştır. 475 nm'de spektral ölçüm için 1 mL/dk. bir akış hızı ve 10  $\mu$ L enjeksiyon hacmi kullanılmıştır.

## 2.7 İstatistiksel Analiz

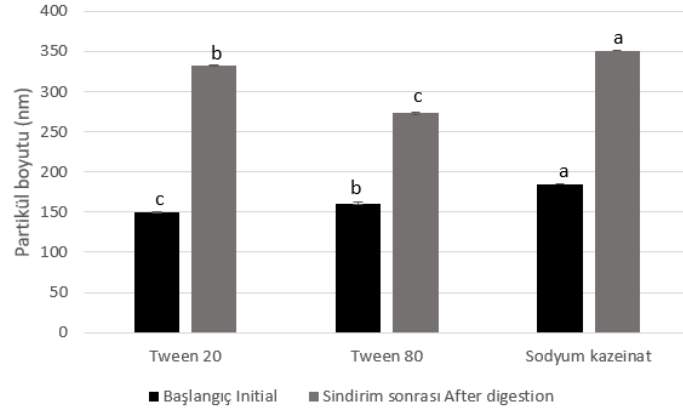
Analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Veriler SPSS yazılımı kullanılarak tek yönlü ANOVA'ya tabii tutulmuş ve numuneler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır ( $p < 0,05$ ).

## 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

### 3.1. Partikül boyutu ve zeta potansiyel

Emülsiyonların karakterizasyonu için hem sindirilmemiş hem de sindirime uğramış örneklerin parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçümleri yapılmıştır. Partikül boyutu Şekil 1'de, zeta potansiyel sonuçları da Şekil 2'de verilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda hazırlanan emülsiyonların nano boyutta olduğu tespit edilmiştir. Emülgatör olarak Tween 80'in kullanıldığı emülsiyonunun parçacık boyutu 150 nm, Tween 20'nin kullanıldığı emülsiyonda 161 nm ve sodyum kazeinatın kullanıldığı emülsiyonda 185 nm olarak ölçülmüştür. Küçük molekül içeren surfaktanlar nano boyutta emülsiyon oluşturmada proteinler gibi sıklıkla kullanılmakta olup parçacık boyutunu farklı etkilemektedir (Qian ve McClements, 2011). Sindirim sonrasında ise Tween 20, Tween 80 ve sodyum kazeinatın kullanıldığı emülsiyonlarda parçacık boyutu sırası ile 333 nm, 273 nm ve 351 nm olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde, yapılan bir başka çalışmada sindirim öncesinde emülgatör olarak Tween 20, sodyum kazeinat ve modifiye nişasta kullanılan örneklerde sırası ile 195, 205 and 180 nm ölçülürken, sindirim sonrasında partikül boyutlarında artış tespit edilmiştir (Yuan vd., 2019a). Sindirim sonrasındaki parçacık boyutunun değişmesi, genellikle numunelerdeki parçacıkların sindirim sonrasında önemli ölçüde değişmesinden kaynaklanmaktadır (Zou et al., 2015). Zeta potansiyeli başlangıç örneklerinde -2,7 ila -21,8 mV, *in vitro* sindirim sonrası 2,8 ila -17,3 mV aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Sindirilmemiş örneklerde, sodyum kazeinat en yüksek negatif yüke sahip emülgatördür. Yapılan bir çalışmada da sodyum kazeinat kullanılan örneğin zeta potansiyeli -52,1 mV iken, Tween 20 kullanılan örneğin zeta potansiyeli -25,1 mV bulunmuştur (W. Lu vd., 2017). Negatif potansiyel yükün artması veya azalması *in vitro* sindirim koşulları, oluşturulan

emülgatör türlerine göre değişim göstermektedir (Gasa-Falcon vd., 2019; McClements, 2018; Yuan vd., 2019a).

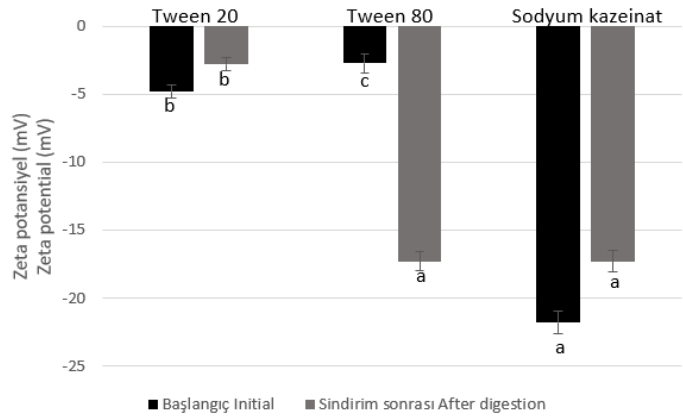


Şekil 1. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında partikül boyutunda (nm) meydana gelen değişimler

Başlangıç ve sindirim sonrasına ait sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

Figure 1. Changes in mean particle diameters (nm) during *in vitro* gastrointestinal digestion

Different letters above bars represent statistically significant differences for each fraction, individually ( $p < 0.05$ )



Şekil 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında zeta potansiyelde (mV) meydana gelen değişimler

Başlangıç ve sindirim sonrasına ait sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

Figure 2. Changes in mean zeta potential (mV) during *in vitro* gastrointestinal digestion

Different letters above bars represent statistically significant differences for each fraction, individually ( $p < 0.05$ )

### 3.2 Toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite

Farklı emülgatörler kullanıldıkça örneklerdeki toplam fenolik madde içeriğinde ki değişimler Çizelge'de gösterilmiştir. Posanın toplam fenolik madde içeriği 364.8 mg GAE /100 g

olarak tespit edilmiştir. Emülsiyonlar ile homojenize edilen posa örneklerinin toplam fenolik madde içeriği 218,5 mg GAE /100 g – 434,7 mg GAE/100 g aralığında değiştiği görülmüştür. *In vitro* sindirimden sonra, tüm örneklerin toplam fenolik madde içeriğinde başlangıç örneklerine kıyasla arttığı tespit edilmiştir. *In vitro* sindirimden sonra, kontrol örneğimiz olan posaya kıyasla Tween 20 kullanılan örnekte 2,5 kat, Tween 80 kullanılan örnekte 2,6 kat ve sodyum kazeinatın kullanıldığı örnekte 3,2 kat artış tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). *In vitro* sindirim sonrasında toplam fenolik madde içeriği en yüksek olan örnek sodyum kazeinat ile hazırlanan örnek olmuştur. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada da karnosik asit fenolik bileşiği lesitin emülgatörü ve mısır yağı ile oluşturulan nanoemülsiyon ile muamalesi sonucunda karsonik asitin biyoerişilebilirliğinde karnosik asitin sadece yağ ile muamale edile kontrol örneğine kıyasla 2,8 kat artış olduğu bulunmuştur. Yapılan bir başka çalışmada, zeytinyağı kullanılarak farklı basınç (12,000 ve 20,000 psi), emülgatör ve geçiş sayısı ile oluşturulan emülsiyonların eklenmesiyle oluşturulan domates posası örneklerinde de sindirilmmeden önce toplam fenolik madde içeriği 254-698 mg GAE/100 g aralığında değişirken, sindirimden sonra 1558-1930 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur (Nemli vd., 2021). Bu artışların nedenleri şu şekilde sıralanabilir: i) sindirimde kullanılan enzimlerin bağlı fenolikleri serbest hale getirmesi ile yeni fenolik bileşiklerin oluşması ii) polimerize olan fenolik bileşiklerin monomer hale gelmesi, iii) hidrofobik özellikte olan fenolik bileşiklerin nanaemülsiyon sayesinde çözünür duruma gelmesi (Bohn, 2014; Serra vd., 2010; Siraj vd., 2021; Zhou vd., 2021).

Toplam antioksidan kapasitesi CUPRAC ve DPPH olmak üzere iki farklı metot ile analizlenmiştir. CUPRAC metoduna göre, başlangıç örneklerinde toplam antioksidan kapasitesi posa örneğinde 907,5 mg TE/100 g olarak tespit edilmiş olup, emülsiyon eklenen tüm örnekler (1028,7 mg TE/100 g- 1798,1 mg TE/100 g) posaya kıyasla istatistiksel olarak önemli oranda daha fazla toplam antioksidan kapasitesine sahip oldukları bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) En yüksek toplam antioksidan kapasitesi değeri, Tween 80 ile hazırlanan örnekte (1798,1 mg TE/100 g) tespit edilmiştir. Benzer şekilde başlangıç örneklerinde DPPH metoduna göre yapılan toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde de emülsiyon eklenen örnekler (1466,3 mg TE/100 g -1485,9 mg TE/100 g) posaya kıyasla istatistiksel olarak daha fazla aktivite göstermişlerdir ( $p < 0.05$ ). *In vitro* sindirim sonrasında posa örneğinin toplam antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemine göre 1007,7 mg TE/100 g, DPPH yöntemine göre 505,5 mg TE/100 g olarak bulunmuştur. Emülsiyonlu örneklerin posaya kıyasla *in vitro* sindirimden sonra CUPRAC metoduna göre 3,1-3,8 kat aralığında, DPPH metoduna göre de 1,6-1,8 kat aralığında toplam antioksidan kapasitesinde artış gözlemlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Her iki yöntemde göre de toplam antioksidan kapasitesi sindirimden sonra en yüksek bulunan örnek sodyum kazeinat ile hazırlanan örnek olmuştur. Benzer şekilde, Silva ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, kurkuminli emülsiyon örneğinin emülsiyonsuz örneğe kıyasla 9 kat daha fazla antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Hem sindirilmemiş hem de sindirilmiş örneklerde sodyum kazeinat emülgatörünün partikül boyutu Tween 20 ve Tween 80'e kıyasla daha küçüktür ( $p < 0.05$ ). Yapılan bir çalışmada da antioksidan aktivitenin partikül boyutu küçüldükçe daha fazla arttığını tespit etmiştir. Partikül boyutu 308 nm olan nanoemülsiyon ile muamale edilen likopen ile zenginleştirilmiş domates ekstraktının antioksidan aktivitesi 317  $\mu$ mol TEAC iken partikül boyutu 184 nm olan olan emülsiyonlu

örneğin ki ise 261  $\mu$ mol TEAC'dır (Ha vd., 2015). Diğer taraftan, mevcut antioksidan testlerinin her birinin birçok avantaj ve dezavantajı vardır. Aynı prensibe sahip metotlar bile birbirinden farklı sonuçlar gösterebilmektedirler (Arnao, 2000).

Tablo. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler

Table. Changes in total phenolic content, and total antioxidant capacity during *in vitro* gastrointestinal digestion

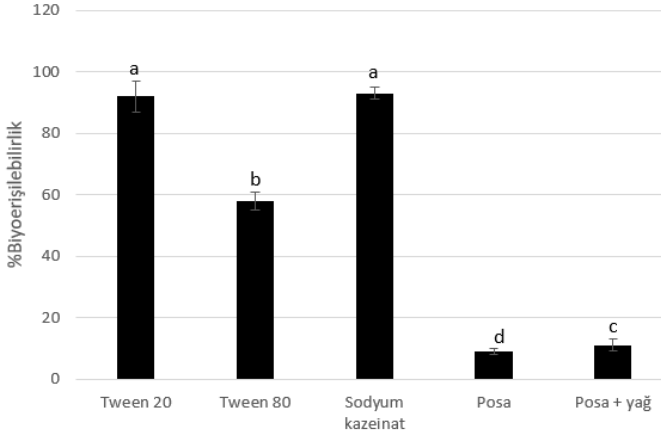
	Başlangıç Initial	Sindirim sonrası After digestion
Toplam fenolik madde (mg GAE/100g) Total phenolic content (mgGAE/100g)		
Tween 20	207,5 $\pm$ 9,8 <sup>d</sup>	1992,7 $\pm$ 10,2 <sup>c</sup>
Tween 80	434,7 $\pm$ 3,9 <sup>a</sup>	2025,8 $\pm$ 7,8 <sup>b</sup>
Sodyum kazeinat	218,5 $\pm$ 1,6 <sup>c</sup>	2524,2 $\pm$ 9,6 <sup>a</sup>
Posa	364,8 $\pm$ 11,4 <sup>b</sup>	785 $\pm$ 10,4 <sup>d</sup>
Posa+yağ	330,7 $\pm$ 12,4 <sup>b</sup>	784,1 $\pm$ 2,0 <sup>d</sup>
Toplam antioksidan kapasite (CUPRAC) (mgTE/100g) Total antioxidant capacity (mgTE/100g)		
Tween 20	1028,7 $\pm$ 9,7 <sup>c</sup>	3423,7 $\pm$ 58,6 <sup>b</sup>
Tween 80	1798,1 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	3163,1 $\pm$ 73,7 <sup>c</sup>
Sodyum kazeinat	1113,5 $\pm$ 16,4 <sup>b</sup>	3814,6 $\pm$ 72,2 <sup>a</sup>
Posa	907,5 $\pm$ 7,8 <sup>d</sup>	1007,7 $\pm$ 23,9 <sup>d</sup>
Posa+yağ	820 $\pm$ 40,0 <sup>d</sup>	904,5 $\pm$ 24,7 <sup>d</sup>
Toplam antioksidan kapasite (DPPH) (mgTE/100g) Total antioxidant capacity (mgTE/100g)		
Tween 20	1479,7 $\pm$ 10,1 <sup>a</sup>	796,7 $\pm$ 38,9 <sup>c</sup>
Tween 80	1485,9 $\pm$ 10,0 <sup>a</sup>	830,8 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>
Sodyum kazeinat	1466,3 $\pm$ 18,9 <sup>a</sup>	902,2 $\pm$ 14,0 <sup>a</sup>
Posa	364 $\pm$ 10,7 <sup>b</sup>	505,5 $\pm$ 8,4 <sup>d</sup>
Posa+yağ	344,6 $\pm$ 4,1 <sup>b</sup>	525,7 $\pm$ 10,4 <sup>d</sup>

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekrarlı olarak temin edilen numunelerde yapılan ölçümlerin ortalama  $\pm$  standart sapma değerleridir. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Data presented in this table consist of average values  $\pm$  standard deviation of 3 batches. Different letters in the rows represent statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

### 3.3 $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği

Karotenoidlerin biyoyararlılığını karotenoidin çeşidi, moleküler bağlar, tüketilen karotenoid miktarı, gıda matriksi, genetik faktörler, biyodönüşümler ve matriks içerisindeki etkileşimler etkilemektedir (West ve Castenmiller, 1998). Diğer taraftan, karotenlerin suda çözünürlüklerinin düşük olması nedeni ile biyoyararlanımları azdır. Son yıllarda, bu tip bileşiklerin biyoerişilebilirlikleri nanoemülsiyonlar ile tasarlanarak arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, nanoemülsiyonu oluştururken kullanılan yağ, emülgatör, homojenizasyon koşulları gibi faktörler de karotenlerin biyoerişilebilirliğini önemli bir şekilde etkilemektedir. Yapılan araştırmalar, uzun zincirli yağ asitlerinin lipofilik yapıdaki biyoaktif bileşenlerin misel formunda daha kolay çözünebildiğini ve biyoerişilebilirliklerinin daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir (McClements, 2017; Priyadarshani, 2017). Lipoflik biyoaktif bileşiklerden olan  $\beta$ -karotenin yüzde biyoerişilebilirlik değerleri Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliği

Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

Figure 3. Bioaccessibility of beta carotenes during *in vitro* gastrointestinal digestion

Different letters above bars represent statistically significant differences for each fraction, individually ( $p < 0.05$ )

Posa örneğindeki  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliği %9, posaya yağ eklenmesi ile %11 olarak tespit edilmiştir. Yağ eklenmesi bu bileşiklerin çözünürlüğünün artması ile karotenlerin biyoerişilebilirliklerinin arttığı literatürdeki çalışmalarda ortaya konmuştur (Tomaş vd., 2019). Emülsiyon eklenen örneklerde ise  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliği hem posaya kıyasla hem de posaya yağ eklenen örneğe kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Emülsiyonlu örneklerde  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliği en yüksekten azalan sıraya göre Sodyum kazeinat (%93) > Tween 20 (%92) > Tween 80 (%58) olarak sıralanmaktadır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, çözünmüş  $\beta$ -karoten, likopen ve lutein içerisine %0, %10, %25 ve %50 oranlarında sodyum kazeinat, peynir altı suyu, soya proteini ve jelatin proteinlerini ekleyerek *in vitro* sindirimlerinden sonra ki % biyoerişilebilirlik değerlerini incelemişlerdir. Proteinlerin eklenmesi  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini %189 a kadar arttırdığı, luteininkini %50 oranında azalttığı ve likopende ise %135 oranında arttırdığını bulmuşlardır. En yüksek artışıda sodyum kazeinatın kullanıldığı örneklerde elde edildiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak, eklenen protein çeşidinin, konsantrasyonunun ve karotenin çeşidine bağlı olarak biyoerişilebilirliğin değiştiğini rapor etmişlerdir (İddir vd., 2020). Bir başka çalışmada,  $\beta$ -karotenin hücresele emilimi kullanılan farklı emülsifer çeşidine göre en yüksekten azalan sıraya göre sodyum kazeinat (0,180  $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein) > Tween 80 (0,146  $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein) > peynir altı proteini (0,130  $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein) olarak bulunmuştur (W. Lu vd., 2017). Yuan ve arkadaşlarının da yapmış oldukları çalışmada en yüksek  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirlik değeri sodyum kazeinatın (%28,8), daha sonra Tween 20 (%13,8) ve en düşük modifiye nişastanın (%8,1) kullanıldığı örnekte tespit edilmiştir (Yuan vd., 2019b). Literatürde yapılan araştırmalarda sodyum kazeinat ile hazırlanan emülsiyonların  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini daha iyi bir şekilde arttırmasının nedeni olarak lipaz enziminin kolay bir şekilde yağ fazına ulaşılabilirliği ile yağların sindirilerek monoaçilgliserollerini, serbest yağ sitlerini oluşturması ile birlikte

sindirim ortamındaki safra tuzları, kolesterol ve fosfolipitler ile birlikte misellerin hızlı bir şekilde oluşup  $\beta$ -karotenin çözünür forma dönüşmesi olarak rapor edilmiştir (W. Lu vd., 2017; Priyadarshani, 2017; Yuan vd., 2019b). Ayrıca,  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini kullanılan nanoemülsiyonun içerisinde ki yağ fazının çeşidi de etkilemektedir. Örneğin, Qian ve arkadaşları (2012a) yaptıkları araştırmada mısır yağı ile oluşturulan nanoemülsiyonların, migilikal ile oluşturulan nanoemülsiyonlara kıyasla  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini daha fazla arttırdığını rapor etmişlerdir.

## 4. Sonuç

Bu çalışmada Tween 20, Tween 80 ve sodyum kazeinat olmak üzere üç farklı emülgatör, mısır yağı ile oluşturulan nanoemülsiyonların domates posası ile birlikte dizayn edilmesi ile domates posası içerisindeki  $\beta$ -karotenin *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak biyoerişilebilirliği incelenmiştir. Sonuç olarak, üç farklı emülgatör kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonlar domates posasının toplam fenolik madde içeriğini, toplam antioksidan kapasitesini ve  $\beta$ -karotenin biyoerişilebilirliğini arttırmıştır. Bu analizlerdeki en yüksek artış sodyum kazeinatın kullanıldığı nanoemülsiyonlu örneklerde tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara dayanarak, nanoemülsiyon uygulaması ile domates posası fonksiyonel ürün tasarımında bir katkı olarak değerlendirilerek, domates posası içerisinde bulunan ve sağlık üzerine olumlu etkileri ile bilinen  $\beta$ -karoten ve antioksidan gibi bileşiklerin potansiyel faydalarından daha fazla yararlanılabilecektir.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK 3501 Programı, 1180377 nolu proje kapsamında desteklenerek yapılmıştır. Bu projenin yapılmasına olanak sağladığı için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

## Kaynakça

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. 2004. "Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(26), 7970–7981.
- Arnao, M. B. 2000, Kasım 1. "Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case". Trends in Food Science and Technology. Elsevier Ltd.
- Bohn, T. 2014. "Dietary factors affecting polyphenol bioavailability". Nutrition Reviews, 72(7), 429–452.
- Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., de Vos, R. 2008. "Changes in Antioxidant and Metabolite Profiles during Production of Tomato Paste". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(3), 964–973.
- Dima, C., Assadpour, E., Dima, S., Jafari, S. M. 2020. "Bioactive-loaded nanocarriers for functional foods: from designing to bioavailability". Current Opinion in Food Science, 33, 21–29.
- Gasa-Falcon, A., Odriozola-Serrano, I., Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O. 2019. "Impact of emulsifier nature and concentration on the stability of  $\beta$ -carotene enriched nanoemulsions during: *In vitro* digestion". Food and

- Function, *10*(2), 713–722.
- Gul, K., Tak, A., Singh, A. K., Singh, P., Yousuf, B., Wani, A. A. 2015. "Chemistry, encapsulation, and health benefits of  $\beta$ -carotene - A review". *Cogent Food and Agriculture*, *1*(1).
- Ha, T. V. A., Kim, S., Choi, Y., Kwak, H. S., Lee, S. J., Wen, J., ... Ko, S. 2015. "Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract". *Food Chemistry*, *178*, 115–121.
- Iddir, M., Dingo, G., Porras Yaruro, J. F., Hammaz, F., Borel, P., Schlee, T., ... Bohn, T. 2020. "Influence of soy and whey protein, gelatin and sodium caseinate on carotenoid bioaccessibility". *Food and Function*, *11*(6), 5446–5459.
- Kumaran, A., Joel Karunakaran, R. 2006. "Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*". *Food Chemistry*, *97*(1), 109–114.
- Lu, W., Kelly, A. L., Miao, S. 2017. "Bioaccessibility and cellular uptake of  $\beta$ -carotene encapsulated in model O/W emulsions: Influence of initial droplet size and emulsifiers". *Nanomaterials*, *7*(9).
- Lu, Z., Wang, J., Gao, R., Ye, F., Zhao, G. 2019, Nisan 1. "Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review". *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd.
- McClements, D. J. 2017. "Recent progress in hydrogel delivery systems for improving nutraceutical bioavailability". *Food Hydrocolloids*, *68*, 238–245.
- McClements, D. J. 2018. "Enhanced delivery of lipophilic bioactives using emulsions: A review of major factors affecting vitamin, nutraceutical, and lipid bioaccessibility". *Food and Function*, *9*(1), 22–41.
- Minckus, M., Alvinger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., ... Brodtkorb, A. 2014. "A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus". *Food & Function*, *5*(6), 1113–1124.
- Mithul Aravind, S., Wichienchot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., Chakkaravarthi, S. 2021. "Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits". *Food Research International*, *142*, 110189.
- Nemli, E., Ozakdogan, S., Tomas, M., McClements, D. J., Capanoglu, E. 2021. "Increasing the Bioaccessibility of Antioxidants in Tomato Pomace Using Excipient Emulsions". *Food Biophysics*, *16*(3), 355–364.
- Olives Barba, A. I., Cámara Hurtado, M., Sánchez Mata, M. C., Fernández Ruiz, V., López Sáenz De Tejada, M. 2006. "Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and  $\beta$ -carotene in vegetables". *Food Chemistry*, *95*(2), 328–336.
- Priyadarshani, A. M. B. 2017. "A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(8), 1710–1717.
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. 2012a. "Nanoemulsion delivery systems: Influence of carrier oil on  $\beta$ -carotene bioaccessibility". *Food Chemistry*, *135*(3), 1440–1447.
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. 2012b. "Physical and chemical stability of  $\beta$ -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type". *Food Chemistry*, *132*(3), 1221–1229.
- Qian, C., & McClements, D. J. (2011). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food hydrocolloids*, *25*(5), 1000-1008.
- Rodriguez-Amaya, D. B. 2021. "Current knowledge on the health benefits of carotenoids: Focus on the scientific evidence". *Global Perspectives on Astaxanthin*, 693–717.
- Serra, A., Macià, A., Romero, M.-P., Valls, J., Bladé, C., Arola, L., Motilva, M.-J. 2010. "Bioavailability of procyanidin dimers and trimers and matrix food effects in *in vitro* and *in vivo* models". *British Journal of Nutrition*, *103*(7), 944–952.
- Silva, H. D., Beldíková, E., Poejo, J., Abrunhosa, L., Serra, A. T., Duarte, C. M. M., ... Vicente, A. A. 2019. "Evaluating the effect of chitosan layer on bioaccessibility and cellular uptake of curcumin nanoemulsions". *Journal of Food Engineering*, *243*(September 2018), 89–100.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents". *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144 LP – 158. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
- Siraj, A., Naqash, F., Shah, M. A., Fayaz, S., Majid, D., Dar, B. N. 2021. "Nanoemulsions: formation, stability and an account of dietary polyphenol encapsulation". *International Journal of Food Science and Technology*, 4193–4205.
- Tomas, M., Beekwilder, J., Hall, R. D., Sagdic, O., Boyacioglu, D., Capanoglu, E. 2017. "Industrial processing versus home processing of tomato sauce: Effects on phenolics, flavonoids and *in vitro* bioaccessibility of antioxidants". *Food Chemistry*, *220*, 51–58.
- Tomaş, M., Sađđiç, O., Çatalkaya, G., Kahveci, D., Çapanođlu, E. 2019. "Effects of cooking and extra virgin olive oil addition on bioaccessibility of carotenes in tomato sauce". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *43*(5), 478–484.
- Trombino, S., Cassano, R., Procopio, D., Di Gioia, M. L., Barone, E. 2021. "Valorization of Tomato Waste as a Source of Carotenoids". *Molecules*.
- West, C. E., Castenmiller, J. J. 1998. "Quantification of the "SLAMENGGHI" factors for carotenoid bioavailability and bioconversion". *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Fur Vitamin-Und Ernährungsforschung. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition*, *68*(6), 371–377. Tarihinde adresinden erişildi <http://europepmc.org/abstract/MED/9857264>
- Yuan, X., Xiao, J., Liu, X., McClements, D. J., Cao, Y., Xiao, H. 2019a. "The gastrointestinal behavior of emulsifiers used to formulate excipient emulsions impact the bioavailability of  $\beta$ -carotene from spinach". *Food Chemistry*, *278*(September 2018), 811–819.
- Yuan, X., Xiao, J., Liu, X., McClements, D. J., Cao, Y., Xiao, H. 2019b. "The gastrointestinal behavior of emulsifiers used to formulate excipient emulsions impact the bioavailability of  $\beta$ -carotene from spinach". *Food Chemistry*, *278*, 811–819.
- Zhou, H., Zheng, B., McClements, D. J. 2021. "Encapsulation of lipophilic polyphenols in plant-based nanoemulsions: Impact of carrier oil on lipid digestion and curcumin, resveratrol and quercetin bioaccessibility". *Food and Function*, *12*(8), 3420–3432.
- Zuorro, A., Fidaleo, M., Lavecchia, R. 2011. "Enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste". *Enzyme and Microbial Technology*, *49*(6–7), 567–573.