T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZEYTİN KARASUYUNUN MAYA İLE ENKAPSÜLASYONU VE FENOLİKLERİNİN İN-VİTRO BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Berkay TAV

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Eş Danışman

Öğr. Gör. Dr. Ruşen Metin YILDIRIM

Haziran, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZEYTİN KARASUYUNUN MAYA İLE ENKAPSÜLASYONU VE FENOLİKLERİNİN İN-VİTRO BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Berkay TAV tarafından hazırlanan tez çalışması 04.07.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ Yıldız Teknik Üniversitesi Danışman	Öğr. Gör. Dr. Ruşen Metin YILDIRIM Yıldız Teknik Üniversitesi Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Sibel ULUATA, Üye
İnönü Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ ve eş danışmanın Öğr. Gör. Ruşen METİN YILDIRIM sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Zeytin Karasuyunun Maya İle Enkapsülasyonu Ve Fenoliklerinin In-Vitro Biyoerişilebilirliğinin Değerlendirilmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Berkay TAV

İmza



Aileme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresindeki desteği ve bu çalışmanın yürütülmesi sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana katkı sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ ve eş danışmanım Öğr. Gör. Ruşen METİN YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve destekleyen Arş. Gör. Öznur SAROĞLU, Canan Yağmur KARAKAŞ ve Araş. Gör. Dr. Gizem ÇATALKAYA'ya

Hayatım boyunca bana durmadan destek olan, her kararımda yanımda olan beni bugünlere getiren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Berkay TAV

İÇİNDEKİLER

KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 5
1.3 Hipotez 5
2 KURAMSAL TEMELLER 7
2.1 Zeytin karasuyu ve içerdiği fenolikler 7
2.1.1 Oleuropein 8
2.1.2 Tirosol 10
2.1.3 Hidroksitirosol 11
2.2 Enkapsülasyon 12
2.3 Enkapsülasyon Teknikleri 14
2.3.1 Akışkan Yatakla Kaplama 14
2.3.2 Dondurarak Kurutma 14
2.3.3 İnklüzyon Kompleksleme 15
2.3.4 İyonik Jelasyon 17
2.3.5 Lipozom 18
2.3.6 Püskürtmeli Kurutma ve Püskürtmeli Soğutma 19
2.4 Maya 21
3 MATERYAL-METOT 22
3.1 Materyal 22
3.2 Yüksek Basınç Uygulaması ve Püskürtmeli Kurutma 22
3.3 Enkapsülasyon Etkinliği ve Enkapsülasyon Verimi 23
3.4 Tozların Verim, Nem, Su Aktivitesi ve Renk Analizi 23
3.5 Total Fenolik İçeriğin Belirlenmesi ve HPLC Analizi 24
3.6 Optik Mikroskop ve Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleme 25
3.7 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi 25

3.8 Simüle Edilmiş Sindirim Koşullarında Ürünlerin In vitro İncelenmesi 25
3.9 İstatistiksel Analizi....26
4 ANALİZ SONUÇLARI **27**
4.1 Elde Edilen Tozların Karakterizasyonu 27
4.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Sonuçları 33
4.3 Fenoliklerin In Vitro Analizi ve Değişimleri 35
5 SONUÇ **42**
KAYNAKÇA **43**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **49**

KISALTMA LİSTESİ

aw	Su Aktivitesi
BI	Biyoerişebilirlik İndeksi
EE%	Enkapsülasyon Etkinliği
EY%	Enkapsülasyon Verimi
FC	Folin-Ciocalteu metodu
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometri
GA	Gallik Asit
HPH	Yüksek Basınç Uygulaması
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HyT	Hidroksitirosol
LMP	Düşük Metoksil Pektin
NBF	Biyoerişilebilirliği Sağlayamamış Fraksiyon
OL	Oleuropein
OMW	Zeytin karasuyu
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
T_g	Camsı Geçiş Sıcaklığı
TPC	Toplam Fenolik İçeriği
Ty	Tirosol
YCs	Maya Hücresi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Zeytin yağı üretim prosesi **7**
Şekil 2.2 Oleuropeinin kimyasal yapısı **9**
Şekil 2.3 Oleuropein hidrolizi ve parçalanma ürünleri **9**
Şekil 2.4 Tirosolün yapısı **10**
Şekil 2.5 Hidroksitirosolün yapısı **11**
Şekil 2.6 Aktif bileşenin enkapsülasyonu **12**
Şekil 2.7 Enkapsülasyonda kullanılan çekirdek ve duvar materyalleri **13**
Şekil 2.8 Akışkan yatak kaplama **14**
Şekil 2.9 Dondurarak kurutucu **15**
Şekil 2.10 Suyun faz diyagramı **15**
Şekil 2.11 β-siklodekstrin yapısı **16**
Şekil 2.12 Kapsayıcı kompleksleme yöntemi **16**
Şekil 2.13 İyonik jelasyon yöntemi **17**
Şekil 2.14 Fosfolipitin yapısı **18**
Şekil 2.15 Lipozomun yapısı **18**
Şekil 2.16 Lipozomların sınıflandırılması **18**
Şekil 2.17 Paralel akışlı sistem (a) ve ters akışlı sistem (b) **19**
Şekil 2.18 Siklonun yapısı **20**
Şekil 2.19 Püskürtmeli kurutucu **20**
Şekil 2.20 Saccharomyces cerevisiae hücre yapısı **21**
Şekil 3.1 Microfluidizer LM-10 ..... **23**
Şekil 3.2 Buchi B-290 kurutucu **23**
Şekil 4.1 OMW içeren tozların EE% ve EY% değerleri **27**
Şekil 4.2 Çözeltilerin optik mikroskop görüntüsü **28**
Şekil 4.3 Basınç uygulanmış besleme çözeltisi **29**
Şekil 4.4 MD-OMW tozu **31**
Şekil 4.5 Elde edilen tozlar **31**
Şekil 4.6 Tozların SEM görüntüleri **33**
Şekil 4.7 Tozların FTIR spektrumları **35**

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Yapılan çalışmalardaki OMW kompozisyonu **8**
Tablo 2.2 Zeytinin fenolik içeriği **8**
Tablo 4.1 Elde edilem tozların nem, su aktivitesi ve kurutma verimleri **30**
Tablo 4.2 Renk değeri sonuçları **32**
Tablo 4.3 Zeytin karasuyunu in vitro koşullardaki fenolik analizi **36**
Tablo 4.4 YCs-OMW in vitro koşullardaki fenolik analizi **36**
Tablo 4.5 YCs-OMW-HPH in vitro koşullardaki fenolik analizi **37**
Tablo 4.6 OMW fenoliklerinin sindirm koşullarındaki değişimi **37**
Tablo 4.7 YCs-OMW fenoliklerinin sindirm koşullarındaki değişimi **38**
Tablo 4.8 YCs-OMW-HPH fenoliklerinin sindirm koşullarındaki değişimi **39**

ÖZET

Zeytin Karasuyunun Maya İle Enkapsülasyonu Ve Fenoliklerinin In-Vitro Biyoerişilebilirliğinin Değerlendirilmesi

Berkay TAV

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Eş-Danışman: Öğr. Gör. Ruşen METİN YILDIRIM

Zeytin karasuyu (OMW), zeytin yağı üretiminde oluşan bir yan üründür. Bu ürünün doğrudan çevreye atılması çevre sorunlarına neden olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar zeytin karasuyunun fenolikler içerdiğini ve bunların güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Fenoliklerin ışık, sıcaklık veya oksijen etkisiyle kolaylıkla degrade olabilmesi bu maddelerin biyoerişebilirliğini düşürmektedir. Enkapsülasyon yöntemleri sayesinde bu fenoliklerin sindirim sisteminde stabilitesi koruması ve biyoerişebilirliklerinin arttırılması sağlanabilir. Bu çalışmada fermantasyon teknolojisinde yaygın olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* püskürtmeli kurutucuda zeytin karasuyunun enkapsülasyonu için duvar materyali olarak kullanılmıştır. Zeytin karasuyunun, maya hücresi (YCs) içerisinde enkapsülasyonu FTIR analiziyle de incelenmiştir. Çalışmada ayrıca hazırlanan bazı

besleme çözeltilerine yüksek basınç uygulanarak fenoliklerin biyoerişebilirliğine etkisi incelenmiştir. Püskürtmeli kurutucu sonrası elde edilen tozların renk, nem, su aktivitesi, enkapsülasyon etkinliği, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Fourier Transform Kızılötesi (FTIR) analizi ve simüle edilmiş gastrointestinal koşullardaki salınım özellikleri incelenmiştir. Elde edilen tozların nem değerleri 2.86% ile 5.02%, su aktivitesi değeri 0.232 ile 0.268 arasında değişmektedir. Yüksek basınç uygulanması maya hücresinin yapısında deformasyona sebep olduğu taramalı elektron mikroskobuyla gözlenmiştir. Enkapsülasyon etkinliği basınç uygulanmamış mayada %48.6, basınç uygulanan mayada %41.42 bulunmuştur. Gastrointestinal koşullardaki salınım incelendiğinde enkapsüle edilmiş OMW'nin serbest OMW'yle karşılaştırıldığında biyoerişebilirliliğin arttığı görülmüştür. Bağırsak ortamı için hazırlanan çözeltide enkapsüle edilmiş örneklerde hidroksitirosol ve oleuropein tespit edilmişken enkapsüle edilmemiş örneklerde bu maddeler tespit edilmemiştir. Fırıncılık mayası fenoliklerin korunması açısından uygun bir enkapsülasyon ajanı olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Zeytin karasuyu, maya, enkapsülasyon, biyoerişebilirlik

ABSTRACT

ENCAPSULATION OF OLIVE MILL WASTEWATER WITH YEAST CELLS AND EVALUATION OF IN-VITRO BIOACCESSIBILTY OF PHENOLICS

Berkay TAV

Department of Food Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Ayşe KARADAĞ

Co-supervisor: Lec. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM

Olive mill wastewater (OMW) is a by-product of olive oil production. In case of direct discarding of OMW to environment, it leads to environmental problems.In recent years studies showed that OMW contains phenolic compounds and they have good antioxidant property. Phenolics can degrade effect of light, temperature or oxygen and it reduces bioaccessibility of these compounds. Thanks to encapsulation methods maintaining stability of phenolic compounds in digestive system and increase their bioaccessibility can be provided. In this study *Saccharomyces cerevisiae* which is widely used in fermentation technology, was used as a wall material for encapsulation of OMW in a spray dryer. Encapsulation of OMW is confimed with FTIR analysis. In addition, high pressure applied to spray feed solutions and investigated its effect of phenolics bioaccessibility. After spray drying operation color, moisture, water activity, encapsulation efficiency, scanning electron microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared (FTIR) analysis of powder

and releasing properties of powders in simulated gastrointestinal conditions were examined. The moisture values and water activity of powders between 2.86% to 5.02%, 0.232 to 0.268 respectively. Encapsulation efficiency was found 48.6% in non-pressurized yeast solution and 41.42% in pressurized yeast solution. When the release in gastrointestinal conditions were examined, it was seen that encapsulated OMW has better bioaccessibilty compared to OMW. When the intestinal medium examined, hydroxytyrosol and oleuropein is detected in encapsulated samples Yeast encapsulation can be further investigated as an important material that will increase the bioaccessibility of phenolics.

Keywords: Olive mill wastewater, yeast, encapsulation, bioaccessibility

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Zeytin yağı üretimi özellikle Akdeniz iklimine sahip ülkelerde yaygın bir endüstridir. Zeytin meyvesi içerisinde biyoaktif bileşenlerde bulundurmasından dolayı yüksek antioksidan etkiye sahiptir. ancak zeytin yağı üretimi sırasında bu bileşenlerin çoğu zeytin posası ve zeytin karasuyunda kalmaktayken yalnızca %2'lik kısmı zeytin yağına geçmektedir[1]. Bu durumun sebebi olarak zeytin içerisindeki fenoliklerin suda çözünürlüğünün yüksek olmasıdır[2]. Zeytin karasuyu, yapılan çalışmalarda içerisinde oleuropein, tirosol, hidroksitirosol gibi önemli fenolik bileşiklerin olduğu görülmüştür[3]. İçerdiği bu fenoliklerden dolayı katma değer yaratılabilecek bir üründür. Zeytin karasuyunu içerdiği fenolikler kozmetik, gıda ve farmasötik başta olmak üzere çeşitli sektörlerde kullanılabilir.[4]

Püskürtmeli kurutucu, sıvı formdaki çözeltinin sıcak ortama püskürtülmesiyle partikül formunda kuru toz üretimi prensibine dayanır[5]. Püskürtmeli kurutucuda ısı iletimi konveksiyonla gerçekleşir. Bir ısı kaynağı (elektrik, doğalgaz...) sistem içerisindeki havayı ısıtır. Kurutulmak istenen çözelti bu ortama damlacıklar oluşacak şekilde atomizerler yardımıyla püskürtülür. Püskürtme sayesinde yüzey alanı arttığından evaporasyon hızlı bir şekilde gerçekleşir. Aspiratör yardımıyla sistem içerisindeki hava ve toz siklona gelir, burada tozun hava içerisinden ayrılması sağlanır. Kurutma işleminin hızlı bir şekilde gerçekleşmesi tozun sıcaklığının çok yükselmemesine bu yüzden sıcaklıkla kolay degrede olabilecek bileşenlerin kurutulabilmesi ve ürün kalitesinin korunmasını sağlar[6]. Elde edilen tozların yüksek kalite, düşük su aktivitesine sahip olması ve kolay depolanabilmesinden dolayı yaygın kullanılan bir teknolojidir[7].

Kreatsouli ve ark. (2019) zeytin karasuyundan elde ettikleri fenolikçe zengin ekstraktı püskürtmeli kurutucuda whey proteini ve maltodekstrinle enkapsüle edip endotel hücrelerdeki antioksidan aktivitesini incelemiştir. Hazırlanan

formülasyonlar farklı sıcaklık değerlerinde kurutulmuştur. Sonuçlara göre maltodekstrin ve whey proteini, antioksidan etkiyi korumada eşit bulunmuştur. Püskürtmeli kurutmada yüksek giriş ve çıkış sıcaklıkları maltodekstrinle kaplanmış örneklerin antioksidan özelliklerini etkilemezken, whey proteini kullanılan örneklerin antioksidan özelliklerinde azalmaya sebep olmuştur[8].

Chasekioglou ve ark. (2017) zeytin karasuyunun katı ve sıvı fazı filtre yardımıyla ayrılmıştır ve elde edilen katı faz maltodekstrin ile karıştırılarak püskürtmeli kurutucuda nem alma cihazı (dehumidifier) yardımıyla kurutulmuştur. Farklı tip maltodekstrinler karşılaştırıldığında düşük DE değerine sahip maltodekstrinlerin camsı geçiş sıcaklığını (T_g) daha yüksek değerlere çıkarttığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre maltodekstrin kullanımı ve püskürtmeli kurutucu ortamındaki havanın neminin alınması son ürün verimini arttırmıştır[9].

Benincasa ve ark. (2022) üç fazlı sistemden elde edilen zeytin karasuyunu püskürtmeli kurutucuda kurutmuştur. Püskürtmeli kurutucuda giriş sıcaklığı 165 ^oC, çıkış sıcaklığı 80 ^oC, besleme hızı 4.5 l/h belirlenmiş, taşıyıcı olarak maltodekstrin kullanılmıştır. Elde edilen tozlardaki fenolik bileşikler yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında tanımlanmıştır. HPLC sonuçlarına göre bir kg toz, 1.481 mg hidroksitirosol, 2.043 mg tirosol, 6.12 mg kateşol, 27.70 mg vanilin, 5.01 mg p-kumarik asit, 2.89 mg kafeik asit ve 103 mg oleuropein içermektedir[10].

Goula ve ark. (2013) çalışmasında üç fazlı sistemden elde edilen yaklaşık %15 kuru maddeye sahip zeytin karasuyunu kullanmıştır. Zeytin karasuyu püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş nem, verim ve mikroskop görüntüleri incelenmiştir. Sonuçlara göre düşük nem içeriğine sahip kurutma hava tozun yüzeyinde katı yüzey oluşmasını sağlamış ve yapışmayı azaltmıştır. Buna ek olarak sistem içerisine beslenen kurutma havasının debisi ve giriş sıcaklığının artması proses verimini arttırmıştır[11].

Sedej ve ark. (2016) zeytinyağı üretiminden çıkan zeytin karasuyunu maltodekstrin ilavesiyle püskürtmeli kurutucuda kurutmuştur. Püskürtmeli kurutma öncesi ön işlem olarak öncelikle 100 µm filtreden geçirilip kaba parçacıklardan ayrılmıştır, sonrasında elde edilen çözeltiye ters ozmoz uygulanıp fenolikçe zengin çözelti elde

edilmiştir. Çözelti %10 oranında DE18 maltodekstrinle karıştırılıp püskürtmeli kurutucuya verilmiştir. Kurutmada giriş sıcaklıkları 130-175 ^{o}C, çıkış sıcaklıkları 55-79 ^{o}C arasında değişmektedir. Ters ozmozdan çıkan çözeltide ve püskürtmeli kurutmada kurutulan zeytin tozunda başlıca fenolik bileşen olarak hidroksitirosol ve tirosol bulunmuştur. Püskürtmeli kurutma parametrelerinin optimize edilmesi fenolik değerlerinde önemli bir değişime sebep olmadığını göstermiştir[12].

Mayalar özellikle tek hücreli genellikle oval veya yuvarlak şekle sahip canlılardır. Mayalar arasında özellikle *Saccharomyces cerevisiae* fermantasyon teknolojisinde önemli bir yere sahiptir. Bira ve şarapçılık endüstrisinin yan ürünü olması, sürekli tedarik edilebilmesi, düşük maliyeti, yüksek protein oranı ve içeriğindeki mikronutrientlerden dolayı katma değer kazandırılabilecek bir üründür[13]. Son yıllarda hem canlı hem de ölü maya hücrelerinin enkapsülasyon materyali olarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır.

Shi ve ark. (2006) yaptığı çalışmada klorojenik asit S. Cerevisiae ile enkapsüle edilip sonuçlar incelenmiştir. Mayalar laboratuvarda üretilmiştir. Üretilen mantarların bir kısmı canlı olarak diğer kısmı yüksek tuz konsantrasyonlarında otolize uğratılarak kullanılmıştır. Maya, klorojenik asit ve suyla yapılan karışım bir süre karıştırıldıktan sonra santrifüj uygulanıp maya içeren çökelti kısmı alınıp dondurarak kurutulmuştur. Sonuçlara göre maya hücresinin plazmolize uğraması enkapsülasyon etkinliğini arttırmıştır. HPLC'den alınan verilere göre kurutma işlemi klorojenik asitte bozulmaya sebep olmamıştır. Simüle edilmiş sindirim sistemindeki salınımı incelendiğinde klorojenik asidin büyük bir miktarı 2 saat içerisinde salınırken tamamının salınması 5 saati bulduğu gözlenmiştir[14].

Nguyen ve ark. (2018) yaptığı çalışmada antosiyanince zengin olan hibiskus ekstraktını maya ile enkapsüle etmiştir. Mayalar iki gruba ayrılmış, bir gruba ısıl işlem uygulanırken diğer gruba ısıl işlem uygulanmamıştır. Isıl işlem uygulanmış mayalı formülasyonda renk kaybı %2.5'ken ısıl işlem uygulanmamış mayada %36.5 bulunmuştur. Bu durumun sebebi olarak mayanın içindeki enzimlerin raf ömrü boyunca antosiyaninleri degrade ettiği düşünülmüştür. Enzimatik aktiviteyi en aza indirmek için ısıl işlem uygulanmamış maya formülasyonu 5 ^{o}C depolanmıştır ve renk kaybı %3.1 bulunmuştur. Sonuca göre maya hücresi

enzimleri inaktive edildiği sürece antosiyaninleri korumak için uygun bir enkapsülasyon materyalidir[15].

Fu ve ark. (2022) yaptığı çalışmada biyoerişebilirliği düşük olan kurkumini maya ile enkapsüle ederek biyoerişebilirliği arttırmayı amaçlamıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre optimum kurkumin:maya oranı 0.1 olarak belirlenmiştir. Kurkuminin enkapsülasyonu floresan mikroskobu, DSC ve TGA ile doğrulanmıştır. Kurkuminin enkapsülasyonunda maya hücresindeki mannoprotein ve beta glukanın varlığının önemli olduğu ve bu maddelerin kurkuminle oluşturduğu hidrofobik etkileşim ve hidrojen bağlarıyla ilişkili olduğu görülmüştür. In vitro analiz sonuçları incelendiğinde kurkuminin maya ile enkapsüle edilmesi biyoerişebilirliği 6 kat arttırmıştır[16].

Paramera ve ark. (2011) yaptığı çalışmada sağlığa önemli faydalı olduğu bilinen kurkumini maya ile enkapsüle etmiştir. Denemelerinde plazmolize uğramış ve uğramamış maya hücreleri, çözgen olarak saf su ve %50'lik etanol kullanarak farklı denemeler yapmışlardır. Enkapsülasyonu gerçekleştirmek için dondurarak kurutma teknolojisi kullanılmıştır. Enkapsülasyon etkinliği sonuçları incelendiğinde canlı maya ve cansız maya hücreleri arasında önemli bir fark görülmemiştir ancak çözgen olarak %50'lik etanol yerine suyun kullanılması enkapsülasyon etkinliğini önemli ölçüde arttırmıştır[17].

Kavetsou ve ark. (2019) yaptığı çalışmada ballıbabagiller familyasından olan Mentha pulegium bitkisinin esansiyel yağı mayayla enkapsüle edilmiştir ve bu formülasyonun pestisit olarak kullanımı amaçlanmıştır. Maya hücreleri, esansiyel yağ ve su bir süre karıştırıldıktan sonra çözelti santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılıp çökelti dondurarak kurutulmuş ve analizleri yapılmıştır. Elde edilen tozlar suda çözündürüldükten sonra boyut ve zeta potansiyel değerleri incelenmiştir. Yükleme kapasitesi incelendiğinden karıştırma süresi ve sıcaklığının artması yükleme kapasitesini %24 arttırmıştır. Yükleme kapasitesi fazla olan örneklerin partikül boyutunun daha küçük, zeta potansiyelinin daha negatif değerlerde olduğu görülmüştür. In vitro salınım modeli incelendiğinde, ilk yarım saatte esansiyel yağın %70'inin salındığı ancak sonrasında salınımın yavaşladığı ve 65 saat sonrasında %81'inin salındığı görülmüştür. Pestisit olarak kullanımını araştırmak için şeftali yaprak biti olarak bilinen *Myzus persicae* üzerindeki etkisi

incelenmiştir. Enkapsüle edilmiş formülasyon enkapsüle edilmemişe göre daha etkili olduğu ve 72 saat etkisinin devam ettiği görülmüştür[18].

Dimopoulos ve ark. (2021) yaptığı çalışmada kekik yağını ön işlemden geçirilmiş ve ön işlem uygulanmamış maya hücreleriyle enkapsüle etmişlerdir. Ön işlem olarak vurgulu elektrik alan teknolojisi ve yüksek basınç uygulaması yapılmıştır. Mikroskop görüntüleri incelendiğinde ön işlemler maya hücrelerinin yüzeyinde değişikliklere sebep olmuştur. Hazırlanan formülasyonlardaki karıştırma süresi ve sıcaklığı yükleme kapasitesini arttırmıştır. Yüksek basınç uygulaması haricinde son ürünün yükleme kapasitesinde önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bunun sebebi olarak yüksek basınç uygulaması hücreye fazla zarar verdiğinden yükleme kapasitesinde azalmaya sebep olduğu düşünülmüştür[19].

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı; zeytin yağı endüstrisinin yan ürünü olan zeytin karasuyunun (OMW) maya ile enkapsülasyonun sağlanması bu sayede simüle edilmiş sindirim sistemi boyunca zeytin karasuyundan salınan fenoliklerin bağırsak epiteline gelene kadar fonksiyonunu kaybetmeden ulaşması ve biyoerişebilirliğinin arttırılması amaçlanmıştır. Ön işlemin enkapsülasyona olan etkisini incelemek için ön işlem uygulanmamış maya ve yüksek basınç uygulamasına maruz bırakılmış maya kullanılmıştır. Çalışmada enkapsülasyonun sağlanabilmesi için püskürtmeli kurutucu ekipmanı kullanılmıştır. Çalışma sonunda üretilen tozların enkapsülasyonu FTIR ve SEM cihazlarıyla doğrulanmıştır. Elde edilen ürünlerin biyoerişebilirliklerini değerlendirmek için simüle edilmiş koşullarda ağız, mide ve bağırsak ortamı incelenmiştir. Zeytin karasuyunda bulunan ve bağırsak epiteline ulaşan örneklerdeki fenolikleri karakterizasyonu için HPLC cihazı kullanılmıştır.

1.3 Hipotez

Enkapsülasyon teknolojisi, basınç, sıcaklık, pH, oksijen gibi dış koşullarda degrade olabilecek bileşenlerin aktivitesi korumak için kullanılmaktadır. Püskürtmeli kurutma da enkapsülasyon teknolojisinde kullanılan yöntemlerden birisidir. Püskürtmeli kurutma, çözeltinin sıcak ortama damlacıklar haline püskürtülmesi ve bu sayede suyun uzaklaşıp çözeltinin kurutulmasıyla gerçekleşir. Çözelti sıcak

ortama püskürtüldüğünde kullanılan duvar materyali (maltodekstrin, gum arabik maya vb.) suyun uzaklaşmasıyla kabuk formu oluşturur ve bu sayede merkezinde bulunan aktif bileşeni koruyucu bir kalkan görevi görür. Bu çalışmada fenolikçe zengin bir ürün olan zeytin karasuyunun duvar materyali olarak maya kullanılarak püskürtmeli kurutma teknolojisiyle enkapsüle edilmesi sağlanacaktır.

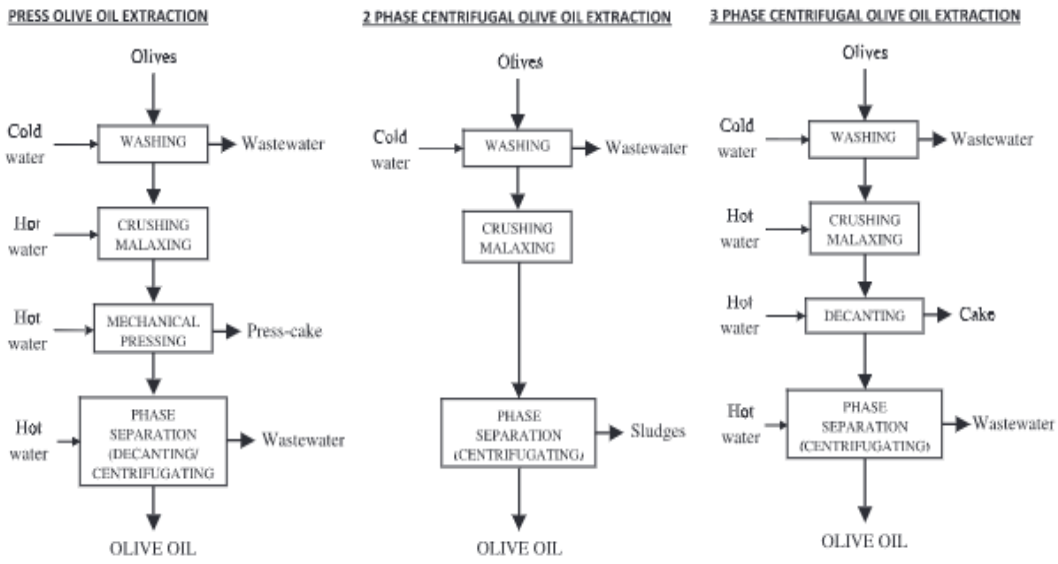
Zeytin meyvesi oleuropein, tirosol, hidroksitirosol gibi güçlü antioksidan etkiye sahip fenolikleri içermektedir. Zeytin yağı işleme sırasında yağ fazı ve su fazı oluşmaktadır. Zeytinde bulunan antioksidanların yüksek polaritesi sebebiyle bu fenolikler su fazında kalmakta ve yağ fazında az bir geçiş olmaktadır. Zeytin karasuyunun endüstriyel amaçla direk bir kullanımı olmadığından dolayı bu fenolikçe zengin yan üründen yeterince faydalanılamamaktadır. Yapılan çalışmalarda içerisindeki bu fenoliklerin antioksidan, anti inflamatuar, anti kanser, anti mikrobiyal ve hipoglisemik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Fenolik bileşikler gastrointestinal koşullarda farklı mekanik ve kimyasal strese maruz kaldıkları için stabilitesini koruyamamaktadır ve bu yüzden biyoerişebilirlikleri düşmektedir.

Bu çalışmada zeytin karasuyunun maya hücresi ile enkapsülasyonu yapılacaktır. Enkapsülasyon sayesinde zeytin karasuyunun dışında koruyucu bir katman bulunacak ve fenoliklerin yavaş salınımı ve simüle edilmiş sindirim sisteminde korunması sağlanacaktır. Bu korunma sayesinde bağırsak epiteline geçen fenolik miktarı arttırılmak istenmektedir.

2
KURAMSAL TEMELLER

2.1 Zeytin Karasuyu ve İçerdiği Fenolikler

Akdeniz diyetiyle beslenen insanlarda başta kardiyovasküler hastalıklar ve kanser olmak birçok hastalığın önlenmesi için etkili bir beslenme olduğu öne sürülmüştür[20]. Bu sağlık etkilerine katkı sağlayan önemli bir gıda da zeytindir. Zeytin ağacı (*Olea europaea* L.) yetiştiriciliği ve zeytin yağı üretimi antik dönemden beri devam eden tarım faaliyetleridir. Her yıl dünyada üretilen yaklaşık 3 milyon ton zeytinin 2 milyon tozu zeytin yağı üretimi için kullanılmaktadır. Akdeniz bölgesindeki ülkelerden İspanya, Yunanistan İtalya ve Portekiz önemli zeytin yağı üreticileridir[21]. Zeytin yağı üretimi için farklı üretim prosesleri geliştirilmiştir (Şekil 2.1). Zeytin yağı üretimi sırasında yaklaşık zeytin miktarının %20'si kadar zeytin yağı, %30 posa ve %50 su fazı oluşur, bu su fazına zeytin karasuyu (OMW) denmektedir[22].



Şekil 2.1 Zeytin yağı üretim prosesi

Fitotoksik ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı zeytin karasuyunun atık yönetimi, zeytin yağı üreticileri açısından önemli bir konudur[23]. Buharlaştırma göletleri, ısıyla konsantre etme, fizikokimyasal ve biyolojik işlemler zeytin karasuyunun bertarafında kullanılan yöntemlerdir. Yapılan çalışmalarda zeytin karasuyunun bitkilerin çimlenme süresinde inhibe ettiği, bitkilerin büyümesinin yavaşladığı ve

mikrobiyal üremeye etkisi olduğu görülmüştür. Bu negatif etkiler zeytin karasuyunun içerdiği yüksek mineral yük, düşük pH'ı ve fitotoksik bileşenler bulunmasından kaynaklanmaktadır[24]. Zeytin karasuyunun koyu renkli olması, fitotoksik ve antimikrobiyal etkisinde sahip olduğu fenolik bileşiklerin etkisi vardır[25]. Zeytin karasuyunda fazla miktarda fenolik bulunmasının nedeni bu fenoliklerin hidrofilik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Yapılan analizlere göre zeytin önemli miktarda fenolik bileşen içermektedir ancak bu fenoliklerin sadece %2'si zeytin yağına geçmektedir. Geriye kalan fenolikleri yaklaşık %53 zeytin karasuyunda, %45'i zeytin posasında kalmaktadır. Yapılan bazı çalışmalardaki OMW kompozisyonu aşağıdaki gibidir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Yapılan çalışmalardaki OMW kompozisyonu

Parametreler	Zeytin karasuyu[26]	Zeytin karasuyu[27]	Zeytin karasuyu[28]
pH	-	5.7	5.3
Tuzluluk %	0.66	-	-
Toplam çözünür madde (g/L)	21.5	26	-
Fenolikler (g/L)	5.991	8.8	4.1

Zeytinin fenolik içeriği iklim, toplanma zamanı, zeytinin olgunluğu, çeşidi, yetiştiği toprağın türü gibi koşullara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Çalışmalarda yapılan HPLC analizlerine göre zeytin karasuyu oleuropein, tirosol, hidroksitirosol, kateşol, ferulik asit, kateşin gibi birçok fenolik bileşen tespit edilmiştir[29].

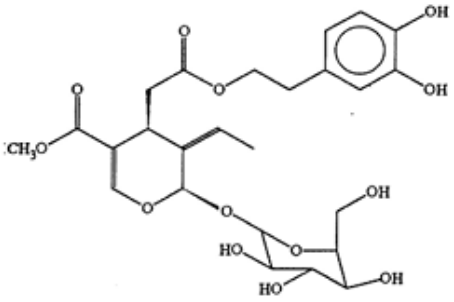
Tablo 2.2 Zeytinin fenolik içeriği [30]

Fenolik Bileşen	**Miktar (%)**
Oleuropein	5-10
Tirosol	0.3
Hidroksitirosol	50-70
Diğer Fenolikler	~20

2.1.1 Oleuropein

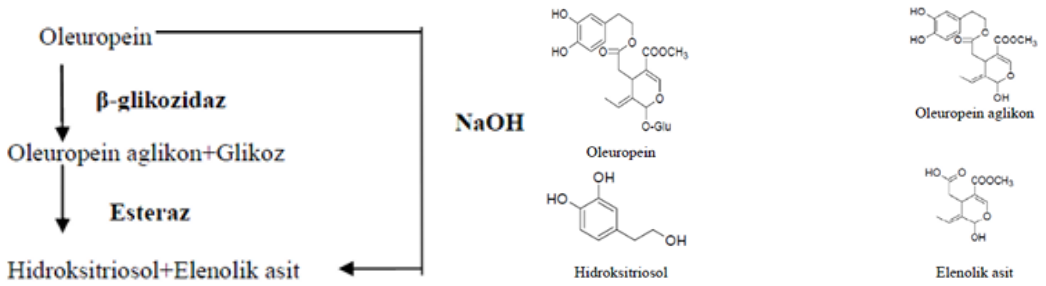
Oleuropein ($C_{25}H_{32}O_{13}$) zeytinde en fazla bulunan fenolik bileşenlerden biridir. Oleuropein 3 alt birimden oluşmaktadır. Bunlar hidroksitirosol elenolik asit ve

glukoz molekülüdür (Şekil 2.2). Zeytinin meyvesinin yanı sıra zeytin ağacı yapraklarında da önemli bir miktar oleuropein bulunmaktadır. Oleuropein zeytine acı tat verdiğinden dolayı zeytin ve zeytinyağı işleme sırasında oleuropeini parçalamak için kostik (NaOH) uygulaması yapılmaktadır. Alkali uygulamasından sonra kimyasalın uzaklaştırılması için tuzlu suyla yıkama gerçekleştirilir. Enzimatik parçalanması için β-glukozidaz ve esteraz enzimi kullanılmaktadır(Şekil 2.3) [31]. Zeytin meyvesi daha olgunlaşmamışken oleuropein düzeyi meyvede 140 mg/g, zeytin yaprağında 60-90 mg/g seviyelerindedir[32]. Zeytin olgunlaşırken oleuropein düzeyinde azalma meydana gelir.



Şekil 2.2 Oleuropeinin kimyasal yapısı

Zeytinde %14'e kadar oleuropein bulunabilmesine rağmen zeytin yağında bu miktar %0.005-2 arasında değişmektedir. Yapılan çalışmada farklı bölgelerde üretilen zeytinyağlarındaki oleuropein miktarı incelenmiştir. Zeytinin çeşidi ve yetiştirildiği bölgeye göre elde edilen zeytin yağındaki oleuropein değeri 0.2-19.5 mg/kg arasında değişmektedir[33]. Sızma zeytin yağları ve zeytin hamurunda oleuropeinin hidroliziyle oluşan oleasin bulunur. Zeytin yağındaki oleasin 111-780 mg/kg arasında değişebilmektedir[32].



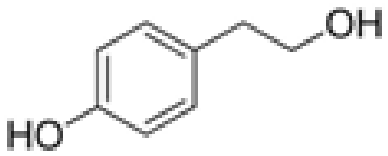
Şekil 2.3 Oleuropein hidrolizi ve parçalanma ürünleri[34]

Oleuropein doğrudan emilemeyen bir maddedir. Vücuda alındıktan sonra sindirim sistemi boyunca hidroksitirosol ve diğer alt ürünlere parçalandıktan sonra emilir bu yüzden oleuropeinin vücudumuza sağladığı fayda aslında parçalanma ürünlerinin

biyoyararlılığıyla ilişkilidir. Elde edilen parçalanma ürünlerinin serbest radikalleri bağlayabilme kapasitesinden dolayı sağlığa olumlu etkileri bulunmaktadır[35]. Oleuropein, askorbik asit ve α-tokoferol gibi gündelik diyetimizde aldığımız vitaminlere benzer antioksidan aktivite göstermektedir[36].Antioksidan etkisi LDL moleküllerini de etkilediğinden dolayı fareler üzerinde yapılan çalışmada plazma kolesterol seviyesinde azalmaya sebep olduğu görülmüştür[37]. Antioksidan özelliğinin yanında vücutta yangıyı önleyici etkisinden dolayı antienflamatuvar, antikanser, nöroprotektif, antimikrobiyal ve antiviral etkisi bulunmaktadır[38].

2.1.2 Tirosol

Tirosol 2-hydroxyphenyl)-ethanol olarak da bilinen $C_8H_{10}O_2$ formülüne sahip zeytin meyvesinde bulunan fenolik bir bileşendir (Şekil 2.4). Zeytin haricinde şarap, bira ve vermut gibi fermente ürünlerde de bulunmaktadır. Tirosolün erime sıcaklığı 91-92 ^oC'dir. Oda sıcaklığında katı olan tirosolün sudaki çözünürlüğü 5 g/100 ml'dir[39].

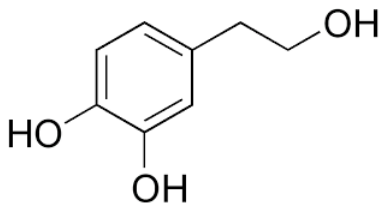


Şekil 2.4 Tirosolün yapısı

Tirosol, hidroksitirosol ile karşılaştırıldığında bir hidroksi grubunun eksik olduğu görünmektedir. Bu hidroksi grubu hidroksitirosolün tirosole kıyasla daha yüksek antioksidan etkisi olduğuna işarettir[40]. Tirosol diğer fenoliklerle karşılaştırıldığında otooksidasyona daha az meyilli olması ve hücre içinde birikebilmesinden dolayı hücrenin oksidasyona karşı korunmasını sağlamaktadır[41]. Yapılan çalışmalarda tirosolün hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, insülin direnci, obezite ve enflamasyonu önlemede etkili olduğu görülmüştür[42].

2.1.3 Hidroksitirosol

Hidroksitirosol 3,4-Dihidroksifenil etanol olarakta bilinen, molekül ağırılığı 154.16 gram olan, $C_8H_{10}O_3$ molekül formülüne sahip fenolik bir bileşiktir (Şekil 2.5). Hidroksitirosol zeytin meyvesi, zeytin yaprağı ve şarapta önemli miktarda bulunur[43].

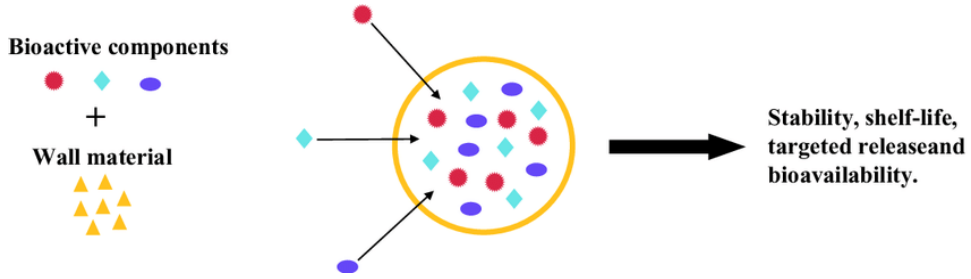


Şekil 2.5 Hidroksitirosolün yapısı

Hidroksitirolün zeytin içerisindeki ana üretim mekanizması oleuropeinin parçalanmasıyla gerçekleşmektedir[44]. Zeytinin olgunlaşması, depolanması sırasında oleuropein parçalanmaktadır bu yüzden erken hasat zeytinde oleuropein baskınken bekledikçe hidroksitirosol miktarı artmaktadır. Yapılan çalışmalarda hidroksitirosolün zeytinde bulunan diğer fenolik bileşiklere kıyasla daha yüksek antioksidan etkisi olduğu görülmüştür. Antioksidan etki mekanizmasının oksijeni bağlamanın yanında vücudumuzdaki antioksidan enzimlerin sentezine etki ettiği de görülmüştür. [43]. Bu mekanizmaları sayesinde günlük diyette kullanılması anti enflamasyon, kardiyoprotektif, antikanser, antimikrobiyal etkileri olduğu görülmüştür. Hidroksitirosolün yapısında çok sayıda hidroksil grubunun bulunması stabilitesini düşürmektedir. Tirosolle kıyaslandığında ışık, hava ve oksijen gibi çevresel etmenler hidroksitirosolün stabilitesini daha hızlı bozabilmektedir. Hidroksitirosolün yüksek hidrofilik özelliği gıda sisteminden hızlı salınıp vücuttan kolayca atılmasına ve biyoyararlılığının düşük olmasına sebep olmaktadır. Hidroksitirosolün düşük biyorarlılığı arttırmak için enkapsülasyon çalışmaları yapılmıştır[45, 46].

2.2 Enkapsülasyon

Aktif bileşenlerin çevresel koşullara karşı dayanıksız olması bu bileşenlerin hem teknolojik olarak kullanılmasında hem de biyoyararlılık konusunda sorunlara neden olmuştur. Bu sorunların önüne geçmek için uygulanan en yaygın yöntem enkapsülasyon teknolojisidir. Şekil 2.6'da enkapsülasyon prosesi gösterilmiştir.



Şekil 2.6 Aktif bileşenin enkapsülasyonu

Enkapsülasyon, biyoaktif bileşenlerin dış etkenlerden, proses ve sindirim koşullarından korunmasını için uygulanan bir yöntemdir. İlaçların taşınmasında, yara örtülerinin geliştirilmesinde, gübrelemede ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde önemli bir alan bulmaktadır. Gıda endüstrisinde aroma maddeleri, antimikrobiyaller, antioksidan maddeler enkapsüle edilmektedir[45-48]. Enkapsülasyon işleminin amaçları şu şekilde sıralanabilir[49];

- Biyoaktif bileşenin stabilitesini korumak
- Biyoaktif bileşenin gıda ile etkileşime girmesini engellemek
- Kötü tat ve aromayı maskelemek
- Aktif bileşenin istenilen bölgeye taşınmasını sağlamak
- Aktif bileşenin kontrollü salınımını sağlamak

Enkapsülasyonun sonucu oluşan yapıda duvar materyali ve çekirdek bileşeni bulunur. Çekirdek bileşeni, vücudumuza yararlı etki gösteren maddelerdir. Bu bileşen katı, sıvı veya gaz formunda olabilir. Çekirdek materyalinin özellikleri fiziksel hali, çözünürlüğü, moleküler ağırlığı gibi değişkenlere bakılarak belirlenir.

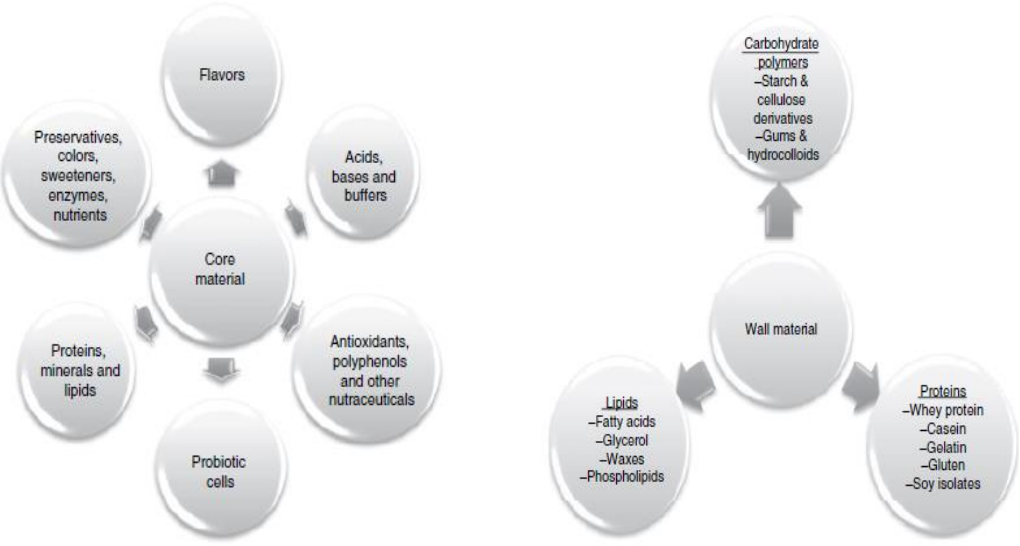
Duvar materyali, aktif bileşeni sararak dış ortamla etkileşime girmesini engelleyen koruyucu tabakadır. Duvar materyali bu koruyuculuğunun yanı sıra aktif bileşenin istenilen bölgeye taşınıp, burada kontrollü salınım profili sergilemesini sağlar. Duvar materyalinde aranan özellikler şu şekilde sıralanabilir[5];

- Çekirdek bileşeniyle etkileşime girmemelidir

- GRAS statüsünde olmalıdır
- Enkapsülasyon etkinliği yüksek olmalıdır
- Çekirdek bileşenini istenilen bölgeye kadar koruyabilmelidir
- Çekirdek bileşenini istenilen bölgeye kadar koruyabilmelidir

Duvar materyali karbonhidrat, lipit veya protein temelli olabilmektedir (Şekil 2.7). Duvar materyalinin özellikleri film oluşturma özelliği, emülsifikasyon yeteneği, çözünürlüğü, stabilitesi, molekül ağırlığı ve yapısı gibi değişkenlere bakılarak belirlenir[50].

Karbonhidratlar duvar materyali olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ucuz, kolay ulaşılabilir olması, çözünürlüğünün yüksek olması enkapsülasyon uygulamalarında avantaj sağlamaktadır. Gum arabik, maltodekstrin ve nişasta kullanılan popüler karbonhidratlardandır. Proteinler, içerdikleri farklı kimyasal gruplar sebebiyle iyi kapsülleme yeteneğine sahiptir. Amfifilik özelliklerinden dolayı farklı çekirdek bileşenlerine karşı kullanılmada esneklik sağlar. Whey proteini, sodyum kazeinat, jelatin enkapsülasyonda kullanılan protein yapılı maddelerdir[51]. Lipitler arasında en çok fosfolipitler enkapsülasyon teknolojisinde kullanım alanı bulmaktadır. Fosfolipitlerin amfifilik yapısı sayesinde hidrofilik ve lipofilik bileşenler kolaylıkla enkapsüle edilmektedir[52].



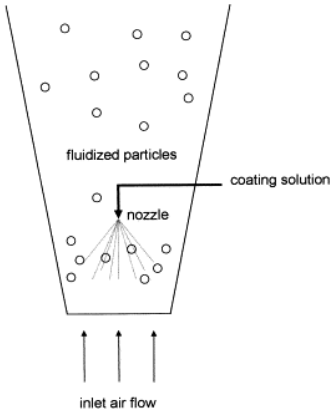
Şekil 2.7 Enkapsülasyonda kullanılan çekirdek ve duvar materyalleri

2.3 Enkapsülasyon Teknikleri

Aktif bileşenlerin enkapsüle edilmesinde birçok teknik kullanılmaktadır. Aktif bileşenin fiziksel formu, sıcaklık hassasiyeti gibi özelliklerine ve partikül boyutu, enkapsülasyon verimi gibi ürün özelliklerine göre uygun enkapsülasyon tekniği belirlenmelidir.

2.3.1 Akışkan Yatakla Kaplama

Akışkan yataklı sistemlere katı haldeki partiküllere nozul yardımıyla çözelti halindeki duvar materyali püskürtülür (Şekil 2.8). Bu sırada sistemin alt tarafından belirli hız ve sıcaklıkta hava girişi gerçekleşir. Aktif bileşen üzerine püskürtülen duvar materyalindeki çözgen alttan gelen hava yardımıyla buharlaşır. Belirli bir süre sonra aktif bileşenin etrafında ince tabaka halinde kaplanma dolayısıyla enkapsülasyon gerçekleşmiş olur [5]. Püskürtmeli kurutmadan başlıca ayrılan noktası çekirdek materyalinin toz formda olmasıdır. Akışkan yatak kullanılarak yapılan enkapsülasyonda nişasta, protein türevleri ve yağlar gibi birçok duvar materyali kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda vitamin B, vitamin C, sodyum askorbat, potasyum sorbat, sorbik asit, kalsiyum propiyonat gibi bileşiklerin akışkan yataklı kurutucuda enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir [53, 54].



Şekil 2.8 Akışkan yatak kaplama

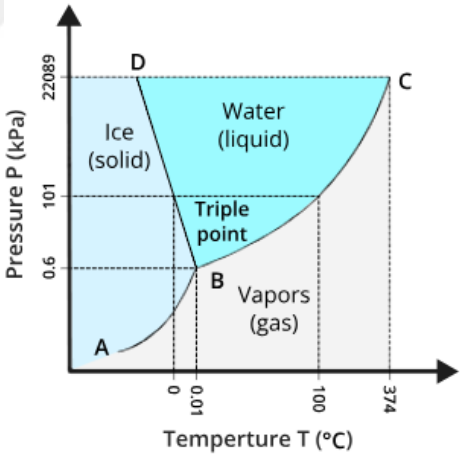
2.3.2 Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma özellikle ısıya duyarlı aktif bileşenlerin enkapsülasyonunda kullanılan bir tekniktir. Dondurarak kurutma işleminde çözgen düşük sıcaklıklarda dondurulur sonrasında vakum uygulaması sayesinde çözgen katı formdan sıvı forma geçmeden süblimleşmeye uğrar. Bu teknikte örneğin hacminde oldukça az

değişim olur[55]. Dondurarak kurutma prosesi 2 aşamadan oluşur. İlk aşamada gıda içerisindeki su dondurulup vakum etkisiyle süblimasyon gerçekleşir. Süblimasyon Şekilde görüldüğü gibi üçlü nokta denilen (triple point) suyun aynı anda hem katı hem sıvı hem de gaz formda olduğu değer olan 0.01 ^{o}C ve 0.6 kPa dikkate alınarak gerçekleştirilir (Şekil 2.10). İkinci aşamada giren maddede kalmış olan kalıntı nemin uzaklaştırılması amaçlanır. Bu sebeple ilk aşamaya göre daha yüksek sıcaklıklarda vakum uygulanarak nem uzaklaştırılır[5]. Dondurarak kurutmayla yapılan enkapsülasyon tekniği özellikle ısıya duyarlı bileşiklerin korunması açısından uygundur. Enkapsülasyon sonunda elde edilen ürün levha şeklinde olduğundan genellikle sonrasında bir öğütme prosesi gerekmektedir. Öğütme prosesine göre elde edilen tozların partikül boyutu 20–5000 mikron arasında değişebilmektedir[56]. Enkapsülasyon sonunda elde edilen tozların morfolojisi raf ömrü açısından önemlidir. Fazla porlu yapıya sahip olan tozlarda duvar materyali yeterli korumayı gerçekleştiremez ve aktif bileşen bu porlardan salınabilir. Bu enkapsülasyon yöntemiyle yüksek kalitede ürün elde edilir ancak yatırım maliyeti, yüksek enerji ihtiyacı, uzun çalışma süresi bu sistemin dezavantajlarıdır.



Şekil 2.9. Dondurarak kurutucu

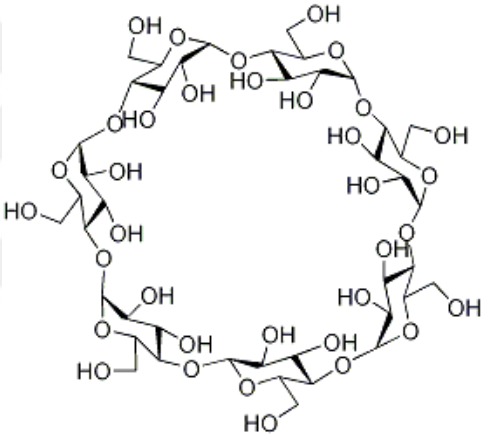


Şekil 2.10 Suyun faz diyagramı

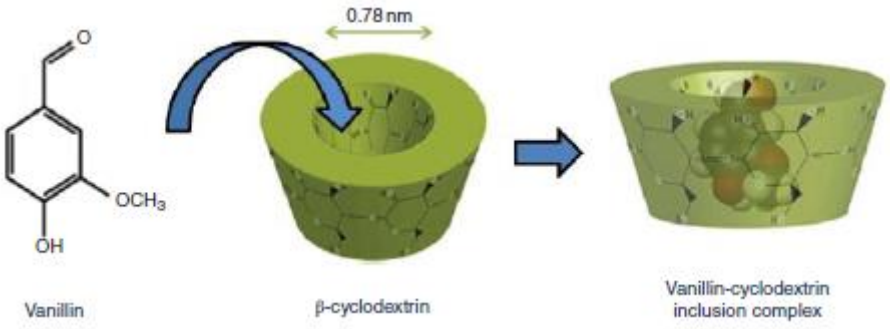
2.3.3 İnklüzyon Kompleksleme

İnklüzyon kompleksleme (kapsayıcı kompleksleme) tekniğinde duvar materyali ve çekirdek bileşeni arasında moleküler etkileşim olur. Amfifilik yapısından dolayı bu yöntemde yaygın olarak kullanılan duvar materyali β-siklodekstrindir. β-Siklodekstrin, siklodekstrin glukosiltransferaz kullanılarak enzimatik bir yöntemle hazırlanan nişastanın siklik bir türevidir (Şekil 2.11). Yapısı incelendiğinde 0.65

nm çapında bir boşluk olan hidrofobik bir merkeze ve hidrofilik bir yüzeye sahiptir. β-siklodekstrin sahip olduğu bu boşluklu yapı aktif bileşenin yerleşebileceği bir yapıdır Aktif bileşenin bu boşluğa gelmesi durumunda Van der Waals etkileşimi ile enkapsülasyon gerçekleşmiş olur[57]. . Enkapsülasyon işleminde kullanılan aktif bileşen β-siklodekstrin yapısına bağlandıktan sonra çöktürme işlemi sayesinde çözeltiden ayrılır ve kurutma prosesi gerçekleştirilir. Bu uygulanan teknik moleküler seviyede gerçekleştiğinden edilen kapsüllerin partikül boyutu 0.001–0.01 mikron arasında değişmektedir[5]. Şekil 2.12'de vanilinin inklüzyon kompleksi oluşturması gösterilmiştir. Bu tekniğin en büyük avantajı yapının yüzeyi hidrofilik olduğundan elde edilen partiküllerin sudaki çözünürlüğü yüksektir Bu sayede özellikle hidrofobik yapıya sahip çekirdek bileşenlerinin alınması ve hücrelere transferinde uygun bulunmaktadır[58].



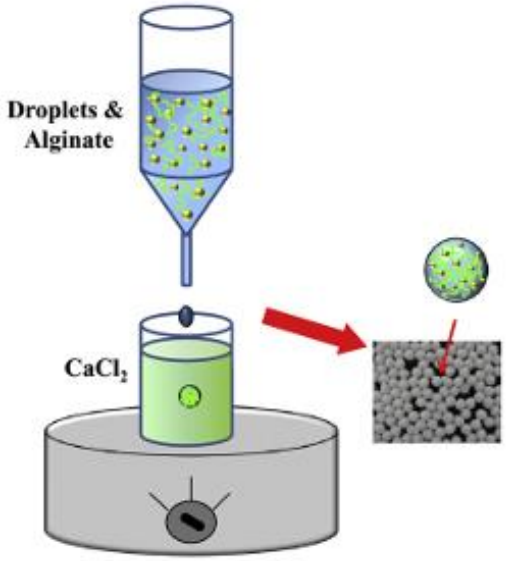
Şekil 2.11 β-siklodekstrin yapısı



Şekil 2.12 Kapsayıcı kompleksleme yöntemi

2.3.4 İyonik Jelasyon

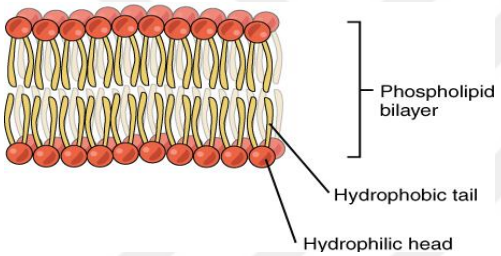
Bu yöntemde polimer ve jelleştirici ajan kullanılır. Diğer yöntemlere göre basit ve ucuz olmasından dolayı geniş bir kullanım alanı bulmuştur. İyonik jelasyonda genellikle polimer olarak aljinat, jelatin, agar, düşük metoksil pektin (LMP), kitosan gibi maddeler, jelleştirici olarak $CaCl_2$, BaCl2, MgCl2, CuCl2, ZnCl2, CoCl2 gibi iyonik jelleşme sağlayan çözeltiler kullanılmaktadır. Bu yöntemde polimer saf su veya düşük asit içeriğine sahip suda çözdürülür. Çözünen polimer çözeltisi içerisinde iyon bulunan ve sabit karışma hızına sahip çözeltiye damlatılır. Molekülün zıt yüklenmesi sebebiyle polimerde jelleşme meydana gelir. Jelleşme sonrasında elde edilen yapılar küresel şekildedir. Enkapsülasyon tamamlandıktan sonra çözelti filtreden geçirilir, kapsüller ayrılır ve kurutulur[59]. Aşağıdaki görselde iyonik jelasyonla enkapsülasyon gösterilmektedir (Şekil 2.13). Enkapsüle edilmesi istenen aktif bileşen aljinat çözeltisiyle karıştırılır. Elde edilen bu karışım $CaCl_2$ çözeltisine damlatılır. Kalsiyum iyonları ve aljinat molekülünün etkileşimi sayesinde jel yapı oluşur ve enkapsülasyon gerçekleşir[60]. Bu metot yüksek sıcaklık ve basınç gibi şartlar içermemesinden dolayı kolay uygulanabilir, toksik bileşenlerin kullanımına gerek duyulmayan bir tekniktir. Kullanılan tekniğe göre nano ve mikro boyutta kapsüller elde edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda antibiyotikler, protein, enzim ve ilaçlar molekülleri iyonik jelasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiştir[59].



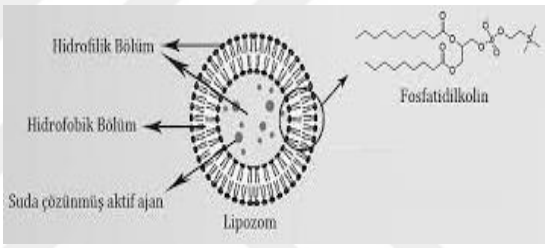
Şekil 2.13 İyonik jelasyon yöntemi

2.3.5 Lipozom

Lipozom, fosfolipit tabakasından oluşan kesecik şeklindeki yapılardır (Şekil 2.15). Aktif bileşeni istenilen bölgeye kadar korunması, hücreye tutunabilmesi ve immün yanıt oluşturmaması sebebiyle enkapsülasyon teknolojisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipozom yapımında kullanılan fosfolipitler, hidrofilik baş kısmı ve hidrofobik kuyruk kısmından oluşur (Şekil 2.14). Oluşturdukları katman sayesinde suda çözünen bileşikleri keseciğin içerisinde, suda çözünmeyen bileşikleri katmanlarının arasında tutulabilmektedir. Gıda endüstrisinde ayçiçeği, soya ve yumurta sarısından elde edilen lesitin yaygın kullanılan bir fosfolipittir. Lesitinlerin yapısında bulunan fosfatidilkolin, fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilgliserol gibi fosfolipitlerin oranı lipozomun özelliklerini etkilemektedir[61].

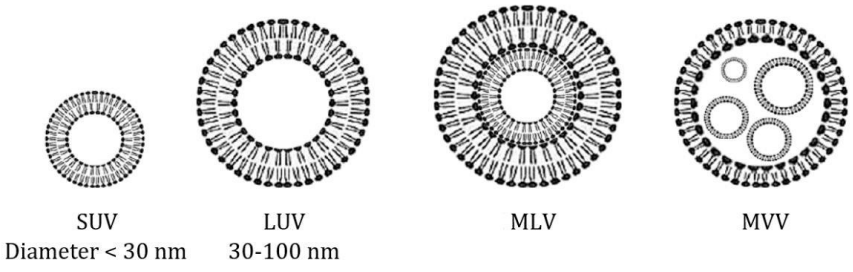


Şekil 2.14 Fosfolipitin yapısı



Şekil 2.15. Lipozomun yapısı

Lipozom yapısının oluşabilmesi için enerji gerekmektedir. Bu enerji homojenizatör veya ultrasonikasyon yardımıyla oluşturulabilir. Enerji girdisi, su ve fosfolipit arasında bir etkileşime ve lipozom yapısının oluşmasına sebep olur. Enerji girdisi sırasında aktif bileşenin yapısal özelliklerine göre lipozomun katmanları arasında veya merkezine yerleşebilir[62]. Oluşan lipozomlar yapılarına göre küçük tek katmanlı, büyük tek katmanlı, çok katmanlı ve çok kesecikli olmak üzere 4 gruba ayrılır(Şekil 2.16) [63].

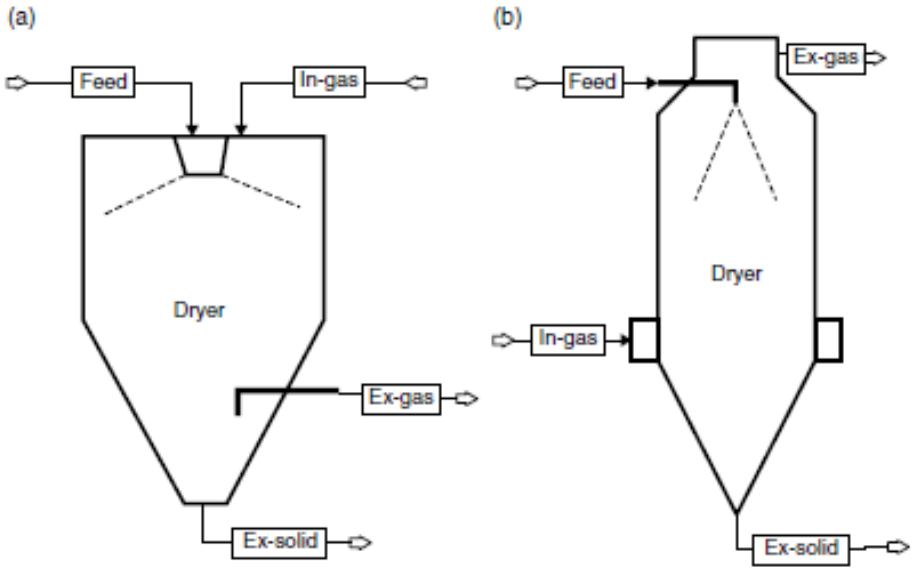


Şekil 2.16 Lipozomların sınıflandırılması

2.3.6 Püskürtmeli Kurutma ve Püskürtmeli Soğutma

Püskürtmeli kurutma, nozuldan püskürtülen sıvının, sıcak hava sayesinde evaporasyona uğraması prensibiyle çalışır. İşletim maliyeti düşük, sürekli sistem çalışılabilen bir enkapsülasyon tekniğidir[49]. Püskürtmeli kurutma prosesi 4 ana aşamadan oluşur.

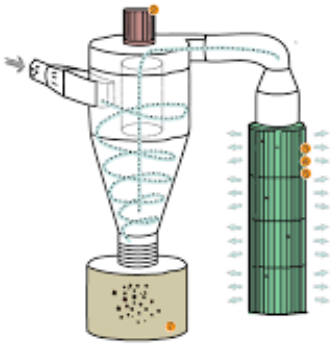
- Çözeltinin püskürtülmesi: Çözelti besleme tankından alınıp pompalar yardımıyla nozula taşınır. Kullanılan nozul tipine göre çözelti yüksek basınç veya hava yardımıyla püskürtülür.
- Çözeltinin sıcak havayla buluşması: Nozuldan çıkan çözelti kurutma çemberi adı verilen püskürtmeli kurutucunun bir alanına püskürtülür. Çözeltinin sıcak havayla ilk temas ettiği yer burasıdır. Sıcak havanın ve çözeltinin püskürtülme yönüne bağlı olarak sistem paralel akışlı (co-current) veya ters akışlı (counter current) olabilir (Şekil 2.17).



Şekil 2.17 Paralel akışlı sistem (a) ve ters akışlı sistem (b)

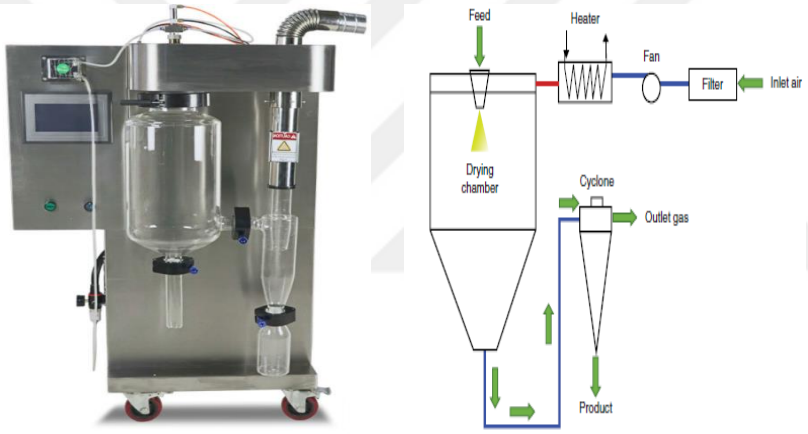
- Nemin uzaklaşması: Nozuldan püskürtülen çözeltinin yüzey alanı arttığı için evaporasyon daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Çözelti sıcak havayla buluşmasından itibaren yüzeyindeki suyu kaybeder ve arzu edilen nem değeri olan %5'in altına düşmesi istenir.
- Tozun sistemden ayrılması: Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra toz ve hava birlikte hareket etmektedir. Tozun havadan ayrılıp ürünün elde edilebilmesi için siklonlar kullanılmıştır. Siklonlar şeklinden dolayı bir

merkez kaç kuvveti oluşturarak hava içerisindeki tozun ayrılmasını sağlar (Şekil 2.18). Püskürtmeli kurutma sonunda elde edilen ürün tozdur ve yüksek çözünürlüğe sahiptir.



Şekil 2.18 Siklonun yapısı

Şekil 2.19'da püskürtmeli kurutucu sistemi gösterilmektedir.



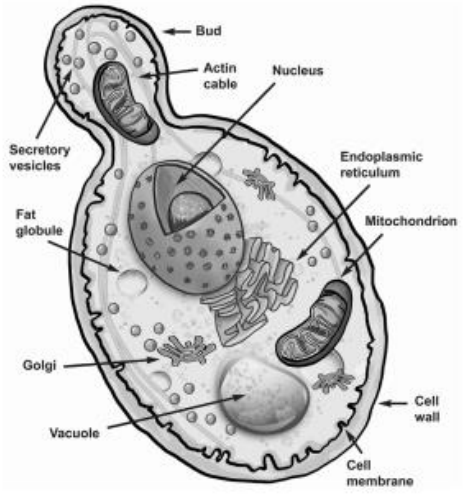
Şekil **2.19**. Püskürtmeli kurutucu

Püskürtmeli kurutmaya benzerlik gösteren püskürtmeli soğutma tekniği de enkapsülasyon uygulamalarında kullanılmaktadır. Püskürtmeli soğutma tekniğinde kullanılan hava soğuktur ve duvar materyali olarak oda sıcaklığında katı halde olan genelde 45-122 ^{o}C erime noktasına sahip yağlar ve stearinler veya 45-67 ^{o}C'de eriyebilen mono ve digliseritler kullanılabilir. Çözeltide eriyik halde bulunan duvar materyali nozuldan püskürtüldükten sonra soğuk havanın etkisiyle katılaşır ve kapsül formunu oluşturur[5]. Püskürtmeli soğutma teknolojisiyle demir sülfat, asitlendiriciler, vitaminler ve aromaların enkapsüle edildiği çalışmalar bulunmaktadır[64].

2.4 Maya

Mayalar çoğu mantarlar grubunun altında olan tek hücreli, ökaryotik mikroorganizmalardır. Mayaların kullanımı insanlar tarafından binlerce yıldır bilinmektedir ve e n eski uygulamaları ekmek mayalanması ve alkollü içkilerin üretimidir. Endüstriyel ve ticari açıdan mayaların kullanımı ise 19. yy'in sonlarında teknolojinin gelişimiyle birlikte istenilen türlerin izole edilip büyük çaplı üretimlerin gerçekleşmesiyle olmuştur. *Saccharomyces, Candida, Kluyveromyces, Pichia* ve *Torulopsis* endüstriyel üretimlerde karşılaşılabilinecek yaygın mayalardır. Bunlar arasında *Saccharomyces cerevisiae* gıda endüstrisinde yaygın kullanılan ve insan diyetine uygun olarak bilinen bir türdür [65].

Saccharomyces cerevisiae günümüzde şarap, bira gibi alkollü içki üretiminde, fırıncılık ürünlerinde, etanol üretiminde kullanılmaktadır. Besin ögesi olarak incelendiğinde kuru madde bazında 40-58% protein, 35-45% karbonhidrat, 4-6% lipit, mineral ve vitamin içermektedir. Bu sayede mayanın inaktive getirilmesiyle besin mayası olaraktan kullanılmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda maya ekstraktının içerdiği peptit ve amino asit yapılarından dolayı gıda ürünlerinde aroma arttırmaya yardımcı olduğu da görülmüştür[66]. Aşağıdaki görselde *Saccharomyces cerevisiae'*nin hücre yapısı gösterilmiştir (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 *Saccharomyces cerevisiae* hücre yapısı

3
MATERYAL-METOT

3.1 Materyal

Zeytin karasuyu, Aydın ilinde bulunan Polat Makineden tedarik edilmiştir. Zeytinler 2021-2022 sezonunda üretilmiş olup iki fazlı dekantör işleminden geçen posa kaba filtre ve yatay dekantörden geçerek üç aşamalı ayrıştırmaya tabi tutulmuştur. Zeytin karasuyunun tedariği sonrasında içerisindeki tortunun uzaklaştırılması için hammaddeye 4020 rpm 4 ºC'de 30 dakika santrifüj uygulanıp süpernatant kısmı ayrılmıştır. Ayrılan süpernatant çalışma süresince 4 ºC'de depolanmıştır. Enkapsülasyon materyali olan *Saccharomyces cerevisiae* mayası endüstriyel üreticiden (Pakmaya, Düzce, Türkiye) tedarik edilmiştir. Kullanılan maya %76 nem içeriğine sahiptir. Maya kuru maddece %44-49 protein, %4-6 yağ, %40 karbonhidrat içeriğine sahiptir. Analiz için gerekli olan Folin–Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat (Na2CO3) , metanol, ve HPLC için kullanılacak fenolik standart çözeltileri Sigma-Aldrich'ten (Steinheim, Almanya) temin edilmiştir.

3.2 Yüksek Basınç Uygulaması (HPH) ve Püskürtmeli Kurutma

Püskürtmeli kurutma çözeltisi için yaş maya, su veya OMW içerisinde karıştırılarak kuru madde oranı %10'a getirilmiş ve çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler ultra turax (T-25 basic, IKA) ekipmanında 9000 rpm'de 5 dakika karıştırılmıştır. Hazırlanan çözeltilerden bazıları yüksek basınçlı homojenizatörde (LM10, Microfluidics, USA) 10.000 psi basınçta 3 çevrim basınç uygulamasına tabi tutulmuştur (Şekil 3.1). Çözeltinin aşırı ısınmasını engellemek için homojenizasyon çemberi buz ile soğutulmuştur. Elde edilen yüksek basınç uygulanmış ve uygulanmamış çözeltiler laboratuvar tipi püskürtmeli kurutucuda (Mini spray-dryer B-290, BUCHI, Switzerland) kurutulmuştur (Şekil 3.2). Püskürtmeli kurutucu ekipmanı 1.5 mm nozula sahiptir. Kurutma prosesinde giriş sıcaklığı 160 ºC, çıkış sıcaklığı 78 ºC, besleme akış hızı 8 ml/dk, atomizasyon havası 0,5 m^3/dk, kurutma havasının debisi 0,6 m^3/dk olarak parametreler ayarlanmıştır. Çözeltideki mayanın tortu oluşturmasını engellemek için besleme sırasında çözelti manyetik karıştırıcıda karışmıştır. Siklon altındaki toplama kabından toplanan tozlar hava geçirmez

kaplarda depolanıp desikatörde bekletilmiştir. Tozların analizleri püskürtmeli kurutma işlemi sonrasındaki 1 hafta içerisinde tamamlanmıştır.



Şekil 3.1 Microfluidizer LM-10



Şekil 3.2 Buchi B-290 Spray Dryer

3.3 Enkapsülasyon Etkinliği (EE%) ve Enkapsülasyon Verimi (EY%)

100 mg toz, 10 mL suda dökülerek manyetik karıştırıcıda 100 rpm'de 30 dakika karıştırıldı. Elde edilen çözeltinin Folin yöntemiyle fenolik değerine bakılıp toplam fenolik içeriği (TPC) not edildi. Benzer olarak 100 mg toz, 10 ml metanol içerisinde 100 rpm'de 15 dakika karıştırıldı. Karıştırılan çözelti 4020 rpm'de 20 dakika santrifüj uygulandı ve süpernatant kısmı ayrıldı. Elde edilen süpernatantın fenolik içeriği yüzey fenolik miktarı olarak belirlendi. Aşağıdaki formüllerde enkapsülasyon etkinliği (EE%) ve enkapsülasyon veriminin (EY%) hesaplaması gösterilmiştir[67, 68].

$$EE\% = \frac{(Total\ phenolic\ content - Surface\ phenolic\ content)}{Total\ phenolic\ content} x100$$

$$EY\% = \frac{(Total\ phenolic\ content, g)}{g\ of\ YCs\ (powder)} x100$$

3.4 Tozların Verim, Nem, Su Aktivitesi ve Renk Analizi

Tozların nem değeri kızılötesi nem tayin cihazıyla (Rad-Wag, MA 50- R, Poland)

sıcaklık 105°C'ye ayarlanıp belirlenmiştir. Su aktivitesi analizi 25 °C'de AWSprint TH500 (Novasina, Switzerland) cihazıyla ölçülmüştür. Tozların L a b renk değerleri chromameter (CR-400, Konica Minolta, Tokyo, Japan) cihazıyla ölçülmüştür. Püskürtmeli kurutma verimi aşağıdaki formüldeki gibi elde edilen toz miktarının besleme çözeltisindeki katı maddeye oranına göre hesaplanmıştır.

$$Yield\% = \frac{Dry\ matter\ content\ of\ feed\ solution,g}{Collected\ powder,g}\ x100$$

3.5 Total Fenolik İçeriğin Belirlenmesi ve HPLC Analizi

Zeytin karasuyu ve suda çözdürülmüş toz ürünlerin total fenolik içeriği (TPC) Folin-Ciocalteu (FC) metoduna [69] göre belirlenmiştir. Özetle uygun oranda seyreltilmiş çözeltiye folin reaktifi ve sodyum karbonat çözeltisi ilave edildi. Hazırlanan karışım 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 760 nm'de absorbans değeri okundu. Elde edilen sonuçlar bir litre OMW'deki veya 100 gram tozdaki mg gallik asit eş değeri (GAE), tirosol eş değeri (TyE) ve hidroksitirosol eş değeri (HyTE) olarak hesaplanmıştır. Spektrometrede ölçümden önce OMW için su, OMW-YCs için suda çözdürülmüş maya boş küvet olarak kullanılmıştır.

OMW ve suda çözdürülmüş tozların fenolik içeriği HPLC cihazında (LC-20 AD pompası, SIL- 20A HT numune alıcısı, CTO-10ASVP kolon fırını, DGU-20A5R gaz giderici ve CMB-20A iletişim veri yolu modülü) diyot dizisi dedektörü (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. OMW'nin HPLC için hazırlanmasında Goldsmith ve arkadaşlarını metodu modifiye edilmiştir[70]. 5 ml OMW çözeltisi 40°C'de vakumlu evaporatörde kurutulmuştur. Kuru örnek metanolde karıştırılıp 15 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Elde edilen çözelti 20 dakika 4020 g'de santrifüj uygulanmıştır. Süpernatantı alına çözelti 0,22 µm filtreden geçirildikten sonra HPLC'ye verilmiştir. Analiz için kolon sıcaklığı 40 °C'ye ayarlanmış, Inertsil ODS-3 kartuş koruma kolonuna (10 × 4 mm, 5 µm partikül boyutu, GL Sciences, Tokyo, Japan) bağlı Inertrsil ODS-3 C-18 ters faz kolonu (250 × 4.6 mm, 5 partikül boyutu, GL Sciences, Tokyo, Japan) kullanılmıştır. HPLC mobil fazında çözücü 1 olarak suyla hazırlanmış %0,1 (v:v) trifloroasetik asit (TFA), çözücü 2 olarak asetonitrille hazırlanmış %0,1 (v:v) TFa kullanılmıştır. Doğrusal dereceli elüsyonda çözgen A akışı 0. dakikada %95, 50.

dakikada %65, 52. dakikada %25, 59. dakikada başlangıç şartlarına dönecek biçimde ayarlanmıştır. Akış hızı 1mL/dk olarak sabitlenmiştir. Cihaz 288, 310 ve 320 nm'deki değerleri kaydetmiştir. Fenolik bileşenlerin tanımlamaları HPLC'de kullanılan standartların tutunma zamanları ve UV spektrumlarına göre kantitatif analizi standart eğrilerine göre yapıldı. Elde edilen sonuçlar 1 litre OMW'de ve 100 gr. tozda bulunan miktar olarak hesaplandı.

3.6 Optik Mikroskop ve Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Görüntüleme

Yüksek basınç uygulanmış ve uygulanmamış maya hücrelerinin morfolojisi optik mikroskop (Olympus CKX41, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) altında incelendi. Ek olarak detaylı görüntüleme için SEM (Carl Zeiss EVO 10, Köln, Germany) cihazı kullanıldı. Numuneler, yapışkanla kaplanmış alüminyum küvet üzerine yerleştirildi. Örnekler Leica vakumlu kaplama ünitesinde 40 mA'da 100 saniye 3 kez argon gazı tasfiyesi kullanılarak ince bir altın tabakası ile püskürterek kaplandı.

3.7 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Tozların kızılötesi alandaki spektrumu Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Bütün FTIR ölçümleri elmas kristalli ATR ekipmanıyla yapılmış olup 4000-600 cm^{-1} aralığındaki grafik incelenmiştir. Örnekler analiz edilmeden önce havanın spektrumu da alınmıştır.

3.8 Simüle Edilmiş Sindirim Koşullarında Ürünlerin In vitro İncelenmesi

OMW, suda çözdürülmüş YCs-OMW ve YCs-OMW-HPH tozlarının in vitro analiz prosedürü Minekus ve arkadaşlarının metoduna göre belirlenmiştir[71]. OMW ve suda çözdürülmüş toz örneklerinin üzerine önceden prosedüre göre hazırlanmış tükürük sıvısı, α-amilaz, ve kalsiyum klorürle eklenmiştir. Çözelti pH 7'ye ayarlandıktan sonra 2 dakika, 100 rpm, 37°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Çözelti 2

dakika sonunda alınıp üzerine hazırlanmış mide sıvısı, kalsiyum klorür ve pepsin ilavesi yapılmıştır. Örnekler pH 7'ye ayarlandıktan sonra 37 ^{0}C'de 2 saat bekletilmiştir. İki saat sonunda bağırsak ortamının simüle edilmesi için çözeltilere hazırlanmış bağırsak sıvısı, safra tuzu, kalsiyum klorür ve pankreatin eklenmiştir. Çözeltiler pH 7'ye getirildikten sonra 120 dakika, 100 rpm, 37°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Simüle edilmiş bağırsak ortamının süresi bittikten sonra çözeltiler 4020 g, 4 ^{o}C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edile süpernatant kısmı liyofilize edilip analizler için depolamıştır.

Santrifüj sonrası elde edilen tortu kısmını biyoerişebilirliği sağlayamamış maya hücrelerinden oluşturmaktadır. Bu maya hücreleri suyla seyreltilmiş %80 metanol çözeltisiyle 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılıp ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon sonrasında çözelti 4020 g, 4 ^{o}C'de 20 dakika santrifüj edilip süpernatant kısmı ayrılmıştır. Elde edilen çözeltiler analiz edilerek biyoerişebilirlik indeksi (BI) belirlenmiştir.

$$BI\% = \frac{Sindirilen\ miktar}{Sindirilmeyen\ miktar} \times 100$$

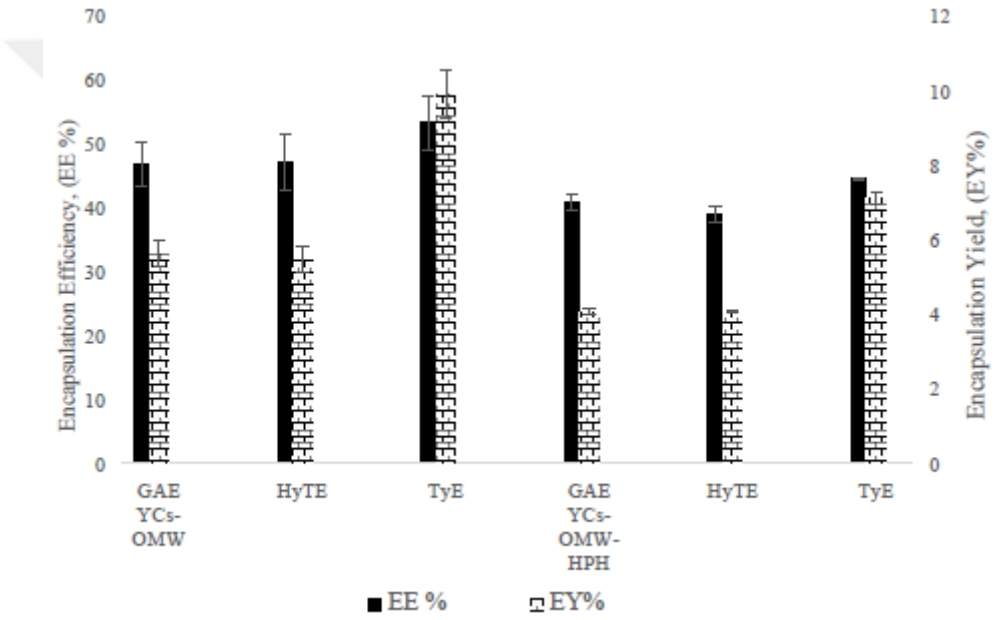
3.9 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS yazılımı (IBM, NY, USA) ile gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi sayesinde belirlenmiştir. Sonuçlarda $p < 0.05$ ise anlamlı farklılık olduğu yorumlanmıştır.

4
ANALİZ SONUÇLARI

4.1 Elde Edilen Tozların Karakterizasyonu

Çalışmada üretilen yüksek basınç uygulanmış ve yüksek basınç uygulanmamış OMW içeren tozları enkapsülasyon etkinliği ve enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır. Sonuçlar standartların kalibrasyon grafiklerine göre gallik asit (GA), hidroksitirosol (HyT) ve tirosol (Ty) eşlenikleri şeklinde aşağıdaki Şekil 4.1'de verilmiştir.

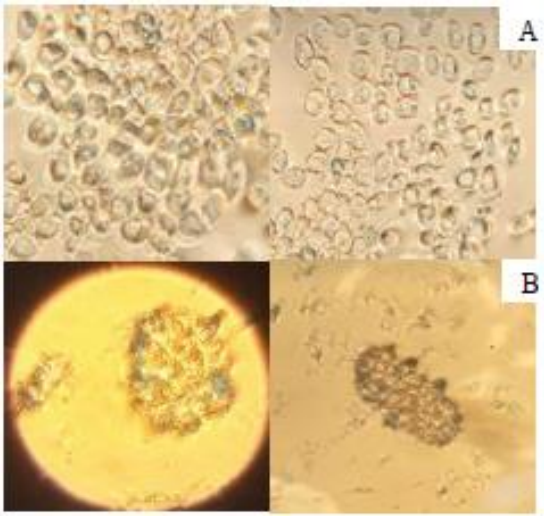


Şekil 4.1 OMW içeren tozların EE% ve EY% değerleri

HPLC analizine göre OMW'de bulunan ana fenolik bileşen hidroksitirosoldür (241.64 ± 7.80 mg/L). Enkapsülasyon etkinliğinin hidroksitirosol eşleniğindeki değerleri incelendiğinde basınç uygulanmamış formülasyonda %44.98±3.42, basınç uygulanmış formülasyonda %38.82±1.26 olduğu görülmüştür. Enkapsülasyon verimi yani bir gram tozun taşıdığı fenolik miktarı incelendiğinde yüksek basınç uygulanmamış formülasyonda %5.42± 0.33, basınç uygulanmış formülasyonda %4.02 ± 0.01 olduğu görülmüştür. Yüksek basınç uygulamasının maya hücrelerini parçalaması hücrelerin OMW içerisinde fenolikleri tutma kabiliyetini azaltmıştır. Bu durum sonucunda yüksek basınç uygulaması hem enkapsülasyon etkinliği hem enkapsülasyon veriminde istatistiksel açıdan önemli düşüşe sebep olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Mayalar içerdiği protein yapısı sayesinde fenolikleri enkapsüle etmekte kullanılmış bir duvar materyalidir. Dimopoulos ve arkadaşlarının yaptığı çalışma incelendiğinde kekik yağını vurgulu elektrik alan ve yüksek basınç uğramış ve uğramamış maya hücreleriyle enkapsüle etmiştir. Sonuçlara göre yüksek basınç uygulaması hücreye fazla hasar verdiğinden yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon etkinliğini azaltmıştır[19]. Önceki çalışmalar incelendiğinde aktif bileşenin polaritesi ve molekül ağırlığı enkapsülasyonu etkilemektedir[72, 73]. Aktif bileşenin maya hücresine yakalanan miktarının çözücüde serbest bulunan miktara oranı azaldıkça aktif bileşen kapsülün içinde az miktarda bulunur bu durum enkapsülasyon etkinliğini düşürmektedir. Bu yüzden kullanılan çözgen cinsi ve miktarı da önem taşımaktadır. Nyungen ve arkadaşları antosiyanince zengin olan hibiskus ekstraktını maya hücreleriyle enkapsüle etmiştir. Hazırlanan çözeltiye %10 etanol koyulması enkapsülasyon etkinliğini 5 kat arttırmıştır[15]. Paramera ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kurkumin maddesi maya ile enkapsüle edilmiştir. Deneyde kurkumin için çözgen olarak etanol yerine su kullanılması enkapsülasyon etkinliğini %15 ten %3'e, enkapsülasyon verimini %33'ten %16'ya düşürmüştür[17].

Yüksek basınç uygulaması maya hücreleriyle hazırlanan formülasyonlarda hücre yüzeylerinde belirgin değişikliğe yol açmıştır. Şekilde basınç uygulanmış ve uygulanmamış çözeltilerin optik mikroskoptan elde edilen görüntüleri verilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Çözeltilerin optik mikroskop görüntüsü

Basınç uygulanmamış çözelti (A) ve Basınç uygulanmış çözelti (B)

Görüntüler incelendiğinde basınç uygulanmamış hücrelerin yuvarlak düzgün bir şekle sahiptir, hücreler ve hücre duvarları belirgin bir şekilde görülmektedir. Yüksek basınç uygulanmış çözeltide maya hücrelerinin duvar yapısının bozulduğu ve aglomerasyonun meydana geldiği görülmüştür.

Daha önceki çalışmalarda maya hücrelerine yüksek hidrostatik basınç (HHP) uygulanmış hücrelerin morfolojisinde farklılıklar bulunmuş ve basıncın hücre duvarına zarar verip hücre içindeki bileşenlerin dışarı çıkmasına sebep olmuştur[74].

Püskürtmeli kurutma için hazırlanan besleme çözeltileri karşılaştırıldığında yüksek basınç uygulanmış maya-zeytin karasuyu formülasyonunda (YCs-OMW-HPH) belirgin bir şekilde maya hücrelerinin faz ayrımı görülmüştür. Zeytin karasuyu asidik pH değerine (4.85±0.01) ve mineralce zengin içeriğe sahiptir [75]. Maya hücrelerinin yapısında birçok fosfat, karboksil ve amino grupları bulunmaktadır. Yüksek basınç uygulamasının hücreyi parçalaması ve zeytin karasuyundaki iyonların etkisiyle maya hücrelerindeki yükün değişmesinin faz ayrımına yol açtığı düşünülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Basınç uygulanmış besleme çözeltisi (YCs-OMW-HPH)

Aşağıdaki tabloda püskürtmeli kurutma sonrasında elde edilen basınç uygulanmış ve uygulanmamış çözeltilerin nem, su aktivitesi (aw), kurutma verimi ve renk analizi sonuçları verilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Elde edilem tozların nem, su aktivitesi ve kurutma verimleri

Çözelti	Nem (%)	Su aktivitesi	Kurutma verimi (%)
YCs	4.76±0.14[a]	0.26±0.00[a]	79.85±2.43[a]
YCs-HPH	2.99±0.13[c]	0.24±0.00[c]	81.56±3.62[a]
YCs-OMW	5.13±0.11[a]	0.25±0.00[b]	27.58±2.89[b]
YCs-OMW-HPH	3.72±0.20[b]	0.23±0.00[d]	32.90±3.80[b]

Tabloda verilen sonuçlara göre nem değerleri incelendiğinde yüksek basınç uygulanmış çözeltilerden püskürtmeli kurutma sonrasında daha düşük nem değerine sahip tozlar üretilmiştir. Basınç uygulanması maya hücrelerinin (YCs) bulunduğu formülasyonun nem değerini %4.76'dan %2.99'a, OMW içeren formülasyon nem değerini %5.13'den %3.72'ye düşürmüştür. Bu durum sebebi olarak yüksek basınç uygulamasının hücreleri parçaladığı ve suyun difüzyonunun kolaylaştığı düşünülmektedir. Benzer sonuç alınan bir çalışmada probiyotik bakteriler farklı taşıyıcılarla püskürtmeli kurutucuda kurutulmuştur. Yüksek basınç uygulaması yapılan çözeltilerde elde edilen nem değeri kontrol örneklerine göre daha düşük bulunmuştur [76]. Püskürtmeli kurutma sonrası elde edilen tozların raf ömrü boyunca stabil kalması için nem değerinin %5'in altında olması gerekmektedir. Bu değerin bir miktar üzerinde olan YCs-OMW formülasyonu hariç diğer tozlar istenilen değerdedir. Su aktivitesi (a_w) değerleri incelendiğinde yüksek basınç uygulaması çözeltide serbest suyun uzaklaşmasını kolaylaştırdığı görülmektedir. Elde edilen tüm tozların a_w değeri mikrobiyolojik bozulma açısından güvenli aralıktadır. OMW içeren tozlar OMW içermeyenlere göre daha yüksek nem ve daha düşük kurutma verimine sahiptir. Çözeltilerden OMW kullanılması verimi %80 civarından %30'lara düşürmüştür. OMW'nin içerisinde bulunan lignin, selüloz, düşük molekül ağırlığındaki şekerler (glikoz, fruktoz) ve organik asitler bu yapışmanın sebebi olabilir. Püskürtmeli kurutmada verimi etkileyen en önemli faktör camsı geçiş sıcaklığıdır. Camsı geçiş sıcaklığı katı partikülün sıcaklık etkisiyle viskoz özellikler kazanmaya başladığı sıcaklık değeri olarak tanımlanır [77]. Çözeltinin içerisindeki besin ögeleri, kullanılan taşıyıcı tipi ve miktarı camsı geçiş sıcaklığını etkiler. Zeytin kara suyunda bulunan asit ve glukoz, fruktoz gibi şekerler T_g değerinin düşmesine ve bu sebeple tozun cam yüzeye yapışmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Camsı geçiş sıcaklığının

verime olan etkisini görmek amacıyla maltodekstrin (DE-19) içeren zeytin karasuyu formülasyonu hazırlanmış ve aynı parametrelerde kurutulmuştur (Şekil 4.4). Elde edilen tozun nem değeri %2.5 su aktivitesi 0.221 bulunmuştur.



Şekil 4.4 MD-OMW tozu

Yapılan çalışmalarda maltodekstrin (DE-19) için camsı geçiş sıcaklığı 162,6 °C bulunmuştur[78]. Bu durum sebebiyle zeytin karasuyunu enkapsüle ederken maya yerine maltodekstrin kullanılması verimi arttırmıştır. Fırıncılık mayasının camsı geçiş sıcaklığının incelendiği bir çalışmada nem değerinin artmasıyla T_g değerinin düştüğü görülmüştür. Su aktivitesi değerinin 0.112-0.323 ve nem değerinin 5.16-7.14% arasında değiştiği mayaların T_g değeri 35.7- 53.7 ^oC arasında değişmektedir [79]. Mayanın zeytin karasuyu çözeltisinin T_g değerini yükseltmede yeterli olmaması ve püskürtmeli kurutma prosesinde çıkış sıcaklığının bu değerin üzerinde olması düşük verime sebep olmuştur. Son yıllarda ekstrakt ve aromaların maya yardımıyla kurutulmasıyla ilgili çalışmalar bulunurken bunlarda verim değerleri paylaşılmamıştır[80, 81]. Püskürtmeli kurutma sonrası elde edilen yüksek basınç uygulanmış ve uygulanmamış toz örneklerin görüntüsü aşağıdaki gibidir (Şekil 4.5).



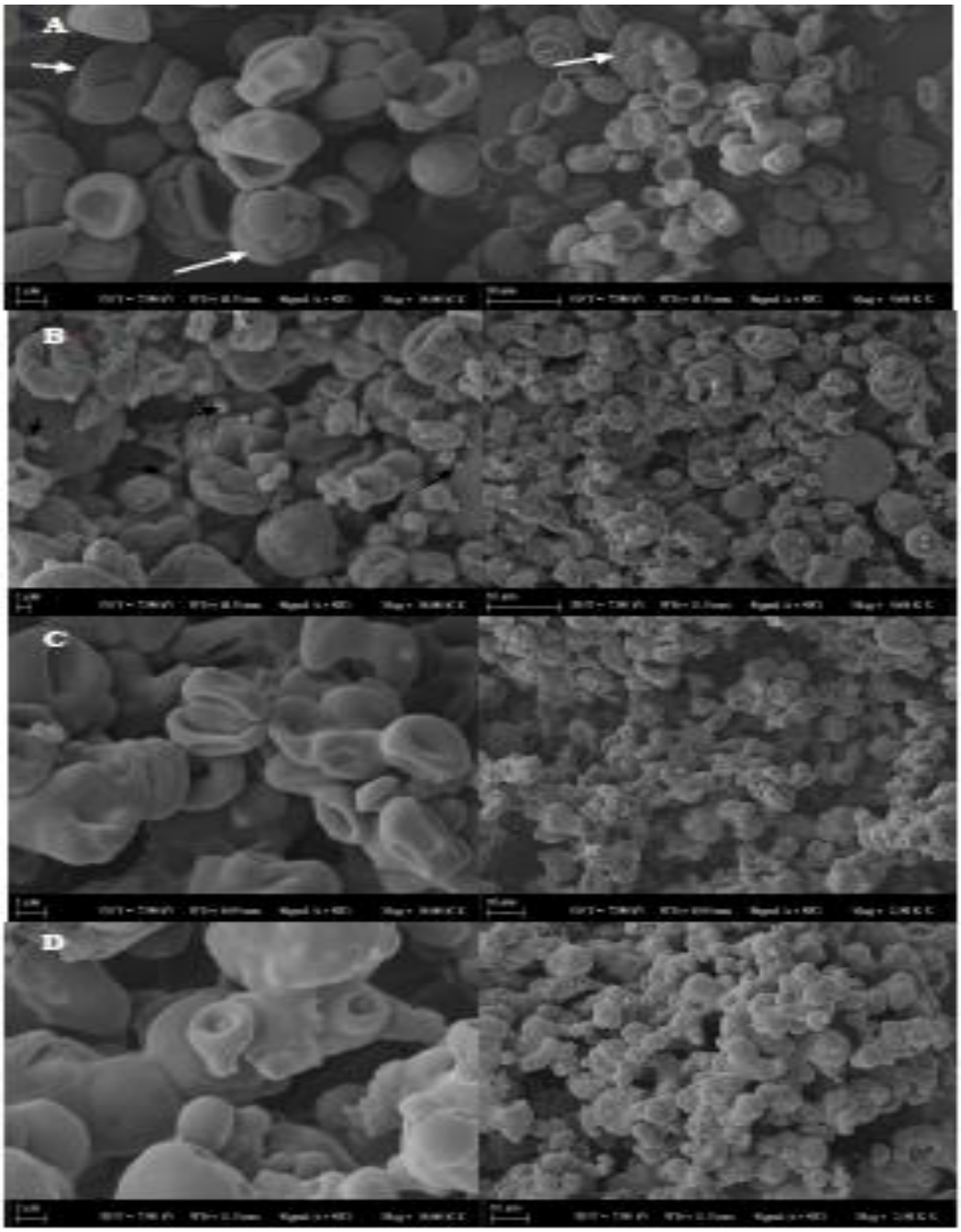
Şekil 4.5 Soldan sağa YCs,,YCs-HPH, YCs-OMW, YCs-OMW-HPH tozları

Aşağıdaki Tablo 4.2'de püskürtmeli kurutma sonrasında elde edilen tozların renk değeri sonuçları paylaşılmıştır. Elde edilen örneklerde OMW ilavesi L değerinde düşmeye sebep olmuştur. Yüksek basınç uygulanması OMW içermeye ve içeren örneklerde beyazlık (L) ve yeşillik (a) değerini arttırmıştır. Sarılık (b) değeri OMW eklenmesiyle önemli ölçüde artmıştır.

Tablo 4.2 Renk değeri sonuçları

Çözelti	**L**	**a**	**b**
YCs	91.62 ± 0.12^{b}	0.33 ± 0.01^{c}	10.02 ± 0.08^{c}
YCs-HPH	92.52 ± 0.08^{a}	-0.34 ± 0.01^{d}	9.03 ± 0.05^{d}
YCs-OMW	66.59 ± 0.34^{d}	3.42 ± 0.05^{a}	26.72 ± 0.37^{b}
YCs-OMW-HPH	72.54 ± 0.53^{c}	2.58 ± 0.05^{b}	28.21 ± 0.15^{a}

Tozları taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.5). Elde edilen görüntülerde tozlar kümelenmiş bir şekildedir. Maya hücrelerinin kurutulduğu örnek genellikle küresel, pürüzsüz görünmekte ve yüzeyinde girinti-çıkıntılar bulunmaktadır (A). Bu girinti-çıkıntılar püskürtmeli kurutma prosesi sırasında buharlaşan suyun yarattığı basınçtan kaynaklanmaktadır. Yüksek basınç uygulanmış maya hücrelerinin olduğu toz daha pürüzlü, buruşuk bir yüzey ve parçalanmış hücreler içermektedir (B). OMW içermeyen tozlarda yüksek basıncın etkisi SEM görüntülerinde belirgin bir şekilde görülmektedir ancak OMW içeren formülasyonlarda bu belirgin değildir. OMW lignin, selüloz, hemiselüloz, mineral gibi besin ögeleri içermektedir. Deney öncesinde OMW santrifüjden geçirilip süpernatant kısmı kullanılmış olsa da fenolik bileşikler haricinde düşük molekül ağırlıklı polisakkaritler, kolloid parçalar bulunabilmektedir. OMW içerisindeki bu maddelerin maya yüzeyini kaplayarak yüzeydeki görüntüyü daha pürüzsüzleştirdiği düşünülmüştür.

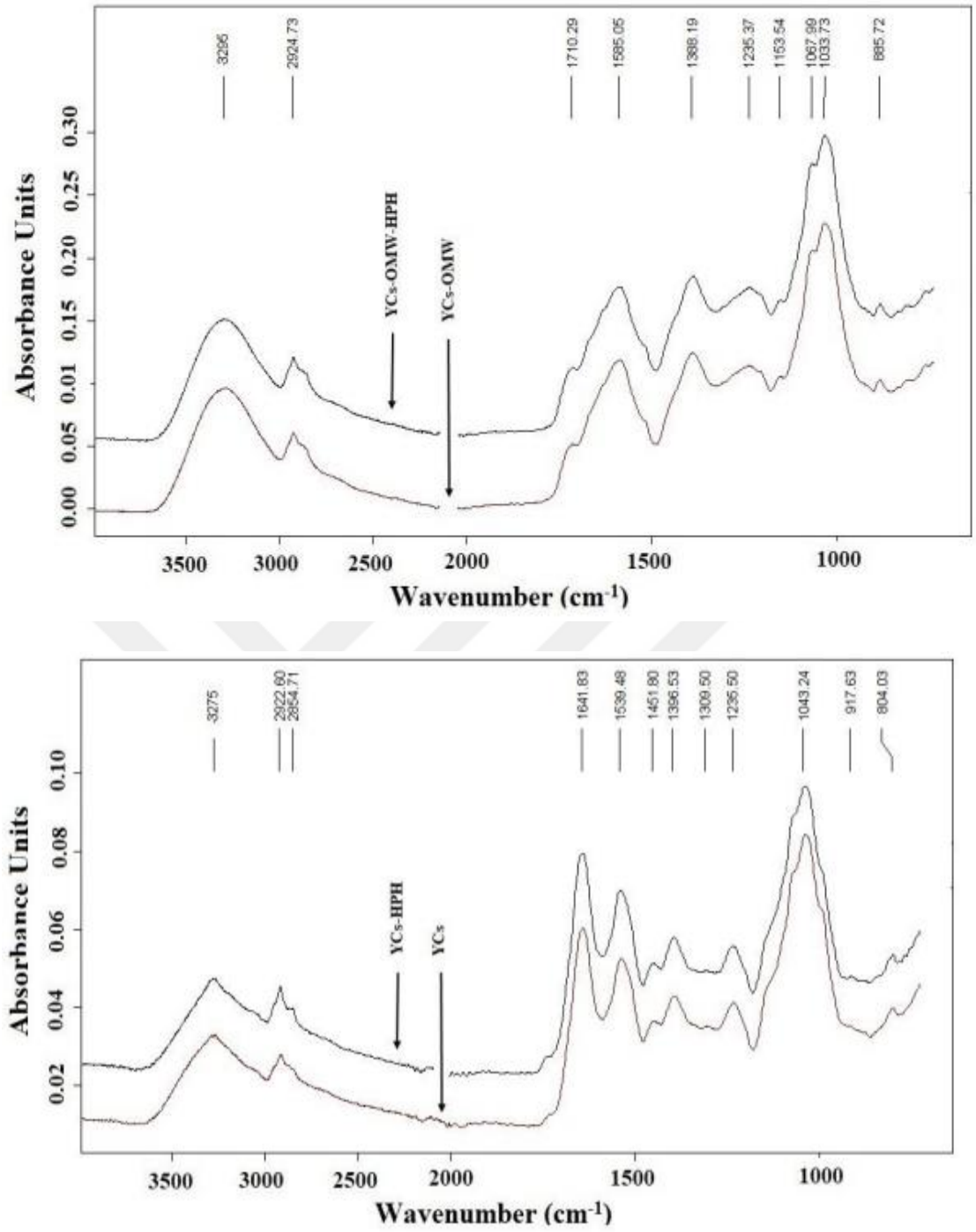


Şekil 4.6 Tozların SEM görüntüleri

4.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Sonuçları

Şekil 4.6'da elde edilen tozların FTIR spektrumları gösterilmiştir. OMW içeren formülasyonda 3295 cm^{-1}'de, omw içermeyen formülasyonda 3275 cm^{-1} dalga boyunda alınan absorbans hidroksil grubunun (OH) verdiği piktir. OMW içeren formülasyondaki pik omw içermeyene göre daha yüksek absorbans değerine

sahiptir. Bu durum omw içerisinde bulunan fenoller ve alkollerin mayaya OH bağı sayesinde bağlandığının göstergesi olabilir. Maya ve su içeren formülasyonda 2922-2854 cm^{-1}'de ve omw içeren formülasyonda görülen 2924 cm^{-1} dalga boyundaki pikler lipitlerdeki CH_2 gruplarının yaptığı simetrik ve asimetrik titreşimlerdir. Yapılan çalışmalarda 1740 cm^{-1} dalga boyunda omuz şeklinde verilen pik lipit esterlerdeki karbonil grubun (C=O) piki olabilir. Maya ve su içeren formülasyonda 1641 ve 1540 cm^{-1} dalga boyunda verilen pik maya hücrelerine özgü olup amid 1 ve amide 2 gruplarının verdiği pikler olarak yorumlanabilir[82]. OMW içeren formülasyonda bu pikler kaybolmuş veya kaymış olabilir. OMW içeren formülasyonda görülen 1710 cm^{-1} dalga boyundaki pik zeytin karasuyu içerisinde bulunan karbonil grup (C=O) içeren karboksil grup (COOH), keton (R−CO−R), aldehit (CHO) gibi grupların verdiği piklerdir. Yapılan çalışmada OMW'deki çift bağların (C=C) 1650-1630 cm^{-1} dalga boyunda pik verdiği, içerisindeki aromatik bileşenlerdeki hidroksil grubunun ise 1400 cm^{-1} civarlarında pik verdiği raporlanmıştır[83]. OMW içeren formülasyonun 1595 cm^{-1} bandında verdiği pik OMW'deki aromatiklerin C=C, C=O gruplarından dolayı olabilir[84]. Bu sebeple YCs-OMW formülasyonunda 1585-1388 cm^{-1}'de görülen pikler OMW'deki fenollerle mayanın etkileşiminden dolayı absorbans vermiş olabilir. Maya ve su içeren örnekteki 1451 ve 1396 cm^{-1}'de oluşan pik mayanın yapısındaki lipit, protein ve peptitlerdeki CH2/CH3 titreşiminden dolayı oluştuğu düşünülmektedir. YCs-OMW tozunda verilen 930−660 cm^{-1}'de verilen pikler C-H grubunun oluşturduğu eğilme titreşimindendir ve bu pik 885 cm^{-1}'de belirgin olarak oluşmuştur. OMW içeren ve içermeyen formülasyonlarda ufak farklılıklar olmasına rağmen yüksek basınç uygulanmış ve uygulanmamış tozlar arasında farklılık görülmemektedir.



Şekil 4.7 Tozların FTIR spektrumları

4.3 Fenoliklerin In Vitro Analizi ve Değişimleri

Çalışmamızda kullanılan OMW'nin toplam fenolik içeriği (TPC) (3560.06±83.36 mg HyTE/L, 5637.35±163.64 mg TyE/L, 3456.30±88.51 mg GAE/L) Gortzi ve arkadaşlarının yaptığı analiz sonuçlarına (3600 mg GAE/L) ve Kiai ve arkadaşlarının yaptığı analiz sonuçlarına (5980 mg TyE/L) benzer değerdedir[85,

86]. Buna karşın daha önce yapılan çalışmada kullanılan OMW'nin değerinden (7545.25 ± 766.89 TyE/L) düşüktür [87]. Aşağıdaki tabloda hammadde olarak kullanılan OMW'nin fenolik içeriği ve in-vitro koşullardaki değişimi görülmektedir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Zeytin karasuyunu in vitro koşullardaki fenolik analizi (BI%: Biyoerişebilirlik indeksi)

TPC	Başlangıç	Ağız Ortamı	Mide Ortamı	Bağırsak Ortamı	BI %
GAE	3546.3±88.51^{a}	1510.06±26.04^{b}	1635.57±82.63^{b}	3361.38±252.91^{a}	95
TyE	5637.35±163.64^{a}	2490.74±48.15^{b}	2572.22±152.78^{b}	5010.1±467.59^{a}	89
HyTE	3560.06±83.36^{a}	1544.15±24.53^{b}	1723.3±77.83^{b}	3653.4±238.21^{a}	103

Daha önceki çalışmalarda zeytin karasuyundaki hidroksitirosol (HyT), tirosol (Ty) kateşin, oleuropein (OL) en fazla bulunan fenolik bileşiklerdir[10, 87]. Bu fenolikler arasında HyT ve Ty en fazla biyolojik aktiviteye sahip olan fenoliklerdir[41]. Hidroksitirolün sızma zeytin yağındaki acı tattan sorumlu olduğu ve gallik asitten sonra en güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir. Toplam fenolik sonuçları incelendiğinde OMW'ye maya ilavesinin fenolik konsantrasyonu arttırdığı ancak yüksek basınç uygulamasının fenolik konsantrasyonu değiştirmediği görülmüştür(Tablo 4.4 Tablo 4.5).

Tablo 4.4 YCs-OMW in vitro koşullardaki fenolik analizi (BI%: Biyoerişebilirlik indeksi NBF: non-bio-accessible fraction Biyoerişilebilirliği sağlayamamış fraksiyon)

TPC	Başlangıç	Ağız Ortamı	Mide Ortamı	Bağırsak Ortamı	NBF	BI %
GAE	5564.8 ± 348.65^{a}	4017.11 ± 571.29^{b}	3807.3 ± 249.16^{b}	3727.71± 19.53^{b}	135.47±4.01^{c}	67
TyE	9836.7 ± 644.59^{a}	6749.38 ± 352.93^{b}	5819.7± 460.65^{bc}	5386.36 ± 36.11^{c}	190.25±7.42^{d}	55
HyTE	5424.0 ± 328.38^{a}	4532.91 ± 13.21^{b}	4079.6± 243.67^{b}	4120.41±18.39^{b}	151.97±3.78^{c}	76

Tablo 4.5 YCs-OMW-HPH in vitro koşullardaki fenolik analizi (BI%: Biyoerişebilirlik indeksi NBF: non-bio-accessible fraction Biyoerişilebilirliği sağlayamamış fraksiyon)

TPC	Başlangıç	Ağız Ortamı	Mide Ortamı	Bağırsak Ortamı	NBF	BI%
GAE	4027.64± 49.77^{a}	1881.20± 352.95^{c}	4400.13±305.91^{a}	3349.9±241.82^{b}	196.11± 21.39^{d}	83
TyE	7085.80± 23.15^{a}	2946.30± 107.41^{c}	7051.11±565.69^{a}	4974.0±447.09^{b}	302.35± 39.54^{d}	70
HyTE	4022.67± 11.79^{b}	2326.79± 54.72^{c}	4583.09±288.18^{a}	3648.8±227.76^{b}	209.08± 20.14^{d}	91

Elde edilen tozların simüle edilmiş sindirim koşullarındaki değişikliği tablolarda gösterilmiştir (Tablo 4.6 Tablo 4.7 Tablo 4.8). Serbest OMW ile karşılaştırıldığında mayayla enkapsüle edilmiş tozların biyoerişebilirliği daha yüksektir.

Tablo 4.6 OMW fenoliklerinin sindirim koşullarındaki değişimi

Fenolikler	OMW (mg/L)				
	Başlangıç	Ağız Ortamı	Mide Ortamı	Bağırsak Ortamı	BI %
Gallik asit	1.06 ±0.30^{a}	0.85 ±0.23^{a}	-	-	-
3-hidroksibenzoik asit	4.51 ±0.41^{b}	20.26 ±4.30^{a}	12.94±0.16^{b}	3.24 ±0.24^{c}	22
p-hidroksibenzoik asit	11.38 ±0.32^{a}	8.76 ±0.16^{b}	2.26 ±0.20^{c}	-	-
Vanilik asit	3.13 ±0.27^{b}	7.83 ±0.16^{a}	2.89 ±0.10^{b}	-	-
p-kumarik asit	13.41±0.45^{c}	19.67 ±0.86^{b}	12.19±0.64^{c}	45.53±1.59^{a}	339
o-kumarik asit	0.83 ±0.40^{b}	8.23 ±0.22^{a}	-	-	-
Kateşin	139.45±5.46^{b}	215.6±17.82^{a}	141.42 ±19.88^{b}	154.24 ±27.86^{b}	111
Epikateşin	18.58 ±3.10^{b}	47.00±2.67^{a}	5.93±0.09^{c}	-	-
Rutin	31.08 ±1.98^{b}	54.31±9.41^{a}	38.32 ±0.52^{b}	12.01 ±2.13^{c}	39
Hidroksitirosol	241.64 ±7.80^{b}	209.11 ± 25.60^{b}	297.89 ±2.63^{a}	-	-

Tablo 4.6 OMW fenoliklerinin sindirim koşullarındaki değişimi (devamı)

Tirosol	96.60 ±4.99^{c}	136.09 ± 3.29^{b}	77.83 ±6.16^{c}	165.18 ±12.74^{a}	171
Oleuropein	22.70 ±3.78^{b}	68.64±4.71^{a}	23.68 ±2.70^{b}	-	-
Toplam	**594.37**	**796.35**	**615.35**	**380.2**	**64**

Tablo 4.7 YCs-OMW fenoliklerinin sindirim koşullarındaki değişimi

Fenolikler	**YCs-OMW (mg/100g)**					
	Başlangıç	**Ağız Ortamı**	**Mide Ortamı**	**Bağırsak Ortamı**	**NBF**	**BI%**
Gallik asit	13.57 ±3.55^{b}	10.27±2.45^{b}	20.94 ±3.49^{a}	-	-	-
3-hidroksibenzoik asit	33.64 ±2.93^{b}	34.44 ±3.12^{b}	57.56 ±15.26^{a}	21.58 ±2.98^{bc}	2.95 ±0.31^{c}	64
p-hidroksibenzoik asit	13.77 ±2.16^{b}	17.26 ±2.47^{b}	18.96 ±2.72^{b}	29.62 ±2.47^{a}	0.29 ±0.03^{c}	215
Vanilik asit	20.70 ±1.41^{b}	33.07 ±6.84^{a}	21.89 ±4.79^{ba}	11.24 ±1.23^{b}	-	54
p-kumarik asit	4.05 ±0.57^{d}	19.01 ±2.66^{b}	11.14 ±0.70^{c}	50.41 ±4.84^{a}	1.15 ±0.20^{d}	1245
o-kumarik asit	15.98 ±0.58^{b}	28.67 ±5.30^{a}	18.76 ±1.23^{b}	12.63 ±0.82^{b}	-	79
Kateşin	100.18 ±6.76^{c}	250.57 ±15.91^{b}	365.70 ±46.14^{a}	153.09 ±26.74^{c}	5.42 ±0.24^{d}	153
Epikateşin	79.77 ±19.02^{b}	75.17 ±0.40^{b}	84.84 ±7.13^{b}	120.01 ±9.10^{a}	-	150
Rutin	102.04 ±14.04^{b}	188.15 ±33.15^{a}	140.58 ±5.14^{b}	120.64 ±1.76^{b}	2.09 ±0.67^{c}	118
Hidroksitirosol	349.30 ±2.94^{a}	324.94 ±24.60^{a}	316.76 ±37.71^{a}	49.54 ±11.92^{b}	-	14
Tirosol	278.05 ±2.27^{a}	224.72 ±31.71^{a}	237.00 ±46.58^{a}	288.40 ±2.42^{a}	8.09 ±1.49^{b}	104
Oleuropein	89.92 ±5.17^{c}	173.27 ±23.05^{a}	152.18 ±44.05^{ab}	170.44 ±27.09^{a}	2.46 ±0.45^{d}	189
Toplam	**1100.97**	**1379.5**	**1446.3**	**1027.6**	**22.45**	**93.3**

Tablo 4.8 YCs-OMW-HPH fenoliklerinin sindirim koşullarındaki değişimi

Fenolikler	YCs-OMW-HPH (mg/100g)					
	Başlangıç	**Ağız Ortamı**	**Mide Ortamı**	**Bağırsak Ortamı**	**NBF**	**BI%**
Gallik asit	27.11 ± 2.77^{ab}	14.02 ±1.81^{b}	27.44 ±9.80^{ab}	30.25 ±4.42^{a}	-	112
3-hidroksibenzoik asit	53.11 ± 4.18^{a}	25.64 ±4.88^{b}	50.35 ±7.03^{a}	20.52 ±4.11^{b}	-	39
p-hidroksibenzoik asit	14.99 ± 0.10^{b}	23.07 ±0.95^{a}	17.81 ±4.04^{ba}	19.72 ±2.72^{ba}	-	132
Vanilik asit	33.85 ± 1.18^{a}	23.78 ±3.23^{b}	24.30 ±2.34^{b}	21.26 ±2.93^{b}	0.81 ±0.12^{c}	63
p-kumarik asit	1.42 ± 0.12^{d}	18.32 ±0.62^{b}	6.44 ±0.15^{c}	58.39 ±3.50^{a}	1.30 ±0.21^{d}	4112
o-kumarik asit	14.31 ± 0.38^{c}	27.58 ±1.49^{a}	11.27 ±0.96^{d}	18.14 ±0.07^{b}	-	127
Kateşin	101.57 ± 4.45^{b}	238.45 ±4.71^{a}	249.27 ±12.33^{a}	236.86±16.44^{a}	0.94 ±0.08^{c}	233
Epikateşin	27.26 ± 3.75^{c}	154.12 ±3.85^{a}	88.85 ±3.52^{b}	96.58 ±2.82^{b}	0.97 ±0.08^{d}	354
Rutin	93.57 ± 4.55^{c}	189.56 ±7.98^{a}	106.69 ±10.97^{bc}	125.74 ±8.66^{b}	2.40 ±0.28^{d}	134
Hidroksitirosol	317.60 ± 3.14^{a}	330.81 ±14.57^{a}	235.57 ±7.53^{b}	77.81 ±11.92^{c}	0.97 ±0.13^{d}	25
Tirosol	285.55± 15.18^{b}	236.16 ±5.63^{c}	207.20 ±2.09^{d}	345.05 ±2.07^{a}	10.07 ±1.66^{e}	121
Oleuropein	124.26± 0.68^{ab}	162.25 ±24.60^{a}	105.87 ±31.89^{b}	153.62±2.31^{ab}	2.87 ±0.06^{c}	124
Toplam	**1094.6**	**1443.8**	**1131.06**	**1203.94**	**20.33**	**110**

Sindirim sonrasındaki fenoliklerin miktarı incelendiğinde OMW'deki miktarlar mayayla enkapsüle edilenlerden daha düşüktür. Enkapsüle edilmiş örneğin bağırsak ortamında HyT'nin tespit edilebilir olması ancak serbest omw'nin bağırsak

ortamında HyT bulundurmaması buna örnek verilebilir. Yapılan bir çalışmada HyT metanolik ekstraktının in-vitro analizinde pankreatin ve safra tuzuna pH 7.5'te 1 saat maruz kalması HyT miktarını önemli ölçüde azaltmıştır. Sindirimin 2. Saatinde ise HyT tespit edilememiştir[88]. Maya ile enkapsüle edilen örneklerde HyT tespit edilebilmesinin sebebi olarak HyT'deki hidroksi gruplarıyla mayanın protein yapısının etkileşime girdiği ve bu sayede sindirim koşullarında korunduğu düşünülmektedir. Bu yüzden bağırsak ortamında HyT miktarının azalması bu ortamdaki hidrolizinden dolayı olmaktadır. Oleuropein (OL), HyT ve sekoiridoid elenolik asidin glikozitin asidik koşullarda yavaşça, alkali koşullarda ise hızlı hidrolize olmaktadır[89, 90]. Hidroksitirosol, oleuropein hidroliziyle oluşan bir ürün olmasına rağmen OL azalışıyla HyT yükselişi orantılı değildir. HyT'nin alkali koşullarda stabilitesinin düşük olması bu durumu açıklamaktadır. Benzer bir çalışmada Ahmad ve arkadaşları zeytin yaprağı fenoliklerinin biyoerişebilirliğini araştırmıştır. Çalışma sonucunda oleuropeinin %61 degrade olmasına rağmen bağırsak ortamındaki eş zamanlı olarak HyT artışı gözlenmemiştir[91]. Zeytinde bulunan fenoliklerin matrisi de biyoerişebilirliği etkileyen faktörlerdendir. Yapılan çalışmalarda sızma zeytin yağı matrisindeki HyT'nin sindirim koşullarındaki stabilitesi su bazlı taşıyıcı, rafine edilmiş zeytin yağı ve yoğurt formülasyonuna göre daha fazladır [92-94]. Bu durum çalışmamızdaki düşük HyT biyoerişebilirliğini açıklamaktadır. Önceden yapılan çalışmalarda HyT'nin zeytin yağındaki formülasyonlarda biyoerişebilirliği zeytin türüne bağlı olarak 212-2452% arasında değişmektedir [95-97]. Zeytin yağı içerisinde bulunan diğer antioksidanların fenolik bileşiklerin degrade olmasını engellediği düşünülmüştür.

Tirosol zeytin yağında bulunan diğer sekoiridoid türevleriyle karşılaştırıldığında makromoleküllerle daha az etkileşime girmektedir ve sindirim sistemi boyunca yapısı bozulmadan diğer fenoliklere göre daha stabil kalmaktadır[98]. Tirosolün sindirim sistemindeki salınımı incelendiğinde bağırsak ortamında salınan tirosol miktarı başlangıçtaki örnekte tespit edilen tirosol miktarından daha fazladır. Cardinali ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada benzer şekilde bağırsak ortamında tirosol miktarının arttığı gözlenmiştir [99]. Yapılan başka bir çalışmada tirosol içeren sekoiridoid türevlerinin asidik mide ortamına maruz bırakıldıklarında 30 dakika sonra tirosol miktarında 3 kat artış olduğu kaydedildi[100]. Çalışmamızda tirosolün biyoerişebilirliği 104-171% arasında değişmektedir. Yapılan diğer

çalışmalarda tirosolün biyoerişebilirliği 76-172% arasında değişmektedir[95, 96]. Hidroksitirosol asetat HPLC kromatogramında p-kumarik asit ile benzer yerlerde pik verebildiğinden ve elimizde hidroksitirosol asetat standardı olmadığından tabloda p-kumarik asit olarak belirtilen bileşik hidroksitirosol asetat olabilir. Hidroksitirosol asetat, oleuropein türevlerinin hidroliz ürünüdür. Hidroksitirosolle karşılaştırıldıklarında daha lipofilik yapıya sahiptir ve stabilitesi daha fazladır[88, 96].

Tablolarda her sindirim aşamasından sonra Folin–Ciocalteu metoduyla ölçülmüş toplam fenolik içerikleri verilmiştir. Mayadan gelebilecek fenoliklerin analiz sonuçlarını etkilememesi açısından sadece maya içeren formülasyona in-vitro analiz yapıldı. OMW örneğinin toplam fenolik içeriği ağız ortamında düştü ancak mide ortamında önemli bir değişik yaşanmamıştır. Bağırsak ortamında ise TPC değerinin arttığı görülmüştür. Enkapsüle edilmemiş OMW'nin HyTE cinsinden biyoerişebilirlik indeksi 103% bulunmuştur. YCs-OMW tozunda yapılan analizde örneğin sindirim ortamları arasındaki geçişinde fenolik içeriğinde az bir düşüş olduğu ve biyoerişebilirlik indeksi 91%, YCs-OMW-HPH tozunda ise bu değer 76% bulunmuştur. Diğer örneklere kıyasla yüksek basınç uygulanan örnekte ağızda daha az fenolik çözünür formdadır ancak sonrasındaki ortamlarda bu fenoliklerin çözündüğü görülmüştür. Sindirim sonrası kalan maya posanın içerdiği fenolik miktarı (NBF) incelendiğinde bu miktarın oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuca göre mayaya bağlanan fenoliklerin çoğu sindirim sistemi boyunca salındığı sonucuna varılabilinir.

5
SONUÇ

Bu çalışmada püskürtmeli kurutucu yardımıyla OMW fenoliklerinin maya hücreleri tarafından enkapsüle edildiği görülmüştür. Besleme çözeltisinde OMW bulunması kurutma verimini azaltmıştır. Bu durumun sebebi olarak OMW içerisinde bulunan düşük molekül ağırlıklı şekerler ve organik asitlerin yapışmaya sebep olduğu düşünülmektedir. Yapılacak sonraki çalışmalarda duvar materyali olarak kullanılacak maya hücrelerinin miktarının arttırılması veya mayanın başka materyallerle (maltodekstrin, gum arabik vb.) kombine olarak kullanılması püskürtmeli kurutma verimini arttıracağı düşünülmektedir. Maya-OMW karışımına püskürtmeli kurutma öncesi yüksek basınç uygulanması fenoliklerin enkapsülasyon verimini azaltmıştır. SEM görüntüleri incelendiğinde HPH-YCs örnekleri buruşuk yüzeyli birbiriyle birleşmiş hücrelerden oluşmaktadır. Görüntülerde parçalanmış hücre parçaları da görülmektedir. Maya hücrelerinin yapısındaki bu parçalanma fenolikleri tutma kabiliyetini azaltmıştır. YCs-OMW formülasyonu fenolikleri simüle edilmiş sindirim koşulları altında korumada başarılı bulunmuştur. Özellikle hidroksitirosol ve oleuropein enkapsüle edilmemiş OMW formülasyonunda bağırsak sıvısında tespit edilememişken enkapsüle edilmiş sistemde bağırsağa ulaşabildiği görülmüştür. Yüksek basınç uygulamasının etkisi incelendiğinde fenoliklerin biyoerişebilirliğine önemli bir katkısı olmamıştır.

KAYNAKÇA

[1] Rodis, P.S., V.T. Karathanos, and A. Mantzavinou, Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. 50(3): p. 596-601.

[2] Yangui, A. and M. Abderrabba, Towards a high yield recovery of polyphenols from olive mill wastewater on activated carbon coated with milk proteins: Experimental design and antioxidant activity. Food Chemistry, 2018. 262: p. 102-109.

[3] Frankel, E., et al., Literature review on production process to obtain extra virgin olive oil enriched in bioactive compounds. Potential use of byproducts as alternative sources of polyphenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013. 61(22): p. 5179-5188.

[4] Dermeche, S., et al., Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. Process biochemistry, 2013. 48(10): p. 1532-1552.

[5] Anandharamakrishnan, C., Spray drying techniques for food ingredient encapsulation. 2015: John Wiley & Sons.

[6] de Souza, V.B., et al., Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (Vitis labrusca). Food and Bioproducts Processing, 2015. 93: p. 39-50.

[7] Shamaei, S., et al., Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. Innovative food science & emerging technologies, 2017. 39: p. 101-112.

[8] Kreatsouli, K., et al., A polyphenolic extract from olive mill wastewaters encapsulated in whey protein and maltodextrin exerts antioxidant activity in endothelial cells. Antioxidants, 2019. 8(8): p. 280.

[9] Chasekioglou, A.N., et al., An approach to turn olive mill wastewater into a valuable food by-product based on spray drying in dehumidified air using drying aids. Powder technology, 2017. 311: p. 376-389.

[10] Benincasa, C., et al., Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds in spray-dried olive mill wastewater. Frontiers in Nutrition, 2022. 8: p. 782693.

[11] Goula, A.M. and K.G. Adamopoulos, A method for preparing a novel solid product from olive mill wastewater: wastewater characterization and product recovery. Drying Technology, 2013. 31(3): p. 339-349.

[12] Sedej, I., et al., Spray drying of a phenolic-rich membrane filtration fraction of olive mill wastewater: optimisation and dried product quality. International Journal of Food Science & Technology, 2016. 51(8): p. 1900-1909.

[13] Ribeiro, V.R., et al., Bringing together Saccharomyces cerevisiae and bioactive compounds from plants: A new function for a well-known biosorbent. Journal of Functional Foods, 2019. 60: p. 103433.

[14] Shi, G., et al., Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. Journal of Food Engineering, 2007. 80(4): p. 1060-1067.

[15] Nguyen, T.-T., et al., Encapsulation of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins as natural colours in yeast. Food research international, 2018. 107: p. 275-280.
[16] Fu, D.-w., et al., Efficient encapsulation of curcumin into spent brewer's yeast using a pH-driven method. Food Chemistry, 2022. 394: p. 133537.
[17] Paramera, E.I., S.J. Konteles, and V.T. Karathanos, Microencapsulation of curcumin in cells of Saccharomyces cerevisiae. Food Chemistry, 2011. 125(3): p. 892-902.
[18] Kavetsou, E., et al., Encapsulation of Mentha pulegium essential oil in yeast cell microcarriers: an approach to environmentally friendly pesticides. Journal of agricultural and food chemistry, 2019. 67(17): p. 4746-4753.
[19] Dimopoulos, G., et al., Cell permeabilization processes for improved encapsulation of oregano essential oil in yeast cells. Journal of Food Engineering, 2021. 294: p. 110408.
[20] Kastorini, C., et al., Mediterranean diet and coronary heart disease: is obesity a link?–A systematic review. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2010. 20(7): p. 536-551.
[21] Sciubba, F., et al., Olive mill wastes: A source of bioactive molecules for plant growth and protection against pathogens. Biology, 2020. 9(12): p. 450.
[22] Zbakh, H. and A. El Abbassi, Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. Journal of Functional Foods, 2012. 4(1): p. 53-65.
[23] Paredes, C., et al., Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. Bioresource Technology, 1999. 67(2): p. 111-115.
[24] Piotrowska, A., et al., Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. Soil Biology and biochemistry, 2006. 38(3): p. 600-610.
[25] Paredes, M.J., et al., Effect of waste waters from olive oil extraction plants on the bacterial population of soil. Chemosphere, 1986. 15(5): p. 659-664.
[26] Arvaniti, E., et al., High-added value materials production from OMW: A technical and economical optimization. International Journal of Chemical Engineering, 2012. 2012.
[27] Karpouzas, D.G., et al., Olive mill wastewater affects the structure of soil bacterial communities. Applied soil ecology, 2010. 45(2): p. 101-111.
[28] El-Abbassi, A., M. Khayet, and A. Hafidi, Micellar enhanced ultrafiltration process for the treatment of olive mill wastewater. Water research, 2011. 45(15): p. 4522-4530.
[29] Boukhoubza, F., et al., Application of lime and calcium hypochlorite in the dephenolisation and discolouration of olive mill wastewater. Journal of Environmental Management, 2009. 91(1): p. 124-132.
[30] Fernandez-Bolanos, J.G., et al., Hydroxytyrosol and derivatives: Isolation, synthesis, and biological properties. Current Organic Chemistry, 2008. 12(6): p. 442-463.
[31] Marsilio, V. and B. Lanza, Characterisation of an oleuropein degrading strain of Lactobacillus plantarum. Combined effects of compounds present in olive fermenting brines (phenols, glucose and NaCl) on bacterial activity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998. 76(4): p. 520-524.
[32] ÖTLEŞ, S. and V.H. ÖZYURT, Oleuropein ve önemi. Zeytin Bilimi, 2012. 3(1): p. 59-71.

[33] BAYRAK, A., Ege bölgesi zeytinyağlarının aroma profilleri ve bazı kalite özelliklerinin araştırılması. 2010.
[34] Yıldız, G. and V. Uylaşer, Doğal bir antimikrobiyel: oleuropein. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011. 25(1): p. 131-142.
[35] Boskou, D., Olive oil: minor constituents and health. 2008: CRC press.
[36] Visioli, F. and C. Galli, Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. Life sciences, 1994. 55(24): p. 1965-1971.
[37] Coni, E., et al., Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. Lipids, 2000. 35(1): p. 45-54.
[38] Barbaro, B., et al., Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. International journal of molecular sciences, 2014. 15(10): p. 18508-18524.
[39] Napolitano, A., et al., The chemistry of tyrosol and hydroxytyrosol: implications for oxidative stress, in Olives and olive oil in health and disease prevention. 2010, Elsevier. p. 1225-1232.
[40] Di Benedetto, R., et al., Tyrosol, the major extra virgin olive oil compound, restored intracellular antioxidant defences in spite of its weak antioxidative effectiveness. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2007. 17(7): p. 535-545.
[41] Karković Marković, A., et al., Hydroxytyrosol, tyrosol and derivatives and their potential effects on human health. Molecules, 2019. 24(10): p. 2001.
[42] Chang, C.-Y., et al., Cluster of differentiation 14 and toll-like receptor 4 are involved in the anti-inflammatory effects of tyrosol. Journal of Functional Foods, 2019. 53: p. 93-104.
[43] Gallardo-Fernández, M., et al., Hydroxytyrosol in Foods: Analysis, Food Sources, EU Dietary Intake, and Potential Uses. Foods, 2022. 11(15): p. 2355.
[44] Granados-Principal, S., et al., Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. Nutrition reviews, 2010. 68(4): p. 191-206.
[45] McClements, D.J. and Y. Li, Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. Advances in colloid and interface science, 2010. 159(2): p. 213-228.
[46] Yuan, J.-J., et al., Preparation, characterization, and antioxidant activity evaluation of liposomes containing water-soluble hydroxytyrosol from olive. Molecules, 2017. 22(6): p. 870.
[47] Rivas, C.J.M., et al., Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery. International journal of pharmaceutics, 2017. 532(1): p. 66-81.
[48] Zuidam, N.J. and E. Heinrich, Encapsulation of aroma. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing, 2010: p. 127-160.
[49] Nedovic, V., et al., An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia food science, 2011. 1: p. 1806-1815.
[50] Wandrey, C., A. Bartkowiak, and S.E. Harding, Materials for encapsulation, in Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. 2010, Springer. p. 31-100.
[51] Ezhilarasi, P., et al., Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. Food and Bioprocess Technology, 2013. 6(3): p. 628-647.
[52] Reza Mozafari, M., et al., Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. Journal of liposome research, 2008. 18(4): p. 309-327.

[53] De Pauw, P., et al., Microencapsulation improves the action of bakery ingredients. Voedingsmiddelentechnologie, 1996. 29: p. 38-40.
[54] Dezarn, T., Food ingredient encapsulation. U: Risch, SJ, Reineccius, GA (ed): Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, str. 74-86. 1995, American Chemical Society, Washington DC, USA.
[55] Ray, S., U. Raychaudhuri, and R. Chakraborty, An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. Food Bioscience, 2016. 13: p. 76-83.
[56] Zuidam, N.J. and E. Shimoni, Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing, 2010: p. 3-29.
[57] Bhandari, B.R., B.R. D'Arc, and I. Padukka, Encapsulation of lemon oil by paste method using β-cyclodextrin: Encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999. 47(12): p. 5194-5197.
[58] Becket, G., L.J. Schep, and M.Y. Tan, Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α-, β-and γ-cyclodextrins. International journal of pharmaceutics, 1999. 179(1): p. 65-71.
[59] Racoviţă, S., et al., Polysaccharides based on micro-and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. Revue Roumaine de Chimie, 2009. 54(9): p. 709-718.
[60] Matalanis, A., O.G. Jones, and D.J. McClements, Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. Food Hydrocolloids, 2011. 25(8): p. 1865-1880.
[61] Taylor, T.M., et al., Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. Critical reviews in food science and nutrition, 2005. 45(7-8): p. 587-605.
[62] Mozafari, M.R., Liposomes: an overview of manufacturing techniques. Cellular and Molecular Biology Letters, 2005. 10(4): p. 711.
[63] KIRTIL, E. and M.H. Öztop, Enkapsülasyon maddesi olarak lipozom ve gıdalarda kullanımı: Yapısı, karakterizasyonu, üretimi ve stabilitesi. Akademik Gıda, 2014. 12(4): p. 41-57.
[64] Taylor, A., Encapsulation systems and their applications in the flavour industry. 1983.
[65] Bekatorou, A., C. Psarianos, and A.A. Koutinas, Production of food grade yeasts. Food Technology & Biotechnology, 2006. 44(3).
[66] Chae, H.J., H. Joo, and M.-J. In, Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. Bioresource technology, 2001. 76(3): p. 253-258.
[67] Shao, P., et al., Encapsulation efficiency and controlled release of Ganoderma lucidum polysaccharide microcapsules by spray drying using different combinations of wall materials. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. 125: p. 962-969.
[68] Tsali, A. and A.M. Goula, Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. Powder Technology, 2018. 340: p. 194-207.
[69] Singleton, V.L. and J.A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 1965. 16(3): p. 144-158.

[70] Goldsmith, C., et al., Fate of the phenolic compounds during olive oil production with the traditional press method. International Food Research Journal, 2014. 21(1).
[71] Minekus, M., et al., A standardised static in vitro digestion method suitable for food–an international consensus. Food & function, 2014. 5(6): p. 1113-1124.
[72] Paramera, E.I., V.T. Karathanos, and S.J. Konteles, Yeast cells and yeast-based materials for microencapsulation, in Microencapsulation in the food industry. 2023, Elsevier. p. 343-365.
[73] Pham-Hoang, B.N., et al., Encapsulation in a natural, preformed, multi-component and complex capsule: yeast cells. Applied microbiology and biotechnology, 2013. 97: p. 6635-6645.
[74] Bravim, F., et al., High hydrostatic pressure and the cell membrane: stress response of Saccharomyces cerevisiae. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010. 1189(1): p. 127-132.
[75] Shabir, S., et al., Designing of pretreatment filter technique for reduction of phenolic constituents from olive-mill wastewater and testing its impact on wheat germination. Chemosphere, 2022. 299: p. 134438.
[76] Mis-Solval, K.E., et al., The effect of the ultra-high-pressure homogenization of protein encapsulants on the survivability of probiotic cultures after spray drying. Foods, 2019. 8(12): p. 689.
[77] Goula, A.M., et al., Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. Journal of Food Engineering, 2008. 85(1): p. 73-83.
[78] Fongin, S., et al., Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits. Journal of food engineering, 2017. 210: p. 91-97.
[79] Kawai, K., et al., Effects of glass transition and hydration on the biological stability of dry yeast. Journal of Food Science, 2021. 86(4): p. 1343-1353.
[80] Rubio, F.T.V., et al., Utilization of grape pomaces and brewery waste Saccharomyces cerevisiae for the production of bio-based microencapsulated pigments. Food Research International, 2020. 136: p. 109470.
[81] Sultana, A., et al., Microencapsulation of flavors by spray drying using Saccharomyces cerevisiae. Journal of Food Engineering, 2017. 199: p. 36-41.
[82] Burattini, E., et al., A FTIR microspectroscopy study of autolysis in cells of the wine yeast Saccharomyces cerevisiae. Vibrational Spectroscopy, 2008. 47(2): p. 139-147.
[83] El Hajjouji, H., et al., Chemical and spectroscopic analysis of olive mill waste water during a biological treatment. Bioresource technology, 2008. 99(11): p. 4958-4965.
[84] Rodríguez-Lucena, P., L. Hernández-Apaolaza, and J.J. Lucena, Comparison of iron chelates and complexes supplied as foliar sprays and in nutrient solution to correct iron chlorosis of soybean. Journal of plant nutrition and soil science, 2010. 173(1): p. 120-126.
[85] Gortzi, O., et al., Recovery of natural antioxidants from olive mill wastewater using Genapol-X080. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008. 85(2): p. 133-140.

[86] Kiai, H., et al., Recovery of phenolic compounds from table olive processing wastewaters using cloud point extraction method. Journal of environmental chemical engineering, 2018. 6(1): p. 1569-1575.
[87] Karadag, A., et al., Enrichment of lecithin with phenolics from olive mill wastewater by cloud point extraction and its application in vegan salad dressing. Journal of Food Processing and Preservation, 2022. 46(7): p. e16645.
[88] Pereira-Caro, G., et al., Digestive stability of hydroxytyrosol, hydroxytyrosyl acetate and alkyl hydroxytyrosyl ethers. International journal of food sciences and nutrition, 2012. 63(6): p. 703-707.
[89] Gikas, E., N. Papadopoulos, and A. Tsarbopoulos, Kinetic study of the acidic hydrolysis of oleuropein, the major bioactive metabolite of olive oil. Journal of liquid chromatography & related technologies, 2006. 29(4): p. 497-508.
[90] Romero, C., P. García, and M. Brenes, Chemical hydrolysis of oleuropein affected by the type of organic acid. Food chemistry, 2020. 316: p. 126351.
[91] Ahmad-Qasem, M.H., et al., Influence of olive leaf processing on the bioaccessibility of bioactive polyphenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014. 62(26): p. 6190-6198.
[92] González-Santiago, M., J. Fonollá, and E. Lopez-Huertas, Human absorption of a supplement containing purified hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, and evidence for its transient association with low-density lipoproteins. Pharmacological Research, 2010. 61(4): p. 364-370.
[93] Tuck, K.L., et al., The in vivo fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labeled compounds to rats. The Journal of nutrition, 2001. 131(7): p. 1993-1996.
[94] Visioli, F., et al., Hydroxytyrosol excretion differs between rats and humans and depends on the vehicle of administration. The Journal of nutrition, 2003. 133(8): p. 2612-2615.
[95] Quintero-Flórez, A., et al., Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. European journal of nutrition, 2018. 57: p. 1925-1946.
[96] Reboredo-Rodríguez, P., et al., Application of the INFOGEST standardized method to assess the digestive stability and bioaccessibility of phenolic compounds from Galician extra-virgin olive oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021. 69(39): p. 11592-11605.
[97] Rubió, L., et al., Effect of the co-occurring olive oil and thyme extracts on the phenolic bioaccessibility and bioavailability assessed by in vitro digestion and cell models. Food chemistry, 2014. 149: p. 277-284.
[98] Dinnella, C., et al., Bioaccessibility and antioxidant activity stability of phenolic compounds from extra-virgin olive oils during in vitro digestion. Journal of agricultural and food chemistry, 2007. 55(21): p. 8423-8429.
[99] Cardinali, A., et al., Verbascosides from olive mill waste water: assessment of their bioaccessibility and intestinal uptake using an in vitro digestion/Caco-2 model system. Journal of Food Science, 2011. 76(2): p. H48-H54.
[100] Corona, G., et al., The fate of olive oil polyphenols in the gastrointestinal tract: implications of gastric and colonic microflora-dependent biotransformation. Free radical research, 2006. 40(6): p. 647-658.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. Saroglu, O., Tav, B., Yildirim, R. M., & Karadag, A. (2023). Microencapsulation of olive mill wastewater in Saccharomyces cerevisiae cells by spray drying and in vitro bioaccessibility of phenolic compounds. Food & Function, 14(8), 3746-3759.

https://doi.org/10.1039/D2FO03872B