

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**GOJİ BERRY EKSTRAKTININ KİTOSAN İLE ENKAPSÜLASYONU VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çağatay GÜNNEÇ

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Haziran, 2021

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**GOJİ BERRY EKSTRAKTININ KİTOSAN İLE ENKAPSÜLASYONU VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Çağatay GÜNNEÇ
(Y1813.040002)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülay BAYSAL

Haziran, 2021

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Goji Berry Ekstraktının Kitosan ile Enkapsülasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Kaynakça’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim (17/06/2021).

Çağatay GÜNNEÇ

ÖNSÖZ

Bu çalışmada başta bilgisine, sabrına ve çözüm yeteneğine hayran olduğum tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Gülay BAYSAL'a, Araştırma Görevlisi Hatice Sena OLCAY'a ve en önemlisi hayatımda attığım her adımı korkmadan atmamı sağlayan annem Ümmahan GÜNNEÇ'e, gerek maddi gerekse manevi olarak hep yanımda olan babam Ünal GÜNNEÇ'e teşekkürü bir borç bilir saygılarımı sunarım.

HAZİRAN 2021

Çağatay GÜNNEÇ

GOJİ BERRY EKSTRAKTININ KİTOSAN İLE ENKAPSÜLASYONU VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, doğal asetilasyon yöntemiyle elde edilen doğal katyonik bir polisakkarit olan kitosan, sarımsak özütü garlık ve goji berry özütü taurine ekstraktları ile enkapsüllandı. Kapsülleme işleminde püskürtmeli kurutma yöntemi kullanıldı. Kurutma giriş sıcaklığı 120 oC ve çıkış sıcaklığı 45 oC olarak belirlendi. Elde edilen ekstraktlar ve kapsüllenmiş kitosan bileşikleri Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile analiz edildi ve kriyoskopi yöntemi ile molekül ağırlıkları belirlendi. Sentezlenen bileşiklerin % antioksidan aktivitesi UV spektrofotometresi ile analiz edildi ve antioksidan bileşiklerin enkapsülasyonda yükleme kapasiteleri hesaplandı. Daha sonra sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel analizleri ve yüzey aktivite analizleri *Listeria monositogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* ve *Salmonella* bakterilerine karşı kuyu difüzyon metodu ve Zeiss mikroskop kullanılarak yapıldı. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, sentezlenen CSA ve CSB bileşiklerinin % antioksidan aktivite değerleri sırasıyla % 49.3 ve % 58.7 olarak belirlendi. Molekül ağırlıkları kitosan (CS), CSA ve CSB bileşikleri için sırasıyla 67, 95 ve 134 kDa olarak hesaplandı. Antioksidan bileşiklerin enkapsülasyonda yükleme kapasiteleri CSA ve CSB için sırasıyla % 58.4 ve % 65.1 olarak analiz edildi. Kitosan ve kapsüllenen CSA ve CBS bileşiklerinin antibakteriyel analizleri için 4 farklı bakteri kullanıldı. Gram negatif bakteriler olarak *E.coli* ve *Salmonella* bakterileri, gram pozitif bakteriler olarak *S.aureus* ve *L.monocytogenes* kültürleri kullanıldı. Antibakteriyel analiz sonuçlarına göre en büyük inhibisyon zonları CSA ve CS bileşikleri için *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı elde edilmiştir. Bileşiklerin *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *S.aureus* bakterilerine karşı yapılan yüzey aktivite analiz sonuçlarına göre ise *S.aureus* bakteri dışında diğer tüm bakterilere karşı anlamlı yüzey aktivite sonuçları elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enkapsülasyon, Kitosan, Goji berry, Garlik ekstraktları, Antibakteriyel, Yüzey aktivite analizleri

INJECTION OF GOJI BERRY EXTRACT WITH CHITOSAN AND ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES

ABSTRACT

In this study, chitosan, a natural cationic polysaccharide obtained by natural acetylation method, garlic extract garlic and goji beri extract were encapsulated with taurine extracts. Spray drying method was used in the encapsulation process. Drying inlet temperature was determined as 120 oC and outlet temperature as 45 oC. The extracts and encapsulated chitosan compounds were analyzed by Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and their molecular weights were determined by cryoscopy method. The % antioxidant activity of the synthesized compounds was analyzed by UV spectrophotometer and the loading capacity of the antioxidant compounds in encapsulation was calculated. Then, antibacterial analyzes and surface activity analyzes of the synthesized compounds were performed against *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* and *Salmonella* bacteria using well diffusion method and Zeiss microscope. According to the analysis results % antioxidant activity values of synthesized CSA and CSB compounds were determined as 49.3 % and 58.7 % respectively. Molecular weights were calculated as 67, 95 and 134 kDa for chitosan (CS), CSA and CSB compounds, respectively. The loading capacities of the antioxidant compounds in encapsulation were analyzed as 58.4 % and 65.1 % for CSA and CSB, respectively. Four different bacteria were used for antibacterial analysis of chitosan and encapsulated CSA and CBS compounds. *E.coli* and *Salmonella* bacteria were used as gram negative bacteria, *S.aureus* and *L.monocytogenes* cultures were used as gram positive bacteria. According to the antibacterial analysis results, the largest inhibition zones for CSA and CS compounds were obtained against *Listeria monocytogenes* bacteria. According to the surface activity analysis results of the compounds against *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *S.aureus* bacteria, significant surface activity results were obtained against all bacteria except *S.aureus* bacteria.

Key Words: Encapsulation, Chitosan, Goji berry, Garlic extracts, Antibacterial, Surface activity analysis

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ONUR SÖZÜ	iii
ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
I. GİRİŞ	1
A. Goji Berry	3
B. Taurin.....	5
C. Kitosan.....	5
1. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi.....	7
D. Allisin	8
E. Enkapsülasyon Prosesleri	11
1. Püskürtmeli kurutma.....	12
II. MATERYAL VE METOD.....	14
A. Materyal.....	14
B. Metod.....	14
1. Goji berry özütünün hazırlanması (taurin).....	14
2. Taurin ve garlik yüklü kitosan nanoparçacıklarının hazırlanması.....	14

3. Karakterizasyon	15
4. Taurin ve garlik ekstraktı ve nano bileşiklerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi	15
5. Antioksidan bileşiklerin enkapsülasyonda yükleme kapasitesinin belirlenmesi	16
6. Molekül ağırlıklarının belirlenmesi	16
7. Antibakteriyel analiz	16
8. Yüzey aktivite analizi	17
III. BULGULAR	18
A. HPLC Analizi	18
B. FTIR Analizi	18
C. % Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	20
D. Antioksidan Bileşiklerin Enkapsülasyonda Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi	22
E. Molekül Ağırlığının Belirlenmesi	22
F. Antibakteriyel Analiz Sonuçları	23
G. Yüzey Aktivite Analiz Sonuçları	28
IV. TARTIŞMA ve SONUÇ	41
V. KAYNAKÇA	42
ÖZGEÇMİŞ	51

KISALTMALAR

FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HCL	: Hidroklorik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
kDa	: Kilodalton
mL	: Mililitre
pH	: Hidrojen İyon Gücü (Asitlik-Bazlık Derecesi)
TPP	: Tripolifosfat
UV-VIS	: Ultraviyole Görünür Spektroskopi
oC	: Santigrat Derece
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikrometre

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1. Taurin ekstraktlarının % antioksidan aktivite değeri	21
Çizelge 2. Örneklerin inhibisyon zon alanları (mm ²).....	23
Çizelge 3. Örneklerin yüzey aktivite sonuçları	28

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1 Kurt üzümü meyvesinin Dünya'daki dağılımı	2
Şekil 2 Lycium barbarum L. bitkisinin sınıflandırılması	3
Şekil 3 Kurt üzümü meyvesinin genel görünümleri	4
Şekil 4 Allisin oluşum mekanizması	8
Şekil 5 Allisin molekül yapısı	9
Şekil 6 Enkapsülasyon- a) Matriks- b) Rezervuar tipi- c) Kaplanmış matriks modeli	11
Şekil 7 Goji berrynin HPLC spektrumu	18
Şekil 8 Kitosan, CSA (a)	19
Şekil 9 CSB (b) bileşiklerinin FTIR spektrumları	20
Şekil 10 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin % antioksidan aktiviteleri	21
Şekil 11 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin <i>L.monocytogenes</i> bakterilerine karşı inhibisyon zonları	24
Şekil 12 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin <i>S.Aureus</i> bakterilerine karşı inhibisyon zonları	25
Şekil 13 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin <i>E.coli</i> bakterilerine karşı inhibisyon zonları	26
Şekil 14: Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin <i>Salmonella</i> bakterilerine karşı inhibisyon zonları	27
Şekil 15 Kitosanın <i>E.coli</i> bakterisine karşı 1. gün yüzey aktivitesi	29
Şekil 16 CSA'nın <i>E.coli</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	30
Şekil 17 CSB'nin <i>E.coli</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	31
Şekil 18 Kitosanın <i>Listeria Monocytogenes</i> bakterisine karşı 1. gün yüzey aktivitesi	32

Şekil 19 CSA'nın <i>Listeria Monocytogenes</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi .	33
Şekil 20 CSB'nin <i>Listeria Monocytogenes</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi .	34
Şekil 21 Kitosanın <i>S. Aureus</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	35
Şekil 22 CSA'nın <i>S. Aureus</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	36
Şekil 23 CSB'nin <i>S. Aureus</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	37
Şekil 24 Kitosanın <i>Salmonella</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	38
Şekil 25 CSA'nın <i>Salmonella</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi	39
Şekil 26 CSB'nin <i>Salmonella</i> bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi.....	40

I. GİRİŞ

Enkapsülasyon; maddenin ya da karışımların başka bir madde ile kaplanması ya da hapsedilmesi olarak tanımlanmaktadır (Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S. 2006). Mikroenkapsülasyon ise çekirdek materyal çevresinin bir veya birden fazla kaplama maddesi kullanılarak sarılıp mikrometre ile elde edilmesinde kullanılan günümüz teknolojisidir. Mikroenkapsülleri basitçe anlatmak istersek küre şeklindedirler ve çevrelerinde homojen bir duvar mevcuttur (Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. 2007).

Mikroenkapsülasyonlar gıda sektöründe genellikle kullanım amaçları kaplanacak olan maddelerin dış etkilere karşı korumak (sıcaklık, ışık), buharlaşarak kaybolmasını engellemek, maddelerin kaplanması sonucu ile taşınmasını kolaylaştırmak gibi kullanım amaçları vardır (Desai, K. G. H. and Park, H. J. 2005).

Toplumumuzun yiyecek ve içecek alışkanlıkları her geçen gün, sürekli olarak değişmekte ve daha farklı ve çeşitli hale gelmektedir. Bu yüzden Goji berry meyvesinin popüleritesi son yıllarda hızla artış göstermiştir. Dünyada goji berry veya kurt üzümü olarak adı geçen bu meyve antioksidan özellikleri ve sağlık açısından birçok faydasından dolayı son yılların gözde meyvesi haline gelmiştir (Potterat, O., "Goji 2010).

Gıdaların coğrafi kökeni en önemli kalite parametrelerindedir. İklim ve yetiştirme yöntemleri ise bitkilerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklılıklara sebep olmaktadır. Kurt üzümü bitkisi dayanıklı ve verimsiz topraklarda da kullanılabilecek kök yapısına sahiptirler. Kurt üzümü meyvesi genellikle uzak doğu Çin, Japonya, Moğolistan, Tavyan ve Himalayalarda yetiştirilmekte günümüzde Türkiye’de de goji berry yetiştiriciliği yavaş yavaş başlamıştır (Amagase, H., and Norman R. F., A 2011). Kurt üzümü meyvesinin Dünya’da ki dağılımı aşağıda Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1 Kurt üzümü meyvesinin Dünya'daki dağılımı

Kurt üzümü meyvesi uzun yıllardır geleneksel ilaç olarak kullanılmıştır. Bu meyve genellikle taze, kurutularak, bitki çayı, vejeteryan ve et yemeklerinin içine katılarak tüketilmiştir (Donno, D, Cerutti, A.K., Prgomet, I., Mellano, M.G., Beccaro, G.L., 2015). Kurt üzümü meyvesi tatlı ve suludur, tadı ise kiraz ve yabanmersinine yakındır. Goji bitkisinin meyvesi dışında yaprakları şifa için kaynatılıp çay olarak da tüketilmektedir. Kurt üzümünün kimyasal bileşenleri arasında en önemlisi polisakkarit kompleksleridir. Meyvenin antioksidan aktivitesi içerdiği fenolik bileşiklerden ve karotenoid kaynaklıdır (Lee, M.T., and Chen, B.H., 2002).

Kitosan Bradconnot tarafından 1811 yılında kitinin kısmi veya tamamen deasetilasyonu ile elde edilmiş antimikrobiyal özelliğe sahip bir heteropolisakkarittir kaynaklıdır (Lee, M.T., and Chen, B.H., 2002), (Muzzarellia, R.A.A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., Demarchis, M., Paoletti, M.G. 2012). Kitosan metal iyonlarını bağlayarak veya serbest radikalleri söndürerek antioksidan aktivite gösterir. Kitosan amino ve hidroksil grupları serbest radikallerle reaksiyona girerek onların stabil moleküllere dönüşmesini sağladıkları için antioksidan aktiviteden sorumlu gruptur (Xie, W., Xu, P., Liu, Q., 2001). Bol ve yaygın miktarda bulunması, mikroorganizmaları inhibe etmesi, toksik etki göstermemesi, biyo-uyumlu olması, parçalanabilmesi, kimyasal ve fiziksel özellikleri nedeni ile diğer biyopolimere göre pozitif özellikler göstermesi sebebi ile kitosan başta gıda olmak üzere kozmetik, tıp, tekstil, immünoloji ve birçok alanda kullanım olanağı sağlamaktadır (Lee, M.T., and Chen, B.H., 2002), (Muzzarellia, R.A.A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., Demarchis, M., Paoletti, M.G. 2012), (Prashanth, K.V.H., Tharanathan, R.N. 2007).

Hücrenin içinde en çok bulunan serbest aminlerden birisi olan ve goji berry bitkisinin ekstraktı olan taurin; renksiz, suda eriyebilen ve içinde sülfür içeren bir aminoasittir (Chesney R.W., 1985). Bazı alg türleri dışında bitkilerde olmayan ya da çok az olan taurin özellikle hayvan dokusunda çok miktarlarda bulunmaktadır. Serbest aminoasit olan taurin ilk kez öküz safrasından izole edilmiştir (Bouckennooghe T, Remacle C, Reusens B. 2006), (Sturman J.A., 1988).

A. Goji Berry

Kurt üzümü çok yıllık bir bitkidir ve Solanaceae familyasındandır. Çeşitli bölgelerde yetişen yaklaşık olarak 70 türü olduğu araştırmalar sonucu bulunmuştur. En bilinenleri *Lycium chinense* L. Ve *Lycium barbarum* L. Türüdür (Potterat, O., "Goji 2010). Kurt üzümü vatanımızda ise şekil itibariyle dikenli olduğu için teke dikenli, atlangaç, çay ağacı, çay bitkisi gibi isimler almıştır (Baytop, T., 1994), (Ebadi, M.,2002).

Şekil 2'de *Lycium barbarum* L. bitkisinin sınıflandırılması verilmiştir.



Alem:	plantae
Bölüm:	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Takım:	Solanes
Familya:	Sonaneceaea
Cins:	Lycium
Tür:	L. barbarum

Şekil 2 *Lycium barbarum* L. bitkisinin sınıflandırılması

Bitkinin habitatu tam olarak bilinmemekle beraber dünyanın ılık ve sıcak bölgelerinde yaygın olarak yaşamını sürdürmektedir. Asya kıtası orijinli olan kurt üzümü meyvesi Çin'de yılda yaklaşık 100.000 ton civarı yüksek bir üretimi vardır (Bruno, G., "Background & Traditional Use" Goji. 2009).

Kurt üzümü meyvesinin tıbbi olarak Çin tarihinde sayısız kez bilim adamları tarafından araştırılmış ve şifalı bitkiler ve kullanımı üstüne bir çalışma

olan “Root and Herbal Classic (Shennong bencao jing)” adlı kitapta 365 ilaçta kurt üzümü meyvesinin kullanıldığını belirtilmiştir (Wang, Y., Chen, H., Wu, M., Zeng, S., Liu, Y., And Dong, J 2015).

Çoğu ülkede kurt üzümü meyvesinden elde edilen jöle, şaraplar ve meyve sularına önemli bir talep vardır ki bunun nedeni meyve bu yapılara işlenmeye çok müsaittir (Kocyigit, E, and Nevin Ş. 2017). Şekil 3’de kurt üzümü meyvesinin farklı görünüşleri verilmiştir (Amagase, H., and Norman R. F., "A 2011).



Şekil 3 Kurt üzümü meyvesinin genel görünüşleri

Kurt üzümü meyvesi, günlük harcamamızın çoğunluğunu karşılayacak oranlarda makro besin içerir. İçerisinde % 68 karbonhidrat, % 12 protein, %10 lipid, % 10 lif bulunur ve vitamin, mineral bakımından çok zengin protein depolarıdır (Potterat, O., “Goji 2010). Kurt üzümü meyvesi temel olarak 6 adet monosakkaritten oluşur. Bunlar mannoz, glukoz, ramnoz, galaktoz, arabinoz ve ksilozdur (Tian, M., and Wang, M. 2006). Mineral yönünden de zengin olan kurt üzümü meyvesi 11 temel mineral ve 21 iz mineral içerir (Duan, H., Chen, Y., And Chen, G. (2010), (Ji, J., Wang, G., Wang, J., and Wang, P., 2009).

Bildiğimiz üzere sera ortamında tohumların çimlenmesi çabuk ve kolay bir yöntemdir. Kurt üzümü meyvesinin çimlenme sıcaklığı 15-25 °C olduğu için düşük sıcaklığa karşı dayanıklı ve dirençlidir (Yılmaz, G., ve Kınay, A., “Goji

Beri 2006). Kurt üzümü bitkisi 1-4 metreye kadar büyümesi sebebi ile yaprağı dar ve etlidir (Wu, J.N., 2005), (Zhu, Y.P., “Gou Qi Zi. 1998).

B. Taurin

Taurin, çoğu biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesinde önemli role sahiptir (Hayes Kc 1976). Taurinin en iyi bilinen özelliği, safra asitleriyle konjuge olmasıdır (Chesney R.W., 1985).

Çalışmalar sonucu taurinin dayanıklı etkiye sahip bir osmotik düzenleyicisi olduğu bilinmektedir. Taurin hücrelerde osmotik düzenleyicisi olarak görev almakla beraber bu sebeple bazı avantajlar sağlamaktadır. Avantajlarından biri, taşınımın düzenlenmesi ile birlikte osmotik strese karşı hızlı adaptasyona olanak sağlamasıdır. Diğer avantajı ise, hücre dışındaki olaylardan kendisini tamamen soyutlayarak koruma sağlamasıdır (Huxtable R.J., Sebring L.A. 1986), (Trachtman H., Barbour R., Sturman J.A., Finberg L. 1988), (Trayhurn P., Van Heyningen R. 1973), (Yokoyama T., Lin L., Chakrapani B., Reddy V.N. 1993).

Bir biyomarker olan taurin, vücutta doğal olarak bulunan bir aminoasittir. Protein üretimine katkıda bulunan aminoasitlerin, arındırma diğer bir ifadeyle nötralizasyon ve detoks işlemlerinde rol aldıkları da elde edilen bulgular arasındadır.

Taurinin hücre membran stabilizasyonu, antioksidasyon, detoksifikasyon, ozmoregülasyon, nöromodülasyon, özellikle beyin ve retina gelişimi gibi birçok fizyolojik ve biyokimyasal olayda rol aldığı göz önüne alındığında, en önemli özelliklerinden birinin antioksidan etkisi olduğu bu nedenle günlük yaşamda ve hekimlik uygulamalarında önemsenmesi gerektiği söylenebilir.

C. Kitosan

Yengeç, ıstakoz, karides vb. deniz canlılarının dış iskeletinde, maya ve küf gibi mikroorganizmaların hücre duvarında bulunan kitin, selülozdan sonra doğada en çok karşılaştığımız polisakkaritlerdir. Katı formunda kitin zinciri, hidrojen bağları ile bağlanması sebebi ile baskın kristal yapıya sahiptirler. Kitosan, kitinin alkali ortamlarda 90 ila 150 °C’de 4-5 saat süre ile kısmen veya tamamı deasetilasyonu yada kitin deasetilaz enzimi vasıtası ile enzimatik deasetilasyonu

ile elde edilen ve bu nedenle β -(1,4) bağı ile bağlanmış değişen oran ve sayıda D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozaminden oluşan düz zincirli kopolimer olarak karşımıza çıkmaktadır. Potasyum hidroksite göre çok fazla etkisini gösterdiği için deasetilasyon işleminde Sodyum hidroksit tercih edilmektedir. Kimyasal yöntem ile deasetilasyon işleminde asidik koşullarında kullanıldığını biliyoruz fakat glukozidik bağların asidik koşullara çok duyarlı olması sebebi ile aşırı depolimerizasyon olacağı için asidik koşulları tercih etmemeliyiz. Sodyum hidroksit uygulaması ile deasetilasyonun yanı sıra kısmi depolimerizasyon işlemi de gerçekleştirebilmekteyiz. Bu sebep ile deasetilasyon koşullarımız, elde edilen kitosanın deasetilasyon derecesine, asetil gruplarının zincir boyunca dağılma şekline, molekül ağırlığına ve çözeltideki viskozitesini belirlemektedir (Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M., Chiellini, E. 2011), (Younes, I., Rinaudo, M., 2015). Endüstriyel kitosan üretimi enzimatik yöntemlerden ziyade kitlesel ve ucuz olduğu için sodyum hidroksit konsantrisi tercih edilir.

Kitinin kristal yapıda olması sebebi ile elde ettiğimiz kitosandaki asetil grupları zincirler boyunca heterojen bir dağılım göstermektedir (Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S.V., Tamura, H., 2010). Asetilasyon derecesi çoğunlukla % 5–30 arasında değişim göstermektedir. Alkali uygulaması bir iki kez tekrar edildiğinde tam bir deasetilasyon sağlanmaktadır (Kurita, K., 2006). Kitosanlar genel olarak molekül ağırlıklarıyla ve asetilasyon derecesiyle karakterize edilir ve azot içerikleri ile karakterizasyonda büyük önemi vardır.

Kitin yapısının en baş özelliğinden biri de ağırlıkça % 6,89 oranında asetil-amino grubu (-NH-CO-CH₃) yapısında azot içeriğidir. Azot oranları (-NH₂ ve -NH-CO-CH₃ şeklinde) ağırlığının % 7'sinin üzerine ulaştığında kullanımı en çok kullanılan kitosandır (Varma A.J., Deshpandea, S.V., Kennedy, J.F., 2004). Ticari olarak kullanılan kitosanların ise deasetilasyon derecesi çoğunlukla % 85'ten yüksek olup molekül ağırlıkları genelde 100 ila 1000 kDa arasında değişim göstermektedir. Üretim koşuluna baktığımızda kitosanın molekül ağırlığı değişkenlik gösterdiği için, molekül ağırlığı 50 kDa ve daha az olanlara düşük, 50-150 kDa arasında kalanlar orta ve 150 kDa ve yüksel olanlar ise yüksek molekül ağırlıklı olarak adlandırılmaktadır (Goy, R.C., De Britto, D., Assis, O.B.G., 2000). Polisakkarit iskeletinde var olan asetil-amino grupları kitosana farklı nitelikler kazandırmaktadır. Örneğin kitosanın toksik etkiler göstermemesi,

lif ve film oluşturma özellikleri, metal iyonlarını adsorbe etmeleri, çözünen maddeleri çöktürme veya süspansiyonları gibi kendine özgün biyolojik aktiviteleri asetil-amino grupları sayesinde yapmaktadır (Kurita, K., 2006).

Kitosan organik çözücüde, suda, nötral ve alkali pH'larda çözünmez iken laktik, asetik asit, formik asit gibi seyreltik asit solüsyonlarında (pH<6) çözünmektedirler (Kurita, K., 2006), (Kumar, M.N.V.R., 2000). Fakat düşük molekül ağırlığına sahip kitosan oligosakkaritleri su içerisinde de çözünebilir. Asidik ortamda çözünen kitosanın amino grupları proton bağlayarak pozitif yüklü hale geçmektedir. Şu da çok önemlidir ki kitosanın stabilitesi depolama sıcaklığına ve süreye olumsuz yönde etkilenir bu yüzden pH 7 ve üzeri oda sıcaklığında uzun süre bekler ise, stabilitesi ve antimikrobiyal aktivitesi azalma gösterir (No, H.K., Kim, S.H., Lee, S.H., Park, N.Y., Prinyawiwatkul, W., 2006.).

1. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi

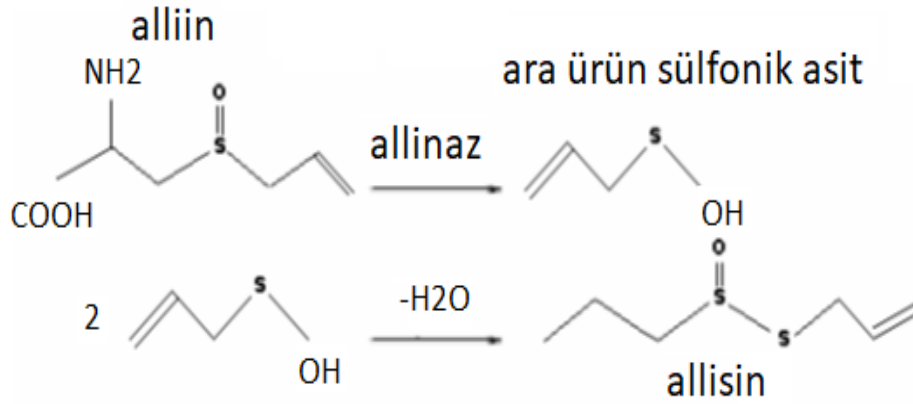
Kitosan doğal bir polimer olduğu için vücudumuzda parçalanma ihtimali olabilir ve bu sebeple güvenli ve toksik etkisi bulunmaz antimikrobiyal aktiviteye, bağ dokusu üzerinde rejeneratif, kemik üreten hücre oluşumunu hızlandırıcı, kanamayı durdurucu, memeli ve mikroorganizma hücrelerine bağlanabilmesine, anti-kanserojen, anti-kolesterol, kemik oluşumunu hızlandırıcı, merkezi sinir sistemini baskılayıcı aktivitesine ve bağışıklık sistemine gibi birçok biyolojik özelliği vardır (Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S 2004).

Antimikrobiyal aktivitenin en önemli biyolojik özelliklerine sahip olan kitosan ve türevleridir. Kitosanın antibakteriyel, antiviral ve antifungal aktiviteye sahip olduğu birçok araştırma sonucu bulunmuştur (Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J., 2010), (No, H.K., Kim, S.H., Lee, S.H., Park, N.Y., Prinyawiwatkul, W. 2006), (Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smaghe, G., Steurbaut, W. 2003). Kitosan ayrıca Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere de karşı etkisini sürdürüp bunlara örnek olarak da *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Lactobacillus plantarum* verebiliriz. Son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu kitosanın bakteriler üstünde ki inhibitör etkilerinin daha fazla bakteriyostatik olduğu kaanatı getirilmiştir (Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J.(2010), (Goy, R.C., De Britto, D., Assis, O.B.G., 2000).

D. Allisin

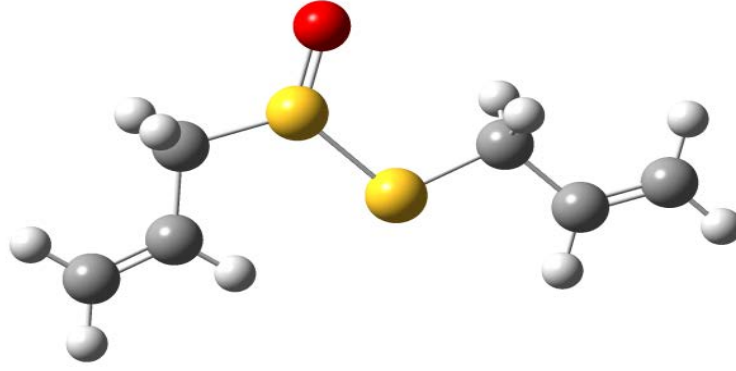
Sarımsağın antimikrobiyal özellik içerdiği sülfür tiyosülfinatlarıdır. Bu bileşiğin en önemlilerinden olan ve sarımsağın tadını ve kokusunu veren allisin, diğer antimikrobiyal etki gösteren sekonder metabolitler gibi doğal olarak sarımsakta bulunmamaktadır (Cowan, M.M., 1999). Sarımsağın kesilmesi, ezilmesi veya çiğnenmesi sonucu allinaz enziminin dokuda var olan allini parçalaması sonucu oluşmaktadır (Khanum, F., Anilakumar, K. R., Viswanathan, K. R., 2004).

Allisin, Alliin'in allinaz lizis tarafından üretilen Allin-SOH'nin 2 molekülünün hızla kondensasyonu ile oluşmakta ve açığa çıkmaktadır (Şekil 4) (Arnault, I., Christides, J.P., Mandon, N., Haffner, T., Kahane, R. And Auger, J. (2003), (Egen- Schwind, C., Eckard, R., Jekat, F.W. And Winterhoff, H. 1992).



Şekil 4 Allisin oluşum mekanizması

Sarımsaktaki temel aktif ajanlar allisinlerdir (Şekil 5). Allisin taze sarımsağa kokusunu ve aromasını veren ve güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu için antiviral, antikanserojenik, antiparazitik etkilerinin yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur (Tung, Y. And Chung, W. 1989).



Şekil 5 Allisin molekül yapısı

Bailey ve Cavallito oda sıcaklığında içerisinde bulunan etanollü sarımsak özütünü düşük basınç altında buharla damıtmışlar, antibakteriyel madde olan allisini izole edip tanımlamışlardır (Cutler, R.R. and Wilson, P. 2004). Kesilen sarımsağın aromatik kokusunu meydana getiren saf allisin sarımtırak yağlı bir sıvı olduğu bulunmuştur (Iberl, B., Winkler, G., Knobloch, K. 1990). Allisin oluşumu sarımsağın dişler ile çiğnedikten 6 saniye sonra tamamen oluştuğu için sarımsakta sorun teşkil etmez; fakat allisin oluşumu çok hızlı gerçekleştiğinden ve pH 3,5'in altında geri dönüşümsüz olarak inhibe olduğunu için çok önemli bir sorundur (Lawson, L.D. and Huges, B.G. 1992), (Lawson, L.D., Wang, Z.-Y.J. and Papadimitriou, D. 2000).

Allisin stabil bir yapısı olmadığı için hazırlanma koşuluna bağlı olarak hızlıca diallil disülfid, diallil sülfid, diallil trisülfid ve ajoen gibi sülfürlü bileşiklere dönüşebilmektedir (Khanum, F., Anilakumar, K. R., Viswanathan, K. R., 2004). Sarımsağın antimikrobiyal özellik bakımından çok önemli bir bileşiğide ajoenlerdir. Isı yolu ile allisinden meydana gelen diallil disülfid ile allisin birleştiği zaman ajoenler oluşmaktadır (Mc Elnay, J.C., ve Po, A.L.W., 1991). Sarımsağın bakteri üstündeki inhibitör etkileri allisinin $-S(O)-S-$ grupları ile bakterilerin hücre içerisinde bulunan proteinlerindeki $-SH$ gruplarıyla oluşturduğu spesifik bağlar ile olduğu bulunmuştur (Kyung, K.H., Kim, M.H., Park, M.S. ve Kim, Y.S., 2002). Sarımsakta ki kükürt bileşiklerinin diallil disülfür, diallil sülfür, non-enzimatik antioksidan etkisini incelemek için yapılan

araştırmalar sonucunda bu bileşiklerin lipit stabilitesini artırdıklarını bulunmuştur (Yın, M.C., Hwang, S.W. and Chan, K.C. 2002).

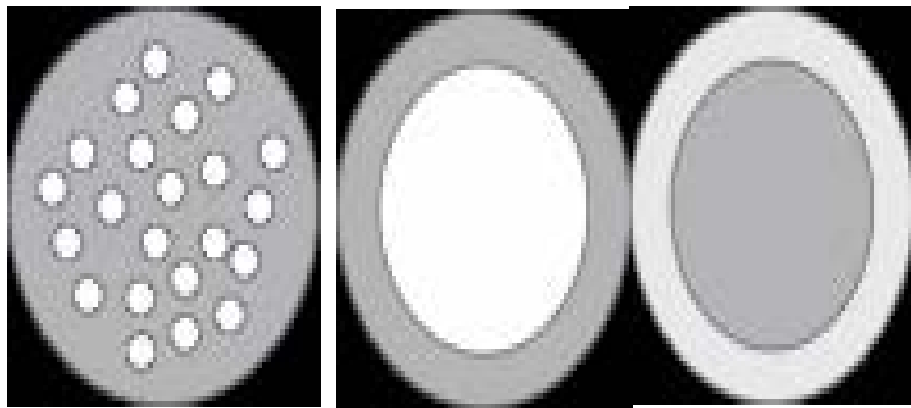
Çoğu in vivo çalışmalarında kükürt bileşiklerin (DADS, DAS) ve katalaz gibi antioksidan aktivite gösteren enzimler ayarlama yolu ile antioksidan korumayı sağladıkları yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur. Sarımsak ekstraktı ile işlem görmüş hücrelerde zamana ve doza bağlı olarak süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde artma gözlemlenmiştir. Buradan çıkaracağımız sonuç sarımsağın bazı enzimatik ve non-enzimatik serbest radikal inhibisyon sistemlerine karıştığı ve koruyucu antioksidan durumunu sağlamaya çalıştığını görmekteyiz. Bu bileşikler enzimatik antioksidan aktivitesi, hayvanlar ve insanların sağlığı için uygulanmasını desteklemektedir; fakat bu sonuçlar antioksidan koruma için gıda sistemlerini desteklemeyebilir (Wei, Z. and Lau, B.H.S. 1998), (Yamasaki,T., Lin, L. and Lau, B. H. S. 1994), (Yeh, Y.Y. and Liu, L. 2001). Sarımsağın antioksidan koruyuculuğunu devam ettirebilmesi için serbest radikallerini ortadan kaldırarak, oluşmalarını engelleyerek, antioksidan özelliğe sahip enzimlerin etkisini arttırarak (Wei, Z. and Lau, B.H.S. 1998). diğer antioksidanlarla sinerjetik etki kurarak, non-enzimatik şekilde; metal iyonları şelatlayarak, indirgen güç özelliğini kullanarak yaparlar (Yın, M.C., Hwang, S.W. and Chan, K.C. 2002), (Yeh, Y.Y. and Liu, L. 2001). Fakat burada önemli olan husus sarımsağa uygulanan proses işlemidir. Çünkü pH, sıcaklık, yağda ve de suda çözünebilme ve uygulama süresi değişkenliği sarımsağın baskın olan kükürt bileşiğinin değişmesine ve farklı antioksidan aktivite özellik göstermelerine sebep olur (Kim, S.M., Kubota, K. and Kobayashi, A. 1997).

Kim et al.'e göre allisin, diallil disülfür, diallil trisülfür ve uçucu kükürtlü bileşenler sarımsağın esas antioksidan bileşikleri olduğu yaptığı çalışmalar sonucu ortaya koymuştur. Farklı bir örnek vericek olursak Lawson'un hayvan testi ise allisinin düşük konsantrasyonlarda sarımsağın antioksidan aktivite özelliğinden sorumlu olduğunu buna rağmen yüksek konsantrasyonlarda pro-oksidan olarak rol oynadığını bulmuştur. Sıcaklık 33 °C, pH 6,5, süre ise 1 saat uygulaması allisinin oluşumu için uygun olduğundan, sarımsağın lipit peroksidasyonu üzerine etkileri allisinden ileri gelmektedir (Yamasaki,T., Lin, L. and Lau, B. H. S. 1994), (Yarnell, E. 1999).

E. Enkapsülasyon Prosesleri

Enkapsülasyon uygulaması aktif olan bileşenlerin taşıyıcı madde içine hapsedilmesidir. Bu yüzden tüketicinin gıda maddesine doğru zamanda ve doğru yerde basit bir şekilde erişebilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yüzden aroma ve tat farkını, kötü kokunun ve kötü tatın maskelenebilmesini, gıda maddesinin stabil olması ve biyoyararlılıklarının artırılması sağlanmaktadır. Enkapsülasyon işlemleri ayrıca fermantasyon, gıda maddesi ve ya ürünlerin üretiminde enzimleri ya da hücreleri hareketsiz kılmak için de kullanılmaktadır (Zuidam, N.J. and Shimoni, E., 2010).

Enkapsüle olan maddeler aktif maddeler, çekirdek maddeler, dolgu, iç faz ya da yükleme fazı olarak isimlendirilirken, enkapsüle edici maddeler, zar, kaplama, taşıyıcı malzeme, kabuk, duvar malzeme, dış faz ya da matriks olarak isimlendirilir. Gıda maddelerinin enkapsülesinde kullanımı kolaylaştırabilmek için taşıyıcı malzemelerin gıda üretimini ve aktif maddeleri çevreleyerek bariyer oluşturmasına uygun olmalıdır. Matriks tipi ve rezervuar tipi olmak üzere iki tür enkapsülasyon modeli karşımıza çıkmaktadır. Şekil 6'da enkapsülasyon modelleri gösterilmiştir (Zuidam, N.J. and Shimoni, E., 2010).



Şekil 6 Enkapsülasyon- a) Matriks- b) Rezervuar tipi- c) Kaplanmış matriks modeli

Enkapsülasyon ürünleri partikül boyutuna göre nanopartikül, mikrokapsül ve mikrorezervuar olarak tanımlanır. Gıda teknolojisinde mikroenkapsüle olan ürünlerin faydası aşağıdakiler gibi sıralayabiliriz.

Aktif maddelerin kolaylıkla taşınmaları, gıda işleme sisteminde aktif maddelerin hareketsizliğinin sağlanması, son ürünlerde ve proses esnasında kararlılığın gelişmesi, güvenliğin gelişmesi (aroma gibi uçucu özellik gösteren

bileşiklerin yanmasını engellemek), görünür ve yapısal etki oluşturmak, aktif bileşiklerin ayarlanabilir özellikleri (yapısı, partikül boyutu, suda veya yağda çözünürlüğü, renk), tat maskeleyesi, kontrollü salınım gibi faydaları mevcuttur.

Bu saydığımız faydaların aşağıdaki sıraladığımız negatif etkilerin üstesinden gelmesi beklenmektedir.

Ekstra maliyet, üretim prosesleri ve ya tedarik zincirlerinin karmaşıklığının artması, enkapsüle olan ürünlerin istenmeyen tüketici geri bildirimleri, gıda ürünlerinin üretimi ve ya saklanması sırasında ki enkapsüle ürünlerin kararlılığı üzerindeki zorluklardır. Bu negatif etkilerden ötürü gıda formülasyonu oluşturulurken enkapsüle ürünler birinci tercih olarak seçilmemektedir. Mikroenkapsüller, gıda ürünüde kullanımı gıdaların sağlıklı, lezzetli ve daha kullanılabilir olmasını sağlamaktadırlar. Bu sebepten ötürü son zamanlarda mikroenkapsüllere karşı talep yüksek ölçüde artmıştır (Frost & Sullivan 2005).

Uygulanan en önemli enkapsülasyon metotları, sprey soğutması, sprey dondurması, ekstrüzyon kaplaması, akışkan yatakta kaplama, lipozom sıkıştırma, koaservasyon, inklüzyon kompleks, santrifüj ekstrüzyonu, rotasyonel süspansiyon ve sprey kurutmadır. Bu tez çalışmasında püskürtmeli kurutma yöntemi uygulanmıştır.

1. Püskürtmeli kurutma

Püskürtmeli kurutma metodu aktif malzemenin enkapsülasyon uygulamasında kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Bu yöntemde, aktif bileşikler ile taşıyıcı malzemenin sulu bir çözelti de eritme işlemi yaparak emülsiyon oluşturulur ve sonrasında karışımın sıcak hazne içine atomize olarak püskürtülmesi sağlanmaktadır (Barbosa-Cánovas Gv, Ortega-Rivas E, Juliano P, Yan H 2005). Bu işlem sırasında damlacık yüzeyde film oluşturulur. Sonrasında küçük su moleküllerinin buharlaşmasını sağlayarak daha büyük aktif bileşiklerin buharlaştırılması geciktirilir. Gıda teknolojisinde püskürtmeli kurutma metodu genellikle santrifüj çarkı yada yüksek basınç memesiyle beslenir ardından atomize edilir ve çok ısınmış havayla partiküllerin karşı akımı ile çalışmaktadır. Fakat uçucu bileşenler ya da bileşenler ısıya duyarlıysa bu birinci aşama daha önemlidir.

Püskürtmeli kurutma metodunda, damlacıkların boyutu yüzey gerilimi ve sıvının viskozitesine, sprey hızı ve basınç düşüşüne bağlıdır. Püskürtme damlacığının büyüklükleri, partikül büyüklüğünü ve kuruma süresini belirlemektedir. Havanın giriş sıcaklığı (150-220°C), beslenme oranı, beslenme sıcaklığı, akış hızı, buharlaşmalı soğutmayla kontrolü yapılarak damlacık sıcaklığının 100°C'yi geçmemesi sağlanmalıdır. O yüzden sıcaklık genelde 50-80°C hava çıkış sıcaklığı olarak belirtilmektedir. Kurutma işlemi süresince damlacık yüzeyinde bir film oluştuğu görülür, damlacıkların kurumasında ise bileşenlerin konsantrasyonu arttığı görülmektedir (Carneiro, H. C. F., Tonon, R., Grosso, C. and Hubinger, M. 2013). Kullanılan taşıyıcı malzemeler, aktif bileşenleri korumalı, suyun içinde yüksek çözünürlükte olmalı, dağılımı, molekül ağırlığı, kristallliği, iyi film yapma özelliği, iyi emülsiyon oluşturma özelliği ve düşük maliyet gibi özellikleri bulunmalıdır (Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. 2007). Taşıyıcı malzemeler olarak proteinler, karbonhidratlar yağlar ve doğal gımlar kullanılmaktadır. Püskürtmeli kurutucu ile elde edilen kapsüller su ile temas ettiği an aktif bileşenlerini salmaktadırlar.

Püskürtmeli kurutma metodunda aromanın ve yağların mikroenkapsülünde kullanılan en bilinen yöntemdir. İşlem sonucunda oluşan toz formundaki ürünler

II. MATERYAL VE METOD

A. Materyal

Sarımsak özütü garlik, sodyum tripolifosfat, metanol, hidroklorik asit, sodyum hidroksit, asetik asit, DDPH, trolox ve kitosan Sigma-Aldrich'ten satın alındı. Goji berry meyvesi Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinde yerli bir marketten temin edildi.

B. Metod

1. Goji berry özütünün hazırlanması (taurin)

Goji berry meyvesi, 21 gün oda sıcaklığında kurutulduktan sonra öğütülme işlemi yapıldı ve toz haline getirildi. Toz numunesi (10 g) 100 mL metanol ile karıştırılma işlemi yapıldı. Daha sonra karışım, manyetik bir karıştırıcı ile 60 dakika boyunca karıştırılarak homojen bir hale gelmesi sağlandı ve stok çözelti, 30 dakika süre ile ultrasonik banyoda bekledi sonrasında numuneler, 10 dakika süre ile 3500 rpm'de santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen taurin özütü (t_{atm}), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi ile tespiti yapıldı (Baysal G, 2020).

2. Taurin ve garlik yüklü kitosan nanoparçacıklarının hazırlanması

Kitosan 10 gr tartıldı ve 900 ml distile su ile tamamlanarak 100 ml asetik asit ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 30 dk karıştırıldı. Daha sonra karışma devam ederken 500 mg goji berry ekstaktını ve 1000 mg garlik ekstraktı tartıldı ve pastör pipetle damla damla ilave edilerek 15 dk boyunca karıştırma işlemine devam edildi. 15 dakika sonra kitosan/TPP 3/1 oranında sodyum tripoli fosfat bileşiği (%1 lik) damla damla pastör pipetle karışma devam ederken ilave edildi ve 0.1 N HCl çözeltisi ile pH değeri 4.0'e ayarlandı ve 24 saat karıştırma işlemi gerçekleştirildi. 24 saat karıştırdıktan sonra 120 °C'de püskürtmeli kurutucuda kurutuldu. Elde edilen son ürün CSA olarak

adlandırıldı. Aynı işlemler 1000 mg goji berry ekstraktı ve 1000 mg garlik ekstraktı için tekrarlandı ve elde edilen son ürün CSB olarak adlandırıldı (Baysal G., Kasapbaşı E. E., Yavuz N.İ, Hür Z., Genç K., Genç M. 2020).

3. Karakterizasyon

Taurin özütleri, HPLC-DAD-UV-Vis cihazı ile analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril ve % 0.1 trikloroasetik asit kullanıldı. PDA detektör dalga boyu 470 nm, Emisyon dalga boyu 530 nm olarak kaydedildi. Sentezlenen bileşiklerin üzerindeki organik grupları belirlemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi FTIR kullanıldı. FTIR spektrumları (Mattson 1000 kızılötesi spektrofotometre) 4000-400 cm^{-1} dalga sayısı aralığının da 4 cm^{-1} çözünürlükte ölçüldü.

4. Taurin ve garlik ekstraktı ve nano bileşiklerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi

Antioksidan analizlerde DPPH yöntemi kullanılmıştır. 60 μM DPPH çözeltisi metanol çözücüsü kullanılarak hazırlandı. 10 μM Trolox çözeltisi hazırlandı ve hacimsel bir şişede (25 mL) metanol ile tamamlandı (Wei, Z. and Lau, B.H.S. 1998). Kontrol çözeltisi 3.9 mL DPPH ve 0.1 mL metanol ile hazırlandı. Kalibrasyon eğrisinin grafiğini hazırlamak için, stok Trolox çözeltisi 0.2 μM , 0.25 μM , 0.4 μM , 0.5 μM ve 0.7 μM konsantrasyonlarında seyreltildi. Bir kalibrasyon eğrisi çizmek için, stok Trolox çözeltisi dahil olmak üzere Trolox çözeltileri ile toplam altı test tüpünün her birinden 100 μL çözelti altı ayrı test tüpüne aktarıldı. Bu yeni tüplerin her birine 3.9 mL stok DPPH çözeltisi ilave edildi ve vortex kullanılarak homojen bir karışım elde edildi. Kontrol çözeltisi ve bu preparatlar 60 dakika boyunca karanlıkta tutuldu. Absorbans değerleri UV spektrofotometrede 517 nm'de okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Ekstraktlar için, her bir ekstraktan 1.5 mL ve 3.9 mL stok DPPH çözeltisi test tüplerine ilave edildi. Preparatlar karanlıkta tutuldu ve absorbans değerleri UV spektrofotometrede 517 nm'de okundu. Antioksidan değerler (%) bu absorbans değerleri aşağıdaki denklem 1'e göre uygulanıp hesaplanmıştır (Czerwinska M, Kiss Ak, Naruszewicz Ma 2012), (Deleonardis A, Macciola V, Lembo G, Aretini A, Nag A 2007), (Figueiredo-Gonzalez M, Reboredo-Rodriguez P, Gonzalez-

Barreiro C, Simal-Gandara J, Valentao P, Carrasco-Pancorbo A, Andrade Pb, Cancho-Grande B (2018).

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ekstrakt}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100 \text{ (Denklem 1)}$$

A_{DPPH} : DPPH şahit örneğinin absorbans değeri

A_{ekstrakt} : Örnek ekstraktının absorbans değeri

5. Antioksidan bileşiklerin enkapsülasyonda yükleme kapasitesinin belirlenmesi

Antioksidant bileşiklerin Kapsülleme verimliliği (AYK) Goji berry meyvesindeki antioksidant bileşik miktarının 517 nm absorpsiyonda UV spektrofotometre ile ölçülerek belirlendi. Hesaplama için aşağıdaki denklem 2 formülü kullanıldı (Yin, M.C., Hwang, S.W. and Chan, K.C. 2002).

$$\% \text{ AYK} = \frac{\text{Toplam antioksidan aktive - kitosanın antioksidan aktivitesi} \times 100}{\text{Toplam antioksidan}}$$

(Denklem 2)

6. Molekül ağırlıklarının belirlenmesi

Molekül ağırlığının belirlenmesinde donma noktası alçalması yöntemi yani kriyoskopi metodu kullanıldı. İlk olarak saf kitosan ve sentezlenen CSA ve CSB bileşiği 0.5 gr tartılarak 25 ml çözücünde 1 saat boyunca karıştırıldı ve daha sonra soğutma banyosunda donma noktaları tespit edildi. Aşağıda yer alan eşitlik yardımıyla molekül ağırlıkları hesaplandı. T_d = donma noktası alçalması, K_d =molal donma noktası düşme sabiti 1.86 olarak hesaplandı, m =molalite)

$$\Delta T_d = - K_d \times m_{\text{çözünen}}$$

7. Antibakteriyel analiz

Antibakteriyel analizler için kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *E. coli*, *Listeria Monocytogenes*, *S. aureus* ve *Salmonella* bakterileri Nutrient agarına aşılandı ve aerobik ortamda 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. 24 saat sonra sentezlenen bileşiklerin disk çevresinde inhibisyon bölgeleri oluşturup oluşturmadığı kontrol edildi. İnhibisyon bölgelerinin alanları mm² birimleri cinsinden ölçüldü ve mikroorganizmaların antibakteriyel maddelere duyarlılığı

belirlendi. Antibakteriyel analiz sonuçlarına istatistik analiz uygulandı (Baysal G, Doğan F. 2020), (Nafchi Am, Alias Ak, Mahmud S, Et Al. 2019).

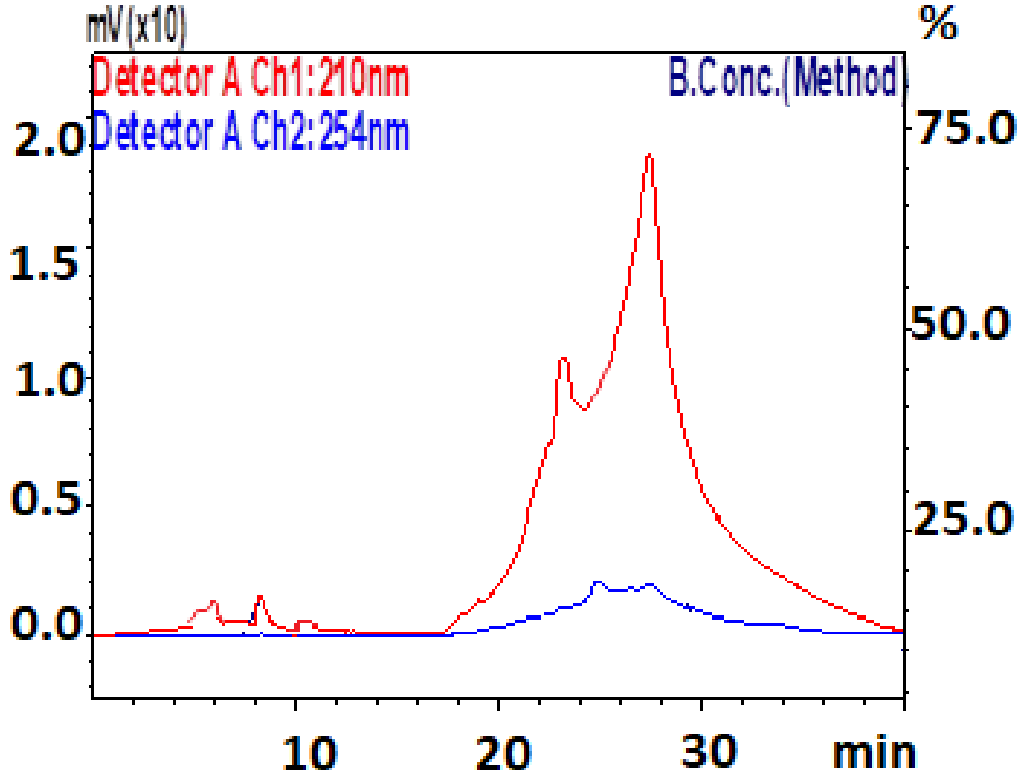
8. Yüzey aktivite analizi

E. coli, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* bakterileri, nutrient agar üzerine aşılandı ve aerobik ortamda 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Hücreler aynı ortam içinde yayıldı ve 24 saat sonra, disk çevresinde sentezlenen bileşikler inhibisyon konsantrasyonlarında uygulandı. Bakteri sayısında mikroskop altında görüntülenen azalmalar, bu mikroorganizmaların kapsüllenen bileşiklere karşı hassas olduklarını ve kapsüllenen bileşiklerin yüzey aktivite özelliklerine sahip olduklarını doğrulamaktadır. Elde edilen bileşiklerin bakterilere karşı yüzey aktivite performansları Zeiss Mikroskobu kullanılarak X40 büyütme ölçeğinde incelenmiştir (Baysal G, C, Elik By. 2019), (Ren L, Yan X, Zhou J, Et Al. 2017).

III. BULGULAR

A. HPLC Analizi

Şekil 6'da goji berry ekstraktının ta_{atm}'in HPLC analiz spektrumunu göstermektedir. HPLC spektrumunda 5 dakika, 5,5 dakika ve 8 dakika civarında görülen zirveler, goji berry özütünün taurinin varlığını kanıtlamaktadır (Baysal G, .2020), (Sawabe Y, Tagami T, Yamasaki K. 2008).



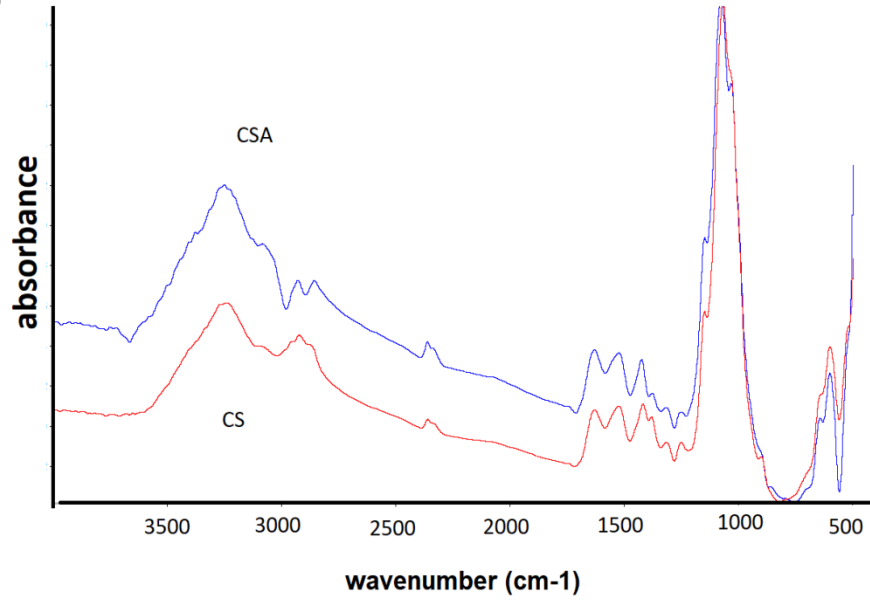
Şekil 7 Goji berrynin HPLC spektrumu

B. FTIR Analizi

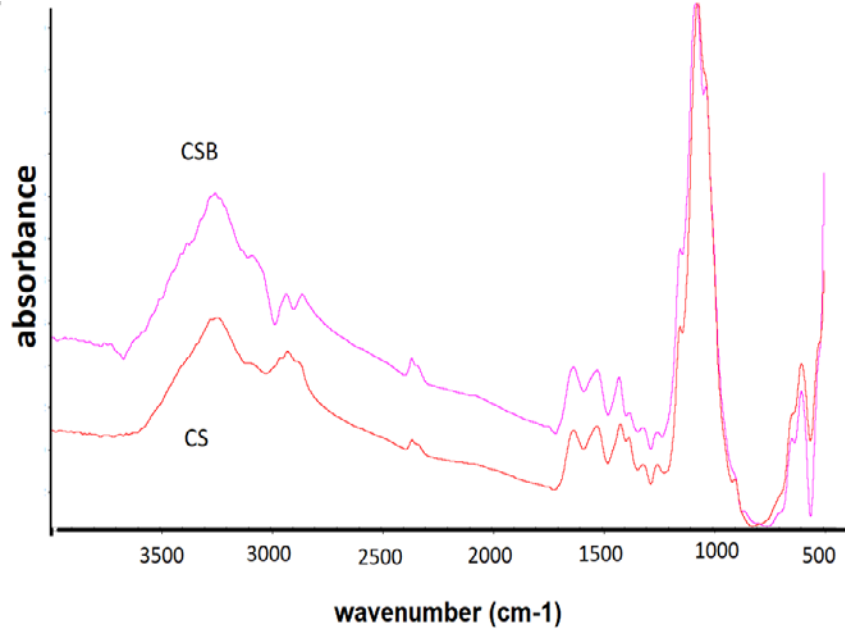
Şekil 7, 8'de a ve b'de kitosan (CS) ve taurine ve garlik ekstraktlarıyla kapsüllenen kitosanın CSA ve CSB bileşiklerinin FTIR spektrumları görülmektedir. Spektrumlarda 3300-3500 cm⁻¹'de görülen keskin pik kitosanın karakteristik piki olarak belirlemekte ve OH bantlarına karşılık gelmektedir.

Kitosanın 1650 cm^{-1} civarında gözlenen Amid II karbonil bağları CSA ve CSB bileşiklerin spektrumunda ufak bir esneme olarak görülmektedir. 1650 ce 1420 cm^{-1} 'de görülen soğurma bandı (amid I) asetamid gruplarının karbonil bağlarının gerilmesi ve C-H bağlarının deformasyonundan kaynaklanmaktadır (J. Hafsa, M.A. Smacha, B. Charfeddinea, K. Limema, H. Majdoub, S. 2016), (Rahul Varma and Sugumar Vasudevan 2020).

1320 cm^{-1} 'deki bant C-NH deformasyonuna (amid II) karşılık gelir ve 1550 cm^{-1} civarı gözlenen pik ise amino grubunun (amid II) N-H deformasyonudur. 550 ve 700 cm^{-1} 'de görülen pikler kitosanın düzlem dışı bükülmelerini (NH) temsil etmektedir. 1100 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı C-O-C köprüsünün asimetrik gerilmelerini sergilemektedir. Kitosanın kapsüllenmesi için kullanılan taurin ve garlik ekstraktları ise 2800 cm^{-1} 'de CH_2 gerilme bağları ikili pik şeklinde gözlenmektedir (Diky Mudhakira, Caroline Wibisono, Heni Rachmawati, 2014), (Rama Pulicharla, Caroline Marques, Ratul Kumar Das, Tarek Rouissi, Satinder Kaur Brar, 2016).



Şekil 8 Kitosan, CSA (a)



Şekil 9 CSB (b) bileşiklerinin FTIR spektrumları

C. % Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

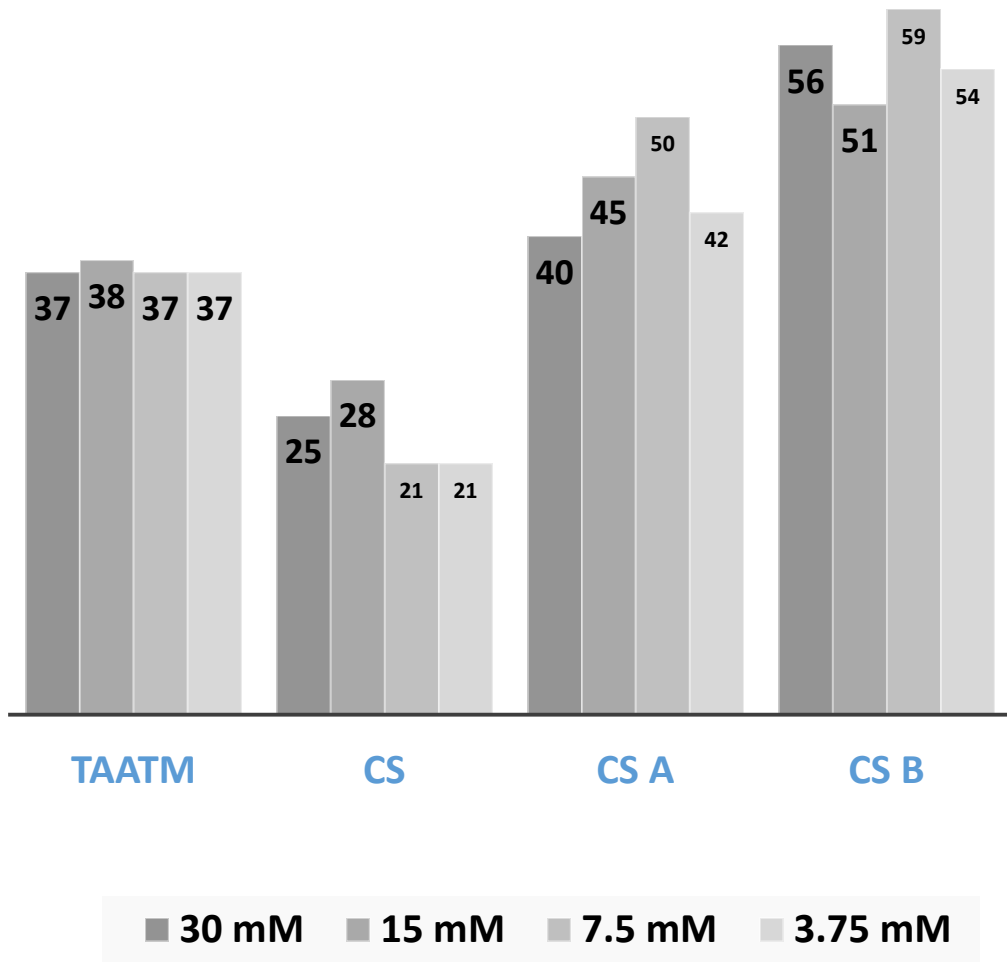
Antioksidan analizlerinde referans çözelti olarak trolox antioksidan materyal kullanılmış ve bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon denkleminde trolox için r^2 değeri 0,9974 olarak hesaplandı. Kalibrasyon denkleminin $y = 0,1863x + 0,5394$ 'dur. Tablo 1, Şekil 8'de, elde edilen goji berry ekstraktlarının, kitosan ve garlik ekstraktı ile kapsüllenmiş kitosan örneklerinin yüzde antioksidan aktivitesini gösterir (Czerwinska M, Kiss Ak, Naruszewicz Ma 2012), (Deleonardis A, Macciola V, Lembo G, Aretini A, Nag A 2007), (Figueiredo-Gonzalez M, Reboredo-Rodriguez P, Gonzalez-Barreiro C, Simal-Gandara J, Valentao P, Carrasco-Pancorbo A, Andrade Pb, Cancho-Grande B (2018)).

Tablo 1'e göre elde edilen analiz sonuçları değerlendirildi. Kullanılan üç farklı ekstrakt ve bunların seyreltilmiş solüsyonlarından ekstraktlar en yüksek antioksidan aktiviteye sahip atmosferik koşullarda kurutuldu.

Çizelge 1. Taurin ekstraktlarının % antioksidan aktivite değeri

(517 nm)	30 μ M	15 μ M	7.5 μ M	3.75 μ M
Ta _{atm}	37	38	38	38
CS	25.2	28.1	20.5	21
CSA	40.1	44.5	49.3	42.1
CSB	56	50.2	58.7	53.8

% antioksidan aktivite



Şekil 10 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin % antioksidan aktiviteleri

Tablo 1’de yer alan veriler karşılaştırıldığında kitosanın % antioksidan aktivitesi % 20.5 iken goji berry ve garlik ekstraktlarının ilavesiyle sırasıyla CSA ve CSB için % 49.3 ve % 58.7 değerlerinde artış göstermiştir. CSB nin % antioksidant aktivitesi CSA’ya göre daha fazla aktivite göstermektedir. Bunun

nedeni CSB bileşiminin, CSA bileşiminin içerdiği goji berry miktarından iki kat daha fazla miktarda goji berry ekstraktı içermesinden kaynaklanmaktadır.

D. Antioksidan Bileşiklerin Enkapsülasyonda Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Yükleme verimliliği kullanılan polimerin özelliklerine ve antioksidan bileşenlerin fizikokimyasal özellikleriyle doğrudan ilişki içindedir. Hidrojen bağı, elektrostatik etkileşim ve hidrofobik kuvvetler etkileşimi etkileyen ana faktörlerdir. Antioksidan bileşenlerin hidroksil grupları ve kitosanın amin grupları asidik ortamda (pH<4) hidrojen bağları ile birbirine bağlanırlar. Aşağıdaki eşitliğe göre CSA ve CSB bileşiklerinin kitosan bileşiğine yüklenme kapasitesi hesaplanmıştır. Elde edilen verilere göre CSA bileşiminin antioksidan yükleme kapasitesi % 58.4'dir. Taurine ve garlik ekstraktlarından olmak üzere % 9.4 taurine ekstraktından % 19.4 ise garlik ekstraktından etkilenmiştir. CSB bileşiği için yapılan hesaplamaya göre antioksidan bileşiği yükleme kapasitesi % 65.1 olup taurine ve garlik ekstraktlarından olmak üzere % 9.4 taurine ekstraktından % 19.4 ise garlik ekstraktından yüklenme gerçekleşmiştir (Rama Pulicharla, Caroline Marques, Ratul Kumar Das, Tarek Rouissi, Satinder Kaur Brar, 2016).

$$\% \text{AYK} = \frac{(\text{Toplam antioksidan aktivite} - \text{kitosanın antioksidan aktivitesi}) \times 100}{\text{Toplam antioksidan aktivite}}$$

(Denklem2)

E. Molekül Ağırlığının Belirlenmesi

Molekül ağırlığı hesaplama yöntemi olarak donma noktası alçalması adı verilen Kriyoskopi metodu kullanılmıştır. Ham ve sentezlenen numuneler 0.5 g tartılarak çözücüde hidroklorik asit yardımıyla ortam asidik pH değerine getirildikten sonra 1 saat süreyle karıştırıldıktan sonra soğutma kabinde donma noktası termometre yardımıyla ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre ham kitosanın molekül ağırlığı 67 kDa olarak hesaplanmıştır. Sentezlenen CSA ve CSB bileşiklerinin molekül ağırlıkları ise sırasıyla 95 kDa ve 134 kDa olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda kapsülleme metodunun kitosanın

molekül ağırlığına etkisinin oldukça yüksek olduğu ve kapsülleme veriminin etkili olduğu tespit edilmiştir.

F. Antibakteriyel Analiz Sonuçları

Kitosan ve kapsüllenen CSA ve CSB bileşiklerinin antibakteriyel analizleri için 4 farklı bakteri kullanıldı. Gram negatif bakteriler olarak E.coli ve Salmonella bakterileri, gram pozitif bakteriler olarak *S.aureus* ve *L.monocytogenes* kültürleri kullanıldı. Analizler için kuyu difüzyon metodu kullanıldı ve bakteri kültürleri 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra meydana gelen inhibisyon zonları mm² olarak ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Şekil 10, 11, 12, 13 ve Tablo 2'de gösterilmektedir (Baysal G, Doğan F (2020), (Baysal G, C, Elik By. 2019).

Çizelge 2. Örneklerin inhibisyon zon alanları (mm²)

	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.aureus</i>	E.coli	<i>Salmonella</i>
CS	0.28	0.13	1.54	1.13
CS _A	490.6	64.3	105.6	22.9
CS _B	176.7	21.2	9.1	9.1



Şekil 11 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin *L.monocytogenes* bakterilerine karşı inhibisyon zonları



Şekil 12 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin *S. Aureus* bakterilerine karşı inhibisyon zonları



Şekil 13 Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin *E.coli* bakterilerine karşı inhibisyon zonları



Şekil 14: Kitosan, CSA (a) ve CSB (b) bileşiklerinin *Salmonella* bakterilerine karşı inhibisyon zonları

G. Yüzey Aktivite Analiz Sonuçları

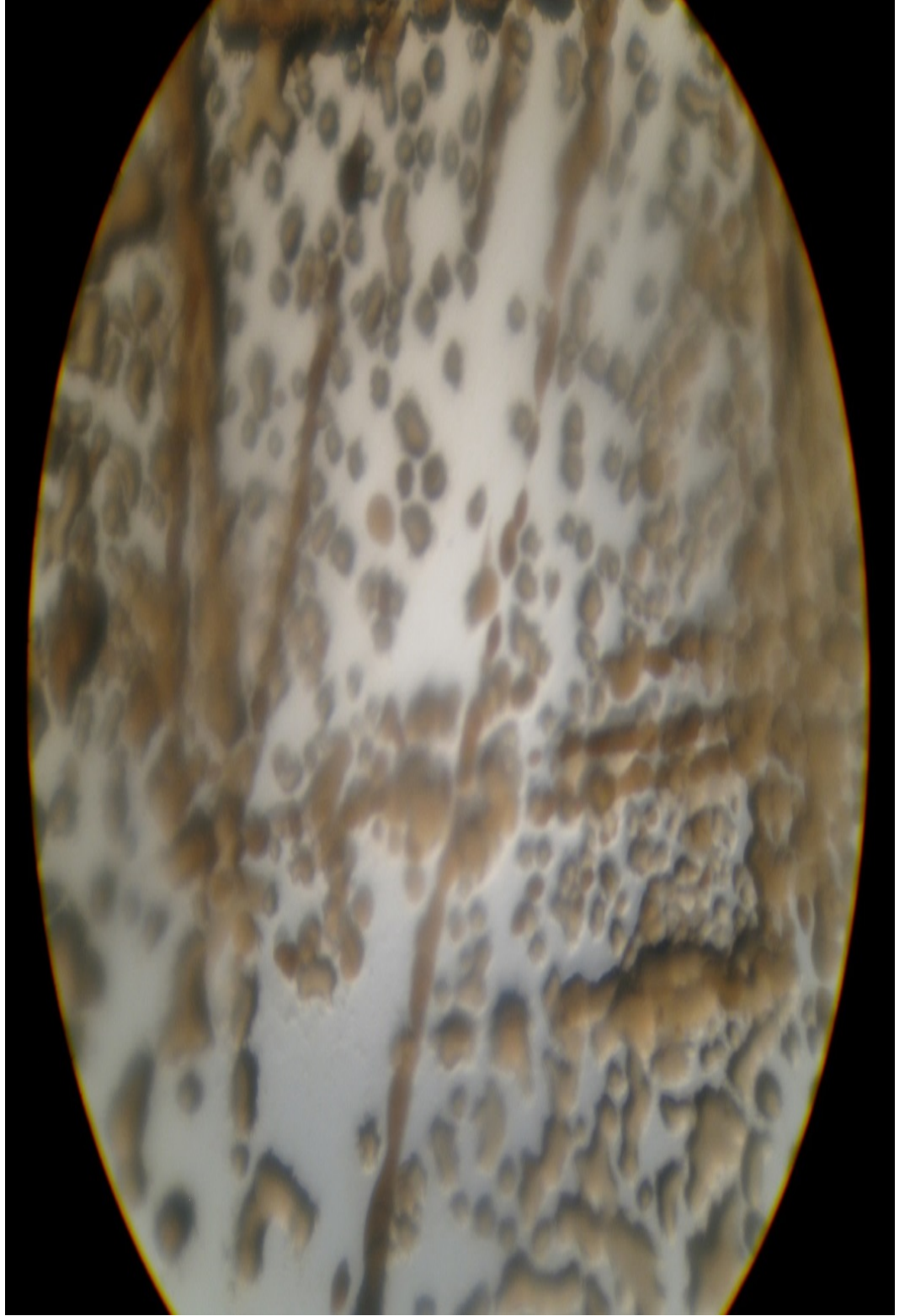
Listeria Monositogenes, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* ve *Salmonella* bakterileri, besleyici agar üstüne aşılandı ve aerobik bir ortamda 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Hücreler aynı ortamda dağıtıldı ve 24 saat sonra, kitosan, CSA ve CSB bileşiklerinin inhibitör konsantrasyonlarının uygulandığı disk etrafında bakteri sayılarında anlamlı azalmalar görüldü. Mikroorganizma sayısındaki anlamlı bu azalmalar, mikroorganizmaların sentezlenen bileşik numunelerine ne kadar duyarlı olduklarını ve yüzey aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Nafchi Am, Alias Ak, Mahmud S, Et Al. 2019), (Ren L, Yan X, Zhou J, Et Al. 2017).

Şekil 14 – 25 arası kitosan, CS ve CSB bileşiklerinin *Listeria Monositogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* ve *Salmonella* bakterilerine karşı 24 saat süre sonunda göstermiş olduğu yüzey aktivite görülmektedir.

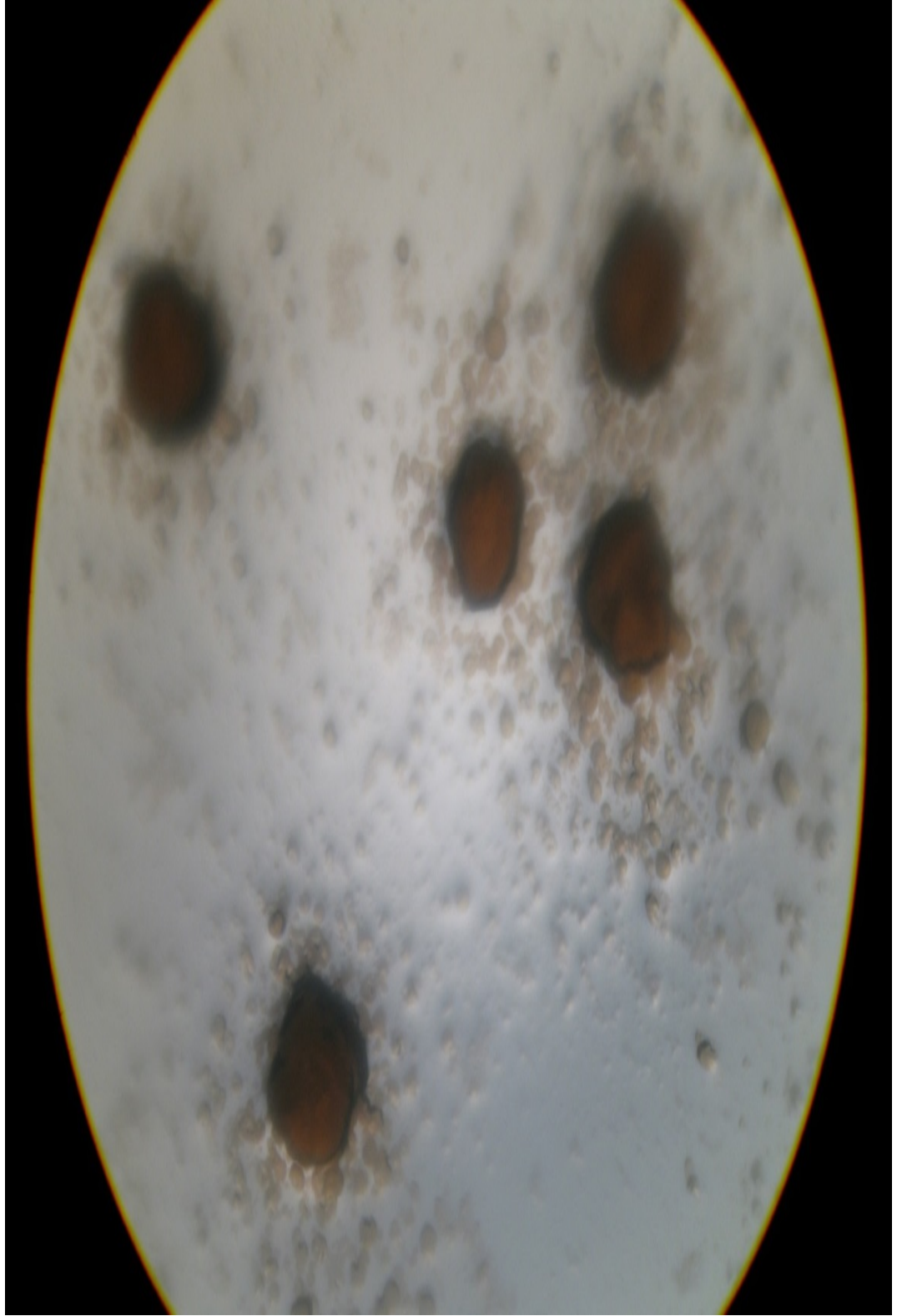
Şekil 14'de kitosanın birinci güne ait yüzey görüntüsünde yoğun bir *E.coli* bakteri varlığı gözlenmektedir. Ancak Şekil 15 ve 16'da CSA ve CSB bileşiklerinin *E.coli* bakterisine karşı göstermiş olduğu yüzey aktivite oldukça bariz bir şekilde görülmektedir. Şekil 17'de *Listeria Monositogenes* bakterisine karşı kitosanın göstermiş olduğu yüzey aktivite CSA ve CSB'ye göre daha düşükken CSA bileşiği pozitif aktivite olarak CSB'ye göre büyük bir fark göstermektedir. Ancak bu olumlu gelişme Şekil 20, 21, 22'de görüldüğü gibi *S. Aureus* bakterisi için söz konusu değildir. Kitosan, CSA ve CSB bileşikleri *S. Aureus* bakterisine karşı anlamlı bir yüzey aktivite göstermemektedir. Şekil 23, 24 ve 25'de görüldüğü gibi kitosan, CS ve CSB bileşikleri *Salmonella* bakterisine karşı oldukça belirgin yüzey aktivite göstermiş olup, hatta CSA bileşiğinin yüzeyinde neredeyse *Salmonella* bakterisi bulgusuna pek rastlanılmamaktadır (Baysal G, Doğan F. 2020), (Baysal G, C,elik By. 2019). Tablo 3'de kitosan, CSA ve CSB bileşiklerinin bakterilere karşı göstermiş olduğu yüzey aktiviteyi özetlemektedir.

Çizelge 3. Örneklerin yüzey aktivite sonuçları

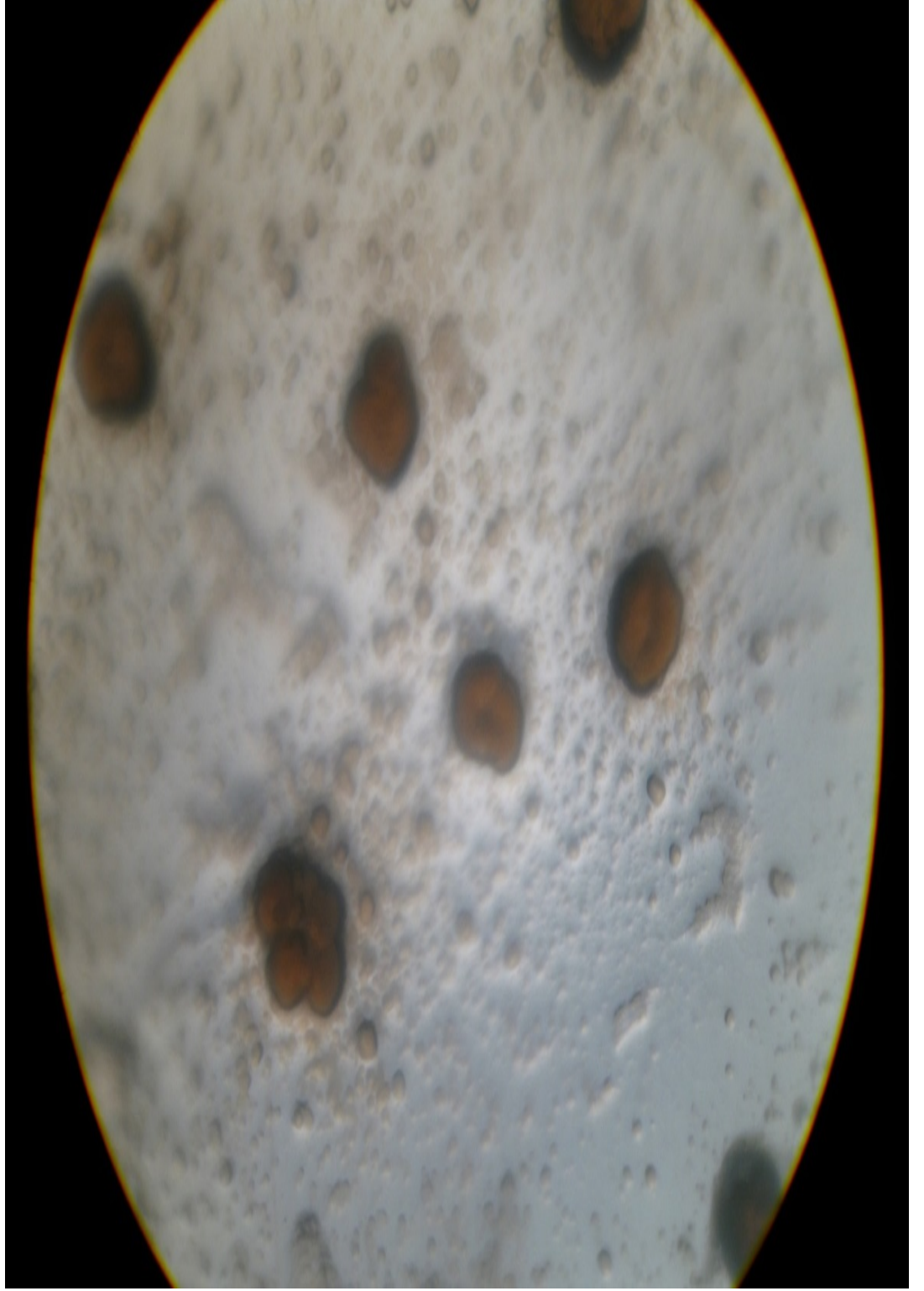
	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>
CS	+	-	+	+
CS _A	+	-	+	+
CS _B	+	-	+	+



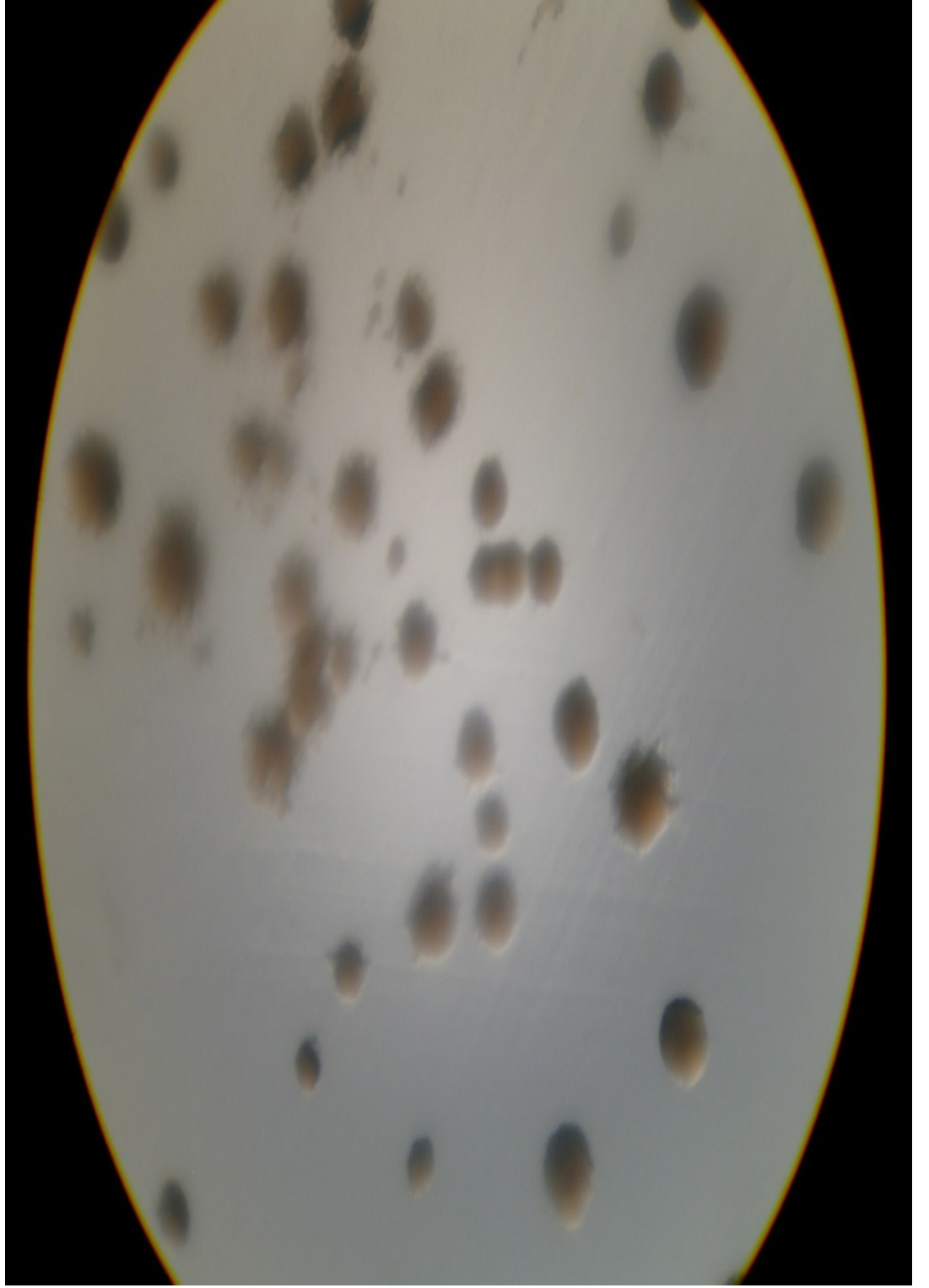
Şekil 15 Kitosanın *E.coli* bakterisine karşı 1. gün yüzey aktivitesi



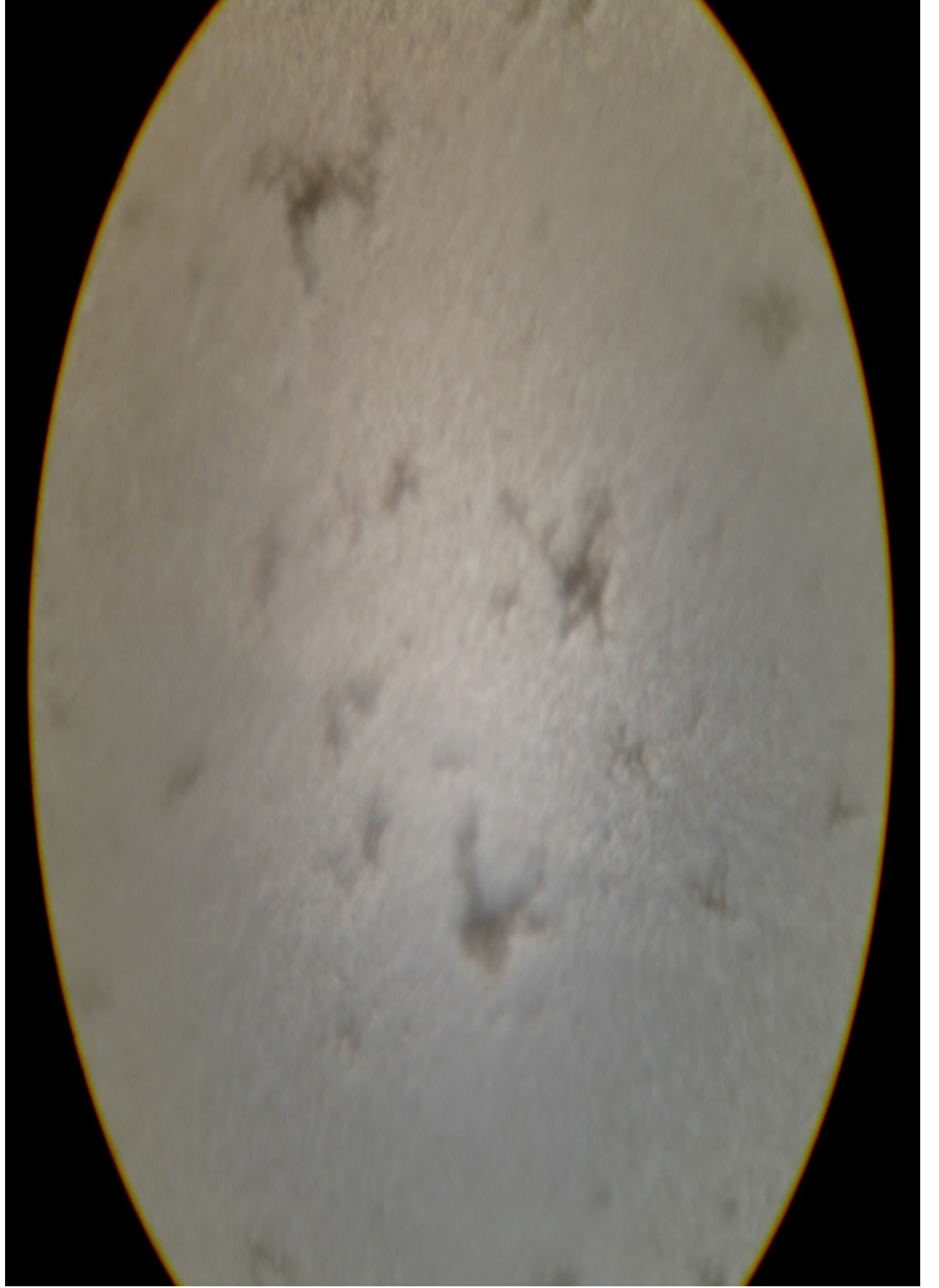
Şekil 16 CSA'nın *E.coli* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



Şekil 17 CSB'nin *E.coli* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



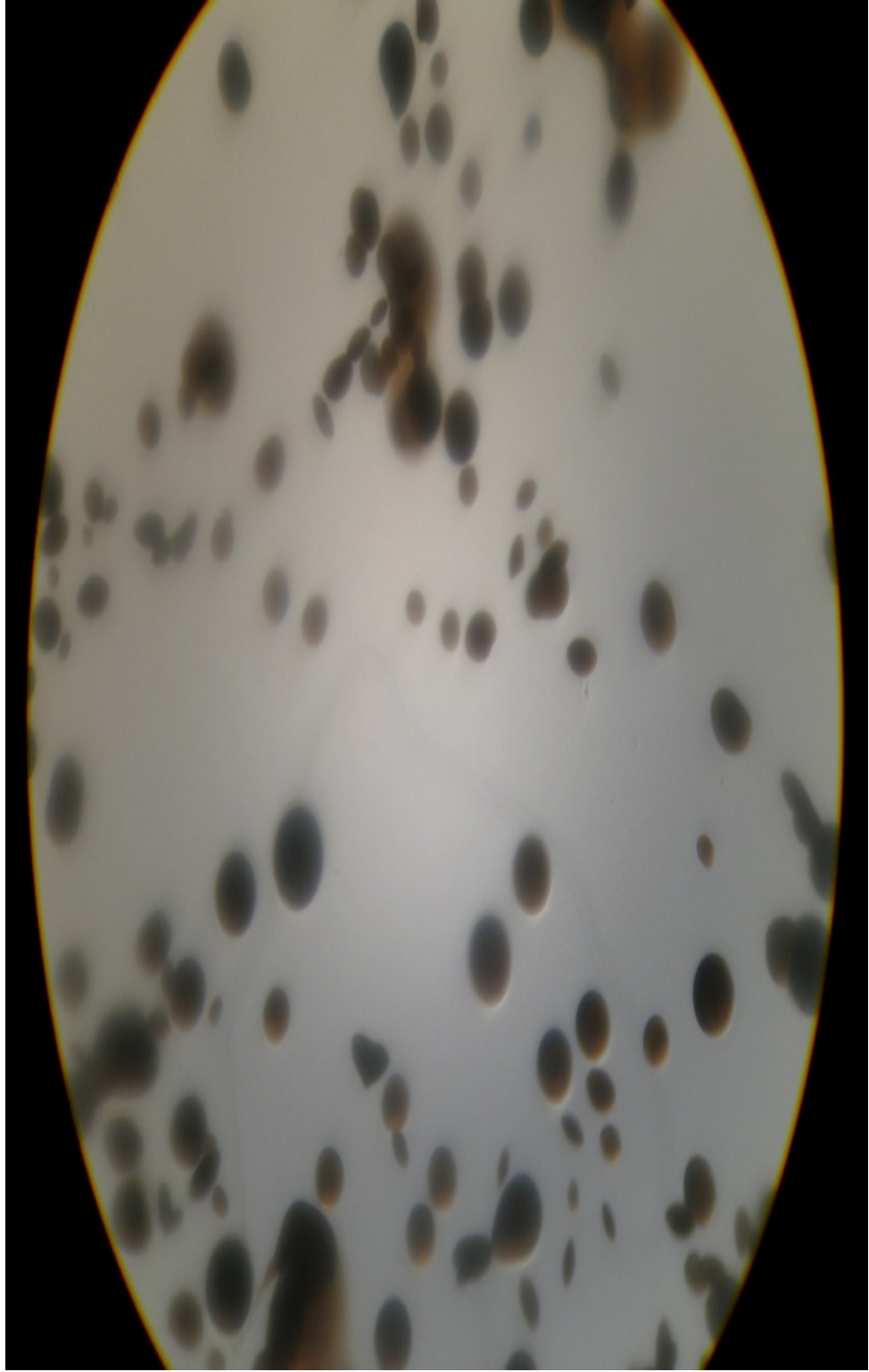
Şekil 18 Kitosanın *Listeria Monocytogenes* bakterisine karşı 1. gün yüzey aktivitesi



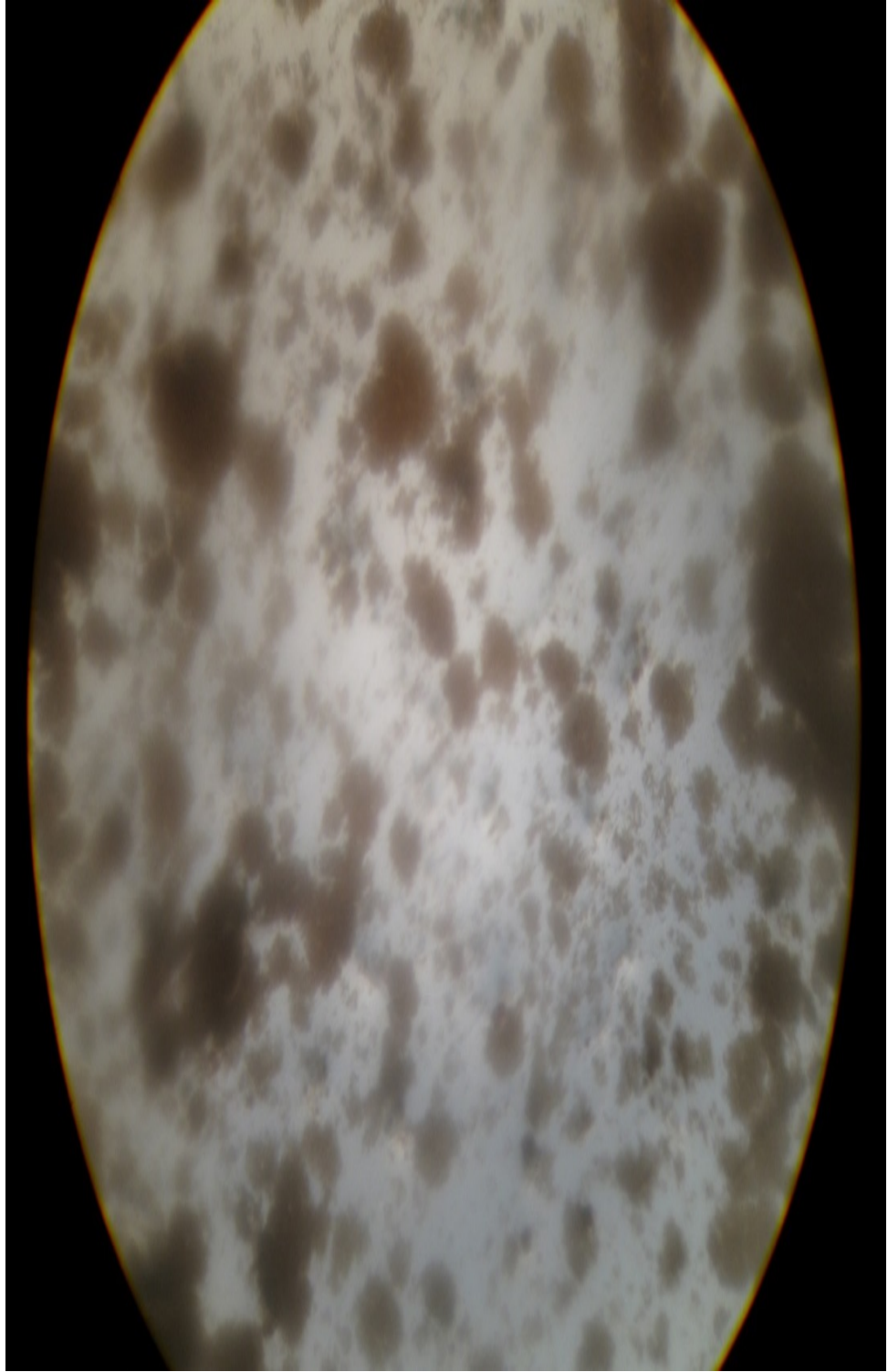
Şekil 19 CSA'nın *Listeria Monocytogenes* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



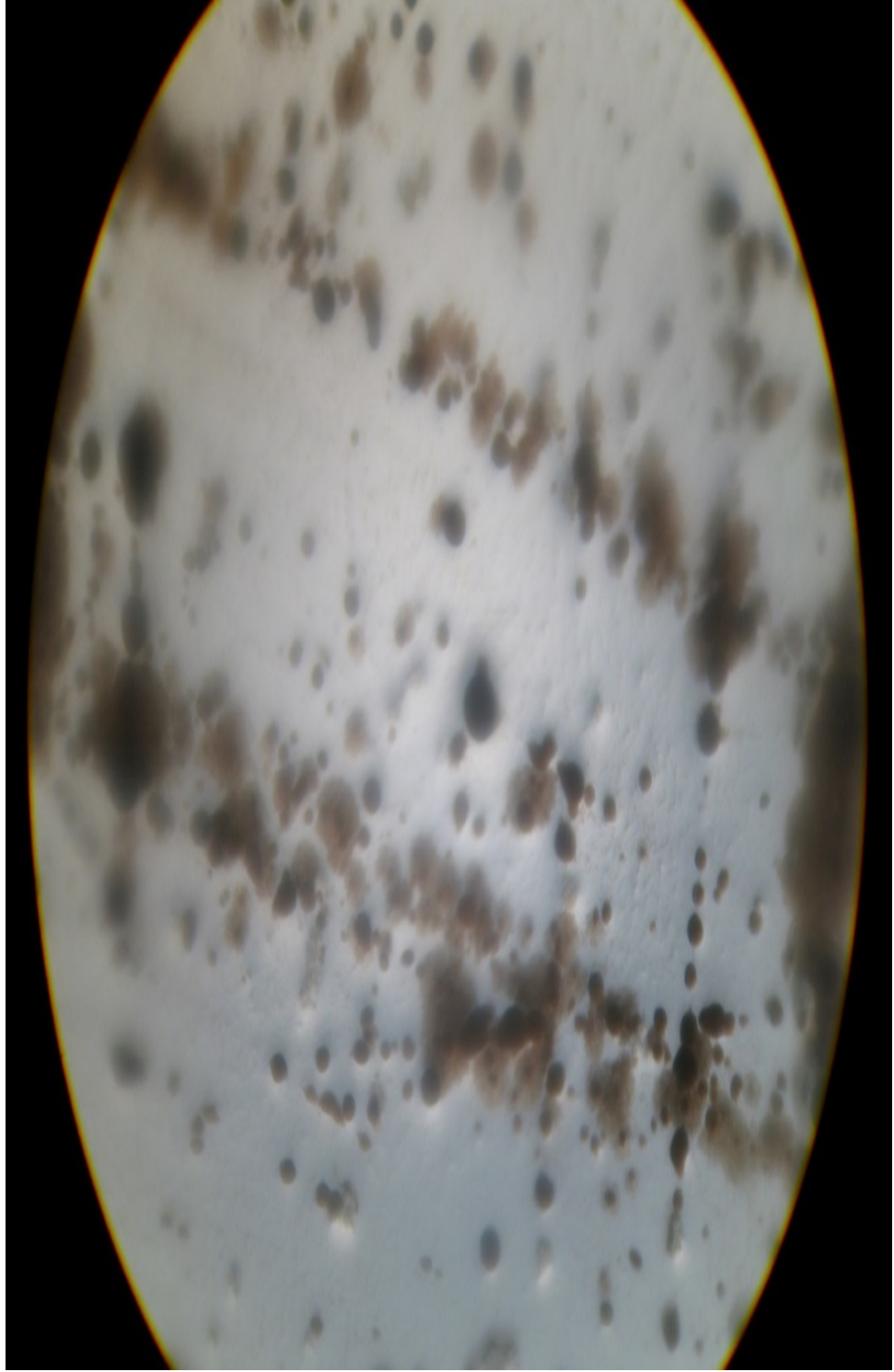
Şekil 20 CSB'nin *Listeria Monocytogenes* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



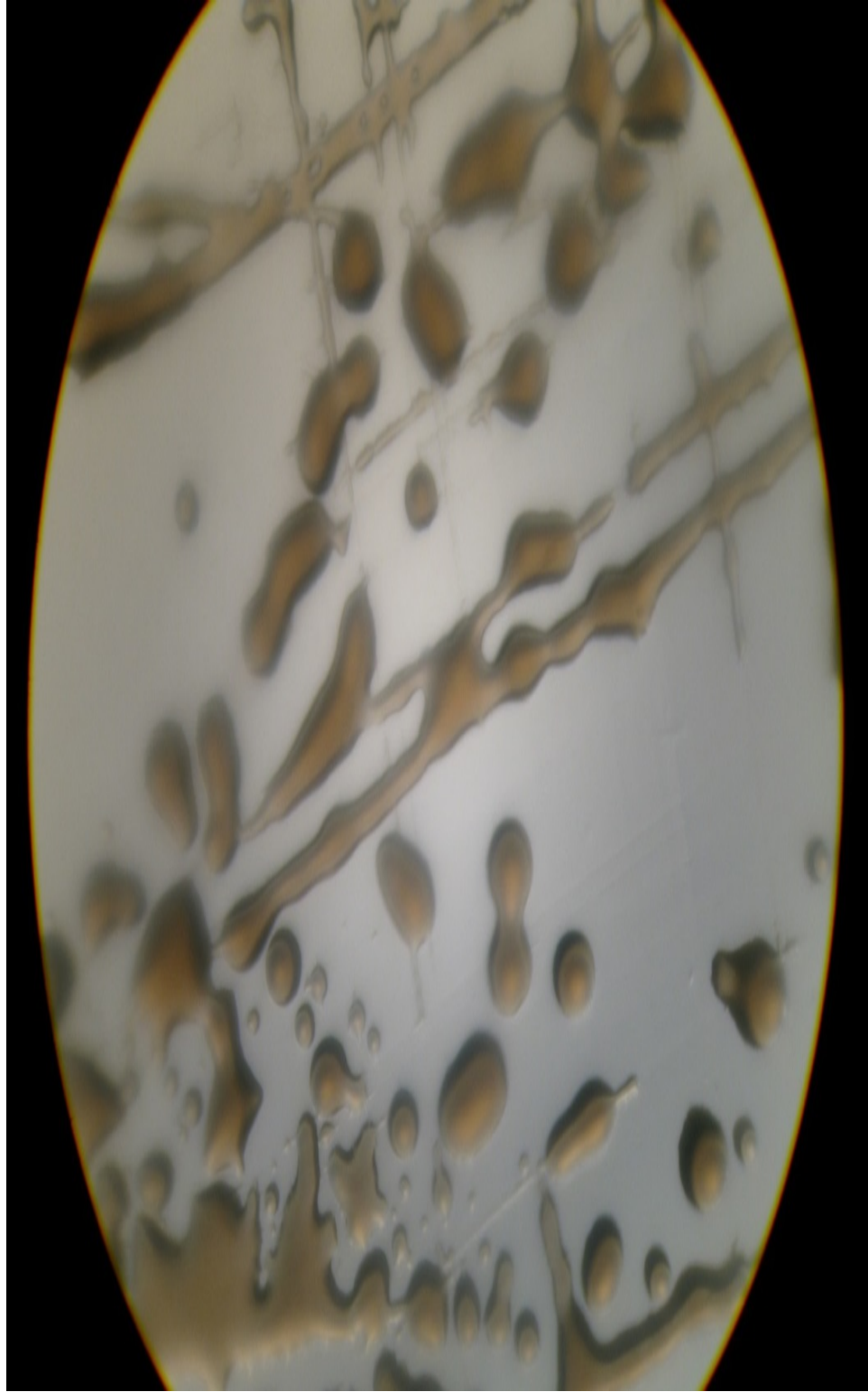
Şekil 21 Kitosanın *S. Aureus* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



Şekil 22 CSA'nın *S. Aureus* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



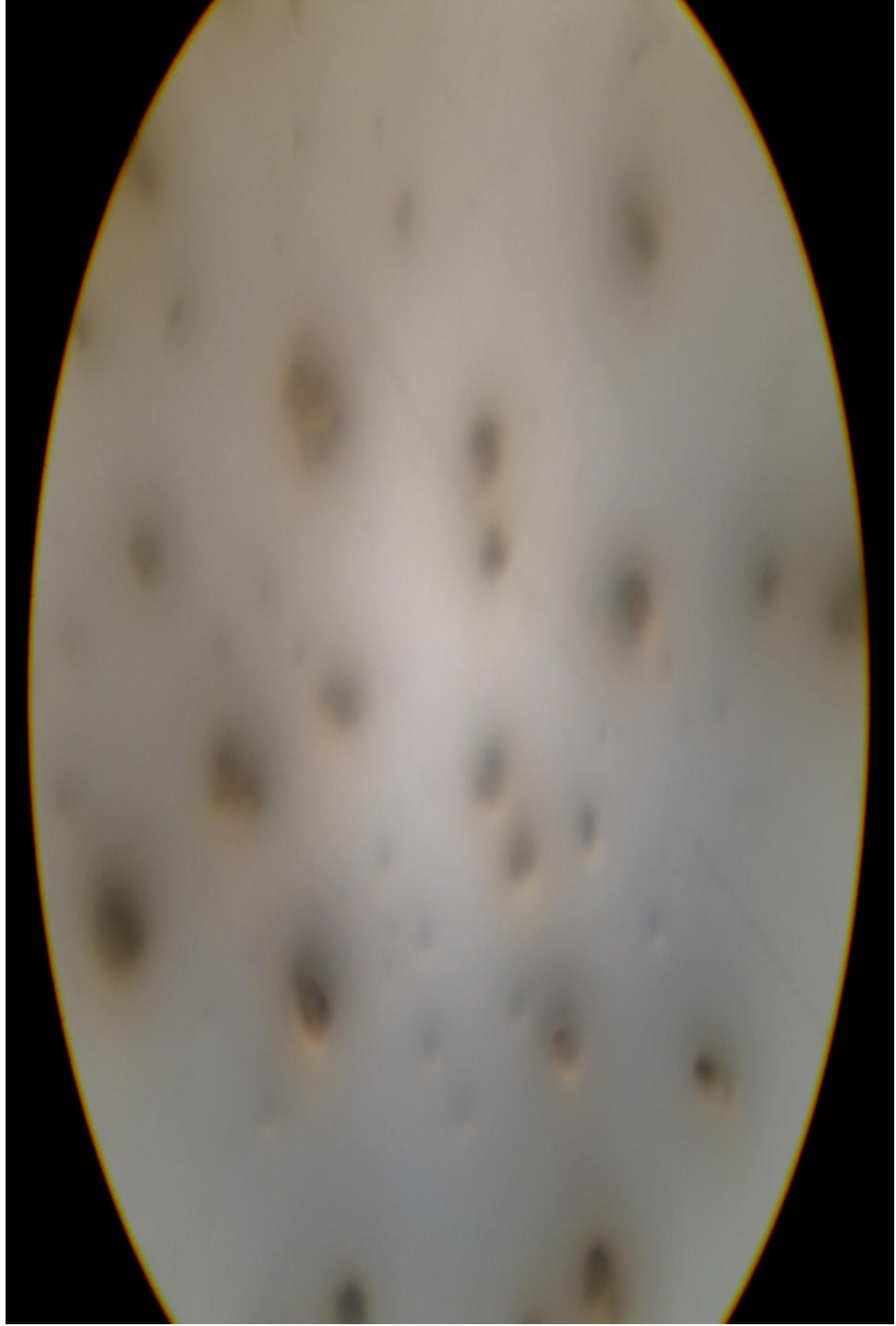
Şekil 23 CSB'nın *S. Aureus* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



Şekil 24 Kitosanın *Salmonella* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



Şekil 25 CSA'nın *Salmonella* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi



Şekil 26 CSB'nin *Salmonella* bakterisine karşı 1.gün yüzey aktivitesi

Bakterilerilere karşı yüzey aktivite analizlerinden genel anlamda pozitif sonuçlar elde edilmiş ve birinci güne ait mikroskopik görüntüler, ikinci güne ait mikroskopik görüntülerle karşılaştırıldığında daha aydınlık ve temiz bir görüntü elde edilmiştir.

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, goji berry ekstraktı olan taurin, sarımsak özütü olan garlık ve kitosan enkapsülasyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen ekstraktlar ve kapsüllenmiş kitosan bileşikleri Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile analiz edildi ve kriyoskopi yöntemi ile molekül ağırlıkları belirlendi. Seçtiğimiz iki gram pozitif bakteriler olan *S.aureus* ve *L.monocytogenes* ve seçtiğimiz iki gram negatif bakteri olan *E.coli* ve *Salmonella* bakterilerine karşı püskürterek kurutma ve kuyu difüzyon metotları kullanıldı. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, sentezlenen CSA ve CSB bileşiklerinin % antioksidan aktivite değerleri sırasıyla % 49.3 ve % 58.7 olarak belirlendi. Molekül ağırlıkları kitosan (CS), CSA ve CSB bileşikleri için sırasıyla 67, 95 ve 134 kDa olarak hesaplandı. Antioksidan bileşiklerin enkapsülasyonda yükleme kapasiteleri CSA ve CSB için sırasıyla % 58.4 ve % 65.1 olarak analiz edildi. Antibakteriyel analiz sonuçlarına göre en büyük inhibisyon zonları CS ve CSA bileşikleri için *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı elde edilmiştir. Bileşiklerin *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *S.aureus* bakterilerine karşı yapılan yüzey aktivite analiz sonuçlarına göre ise *S.aureus* bakteri dışında diğer tüm bakterilere karşı anlamlı yüzey aktivite sonuçları elde edilmiştir.

V.KAYNAKÇA

MAKALELER

- BARBOSA-CÁNOVAS GV, ORTEGA-RÍVAS E, JULIANO P, YAN H (2005). Food Powders. Physical proper-ties, processing and functionality. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- BAYSAL G, (2020). Antibacterial Properties and Synthesis of Organoclay with Goji Berry, Journal of Nutrition and Health Sciences, 2020, Volume 7 | Issue 1, syf 1-7.
- BAYSAL G, C,ELİK By. (2019) Synthesis and characterization of antibacterial bio-nano films for food packaging. J Environ Sci Heal Part B Pestic Food Contam Agric Wastes. 2019; 54(2): 79–88.
- BAYSAL G, DOĞAN F (2020) İ nvestigation and preparation of biodegradable starch-based nanofilms for potential use of curcumin and garlic in food packaging applications. J Biomater Sci Polym Ed 2020, 31(9), 1127-1143.
- BAYSAL G., KASAPBAŞI E. E., YAVUZ N.L, HÜR Z., GENÇ K., GENÇ M. (2020). Determination Of Theoretical Calculations By Dft Methodand İ nvestigation Of Antioxidant, Antimicrobial Properties Of Oliveleaf Extracts From Different Regions. J Food Sci Technol, 2020, 1-9.
- BAYSAL GÜLAY, KASAPBAŞI EMİNE ESRA, YAVUZ NURGÜL, HÜR ÜHRE, GENÇ KÜBRA, GENÇ MUSA (2020). Determination Of Theoretical Calculations By Dft Methodand İ nvestigation Of Antioxidant, Antimicrobial Properties Of Oliveleaf Extracts From Different Regions. J Food Sci Technol, 2020, 1-9.
- BOUCKENOOGHE T, REMACLE C, REUSENS B. (2006). Is taurine a functional nutrient? Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2006 Nov; 9 (6): 728-33.

- CARNEIRO, H. C. F., TONON, R., GROSSO, C. AND HUBINGER, M. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering* 115: 445-451.
- CHESNEY R.W., (1985). Taurine: Its biological role and clinical implications. *Advances in Pediatrics*: 32:1.
- CZERWIŃSKA M, KISS AK, NARUSZEWICZ MA (2012) Comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacein. *Food Chem* 131:940–947.
- DASH, M., CHIELLINI, F., OTTENBRITE, R.M., CHIELLINI, E. (2011), “Chitosan-A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications”, *Progress in Polymer Sci.*, 36, 981-1014, 2011.
- DELEONARDIS A, MACCIOLA V, LEMBO G, ARETINI A, NAG A (2007) Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater. *Food Chem* 100(3):998–1004.
- DESAI, K. G. H. AND PARK, H. J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry. Technol.* (23), 1361–1394.
- DIKY MUDHAKIRA, CAROLINE WIBISONO, HENI RACHMAWATI, (2014) Encapsulation of risperidone into chitosan-based nanocarrier via ionic binding interaction, *Procedia Chemistry* 13 (2014) 92 – 100.
- DUTTA, P.K., DUTTA, J., TRIPATHI, V.S (2004)., “Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications”, *J. Sci. Industrial Res.*, 63, 20-31, 2004.
- FIGUEIREDO-GONZALEZ M, REBOREDO-RODRIGUEZ P, GONZALEZ-BARREIRO C, SIMAL-GANDARA J, VALENTAO P, CARRASCO-PANCORBO A, ANDRADE PB, CANCHO-GRANDE B (2018a) Evaluation of the neuroprotective and antidiabetic potential of phenol-rich extracts from virgin olive oils by in vitro assays. *Food Res Int* 106:558–567.

- GHARSALLAOÛI, A., ROUDAUT, G., CHAMBÏN, O., VOÏLLEY, A. AND SAUREL, R. 2007. Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* (40), 1107–1121.
- GOY, R.C., DE BRITTO, D., ASSIS, O.B.G., (2000)“A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan”, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 19, 241-247, 2009.
- HAYES KC (1976) A review on the biological function of taurine. *Nutr Rew*, 34:161-165.
- HUXTABLE R.J., SEBRÏNG L.A. (1986) Towards a unifying theory for the actions of taurine. *TIPS* 198,481-485.
- J. HAFSAA, M.A. SMACHA, B. CHARFEDDÏNEA, K. LÏMEMA, H. MAJDOUB, S. (2016) Rouatbi, Antioxidant and antimicrobial proprieties of chitin and chitosan extracted from *Parapenaeus Longirostris* shrimp shell waste, *Annales Pharmaceutiques Françaises* Volume 74, Issue 1, January 2016, Pages 27-3.
- JAYAKUMAR, R., MENON, D., MANZOOR, K., NAIR, S.V., TAMURA, H.,(2010) “Biomedical Applications of Chitin and Chitosan Based Nanomaterials”, *Carbohydr. Polym.*, 82, 227-232, 2010.
- KONG, M., CHEN, X.G., XING, K., PARK, H.J., (2010) “Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A State of the Art Review”, *Int. J. Food Microbiol.*, 144, 51-63, 2010.
- KUMAR, M.N.V.R., (2000) “A Review of Chitin and Chitosan Applications”, *React. Funct. Polym.*, 46, 1-27, 2000.
- KURITA, K., (2006) “Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans”, *Marine Biotechnol.*, 8, 203-226, 2006.
- MADENE, A., JACQUOT, M., SCHER, J. AND DESOBRY, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *Int. J. Food Sci. Tech.* (41), 1–21.
- MUZZARELLIA, R.A.A., BOUDRANT, J., MEYER, D., MANNO, N., DEMARCHIS, M., PAOLETTI, M.G. ,(2012) “Current Views on Fungal Chitin/Chitosan, Human Chitinases, Food Preservation,

Glucans, Pectins and Inulin: A Tribute to Henri Braconnot, Precursor of the Carbohydrate Polymers Science, on the Chitin Bicentennial” *Carbohydrate Polymers*, 87, 995-1012, 2012.

NAFCHĪ AM, ALÍAS AK, MAHMUD S, Et Al.(2019) Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *J Food Eng.* 2012; 13(4): 511–519.

NO, H.K., KIM, S.H., LEE, S.H., PARK, N.Y., PRINYAWIWATKUL, W.(2006), “Stability and Antibacterial Activity of Chitosan Solutions Affected by Storage Temperature and Time”, *Carbohydr. Polym.*, 65, 174-178, 2006.

PRASHANTH, K.V.H., THARANATHAN, R.N. (2007), “Chitin/Chitosan: Modifications and Their Unlimited Application Potential”, *Trends Food Sci. Technol.*, 18: 117-131, 2007.

RABEA, E.I., BADAWEY, M.E.T., STEVENS, C.V., SMAGGHE, G., STEURBAUT, W. (2003), “Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action”, *Biomacromolecules*, 4, 1457-1465, 2003.

RAHUL VARMA AND SUGUMAR VASUDEVAN (2020) Extraction, Characterization, and Antimicrobial Activity of Chitosan from Horse Mussel *Modiolus modiolus*, *ACS Omega* 2020 5 (32), 20224-20230.

RAMA PULĪCHARLA, CAROLINE MARQUES, RATUL KUMAR DAS, TAREK ROUÏSSÍ, SATINDER KAUR BRAR, (2016) Encapsulation and release studies of strawberry polyphenols in biodegradable chitosan nanoformulation, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 88, July 2016, Pages 171-178.

REN L, YAN X, ZHOU J, Et Al.(2017) Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. *Int J Biol Macromol.* 2017; 105: 1636–1643.

SAWABE Y, TAGAMI T, YAMASAKI K, (2008) Determination of taurine in energy drinks by HPLC using a pre-column derivative. *J Health Sci* 54: 661-664.

- STURMAN J.A., (1988). Taurine in development. *Journal of Nutrition*; 118: 1169-1176.
- TRACHTMAN H., BARBOUR R., STURMAN J.A., FİNBERG L. (1988) Taurine and osmoregulation: taurine is a cerebral osmoprotective molecule in chronic hypernatremic dehydration. *Pediatr Res* 23,35-39.
- TRACHTMAN H., DEL PIZZO R., STURMAN J.A., HUXTABLE R.J., FİNBERG L. (1988). Taurine and osmoregulation. *AJDC* 142,1194-1198.
- TRACHTMAN H., FUTTERWEİT S., PIZZO R. (1992) Taurine and osmoregulation. IV. cerebral taurine transport is increased in rats with hypernatremic dehydration. *Pediatr Res* 32, 118-124.
- TRAYHURN P., VAN HEYNİNGEN R. (1973) Metabolism of aminoacids in the bovine lens. Their oxidation as a source of energy. *Biochem J* 136 (1), 67-75.
- VARMA A.J., DESHPANDEA, S.V., KENNEDY, J.F., (2004) “Metal Complexation by Chitosan and Its Derivatives: A Review”, *Carbohydr. Polym.*, 55, 77-93, 2004.
- XIE, W., XU, P., LIU, Q., (2001) “Antioxidant Activity of Water Soluble Chitosan Derivatives”, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 11, 1699-1701, 2001.
- YOKOYAMA T., LİN L., CHAKRAPANİ B., REDDY V.N. (1993) Hypertonic stress increases Na⁺ -K⁺ ATPase, taurine and myoinositol in human lens and retinal pigment epithelial cultures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34, 2512-2517.
- YOUNES, I., RINAUDO, M., (2015) “Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications”, *Mar. Drugs*, 13, 1133-1174, 2015.
- ZUIDAM, N.J. AND SHİMONİ, E., (2010). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food*

Processing (Chapter 2, pp. 3-29). Retrieved from DOI 10. 1007/ 978-1-4419-1008-0_1.

TEZLER

AMAGASE, H., AND NORMAN R. F., "A (2011) review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji)", *Food Res Int*, 44(7), 1702-1717, (2011).

ARNAULT, I., CHRISTIDES, J.P., MANDON, N., HAFFNER, T., KAHANE, R. AND AUGER, J. (2003). High-performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of Alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. *J. Chrom. A.* , 991, 69-75.

BAYTOP, T., (1994) Türkçe bitki adları sözlüğü, Tük dil kurumu yayınları” 578, Ankara, s.264, (1994).

BRUNO, G., “BACKGROUND & TRADITIONAL USE” GOJİ. (2009)”, Huntington College of Health Sciences, (2009).

COWAN, M.M., (1999): Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.

CUTLER, R.R. AND WILSON, P. 2004. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous, extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *British Journal of Biomedical Science*, 61(2), 1-4.

DONNO, D, CERUTTI, A.K., PRGOMET, I., MELLANO, M.G., BECCARO, G.L., (2015) “Foodomics for mulberry fruit (*Morus* spp.): analytical fingerprint as antioxidants’ and health properties’ determination tool”, *Food Res Int*, 69:179– 188, (2015).

DUAN, H., CHEN, Y., AND CHEN, G. (2010), “Far infrared-assisted extraction followed by capillary electrophoresis for the determination of bioactive constituents in the leaves of *Lycium barbarum* Linn”, *J Chromatogr*, 1217(27), 4511–4516. (2010).

- EBADİ, M., (2002) "Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine", CRC Press, New York, 237-239, (2002).
- EGEN- SCHWIND, C., ECKARD, R., JEKAT, F.W. AND WINTERHOFF, H. (1992). Pharmacokinetics of vinylthiins, transformation products of alliin. *Planta Medical*, 58, 128-133.
- IBERL, B., WINKLER, G., KNOBLOCH, K. 1990 b. Quantitative determination of alliin and alliinase from garlic by HPLC. *Planta Medical*, 56, 320-326.
- Jİ, J., WANG, G., WANG, J., AND WANG, P., (2009) "Functional analysis of multiple carotenogenic genes from *Lycium barbarum* and *Gentiana lutea* L. for their effects on beta carotene production in transgenic tobacco", *Biotechnology Letters*, 31(2), 305–312, (2009).
- KHANUM, F., ANILAKUMAR, K. R., VISWANATHAN, K. R., (2004). Anticarcinogenic properties of garlic: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 479–488.
- KİM, S.M., KUBOTA, K. AND KOBAYASHİ, A. 1997. Antioxidative activity of sulfurcontaining lezzet compounds in garlic. *Biosci. Biothec. Biochem.*, 61(9), 1482-1485.
- KOCYİĞİT, E, AND NEVİN Ş. (2017), "A review of composition and health effects of *Lycium barbarum*", *Int J Chin Med*, 1(1), 1-9, (2017).
- KYUNG, K.H., KİM, M.H., PARK, M.S. VE KİM, Y.S., 2002: Alliinase-independent inhibition of *Staphylococcus aureus* B33 by heated garlic. *Journal of Food Science*, 67: 780-785.
- LAWSON, L.D. AND HUGES, B.G. 1992. Characterization of the formation of alliin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Medical*, 58, 345-350.
- LAWSON, L.D., WANG, Z.-Y.J. AND PAPADİMİTRİOU, D. 2000. Alliin release under simulated gastrointestinal conditions from garlic powder tablets employed in clinical trials on serum cholesterol. *Planta Medical*, 67, 13-18.

- LEE, M.T., AND CHEN, B.H., (2002) “Stability of Lycopene during heating and illumination in a model system”, *Food Chem* 78, 425-432, (2002).
- MC ELNAY, J.C., VE PO, A.L.W., 1991: Garlic. *The Pharmaceutical Journal*, 246: 324-326.
- POTTERAT, O., “GOJÌ (2010). (*LYCIUM BARBARUM* AND *L. chinense*) phytochemisrtry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity”, *Planta Med*, 76, 7-19, (2010).
- TIAN, M., AND WANG, M.(2006), “Studies on extraction, isolation and composition of *Lycium barbarum* polysaccharides”, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* (China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy), 31(19), 1603–1607, (2006).
- TUNG, Y. AND CHUNG, W. 1989. Stability of allicin in garlic juice. *Journal of Food Science*, 54(4), 977-981.
- WANG, Y., CHEN, H., WU, M., ZENG, S., LIU, Y., AND DONG, J (2015)., “Chemical and genetic diversity of wolfberry. In *Lycium Barbarum* and Human Health, 1-26, (2015).
- WEI, Z. AND LAU, B.H.S. (1998). Garlic inhibits free radical generation and augments antioksidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutrition Research*, 18(1), 61-70.
- WU, J.N., (2005) “*Fructus Lycii/Barbary* wolfberry fruit in *An Illustrated Chinese material medica*” New York, New York: Oxford University Press. 402-403, (2005).
- YAMASAKI, T., LIN, L. AND LAU, B. H. S. 1994. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrojen peroxide-induced oxidant Injury. *Phytoteraphy Res.*, 8, 408-412.
- YARNELL, E. 1999. *Garlic (allium sativum)* . New Hope Institute of retailing and Bastry University.
- YEH, Y.Y. AND LIU, L. (2001). Cholesterol-lowing Effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animals studies. *Journal of Nutrition*, 131, 989S-993.

YILMAZ, G., VE KINAY, A., “GOJİ BERİ (2006) (Lycium barbarum L.) Fidesi Üretimine Farklı Ortamların Etkileri”, Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University, (2016).

YIN, M.C., HWANG, S.W. AND CHAN, K.C. 2002. Nonenzymatic antioxidant activity of flour organokükürt compounds derived from garlic. Agricultural and Food Chemistry, 50, 6143-6147.

ZHU, Y.P., “GOU Qİ Zİ. (1998) Chinese Materia Medica Chemistry”, Pharmacology and Applications, Amsterdam, Netherlands: Harwood Academic Publishers. 642–646, (1998).

ELEKTRONİK KAYNAKLAR

FROST & SULLIVAN (2005). Opportunities in the Microencapsulated Food Ingredients Market London. <http://www.frost.com/prod/servlet/report-brochure.pag?id=B716-01-00-00-00>.

ÖZGEÇMİŞ