

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARI SÜTÜ ENKAPSÜLASYONU

ENES EMRE ATA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2025**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Enes Emre ATA tarafından hazırlanan “**Arı Sütü Enkapsülasyonu**” adlı tez çalışması 27/01/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr.Üyesi Seda ÖZGEN

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr.Üyesi Seda ÖZGEN
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Zehra ÖZBAŞ
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr.Üyesi Seda BEKİN AÇAR
Polimer-Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı
Yalova Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ersoy YILMAZ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Arı Sütü Enkapsülasyonu**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (21/01/2025).

Enes Emre ATA



Bu alışma ankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından MF240223L07 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ARI SÜTÜ ENKAPSÜLASYONU

Enes Emre ATA

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr.Üyesi Seda ÖZGEN

İnsan beslenmesi ve sağlığı için oldukça önemli olan ve her geçen gün kullanımını artan arı sütü, hassas yapısı sebebi ile hasat edilir edilmez soğuk zincir koşullarında taşınmak ve depolanmak zorundadır. Bu çalışmada taze arı sütü ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak enkapsüle edilmiş arı sütü örnekleri, antioksidan, antimikrobiyal aktivite ve trans-10-hidroksi-2-dekanoik asit (10-HDA) miktarları açısından kıyaslanmış ve üretilen kapsüller FTIR, SEM ve optik mikroskop kullanılarak karakterize edilmiştir. Enkapsülasyonda sodyum aljinat, pektin ve ksantan gam biyopolimerleri kaplama maddesi olarak kullanılmıştır. Sodyum aljinat ve pektinin birlikte kullanıldığı kapsüllerde en iyi sonuçlara ulaşılmış ve çekirdek maddesini en iyi oranda hapsedtiği görülmüştür. %88,35 enkapsülasyon verimi, 1,77 mm ortalama partikül çapında ve %62,16 antioksidan aktivite değerine sahip kapsüller elde edilmiştir. Bu sonuçlar kalite için uluslararası bir standart olarak kabul edilen 10-HDA analizi de desteklemektedir. Saf arı sütünde bulunan %1,91 değerine en yakın sonuç, sodyum aljinat ve pektinin ile kaplanmış kapsüllerde %1,61 olarak elde edilmiştir. Ayrıca saf arı sütünün de kapsüllenmiş arı sütünün de *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği de tespit edilmiştir.

Sonuç olarak muhafaza edilmesi zor olan ve soğuk zincir ile ulaştırılması gereken bu kıymetli ürünün farklı bir yöntem ile biyokimyasal aktivitelerini de koruyarak muhafaza edilebileceği ve yeni bir ürün elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.

2025, 53 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Arı sütü, Enkapsülasyon, Biyopolimer, İyonik Jelasyon

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ENCAPSULATION OF ROYAL JELLY

Enes Emre ATA

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Advisor: Assist. Prof. Dr. Seda ÖZGEN

Royal jelly, which is very important for human nutrition and health and whose usage is increasing day by day, must be transported and stored under cold chain conditions as soon as it is harvested due to its sensitive structure. In this study, fresh royal jelly and royal jelly samples encapsulated using different coating materials were compared in terms of antioxidant, antimicrobial activity, and trans-10-hydroxy-2-decanoic acid (10-HDA) amounts and the produced capsules were characterized using FTIR, SEM and optical microscope. Sodium alginate, pectin and xanthan gum biopolymers were used as coating materials in encapsulation. The best results were achieved in capsules where sodium alginate and pectin were used together and it was seen that they trapped the core material at the best rate. Capsules with 88.35% encapsulation efficiency, 1.77 mm average particle diameter and 62.16% antioxidant activity value were obtained. These results also support 10-HDA analysis, which is accepted as an international standard for quality. The closest result to the 1.91% value found in pure royal jelly was obtained as 1.61% in capsules coated with sodium alginate and pectin. It was also determined that both pure royal jelly and encapsulated royal jelly exhibited antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*.

As a result, it was concluded that this valuable product, which is difficult to preserve and must be delivered with a cold chain, can be preserved with a different method while preserving its biochemical activities and a new product can be obtained.

2025, 53 pages

Keywords: Royal Jelly, Encapsulation, Biopolymer, Ionic gelation

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“Arı Sütü Enkapsülasyonu” adlı bu çalışma 2023-2025 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’ne “Yüksek Lisans Tezi” olarak sunulmuştur. Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN’e teşekkür ederim. Sayın Doç. Dr. Zehra ÖZBAŞ’a da laboratuvardaki yönlendirmelerinin yanısıra ayrıca FTIR ve SEM analizlerindeki yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen aileme de teşekkürlerimi sunarım.

Enes Emre ATA

Çankırı, Ocak 2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1 Arı Sütü Hakkında Genel Bilgiler	5
2.2 Fiziksel ve Kimyasal Yapısı.....	6
2.3 Piyasada Bulunan Ticari Formları ve Muhafaza Koşulları	7
2.4 Sağlık Üzerine Etkileri Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri	9
2.5 Enkapsülasyon Teknolojisi	11
2.5.1 Mikroenkapsülasyon	11
2.5.2 Enkapsülasyon teknikleri.....	12
2.6 Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Malzemeleri	14
2.6.1 Sodyum aljinat (Na-Alg), pektin ve ksantan gam (XG)	14
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1 Kullanılan Kimyasallar	20
3.2 İnvers Jelleşme Yöntemi ile Arı Sütü Çekirdekli Mikrokapsül Üretimi	20
3.3 Hazırlanan Kapsüllerin Karakterizasyonu	21
3.4 Enkapsülasyon Verimi.....	22
3.5 Enkapsülasyon Etkinliği.....	22
3.6 10-HDA Miktarı Tayini.....	23
3.7 Antibakteriyel Aktivite	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1 Kapsüllerin Karakterizasyonu	24
4.2 Kapsül Analiz Sonuçları.....	29

4.3 10-HDA Analizi	29
4.4 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	30
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
cm	Santimetre
Da	Dalton
dak	Dakika
g	Gram
K ₂ S ₂ O ₈	Potasyum persülfat
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
rpm	Devir/dakika
sa	Saat
v/v	Hacim/hacim oranı

KISALTMALAR DİZİNİ

10-HDA	10 hidroksi-2 dekanoik asit
ABTS	2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ATR	Azaltılmış toplam yansıma
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FTIR	Fourier dönüşümlü infrared
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Na-Alg	Sodyum aljinat
Na-K	Sodyum aljinat arı sütü kapsül
NaP-K	Sodyum aljinat-pektin arı sütü kapsül
NaPX-K	Sodyum aljinat-pektin-ksantan gam arı sütü kapsül
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TS	Türk standardı
UV-Visible	Ultraviyole-Görünür bölge
XG	Ksanthan gam

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Arı sütü (Korkmaz ve Öztürk 2010)	6
Şekil 1.2 Yerel piyasada yer alan ticari arı sütü formları (Clarke and McDonald 2017) .	8
Şekil 1.3 Alg-kalsiyum jeli için "yumurta-kafes" modelinin gösterimi (Fu <i>et al.</i> 2011)	16
Şekil 4.1 Na-K kapsülüne ait FTIR spektrumu	25
Şekil 4.2 NaP-K kapsülüne ait FTIR spektrumu.....	25
Şekil 4.3 NaPX-K kapsülüne ait FTIR spektrumu	26
Şekil 4.4 Arı sütüne ait FTIR spektrumu	26
Şekil 4.5 Na-K (A), NaP-K (B) ve NaPX-K (C) kapsüllerine ait optik mikroskop görüntüleri	27
Şekil 4.6 Na-K (A), NaP-K (B) ve NaPX-K (C) kapsüllerine ait SEM görüntüleri	28
Şekil 4.7 Saf arı sütü (A), Na-K (B), NaP-K (C) ve NaPX-K (D) kapsüllerine ait antibakteriyel aktivite test sonuçları.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Enkapsülasyon için kullanılan kaplama materyalleri ve CaCl_2 miktarları ..	30
Çizelge 4.1 Kapsüllerin enkapsülasyon verimi, partikül çapı antioksidan aktivite sonuçları	38
Çizelge 4.2 10- HDA analiz sonuçları	39
Çizelge 4.3 Antibakteriyel aktivite testi sonucu elde edilen zon çapları	39



1. GİRİŞ

Son zamanlarda çeşitli hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için doğal ürünlerin araştırılması önem kazanmıştır. Arılar, yüzyıllardır farklı medeniyetler tarafından çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılan bal, propolis, arı sütü, arı poleni, balmumu ve arı zehri gibi biyoaktif bileşenler içeren çok sayıda ürün üretir. Günümüzde arıcılık, az sermaye ve kaynağa sahip aileler için de gelir kaynağı oluşturan tarımsal faaliyetlerden birisi olmuş ve çeşitli devletler ve kurumlar tarafından da desteklenmeye başlamıştır.

Arıcılığın ilk belgelenmesi, insanların kendi arılarını yetiştirmeye, arıların yaşayabileceği ve ürünlerini üretebileceği yapay boşluklar tasarlamaya başlamasıyla başlamıştır. Bal, polen ve arı larvaları arılardan alınan besinlerin ilk parçalarıdır. İlkel insanlar kovan aramayı öğrendiler ve arı sokmaları nedeniyle arı tedavisi gören ilk kişiler olmuşlardır (Weis *et al.* 2022).

Son yıllarda, insan sağlığına fayda sağlayan biyoaktif bileşenler açısından zengin gıdalara yönelik tüketici talepleri arttıkça, bal ve diğer arı ürünlerine olan ilgi de artmıştır. Biyolojik olarak aktif bileşikler açısından zengin olan arı poleni, arı zehri, propolis ve arı sütü gibi bal haricindeki diğer arıcılık ürünleri de oldukça büyük ilgi görmüş ve ayrıca giderek artan büyük bir pazar oluşturmuştur. İnsanlık tarihi boyunca, birçok bilimsel araştırma arı sütü, propolis, balmumu ve arı poleni, gibi arıcılık ürünlerinin farmakolojik, biyokimyasal ve terapötik özellikleri üzerine yoğunlaşmış, bu nedenle de bu ürünlerin diyet takviyeleri, fonksiyonel gıdalar, kozmetikler ve geleneksel tıpta kullanımı yaygınlaşmıştır (Park *et al.* 2020, Pasupuleti *et al.* 2017).

Apiterapi, hastalıkları önlemek veya ilerlemelerini kontrol etmek için arılar veya arı ürünlerinin terapötik/profilaktik ajan olarak kullanılmasıyla yapılan tedavi şeklidir. Günümüzde apiterapi, birçok ülkede tamamlayıcı ve bütünleştirici tıbbın bir parçasıdır. Ayrıca, besin maddeleri ile karıştırılarak arı ürünlerinin nutrasötik ve diyet takviyeleri olarak tüketim bilinci de artmıştır. Arı ürünlerinin biyolojik ve farmakolojik aktivitesi üzerine yapılan araştırmalar son yıllarda artmış ve çok sayıda biyolojik özellik ortaya çıkmıştır. İn vitro ve in vivo çalışmalar ile klinik deneyler, arı ürünlerinin çeşitli

hastalıkları tedavi etmek ve sağlık dengesi ve homeostazis için kullanılabileceğini göstermiştir Ayrıca arıcılık ürünleri gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisi tarafından da yeni etken madde ve ilaç arayışlarında sürekli olarak kullanılmaktadır (Basa *et al.* 2016). Apiterapi birçok ülkede uygulanmaktadır ve Türkiye yalnızca arılar için kaynakların çeşitliliğiyle değil, aynı zamanda arı ürünleri üzerine yaptığı araştırmalarla da öne çıkmaktadır. Uzun yıllardır eczacılık gıda ve tamamlayıcı tıp literatüründe apiterapi ile ilgili çalışmalar yüksek etki değerli dergilerde yer bulmaktadır. Yayın sayıları ve apiterapi uygulamalarında in, Brezilya, ABD, Japonya, Türkiye, İsviçre ve Bulgaristan en üretken ülkeler arasında yer almaktadır (Weis *et al.* 2022).

Antik zamanlardan beri bilinen ve kullanılan apitherapi ürünlerinden birisi olan arı sütü de son zamanlarda dikkat çekerek bu arzdan gereken payı almaya başlamıştır.

İşçi arılar bünyesinde, beş ile on beş gün arasındaki dönemde salgılanan, ge larva dönemindeki yavru arılar ve kraliçe arı için besin kaynağı olan arı sütü krem kıvamında, sarı-beyaz renkte ve keskin bir kokuya sahip, besleyici bir üründür. Ülkemizde "arı sütü" olarak adlandırılrsa da dünya genelinde "Royal Jelly" yani kraliyet jölesi olarak bilinmektedir. Kraliçe arının morfolojik değişiminde önemli bir rol oynayan Royalactin adlı ana bileşiği içeren bu "Royal Jelly", sadece kraliçe arılar tarafından tüketildiği için "süper besin" olarak da tanımlanmaktadır (Cinar *et al.* 2021).

Arı sütü, besin değerinin yanısıra biyoaktif bileşiklerin zenginliği bakımından da göz önüne alındığında, arı sütü, antioksidan, anti-inflamatuar, nörotrofik, hipotansif, antidiyabetik, antiromatizmal, antikarsinojenik, yorgunluk karşıtı, yaşlanma karşıtı ve antimikrobiyal aktiviteler dahil olmak üzere apiterapide bol miktarda sağlık üzerine etki göstermektedir (Xue *et al.* 2017). Araştırıcılar arı sütünün yara iyileşmesi ve doku onarımı, osteoporoz, bir immünomodülatör ajan olarak, hormonları düzenleme, bilişsel işlevi iyileştirme ve lipid seviyelerini azaltma konusunda etkili olduğunu bildirmiştir. Ayrıca diyabet, hipertansiyon, kanser, cilt hastalıkları, hiperlipidemi ve Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisine de katkı sağladığı belirtilmektedir (Pavel *et al.* 2011, Viuda-Martos *et al.* 2008).

Ülkemizde ise arı sütünün en yoğun üretimi yapılan il Bursadır. Arıcılığın nispeten yaygın bi şekilde ve ek iş olarak yapıldığı ülkemizde bu üretim işlemi özenli bir şekilde yapılmasına rağmen elde edilen kıymetli besinin muhafaza edlmesinde, pazarlamasında ve ticarileştirilmesinde ki aksaklıklar yerel piyasaya ithal ürünlerin girerek güç sahibi olmasına sebep olmuştur.

Arı sütü ticari olarak temin edilebilen doğal bir ilaç olarak yaygın bir şekilde tanıtılmaktadır, ancak depolama ve taşıma sırasında biyolojik aktivitenin sürdürülmesi üretim ve pazarlamadaki temel zorluktur. Ticari bir ürün olarak arı sütü son derece hassastır ve uygunsuz üretim, taşıma ve depolama koşullarından oldukça hızlı bir şekilde etkilenmeye hazırdır. Soğuk zincir, bozulabilir yapısı nedeniyle ürünün korunması için bir zorunluluktur ve bu ön koşul soğuk zincir kırılması riskini beraberinde getirir. Son zamanlarda, liyofilizasyon işlemi soğuk zincir bağımlılığının ortadan kaldırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak liyofilize ürün son derece higroskopiktir ve nemden korunması gerekir. Liyofilize formülasyonlar biyolojik aktivite ve stabiliteyi sürdürme gibi birden fazla avantaj sunar, ancak pahalı ekipman ve yüksek üretim maliyetleri gibi önemli dezavantajlara da sahiptir Mikroenkapsülasyonun bu noktada liyofilizasyona iyi bir alternatif olduğu düşünülmekte ve ticari ürünler üretmek için umut vadeden tekniklerden biri olarak görülmektedir (Kumova ve Korkmaz 2000, Sabatini *et al.* 2009).

Mikroenkapsülasyon teknolojisi aktif bir bileşenin hassas maddelerin çevresel faktörlere karşı stabilitesini ve korunmasını sağlamak için hedef malzemeleri küçük kapsüller halinde paketleme yöntemidir. Kontrollü salınımla bileşenlerin biyoyararlanımını iyileştirir ve ürünlerin gıda bileşenleri olarak uygulama aralığını genişletir. Mikrokapsülleme, uzun yıllardır ilaçlar, tekstiller ve kozmetikler dahil olmak üzere birçok endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda gıda endüstrisinde de uygulanmaya başlanmış ve son derece tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir. Birçok çalışma, mikrokapsüllemenin yüksek sıcaklık ve oksijen varlığına rağmen gıda işleme ve depolama sırasında biyolojik olarak aktif bileşiklerin kararlılığını koruduğunu göstermiştir (Koç *et al.* 2010, Ulubayram and Cinar 2023).

Arı sütünün enkapsüle edildiği ve biyolojik ve antimikrobiyal etkinliğine ilişkin literatürde çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Sunulan çalışmada taze ve farklı kaplama materyalleri kullanılarak enkapsüle edilmiş arı sütü örnekleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite açısından kıyaslanarak ve üretilen kapsüller karakterize edilmiştir.

Arı sütü taze olarak temin edilmiş ve antibakteriyel aktivitesi incelenerek literatüre katkıda bulunulmuş bunun yanısıra, arı sütünün farklı ve yeni bir teknolojik yöntem kullanılarak işlendikten sonraki durumu değerlendirilmiştir. Derin dondurucu koşullarında muhafaza edilen ve soğuk zincir ile ulaştırılması gereken bu kıymetli ürünün farklı muhafaza yöntemleri ile depolama süresinin artırılması ve bu durumdaki biyolojik aktiviteleri ve özellikleri üzerine fikir yürütülmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Arı Sütü Hakkında Genel Bilgiler

İşçi arılar, hipofarenks ve mandibular bezleri aracılığıyla arı sütü üretirler. Arı sütü, beyazımsı ila sarı renkte ve asidik bir tada sahip sütlü yapışkan ve viskoz bir maddedir. Karmaşık bileşimi proteinler, yağ asitleri, şekerler ve mineraller içerir ve biyoaktif bileşenler yönünden oldukça zengindir. Arı sütü, larvaların diyetinde kısa bir süre ve kraliçenin tüm yaşamı boyunca kullanılır. Erkek arının, işçi arının ve koloniyi oluşturan ana arının larva döneminde aldığı arı sütü bileşimlerinin ve içeriklerinin farklı olduğu belirtilmektedir. Aynı diploid genomdan gelmesine rağmen, kraliçe arı diğer arılardan iki kat daha büyüktür, üreme için özel bir anatomiye sahiptir. Ana kraliçe arının arı sütü ile beslenmesi sonucunda yaklaşık 4-5 yıllık bir yaşama süresi ve bu süre boyunca üreme yetisine de sahip olduğu, üstelik dış etmenlere karşı da yüksek direnç gösterdiği bilinmektedir (Kösoğlu *et al.* 2013). Arı sütünün ana arıya kattığı bu fizyolojik üstünlüklerin ve ekstra dayanıklılığın arı sütü bileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tüm bu gerçekler, arı sütünün sağlık ve uzun ömürlülüğü desteklediğini göstermektedir; ayrıca, doğurganlığı ve vücut kompozisyonunu iyileştiren yaşlanma karşıtı bir nutrasötik olarak kabul edilir (Wang *et al.* 2016).

Arı sütü, yoğun protein içeriği, biyoaktif bileşenleri ve yağ asitleri nedeniyle oldukça besleyicidir, bağışıklığı destekler ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır. Tedavi amaçlı kullanımı eski çağlarda başlamıştır (Fratini *et al.* 2016). Arı sütü tüketimi ve insanlar üzerindeki fizyolojik etkileri ve buradaki sebep sonuç ilişkisi tam olarak aydınlatılamamış olsa da fonksiyonel gıda ve nutrasötik bileşen pazarında insan sağlığını desteklemek ve korumak için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Arı sütü üretimi ve tüketimi, son zamanlarda besin takviyesi olarak gıdalara ve alternatif tedavi şekillerine olan ilginin bir sonucu olarak artmıştır. Uluslararası olarak bal dışındaki apiterapik ticari ürünler için standart bir yönetmelik olmamasına rağmen, ülkelerin kendi standartları olduğu ve uluslararasılaşma anlamında yavaş yavaş çalışmaların arttığı bilinmektedir. Türkiye’de de TS 6666 numaralı arı sütü standardı

yürürlüğe girmiştir. Yayınlanan bu standardın genişletilmesi, arı sütünün tazeliği, coğrafik kökeni kompozisyonu ve saflığı hakkındaki verilerin güvenilirliğini garanti etmek için oldukça önemlidir. Arı sütü; beyaza yakın açık krem-kemik renginde, krem, pelte-jöle benzeri kıvamda, oldukça mayhoş bir tada ve keskince kokuya sahip olan bir salgıdır Şekil 1.1’de verilmektedir (Korkmaz ve Öztürk 2010). Ülkemizde arı sütünün üretimi ve ardından hasat edilmesi Nisan ayı başlarında başlayıp sezon Ağustos ayı içinde sonlanmaktadır.



Şekil 2.1 Arı sütü (Korkmaz ve Öztürk 2010)

2.2 Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Kraliçe ve yavru ve arıları beslemek ve büyütmek için gerekli tüm besinleri içeren keskin koku ve tada sahip, sarımsı beyaz, asidik, sütlü ve yapışkan bir salgıdır. Yaklaşık $1,1 \text{ g/cm}^3$ yoğunluğa sahiptir ve suda kısmen çözünür (Akyol 2015). Havayla okside olabilir ve ışık ve ısıya karşı duyarlıdır. Depolama koşulları uygun değilse, renk, viskozite, asitlik ve diğer fiziksel ve organoleptik özellikler değişir. Arı sütünün bileşimi makro düzeyde oldukça sabit olsa da arı türleri, beslenme şekilleri, iklim

koşulları ve mevsim değişiklikleri ile arı sütünün üretim ve hasat yöntemlerine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Mureşan *et al.* 2016).

Arı sütü beyaz ve viskoz bir maddedir ve kimyasal bileşimi yaklaşık %60 su, %20-40 protein, %15-30 karbonhidrat, %3-8 lipit, %1,5-3 mineral ve vitaminlerden oluşur. Arı sütünün lipid içeriği ve kendine has yağ asitleri, ürünün biyolojik yararlanımında önemli bir rol oynamaktadır (Pavel *et al.* 2011). Arı sütü, immünomodülatör etki gösteren 10 -hidroksi-trans-2-dekenoik asit (10-HDA; “arı sütü asidi”) dahil olmak üzere çok sayıda biyoaktif madde içerir. 10-HDA, arı sütüne özgü bir serbest yağ asididir ve biyolojik aktivitesinin yanı sıra saflık ve kalite kriterlerinin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak öne çıkmaktadır (Mureşan *et al.* 2016). Royalactin, larvadan kraliçeye morfolojik değişimde rol oynayan ve birçok çalışmanın hedefi olan arı sütünün işlevsel bir bileşenidir. Kromatin erişilebilirliğini düzenleyerek çok yönlü bir gen ağının aktivatörü olarak görev yapar (Weis *et al.* 2022, Bărnuțiu *et al.* 2011). Arı sütü, başta B grubu vitaminleri ve potasyum olmak üzere, sırasıyla kalsiyum, sodyum, magnezyum, çinko, demir, bakır ve manganez minerallerini içermektedir (Sabatini *et al.* 2009).

2.3 Piyasada Bulunan Ticari Formları ve Muhafaza Koşulları

Arı sütü, beslenme destek ürünü olarak çeşitli şekillerde tüketilmektedir. Taze ve dondurulmuş olarak doğrudan tüketimin yanı sıra, farklı ürünlerle karışım oluşturularak, dondurularak liyofilize edilmiş toz, flakon ve kapsül formları da mevcuttur (Şekil 1.2). Sağlıklı bir yetişkinin günlük taze arı sütü tüketim miktarı 100 ila 250 mg aralığında olması önerilmektedir. Ticari ürünler, bu önerilen miktara uygun dozlarda hazırlanır.



Şekil 2.2 Yerel piyasada yer alan ticari arı sütü formları (Clarke and McDonald 2017)

Arı sütü, gıda takviyesi olarak tüketilmesinin yanı sıra, özellikle kozmetik ürünler arasında ilaç benzeri ürünler kategorisinde de yaygın bir şekilde yer almaktadır. İlaç benzeri ürünler, içerik açısından gıda takviyeleriyle benzerlik gösterse de üretim ve paketlenme aşamalarında yüksek teknoloji kullanımı ve belirli sağlık sorunlarına yönelik özel çözümler sunma amacıyla gıda desteklerinden ayrılmaktadır. Arı sütünün ilaç benzeri bir ürün olarak kullanımı, bilimsel bir temele dayanmadığı ve uzman hekim tarafından onaylanmadığı müddetçe tedavi amaçlı olarak değerlendirilmemelidir (Ordu 2019).

İnsan beslenmesi ve sağlığı açısından önemli bileşenler barındıran arı sütü, stabil olmayan çabuk bozulan bir yapıya sahiptir ve üretim ile saklama koşullarındaki uygunsuzluklara karşı son derece duyarlıdır. Hasat tarihinden itibaren buzdolabında 6 ay, -18°C 'de ise 18 ay boyunca saklanabileceği konusunda görüşler mevcuttur (Ordu 2019).

Araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, arı sütünün -40°C 'de, $+5^{\circ}\text{C}$ 'de ve oda sıcaklığında saklanması durumunda, sıcaklık ve depolama süresinin artmasıyla birlikte renginde koyulaşma, kıvamında ve asitliğinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca, arı sütünün antimikrobiyal aktivitesine katkıda bulunduğu düşünülen Temel Arı Sütü Proteinlerinin, oda sıcaklığında 30 gün içinde hidrolize olmaya başladığı ve 75 günde tamamen kaybolduğu belirtilerek, protein içeriğinin sıcaklık değişimlerinden etkilendiği vurgulanmıştır (Zhao *et al.* 2013).

Çeşitli sıcaklıklarda 6 ay boyunca depolanan arı sütü örneklerinde, glukooksidaz enziminin -20°C 'de aktif olduğu, ancak $+4^{\circ}\text{C}$ ve oda sıcaklığı koşullarında saklanan örneklerde bulunmadığı ifade edilmiştir (Zhao *et al.* 2013). Arı sütünün biyolojik aktivitesinin uzun süreli depolama sırasında, asitlik, protein içeriği, serbest amino asitler, glukozoksidaz gibi bileşenlerin azalmasıyla depolama koşullarından etkilendiği belirtilmiştir (Ordu 2019).

Ürünlerde depolama sürecinde meydana gelen değişikliklerin minimum boyuta taşınabilmesi için farklı yöntemler uygulanmaktadır. Dondurma ve soğuk zincirde saklama, en çok kullanılan yöntemlerden biridir; ancak bu yöntem, soğuk zincirin kırılma riskini taşımaktadır. Bu nedenle, ticari ürünlerde genellikle dondurarak kurutulan arı sütü tercih edilmektedir. Ancak, liyofilize arı sütünün yüksek üretim maliyetleri ve saklama zorlukları göz önüne alındığında, kapsüllenmiş arı sütünün liyofilize edilen ürünlere iyi bir alternatif olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

2.4 Sağlık Üzerine Etkileri Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri

Arı sütü, antik dönemlerden günümüze kadar pek çok alternatif tamamlayıcı tıp uygulamasında yer almıştır. Biyokimyasal özelliklerinin keşfi ve bu özelliklerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin yapılan araştırmalarla kanıtlanması, son yıllarda popülerliğini ve tüketimini artırmıştır. Günümüzde sağlıklı yaşam ve koruyucu tıp anlayışının benimsenmesiyle birlikte, arı sütünün biyolojik faydaları ve sağlık üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır (Fratini *et al.* 2016, Zhang *et al.* 2017). Ayrıca, antioksidan etkisi sayesinde oksidatif stresi azalttığı ve *in-vitro-vivo* denemelerde DNA hasarını önlemeye yardımcı olduğu belirtilmiştir (Teixeira *et al.* 2017, Almeer *et al.* 2018). İçeriğindeki 10-HDA sayesinde arı sütünün, beyin hücrelerinin oluşumunu teşvik ederek desteklediği ve nöron oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Ayrıca, insülin benzeri peptitler içermesi nedeniyle kan şekeri seviyelerini düşürdüğü, içerdiği proteinlerin kolesterol ve trigliserit düzeylerini azalttığı belirlenmiştir (Guo *et al.* 2008).

Arı sütünün, açık olan yaraların tedavi edilmesinde, yaranın iyileşme yeteneğini inflamasyon bölgesindeki sıvı birikimini azaltarak artırdığı ve kolajen gibi doku yenileyici bileşenlerin oluşumunu destekleyerek yaraların daha hızlı kapanmasına yardımcı olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, kadınlarda hormonal dengenin sağlanması erkeklerde ise sperm kalitesini iyileştirmede etkili olduğu bildirilmiştir (Ahmed *et al.* 2018, Ghanbari *et al.* 2018). Arı sütünün antimikrobiyal etkisi, bilimsel olarak ilk kez Melampy ve Jones tarafından 1939 yılında ortaya konmuştur. Takip eden yıllarda, arı sütünün Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmaların ardından, arı sütünün çeşitli ekstraktları ve izole edilebilen bileşenlerinin antimikrobiyal etkileri üzerine yapılan araştırmalar da gerçekleştirilmiştir (Ordu 2019).

Arı sütünün yağ ve protein bileşenlerinin çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edildiği ve antimikrobiyal aktivite açısından karşılaştırıldığı araştırmalarda, taze arı sütünün daha geniş bir antimikrobiyal etki spektrumu sunduğu belirtilmiştir. Ayrıca, suda çözünür arı sütü fraksiyonunun proteinler ve peptitler bakımından zengin olduğu ve Gram pozitif bakterilere karşı güçlü bir inhibisyon etkisi gösterdiği ifade edilmiştir (Bíliková *et al.* 2001).

Arı sütüne has bir yağ asidi olan 10-HDA'nın *Escherichia coli* ve *Micrococcus pyogenes* üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırılmıştır (Blum *et al.* 1959). Arı sütünde yer alan royalisinin, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* türü Gram+ bakteriler üzerine 1 µM dan düşük konsantrasyonlarda dahi antibakteriyel etki gösterdiği ifade edilmiştir. Ratanavalachai ve Wongchai (2002) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, lipid fraksiyonunun incelendiği ve arı sütünün Gram negatif bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, buna karşın lipid dışı fraksiyonlarda benzer bir etkinin gözlemlenmediği ifade edilmiştir (Ordu 2019). Sonuçta hem gıda patojenleri hem de bozulma bakterileri için çok geniş bir yelpazede antibakteriyel, bakteriyostatik, bakterisidal, antifungal, antiviral, antiradikal, antioksidan, antiinflamatuvar, hepatoprotektif ve antitümör aktivite sergilerler ve bu ürünlerle birçok hastalık önlenebilir ve tedavi edilebilir.

2.5 Enkapsülasyon Teknolojisi

Kapsülleme, sıvı damlacıkları, katı parçacıkları veya gaz halindeki bileşikler gıda saflığında kaplama veya duvar malzemesi olarak da adlandırılan homojen ince katmanlara yerleştirme yöntemidir. Ayrıca olumsuz çevre koşullarına karşı duyarlı olan aktif bileşenler için koruyucu görevi yapar. İşlem, aktif bileşenlerin bir matris veya membrana hapsedilmesini içerir; aktif bileşen "çekirdek" "öz" ve çevreleyen malzeme "duvar", "kabuk" veya "kapsülleyici" olarak adlandırılır. Enkapsülasyon teknolojisi besin destekleri ve takviyeler, fonksiyonel gıda sektörü, eczacılık, kimya, tıp ve veterinerlik gibi alanlarda kullanım alanı bularak yaygınlaşmıştır (Imam Harun 2023).

2.5.1 Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon, 100 yıla yakın bir süredir gıda bileşenlerinin raf ömrünü ve stabilitesini artırmak için kullanılan tekniklerden biridir. Biyoaktif bir bileşiğin bir biyopolimerle kapsüllenmesiyle oksijen, ışık, su veya diğer çevresel koşullardan korunduğu bir teknik olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli gıdalardan ya da bitkisel kaynaklardan elde edilen ve katma değeri yüksek bileşiklerin belirli koşullar altında salınabileceği bileşikler depolamak ve kontrollü salımını sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır (Imam Harun 2023).

Mikrokapsüller, sıvı damlacıklar, katı parçacıklar veya gaz halindeki bileşiklerde kapsüllenmiş aktif bileşenlerden oluşur ve kullanılan mikrokapsülleme tekniğine bağlı olarak boyutları 1 ila 1000 µm arasında değişir. Parçacıkların duvar malzemeleriyle sarılmış halinin mikrometre boyutundaki şekli mikroenkapsülleme olarak nitelendirilir (Imam Harun 2023).

Mikroenkapsülasyonda farklı kapsülleme çeşitleri mevcuttur ve bunlar kaplanmış matris (polinükleer kapsül), rezervuar (mononükleer kapsül) ve matris kapsül şeklinde kapsüllemelerdir. Rezervuar tipi veya mononükleer kapsülde çekirdek biyoaktif malzemeyi saran mevcut bir tabaka gözlemlenirken, matris tipinde çekirdek malzeme ve

duvar malzemesini içeren sistem içinde homojen bir dağılım vardır. Kaplanmış matris polinükleer kapsül olarak da bilinir, bu kapsül tipinde biyoaktif çekirdek malzeme çok katmanlı bir kapsülle çevrelenmiştir (Zuidam and Nedovic 2010).

Gıda endüstrisinde, kapsülleme teknolojisi biyoaktif bileşenleri çevreleyerek; serbest radikaller, ışık, oksijen ve nem gibi olumsuz çevresel unsurlardan koruyarak raf ömürlerini artırmak için sıklıkla kullanılır. Bu teknoloji, gıda bileşenlerinin kapsüllenmiş olarak ve toz haline getirilmesiyle, sıvıların taşınmasında ve bozulması gibi alanlarda avantaj sağlar (Jafari *et al.* 2008).

Yöntem, aktif bileşenin belirli bir yerde, zamanda ve belirli bir oranda salındığı kontrollü bir bileşen salınımı üretmek için kullanılır ve gıda endüstrilerinde bu durum yaygın olarak kullanılır. Kapsülleme, kontrollü salınım tekniklerini sıcaklık, pH duyarlı katkı maddeleri veya ısı ile entegre ederek çeşitli gıda sistemlerinde de kullanılabilir.

Mikrokapsüllenmiş partiküllerin temel amacı, raf ömrünü artırmak, işlevsel niteliklerini geliştirmek ve aktif bileşeni diğer çevresel olumsuzluklardan korumaktır. Bu işlemde biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir kaplama malzemelerinin kullanılması, doğal bileşenlerin maksimum kararlılığı ve gecikmeli salınımı gıda işleme endüstrisi için son derece önemlidir (Mehta *et al.* 2022).

Kapsüllenmiş gıda maddeleri, kapsüllenmemiş benzerleriyle karşılaştırıldığında, kapsüllenmiş ürünlerin sunduğu avantajlar arasında yüksek stabilite, maliyet etkinliği, daha uzun raf ömrü ve sağlık üzerine ekstra olumlu etkiler yer almaktadır.

2.5.2 Enkapsülasyon teknikleri

Koaservasyon, ekstrüzyon, lipozom tutuklaması, moleküler inklüzyon, rotasyonel süspansiyon ayırımı, eş-kristalizasyon, liyofilizasyon, santrifüjlü ekstrüzyon ve emülsifikasyon, gıda sektöründe kapsülleme için kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. Çekirdek malzemenin bileşimi, üretim ölçeği, malzemenin fiziksel ve kimyasal

özellikleri, istenen salım mekanizması, amaçlanan parçacık boyutu ve ekonomik hususlar, bu yaklaşımları seçmek için kullanılan kriterlerden bazılarıdır (Imam Harun 2023).

Kullanılan kapsülleme prosedürü çeşitli fiziksel yapılara (küreler, düzensiz parçacıklar, filmler, amorf veya kristal susuz katı, kauçuk veya camsı matris), gözenekli veya kompakt yapılara ve kapsülleme matrislerinde şekil değişikliklerine yol açabilir. Atmosfer ve kimyasalların (oksijen, çözücüler) difüzyonu çekirdek malzemenin kararlılığı üzerinde etkilidir. Gıda sektöründe en etkili ve yaygın olarak kullanılan kapsülleme yöntemi püskürtmeli kurutmadır. Püskürtmeli kurutma istenmeyen duyu nitelikleri önlemek, biyoaktiviteyi artırmak ve toz halinde bir ürün üretmek için yaygın bir kapsülleme tekniğidir (Jafari *et al.* 2008, Imam Harun 2023).

İyonik Jelasyon Yöntemi

İyonotropik jelleşme, hidrokolloid (aljinat, karragenan ve pektin gibi) zincirlerinin iyonlarla çapraz bağlanmasını içerir. Bu yöntemin iyi bilinen bir örneği, kalsiyum klorür (CaCl_2) içeren bir banyoya sulu bir aljinat çözeltisi damlatılarak çözünmeyen kalsiyum-aljinat oluşturulmasıyla aljinat boncuklarının oluşturulmasıdır (Davarcı *et al.* 2017).

İyonik jelasyon yönteminde, polimer içeren çözelti enjektör, pipet, titreşimli enjektör veya püskürtmeli enjektör gibi ekipmanlardan jelleştirme çözeltisi içerisine damlatılarak küresel boncuklar halinde belirli hızda aktarılmaktadır. Jeli oluşması sırasında, kalsiyum iyonları ile sodyum iyonları yer değiştirdiğinde aktif maddeyi çevreleyen ve suda çözünmeyen Ca-aljinat boncukları meydana gelmektedir. Kullanılan teknik ne olursa olsun (termal veya iyonotropik jelleşme), jel parçacıkları genellikle damlacık oluşumu ve sertleştirme adımlarını içeren iki aşamalı bir prosedürde üretilir. Damlacık oluşumu adımı, ortaya çıkan jel parçacıklarının ortalama boyutunu ve boyut dağılımını belirler. Damlacık oluşumunda kullanılan ana prosedürler damlacık ekstrüzyonu (damlatma), püskürtme ve emülsifikasyondur. Jel oluşumu yöntemleri arasında emülsifikasyon teknikleri ve çekirdek polimerin koaservasyon için polimer veya çapraz bağlayıcı madde içeren bir çözeltiye damlatıldığı damlatma yöntemleri yer alır. Mono-dağılım ve

küresel kalsiyum-aljinat boncukları üretmenin en klasik ve popüler yolu damlatma tekniklerini kullanmaktır. Basit damlatma yönteminde, aljinat çözeltisi belirli bir hacimsel oranda bir kılcal bir yoldan ekstrüde edilir ve yerçekimi altında damla damla damlatılmasına izin verilir. Polimer damlacıklarının boyutu, ekstrüde polimer çözeltisinin bir titreşim cihazı veya bir kesme cihazı ile parçalanması veya nozul çapının değiştirilmesiyle de azaltılabilir (Davarcı *et al.* 2017).

2.6 Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Malzemeleri

Katıların, sıvıların veya gazların farklı türlerini, kökenlerini ve özelliklerini kapsüllemek için kullanılabilecek önemli sayıda kaplama maddeleri mevcuttur. Dahası, bu konuda yeni türler ve potansiyel kapsülleme malzemeleri kaynakları bulmak için birçok çalışma yapılmaya devam edilmektedir. Enkapsülasyon işleminin sürecinin ilk ve en önemli adımı, aktif maddeye uygun bir kaplama materyalinin (kapsül) seçilmesidir. Gıda ürünleri veya işlemlerinde kullanılacak kapsüllerin duvar malzemesi gıda saflığında olmalıdır. Ancak, bu malzemelerin yalnızca sınırlı sayıdaki kısmı gıda uygulamaları için "genel olarak güvenli olarak tanınan" (GRAS) malzemeler olarak sertifikalandırılmıştır. Kaplama veya duvar malzemeleri olarak kullanılabilen film oluşturma özelliğine sahip şekerler, doğal ve değiştirilmiş polisakkaritler, proteinler, zamlar, yağlar ve sentetik polimerler bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, pektin, nişasta, agar, jelatin ve kappa-karragenan gibi biyopolimerler de tercih edilebilir (Davarcı *et al.* 2017).

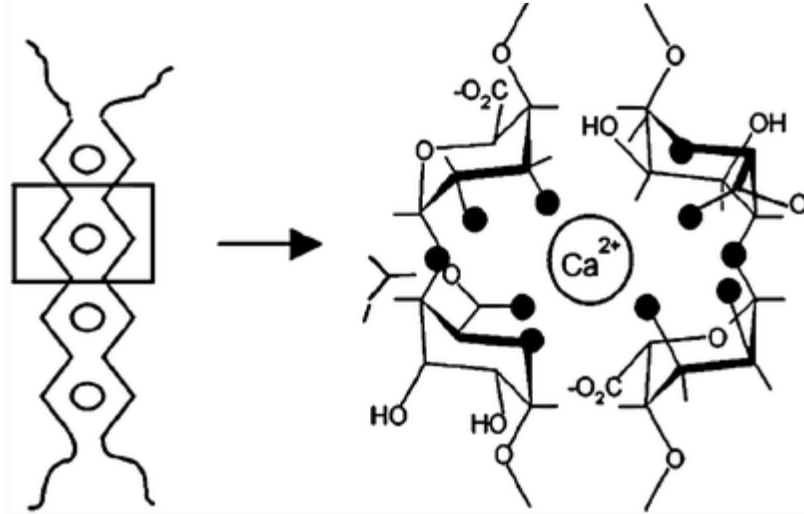
Yapılan tez çalışmasında sodyum aljinat (Na-Alg), pektin ve ksantan gam (XG) kullanılmıştır. Bu biyopolimerlere ait yapısal özellikler aşağıda incelenmektedir:

2.6.1 Sodyum aljinat (Na-Alg), pektin ve ksantan gam (XG)

Aljinat, kahverengi deniz yosunlarından veya *Azotobacter vinelandii* gibi bakterilerden elde edilen hidrofilik bir polisakkarittir ve gıda, ilaç ve biyoteknoloji mühendisliği gibi birçok alanda kullanılır. Yaygın uygulamaları esas olarak toksik olmaması,

biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve Ca^{2+} gibi iki değerlikli metal iyonlarının varlığında jelleşmesinden kaynaklanmaktadır çünkü (1–4)-bağlı β -D-mannuronik (M) ve α -l-guluronik asit (G) kalıntılarından oluşmaktadır. Ca^{2+} 'nin aljinat damlacıklarına yayılma yönüne ve Ca^{2+} kaynağına bağlı olarak, iyonik jelleşme mekanizmaları beş gruba ayrılır: dış, iç, ters, arayüzey ve çok adımlı kesintiye uğramış jelleşme. Dış iyonik jelleşme en yaygın kullanılan mekanizmadır. Bu mekanizma ile aljinat boncuklarında tutulan yağları üretmek için, yağ önce aljinat çözeltisinin sürekli sulu fazında dağıtılır. Bu yağ-aljinat emülsiyonu bir jelleşme banyosuna damlatılmalıdır. Jelleşme banyosundaki kütleme işleminin başlangıcında, sadece üretilen boncuğu çevreleyen yarı katı bir zar oluşur. Bu aşamada, boncuğun çekirdeği hala sıvıdır. Daha sonra, daha fazla Ca^{2+} boncuklara yayıldıkça çekirdek kademeli olarak katılaşır ve tamamen sertleşmiş bir boncuk elde edilir. Ek olarak, aljinat zincirleri arasındaki Ca^{2+} iyonlarının daha yüksek bağlanması, kütleme işleminin sonunda boncuk dokusunda sertleşmeye neden olan sulu fazın bir kısmını orantılı olarak sıkıştırır. Bu bilgilere göre aljinat kapsüllerin mekanik mukavemeti ve kuruma kaybı, CaCl_2 banyosunda kütleme işlemine göre şekillenmektedir (Alkhatib *et al.* 2022).

Sodyum aljinatın kalsiyum katyonları (Ca^{+2}) ile iyonotropik jelleşmesi, kalsiyum katyonlarının, aljinat zincirlerinin eşleştirilmesiyle oluşturulan boşluklardaki guluronik asit monomeri ile etkileşime girdiği yumurta-kafes (egg-box) modeli ile ifade edilmektedir (Şekil 1.3). Aljinatın jel yapısı asidik koşullarda nispeten karardır ancak hafif alkali koşullar altında kolayca şişer ve parçalanır. Bu özelliği nedeniyle aljinat jelleri matris, mikroküre (boncuk) ve mikrokapsül formlarında etkili bir kontrollü salınım taşıyıcısı olarak kullanılma olanağına sahiptir.



Şekil 2.3 Alg-kalsiyum jeli için "yumurta-kafes" modelinin gösterimi (Fu *et al.* 2011)

Pektin jelleri gıda endüstrisinde büyük öneme sahiptir. Genellikle, pektinin metoksillenme derecesine bağlı olarak jelleşme mekanizmaları bulunur. Çözünmüş düşük metoksilli pektin, kalsiyum iyonları veya diğer iki değerlikli metal iyonlarının varlığında bir jel oluşturabilir. Bu durumda, iyonik bağlar ayrılmış karboksil grupları arasındaki kalsiyum köprüleri aracılığıyla oluşur. Bu oluşum genellikle "kalsiyum jeli" olarak adlandırılan kalsiyum iyonlarının varlığında oluşturulabilir. Jelleşme mekanizmasının aljinatinkine benzer olduğu bilinmektedir. Aljinat içindeki poliguluronat blokları, pektin içindeki poligalakturonat zincirleriyle benzer bir stereokimyaya sahiptir. Aljinat ve pektin üzerine yapılan çalışmalar, bu polimerlerin kalsiyum iyon bağlanmasıyla jelleşmesinin basit bir elektrostatik etkileşim olmadığını göstermiştir. Aljinat jellerinde bağlantı bölgesi oluşumunu "yumurta kutusu" modeli aracılığıyla tanımlanmıştır. Pektin kalsiyum jelinde ise en uygun ilişkinin, zincirlerden birinin diğerine göre hafifçe kaymış olması nedeniyle, "kaymış" yumurta kutusu olarak tanımlanmasının daha iyi olduğu belirtilmiştir. İki komşu zincir arasında oluşan yumurta kutuları, elektrostatik etkileşimlere ek olarak van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağları ile stabilize edilir (Fraeye *et al.* 2010).

Ksantan gam (XG), 2:2:1 mol oranında d-glukozil, d-mannosil ve d-glukuronil asit ünitelerinden ve değişken oranlarda O-asetil ve pirüvil ünitelerinden oluşan yüksek moleküler ağırlıklı bir negatif yüklü doğal bir heteropolisakkarittir. Çözünme

sıcaklığına ve iyonik güce bağlı olarak, süspansiyonları yüksek viskoziteye sahip olan XG, heliks veya rastgele sarmal konformasyonlarında bulunabilir. Bu özellikleri nedeniyle, XG birçok endüstriyel uygulamada kalınlaştırıcı ajan ve kıvam verici ve dengeleyici madde olarak kullanılır. Çözeltinin viskozitesi, moleküller arası elektrostatik kuvvetleri artırabilen veya azaltabilen bir tuz eklenmesiyle etkilenebilir (Baumgartner *et al.* 2008).

Arı Sütünün Enkapsülasyonu ile İlgili Yapılan Literatür Çalışmaları

He vd. (2020) duvar malzemesi olarak Arabik gam ve jelatin kullanarak mikrokapsülleme teknolojisi ile arı sütünün lezzetinin iyileştirilmesini amaçlamışlardır. Mikrokapsüllerin bozulmamış yapılarını optik ve taramalı elektron mikroskopları kullanarak gözlemlemişlerdir. Simüle edilmiş gastrointestinal sindirimin sonuçları, mikrokapsüllerin gastrik ortamda iyi tolere edildiğini kanıtlamıştır. Mikrokapsüllemeden sonra arı sütünün acılığı ve rahatsız eden kokusunun azaldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda bağırsaktaki yüksek salım oranı ile mikrokapsüllemenin insan vücudunun arı sütünü emmesini engellemeyeceği de belirlenmiştir.

Dundar vd. (2022) duvar materyali olarak sodyum aljinat ve gam arabik ile arı sütünün mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Oda sıcaklığında depolanan mikrokapsüllemiş arı sütünün, liyofilize arı sütü ve 4 °C’de depolanan taze arı sütüne kıyasla, 6 ay boyunca önemli bir biyoaktif bileşik olan 10-HDA içeriğini korumayı başardığını göstermişlerdir. Arı sütü, liyofilize arı sütü ve mikrokapsüllemiş arı sütünün başlangıçtaki 10-HDA içerikleri sırasıyla %1,90, %5,26 ve %2,75 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, toplam fenolik içerik, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite depolama süresi boyunca çoğunlukla sabit kalmıştır ($p \geq 0,05$). Antimikrobiyal aktivite *Acinetobacter baumannii* AYE, *Bacillus cereus* DSM 4312, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* O157:H7 NTCC 12900, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213’e karşı değerlendirilmiş ve gram pozitif suşların genellikle Gram negatif suşlardan daha hassas olduğu tespit edilmiştir. Yapılan

çalışmada, *in vitro* simüle edilmiş sindirim analizi, mikrokapsüllenmiş arı sütünün sindirim sürecini tolere edebildiğini de göstermiştir.

Spanidi vd. (2022) yaptıkları çalışmada, arı sütü içeren lipozom ve siklodekstrinlerden oluşan yeni bir kapsülleme ve taşıma sistemi geliştirmişlerdir. Arı sütü lipozomu/siklodekstrin süspansiyonunun, arı sütü stabilite dezavantajlarını ortadan kaldırdığını ve fizikokimyasal özellikler, polifenoller ve 10-HDA tutulumu açısından 6 ay (24 hafta) boyunca stabil kaldığını gözlemişlerdir. Ayrıca, arı sütünün siklodekstrin/lipozomlarda çift kapsüllenmesi, 10-HDA'nın zaman kontrollü salınımına olanak tanımış ve bu da hücre içi deneylerde gösterildiği gibi, cilt uygulamaları için yararlı olabileceğini ortaya koymuştur.

Ulubayram ve Cinar (2023) mikrokapsüllenmiş arı sütünü 450 mbar altında kapsülatörde (Buchi B-390, Flawil, İsviçre) aljinat çapraz bağlama tekniği kullanarak oluşturmuşlardır. Taze ve mikrokapsüllenmiş arı sütünün antibakteriyel ve antifungal aktivitesini karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. 1., 3. ve 6. aylardaki antimikrobiyal aktivitedeki olası değişiklikler, 10-HDA seviyelerindeki değişiklikler dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Arı sütünün test bakterileri (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermis*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*) ve maya (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*) üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin depolama süresi boyunca korunduğu gözlenmiştir. Öte yandan, test küfleri (*Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*) üzerindeki antifungal aktivitenin 3. aydan itibaren hafifçe azaldığı rapor edilmiştir. Depolamanın sonuna kadar 10-HDA içerikleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Elde edilen sonuçlar, mikrokapsüllemenin arı sütünün 10-HDA içeriğini altı ay boyunca koruduğunu ve oda sıcaklığında depolamayı sağlayan umut verici bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Azhar vd. (2023) aljinat-pektin enkapsüle taneciklerinin arı sütünün stabilitesini sağlamak için depolama süresi ve koşullarının belirlenmesini incelemişlerdir. Sonuç olarak, çalışma enkapsüle taneciklerin düşük sıcaklıkta saklandığında 3 ay boyunca ikna edici bir stabilite sergilediğini göstermiştir. Kapsüllenmiş arı sütünün 10-HDA içeriğinin analizi ve fiziksel görünüm, parçacık boyutu, küresellik katsayısı,

mikroskopik morfoloji ve sıkıştırma testi gibi fizikokimyasal özelliklerinin gözlemlenmesi ile sonuçların tüm stabilite zaman noktalarında oldukça tutarlı olduğu belirlenmiştir. Formülasyonun stabilitesini korumak ve daha uzun bir raf ömrü sağlamak için taneciklerin düşük sıcaklıkta (buzdolabı) saklanması önerilmiştir. Ayrıca, çalışma kapsüllenmiş arı sütü taneciklerinin renk değişimlerinin 10-HDA bileşiğinin bozunmasıyla ilişkili olduğunu da göstermiştir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Hazırlanan çalışmada enkapsülasyon işleminde kullanılmak üzere Çankırı yerel piyasası arıcılarından temin edilen arı sütü kullanılmıştır. Taze olarak alınıp derin dondurucuda işleninceye kadar depolanmıştır. Sunulan çalışmada kullanılan Na-Alg, XG ve pektin Sigma-Aldrich ürünüdür. Kalsiyum klorür (CaCl_2) ise Isolab ürünüdür. Ürünlerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için kullanılan ABTS metodu ve antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılan tüm kimyasallar da Sigma-Aldrich ürünüdür.

3.2 İnvers Jelleşme Yöntemi ile Arı Sütü Çekirdekli Mikro kapsül Üretimi

Sunulan araştırmanın ilk aşamasında, enkapsülasyon koşulları ön denemeler ile belirlenerek Na-Alg, pektin ve XG kaplı tanecikler “invers jelasyon (damlatma) metodu” ile enkapsüle edilmiştir. Na-Alg çözeltisinden kalsiyum tuzları varlığında mikro veya makro boyutta kapsüllerin hazırlanması sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Kalsiyum iyonu ile Na-Alg arasında görülen çapraz bağ pıhtılaşmaya ve kapsül yapının oluşumuna sebep olur (Aghel *et al.* 2011). Bir polisakkarit olan pektin de yine Ca^{+2} iyonu ile çapraz bağ oluşturmaktadır. XG ise oluşturulan kapsülün stabilitesine etkisi araştırılmak amacıyla formülasyona dahil edilmiştir.

Mikro kapsüllerin hazırlanması için literatür incelemeleri sonucu optimum enkapsülasyon şartlarının belirlenmesi amacıyla farklı koşullarda çalışılmaktadır. Enkapsüle edilmek istenen hedef bileşenin ne kadarının yapı içinde tutulabildiğini ifade eden enkapsülasyon etkinliği, kapsüllerin boyutları ve hedef bileşenin ürünlerdeki stabiliteyi enkapsülasyon için önemli olan parametrelerdir. Na-Alg konsantrasyonu, pektin konsantrasyonu ve ksanthan gam konsantrasyonu olarak 3 parametre farklılaştırılmıştır (Çizelge 3.1). Bu parametrelerle hazırlanan ürünlerin enkapsülasyon etkinliği, ortalama kapsül çapı ve enkapsülasyon verimi belirlenmiştir.

Çizelge 3.1 Enkapsülasyon için kullanılan kaplama materyalleri ve CaCl_2 miktarları

<i>Kapsüller</i>	<i>Kaplama Materyalleri</i>			
	Na-Alg Oranı (%)	Pektin Oranı (%)	XG Oranı (%)	CaCl_2 Oranı (%)
Na-K	1,5	0	0	10
NaP-K	1	0,5	0	10
NaPX-K	1	0,25	0,25	10

Na-K: Sodyum aljinat arı sütü kapsül

NaP-K: Sodyum aljinat - Pektin arı sütü kapsül

NaPX-K: Sodyum aljinat - Pektin - Ksanthan gam arı sütü kapsül

Çizelge 3.1’de verilen oranlarda çözelti hazırlamak için başlangıç kimyasalları 60°C’de saf suda 600 rpm’de 4 sa karıştırılarak çözülmüştür. Bu çözeltiler +4°C’de 12 sa dinlendirildikten sonra kullanılmıştır. Çizelge 3.1’de verilen oranlarda karıştırılan çözeltilere aktif madde olarak % 0,35’lik konsantrasyonda arı sütü ilave edilmiştir. Oluşan emülsiyonun stabil bir yapı sergileyebilmesi için çözelti 5000 rpm’de mekanik bir karıştırıcı yardımı ile (ultraturrax) yaklaşık 4 dak karıştırılmıştır. Kapsüllerin oluşması için kullanılan çapraz bağlayıcı olan CaCl_2 konsantrasyonu % 10 olarak belirlenmiştir.

Enkapsülasyon İşlemi

Hazırlanan jelleşme çözeltileri enjektör kullanılarak çapraz bağlayıcı çözeltisi içerisine damlatılmıştır. Damlatma işlemi ile oluşan kapsüller, çapraz bağlanma reaksiyonunun tamamlanması ve dolayısıyla oluşan yapının dağılmaması için belirli bir süre çapraz bağlayıcı çözeltisinde bekletilmiştir. Süre sonunda kapsüller saf su ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutulmuştur.

3.3 Hazırlanan Kapsüllerin Karakterizasyonu

Kapsüllerin yapısı azaltılmış toplam yansıma (ATR) ünitesi bulunan Fourier dönüşümlü infrared (FTIR) spektroskopisi (Bruker-Tensor II) ile incelenmiştir. Kapsüllerin yüzey karakteristikleri ince bir altın tabakasıyla kaplandıktan sonra Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Carl Zeiss-Sigma 300 VP) ile 5 kV potansiyel altında

incelenmiştir. Kapsüllerin optik görüntüleri ise Nikon marka stereo mikroskop (SMZ 800N, Japonya) kullanılarak çekilmiş, kapsül çapları görüntüler ölçeklendirilerek ölçülmüştür.

3.4 Enkapsülasyon Verimi

Hazırlanan kapsüllerin % enkapsülasyon verimi gravimetrik yöntemden yararlanarak bulunmuştur. Jelleşme çözeltisindeki kuru maddenin ağırlığı ile çapraz bağlanma sonrası elde edilen kuru kapsüllerin ağırlık farkı % enkapsülasyon verimi olarak belirlenmiştir.

3.5 Enkapsülasyon Etkinliği

Enkapsülasyon etkinliği kapsüllerdeki etken maddenin geri kazanılarak elde edilmesiyle ve bu ekstraktlardaki antioksidan aktivite analizi ile gözlenmiştir. Yaklaşık 1 g kapsül metanol ile ekstrakte edilmiş ve sonrasında -18°C’de analiz anına kadar muhafaza edilmiştir.

Almajano vd. (2007) ile Wang ve Xiong (2005) tarafından sunulan ABTS Yok Etme metodunda 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenztiyoazolin-6- sülfonik asit)) çözeltisine 1/1 oranında 2,45 mM K₂S₂O₈ ilave edilerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 sa inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda ABTS radikal çözeltisinin 734 nm’de absorbansı alınmıştır (Agilent, Carry 60 UV-Visible, Amerika). Ardından absorbansı 734 nm’de 1,850±0,05 (kontrol absorbansı değeri) olana kadar etil alkolle seyreltilmiştir. Elde edilen radikal çözeltisinden 4 mL alınarak üzerine 100 µL ekstrakt eklenmiş ve oda sıcaklığında 2 sa karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 734 nm’de pH=7,4’lük fosfat tamponundan (PBS) oluşan köre karşı örnek absorbansı izlenmiştir. Azalan absorbans ortamdan yok edilen ABTS radikallerinin miktarıdır ve aşağıdaki formülle (Denklem 3.1) hesaplanmıştır:

$$\% \text{ ABTS Süpürme Aktivitesi} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, A_1 : örnek absorbansı ve A_0 : kontrol absorbansıdır.

3.6 10-HDA Miktarı Tayini

10-HDA içeriği Kolaylı vd. (2016) tarafından uygulanan prosedürde modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. İçerik diyot dizinli dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC-DAD, VWR Hitachi Chromaster HPLC-UV) cihazı ile belirlenmiştir. Çalışmada C-18 kolon (150 x 4,6 mm) kullanılmış ve mobil faz metanol/sudan (55:45 v/v) oluşurken, pH fosforik asitle 2,2'e ayarlanmıştır. 215 nm'de çalışılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dak ve enjeksiyon hacmi 15 µL'dir. Arı sütü metanol/su (50:50 v/v) içinde çözülmüş ve kapsül örneklerine 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) çözeltisi eklenerek kapsüller dağılına kadar karıştırılmış ve 10000 rpm'de santrifüj edilerek 0,45 µm'lik bir enjektör filtreden süzölmüştür.

3.7 Antibakteriyel Aktivite

Arı sütünün antibakteriyel aktivitesinin tayini agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile (Osés *et al.* 2016) gram pozitif bakteri suşu *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) (ATCC 43300) ve gram negatif bakteri suşu *Escherichia coli* (*E.coli*) (ATCC 11229) seçilerek incelenmiştir.

Kültürlerin başlangıç mikroorganizma sayısı Mc Farland 0,5 (10^{7-8} adet (koloni oluşturan birim/mL)'lik hücre yoğunluğu standardına göre yapılmıştır. Ayarlanmış bakteri süspansiyonlarından Mueller-Hinton agar (MHA) (Merck, Almanya) yüzeyine yayma yapılmıştır. Besiyerine belirli çapta disk şeklinde kuyucuklar açılmıştır. Bu kuyucuklara saf arı sütü ve kapsüllerden ekstrakte edilen arı sütü eş miktarda aktarılmıştır. Besiyerleri 37 °C'de 24 sa inkübe edilmiş ve aktif bileşiklerin difüzyonundan sonra disklerin çevresinde oluşan zon çapları ölçölmüştür. Böylelikle antibakteriyel potansiyeli belirlenmiştir (Kavoosi *et al.* 2013).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

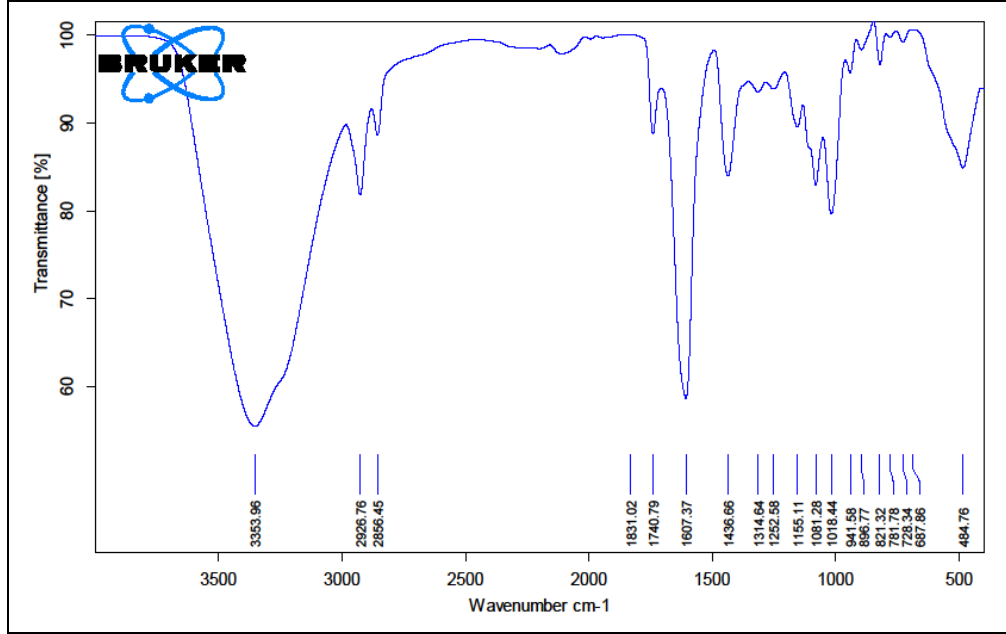
4.1 Kapsüllerin Karakterizasyonu

Arı sütü içeren kapsüllerin hazırlanmasında kullanılan farklı biyopolimerlerden elde edilen kapsüllere ve saf arı sütüne ait FTIR spektrumları Şekil 4.1-Şekil 4.4'te sunulmaktadır.

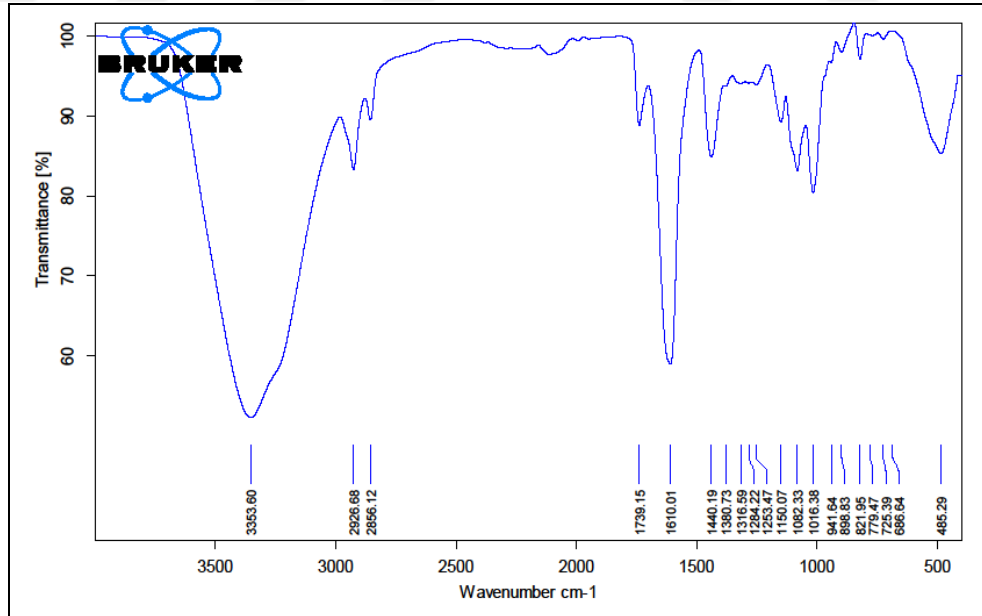
Na-K kapsüllerinin FTIR spektrumunda (Şekil 4.1) 3354 cm^{-1} ve 2927 cm^{-1} 'deki tepeler sırasıyla O-H ve C-H bağlarının gerilme titreşimlerine atfedilmektedir. 1607 ve 1437 cm^{-1} 'deki güçlü bantlar karboksilat grubunun asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerine atfedilmektedir. 1018 ve 1081 cm^{-1} 'deki bantlar C-O bağının gerilme titreşimine atfedilmektedir. 821 , 897 ve 942 cm^{-1} 'deki tepeler polisakkarit yapısı için karakteristiktir, guluronik ve mannuronik asit ünitelerinin varlığını doğrulamaktadır (Bekin *et al.* 2014, Cathell and Schauer 2007). Yapıya pektinin girmesiyle bantlarda kaymalar gözlenmiştir (Şekil 4.2). NaP-K kapsüllerinin FTIR spektrumunda, asimetrik COO- bağının gerilme titreşiminin daha yüksek dalga sayısına (1607 'den 1610 cm^{-1} 'e) kaydığı görülmektedir. Bu durum, polar gruplar içeren polimerlerin hidrojen bağı oluşumundan kaynaklanmaktadır (Nešić *et al.* 2017). NaPX-K kapsüllerinin FTIR spektrumunda (Şekil 4.3) ise Na-Alg, pektin ve XG molekülleri arasındaki elektrostatik kuvvetler, hidrojen bağı ve van der Waals kuvvetleri açısından etkileşimlerin olması; NaPX-K kapsüllerindeki hidroksil ve karboksil gruplarının gerilme ve eğilme titreşimlerinde ufak kaymalara neden olmuştur (Fan *et al.* 2021).

Arı sütünün FTIR spektrumu (Şekil 4.4) incelendiğinde 3272 , 1637 , 1549 , 1409 , 1345 , 1244 , 1104 , 1061 , 1039 ve 936 cm^{-1} 'de titreşim bantları görülmektedir. Bu bantlar arı sütünün içinde bulunan bileşenlerin kimyasal gruplarıyla ilişkilidir. 3275 cm^{-1} 'de gözlenen en geniş ve en güçlü bant sudan kaynaklanan O-H gruplarının gerilmesinden ve aminlerden kaynaklanan N-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. İkinci önemli bölge 1500 ile 1800 cm^{-1} arasında olup, 1636 cm^{-1} 'de tepe noktası olan titreşim bandı Amid I'e karşılık gelmekte ve proteinlerin omurga konformasyonundan kaynaklanan C=O gerilme titreşimleriyle ilişkilendirilmektedir. 1547 cm^{-1} 'de gözlenen

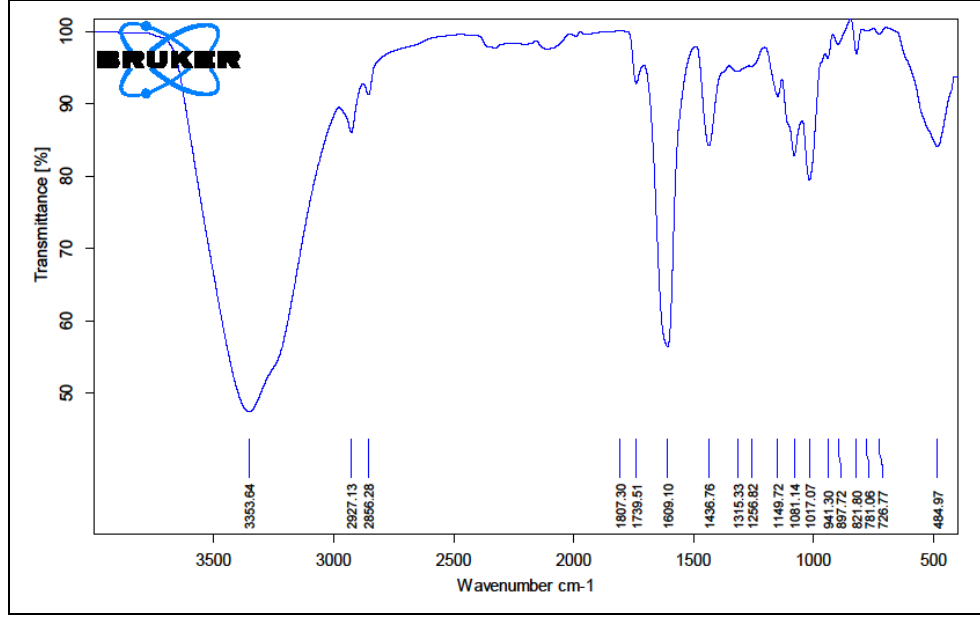
tepe ise Amid II'nin N-H bükülmesi ve C-N gerilme titreşimlerine atfedilmektedir (Tarantilis *et al.* 2012, Cebi *et al.* 2020).



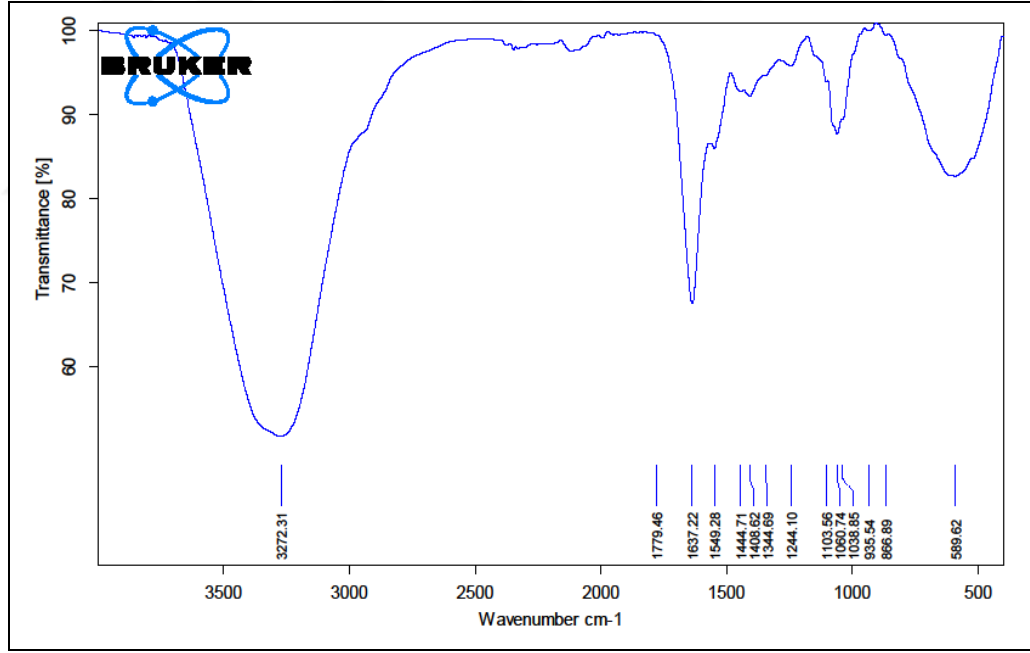
Şekil 4.1 Na-K kapsülüne ait FTIR spektrumu



Şekil 4.2 NaP-K kapsülüne ait FTIR spektrumu

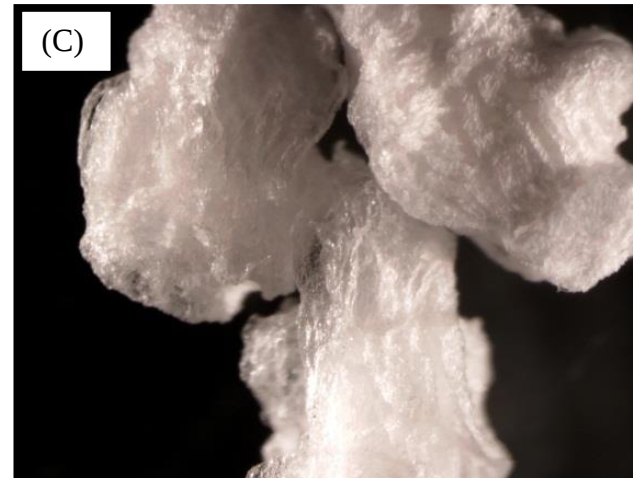
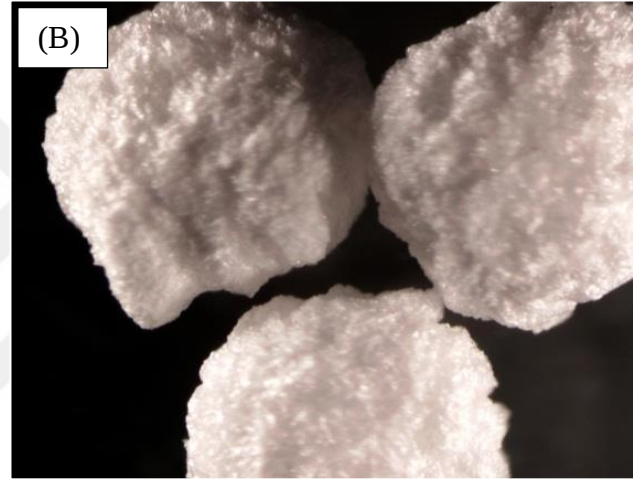


Şekil 4.3 NaPX-K kapsülüne ait FTIR spektrumu

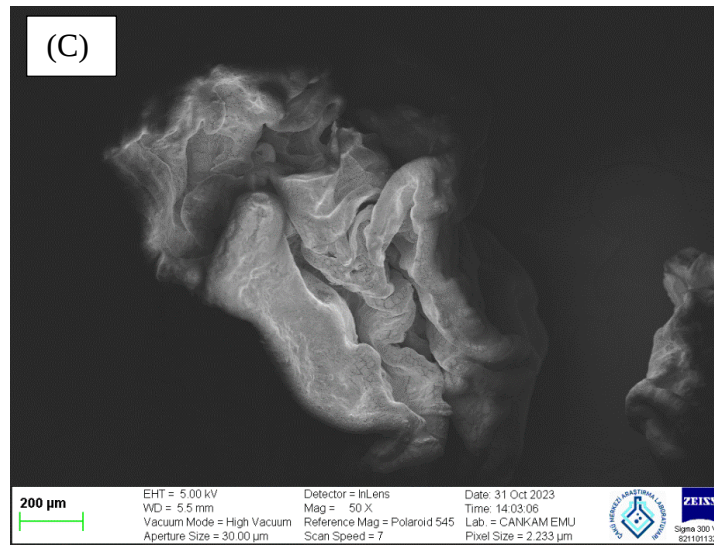
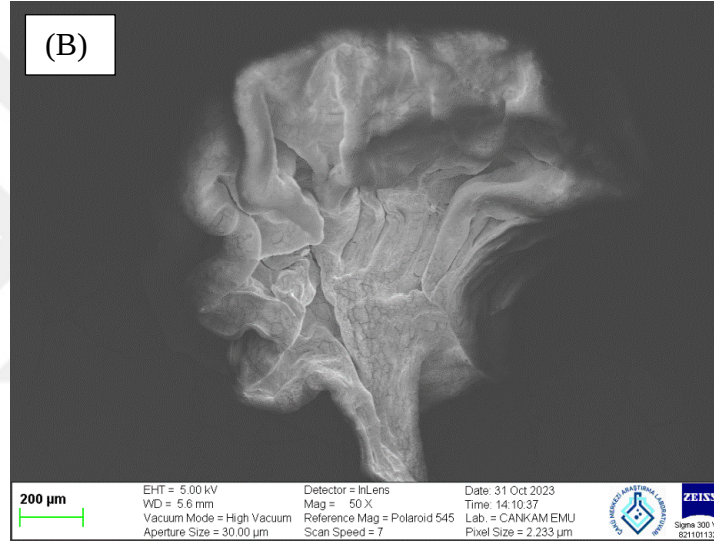
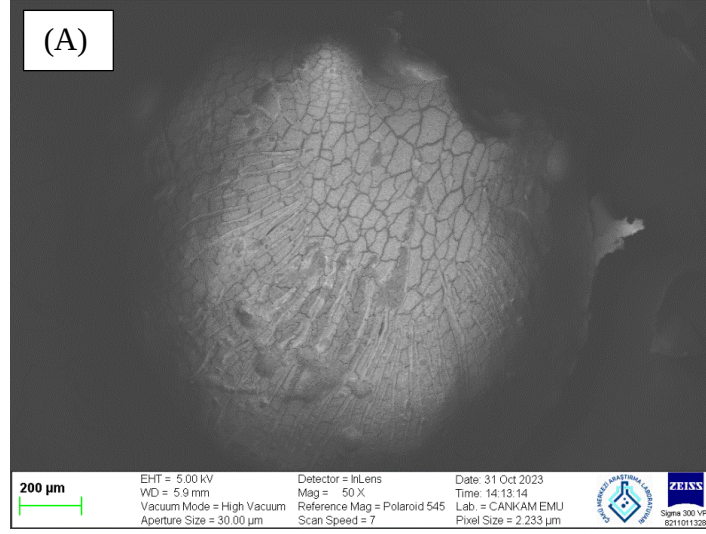


Şekil 4.4 Arı sütüne ait FTIR spektrumu

Şekil 4.5’de hazırlanan kapsüllere ait optik mikroskop görüntüleri bulunmaktadır. Na-K, NaP-K ve NaPX-K kapsüllerinin morfolojileri SEM ile belirlenerek Şekil 4.6’da sunulmuştur. Na-K kapsülü düzgün ve kompakt bir yüzeye sahipken, yapıya pektin ve XG eklenmesiyle kapsüllerin yapısı değişmiştir. Kapsül küreselliği kısmen azalmıştır.



Şekil 4.5 Na-K (A), NaP-K (B) ve NaPX-K (C) kapsüllerine ait optik mikroskop görüntüleri



Şekil 4.6 Na-K (A), NaP-K (B) ve NaPX-K (C) kapsüllerine ait SEM görüntüleri

4.2 Kapsül Analiz Sonuçları

Hazırlanan kapsüllerin enkapsülasyon verimi, partikül çapı ve antioksidan aktivite sonuçları Çizelge 4.1’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.1 Kapsüllerin enkapsülasyon verimi, partikül çapı ve antioksidan aktivite sonuçları

Kapsül kodu	Enkapsülasyon verimi (%)	Ortalama Partikül Çapı (mm)	Antioksidan Aktivite (ABTS) %
Na-K	92,91±0,73	1,83±0,61	59,08±1,12
NaP-K	88,35±1,56	1,77±1,24	62,16±1,34
NaPX-K	86,21±2,95	1,94±2,42	61,59±1,14

4.3 10-HDA Analizi

Arı sütünde temel yağ asidi olarak kabul edilen 10-HDA ürün kalitesi için uluslararası bir standart olarak kabul edilmektedir. Tazelik ve orijinalliği değerlendirmek için bir marker olarak kullanılan 10-HDA, bugüne kadar arı sütü hariç diğer arı ürünlerinde bildirilmemiştir. % 1,8’den fazla 10-HDA içeriğine sahip örnekler taze ve orijinal olarak kabul edilmektedir. Tez çalışmasının genel değerlendirilmesinde en önemli analiz olan ve Çizelge 4.2’de sunulan 10- HDA analizi sonuçları baz alınırsa Na-Alg ve pektinin birlikte kullanıldığı durumda en iyi sonucun elde edildiği görülmüştür.

Çizelge 4.2 10- HDA analiz sonuçları

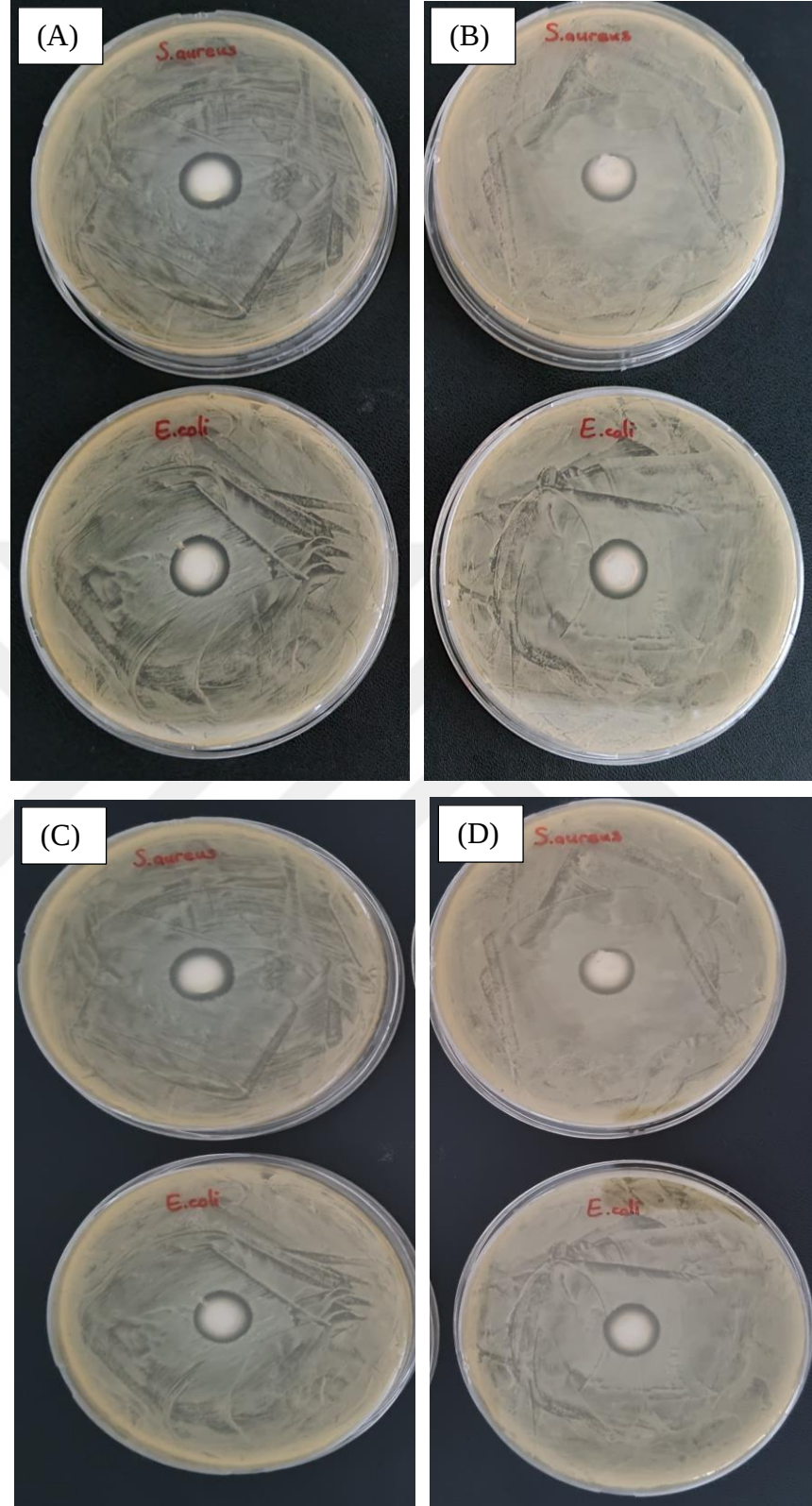
ÜRÜN KODU	1. paralel (%)	2. paralel (%)	3. paralel (%)	Ortalama (%)	Std Sapma
Saf Arı Sütü	1,916599	1,911317	1,90847	1,91	0,00
Na-K	1,517659	1,515605	1,515364	1,52	0,00
NaP-K	1,604733	1,605179	1,606584	1,61	0,00
NaPX-K	1,18976	1,190149	1,191699	1,19	0,00

4.4 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Arı sütünün antibakteriyel aktivitesinin tayini agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile gram-pozitif bakteri suşu *S.aureus* (ATCC 43300) ve gram-negatif bakteri suşu *E.coli* (ATCC 11229) seçilerek incelenmiştir. Saf arı sütü ve kapsüllerden ekstrakte edilen arı sütünün tamamının antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Kapsüllerin ve aynı miktardaki arı sütünün *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon bölgesi zon çapı sırasıyla 12 ve 12,5 mm olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. Tüm örneklerin belirgin bir inhibisyon etkisine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durum saf arı sütünün de kapsüllerden ekstrakte edilen arı sütünde test edilen her iki bakteri suşuna karşı antibakteriyel özellik sergilediğini göstermektedir. Ayrıca tüm kapsüllerin ve tüm kaplama maddelerinin de arı sütünü yüksek verimde kapsüllediği yorumuna ulaşılmaktadır.

Çizelge 4.3 Antibakteriyel aktivite testi sonuçları

ÜRÜN KODU	İNHİBİSYON ZONU (mm)	
	GRAM (-) <i>E. COLI</i>	GRAM (+) <i>S. AUREUS</i>
Saf Arı Sütü	12	12,5
Na-K	12	12,5
NaP-K	12	12,5
NaPX-K	12	12



Şekil 4.7 Saf arı sütü (A), Na-K (B), NaP-K (C) ve NaPX-K (D) kapsüllerine ait antibakteriyel aktivite test sonuçları

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kapsülleme teknolojisi; aktif maddeleri bir taşıyıcı malzeme içinde hapsetme işlemidir ve biyoaktif moleküllerin ve canlı hücrelerin gıdalara iletimini iyileştirmek için yararlı bir araçtır. Kapsüllenmiş malzemeler nemden, ısıdan veya çevrenin diğer olumsuz etkilerinden korunabildiğinden ve böylece stabiliteleri artırılıp canlılıkları muhafaza edilebildiğinden, bu tekniğin gıda endüstrisindeki uygulamaları artmıştır. Gıdalarda kapsülleme, kokuları veya tatları maskeleyerek için de kullanılmaktadır.

Yapılan tez çalışmasında arı sütü çekirdekli olan ve farklı oranlarda polisakkarit içeren kapsüller hazırlanmıştır. Tüm malzemeler arasında, gıda uygulamalarında kapsülleme için en yaygın kullanılanlar malzemeler polisakkaritlerdir. Yapılan enkapsülasyon işlemi ile kullanılacak polisakkarit taşıyıcı ve konsantrasyonu tespit edilerek karakterizasyon çalışmaları FTIR, optik mikroskop görüntüleri ve SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre duvar materyali olarak yüksek Na-Alg oranının kullanılması sonucu tam küre şeklinde, pürüzsüz ve homojen kapsüller başarı ile elde edilmiştir.

Enkapsülasyon etkinliği, verimi ve biyoaktif özellikleri incelendiğinde Na-Alg ve pektinin birlikte kullanıldığı durumda çekirdek maddesi olan arı sütünün yüksek oranda hapsediği bulunmuştur. Bu sonucu kalite için uluslararası bir standart olarak kabul edilen 10-HDA miktarı öncelikli olarak desteklemektedir. Saf arı sütünde bulunan %1,91 değerine en yakın sonuç Na-Alg ve pektin ile kaplanmış kapsülde (NaP-K) %1,61 olarak elde edilmiştir. Yapılan biyoaktivite analizleri ile antioksidan aktivite sonuçları da paralel bulunmuştur.

Üç biyopolimerin duvar materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde (NaPX-K) ise; kaplama kalitesinin zayıf olduğu gözlenmiştir. Özellikle yüzey morfolojisinde farklar olmuş, kapsüller küreselliğini koruyamamıştır.

Saf arı sütünün de kapsül içerisinde bulunan arı sütünün de *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, sunulan çalışmada, yapısında çok kıymetli bileşenler bulunduran süper gıda arı sütünün olumsuz çevre koşullarından ve uygulanabilecek ekstra proseslerden etkilenmesini önlemek için enkapsüle edilmesi önerilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği, enkapsülasyon verimi ve kapsüllerin biyoaktif özellikleri değerlendirildiğinde Na-Alg ve pektinin birlikte kullanıldığı durumda çok az farkla deneylerin iyi sonuç verdiği ve çekirdek maddesi olan arı sütünü en iyi oranda hapsettiği görülmüştür.

Derin dondurucu koşullarında muhafaza edilen ve soğuk zincir ile ulaştırılması gereken bu kıymetli ürünün farklı bir yöntem ile muhafaza edilebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aghel, N., Ramezani, Z., and Amirfakhrian, S. 2011. Isolation and quantification of lycopene from tomato cultivated in dezfoul, Iran. *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.*, 6(1): 9-15.
- Ahmed, M. M., El-Shazly, S. A., Alkafafy, M. E., Mohamed, A. A., and Mousa, A. A. 2018. Protective potential of royal jelly against cadmium-induced infertility in male rats. *Andrologia*, 50(5): 12996.
- Akyol, E. 2015. Arı sütünün yapısı, insanlar ve arılar için önemi. *Uluaricilik*, 15(1): 16-21.
- Alkhatib, H., Assadpour, E., Sabere, A. S. M., Mohamed, F., and Jafari, S. M. 2022. Optimizing the encapsulation of black seed oil into alginate beads by ionic gelation. *J. Food Eng.*, 328: 111065.
- Almajano, M. P., Delgado, M. E., and Gordon, M. H. 2007. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. *Food Chem.*, 101(1): 126-130.
- Almeer, R. S., Alarifi, S., Alkahtani, S., Ibrahim, S. R., Ali, D., and Moneim, A. 2018. The potential hepatoprotective effect of royal jelly against cadmium chloride-induced hepatotoxicity in mice is mediated by suppression of oxidative stress and upregulation of Nrf2 expression. *Biomed. Pharmacother.*, 106: 1490-1498.
- Azhar, M. F., Hamdi, N. A. M., and Haris, M. S. 2023. Stability study of royal jelly in alginate-pectin beads. *J. Pharm.*, 3(1): 38-52.
- Bărnăuțiu, L. I., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Mihai, C. M., and Bobiș, O. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of Royal Jelly-Review. *Scientific Papers Anim. Sci. Biotechnol.*, 44(2): 67-72.
- Basa, B., Belay, W., Tilahun, A., and Teshale, A. 2016. Review on medicinal value of honeybee products: Apitherapy. *Adv. Biores.*, 10(4): 236-247.
- Baumgartner, S., Pavli, M., and Kristl, J. 2008. Effect of calcium ions on the gelling and drug release characteristics of xanthan matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 69(2): 698-707.

- Bekin, S., Sarmad, S., Gürkan, K., Yenici, G., Keçeli, G., and Gürdağ, G. 2014. Dielectric, thermal, and swelling properties of calcium ion-crosslinked sodium alginate film. *Polym. Eng. Sci.*, 54(6): 1372-1382.
- Bíliková, K., Wu, G., and Šimúth, J. 2001. Isolation of a peptide fraction from honeybee royal jelly as a potential antifoulbrood factor. *Apidologie*, 32(3): 275-283.
- Blum, M. S., Novak, A. F., and Taber, S. 1959. 10-hydroxy- Δ^2 -decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science*, 130(3373): 452-453.
- Cathell, M. D., and Schauer, C. L. 2007. Structurally colored thin films of Ca^{2+} -cross-linked alginate. *Biomacromolecules*, 8(1): 33-41.
- Cebi, N., Bozkurt, F., Yilmaz, M. T., and Sagdic, O. 2020. An evaluation of FTIR spectroscopy for prediction of royal jelly content in hive products. *J. Apic. Res.*, 59(2): 146-155.
- Cinar, A., Altuntas, S., and Altuntas, V. 2021. The addition of royal jelly to dairy probiotic dessert produced with predictive microbiology: Influence on physicochemical, rheological, microbial and sensorial properties. *LWT*, 146: 111444.
- Clarke, M. and McDonald, P., 2017. Market Opportunity Australian Royal Jelly produced with New Labour Saving Technology, Publication No. 17/017, Project No. PRJ-010167. Rural Industries Research and Development Corporation.
- Davarcı, F., Turan, D., Ozcelik, B., and Poncelet, D. 2017. The influence of solution viscosities and surface tension on calcium-alginate microbead formation using dripping technique. *Food Hydrocoll.*, 62: 119-127.
- Dundar, A. N., Cinar, A., Altuntas, S., Ulubayram, N., Taner, G., Dagdelen, A. F., Demircan, H., and Oral, R. A. 2022. The role of microencapsulation in maintaining biological activity of royal jelly: comparison with biological activity and bioaccessibility of microencapsulated, fresh and lyophilized forms during storage. *J. Sci. Food Agric.*, 102(12): 5502-5511.
- Fan, Y., Yang, J., Duan, A., and Li, X. 2021. Pectin/sodium alginate/xanthan gum edible composite films as the fresh-cut package. *Int. J. Biol. Macromol.*, 181: 1003-1009.

- Fraeye, I., Duvetter, T., Dounghla, E., Van Loey, A., and Hendrickx, M. 2010. Fine-tuning the properties of pectin–calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. *Trends Food Sci.*, 21(5): 219-228.
- Fratini, F., Cilia, G., Mancini, S., and Felicioli, A. 2016. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiol. Res.*, 192: 130-141.
- Fu, S., Thacker, A., Sperger, D. M., Boni, R. L., Buckner, I. S., Velankar, S., and Block, L. H. 2011. Relevance of rheological properties of sodium alginate in solution to calcium alginate gel properties. *Aaps Pharmscitech.*, 12: 453-460.
- Ghanbari, E., Khazaei, M. R., Khazaei, M., and Nejati, V. 2018. Royal jelly promotes ovarian follicles growth and increases steroid hormones in immature rats. *Int. J. Fertil Steril.*, 11(4): 263.
- Guo, H., Ekusa, A., Iwai, K., Yonekura, M., Takahata, Y., and Morimatsu, F. 2008. Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation *in vitro* and *in vivo*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 54(3): 191-195.
- Imam Harun, AI. 2023. The effect of different wall materials on the microencapsulation of sweetgum (liquidambar orientalis) oil. Yüksek lisans tezi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 140 s., Aydın.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., and Bhandari, B. 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Techn.*, 26(7): 816-835.
- Kavoosi, G., Dadfar, S. M. M. and Purfard, A. M. 2013. Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *J. Food Sci.*, 78(2): E244-E250.
- Koç, M., Sakin, M., ve Kaymak-Ertekin, F. 2010. Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale U. J. Eng. Sc.*, 16(1): 77-86.
- Kolayli, S., Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Malkoc, M., and Asadov, A. 2016. A member of complementary medicinal food: anatolian royal jellies, their chemical compositions, and antioxidant properties. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.*, 21(4): NP43-NP48.
- Korkmaz, A. ve Öztürk, C. 2010. Arı Sütü. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Samsun İl Tarım Müdürlüğü, Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayınları, Samsun.

- Kösoğlu, M., Yücel, B., Gökbulut, C., Konak, R., ve Bircan, C. 2013. Hasat zamanının arı sütünün kimi biyokimyasal ve iz element kompozisyonları üzerine etkisi. *Kafkas Üniv. Fak. Derg.*, 19(2): 233-237.
- Kumova, U. ve Korkmaz, A. 2000. Doğanın harika ürünü arı sütü. *Bilim ve Teknik*, 395: 96-101.
- Mehta, N., Kumar, P., Verma, A.K., Umaraw, P., Kumar, Y., Malav, O.P., Sazili, A.Q., Domínguez, R., and Lorenzo, J.M., 2022. Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: A Comprehensive Review. *Appl. Sci.*,12(3): 1424.
- Melampy, R. M. ve Jones, D. B. 1939. Chemical composition and vitamin content of royal jelly. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 41 (2): 382-388.
- Mureşan, C. I., Mărghitaş, L. A., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Bonta, V., Zacharias, I., and Paşca, C. 2016. Quality Parameters for commercialized royal jelly. *Bulletin UASVM Animal Sci. Biotechnol.*, 73(1): 1-8.
- Nešić, A., Onjia, A., Davidović, S., Dimitrijević, S., Errico, M. E., Santagata, G., and Malinconico, M. 2017. Design of pectin-sodium alginate based films for potential healthcare application: Study of chemico-physical interactions between the components of films and assessment of their antimicrobial activity. *Carbohydr. Polym.*, 157: 981-990.
- Osés, S. M., Pascual-Maté, A., de la Fuente, D., de Pablo, A., Fernández-Muiño, M. A., and Sancho, M. T. 2016. Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against *Staphylococcus aureus*. *NJAS Wageningen J. Life Sci.*, 78:29-33.
- Ordu, N. 2019. Mikroenkapsüle ve taze arı sütünün antimikrobiyal aktivitelerinin kıyaslanması ve muhafaza süresinin antimikrobiyal aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Bursa Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 49 s., Bursa.
- Park, M. J., Kim, B. Y., Deng, Y., Park, H. G., Choi, Y. S., Lee, K. S., and Jin, B. R. 2020. Antioxidant capacity of major royal jelly proteins of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *J. Asia. Pac. Entomol.*, 23(2): 445-448.

- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., and Gan, S. H. 2017. Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 2017(1): 1259510.
- Pavel, C. I., Mărghitaş, L. A., Bobiş, O., Dezmirean, D. S., Şapcaliu, A., Radoi, I., and Mădaş, M. N. 2011. Biological activities of royal jelly-review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 44(2): 108-108.
- Ratanavalachai, T., and Wongchai, V. 2002. Antibacterial activity of intact royal jelly, its lipid extract and its defatted extract. *Thammasat Int. J. Sc. Tech.*, 7(1): 5-12.
- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., and Almeida-Muradian, L. B. D. 2009. Quality and standardisation of royal jelly. *JAAS*, 1(1): 1-6.
- Spanidi, E., Athanasopoulou, S., Liakopoulou, A., Chaidou, A., Hatziantoniou, S., and Gardikis, K. 2022. Royal jelly components encapsulation in a controlled release system—skin functionality, and biochemical activity for skin applications. *Pharm.*, 15(8): 907.
- Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., Alissandrakis, E., Harizanis, P. C., and Polissiou, M. G. 2012. Monitoring of royal jelly protein degradation during storage using Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. *J. Apic. Res.*, 51(2): 185-192.
- Teixeira, R. R., de Souza, A. V., Peixoto, L. G., Machado, H. L., Caixeta, D. C., Vilela, D. D., and Espindola, F. S. 2017. Royal jelly decreases corticosterone levels and improves the brain antioxidant system in restraint and cold stressed rats. *Neurosci. Lett.*, 655: 179-185.
- Ulubayram, N., and Cinar, A. Y. 2023. Microencapsulated and fresh royal jelly: monitoring 10-HDA content, antibacterial and antifungal activity at different storage periods. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 66: 23220203.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., and Pérez-Álvarez, J. A. 2008. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J. Food Sci.*, 73(9): R117-R124.
- Wang, L. L. and Xiong, Y. L. 2005. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability. *J. Agric. Food Chem.*, 53(23): 9186-9192

- Wang, Y., Ma, L., Zhang, W., Cui, X., Wang, H., and Xu, B. 2016. Comparison of the nutrient composition of royal jelly and worker jelly of honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 47: 48-56.
- Weis, W. A., Ripari, N., Conte, F. L., da Silva Honorio, M., Sartori, A. A., Matucci, R. H., and Sforcin, J. M. 2022. An overview about apitherapy and its clinical applications. *Phytomed. Plus.*, 2(2): 100239.
- Xue, X., Wu, L., and Wang, K. 2017. Chemical Composition of Royal Jelly. In: Alvarez-Suarez, J. (eds) *Bee Products- Chemical and Biological Properties*. Springer, pp. 181-190, Cham.
- Zhang, S., Nie, H., Shao, Q., Kalan Hassanyar, A., and Su, S. 2017. RNA-Seq analysis on effects of royal jelly on tumour growth in 4T1-bearing mice. *J. Funct. Foods*, 36: 459-466.
- Zhao, F., Wu, Y., Guo, L., Li, X., Han, J., Chen, Y., and Ge, Y. 2013. Using proteomics platform to develop a potential immunoassay method of royal jelly freshness. *Eur. Food Res. Technol.*, 236: 799-815.
- Zuidam, N. J., and Nedovic, V. (Eds.). 2010. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Vol. 410. New York, USA.

