



# Kabak Çekirdeği Yağının Kompleks Koaservasyon Yöntemi ile Mikroenkapsülasyonu

## *Microencapsulation of Pumpkin Seed Oil with Complex Coacervation Method*

Emel Moral<sup>1\*</sup> , Okan Bayram<sup>1</sup> , Elif Köksal<sup>1</sup> , Fatma Danaş<sup>1</sup> , Fethiye Göde<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Isparta, Türkiye

### Öz

Cucurbitaceae familyasının alt türleri arasında yer alan kabak bitkisi, farklı türleri olan ve tohumları da tüketilen tarımsal bir üründür. Zengin bir yağ asidi kaynağı olması nedeniyle kabak çekirdeği yağı sadece gıda endüstrisinde değil, ilaç ve kozmetik endüstrisi içinde önem taşımaktadır. Bu çalışmamızda kabak çekirdeği yağı yanıt yüzey metodolojisi (YYM) ile oluşturulan bir deney setinde kompleks koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyonlanmıştır. YYM'de bağımsız değişkenler olarak sıcaklık (50,00 °C - 60,00 °C) ve pH (3,80 - 4,20), bağımlı değişken olarak ise deneysel olarak hesaplanan enkapsülasyon verimi (%EV) kullanılmıştır. Deney setindeki en yüksek %EV = %79,63 olarak bulunmuş ve 55,00 °C ve 4,00 pH değerinde ulaşılmıştır. YYM için hesaplanan ANOVA sonuçlarında;  $R^2 = %99,44$ , uyum eksikliğinin p değeri = 0,11 bulunmuştur. Uyum eksikliğinin p değerinin ( $p > 0,05$ ) olması model ile verinin uyumunu göstermektedir. Her deney seti için enkapsüle edilen numuneler optik mikroskop ile karakterize edilmiştir. Çalışmamızın sonucunda girdi değişkenleri ile cevap yanıtı arasındaki ilişki literatür yardımıyla değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aljinat, Enkapsülasyon, Jelatin, Kabak çekirdeği yağı, Mikro teknoloji, Mikroenkapsülasyon

### Abstract

Pumpkin plant, which is among the subspecies of Cucurbitaceae family, is an agricultural product with different types and seeds are consumed. Since it is a rich source of fatty acids, pumpkin seed oil is important not only in the food industry, but also in the pharmaceutical and cosmetics industry. In this study, pumpkin seed oil was encapsulated with complex coacervation method in an experiment set created with response surface methodology (RSM). Temperature (50.00 °C – 60.00 °C) and pH (3.80 – 4.20) were used as independent variables in RSM, and experimentally calculated encapsulation efficiency (%EV) was used as dependent variable. The highest EV% in the experimental set 79.63% and 55.00 °C and 4.00 pH values were reached. In ANOVA results calculated for RSM;  $R^2 = 99.44\%$ , lack of fit p value = 0.11. The lack of fit p value ( $p > 0.05$ ) indicates that the model matches the data. The samples encapsulated for each set of experiments were characterized by an optical microscope. As a result of our study, the relationship between input variables and response was evaluated with the help of the literature.


**Keywords:** Alginate, Gelatin, Encapsulation, Pumpkin seed oil, Micro technology, Microencapsulation


### 1. Giriş


Kabak, *Cucurbitaceae* familyasında yer alan bir sebze türü olarak bilinmektedir (Evranoz ve Arduzlar-Kağan 2015). Magnezyum, kalsiyum, sodyum potasyum, fosfor, demir gibi elementler içermektedir. Kabağın, balkabağı (*Cucurbita moschata*), helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*) ve sakız kabağı


(*Cucurbita pepo*) gibi türleri mevcuttur (Nederal vd. 2014). Bu türlerden elde edilen tohumlar Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde kuruyemiş olarak yaygın biçimde tüketilmektedir. Kabak çekirdeği protein, mineraller, aminoasitler ve yağlar yönünden oldukça zengindir. Zengin içeriği sebebiyle kabak çekirdeğinden elde edilen yağ, sadece gıda endüstrisinde değil, ilaç ve kozmetik endüstrisinde de kullanılmaktadır (Yanmaz ve Düzeltir 2003). Kabak çekirdeği yağı yaklaşık olarak %98 yağ asidi içerir. İçeriğindeki başlıca yağ asitleri linoleik (%35,60–%60,80), oleik (%21,00–%46,90), stearik (%3,10–%7,40) ve palmitik (%9,50–%14,50) asittir (Murkovic ve Pfannhauser 2000). Linoleik asit miktarının oldukça yüksek olması, zengin bir esansiyel yağ asidi kay-


\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: emel\_chemist32@hotmail.com

Emel Moral  [orcid.org/0000-0002-8158-5797](https://orcid.org/0000-0002-8158-5797)

Okan Bayram  [orcid.org/0000-0002-1748-9354](https://orcid.org/0000-0002-1748-9354)

Elif Köksal  [orcid.org/0000-0001-5131-3531](https://orcid.org/0000-0001-5131-3531)

Fatma Danaş  [orcid.org/0000-0002-2233-5018](https://orcid.org/0000-0002-2233-5018)

Fethiye Göde  [orcid.org/0000-0002-3008-1353](https://orcid.org/0000-0002-3008-1353)

nağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Stevenson vd. 2007). Kabak çekirdeğinin sağlık üzerine olan olumlu etkilerinin, lipit kısmında bulunan doymamış yağ asitleri, hidrokarbonlar, fitosteroller, karotenoidler, tokoferoller, bazı mineraller ve fenolik bileşiklerden ileri geldiği düşünülmektedir (Gohari vd. 2011, Veronezi ve Jorge 2012). Bu değerli bileşenler sayesinde kabak çekirdeği yağının; antidiyabetik, kan basıncını düşürücü, parazit enfeksiyonlarını önleyici, kandaki kolesterol düzeyini azaltıcı, antikanserijen, antibakteriyel ve antioksidan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Caili vd. 2006; Yadav vd. 2006).

Enkapsülasyon; ilaç, protein gibi çeşitli maddelerin katı, sıvı veya gaz halde uygun bir kabuk ile kaplanması prosesidir (Rajam ve Anandharamakrishnan 2015). Kapsüllenen maddeye çekirdek, kaplama maddesine de çeper, kabuk veya duvar materyali denilmektedir (Nesterenko vd. 2014). Enkapsülasyonun amacı çekirdek malzemenin oksijen, ışık, ısı gibi çevresel faktörlere karşı korunması, kullanım ve depolama özelliklerinin iyileştirilmesi, salınım özelliklerinin kontrol edilebilmesidir. Enkapsülasyon prosesi ayrıca kötü koku ve tadı maskeleyerek içinde kullanılabilir (Jyothi vd. 2010, Zuidam ve Shimoni 2010, Kwak 2014). Bu çalışmada enkapsülasyon yöntemlerinden biri olan kompleks koaservasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde kapsül oluşumu pH, sıcaklık, polimer oranı gibi faktörlere bağlıdır (Timilsena vd. 2019). Yanıt yüzey metodolojisi (YYM), girdi verileri ve yanıt verileri ile süreçlerin geliştirilmesi, iyileştirilmesi ve optimize edilmesi için kullanılan istatistiksel ve matematiksel yöntemler bütünüdür (Myers vd. 2009).

Kabak çekirdeği yağı, doymuş ve doymamış yağ asitleri içermektedir. Linoleik asit doymamış yağ asididir, yapısında çoklu bağ içermektedir ve Omega-6 grubu içindedir, insan vücudunda sentezlenemez, kabak çekirdeği yağında bol miktarda bulunmaktadır. Yağlarda meydana gelen bozulmaların en önemli nedeni çoklu bağlara oksijenin etki etmesi ve acı tat oluşmasıdır. Yüksek sıcaklık, ışık gibi etkenler yağlarda oksidasyonu tetiklemektedir (Aksoylu, 2018).

Bu çalışmada kabak çekirdeği yağının YYM kullanılarak sıcaklık ve pH değeri girdi değişkenleri ile oluşturulan deney setinde kompleks koaservasyon yöntemiyle enkapsülasyonlanmıştır. Üretilen numunelerin %EV değeri hesaplanarak cevap yanıtı olarak girilmiştir. Giriş değişkenlerinin ve cevap yanıtının arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışma ile birlikte mikroenkapsülasyon işlemiyle kabak çekirdeği yağının oksidasyonu yavaşlatılarak yağın raf ömrünü uzatmak ve biyolojik aktivitesini arttırarak ticari uygulamalarını genişletmek amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Deneysel Tasarım

Kabak çekirdeği yağının enkapsülasyonu için uygulanacak deneysel tasarım iki bağımsız değişken ve bir cevap yanıtı ile Minitab 16 (Geçerlilik Tarihi: Süresiz) programında oluşturulmuştur. Kullanılan dizayn merkezi kompozit tasarım (CCD)'dir. Bu değişkenler sıcaklık (50,00°C – 60,00°C) ve pH (3,80 – 4,20) değerleridir.

### 2.2. Kabak Çekirdeği Yağının GC Analizi

Ticari olarak satılan ve piyasadan temin edilen kabak çekirdeği yağına GC analizi yapılmıştır. GC analizi için kullanılan cihaz Shimadzu GC-2010 Plus ve kullanılan dedektör Shimadzu GCMS-QP2010 SE'dür.

### 2.3. Deneyin Yapılışı

Kabak çekirdeği enkapsülasyonunda kompleks koaservasyon yöntemi kullanılmıştır. Çekirdek maddesi olarak kullanılan yağ her deney setinde 4,00 g kullanılmıştır. Karıştırma hızı tüm deneylerde ilk aşamada 1200,00 rpm, ikinci aşamada 400,00 rpm'dir. Sıcaklık (50,00°C – 60,00°C) deney setine göre ısıtıcı manyetik karıştırıcıda (Weightlab WN-H550) her bir deney için ayarlanmıştır. Duvar materyali olarak Arap zıncı (%12,50 a/h) ve jelatin (%12,50 a/h) 1:1 oranında kullanılmıştır. İlk aşamada deney setinden oluşturulan sıcaklığa (50,00°C – 60,00°C) getirilen deney ortamında kabak çekirdeği yağı hazırlanan jelatin çözeltisi ile 20,00 dakika süreyle karıştırılmıştır. Karışıma surfaktan madde olarak (%0,50 a/h) olarak hazırlanan sodyum dodesil sülfat (SDS) eklenerek 20,00 dakika daha karıştırılmıştır. Arap zıncı (%12,50 a/h) eklenerek karıştırılmaya 20,00 dakika daha devam edilmiştir. Daha sonra (%20,00 h/h) asetik asit çözeltisiyle karışımın pH değeri deney setinden elde edilen değere (pH 3,80-4,20) ayarlanmıştır ve 90,00 dakika daha 400,00 rpm'de karıştırılmıştır. Sürenin sonunda ısıtıcı kapatılarak 300,00 mL soğuk deiyonize su ve (%10,00 h/h) 3,00 mL glutaraldehit karışıma eklenmiştir. Aynı zamanda behere dışarıdan buz takviyesi yapılmıştır. Isıtıcının kapatılması, soğuk deiyonize su eklenmesi ve buz takviyesinin amacı çözelti sıcaklığının ani olarak düşürülmek istenmesidir. Sıcaklık düşmesi dijital termometre ve ısıtıcının probu ile kontrol edilmiştir. Bu aşamada 400,00 rpm'de karıştırılmaya devam edilmiştir. Toplam karışım süresi 4,50 saate tamamlanarak, (%10,00 a/h) sodyum hidroksit çözeltisiyle karışımın pH değeri 9,00'a ayarlanmıştır. Daha sonra elde edilen karışım bir gün bekletilerek yıkama, süzme, kurutma işlemleri yapılmıştır (Köksal 2016).

## 2.4. Enkapsülasyon Ürünlerinin Karakterizasyonu

YYM yardımıyla oluşturulan deney setinde enkapsüle edilen kabak çekirdeği yağı içeren mikrokapsüller optik mikroskop (Boeco BM-2000) cihazı ile karakterize edilmişlerdir. Cihaz altında gerçekleştirilen bu işlem deneysel aşamada üretilen kapsüllerin büyüklüğü ve şekli hakkında bilgiler vermiştir.

## 2.5. Enkapsülasyon Veriminin Bulunması

Enkapsülasyon verimi hesaplanırken literatürdeki benzer çalışmalar yardımıyla oluşturulan denklem 1 kullanılmıştır. Denklemde %EV, enkapsülasyon verimini, toplam yağ miktarı; her deney için başta kullanılan miktarı bilinen yağ miktarını, yüzey yağı miktarı ise kapsüllenememiş yağ miktarını temsil etmektedir.

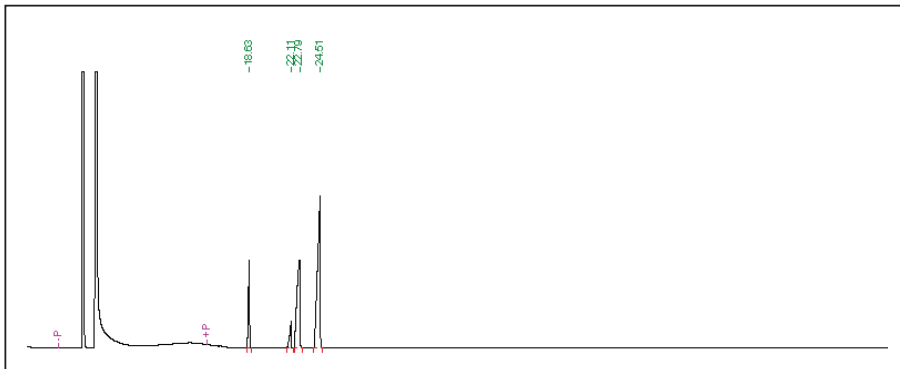
$$\%EV = \frac{\text{Toplam Yağ Miktarı} - \text{Yüzey Yağı Miktarı}}{\text{Toplam Yağ Miktarı}} \times 100 \quad (1)$$

Yüzey yağı miktarı literatürdeki benzer çalışmalardan yola çıkarak oluşturulan formülasyonda; 50 mL n-hekzan içeren bir erlen şişesine kapsül numunesi koyulmuş ve karışım, kapsül yıkımı olmadan ve yapısı bozulmadan 10,00 dakika boyunca hafifçe çalkalanmıştır. Daha sonra çözelti süzgeç kâğıdı ile süzülüş ve n-hekzan rotary evaporatör kullanılarak buharlaştırılmıştır. Yüzeyde bulunan kabak çekirdeği yağı miktarı gravimetrik olarak hesaplanmıştır. Bu işlemler deney setindeki parametrelere göre üretilen tüm numunelere uygulanmıştır (Ocak 2012, Patrickab vd. 2013, Aziz vd. 2014, Hu vd. 2016).

## 3. Bulgular

### 3.1. Kabak Çekirdeği Yağının GC Analizi Sonuçları

Yapılan GC analizinin kromatogramı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Kabak çekirdeği yağının GC kromatogramı.

Elde edilen sonuçlar ile deneylerde kullanılan kabak çekirdeği yağının içerdiği yağ asitleri ve Abdel-Rahman (2006) adlı yazarın yaptığı çalışmada belirttikleri yağ asitleri miktarları birbirine yakın bulunmuştur ve Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Kabak çekirdeği yağının GC analizi sonuçları.

Yağ Asidi (%)	Kullanılan kabak çekirdeği yağı	Abdel-Rahman (2006)
Palmitik Asit	12,48	11,50
Stearik Asit	5,62	7,00
Oleik Asit	32,69	31,20
Linoleik Asit	49,21	47,00

### 3.2. Deneysel Tasarımın Oluşturulması ve Yorumlanması

Kabak çekirdeği yağının enkapsülasyonu için deney setleri YYM ile iki bağımsız değişken (sıcaklık (A), pH (B)) yardımı ile oluşturulmuştur. Yapılan deneylerden hesaplanan enkapsülasyon verimleri cevap yanıtı olarak YYM'e girilerek analiz edilmiştir. Analiz sonucu elde edilen enkapsülasyon verimini gösteren eşitlik denklem 2'de verilmiştir.

$$\%EV = (-3104,35) + (68,20 * A) + (606,99 * B) - (0,53 * A * A) - (59,21 * B * B) - (2,02 * A * B) \quad (2)$$

Oluşturulan deney seti, cevap yanıtı ve denklem 2'den tahmin edilen (hesaplanan) değerler Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde oluşturulan deney setine girilen deneysel verimler ile tahmin edilen verim değerleri birbirine yakın bulunmuştur. Elde edilen deneysel sonuçlara uygulanan ANOVA testinin sonuçları Çizelge 3'te gösterilmiştir. ANOVA analizi sonucunda elde edilen model önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Modelde doğrusallık, kare ve iki yönlü etkileşim önemlidir ( $p < 0,05$ ). Uyum eksikliği değeri 0,11 ( $p > 0,05$ ) bulunmuştur.  $R^2$  değeri %99,44,  $R^2$  (düzeltilmiş) değeri %99,04,  $R^2$  (tahmin edilen) değeri %96,81 bulunmuştur.

**Çizelge 2.** RSM ile oluşturulan deney seti ve tahmin edilen değerler.

No	Sıcaklık	pH	DeneySEL %Verim	Tahmin Edilen %Verim
1	50,00	3,80	48,89	47,49
2	47,93	4,00	37,85	39,44
3	55,00	4,00	77,86	78,43
4	55,00	4,00	77,58	78,43
5	60,00	3,80	69,59	69,14
6	55,00	4,00	78,10	78,43
7	55,00	4,00	78,96	78,43
8	60,00	4,20	74,48	74,05
9	55,00	4,28	79,12	80,02
10	55,00	3,72	66,43	67,36
11	62,07	4,00	64,10	64,35
12	55,00	4,00	79,63	78,43
13	50,00	4,20	61,85	60,47

**Çizelge 3.** RSM için ANOVA sonuçları.

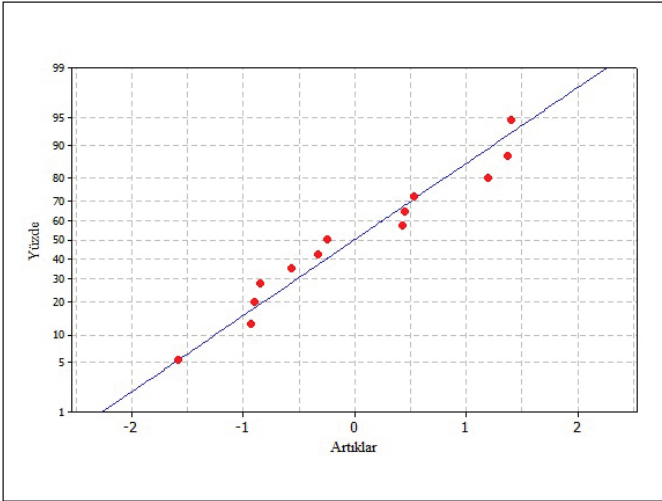
	sd	Ardışık Kareler Toplamı	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-Değeri	P-Değeri
<b>Model</b>	5	2024,29	2024,29	404,86	249,51	0,00
<b>Doğrusal</b>	2	780,71	780,71	390,36	240,57	0,00
A	1	620,59	620,59	620,59	382,46	0,00
B	1	160,12	160,12	160,12	98,68	0,00
<b>Kare</b>	2	1227,30	1227,30	613,65	378,18	0,00
A*A	1	1188,28	1224,42	1224,42	754,59	0,00
B*B	1	39,02	39,02	39,02	24,05	0,00
<b>2-Yönlü Etkileşim</b>	1	16,28	16,28	16,28	10,03	0,02
A*B	1	16,28	16,28	16,28	10,03	0,02
<b>Hata</b>	7	11,36	11,36	1,62		
Uyum Eksikliği	3	8,49	8,49	2,83	3,95	0,11
Saf Hata	4	2,87	2,87	0,72		
<b>Toplam</b>	12	2035,65				
<b>R<sup>2</sup></b>			<b>R<sup>2</sup>(düzeltilmiş)</b>		<b>R<sup>2</sup>(tahmin edilen)</b>	
%99,44			%99,04		%96,81	

Artıkların dağılımı incelenerek normallik testi grafiği aşağıda Şekil 2'de gösterilmiştir.

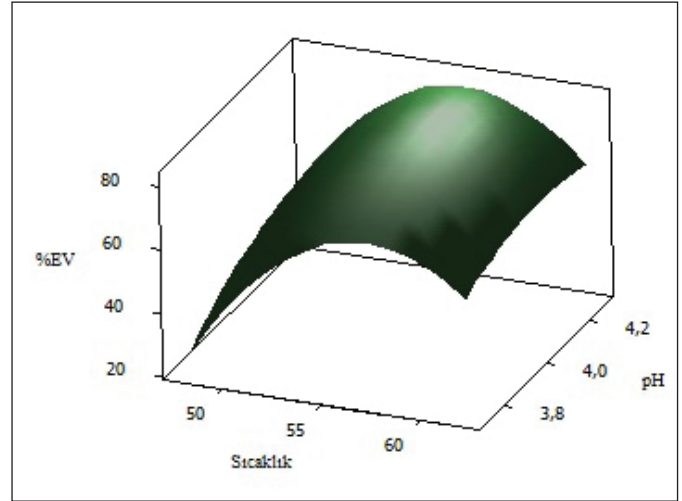
Grafiğin analizinde artıkların ortalaması ve standart sapması 0,97 (n=13) bulunmuştur. Normallik testlerinden biri olan AD testine göre p=0,43 (p>0,05) bulunmuştur. Artıklar normal dağılım göstermektedir. Kompleks koaservasyon yöntemi ile kabak çekirdeğinin enkapsülasyonu için seçilen iki parametrenin (sıcaklık, pH) bir fonksiyonu olarak %EV üç boyutlu yüzey grafiği Şekil 3'te gösterilmiştir.

### 3.3. Enkapsüle Edilen Kabak Çekirdeği Yağının Morfolojik Analizleri

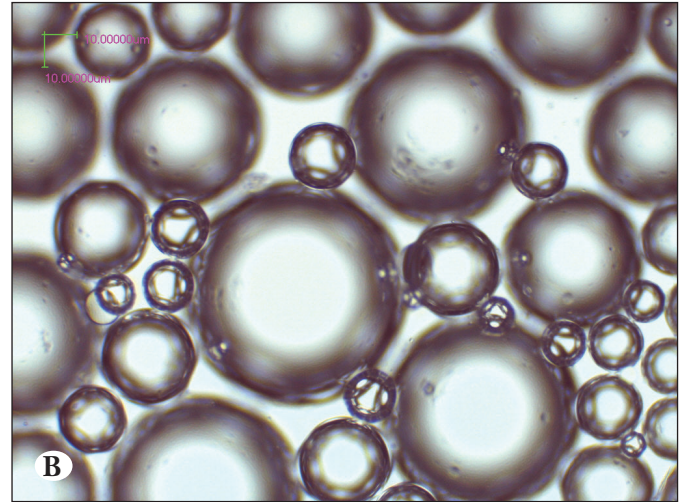
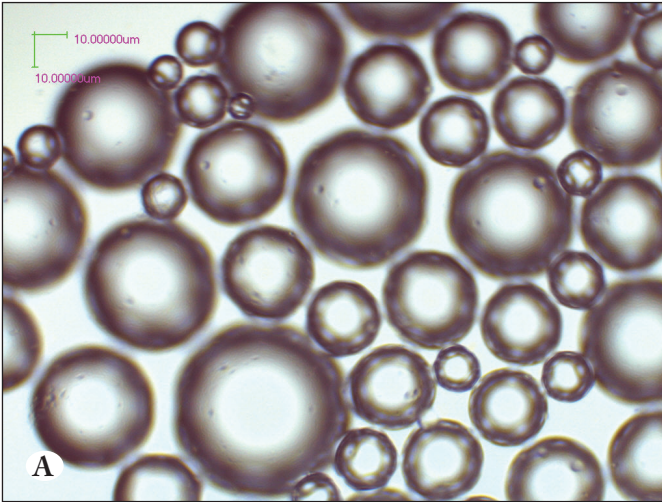
Deney setindeki parametrelere göre deney yapılarak üretilen mikro kapsüller optik mikroskop cihazı altında farklı büyütme oranlarında incelenmiştir. Numunelerin rastgele bir yerinden alınan 0,05 – 0,10 g aralığındaki numune cihazda görüntülenmiştir. Yapılan ölçümlerde kapsüller mikron (µm) boyutunda ölçülmüştür. En yüksek verim elde edilen 12 numaralı deneyden elde edilen optik mikroskop görüntüsü Şekil 4A, B'de gösterilmiştir. Görüntülerdeki mikro-kapsüllerin yuvarlak, düzgün şekilli oldukları gözlenmiştir.



Şekil 2. Artıkların olasılık grafiği.



Şekil 3. Sıcaklık (X eksen) ve pH (Y eksen) değişimine göre %EV'nin (Z eksen) değişimi.



Şekil 4. Yüksek verimli numuneden alınan optik mikroskop görüntüsü.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Çalışma sonucunda yanıt yüzey metodolojisi ile oluşturulan deney setlerinde üretilen kapsüller enkapsülasyon verimi açısından analiz edilmiştir. Deney setimizde en yüksek enkapsülasyon verimi 12 numaralı deneyde %79,63 olarak bulunmuştur. Bu deneyin sıcaklığı 55,00, pH'ı 4,00'tür. Yanıt yüzey metodolojisi için ANOVA sonuçları incelendiğinde;  $R^2$ =%99,44, uyum eksikliği değeri 0,11 bulunmuştur. Uyum eksikliği değeri ( $p>0,05$ ) model ile verinin uyduğunu göstermektedir. Şekil 2'deki 3 boyutlu yüzey grafiği incelendiğinde sıcaklık yaklaşık olarak 52,50-57,50 aralığında, pH yaklaşık 3,90-4,10 aralığında grafiğin tepe noktalarını oluşturmuştur. Sıcaklığın çok düşük veya çok yüksek olmasının enkapsülasyon verimini düşürdüğü gözlenmiştir. Aynı

şekilde pH'taki değişiminde verimi etkilediği gözlenmiştir. Sıcaklık ve pH'ının belirli aralıklar içerisinde birlikte artması veya azalması %EV'yi etkilemiştir. Timilsena vd. (2019) yaptıkları çalışmada jelatin ve Arap zamkının optimum pH'ını 4,0 ve polimer oranını 1:1 olarak bildirmişlerdir. Shaddel vd. (2018) jelatin ve Arap zamkı duvar materyallerini kullanarak kompleks koaservasyon metoduyla yapmış oldukları benzer çalışmada da farklı polimer oranlarıyla enkapsülasyon deneylerini gerçekleştirmişler, en iyi sonucun polimer oranları 1:1 olan deneylerinde gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlarda literatürdeki bu benzer çalışmalardaki sonuçlarla benzerlik göstermiş, jelatin/Arap zamkı en yüksek %EV'yi pH 4,00 olan 12 numaralı deneyde bulunmuştur. 9 numaralı deneyde

(55,00 °C, pH=4,00) %EV=79,12 bulunmuştur. Bulduğumuz en yüksek değer olmamasına rağmen 12 numaralı deneyde bulunan en yüksek %79,63'lük değere yakındır. Aziz vd. (2014) yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Aynı parametrelerde yapılan veya yakın parametrelerde yapılan deneyler arasındaki küçük farklılıkların kimyasal bir yöntem olan kompleks koaservasyon yönteminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sohail vd. (2018) yaptıkları çalışmada kabak çekirdeği yağını sodyum aljinat duvar materyali ile ekstrüzyon yöntemiyle kapsülleyerek makro-küreler elde etmişlerdir. Çalışmada bulunan enkapsülasyon verimi (%91,9) bizim çalışmamızdan fazladır, ancak kullanılan yöntem, duvar materyalleri ve elde edilen kapsüllerin boyutları farklıdır.

Optik mikroskoptan elde edilen görüntüler incelendiğinde elde edilen kapsüllerin düzgün şekilli oldukları ve yapılan ölçümler ile mikron boyutunda olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Mikrokapsüllerin şekilsel özellikleri daha önce greyfurt kabuğu yağı ve shea yağı ile yapılan çalışmalarımızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Bayram vd. 2019, Köksal vd. 2019). Kabak çekirdeği yağının enkapsülasyonundan üretilen mikrokapsüller gıda, ilaç, kozmetik gibi alanlarda kullanılabilir. Çalışmamızda kullanılan deney tasarımı elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Bu bağlamda kabak çekirdeği yağının enkapsülasyonunda ileriki çalışmalara yol gösterici olacaktır.

## 5. Kaynaklar

- Abdel-Rahman, M. K., 2006.** Effect of pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.) diets on benign prostatic hyperplasia (BPH): chemical and morphometric evaluation in rats. *World J Chem*, 1(1), 33-40.
- Acharya, A. S., Prakash, A., Saxena, P., Nigam, A., 2013.** Sampling: Why and how of it. *Indian Journal of Medical Specialties*, 4(2), 330-333, DOI: 10.7713/ijms.2013.0032
- Aksoylu Özbek, Z. 2018.** Kabak Çekirdeği Yağının Mikroenkapsülasyonunun Optimizasyonu. Doktora Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 290s.
- Aziz, S., Gill, J., Dutilleul, P., Neufeld, R., Kermasha, S., 2014.** Microencapsulation of krill oil using complex coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 31(8), 774-784, DOI: 10.3109/02652048.2014.932028.
- Bayram O., Köksal E., Danaş F., Göde F., Erzenin Ö. U., 2019.** A Statistical Investigation of the Effects of Different Surfactant Concentrations on the Capsule Size in the Encapsulation of Grapefruit (*Citrus Paradisi* Macf.) Peel Oil By Complex Coacervation Method. 2<sup>nd</sup> International Health Science And Life Congress, 24-27 April, Burdur, 486-497.
- Caili, F. U., Huan, S., Quanhong, L. I., 2006.** A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2), 70-77, DOI: 10.1007/s11130-006-0016-6.
- Evranuz, E. Ö., Arduzlar-Kağan, D., 2015.** Winter Squash and Pumpkins. In Handbook of Vegetable Preservation and Processing, CRC Press, 692-711.
- Gohari, A. A., Farhoosh, R., Haddad, K. M., 2011.** Chemical composition and physicochemical properties of pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* Subsp. *pepo* Var. *Styriaca*) grown in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 1053-1063.
- Hu, L., Zhang, J., Hu, Q., Gao, N., Wang, S., Sun, Y., Yang, X. 2016.** Microencapsulation Of *Brucea Javanica* Oil: Characterization, Stability And Optimization Of Spray Drying Conditions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 36, 46-54, DOI: 10.1016/j.jddst.2016.09.008
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., Sravan, G. Y., 2010.** Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187-197, DOI: 10.3109/02652040903131301.
- Köksal, E. 2016.** Kompleks Koaservasyon Yöntemi İle E Vitamini İçeren Mikrokapsül Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 69s.
- Köksal, E., Bayram O., Danaş, F., Göde, F., Aktaş A. H., 2019.** Shea Yağının Mikrokapsülenmesi: Optimizasyon Ve Karakterizasyon Çalışması. 2. Uluslararası Sağlık Bilimleri Ve Yaşam Kongresi, 24-27 Nisan, Burdur, 737-748.
- Kwak, H. S., 2014.** Nano- and Microencapsulation for Foods. Wiley & Sons, 1-14, DOI: 10.1002/9781118292327.
- Murkovic, M., Pfannhauser, W., 2000.** Stability of pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(10), 607-611, DOI: 10.1002/1438-9312(200010)102:10<607:AID-EJLT607>3.0.CO;2-E
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M., 2016.** Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. John Wiley & Sons.
- Nederal, S., Petrović, M., Vincek, D., Pukey, D., Škevin, D., Kraljić, K., Obranić, M., 2014.** Variance of quality parameters and fatty acid composition in pumpkin seed oil during three crop seasons. *Industrial Crops and Products*, 60, 15-21, DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.05.044
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., Durrieu, V., 2014.** Comparative study of encapsulation of vitamins with native and modified soy protein. *Food Hydrocolloids*, 38, 172-179, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.011.
- Ocak, B., 2012.** Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil. *Journal of Environmental Management*, 100, 22-28, DOI: 10.1016/j.jenvman.2012.01.026

- Patrickab, K. E., Abbasa, S., Lva, Y., Ntsamacd, I. S. B., Zhanga, X. 2013.** Microencapsulation By Complex Coacervation Of Fish Oil Using Gelatin/SDS/NaCMC. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 23(1), 17-25.
- Rajam, R., Anandharamakrishnan, C., 2015.** Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 773-780, DOI: 10.1016/j.lwt.2014.09.062
- Sharifi, F., Hadizadeh, F., Sadeghi, F., Hamed Mosavian, M. T., Zarei, C., 2016.** Process Optimization, Physical Properties, and Environmental Stability of an  $\alpha$ -Tocopherol Nanocapsule Preparation Using Complex Coacervation Method and Full Factorial Design. *Chemical Engineering Communications*, 203(1), 64-74, DOI: 10.1080/00986445.2014.973941
- Shaddel, R., Hesari, J., Azadmard-Damichi, S., Hamishehkar, H., Fathi-Achachlouei, B., Huang, Q., 2018.** Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1800-1810, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.044
- Sohail, A., Abbasi, K. S., Arif, M., & Najam, F. (2019).** Encapsulation of pumpkin seed oil in alginate capsules. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 32(1), 20. DOI: 10.17582/journal.pjar/2019/32.1.20.
- Stevenson, D. G., Eller, F. J., Wang, L., Jane, J. L., Wang, T., Inglett, G. E., 2007.** Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4005-4013, DOI: 10.1021/jf0706979
- Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., Barrow, C. J., 2019.** Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1276-1286, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144
- Veronezi, C. M., Jorge, N., 2012.** Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds for use in food. *Journal of Food Science*, 77(6), 653-657, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02736.x
- Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G. B. K. S., Yadav, H., 2010.** Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 184-190, DOI: 10.1017/S0954422410000107
- Yanmaz, R., Düzeltir, B., 2003.** Çekirdek kabağı yetiştiriciliği. *Ekin Dergisi*, 7(6), 22-24.
- Zuidam, N. J., Shimoni, 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*, pp. 3-29, DOI: 10.1007/978-1-4419-1008-0\_2