

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RUŞEYM YAĞININ NANOENKAPSÜLASYONU VE
GIDALARDA KULLANIM OLANAKLARININ ARTIRILMASI**

Gözde KUTLU

**DOKTORA TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

**Danışman
Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK**

Mart, 2021

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RUŞEYM YAĞININ NANOENKAPSÜLASYONU VE GIDALARDA
KULLANIM OLANAKLARININ ARTIRILMASI

Gözde KUTLU tarafından hazırlanan tez çalışması 06.03.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa YAMAN, Üye
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Osman GÜL, Üye
Kastamonu Üniversitesi

Danışmanım Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Ruşeym Yağının Nanoenkapsülasyonu ve Gıdalarda Kullanım Olanaklarının Artırılması başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Gözde KUTLU

İmza

Aileme

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmalarım esnasında akademik bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen her zaman yol gösteren, akademik çalışmalarım için imkan sunan danışman hocam Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK'e sonsuz saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında analizlerin yapılmasına katkıda bulunan Arş. Gör. Fatih BOZKURT, Arş. Gör. Perihan Kübra ÇİÇEK, Arş. Gör. Nahide Seray KAHRAMAN, Kübra Feyza DOĞAN ve Kübra ÖZKAN'a, aynı zamanda saygıdeğer juri üyelerim Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK, Doç. Dr. Mustafa YAMAN, Doç. Dr. Salih KARASU ve Doç. Dr. Osman GÜL'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında sabır ve sevgisiyle daima yanımda olan eşim Mustafa KUTLU ve biricik kızım İpek KUTLU'ya gönül dolusu teşekkürlerimi sunarım.

Gözde KUTLU

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
TABLO LİSTESİ	xvi
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxii
1 Giriş	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
2 Kuramsal Temeller	5
2.1 Buğday	5
2.1.1 Buğday Ruşeym Yağı	6
2.2 Emülsiyonlar	9
2.3 Nanoteknoloji	14
2.3.1 Enkapsülasyon	14
2.3.2 Nanoemülsiyon	24
2.4 Isırgan	27
2.5 Polisakkaritler	29
2.6 Kitosan	33
2.7 Ovalbumin	35
2.8 Mayonez	36
2.9 Yanıt Yüzey Metodu (YYM)	39
2.10 BR ve BRY ile İlgili Literatürde Yapılan Çalışmalar	40
3 Materyal ve Yöntem	48
3.1 Materyal	48

3.2	Yöntemler	48
3.2.1	Isırgan Tohumlarından Gam Eldesi	50
3.2.2	Isırgan Tohumundan Üretilen Gamin Ekstraksiyon Veriminin Optimizasyonu	52
3.2.3	ITG'nin Karakterizasyonu	54
3.2.4	Nanopartikül Üretim Koşullarının Optimizasyonu	59
3.2.5	Mayonez Denemeleri	67
3.2.6	İstatistiksel Analizler	78
4	Araştırma Bulguları	79
4.1	ITG Ekstraksiyon Verimi	79
4.2	ITG'nin Karakterizasyonu	86
4.2.1	ITG'nin Fizikokimyasal Özellikleri	86
4.2.2	ITG'nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi	88
4.2.3	FT-IR Analizi	89
4.2.4	Monosakkarit Kompozisyonu	90
4.2.5	DSC Analizi	90
4.2.6	Reolojik Analizler	91
4.3	Nanopartikül Üretim Koşullarının Optimizasyonu	99
4.3.1	Süperkritik Akışkan Yöntemiyle Ekstrakte Edilen BRY'lerin Verim Miktarının Belirlenmesi	99
4.3.2	OVA-ITG-KS (OIK) Nanopartiküllerinin Üretimi	99
4.3.3	Optimum Koşullarda Üretilen Ruşeym Yağı Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu	107
4.4	BRYN İlavesinin Mayonezin Özellikleri Üzerine Etkisi	118
4.4.1	Mayonez Örneklerinin Kuru Madde İçeriği Ölçümleri	119
4.4.2	Mayonez Örneklerinin pH Ölçümleri	120
4.4.3	Mayonez Örneklerinin Renk Ölçümleri	121
4.4.4	Mayonez Örneklerinin Emülsiyon Stabilitesi	125
4.4.5	Mayonez Örneklerinin Peroksit Analizleri	127
4.4.6	Mayonez Örneklerinin Serbest Yağ Asitliği	128
4.4.7	Mayonez Örneklerinin Zeta Potansiyeli Değerleri	130
4.4.8	<i>İn vitro</i> Biyoerişebilirlik Analizleri	132
4.4.9	Mayonez Örneklerinin Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi . . .	140
4.4.10	Mayonez Örneklerinin Duyusal Değerlendirmesi	150
5	Sonuç ve Öneriler	152
	KAYNAKÇA	155

SİMGE LİSTESİ

ω	Açısal Frekans
n	Akış Davranış İndeksi
E_a	Aktivasyon Enerjisi
η_{rel}	Bağıl Viskozite
T_g	Camsı Geçiş Sıcaklık Değeri
R^2	Determinasyon Katsayısı
G'	Elastik Modül
μ	Elektroforetik Hareketlilik
H_e	Emülsiyon Hacmi
ΔH	Entalpi
σ	Kayma Gerilimi
γ	Kayma Hızı
a^*	Kırmızılık veya Yeşillik Değeri
K	Kıvam Katsayısı
η^*	Kompleks Viskozite
p	Olasılık
T_p	Pik Sıcaklık Değeri
T_0	Pikin Başlangıç Sıcaklık Değeri
T_e	Pikin Bitiş Sıcaklık Değeri
L^*	Renk Parlaklığı Değeri
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
b^*	Sarılık veya Mavilik Değeri
η_{sp}	Spesifik Viskozite

$\pm$	Standart sapma
T_h	Toplam Hacim
ΔE^*	Toplam Renk Farkı
G_i	Ürünün Başlangıç Durumundaki Değeri
F	Varyans Analizinin Test İstatistiği
G''	Viskoz Modul
G_0	Viskoz Modüllerin Başlangıç Değeri
η	Viskozite
M_v	Viskozite Ortalama Moleküler Ağırlığı
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
3-ITT	3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test
ANOVA	Varyans Analizi
AS	Asit Sayısı
ATR	Azaltılmış Toplam Reflektans
BR	Buğday Ruşeymi
BRY	Buğday Ruşeymi Yağı
BRYN	Buğday Ruşeym Yağı Yüklü Nanopartiküller
cm	Santimetre
CUPRAC	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi
dk	Dakika
DI	Desilitre
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrihidrazil
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EE	Enkapsülasyon Etkinliği
EK	Emülsiyon Kapasitesi
ES	Emülsiyon Stabilitesi
FS	Fitosterol
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GAL	Galaktoz

GRAS	Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
HMF	Hidroksimetilfurfural
ITG	Isırgan Tohumu Gamı
J	Joule
K	Kekik
KCl	Potasyum Klorür
kg	Kilogram
kGy	Kilo Gray
kHz	KiloHertz
Kj	Kilojoule
KOK	Köpük Oluşturma Kapasitesi
KS	Kitosan
L	Litre
m	Metre
m ²	Metrekare
MAN	Mannoz
meq	Miliekivalen
mg	Miligram
mL	Mililitre
mV	Milivolt
N	Normal
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
OD	Optik Yoğunluk
OIK	Ovalbumin-Isırgan Tohumu Gamı-Kitosan
OVA	Ovalbumin
Pa	Paskal

PDI	Parçacık Büyüklüğü Dağılımı
PEN	Polietilen Naftalat
PET	Polietilen Tereftalat
pI	İzoelektrik Nokta
rpm	Dakikada Gerçekleşen Dönüş (Devir) Sayısı (Revolutions Per Minute)
s	Saniye
S1	Sadece BRY İçeren Mayonez
S2	Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez
S3	Sadece BRYN İçeren Mayonez
sa	Saat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraktörü
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit
v/w	Hacim/Ağırlık
w/w	Hacim
W	Watt
YYM	Yanıt Yüzey Metodu

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Buğday tanesinin boyuna ve enine kesiti [17]	6
Şekil 2.2	Gıda emülsiyonları çeşitleri ve örnekleri	9
Şekil 2.3	(a) Yağ içinde su (b) Su içinde yağ (c) W/O/W (d) O/W/O emülsiyonlarının şematik gösterimi [45]	10
Şekil 2.4	O/W emülsiyonları için destabilizasyon mekanizmaları [53]	11
Şekil 2.5	Polimer varlığında tükenme flokülasyonunun şematik gösterimi [45]	13
Şekil 2.6	Nanopartikül üretimi için (a) “top-down” ve (b) “bottom-up” yaklaşımlarının şematik gösterimi [58]	15
Şekil 2.7	Fonksiyonel gıda üretimi için dağıtım sistemi üretim aşamaları [58]	16
Şekil 2.8	Nanotaşıyıcı sistemlerde biyoaktif salım modelleri [43]	16
Şekil 2.9	Enkapsülasyon çeşitleri	17
Şekil 2.10	Gıda ingredientlerinin mikrokapsüllenmesinin şematik olarak tanımlanması ile birlikte çekirdek ve duvar malzemeleri, duvar malzemesi özellikleri, amaçları ve mikrokapsülleme işleminin farklı teknikleri ve örnekleri [43]	18
Şekil 2.11	Kapsül türleri [64]	19
Şekil 2.12	Nanoküre (matriks) ya da nanokapsül [65]	19
Şekil 2.13	Ultrasonikasyon yolu ile emülsiyon boyutunun azalması [95]	27
Şekil 2.14	Isırgan bitkisi ve tohumu	28
Şekil 2.15	Gamların sınıflandırılması [118]	33
Şekil 2.16	Kitinin kitosana dönüşümü [121]	34
Şekil 3.1	Gerçekleştirilen çalışmaların genel gösterimi	49
Şekil 3.2	Isırgan tohumlarından gam ekstraksiyonunun aşamaları	50
Şekil 3.3	Isırgan tohumu gamı ile ilgili gerçekleştirilen analizlerin şematize edilmesi	51
Şekil 3.4	Optimum koşullarda ısırgan tohumu gamı üretimi akış şeması	54
Şekil 3.5	OVA-ITG-KS (OIK) kompleksi ve BRY yüklü nanopartiküllerin (BRYN) üretimi ve partiküllerle ilgili gerçekleştirilen analizler	60
Şekil 3.6	SFE ile BRY ekstraksiyonu	61
Şekil 3.7	Optimum koşullarda nanopartikül üretimi akış şeması	63
Şekil 3.8	Sitotoksosite analizinden görseller	66

Şekil 3.9	Mayonez örneklerinin üretimi ve örneklerde yapılan analizler	68
Şekil 3.10	<i>In vitro</i> biyoerişebilirlik test aşamaları	73
Şekil 3.11	Fenolik madde miktarı tespiti için gallik asit cinsinden standart kalibrasyon eğrisi	75
Şekil 3.12	DPPH için Troloks cinsinden standart kalibrasyon eğrisi	75
Şekil 3.13	CUPRAC için Troloks cinsinden standart kalibrasyon eğrisi	76
Şekil 3.14	Duyusal değerlendirme için panelistlere uygulanan anket	77
Şekil 4.1	ITG ekstraksiyon veriminde süre (sa), sıcaklık (°C), su (mL): tohum (g) oranı ve pH'ı gösteren yanıt yüzeyi grafikleri (kontur grafikleri) .	84
Şekil 4.2	ITG ekstraksiyon veriminde süre (sa), sıcaklık (°C), su (mL): tohum (g) oranı ve pH'ı gösteren yanıt yüzeyi grafikleri (3D grafikleri) . . .	85
Şekil 4.3	ITG'nin FT-IR spektrumu	89
Şekil 4.4	Isırgan tohumu gamının DSC termogramı	90
Şekil 4.5	ITG'nin kayma hızına karşı kayma gerilimi ve kayma hızına karşı görünür viskozite grafikleri (0,5 w/v)	92
Şekil 4.6	ITG'nin sıcaklığa karşı viskozite grafiği (0,5 w/v)	93
Şekil 4.7	ITG'nin açısal frekansa karşı G' (elastik modül), G'' (viskoz modül) ve η^* (kompleks viskozite) grafiği (0,5 w/v)	94
Şekil 4.8	ITG'nin süreye karşı G' (elastik modül) ve G'' (viskoz modül) grafiği (0,5 w/v)	97
Şekil 4.9	Farklı kaplama materyali oranları ve pH değerlerine bağlı olarak nanopartiküllerin zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarının kontur ve üç boyutlu grafik çizimleri ile gösterimi	103
Şekil 4.10	Farklı kaplama materyali oranları ve pH değerlerine bağlı olarak nanopartiküllerin partikül boyutu ölçüm sonuçlarının kontur ve üç boyutlu grafik çizimleri ile gösterimi	106
Şekil 4.11	OIK Kompleksi ve BRYN'nin akış davranış reolojik özelliklerine ilişkin reogram	111
Şekil 4.12	BRY, OIK Kompleksi ve BRYN'nin FT-IR spektrumları	113
Şekil 4.13	OIK Kompleksi ve BRYN'nin DSC termogramları	114
Şekil 4.14	OIK Kompleksi (1), yıkanmamış BRYN (2) ve yıkanmış BRYN (3)'nin SEM mikrografı	115
Şekil 4.15	Fibroblast hücrelerinin faz kontrast mikroskobu görüntüsü	115
Şekil 4.16	Mayonez örneklerinin 0, 30, 60 ve 90. günlerde emülsiyon stabilitesinin değerlendirilmesi (Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez) . . .	126
Şekil 4.17	Mayonez örneklerinin kayma hızına karşı kayma gerilimi reogramları	141
Şekil 4.18	Mayonez örneklerinin sıcaklığa bağlı olarak viskozitesindeki değişimi	142

Şekil 4.19 Mayonez örneklerinin açısal frekansa karşı G' ve G'' değerleri	144
Şekil 4.20 Mayonez örneklerinin süreye bağlı olarak G' ve G'' değerlerindeki değişimler	148
Şekil 4.21 Taze mayonez örneklerinin duyuşal analiz sonuçları	150

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	Mikroenkapsülasyon tekniklerine genel bir bakış [75]	21
Tablo 2.2	Isırgan tohumunun (<i>Urtica dioica L.</i>) nem ve yağ asidi içeriği (%) [98]	29
Tablo 3.1	ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için Box-Behnken deneme dizaynının deneysel şartları	52
Tablo 3.2	ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için oluşturulan Box-Behnken deneme dizaynı	52
Tablo 3.3	Ovalbumin (mL), ITG ve kitosan miktarının (mL) oranı ve pH'nın boyut ve zeta potansiyeli değerlerine etkisinin belirlenmesi için Box-Behnken deneme dizaynının deneysel koşulları	62
Tablo 3.4	Mayonez örneklerinin formülasyonları	69
Tablo 3.5	Simüle tükürük, gastrik ve bağırsak sıvıları	71
Tablo 4.1	Box-Behnken deneme dizaynı ve ITG verilerinin her bir noktası için deneysel sonuçlar	79
Tablo 4.2	Karesel modele ilişkin elde edilen varyans analiz sonuçları	81
Tablo 4.3	Isırgan tohumundan minimum, orta ve maksimum gam ekstraksiyon verimi için Box-behnken Deneme Dizaynı ile elde edilen deneysel şartlar	83
Tablo 4.4	ITG'nin fizikokimyasal, kompozisyonel ve fonksiyonel özellikleri	86
Tablo 4.5	ITG'nin DSC termogramı için bölümlerin T_o , T_p , T_e and ΔH değerleri	91
Tablo 4.6	ITG'nin Ostwald de Waele ve Arrhenius denklemi parametreleri (0,5 w/v)	92
Tablo 4.7	Isırgan tohumu gamının G' (elastik modul), G'' (viskoz modul) ve η^* (kompleks viskozite) parametreleri (0,5 w/v)	95
Tablo 4.8	Isırgan tohumu gamının Second Order Structural Model (İkinci Dereceden Yapısal Kinetik Model) parametreleri (0,5 w/v)	98
Tablo 4.9	Farklı pH ve kaplama materyalleri miktarlarına bağlı olarak elde edilen OIK nanopartiküllerinin zeta potansiyeli değerleri ve partikül boyutları	100
Tablo 4.10	Zeta potansiyeli değerleri için Karesel Modele göre analiz varyans sonuçları	101

Tablo 4.11 Partikül boyutu değerleri için Kübik Modele göre analiz varyans sonuçları	104
Tablo 4.12 OIK Kompleksi ve BRYN'nin zeta potansiyeli değerleri	108
Tablo 4.13 OIK Kompleksi ve BRYN'nin partikül boyutu değerleri	109
Tablo 4.14 %2,5, 3, 3,5, 4 ve 4,5 oranında BRY ilavesinin EE (%)'ye etkisi . . .	110
Tablo 4.15 Newton modele göre hesaplanan determinasyon katsayısı ve kıvam katsayısı değerleri	112
Tablo 4.16 Farklı konsantrasyonlardaki OVA, ITG, KS, OIK Kompleksi, BRYN ve BRY'nin L929 fare fibroblast hücre hattının canlılık üzerine etkisi . .	116
Tablo 4.17 Taze mayonez örneklerinin yüzde nem içerikleri	120
Tablo 4.18 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca pH değerleri	120
Tablo 4.19 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca renk değerleri (L^* , a^* ve b^*)	123
Tablo 4.20 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca renk değerleri (ΔL^* , Δa^* , Δb^* ve ΔE^*)	125
Tablo 4.21 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinde depolama süresi boyunca peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler (mEq kg^{-1})	127
Tablo 4.22 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca asit sayısı değerleri (mg KOH g^{-1})	129
Tablo 4.23 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca zeta potansiyeli değerleri (mV)	131
Tablo 4.24 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve <i>in vitro</i> gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/g)	134
Tablo 4.25 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve <i>in vitro</i> gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen DPPH yöntemine göre antioksidan kapasite değerleri (mg TEAC /g)	137
Tablo 4.26 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve <i>in vitro</i> gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen CUPRAC yöntemine göre antioksidan kapasite değerleri (mg TEAC /g)	139
Tablo 4.27 Taze mayonez örneklerinin Power-Law Model Parametreleri	142
Tablo 4.28 Taze mayonez örneklerinin Arrhenius denklemi parametreleri	143

Tablo 4.29 Mayonez örneklerinin depolama modülü, kayıp modülü ve kompleks viskozite parametreleri	146
Tablo 4.30 Depolama ve Kayıp modülün Second order structural model parametreleri ve yüzde deformasyon - toparlanma yüzdeleri	149
Tablo 4.31 BRY, BRYN veya OIK içeren mayonez örneklerinin duyusal değerlendirmesi	150

Ruşeym Yağının Nanoenkapsülasyonu ve Gıdalarda Kullanım Olanaklarının Artırılması

Gözde KUTLU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Yeni bir potansiyel hidrokolloid kaynağı olan ısırgan tohumu gamı (ITG); verim, fizikokimyasal, reolojik, fonksiyonel ve termal özellikler açısından karakterize edilmiştir. Yanıt Yüzeyi Metodu'na göre, maksimum ekstraksiyon verimi %6,17 olarak belirlenmiştir. Gamın yapısal içeriğini açıklığa kavuşturmak için FT-IR analizi ve monosakkarit bileşimi tayini de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ITG'nin %8,48 nem, %10,81 toplam kül, %2,89 toplam protein, %1,15 toplam yağ ve %76,67 toplam karbonhidrat miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir. FT-IR analizi, gamlara iyonların bağlama kabiliyetini veren karboksil gruplarının varlığını ortaya koymuştur. Ayrıca, Mannoz/Galaktoz oranı 1,07 olarak hesaplanmıştır ve bu oran gamın suda çözünürlüğü hakkında bilgi vermektedir. DSC analizi, ITG'nin termal işlemlerde oldukça kararlı olduğunu göstermiştir. Gerçek viskozite ve ortalama viskozite molekül ağırlığı değerleri sırasıyla $8,56 \pm 0,4$ dL/g ve $1,89 \pm 0,1 \times 10^6$ g/mol olarak belirlenmiştir. ITG'nin emülsiyon kapasitesi, emülsiyon stabilitesi ve köpük oluşturma kapasitesi sırasıyla %48, %40 ve %4 olarak tespit edilmiştir. Dinamik reolojik analizler ITG'nin viskoelastik özelliklere sahip olduğunu ve G' değerinin (depolama modülü) G'' değerinden (kayıp modülü) daha yüksek olduğunu göstermiş ve ITG kayma incelmesi davranışı sergilemiştir.

Bu çalışmada, buğday ruşeym yağı (BRY), kitosan (KS)-ısırgan tohumu gamı (ITG) -ovalbumin (OVA) kullanılarak nanokapsüllenmiştir. Nanoemülsiyon hazırlanmadan önce OVA-ITG-KS (OIK) kompleksinin partikül boyutu ve zeta potansiyel değerleri Box-Behnken tasarımı kullanılarak optimize edilmiştir. Ayrıca, buğday ruşeymi yüklü nanopartiküller (BRYN) için emülsiyon stabilitesi ve enkapsülasyon etkinliği

de belirlenmiştir. Daha sonra zeta potansiyeli, parçacık boyutu dağılımı, termal özellikler, FT-IR, sabit kayma özellikleri ve morfolojik analizler OIK Kompleksi ve BRYN için değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, duvar malzemesine BRY eklenmesiyle zeta potansiyeli değeri artmış, partikül boyutu değeri ise azalmıştır. Enkapsülasyon etkinliği, %2,5-4,5 konsantrasyon aralığında %48,66-71,91 arasında belirlenmiştir. Reolojik ölçümlere göre, nanoemülsiyon örnekleri Newton akış özelliği göstermiştir. OIK Kompleksi ve BRYN endotermik ve ekzotermik pikler sergilemiştir. FT-IR spektrumları, amino ve karboksil gruplarıyla ilişkili piklerde bazı değişikliklerin gözlemlendiğini ortaya koymuştur. SEM görüntüleri, yağın enkapsülasyonunun buruşuk bir yüzey görüntüsü oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Ek olarak, sitotoksite analizi, CH, ITG, OVA, BRY, ITG ve BRYN örnekleri için konsantrasyondaki artışın (0-10 mg/mL) genellikle fibroblast hücrelerinin canlılığında azalmaya yol açtığını göstermiştir.

Bu çalışmanın amaçlarından biri de; BRY, OIK Kompleksi ve BRYN ile zenginleştirilmiş fonksiyonel mayonez üretilmesi ve oda sıcaklığında depolama sırasında depolama süresinin etkilerinin analiz edilmesidir. 0., 30., 60. ve 90. gün; pH, renk ölçümleri, peroksit, serbest yağ asidi, zeta potansiyeli ve emülsiyon stabilitesi analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, taze hazırlanan (0. gün) mayonez numunelerinin nem içeriği, *in vitro* biyoyulaşılabilirlik analizleri, reolojik ölçümleri (sabit kesme, sıcaklık taraması, frekans taraması ve 3ITT analizi) ve duyu analizleri de yapılmıştır. Genel anlamda mayonez numunelerinin pH değerleri 60. güne kadar azalmış ancak pH değerleri 60. ve 90. günler arasında bir değişiklik göstermemiştir. Ayrıca, tüm mayonez numunelerinin renk parametrelerinde depolama süresi boyunca istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir. Öte yandan, diğer formülasyonlarla karşılaştırıldığında, BRYN içeren mayonezler en yüksek duyu kabul edilebilirlik puanı almıştır. Bununla birlikte, bu örnekler en düşük peroksit ve serbest yağ asidi sayısı değerlerine de sahiptir. Tüm mayonez numunelerinde saklama süresi boyunca faz ayrımı gözlenmemiştir. Üretilen 4 farklı mayonez örneği de negatif yüklüdür ve elde edilen zeta potansiyeli değerleri bu örneklerin 90 gün boyunca stabil olduklarını göstermiştir. Reolojik analiz sonuçlarına göre, Power-law modeli mayonez örneklerinin Newtonian olmayan davranışlarının başarıyla modellenebileceğini göstermektedir. Ek olarak, tüm mayonez numunelerinin K' değerleri K'' değerlerinden daha yüksektir, bu da test edilen numunelerin katı benzeri bir davranışı sergilediğini ifade etmektedir.

Genel olarak, sonuçlar ve bulgular, BRYN içeren mayonezlerin, BRY'yi oksidasyondan korumak amacıyla mayonez formülasyonlarında kullanılabileceğini ve ITG'nin nanoenkapsülasyonda kullanılan diğer hidrokolloidlere alternatif olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday ruşeym yağı, Nanopartikül, Yanıt Yüzey Metodu, Isırgan tohumu gamı, Mayonez

ABSTRACT

NANOENCAPSULATION OF WHEAT GERM OIL AND ENHANCING THE POSSIBILITY OF USE IN FOOD

Gözde KUTLU

Department of Food Engineering
Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih TÖRNÜK

Nettle seed gum (NSG) which is a novel potential source of hydrocolloid was characterized in terms of yield, physicochemical, rheological, functional and thermal properties. According to Response Surface Methodology, the maximum extraction yield was determined as 6.17% on dry basis. In order to clarify the structural information of the gum, the FT-IR analysis and monosaccharide composition determination were also performed. In the results, the NSG had 8.48% moisture, 10.81% total ash, 2.89% total protein, 1.15% total oil and 76.67% total carbohydrate amounts. The FT-IR analysis revealed the existence of carboxyl groups, which gives the gum the capability of ion binding. Furthermore, Mannose/Galactose ratio was calculated as 1.07, indicating the water solubility of gum. DSC analysis showed that NSG was highly stable in thermal process. Intrinsic viscosity and average viscosity molecular weight values were determined as 8.56 ± 0.4 dL/g and $1.89 \pm 0.1 \times 10^6$ g/mol, respectively. The emulsification capacity, emulsion stability and foam formation capacity of NSG were 48%, 40% and 4%, respectively. NSG exhibited shear thinning behavior while dynamic rheological analysis indicated NSG had viscoelastic properties and G' (the storage modulus) was higher than G'' (the loss modulus).

Wheat germ oil (WGO) was nanoencapsulated using a chitosan (CH) - nettle seed gum (NSG) - ovalbumin (OV), in this study. Before the preparation of nanoemulsion, droplet size and zeta potential values of the Ovalbumin-nettle seed gum-chitosan (ONC) complex were optimized by using Box-Behnken design. Moreover, the emulsion stability and encapsulation efficiency were determined for the wheat germ oil nanoparticles (WGON). Thereafter, zeta potential, particle size distribution,

thermal properties, FT-IR, steady shear properties and morphological images were evaluated for WGON and ONC complexes to review changes with the addition of wheat germ oil. According to the obtained results, zeta potential value increased and the size decreased with the addition of wheat germ oil to the wall material. Encapsulation efficiency was determined as between 48.66-71.91% in the 2.5-4.5% concentration range. According to rheological measurements, nanoemulsion samples showed Newtonian flow behavior. WGON and ONC complex exhibited endothermic and exothermic peaks. FT-IR spectrums illustrated that some peak changes were observed at peaks which was related to amino and carboxyl groups. SEM images revealed that addition of oil to the capsule resulted in the formation of a wrinkled surface. In addition, cytotoxicity analysis revealed that the increase in the concentration of CH, NSG, OV, WGO, ONC and WGON (0-10 mg/mL) generally led to decrease in the viability of fibroblast cells. The study proposes that nanoencapsulated WGO with CH-NSG-OV might be an anticipatory active packaging for prolonging the shelf-life of WGO.

The purpose of this work was to improve functional mayonnaise enriched with WGO, ONC Complex and WGON and analyze the effects of storage at room temperature at storage period of 0, 30, 60 and 90 days. pH, color measurements, peroxide, free fatty acid, zeta potential and emulsion stability analysis were performed at storage period of 0, 30, 60 and 90 days. Moreover, moisture content, rheological measurements (steady shear, temperature sweep, frequency sweep and 3ITT analysis) and sensory analysis were also analyzed on fresh samples (day 0). In general terms, the pH values of mayonnaise samples decreased until the 60th day, but the pH values did not change between the 60th and 90th days. Moreover, the color parameters indicated variations in all mayonnaise samples during the storage period. As well, compared with other formulations mayonnaise with WGON exhibited highest sensory acceptance and lowest peroxide and free fatty acid value. Phase separation was not observed during the storage period of all the mayonnaise samples. All the mayonnaise samples were negatively charged and obtained values showed that they were stable during the 90 days. Based upon rheological analysis, Power-law model matched well together the non-Newtonian behavior of the mayonnaise samples. In addition, K' values of all mayonnaise samples were higher than K'' values, which showed that the tested samples represented a solid like behavior.

Overall, the results and findings suggest that the mayonnaise fortified with WGON can be used in the mayonnaise formulations so as to protect the WGO from oxidation. Moreover, nettle seed gum gets across an up-and-coming alternative hydrocolloid with the utilization of other kind of polymers in the nanoencapsulation.

Keywords: Wheat germ oil, Nanoparticle, Response Surface Methodology, Nettle seed gum, Mayonnaise

1.1 Literatür Özeti

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğindeki (100 nm'den küçük) materyallerin, cihazların veya sistemlerin oluşturulması, kullanılması ve manipülasyonu olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda nanoteknoloji farklı gıda endüstrilerinde sayısız uygulama alanı bulmuştur [1]. Biyoaktif madde salım oranının kontrol edilmesi için biyoaktif bir maddenin taşıyıcıya hapsedildiği sistem "dağıtım sistemi (delivery system)" olarak tanımlanmaktadır. Karbon nanotüpleri gibi nano ölçekteki taşıyıcılar, biyoaktif bir bileşeni oksidasyon, pH ve enzimler gibi olumsuz çevre şartlarına karşı korumaktadır [2].

Proteinler, polisakkaritler ve karışımları birer doğal biyopolimer örnekleridir ve yüzey aktif madde özelliği sergilemektedirler. Biyopolimerler, gıda formülasyonlarının (köpükler, emülsiyonlar ve dispersiyonlar) stabilizasyonunda önemli rol oynayan amfifilik makromoleküller olarak düşünülmektedir. Belirli koşullar altında (protein-polisakkarit oranı, pH, iyonik kuvvet, sıcaklık, karıştırma prosesi gibi), protein ve polisakkarit kompleksleri, tek başına protein ya da polisakkarit kullanımına kıyasla daha iyi fonksiyonel özellikler sergilemektedir. Zıt yüklü proteinler ve polisakkaritler arasındaki elektrostatik kompleksleşme, yeni oluşan makromoleküler amfifilik yağ-su arayüzlerine daha iyi sabitlenmesini sağlamaktadır [3].

Kapsülleme, katı, sıvı veya gaz haldeki maddelerin; proteinler, polisakkaritler ve/veya lipit esaslı malzemeler ile formüle edilerek küçük kapalı kapsüller içerisinde hapsedilmesiyle gerçekleştirilen işlem olarak tanımlanmaktadır. Kapsülleme teknolojisi, hassas maddeleri insan sindirim sisteminin olumsuz etkilerinden; yanı sıra işleme ve saklama sırasındaki zorlayıcı ortam koşullarının olumsuz etkisine karşı korumak amacıyla kullanılmaktadır [4]. 1950'li yıllarda ilk mikrokapsülleme işlemi gerçekleştirildikten sonra kapsülleme teknolojisi önemli ölçüde gelişmiş; ilaç, kozmetik ve gıda gibi çeşitli alanlarda uygulanmaya başlamıştır. Gıdada, fonksiyonel bileşenlerin kapsüllenmesiyle bileşenlerin beslenme değerinin

iyileştirilmesi, arttırılması ya da korunması amaçlanmıştır [5].

Gıda ürünleri geniş bir pH, sıcaklık ve bileşim aralığında yer almaktadır. Bu nedenden dolayı, spesifik uygulamalar için kapsül üretiminde basit ve esnek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Yağlar ve lipidler, aroma maddeleri, oleorezinler, vitaminler, mineraller, renklendiriciler, antioksidanlar, probiyotikler ve enzimler gibi birçok madde çeşitli kapsülleme teknikleri kullanılarak kapsüllenmektedir [5]. Yağ damlacıkları dondurarak kurutma yoluyla kapsüllenebilmektedir. Dondurarak kurutma yöntemi, donma noktasının altındaki düşük sıcaklık aynı zamanda havanın da olmaması nedeniyle kararsız bileşenlerin kimyasal bozunmasını en aza indirmektedir [6].

Buğday tohumu; endosperm (%81-84), kepek (%14-16) ve embriyodan (%2-3) oluşmaktadır. Olgunlaşmış buğday tohumunun büyük bir kısmında nişasta endospermi yer almaktadır [7]. Buğday ruşeymi (BR) buğday tohumunun embriyosudur ve 100 g tane ağırlığının sadece 2-3 gramını oluşturmaktadır [8]. İçerdiği doymamış yağ asitleri ve biyoaktif bileşikler nedeniyle BR'nin işlenmesi sırasında birtakım güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu birleşikler oksidasyon ve degradasyona oldukça meyillidirler [9]. Ruşeymin yaklaşık %11'lik kısmını buğday ruşeym yağı oluşturmakta ve bu yağ bünyesinde tokoferoller, çoklu doymamış yağ asitlerini ve biyoaktif bileşiklerden polikosanolü barındırmaktadır. Ayrıca içerisinde yüksek miktarda alfa-tokoferol bulunmaktadır ve E vitamini aktivitesinin de iyi olduğu bilinmektedir [7].

Gıda hidrokolloidleri; gıda endüstrisinde mikroyapı, doku, lezzet ve raf ömrünün kontrolü için fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılan yüksek molekül ağırlıklı hidrofilik biyopolimerlerdir [10]. Çalışmamızda kullanılan kaplama materyallerinden biri olan ısırgan (*Urtica dioica L.*), özel kullanım amacıyla yaygın olarak yetiştirilen yabani bir bitki türüdür. Bu otsu, çok yıllık bitki *Urticaceae* ailesine mensuptur ve genellikle ılıman iklim bölgelerinde yetişmektedir [11]. Çalışmamızda faydalandığımız bir diğer kaplama materyali ise kitosan olup ilaç salınım sistemlerinde taşıyıcı materyal olarak oldukça umut vadeden katyonik bir biopolymer olarak öne çıkmaktadır [12]. Kaplama materyalinin bir diğer bileşeni olan ovalbumin ise köpük oluşturma, su bağlama, emülsifiye etme ve ısı ile jelleşme özellikleri sergilemelerinden dolayı en yaygın kullanılan proteinler arasında yer almaktadırlar [13].

1.2 Tezin Amacı

Çalışmamızda öncelikli olarak literatüre yeni bir gam kaynağı olarak sunduğumuz ısırgan (*Urtica dioica L.*) tohumu gamının ekstraksiyonu, optimizasyonu ve

karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir [14]. Bu çalışmanın temel amacı ise BRY'nin iyonik jelasyon yöntemi ile ovalbumin, kitosan ve ısırgan tohumu gamı (minimum parçacık boyutu ve maksimum zeta potansiyel değerine sahip şartlarda optimize edilmiş kapsül) ile enkapsüle edilmesidir. Bu kapsamda, optimum özelliklerde üretilen ruşeym yağı nanokapsüllerinin sitotoksik, termal, reolojik ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca enkapsüle edilmiş buğday ruşeym yağı, mayonez örneklerine ilave edilmiş ve oda şartlarında 90 gün boyunca (0, 30, 60 ve 90 gün) depolanan mayonezin kalite özellikleri üzerine etkileri de incelenmiştir. Bu bağlamda belirtilen depolama süresi boyunca pH, renk, peroksit, serbest yağ asitliği, zeta potansiyeli ve emulsiyon stabilitesi değerleri ölçülmüştür. Ayrıca taze üretilen mayonez örneklerinin nem içeriği, reolojik ölçümleri ve duyu analizi de gerçekleştirilmiştir.

Nanopartiküllerin dizaynı aşamasında kaplama materyali olarak ovalbumin, kitosan ve ısırgan tohumu gamı kullanılmış, enkapsüle edilecek materyal olarak ise buğday ruşeym yağı seçilmiştir. Bu kapsamda iyonik jelasyon yöntemiyle optimize edilmiş partiküller nano boyuta indirgenerek üretimleri gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, bünyesinde omega 3 ve omega 6 yağ asitlerini, polikosanolü ve tokoferolü zengin miktarda bünyesinde barındıran ruşeym yağının nanoenkapsülasyonu yoluyla fonksiyonel gıda olarak kullanılmasını mümkün kılan bileşenlerin fonksiyonelliğinin ve stabilitesinin artırılması ve çevresel strese karşı gıda bileşenlerinin korunması amaçlanmaktadır.

1.3 Hipotez

Isırgan tohumu gamının yanıt yüzey yöntemi ile optimum ekstraksiyon şartlarının tespit edilmesi, gamın fizikokimyasal, reolojik ve fonksiyonel özelliklerinin test edilmesi sayesinde gıdalarda halihazırda kullanılan ticari gamlara göre kullanım potansiyelinin belirlenmesi bu çalışmanın hipotezleri arasında yer almaktadır. Ayrıca yapılan ön denemeler ve literatür araştırmaları neticesinde, bünyesinde tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri barındıran yağların oksidasyonunun enkapsülasyon yolu ile önemli derecede azaltılabileceği tespit edilmiştir. Kaplama materyalleri olarak kullanılacak olan ısırgan tohumu gamı, ovalbumin ve kitosanın ruşeym yağının enkapsülasyonunda kullanılması ile ruşeym yağının oksidasyonunun geciktirilebileceği, suda çözünür hale getirilebileceği ve depolama stabilitesinin artırılabilmesi düşünülmektedir. Bu kapsamda, optimum koşullarda üretilen ruşeym yağı içeren nanopartiküllerin mayonez örneklerine ilavesiyle mayonezin fonksiyonel olarak zenginleştirilmesi ve depolama stabilitesinin sağlanması hedeflenmiştir. Ayrıca, nanopartiküllerin karakterizasyonu amacıyla sitotoksik, termal, reolojik,

morfolojik ve *in vitro* sindirim analizleri de gerçekleştirilecektir. Sonuç itibariyle, elde edilen nanokapsüllerin farklı gıda maddelerinin üretiminde kullanılabileceği düşünölmektedir.

2 Kuramsal Temeller

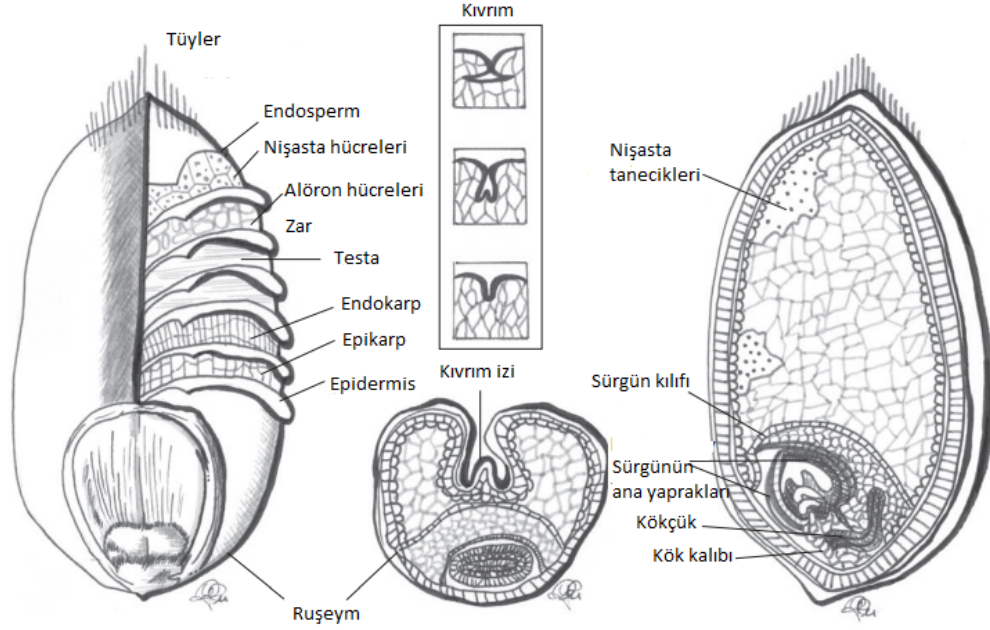
Son yıllarda, gıdaların nanoskopik, mikroskopik ve makroskopik özellikleri ile fizyolojik performansları arasındaki ilişkinin farkındalığı artmıştır. Böylelikle gıda materyali ile çalışan araştırmacılar arasında bilimsel yaklaşıma dayalı bilgilerde belirgin değişimler meydana gelmiştir [15].

Birçok biyoaktif bileşik, yüksek oranda lipofiliktir ve suda çok düşük bir çözünürlük göstermektedir. Bu durum lipofilik maddelerin gıdalara ilavesini zorlaştırmaktadır. Dahası, zayıf çözünürlük aynı zamanda gastrointestinal sistemde düşük absorpsiyon ve dolayısıyla sınırlı derecede biyoerişilebilirlik anlamlarına da gelmektedir. Bu nedenlerden dolayı gıda endüstrisinde, işlevsel gıdalar geliştirilirken biyoaktif bileşiklerin kapsüle edilmesi, korunması ve kontrollü olarak salınabilmesi için yenilebilir taşıyıcı sistemlerine olan ihtiyaç gün geçtikçe artış göstermektedir [16].

2.1 Buğday

Buğday, dünya popülasyonunun geniş bir kısmının diyetinde yer alan en temel tahıllardan biridir. En çok tüketilen gıdalardan olan buğdayın besinsel kalitesi, tüketiciler açısından oldukça önem arz etmektedir. Farklı coğrafi koşullara uyum sağlamış olması, yüksek verim vermesi ve tarımının kolay olmasının ötesinde buğdayın diğer tahıllara göre popüler olmasındaki esas neden hamura viskoelastik karakter kazandıran gluten proteinini bünyesinde bulundurmasıdır [17].

Şekil 2.1 buğday tanesinin boyuna ve enine kesitini göstermektedir. Buğday tanesi (BT) yaklaşık olarak 2,5-3 mm kalınlığında, 3-3,5 mm genişliğinde ve 6-7 mm uzunluğundadır. Ortalama 30-40 mg ağırlığındadır ve oval şekillidir. Embriyo tanenin bir ucunda bulunmaktadır [17].



Şekil 2.1 Buğday tanesinin boyuna ve enine kesiti [17]

2.1.1 Buğday Ruşeym Yağı

Tarihin başlangıcından itibaren şifalı bitkiler ve yağ formlarına olan ilgi gün geçtikçe artış göstermektedir. Farklı bitkilerin tohumlarından elde edilen yağlar, sağlık yararlarına sahip benzersiz fitokimyasal maddelere sahip bileşenler ihtiva etmelerinden dolayı gıda takviyesi ve yenilebilir yağ olarak tüketilmektedirler [18].

Buğday tohumu endosperm (%81-84), kepek (%14-16) ve embriyodan (%2-3) oluşmaktadır. Buğday ruşeymi (BR) buğday tohumunun embriyosudur ve 100 g tane ağırlığının sadece 2-3 gramını oluşturmaktadır [8]. Olgunlaşmış buğday tohumunun büyük bir kısmını nişasta endospermi oluşturmaktadır. Buğday esas olarak unu ya da endospermi için yetiştirilmektedir [7]. BR, öğütme işlemi sürecinde taneden kolaylıkla ayrılabilir [19]. BR, yaklaşık olarak %52 karbonhidrat, %23 protein, %11 su ve %4 kül içermektedir [20]. BR iyi bir protein kaynağıdır [7]. Diğer bitkisel proteinlerle karşılaştırıldığında lizin, metionin ve treonin gibi esansiyel amino asitler bakımından zengindir [21]. Ayrıca içeriğinde flavonoid ve steroller gibi fonksiyonel fitokimyasallar, diyet lifi, B vitamini bulunmaktadır ve yüksek miktarda tokoferol içeriğine de sahiptir [22].

İçerdiği doymamış yağ asitleri ve biyoaktif bileşikler nedeniyle BR'nin işlenmesi sırasında birtakım güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu birleşikler rafinasyon yöntemleri uygulandığında ve yemeklik yağ ekstraksiyonlarında kullanılan şartlar altında oksidasyon ve degradasyona oldukça meyillidirler [9]. Sıcaklık uygulaması, irradasyon, dehidrasyon işlemi ya da kimyasal koruma (örneğin antioksidan olarak kimyasal bir bileşiği ekleyerek) gibi yöntemlerden yararlanılarak BR

stabilize edilebilmektedir. Yapılan çalışmalar termal proses uygulamalarının BR'nin stabilizasyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Bu yöntemlerden akışkanlaştırma materyal ve sıcak hava arasında yoğun ısı ve kütle transferi sağlamaktadır [23].

BRY, tokoferol (1300-2700 mg/kg), fitosterol (FS) (24-50 mg/kg), polikosanol (10 mg/kg), karotenoid (4,0-38 mg/kg), tiamin (15-23 mg/kg), ve riboflavin (6,0-10 mg/kg) içermektedir [18], [22]. Tokoferolün en zengin ve doğal kaynağı olarak bilinen BRY; alfa, beta ve gama tokoferolün tümünü içermektedir. Aynı zamanda bu yağ alfa ve gama tokotrienoller de bünyesinde barındırmaktadır. BRY, tokoferol aracılı indirgenme sistemlerini indüklemektedir ve lipid peroksidasyon prosesini etkinleştiren eikonosoidin sentezini inhibe etmektedir. Böylelikle lipid peroksidasyonunun yoğunluğunu değiştirmektedir [24], [25]. BRY, polikosanolardan özellikle oktakosanolce zengindir [26]. İhtiva ettiği polikosanolardan dolayı fiziki yeterlilik ve dayanıklılığı artırmak için gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır [7]. Yapılan bir çalışmada buğdayın farklı kısımlarının FS içeriği tespit edilmiş ve FS miktarının ticari yağlara oranla daha fazla bulunduğu ve tespit edilen FS'lerin antioksidan etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Öte yandan, BRY; lutein, zeaksantin ve beta karoten gibi yağda çözünen karotenoidleri de içermektedir [24], [27].

BRY, çoklu doymamış yağ asitlerince zengindir. Yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde %42-59 linoleik asit, %12-28 oleik asit, %11-19 palmitik asit, %2-11 alfa-linoleik asit ve %1 stearik asitten oluştuğu belirlenmiştir. Bu yağ asitleri, organizmanın metabolizmasında önemli işlevlere sahiptir ve vücutta sentezlenemezler. BRY, yaklaşık %81 oranında doymamış yağ asidi, %64 oranında ise çoklu doymuş yağ asidi içermektedir. Alfa-linolenik asitin anti-inflamatuvar, NADPH oksidaz aktivitesi ve antioksidan etkisi bulunmaktadır. Bu bileşikler, kasların kasılmasında görevlidir ve iltihaba neden olan proseslerin hızla iyileşmesini sağlayan prostoglandinlerin öncüsüdür. Ayrıca bünyesinde bulunan linoleik asit kolesterolü düşürmeye yardımcı olmaktadır ve hücre zarı fosfolipitlerinin prekürsörü olarak görev yapmaktadır [24], [25], [28]. BRY, doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonunu önlemekle birlikte DNA koruyucu etkiler de göstermektedir [20].

BRY, sterollerin doğal, zengin bir kaynağıdır [29], [30]. Ağırlıklı olarak kampesterol ve beta-sitosterol az miktarda ise 5-stigmasterol, 7-stigmasterol, isofukosterol, 7-avenasterol ve D5-avenasterol içermektedir. Bu bileşiklerden özellikle D5-avenasterolün güçlü antioksidan aktivitesi bulunmaktadır. En üst düzeyde bulunan izofuko-SG, kampe stigma-SG ve B-sitoz ile birlikte steril glukozitler BRY'nin yapısının diğer bir komponentini oluşturmaktadır. Bahsedilen bu fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir [24]. Ayrıca bünyesinde ferulik, vanilik asit ve glukoflavon gibi fenolik birleşikleri de barındırmaktadır ve bunlardan ilk ikisi serbest

formda yer almaktadır [20].

BRY'nin yaşlanmayı geciktirme, fiziksel direnci artırma ve kolesterolü düşürme gibi sağlığa yararlı etkilerinin bulunduğu tespit edilmiştir [18], [25], [28]. Bunun yanı sıra kronik inflamatuvar reaksiyonları ve ruh ve sinir hastalıkları üzerine de olumlu etkileri mevcuttur [31]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, BRY'nin oksidatif hasarlara neden olan hastalıkların tedavisinde kullanımının gün geçtikçe artış gösterdiği bildirilmiştir [29], [31].

BRY, içerdği E vitamini sayesinde vücut dokularındaki oksidasyon prosesinin inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Ayrıca, vücudun metabolizmasına potansiyel olarak zarar veren aynı zamanda hücre hasarı ve kanser gelişimine sebep olan serbest radikallerin etkilerine karşı da hücreleri korumaktadırlar [32]. BRY, E vitaminine ek olarak kemoprevansiyonda (kimyasal korunma) önemli etkileri olan B kompleks vitaminlerini de bünyesinde bulundurmaktadır [33].

BRY son yıllarda gıda, biyolojik böcek kontrol ajanı, tıbbi ilaçlar ve kozmetik formülasyonların üretiminde kullanılmaktadır. BRY, kapsüllerde ya da şişelerde gıda takviyesi olarak da satılmaktadır. Araştırmalar antrenörler ve atletlere besinsel takviye olarak fiziki yeterlilik ve dayanıklılığı artırmak için BRY'yi tavsiye etmişlerdir. Bu etkinin BRY'de yer alan polikosanol adı verilen bileşenlerden kaynaklandığı belirtilmiştir [9].

BRY, yukarıda bahsedilen olağanüstü besleyici özelliklerine rağmen lipoksigenaz ve lipaz enzimleri ihtiva etmesinden dolayı raf ömrü sadece birkaç günle sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda enzimlerin asit ve uçucu bileşikler oluşturarak BRY'nin kalitesini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir [34].

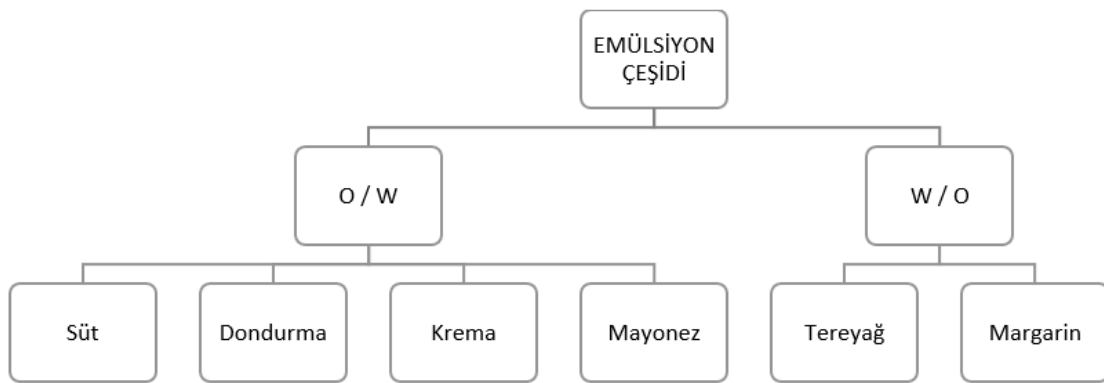
BRY, soğuk sıkım, organik solvent ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemlerinden yararlanılarak ruşeymden ekstrakte edilebilmektedir [35].

Süperkritik akışkanların gıdalarda kullanımına izin verilmesinin en önemli sebeplerinden biri, solvent olarak karbondioksitin kullanılmasıdır. Son yıllarda gıda endüstrisinde süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemine olan ilgi, insan sağlığına katkı sağlayan ürünlere ilginin artmasından dolayı bir hayli artış göstermiştir [36]. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemi konvansiyonel ayırma tekniklerine (distilasyon, sıvı solvent ekstraksiyonu) alternatif olarak kullanılan bir yöntemdir [37]. Bu yöntemin birçok avantajı bulunmaktadır. Bu avantajlar arasında; patlayıcı ve toksik olmaması, uygun maliyetli ve çevre dostu olması, düşük sıcaklıklarda ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi ve son üründen solventin kolayca ve tamamen uzaklaştırılabilmesi gösterilebilir [38]. Ayrıca

aromatik bileşikler de diğer yöntemlere kıyasla daha iyi muhafaza edilebilmektedir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu, aynı zamanda ekstraksiyon işleminin kolay bir şekilde manipüle edilebilmesine de imkan tanımaktadır [39]. Öte yandan, yapılan araştırmalara göre fenolik asitler ve esterleri yardımcı bir solvent eklemekten süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile çözünmektedir [20].

2.2 Emülsiyonlar

Emülsiyonlar, birbirleriyle karışmayan iki sıvıdan oluşan termodinamik olarak kararsız kolloidal dispersiyonlardır ve tipik olarak yağ, yüzey aktif madde ve sudan oluşmaktadır [40], [41], [42]. Emülsiyon sistemleri gıda üretimin ayrılmaz bir parçasıdır ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, emülsiyonların dağıtım sistemleri olarak kullanılması gıda sanayinde daha yaygın olarak yer almalarını sağlamıştır [43].

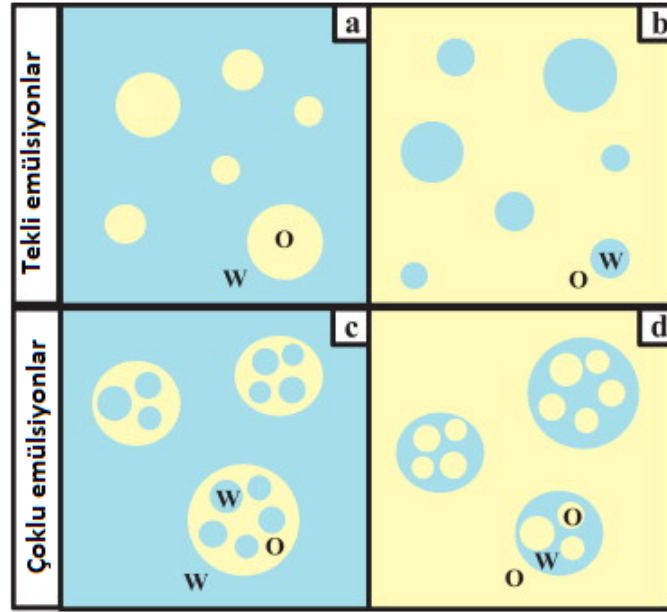


Şekil 2.2 Gıda emülsiyonları çeşitleri ve örnekleri

Emülsiyonlar morfolojisine bağlı olarak “su içerisinde yağ (O/W)” ve “yağ içerisinde su (W/O)” olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır. Sürekli faz olarak su, dağılmış faz olarak yağa sahip olan emülsiyonlara O/W emülsiyonları denir. Aksine, sürekli bir faz olarak yağa sahip olan emülsiyonlar ise W/O emülsiyonları olarak adlandırılmaktadır [44]. Şekil 2.2’de tekli emülsiyon tiplerine ilişkin bazı örnekler verilmiştir.

Çoklu emülsiyonlar tekli emülsiyonlara göre daha karmaşık bir sistem oluşturmaktadır. Bu emülsiyonlardan basit olanları, yağ/su/yağ (O/W/O) veya su/yağ/su (W/O/W) emülsiyonlarıdır [45]. Şekil 2.3’te, yağ içinde su, su içinde yağ, W/O/W ve O/W/O emülsiyonlarının şematik gösterimi yer almaktadır.

Emülsiyonlar damlacık boyutuna göre 3 grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar mikroemülsiyon (10-100 nm), nanoemülsiyon (100-1000 nm) ve makroemülsiyondur



Şekil 2.3 (a) Yağ içinde su (b) Su içinde yağ (c) W/O/W (d) O/W/O emülsiyonlarının şematik gösterimi [45]

(0,5-100 μ m) [46]. Mikroemülsiyonlar çoğunlukla düşük viskoziteli, şeffaf ve termodinamik olarak kararlılardır. Bu kararlılık, ara yüzey geriliminin (entalpi) çok düşük olmasından ve küçük damlacık boyutuna sahip olmalarından kaynaklanmaktadır [47].

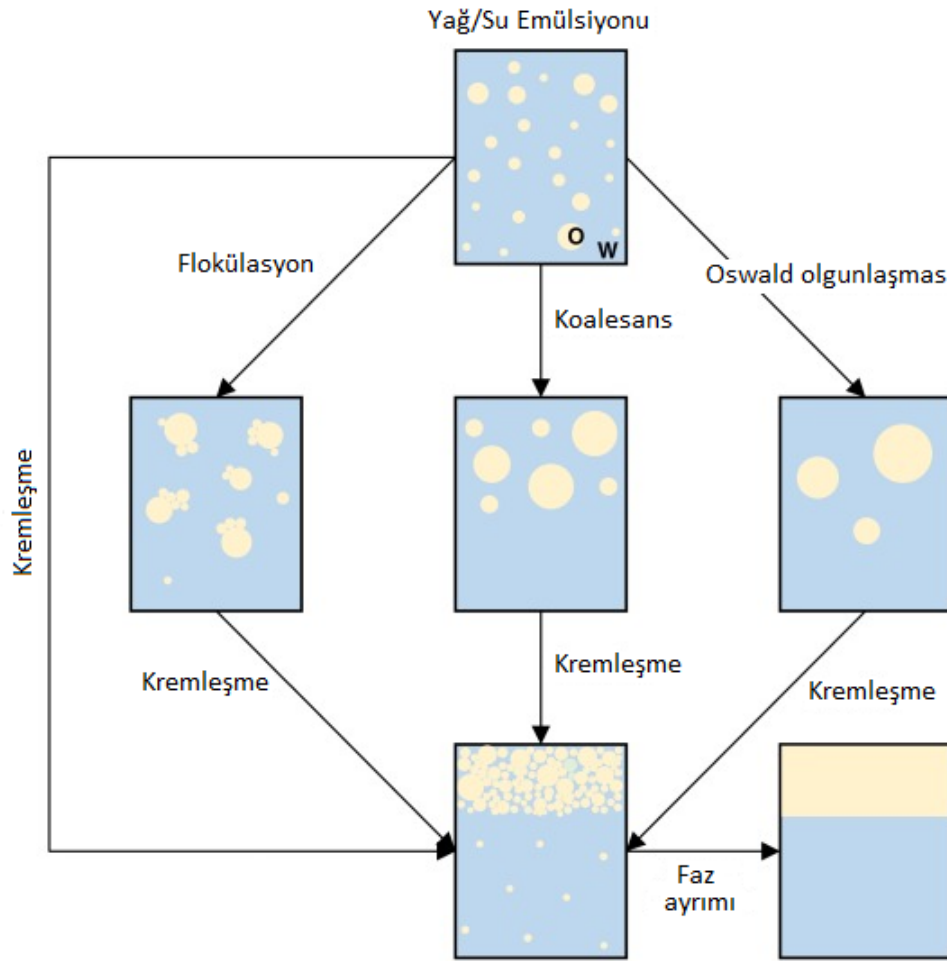
Oldukça kararlı bir O/W emülsiyonu üretmek için iki önemli belirleyici faktör bulunmaktadır. Bunlar uygun emülgatör(ler) kullanımı ve homojenizasyon için uygulanan kesme (shear) yoğunluğudur [48]. Emülsiyon oluşumu ve stabilitesi, yağ ile su arasındaki ara yüzeyde bir emülgatör (sürfaktan, yüzey aktif madde) kullanıldığı takdirde daha kolay gerçekleşmektedir. Emülgatörler bilindiği üzere yağ ve su arayüzeyinde adsorbe edilerek ara yüzey gerilimini düşürmektedirler. Aynı zamanda bu maddeler, damlacıklar arasındaki itme kuvvetlerini de arttırarak damlacıkların birleşmelerini önlemektedirler [3], [49], [50].

Son zamanlarda emülsiyonların hassas biyoaktif bileşiklerin dağıtım sistemi olarak kullanımı, gıda endüstrisinde oldukça fazla ilgi görmektedir. Bununla birlikte, bu tür sistemlerin destabilizasyon eğilimlerinden dolayı üretim ve depolanmaları bir hayli zorlayıcıdır [51]. Emülsiyonların termodinamik olarak istikrarsızlığı iki farklı fiziko-kimyasal özelliğin bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Bu özelliklerden ilki, yağ ve su molekülleri arasındaki temasın enerji bakımından elverişsizliğidir. Bu nedenle sistemin yağ ve su arasındaki temas alanını azaltma eğilimi bulunmaktadır. İkinci durum ise yağların normal olarak sulu çözeltilerden daha düşük yoğunluğa sahip olmalarından dolayı yukarıya doğru hareket etme eğilimi göstermelerinden

kaynaklanmaktadır [46].

Emülsiyonlaşma esnasında, sürekli ve dağınık fazlar arasındaki ara yüzey alanı, dağılmadan öncekine kıyasla önemli miktarda çoğalmaktadır. Ara yüzey serbest enerjisi bu nedenle önemli derecede artmaktadır. Termodinamik kurala göre, tüm sistemlerin küresel enerjisi minimuma doğru yaklaştığında emülsiyonlar ara yüzey temas alanını ve serbest enerjiyi en aza indirmek için hızla faz ayrımı eğilimi gösterirler [45].

Emülsiyon kararsızlığı birkaç fiziksel ve kimyasal mekanizmanın bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Fiziksel kararsızlık mekanizmalarının türleri; kremleşme, birleşme, flokülasyon, faz dönüşümü, kısmi kaynaşma ve Oswald olgunlaşmasıdır [51], [52]. Emülsiyon üretimi ve depolamasındaki en büyük zorluk, belirtilen dengesizlik mekanizmalarına karşı yüksek stabiliteye sahip olan emülsiyonların üretimidir [42], [46]. Şekil 2.4'te çeşitli destabilizasyon mekanizmalarının şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.4 O/W emülsiyonları için destabilizasyon mekanizmaları [53]

Emülsiyonların fiziksel olarak bozunması, disperse edilen faz ve dispersiyon

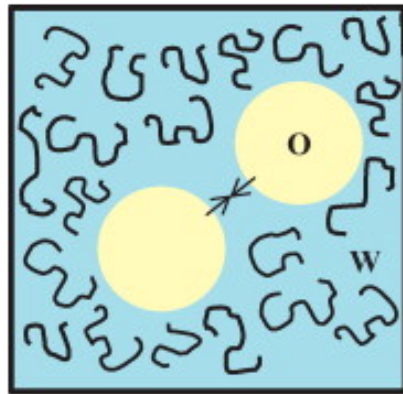
ortamı arasındaki minimal ara yüzey alanına doğru kendiliğinden oluşmaktadır. Ara yüzey alanının minimuma indirilmesi, esasen iki mekanizma tarafından gerçekleştirilmektedir: Bunlardan ilki koalesans (birleşme), ikincisi ise Oswald olgunlaşmasıdır. “Oswald olgunlaşması”, yağ moleküllerinin moleküler difüzyonundan dolayı damlacıkları ayıran sulu fazda emülsiyon içindeki büyük boyutlu damlacıkların küçük damlacıklarla birleşerek daha büyük damlacıklar oluşturmasıdır [54], [55]. Tersine, “koalesans”ta ise damlacıklar arasındaki ince filmin kopmasıyla birlikte kaynaşmalar meydana gelmektedir. Koalesans bazı durumlarda, geri dönüşümlüdür ve basit manyetik karıştırma veya elle çalkalama ile topraklar parçalanabilmektedir. Öte yandan, bazı durumlarda ise geri dönüşümsüzdür ve küçük damlacıklar bir arada kaynaşarak daha büyük globüller oluşturmaktadır [45]. Bazı durumlarda, Ostwald olgunlaşması ve koalesansın ortak etkisi, emülsiyonun bekletilmesi sonucunda görülmekte ve bu durum sonucunda damlacık boyutunda artış meydana gelmektedir. Bu iki mekanizma oluşum yönünden farklılık göstermektedir. Bu nedenden dolayı bir emülsiyonun destabilizasyonunun azaltılması ya da önlenmesi için bu iki mekanizmanın ayrımının ivedilikle yapılması önem arz etmektedir [56].

Damlacıkların topaklaşma (flokülasyon) hali, stabilize edici katmanlar arasındaki etkileşime bağlıdır. Bahsedilen etkileşimi etkileyen faktörler; biyopolimer yüzey kaplaması, tabaka kalınlığı, yüzey yük yoğunluğu ve sulu çözelti koşullarıdır (özellikle pH, iyonik kuvvet, ve çift değerlikli iyon içeriği) [10]. Flokülasyon, sedimentasyon ve kremleşme mekanizmalarında damlacık göçü geri dönüşümlü olmasına karşın, Ostwald olgunlaşması ve koalesans mekanizmalarında damlacıkların boyutunun artma durumu geri dönüşümü olmayan mekanizmalardır [45].

Taze hazırlanmış bir ince trigliserid O/W emülsiyonu için en belirgin instabilite göstergesi genellikle kremleşmedir (creaming). Bu mekanizma ile krema ve serum arasında ayırt edilebilir derecede makroskopik faz ayrımı gerçekleşmektedir. Bu aşamadan sonra ise krem içinde damlacık birleşmesi ve numunenin üstünde yağ toplanması oluşmaktadır. Bu işlemlerin hepsi, hem hacimsel sulu fazda hem de emülsiyon damlacıklarının yüzeyinde hidrokolloid stabilizatörünün etkileşimlerinden etkilenebilmektedir [10].

Gıda prosesleri sırasında kullanılan iki tip emülgatör çeşidi mevcuttur: Bunlar düşük molekül ağırlıklı yüzey aktif maddeler (monogliseridler, polisorbitatlar, sükroz esterler, lesitin, vb.) ve makromoleküler emülsiyonlaştırıcılardır (genellikle proteinler, özellikle süt ve yumurta proteinleri). Düşük molekül ağırlıklı sürfaktantlar hem polar hem de polar olmayan kısımlara sahip amfifilik moleküllerdir [10]. Sentetik düşük molekül ağırlıklı sürfaktantlar, toksik semptomlar ve insanların cildini tahriş eden bir

takım cilt reaksiyonları oluşturabilmektedir [53]. Öte yandan, proteinler gıda üretimi esnasında sıklıkla kullanılmalarına rağmen emülgatör olarak sınıflandırılmamaktadır. Dolayısıyla, pratikte, gıda endüstrisinde "emülgatör" terimi neredeyse tamamen düşük molekül ağırlıklı amfifiller için kullanılmaktadır [10]. Proteinler, polisakkaritler ve karışımları birer doğal biyopolimer örnekleridir ve yüzey aktif madde özelliği sergilemektedirler. Biyopolimerler, gıda formülasyonlarının (köpükler, emülsiyonlar ve dispersiyonlar) stabilizasyonunda önemli rol oynayan amfifilik makromoleküller olarak düşünülmektedir. Belirli koşullar altında (protein-polisakkarit oranı, pH, iyonik kuvvet, sıcaklık, karıştırma prosesi gibi), protein ve polisakkarit kompleksleri, tek başına protein ya da polisakkarit kullanımına kıyasla daha iyi fonksiyonel özellikler sergilemektedir. Ters yüklü proteinler ve polisakkaritler arasındaki elektrostatik kompleksleşme, yeni oluşan makromoleküler amfifilin yağ-su arayüzlerine daha iyi sabitlenmesini sağlamaktadır [3]. Polisakkaritler genellikle, istenen dokusal özellikleri üreten ve yağ damlacıklarının yukarı doğru hareketini "kremleşme" geciktiren sulu fazın viskozitesini arttırmak için yağ içinde su emülsiyonlarına eklenmektedirler. Yeterince yüksek konsantrasyonlarda polisakkaritlerin varlığı; damlacıkları tutan, onlarla etkileşen veya hareket eden moleküllerin üç boyutlu bir ağını oluşturarak yağların hareketlerini engellemektedir. Öte yandan, polisakkaritler tükenme flokülasyonu (depletion flocculation) yoluyla emülsiyonlarda damlacıkların topaklaşmasını da geliştirebilirler. Bu nedenle polisakkaritlerin emülsiyonların kremleşme stabilitesi üzerindeki etkisi açık değildir ve sistemin özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [57]. Şekil 2.5'te polimer varlığında tükenme flokülasyonunun şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.5 Polimer varlığında tükenme flokülasyonunun şematik gösterimi [45]

Bir emülsiyonun tane boyutunun (granülometri) belirlenmesi oldukça büyük önem taşımaktadır. Damlacık boyutu dağılımı ve polidispersite; çeşitli lazer kırınım cihazı, dinamik ışık saçılım spektroskopisi ve optik mikroskopi gibi deneysel tekniklerle ölçülebilmektedir [45]. Ortalama damlacık çapı 500 nm'den küçük olan nanoemülsiyonlar, küçük parçacık boyutuna sahip olmalarından dolayı geleneksel

makro boyutlu emülsiyonlara göre daha iyi stabilite sergilemektedirler [51].

"Emülsiyon kararlılığı", belli bir emülsiyonun zaman içindeki herhangi bir yapısal değişime karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır. Bu zaman ölçeği, duruma bağlı olarak saatler ile aylar arasında değişkenlik gösterebilmektedir [10]. Emülsiyon kararlılığı, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik stabilitenin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.

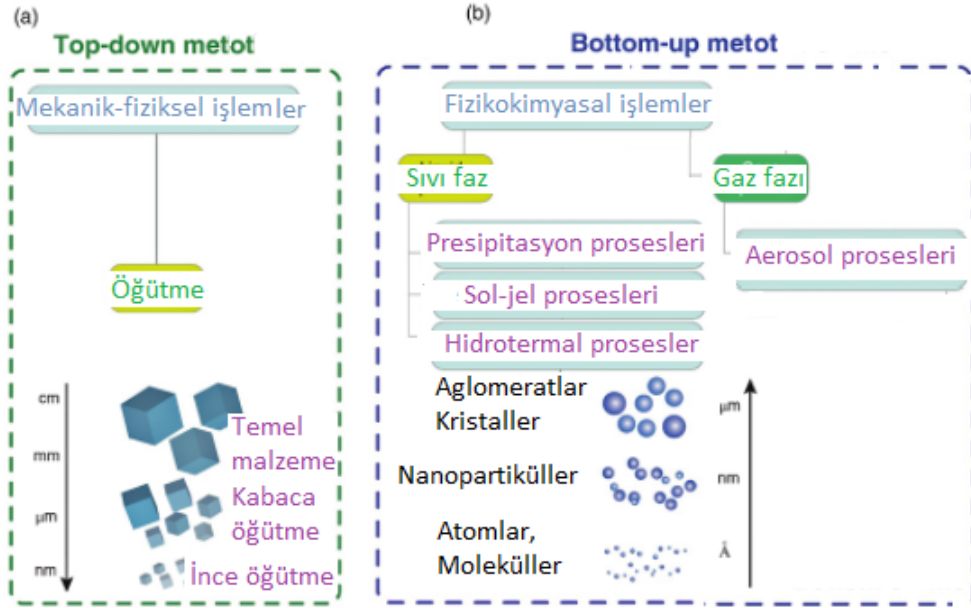
2.3 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğindeki materyallerin, cihazların veya sistemlerin oluşturulması, kullanılması ve manipülasyonu olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda nanoteknoloji farklı gıda endüstrilerinde sayısız uygulama alanı bulmuştur [1]. Biyoaktif madde salım oranının kontrol edilmesi için biyoaktif bir maddenin taşıyıcıya sıkıştırıldığı sistem "dağıtım sistemi (delivery system)" olarak tanımlanmaktadır. Nanokarbon gibi nano-ölçekteki yapılar, biyoaktif bir bileşeni oksidasyon, pH ve enzimler gibi olumsuz çevre şartlarına karşı korumaktadır [2].

2.3.1 Enkapsülasyon

Klasik bir bakış açısıyla, nanoyapı üretim teknolojileri iki ana yaklaşıma dayanmaktadır. Bu yaklaşımlar "aşağıdan yukarıya (bottom-up)" ve "yukarıdan aşağıya (top-down)" üretim teknikleridir. "Yukarıdan aşağıya" yönteminde, parçacık boyutu işlem sırasında çeşitli mekanik kuvvetler aracılığıyla nano boyuta indirgenmektedir. Aksine, "aşağıdan yukarı" yönteminde parçacık boyutu, atom ya da moleküllerin kendi kendine toplanmasıyla birlikte artırılmaktadır [43]. Şekil 2.6'da nanopartikül üretimi için "top-down" ve "bottom-up" yaklaşımlarının şematize edilmiştir.

Kapsülleme materyali ve prosesinin seçimi üç ana kritere bağlıdır. Bu kriterler; uygulanabilirlik, ekonomiklik ve güvenilirliktir [59]. Şekil 2.7'de fonksiyonel gıda üretiminde kullanılan bir dağıtım sistemine ait üretim aşamaları yer almaktadır. Bir gıda bileşeninin kapsüllenmesindeki ilk adım, uygun bir duvar malzemesinin seçilmesidir. Bu aşamada seçilecek olan malzemeler, kapsüllenecek malzeme ve özelliklerine bağlı olarak değişmekle birlikte çok çeşitli doğal ya da sentetik polimerler tercih edilebilmektedir. Özellikle aroma ve yağ kapsüllemesi için seçilecek olan ideal duvar malzemesinin emülsiyon yapma, iyi film oluşturma, yüksek kuru madde seviyesinde düşük vizkoziteye sahip olma ve düşük higroskopiklik gibi özelliklerinin bulunması gerekmektedir. Bu niteliklerinin yanı sıra maliyeti düşük olmalı, kapsüllenen materyali iyi bir şekilde korumalı ve aroması baskın olmamalıdır

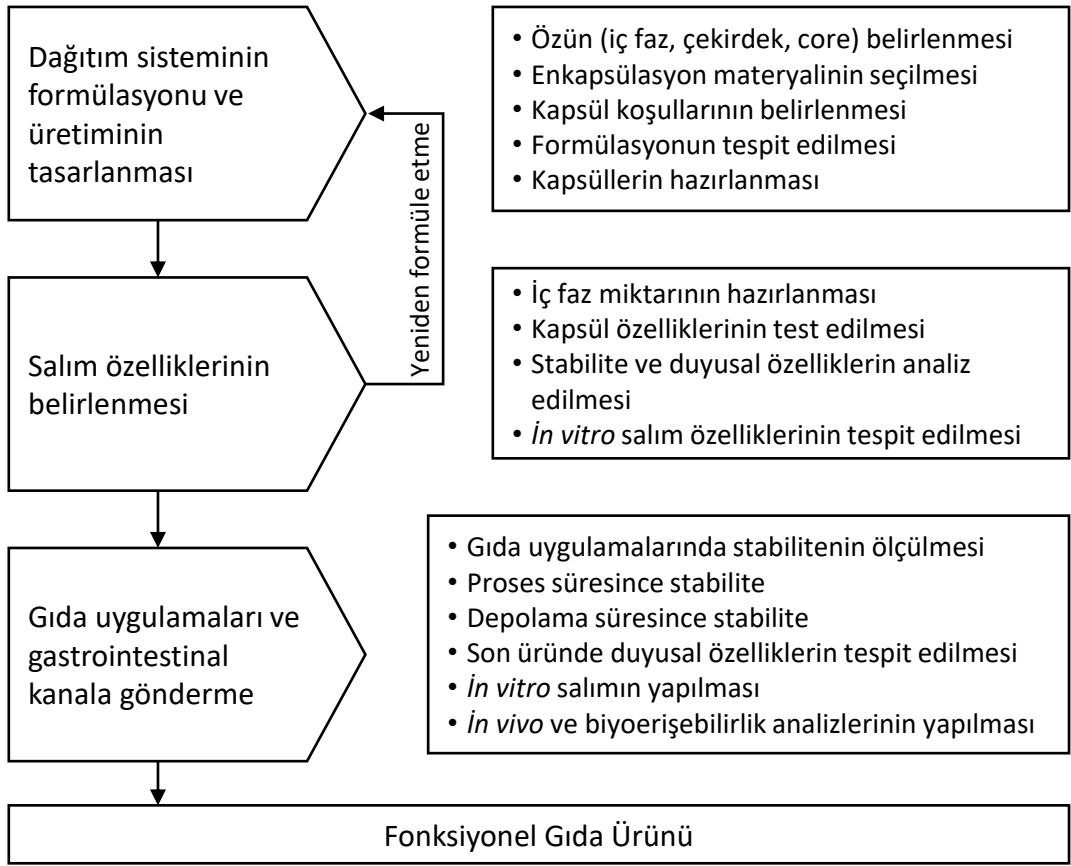


Şekil 2.6 Nanopartikül üretimi için (a) “top-down” ve (b)”bottom-up” yaklaşımlarının şematik gösterimi [58]

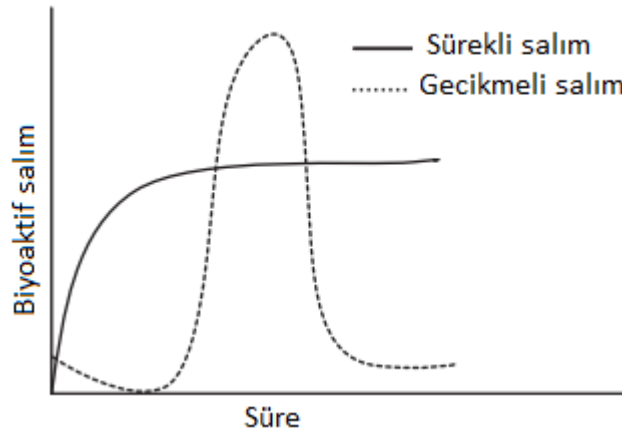
[60]. Yapılan çalışmalarda yağ enkapsülasyonu aşamasında emülsiyonun sergilediği özelliklerin “tutma (retention)” ve “koruma” ile ilgili niteliklerini belirlediği ifade edilmiştir. Dolayısıyla, kapsülleme materyali seçiminde dikkat edilecek hususlardan biri, materyalin emülsiyon oluşturma özelliği göstermesidir [61]. Yağlar; taşıma, nakliye veya diğer bileşenlere dahil edilmelerini kolaylaştırmak, sıvının katı forma dönüştürülmesi gibi çeşitli amaçlarla kapsüllenmektedir. Diğer nedenler arasında tat/koku maskeleyme, ürünü buharlaşma veya oksidasyondan koruma ve kontrollü salım uygulamaları yer almaktadır [59].

Genellikle biyoaktif bileşenlerin salımı aşamasında iki kontrollü salım mekanizması mevcuttur (i) “gecikmeli salım (delayed release)”, bir biyoaktif maddenin serbest bırakılmasının belirli bir noktaya kadar geciktirildiği mekanizmadır. Bu mekanizma, hazır yemeklerde aroma salınması, içeceklerde renk salınması veya gastrik şartlar altında besin bileşenlerinin korunması (örneğin mide asidinden probiyotik bakterilerin korunması) ve bağırsakta salımları amacıyla kullanılmaktadır. (ii) “Sürekli salım (sustained release)”, hedef bölgede biyoaktif madde konsantrasyonunun zaman içerisinde sabit tutulması için tasarlanmış bir mekanizmadır. Bu sistem, sakız içerisinde lezzet bileşenlerinin, tatlandırıcıların kapsüllenmesi ve bileşenlerin serbest bırakılma süresinin uzatılması amacıyla kullanılmaktadır. Böylelikle salım oranları azaltılarak çiğneme süresince istenilen aroma etkileri oluşturulabilmektedir [43]. Nanotaşıyıcı sistemlerde biyoaktif salınım modelleri Şekil 2.8’de verilmiştir.

Enkapsülasyon çeşitleri mikrokapsülasyon, nanoenkapsülasyon ve



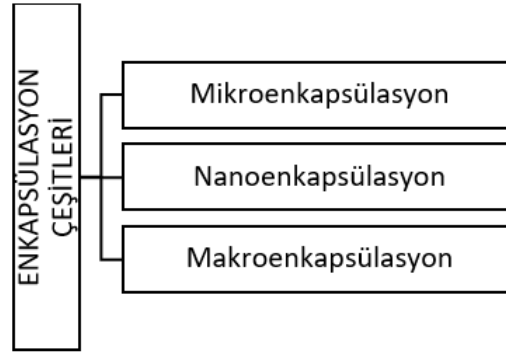
Şekil 2.7 Fonksiyonel gıda üretimi için dağıtım sistemi üretim aşamaları [58]



Şekil 2.8 Nanotaşıyıcı sistemlerde biyoaktif salım modelleri [43]

makroenkapsülasyon olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Bu sınıflandırma Şekil 2.9'da şematize edilmiştir.

Mikroenkapsülasyon, gıda bileşenlerinin korunması, dengelenmesi ve yavaş salınması için kullanılan nispeten yeni bir teknolojidir. Duvar malzemeleri genelde nişasta, nişasta türevleri, proteinler, gıamlar, lipidler ya da bunların herhangi bir kombinasyonundan oluşmaktadır. Gıda bileşenlerini kapsülleme yöntemleri sprey



Şekil 2.9 Enkapsülasyon çeşitleri

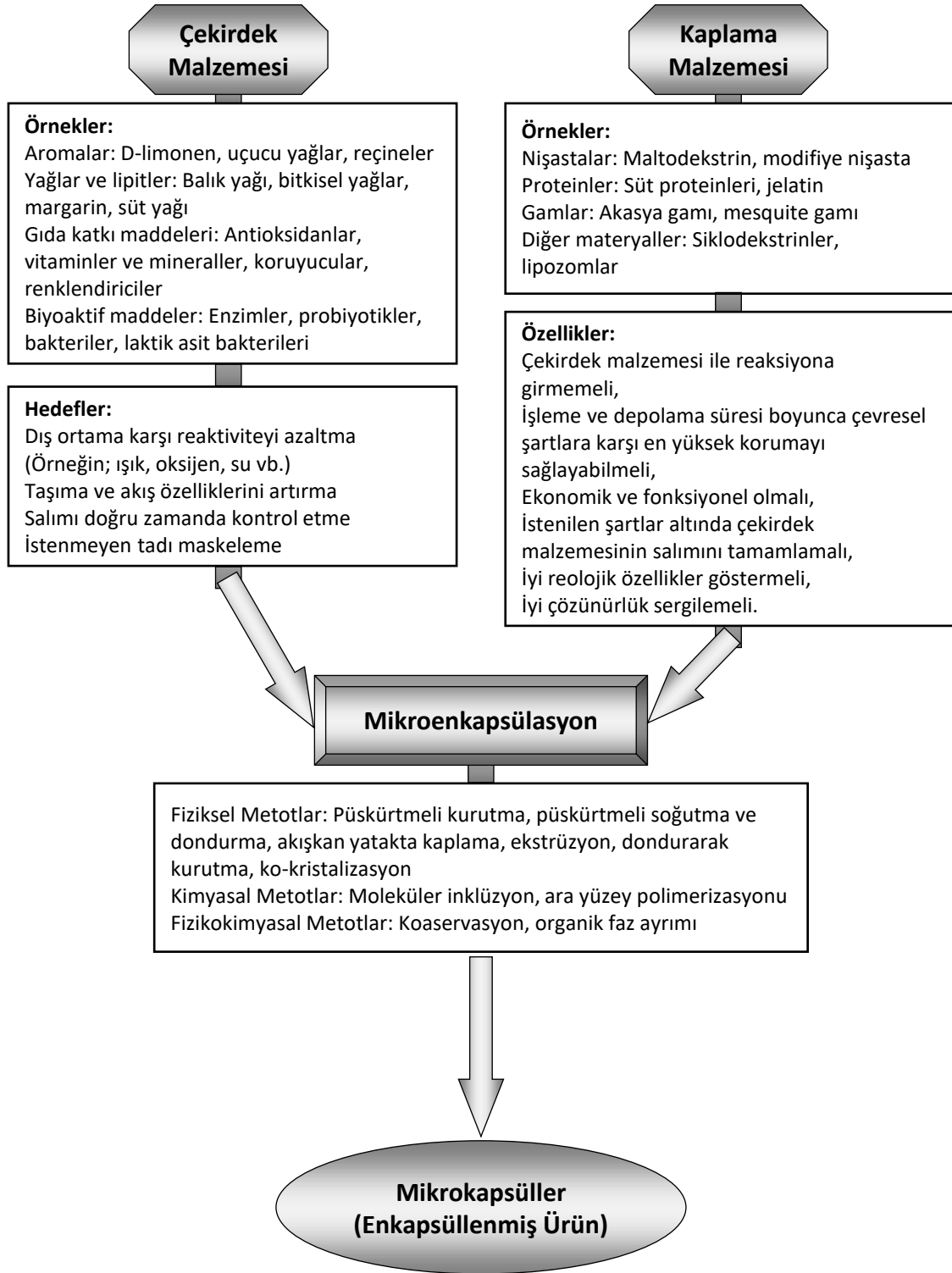
kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, kristalizasyon, moleküler inklüzyon ve koaservasyondur [62]. Şekil 2.10'da gıda ingrediyenlerinin mikrokapsüllemesinin şematik olarak tanımlanması ile birlikte çekirdek ve duvar malzemeleri, duvar malzemesi özellikleri, kullanım amaçları ve mikrokapsülleme işleminin farklı teknikleri ve örnekleri yer almaktadır.

3 farklı tipte kapsül bulunmaktadır. Bunlar rezervuar, matriks ve kapalı matrikstir (Şekil 2.11). Rezervuar tipinde, çekirdek malzemesinin etrafında kapsül olarak bilinen bir katman mevcuttur. Matriks tipinde ise taşıyıcı materyalin üzerine dağılmış şekilde ve yüzey üzerinde aktif madde yer almaktadır. Kaplanmış matriks adı verilen üçüncü kapsül tipi rezervuar ve matriks tipinin bir kombinasyonu şeklindedir ve aktif ajan ilave bir katmanla kaplanmış şekilde bulunmaktadır [63], [64].

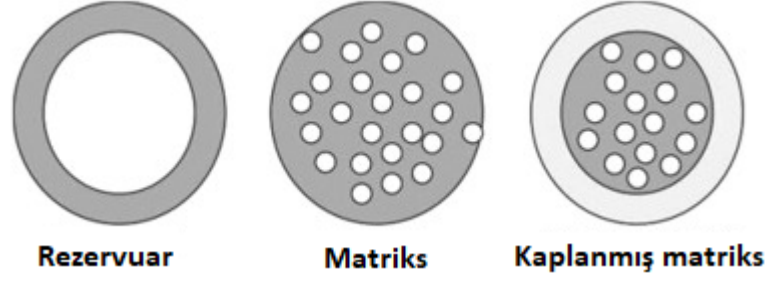
Nanopartiküllerin hazırlanması aşamasında uygulanan işlem çeşidine göre, nanoküreler veya nanokapsüller elde edilmektedir. Nanokürelerin (ilacın parçacıklar boyunca dağılmış olduğu matris sistemleri) tersine nanokapsüller, ilacın tek bir polimerik zar tarafından çevrelenmiş sulu veya yağlı bir boşluk ile sınırlandırılmış olduğu veziküler sistemlerdir (Şekil 2.12). Nanokapsüller, bu nedenle, bir rezervuar sistemi olarak düşünülmektedir [65].

Gıda bileşimlerini kapsüllemeye kullanılan birçok teknik bulunmaktadır. Kapsülleme sırasında çoğu zaman sistem sıvı haldeyken işlem sonunda kurutma uygulanmaktadır. Aktif ajanları kapsüllemek için püskürterek kurutma, püskürtme-yatak-kurutma, akışkan yataklı kaplama, püskürterek soğutma veya eriyik enjeksiyon gibi farklı teknikler mevcuttur [66]. Mikroenkapsülasyonda kullanılan teknolojilere ilişkin detaylı bilgiler Tablo 2.1'de verilmiştir.

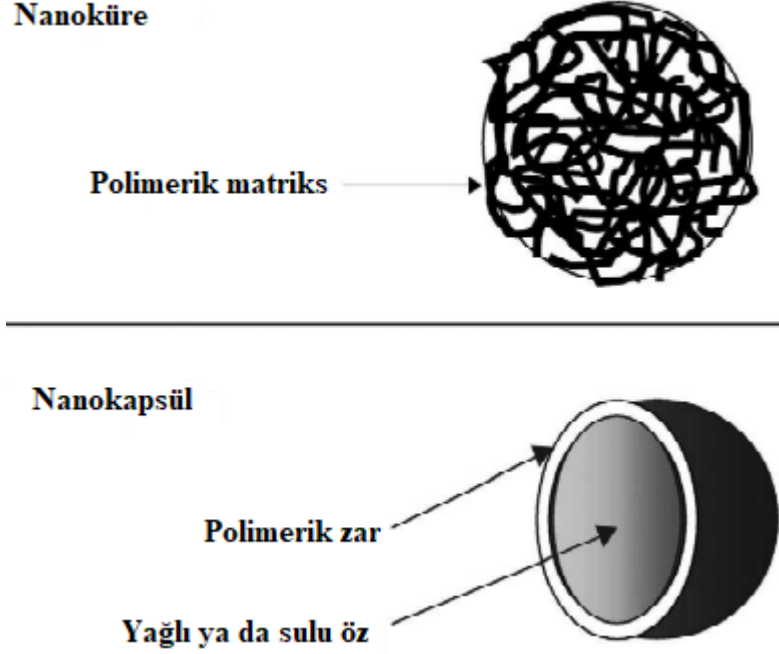
Liyofilizasyon olarak da bilinen dondurarak kurutma yöntemi, vakum altında süblimasyon ve desorpsiyon ile dondurulmuş bir numuneden suyun uzaklaştırılmasını içeren bir endüstriyel işlemdir. Bu işlem nispeten yavaş ve pahalıdır, özellikle sadece



Şekil 2.10 Gıda ingredientlerinin mikrokapsüllenmesinin şematik olarak tanımlanması ile birlikte çekirdek ve duvar malzemeleri, duvar malzemesi özellikleri, amaçları ve mikrokapsülleme işleminin farklı teknikleri ve örnekleri [43]



Şekil 2.11 Kapsül türleri [64]



Şekil 2.12 Nanoküre (matriks) ya da nanokapsül [65]

yüksek katma değere sahip ürünler için uygulanmaktadır. Dondurarak-kurutma döngüsü üç aşamadan oluşmaktadır. Bunlar donma (katılaşma), primer kurutma (buz süblimasyonu) ve ikincil kurutma (dondurulmamış suyun desorpsiyonu)dır [67]. Bu üç adım arasında birincil kurutma en uzun süreye sahiptir. Birincil kurutma adımı boyunca, süblimasyon oranı yavaş yavaş azalır, çünkü kurutulmuş katmanın kalınlığı arttığında ısı ve kütle iç transfer hızı azalmaktadır [68].

Yapılan çalışmalar, süblimasyon aşamasının, dondurarak kurutma döngüsünde toplam enerji tüketiminin yaklaşık %50'sini oluşturduğunu göstermiştir. Gözenekli tabakaların yapısı, donma aşamasında oluşan buz kristallerinin morfolojisi ile belirlenmektedir. Bu nedenle, donma aşamasının kontrolü, dondurularak kurutma işleminin gerçekleştirilmesi için çok önemlidir [69]. Bu yöntem, nanopartiküllerin uzun süreli stabilitelerinin sağlanması aşamasında oldukça başarılıdır. Liyofilizasyon; ısıl stabilitesi düşük ve kolayca okside olan ürünlere uygulanmakta ve uzatılmış raf ömrü, yüksek rehidrasyon ve taşıma kolaylığı gibi önemli faydalar sağlamaktadır [68],

[70]. Bahsedilen avantajlarından dolayı liyofilizasyon yöntemi; gıda, farmasötik gibi endüstrilerde oldukça fazla ilgi görmektedir [70].

Başarılı bir dondurarak kurutma işlemi ile, hammaddenin başlangıçtaki şekil, boyut, görünüm, tat, renk, lezzet, doku ve biyolojik aktivitele gibi özellikleri büyük ölçüde korunmaktadır [71].

Yağ damlacıkları dondurarak kurutma yoluyla kapsüllenebilmektedir. Dondurarak kurutma yöntemi, donma noktasının altındaki düşük sıcaklığın yanı sıra havasız ortamın da etkisi ile kararsız bileşenlerin kimyasal olarak bozunmasını en aza indirmektedir. Dondurarak kurutma işleminin bir başka yararı, sakkaroz ve trehaloz gibi kolay kristalize materyallerin matris oluşturucu olarak kullanıldığı durumlarda bile, amorf kapsülleme matrisinin elde edilebilmesidir. Kurutulmuş preparatların kurutucu duvar üzerine bırakılmasından dolayı verim kaybı, püskürtmeli kurutma ile karşılaştırıldığında, daha az olduğu belirtilmiştir. Dondurarak kurutmanın sözü edilen avantajlarının yanı sıra çeşitli dezavantajları da bulunmaktadır. Örneğin, püskürtmeli kurutma yöntemine kıyasla maliyetin 30 ila 50 kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir [6]. Ayrıca bu yöntem çok zaman alıcıdır ve önemli miktarda da enerji harcamaktadır [72], [73].

İyonik jelasyon (iyonotropik jelasyon), sodyum tripolifosfat (TPP) kalsiyum (Ca^{2+}) veya alüminyum (Al^{3+}) gibi karşıt iyonların varlığında polielektrolitlerin çapraz bağlanması yeteneğine dayanmaktadır. Nanoparçacık oluşumu, ilaç yüklü bir polimerik çözeltinin sulu bir polivalent katyon çözeltisine damlatılmasıyla meydana gelmektedir. Katyon, biyoaktif madde yüklü polimerik damlalara yayılarak iyonik olarak çapraz bağlı kısımların bir kafesini oluşturmaktadır [74].

Tablo 2.1 Mikroenkapsülasyon tekniklerine genel bir bakış [75]

Teknoloji	Proses Adımları	Morfoloji	Partikül büyüklüğü (μm)
Sprey kurutma	1. Aktif maddeyi sulu kaplama çözeltisinde dağıtma veya çözme 2. Atomizasyon 3. Atomize parçacıkların dehidrasyonu	Matriks	10-400
Sprey soğutma/dondurma	1. Isıtılmış lipid solüsyonunda aktif maddeyi dağıtma veya çözme 2. Dağılımı homojenize etme 3. Atomizasyon 4. Soğutma	Matriks	20-200
Akışkan yatakta kaplama	1. Kaplama solüsyonunu hazırlama 2. Çekirdek parçacıklarını akışkanlaştırma 3. Çekirdek partiküllerini kaplama 4. Kurutma ve soğutma	Rezervuar (hazne)	5-5000
Eriyik injeksiyon	1. Kaplamayı eritme 2. Kaplamadaki aktif maddeyi dağıtma veya çözündürme 3. Filtre içinden geçirme 4. Soğutma ve dehidrasyon	Matriks	200-2000

Tablo 2.1 Mikroenkapsülasyon tekniklerine genel bir bakış [75] (devamı)

Eriyik ekstüzyon	1. Kaplamayı eritme 2. Kaplamadaki aktif maddeyi dağıtma veya çözündürme 3. Çift helezonlu ekstrüderle ekstrüde etme 4. Soğutma	Matriks	300-5000
Emülsifikasyon	1. Aktif madde ve emülgatörü su ya da yağ fazında çözme 2. Yağ ve su fazlarını kesme gerilimi altında karıştırma	Matriks	0,2-5000
Çok tabakalı emülsiyonları hazırlama	1. Yağ fazında lipofilik aktif maddeli O/W emülsiyonlarını ve iyonik emülgatörleri hazırlama 2. Karşıt yüklü polielektrolitler içeren sulu çözelti ile karıştırma 3. Serbest polielektrolitlerin fazlasını uzaklaştırma (isteğe bağlı) 4. 2. ve 3. adımları tekrarlama	Rezervuar (hazne)	0,2-5000
Koaservasyon	1. Yağ fazında lipofilik aktif maddeli o/w emülsiyonları hazırlama 2. Türbülanslı koşullar altında karıştırma 3. Karışmayan üç fazı başlatma 4. Soğutma 5. Çapraz bağ (isteğe bağlı olarak)	Rezervuar (hazne)	10-800
Ekstrüzyon veya damlatma yoluyla mikroküreler hazırlama	1. Aljinat solüsyonunda aktif maddeyi çözme ya da dağıtma 2. Jelleşme banyosuna atma	Matriks	200-5000
Mikrokürelerin emülsifikasyonla hazırlanması	1. Suyun biyolojik polimer ile yağ fazında emülsiyon haline getirilmesi 2. Kesme (shear) altında jelleştirici madde ekleme	Matriks	10-1000

Tablo 2.1 Mikroenkapsülasyon tekniklerine genel bir bakış [75] (devamı)

Ko-ekstrüzyon	1. Yağda aktif maddeyi çözündürme ya da damıtma 2. Sulu veya yağlı kaplamayı hazırlama 3. Eşmerkezli nozul kullanarak aynı anda yağ fazını iç nozuldan su fazını dış nozuldan bastırma 4. Jelleşme veya soğutma banyosuna bırakma	Rezervuar (hazne)	150-8000
İnklüzyon kompleksleri	1. Taşıyıcı, aktif madde ve suyu birlikte karıştırma 2. İnkübasyon ve gerekiyorsa kurutma	Moleküler inklüzyon	0.001-0.010
Lipozom tutuklama	1. Lipit moleküllerini suda, lipid veya su fazında etken maddeyle birlikte disperse etme 2. Yüksek kesme veya ekstrüzyon ile boyut küçültme 3. Serbest aktif maddeleri kaldırma (opsiyonel)	Farklı	10-1000
Dondurarak veya vakum kurutma	1. Aktif madde ve taşıyıcı malzemeyi suda disperse etme veya çözme 2. Örneği dondurma 3. Düşük basınç altında kurutma 4. Öğütme (opsiyonel)	Matriks	20-5000

İyonik jelasyon tekniği; çapraz bağlama maddesinin toksik olmaması, organik çözücülerin bulunmaması ve yüksek sıcaklığa ihtiyaç duyulmadan hafif bir işlem uygulanması nedeniyle partiküllerin sentezlenmesinde kullanılan diğer metotlara kıyasla oldukça fazla tercih edilen bir yöntemdir [76]. Bu metotla laboratuvar ölçeğinde çalışmaların gerçekleştirilmesi oldukça kolaydır. Aynı zamanda bu yöntemle; hidrofilik, hidrofobik, sıcaklığa hassas bileşenler, ince sıvılar, vizkoz yağlar ve katılar da kapsüllenebilmektedir. Bahsedilen avantajlarına rağmen gıda endüstrisinde kullanımını sınırlayan iki faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden ilki şırınga ekstrüderi ve karıştırma banyosunun küçük partiler halinde çalışmaya imkan vermesi ve büyük partiler halinde çalışılmak istendiğinde maliyetlerde önemli derecede artış meydana gelmesidir. Öte yandan, bu yöntemle elde edilen kapsüllerin çok gözenekli olması, su ve diğer sıvıların matris içine ve dışına hızlı ve kolay yayılımına neden olmaktadır. Ancak literatürde bu yöntemin büyük ölçekte uygulanabilir olmasını sağlamak amacıyla çeşitli öneriler getirilmiştir. Bu öneriler arasında şırınga-ekstrüzyon işlemindeki iyileştirmeler, aljinat akışına hava jeti, elektrik, güç veya titreşimli ünitelerin eklenmesi gibi işlemler yer almaktadır [77].

2.3.2 Nanoemülsiyon

Nanoemülsiyonlar, termodinamik olarak kararsız emülsiyonlardır [78]. Nanoemülsiyonlar, uygun bir yüzey aktif madde kullanarak stabilize edilmiş iki karışmayan sıvının su içinde yağ (O/W) ya da yağ içinde su (W/O)'yun dağılımını ifade etmektedir [79]. Tekli ve çoklu doymamış yağ asidi içeren yağlar ile diğer biyoaktif yağ türevi maddelerin nanoemülsiyon haline getirilmesinin en önemli nedeni, bu maddelerin oto-oksidasyonunu önlemek ve beslenme kalitelerini korumaktır [80].

Nanoemülsiyonlar, boyutları küçük olduğundan dolayı geniş yüzey alanı sağlamakta aynı zamanda biyoaktif maddenin çözünme hızı ve oranı ile mukozal geçirgenliği artırmaktadırlar. Nanoemülsiyonların bahsedilen benzersiz özellikleri, onları farmasötik gıda, içecek ve kozmetik endüstrilerinde lipofilik maddeleri kapsülleme, koruma ve sunma için potansiyel bir taşıyıcı haline getirmiştir [81], [82].

Nanoemülsiyonlarda elde edilen ortalama damlacık çapı genellikle <500 nm'dir [79]. Nanoskopik damla boyutlarına (genellikle 20-200 nm aralığındaki) sahip emülsiyonlar nanoemülsiyonlar olarak adlandırılmaktadır [83]. Nanoemülsiyon terimi, bazen "alt mikron emülsiyonu" veya "mini emülsiyon" ile birbirlerinin yerine kullanılabilir. Küçük damlacık boyutu, kaba emülsiyonla ilişkili süt beyazı renginden farklı olarak, berrak bir görünüm vermektedir [79].

Aromalar, renklendiriciler, mikro besin maddeleri ve nutrasötikler gibi lipofilik fonksiyonel bileşenlerin kapsüllenmesi için kolloidal salım sistemlerinin geliştirilmesine olan ilgi gün geçtikçe artış göstermektedir [84]. Nanoemülsiyonların formülasyonu için çeşitli GRAS (genel olarak güvenilir, zararsız kabul edilir) doymuş ve doymamış yağ asitleri ve noniyonik sürfaktanlar yaygın olarak kullanılmaktadır [83]. Düşük moleküllü sürfaktanlardan mikroemülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar gibi kolloidal dispersiyonların oluşumunu kolaylaştırmak ve stabilitesini arttırmak amacıyla yararlanılmaktadır [85]. Sürfaktan adsorpsiyonu, ara yüzey gerilimini düşürerek ve damlacık küçülmesini kolaylaştırarak homojenizasyon sırasında küçük damlacıkların oluşumunu sağlamaktadır. Homojenizasyondan sonra adsorbe edilmiş sürfaktanın varlığı, damlacıkların itici etkileşimlerini oluşturmaktadır. Böylelikle sterik ve elektrostatik itme gibi etkilerle damlacıkların uzun vadeli olarak stabilitesi sağlanmaktadır [42], [86].

Son on yılda yapılan birçok çalışmada, emülsiyonların stabilize edilmesi için protein-polisakkarit kombinasyonları sıklıkla kullanılmıştır. Elektrostatik yüklü çift katlı bir protein ve polisakkarit tabakanın varlığı, yağ-su arayüzünde daha kalın bir ara yüzey membranının oluşmasını sağlamaktadır. Böylelikle damlacıklar arasındaki elektrostatik iticilik artırılarak emülsiyonların kaynaşmasına karşı stabilizasyonu gerçekleştirilmektedir [87]. Araştırmacılara göre çözünme oranı ve derecesi; yağ ve sürfaktan moleküllerinin cinsine, sürfaktan konsantrasyonuna, sulu faza maruz bırakılan yağın yüzey alanına, sıcaklık, pH ve iyonik kuvvet gibi çevresel koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [88].

Emülsiyonlar ve daha spesifik olarak nanoemülsiyonlar, biyoaktif bileşiklerin gıda ürünlerinde kullanımını artırmak, gıda matriksi içerisinde homojen dağılımını sağlamak, kimyasal bozulmaları ve diğer gıda bileşenleriyle etkileşimlerini engellemek, potansiyel istenmeyen duyuşal özelliklerini maskeleyerek ve biyoerişilebilirliklerini geliştirmek gibi çeşitli amaçlarla çeşitli ürün formülasyonlarında her geçen gün daha fazla kullanılmaktadırlar [89].

Nanoemülsiyonlar mekanik tabanlı (yüksek enerji) veya kimyasal bazlı (düşük enerji) yöntemler kullanılarak üretilebilmektedirler. Yüksek enerji yöntemleri arasında ultrasonik homojenizasyon, yüksek basınçlı homojenizasyon ve mikroakışkanlaştırma vs. yer almaktadır [90].

Nanoemülsiyonlar, biyoyararlılığı ve biyoerişilebilirliği arttırması ve kinetik kararlılığı sağlamasından dolayı lipofilik maddelerin salımı için ideal taşıyıcılar olarak değerlendirilmektedir [91]. Günümüzde düşük üretim maliyeti, sistemin kolay manipüle edilebilmesi, yüksek enerji verimliliği ve daha düşük enstrümental

gereksinimleri sağlaması gibi avantajları nedeniyle ultrasonik homojenizasyon, nanoemülsiyon preparatları hazırlanmasında ön plana çıkmaktadır. Ultrasonik homojenizatör, kavitasyon etkilerinden ötürü damlacık parçalanmasına neden olan yüksek yoğunluklu (düşük frekanslı) akustik dalgalar üretmektedir. Nanoemülsiyonların son damlacık boyutu bir dizi formülasyon ve işlem değişkeninden etkilenmektedir [92].

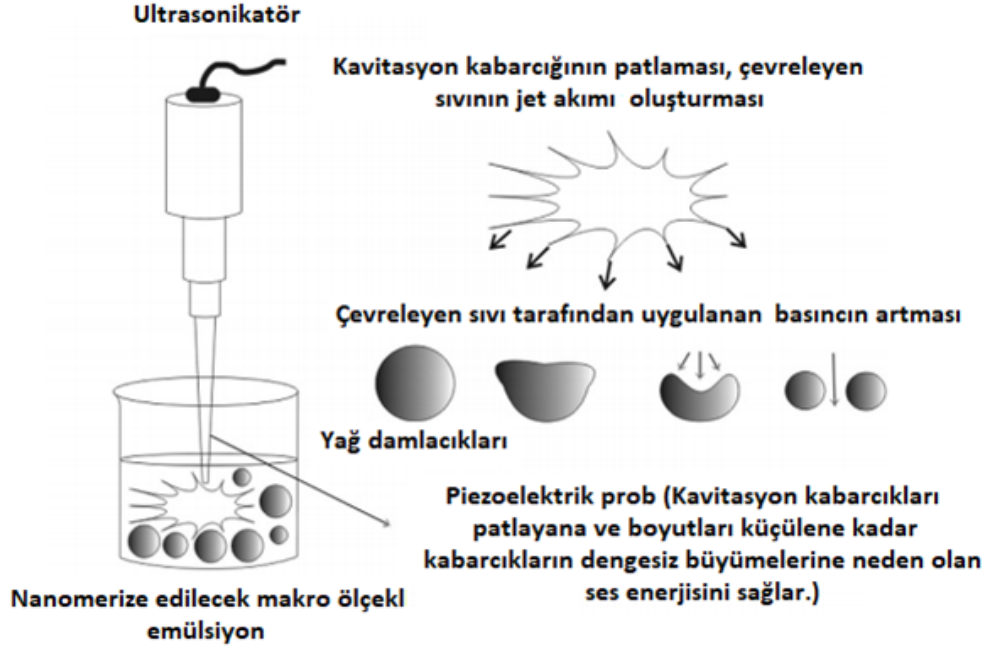
Diğer taraftan, nanopartikül üretiminde genellikle yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonları tercih edilmektedir. Bunun en büyük dezavantajı, nanometre ölçekli parçacıklar elde etmek için yüksek enerji uygulanması gereksinimi ve buna bağlı olarak yüksek enerjinin biyoaktif maddenin bozulması, denatürasyon veya aktivite kaybı gibi problemlere neden olmasıdır. Ayrıca, yüksek enerji sarf eden mekanik cihazların kullanılması; bu yöntemin maliyetini artırmakta ve büyük ölçekli üretimler için engel teşkil etmektedir [93].

Genel olarak nanoemülsiyonların üretiminde yüksek kesmeli karıştırıcılardan, yüksek basınçlı homojenizatörlerden ve parçacıkları daha küçük boyutlara ayırmak için sonikatörlerden yararlanılmaktadır [93].

Emülsifikasyon ve homojenizasyon; farmasötik, kozmetik, gıda, kimya ve diğer endüstrilerde kullanılan temel işlemler arasında yer almaktadır. Nanoemülsiyonların üretilmesinde karıştırma, dişli disk dağıtma (çoğunlukla homojenizasyon veya rotor-stator dispersiyonu olarak ifade edilir), kolloid öğütme ve yüksek basınç homojenizasyonu gibi bir takım mekanik teknikler sıklıkla kullanılmaktadır [94].

Ultrasonikasyon yöntemleri yüksek frekanslı ses dalgalarına (20 kHz ve üstü) bağlıdır. Bu yöntem, nanoemülsiyonun oluşturulması veya önceden oluşturulmuş bir emülsiyonun boyutunun azaltılması için kullanılmaktadır. Tezgah üstü sonikatörlerin ucunda yoğun bozucu kuvvet üreten piezoelektrik prob bulunmaktadır. Bu problemler numuneye batırıldığında ultrasonik dalgalar, kavitasyon baloncukları üretmekte ve bu baloncuklar patlayana kadar büyümeye devam etmektedir (Şekil 2.13). Ortaya çıkan patlama, şok dalgaları oluşturmakta, bu şok dalgalarını çevreleyen sıvı ise bir jet akımı meydana getirmektedir. Ardından dağıntık damlacıkların basınç altında boyutlarının küçültülmesi işlemi gerçekleştirilmektedir [95], [96].

Ultrasonla emülsiyon üretimi sonotrode'un tüm bileşenlerinin karışımı ya da sürekli faza daldırılmasıyla ve sonikasyon ile disperse olmuş fazın aşamalı olarak eklenmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu prosedür, küçük partiler için uygundur, ancak ölçek büyüdükçe uygulama zorlaşmaktadır. Bir sıvıda ultrason yoğunluğu sonotrode mesafesiyle hızlı bir şekilde azaldığından dolayı daha büyük hacimlerin etkili bir şekilde homojenizasyonu zorlaşmaktadır. İyi homojenizasyonun sağlanabilmesi için



Şekil 2.13 Ultrasonikasyon yolu ile emülsiyon boyutunun azalması [95]

ek bir karıştırma sistemi bulunmalı ve sonotrodun etrafındaki örnek sürekli olarak hareket ettirilmelidir [94].

2.4 Isırgan

Isırgan (*Urtica dioica* L.), özel kullanım amacıyla yaygın olarak yetiştirilmesinin yanı sıra yabani olarak da doğada yetişebilen bir bitki türüdür. Bu otsu ve çok yıllık bitki *Urticaceae* familyasına mensuptur ve genellikle ılıman iklim bölgelerinde yetişmektedir. Cins ismi, Türkçe karşılığı “batma, yanma, sürtünme ile yanma” anlamındaki Latince “urere” kelimesinden türemiştir. Açık ya da koyu yeşil renklidir. Asya, Amerika ve Avrupa’da yetiştirilmektedir. Genellikle ormanların açık alanlarında, yollarda, bakımsız tarlalarda ve bahçe kenarlarında görülmektedir [11].

Isırgan otlarının çoğu yabani olarak hasat edilmesine rağmen ekonomik ve ekolojik nedenlerden dolayı kültüre alınarak ta yetiştirilebilmektedir. Isırgan otları, topraktaki ağır metal içeriğinin azaltılması, yerel flora ve faunanın biyolojik çeşitliliğinin artırılması, aşırı gübrelenmiş toprakların iyileştirilmesi, boyama, tekstil ve enerji sektörleri için yüksek kaliteli tarımsal hammadde üretimi gibi amaçlarla kültüre alınarak yetiştirilmektedir [97]. Yanı sıra gıdalarda ve ilaçlarda yeşil renklendirici (E140) olarak kullanılan klorofilin ekstraksiyonu için ticari olarak hasat edilmektedir [98].

Dokunma ile oluşturduğu yanma hissi ısırganın tırtıklı yapraklarında ve gövdesinde bulunan histamin, asetilkolin, lökotrien, 5-HT (serotonin), moroitin ve formik asitten kaynaklanmaktadır [99]. Geleneksel tıpta artirit, romatizma ve egzama gibi hastalıkların tedavisinde uzun yıllardan beri insanlar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ısırgan ekstraktları; yaşlanmayı geciktirici ve antioksidan özelliklerinden dolayı kozmetik formülasyonlarında da sıklıkla tercih edilmektedirler. Bunun yanı sıra ısırgan, şampuanların bileşiminde de karşımıza çıkmaktadır. Isırgan otu ekstraktlarında bulunan moleküllerin arasında ursolik asit ve kuersetin yer almaktadır. Bahsedilen moleküller, yaşlanmayı geciktirici özellikler sergilemektedirler. Çoğunlukla ısırgan köklerinde birikmiş olarak bulunan ursolik asit, iyi bilinen bir elastaz inhibitörüdür. Öte yandan yapraklarda biriken kuersetin ise en etkili antioksidanlardan birisidir [100].

Hasat zamanına bağlı olarak ısırganın hazırlama yöntemi değişiklik göstermektedir. Çiçek açmadan önce ilkbaharda veya yaz başında hasat edilen ısırganlar, meyve suyu hazırlamada kullanılmaktadır. Erken sezonda hasat edilen yapraklar yine taze yeşil sebze olarak tüketilebilmekte ya da çay yapmak için kurutulmaktadır. Yaz ortası ya da yaz sonunda hasat edilen ısırganlar ise ilaç preparatlarının hazırlanmasında kullanılmaktadır. Tohumlamadan sonra ısırgan otlarının canlılığı hızla azaldığı için belirtilen aşamadan önce ısırgan yapraklarının solmadan hasat edilmesi gerekmektedir [101], [102]. Isırgan bitkisi ve tohumuna ilişkin görseller Şekil 2.14'te sunulmuştur.



Şekil 2.14 Isırgan bitkisi ve tohumu

Isırganın antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflammatuar, antiviral, antiülser ve hipolipidemik gibi geniş bir spektrumda biyolojik aktivitesi mevcuttur. Bu aktiviteler ısırganın bünyesinde yer alan vitaminler (B, C ve K), esansiyel amino asitler, yağ asitleri, karotenler, terpenler, polifenolik bileşikler ve diyet lifleri gibi biyolojik olarak

aktif bileşenlerin varlığıyla ilişkilendirilmiştir [98], [103].

Genel itibariyle ısırgan otunun yaprakları ve kökleri tohumuna göre daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle literatürde ısırgan otunun yaprakları ve kökleri üzerine yapılan çalışmalar tohumuna kıyasla daha yaygın olarak yer almaktadır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde son yıllarda ısırgan tohumu üzerine yapılan çalışmaların arttığı gözlemlenmiştir. Isırgan (*Urtica dioica*) tohumundan gam ekstraksiyonu, optimizasyonu ve karakterizasyonu [14], ısırgan tohumundan (*Urtica pilulifera*) elde edilen gamların fizikokimyasal, reolojik ve fonksiyonel özellikleri [104] belirlenmiştir. Farelerde deneysel kolitte ısırgan tohumu (*Urtica dioica*) yağının etkileri [105] ve ısırgan tohumlarının (*Urtica dioica*) alerjik astım üzerine koruyucu etkileri [106] araştırılmıştır. Öte yandan Guil-Guerrero vd. [98] tarafından ısırgan bitkisinin (*Urtica dioica*) farklı olgunluk dönemindeki yapraklar, saplar, kökler ve tohumlarının nem ve yağ asidi içeriğini incelemişlerdir. Çalışmadan elde edilen bulgular Tablo 2.2’de sunulmuştur.

Tablo 2.2 Isırgan tohumunun (*Urtica dioica* L.) nem ve yağ asidi içeriği (%) [98]

Bileşen	Miktar (%)
Nem	47.6
Sabunlaşabilir yağ	15.1
Palmitik asit (16:0)	25.4
Palmitoleik asit (16:1 n-7)	0.7
Stearik asit (18:0)	2.3
Oleik asit (18:1 n-9)	4.8
Linoleik asit (18:2n-6)	22.7
Alfa-linolenik asit (18:3n-3)	6.6
Gadoleik asit (20:1n-9)	2.1
Erusik asit (22:1n-9)	1.2
n-3/n-6	0.29

2.5 Polisakkaritler

Polisakkaritler; büyük, dallanmış veya dallanmamış bir zincir oluşturmak üzere glikosidik bağlar ile birbirine bağlı çok sayıda monosakkarit birimlerini içeren kompleks polimerlerdir. Biyolojik kaynaklardan elde edilen polisakkaritlere “doğal polisakkaritler” adı verilmektedir. Doğal polisakkaritlerin; toksik olmaması, güvenilirliği, biyolojik bozunabilirliği, biyoyumumluluğu, yenilenebilirliği, ucuzluğu ve kolay bulunabilirliği gibi özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde farklı amaçlarla kullanımı gün geçtikçe daha fazla ilgi uyandırmaktadır [107]. Gıda, ilaç, kozmetik, tekstil, biyoteknoloji ve ambalajlama gibi endüstri dallarında kaplama materyali, kağıt hammaddesi, boya, yapıştırıcı vs. olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [108],

[109], [110]. Doğal polisakkaritlerin son yıllarda koyulaştırıcı, süspansiyonlaştırıcı, nemlendirici, emülgatör ve yara yumuşatıcı merhem üretiminde kullanımları mevcuttur [110]. Bununla birlikte polisakkarit bazlı hidrokolloidler; gıdalarda, gıda bileşenleri arasında ya da yenilebilir materyallerin yüzeylerinde ince tabaka oluşturmak amacıyla da kullanılmaktadır [108].

Polisakkarit ve protein gibi biyopolimerler; gıda formülasyonlarında tekstür, stabilite ve yapıya katkı sağlayan ana besinsel bileşenler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak gıdalar işlendikleri zaman biyopolimerler arasında (polisakkarit-polisakkarit, polisakkarit-protein ve protein-protein) birtakım interaksyonlar meydana gelebilmektedir. Bahsedilen interaksyonlar; gıdaların mikroyapılarını, tekstürlerini, mekanik stabilitelerini ve sonuç olarak ta görünüş, tat ve kokularını etkilemektedir. Belirli şartlar altında biyopolimerler pozitif, negatif ve nötral yük olmak üzere toplamda üç farklı tipte yükle yüklenmektedir. Biyopolimerler arasında meydana gelen etkileşimler çekme ve itme etkileşimlerinin sonucunda sırasıyla birleşen ve ayrılan fazların meydana gelmesine neden olmaktadır [111].

Gıda hidrokolloidleri; gıda endüstrisinde mikroyapı, doku, lezzet ve raf ömrünün kontrolü için fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılan yüksek molekül ağırlıklı hidrofilik biyopolimerlerdir. ‘Hidrokolloid’ terimi, bitkilerden, yosunlardan ve mikrobiyal kaynaklardan ekstrakte edilen birçok polisakkaritin yanı sıra bitki sızıntılarından türetilmiş gamları ve nişasta ya da selülozun kimyasal ya da enzimatik muamelesiyle hazırlanan biyopolimerleri kapsamaktadır. Buna ek olarak, polidispers ve hidrofilik özelliklerinden dolayı jelatin de bu grubun istisnai bir üyesi olarak kabul görmüştür. Ancak, kazein ve gluten gibi diğer gıda proteinleri, geleneksel olarak gıda polisakkaritlerinininkine benzer fonksiyonel özellikler sergilese de geleneksel olarak hidrokolloid olarak sınıflandırılmamaktadır [10].

Polisakkaritler, hidrofilik özelliklere ve yüksek moleküler ağırlığa sahip oldukları için su tutma ve kıvam arttırma özellikleri ile tanınmaktadırlar. Doğada yaygın olarak bulunan polisakkaritlerin sıvı ara yüzeylerine adsorbe etme eğilimi çok fazla değildir. Adsorpsiyon yapmayan polisakkaritlerin yüzey aktifliği yoktur veya sınırlıdır ve damla içi hareketi yavaşlatan sulu sürekli fazın viskozitesini jelleştirerek veya modifiye ederek emülsiyon kararlılığını arttırmaktadır [112]. Gam arabik, kimyasal olarak modifiye edilmiş nişasta veya selüloz türevleri, doğal olarak oluşan galaktomannan hidrokolloidler (guar gam, çemen gamı), şeker pancarından elde edilen pektin vb. bazı polisakkaritler yüzey/ara yüzey aktivitesi sergilemektedirler [10], [44].

Doğal gamlar, mikrobiyal ya da bitkisel kaynaklardan üretilen hidrofilik polisakkaritlerdir. Kaynağa bağlı olarak; bitki eksüda (sızıntı) gamları, tohum

gamı, mikrobiyal gam ve deniz gamları olarak sınıflandırılmaktadır. Gam arabik ve karaya gamı gibi eksüda gamlar, “gummosis” adı verilen bitkinin hücre zarının erimesi işlemi ile üretilmektedirler. Guar gam, demirhindi gamı, keçiboynuzu gamı vb. tohum gamları, depo polisakkariti olarak depolandıkları bazı tohumların embriyolarından elde edilmektedir. Mikrobiyal gamların ise üretimi mikrobiyal fermentasyon yolu ile gerçekleştirilmektedir. Örneğin; *Xanthomonas campestris* tarafından ksantan gam, *Pseudomonas elodea* tarafından jellan gam ve *Leuconostoc* spp. tarafından dekstran gam üretilmektedir [110].

Doğal gamlar düşük konsantrasyonlarda bile çözeltinin viskozitesinde önemli artış sağlayabilen polisakkaritlerdir [110]. Birçok doğal gamın birbirine bağlı moleküler üç boyutlu ağları “jel” olarak adlandırılmaktadır. Jelin gücü; gamın yapısına ve konsantrasyonuna, ayrıca iyonik kuvvet, pH ve sıcaklık gibi faktörlere de bağlıdır [113]. Bununla birlikte, bünyesinde var olan az miktarda protein de gamların davranışlarını etkilemektedir [110]. Doğrusal (lineer) polisakkaritler, dallanmış polisakkaritlerle kıyaslandığında daha fazla hacim kapladıklarından dolayı aynı konsantrasyonda daha fazla viskozite sergilemektedirler [113]. Gıdaların işlenmesi sırasında, polisakkaritlerin sergilediği “jelleştirme” işlevsel özelliği, gıda dokusunun ve ağız hissinin iyileştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, polisakkaritlerin aralarında meydana gelen etkileşimler sonucunda harman jel oluşumu da gözlemlenebilmektedir. Bu sayede daha güçlü jel kuvveti oluşmaktadır [114]. Bununla birlikte, doğal gamlar genellikle “şişme” özellikleri ile bilinmektedirler. Bahsedilen özellik, zincirler ve dallanmalar arasında büyük miktarda suyun hapsedilmesinden ileri gelmektedir [115].

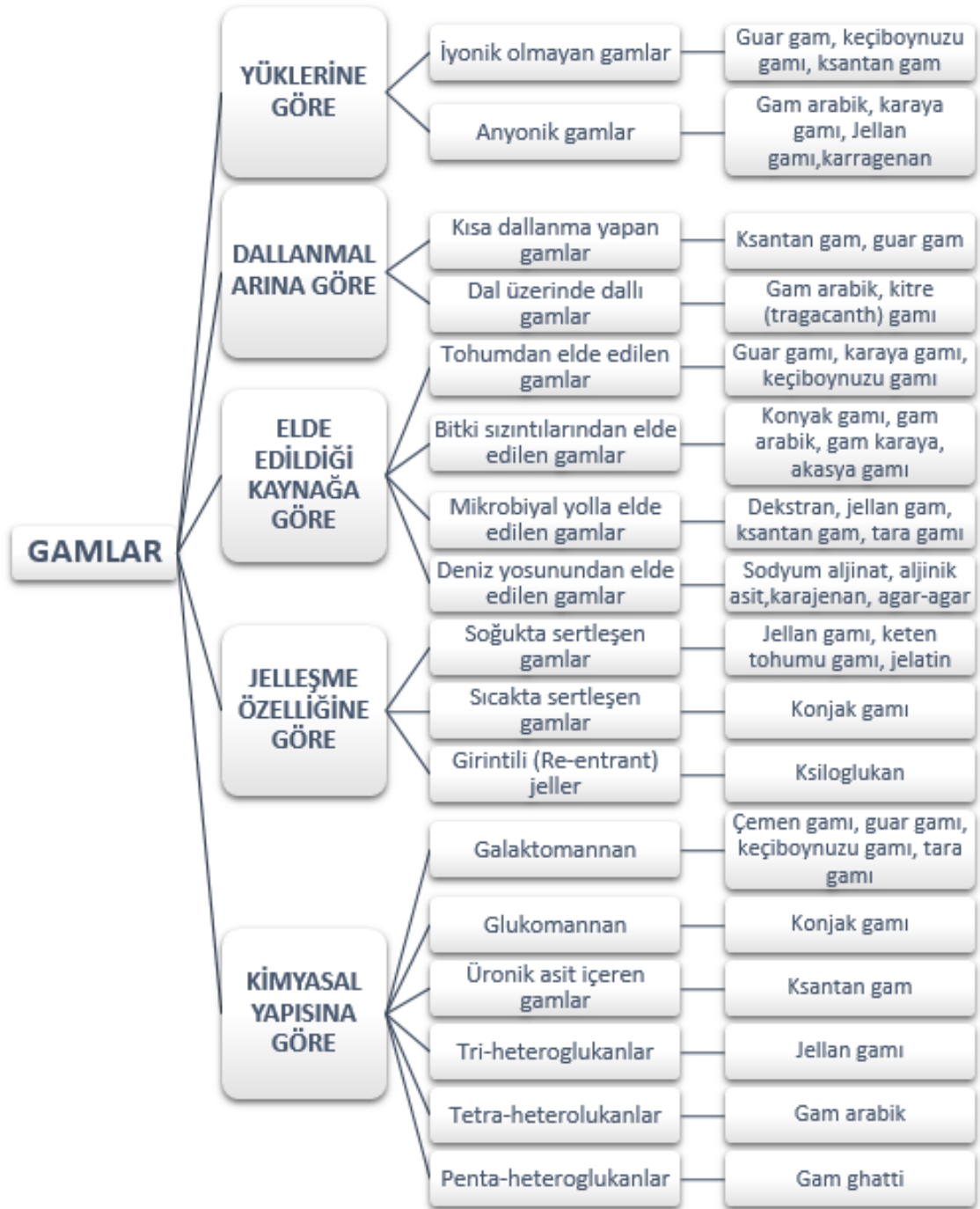
Hidrokolloidler genellikle eter veya alkoller gibi organik çözücüler içinde ya da yağda çözünmezler. Hidroliz sonrasında arabinoz, galaktoz, ksiloz, ramnoz, dekstroz, mannoz, uronik asitler veya bunların çeşitli kombinasyonlarından oluşan monomerlerine parçalanırlar [110]. Gamların sınıflandırılması Şekil 2.15’te verilmiştir.

Gamlar, bağırsak mikroflorası tarafından metabolize edilerek nihai olarak kendi bileşeni olan şekerlere indirgenmektedir. Ayrıca bağırsakta bulunan enzimler, belirli bölgelerden gamları parçalayabilmektedir. Örneğin, alfa-galaktosidaz, serbest alfa-D-Galaktoz üretmek için terminal indirgenmeyen galaktoz kalıntılarını hidrolize edebilmektedir [113].

Galaktomannanlar, yan zincir olarak galaktoz birimlerine bağlanan bir mannoz omurgasından oluşan doğrusal polisakkaritlerdir. Galaktomannanlar, ticari potansiyele sahip çok çeşitli özellikler sergilemektedirler. İkinci en büyük depolama

polisakkarit grubunu oluşturmaktadırlar ve birçok bitkinin tohumlarında endosperm ya da hücre duvarı şeklinde bulunmaktadır. Literatürde birçok bitkisel kaynaklı galaktomannan rapor edilmesine rağmen, ticari olarak sadece keçiyoynuzu, guar, tara ve çin tarçını gamı üretilmektedir [110].

Glukomannanlar, bitkilerin farklı bölümlerinden üretilen bir grup hidrofilik polisakkarittir [116]. Glukomannanlar, yumrularda bulunan ana bileşenlerdir ve yüksek molekül ağırlıklarından dolayı suda çözündüklerinde yapışkan bir çözelti oluştururlar. Glukomannanların yapısı glukoz ve mannoz birimlerinden oluşan β -(1→4) glikozidik bağlarla bağlı doğrusal bir omurgadan oluşmaktadır [117]. Konjak gam, asemannan ve salep sıklıkla literatürde karşılaşılan glukomannanlar arasında yer almaktadır [116].

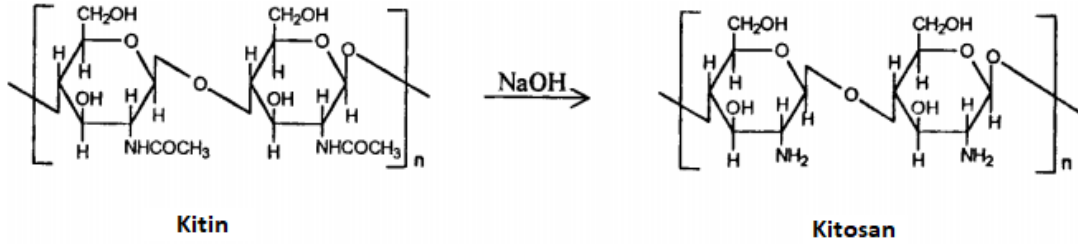


Şekil 2.15 Gamların sınıflandırılması [118]

2.6 Kitosan

Kitin dünyada bol miktarda bulunan doğal polisakkaritlerden bir tanesidir. Çoğunlukla deasetilasyon yöntemiyle kitosanın üretimi amacıyla kullanılmaktadır [119]. Kitin lineer bir polisakkarittir. β -(1→4) bağlı N-asetil-D-glukozamin birimlerinden oluşmaktadır. Kitin, yapısal olarak α , β ve γ olmak üzere üç farklı formda bulunmaktadır. Çoğunlukla endüstriyel düzeyde deniz kabuklularının atıklarından kimyasal metotlar kullanılarak ekstrakte edilmektedir. Endüstriyel uygulamalarda

kitin ekstraksiyonu üç aşamada gerçekleştirilmektedir. İlk adımda alkali solüsyon eklenerek ham materyal proteinlerden arındırılmaktadır. İkinci adımda asidik solüsyonla muamele edilen örneklerin deminerilizasyonu gerçekleştirilmektedir. Son adımda ise alkali solüsyon ile renk giderilme işlemi uygulanmaktadır [120]. Kitin, deniz kabuklularından yukarıda bahsedilen yöntemle elde edildikten sonra deasetilasyon adı verilen bir işlem ile kitosana (KS) dönüştürülmektedir. Kitinin kitosana dönüşümü Şekil 2.16’da verilmiştir.



Şekil 2.16 Kitinin kitosana dönüşümü [121]

KS, antibakteriyel ve toksik olmayan özellikler sergilemektedir. Belirtilen bu niteliklerinin yanı sıra, modifikasyon kolaylığı ve biyobozunur özellikler göstermesinden dolayı gıda sanayinde kendisine yaygın bir kullanım alanı bulmuş olup her geçen gün daha farklı kullanım alanları bulmaya devam etmektedir [119]. D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimleri arasındaki oran KS'nin deasetilasyon derecesi hakkında bilgi vermektedir. Deasetilasyon derecesi, %50'ye ulaştığında KS asidik sulu ortamda çözünür hale geçmektedir. KS asidik ortamda çözündüğünde zincirdeki amino grupları protonlanarak polimer katyonik hale geçmekte ve çeşitli tipteki moleküllerle etkileşime girme imkanı kazanmaktadır [122], [123].

Son yıllarda ilaç salım sistemlerinde KS taşıyıcı materyal olarak birçok uygulamada kullanılmaktadır. Birçok ticari polisakkarit (örneğin, selüloz, alginik asit, gam arabik, dekstran, pektin, karragenan) ya nötr ya da anyoniktir, ancak KS katyonik bir polisakkarittir (pKa 6,5) [124]. KS, katyonik özelliğe sahip olmasından dolayı üstün biyofiziksel ve biyokimyasal özellikler sergilemektedir [125]. Saf suda çözünmeyen KS, seyreltik asit içinde çözünür hale getirildiğinde, lineer yapılı, yüksek pozitif yük yoğunluklu katyonik bir polimer haline gelmektedir. Bu yük, daha sonra, flokülasyon işlemi, film oluşturma sırasında veya proteinler, peptidler, ilaçlar ve bazı nutrasötikler gibi çeşitli çekirdek maddelerin immobilizasyonu uygulamalarında kullanılmaktadır [126]. Diğer salım sistemleriyle kıyaslandığında KS nanopartikülleri, yavaş ve daha kontrollü bir aktif madde salımı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra taşıma sistemlerinde aktif maddenin adsorpsiyonunu ve biyoyararlılığını artırma, minimum ilaç yan etkisi gösterme gibi özellikler de

sergilemektedir [125]. KS, hipokolesterolemik etkileri nedeniyle de bir diyet lifi gibi davranmaktadır. Bu yolla lipid absorpsiyonunu azaltmakta ve kolesterol eliminasyonunu arttırmaktadır [124].

KS, ilaç salım sistemlerinde taşıyıcı materyal olarak oldukça umut vaadeden bir biyopolimer olmasına rağmen mide ortamında hızlı bir şekilde çözünmesinden dolayı sınırlı bir kullanıma sahiptir. Bu sorunun üstesinden gelinebilmesi için kopolimerizasyon veya türevlendirme gibi işlemler uygulanmaktadır. Bununla birlikte, bu işlemler toksik bileşenlerin oluşumuna sebebiyet verebilmektedir. Üç boyutlu polimerik ağlar veya kovalent olmayan yöntemlerle hazırlanan kompleksler, kimyasal bağlardan ziyade polimerik zincirler arasındaki elektrostatik, hidrofobik ve/veya hidrojen bağların kuvvetlerine bağlıdır. Bu inter-polimer zincir etkileşimleri doğada fiziksel ve geri dönüşümlüdür, ancak KS'nin doğru seçilen polimerlerle kombine edilirse optimal aktif madde salımı için gereken özellikleri sergileyebileceği ifade edilmiştir [12].

Yapılan bir çalışmada çoklu emülsiyon üretiminde (W/O/W) hiçbir emülgatör eklenmeksizin KS ile emülsifikasyonun gerçekleştirilebildiği ifade edilmiştir. Çünkü KS, bünyesinde farklı deasetilasyon derecesine sahip olan molekül karışımlarından oluşmaktadır. Bununla birlikte yüksek deasetilasyon derecesi, O/W emülsiyonunun oluşumunu sağlarken; düşük deasetilasyon derecesi, yağ damlacıkları içine suyun emülsifikasyonunu gerçekleştirmektedir. Bahsedilen nedenlerden dolayı KS, hem hidrofilik hem de lipofilik özellik sergileyen sürfaktan olarak görev almaktadır [127].

2.7 Ovalbumin

Yumurta beyazı proteini sadece iyi bir protein kaynağı değil aynı zamanda da gıdanın işlenmesi sırasında kullanılan fonksiyonel bir gıda bileşenidir. Ovalbumin (OVA), yumurta akının ana protein bileşenini oluşturmaktadır (%54). Bir glikoprotein olan OVA, 385 kalıntıdan oluşmakta ve bünyesinde 1 adet disülfid bağı, 4 adet serbest sülfidril grubu, 0 ila 2 adet fosforil grubu ve 1 adet karbonhidrat zinciri barındırmaktadır. OVA'nın molekül ağırlığı 45 kDa, izoelektrik noktası ise pH 4,5'tir. Globüler ve asidik bir protein olan OVA, hem hidrofobik hem de hidrofilik gruplar içermesinden dolayı emülsifikasyon, köpük oluşturma ve jelleşme amacıyla gıdalarda kullanılmaktadır. İkincil yapısı yaklaşık olarak %30 alfa sarmalı (α -helix) ve %30 beta yaprağından (β -sheet) oluşmaktadır [128], [129], [130]. OVA ısıya karşı hassastır ve 70 °C'lik kritik bir denatürasyon sıcaklığına sahiptir. Yüksek sıcaklıkta kurutma esnasında yumurta beyazı proteinleri denatüre olduğunda OVA'nın biyofonksiyonel özellikleri de azalmaktadır [131]. Yumurta akı, mükemmel köpürme ve jelleşme

özellikleri sergilemesi nedeniyle kremanın (meringue) yanı sıra fırıncılık ve et ürünleri gibi birçok gıdanın üretimi esnasında kullanılan bir bileşendir. Bu ürünlerde meydana gelen köpürme veya jelleşme, temel olarak kuru maddenin %80'inden fazlasını oluşturan yumurta akı proteinlerinden kaynaklanmaktadır. Dehidre yumurta ürünleri daha uzun raf ömrü, daha düşük depolama ve nakliye maliyeti, spesifik fonksiyonel özellikler gibi birçok avantaj sunmaktadır. Ancak, yumurta akı tozu üretimi sırasında yumurta akı proteinleri fonksiyonel özelliklerine zarar verebilecek termal, fiziksel, ara yüzey ve kimyasal işlemler gibi çeşitli işlem adımlarına tabi tutulmaktadır [132].

2.8 Mayonez

Mayonez dünyada en çok kullanılan soslar arasında yer almaktadır. Tam kökeni bir tartışma konusu olmasına rağmen, yüzyıllardır varlığını sürdürmektedir. İlk olarak 1900'lerin başında ticari olarak üretilmiştir. 1917'den 1927'ye kadar Amerika'da ve 1987-1990 arasında ise Japonya'da popüler olmuştur [133].

Geleneksel mayonez; yumurta, sirke, yağ ve baharatların bir karışımı şeklinde üretilmektedir. Mayonez üretimi aşamasında önce yumurtalar, sirke ve hardal ile karıştırılmakta, sonrasında ise yavaşça yağın ilavesi ile karıştırma işlemine devam edilerek emülsiyon oluşturulmaktadır. Eğer yağ ve sulu fazlar aynı anda karıştırılırsa ilave edilen yağa benzer viskozitede bir yağ içerisinde su emülsiyonu oluşmaktadır [133].

Düşük pH ve yüksek yağ içeriği nedeniyle mayonez, nispeten mikrobiyal bozulmalara karşı dirençlidir. Mayonezde mayalar ve küfler nedeniyle bozulma meydana gelse de, bu tür bozulmalar nadiren rapor edilmiştir [133].

Geleneksel mayonez %70-80 oranında yağ içermesine rağmen, su içinde yağ (O/W) emülsiyonudur. Az yağlı mayonezlerin stabiliteilerini korumak için formülasyonda ek bileşenlerin ilavesine ihtiyaç duyulmaktadır. Tuz, tadın gelişmesinin yanı sıra yağın emülsiyondaki oksidasyon hızını etkilemesinden dolayı stabilitenin gelişmesinde önemli katkıları mevcuttur. Mayonezin karakteristik aroması temel olarak izotiyosiyanatlar içeren hardal ilavesinden gelmektedir. Bu izotiyosiyanatlar, sitrik asit ilave edilerek sulu çözeltide stabilize edilmektedirler. Yumurta sarısı, hem emülsiyonun oluşturulması hem de emülsiyonların doğru tekstürü kazanmaları için kullanılan emülsifiye edici bir ajandır [133], [134].

Yüksek yağ içeren bir ürün olan mayonez; serbest radikaller ve reaktif aldehitler gibi istenmeyen bileşenlerin oluşmasına neden olan oksidasyona oldukça duyarlıdır. Mayonezin raf ömrünü artırmak için lipid oksidasyonunu engelleyen faktörler ve

geciktirme stratejilerinin iyi bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir [135]. Mayonezin lipit oksidasyonunun kontrol edilmesi ve etkilerinin azaltılması için dikkate alınan faktörler arasında metaller, sıcaklık, ışık, paketleme, pH, yağların kimyasal yapısı, yağ konsantrasyonu, emülgatör çeşidi, bileşenlerin etkileri ve mayonezin fiziksel yapısı gösterilebilir.

Metaller: Mayonezde düşük düzeyde bile olsa geçiş metalinin bulunması, yağın indüksiyon süresini kısaltarak onu oksidasyona daha duyarlı hale getirir ve oksidasyonu hızlandırır. Mayonez asidik bir ürün olduğu için üretim ve paketleme sırasında mutfak aletleri ve makineler ile temasa geçebilir. Mayonezde bulunan asidik ortam, demiri kalay kaplı bir tanktan çözebilir. Bunun sonucunda üründe metallerle kontaminasyon sonucu ransidite hızlanır ve raf ömründe kısalma meydana gelir [136].

Sıcaklık: Lipit oksidasyonu teorisine göre sıcaklık arttıkça lipit oksidasyonu hızlanmaktadır. Literatürde mayonez ile gerçekleştirilen çalışmalar, oksidasyon teorisi ile uyumlu olarak yüksek sıcaklıklarda oksidasyonda artışın meydana geldiğini göstermektedir [137], [138].

Işık: Işığa maruz kalmanın neden olduğu lipit oksidasyonu, fotolitik oto-oksidasyon veya fotosensitize (ışığa duyarlı hale gelmiş) oksidasyondan kaynaklanabilmektedir. Fotolitik oto-oksidasyon, lipitlerin ultraviyole radyasyona maruz kalması sonucu ortaya çıkmakta ve sonuç olarak serbest radikaller üretilmektedir [139].

Ambalaj: Mayonezin kalitesi; kullanılan hammaddeler ve proses koşullarına ek olarak kullanılan ambalaj malzemesine de bağlıdır. Bu malzemelerde kullanılan bazı maddeler gıda matrislerine geçerek (migrasyon) arzu edilmeyen tat/koku bozukluklarına neden olabilmektedir. Bazı durumlarda, gaz ambalaj malzemesinden gıdanın tepe boşluğuna nüfuz ederek mayonezin oksidasyonuna neden olabilmektedir. Üreticiler ambalaj malzemelerini malzeme maliyetleri, ürünün raf ömrü ve kullanıcıya kolaylık gibi çeşitli faktörleri göz önünde bulundurarak seçmektedir. Cam, oksijene tam bir bariyer oluşturmaktadır, bu nedenle mayonezin oksidasyonuna karşı daha iyi bir koruma sağlayabilmektedir. PET (polietilen tereftalat) ve PEN (polietilen naftalat) gibi polyester malzemeler de mayonez ambalajında kullanılmaktadır. Bununla birlikte, üreticiler doğru ambalaj malzemesini seçerken ambalaj malzemesinin ışık geçirgenlik özelliklerini de dikkate almalıdır [140].

pH: Mayonezin pH değeri 3,6 ila 4,0 arasında değişmektedir. Mayonezin en yüksek viskoelastisitesi ve stabilitesi, proteinler üzerindeki minimum yük nedeniyle yumurta sarısının izoelektrik noktasına yakın olduğu bir pH'da elde edilmektedir. Bununla birlikte, pH değerinin nötrden 4'e yakın bir değere düşürülmesi, yumurta

sarısı proteinleri (düşük yoğunluklu lipoproteinler, lipovitellin ve fosvitin) ve demir arasındaki köprüleri kırarak mayonez üzerinde güçlü bir pro-oksidan etki gösterebilmektedir. Sonrasında ise demir yumurta sarısından serbest kalmakta ve oksidasyon başlatıcısı hale gelmektedir [133], [141].

Lipitlerin Kimyasal Yapısı: Bir lipit molekülünün oksidasyona yatkınlığı, kimyasal yapısı, çift bağların sayısı ve yeri ile belirlenmektedir. Doymuş yağlar, doymamış lipitlere göre lipit oksidasyonuna karşı daha karardır. Doymuş yağ kullanılarak oksidasyonu geciktirmek mümkündür ancak bunun pratikte uygulanması pek de mümkün değildir. Çünkü mayonezde kullanılan farklı lipit tipleri doymuş yağ kullanılarak elde edilemeyen özel fiziksel ve duyuşal özellikleri sağlayabilmektedir. Çoklu doymamış yağ asitleri içeren lipitlerin mayonez içine dahil edilmesinin tüketici sağlığına önemli katkıları olabilir, ancak bunlar çift bağları nedeniyle daha az karardır. Şaşırtıcı bir şekilde, balık yağı ile zenginleştirilmiş mayonez üzerindeki çalışmalar, bu mayonezin balık yağı içermeyen mayonezlerden daha hızlı veya daha fazla oksidasyona uğramadığını göstermektedir. Bununla birlikte, balık yağı ile zenginleştirilmiş mayonezde hoş olmayan tat ve koku gelişimi, balık yağı içermeyen mayonezden çok daha hızlı gerçekleşmiştir [142], [143], [144].

Yağ Konsantrasyonu: Gıda endüstrisi, tüketici taleplerine karşı az yağlı formülasyonlar içeren ve daha sağlıklı olduğu düşünölen ürünler geliştirmeye çalışmaktadır. Az yağlı mayonezin, normal üretilen mayoneze göre daha düşük bir oksidasyon oranına sahip olması beklenmektedir [145].

Emölgatör Çeşidi: Mayonezde yağ damlacıkları, metaller ve serbest radikaller gibi pro-oksidanlara karşı bir bariyer görevi görerek emülsiyonun fiziksel stabilitesini ve oksidatif kararlılığı sağlayan bir emülsiyon yapıcı molekül zarı ile çevrelenmiştir. Bu nedenle, emölgatörün mayonezin oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisi oldukça önemlidir. Mayonez, geleneksel olarak emülsifiye edici ajan rolünü oynayan yumurta sarısından üretilmektedir. Yumurta sarısının yanı sıra literatürde mayonez üretiminde çeşitli emölgatörler kullanılmış ve bunların oksidatif stabiliteleri incelenmiştir. Farklı yağ kaynaklarından (ayçiçeğı, mısır tohumu ve soya fasulyesi) elde edilen lesitin ve bunların modifiye edilmiş formları (lesitin-soya proteini izolatu ve alkolde çözünür fraksiyonu) düşük kalorili mayonez üretiminde kullanılmıştır. Bütün yumurta ile yapılan mayonez oksidasyona en duyarlı iken, çözünebilir lesitin fraksiyonları depolama süresi boyunca (oksidatif stabilite açısından) en iyi emölgatör olma özelliğı sergilemiştir. Bahsedilen çalışmada modifiye lesitinlerin kullanımının düşük kalorili mayonezin oksidatif stabilitesini artırabileceğı sonucuna varılmıştır. Öte yandan, soya sütü ve tam yumurta ile emülsiyon haline getirilmiş somon yağı içeren mayonez benzeri emülsiyonların oksidatif stabilitesi üzerine yapılan bir araştırmada tam

yumurta ile hazırlanan emülsiyonun, soya sütü ile yapılan mayoneze göre oksidasyona karşı daha kararlı olduğu belirlenmiştir [146], [147].

Bileşenlerin Etkileri: Mayonez, sulu fazda ve yağ-su arayüzünde, NaCl, şeker, limon suyu ve sirke gibi lipit oksidasyon süreçlerini etkileyebilecek bir dizi bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenlerin bazılarında düşük Fe ve Cu konsantrasyonları söz konusudur. Ancak mayonezde geleneksel bir emülgatör olan yumurta sarısı, önemli bir demir kaynağıdır ve >720 uM Fe ve ~ 17 uM Cu içermektedir. Öte yandan askorbik asit, bir antioksidan olarak Fe^{3+} 'dan daha aktif olan Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye indirgeyebilmektedir. Ayrıca, mayonezin sulu fazındaki limon suyu radikal oluşumunu teşvik etmektedir. Bunun nedeni limon suyunda askorbik asit bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, mayonezdeki askorbik asit demir-askorbat arasında yağ-su arayüzünde lipit hidroperoksitleri kıran bir kompleks oluşturarak bir pro-oksidan görevi görmektedir. Öte yandan sirke, pH'yı düşürmesi ve sonrasında yumurta sarısından demir salımını arttırması nedeniyle pro-oksidan görevi gören mayonez bileşenlerinden biridir. Ayrıca mayonez bileşenlerinden biri olan tuzun mayonez formülasyonunda mayonez aromasına katkıda bulunma, emülsiyonun stabilitesini arttırma ve otooksidasyon oranını etkileme gibi çeşitli önemli etkileri mevcuttur [148], [149], [150], [151].

Mayonezin Fiziksel Yapısı: Mayonezde oksidasyon sürecinin başlatılması ve ilerlemesi kinetiğinin, yağ damlacık boyutundan büyük ölçüde etkilendiği belirlenmiştir. Daha büyük damlacıklara sahip mayonezlerde, depolama döneminin ilk aşamasında daha küçük damlacıklı mayonez örneklerine göre daha yavaş ve daha az balık kokusu ve ransit tadın geliştiği gözlemlenmiştir. Bu bulgular mayonezin ilk oksidasyonunun ara yüzey alanına bağlı olduğunu ve yağ/su arayüzünde lipit oksidasyonunun başlatıldığı hipotezini desteklemektedir. Ayrıca, damlacık boyutu mayonezin reolojik özelliklerini de etkilemektedir. Su içinde yağ emülsiyonunda oksidasyonu geciktirmenin bir yolunun, sulu fazın viskozitesinin artırılması olduğu ve böylelikle oksidasyonun difüzyon hızının azaltılabileceği öne sürülmüştür. Bundan dolayı, gıda üreticilerinin hem fiziksel hem de oksidatif olarak kararlı mayonez üretebilmeleri için optimum işleme koşullarını ve emülgatör düzeyini belirlemeleri gerektiği ifade edilmiştir [148].

2.9 Yanıt Yüzey Metodu (YYM)

Optimizasyon, sistemden maksimum fayda sağlamak için bir sistemin, sürecin veya ürünün performansının iyileştirilmesini ifade etmektedir. Optimizasyon terimi, gıda alanında, mümkün olan en iyi yanıtı (response) üreten bir prosedürün

uygulanacağı koşulları belirlemenin bir aracı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [152]. Geleneksel optimizasyon işlemlerinde sadece bir parametre değiştirilirken, diğerleri sabit bir seviyede tutulmaktadır. Geleneksel optimizasyon çalışmaları ayrıca incelenen değişkenler arasındaki etkileşimli etkileri (interaksiyonlar) de içermemektedir. Bu nedenle, bahsedilen teknik parametrenin yanıt üzerindeki tam etkilerini gösterememektedir. Belirtilen dezavantajlarının yanı sıra tek faktörlü optimizasyonun bir başka dezavantajı ise araştırmanın yürütülmesi için gerekli deney sayısındaki artıştır. Bu durum zaman ve masrafların artmasına ve daha fazla reaktif ve malzeme tüketimine neden olmaktadır [153].

Yukarıda belirtilen problemlerin üstesinden gelebilmek için, çok değişkenli istatistik teknikleri kullanılarak analitik prosedürlerin optimizasyonu gerçekleştirilebilmektedir. Analitik optimizasyonda kullanılan çok değişkenli teknikler arasında yanıt yüzeyi metodolojisi (YYM) yer almaktadır. Yanıt yüzeyi metodolojisi, bir polinom denkleminin istatistiksel önermeler yapmak amacıyla bir veri kümesinin davranışını tanımlayan deneysel verilere uygunluğuna dayanmaktadır. Bu yöntemle, en iyi sistem performansını elde edebilmek için birden fazla değişkenin seviyesi aynı anda optimize edilebilmektedir. YYM; kompozit sistemlerin performansını tanımlamak, faktörler arasındaki etkileşimleri analiz etmek, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri araştırmak ve çoklu değişkenlerin çıktıları etkileyebileceği süreçleri veya ürünleri optimize etmek için yararlanılan etkili bir istatistiksel tekniktir [153], [154], [155]].

YYM uygulamadan önce incelenen deney bölgesinde hangi deneylerin yapılması gerektiğini tanımlayacak deneysel bir tasarımın seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan bazı deneysel matrisler mevcuttur. Veri seti eğrilik göstermediğinde birinci dereceden modeller için deneysel tasarımlar (örneğin; Faktöriyel dizaynlar) kullanılabilir. Bununla birlikte, lineer fonksiyonlarla tarif edilemeyen deneysel verilerde ise Üç Seviye Faktörlü, Box-Behnken, Merkezi Kompozit ve Doehlert Dizayn gibi çeşitli dizaynlardan yararlanılmaktadır [154], [156], [157], [158]. Box-Behnken Dizaynı, yanıt yüzeyi metodolojisinde etkin bir şekilde kullanılan dizaynlardan biridir ve merkezi kompozit dizayna ideal bir alternatif olarak gösterilmektedir [158].

2.10 BR ve BRY ile İlgili Literatürde Yapılan Çalışmalar

Karadeniz vd. [159] tarafından yapılan çalışmada BRY'nin depolama stabilitesinin artırılması için enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda farklı homojenizasyon metotlarının (mikroflotasyon (mikroakışkanlaştırma),

ultrasonikasyon ve mekanik homojenizasyon (silent crusher)) enkapsüle edilmiş BRY'nin depolama stabilitesi ve fizikokimyasal özellikleri üzerine etkileri de incelenmiştir. Kapsül ajanı olarak sodyum kazeinat, gam arabik, KS/maltodekstrin karışımı ve peynir altı suyu protein konsantresi ile KS'nin farklı oranlarda karışımı kullanılmış ve elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon etkinlikleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, sodyum kazeinatın KS'ye kıyasla daha iyi kaplama materyali olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan BRY'nin peynir altı suyu protein konsantresi ve gam arabik kombinasyonu ile kapsüllenmesi ile en yüksek enkapsülasyon etkinliği değerleri elde edilmiştir. Taze yağın toplam oksidasyon değerlerindeki artış oranı, mikrokapsüllerden daha yüksek bulunmuştur. Kapsüllenmiş yağdaki alfa-tokoferol kaybı, 24 saat (sa) boyunca 15°C ve 45°C'de depolama sırasında taze yağinkinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Tolouie vd. [160] tarafından yapılan çalışmada, atmosferik soğuk plazma uygulamasının BR'nin lipaz ve lipoksigenaz enzimlerinin inaktivasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. BR'nin işlenmesi için dielektrik bariyer boşaltma plazması kullanılmıştır. Uygulama süresinin ve plazmanın voltajının lipaz ve lipoksigenazın inaktivasyonu üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Yüksek voltaj ve işlem süresi daha yüksek inaktivasyon sağlamıştır. Bununla birlikte, 25 dakikalık işlem süresinden sonra lipaz ve lipoksigenaz inaktivasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrihidrazil) radikal temizleme aktivitesi ve işlenmiş numunelerin toplam fenolik değerinin, kontrol numunelerine kıyasla önemli farklılık göstermediği saptanmıştır. Bununla birlikte, depolama sırasında lipaz ve lipoksigenazın aktivite kaybında azalmalar meydana gelmiştir. Aktivitenin geri kazanımı, lipoksigenaz ile karşılaştırıldığında lipaz için daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Genel sonuçlara göre, soğuk plazma uygulamasının, BRY'yi stabilize etmek ve raf ömrünü uzatmak için yeni bir potansiyel sunulabileceği belirtilmiştir.

Gili vd. [23] tarafından yapılan çalışmada, BR'nin fiziksel ve sorpsiyonel olarak karakterizasyonu, BR'nin su aktivitesi ile nem içeriği arasındaki ilişkinin tanımlanması için en uygun modelin seçimi ve hava ile termik akışkanlaştırma işlemine ait tasarım parametrelerinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Partiküllerin temel eksenleri görüntü analizi ile ölçülmüş, boyutları ve geometrik parametreleri hesaplanmıştır. Deneysel verilere dört izoterm modeli uygulanmıştır. Uygulanan modeller arasından Guggenheim–Anderson–de Boer modelinin deney verilerini açıklamak için daha doğru olduğu tespit edilmiştir. Sabit yatak yoğunluğu ve boşluk payı ölçülmüştür. Akışkan-dinamik çalışmalar, Ergun denkleminin laminar ($277,46 \pm 17,48$) ve türbülanslı ($7,79 \pm 0,69$) katsayıları ve minimum akışkanlaşma hızını ($0,35 \pm 0,02$ m/s) belirlemesini sağlamıştır.

Zou vd. [161] yapılan çalışmada, 0-20 dk arasında 180°C'de kavrulmuş BR'den ekstrakte edilen BRY'nin oksidatif stabilitesi, biyoaktif bileşenleri, uçucu bileşikleri ve antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Genel olarak, BRY'nin antioksidan kapasitesi ve oksidatif stabilitesinin kavurma ile arttığı tespit edilmiştir. Kavrulmamış BR'den ekstrakte edilen yağ ile kıyaslandığında, 20 dk boyunca kavrulmuş BR'den ekstrakte edilen yağın toplam fenolik miktarının daha yüksek olduğu, ancak toplam tokoferol ve beta-karotenoid içeriğinde hafif bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan yağ asidi profilleri kavurma işleminden etkilenmezken, hidroksimetilfural (HMF) içeriği önemli ölçüde artmıştır. Uçucu maddeler arasında, n-bütül akrilat gibi esterler, kavrulmamış BR'den ekstrakte edilen yağlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Ancak, kavurma işleminden sonra, bu bileşiklerin seviyeleri azalmış ya da kaybolmuştur. Kavurmayla yüksek koku ile birlikte furfuranlar, piranlar, pirazinler ve piroller bol miktarda oluşmuştur.

Liu vd. [162] tarafından yapılan çalışmada, *Bacillus subtilis* fermentasyonunun yağı alınmış BR'nin toplam antioksidan özellikleri üzerine sinerjistik etkileşimleri, serbest fenolik ve peptidlerin değişimlerine olan etkisi araştırılmıştır. Yağı alınmış BR'nin hidrolizatlarının, fermente edilmemiş yağı alınmış BR'den (10,55 mg GAE g⁻¹) daha yüksek ($p < 0,05$) toplam fenolik içeriğine (26,09 mg Galya asidi eşdeğeri (GAE) g⁻¹ özütü, kuru ağırlık) sahip olduğu tespit edilmiştir. Fermentasyon sürecinde, serbest fenoliklerde (toplam fenolik içeriğinde %15-95) artış meydana gelirken bağlı fenoliklerde ise azalma meydana gelmiştir. Fermentasyon ile polifenol-protein etkileşimlerinde değişimler olmuş ve serbest fenoliklerin salımı artmıştır. Bu arada, 48 sa içinde peptit içeriğinde bir artış (%4,31-29,68) olurken bunu izleyen sürelerde bir azalma meydana gelmiştir. Peptitlerin antioksidan aktivite üzerindeki etkileri, erken fermentasyon aşamasında fenolik bileşiklerden daha önemlidir, ancak fermentasyonun daha sonraki aşamasında bu durumun tersi geçerlidir. Antioksidan aktivite (~%80), sinerjistik etkilere bağlı olarak fermentasyon sırasında hem fenolik hem de peptit içeriği ile pozitif bir korelasyon (sırasıyla $R^2 = 0,972$ ve $R^2 = 0,937$) sergilemiştir. Bu çalışmada *Bacillus subtilis* fermentasyonunun, fenolik ve peptit bileşiklerinin üretilmesi ve yağı alınmış BR'nin antioksidan aktivitesinin artırılması için iyi bir alternatif olabileceği ifade edilmiştir.

Gili vd. [163] tarafından yapılan çalışmada, difüzyon denkleminin analitik çözümleri uygulanarak akışkanlaştırılmış ince tabakalarda BR'nin kurutma kinetiği incelenmiştir. Ayrıca, bu ürün için ısıl işlemin tasarımı ve optimizasyonu ile makroskobik enerji dengesini çözümlmek için etkili ısı transfer katsayısı da belirlenmiştir. Bu çalışmada 90-150°C arasında dört hava sıcaklığı çalışılmıştır. Isı transfer katsayıları, deneysel kurutma oranları (7,87-16,55 W/m² °C) kullanılarak belirlenmiştir. Su için etkin difüzyon katsayısının $3,22 \times 10^{-11}$ 'den $2,38 \times 10^{-10}$ m²/s'ye kadar değiştiği bulunmuştur.

Difüzyon katsayısı ve aktivasyon enerjisi değerlerinin (39,27 kJ/mol), gıdanın kurutulması için beklenen aralıklar içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

Wang vd. [164] tarafından yapılan çalışmada; albümin, globülin, glutenin ve BR protein izolatının fonksiyonel özellikleri ve yapıları üzerine elektron demetinin etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, dört proteinin yağ emme aktivitesinin 60 kGy doz altındaki ışınlama değerlerinde yükseldiğini, ancak 60-90 kGy arasında ışınlama sonucunda ise düştüğünü göstermiştir. Glutenin ve BR protein izolatının, su absorpsiyon aktivitesinde kayda değer bir artış görülmüştür. Öte yandan, globülinde anlamlı ($p>0,05$) değişiklik meydana gelmezken, albüminde ise hafif bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, ışınlanmış proteinler, ışınlama dozu arttıkça azaltılmış emülsifiye edici aktivite (albümin ve globülin hariç) ve arttırılmış köpüklenme kapasitesi sergilemiştir. Ek olarak, dairesel dikroizm sonuçları albümin, globülin ve BR protein izolatının düzenli sekonder yapılarını kaybettiğini ve daha esnek yapılar oluşturduğunu göstermiştir. Globulin, glutenin ve BR protein izolatının hidrofobiklik özelliğinde bir azalmayla sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, ışınlama ile bu yapılarda meydana gelen değişikliklerin, fonksiyonel özelliklerde değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir.

Ma vd. [165] tarafından yapılan çalışmada buharda pişirilmiş ekmek kalitesi üzerine BR takviyesinin etkileri araştırılmıştır. Ham BR ve yağı alınmış BR, buğday unu içerisine %1-11 (a/a) oranında ilave edilmiştir. Sonuçlar, ham BR takviyesinin, hamurun yaş gluten içeriğini arttırdığını, ancak ham un ile karşılaştırıldığında, buharda pişirilmiş ekmeğin gluten indeksini düşürdüğünü göstermiştir. Bununla birlikte, yağı alınmış BR'nin eklenmesiyle tam tersi eğilim gözlemlenmiştir. Hem ham BR hem de yağı alınmış BR'nin genel olarak disülfid bağ içeriği üzerinde benzer etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Renk testi, BR ilavesinin ekmekte L^* değerini düşürürken b^* değerini artırdığını göstermiştir. Öte yandan, a^* değeri ise ruşeym tipinden etkilenmemiştir. Duyusal değerlendirme puanları ve tekstürel analizler sonucunda, %3'ten az miktarda BR ile takviye edilmiş buğday unundan üretilen ekmeğin arzu edilen kalite özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Xu vd. [166] tarafından yapılan çalışmada, sürekli mikrodalga proses ekipmanı kullanarak mikrodalgaın BR üzerindeki stabilizasyon etkisi incelenmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, mikrodalga tekniğinin BR'nin stabilitesini artırdığını göstermiştir. BR'nin 20 kg/sa kapasite ile işlenmesi durumunda, BR'nin stabilizasyonu için en uygun koşulların 4 kW'lık mikrodalga gücü, 8 dakikalık işlem süresi ve 60 Nm³/sa havalandırma oranı olduğu rapor edilmiştir. Bu koşullar altında kalıntı lipaz aktivitesi, ham BR'nin %14,01'ine düşmüştür. Lipoksigenaz, bahsedilen mikrodalga işlem şartları altında aktivitesini tamamen kaybetmiştir. 60 günlük hızlandırılmış depolamanın ardından titrasyon asitliği, depolamadan önce

stabilize edilmiş BR'ye ait değerin yalnızca %6,56'sı kadar artmıştır. Sonuç olarak, sürekli mikrodalga stabilizasyon işleminin BR'nin stabilizasyonu açısından uygulan olabileceği belirtilmiştir.

Debonne vd. [167] tarafından yapılan çalışmada; frenk üzümü, kimyon tohumu, kekik ve BRY'nin hamurun/ekmeğin teknolojik kalitesine ve antifungal aktivitesi üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. Yağların hamurun su emilimi ve hamurun yoğurma özellikleri, elastikiyet, nişasta jelatinizasyonu ve maya aktivitesi üzerindeki etkisi test edilmiş ve örnekler yağ içermeyen kontrol ve kalsiyum propiyonatlı bir referans örneği ile karşılaştırılmıştır. Ekmeklerde ayrıca ağırlık, hacim, renk ve dağılma tekstürü değerlendirilmiştir. Ekmeğin raf ömrü, küflenme takibi ile yapılmıştır. Sonuçlar, genel olarak, yağların ilave edilmesinin, hamurun kıvamında bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir. BRY, hamurun su emme ve yoğurma özelliklerine ilişkin kontrol ile en yüksek genel benzerliği göstermiştir. Ek olarak, BRY ve kekik yağının ekmeğin raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir. BRY, 3 gün (+%33), kekik ise 20 gün (+%100) raf ömrü artışı sağlamıştır. Ancak, kekik yüksek miktarda timol varlığı nedeniyle hamur reolojisi ve maya aktivitesi üzerinde olumsuz bir etki yaratmıştır. Sonuç olarak, BRY'nin hamur/ekmek üretiminde ümit verici bir bileşen olabileceği ve ekmekte teknolojik ve mikrobiyolojik açıdan fayda gösterebileceği rapor edilmiştir.

Jha vd. [168] tarafından yapılan çalışmada, γ -ışınlama ile BR'nin raf ömrünün uzatılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, 0 ve 30 kGy doz arasındaki ışınlama dozlarının BR'nin nem, toplam kül, ham yağ, serbest yağ asidi, protein ve lipaz aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçta, lipaz inaktivasyonunun sağlanması için BR'nin en az 12 kGy dozda ışınlaması gerektiği ifade edilmiştir.

Liu vd. [169] tarafından yapılan bir çalışmada, CaCl_2 'nin BR globulin solüsyonunun (%0,5, w/w) parçacıkları ayırması üzerine etkisi türbidite, çözünürlük, yüzey hidrofobikliği, zeta potansiyeli ve mikroyapısal özelliklerin ölçümü ile belirlenmiştir. Maksimum bulanıklık ve minimum çözünürlük, izoelektrik noktada (pI 5,0) ve 95°C'de meydana gelmiştir. CaCl_2 ilavesi, bulanıklığın azalmasına ve çözünürlüğün artmasına neden olmuştur. Ayırıştırma işlemi süresince çözünebilir agregatların hem yüzey hidrofobikliği hem de zeta potansiyeli değeri artmıştır. Sonuçlar, parçacıklar arasındaki elektrostatik itmenin, hidrofobik etkileşimin üstesinden gelmek için yeterince güçlü olduğunu ve büyük topakların bozulmasına yol açtığını ve BR globulin parçacıklarının homojen dağılımını sağladığını göstermektedir. Mikroyapısal analizler, ısıl işlem görmüş BR globulinin, pH 2,0'de kaba ve düzensiz agregatlar içerirken, CaCl_2 ile indüklenen ayrışmaların ise, düzgün ve gevşek bir dağılım gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

Sun vd. [170] tarafından yapılan çalışmada buharda pişirilmiş Çin ekmeğinin kalitesinin geliştirilmesi için BR unu kullanılmıştır. Buğday unu, BR unu ile %3, 6, 9 ve 12 (w/w) seviyelerinde ikame edilmiş ve karışımların fizikokimyasal özellikleri ve buharlama performansı araştırılmıştır. Karışım şeklindeki unların düşme sayısı değerleri 199-223 saniye arasında bulunmuştur. Viskozite analizi sonuçları, BR unu ile karıştırılmış buğday unlarının daha yüksek yapıştırma sıcaklığına ve düşük viskoziteye sahip olduğunu göstermiştir. Hamurun reolojik özellikleri, farinograf ve ekstensograf kullanılarak araştırılmıştır. BR unu ilavesi, gluten proteinini hamur içinde seyreltmış ve taramalı elektron mikroskobu analizi sonucunda, zayıf ve uzama kabiliyeti düşük bir hamur yapısı meydana gelmiştir. BR unu ile yapılan buharda pişirilmiş Çin ekmeğinin, istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük hacim, özgül hacim ve daha yüksek yayılma oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Buharda pişirilmiş Çin ekmeğinin duysal kabul edilebilirliği ve fizikokimyasal kalitesi %3 ve %6 oranında BR unu ilavesi ile iyileştirilmiştir. Bununla birlikte, istenmeyen tat oluşumu nedeniyle %9'un üzerindeki BR unu ilavesinin kullanımının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, belirli seviyede BR unu ilavesinin, buharda pişirilmiş Çin ekmeğinin kalitesini artırabileceği ifade edilmiştir.

Zhu vd. [171] tarafından yapılan çalışmada, alkalaz, flavourzyme ve papain kullanılarak yağı uzaklaştırılmış BR proteininin enzimatik hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Alkalaz ile 200 dk boyunca optimal koşullar altında hazırlanan hidrolizatlar, en yüksek hidroliz derecesine $15,61 \pm 0,09$ ve metal şelatlama kabiliyetine $69,62 \pm 0,96$ sahip olmuştur. Alkalaz hidrolizatlarında iki büyük çinko-şelatlayıcı peptit tespit edilmiştir. Bunların sırasıyla Asn-Ala-Pro-Leu-Pro-Pro-Pro-Leu-Lys-His (NAPLPPPLKH) ve His-Asn-Ala-Pro-Asn-Pro-Gly-Leu-Pro-Try-Ala-Ala (HNAPNPGLPYAA) şeklinde amino asit dizilimine sahip olduğu bulunmuştur. HNAPNPGLPYAA'nın $91,67 \pm 0,81$ oranında yüksek bir çinko şelatlama kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu çalışmanın sonuçları, BR'de bulunan çinko-şelatlayıcı peptitlerin, mineral biyoerişebilirliğini arttırmak için gıdalara çinko takviyesinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Karabacak vd. [24] tarafından yapılan çalışmada 45 gün boyunca farelere belirli dozda uygulanan kumafos'un doku oksidatif stres belirteçleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, BRY'nin kumafosun antioksidan savunma sistemi üzerindeki olası olumsuz etkisini azaltıp azaltmayacağı da incelenmiştir. BRY, farelere uygulandığında, kumafosun hücresel antioksidan savunma sistemini bozduğu ve organizmada lipid peroksidasyonu gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Diğer yandan oksidatif stres potansiyelini azaltmak için kullanılan BRY, kumafosun neden olduğu oksidatif stres hafifleten/ortadan kaldıran olumlu bir etki göstermiştir. Bu olumlu etkinin, BRY'nin yapısında bulunan antioksidan/antiradikal bileşiklerden

kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara dayanılarak, BRY'nin kumafos zehirlenmesi vakalarında temel tedavi yöntemlerini desteklemek amacıyla kullanılabileceği belirtilmiştir.

Dunford vd. [7] tarafından yapılan çalışmada, basınçlı çözgen ekstraksiyonu tekniği ile BR'den yağ ekstraksiyon koşullarının (sıcaklık (45–135°C, 1500 psi), ekstraksiyon süresi, örnek büyüklüğü ve solvent tipi) ekstraksiyon verimliliği ve yağ kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Normal-hekzanın ekstraksiyon verimi, izo ve yüksek saflıkta-hekzan, izo-propanol, etanol ve asetonunkile karşılaştırılmıştır. Ekstraktların n-3 ve n-6 çoklu doymamış yağ asidi içerikleri analiz edilmiştir. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu, klasik Soxhlet ekstraksiyonuna kıyasla önemli ölçüde ekstraksiyon süresini azaltmıştır. Tam yağ geri kazanımı için gereken sürenin, ekstraksiyon için kullanılan BR miktarına bağlı olduğu belirlenmiştir. Basınçlı çözgen ekstraksiyonunda solvent olarak etanol kullanıldığında toplanan ekstrakt miktarının en yüksek olduğu saptanmıştır. Soxhlet ve basınçlı çözgen ekstraksiyonlarında çözücü olarak hekzan kullanıldığında yine benzer yağ verimleri elde edilmiştir. Ekstraktların yağ asidi bileşimi, sıcaklık ya da ekstraksiyon yönteminden etkilenmemiştir. Deneysel sonuçlar basınçlı çözgen ekstraksiyon tekniğinin, ekstraksiyon verimi ve yağın yağ asidi bileşimi üzerinde olumsuz bir etkisi olmaksızın, solvent tüketimini ve ekstraksiyon süresini düşürdüğünü göstermiştir.

Malecka (2002) [28] tarafından yapılan çalışmada, rafine edilmiş kolza tohumu yağının stabilitesi üzerine sabunlaşmayan domates tohumu, yulaf tanesi ve BRY'nin etkileri araştırılmış ve antioksidan etkinlikleri bütildihidroksilanizol ile kıyaslanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, domates tohumu yağlarından izole edilen sabunlaşmayan madde içeren örneklerin kolza tohumu yağının oksidasyonuna karşı en yüksek koruyucu etki gösterdiği ortaya konulmuştur.

Yazıcıoğlu vd. [172] tarafından yapılan çalışmada, BRY'nin kapsüllenmesinde kaplama malzemelerinin oranı ve ultrasonikasyon süresinin emülsiyonların tanecik boyutu dağılımı ve kapsülleme verimliliği ve kapsüllerin yüzey morfolojisi üzerindeki etkileri tespit edilmiştir. Kaplama malzemesi olarak farklı oranlarda (3: 1, 2: 2,1: 3) maltodekstrin ve peynir altı suyu protein konsantresi kullanılmıştır. Toplam kuru madde içeriği %40 (w/w) olarak ayarlanmış ve enkapsülasyon için beş çekirdek oranı (1:8, 1:4, 1:2, 3:4, 1:1) denenmiştir. Emülsiyon elde etmek için 2, 5, 10 dakika (dk) boyunca 320 W ve 20 kHz'de ultrasonikasyon uygulanmıştır. Daha sonra, emülsiyonlar mikrokapsüller elde etmek için dondurularak kurutulmuştur. Kaplamada peynir altı suyu protein konsantresi oranının artırılmasının daha yüksek kapsülleme verimliliği ve daha küçük parçacık büyüklüğü ile sonuçlandığı gözlenmiştir. Maltodekstrin: peynir altı suyu protein konsantresi oranı 1:3 olan mikrokapsüllerin daha yüksek

kapsülleme verimliliğine (%74,35-89,62) sahip olduğu belirlenmiştir. Yağ yükündeki artış enerji verimliliğinin azalmasına neden olmuştur. Böylece 1:8 çekirdek/kaplama oranı daha iyi sonuç vermiştir. Artan ultrasonikasyon süresinin de kapsülleme verimliliği üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Panfili vd. [27] tarafından yapılan çalışmada, 1-L ekstraksiyon kapasitesine sahip pilot ölçekli bir süperkritik CO₂ ekstraksiyon ünitesinde BR'den yağ ekstraksiyon koşulları incelenmiştir. En iyi koşullar olarak; basınç 38 Mpa; sıcaklık 55°C; buğday tohumu parçacık büyüklüğü yaklaşık 0,35 mm; CO₂ akış oranı 1,5L dk⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında 3 saatlik ekstraksiyon işlemi sonucunda %92'lik bir ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Elde edilen BRY ve kısmen yağı alınmış posanın yağ asiti içerikleri, tokol (tokoferol ve tokotrienol), karotenoid ve sterol kompozisyonları ve bunların kalite özellikleri (FFA, PV, para-anisidin değeri ve yan ürünün rengi) incelenmiştir. Ayrıca, yağ kalitesi süperkritik ekstraksiyonun ilerleyişi ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular süperkritik akışkan ekstraksiyonunun farklı kimyasal bileşenleri ayırmak ve BRY'nin kalitesini iyileştirmek için uygun bir teknik olduğunu göstermiştir.

3

Materyal ve Yöntem

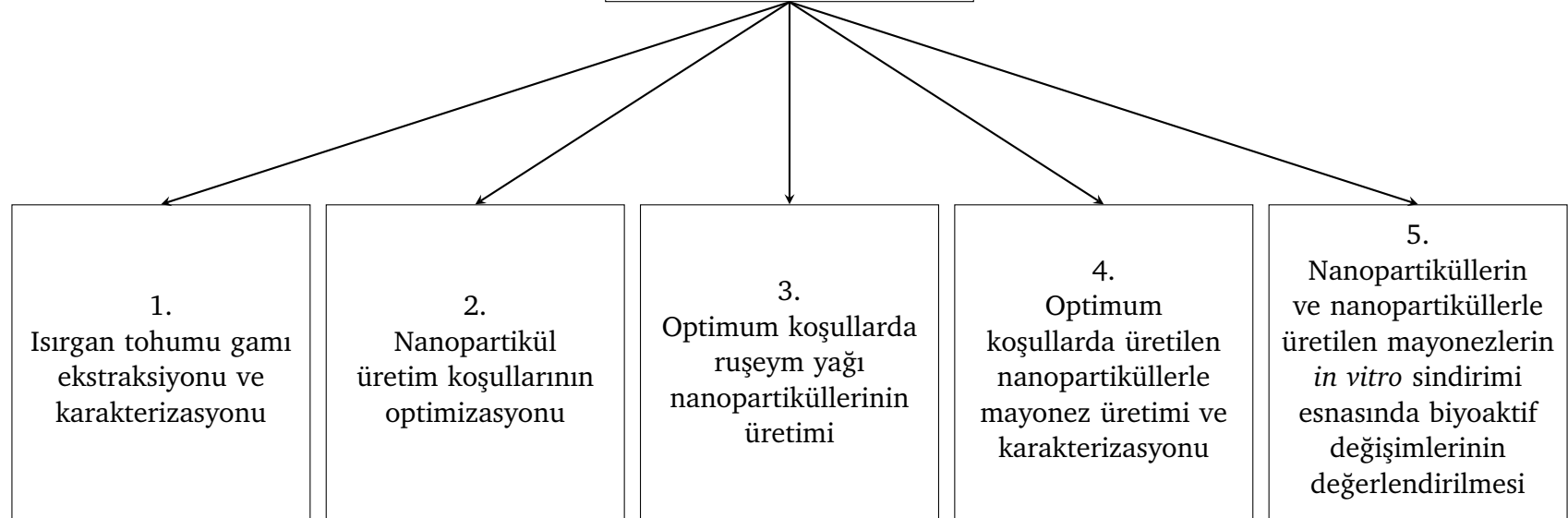
3.1 Materyal

Bu çalışmada taze ısırgan (*Urtica dioica* L.) tohumları İstanbul Kapalı Çarşı'dan, buğday ruşeymi İstanbul Halk Ekmek'ten temin edilmiştir. Analizlerde, yüksek molekül ağırlıklı kitosan, ovalbumin, etanol, 2-propanol, hekzan, yumurta sarısı, katalizör (bakır sülfat (CuSO_4), titanyum oksit (TiO_2), sodyum sülfat (Na_2SO_4) ve potasyum sülfat (K_2SO_4) karışımlarının yer aldığı tablet), H_2SO_4 , borik asit, NaOH, HCl, di etil eter, sodyum benzoat, ksantan gam, kloroform, asetik asit, KCl, sodyum tiyosülfat ve 2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sul-fophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanili kullanılmıştır. Sirke, ayçiçek yağı, tuz ve şeker ise İstanbul'daki yerel bir marketten satın alınmıştır.

3.2 Yöntemler

Bu çalışmada ITG'nin verim optimizasyonu, YYM kullanılarak gerçekleştirilmiş ve ardından optimum verime sahip gam örneklerinin karakterizasyonu yapılmıştır. Öte yandan ITG, KS ve OVA uygun oranda karıştırılarak iyonik jelasyon metodu ile BRY'nin enkapsülasyonunda kullanılmıştır. Nanopartiküllere ilişkin gerçekleştirilen karakterizasyon çalışmalarının ardından elde edilen nanopartiküller mayonez örneklerine ilave edilerek 90 gün depolama süresi boyunca mayonez örneklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yanı sıra, üretilen nanopartiküllerin ve mayonez örneklerinin *in vitro* sindirimden önce ve sindirim sırasında gerçekleşen biyoaktif değişimleri de değerlendirilmiştir. Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar Şekil 3.1'de şematize edilmiştir.

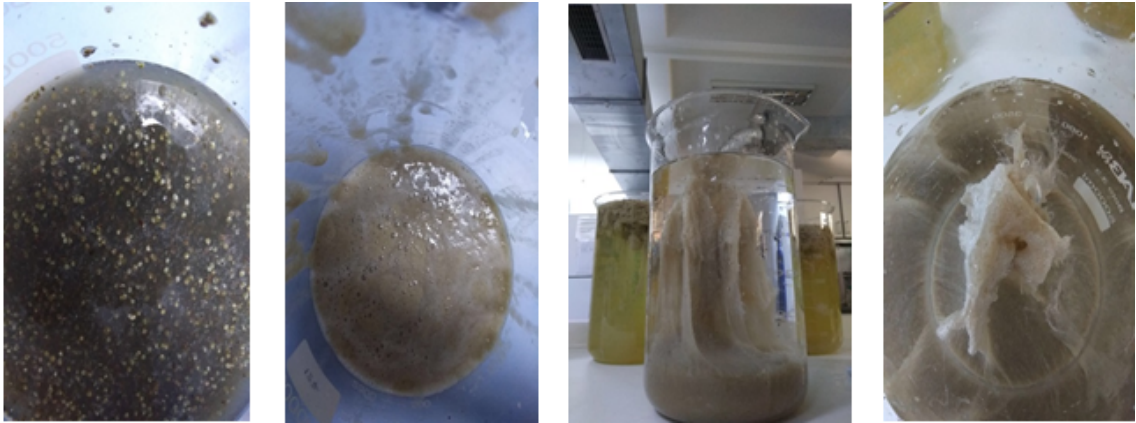
RUŞEYM YAĞININ
NANOENKAPSÜLASYONU
VE GIDALARDA KULLANIM
OLANAKLARININ
ARTTIRILMASI



Şekil 3.1 Gerçekleştirilen çalışmaların genel gösterimi

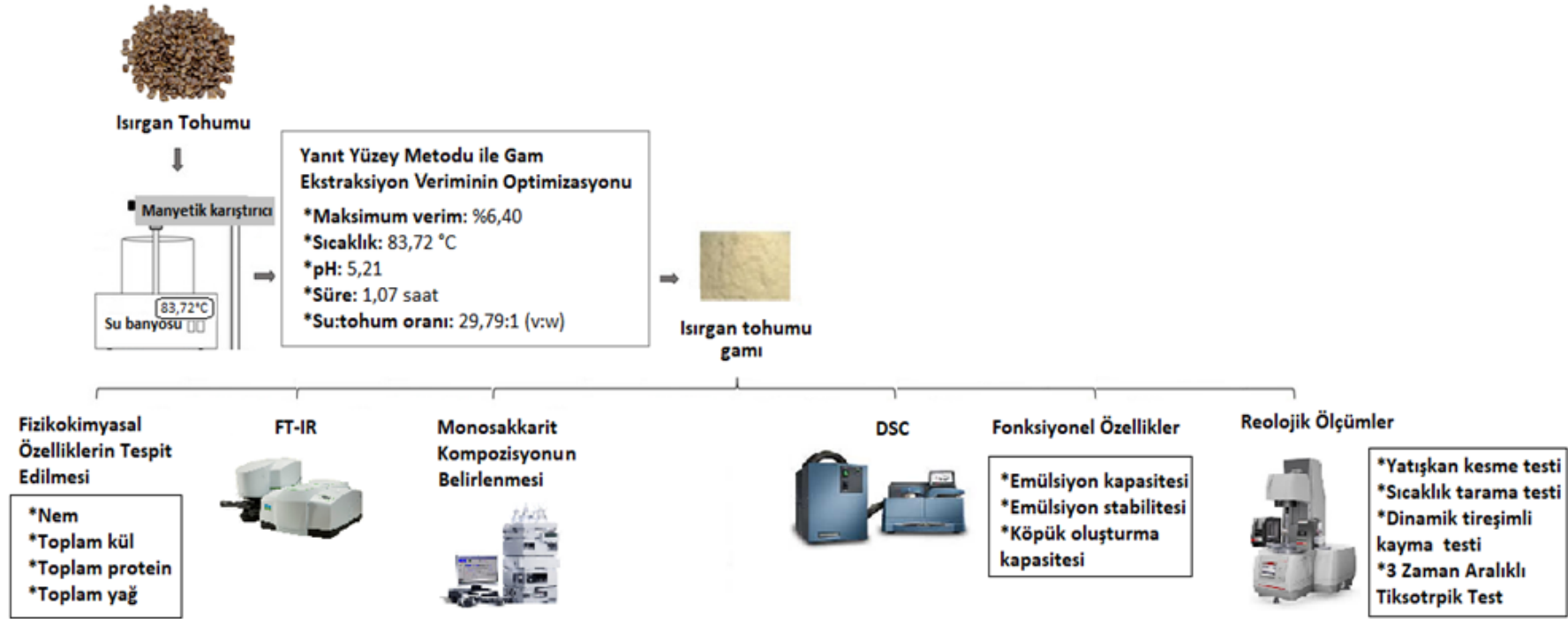
3.2.1 ısırgan Tohumlarından Gam Eldesi

Isırgan tohumları (*Urtica dioica* L.) bir kahve değirmeni (Bosch MKM6000, Slovenya) yardımı ile öğütülmüştür. Toz haline getirilen tohumlar, 1:10 (tohum (g):su (mL)) oranında damıtılmış su ile seyreltilmiş ve mekanik bir karıştırıcı (IKA C-MAG HS 7, Almanya) kullanılarak 60°C sıcaklıkta 1 sa boyunca karıştırılmıştır. Elde edilen karışım santrifüj (Thermo Scientific Heraeus, Multifuge X3 FR, Almanya) yardımıyla 10.000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatant, safsızlıkları gidermek için ince gözenekli bir bez kullanılarak kabaca süzölmüştür. Sonrasında saf etanol (1:3, v: v) ile karıştırılmış ve bu karışım oda sıcaklığında 2 sa tutulmuştur. Saflaştırma aşamasında, gam beher kabına alınarak üzerine 500 mL etanol ve 100 mL 2-propanol ilave edilmiştir. Böylece, elde edilen ısırgan tohumu gamı (ITG) kabın üst tarafında biriktirildikten sonra cam kaplara alınarak 45°C'de 10 sa boyunca etüvde (Memmert UF-110, Almanya) kurutulmuş ve toz haline gelene kadar bir kahve değirmeni (Bosch MKM6000, Slovenya) ile öğütölmüştür [173]. Şekil 3.2'de ısırgan tohumlarından gam eldesine ilişkin görseller yer almaktadır.



Şekil 3.2 Isırgan tohumlarından gam ekstraksiyonunun aşamaları

Çalışmanın birinci aşamasında, ısırgan tohumundan optimum koşullarda gam ekstraksiyonu ve bu gamların karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalar genel olarak Şekil 3.3'te şematize edilmiştir.



Şekil 3.3 Isırgan tohumu gamı ile ilgili gerçekleştirilen analizlerin şematize edilmesi

3.2.2 Isırgan Tohumundan Üretilen Gamin Ekstraksiyon Veriminin Optimizasyonu

3.2.2.1 Yanıt Yüzey Metodu ile ITG'nin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Bu metod; analiz dizaynı, matematiksel modelleme ve sonuçların yorumlanması olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Bu çalışmada, maksimum ITG ekstraksiyon verimini belirlemek için 4 faktörlü 29 deneme sayısı bulunan Box-Behnken Deney Tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerin süre (X_1), sıcaklık (X_2), su (mL): tohum (g) oranı (X_3) ve pH (X_4) etkileri Tablo 3.1'de sunulmuştur. Model parametreleri belirlenirken single faktör dizaynı kullanılarak parametre aralıklarının belirlenmiştir.

Tablo 3.1 ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için Box-Behnken deneme dizaynının deneysel şartları

Faktörler		Seviye		
		Düşük(-1)	Orta(0)	Yüksek(+1)
X_1	Süre (sa)	1	2	3
X_2	Sıcaklık (°C)	25	55	85
X_3	Su (mL):tohum (g) oranı	10	20	30
X_4	pH	3	6	9

ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için oluşturulan Box-Behnken deneme dizaynı Tablo 3.2'de verilmiştir. Sonuçlar için farklı modeller kontrol edilmiş ve bu modeller arasından en uygun model seçilmiştir. Bu deney için Karesel modele göre regresyon katsayısı ve interaksiyonlar belirlenmiş ve istatistiksel sonuçlar 0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir. Son olarak, elde edilen sonuçlar kontur ve 3 boyutlu grafikleri oluşturmak için kullanılmıştır.

Tablo 3.2 ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için oluşturulan Box-Behnken deneme dizaynı

Deneme Sayısı	Faktör A: X_1	Faktör B: X_2	Faktör C: X_3	Faktör D: X_4	Verim (%)
1	-1	0	-1	0	
2	0	-1	1	0	
3	-1	-1	0	0	
4	-1	1	0	0	
5	1	0	0	-1	
6	-1	0	1	0	
7	1	1	0	0	
8	1	-1	0	0	
9	1	0	1	0	

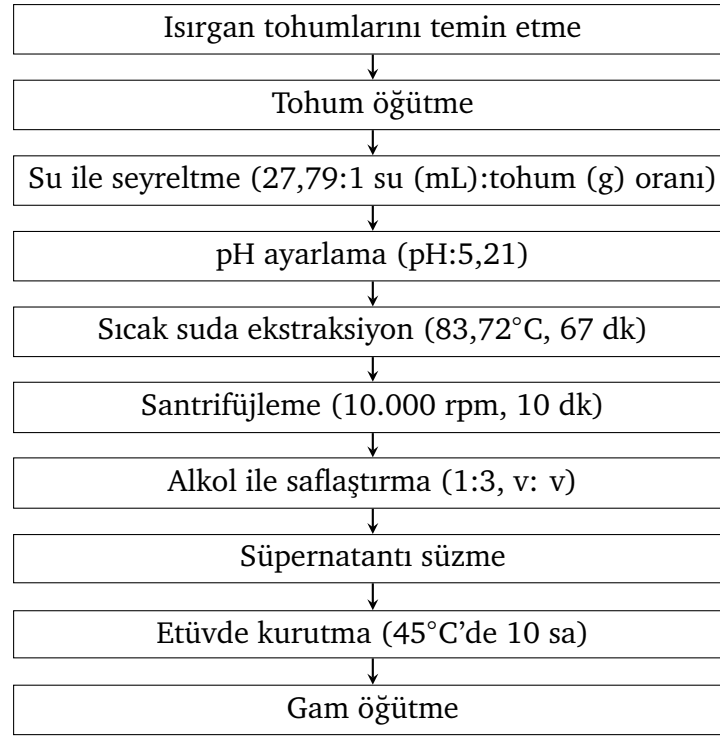
Table 3.2 ITG'nin ekstraksiyon veriminin belirlenmesi için oluşturulan Box-Behnken deneme dizaynı (devamı)

10	0	1	0	-1	
11	0	1	1	0	
12	0	-1	0	1	
13	0	0	0	0	
14	0	0	1	-1	
15	0	-1	-1	0	
16	0	0	-1	-1	
17	0	0	-1	1	
18	1	0	0	1	
19	-1	0	0	1	
20	-1	0	0	-1	
21	0	0	1	1	
22	0	-1	0	-1	
23	0	1	0	1	
24	1	0	-1	0	
25	0	1	-1	0	
26	-1	0	-1	0	
27	0	-1	1	0	
28	-1	-1	0	0	
29	-1	1	0	0	

Deneme faktörlerinin kodlu seviyelerinde X_1 ;Süre (sa), X_2 ;Sıcaklık ($^{\circ}$ C), X_3 ;su (mL); tohum oranı (g) ve X_4 ;pH'yı temsil etmektedir.

3.2.2.2 Isırgan Tohumlarından Optimum Koşullarda Gam Üretimi

Isırgan tohumlarından gam eldesi 3.2.1'de verilen yönteme göre ekstraksiyon veriminin (%6,40) en yüksek olduğu koşullarda (sıcaklık; 85 $^{\circ}$ C, süre; 1,07 sa, su: tohum oranı; 29,79:1 ve pH;5,21) gerçekleştirilmiştir. ITG'nin optimum koşullarda üretiminin ardından toz haline getirilen (Bosch MKM6000, Slovenya) örnekler kullanılana kadar ağzı kapalı santrifüj tüplerinde buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Isırgan tohumundan optimum koşullarda gam üretimine ilişkin akış şeması Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4 Optimum koşullarda ısırgan tohumu gamı üretimi akış şeması

3.2.3 ITG'nin Karakterizasyonu

3.2.3.1 ITG'nin Fizikokimyasal Özellikleri

ITG'nin pH ölçümü, pH metre (Mettler Toledo-S230 Seven Compact, İsviçre) probunun %1'lik ITG çözeltisine daldırılması ile gerçekleştirilmiştir [174]. Gamların nem içeriği, etüvde (Memmert UF-110, Almanya) 105°C'de 5 sa süreyle kurutularak belirlenmiştir [175]. Gam örneklerinin kül içeriği numunenin organik materyalinin bir elektrikli kül fırını (WiseTherm-Daihan FH-03, Güney Kore) yardımıyla 650°C'de 12 sa süreyle yakılmasıyla belirlenmiştir. Kül analizinden önce sıçramaları önlemek adına etil alkol ile ön yakma işlemi uygulanmıştır [176]. Protein içeriği Behr Kjeldahl ünitesi (Unit-S5, Almanya) kullanılarak Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir [177]. Yağ içeriği Soxhlet ekstraksiyonu ile analiz edilmiş ve ekstaksiyonda solvent olarak di etil eter kullanılmıştır [178]. Renk ölçümü, beyaz bir referans plaka ile kalibre edilmiş bir kolorimetre (CR-400, Konica Minolta Sensing, INC, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler esnasında aynı miktarda gam örneği cam ölçüm kabına yerleştirilmiş ve her numuneden en az üç ölçüm alınarak numunelerin L^* , a^* ve b^* değerleri belirlenmiştir.

İntrinsik viskoziteyi belirlemek için %0,05-0,2 (w:v) aralığındaki seyreltik gam konsantrasyonları kullanılmıştır. Ayrıca, 40 mM NaCl nihai konsantrasyonunu elde etmek için gam çözeltisine NaCl ilave edilerek oda sıcaklığında 3 sa karıştırılmıştır [179]. (3.1) ve (3.2) denklemleri aracılığıyla bağıl viskozite (η_{rel}) ve spesifik viskozite (η_{sp}) belirlenmiştir. Bu denklemlerde η , ITG'nin görünür viskozitesi; η_s , damıtılmış

suyun viskozitesidir [180].

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_s} \quad (3.1)$$

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_s}{\eta_s} \quad (3.2)$$

İntrinsik viskozite $[\eta]$, Kraemer denklemi (3.3) kullanılarak η_{rel}/c 'nin sıfır konsantrasyona ekstrapolasyonu ile tanımlanmıştır [181]. Burada k Kraemer sabiti, c ise çözeltinin konsantrasyonudur.

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \quad (3.3)$$

Viskozite ortalama molekül ağırlığını belirlemek için modifiye Mark-Houwink denklemi (3.4) kullanılmıştır [181]. Bu denklemde M_v ortalama molekül ağırlığını ve M/G ise gamın mannoz/galaktoz oranını temsil etmektedir.

$$[\eta] = 11.55 \times 10^{-6} [(1 - X)M_v]^{0.98} \quad (3.4)$$

3.2.3.2 ITG'nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

•Gam Solüsyonunun Hazırlanması

ITG'nin fonksiyonel özelliklerini belirlemek için %0,5'lik sulu gam çözeltisi 800 rpm'de 1 sa 60°C'de karıştırılarak hazırlanmıştır. Sonrasında hidrate olması için gece boyunca buzdolabında bekletilmiştir [182].

•Emülsiyon Kapasitesi

Suda yağ emülsiyonu hazırlamak için 22,5 mL gam çözeltisine 2,5 mL ayçiçek yağı eklenmiştir. Numune ilk olarak 5 dk boyunca 1200 rpm'de mekanik bir karıştırıcı (IKA C-MAG HS 7, Almanya) ile karıştırılmış sonrasında ise bir ultra turaks (Daihan, WUC-D10H, Güney Kore) kullanılarak 1200 rpm'de 2 dk boyunca homojenize edilmiştir. Ardından, örnekler 5 dk süresince ultrasonik banyoda bırakılmış ve 10 dk süreyle 4000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen örneklerdeki faz ayrımı olan ve faz ayrımı olmayan kısımların hacmi ölçülmüş ve denklem (3.5) vasıtasıyla emülsiyon kapasitesi (EK) yüzdesi hesaplanmıştır [182]. Burada H_e ve T_h sırasıyla emülsiyon

hacmini ve toplam hacmi ifade etmektedir.

$$EK (\%) = \frac{H_e}{T_h} \quad (3.5)$$

•Emülsiyon Stabilitesi (ES)

Gamın yüksek sıcaklıklarda emülsiyon stabilitesini (ES) belirlemek için 22,5 mL gam çözeltisine 2,5 mL ayçiçek yağı eklenmiş ve 5 dk boyunca 1200 rpm'de mekanik bir karıştırıcı (IKA C-MAG HS 7, Almanya) ile karıştırılmıştır. Bu karışım 30 dk boyunca 80°C'de bekletilmiş ve sonrasında 10 dk süreyle 4000 rpm'de santrifüjlenmiştir. ES, denklem (3.6) kullanılarak hesaplanmıştır [182]. Burada E_1 ve E_2 sırasıyla başlangıç emülsiyon hacmini ve nihai emülsiyon hacmini temsil etmektedir.

$$ES (\%) = \frac{E_2}{E_1} \quad (3.6)$$

•Köpük Oluşturma Kapasitesi

Gamın köpük oluşturma kapasitesini (KOK) ölçmek için, 45 mL gam çözeltisine 0,1 mL %2'lik ovalbümin çözeltisi ilave edilerek 1500 rpm'de 10 dk ultra turaks (Daihan, WUC-D10H, Güney Kore) kullanılarak karıştırılmıştır. Ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. %'de KOK denklem (3.7) aracılığıyla belirlenmiştir [183]. Burada K_1 ve K_2 sırasıyla başlangıç köpük hacmini (mL) ve karıştırma sonrası hacmini (mL) ifade etmektedir.

$$KOK (\%) = \frac{K_2 - K_1}{K_1} \quad (3.7)$$

3.2.3.3 ATR-FTIR Analizi

Bu analiz, Razavi vd. (2014) [184] tarafından yapılan analiz esas alınarak küçük modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. ITG'nin moleküler karakterizasyonu, ATR (Zayıflatılmış Toplam Yansıtma, Attenuated Total Reflectance) cihazı ile donatılmış Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR, Bruker Tensor 27, Almanya) aracılığıyla analiz edilmiştir. Analizde KBr ışın demeti ayırıcısı ve DCaTGS detektörü kullanılmıştır. Analizler, 4000-600 cm^{-1} aralığında 16 tarama ile gerçekleştirilmiştir. Veriler OPUS programı (Windows için Sürüm 7.2, Bruker GmbH) yardımıyla elde edilmiştir.

3.2.3.4 ITG'nin Monosakkarit Kompozisyonunun Belirlenmesi

Gamın monosakkarit (glukoz, galaktoz ve mannoz) bileşimi, Rezex ROA-Organik Asit H⁺ (New Column, 300 x 7.8 mm (uzunluk x iç çap)) kolonu ile donatılmış bir HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) cihazı (Agilent 1260 Infinity, Santa Clara, Amerika) kullanılarak belirlenmiştir. Detektör çeşidi olarak refraktif indeks detektörü kullanılmıştır. Analiz için kolon sıcaklığı 55°C'ye detektörün sıcaklığı ise 36°C'ye ayarlanmıştır. Analiz için kullanılan örnek hacmi 10 µL ve akış hızı 0,6 mL/dk'dır. Hareketli (mobil) faz olarak 0,05 M H₂SO₄ kullanılmıştır. Bu amaçla, 250 mg gam numunesi 10 mL 2M H₂SO₄ ile 2 sa boyunca 120°C'de hidrate edilmiştir. Daha sonra hidrolize edilmiş karışım soğutularak çözeltinin pH'sı, 5 M NaOH kullanılarak 7'ye ayarlanmış ve nihai hacim, damıtılmış su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Örnek, 0,45 µm şırınga filtreden süzülerek analiz için kolona verilmiştir [184].

3.2.3.5 Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

ITG'nin termal özellikleri bir DSC cihazı (Q100, TA Instruments Inc., New Castle, DE, ABD) yardımıyla belirlenmiştir. Yaklaşık 45 mg öğütülmüş gam örneği, alüminyum kaplara tartılmış ve hermetik olarak ağızları kapatılmıştır. N₂ gazı altında 20 mL/dk akış hızında, 5°C/dk ısıtma hızında ve 10-400°C arasında ısıtılmıştır [185].

3.2.3.6 Reolojik Ölçümler

ITG'nin yatışkan kesme testi (Steady-Shear Test), sıcaklık tarama testi (Temperature Sweep Test), dinamik tireşimli kayma testi (Dynamic Shear Test) ve 3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test (Three Interval Thixotropy Test, 3-ITT) ölçümleri, kesme kontrolüne ve peltier sisteme sahip bir reometre (Anton Paar, 2002 MCR 302, Avusturya) aracılığıyla belirlenmiştir. Analizlere başlamadan önce %0,5'lik ITG çözeltisi hazırlanmış ve çözelti hidrate olmaları için bir gece buzdolabında bekletilmiştir. Reolojik dataların uygun modellerle modellenip parametrelerin belirlenebilmesi için Statistica (StatSoft Inc., Tulsa, OK, ABD) programı kullanılmıştır. Bahsedilen program aracılığıyla uygun değerler programa girilerek hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

Analizler esnasında paralel plaka geometrisine sahip bir prob kullanılmıştır. Yatışkan kesme özelliklerini belirlemek için kesme oranları logaritmik olarak 0,01 s⁻¹'den 100 s⁻¹'e yükseltilmiştir. Deneysel sonuçlar, denklem (3.8)'de sunulan Ostwald de Waele modeli ile belirlenmiştir. σ , K , n ve $\dot{\gamma}$ parametreleri sırasıyla kayma gerilimini (Pa), kıvam katsayısını (Pa.sⁿ), akış davranışı indeksini (birimsiz) ve kayma hızını (s⁻¹)

ifade etmektedir [186].

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (3.8)$$

Sıcaklık tarama testi 50 s^{-1} kesme hızında ve $25\text{-}100^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Ardından, elde edilen veriler aşağıda yer alan Arrhenius eşitliği denklem (3.9) vasıtasıyla hesaplanmıştır [186]. Burada η_{50} , A_0 , E_a , R^2 ve T sırasıyla 50 s^{-1} kayma hızında görünen viskozitesini (Pa.s), modelin sabit parametresini, aktivasyon enerjisini, universal gaz sabitini ve mutlak sıcaklığı (Kelvin cinsinden) ifade etmektedir.

$$\eta_{50} = A_0 \exp(E_a/RT) \quad (3.9)$$

Genlik tarama testi (Amplitude Sweep Testi), ITG örneklerinde lineer viskoelastik bölgelerini belirlemek amacıyla uygulanmıştır. Frekans tarama testi elastik (depolama) modülü (G'), viskoz (kayıp) modülü (G'') ve kompleks vizkoziteyi (η^*) tespit etmek için 25°C 'de %0,1'lik basınç (strain) ile 0-60 rad/s frekans aralığında (ω) uygulanmıştır. (3.10), (3.11) ve (3.12) denklemleri kıvam katsayısı (K' , K'' , K^*) (Pa.s^n), akış davranış indeksi (n' , n'' , n^*) (boyutsuz) ve determinasyon katsayısı (R^2)'nin büyüklüklerini hesaplamak için kullanılmıştır [186].

$$G' = K'(\omega)^{n'} \quad (3.10)$$

$$G'' = K''(\omega)^{n''} \quad (3.11)$$

$$\eta^* = K^*(\omega)^{n^*-1} \quad (3.12)$$

ITG'nin hızlı deformasyon ve iyileşme davranışını belirlemek için gam örneklerine 3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test uygulanmıştır. Zamana karşı G' ve G'' verileri üçüncü aralıkta toplanmış ve elde edilen verilerin modellenmesi Second Order Structural Model (İkinci Dereceden Yapısal Kinetik Model) vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. R^2 ve K' ve K'' değerleri denklem (3.13) kullanılarak hesaplanmıştır [186]. Eşitlikte G_0 elastik ve viskoz modüllerinin 3. zaman aralığındaki başlangıç değerini (Pa), G_e gam örneklerinin dengeye geldiği andaki viskoz modül değerini (Pa) ve k gamın toparlanma hız sabitini ifade etmektedir. Ayrıca denklem (3.13)'te n değeri 2 olarak

kabul edilmiştir.

$$\left[\frac{G' - G_e}{G_0 - G_e} \right]^{1-n} = (n-1)kt + 1 \quad (3.13)$$

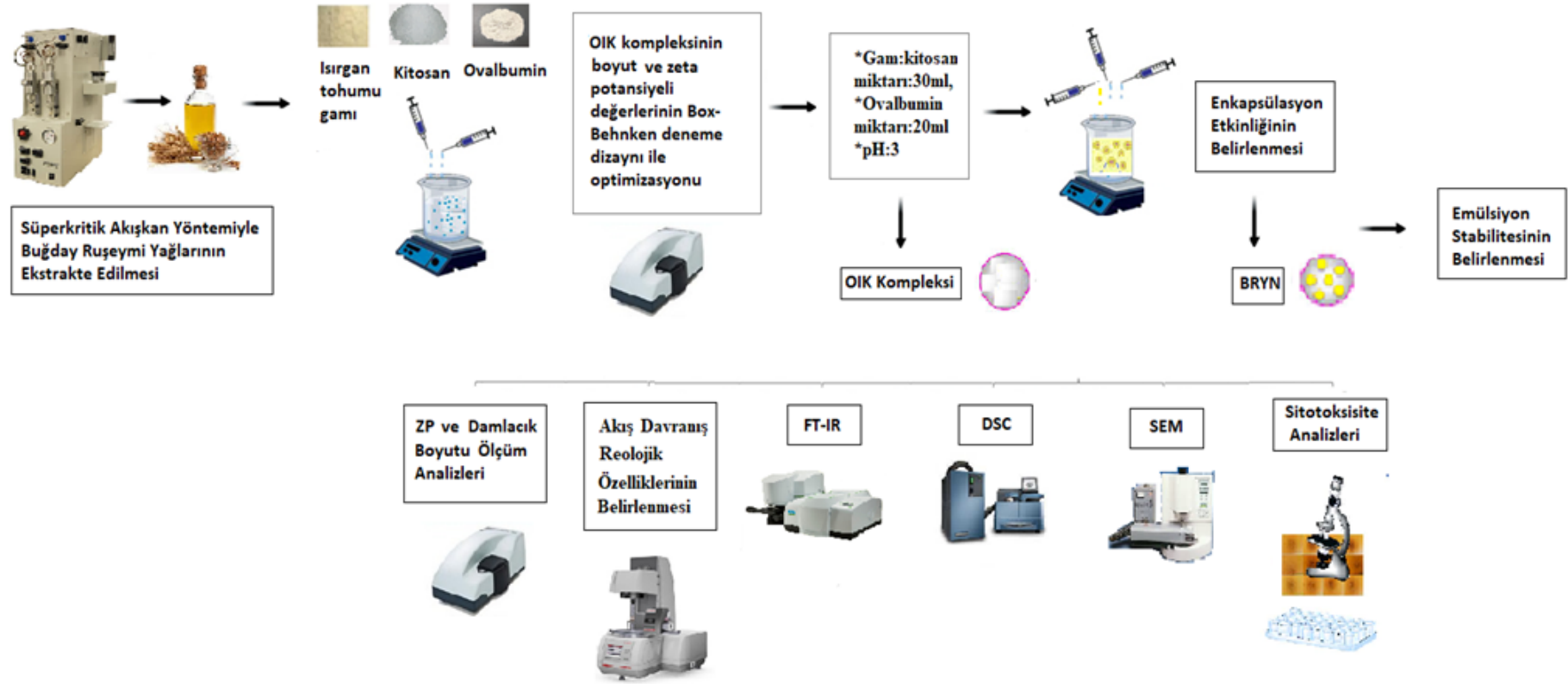
ITG'nin deformasyon (deformation) ve toparlanma (recovery) yüzdeleri (3.14) ve (3.15) denklemleri kullanılarak hesaplanmıştır [186]. Burada G_i ürünün başlangıç durumundaki değerini; G_0 , deformasyondan sonraki G' değerini ve G_e , gam örneklerinin toparlanmasından sonraki G' değerini göstermektedir.

$$\% Deformasyon = \frac{G_0}{G_i} \times 100 \quad (3.14)$$

$$\% Toparlanma = \frac{G_\infty}{G_i} \times 100 \quad (3.15)$$

3.2.4 Nanopartikül Üretim Koşullarının Optimizasyonu

ITG'nin optimum koşullarda ekstraksiyonu gerçekleştirilip karakterizasyonu yapıldıktan sonra nanopartikül üretim koşullarının optimizasyonu ve optimum koşullarda ruşeym yağı yüklü nanopartiküllerin üretimi ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.5'te OVA-ITG-KS (OIK) kompleksi ve BRY içeren nanopartiküllerin (BRYN) optimum koşullarda üretimi ve partikül karakterizasyonu ile ilgili gerçekleştirilen analizler şematize edilmiştir.



Şekil 3.5 OVA-ITG-KS (OIK) kompleksi ve BRY yüklü nanopartiküllerin (BRYN) üretimi ve partiküllerle ilgili gerçekleştirilen analizler

3.2.4.1 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Yöntemi ile BRY Ekstraksiyonu ve Verim Hesabı

BRY ekstraksiyonu; süperkritik akışkan ekstraksiyon cihazı (SFE) (Applied Separations, Allentown, PA, ABD) kullanılarak ve Gelmez vd. [20] tarafından yapılan çalışma esas alınarak gerçekleştirilmiş ve analiz esnasında kullanılan bazı parametreler değiştirilerek analiz modifiye edilmiştir. Bu amaçla 55 g BR, numune kabına sıkıştırılarak yerleştirilmiştir. Süperkritik akışkanın yönü yukarıdan aşağıya doğru ve akış oranı 20 g/dk olarak ayarlanmıştır. Basınç 400 bar, sıcaklık 40°C ve ekstraksiyon süresi 60 dk (30 dk statik test+30 dk dinamik test) olarak ayarlanmıştır. Bu işlemler sonucunda ekstraksiyon tüpünde biriken yağın verimi, (3.16) denkleminde faydalanarak yüzde olarak hesaplanmıştır. V ; BRY'nin yüzde olarak ekstraksiyon verimini m ; kaba konulan ruşeym miktarını (g), M_1 ; kabın darasını (g) ve M_2 ; BRY'nin ekstraksiyonunun ardından elde edilen kabın ağırlığını (g) ifade etmektedir. SFE ile BRY ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesine ilişkin görseller Şekil 3.6'da yer almaktadır.

$$V (\%) = \frac{M_2 - M_1}{m} \quad (3.16)$$



Şekil 3.6 SFE ile BRY ekstraksiyonu

3.2.4.2 Nanopartikül Üretim Koşullarının Optimizasyonu ve Optimum Koşullarda Nanopartikül Üretimi

•Box-Behnken ile deneysel tasarımın oluşturulması

ITG: KS miktarı (X_1), OVA miktarı (X_2), pH (X_3) Box-Behnken deneme tasarımı kullanılarak optimize edilmiştir. ITG: KS miktarı için minimum, orta ve maksimum değişkenler sırasıyla 10, 20 ve 30 mL; OVA miktarı için en düşük, orta ve en yüksek değerler sırasıyla 10, 15 ve 20 mL ve pH için en az, orta ve en yüksek değerler sırasıyla 3, 4,5 ve 6 olarak kodlanmıştır. Oluşturulan deneysel koşullar Tablo 3.3'te yer almaktadır. Model parametreleri belirlenirken single faktör dizaynı kullanılarak parametre aralıklarının belirlenmiştir.

Tablo 3.3 Ovalbumin (mL), ITG ve kitosan miktarının (mL) oranı ve pH'nın boyut ve zeta potansiyeli değerlerine etkisinin belirlenmesi için Box-Behnken deneme dizaynının deneysel koşulları

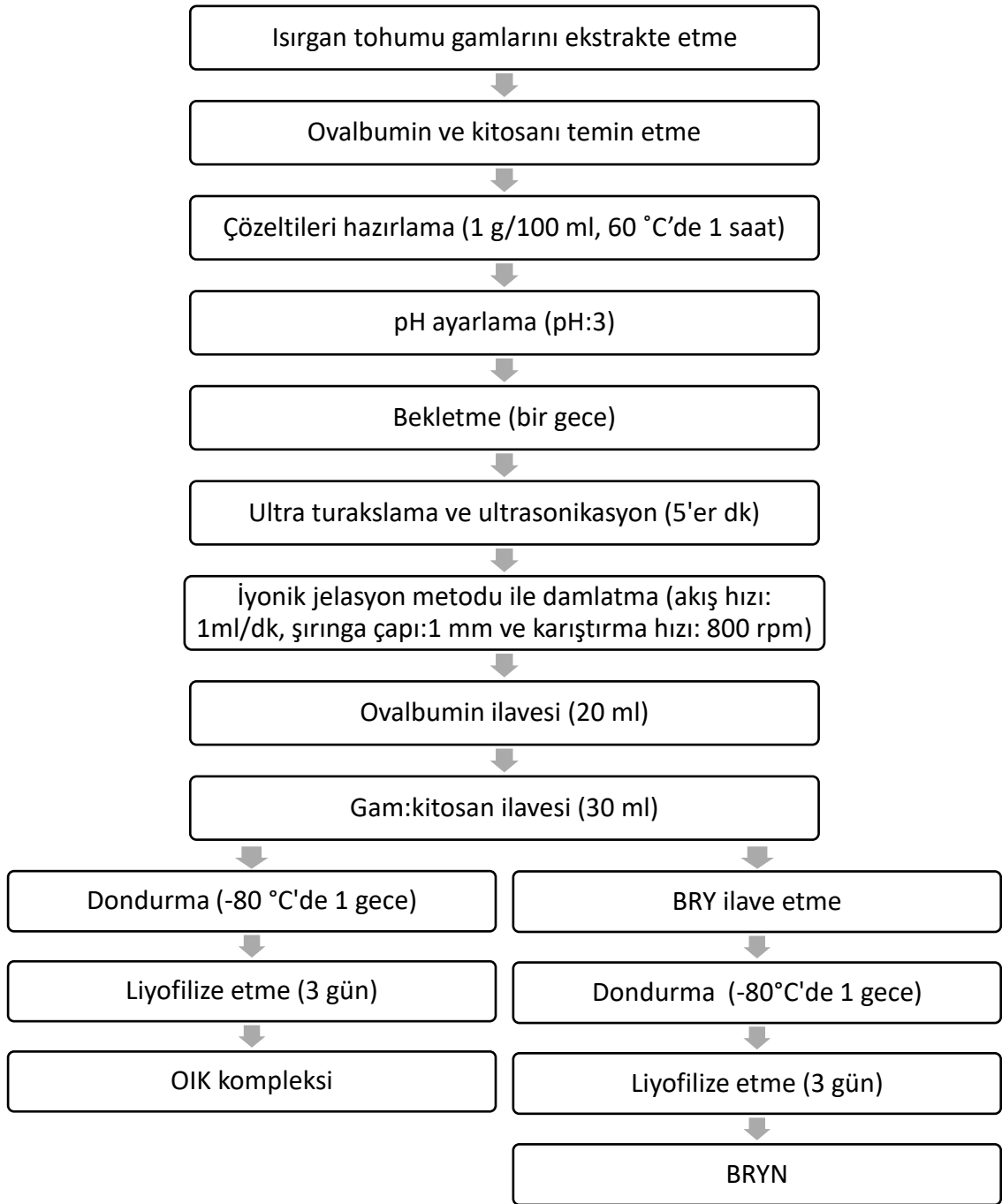
Faktörler		Seviye		
		Düşük(-1)	Orta(0)	Yüksek(+1)
X_1	ITG: KS miktarı (mL)	10	20	30
X_2	OVA miktarı (mL)	10	15	20
X_3	pH	3	4,5	6

ITG: Isırgan tohumu gamı; KS: Kitosan; OVA: Ovalbumin

OVA (1 g/100 mL), ITG (1 g/100 mL) ve KS (1 g/100 mL) saf suda çözülerek solüsyonları hazırlanmıştır. KS'nin daha iyi çözünmesi amacıyla %1 oranında asetik asit ilavesi yapılarak mekanik karıştırıcı ile 60°C'de 1 sa karıştırılmıştır. 1M NaOH ve 1M HCl kullanılarak çözeltilerinin pH'ları tasarımda belirlenen değerlere ayarlanmıştır. Çözeltiler, hidrate olmaları amacıyla bir gece buzdolabında bekletilmiştir. Hazırlanan solüsyonlara 5 dk ultra turaks (Daihan WiseTis HG-15D) ile homojenizasyon ve 5 dk da ultrasonik işlemci ile ultrasonikasyon işlemi uygulanmıştır. Damlatma (iyonik jelasyon) metodu kullanılarak OVA çözeltilisinin üzerine KS:ITG çözeltisi 1 mL/dk akış hızı, ve 800 rpm karıştırma hızında 1 mm çapındaki şırınga ile damla damla ilave edilmiş ve 0,45 μ m şırınga filtreden süzölmüştür. Nano ZSP (Malvern Instruments Corp., Worcestershire, U.K.) isimli cihaz kullanılarak örneklerin partikül boyutları ve zeta potansiyeli değerleri belirlenmiştir [187]. Design Expert (Stat-Ease Inc. Version 7.0, Minneapolis, ABD) programı kullanılarak Tablo 4.10'da yer alan deneme dizaynı oluşturulmuştur. Optimum boyut ve zeta potansiyeli değerleri belirlenmeden önce boyut minimum, zeta potansiyeli değeri ise maksimum olarak seçilmiştir. İstenilen değerler ITG:KS miktarı, OVA miktarı ve pH olarak belirlenmiştir (Optimum değerler=ITG: KS miktarı:30 mL, OVA miktarı:20 mL ve pH:3).

Nanopartiküller hazırlandıktan sonra ağzı parafilmle kaplanmış ve -80°C'de bir gece

dondurulmuştur. Hazırlanan örnekler liyofilizatörde 3 gün boyunca düşük sıcaklık ve düşük basınç altında süblimleşme yoluyla kurutulmuşlardır. Optimum koşullarda nanopartikül üretimi akış şeması Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7 Optimum koşullarda nanopartikül üretimi akış şeması

3.2.4.3 Optimum Koşullarda BRY Nanopartiküllerinin Üretimi ve Karakterizasyonu

•Zeta Potansiyel ve Partikül Büyüklüğü Dağılımı Ölçümü

Nanopartiküllerin partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyel değeri

Nano ZSP (Malvern Instruments Corp., Worcestershire, İngiltere) kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz, 173°'lik bir saçılma açısı kullanılarak 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Her numune için en az 3 ölçüm alınmıştır [187].

•Optimum Koşullarda BRY Nanoenkapsülasyonu ve Enkapsülasyon Etkinliğinin Belirlenmesi

BRY'lerin nanoenkapsülasyonu deneme tasarımında belirlenen en düşük boyutlu ve en yüksek zeta potansiyeli değerli nanopartiküllerin elde edildiği koşullarda (ITG:KS miktarı; 30 mL, OVA miktarı; 20 mL ve pH:3) yapılmış ve elde edilen nanokapsüllerin enkapsülasyon etkinlikleri Carneiro vd. [188] tarafından uygulanan metotta bazı yeni değişiklikler yapılarak ölçülmüştür. Bu amaçla, optimum koşullarda OIK kompleksi hazırlandıktan sonra %2,5, %3, %3,5, %4 veya %4,5 oranında BRY ilave edilerek 10 dk boyunca 800 rpm karıştırma hızında karıştırılmıştır. Karıştırılan örneklerin 1200 rpm'de 5 dk ultra turaks (Daihan, HG-15D) ile homojenizasyonu gerçekleştirildikten sonra 5 dk da oda şartlarında ultrasonik su banyosunda (Daihan, WUC-D10H, Kuzey Kore) bekletilmiştir. Elde edilen BRY içeren nanokapsüller (BRYN'ler) liyofilizatörde (Martin Christ, Beta 1-8 LSC plus, Osterode am Harz, Almanya) kurutularak toz hale getirilmiştir.

Liyofilize BRYN'lerin enkapsülasyon etkinliklerini belirlemek amacıyla 1,5 g düzeyindeki her bir örneğe 50 mL hekzan ilave edilmiş ve örnekler mekanik karıştırıcıda (IKA C-MAG HS 7, Almanya) 2 dk boyunca karıştırılmıştır. Ardından örnekler 10.000 rpm'de 5 dk santrifuj (Thermo scientific Heraeus, Multifuge X3 FR, Almanya) edilmiştir. Süpernatant alınarak darası alınan santrifuj tüplerine yerleştirilmiş ve 60°C'de 5 sa etüvde kurumaya bırakılmıştır. Hekzanları uçan tüplerden tekrar ölçüm alınmış ve denklem (3.17)'ye göre hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Denklemde T_0 ; toplam yağı, S_0 ; yüzeydeki yağ içeriğini ve EE ; enkapsülasyon etkinliğini belirtmektedir.

$$EE (\%) = \frac{T_0 - S_0}{T_0} \times 100 \quad (3.17)$$

Farklı konsantrasyonlarda BRY kullanılarak üretilen BRYN'lerin BRY konsantrasyonu-enkapsülasyon etkinliği grafiği çizilerek elde edilen eğrinin denkleminde maksimum enkapsülasyon etkinliğinin sağlandığı BRY konsantrasyonu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, maksimum kapsülleme verimliliğini mümkün kılan BRY konsantrasyonu (%4) ve enkapsülasyon koşullarında (ITG: KS miktarı; 30 mL, OVA miktarı; 20 mL ve pH:3) hazırlanan BRYN numunesinin kapsamlı karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve

sonuçlar aynı koşullarda hazırlanmış BRY içermeyen nanopartikül numunesi (kontrol örneği) ile kıyaslanmıştır.

•Emülsiyon Stabilitesi

Emülsiyon stabilitesinin belirlenmesi amacıyla liyofilize edilmemiş BRYN örneğinden 25 mL alınarak santrifüj tüpüne yerleştirilmiş ve 24 sa boyunca ağzı kapatılarak oda sıcaklığında bekletilmiştir. Stabilité üstte ayrılan fazın ölçülmesiyle belirlenmiş ve denklem (3.18) yardımıyla hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Analizler, her bir örnek için üçer paralelli olarak gerçekleştirilmiştir [188]. H_1 , 24 sa sonra üstteki faz yüksekliğini ve H_0 başlangıçtaki emülsiyon yüksekliğini (hazırlamadan hemen sonra) temsil etmektedir.

$$Ayrım (\%) = \frac{H_1}{H_0} \times 100 \quad (3.18)$$

•Çözeltilerin Yatışkan Kesme Akış Özelliklerinin Belirlenmesi

BRY içeren ve içermeyen nanokapsüllerin yatışkan kesme özellikleri ITG'nin yatışkan kesme özelliklerinin belirlenmesi aşamasında uygulanan şartlar altında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin modellenmesinde Newton model (3.19) kullanılmış ilgili parametrelerin hesaplanması Statistica (StatSoft Inc., Tulsa, OK, ABD) programı vasıtasıyla belirlenmiştir [189].

$$\sigma = K(\dot{\gamma}) \quad (3.19)$$

•Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi İle Moleküler Karakterizasyon

Ovalbumin-Isırgan tohumu gamı-kitosan (OIK Kompleksi) ve BRYN'nin moleküler karakterizasyonu, ATR (Zayıflatılmış Toplam Yansıtma, Attenuated Total Reflectance) cihazı ile donatılmış Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR, Bruker Tensor 27, Almanya) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Analizde KBr ışın demeti ayırıcısı ve DCaTGS detektörü kullanılmıştır. Analizler, 4000-600 cm^{-1} aralığında 16 tarama ile gerçekleştirilmiştir. Veriler OPUS programı (Windows için Sürüm 7.2, Bruker GmbH) yardımıyla elde edilmiştir [190].

•Termal Karakterizasyon

OIK Kompleksi ve BRYN'nin termal özellikleri bir DSC cihazı (Q100, TA Instruments Inc., New Castle, DE, ABD) yardımıyla belirlenmiştir. Yaklaşık. 50 mg öğütülmüş örnek, alüminyum kaplara tartılmış ve hermetik olarak ağızları kapatılmıştır. N₂ gazı altında 20 mL/dk akış hızında, 10°C/dk ısıtma hızında ve 25-300°C aralığında ısıtılmıştır [191].

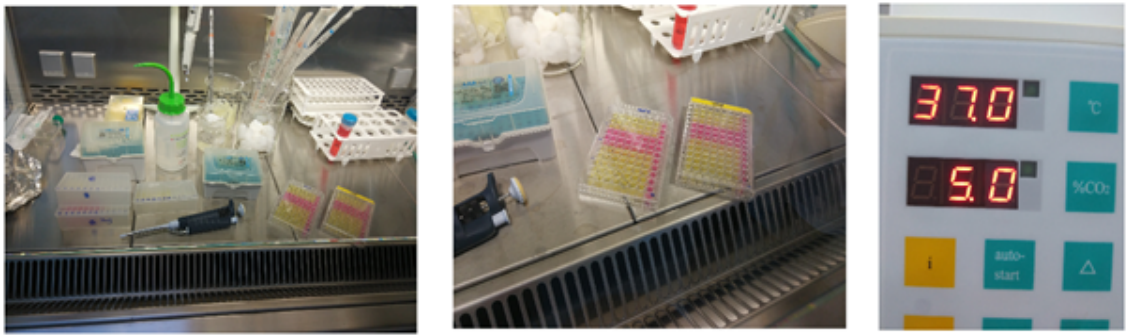
•Morfolojik Karakterizasyon

OIK Kompleksi ve yıkanmış ve yıkanmamış BRYN'nin morfolojik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI, Quanta Feg 250, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler viyallere yerleştirilerek nitrojenle kurutulmuş ve argon gazı altında (20mA akım, 10^{-3} basınç uygulanarak) altın alaşımla kaplanmıştır. Ardından morfolojik özellikleri tespit edilmiştir [192].

•XTT Yöntemi ile Sitotoksosite Testi

In vitro toksisite testlerinde Çakır Koç vd. [193] tarafından açıklanan metotta bazı modifikasyonlarla uygulanmıştır. Örneklerin sitotoksik aktivitesi L-929 fare fibroblast hücre hattına karşı analiz edilmiştir. Özetle, hücre hattı öncelikle DMEM (%10 fetal bovine serum ve penisilin-streptomisin içeren) besiyerinde 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde 3-4 gün kadar inkübe edilerek çoğaltılmış ve inkübasyon sonrası tripsinizasyon ile hücreler flasklardan kaldırılarak thoma lamı ile sayımı yapılmıştır. Daha sonra hücreler, 10⁴ hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu mikropalakaya eklenerek, hücrelerin kuyucuk tabanına tutunması için 37°C'de 24 sa inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası farklı konsantrasyonlardaki (0,5, 1, 2, 4, 6, 8 and 10 mg/mL) örnekler (OVA, KS, ITG, BRY, OIK Kompleksi ve BRYN) kuyucuklara eklenerek tekrar 24 sa inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra kuyucuklardaki medium kısmı uzaklaştırılarak 100µl 2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sul-fophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanili-de (XTT, Sigma; 0,5 mg/mL) çözeltisi kuyucuklara eklenmiş ve mikropalakalar 37°C'de 3 sa inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda mikropalaka okuyucuda (Elisa reader Elx800) 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) ölçülmüş ve canlı hücre sayısı denklem (3.20)'ye göre hesaplanmıştır. Sitotoksosite analizine ilişkin görseller Şekil 3.8'de yer almaktadır.

$$Hucre\ Canliligi\ (\%) = \frac{Orneklerin\ OD\ Ortalamasi}{Kontrolun\ OD\ Ortalamasi} \times 100 \quad (3.20)$$



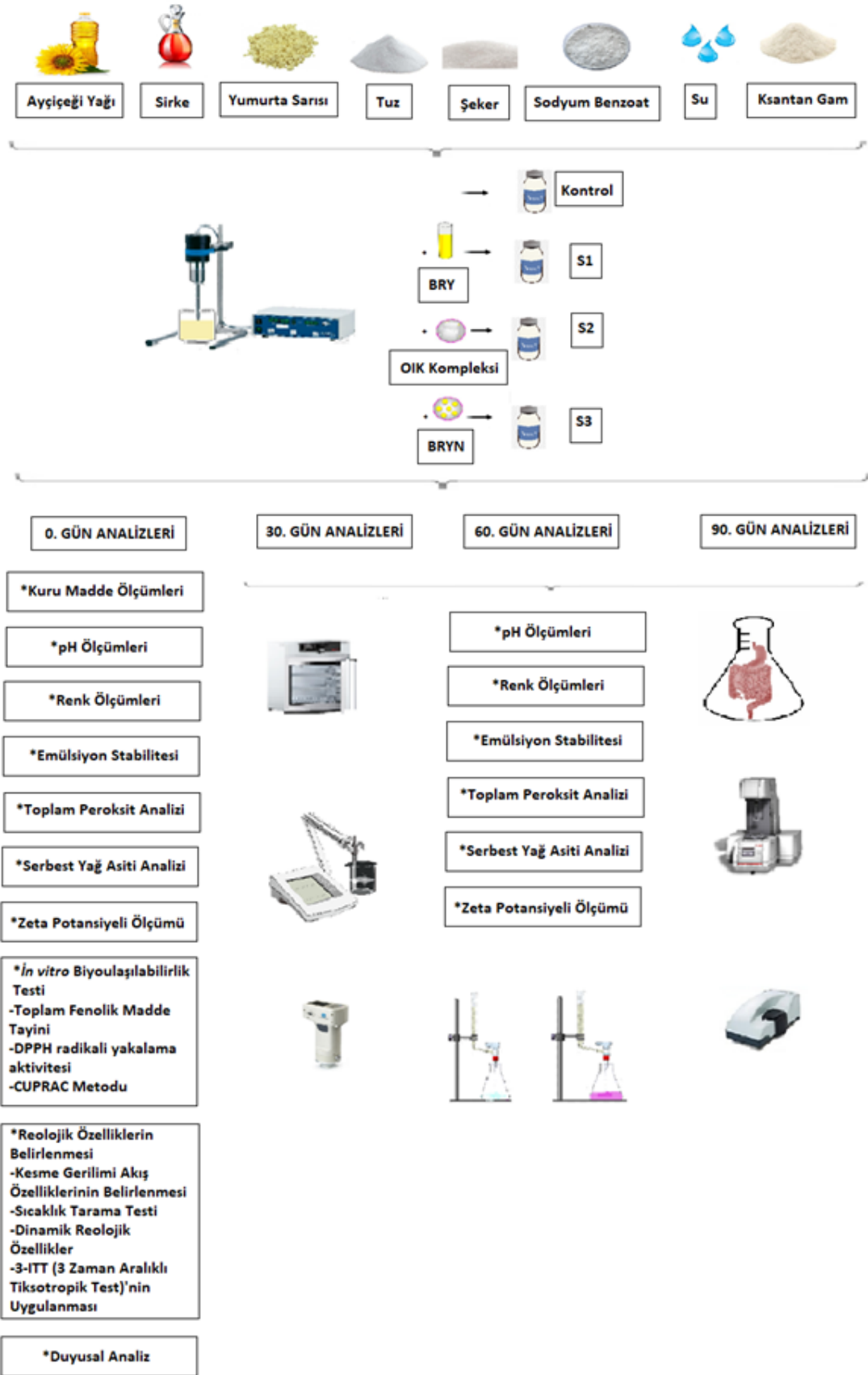
Şekil 3.8 Sitotoksosite analizinden görseller

3.2.5 Mayonez Denemeleri

Çalışmanın son aşamasında, optimum koşullarda üretilen ve en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip olan BRYN örneği, mayonez örneklerine ilave edilerek mayonezde karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen analizler Şekil 3.9'da görselleştirilmiştir.

3.2.5.1 Mayonez Örneklerinin Hazırlanması

Mayonezlerin üretimi aşamasında öncelikli olarak ksantan gamin (%0,35) oda sıcaklığında su (%14,62) ve sirke (%7) karışımında çözündürülmesi gerçekleştirilmiş ve hazırlanan solüsyon hidrate olması için bir gece boyunca 800 rpm'de mekanik karıştırıcıda (IKA C-MAG HS 7, Almanya) karıştırılmıştır. Ardından hidrate olan gam solüsyonuna Tablo 3.4'te belirtilen oranlarda tuz (%1), şeker (%5), sodyum benzoat (%0,03) ve yumurta sarısı (%7) konularak 1200 rpm'de 2 dk boyunca ultra turaks (Daihan, HG-15D) ile homojenize edilmiştir. Sonrasında oluşturulan bu sisteme ayçiçek yağı yavaş yavaş ilave edilmiş ve 1200 rpm'de 3 dk daha ultra turaks (Daihan, HG-15D) ile homojenize edilmiştir [194]. Elde edilen mayonez 4 partiye ayrılmış ve örneklerin her birine sırasıyla %4 oranında BRY (S1 örneği, maksimum enkapsülasyon etkinliğinin elde edildiği oranda), %4 oranında OIK (S2 örneği) veya %4 oranında BRYN (S3 örneği) ilave edilmiştir. Herhangi bir ek bileşen ilave edilmeyen örnek, kontrol olarak analizlere alınmıştır. Tüm örnekler belirtilen bileşenler (BRY, OIK VE BRYN) ilave edildikten sonra 2 dk boyunca 1000 rpm'de ultra turaks (Daihan, HG-15D) ile homojenize edilmiştir. Üretilen örnekler ağzı kapalı cam kaplara alınarak 90 gün boyunca karanlık ortamda depolanmıştır. 0., 30., 60. ve 90. günlerde; pH, renk ölçümleri, peroksit, serbest yağ asiti, zeta potansiyeli ve emülsiyon stabilitesi belirleme analizleri gerçekleştirilmiştir. Öte yandan taze hazırlanan mayonez örneklerinin nem içeriği, *in vitro* biyoerişebilirlik analizi, reolojik ölçümleri (Yatışkan Kesme Testi, Sıcaklık Tarama Testi, Dinamik Tirezimli Kayma Testi ve 3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test) ve duyuusal analizleri de gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9 Mayonez örneklerinin üretimi ve örneklerde yapılan analizler

Tablo 3.4 Mayonez örneklerinin formülasyonları

İngrediyenler	Kontrol (%)	S1 (%)	S2 (%)	S3 (%)
Ayçiçek Yağı	65	61	61	61
Sirke	7	7	7	7
Yumurta Sarısı	7	7	7	7
Tuz	1	1	1	1
Şeker	5	5	5	5
Sodyum Benzoat	0,03	0,03	0,03	0,03
Su	14,62	14,62	14,62	14,62
Ksantan Gam	0,35	0,35	0,35	0,35
BRY	-	4	-	-
OIK Kompleksi	-	-	4	-
BRYN	-	-	-	4

BRY: Buğday Ruşeym yağı; OIK kompleksi: OVA-ITG-KS kompleksi; BRYN: BRY yüklenmiş nanopartiküller; Kontrol: Ruşeym yağı ya da nanopartikül ilavesi olmayan mayonez); S1: Sadece BRY içeren mayonez); S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez

3.2.5.2 Mayonez Örneklerinde Yapılan Analizler

•Kuru Madde Ölçümleri

Mayonez örneklerinin kuru maddelerini belirlemesi amacıyla önceden darası alınan kaplara yaklaşık 1,5 g örnek tartılarak 105°C'de 3 sa boyunca etüvde (Mettler UF110, Münih, Almanya) bekletilmiştir. Ardından örneklerin son tartımları alınarak yüzde olarak nem miktarları hesaplanmıştır [195].

•pH Analizi

Mayonez numunelerinin pH değerleri, pH metre (Mettler Toledo-S230 Seven Compact, İsviçre) probunun doğrudan örnek içerisine daldırılması ile 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Her bir pH ölçümü için dört farklı numuneden en az üçer ölçüm alınmıştır [196].

•Renk Analizi

Mayonez numunelerinin renk ölçümü, beyaz bir referans plaka ile kalibre bir kolorimetre (CR-400, Konica Minolta Sensing, INC, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cam ölçüm kabına yaklaşık 5 gram numune konulmuş ve her numuneden en az üç ölçüm alınarak numunelerin L^* (renk parlaklığı; açıklık (beyaz, $L^*=100$), koyuluk (siyah, $L^*=0$)), a^* (kırmızı ($+a^*$)-yeşil ($-a^*$)) ve b^* (sarı

(+b*)-mavi (-b*)) değerleri belirlenmiştir. ΔE^* (toplam renk farkı) değeri (3.21), (3.22), (3.23) ve (3.24) denklemleri yardımıyla hesaplanmıştır [197].

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (3.21)$$

$$\Delta a^* = a_1^* - a_0^* \quad (3.22)$$

$$\Delta b^* = b_1^* - b_0^* \quad (3.23)$$

$$\Delta L^* = L_1^* - L_0^* \quad (3.24)$$

•Emülsiyon Stabilitesi

Mayonezlerin emülsiyon stabiliteleri depolama süresi boyunca yer çekiminin etkisine bağlı olarak numunelerde faz ayrımının gerçekleşip gerçekleşmediğinin gözlemlenmesi ile belirlenmiştir. Ağzı kapalı cam tüplerde bekletilen örneklerde 90 gün depolama süresi boyunca 30 gün aralıklarla faz ayrımının gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir. Mayonez örneklerinin emülsiyon stabilitesi denklem (3.25) ile hesaplanmıştır [198]. Burada ES , emülsiyon stabilitesini; H_Y , emülsiyonun bekletilmesiyle birlikte oluşan faz ayrımı miktarının yüksekliğini; H_I , emülsiyonun başlangıçtaki toplam yüksekliğidir.

$$ES (\%) = \frac{H_Y}{H_I} \times 100 \quad (3.25)$$

•Toplam Peroksit Tayini

Mayonez örneklerinde toplam peroksit analizi, Altunkaya vd. [199] tarafından rapor edilen yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, yaklaşık 3 g örnek erlene tartılmış ve üzerine 10 mL kloroform eklenip çalkalanarak yağın çözülmesi sağlanmıştır. Ardından 15 mL asetik asit, 1 mL doymuş KCI ilave edilerek tekrardan çalkalama işlemi uygulanmış ve örnekler yaklaşık 5 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. Karışımın üzerine 75 mL su ve %1'lik 1 mL nişasta konularak 0,01 N sodyum tiyosülfat ile titre edilmiş ve sarfiyat mL olarak not edilmiştir. Depolama boyunca mayonez örneklerinin peroksit değerleri denklem (3.26) yardımıyla hesaplanmıştır [200]. Burada a , sodyum tiyosülfat çözeltisinin titrasyonda harcanan hacmi (mL); b , şahit numunenin titrasyonda harcanan hacmi (mL); N , sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi; m , yağın ağırlığı (g)'dir.

$$\text{Peroksit Değeri (Meq Oksijen / kg yağ)} = \frac{(a - b) \cdot N \cdot 100}{m} \quad (3.26)$$

•Serbest Yağ Asidi Tayini

Mayonez örneklerinde serbest yağ asidi analizi, Altunkaya vd. [199] çalışmalarında kullandıkları yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 3 g örnek bir erlenmayere tartılarak üzerine 50 mL etanol:dietil eter (1:1) karışımı ilave edilmiş ve çalkalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından, üzerine 3-4 damla fenolftaleyn eklenerek 0,1 N NaOH ile titre edilmiş ve harcanan miktar not edilmiştir. Serbest yağ asidi sayısı (AS) denklem (3.27) ile hesaplanmıştır [196]. Burada V , tüketilen 0,1 N NaOH çözeltisinin hacmi (mL); m , yağın ağırlığıdır (g).

$$AS \text{ (mg KOH / g yağ)} = \frac{V}{m} \times 5,6 \quad (3.27)$$

•Zetapotansiyel Ölçümü

Saf su ile seyreltilmiş mayonez numunelerinin zeta potansiyelideğerleri, dinamik ışık saçılımın sistemine sahip bir cihaz (Zetasizer NanoZS, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, İngiltere) yardımıyla ölçülmüştür [201].

•*In vitro* Biyoerişebilirlik Testi

BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonezlerin *in vitro* biyoerişebilirlik testi, Minekus vd. [202] tarafından kullanılan 3 aşamalı yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiş ve örneklerin toplam fenolik madde miktarları, DPPH yakalama kapasiteleri ve Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitelerine (CUPRAC) üzerine *in vitro* sindirim koşullarının etkisi araştırılmıştır. Ayrıca yukarıda bahsedilen örneklerin yanı sıra hiçbir örnek konulmadan blank (kör) numunesi için de *in vitro* gastrointestinal sindirim analizi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Simüle oral, gastrik ve bağırsak sıvılarının bileşimi Tablo 3.5'te sunulmuştur.

Tablo 3.5 Simüle tükürük, gastrik ve bağırsak sıvıları

Bileşen	Stok konsantrasyonu (mol/L)	Stok hacim (mL)		
		Oral (pH 7)	Gastrik (pH 3)	Bağırsak (pH 7)
KCl	0,5	15,1	6,9	6,8
KH ₂ PO ₄	0,5	3,7	0,9	0,8
NaHCO ₃	1	6,8	12,5	42,5
NaCl	2	-	11,8	9,6
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	0,5	0,4	1,1
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,5	0,06	0,5	-
HCl	6	0,09	1,3	0,7

Oral sindirimi simüle etmek için, 0,5'er g BRY, kaplama materyali, nanopartikül ve mayonez örnekleri tartılmış ve her birinin üzerine 3,5 mL tükürük sıvısı, 0,5 mL α -amilaz çözeltisi (25 μ kat/mL), 25 mL 0,3 mol/L CaCl_2 ve 0,975 μ L distile su ile karıştırılmış ve 5 mL'lik bir nihai hacme tamamlanmıştır. Karışım, bir çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 2 dk süreyle inkübe edilmiştir. Simüle edilmiş tükürük sindirimden sonra her numune ayrı tüplere boşaltılarak -80°C'de dondurulmuştur.

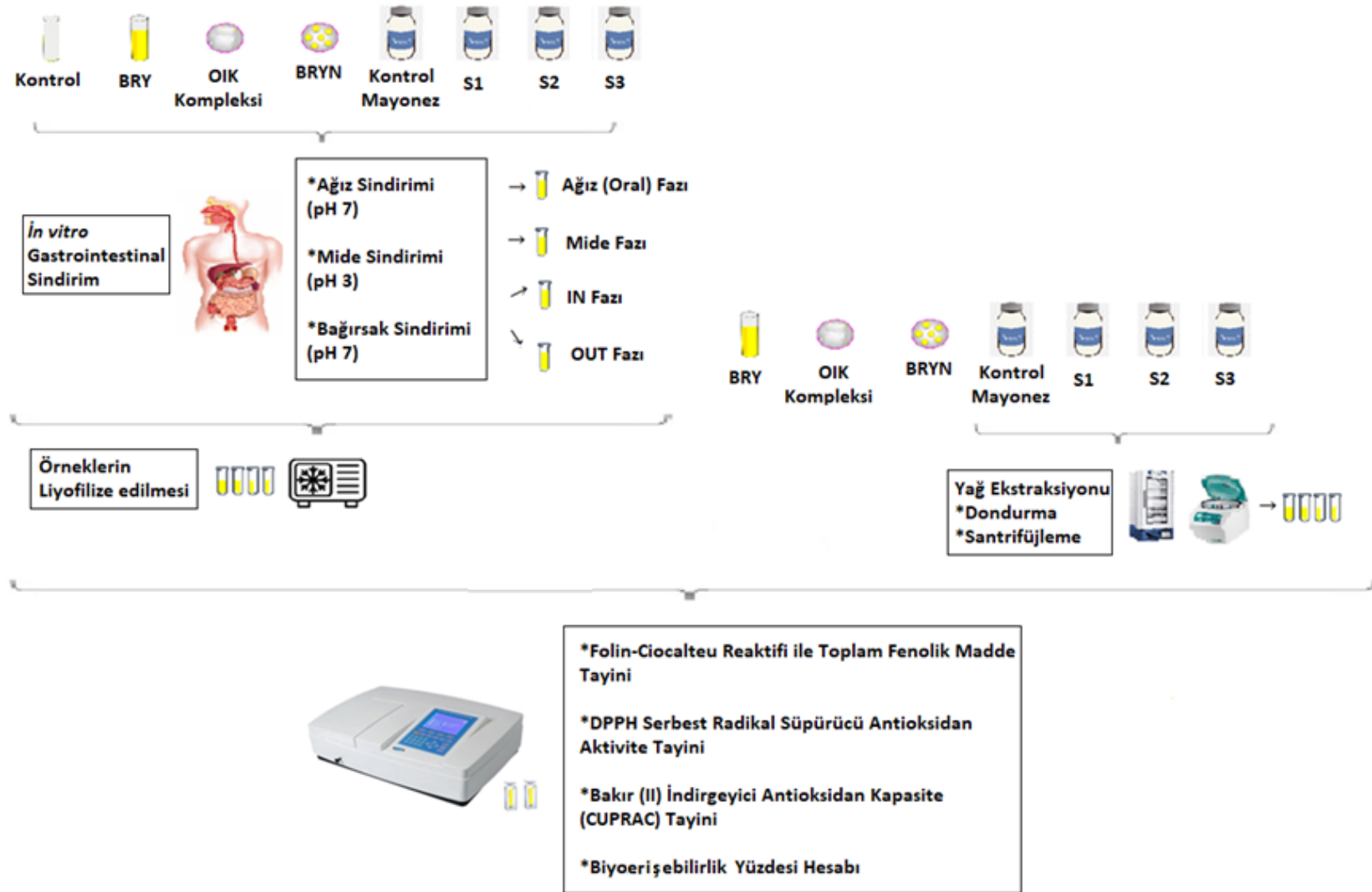
Gastrik sindirimi simüle etmek için, geriye kalan sıvıya 6 mL gastrik sıvısı, 1,28 mL pepsin çözeltisi (417 μ kat/mL), 4 μ L 0,3 mol/L CaCl_2 ilave edilerek ve karışımın pH'sı 1 mol/L HCl kullanılarak 3'e ayarlanmıştır. Daha sonra, karışımın toplam hacmi, saf su ilavesiyle 8 mL'ye tamamlanarak karışım, 2 sa boyunca 37°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Simüle edilen mide sindiriminden sonra, her numune ayrı tüplere boşaltılarak -80°C'de dondurulmuştur.

Bağırsak sindirimini simüle etmek için, karışımın geri kalanı; 7,7 mL duodenal sıvısı, 3,5 mL pankreatin (13 μ kat/mL), 1,75 mL 160 mmol/L safra ve 28 μ L 0,3 mol/L CaCl_2 ile bir araya getirilmiştir. Karışımın pH'sı, 1 mol/L NaOH kullanılarak 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra, toplam hacim, saf su kullanılarak 14 mL'ye tamamlanmış ve karışım, 2 sa boyunca 37°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Bu esnada diyaliz tüpü sıvı faza tamamen daldırılmış ve beherin ağzı parafilmle iyice kapatılmıştır. Ardından sürenin sonunda diyaliz tüpünün içindeki kısım; IN (bağırsak sindiriminde diyaliz edilebilir kısım) ve diyaliz tüpünün dışındaki kısım; OUT (bağırsak sindiriminde diyaliz edilemeyen kısım) fraksiyonları farklı tüplere boşaltılarak -80°C'de dondurulmuştur.

Her aşamadan sonra alınıp -80°C'de dondurulan sıvılar önce bir liyofilizatörde (Martin Christ, Beta 1-8 LSC plus, Osterode am Harz, Almanya) kurutulmuş ardından toplam fenolik madde içeriği, DPPH radikal yakalama aktivitesi ve CUPRAC testleri gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen analizler kısaca Şekil 3.10'da şematize edilmiştir.

Biyoerişebilirlik yüzdesi hesabı denklem (3.28)'de verildiği üzere IN fazında bulunan madde miktarının OUT fazında bulunan madde miktarına bölünmesiyle hesaplanmıştır [203].

$$\text{Biyoerişebilirlik (\%)} = \frac{\text{IN fazında bulunan madde miktarı}}{\text{OUT fazında bulunan madde miktarı}} \times 100 \quad (3.28)$$



Şekil 3.10 *In vitro* biyoyerişebilirlik test aşamaları

◦ Antioksidan Aktivite Testleri

Ekstraksiyon: Örneklerden ekstraksiyon işlemi, Karaman vd. [204] tarafından yapılan çalışmada küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 0,1 g liyofilize örnek ve 1 mL BRY alınarak üzerine 4 mL metanol çözeltisi (%80 metanol:su (v/v)) ilave edilmiş, vorteks ile karıştırılmış ve ortam sıcaklığında 1 sa boyunca çalkalayıcıda çalkalanarak örneklerin ekstraksiyonu sağlanmıştır. Ardından elde edilen ekstraktlar 4500 rpm'de 15 dk süre ile santrifuj edilmiştir. Süpernatant 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek süzölmüş ve sonraki analize kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde içeriği, DPPH radikal yakalama aktivitesi ve CUPRAC testleri, UV-görünür spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japonya) aracılığıyla belirlenmiştir.

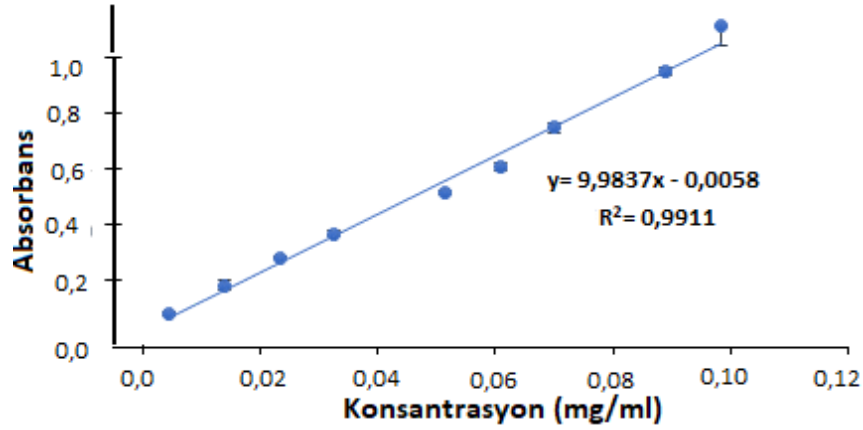
Mayonez örneklerinden yağ ekstraksiyonu Raikos vd. [205] tarafından yapılan çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 50 g mayonez örneği santrifüj tüplerine konulmuş ve -80°C'de dondurulmuş ve emülsiyonu kırmak için oda sıcaklığında çözölmüştür. Yağ fazı toplanarak 2400xg'de 5 dk santrifüjlenmiştir ve analiz yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır.

Toplam Fenolik Madde Tayini: Örneklerin toplam fenolik madde tayini Singleton ve Rossi (1965) [206] tarafından gerçekleştirilmiş olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 0,25 mL seyreltilmiş ekstrakt üzerine 0,2 N 2,5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 mL %7,5 Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek vortekslenmiş ardından 30 dk boyunca bekletilen örneklerin 760 nm'de absorpsansı ölçölmüştür. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı mg GAE (gallik asit eşdeğeri) /g cinsinden denklem (3.29)'a göre hesaplanarak not edilmiştir.

$$\frac{\text{Toplam Fenolik Madde}}{\text{Miktari (mg GAE/mL)}} = \frac{\text{Absorbans} + 0,0058}{9,9837} \times \text{Dilusyon Faktoru} \quad (3.29)$$

Gallik asidin kalibrasyon eğrisinin çizilmesi için %80 metanol:su (v/v) çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla farklı konsantrasyon (0,02-0,04-0,06-0,08-0,1-0,12 mg/mL) aralığındaki gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 3.11'de sunulmuş ve denklemi $y = 9,9837x - 0,0058$ olarak belirlenmiştir.

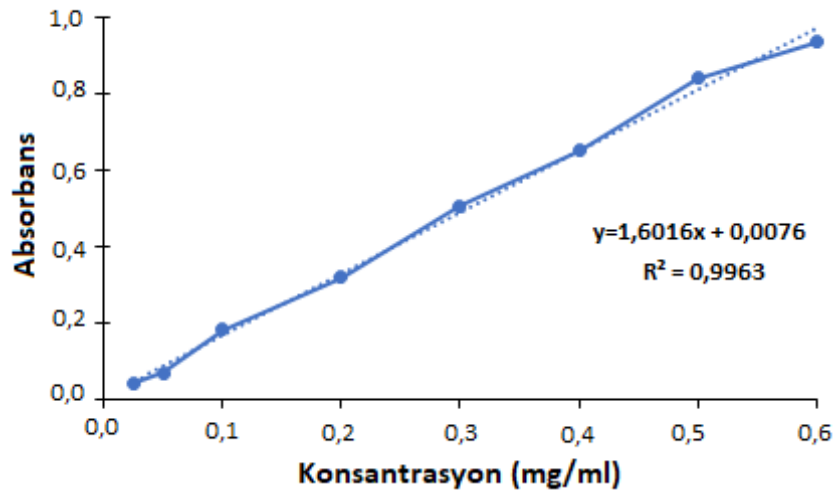
1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayini: Örneklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi DPPH radikali süpürme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemle göre 0,1 mL seyreltilmiş ekstrakta 4,9 mL 0,1 mM DPPH radikali çözeltisi ilave edilerek her bir örneğin vorteks ile karıştırılması sağlanmıştır. Ardından 20 dk boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletilen örneklerin 517 nm'deki absorpsansları okunmuş ve sonuçlar mg TEAC



Şekil 3.11 Fenolik madde miktarı tespiti için gallik asit cinsinden standart kalibrasyon eğrisi

(Troloks eşdeğeri) /g örnek olarak ifade edilmiştir.

Troloks örneği hazırlanmasında %80 metanol:su (v/v) çözeltisi kullanılmış ve kontrol örneğinin (%80 metanol:su (v/v) çözeltisinin) konsantrasyonu sıfır kabul edilerek 517 nm'de absorbansı okunmuştur. Örnek okurken olduğu gibi 0,1 mL metanol+4,9 mL DPPH eklenip 20 dk karanlıkta bekletilmiştir. Yine, farklı konsantrasyonlardaki (0,025-0,05-0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6 mg/mL) troloks çözeltilerine de aynı işlem uygulanıp absorbansları okunmuştur. Kontrol örneğini de içine alan bir konsantrasyon-absorbans grafiği çizilmiştir (Şekil 3.12). Çizilen grafiğin denklemi $y = 1,6016x + 0,0076$ olarak belirlenmiştir.

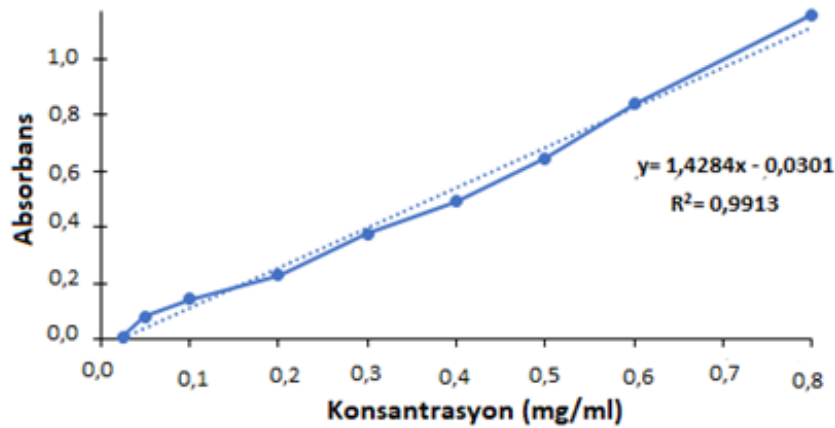


Şekil 3.12 DPPH için Troloks cinsinden standart kalibrasyon eğrisi

Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi: 10^{-2} M Bakır (II) klorür (CuCl_2) çözeltisinden, 1 M Amonyum asetat ($\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2$) ve etanolde hazırlanan $7,5 \times 10^{-3}$ M Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)'den 1'er mL alındı. Ardından

x mL antioksidan çözeltisi ve (1,1-x) mL çözügen ilave edilerek son hacim 4,1 mL ye tamamlanarak iyice karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 1 sa boyunca bekletilen örneklerin 450 nm’de absorbans okuması gerçekleştirilmiştir [207].

Şekil 3.13’te CUPRAC yöntemiyle elde edilen %80 metanol:su (v/v) çözeltisinin standart troloksun farklı konsantrasyonlardaki (0,025-0,05-0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8 mg/mL) kalibrasyon grafiği yer almaktadır. Çizilen grafiğin denklemi $y=1,4284x-0,0301$ olarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar mg TEAC (Troloks eşdeğeri) /g örnek olarak verilmiştir.



Şekil 3.13 CUPRAC için Troloks cinsinden standart kalibrasyon eğrisi

•Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Reoloji datalarının uygun modellerle modellenip parametrelerin belirlenebilmesi için Statistica (StatSoft Inc., Tulsa, OK, ABD) programı kullanılmıştır. Bahsedilen program aracılığıyla uygun değerler programa girilerek hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

◦ Mayonez Örneklerinin Kesme Gerilimi Akış Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayonez örneklerinin yatışkan kesme testi kesme kontrolüne ve peltier sisteme sahip bir reometre (Anton Paar, 2002 MCR 302, Avusturya) aracılığıyla belirlenmiştir. Analizler esnasında paralel plaka geometrisine sahip bir prob kullanılmış ve ölçümler 0,5 mm aralığında gerçekleştirilmiştir. Yatışkan kesme özelliklerini belirlemek için kesme oranları logaritmik olarak 0,1’den 100 s⁻¹e yükseltilmiştir. Deneysel sonuçlar, (3.8)’de yer alan Ostwald de Waele modeli ile belirlenmiştir [208].

◦ Mayonez Örneklerine Sıcaklık Tarama Testi’nin Uygulanması

Mayonez örneklerinin sıcaklık tarama testi 50 s⁻¹ kesme hızında ve 10-100°C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Ardından, elde edilen veriler (3.9)’da yer alan Arrhenius eşitliği vasıtasıyla hesaplanmıştır [186].

◦ Mayonez Örneklerinin Dinamik Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayonez örneklerine genlik tarama testi (Amplitude Sweep Testi) lineer viskoelastik bölgelerini belirlemek amacıyla uygulanmıştır. G' , G'' ve n^* tespit etmek 25°C'de %0,1'lik basınç (strain) ile 0-60 rad/s frekans aralığında (ω) ITG'nin dinamik reolojik özelliklerini belirlemek için frekans tarama testi uygulanmıştır. (3.10), (3.11) ve (3.12) yardımıyla kıvam katsayısı (K' , K'' ve K^*) (Pa.sn), akış davranış indeksi (n' , n'' ve n^*) (boyutsuz) ve determinasyon katsayısı (R^2)'nin büyüklükleri hesaplanmıştır [209].

◦ Mayonez Örneklerine 3-ITT (3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test)'nin Uygulanması

Mayonez örneklerine uygulanan 3 Zaman Aralıklı Tikotropik Test'in ardından elde edilen verilerin modellenmesi (3.13)'te yer alan Second Order Structural Model (İkinci Dereceden Yapısal Kinetik Model) vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Mayonez örneklerinin deformasyon ve toparlanma yüzdeleri ise (3.14) ve (3.15) kullanılarak hesaplanmıştır [210].

• Duyusal Analiz

Duyusal değerlendirme, oda sıcaklığında taze hazırlanan mayonez örnekleri üzerinde 9 noktalı hedonik skala (9, çok beğendim; 1, hiç beğenmedim) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk, koku, görünüm, tat, kıvam ve genel kabul edilebilirlik parametrelerinden oluşan duyusal özellikler, Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde öğrenim gören lisans ve lisansüstü öğrencisi 22-32 yaş aralığında 18 kadın panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Mayonez örneklerinin duyusal değerlendirmesinde kullanılan cevap formu, Şekil 3.14'te verilmiştir.

Panelistin Adı Soyadı:.....					Panel Tarihi:/...../.....				
Örnek No:.....									
Duyusal Özellikler	Değerlendirme								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Renk									
Koku									
Görünüş									
Tat-Aroma									
Yapı-Kıvam									
Genel Beğeni									
Puanlama	Çok iyi :9, Oldukça iyi :8, İyi :7, Biraz İyi :6, Yorumsuz :5, Biraz kötü :4, Kötü :3, Oldukça Kötü :2, Çok kötü :1								

Şekil 3.14 Duyusal değerlendirme için panelistlere uygulanan anket

Mayonez örnekleri, panelistlere plastik tabaklar içerisinde 3 haneli sayılarla kodlanarak sunulmuştur. Örneklerin değerlendirilmesi arasında panelistlere su ve

çubuk kraker sunularak örneklerin birbirlerini etkilememesi sağlanmıştır [211].

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve iki yönlü varyans analizini (two-way ANOVA) gerçekleştirmek için JMP 6.0 istatistiksel analiz yazılımı (SAS Institute, Inc., Cary, ABD) kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerin (mayonez tipi ve depolama günü) pH, renk, peroksit, serbest yağ asidi ve zeta potansiyeli değerleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için Student's t-testi kullanılmıştır. Ayrıca mayonez tipinin nem içeriği, reolojik ölçümler ve duyuşal değerlendirme üzerindeki etkileri tek yönlü varyans analizi ile belirlenmiştir. Öte yandan farklı konsantrasyonların fare fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri ve *in vitro* sindirimin biyoaktif değişimler üzerine etkileri tek yönlü varyans analizi yoluyla tespit edilmiştir. BRY yüklü ve boş nanopartiküllerin reolojik analiz, boyut, zeta potansiyeli ve enkapsülasyon etkinliği değerleri üzerine etkileri de yine tek yönlü varyans analizi yoluyla belirlenmiştir. Sonuçlar $p = 0,95$ anlamlılık düzeyine göre incelenmiştir. Analizler 3 paralelli ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

4 Araştırma Bulguları

4.1 ITG Ekstraksiyon Verimi

Box-behnken deneme tasarımı kullanılarak ısırgan tohumundan gam verimi optimizasyonu, merkezde üç replikasyonu olan dört faktör (süre, sıcaklık, su: tohum oranı ve pH) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı anda proses parametrelerinin bireysel ve etkileşimli etkilerini analiz edebilme imkanı sunmasından dolayı bu deneyde Box-behnken deneme dizaynının kullanımı tercih edilmiştir.

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi, farklı koşullarda yapılan ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ITG ekstraksiyon verimleri %2,34-6,17 arasında değişiklik göstermektedir. Maksimum ekstraksiyon veriminin elde edildiği koşullar, 85 °C sıcaklık, 3 sa süre, 20:1 su (mL):tohum oranı (g) ve pH 6 olarak tespit edilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, sıcaklığın 25°C ’den 85°C ’ye yükselmesiyle birlikte gam veriminde artış meydana gelmiştir. Sıcaklık artışı bitki dokusunun yumuşamasını ve hücre duvarında kütle transfer oranının artmasını sağlamıştır. Ayrıca, sıcaklığın artması, bağların kırılmasına da neden olmuştur. Bağlarda açığa çıkan enerji, çözünme reaksiyonunu (dissolving reaction) da beraberinde getirmiştir [212]. Ayrıca, sürenin artışıyla birlikte sıvının ortam içine nüfuz etme oranı fazlaştığından dolayı gam veriminde artış meydana gelmiştir.

Tablo 4.1 Box-Behnken deneme dizaynı ve ITG verilerinin her bir noktası için deneysel sonuçlar

Deneme Sayısı	Faktör A: X_1	Faktör B: X_2	Faktör C: X_3	Faktör D: X_4	Verim (%)
1	-1	0	-1	0	4,01
2	0	-1	1	0	2,88
3	-1	-1	0	0	2,34
4	-1	1	0	0	5,59
5	1	0	0	-1	4,40
6	-1	0	1	0	5,60

Table 4.1 Box-Behnken deneme dizaynı ve ITG verilerinin her bir noktası için deneysel sonuçlar (devamı)

7	1	1	0	0	6,17
8	1	-1	0	0	2,71
9	1	0	1	0	5,44
10	0	1	0	-1	5,40
11	0	1	1	0	6,01
12	0	-1	0	1	2,79
13	0	0	0	0	4,40
14	0	0	1	-1	4,60
15	0	-1	-1	0	2,80
16	0	0	-1	-1	3,98
17	0	0	-1	1	3,82
18	1	0	0	1	5,10
19	-1	0	0	1	3,91
20	-1	0	0	-1	4,09
21	0	0	1	1	3,98
22	0	-1	0	-1	2,41
23	0	1	0	1	5,24
24	1	0	-1	0	5,19
25	0	1	-1	0	5,80
26	-1	0	-1	0	4,01
27	0	-1	1	0	2,88
28	-1	-1	0	0	2,34
29	-1	1	0	0	5,59

X₁-Süre (sa); X₂-Sıcaklık (°C); X₃-Su (mL): tohum (g) oranı; X₄-pH

Ekstraksiyon verimi, ekstraksiyon yöntemine, özellikle ekstraksiyon solventine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [174], [213]. Ayrıca verim, tohumun kaynağı, türü ve endospermin gelişim evresi gibi biyolojik faktörlerden de etkilenmektedir [174], [213], [214]. ITG, tere tohumu gamına benzer gam verimine sahiptir (%3,50-8,97) [182]. ITG'nın ekstraksiyon verimi, *I. Turpetum* tohumu gamı (%2,3) [215], *Ipomoea campanula* tohumu gamı (%2,8) [215] ve *Abutilon indicum* tohumu gamına (%3,0) göre daha yüksektir [215]. Öte yandan, mesquite tohumu gamı (%14,2) [214], çemen otu tohumu gamı (%22,6) [215] ve *Prosopis chilensis* (%24,9) [213] gamından ise daha düşüktür.

Isırgan tohumundan gam ekstraksiyon verimine ilişkin ANOVA (varyans analizi)

analizi değerlendirmesi Tablo 4.2’de sunulmuştur. Box-Behnken deneme dizaynından elde edilen varyans analiz tablosunda yer alan p değerlerine göre en etkili parametrelerin sıcaklık ve süre olduğu belirlenmiştir. Su:tohum oranının ise bahsedilen parametrelere göre ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin daha az olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2 Karesel modele ilişkin elde edilen varyans analiz sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F Değeri	p -değeri Prob >F
Model	32,81	14	2,34	17,81	<0,0001
X_1 -Süre	1,01	1	1,01	7,65	0,0199
X_2 -Sıcaklık	27,86	1	27,86	211,71	<0,0001
X_3 -Su:Tohum Oranı	0,71	1	0,71	5,39	0,0426
X_4 -pH	1,810E-004	1	1,810E-004	1,375E-003	0,9711
X_1X_2	0,011	1	0,011	0,085	0,7768
X_1X_3	0,46	1	0,46	3,48	0,0916
X_1X_4	0,20	1	0,20	1,51	0,2480
X_2X_3	3,819E-003	1	3,819E-003	0,029	0,8681
X_2X_4	0,073	1	0,073	0,55	0,4749
X_3X_4	0,051	1	0,051	0,39	0,5468
X_1^2	0,21	1	0,21	1,60	0,2344
X_2^2	0,22	1	0,22	1,66	0,2263
X_3^2	0,13	1	0,13	1,02	0,3364
X_4^2	0,31	1	0,31	2,35	0,1565
Kalıntı (Residual)	1,32	10	0,13		
Düzeltilmiş Toplam	34,13	24			

Tablo 4.2’ye göre Karesel Model’in F değerinin 17,81 ve $Prob>F$ değerinin ise 0,05’ten küçük olması, uygulanan modelin önemli olduğunun bir göstergesidir. Elde edilen bulgulara göre, kuadratik (karesel) modelin ekstraksiyon verimine olan etkilerinin önemli olduğu ($p<0,01$) ve modelin ekstraksiyon verimini önceden belirlemek amacıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Uygulanan modele göre determinasyon katsayısı (R^2) 0,96 olarak bulunmuştur, bu sonuç toplam varyasyonun %96’sının bu modelle açıklanabileceğini sadece %4’ünün tanımlanamayacağını göstermektedir. Ayrıca, R^2 değeri oldukça yüksek olduğu için model yüksek derecede önem arz etmektedir. (4.1)’de sunulan ikinci mertebeden matematiksel

denklem optimum şartlar altında optimum verimin nasıl elde edileceği hakkında bilgi vermektedir.

$$\begin{aligned}
 Y \text{ (Ekstraksiyon verimi, \%)} = & -0,84501 - 0,66798 \cdot X_1 + 0,088195 \cdot X_2 + \\
 & 0,021745 \cdot X_3 + 0,44906 \cdot X_4 + \\
 & 1,76125E^{-003} \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,033840 \cdot X_1 \cdot X_3 + \\
 & 0,074167 \cdot X_1 \cdot X_4 + 1,03E^{-004} \cdot X_2 \cdot X_3 - \quad (4.1) \\
 & 1,49611E^{-003} \cdot X_2 \cdot X_4 - 3,77E^{-003} \cdot X_3 \cdot X_4 + \\
 & 0,27315 \cdot X_1^2 - 3,09227E^{-004} \cdot X_2^2 + \\
 & 2,18002E^{-003} \cdot X_3^2 - 0,036750 \cdot X_4^2
 \end{aligned}$$

Burada X_1 , X_2 , X_3 ve X_4 bağımsız değişkenleri sırasıyla süre, sıcaklık, su: tohum oranı ve pH olarak kodlanmıştır.

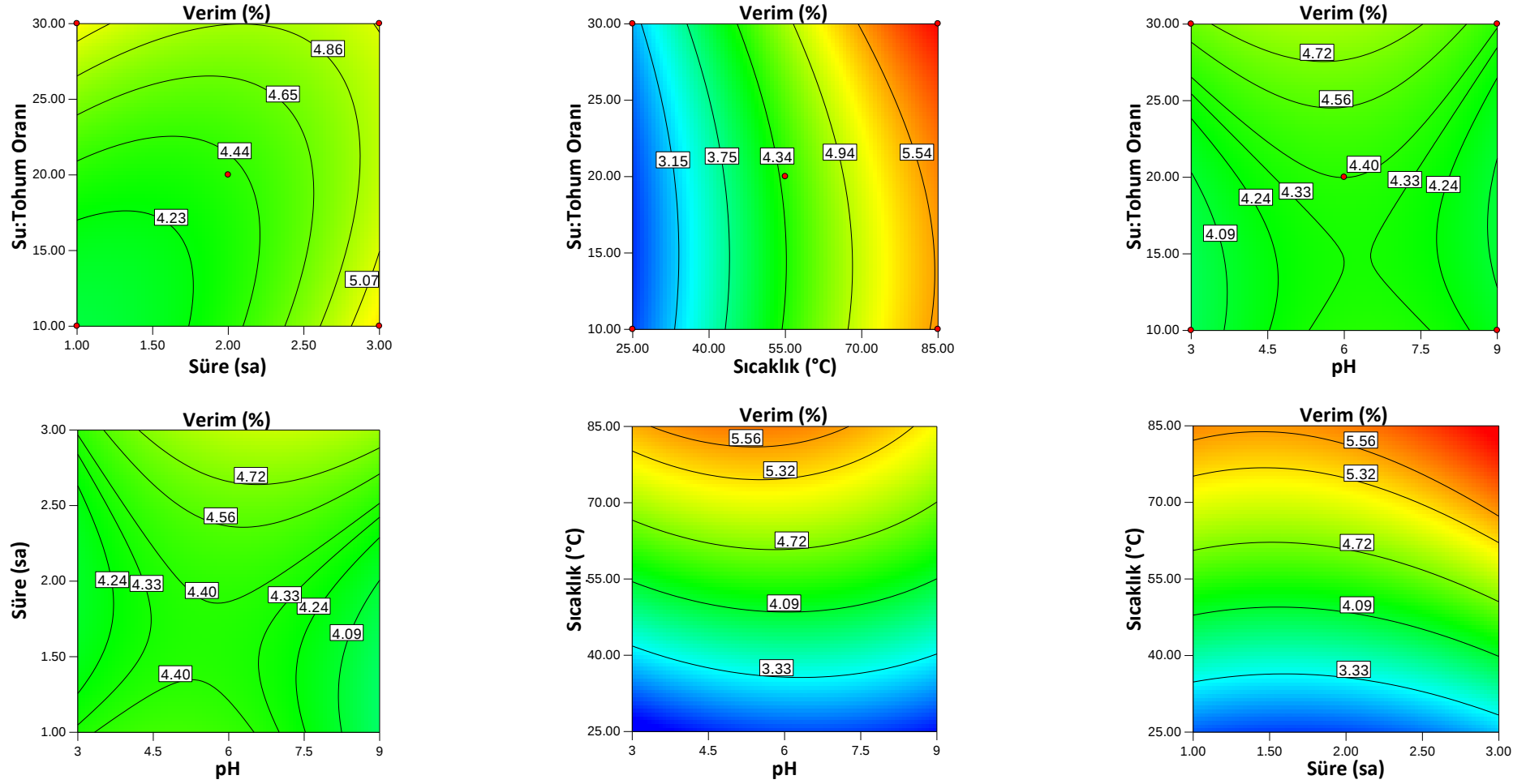
Sonuçlar ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki kontur ve 3 boyutlu grafikler vasıtasıyla gösterilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Elde edilen bu grafikler yoluyla bağımsız değişkenlerin verim üzerindeki etkilerini görmek mümkün hale gelmiştir. Grafiklere göre, ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve su: tohum oranındaki artışın gam ekstraksiyon verimini arttırdığı açıkça görülmektedir. Ayrıca, pH 6 noktasına kadar ekstraksiyon verimi artarken belirtilen bu pH değerinden sonra verimde azalma meydana gelmeye başlamıştır.

Optimizasyon neticesinde diğer tüm aralıklar in range seçilip verim maksimum tutularak ekstraksiyon verimini maksimum yapan nokta belirlenmiştir. Bu aşamada Design Expert (Stat-Ease Inc. Version 7.0, Minneapolis, ABD) programının software'inden yararlanılmıştır. Isırgan tohumundan en az, orta ve en yüksek gam ekstraksiyon veriminin eldesi için Box-behnken deneme tasarımı ile elde edilen deneysel şartların sonuçları Tablo 4.3'te sunulmuştur. Sonuçlar maksimum verimin (%6.40); 83,72°C sıcaklıkta, 5,21 pH değerinde, 1,07 saatte ve su: tohum oranının 29,79:1 olduğu şartlar altında gerçekleşebileceğini göstermektedir. ITG'ye ilişkin yapılan fizikokimyasal, kompozisyonel, konformasyonel ve reolojik analizler optimum noktada üretilen gamlardan yararlanılarak gerçekleştirilmiştir.

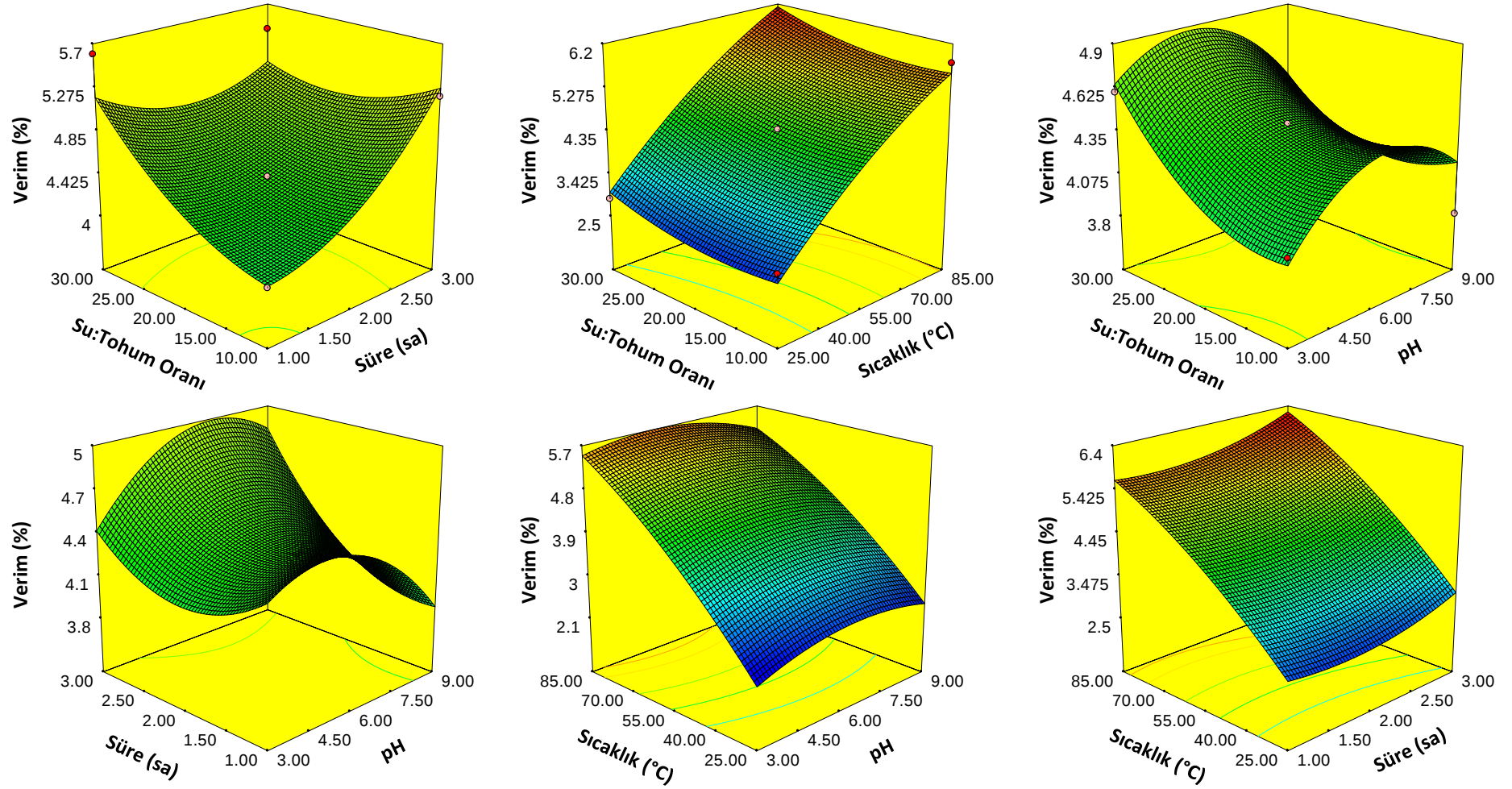
Tablo 4.3 Isırgan tohumundan minimum, orta ve maksimum gam ekstraksiyon verimi için Box-behnken Deneme Dizaynı ile elde edilen deneysel şartlar

	X₁ (sa)	X₂ (°C)	X₃ (mL/g)	X₄	Verim (%)
Maksimum	1,07	83,72	29,79	5,21	6,40
Orta	2,95	44,40	27,18	3,44	3,99
Minimum	1,54	25,42	16,50	8,52	2,30

X₁-Süre (sa); X₂-Sıcaklık (°C); X₃-Su (mL): tohum (g) oranı; X₄-pH



Şekil 4.1 ITG ekstraksiyon veriminde süre (sa), sıcaklık (°C), su (mL): tohum (g) oranı ve pH'ı gösteren yanıt yüzeyi grafikleri (kontur grafikleri)



Şekil 4.2 ITG ekstraksiyon veriminde süre (sa), sıcaklık (°C), su (mL): tohum (g) oranı ve pH'ı gösteren yanıt yüzeyi grafikleri (3D grafikleri)

4.2 ITG'nin Karakterizasyonu

4.2.1 ITG'nin Fizikokimyasal Özellikleri

Gamların bileşenleri ve temel özellikleri, fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Bu nedenle yeni bir gam kaynağı incelenirken bileşimi ve fizikokimyasal özellikleri genel olarak karakterize edilmeli bununla birlikte ticari olanlar ve literatürde yer alan gam kaynaklarıyla kıyaslanmalıdır [216]. ITG'nın nem, protein, kül ve karbonhidrat içerikleri Tablo 4.4'te sunulmuştur. Ekstrakte edilen %1 konsantrasyondaki gam örneklerinin pH değeri 6,77 olarak belirlenmiştir. pH değeri aljinat (6,3), K-karregenan (6,2), ksantan (6,1), karboksimetil selüloz (6,6) ve *Gleditsia triacanthos* gamından (6,2) daha yüksektir [174]. Gamların L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 65,01, 3,02 ve 12,54 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4 ITG'nin fizikokimyasal, kompozisyonel ve fonksiyonel özellikleri

Parametreler	İçerik
Nem (g/100g)	8,48 ± 0,09
Toplam Kül (g/100g)	10,81 ± 0,02
Toplam Protein (g/100g)	2,89 ± 0,01
Toplam Yağ (g/100g)	1,15 ± 0,06
Toplam Karbonhidrat	76,67
<i>Monosakkaritler (%)</i>	
Glukoz	20,92
Galaktoz	38,24
Mannoz	40,83
<i>Renk Özellikleri</i>	
L^*	65,01 ± 0,07
a^*	3,02 ± 0,03
b^*	12,54 ± 0,04
<i>Fonksiyonel Özellikler (%)</i>	
Emulsiyon Kapasitesi	48 ± 0,01
Emulsiyon Stabilitesi	40 ± 0,82
Köpük Oluşturma Kapasitesi	4 ± 0,01
<i>Intrinsik viskozite ve ortalama viskozite molekül ağırlığı</i>	
Intrinsik (Gerçek) Viskozite	8,56 ± 0,4 dL/g
Ortalama Viskozite Molekül Ağırlığı	1,89 ± 0,1x10 ⁶ g/mol

Gamların nem içeriği %8,48 olarak belirlenmiştir. Literatürde yer alan diğer gamlarla kıyaslandığında nem içeriği iran gamından (persian) (%6-7) [217], çemen otu

tohumu gamından (%7,49) [218], aljinat (%8) [174] ve karboksimetil selülozdan (%7,8) [174] yüksekken K-karregenat (%9,1) [174], *Gleditsia triacanthos* gamı (%8,8-13,45) [182], ksantan gamı (%10,70) [174], adaçayı (*Salvia macrosiphon*) tohumu gamından (%14,40) [184] ve adaçayı (*Salvia sclarea*) tohumu gamından (%19,14) [186] daha düşüktür.

Ekstrakte edilen ITG'nin yağ içeriği %1,15 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yağ içeriğinin gam arabik (%0,85-1,33) [177] ile hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ITG'nin yağ içeriğinin *Descurainia sophia* tohumu gamından (%3,01) [219] ve çemen otu tohumu gamından (%7,24) [218] daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Gamların kül içeriği %10,70 olarak tespit edilmiştir. ITG'nin kül içeriği *Descurainia sophia* tohumu gamından (%3,01) [219], çemen otu tohumu gamından (%3,38) [218], ksantan gamından (%9,5) [174], *Gleditsia triacanthos* gamından (%2,9) [174], adaçayı (*Salvia macrosiphon*) tohumu gamından (%9,07-9,33) [184] yüksekken, aljinat (%19) [174], K-karregenat (%32,4) [174] ve karboksimetil selülozdan (%18,1) [174] daha düşüktür.

ITG'nin protein içeriği %2,89'dur. ITG'nin protein içeriği değeri *Prosopis ruscifolia* tohum gamından (%1,9) [220], *Soymida febrifuga* gamından (%2,26) [221], *Acacia senegal* gamından (%2,19) [221], gam arabik (%2,1) [222] ve adaçayı (*Salvia macrosiphon*) tohumu gamından (%1,59-2,58) [184] daha yüksektir. Öte yandan, ITG'nin protein içeriği Ghatti gamı (*Gatifolia* SD) (%4,34) [223], guar gamı (%3,46-5,5) [224], Asafoetida gamı (%6,8) [222] ve adaçayı (*Salvia splendens*) tohumu gamından (%16,62) [225] daha düşüktür. Daha yüksek protein içeriğinin, gam çözeltilerinin emülsifikasyon, köpürme ve film oluşturma kapasitelerini arttırdığı bildirilmiştir [221].

ITG'nin toplam karbonhidrat seviyesi %76,67'dir. Literatürde yer alan gamların karbonhidrat içerikleri incelendiğinde *Prosopis ruscifolia* tohumu gamı (%76) [220], mesquite tohumu gamı (*Prosopis* spp. (%99,4) (% [214], guar gamı (%91,5) [214], *O. Basilicum* L. Tohumu (fesleğen tohumu) gamı (%79,63) [226] ve adaçayı (*Salvia macrosiphon*) tohumu (%69,96-71,05) [184] gamının değişen oranlarda karbonhidrat içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Polimerin moleküler konformasyonu ve sulu faz ile etkileşimleri gerçek (intrinsik) viskozitenin belirlenmesiyle tahmin edilmektedir [181]. Bununla birlikte, bu değer kullanılarak polimerin molekül ağırlığı da hesaplanabilmektedir. Polimerin moleküler ağırlığı, yapısal özellikleri ve konformasyonu gibi bazı faktörler gerçek viskoziteyi önemli bir şekilde etkilemektedir [182].

ITG'nın gerçek viskozite değeri $8,56 \pm 0,4$ dL/g olarak belirlenmiştir. Literatürde guar gam için gerçek viskozite değeri $9,25$ dL/g [227], kitre (Tragacanth) gamı için $19,60$ dL/g [228] olarak bildirilmiştir.

ITG'nın ortalama viskozite moleküler ağırlığı $1,89 \pm 0,1 \times 10^6$ g/mol olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte literatürde molekül ağırlığı adaçayı tohumu gamı ($1,5 \times 10^6$ g/mol), [229], guar gam ($1,45 \times 10^6$ g/mol) [179] ve ksantan gam ($4,05 \times 10^6$ g/mol) [230] için olarak hesaplanmıştır.

4.2.2 ITG'nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

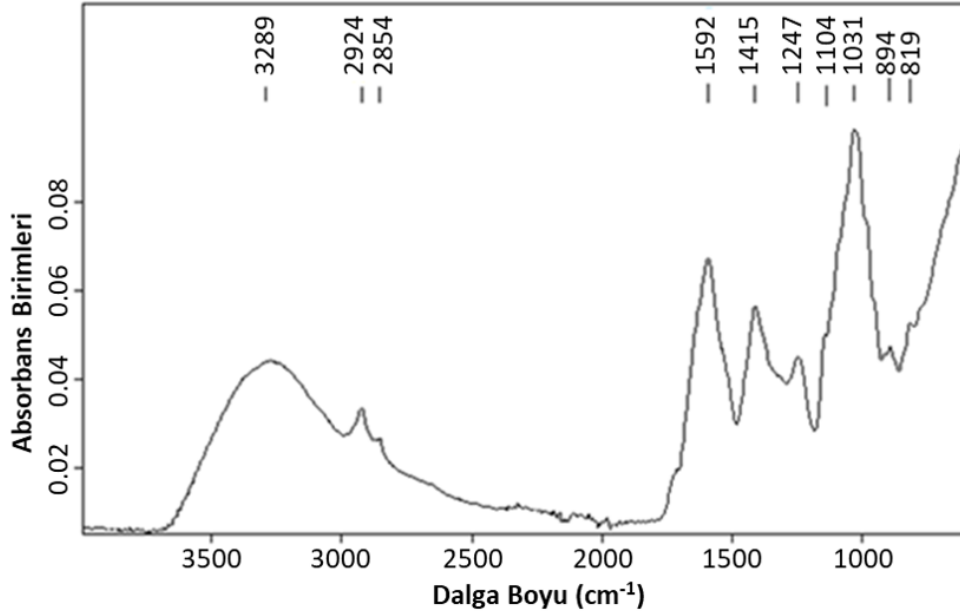
4.2.2.1 Emülsiyon Kapasitesi, Emülsiyon Stabilitesi ve Köpük Oluşturma Kapasitesi

Doğal hidrokolloidlerin en önemli fonksiyonel özelliklerinden biri, emülsiyonları stabilize etme kapasiteleridir. Bu konuyla ilgili ksantan gam, gam arabik ve tere gamı gibi gamlarla yapılan birçok çalışma mevcuttur. Ancak suda çözünür polisakkaritlerin yağ-su emülsiyonlarının yüzey gerilimini nasıl azalttığı hala tartışma konusudur. Bu konu hakkında bir sonuca ulaşabilmek için genellikle su içinde yağ emülsiyonlarının protein-polisakkarit kompleksleri içerisindeki durumu incelenmektedir. Bazı araştırmacılara göre, emülsifikasyonun aktivitesi polisakkaritlerin içerisinde yer alan protein safsızlıklarıyla alakalıdır. Bazı araştırmacılara göre ise gam arabikte olduğu gibi hidrofilik karbonhidratların ve hidrofobik proteinlerin eş zamanlı olarak varlığı gamın emülsifikasyon ve stabilizasyon özelliklerine katkı sağlamaktadır [231]. Emülsiyon kapasitesi kavramı genellikle yüzey gerilimini düşürme kapasitesine sahip olan yüzey aktif moleküllerle ilişkilidir. Proteinler gibi biyopolimerler amfilik özelliklerinde dolayı yüzey aktiftirler [232]. Bu çalışmada yapılan analizler neticesinde ITG'nin emülsiyon kapasitesi %48, emülsiyon stabilitesi ise %40 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4). Gamların çoğu güçlü yüzey aktif madde ya da emülgatör olarak düşünülmemektedir [10]. Bu nedenle hidrokolloidin birleşiminde yer alan proteinler gamların emülsiyon özelliklerinden sorumlu olabileceği ifade edilmiştir. ITG'nin emülsiyon stabiliteyi keçi boynuzu gamından yüksekken tere tohumu gamı, ksantan ve guar gamdan daha düşük olduğu belirlenmiştir [233].

Yapılan bir çalışmada gamların köpük oluşturma özelliğinin karbonhidrat yapıları boyunca yer alan protein fraksiyonlarının varlığından dolayı kaynaklandığı belirtilmiştir [234]. ITG'nin köpük oluşturma kapasitesi %4 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4) olup *Gleditsia triacanthos* gamı ile benzerlik göstermektedir [232].

4.2.3 FT-IR Analizi

ITG'nın yapısındaki fonksiyonel grupları belirlemek için FT-IR analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda elde edilen FT-IR spektrumu Şekil 4.3'te sunulmuştur.



Şekil 4.3 ITG'nin FT-IR spektrumu

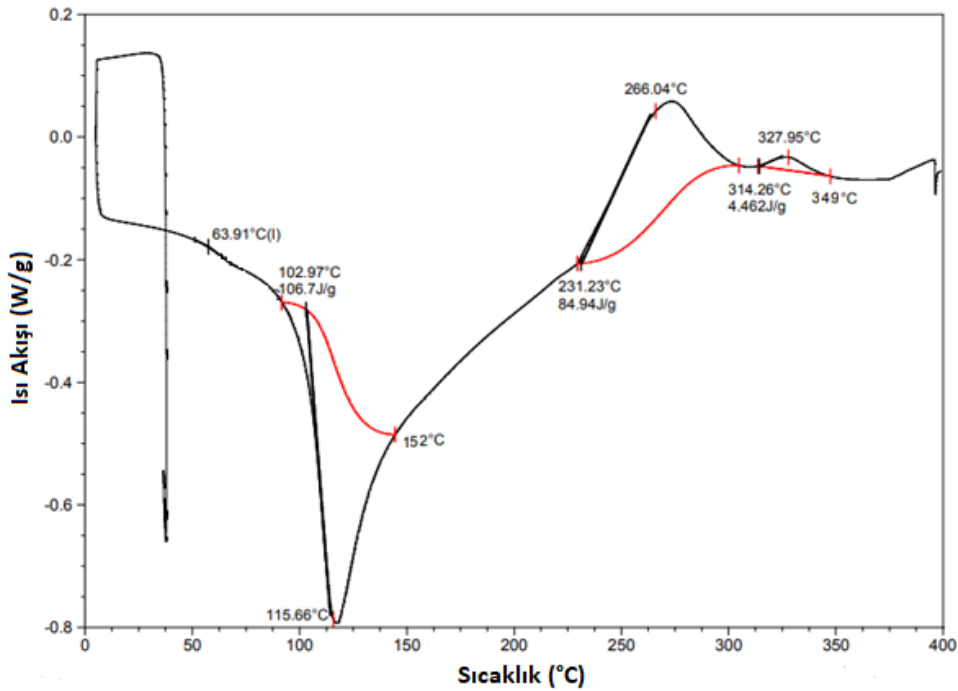
Gamların yapısal farklılıkları, 800 ve 1200 cm⁻¹ arasında yer alan piklerde iyi bir şekilde tanımlanmaktadır. Bahsedilen bu pik aralığı “karbonhidratların parmak izi” olarak tanımlanmaktadır [184], [235]. Elde edilen ölçüm sonuçlarına göre, 894 cm⁻¹ dalga boyunda gözlemlenen absorbands piki, β -D-mannopiranoz birimleri ile ilişkilendirilmiştir [184]. Öte yandan, 950-1150 cm⁻¹ dalga boyu arasında okunan pikler C-O, C-O-C glikozidik ve C-O-H bağlarının varlığını göstermektedir [182]. 1104 cm⁻¹ dalga boyundaki absorbands ise galakturonik asit ile ilişkilidir [236]. Ayrıca, 1592 cm⁻¹'de görünen pik, poligalakturonik asitin COO- grubuna bağlı asimetric gerilme titreşimini ifade etmektedir [237], [238]. 1618 ve 1377 cm⁻¹ arasındaki absorpsiyon bandı, galakturonik asit kalıntılarının karboksilat gruplarından dolayı meydana gelmiştir [239], [240]. 3000 ve 3500 cm⁻¹ dalga boyu aralığı moleküller arası ve moleküller arası hidrojen bağlarına bağlı O-H gerilim absorpsiyonunu göstermektedir. CH₂ gruplarında C-H bağları ve sakkaritler 990-1200 cm⁻¹ dalga boyu aralığında yer almaktadır [223], [241]. ITG polimerinin FT-IR spektrumu sonuçları, iyonlar için bağlanma bölgeleri oluşturma, jel oluşturma aynı zamanda su ile etkileşime girme kabiliyetleri kazandıran karboksil gruplarının varlığını göstermektedir.

4.2.4 Monosakkarit Kompozisyonu

ITG'nin monosakkarit kompozisyonu Tablo 4.4'te verilmiştir. Gamin monosakkarit kompozisyonu incelendiğinde, ağırlıklı olarak bünyesinde galaktoz (Gal, %38,24) ve mannoz (Man, %40,83) bulunduğu belirlenmiştir. Bu durum ITG'nın galaktomannan yapıda bir gam olduğunun göstergesidir. ITG'nin Man/Gal oranı 1,07 olarak hesaplanmıştır. Bu değer gamin suda çözünürlüğü hakkında bilgi vermektedir. Gamların şeker içeriğinde galaktoz yerine sadece mannozun bulunması gamların suda çözünürlüklerini azaltırken gamin şeker içeriğindeki galaktoz artışı suda çözünürlüğünü artırmaktadır [242]. Man/Gal oranı çemen otu, guar, tara ve keçiboynuzu gamı için sırasıyla 1,0-1,1; 1,6-1,8; 3,0 ve 3,9-4,0 olarak tespit edilmiştir [243].

4.2.5 DSC Analizi

Polisakkarit yapıdaki gamların içerisinde yer alan yapısal ve fonksiyonel grup farklılıkları, termal davranışları ve geçiş sıcaklıklarını etkilemektedir [244]. DSC, termal işlemler sırasında gamlarda meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikleri gözlemlemek için güçlü bir fiziksel araçtır ve bu yöntemle elde edilen eğriler her gam türü için farklılık göstermektedir [245]. Şekil 4.4'te ITG'nin DSC termogramı yer almaktadır. Elde edilen termogram doğal polisakkaritler için tipiktir [246]. Termogram 2 bölümden oluşmaktadır. Bu bölümlere ilişkin T_0 , T_p , T_e ve ΔH değerleri Tablo 4.5'te sunulmuştur.



Şekil 4.4 Isırgan tohumu gaminin DSC termogramı

Tablo 4.5 ITG'nin DSC termogramı için bölümlerin T_o , T_p , T_e and ΔH değerleri

Termal Parametreler	Birinci Kısım	İkinci Kısım
T_o (°C)	102,97	231,23
T_p (°C)	115,66	266,04
T_e (°C)	152,00	314,26
ΔH (J/g)	106,70	84,94

T_o : Pikin başlangıç sıcaklık değeri; T_p : Pik sıcaklığı T_e : Pikin bitiş sıcaklık değeri; ΔH : Entalpi

ITG'nin ilk endotermik piki 102,97°C ile 152°C sıcaklık aralığında gözlemlenmiştir. Bu pikin tepe noktası 106,7 J/g entalpi değeri ile 115,66°C'da belirlenmiştir. Muhtemelen bu pik serbest su buharlaşması ile ilgilidir [247]. Ayrıca bu pikin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) 63,91°C olarak belirlenmiştir. Öte yandan ikinci ekzotermik pik 266,04°C'de bulunmuştur. Pikin başlangıç sıcaklığı 231,23°C, bitiş sıcaklığı 314,26°C ve entalpisi 84,94 J/g'dır. İkinci pik, ITG'nin oksidatif dekompozisyonunu veya degradasyonunu göstermektedir [248]. Elde edilen bulgular ITG'nin termal stabilitesinin oldukça yüksek olduğunu bu nedenden dolayı süspansiyonların ve emülsiyonların stabilizasyonunda aynı zamanda enkapsülasyon proseslerinde kullanılabileceğini göstermektedir.

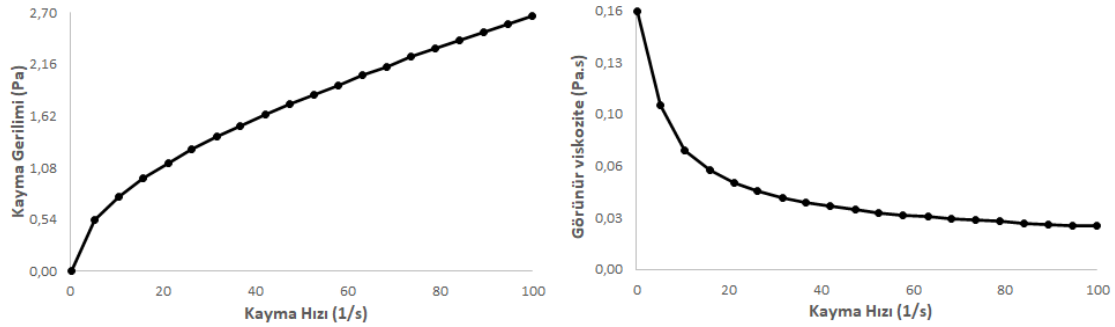
4.2.6 Reolojik Analizler

Reoloji, maddenin akış ve deformasyonunu inceleyen bilim dalıdır. Gıda mühendisliğinde gerçekleştirilen reoloji uygulamaları sayesinde gıda yapısının uygulanan kuvvet ve deformasyona nasıl tepki verdiği hakkında bilgi edinilmektedir. Bu nedenle gıdaların ve bileşenlerin reolojik açıdan karakterizasyonu, özellikle yapı, stabilite ve işleme tasarımı ile ilgili önemli bilgiler edinmemizi sağlamaktadır [249].

Hidrokolloidlerin herhangi bir gıda formülasyonunda kullanımı sonucunda gıdaların tekstürel özellikleri üzerinde birtakım değişiklikler meydana gelmektedir. Bu nedenle hidrokolloidlerin reolojik davranışlarının belirlenmesi özel bir öneme sahiptir. Reolojik özelliklerin proses tasarımı, süreç değerlendirme ve modellemede rol oynadığı iyi bilinmektedir. Bu özellikler bazen ürün kalitesinin bir göstergesi olarak (örneğin, toplam katı madde veya moleküler boyuttaki değişimler) ölçülmektedir. Sıvı akışını içeren herhangi bir işlemde (örneğin pompa boyutlandırma, ekstraksiyon, filtrasyon, ekstrüzyon, saflaştırma) reoloji verilerinin hesaplanması gerekmektedir. Ayrıca reolojik özelliklerin belirlenmesi; pastörizasyon, evaporasyon, kurutma ve aseptik işlem gibi gıda proseslerinde akış koşullarının analizinde de önemli bir rol oynamaktadır [250].

Hidrokolloid konsantrasyonu, sıcaklığı, elektrik yükü, uygulanan termal ve mekanik işlemler ve elektrolitlerin varlığı gibi birçok faktör, hidrokolloid içeren akışkan gıdanın reolojisini etkileyebilmektedir [251].

Şekil 4.5'te ITG çözeltisinin 25°C'deki sabit kesme akış özellikleri verilmiştir. ITG çözeltisi, kesme boyunca polimer zincirleri arasındaki makromoleküler zincirlerin çözünmesine bağlı olarak Newton olmayan kesme incelmesi akış davranışı sergilemiştir [225].



Şekil 4.5 ITG'nin kayma hızına karşı kayma gerilimi ve kayma hızına karşı görünür viskozite grafikleri (0,5 w/v)

ITG'nin akış davranışı karakteristikleri Ostwald de Waele modeli ile belirlenmiştir. Determinasyon katsayısı (R^2), kıvam katsayısı (K) ve akış davranışı indeksi (n) sırasıyla 0,9997, 0,2059 Pa.s ^{n} ve 0,5551 olarak belirlenmiş ve elde edilen değerler Tablo 4.6'da sunulmuştur. Yüksek R^2 değeri, modelin elde edilen sonuçlarla oldukça uyumlu olduğunun bir göstergesidir. Ayrıca n değeri 1'den küçük olmasından dolayı ITG kesme incelmesi özelliği göstermektedir.

Tablo 4.6 ITG'nin Ostwald de Waele ve Arrhenius denklemi parametreleri (0,5 w/v)

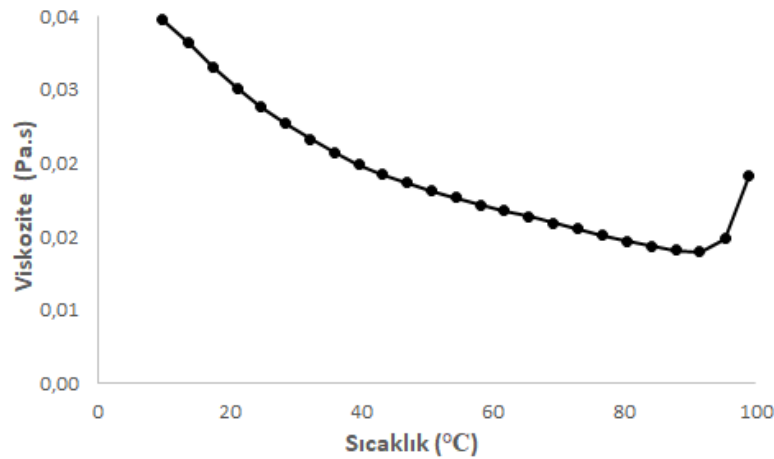
ITG'nin Ostwald de Waele parametreleri			ITG'nin Arrhenius parametreleri	
K (Pa.s ^{n})	n	R^2	Ea (kJ mol ⁻¹)	R^2
0,2059 ± 0,02	0,5551	0,9997	17,99	0,9974

Yapılan bir çalışmada kesme incelmesi davranışının, polimerik yapıları (çok sayıda karboksil grupları ve yan zincirler) ve yüksek moleküler ağırlıkları nedeniyle gam çözeltileri için tipik olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda bu davranış, gamın gıda katkı maddesi olarak kullanılabileceğinin bir göstergesi olduğu da ifade edilmiştir [252]. Bu özelliği sergileyen hidrokolloidler gıda tekstürünü iyileştirmek veya değiştirmek için gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Kesme incelmesi özelliği, pompalama ve doldurma gibi proses aşamalarında kolaylık sağlamaktadır [182]. Öte yandan ağızda kesme hızında düşük viskozite gösteren gıdalar zayıf ağız hissi

sağlarken yüksek viskozite çiğneme sırasında arzu edilen bir ağız hissi sağlamaktadır [252].

Kayacier ve Doğan (2006) [253] yaptıkları çalışmada gamların yüksek moleküler ağırlıklı hidrofilik biyopolimerler olduğunu ve genellikle kesme hızının artmasıyla birlikte görünür viskozitelerinin azaldığını ve akış davranış indeksi değerleri 1'den daha düşük olduğundan dolayı Newton olmayan psödoplastik davranışa sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca, gam çözeltilerinin reolojik davranışlarını karakterize etmek için birçok matematiksel model olduğunu, ancak reoloji verilerinin açıklanmasında en yaygın kullanılan modelin Ostwald de Waele model olduğunu bildirmişlerdir.

Gam içeren gıda dispersiyonlarının işlenmesi ve depolanması sırasında karşılaşılan geniş sıcaklık aralığı nedeniyle sıcaklığın hidrokolloid viskozitesine etkisinin belirlenmesi gıda endüstrisi için oldukça önemlidir [254]. Sıcaklığın, belirli bir kesme hızında görünür viskozite üzerindeki etkisi genellikle Arrhenius eşitliği ile ifade edilmektedir [250]. ITG'nin sıcaklığa karşı viskozitesindeki değişim Şekil 4.6'da sunulmuştur. Grafiğe göre viskozitenin artan sıcaklıkla birlikte genel olarak düştüğü ancak 100°C 'ye yakın bir değerde viskozitenin arttığı görülmektedir. Bu durum muhtemelen suyun buharlaşmasından kaynaklanmaktadır.

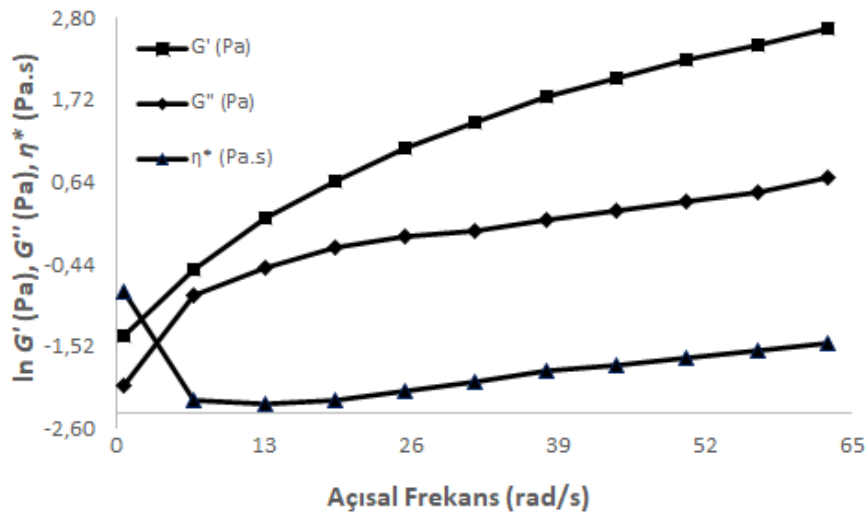


Şekil 4.6 ITG'nin sıcaklığa karşı viskozite grafiği (0,5 w/v)

R^2 ve E_a parametreleri, sırasıyla 0,9974 ve 17,99 kJ mol⁻¹ olarak hesaplanmış ve hesaplanan değerler Tablo 4.6'da sunulmuştur. ITG'nin aktivasyon enerjisi değeri, ksantan gam (5,74 kJmol⁻¹) ve ayva çekirdeği gamından (6,99 kJmol⁻¹) daha yüksektir [255]. Bununla birlikte, ITG için E_a değeri, % 1 konsantrasyon seviyesinde karagenan (30,3 kJ mol⁻¹), nişasta (18,7 kJ mol⁻¹), pektin (19,6 kJ mol⁻¹) ve jelatinden (19,6 kJmol⁻¹) daha düşüktür [250]. Eyring'in teorisine göre, sıvıların içinde moleküllerin hareketi için boşluklar bulunmaktadır ve moleküller bu alanlarda kalıcı

olarak hareket etmek için enerjiye ihtiyaç duymaktadırlar. Yüksek sıcaklıklarda, sistemde, moleküllerin serbestçe hareket etmesi ve sıvı akışını teşvik etmesi için gereken aktivasyon enerjisini sağlamak için yeterli enerji mevcuttur [255].

Frekans taraması bilgileri dispersiyonları karakterize etmek veya sınıflandırmak için kullanılmaktadır. Dispersiyonlar, seyreltik solüsyonlar, karmaşık ağ sistemleri (konsantre solüsyonlar), zayıf jeller ve güçlü jeller olmak üzere 4 şekilde sınıflandırılmaktadır [256]. ITG'nin açısal frekansa karşı $\ln G'$ (elastik modül), G'' (viskoz modül) ve η^* (kompleks viskozite) grafiği Şekil 4.7'de sunulmuştur.



Şekil 4.7 ITG'nin açısal frekansa karşı $\ln G'$ (elastik modül), G'' (viskoz modül) ve η^* (kompleks viskozite) grafiği (0,5 w/v)

Frekans tarama testi sonucunda, ITG çözeltisinin, elastik modül değerinin viskoz modül değerinden daha yüksek olması nedeniyle, gam örneklerinin elastik özelliklerinin viskoz özelliklerine göre daha baskın olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde yer alan fesleğen gamı, tere tohumu gamı ve adaçayı tohumu gamlarıyla benzerlik göstermektedir. Bahsedilen gamların G' değerleri G'' değerlerinden daha yüksek olduğu ve zayıf jel benzeri davranış sergiledikleri rapor edilmiştir [216].

ITG'nin G' (elastik modül), G'' (viskoz modül) ve η^* (kompleks viskozite) değerleri Tablo 4.7'de sunulmuştur. Power-Law Model'e göre, R^2 değeri 0,8084'ten daha yüksektir. Hesaplanan K' değeri (0,1991 Pa.sⁿ), K'' değerinden (0,0826 Pa.sⁿ) daha yüksek olduğundan dolayı hesaplanan sonuçlar Şekil 4.7'de yer alan grafikte uyumluluk göstermektedir. Ayrıca tabloda elde edilen n değerleri 1'den küçük olduğundan dolayı ITG çözeltisi kesme incilmesi özelliği sergilemektedir. Sonuçlar yatışkan kesme testinden elde edilen sonuçlarla uyumluluk içindedir.

Tablo 4.7 Isırgan tohumu gaminın G' (elastik modul), G'' (viskoz modul) ve η^* (kompleks viskozite) parametreleri (0,5 w/v)

$G' = K'(\omega)^{n'}$			$G'' = K''(\omega)^{n''}$			$\eta^* = K^*(\omega)^{n^*-1}$		
$K' \text{ (Pa.s}^n\text{)}$	n'	R^2	$K'' \text{ (Pa.s}^n\text{)}$	n''	R^2	$K^* \text{ (Pa.s}^n\text{)}$	n^*	R^2
0,1991± 0,01	0,9139	0,8878	0,0826 ± 0,02	0,7521	0,9838	0,3559 ± 0,01	0,7461	0,8084

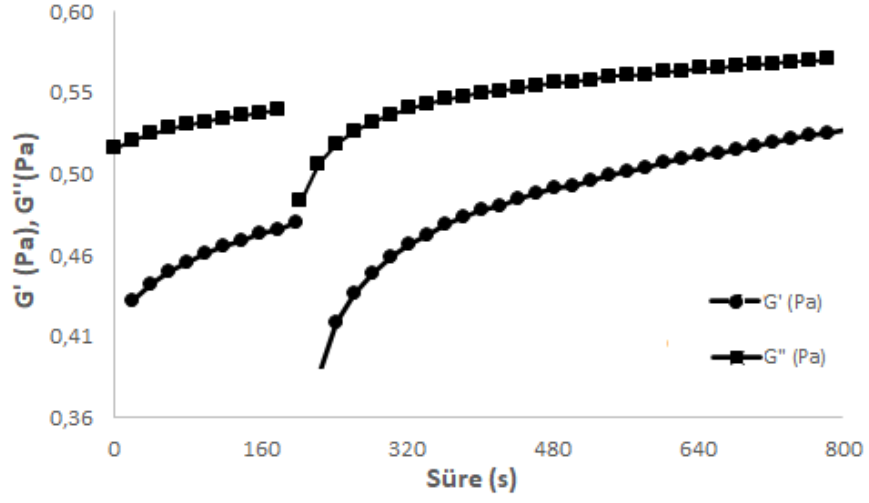
n' değeri jel gücü ve doğasının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Literatürde yapılan bir çalışmada gamların n' değerinin $n'=0$ olduğunda kovalent jel, $n'>0$ olduğunda ise fiziksel jel (physical gel) özelliği gösterdiği ifade edilmiştir. Düşük n' değeri (0'a yakın) frekansla değişmez. Ancak n' değeri 1'e yakınsa sistem viskoz jel gibi davranmaktadır [257], [258]. Bahsedilen bilgilerden yola çıkarak ITG'nin 1'e yakın n' (0,9139) ve n'' (0,7521) değerleri nedeniyle G' değerinin frekanstan etkilendiği belirlenmiştir. Ayrıca n' değerinin n'' değerinden yüksek olması, G'' 'ın frekanstaki artışla birlikte G'' 'daki artışlardan daha yüksek bir oranda arttığını göstermektedir.

Tiksotropi, önemli bir Newton olmayan psödoplastik sıvı özelliğidir. Tiksotropi, kesme süresinin bir fonksiyonu olarak gıdaların mekanik gerilime maruz kaldıklarında viskozitelerinin azalması, kesme gerilimi ortadan kaldırıldığında viskozitenin geri kazanılması anlamına gelmektedir [252], [256]. Viskozitenin zamana bağlı davranışı, flokların ve agregaların oluşumundan sorumlu olan Van de Waals kuvvetleri gibi partikül etkileşim kuvvetleri nedeniyle sıvının iç yapısında meydana gelen değişikliklerle ilgilidir. Bu kuvvetler, malzemede dağılmış türler arasına mikroskobik ölçekte etki eder ve belirli bir partikül hacim fraksiyonunun üzerinde, akışa dayanabilen sürekli katı bir partikül ağının oluşumuna yol açabilir [259].

Gamlar farklı yapısal, fizikokimyasal ve viskoelastik özellikleri nedeniyle farklı tiksotropi davranışı sergilemektedirler [256]. Bu çalışmada ITG çözeltilerine uygulanan 3-ITT testi, yüksek kesme koşullarında yapısında meydana gelen bozunma sonrasında ITG dispersiyonlarının orijinal yapılarını geri kazanma kabiliyetini araştırmak için yapılmıştır. Uygulanan test sayesinde hem lineer hem de lineer olmayan viskoelastik bölgede ITG'nin uygulanan deformasyona karşı gösterdiği davranış incelenme imkanı bulmuş böylelikle proses sırasında uygulanan yüksek kesme kuvvetinin etkileri tespit edilebilmiştir [210].

ITG'nin süreye (s) karşı G' (elastik modul) (Pa) ve G'' (viskoz modul) (Pa) grafiği Şekil 4.8'de sunulmuştur. Hem birinci hem de üçüncü aralıkta kayıp modul değerlerinin depolama modul değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum örneklerin viskoz özelliklerinin baskın olduğunun bir göstergesidir.

ITG'nin İkinci Dereceden Yapısal Kinetik Model'den elde edilen parametreleri Tablo 4.8'de sunulmuştur. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, K'' değeri ($0,0167s^{-1}$) K' değerinden ($0,0123 s^{-1}$) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, R^2 değeri 0,9966'dan daha yüksektir, bu da modelin elde edilen sonuçlarla oldukça uyumlu olduğunun bir göstergesidir. Öte yandan, G' ve G'' değerleri için deformasyon yüzdeleri sırasıyla %80,70 ve %90,09 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte G' ve G'' değerleri için toparlanma yüzdeleri %100 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8 ITG'nin süreye karşı G' (elastik modül) ve G'' (viskoz modül) grafiği (0,5 w/v)

Tablo 4.8 Isırgan tohumu gamının Second Order Structural Model (İkinci Dereceden Yapısal Kinetik Model) parametreleri (0,5 w/v)

G'		G''		G'		G''	
R^2	$K' (s^{-1})$	R^2	$K'' (s^{-1})$	Deformasyon (%)	Toparlanma (%)	Deformasyon (%)	Toparlanma (%)
0,9966	0,0123	0,9975	0,0167	80,70	100	90,09	100

4.3 Nanopartikül Üretim Koşullarının Optimizasyonu

4.3.1 Süperkritik Akışkan Yöntemiyle Ekstrakte Edilen BRY'lerin Verim Miktarının Belirlenmesi

Süperkritik akışkan yöntemiyle 400 bar basınç, 40°C sıcaklık ve 60 dk süre koşullarında ekstrakte edilen BRY'nin yağ verimi %9,09 olarak belirlenmiştir. Gelmez vd. [20] tarafından yapılan bir çalışmada 442 bar, 40°C ve 48 dk'da gerçekleştirilen BR'den yağ ekstraksiyonu verimi %9 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Öte yandan, 150 bar, 40°C ve 180 dk'da gerçekleştirilen ekstraksiyonda verim %7,3 olarak bulunmuştur [260]. Yanı sıra, yapılan başka bir çalışmada 35 Mpa basınç, 50°C sıcaklık, 22,5–25 L/h akış hızı ve 60 dk ekstraksiyon şartları uygulanan BR örneklerinin yağ ekstraksiyonu verimi %10,15 olarak tespit edilmiştir [261]. Çalışmalarda elde edilen farklı ekstraksiyon verimlerinin hammadde özellikleri ve ekstraksiyon koşullarındaki farklılıklardan dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.2 OVA-ITG-KS (OIK) Nanopartiküllerinin Üretimi

Gamların emülsifiye etme kapasiteleri sadece yağ-su ara yüzünde bir filmin basit şekilde oluşumu ile ilişkili değildir. Aynı zamanda yağ damlacıklarının yakınlaşmasını ve emülsiyonun dengesizleşmesini önleyen sterik itme kuvveti ve yüksek görünür viskozite ile de ilgilidir. Bununla birlikte, birçok kez bu emülsiyonlaştırıcıların tek başına kullanılması, destabilizasyonu önlemek için yeterli değildir ve bu aşamada bir kıvamlaştırıcının kullanılması ihtiyacı duyulmaktadır [262]. Aljinat, pektin, ksantan gam ve gam kondagogu gibi anyonik polisakkaritler katyonik kitosan ile karıştırıldığında polielektrolit kompleksler oluşturmaktadırlar [263]. Bu çalışmada kullanılan ITG, KS ve OVA ile polielektrolit kompleks oluşturmıştır. Polielektrolit kompleksleşmesi temel olarak elektrostatik etkileşimle tetiklenmektedir [264]. Çözeltide karşıt yüklü polielektrolitlerin karıştırılması, kuvvetli ancak tersinir elektrostatik bağlar oluşması nedeniyle kendiliğinden birleşmelere sebep olabilmektedir. Polielektrolit kompleksinin oluşumu ve stabilitesi; elektrolitlerin konsantrasyonuna, iyonik güç, pH, interaksiyon süresi, polielektrolitlerin molekül ağırlığı, reaksiyon ortamı, karışım oranı ve karışım sırası gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [12], [124]. Tablo 4.9'da, bu çalışmada farklı pH ve kaplama materyalleri miktarları kullanılarak üretilen OIK nanopartiküllerinin zeta potansiyeli ve partikül boyutu ölçüm sonuçları yer almaktadır.

Tablo 4.9 Farklı pH ve kaplama materyalleri miktarlarına bağlı olarak elde edilen OIK nanopartiküllerinin zeta potansiyeli değerleri ve partikül boyutları

Deneme Sayısı	Faktör A: X_1	Faktör B: X_2	Faktör C: X_3	Zeta Potansiyeli (mV)	Partikül Boyutu (d.nm)
1	0	-1	1	27,42	230,73
2	1	0	1	26,05	372,87
3	-1	0	-1	35,28	295,25
4	0	1	-1	39,90	432,10
5	0	-1	-1	41,97	436,88
6	1	-1	0	42,13	325,93
7	-1	-1	0	33,93	361,07
8	0	0	0	35,43	326,00
9	0	0	0	34,10	328,17
10	1	0	-1	42,63	310,37
11	0	1	1	24,57	217,78
12	0	0	0	38,73	321,83
13	-1	1	0	26,87	321,00
14	1	1	0	34,50	243,30
15	-1	0	1	23,40	362,82

X_1 ; ITG: KS miktarı, X_2 ; OVA miktarı, X_3 -pH

Tabloda yer alan verilerden yararlanılarak maksimum tutulma etkinliğini sağlama amacıyla minimum partikül büyüklüğüne sahip olan ITG-KS, OVA oranı ve pH değeri seçilmiştir. Elde edilen bulgulara göre OVA pozitif yüklü bir elektrolit özelliği sergilemiştir. Öte yandan KS de OVA gibi pozitif bir elektrik yüküne sahiptir ve çözünür NH_3^+ oluşturan amin birimlerinden dolayı asidik koşullarda oldukça çözünürdür [265]. NH_3^+ gruplarının pozitif yükü, KS konformasyonunda ve çözücüyle olan etkileşiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum deasetilasyon derecesine, çözücünün pH'sı ve çözücünün iyonik kuvvetine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [266]. Bununla birlikte çalışma kapsamında alınan ölçümler neticesinde ITG'nin negatif bir elektrik yüküne sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.9'da sunulan zeta potansiyeli değerlerine ilişkin verilere Karesel Model uygulanmıştır. Zeta potansiyeli değerleri için Karesel Model'e ilişkin analiz varyans sonuçları Tablo 4.10'da sunulmuştur.

Tablo 4.10 Zeta potansiyeli değerleri için Karesel Modele göre analiz varyans sonuçları

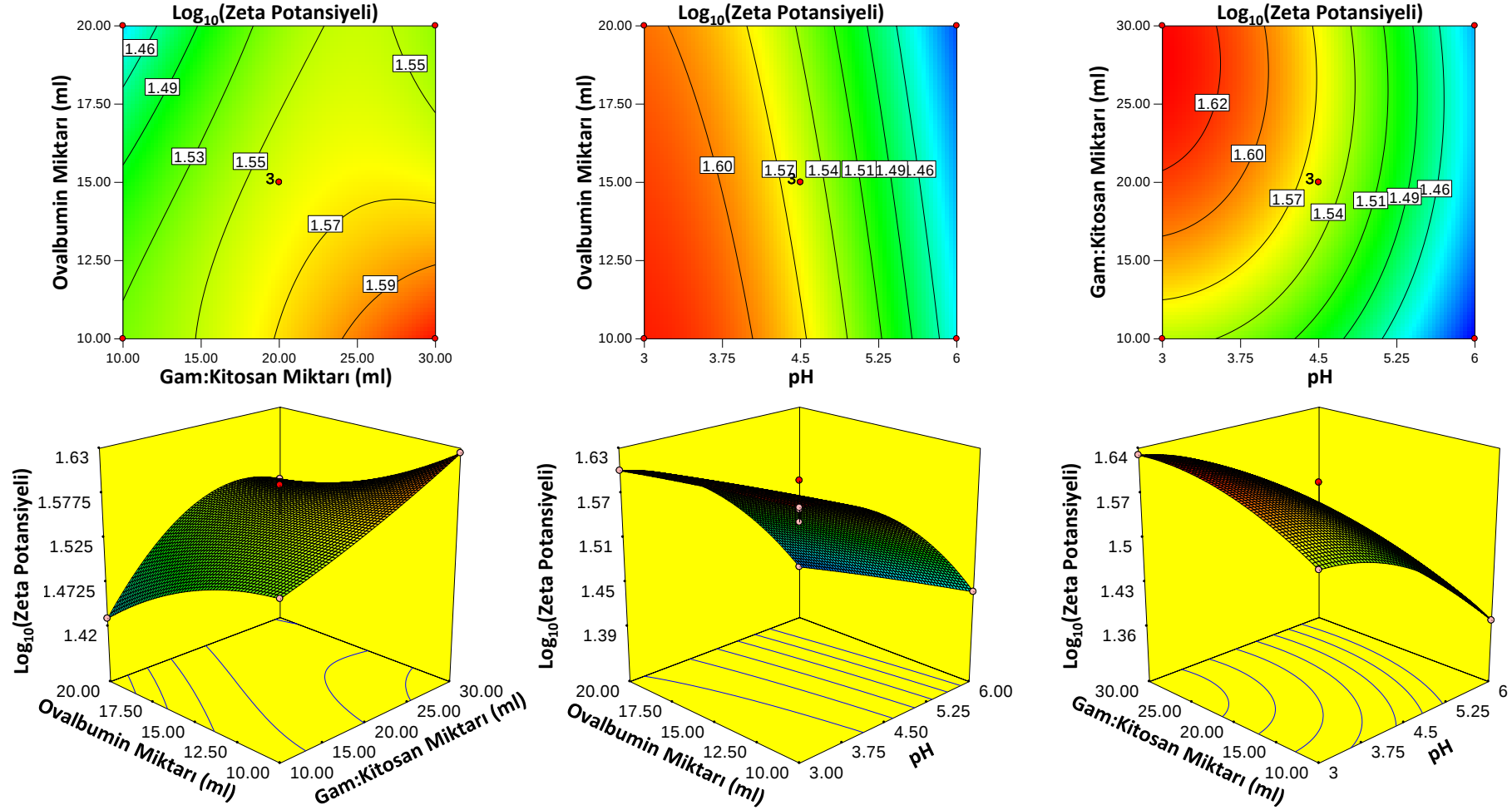
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F Değeri	<i>p</i> -değeri
Model	0,11	9	0,012	14,84	0,0042
X ₁ -ITG:KS Miktarı	0,014	1	0,014	16,93	0,0092
X ₂ -OVA Miktarı	8,309E-003	1	8,309E-003	10,25	0,0240
X ₃ -pH	0,078	1	0,078	95,71	0,0002
X ₁ X ₂	5,333E-005	1	5,333E-005	0,07	0,8078
X ₁ X ₃	3,166E-004	1	3,166E-004	0,39	0,5594
X ₂ X ₃	1,656E-004	1	1,656E-004	0,20	0,6702
X ₁ ²	2,185E-003	1	2,185E-003	2,70	0,1616
X ₂ ²	1,267E-005	1	1,267E-005	0,02	0,9054
X ₃ ²	6,463E-003	1	6,463E-003	7,97	0,0369
Residual (Kalıntı)	4,053E-003	5	8,106E-004		
Lack of Fit (Uyum Eksikliği)	2,442E-003	3	8,138E-004	1,01	0,5325
Pure Error (Hata)	1,612E-003	2	8,058E-004		
Cor Total (Düzeltiilmiş Toplam)	0,11	14			

Tablo 4.10'a göre Karesel Model'in *F* değerinin 14,84 ve *Prob>F* değerinin ise 0,05'ten küçük olması, uygulanan modelin önemli olduğunun bir göstergesidir. Uygulanan karesel modele göre *R*² değeri 0,9639 (*p*<0,01) olarak tespit edilmiştir. Box-Behnken deneme dizaynından elde edilen varyans analiz tablosunda yer alan *p* değerlerine göre zeta potansiyeli zerine ITG:KS miktarı, OVA miktarı ve pH'nın etkili olduğu tespit edilmiştir. Edinilen verilere göre 0,05 önem seviyesinde ITG:KS miktarı (X₁), OVA miktarı (X₂), pH değeri (X₃) ve pH'nın quadratik etkisi (X₃²) nemli bulunmuştur. Bu bulgulardan, ITG:KS miktarı, OVA miktarı ve pH değerinin hem partikül boyutunu hem de zeta potansiyeli değerini istatistiksel olarak etkilediği sonucuna varılmıştır. Karesel model yoluyla elde edilen denklem (4.2) aşağıda yer almaktadır. Denklemden X₁, %1'lik ITG: KS miktarını (mL); X₂, %1'lik OVA miktarını (mL) ve X₃, pH değerini

ifade etmektedir.

$$\begin{aligned} \text{Log}_{10}(\text{ZetaPotansiyeli}) = & + 1,29 + 0,015 \cdot X_1 - 1,82246E^{-003} \cdot X_2 + \\ & 0,13 \cdot X_3 + 7,30301E^{-005} \cdot X_1 \cdot X_2 - \\ & 5,93130E^{-004} \cdot X_1 \cdot X_3 - 8,57895E^{-004} \cdot X_2 \cdot X_3 - \\ & 2,43265E^{-004} \cdot X_1^2 - 7,41034E^{-005} \cdot X_2^2 - 0,018595 \cdot X_3^2 \end{aligned} \quad (4.2)$$

Elde edilen zeta potansiyeli değerleri kullanılarak kontur ve 3 boyutlu grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.9). 1. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre ITG:KS miktarı sabitken OVA miktarındaki artış zeta potansiyeli değerini bir miktar azaltmıştır. OVA sabitken ITG:KS artışı zeta potansiyeli değerini artırmıştır. Özellikle OVA miktarı düşükse zeta potansiyeli değerini çok artırdığı, yüksekse bu değere pek te etki etmediği tespit edilmiştir. Öte yandan, 2. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre OVA sabitken pH artışı zeta potansiyeli değerini azaltmıştır. pH sabitken OVA artışı zeta potansiyeli değerini çok az azalttığı tespit edilmiştir. Yanı sıra, 3. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre ITG:KS miktarı sabitken pH artışı zeta potansiyeli değerini azaltmıştır. pH sabitken ITG:KS miktarı artışı ise zeta potansiyeli değerini artırmıştır. Özellikle pH düşükken artışın daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9 Farklı kaplama materyali oranları ve pH değerlerine bağlı olarak nanopartiküllerin zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarının kontur ve üç boyutlu grafik çizimleri ile gösterimi

Partikül boyutu ölçüm sonuçlarına kübik model uygulanmış ve model 0,01 anlam düzeyinde önemli bulunmuştur. $R^2=0,9997$ olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.11). Tablo 4.11'e göre Kübik Model'in F değerinin 491,90 ve $Prob>F$ değerinin ise 0,05'ten küçük olması uygulanan modelin önemli olduğunu göstermektedir. Box-Behnken deneme dizaynından elde edilen varyans analiz tablosundaki p değerlerine göre partikül boyutu değerleri üzerine en etkili faktörün pH olduğu belirlenmiştir. Bulgulara göre 0,05 önem seviyesinde pH (X_3), ITG:KS miktarı ve OVA miktarının interaksiyonu (X_1X_2), OVA miktarının kuadratik etkisi (X_2^2), ITG:KS miktarının kuadratik etkisi ile OVA miktarının interaksiyonu ($X_1^2X_2$), ITG:KS miktarının kuadratik etkisi ile pH'nın interaksiyonu ($X_1^2X_3$) ve ITG: KS miktarı ile OVA miktarının kuadratik etkisinin interaksiyonu ($X_3X_2^2$) önemli bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, minumum ve maksimum boyut değerleri sırasıyla 230,73 ve 436,88 nm'dir.

Tablo 4.11 Partikül boyutu değerleri için Kübik Modele göre analiz varyans sonuçları

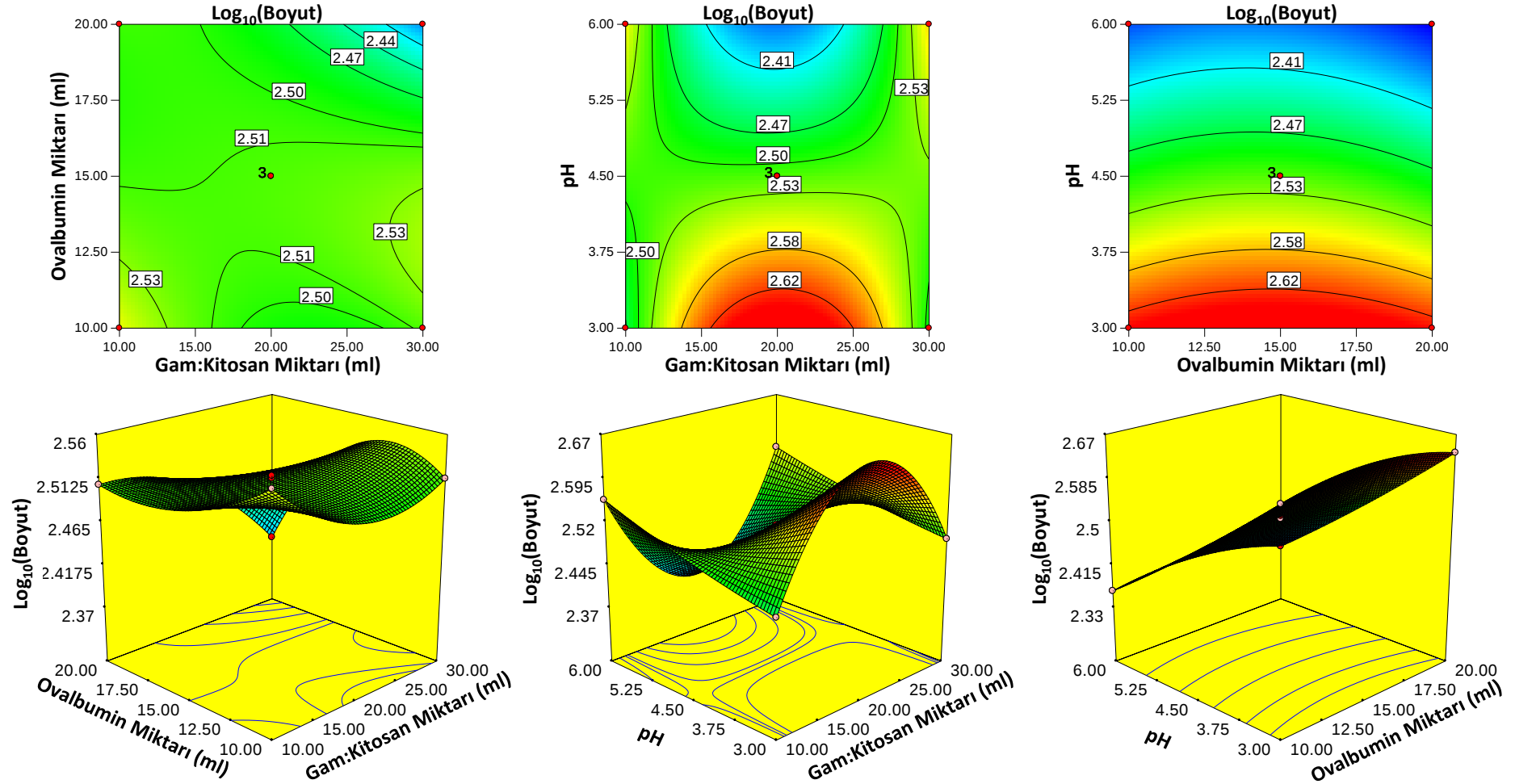
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F Değeri	p değeri
Model	0,11	12	9,110E-003	491,90	0,0020
X_1 - ITG: KS Miktarı	2,814E-004	1	2,814E-004	15,19	0,0600
X_2 -OVA Miktarı	2,230E-004	1	2,230E-004	12,04	0,0739
X_3 -pH	0,083	1	0,083	4460,40	0,0002
X_1X_2	1,440E-003	1	1,440E-003	77,78	0,0126
X_1X_3	2,412E-005	1	2,412E-005	1,30	0,3720
X_2X_3	1,033E-004	1	1,033E-004	5,58	0,1421
X_1^2	5,314E-005	1	5,314E-005	2,87	0,2324
X_2^2	2,357E-003	1	2,357E-003	127,29	0,0078
X_3^2	1,924E-004	1	1,924E-004	10,39	0,0843
$X_1X_2X_3$	0,000	0			
$X_1^2X_2$	2,745E-003	1	2,745E-003	148,25	0,0067
$X_1^2X_3$	0,069	1	0,069	3736,17	0,0003
$X_1X_2^2$	4,919E-003	1	4,919E-003	265,60	0,0037
$X_1X_3^2$	0,000	0			
$X_2^2X_3$	0,000	0			
$X_2X_3^2$	0,000	0			
X_1^3	0,000	0			
X_2^3	0,000	0			
X_3^3	0,000	0			
Pure Error (Hata)	3,704E-005	2	1,852E-005		
Düzeltilmiş Toplam	0,11	14			

Kübik modelden elde edilen denklem (4.3) aşağıda yer almaktadır:

$$\begin{aligned} \text{Log}_{10}(\text{Partikül boyutu}) = & + 2,51 + 8,387E^{-003} \cdot X_1 - 7,467E^{-003} \cdot X_2 - \\ & 0,14 \cdot X_3 - 0,019 \cdot X_1 \cdot X_2 - \\ & 2,456E^{-003} \cdot X_1 \cdot X_3 - 5,081E^{-003} \cdot X_2 \cdot X_3 + \\ & 3,794E^{-003} \cdot X_1^2 - 0,025 \cdot X_2^2 + \\ & 7,219E^{-003} \cdot X_3^2 - 0,037 \cdot X_1^2 \cdot X_2 + \\ & 0,19 \cdot X_1^2 \cdot X_3 - 0,050 \cdot X_1 \cdot X_2^2 \end{aligned} \quad (4.3)$$

Denklemde X_1 , %1'lik ısırgan tohumu gamı (ITG): kitosan miktarını (KS) (mL); X_2 , %1'lik ovalbumin miktarını (OVA) (mL); X_3 , pH değerini ifade etmektedir.

Elde edilen partikül boyutu değerleri kullanılarak kontur ve 3 boyutlu grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.10). 1. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre OVA sabitken ITG:KS miktarındaki artışın boyut değeri üzerine genel olarak pek bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. OVA miktarı 19-20 mL arasında sabitken ITG:KS miktarındaki artış partikül boyutu değerini küçültmüştür. Bununla birlikte 2. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre pH düşüken ITG:KS artışı bir noktaya kadar partikül boyutu değerini artırıp ardından düşürdüğü belirlenmiştir. pH yüksekken ITG:KS miktarındaki artış önce boyutu düşürdüğü sonra ise artırdığı tespit edilmiştir. Öte yandan, 3. kontür ve 3 boyutlu grafiğe göre OVA sabitken pH artışının boyut değerini azalttığı belirlenmiştir. Eğer ortamın pH'sı düşük değerlerde sabitse genel olarak partikül boyutu değerleri yüksek seviyede kalmakla birlikte, ortam pH'sının yükselmesinin partikül boyutu değerini azalttığı belirlenmiştir. Emülgatörler yağ su ara yüzeyinde hidrojen bağlanması yoluyla adsorbe edilebilirler. Böylelikle damlacıkların birleşmesine karşı ara yüzey gerilimini azaltabilirler. Emülgatörler, damlacıkların emilimine bağlı olarak, damlacıklar arasında sterik itme oluşturmaktadırlar [267]. Yani, emülsiyonlaştırıcılar, damlacıkların çevresinde koruyucu bir bariyer oluşturarak, BRY ve su fazının ayrılmasını engellemektedirler.



Şekil 4.10 Farklı kaplama materyali oranları ve pH değerlerine bağlı olarak nanopartiküllerin partikül boyutu ölçüm sonuçlarının kontur ve üç boyutlu grafik çizimleri ile gösterimi

Çok katmanlı protein-polisakkarit kompleksleri tarafından çevrelenen emülsiyondaki damlacıklar, çevre stresine karşı sadece protein tarafından çevrilenlere göre daha dirençlidirler. Benzer şekilde, polisakkarit ve iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin kombinasyonunun çevre stresine karşı daha dirençli olabileceği sonucuna da varılabilir. Bu bulgular, damlacıkları çevreleyen protein-polisakkarit komplekslerin ve emülsiyonların yüksek viskozitesiyle açıklanabilmektedir [268].

Optimizasyon neticesinde diğer tüm aralıklar in range seçilip zeta potansiyeli değerleri maksimum, partikül boyutu değerleri minimum tutularak kaplama materyalinin üretim koşulları belirlenmiştir. Bu aşamada Design Expert (Stat-Ease Inc. Version 7.0, Minneapolis, ABD) programının software'inden yararlanılmıştır. ITG:KS miktarı:30mL, ovalbumin miktarı:20mL ve pH:3'te maksimum zeta potansiyeli ve minimum boyut değerlerinin elde edileceği belirlenmiştir.

4.3.3 Optimum Koşullarda Üretilen Ruşeym Yağı Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

4.3.3.1 OIK Kompleksi ve BRYN'nin Zeta Potansiyeli ve Partikül Boyutu

Zeta Potansiyeli, elektrostatik stabiliteyi ifade etmektedir ve çoğunlukla dispersiyon kararlılığının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, zeta potansiyel ölçümleri, flokülasyon ve koalesans oluşumları hakkında da bilgi vermektedir. Çünkü emülsiyon kararlılığı ara yüzey elektrik yüklerinden etkilenebilmektedir. Bir damlacığın etkin yükü, çözeltide karşıt iyonların varlığı nedeniyle gerçek yükünden farklılık göstermektedir [45]. Wongsagonsup vd. [269]'ye göre; zeta potansiyeli, kolloidal sistemlerin potansiyel stabilitesini göstermektedir. Zeta potansiyeli değerleri +30 mV'un üstünde ya da -30 mV'un altında olan emülsiyonlar kararlıdır [270]. Zeta potansiyeli değerleri dispersiyonlar, emülsiyonlar veya süspansiyonlarda kararlı formülasyonların geliştirilmesi süreci ve örneklerdeki agregasyon ve topaklaşma hakkında bilgi sunmaktadır. +30 mV'den daha pozitif veya -30 mV'den daha negatif olan partiküllerin koalesans ve flokülasyona karşı kararlı olduğu bilinmektedir [271].

Tablo 4.12'de OIK Kompleksi ve BRYN'nin zeta potansiyeli değerleri yer almaktadır. Zeta potansiyeli değerleri OIK Kompleksi için 37,40 mV, BRYN için 39,30 mV olarak tespit edilmiştir. Tek yönlü varyans analizine göre OIK kompleksine BRY yüklenmesiyle birlikte ölçülen zeta potansiyeli değerlerinde anlamlı istatistiksel bir fark oluşmuştur ($p<0,05$).

Elde edilen bulgulara göre kaplama materyaline BRY ilavesiyle zeta potansiyeli değerinde artış meydana gelmiştir. Bu durum literatürde, kaplama materyalinde yağın enkapsülasyonu ile birlikte ince bir zar oluşturabileceği ile yorumlanmıştır. Belirtilen

bu ince zar damlacıklar arasındaki elektrostatik ve sterik itme kuvvetini daha güçlü hale getirmektedir [80].

Tablo 4.12 OIK Kompleksi ve BRYN'nin zeta potansiyeli değerleri

Örnek İsmi	Zeta Potansiyeli (mV)	Hareketlilik ($\mu\text{mcm/Vs}$)	İletkenlik (mS/cm)
OIK Kompleksi	$37,47^b \pm 0,55$	$2,94^b \pm 0,04$	$1,56^a \pm 0,06$
BRYN	$39,30^a \pm 0,75$	$3,08^a \pm 0,06$	$1,58^a \pm 0,03$

OIK: OVA-ITG-KS kompleksi; BRYN: BRY yüklenmiş nanopartiküller; Sütunlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

Partikül boyutu, emülsiyonların dinamik stabilitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Partikül boyutu, emülsiyon bileşenlerinin fizikokimyasal özelliklerinden ve işlem koşullarından etkilenmektedir [173]. Emülsiyonlar, farklı boyut sınıflarındaki damlacıkların konsantrasyonunu tanımlayan “polidispersite indeksi”; “PDI” ile karakterize edilmektedir. Düşük PDI değerleri, yüksek kinetik kararlılığa sahip tek dağılımlı emülsiyonların bir göstergesidir. Öte yandan; yüksek PDI değerleri, düşük kararlılık ve geniş bir boyut dağılımı ile çok dağılımlı emülsiyonları ifade etmektedir [51]. Genel olarak, 0,25'in altındaki PDI değerlerinde, Ostwald olgunlaşmasının (çökelti büyümesi) azalması nedeniyle, nanoemülsiyonlara karşı iyi fiziksel stabilite gösterildiği ifade edilmektedir [272], [273]. Buna karşılık, 1'e yakın değerler, fiziksel istikrarı olumsuz etkileyebilen heterojen veya çok modlu partikül boyutu dağılımını belirtmektedir [274]. Ortalama partikül çapı emülsiyonun türü (mikroemülsiyon, nanoemülsiyon veya makroemülsiyon), görünümü ve karakteristikleri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, yer çekiminin etkisiyle yüksek damlacık çapına sahip emülsiyonların daha kolay bir şekilde ayrıldıkları ve kremleşmeye daha yatkın oldukları tespit edilmiştir [275].

Tablo 4.13'te OIK Kompleksi ve BRYN'nin partikül büyüklüğü dağılımı ve partikül boyutu değerleri yer almaktadır. PDI değerleri, OIK kompleksi için 0,44; BRYN için 0,50 olarak ölçülmüştür. Tek yönlü varyans analizine göre OIK kompleksi ve BRYN'nin PDI değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan, partikül boyutu değerleri OIK Kompleksi için 247,70 nm iken BRYN için 188,63 nm olarak tespit edilmiş ve bahsedilen değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.13 OIK Kompleksi ve BRYN'nin partikül boyutu değerleri

Örnek İsmi	Z-Average (d.nm)	PDI	Partikül Boyutu (d.nm)
OIK	390,10 ^b	0,44 ^b	247,70 ^a ± 1,11
BRYN	486,80 ^a	0,50 ^a	188,63 ^b ± 2,87

OIK: Ovalbumin-ITG-kitosan kompleksi; BRYN: Ruşeym yağı yüklenmiş nanopartiküller; PDI: Polidispersite indeksi; Sütunlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

Yapılan bir çalışmada EPA / DHA'nın sodyum kazeinat (0,1 g/100 mL)-gam arabik (0,2 g/100 mL) ile nanoenkapsülasyonu sonucunda partikül boyutu 232,3 nm olarak belirlenmiştir [276]. Diğer bir çalışmada ise keten tohumu yağının (1,25 mg/mL) chia musilajı (0,1 g/100 mL) ile nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve üretilen nanopartiküllerin süspansiyon içerisinde ölçülen partikül boyutu değerleri 356 nm olarak tespit edilmiştir [190]. Boyut değerlerinde meydana gelen bu değişimlerin kullanılan emülgatör tipi, polisakkarit konsantrasyonu, karıştırma oranı ve duvar malzemesinin türü gibi değişkenlerden dolayı meydana geldiği belirtilmiştir [277].

Tablo 4.13 incelendiğinde OIK kompleksine BRY'nin kapsüllenmesiyle birlikte PDI değerleri artarken partikül büyüklüğü değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada balık yağı ve sarımsak uçucu yağının farklı oranlarda (1:1, 2:1 ve 1:2) persian (iran) gamı-KS ile nanoenkapsülasyonu sonucunda PDI değerlerinde artış meydana gelirken oluşturulan nanokapsüllerin PDI değerleri 0,385-0,453 aralığında ölçülmüştür. Ölçülen bu değerler çalışmamızda elde edilen sonuçlara yakın olmakla birlikte bahsedilen bu çalışma kapsamında elde edilen PDI değerlerinin gıda ve ilaç sanayinde yeni sistemlerin oluşturulması için uygun aralıkta olduğu belirtilmiştir [278].

4.3.3.2 Enkapsülasyon Etkinliği (EE)

Enkapsülasyon etkinliği (EE); birim kapsül içerisine yüklenen yağ miktarı olarak ifade edilmektedir [173]. Yüksek EE değeri yağın matris içinde yeterince kapsüllendiğini göstermekle birlikte bu durum depolama sırasında oksidasyona karşı yağın stabilitesini de artırmaktadır. Kapsüllenmiş bileşiğin özellikleri, duvar malzemesi bileşimi, partikül boyutu dağılımı ve mikropartiküllere uygulanan kurutma koşulları gibi faktörler EE değerini etkilemektedir [279]. Tablo 4.14'te, optimum koşullarda hazırlanan OIK kompleksine farklı oranda BRY ilavesi sonucunda elde edilen yüzde EE değerleri verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre yüzde EE değerleri %48,66-%71,91 arasında değişiklik göstermektedir. Yüzde EE değerleri arasındaki farklar tek yönlü varyans

analizine göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.14 %2,5, 3, 3,5, 4 ve 4,5 oranında BRY ilavesinin EE (%)’ye etkisi

İlave edilen BRY (%)	EE (%)
2,5	48,66 ^e ± 0,03
3	54,00 ^d ± 0,10
3,5	63,50 ^c ± 0,10
4	71,91 ^a ± 0,30
4,5	67,50 ^b ± 0,03

EE: Enkapsülasyon etkinliği; BRY:Buğday ruşeym yağı; Sütunlarda yer alan farklı harfler Student’s t-testi’ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

Elde edilen bulgulara göre %4 oranına kadar artan BRY ilavesi, EE’de artış meydana getirirken BRY oranının %4,5’e çıkarılması EE değerinde bir azalmaya yol açmıştır. Çekirdek malzemesinde daha fazla artış ile EE’de meydana gelen azalmanın sebebinin, kaplama materyalinin çekirdek malzemesinin etrafını sarmak için yeterli düzeyde olmaması olarak ifade edilmektedir [279]. Bu çalışmada elde edilen bulgular literatürde yer alan çalışmalarla kıyaslandığında, %1 konsantrasyonda hazırlanan yer fıstığı (%11,76), ceviz (%12,82) ve fındık yağından (%14,70) daha yüksek EE değeri elde edildiği belirlenmiştir [280]. Öte yandan yapılan başka bir çalışmada, balık yağı maltodekstrin ve metilselüloz kullanılarak enkapsüle edilmiş ve %41-43,2 arasında EE elde edilmiştir [281]. Diğer bir çalışmada ise adaçayı (*Salvia hispanica*) yağı gam arabik ve peynir altı suyu tozu ile enkapsüle edilmiş ve %EE değeri %70 olarak belirlenmiştir [282]. Belirtilen çalışma ile çalışmamızda elde edilen %EE değerleri hemen hemen benzerlik göstermektedir Düşük kapsülleme verimi, ekonomik sebeplerden dolayı tercih edilmemektedir. Aynı zamanda, dışta kalan yağ, kapsüllenmiş yağdan daha hızlı yükseltgendiğinden dolayı ürünün kabul edilebilirliğini de etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada muhtemel bir strateji olarak kapsülasyondan sonra, kapsülleme işleminden sonra yağın uzaklaştırılmasıyla bu problemin önüne geçilebileceği ifade edilmiştir [58].

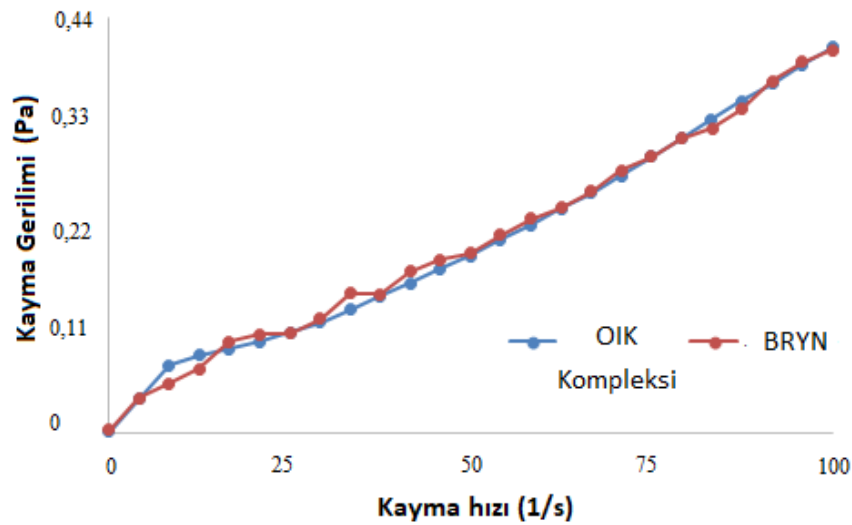
4.3.3.3 Emülsiyon Stabilitesi

Stabil sıvı emülsiyonların oluşturulması liyofilize nanopartiküllerin üretimindeki en önemli aşamadır. KS, glikozamin bakımından zengin hidrofilik zonlara ve yağ/su arayüzlerinde adsorbe olmasını sağlayan N-asetil-glukozamin bakımından zayıf hidrofobik bölgelere sahip olan katyonik bir polisakkarittir [283]. Bu çalışmada

elde edilen bulgulara göre KS, ITG ve OVA, hiçbir görünür faz ayrımı olmaksızın BRY ile stabil emülsiyonlar oluşturmuştur. KS, ITG ve OVA arasındaki etkileşim sonucu yağ/su arayüzeyinde bu materyallerin birlikte adsorbe olmalarından dolayı ara yüzey elektrostatik stabilitesinin arttığı ve daha yüksek bir emülsiyon kararlılığının olduğu düşünülmektedir [284]. Bu durumun enkapsülantların hidrofobik yağ fazı ve hidrofilik ITG-KS-OVA fazı arasında kurulan köprülerden ve yağ fazının kabuk tarafından sıkıca tutulmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir araştırmada KS'nin kararlı emülsiyon oluşumunda tek başına yetersiz olduğu, diğer çeşitli polimerlerle karıştırıldığında bileşenlere karşı daha kararlı bir yapı sergilediği ifade edilmiştir [283].

4.3.3.4 OIK Kompleksi ve BRYN'nin Akış Davranış Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

OIK Kompleksi ve BRYN çözeltilerinin akış davranış reolojik özelliklerine ilişkin elde edilen reogram Şekil 4.11'de sunulmuştur. Reogram sonuçlarına göre artan kesme hızına karşı kesme geriliminin doğrusal bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Bunun sonucunda örneklerin Newton akış sergilediği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.11 OIK Kompleksi ve BRYN'nin akış davranış reolojik özelliklerine ilişkin reogram

Newton model yardımıyla örneklerin R^2 (determinasyon katsayısı) ve K (kıvam katsayısı) değerleri belirlenmiş ve elde edilen veriler Tablo 4.15'te sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre R^2 değeri OIK Kompleksi için 0,9898; BRYN için 0,9906 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan R^2 değerinin yüksek olması OIK Kompleksi ve BRYN örneklerinin Newton model ile başarıyla modellenilebileceğini ifade etmektedir. Ayrıca kıvam katsayısı değerleri sırasıyla OIK Kompleksi ve BRYN için 0,0040 ve 0,0038 Pa.s

olarak bulunmuştur. Tek yönlü varyans analizine göre OIK kompleksi ve BRYN için hesaplanan kıvam katsayısı değerlerinde istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.15 Newton modele göre hesaplanan determinasyon katsayısı ve kıvam katsayısı değerleri

Örnek İsmi	R^2	K (Pa.s)
OIK Kompleksi	0,9898	0,0040 ^a ± 0.01
BRYN	0,9906	0,0038 ^a ± 0.01

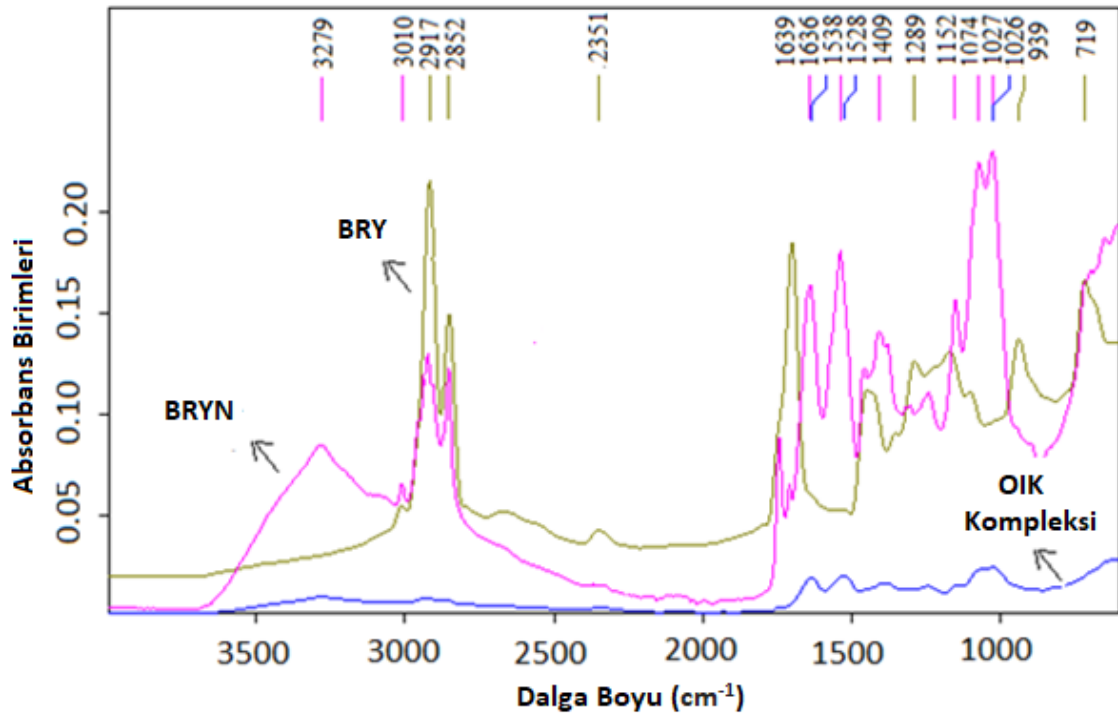
OIK: OVA-ITG-KS kompleksi; BRYN: Ruşeym yağı yüklenmiş nanopartiküller; Sütunlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen reolojik analizler neticesinde ITG'nin Newton olmayan akış özelliği sergilediği belirlenmişti. Bununla birlikte literatürde yapılan araştırmalarda da KS ve OVA'nın Newton olmayan özellik sergilediği raporlanmıştır. Ancak OIK kompleksi ve BRYN'nin üretimi sonrasında örneklerin Newton olmayan akış özelliği yerine Newton tipi akış özelliği gösterdiği tespit edilmiştir. Muhtemelen bu durum nanopartikül üretimi sırasında uygulanan güçlü kesme işleminden (ultra turaks ile homojenizasyon ve ultrasonik işlemci ile ultrasonikasyon) kaynaklanmaktadır. Uygulanan bu işlemler sırasında nanopartiküldeki bağların yıkım oranı bağların oluşum oranından daha fazla olması nedeniyle OIK kompleksi ve BRYN'nin Newton özellik göstermiş olabileceği düşünülmektedir [258].

4.3.3.5 BRY, OIK Kompleksi ve BRYN'nin FT-IR Spektrumları

BRY, OIK Kompleksi ve BRYN'nin FT-IR spektrumları Şekil 4.12'de yer almaktadır. 2852-2921 cm^{-1} 'deki bantlar CH_2 alifatik fonksiyonel grupların simetrik ve asimetrik uzama titreşimleri ile ilişkilidir. 2918 cm^{-1} 'deki bant, CH bağlarının gerilmesine karşılık gelirken, ~1538 cm^{-1} (Amid II) bandı, küresel agregatlardaki protein kalıntılarındaki değişiklikten kaynaklanmaktadır [285]. ~1420 cm^{-1} 'deki bant, karboksilik üronik asit grubunun gerilmeleri ifade etmektedir [173]. Ek olarak, ~719 cm^{-1} 'deki bant, yediden fazla karbon atomuna sahip zincirlerin CH_2 bükülme titreşimi ile ilişkilidir [173]. Gerçekleştirilen FT-IR analizi, amino ve karboksil gruplarıyla ilişkili piklerde bazı pik değişikliklerinin meydana geldiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular KS, ITG ve OVA arasında iyonik etkileşimin meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca, titreşim absorpsiyonları ve birbiri içine geçen bantlar,

nanokapsülleme işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini ortaya koymaktadır [190].



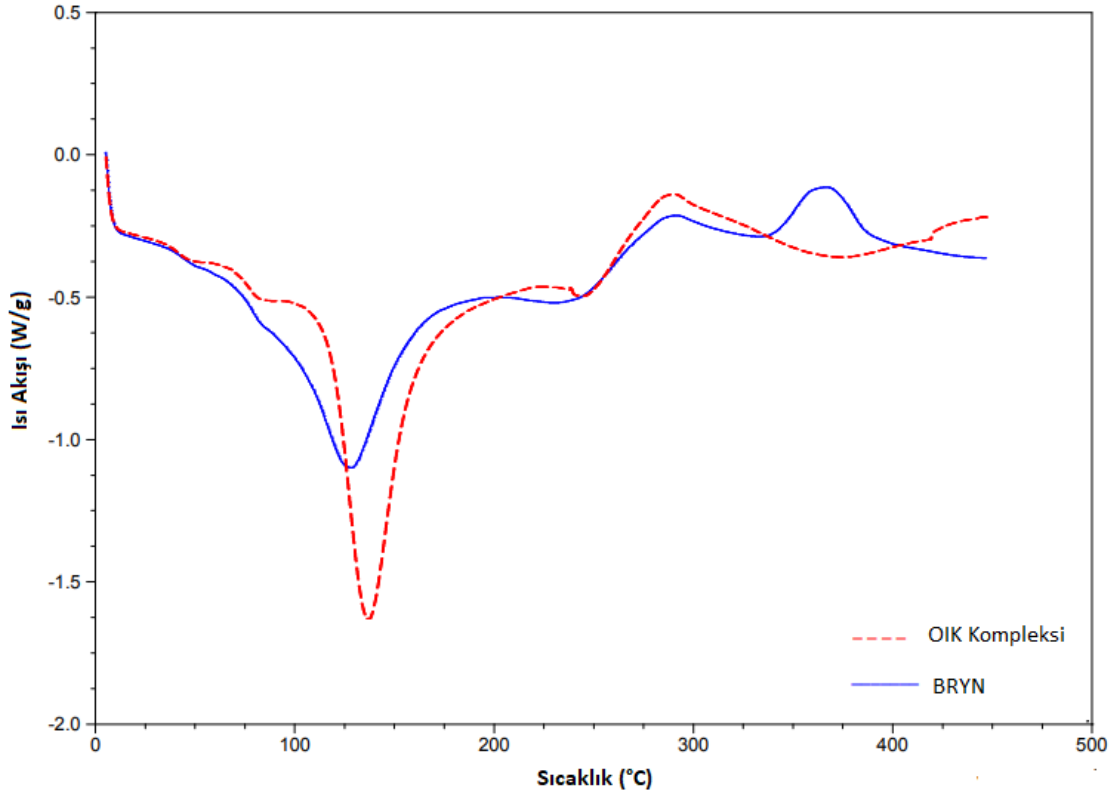
Şekil 4.12 BRY, OIK Kompleksi ve BRYN'nin FT-IR spektrumları

4.3.3.6 OIK Kompleksi ve BRYN'nin DSC Termogramları

Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile elde edilen termal özellikler, OIK Kompleksi ve BRYN için Şekil 4.13'te sunulmuştur.

Bünyesinde bulunan serbest sudan dolayı meydana gelen endotermik pikler OIK Kompleksi için 136,29°C'de ve BRYN için 129,50°C'de tespit edilmiştir. OIK Kompleksinin pik değerinin BRYN'den yüksek çıkması, muhtemelen, OIK'in hidrofilik karakter sergilemesinden dolayı hidrojen bağları nedeniyle polimerik yapıda çok az su biriktirmesinden ve nem kaybı için daha yüksek sıcaklık gerektirmesinden kaynaklanmaktadır [286]. Öte yandan, polisakkarit yapısının degradasyonundan kaynaklı ekzotermik pikler, OIK Kompleksi için 289,11°C'de ve BRYN için 290,59°C'de meydana gelmiştir. Ayrıca, BRYN için 366,58°C'de ikinci ekzotermik pik te gözlenmiştir. Bu pik muhtemelen yeni kimyasal bağların neden olduğu polielektrolitlerin kompleksleşmesiyle ilgilidir [287].

Rao vd. [288] yaptıkları bir çalışmada 81,26°C'de OVA için keskin bir endotermik pikin gözlemlendiğini bildirmiştir. Ayrıca, yüksek moleküler ağırlıklı KS için 297°C'de geniş ekzotermik bir pikin oluştuğu rapor edilmiştir [289]. Öte yandan, çalışmamız

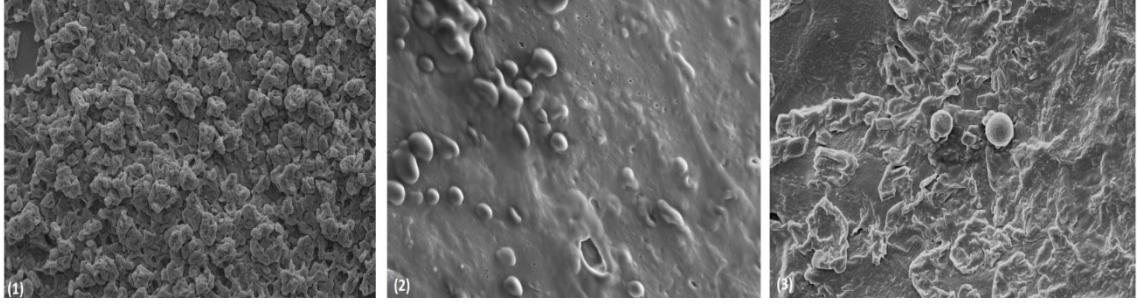


Şekil 4.13 OIK Kompleksi ve BRYN'nin DSC termogramları

kapsamında ITG'nin 115,66°C'de endotermik pikinin ve 266,04°C'de ekzotermik pikinin gözlemlendiği belirlenmiştir (Şekil 4,4). Bu sonuçlardan, OIK Kompleksi ve BRYN'lerin üretimi ile OVA, ITG ve KS'nin bireysel termal özelliklerinde değişimler meydana geldiği anlaşılmaktadır. OVA'nın denatürasyon sıcaklığı, KS ve ITG'den oldukça düşüktür. Bu bulgular, OVA'nın denatürasyon sıcaklığının KS ve ITG ilavesiyle arttırılabileceğini de göstermiştir.

4.3.3.7 SEM Görüntüleri

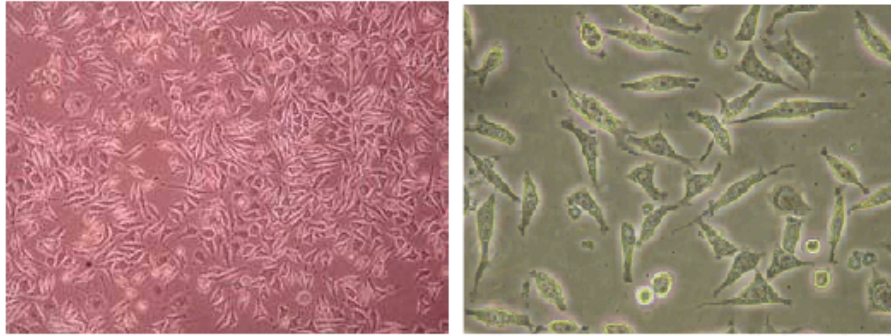
Dayanıklı bir partikül morfolojisi, BRY'nin oksijen varlığında oksidasyondan korunması için oldukça önemlidir [290]. Yıkılmış ve yıkanmamış BRY yüklü ve BRY içermeyen nanopartikülleri ile OIK kompleksinin SEM görüntüleri Şekil 4.14'te verilmiştir. Yağ ilave edilmeden önce, tüm kaplama malzemesinin yüzeyi pürüzsüzdür. Ayrıca, yıkanmamış BRY yüklü ve BRY içermeyen nanoparçacıkların yüzeyi küreseldir. Bununla birlikte, BRY yüklü nanopartiküllerin hekzanla yıkanması sonucunda BRYN yüzeyinde çatlaklar ve kırıklar oluşmuştur. Yani yıkama işlemi, buruşuk bir yüzeyin oluşmasına ve dalgalanmasına neden olmuştur. Bu şekilde, yıkanmış nanopartiküllerin yüzeyinde çok daha büyük kapsüllenmemiş yağlar meydana gelmiştir [60].



Şekil 4.14 OIK Kompleksi (1), yıkanmamış BRYN (2) ve yıkanmış BRYN (3)'nin SEM mikrografı

4.3.3.8 Sitotoksosite

Bu çalışmada; kapsül ve çekirdek malzemeleri olarak kullanılan BRY, OVA, ITG ve KS'nin yanı sıra OIK ve BRYN'nin L929 fare deri fibroblast hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Hücrelerin muamele öncesi flasklardaki gelişimi, faz kontrast mikroskobu ile gözlenmiştir. Fibroblast hücrelerinin faz kontrast mikroskobu görüntüsü, Şekil 4.15'te yer almaktadır. Resimdeki görüntülerde sol tarafta yer alan görüntüde 40x, sağ taraftaki görüntüde ise 100x büyütme oranı kullanılmıştır.



Şekil 4.15 Fibroblast hücrelerinin faz kontrast mikroskobu görüntüsü

Tablo 4.16'da MTT analizi sonucunda OVA, KS, ITG, BRY, OIK Kompleksi ve BRYN uygulanan hücrelerin canlılıklarının konsantrasyona (0-10 mg/mL) bağlı olarak OVA için %96,44-99,87; ITG için %96,11-99,77; KS için %95,92-98,57; OIK kompleksi için %97,02-99,71; BRYN için %95,01-99,61 ve BRY için %87,14-99,03 arasında değiştiği görülmektedir. Genel olarak konsantrasyon arttıkça canlılık miktarında azalma meydana gelmiştir.

Tablo 4.16 Farklı konsantrasyonlardaki OVA, ITG, KS, OIK Kompleksi, BRYN ve BRY'nin L929 fare fibroblast hücre hattının canlılık üzerine etkisi

Konsantrasyon (mg/mL)	Hücre Canlılığı (%)					
	OVA	ITG	KS	OIK Kompleksi	BRYN	BRY
0,5	99,87 ^a ± 0,01	99,77 ^a ± 0,01	98,57 ^a ± 0,02	99,71 ^a ± 0,01	99,61 ^a ± 0,01	99,03 ^a ± 0,01
1	99,35 ^{ab} ± 0,01	99,74 ^a ± 0,01	98,19 ^a ± 0,01	99,68 ^a ± 0,01	98,67 ^b ± 0,01	97,57 ^b ± 0,01
2	98,90 ^{ab} ± 0,01	98,96 ^b ± 0,01	96,18 ^b ± 0,02	99,38 ^a ± 0,01	96,08 ^{cd} ± 0,01	94,95 ^c ± 0,01
4	98,77 ^b ± 0,01	96,11 ^e ± 0,01	96,31 ^b ± 0,01	98,38 ^b ± 0,02	95,46 ^{de} ± 0,01	92,74 ^d ± 0,01
6	96,89 ^c ± 0,01	97,54 ^c ± 0,01	95,92 ^b ± 0,01	97,21 ^c ± 0,01	96,11 ^c ± 0,01	91,38 ^e ± 0,01
8	98,96 ^{ab} ± 0,02	97,02 ^d ± 0,01	96,05 ^b ± 0,03	97,08 ^c ± 0,01	95,01 ^e ± 0,01	88,89 ^f ± 0,01
10	96,44 ^c ± 0,01	96,82 ^d ± 0,01	96,44 ^b ± 0,02	97,02 ^c ± 0,01	95,27 ^e ± 0,01	87,14 ^g ± 0,01

OVA: Ovalbumin; ITG: Isırgan tohumu gamı; KS: Kitosan; OIK: Ovalbumin-ITG-kitosan kompleksi; BRYN: Ruşeym yağı yüklenmiş nanopartiküller; BRY: Buğday ruşeym yağı; Sütunlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

Tablodaki sonuçlar incelendiğinde OVA konsantrasyonunun %1'den %2' ye artışıyla birlikte hücre canlılığı yüzdelerinde değişimler olmasına rağmen bu azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Yanı sıra elde edilen sonuçlara göre %2 ve %8 OVA konsantrasyonundaki hücre canlılığı değerleri arasındaki farkın da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). ITG'ye ilişkin hücre canlılığı sonuçları değerlendirildiğinde %0,5 ve %1 konsantrasyonda hücre canlılığı değerlerindeki fark 0,95 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Bununla birlikte ITG'nin %8 ve %10 konsantrasyonundaki hücre canlılığı değerleri arasındaki farklar da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). KS'nin istatistiksel sonuçları değerlendirildiğinde %0,5 ve %1 konsantrasyon seviyesinde elde edilen değerlerin arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varılmıştır. Yine konsantrasyonun %2'den %10'a kadar çıkmasıyla birlikte hücre canlılığı verilerinde istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). OIK kompleksinin hücre canlılığı yüzdeleri arasındaki farkın %0,5, %1 ve %2 konsantrasyon seviyesinde istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte konsantrasyon miktarının %6'dan %10'a artışıyla birlikte yine elde edilen yüzde canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak bir farka rastlanmamıştır ($p>0,05$). BRYN'ye ilişkin sonuçlar istatistiki olarak irdelendiğinde %8 ve %10 konsantrasyon seviyelerinde hücre canlılığı değerlerinin 0,95 önem seviyesinde önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) diğer konsantrasyon seviyelerinde elde edilen veriler arasındaki farklar ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Son olarak BRY örneklerinin tüm konsantrasyon seviyelerinde yüzde canlılık miktarlarındaki değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuçlar incelendiğinde enkapsüle edilmemiş BRY'nin L929 hücreleri üzerinde bir miktar toksik etkisi olduğu (maksimum %13 canlılık kaybı) ancak enkapsülasyon işlemiyle birlikte bu toksik etkinin de bertaraf edildiği belirlenmiştir. Literatürde yer alan benzer çalışmalar incelendiğinde Karimi vd. [291] OVA-KS nanopartiküllerinin toksik olmadığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte BRY'nin 0,1 mg/mL'dan daha düşük konsantrasyonda test edilen hücre hatlarının (NIH-3T3, A549, U87 ve HeLa) canlılığında azalmaya neden olmadığı belirtilmiştir [292].

Yapılan bir çalışmada *Guibourtia hymenifolia* tohumundan ekstrakte edilen suda çözünür polisakkaritlerin L929 hücreleri üzerine test edilen en yüksek konsantrasyon değerinde (3300 $\mu\text{g/mL}$) hücre canlılığını %16 oranında azalttığı, 833 $\mu\text{g/mL}$ 'ye kadar ise toksisite gözlemlenmediği belirtilmiştir [293].

Başka bir çalışmada ise 0,001-2 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda *Cassia fistula* ve *Tamarindus indica* tohumlarından elde edilen ham ve karboksimetillenmiş

gamların sitotoksitesi MTT analizi ile belirlemiştir. 2 mg/mL'ye kadar karboksimetillenmiş gamlar Caco-2 hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde etkilememiştir. *C. Fistula*'dan elde edilem karboksimetillenmiş gamlar kontrole kıyasla hücre canlılığı önemli ölçüde 0,5 mg/mL ve üzeri konsantrasyonlarda azalmıştır. *T. indica* tohumlarından elde edilen karboksimetillenmiş gamlar için 0,001-1 mg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığı %77-82 olarak rapor edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre ham ve karboksimetillenmiş gamların biyouyumlu polimer olduğu belirtilmiştir [294].

KS, bilindiği üzere biyouyumlu bir polimerdir. Farklı moleküler ağırlıklarda ve asetilasyon derecelerinde kitosanın toksisitesini kapsamlı bir şekilde inceleyen Kean ve Thanou (2010) [295], kitosanın CC50 (%50 hücresel sitotoksite gösteren konsantrasyon) değerinin 210-2500 mg/mL arasında değiştiğini belirtmiştir.

Literatürde yapılan araştırmalara istinaden, KS-ITG-OVA kapsüllenmiş BRYN'lerinin ve ITG'nin toksisitesi üzerinde daha önce herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, yeni geliştirilen NP (BRYN) ve ITG'ye ilişkin literatürde kıyaslanacak bir veri bulunmamış ve elde edilen bulgular literatür açısından bir ilki teşkil etmiştir.

4.4 BRYN İlavesinin Mayonezin Özellikleri Üzerine Etkisi

Otlar, sarımsak, domates ve ekşi krema gibi yeni tatlar içeren mayonez çeşitlerinin üretiminde son zamanlarda çarpıcı oranda artış meydana gelmiştir. Gıda endüstrisinde daha az yağ içeren mayonez üretiminin yanı sıra kullanılan sıvı yağların türünde de değişiklikler yapılmıştır. Bununla birlikte, yeni müşteri gereksinimlerini karşılamak için yeni mayonez formülasyonları geliştirildikçe, mayonez içindeki kimyasal etkileşimler değişerek ürünün fiziksel, oksidatif ve lezzet stabilitesini etkilediği belirtilmiştir [133]. BRY'nin bünyesinde bulunan yüksek miktarda 18:3 yağ asidi, yağı oksidatif acılaşmaya karşı duyarlı hale getirmektedir. Ancak BRY'deki yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitlerinin varlığı insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu durum BRY'nin gıdalarda kullanımını önemli bir hale getirmektedir [296]. Öte yandan sentetik antioksidanların olumsuz etkileri ve algıları nedeniyle, doğal antioksidan bakımından zengin içerikli doğal ürünlerin kullanılmasına ve ürünlerin oksidatif stabilitesini iyileştirmesine yönelik artan bir ilgi vardır [297]. Mevcut çalışmamızın genel amacı, BRY içeren gerçek gıda emülsiyonlarındaki oksidasyon mekanizmalarını daha iyi anlaşılması ve doğal bir antioksidan sistem tasarlanmasıdır. Bu amaçla gıda modeli olarak mayonez seçilmiştir. Gıda modeli olarak mayonez seçiminin ardından uygulanacak analizler belirlenmiştir. Bu nedenle literatürdeki araştırmalar incelenmiş ve nem içeriği, reolojik (Yatışkan Kesme Testi, Sıcaklık Tarama

Testi, Dinamik Tیرهşimli Kayma Testi ve 3 Zaman Aralıklı Tiksotropik Test) analizler ve duyuşal analizler sadece taze mayonez örneşlerine uygulanması planlanmıştır. Yapılan bir çalışmada 21 hafta boyunca depolanan zencefil tozu içeren mayonez örneşlerinin reolojik parametrelerinde istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır [196].

Lipit oksidasyonu, renk, doku ve aromadaki değışikliklerin yanı sıra istenmeyen tatlar üreterek gıdaların raf ömrünü etkilemekte, gıdaların besin kalitesini ve güvenliğini düşürmektedir. Bununla birlikte, belirli oksidasyon ürünlerinin ortaya çıkması, biyoaktif gıda bileşenlerini olumsuz yönde etkileyerek fonksiyonel özelliklerini, su tutma kapasitelerini ve proteinlerin emülsifiye etme kabiliyetlerini bozabilmektedir [298]. Ancak, mayonez aşırı bir süre (oda sıcaklığında, ışıktta ve 6 aydan fazla) depolanmazsa, mayonezdeki aroma bileşiklerinin stabilitesi bir sorun olarak görünmemektedir [133]. Nitekim bu durum Jacobsen ve arkadaşlarının (2000) [148] balık yağı ile zenginleştirilmiş mayonez örneşlerinin 13 hafta boyunca depolanması sonucunda mayonez örneşlerinde duyuşal olarak değışimi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Yine 20 hafta depolanan %1 ve %1,25 oranında zencefil tozu içeren mayonez örneşlerinin duyuşal özelliklerinde istatistiksel olarak bir değışim olmamıştır [196]. Bu nedenle çalışmamızda sadece taze mayonezlerin duyuşal değerdendirmesi yapılmıştır.

pH, renk ölçümleri, peroksit, serbest yağ asiti, zeta potansiyeli ve emülsiyon stabilitesi belirleme analizleri ise 90 gün boyunca 30 gün aralıklarla ölçülmüştür.

4.4.1 Mayonez Örneşlerinin Kuru Madde İçeriğı Ölçümleri

Taze mayonez örneşlerinin nem içeriğı (%) değerdleri Tablo 4.17'de sunulmuştur. Elde edilen analiz sonuçlarına göre mayonez numunelerinin nem miktarları %37,96-39,68 aralığında değışiklik göstermektedir. Tek yönlü varyans analizine göre kontrol ve S1 örneşlerinin nem yüzdeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Aynı zamanda S2 ve S3 örneşlerinin yüzde nem değerdleri arasındaki fark ta istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Tablo 4.17 Taze mayonez örneklerinin yüzde nem içerikleri

Mayonez Çeşidi	Nem İçeriği (%)
Kontrol	38,49 ^b ± 0.56
S1	37,96 ^b ± 0.16
S2	39,68 ^a ± 0.10
S3	39,26 ^a ± 0.43

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Cornelia vd. (2015) [299] yaptıkları çalışmada %4 oranında Durian tohumu gamı kullanılarak üretilen vegan mayonezin nem içeriği %32,38, Endonezya standartlarına göre üretilmiş ticari vejetaryan mayonezin ise nem içeriği %59,5 olarak tespit edilmiştir.

4.4.2 Mayonez Örneklerinin pH Ölçümleri

0, 30, 60 ve 90 günlük depolama süresi boyunca oda sıcaklığında bekletilen mayonez örneklerinin pH değerleri Tablo 4.18'de sunulmuştur. Elde edilen bulgulara göre mayonez örneklerinin pH değerleri 2,76 ile 4,14 arasında değişiklik göstermektedir.

Tablo 4.18 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca pH değerleri

Mayonez Çeşidi	0. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
Kontrol	4,06 ^{Ab} ± 0,01	2,93 ^{Be} ± 0,01	2,76 ^{Ci} ± 0,01	2,76 ^{Ci} ± 0,01
S1	4,06 ^{Ab} ± 0,01	2,98 ^{Bd} ± 0,01	2,79 ^{Ch} ± 0,01	2,79 ^{Ch} ± 0,01
S2	4,07 ^{Ab} ± 0,01	3,04 ^{Bc} ± 0,03	2,86 ^{Cf} ± 0,01	2,86 ^{Cf} ± 0,01
S3	4,14 ^{Aa} ± 0,01	2,99 ^{Bd} ± 0,01	2,84 ^{Cg} ± 0,01	2,84 ^{Cg} ± 0,01

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütun ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütun ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Mayonez numunelerinin pH değerleri genel olarak değerlendirildiğinde 60. güne kadar azalmış ancak 60. ve 90. günler arasında ise bir değişim olmamıştır. Yapılan

bir çalışmada farklı oranlarda zencefil tozu içeren (%0-%1,25) mayonez örneklerinin pH değerlerinin depolama süresi boyunca (21 hafta) azaldığı bildirilmiştir [196]. Taze olarak üretilen mayonezlerin pH değeri S3 örneği hariç istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmazken 30. günle birlikte depolama süresi boyunca S2 ve S3 örneklerinin pH değerlerinin diğer örneklerle nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Cornelia vd. [299] yaptıkları çalışmada %4 oranında Durian tohumu gamı kullanılarak üretilen taze mayonezin pH değeri 3,97, Endonezya standartlarına göre üretilmiş ticari vejetaryan mayonezin ise pH değeri 3,40 olarak ölçülmüştür. Mayonezlerin pH değerini genel olarak bitkisel yağlar etkilemezken daha çok su fazında baskın olarak yer alan asetik asit gibi maddelerin etkilediği belirtilmiştir. Bununla birlikte mayonezin ingrediyanları arasında yer alan yumurta ve yumurta sarısı (pH 6-7), şeker (pH 6,5) ve yumurta beyazı (pH 9,07) gibi bazı bileşenler ise düşük asitli olarak kabul edilmektedir [300].

4.4.3 Mayonez Örneklerinin Renk Ölçümleri

Renk özelliği, mayonezin görünümünü ve duyuşal olarak kabul edilebilirliğini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Geleneksel tam yağlı mayonez, parlak ve sarı görünümü ile karakterize edilmektedir [208]. Bir emülsiyonun genel görünümü, ışık saçılması ve soğurma olaylarının bir kombinasyonu halinde belirlenmektedir. Saçılma, bir emülsiyonun bulanıklığından veya açıklılığından büyük ölçüde sorumluyken, renkten ise büyük ölçüde soğurma sorumludur [301].

Kontrol, S1, S2 ve S3 mayonez örneklerinin 90 gün depolama süresi boyunca 30 gün aralıklarla ölçülen L^* , a^* ve b^* değerleri Tablo 4.19'da verilmiştir. 0, 30, 60 ve 90. günlerde yapılan depolama süresi boyunca L^* değerleri 57,54-73,00 arasında değişmektedir. Bulgulara göre L^* değerleri 0'dan 60. güne kadar artarken, 90. günde L^* değerlerinde azalma meydana gelmiş ve bu değişimler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Genel olarak L^* değerlerinin depolama süresi boyunca S2 ve S3 numaralı örneklerde kontrol ve S1'e göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum OIK kompleksi ve BRYN'nin ışığı iyi kırılmasını sağladığından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir. Öte yandan BRY ilave edilen mayonezlerin L^* değerlerinin diğer örneklerle nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiştir ve bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Literatürde lutein ve beta karoten içeriğinin L^* değerini azalttığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada karotenoid moleküllerinin ışığın bir kısmını emdiği ve az miktarda ışığı geri yansıttığı ifade edilmiştir [302]. BRY ilave edilen mayonezlerin L^* değerlerinin diğer örneklerle nazaran daha düşük olması muhtemelen BRY içerisinde yer alan lutein ve

β -karotenden kaynaklanmaktadır.

Numunelerin a^* değerleri 1,69 ve 2,78 arasındadır. a^* değerleri 30. güne kadar artış göstermiş ardından bu değer sürekli olarak azalmıştır. Renk ölçümleri sonucunda örneklerin b^* değerlerinin ise 16,30-21,56 arasında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada β -karoten ve lutein içeriğinin b^* değerini arttırdığı ifade edilmiştir [302]. Muhtemelen BRY'nin bünyesinde bulunan β -karoten ve luteinden dolayı mayonezin sarılığı (b^*) artmıştır. Bu sonuç lutein ilave edilmiş bezelye proteini ile stabilize edilmiş suda yağ emülsiyonunda da gözlemlenmiştir [303].

Tablo 4.19 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca renk değerleri (L^* , a^* ve b^*)

Mayonez Çeşidi	0. Gün			30. Gün			60. Gün			90. Gün		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
Kontrol	61,18 ^{Dl} ± 0,40	2,64 ^{Ab} ± 0,09	18,07 ^{Cb} ± 0,01	68,12 ^{Be} ± 0,28	2,17 ^{Bde} ± 0,04	20,23 ^{Acđ} ± 0,82	70,88 ^{Ab} ± 0,35	2,28 ^{Bcde} ± 0,05	20,11 ^{Bcde} ± 0,96	67,67 ^{Ce} ± 0,33	2,29 ^{Bcd} ± 0,03	20,25 ^{Acđ} ± 1,09
S1	58,65 ^{Dj} ± 0,34	2,78 ^{Aa} ± 0,02	21,12 ^{Cabc} ± 0,17	65,06 ^{Bg} ± 0,58	2,20 ^{Bcde} ± 0,06	21,56 ^{Aab} ± 0,43	66,11 ^{Af} ± 0,68	2,24 ^{Bcde} ± 0,15	20,31 ^{Bcd} ± 0,56	62,83 ^{Ch} ± 0,16	2,26 ^{Bcde} ± 0,08	21,72 ^{Aa} ± 0,33
S2	61,37 ^{Dl} ± 0,19	2,32 ^{Ac} ± 0,02	18,66 ^{Cf} ± 0,19	68,85 ^{Bđ} ± 0,40	1,98 ^{Bfg} ± 0,08	19,52 ^{Af} ± 0,35	72,47 ^{Aa} ± 0,51	2,03 ^{Bf} ± 0,10	19,07 ^{Bef} ± 0,51	67,96 ^{Ce} ± 0,16	2,16 ^{Be} ± 0,02	20,30 ^{Acđ} ± 0,02
S3	57,54 ^{Dk} ± 0,45	1,92 ^{Afgh} ± 0,01	16,30 ^{Cg} ± 0,88	70,05 ^{Bc} ± 0,74	1,91 ^{Bfgh} ± 0,06	21,13 ^{Aabc} ± 0,52	73,00 ^{Aa} ± 0,51	1,92 ^{Bh} ± 0,16	19,85 ^{Bde} ± 0,70	69,58 ^{Cc} ± 0,60	1,69 ^{Bgh} ± 0,30	20,43 ^{Abcd} ± 0,04

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütün ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütün ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

Tablo 4.19’da elde edilen verilere göre hesaplanan ΔL^* , Δa^* , Δb^* ve ΔE^* değerleri Tablo 4.20’de sunulmuştur. Mayonez örneklerinin ΔL^* değerleri depolama süresi boyunca 0,19-11,82 aralığında hesaplanmıştır. En yüksek ΔL^* değerlerine S3 örneği sahipken en düşük ΔL^* değerlerine ise S1 numunesinin sahip olduğu belirlenmiştir. Mayonez örneklerine BRYN ilavesi diğer örneklerle kıyasla ΔL^* değerini artırmıştır. Depolama süresi boyunca tüm mayonez numunelerinin ΔL^* değerleri 60. güne kadar artış göstermiş 90. günde ise bahsedilen değerlerde bir miktar azalma meydana gelmiştir. 60 gün depolanan S2 ve S3 örneklerinin ΔL^* değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Aynı zamanda 90 gün depolanan kontrol ve S2’nin ΔL^* değerleri arasındaki farkın da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Örneklerin hesaplanan Δa^* değerleri incelendiğinde 0,14-0,95 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca S3 isimli mayonez örneğinin Δa^* değerlerinin sürekli olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan S3 haricindeki diğer örneklerin ise Δa^* değerleri 30. depolama gününe kadar artmış ardından 90. depolama gününe kadar ise azalma göstermiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucuna göre kontrol ve S1 örneklerinin 30. gün Δa^* değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Aynı zamanda S2 ve S3 için depolama süresinin 30. gününde hesaplanan Δa^* değerleri arasındaki istatistiksel fark anlamlı değildir ($p>0,05$). Öte yandan 60. ve 90. günde kontrol ve S1 için hesaplanan Δa^* değerlerinin de iki yönlü varyans analizine göre önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Mayonez numunelerinin Δb^* değerleri 0,59-3,65 aralığında hesaplanmıştır. Depolama süresi boyunca en yüksek Δb^* değerlerine S3 numaralı örneğin sahip olduğu belirlenmiştir. Mayonez numunelerinin Δb^* değerleri 0. günden 30. güne artarken 60. günde bir miktar azalma meydana gelmiş 90. günde ise bir miktar artış meydana gelmiştir. İkiyönlü varyans analizine göre kontrol, S2 ve S3 için 90. gün hesaplanan Δb^* değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Mayonez numunelerinin ΔE^* değerleri 0,72-12,00 aralığında hesaplanmıştır. En yüksek ΔE^* değerlerine sahip olan örneğin S3 olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin ΔE^* değerleri 60. güne kadar artarken 90. günde bir miktar azalma göstermiştir. Taze S1 ve S3 mayonez numunelerinin ΔE^* değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Bununla birlikte iki yönlü varyans analizine göre 60. depolama gününde S2 ve S3 örnekleri için hesaplanan ΔE^* değerleri arasındaki farkın da anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

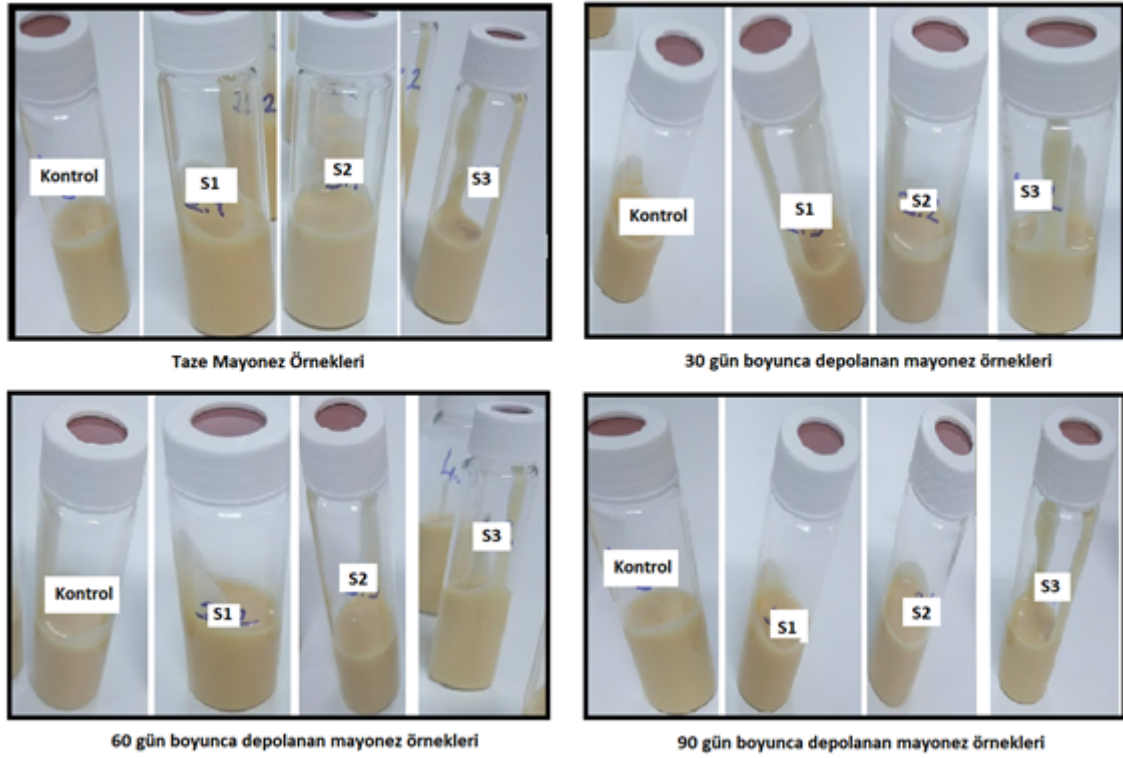
Tablo 4.20 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca renk değerleri (ΔL^* , Δa^* , Δb^* ve ΔE^*)

Gün	Renk Değeri	Kontrol	S1	S2	S3
0. Gün	ΔL^*	-	$2,53^{Dh} \pm 0,34$	$0,19^{Dj} \pm 0,18$	$3,64^{Dg} \pm 5,46$
	Δa^*	-	$0,14^{Bf} \pm 0,02$	$0,32^{Be} \pm 0,02$	$0,72^{Bbc} \pm 0,01$
	Δb^*	-	$3,05^{Bab} \pm 0,17$	$0,59^{Bef} \pm 0,19$	$1,77^{Bcd} \pm 0,88$
	ΔE^*	-	$3,97^{Dg} \pm 0,32$	$0,72^{Dh} \pm 0,17$	$4,17^{Dg} \pm 0,52$
30. Gün	ΔL^*	$6,94^{Be} \pm 0,28$	$3,88^{Bg} \pm 0,03$	$7,67^{Bd} \pm 0,40$	$8,87^{Bc} \pm 0,74$
	Δa^*	$0,47^{Ade} \pm 0,04$	$0,44^{Ade} \pm 0,06$	$0,66^{Abc} \pm 0,08$	$0,73^{Abc} \pm 0,06$
	Δb^*	$2,16^{Abc} \pm 0,82$	$3,49^{Aa} \pm 0,43$	$1,45^{Acde} \pm 0,35$	$3,06^{Aab} \pm 0,52$
	ΔE^*	$7,31^{Bde} \pm 0,34$	$5,25^{Bf} \pm 0,30$	$7,84^{Bd} \pm 0,39$	$9,42^{Bbc} \pm 0,80$
60. Gün	ΔL^*	$9,70^{Ab} \pm 0,35$	$4,93^{Af} \pm 0,68$	$11,29^{Aa} \pm 0,51$	$11,82^{Aa} \pm 0,51$
	Δa^*	$0,36^{Ae} \pm 0,05$	$0,40^{Ae} \pm 0,15$	$0,61^{Acd} \pm 0,10$	$0,80^{Aab} \pm 0,16$
	Δb^*	$2,04^{Bc} \pm 0,96$	$2,24^{Bbc} \pm 0,56$	$1,00^{Bde} \pm 0,51$	$1,78^{Bcd} \pm 0,70$
	ΔE^*	$9,95^{Ab} \pm 0,29$	$5,43^{Af} \pm 0,85$	$11,36^{Aa} \pm 0,48$	$12,00^{Aa} \pm 0,45$
90. Gün	ΔL^*	$6,49^{Ce} \pm 0,33$	$1,65^{Ci} \pm 0,16$	$6,78^{Ce} \pm 0,16$	$8,40^{Cc} \pm 0,60$
	Δa^*	$0,35^{Ae} \pm 0,03$	$0,38^{Ae} \pm 0,08$	$0,48^{Ade} \pm 0,02$	$0,95^{Aa} \pm 0,30$
	Δb^*	$2,18^{Abc} \pm 0,82$	$3,65^{Aa} \pm 0,33$	$2,23^{Abc} \pm 0,02$	$2,36^{Abc} \pm 0,04$
	ΔE^*	$6,91^{Ce} \pm 0,39$	$4,03^{Cg} \pm 0,25$	$7,15^{Cde} \pm 0,15$	$8,78^{Cc} \pm 0,60$

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütun ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütun ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

4.4.4 Mayonez Örneklerinin Emülsiyon Stabilitesi

Hem elektrostatik hem de sterik itme kuvveti bir emülsiyonda yer alan iki ana stabilize edici kuvvettir. Eğer çekim kuvvetli ise sulu fazın sıkışarak damlacıkların birleşmesi teşvik edilir [304]. Mayonezin emülsiyon stabilitesini etkileyen faktörlerden bazıları; eklenen emülsiyonlaştırıcıların türü ve miktarı, yağ globüllerin büyüklüğü, viskozite, karıştırma ve çalkalama yöntemi, pH ve sıcaklıktır [299]. Mun vd. [305] yüksek yağlı mayonezin düşük stabilitesinin, yetersiz stabilizatör nedeniyle yağ damlacıklarının birleşmesinden dolayı kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Yapılan analizler neticesinde mayonez örneklerinin depolanması esnasında herhangi bir faz ayrımı gözlemlenmemiştir ve istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Şekil 4.16'da 90 gün boyunca depolanan mayonez örneklerinin faz ayrımı durumlarına ilişkin görseller yer almaktadır.



Şekil 4.16 Mayonez örneklerinin 0, 30, 60 ve 90. günlerde emülsiyon stabilitesinin değerlendirilmesi (Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez)

Thaiudom ve Khantarat (2011) [306] tarafından yapılan bir çalışmada sodium oktenil süksinat nişastasız mayonez üretiminde yağ ikamesi olarak kullanılmış ve üretilen mayonezlerde faz ayrımı gerçekleşmediğini bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise soğuk pres tekniği ile elde edilen chia tohumu atıklarından üretilen salata soslarında 28 gün boyunca faz ayrımının gerçekleşmediği belirtilmiştir. Bahsedilen çalışmada yüksek zeta potansiyeli ve düşük partikül boyutu değerleriyle emülsiyonda istenen kararlılığın sağlanabileceği belirtilmiştir [307].

Chung ve McClements (2014) [308] yaptıkları çalışmada emülsiyonlarda yer çekimine bağlı faz ayrımı oluşumlarının geciktirilmesi için kullanılan emülgatör miktarının ve çeşidinin doğru seçimi ve optimum koşullarda proses koşullarının (homojenizasyon hızı ve süresi) uygulanmasının gerekliliğini belirtmişlerdir. Depolama süresi boyunca üretilen mayonez örneklerinde yer çekimi etkisi ile hiçbir faz ayrımı olmaması çalışmamızda verilen reçetede yer alan bileşen ve miktarlarının uygun oranda kullanımı ve proses koşullarının doğru seçilmesi ile ilgilidir. Ayrıca 90 gün boyunca faz ayrımının görülmemesi çalışmamız kapsamında kullanılan mayonez formülasyonunun ticari mayonez üretiminde de kullanılabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte elde edilen bulgulardan depolama sırasında meydana gelen pH ve

serbest yağ asidi değişimlerinin mayonez örneklerinin emülsiyon stabilitesinde bir değişim meydana getirmediği de tespit edilmiştir.

4.4.5 Mayonez Örneklerinin Peroksit Analizleri

Yağda su emülsiyonu damlacıklarının yüzeyinde meydana gelen reaksiyonlar ile lipit oksidasyonu hızlanmaktadır [142]. Hidroperoksitler, genellikle oksidasyon ile oluşturulan ilk ürün olarak kabul edildiklerinden dolayı başlangıçtaki oksidasyon oranını belirlemek amacıyla kullanılmaktadırlar [309]. Peroksit değerinin ölçümü, mayonez yağlarındaki erken oksidasyonunun tespit edilmesinde kullanılan en iyi testlerden biri olarak kabul edilmektedir [138]. Bu çalışmada, farklı mayonez örneklerinin depolama süresi boyunca peroksit değerlerinde meydana gelen değişim Tablo 4.21’de verilmiştir.

Tablo 4.21 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinde depolama süresi boyunca peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler (mEq kg⁻¹)

Mayonez Çeşidi	30. Gün	60. Gün	90. Gün
Kontrol	6,84 ^{Cg} ±0,25	21,00 ^{Bb} ±0,34	26,67 ^{Aa} ±0,01
S1	2,59 ^{Ci} ±0,27	6,34 ^{Bh} ±0,34	10,25 ^{Ae} ±0,01
S2	10,38 ^{Ce} ±0,07	12,33 ^{Bd} ±0,33	15,46 ^{Ac} ±0,00
S3	0,45 ^{Ck} ±0,15	1,16 ^{Bj} ±0,33	8,00 ^{Af} ±0,01

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütun ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student’s t-testi’ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütun ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Tablo 4.21’de görüldüğü gibi, BRY, BRYN veya OIK içeren mayonez örneklerinin peroksit değerlerindeki değişimler 0,45-26,67 meq kg⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. Peroksit değerleri incelendiğinde, depolama süresince tüm örneklerin peroksit değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde artış ($p<0,05$) olduğu ve 90. günün ardından en yüksek düzeye ulaştığı görülmektedir. Bu durum yapılan bir çalışmada hem su içerisinde yağ emülsiyonunda hem de mayonez gibi gerçek gıda emülsiyonlarında pH düşüşü ile pro-oksidatif etkinin oluşabileceği belirtilmiştir [310]. Mayonez örneklerine BRY ilavesiyle depolama süresi boyunca kontrol mayonez örneğine göre peroksit değerinin daha azaldığı belirlenmiştir. Aynı durum mısır yağı yerine hibiskus tohumu yağı ilave edilen mayonez örneklerinde de rastlanmış ve belirtilen azalmanın hibiskus tohumu yağında bulunan fenolik içeriği

ve tokoferollerden kaynaklandığı belirtilmiştir [311]. Depolama süresi boyunca en düşük peroksit değerine BRYN içeren örneklerde tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BRYN içeren mayonezlerin peroksit değerlerindeki artışın BRY içeren örneklerle nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Buna göre nanoenkapsülasyon işleminin depolama süresi boyunca yağı oksidasyondan korunması için etkili olduğu sonucuna varılmıştır ve bu etki istatistiksel olarak ta anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı durum balık yağı yüklü zein elektrospreyli kapsüller ile zenginleştirilmiş mayonez örneklerinde de rastlanmıştır [312].

Tüm bitkisel yağlar arasında BRY, en yüksek tokoferol içeriğine (yaklaşık 2500 mg/kg'a kadar) sahiptir [161]. İçeriğinde bulunan tokoferoller ve tokotrienler yağda güçlü çözünen antioksidanlardır [18]. Tokoferoller, en güçlü antioksidanlardan biridir ve bu nedenle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tokoferoller, doğrudan serbest radikallerle reaksiyona girerek birincil antioksidanlar olarak görev alırlar, aynı zamanda tekli oksijenin etkili temizleyicileridir. Tokoferoller, hem hidroperoksil radikali hem de hidroperoksitlerin metal katalizli ayrışması ile oluşan serbest alkoksil radikalleri ile reaksiyona girebilirler. Tokoferoller ayrıca yüksek konsantrasyonlarda prooksidan görevi görebilir [148]. Elde edilen analiz sonuçlarına göre BRY ve BRYN ilaveli mayonezlerin kontrol mayoneze kıyasla depolama süresi boyunca daha az peroksit değerine sahip olduğu test edilmiştir. Muhtemelen bu durum BRY'nin içerisinde bulunan tokoferollerden kaynaklanmaktadır. Yapılan bir çalışmada, delta tokoferol ve biberiye özütünün ilavesi depolama sırasında glikoz şurubu kapsüllerinin oksidatif stabilitesini arttırmıştır [313]. Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgulardan yola çıkarak BRYN'nin içerisinde bulunan antioksidanların 60 gün boyunca direnç gösterdiği bu süre zarfında antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki reaksiyonun devam ettiği yorumu yapılabilir. Bu sürenin ardından antioksidanlar yavaş yavaş tükenmeye başlayarak ortama serbest radikaller hakim olmaya başlayarak peroksit değerinde artışların meydana geldiği düşünülmektedir.

4.4.6 Mayonez Örneklerinin Serbest Yağ Asitliği

Ekstrakte edilmiş lipidlerin asit sayısı, serbest yağ asitlerinin oluşumuna yol açan lipid hidrolizinin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır [196]. Yağda serbest yağ asidi bulunması, lipaz aktivitesinin veya diğer hidrolitik etkinin ve enzim lipazın varlığının bir göstergesidir. Bu nedenle asit değeri ile ölçülen serbest yağ asidi seviyesindeki artış, depolama süresi arttıkça randsite artışını da ifade etmektedir [133]. Serbest yağ asidi değeri yağlar için önemli bir kalite kriteri olmakla birlikte emülsiyonun özelliklerini ve stabilitesini de etkileyebilmektedir. Yağ dağınık sistemlerde kullanıldığında amfifilik özellik ve yüzey aktivitesi göstermesi nedeniyle yağ-su ya da hava-yag

arayüzeylerinde birikebilmekte ve oksidasyona karşı duyarlılıkları da artmaktadır [314]. Bu çalışmada, kontrol, S1, S2 ve S3 isimli mayonez numunelerinin depolama süresi boyunca asit değerlerinde meydana gelen değişim Tablo 4.22’de verilmektedir. Depolama süresince mayonez örneklerinin asit sayısı değerleri 0,52-1,58 mg KOH g⁻¹ aralığında değişmektedir.

Tablo 4.22 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca asit sayısı değerleri (mg KOH g⁻¹)

Mayonez Çeşidi	0. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
Kontrol	0,53 ^{Di j} ± 0,01	0,56 ^{Chi} ± 0,00	0,79 ^{Be} ± 0,07	1,58 ^{Aa} ± 0,05
S1	0,57 ^{Dh} ± 0,01	0,65 ^{Cg} ± 0,01	0,87 ^{Bd} ± 0,02	1,57 ^{Aa} ± 0,02
S2	0,52 ^{Dj} ± 0,00	0,62 ^{Cg} ± 0,03	0,80 ^{Be} ± 0,01	1,52 ^{Ab} ± 0,00
S3	0,55 ^{Dhij} ± 0,01	0,62 ^{Cg} ± 0,03	0,70 ^{Bf} ± 0,07	1,43 ^{Ac} ± 0,01

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütun ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student’s t-testi’ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütun ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir.

Elde edilen asit sayısı değerlerinin depolama süresi ilerledikçe arttığı ve 90. günde maksimum değere ulaştığı gözlenmiştir. Depolama süresince meydana gelen bu artışlar BRY, OIK ve BRYN’ye göre farklı miktarlarda olmuştur. Taze mayonez örneklerinde en düşük asit sayısı değerine S2 örneği sahipken en yüksek asit sayısına ise S1 örneği sahiptir ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Bu durum BRY’nin başlangıç asitliğinin yüksek olmasından dolayı kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. 30. günle birlikte ise tüm örneklerdeki asit sayısı artmış ve S1 örneğinde en yüksek seviyeye çıkmıştır. Ancak S1, S2 ve S3 örnekleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. 60. günde ise en fazla asit sayısı değerine ise S1 örneklerinde rastlanmış ve kontrol ve S2 örnekleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,05$). 90. günde ise mayonez örneklerinin asit sayısı en yüksek düzeye ulaşmış ve kontrol ve S1 örnekleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Depolama süresi boyunca BRYN içeren mayonezlerin önemli ölçüde asit değerindeki ilerlemeyi engellediği fark edilmektedir. Mayonez örneklerine ayçiçek yağı (kontrol) yerine BRY ilavesi (S1) 0.,30. ve 60. günlerde serbest yağ asidi değerlerini istatistiksel açıdan etkilemiştir ($p<0,05$).

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde depolama süresinin serbest yağ asitliğine etkisi üzerine yapılan çalışmaların bir hayli az olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada 20 hafta depolanan zencefil tozu içeren (%0-%1,25) mayonez örneklerinin 21 hafta depolama süresi boyunca serbest asitlik düzeylerinde artış meydana geldiği belirtilmiştir [196].

4.4.7 Mayonez Örneklerinin Zeta Potansiyeli Değerleri

Zeta potansiyel değerleri, mayonezlerin elektrostatik kararlılığı hakkında fikir vermektedir. Temel olarak, -30 mV'dan daha düşük zeta potansiyeli değerleri, yağ damlacıkları arasında güçlü elektrostatik itmelerin var olduğunu ve stabil bir emülsiyonun oluştuğunu göstermektedir [42]. Zeta potansiyelini etkileyen en önemli faktör, ortamın pH değeridir. Diğer etikeleyen faktörler ise iyonik kuvvet, herhangi bir katkı maddesinin konsantrasyonu ve sıcaklıktır [315]. Yağ damlacıklarının yüzey yükü, yağ-su arayüzünde adsorbe edilen moleküllerin yükünden etkilenmektedir. Bununla birlikte, yağ damlacıkları arasındaki elektrostatik itmenin mayonezi fiziksel olarak stabil tutan tek kuvvet olmadığı da dikkate alınmalıdır. Literatürde mayonezin kararlılığı ve reolojisine sulu fazda bir ağ oluşturan kümelenmiş yumurta sarısı granüllerinin önemli bir katkısı bulunduğu belirtilmiştir [42]. Yanı sıra negatif yüklü ksantan gum ve pozitif yüklü yumurta sarısı arasında meydana gelen interaksiyonlar da ürünün stabilitesini etkilemektedir [316]. Mayonez numunelerinin 90 gün depolama süresi boyunca 30 gün aralıklarla ölçülen zeta potansiyeli değerleri Tablo 4.23'te sunulmuştur. Mayonezlerin zeta potansiyeli değerlerinin depolama süresi boyunca -44,50 ile -28,48 mV arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.23 BRY, BRYN ya da OIK içeren mayonez örneklerinin 90 günlük depolama boyunca zeta potansiyeli değerleri (mV)

Depolama Günü	Ölçülen Değer	Mayonez Çeşidi			
		Kontrol	S1	S2	S3
0. Gün	Zeta Potansiyeli (mV)	$-42,20^{Dh} \pm 0,39$	$-42,38^{Dh} \pm 0,71$	$-43,47^{Dhi} \pm 1,19$	$-44,50^{Di} \pm 0,70$
	Hareketlilik ($\mu\text{mcm/Vs}$)	$-3,31 \pm 0,03$	$-3,32 \pm 0,05$	$-3,41 \pm 0,09$	$-3,49 \pm 0,05$
	İletkenlik (mS/cm)	$0,16 \pm 0,00$	$0,15 \pm 0,00$	$0,15 \pm 0,00$	$0,15 \pm 0,00$
30. Gün	Zeta Potansiyeli (mV)	$-32,20^{Abc} \pm 0,76$	$-34,63^{Acd} \pm 0,13$	$-28,48^{Aa} \pm 0,84$	$-32,17^{Ab} \pm 0,40$
	Hareketlilik ($\mu\text{mcm/Vs}$)	$-2,52 \pm 0,06$	$-2,72 \pm 0,01$	$-2,23 \pm 0,07$	$-2,52 \pm 0,03$
	İletkenlik (mS/cm)	$0,17 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,00$	$0,18 \pm 0,00$	$0,18 \pm 0,00$
60. Gün	Zeta Potansiyeli (mV)	$-36,63^{Ce} \pm 0,73$	$-37,60^{Cf} \pm 0,27$	$-40,03^{Cg} \pm 0,63$	$-32,63^{Cb} \pm 0,31$
	Hareketlilik ($\mu\text{mcm/Vs}$)	$-2,87 \pm 0,06$	$-2,95 \pm 0,02$	$-3,14 \pm 0,05$	$-2,56 \pm 0,02$
	İletkenlik (mS/cm)	$0,19 \pm 0,00$	$0,18 \pm 0,00$	$0,20 \pm 0,00$	$0,22 \pm 0,01$
90. Gün	Zeta Potansiyeli (mV)	$-35,67^{Bdef} \pm 1,07$	$-35,27^{Bde} \pm 1,37$	$-35,10^{Bde} \pm 0,12$	$-32,05^{Bb} \pm 0,53$
	Hareketlilik ($\mu\text{mcm/Vs}$)	$-2,79 \pm 0,09$	$-2,73 \pm 0,10$	$-2,76 \pm 0,06$	$-2,53 \pm 0,04$
	İletkenlik (mS/cm)	$0,18 \pm 0,00$	$0,21 \pm 0,00$	$0,19 \pm 0,00$	$0,19 \pm 0,00$

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Sütun ve satırlarda yer alan farklı büyük harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde depolama süresince meydana gelen istatistiksel farkı; Sütun ve satırlarda yer alan farklı küçük harfler ise mayonez çeşidindeki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

Depolama süresi boyunca tüm numunelerin negatif zeta potansiyeli değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. 30 gün boyunca depolanan S2 örneği haricinde tüm örneklerin damlacık stabilizasyonu için kritik değer olarak görülen (-30 mV) değeri sağlamasından dolayı örneklerin stabilitesinin bir hayli yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Taze üretilen kontrol ve S1 numaralı örneklerde farklı çeşitte yağ kullanımı zeta potansiyeli değerini istatistiksel açıdan etkilemezken OIK ve BRYN ilavesi etkilemiştir ($p<0,05$). Muhtemelen bu durum OIK ve BRYN'nin ilavesinin yağ partikülleri etrafında yük değişimini gerçekleştirdiğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada su içerisinde yağ emülsiyonuna keten tohumu gamı ilavesiyle birlikte eksi yüklerin yağ damlacıklarının çevresinde tutunarak zeta potansiyeli değerini arttırdığı belirtilmiştir [317]. Yapılan başka bir çalışmada ise soğuk pres chia tohumu yağ atığı ve ksantan gam ile üretilen salata soslarında daha yüksek zeta potansiyeli değeri elde edildiği belirtilmiştir. Bu durum arta kalan parçacıkların etrafındaki negatif yüklü etkileşimlerin sayısındaki artışla ilişkilendirilmiştir. Başka bir çalışmada ise daha yüksek zeta potansiyeli değerinin yağ damlacıklarının çevresine eklenen negatif yüklü proteinler ve polisakkaritlerden kaynaklandığı da belirtilmiştir [307]. Taze mayonez örneklerinin zeta potansiyeli değerleri incelendiğinde daha az negatif yüke sahip olduğu bu değerlerin ilerleyen depolama süresi ile birlikte yükseldiği (0'a yaklaştığı) belirlenmiştir. Depolama boyunca zeta potansiyeli değerlerindeki azalmanın depolama sırasında meydana gelen pH değişimlerinden dolayı kaynaklanabileceği belirtilmiştir [318]. Yapılan bir çalışmada yağ içinde su emülsiyonunun zeta potansiyelinde meydana gelen önemli değişimlerin yalnızca çok asitli koşullarda ($\text{pH}<4$) gerçekleştiği bu değerlerin altındaki pH değerlerine ulaşıldığında ise zeta potansiyeli değerinin sıfıra doğru yaklaştığı belirtilmiştir [319].

4.4.8 *İn vitro* Biyoerişebilirlik Analizleri

"Biyoerişebilirlik" terimi ilk olarak farmakolojide "bir ilacın etki alanına ulaşma hızı ve derecesi" anlamında kullanılmıştır. Biyoerişebilirlik kavramı için literatürde birkaç tanım önerilmiş olmasına rağmen bunların içerisinde en uygun olanı, sindirilen bir besin veya bileşiğin sistemik dolaşıma ve biyolojik eylemini uygulayabileceği spesifik alanlara ulaşan fraksiyonunudur. Başka bir deyişle, polifenollerin yutulan miktarının ne kadarının yararlı etkilerini hedef dokularda uygulayabildiği anlamına gelmektedir [320].

İnsan metabolizmasında vücuda alınan bileşenlerin nasıl etki gösterdiklerinin belirlenebilmesi için *in vitro* sindirimin gerçekleştirilmesi son derece önem taşımaktadır; BRY, OIK Kompleksi veya BRYN ilavesi ile üretilen mayonezlerin *in vitro* sindirimleri, üç aşamalı olarak (ağız, mide ve bağırsak ortamlarından)

gerçekleştirilerek biyoaktif parametrelerinde (DPPH, CUPRAC ve toplam fenolik analizleri) meydana gelen değişim değerlendirilmiştir. Kıyaslama yapmak amacıyla, saf BRY, BRYN ve OIK'in de *in vitro* sindirim süresince biyoaktif özelliklerinde meydana gelen değişimler de incelenmiştir.

Polifenol bileşikler, literatürde kalp hastalığı, yaşa bağlı dejenerasyon, anti-enflamatuvar ve anti-bakteriyel aktiviteler dahil olmak üzere birçok yararlı farmakolojik etkiyle ilişkilendirilmiştir [321].

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenen toplam fenolik madde içeriğinin her bir örnek için *in vitro* sindirimin ardından artış gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin sindirimden önce ve üç farklı sindirim aşamasından sonraki (oral, gastrik ve ince bağırsak) toplam fenolik değerleri ve biyoerişebilirlik yüzdesi değerleri Tablo 4.24'te sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre örneklerin toplam fenolik değerleri 0,06-0,51 mg GAE/g aralığında; ağız, mide ve bağırsak sindiriminin ardından (IN (ince bağırsakta hidroliz edilebilen fraksiyon) ve OUT (ince bağırsakta hidroliz edilemeyen fraksiyon) değerleri) örneklerin toplam fenolik değerleri ise sırasıyla 0,32-1,59 mg GAE/g, 1,44-1,95 mg GAE/g, 0,26-1,02 mg GAE/g ve 0,90-3,45 mg GAE/g aralığında tespit edilmiştir. Öte yandan yüzde biyoerişebilirlik değerleri ise %24,62-%49,74 aralığında hesaplanmıştır.

Tablo 4.24 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve *in vitro* gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/g)

Yöntem	Örnek İsmi	Başlangıç (ekstrakte edilebilen)	Ağız	Mide	Bağırsak (hidroliz edilebilen) (in fraksiyonu)	Bağırsak (hidroliz edilemeyen) (out fraksiyonu)	Biyoerişebilirlik (%)
Toplam Fenolik Madde Tayini (mg GAE/g)	BRY	0,43 ^d ± 0,02	1,59 ^b ± 0,08	1,62 ^b ± 0,01	0,85 ^c ± 0,04	3,45 ^a ± 0,06	24,62
	OIK Kompleksi	0,27 ^d ± 0,06	0,58 ^c ± 0,04	1,44 ^a ± 0,03	0,70 ^c ± 0,03	1,61 ^b ± 0,03	43,79
	BRYN	0,51 ^c ± 0,02	0,73 ^b ± 0,02	1,67 ^a ± 0,03	0,59 ^c ± 0,02	1,19 ^d ± 0,04	49,74
	Kontrol Mayonez	0,07 ^d ± 0,02	0,92 ^b ± 0,04	1,76 ^a ± 0,05	0,26 ^c ± 0,03	0,90 ^d ± 0,03	28,34
	S1	0,11 ^e ± 0,01	0,43 ^d ± 0,03	1,56 ^b ± 0,02	0,80 ^c ± 0,03	2,56 ^a ± 0,09	31,34
	S2	0,10 ^e ± 0,04	0,32 ^d ± 0,03	1,81 ^a ± 0,03	0,83 ^c ± 0,01	2,12 ^b ± 0,03	38,98
	S3	0,06 ^e ± 0,02	0,36 ^d ± 0,06	1,95 ^a ± 0,05	1,02 ^c ± 0,05	2,22 ^b ± 0,06	45,84

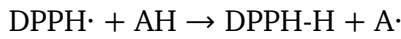
Kontrol: İçerisinde hiçbir birleşen bulunmayan örnek; BRY: Buğday Ruşeymi Yağı; OIK: Ovalbumin-Isırgan Tohumu Gami-Kitosan; BRYN: Buğday Ruşeym Yağı Yüklü Nanopartiküller; Kontrol Mayonez: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Satırlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Örneklerin fenolik değerleri incelendiğinde tüm örneklerin başlangıçtaki ekstrakte edilebilir miktarında ağız ortamında sindirimin tamamlanmasıyla birlikte bir artış meydana gelmiş ve bu artış istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan bu artış mide ortamında sindirimin tamamlanmasıyla birlikte daha da artmış ancak bağırsak ortamında meydana gelen sindirim sonucunda fenolik miktarında bir miktar azalma meydana gelmiştir. BRY'nin ağız sindiriminin ardından mide sindirimini tamamlamasıyla birlikte meydana gelen fenolik miktarındaki artış istatistiksel yönden anlamlı bulunmazken ($p>0,05$) bahsedilen artış miktarı diğer tüm örneklerde anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan mide sindiriminin ardından bağırsakta sindirimin gerçekleşmesiyle birlikte hidroliz edilebilen fenolik miktarında görülen azalmaların istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kapsül tipi, bileşimi ve konsantrasyon özellikleri *in vitro* sindirim sırasında kapsüllerin sindirimini etkileyen en önemli parametreler arasında yer almaktadır. Esasen polifenoller, pH değişiklikleri ve kimyasal yapılarına bağlı olarak farklılık göstermekte ve diğer bileşiklerle olan etkileşimleri nedeniyle sindirim işlemi sırasında önemli düzeyde etkilenebilmektedirler [322], [323]. Yapılan bir çalışmada polifenollerin sindirim modifikasyonlarından önemli derecede etkilendiği belirtilmiştir [324]. Başka bir çalışmada ise polifenollerin ince bağırsaktaki hafif alkali koşullara oldukça duyarlı olduğu bu bileşiklerin büyük bir kısmının farklı kimyasal özelliklere ve dolayısıyla farklı biyoerişebilirlik ve biyolojik aktiviteye sahip bilinmeyen ve/veya tespit edilmeyen diğer yapısal formlara dönüşebileceği ifade edilmiştir [325]. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, Bermudezsoto vd. [326], Chew vd. [327], Vallejo vd. [328] ve Wong vd. [329]'nin yaptıkları çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermekle birlikte belirtilen çalışmalarda ince bağırsak sindiriminin simülasyonu sonrasında fenolik madde miktarında önemli düşüşler olduğu rapor edilmiştir. Öte yandan bahsedilen bu düşüşlerin bir kısmının mide sindirim ortamını takiben örneklerin bağırsak ortamında sindirimiyle birlikte fenolik madde miktarının pH ve sindirim modifikasyonları nedeniyle kaybolabileceği belirtilmiştir.

Bu analizde biyoerişebilirlik miktarı örneklerin simüle edilmiş sindirim ortamında ince bağırsağa ulaşan hidroliz edilebilir toplam fenolik miktarının ince bağırsakta hidroliz edilemeyen toplam fenolik miktarına bölünmesiyle belirlenmiştir. Örneklerin yüzde olarak biyoerişebilirlik değerleri incelendiğinde en yüksek değerler BRYN ve S3 içeren örneklerde tespit edilmiştir. BRY'nin enkapsülasyonu ile birlikte toplam fenolik madde miktarında yaklaşık 2 kat artış olduğu tespit edilmiştir. BRY'nin kapsüllenmesi sonucunda toplam fenolik içeriğinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada fenoliklerin biyopolimerler yoluyla özellikle lipozomlarda ve/veya emülsiyonlarda kapsüllenmesi, mayonezdeki fenollerin çözünürlüğünü ve stabilitesini iyileştirdiği böylelikle biyoyararlanım ve işlevselliklerinin geliştirdiği belirtilmiştir

[330]. Genel olarak, fenoliklerin biyoerişebilirliği araştırılırken sindirimden sonraki artık (OUT) fraksiyon dikkate alınmaz, ancak sindirimden sonra kalın bağırsakta kalan polifenoller bağırsak mikrobiyotası tarafından bir dizi düşük moleküler yapılara potansiyel olarak absorbe edilebilirler. Dahası, bazı polifenoller ince bağırsakta bozulmamış formlarında çok yetersiz bir şekilde emilirler. Ancak yoğun bir şekilde bağırsak florası tarafından katalize edilirler ve ürünler kolonik epitel yoluyla verimli bir şekilde emilirler [331].

DPPH radikali, yapıların fenolik antioksidanların aktivitesi üzerindeki etkilerini incelemek için substrat içermeyen bir testte kullanılan en eski sentetik radikallerden biridir. Ticari olarak temin edilebilen DPPH, hem antioksidan (AH) tarafından indirgenecek oksitleyici radikal hem de reaksiyon için renkli gösterge olarak işlev görmektedir [332].



DPPH, bir antioksidandan bir hidrojeni veya elektronu aldıktan sonra stabil bir ürün haline gelen yağda çözünebilen bir serbest radikaldir [333]. DPPH yöntemi kullanılarak elde edilen analiz sonuçlarına göre ekstrakte edilen örneklerin toplam antioksidan miktarı 11,21-16,46 mg TEAC/g aralığında; ağız, mide ve bağırsak sindiriminin ardından (in ve out değerleri) toplam antioksidan kapasitesi değerleri ise sırasıyla 0,41-0,96 mg TEAC/g, 1,80-8,80 mg TEAC/g, 0,06-0,40 mg TEAC/g ve 2,09-5,11 mg TEAC/g aralığında tespit edilmiş ve ölçülen değerler Tablo 4.25'da verilmiştir. Öte yandan örneklerin yüzde biyoerişebilirlik değerleri %4,06-%19,30 aralığında hesaplanmıştır.

Tablo 4.25 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve *in vitro* gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen DPPH yöntemine göre antioksidan kapasite değerleri (mg TEAC /g)

Yöntem	Örnek İsmi	Başlangıç (ekstrakte edilebilen)	Ağız	Mide	Bağırsak (hidroliz edilebilen) (in fraksiyonu)	Bağırsak (hidroliz edilemeyen) (out fraksiyonu)	Biyoerişebilirlik (%)
DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini (mg TEAC /g)	BRY	11,21 ^a ± 0,14	0,62 ^d ± 0,22	1,80 ^c ± 0,21	0,12 ^e ± 0,10	3,04 ^b ± 0,19	4,06
	OIK Kompleksi	13,64 ^b ± 0,08	0,96 ^d ± 0,20	8,80 ^a ± 0,23	0,22 ^e ± 0,12	4,97 ^c ± 0,24	4,36
	BRYN	16,46 ^a ± 0,27	0,71 ^d ± 0,23	7,28 ^b ± 0,42	0,29 ^d ± 0,13	5,11 ^c ± 0,27	5,70
	Kontrol Mayonez	12,90 ^a ± 0,09	0,34 ^d ± 0,37	6,20 ^b ± 0,21	0,06 ^d ± 0,09	2,13 ^c ± 0,16	2,73
	S1	14,10 ^a ± 0,12	0,41 ^d ± 0,25	6,41 ^b ± 0,15	0,17 ^d ± 0,17	2,15 ^c ± 0,22	7,93
	S2	14,02 ^a ± 0,21	0,47 ^d ± 0,21	6,55 ^b ± 0,18	0,24 ^d ± 0,20	2,09 ^c ± 0,26	11,71
	S3	11,55 ^a ± 0,22	0,52 ^d ± 0,24	7,65 ^b ± 0,15	0,40 ^d ± 0,02	2,09 ^c ± 0,21	19,30

Kontrol: İçerisinde hiçbir birleşen bulunmayan örnek; BRY: Buğday Ruşeymi Yağı; OIK: Ovalbumin-Isırgan Tohumu Gami-Kitosan; BRYN: Buğday Ruşeym Yağı Yüklü Nanopartiküller; Kontrol Mayonez: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Satırlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

DPPH yöntemi kullanılarak ölçülen toplam antioksidan değerleri incelendiğinde tüm örneklerin başlangıçtaki ekstrakte edilebilir miktarında ağız ortamında sindirimle birlikte bir azalma meydana gelmiş ve bu azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan örneklerin mide ortamında sindirimleriyle birlikte toplam antioksidan değerleri artmış ancak ekstrakte edilebilir toplam antioksidan miktarına göre oldukça düşük seviyede kalmıştır ve bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte, bağırsak ortamında sindirim sonucunda toplam antioksidan miktarında önemli derecede azalma meydana gelmiş ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Elde edilen sonuçlar, numunelerin sindiriminden sonra elde edilen biyolojik olarak erişilebilen fraksiyonundaki değişkenlerin belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır [334]. Biyoerişebilirlik değerleri incelendiğinde en yüksek değer S3 numaralı mayonez örneklerinde tespit edilmiştir. BRY'nin tek başına kullanımı yerine BRYN halinde kullanımı biyoerişebilirlik oranını %1,37 artırırken BRYN'lerin mayonez örneklerine ilavesi %3,39'de oranında artış sağlamıştır.

CUPRAC yönteminde kullanılan radikalın şeker ve sitrik asit ile okside olmaması, hava, güneş ışığı, pH ve nem gibi parametrelerden etkilenmemesi, ABTS ve DPPH gibi radikallerden daha kararlı olması avantajları arasında sayılmaktadır [335], [336]. Metodun en önemli avantajlarından biri de fizyolojik pH'lara yakın olan pH=7'de yürütülmesi ve bundan dolayı da fizyolojik koşulları yansıtmaya olasılığının daha yüksek olmasıdır [335].

CUPRAC analiz sonuçlarına göre ekstrakte edilen örneklerin toplam antioksidan değerleri 1,21-3,22 mg TEAC/g aralığında; ağız, mide ve bağırsak sindiriminin ardından (in ve out değerleri) elde edilen değerleri ise sırasıyla 0,34-3,95 mg TEAC/g, 0,75-5,53 mg TEAC/g, 0,15-1,38 mg TEAC/g ve 1,05-12,00 mg TEAC/g aralığında belirlenmiş ve ölçülen değerler Tablo 4.26'de sunulmuştur. Öte yandan örneklerin yüzde biyoerişebilirlik değerleri %7,12-%17,47 aralığında hesaplanmıştır.

Tablo 4.26 BRY, OIK Kompleksi, BRYN, Kontrol Mayonez, BRY içeren mayonez, OIK Kompleksi içeren mayonez ve BRYN içeren mayonez örneklerinin başlangıç ve *in vitro* gastrointestinal sindirim sonucunda elde edilen CUPRAC yöntemine göre antioksidan kapasite değerleri (mg TEAC /g)

Yöntem	Örnek İsmi	Başlangıç (ekstrakte edilebilen)	Ağız	Mide	Bağırsak (hidroliz edilebilen) (in fraksiyonu)	Bağırsak (hidroliz edilemeyen) (out fraksiyonu)	Biyoerişebilirlik (%)
CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini (mg TEAC /g)	BRY	2,60 ^b ± 0,02	1,40 ^{cd} ± 0,17	1,47 ^c ± 0,13	1,14 ^d ± 0,06	12,00 ^a ± 0,32	9,53
	OIK Kompleksi	1,92 ^c ± 0,02	1,25 ^d ± 0,02	2,66 ^b ± 0,21	0,63 ^e ± 0,14	5,16 ^a ± 0,18	12,22
	BRYN	3,22 ^d ± 0,03	3,95 ^c ± 0,20	5,53 ^b ± 0,13	1,38 ^e ± 0,11	9,58 ^a ± 0,03	14,37
	Kontrol Mayonez	1,21 ^b ± 0,11	0,34 ^d ± 0,11	0,75 ^c ± 0,04	0,25 ^d ± 0,11	3,48 ^a ± 0,16	7,12
	S1	1,23 ^b ± 0,03	0,60 ^d ± 0,12	0,92 ^c ± 0,14	0,21 ^e ± 0,04	2,26 ^a ± 0,19	9,32
	S2	1,31 ^a ± 0,04	0,75 ^b ± 0,28	0,94 ^b ± 0,07	0,15 ^c ± 0,11	1,05 ^{ab} ± 0,26	13,79
	S3	1,29 ^b ± 0,03	1,03 ^b ± 0,42	1,25 ^b ± 0,17	0,43 ^c ± 0,06	2,43 ^a ± 0,04	17,47

Kontrol: İçerisinde hiçbir birleşen bulunmayan örnek; BRY: Buğday Ruşeymi Yağı; OIK: Ovalbumin-Isırgan Tohumu Gami-Kitosan; BRYN: Buğday Ruşeym Yağı Yüklü Nanopartiküller; Kontrol Mayonez: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Satırlarda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir.

CUPRAC analiz sonuçlarına göre elde edilen toplam antioksidan miktarları incelendiğinde başlangıçtaki ekstrakte edilebilir antioksidan miktarı ağız ortamında sindirimle birlikte bir miktar azalma göstermiş ancak bu azalma S3 örneklerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Bununla birlikte ağız sindirimini takiben mide ortamında sindirim sonucunda örneklerin toplam antioksidan miktarlarında bir miktar artış olsa da bu artış istatistiksel açıdan S2 ve S3 örnekleri için anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Mide sindiriminin ardından bağırsak sindiriminin tamamlanmasıyla birlikte hidroliz edilebilen fraksiyonunda azalma meydana gelmiş ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). BRY'nin BRYN halinde kapsüllenmesi biyoerişebilirlik miktarını %1,5 oranında arttırırken BRYN'nin mayonez örneklerinde kullanımı biyoerişebilirlik yüzdesini %1,21 oranında arttırmıştır.

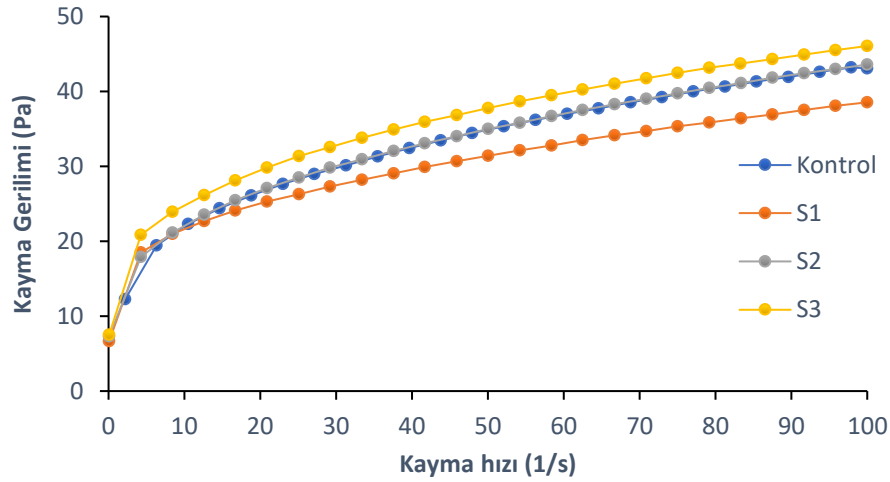
Bu çalışmanın bulguları sayesinde *in vitro* sindirim prosedürünün beslenme açısından BRY ve BRY'den üretilen ürünlerin gerçek biyoaktif gücünün daha iyi bilinmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bildiğimiz kadarıyla, *in vitro* sindirimin BRY'nin ve BRY içeren mayonezlerin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi hakkında literatürde önceden hiçbir veri elde edilmemiştir. İlk defa bu çalışmada BRY, BRYN, OIK Kompleksi ve bahsedilen bileşenler kullanılarak üretilmiş olan mayonezlerin *in vitro* gastrointestinal sistemde antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada BRY yüklü nanopartiküllerin gastrointestinal sindirimin ardından tek başına kullanılan BRY'ye göre polifenollerinin yüksek oranda biyolojik olarak kullanılabilir olduğu ve yüksek antioksidan potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bahsedilen bu özelliklerinden dolayı bu tez kapsamında üretilen ürünlerin tüketicilere sağlık açısından önemli katkı sağlama potansiyelinin olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, gerçek gastrointestinal sistemlerin karmaşık ortamında benzer olayların meydana gelip gelmediğinin belirlenebilmesi için *in vivo* çalışmaların yapılması oldukça önem arz etmektedir.

4.4.9 Mayonez Örneklerinin Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

4.4.9.1 Mayonez Örneklerinin Sabit Kesme Akış Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayonez reolojisi ve tekstürü; yağ dağılımına, yağ damlacıkları arasındaki etkileşime ve yumurta sarısı emülgatörü gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Mayonezin mikro yapısında meydana gelen değişimler farklı reolojik özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [337]. Mayonez örneklerine uygulanan çeşitli formülasyonlar neticesinde Şekil 4.17'de yer alan kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiği elde edilmiştir. Elde edilen reogramda mayonez örneklerine uygulanan artan kesme hızına (shear rate) bağlı olarak kayma geriliminde (shear stress) artma meydana geldiği belirlenmiştir. Bu durum kesme hızının

artışına bağlı olarak mayonez örneklerinin viskozitesinde bir azalmanın meydana geldiğinin ve örneklerin kesme incilmesi (shear thinning) davranışı sergilediğinin bir göstergesidir. Yapılan bir çalışmada damlacıkların kopma hızı arttıkça deforme olup bozulabileceğinden dolayı vizkozitede azalma meydana geldiği belirtilmiştir [42].



Şekil 4.17 Mayonez örneklerinin kayma hızına karşı kayma gerilimi reogramları

Ostwald de Waele modeli uygulanan mayonez örneklerinin kıvam katsayısı (K), akış davranış indeksi (n) ve determinasyon katsayısı (R^2) değerleri Tablo 4.27'te yer almaktadır. Elde edilen determinasyon katsayısı değerleri neticesinde, Ostwald de Waele model ile mayonez örneklerinin akış davranış özelliklerinin iyi bir şekilde modellenebileceği belirlenmiştir. Ostwald de Waele model mayonezin sabit kesme akış özelliklerini tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır [338], [339]. Elde edilen bulgulara göre, kıvam katsayısı değerleri 11,1683-13,3887 Pa.sⁿ ve akış davranış indeksi değerleri ise 0,2514-0,2928 arasında bulunmuştur. Mayonez örneklerine BRYN ilavesinin kıvam katsayısı değerlerini artırdığı ve güçlü bir ağ yapısı oluşturduğundan dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir [340]. Proteinler ve gamlar arasındaki etkileşimler, yağ damlacıkları etrafında koruyucu bir sterik bariyer oluşturarak mayonezin viskozitesini etkilemektedir [341]. Mayonezlere OIK ve BRYN ilavesi ile emülsiyonun sulu fazının içerisinde bulunan karbonhidratlar nedeniyle koyulaştığı ve daha yüksek viskoziteye sahip olduğu düşünülmektedir. Nitekim yapılan bir çalışmada nişasta, guar gam ve ksantan gam gibi kıvamlaştırıcı ve stabilizatörlerin mayoneze ilavesinin sıvı fazın viskozitesini arttırdığı belirtilmiştir [112]. Aynı duruma Miguel vd. [312] ve Hermund vd. [313] çalışmalarında da rastlanmış ve mayonez örneklerine ilave edilen kapsüller mayonez örneklerinin kıvamını artırmıştır. Yapılan başka bir başka çalışmada ise salata soslarına stabilizatör ve soğuk pres chia tohumu yağ atığı ilavesinin K değerlerinde önemli artışa neden olduğu belirtilmiştir. Bu artışın atıkta bulunan proteinlerin stabilizatör ya da emülgatör olarak davranmasından dolayı kaynaklandığı belirtilmiştir [307].

Tespit edilen n değerlerinin 0-1 arasında olması örneklerin Newton olmayan özellik gösterdiğinin, 1'den küçük olması ise kesme incilmesi davranışı sergilediğinin ve psödoplastikliğin derecesinin de bir göstergesi niteliğindedir. Yapılan bir çalışmada n değerlerinin ticari mayonezler için uygulanan test yöntemine göre değişmekle birlikte 0,13-0,91 arasında olduğu belirtilmiştir [342].

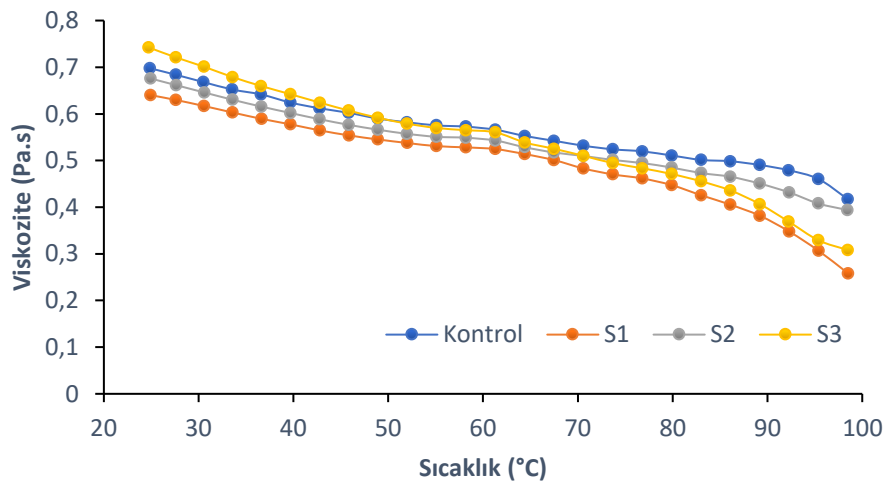
Tablo 4.27 Taze mayonez örneklerinin Power-Law Model Parametreleri

Mayonez Çeşidi	K (Pa s ⁿ)	n	R ²
Kontrol	11,1683 ^c ± 0.05	0,2928	0,9988
S1	11,9021 ^b ± 0.07	0,2514	0,9977
S2	11,3255 ^c ± 0.19	0,2903	0,9988
S3	13,3887 ^a ± 0.43	0,2668	0,9996

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

4.4.9.2 Mayonez Örneklerine Sıcaklık Tarama Testi Uygulanması

Bu test, η_{50} görünür viskozitede 25-100°C sıcaklık aralığında mayonez örneklerinin sıcaklığa bağlı olarak viskozitesindeki değişimini incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.18'de mayonez örneklerinin sıcaklığa bağlı olarak viskozitesindeki değişimi yer almaktadır. Elde edilen reogramlara göre sıcaklık artışına bağlı olarak ürünün viskozitesinde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.18 Mayonez örneklerinin sıcaklığa bağlı olarak viskozitesindeki değişimi

Taze mayonez örneklerinin Arrhenius denklemi parametreleri Tablo 4.28'da sunulmuştur. Bu denkleme göre R^2 değerleri 0,9259-0,9902 aralığında bulunmuştur.

Ao değerlerinin ise 0,0262 ile 0,0851 Pa.s aralığında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Ea değerleri 5,223-8,3473 kJ mol⁻¹ değerleri arasındadır.

Tablo 4.28 Taze mayonez örneklerinin Arrhenius denklemi parametreleri

Mayonez Çeşidi	Ao (Pa.s)	Ea (kJ mol ⁻¹)	R ²
Kontrol	0,0851 ^a ± 0.00	5,2237 ^c	0,9902
S1	0,0350 ^c ± 0.01	7,3319 ^b	0,9259
S2	0,0681 ^b ± 0.01	5,6938 ^c	0,9853
S3	0,0262 ^d ± 0.00	8,3473 ^a	0,9695

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

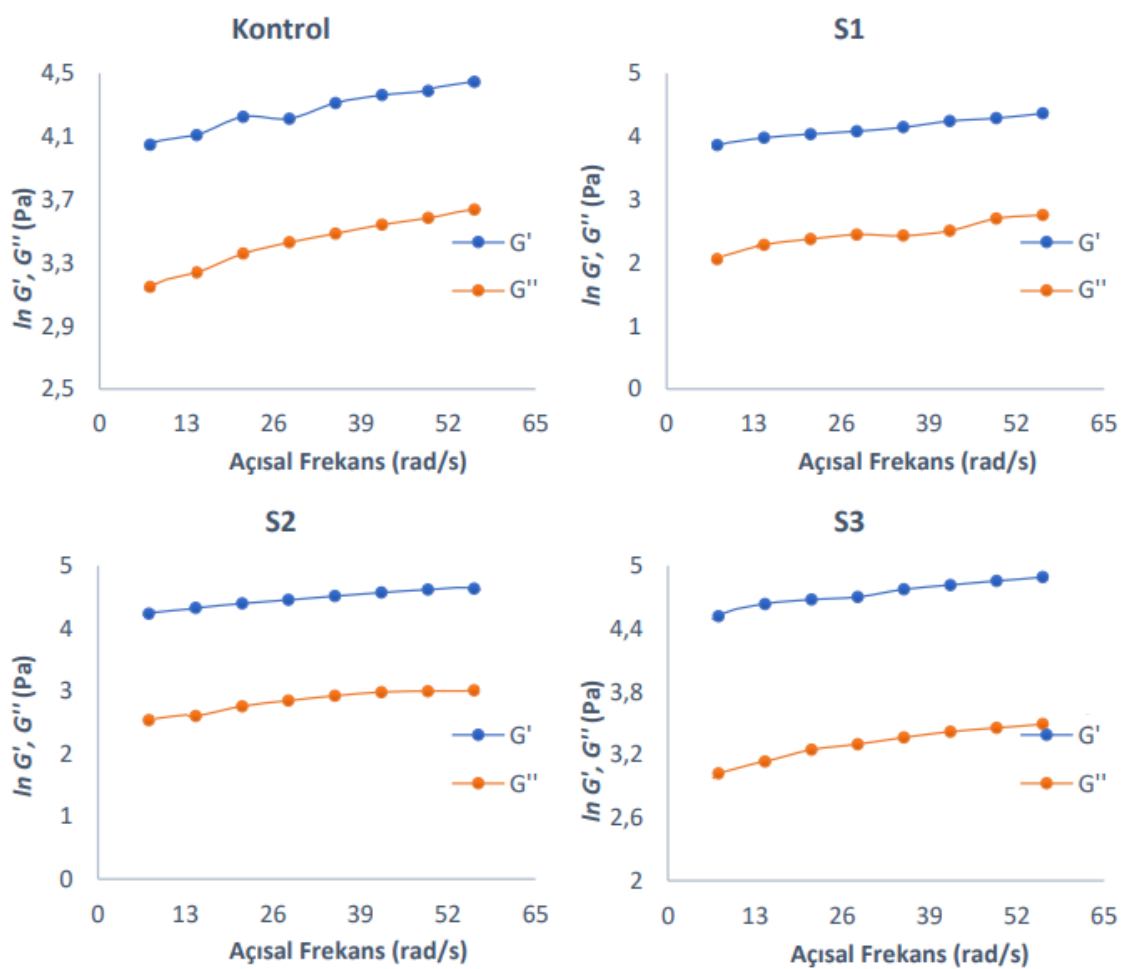
Mayonez numunelerinin hesaplanan Ao değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Öte yandan hesaplanan Ea değerleri incelendiğinde kontrol ve S2 örnekleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p > 0,05$) diğer örneklerin Ea değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

Ea, temel akış işleminin gerçekleşmesi için gerekli olan enerji olarak tanımlanmaktadır. Genellikle polimer konsantrasyonuna, iyonik güce, polimerin fizikokimyasal özelliklerine ve uygulanan kesme gerilimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [343]. Yüksek aktivasyon enerjisi değerleri, çözeltinin sıcaklığa daha duyarlı olduğunu ve mikroyapı değişimine olan yatkınlığı ifade etmektedir [344]. Yapılan analizler neticesinde S3 ve kontrol örneklerinin sırasıyla en yüksek ve en düşük Ea'ya sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, S3'ün mikroyapısının sıcaklığa daha duyarlı olduğu ve moleküllerinin oluşturduğu ağ yapısının artan sıcaklıkla kademeli olarak yok edildiği belirlenmiştir [345]. Sıcaklığın viskozite üzerindeki etkisi, yapının özellikleriyle yakından ilişkilidir [346]. Bu nedenle üretilen farklı mayonez örneklerinin farklı yapısal özelliklerine bağlı olarak farklı sıcaklık duyarlılığı göstermesi beklenen bir tutumdur.

4.4.9.3 Mayonez Örneklerinin Dinamik Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayonez, çevresindeki yağ damlacıkları etrafında adsorbe edilen lipoproteinler arasında meydana gelen bir ağ ile ilişkili olarak viskoelastik özellikler sergilemektedir [347]. O/W emülsiyonunun hazırlanmasının ardından yağ damlaları topraklaşarak viskoelastik davranış sergileyen üç boyutlu ağ yapıları oluşturmaktadır. Damlaları ayıran mesafe, van der Waals etkileşimlerine, elektrostatik ve sterik itme potansiyeline bağlı olarak değişiklik göstermektedir [348].

Mayonezlerin viskoelastik özellikleri frequency sweep testi ile belirlenmiştir. Bu test sonucunda elde edilen bulgulara göre açısal frekans (ω)'a karşı G' (elastik) ve G'' (viskoz) grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.19). Çizilen reogramların G' değeri G'' değerinden daha yüksek olduğundan dolayı mayonez örneklerinin elastik özelliklerinin viskoz özelliklerine göre daha baskın olduğu sonucuna varılmıştır. Yüksek elastikiyet modülü akmadan önce daha fazla basınç uygulanması gerektiğini ifade etmektedir. Polisakkaritler yağ damlacıkları ve protein granülleri arasındaki interaksyonu güçlendirerek mayonez örneklerinin katı benzeri (solid-like) özelliklerini indüklemektedir. Ayrıca polisakkarit ilavesi polisakkarit-protein etkileşimleri, polisakkarit-lipit etkileşimleri gibi farklı moleküler etkileşimlerin oluşumlarını etkileyerek reolojik özelliklerin değişmesine de katkıda bulunmaktadır [208].



Şekil 4.19 Mayonez örneklerinin açısal frekansa karşı G' ve G'' değerleri

Non-linear regresyon analizinden elde edilen verilerde çizilen grafikleri destekler niteliktedir. Yapılan bir çalışmada G' , salınım döngüsünde depolanan enerjinin bir ölçüsüyken ve G'' , salınım döngüsünde viskoz akış olarak yayılan enerjinin bir ölçüsü olduğu belirtilmiştir [349]. Daha yüksek G' değerinin emülsiyonun akmasını

sağlamak için daha yüksek gerilimlere ihtiyaç duyduğunu gösterdiği ifade edilmiştir [350].

Non-linear regresyon analizi, n' , n'' , K' , K'' ve R^2 değerlerini hesaplamak için salınım ölçümlerinden elde edilen verilere uygulanmıştır. R^2 değerlerinin 0,9370'ten daha yüksek olduğu belirlenmiş, bu da seçilen modelinin elde edilen değerlerle uyum içerisinde olduğunu göstermiştir. Tüm mayonez çeşitlerinin, K' değerleri (32.3075–64,7649 Pa. sⁿ), K'' değerlerinden (2,7157–16,7834 Pa. sⁿ) daha yüksektir. Bu durum test edilen numunelerin elastik özelliklerinin baskın olduğunun bir göstergesidir. Mayonez örneklerinin depolama modülü, kayıp modülü and kompleks viskozite parametreleri Tablo 4.29'da sunulmuştur.

Tablo 4.29 Mayonez örneklerinin depolama modülü, kayıp modülü ve kompleks viskozite parametreleri

Mayonez Çeşidi	$G' = K'(\omega)^{n'}$			$G'' = K''(\omega)^{n''}$			$\eta^* = K^*(\omega)^{n^*-1}$		
	$K' (\text{Pa.s}^n)$	n'	R^2	$K'' (\text{Pa.s}^n)$	n''	R^2	$K^* (\text{Pa.s}^n)$	n^*	R^2
Kontrol	$32,3075^d \pm 1,40$	0,2059	0,9370	$2,7157^d \pm 0,03$	0,4313	0,9696	66,4063	1,18388	0,9892
S1	$41,3552^b \pm 1,46$	0,1670	0,9821	$15,9662^b \pm 0,19$	0,2032	0,9766	47,9619	1,20049	0,9833
S2	$38,9735^c \pm 0,46$	0,1659	0,9757	$4,7776^c \pm 0,09$	0,3764	0,9625	32,8485	1,21483	0,9444
S3	$64,7659^a \pm 0,93$	0,1833	0,9853	$16,7834^a \pm 0,71$	0,2014	0,9733	40,2530	1,18338	0,9818

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$).

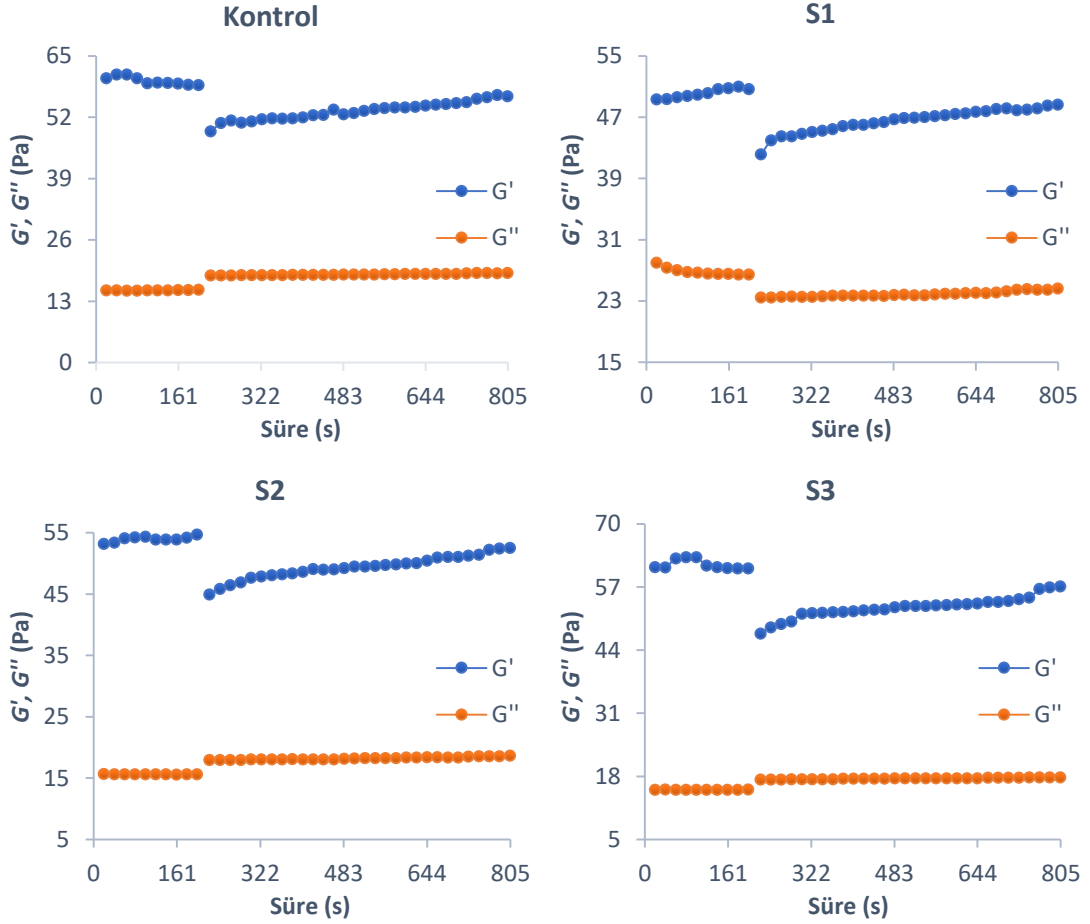
Elde edilen reogramlara göre G' değerlerinin frekans artışıyla birlikte hafifçe arttığı gözlemlenmiştir. Bu durumun sebebi elastik modüle katkıda bulunan damlacıklar arasındaki güçlü etkileşimlerden dolayı gevşemek için örneklerin uzun zamana ihtiyaç duymalarından kaynaklanmaktadır [351]. Dispersiyonların partikül büyüklüğü, şekli, konsantrasyonu ve sürekli fazda süspanse olan bileşenlerin davranışları gibi faktörlere bağlı olarak akışkanların stabilitesi değişkenlik göstermektedir [352]. Gıda ürünündeki yağ konsantrasyonu, elastik ve viskoelastik modülün büyüklüğünü etkilemektedir. Yüksek elastikiyet, süspansiyonu stabilize edecek bir ağ yapının göstergesidir [353]. Örneklerin içinde bulunan OIK ve BRYN miktarının artışıyla birlikte katı benzeri özelliklerinde de artış meydana gelmiş ve bu değişim istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan mayonezde kullanılan yağ çeşidinin değişmesi de mayonezin katı benzeri özelliklerini etkilemiş ve bu değişimin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Test edilen numunelerin n' (0,1659-0,2059) ve n'' (0,2014-0,4313) değerleri 1'den daha küçük olduğundan dolayı kesme-incelmesi davranışı sergiledikleri belirlenmiştir. Bu sonuçlar yatışkan kesme analizinden elde edilen sonuçlarla uyumluluk içindedir.

4.4.9.4 Mayonez Örneklerinin 3-ITT Analizlerinin Uygulanması ve Deformasyon ve Toparlanma Özelliklerinin Belirlenmesi

O/W emülsiyonları; üretimi sırasında yüksek hızda uygulanan karıştırma ve homojenizasyon işleminin yanı sıra tüketim esnasında ambalajlı ürün halinde sallanırken veya sıkılırken bazı deformasyonlara maruz kalabilmektedirler. Özellikle düşük ve orta yağ içeren emülsiyonlarda kalıcı deformasyon istenmemektedir. Bu nedenle, ürünlerin belirli bir süre deformasyondan sonra bekletilerek viskoelastik özelliklerini geri kazanmaları beklenmektedir [354]. Mayonez örneklerine ani bir deformasyon uygulanmasına bağlı olarak G' ve G'' değerlerindeki zamana bağlı değişimler Şekil 4.20'de yer almaktadır.

Grafiğe göre zamana bağlı olarak hem birinci aralıkta hem de üçüncü aralıkta tüm mayonez örneklerinin G' değerleri G'' değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Ancak yüksek deformasyona bağlı olarak belirtilen değerlerde toparlanma eğiliminden kaynaklı bir miktar azalma meydana gelmiştir. Tadros [349]'a göre, zamanla G' değerindeki artış, güçlü damlacıkların topaklaşmasının oluşumuna bağlanmaktadır. Floc (topak) yapısı, büyük miktarda sürekli fazı hapseder ve bunlar, emülsiyonun hacim fraksiyonunda belirgin bir artışa ve dolayısıyla da G' değerinde bir artışa yol açmaktadır. Flokülasyon ile damlacıklar arasındaki net çekim de artacağından dolayı G' değerinde artış meydana gelmektedir.



Şekil 4.20 Mayonez örneklerinin süreye bağlı olarak G' ve G'' değerlerindeki değişimler

Mayonez örneklerinin toparlanma eğilimlerinin detaylı tespiti için Second Order Structural Model'den yararlanılmıştır. Uygulanan modele göre K' değerleri $52,6083-268,4973 \text{ s}^{-1}$ aralığında bulunurken K'' değerleri $26,4548-258,3752 \text{ s}^{-1}$ aralığında tespit edilmiştir. Hesaplanan sonuçlarla çizilen grafikler paralellik göstermektedir. Çünkü grafikte G' değeri G'' değerinden daha büyüktür. Yine çizelgedeki sonuçlar incelendiğinde K' ifadesinin K'' 'dan daha yüksek olarak hesaplandığı görülmüştür ve test edilen örnekler katı benzeri özellik sergilemişlerdir. Ayrıca uygulanan 3ITT analizi verilerinden yararlanarak hesaplanan G' ve G'' değerleri için yüzde deformasyon ve toparlanma miktarları Tablo 4.30'da yer almaktadır. G' değerleri için yüzde toparlanma değerleri %95,98-97,50 iken G'' için %93,06-100 aralığındadır. Öte yandan yüzde deformasyon oranları G' ifadesi için %82,15-90 iken G'' için %88,65-100 aralığındadır. Bu durum kayma geriliminin mevcut olduğu durumlarda (örneğin borudan pompalama gibi) örneklerin dayanıklı olacağının bir göstergesidir. Ayrıca, (reversible structure breakdown) ve (recovery)'nin arzulandığı sürülebilir formülasyonlarda potansiyel bir kullanım alanı olan mayonez üstün tiksotropik özellikler sergilemektedir.

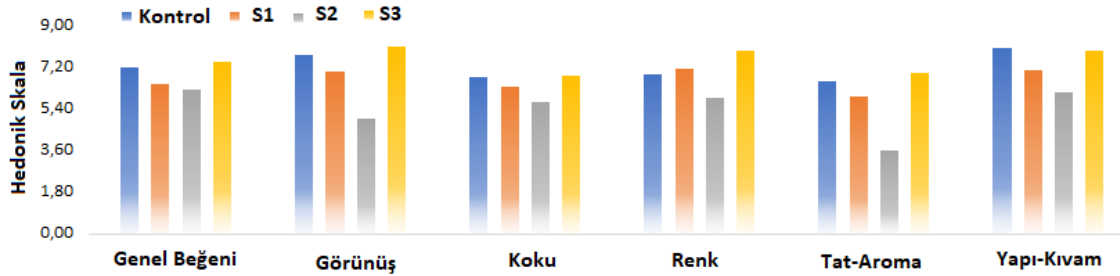
Tablo 4.30 Depolama ve Kayıp modulün Second order structural model parametreleri ve yüzde deformasyon - toparlanma yüzdeleri

Mayonez Çeşidi	G'		G''		G'		G''	
	R^2	$K' (s^{-1})$	R^2	$K'' (s^{-1})$	Deformasyon (%)	Toparlanma (%)	Deformasyon (%)	Toparlanma (%)
Kontrol	0,9004	52,6083 ^b	0,8174	26,4548 ^b	83,28 ^{ab}	95,98 ^a	100 ^a	100 ^a
S1	0,9462	105,6213 ^b	0,8388	34,3816 ^b	83,21 ^b	95,98 ^a	88,65 ^b	93,06 ^a
S2	0,9263	56,2828 ^b	0,8396	26,5104 ^b	82,15 ^b	96,04 ^a	100 ^a	100 ^a
S3	0,8783	268,4973 ^a	0,9239	258,3752 ^a	90,00 ^a	97,50 ^a	100 ^a	100 ^a

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student's t-testi'ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

4.4.10 Mayonez Örneklerinin Duyusal Değerlendirmesi

Mayonez örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 4.21’de yer almaktadır. Yanı sıra mayonez örneklerinin duyusal karakteristik parametreleri sonuçları ve bahsedilen sonuçların istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4.31’de sunulmuştur.



Şekil 4.21 Taze mayonez örneklerinin duyusal analiz sonuçları

Tablo 4.31 BRY, BRYN veya OIK içeren mayonez örneklerinin duyusal değerlendirmesi

Mayonez Çeşidi	Görünüş	Koku	Renk	Tat & Aroma	Yapı & Kıvam	Genel Beğeni
Kontrol	7,50 ^{ab}	6,56 ^a	6,67 ^b	6,42 ^a	7,78 ^a	7,00 ^{ab}
S1	6,83 ^c	6,17 ^b	6,94 ^c	5,75 ^b	6,89 ^c	6,28 ^b
S2	4,83 ^b	5,56 ^{ab}	5,72 ^b	3,50 ^{ab}	5,94 ^b	6,06 ^b
S3	7,83 ^a	6,61 ^a	7,67 ^a	6,75 ^a	7,67 ^a	7,22 ^a

Kontrol: BRY ya da BRYN ilavesi olmayan mayonez; S1: Sadece BRY içeren mayonez; S2: Sadece OIK Kompleksi içeren mayonez; S3: Sadece BRYN içeren mayonez; Aynı sütunda yer alan farklı harfler Student’s t-testi’ne göre istatistiksel olarak farkın önemli olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Üretilen taze mayonez örnekleri arasında en düşük görünüm, koku, renk, tat ve aroma, yapı-kıvam ve genel beğeni skorlarını S2 örneği almıştır. Görünüm, özellikle renk, gıda ürünlerinin tercih edilebilirliğini ve kabul edilebilirliğini etkileyerek gıda seçiminde en önemli rolü oynamaktadır [355]. Bununla birlikte, yağ ikamesi olarak OIK kompleksinin kullanımının görünüm, koku, renk, tat ve aroma, yapı-kıvam ve genel beğeni skorlarına etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Mayonez örneklerinde yağ ikamesi olarak OIK kompleksi kullanımı görünüm ve renk açısından tüketici tercihlerini etkileyebilmektedir. Nitekim, Santipanichwong ve Supphantharika [302] yaptıkları çalışmada, mayonez örneklerine yağ ikamesi olarak β -glukan kullanımının renk ve görünümü etkilediği ve daha düşük duyusal kaliteye sahip olduğu belirtilmiştir. Öte yandan, yağ içeriğinin azaltılması zayıf ağız hissi ve tad algısına neden olarak duyusal kalitenin bozulmasına da neden olabilmektedir [304].

Elde edilen sonuçlara göre BRYN içeren mayonez örneklerinin görünüm, koku, renk, tat ve lezzet, yapı-kıvam ve genel beğeni açısından en yüksek puana sahip olduğu belirlenmiştir ve bu sonuçlar istatistiksel açıdan da oldukça önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan, genel beğeni yönünden S1 ve S2 örnekleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p<0,05$). Son araştırmalar, doğal antioksidan içeren bileşenlerin mayoneze dahil edilmesinin mayonezin oksidatif stabilitesini artırabileceğini göstermiştir. Ancak, doğal antioksidanlar, duyuşal özellikler üzerinde olumsuz bir etki yaratabileceği ve bu sorunun üstesinden gelebilmek için oksidasyonu geciktirme mekanizmasının kullanılması gerektiği belirtilmiştir [297]. Bu nedenle elde edilen duyuşal analiz sonuçlarından antioksidan yönünden zengin BRY'nin tek başına kullanımı yerine nanopartikül halinde taze mayonez üretiminde kullanımının tüketici beğenisini arttırdığı düşünülebilir.

5 Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmayla birlikte;

1. Isırgan tohumundan gam eldesi, gamın teknolojik ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi,
2. ITG, yüksek molekül ağırlıklı KS ve OVA arasındaki iyonik interaksyondan faydalanılarak zengin besleyici özelliğe sahip BRY'nin nano ölçekte enkapsülasyonunun gerçekleştirilmesi ve nanopartiküllerin karakteristiklerinin tespit edilmesi,
3. Optimum koşullarda üretilen BRYN'lerin mayonez örneklerine ilave edilerek depolama süresi boyunca ürünlerde meydana getirecekleri değişimlerin takip edilmesi gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada ITG'nin fizyokimyasal, fonksiyonel ve reolojik özellikleri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Maksimum ekstraksiyon verimi, Yanıt Yüzey Metodu'na göre %6,17 olarak belirlenmiştir ve ekstraksiyon verimi ekstraksiyon koşullarından önemli ölçüde etkilenmiştir. Şeker analizi neticesinde gamın galaktomannan yapıda olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, DSC analizi ITG'nin yüksek sıcaklık koşullarında kullanılabileceğini ortaya koyulmuştur. Reolojik ölçümler sonucunda, ITG'nin çoğu hidrokolloid gibi kayma incelmesi davranışı sergilediği belirlenmiştir. Dinamik reolojik analizler, ITG'nin elastik özelliklerinin baskın olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak ITG'nin, gıda endüstrisinde halihazırda kullanılan kıvam arttırıcılara alternatif olabileceği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada aynı zamanda, iyonik jelasyon yöntemi (damlatma) ile KS-ITG-OVA kullanarak BRY'nin nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Yanıt yüzeyi metodolojisi vasıtasıyla kaplama materyalinin damlacık boyutu ve zeta potansiyeli değerleri optimize edilerek oluşturulan denklemler aracılığıyla değerlerin tahmini kolaylaştırılmıştır. Ayrıca, bu metodoloji sayesinde kaplama materyalinin maksimum

zeta potansiyeli ve minimum tanecik boyutu değerine sahip olduğu şartlar (ITG: KS miktarı:30mL, OVA miktarı:20mL ve pH:3) belirlenmiştir. Öte yandan %4 oranında BRY bulunduran nanokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği %71,91 olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, KS, OVA ve ITG görünür faz ayrımı olmaksızın BRY ile stabil emülsiyonlar oluşturmuştur ve nanoemülsiyon örnekleri Newton akışı göstermiştir. Ayrıca, BRY'nin kaplama materyaline enkapsülasyonu ile pürüzsüz yapı görüntüsü yerini buruşuk bir yüzey görüntüsüne bırakmıştır. Sitotoksite analizi sonucunda, OVA, KS, ITG, BRY, OIK Kompleksi ve BRYN'nin artan konsantrasyonunda (0-10 mg/mL) genel olarak fibroblast hücrelerinin canlılığında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Son olarak bu çalışmada nanokapsüllerin gıda endüstrisinde potansiyel kullanımını belirleme, depolama süresince (0., 30., 60. ve 90. gün) yapısındaki değişimleri tespit etme ve yeni fonksiyonel ürünler ortaya koyma amacıyla 4 farklı reçeteye sahip mayonez örneği hazırlanmıştır. Edinilen bulgulara göre, mayonez numunelerinin saklama süresi boyunca faz ayrımı belirlenmemiştir. Örneklerin pH değerlerinde 60. güne kadar bir düşme gözlemlenirken 60- 90. gün arasında değişim meydana gelmemiştir. Genel olarak, sabit kesme ölçümleri mayonez numunelerinin Newton olmayan kesme incelmesi özelliği sergilediğini göstermiştir. Sıcaklık tarama testine göre sıcaklık artışına bağlı olarak numunelerin viskozitesinde azalma meydana gelmiştir. Viskoelastik ölçümler, BRYN içeren mayonez örneklerinin akması için daha fazla basınca (stress) ihtiyaç duyduğunu göstermiştir. Ek olarak, 3ITT ölçümleri mayonez örneklerinin tiksotropik davranışlarını ve tersinir yapı parçalanması ve toparlanma karakteristiklerini ortaya koymuştur. Öte yandan, BRYN içeren mayonez örneklerinde en düşük peroksit ve serbest yağ asidi değeri ölçüldüğünden dolayı BRYN'nin mayonez formülasyonlarında kullanılabileceği ve raf ömrünü uzatabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, panelistler tarafından değerlendirilen duyusal analiz sonucuna göre en yüksek puanlar BRYN içeren mayonez örneklerine verilmiştir.

Yukarıda belirtilen sonuçlar, bu çalışma neticesinde gerçekleştirilen enkapsülasyon işleminin etkinliğini ortaya çıkarmıştır. Mayonez örneklerine BRYN ilavesi özellikle 90 gün depolama süresi boyunca peroksit değeri artışını ve serbest asit değerini diğer örneklerle nazaran büyük ölçüde etkilemiştir. Bahsedilen sonuçlardan yola çıkarak BRY yüklü nanopartiküllerin mayonez örneklerinde bir ingrediyen olarak kullanılabileceği, bileşiminde yer alan doğal antioksidanların sentetik antioksidanlara karşı belirli bir dereceye kadar alternatif bir araç olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılabilir. Ayrıca mayonez üretim formülasyonunda ayçiçek yağı yerine BRY,OIK kompleksi ve BRYN kullanımı daha sağlıklı ve besleyici değeri yüksek olan mayonez ürünü eldesi sağlamıştır. Öte yandan, bahsedilen faydalarına karşı yapılan maliyet hesabına göre

mayonez formülasyonunda sadece BRY kullanımı kontrole kıyasla maliyeti 2,4 kat, OIK kompleksi kullanımı 1,73 kat ve BRYN kullanımı ise yaklaşık 3 kat artışa neden olmuştur. Sonuç olarak, sağlıklı yaşama ve besinsel açıdan zengin gıdalara olan ilgi her geçen gün artış gösterdiğinden dolayı farklı formülasyonlarda üretilen mayonez örneklerinin gıda endüstrisinde mayonezseverler için yeni bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamız kapsamında bulunabilecek öneriler aşağıda belirtilmiştir:

1. Üretilen mayonez örneklerinin enstrümantal analiz ve duyu analizlerinin kıyaslanması,
2. Üretilen nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi,
3. Nanokapsüllerde depolama süresi boyunca meydana gelen oksidasyon parametrelerinin değişiminin incelenmesi,
4. Nanokapsüllerin salım özelliklerinin belirlenmesi,
5. Üretilen nanopartiküllerin mayonez haricinde farklı model sistemlerde denenmesi,
6. Farklı sıcaklıklarda mayonezlerin depolanmasının oksidatif stabilite üzerine etkisinin araştırılması,
7. BRY, BRYN'lerin tokoferol içeriği yönünden biyoerişebilirlik analizlerinin yapılması,
8. *İn vitro* biyoerişebilirlik analizi yerine *in vivo* çalışmaların yapılması.

- [1] M. Fathi, M. R. Mozafari, M. Mohebbi, "Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems," *Trends in food science & technology*, vol. 23, no. 1, pp. 13–27, 2012.
- [2] Z. Fang, B. Bhandari, "Encapsulation of polyphenols—a review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, no. 10, pp. 510–523, 2010.
- [3] A. Benichou, A. Aserin, N. Garti, "Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions," *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 23, no. 1-3, pp. 93–123, 2002.
- [4] N. A. Avramenko, C. Chang, N. H. Low, M. T. Nickerson, "Encapsulation of flaxseed oil within native and modified lentil protein-based microcapsules," *Food research international*, vol. 81, pp. 17–24, 2016.
- [5] K. Humblet-Hua, G. Scheltens, E. Van Der Linden, L. Sagis, "Encapsulation systems based on ovalbumin fibrils and high methoxyl pectin," *Food Hydrocolloids*, vol. 25, no. 4, pp. 569–576, 2011.
- [6] S. Nakayama, Y. Kimura, S. Miki, J. Oshitani, T. Kobayashi, S. Adachi, T. Matsuura, H. Imanaka, N. Ishida, H. Tada, *et al.*, "Influence of sugar surfactant structure on the encapsulation of oil droplets in an amorphous sugar matrix during freeze-drying," *Food Research International*, vol. 70, pp. 143–149, 2015.
- [7] N. T. Dunford, M. Zhang, "Pressurized solvent extraction of wheat germ oil," *Food Research International*, vol. 36, no. 9-10, pp. 905–909, 2003.
- [8] M. Capitani, C. Mateo, S. Nolasco, "Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration," *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 28, no. 2, pp. 243–250, 2011.
- [9] U. Krings, Y. S. El-Saharty, B. A. El-Zeany, B. Pabel, R. G. Berger, "Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ," *Food chemistry*, vol. 71, no. 1, pp. 91–95, 2000.
- [10] E. Dickinson, "Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems," *Food hydrocolloids*, vol. 17, no. 1, pp. 25–39, 2003.
- [11] S. Bisht, S. Bhandari, S. Bisht, "Urtica dioica l., an undervalued, economically distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures," *Toxicol. Appl. Pharmacol*, vol. 143, pp. 120–129, 2012.
- [12] J. H. Hamman, "Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems," *Marine drugs*, vol. 8, no. 4, pp. 1305–1322, 2010.

- [13] M. Weijers, L. Sagis, C. Veerman, B. Sperber, E. Van Der Linden, "Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength," *Food Hydrocolloids*, vol. 16, no. 3, pp. 269–276, 2002.
- [14] G. Kutlu, F. Bozkurt, F. Tornuk, "Extraction of a novel water-soluble gum from nettle (*urtica dioica*) seeds: Optimization and characterization," *International journal of biological macromolecules*, vol. 162, pp. 480–489, 2020.
- [15] J. M. Aguilera, "Microstructure and food product engineering," *Food technology (Chicago)*, vol. 54, no. 11, pp. 56–65, 2000.
- [16] F. Donsi, M. Annunziata, M. Sessa, G. Ferrari, "Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 44, no. 9, pp. 1908–1914, 2011.
- [17] E. K. Arendt, E. Zannini, *Cereal grains for the food and beverage industries*. Elsevier, 2013.
- [18] Z. P. Gumus, E. Guler, B. Demir, F. B. Barlas, M. Yavuz, D. Colpankan, A. M. Senisik, S. Teksoz, P. Unak, H. Coskunol, *et al.*, "Herbal infusions of black seed and wheat germ oil: Their chemical profiles, in vitro bio-investigations and effective formulations as phyto-nanoemulsions," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 133, pp. 73–80, 2015.
- [19] U. Krings, R. Berger, "Antioxidant activity of some roasted foods," *Food chemistry*, vol. 72, no. 2, pp. 223–229, 2001.
- [20] N. Gelmez, N. S. Kincal, M. E. Yener, "Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts," *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 48, no. 3, pp. 217–224, 2009.
- [21] K.-X. Zhu, H.-M. Zhou, H.-F. Qian, "Proteins extracted from defatted wheat germ: Nutritional and structural properties," *Cereal Chemistry*, vol. 83, no. 1, pp. 69–75, 2006.
- [22] A. Marti, L. Torri, M. C. Casiraghi, L. Franzetti, S. Limbo, F. Morandin, L. Quaglia, M. A. Pagani, "Wheat germ stabilization by heat-treatment or sourdough fermentation: Effects on dough rheology and bread properties," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 59, no. 2, pp. 1100–1106, 2014.
- [23] R. D. Gili, R. M. T. Irigoyen, M. C. Penci, S. A. Giner, P. D. Ribotta, "Physical characterization and fluidization design parameters of wheat germ," *Journal of Food Engineering*, vol. 212, pp. 29–37, 2017.
- [24] M. Karabacak, M. Kanbur, G. Eraslan, Z. S. Sarıca, "The antioxidant effect of wheat germ oil on subchronic coumaphos exposure in mice," *Ecotoxicology and environmental safety*, vol. 74, no. 7, pp. 2119–2125, 2011.
- [25] F. Leenhardt, A. Fardet, B. Lyan, E. Gueux, E. Rock, A. Mazur, E. Chanliaud, C. Demigné, C. Rémésy, "Wheat germ supplementation of a low vitamin E diet in rats affords effective antioxidant protection in tissues," *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 27, no. 2, pp. 222–228, 2008.
- [26] S. Irmak, N. T. Dunford, "Policosanols contents and compositions of wheat varieties," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, no. 14, pp. 5583–5586, 2005.

- [27] G. Panfili, L. Cinquanta, A. Fratianni, R. Cubadda, "Extraction of wheat germ oil by supercritical co 2: Oil and defatted cake characterization," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 80, no. 2, pp. 157–161, 2003.
- [28] M. Małecka, "Antioxidant properties of the unsaponifiable matter isolated from tomato seeds, oat grains and wheat germ oil," *Food Chemistry*, vol. 79, no. 3, pp. 327–330, 2002.
- [29] M. Anwar, N. Mohamed, "Amelioration of liver and kidney functions disorders induced by sodium nitrate in rats using wheat germ oil," *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 8, no. 1, pp. 77–83, 2015.
- [30] H. Schwartz, V. Ollilainen, V. Piironen, A.-M. Lampi, "Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 21, no. 2, pp. 152–161, 2008.
- [31] B. S. Reddy, Y. Hirose, L. A. Cohen, B. Simi, I. Cooma, C. V. Rao, "Preventive potential of wheat bran fractions against experimental colon carcinogenesis: Implications for human colon cancer prevention," *Cancer research*, vol. 60, no. 17, pp. 4792–4797, 2000.
- [32] M. E. Shils, J. A. Olson, M. Shike, "Modern nutrition in health and disease," 1994.
- [33] M. K. Jensen, P. Koh-Banerjee, F. B. Hu, M. Franz, L. Sampson, M. Grønbaek, E. B. Rimm, "Intakes of whole grains, bran, and germ and the risk of coronary heart disease in men," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 80, no. 6, pp. 1492–1499, 2004.
- [34] O. Sjövall, T. Virtalaine, A. Lapveteläinen, H. Kallio, "Development of rancidity in wheat germ analyzed by headspace gas chromatography and sensory analysis," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 48, no. 8, pp. 3522–3527, 2000.
- [35] M. Eisenmenger, N. T. Dunford, "Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 85, no. 1, pp. 55–61, 2008.
- [36] T. Fornari, "Supercritical co2 extraction: Relevance to food processing," 2016.
- [37] Q. Lang, C. M. Wai, "Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review," *Talanta*, vol. 53, no. 4, pp. 771–782, 2001.
- [38] W. H. Hauthal, "Advances with supercritical fluids," *Chemosphere*, vol. 43, no. 1, pp. 123–135, 2001.
- [39] N. De Zordi, A. Cortesi, I. Kikic, M. Moneghini, V. Baldan, S. Sut, D. Solinas, S. Dall'Acqua, "The supercritical carbon dioxide extraction of ω -3, ω -6 lipids and β -sitosterol from italian walnuts: A central composite design approach," *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 127, pp. 223–228, 2017.
- [40] P. Pittia, A. Gambi, C. Lerici, "Hygrometric measurements for the evaluation of the stability of model food emulsions," *Food research international*, vol. 30, no. 3-4, pp. 177–184, 1997.
- [41] J. Bibette, F. L. Calderon, P. Poulin, "Emulsions: Basic principles," *Reports on Progress in Physics*, vol. 62, no. 6, p. 969, 1999.

- [42] D. J. McClements, *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press, 2015.
- [43] S. M. Jafari, *Nanoencapsulation of food bioactive ingredients: Principles and applications*. Academic Press, 2017.
- [44] T. G. Mason, J. N. Wilking, K. Meleson, C. B. Chang, S. M. Graves, "Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties," *Journal of Physics: condensed matter*, vol. 18, no. 41, R635, 2006.
- [45] E. Bouyer, G. Mekhloufi, V. Rosilio, J.-L. Grossiord, F. Agnely, "Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?" *International journal of pharmaceutics*, vol. 436, no. 1-2, pp. 359–378, 2012.
- [46] E. J. Windhab, M. Dressler, K. Feigl, P. Fischer, D. Megias-Alguacil, "Emulsion processing—from single-drop deformation to design of complex processes and products," *Chemical Engineering Science*, vol. 60, no. 8-9, pp. 2101–2113, 2005.
- [47] I. Capek, *Adv. colloid interface sci*, 2004.
- [48] A. R. Taherian, M. Britten, H. Sabik, P. Fustier, "Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion," *Food Hydrocolloids*, vol. 25, no. 5, pp. 868–878, 2011.
- [49] J. Perrier-Cornet, P. Marie, P. Gervais, "Comparison of emulsification efficiency of protein-stabilized oil-in-water emulsions using jet, high pressure and colloid mill homogenization," *Journal of Food Engineering*, vol. 66, no. 2, pp. 211–217, 2005.
- [50] H. D. Silva, M. A. Cerqueira, B. W. Souza, C. Ribeiro, M. C. Avides, M. A. Quintas, J. S. Coimbra, M. G. Carneiro-da-Cunha, A. A. Vicente, "Nanoemulsions of β -carotene using a high-energy emulsification–evaporation technique," *Journal of Food Engineering*, vol. 102, no. 2, pp. 130–135, 2011.
- [51] M. Katsouli, V. Polychniatou, C. Tzia, "Optimization of water in olive oil nano-emulsions composition with bioactive compounds by response surface methodology," *LWT*, vol. 89, pp. 740–748, 2018.
- [52] D. Julian McClements, L. Henson, L. M. Popplewell, E. A. Decker, S. Jun Choi, "Inhibition of ostwald ripening in model beverage emulsions by addition of poorly water soluble triglyceride oils," *Journal of food science*, vol. 77, no. 1, pp. C33–C38, 2012.
- [53] B. da Silva Pereira, M. F. Silva, P. R. S. Bittencourt, D. M. F. de Oliveira, E. A. G. Pineda, A. A. W. Hechenleitner, "Cellophane and filter paper as cellulosic support for silver nanoparticles and its thermal decomposition catalysis," *Carbohydrate polymers*, vol. 133, pp. 277–283, 2015.
- [54] T. K. N. Hoang, L. Deriemaeker, V. B. La, R. Finsy, "Monitoring the simultaneous ostwald ripening and solubilization of emulsions," *Langmuir*, vol. 20, no. 21, pp. 8966–8969, 2004.

- [55] S. W. Han, H. Y. Song, T. W. Moon, S. J. Choi, "Influence of emulsion interfacial membrane characteristics on ostwald ripening in a model emulsion," *Food chemistry*, vol. 242, pp. 91–97, 2018.
- [56] J. Santos, N. Calero, L. Trujillo-Cayado, M. Garcia, J. Muñoz, "Assessing differences between ostwald ripening and coalescence by rheology, laser diffraction and multiple light scattering," *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 159, pp. 405–411, 2017.
- [57] E. Dickinson, *Introduction to food colloids*. Oxford university press, 1992.
- [58] N. Garti, D. J. McClements, *Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals*. Elsevier, 2012.
- [59] E.-S. Chan, "Preparation of ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties," *Carbohydrate polymers*, vol. 84, no. 4, pp. 1267–1275, 2011.
- [60] S. M. Jafari, E. Assadpoor, Y. He, B. Bhandari, "Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying," *Drying technology*, vol. 26, no. 7, pp. 816–835, 2008.
- [61] F. E. Vasile, M. A. Judis, M. F. Mazzobre, "Prosopis alba exudate gum as novel excipient for fish oil encapsulation in polyelectrolyte bead system," *Carbohydrate polymers*, vol. 166, pp. 309–319, 2017.
- [62] F. Shahidi, X.-Q. Han, "Encapsulation of food ingredients," *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, vol. 33, no. 6, pp. 501–547, 1993.
- [63] J. M. Lakkis *et al.*, *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. Wiley Online Library, 2007.
- [64] S. Ray, U. Raychaudhuri, R. Chakraborty, "An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology," *Food Bioscience*, vol. 13, pp. 76–83, 2016.
- [65] I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, "Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 64, pp. 24–36, 2012.
- [66] V. Nedovic, A. Kalusevic, V. Manojlovic, S. Levic, B. Bugarski, "An overview of encapsulation technologies for food applications," *Procedia Food Science*, vol. 1, pp. 1806–1815, 2011.
- [67] W. Abdelwahed, G. Degobert, H. Fessi, "Freeze-drying of nanocapsules: Impact of annealing on the drying process," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 324, no. 1, pp. 74–82, 2006.
- [68] A. Ciurzyńska, A. Lenart, "Freeze-drying-application in food processing and biotechnology-a review," *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 61, no. 3, pp. 165–171, 2011.
- [69] J. Jin, E. J. Yurkow, D. Adler, T.-C. Lee, "Improved freeze drying efficiency by ice nucleation proteins with ice morphology modification," *Food Research International*, vol. 106, pp. 90–97, 2018.
- [70] J.-J. Wu, N. Gan, L. Hu, S.-S. Chen, H.-C. Pan, H. Liu, "Effect of lyophilization process on the physical properties and stability of tanshinone iia microemulsions," *Drying Technology*, vol. 35, no. 10, pp. 1225–1233, 2017.

- [71] M. J. Ramirez, G. I. Giraldo, C. E. Orrego, "Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates," *Powder Technology*, vol. 277, pp. 89–96, 2015.
- [72] J. C. Kasper, W. Friess, "The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals," *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*, vol. 78, no. 2, pp. 248–263, 2011.
- [73] A. R. do Vale Morais, É. do Nascimento Alencar, F. H. X. Júnior, C. M. De Oliveira, H. R. Marcelino, G. Barratt, H. Fessi, E. S. T. Do Egito, A. Elaissari, "Freeze-drying of emulsified systems: A review," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 503, no. 1-2, pp. 102–114, 2016.
- [74] P. Patil, D. Chavanke, M. Wagh, "A review on ionotropic gelation method: Novel approach for controlled gastroretentive gelspheres," *Int J Pharm Pharm Sci*, vol. 4, no. 4, pp. 27–32, 2012.
- [75] N. J. Zuidam, E. Shimoni, "Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them," in *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, Springer, 2010, pp. 3–29.
- [76] Y. Nemati, P. Zahedi, M. Baghdadi, S. Ramezani, "Microfluidics combined with ionic gelation method for production of nanoparticles based on thiol-functionalized chitosan to adsorb hg (II) from aqueous solutions," *Journal of environmental management*, vol. 238, pp. 166–177, 2019.
- [77] S. Goin, "Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies," *Food Sci. Technol.*, vol. 15, pp. 330–347, 2004.
- [78] N. Anton, J.-P. Benoit, P. Saulnier, "Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—a review," *Journal of controlled release*, vol. 128, no. 3, pp. 185–199, 2008.
- [79] K. O. Aboalnaja, S. Yaghmoor, T. A. Kumosani, D. J. McClements, "Utilization of nanoemulsions to enhance bioactivity of pharmaceuticals, supplements, and nutraceuticals: Nanoemulsion delivery systems and nanoemulsion excipient systems," *Expert opinion on drug delivery*, vol. 13, no. 9, pp. 1327–1336, 2016.
- [80] D. Guzey, D. J. McClements, "Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry," *Advances in colloid and interface science*, vol. 128, pp. 227–248, 2006.
- [81] D. J. McClements, J. Rao, "Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 51, no. 4, pp. 285–330, 2011.
- [82] H. D. Silva, M. Â. Cerqueira, A. A. Vicente, "Nanoemulsions for food applications: Development and characterization," *Food and bioprocess technology*, vol. 5, no. 3, pp. 854–867, 2012.
- [83] V. Patravale, P. Dandekar, R. Jain, "Nanoparticulate systems as drug carriers: The need," *Nanoparticulate Drug Delivery*, p. 1, 2012.
- [84] D. J. McClements, E. A. Decker, Y. Park, J. Weiss, "Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 49, no. 6, pp. 577–606, 2009.

- [85] J. Rao, D. J. McClements, "Lemon oil solubilization in mixed surfactant solutions: Rationalizing microemulsion & nanoemulsion formation," *Food Hydrocolloids*, vol. 26, no. 1, pp. 268–276, 2012.
- [86] B. Chen, D. J. McClements, E. A. Decker, "Role of continuous phase anionic polysaccharides on the oxidative stability of menhaden oil-in-water emulsions," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, no. 6, pp. 3779–3784, 2010.
- [87] J. Carpenter, S. George, V. K. Saharan, "A comparative study of batch and recirculating flow ultrasonication system for preparation of multilayer olive oil in water emulsion stabilized with whey protein isolate and sodium alginate," *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, vol. 125, pp. 139–149, 2018.
- [88] Q. Huang, H. Yu, Q. Ru, "Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology," *Journal of food science*, vol. 75, no. 1, R50–R57, 2010.
- [89] T. Mehmood, A. Ahmad, A. Ahmed, Z. Ahmed, "Optimization of olive oil based o/w nanoemulsions prepared through ultrasonic homogenization: A response surface methodology approach," *Food chemistry*, vol. 229, pp. 790–796, 2017.
- [90] S. G. Gaikwad, A. B. Pandit, "Ultrasound emulsification: Effect of ultrasonic and physicochemical properties on dispersed phase volume and droplet size," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 15, no. 4, pp. 554–563, 2008.
- [91] M. Fanun, "Microemulsions with nonionic surfactants and mixed oils," *Soft Materials*, vol. 7, no. 4, pp. 258–276, 2009.
- [92] T. Leong, T. Wooster, S. Kentish, M. Ashokkumar, "Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification," *Ultrasonics sonochemistry*, vol. 16, no. 6, pp. 721–727, 2009.
- [93] A. Jintapattanakit, H. M. Hasan, V. B. Junyaprasert, "Vegetable oil-based nanoemulsions containing curcuminoids: Formation optimization by phase inversion temperature method," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 44, pp. 289–297, 2018.
- [94] S. Freitas, G. Hielscher, H. P. Merkle, B. Gander, "Continuous contact-and contamination-free ultrasonic emulsification—a useful tool for pharmaceutical development and production," *Ultrasonics sonochemistry*, vol. 13, no. 1, pp. 76–85, 2006.
- [95] Y. Singh, J. G. Meher, K. Raval, F. A. Khan, M. Chaurasia, N. K. Jain, M. K. Chourasia, "Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery," *Journal of controlled release*, vol. 252, pp. 28–49, 2017.
- [96] S. Mahdi Jafari, Y. He, B. Bhandari, "Nano-emulsion production by sonication and microfluidization—a comparison," *International Journal of Food Properties*, vol. 9, no. 3, pp. 475–485, 2006.
- [97] D. Kregiel, E. Pawlikowska, H. Antolak, "Urtica spp.: Ordinary plants with extraordinary properties," *Molecules*, vol. 23, no. 7, p. 1664, 2018.
- [98] J. Guil-Guerrero, M. Rebolloso-Fuentes, M. T. Isasa, "Fatty acids and carotenoids from stinging nettle (*urtica dioica* l.)," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 16, no. 2, pp. 111–119, 2003.

- [99] S. A. Dar, F. A. Ganai, A. R. Yousuf, M.-H. Balkhi, T. M. Bhat, P. Sharma, "Pharmacological and toxicological evaluation of urtica dioica," *Pharmaceutical Biology*, vol. 51, no. 2, pp. 170–180, 2013.
- [100] C. Bourgeois, É. A. Leclerc, C. Corbin, J. Doussot, V. Serrano, J.-R. Vanier, J.-M. Seigneuret, D. Auguin, C. Pichon, É. Lainé, *et al.*, "Nettle (urtica dioica l.) as a source of antioxidant and anti-aging phytochemicals for cosmetic applications," *Comptes Rendus Chimie*, vol. 19, no. 9, pp. 1090–1100, 2016.
- [101] L. K. Rutto, Y. Xu, E. Ramirez, M. Brandt, "Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (urtica dioica l.)," *International journal of food science*, vol. 2013, 2013.
- [102] R. Upton, "Stinging nettles leaf (urtica dioica l.): Extraordinary vegetable medicine," *Journal of Herbal Medicine*, vol. 3, no. 1, pp. 9–38, 2013.
- [103] Z. Zeković, A. Cvetanović, J. Švarc-Gajić, S. Gorjanović, D. Sužnjević, P. Mašković, S. Savić, M. Radojković, S. Đurović, "Chemical and biological screening of stinging nettle leaves extracts obtained by modern extraction techniques," *Industrial Crops and Products*, vol. 108, pp. 423–430, 2017.
- [104] Z. Zamani, S. M. Razavi, "Physicochemical, rheological and functional properties of nettle seed (urtica pilulifera) gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 112, p. 106304, 2021.
- [105] Z. Genc, A. Yarat, T. Tunali-Akbay, G. Sener, S. Cetinel, R. Pisiriciler, E. Caliskan-Ak, A. Altıntas, B. Demirci, "The effect of stinging nettle (urtica dioica) seed oil on experimental colitis in rats," *Journal of medicinal food*, vol. 14, no. 12, pp. 1554–1561, 2011.
- [106] M. Irani, R. Choopani, S. Esmaeili, T. Dargahi, S. Athari, S. Athari, "Effect of nettle seed on immune response in a murine model of allergic asthma," *Revue Française d'Allergologie*, vol. 60, no. 5, pp. 417–422, 2020.
- [107] K. Reddy, G. Krishna Mohan, S. Satla, S. Gaikwad, "Natural polysaccharides: Versatile excipients for controlled drug delivery systems.," *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 6, no. 6, 2011.
- [108] P. Williams, *In handbook of hydrocolloids; phillips, go; williams, pa, eds*, 2009.
- [109] G. K. Jani, D. P. Shah, V. D. Prajapati, V. C. Jain, "Gums and mucilages: Versatile excipients for pharmaceutical formulations," *Asian J Pharm Sci*, vol. 4, no. 5, pp. 309–323, 2009.
- [110] N. Thombare, U. Jha, S. Mishra, M. Siddiqui, "Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review," *International journal of biological macromolecules*, vol. 88, pp. 361–372, 2016.
- [111] G. You, X. L. Liu, M. M. Zhao, "Preparation and characterization of hsian-tsao gum and chitosan complex coacervates," *Food Hydrocolloids*, vol. 74, pp. 255–266, 2018.
- [112] D. Paraskevopoulou, D. Boskou, A. Paraskevopoulou, "Oxidative stability of olive oil–lemon juice salad dressings stabilized with polysaccharides," *Food Chemistry*, vol. 101, no. 3, pp. 1197–1204, 2007.

- [113] V. Rana, P. Rai, A. K. Tiwary, R. S. Singh, J. F. Kennedy, C. J. Knill, "Modified gums: Approaches and applications in drug delivery," *Carbohydrate polymers*, vol. 83, no. 3, pp. 1031–1047, 2011.
- [114] Y. Wu, W. Ding, Q. He, "The gelation properties of tara gum blended with κ -carrageenan or xanthan," *Food hydrocolloids*, vol. 77, pp. 764–771, 2018.
- [115] A. Mishra, A. V. Malhotra, "Tamarind xyloglucan: A polysaccharide with versatile application potential," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, no. 45, pp. 8528–8536, 2009.
- [116] X.-D. Shi, J.-Y. Yin, S. W. Cui, Q. Wang, S.-Y. Wang, S.-P. Nie, "Plant-derived glucomannans: Sources, preparation methods, structural features, and biological properties," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 99, pp. 101–116, 2020.
- [117] A. Kurt, "Development of a water-resistant salep glucomannan film via chemical modification," *Carbohydrate polymers*, vol. 213, pp. 286–295, 2019.
- [118] V. D. Prajapati, G. K. Jani, N. G. Moradiya, N. P. Randeria, "Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms," *Carbohydrate polymers*, vol. 92, no. 2, pp. 1685–1699, 2013.
- [119] A. Muxika, A. Etxabide, J. Uranga, P. Guerrero, K. De La Caba, "Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 105, pp. 1358–1368, 2017.
- [120] I. Hamed, F. Özogul, J. M. Regenstein, "Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review," *Trends in food science & technology*, vol. 48, pp. 40–50, 2016.
- [121] T. R. Bhardwaj, M. Kanwar, R. Lal, A. Gupta, "Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 26, no. 10, pp. 1025–1038, 2000.
- [122] K. L. B. Chang, G. Tsai, J. Lee, W.-R. Fu, "Heterogeneous n-deacetylation of chitin in alkaline solution," *Carbohydrate Research*, vol. 303, no. 3, pp. 327–332, 1997.
- [123] M. Hamdine, M.-C. Heuzey, A. Bégin, "Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels," *International journal of biological macromolecules*, vol. 37, no. 3, pp. 134–142, 2005.
- [124] A. K. Anal, A. Tobiassen, J. Flanagan, H. Singh, "Preparation and characterization of nanoparticles formed by chitosan–caseinate interactions," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 64, no. 1, pp. 104–110, 2008.
- [125] F. Shahidi, J. K. V. Arachchi, Y.-J. Jeon, "Food applications of chitin and chitosans," *Trends in food science & technology*, vol. 10, no. 2, pp. 37–51, 1999.
- [126] A. K. Anal, D. Bhopatkar, S. Tokura, H. Tamura, W. F. Stevens, "Chitosan-alginate multilayer beads for gastric passage and controlled intestinal release of protein," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 29, no. 6, pp. 713–724, 2003.
- [127] M. Rodríguez, L. Albertengo, E. Agulló, "Emulsification capacity of chitosan," *Carbohydrate polymers*, vol. 48, no. 3, pp. 271–276, 2002.

- [128] Z. Xiong, M. Zhang, M. Ma, "Emulsifying properties of ovalbumin: Improvement and mechanism by phosphorylation in the presence of sodium tripolyphosphate," *Food Hydrocolloids*, vol. 60, pp. 29–37, 2016.
- [129] C. Le Floch-Fouéré, S. Pezennec, V. Lechevalier, S. Beaufigli, B. Desbat, M. Pézolet, A. Renault, "Synergy between ovalbumin and lysozyme leads to non-additive interfacial and foaming properties of mixtures," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, no. 2, pp. 352–365, 2009.
- [130] T. Croguennec, F. Nau, S. Pezennec, G. Brule, "Simple rapid procedure for preparation of large quantities of ovalbumin," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, no. 10, pp. 4883–4889, 2000.
- [131] L. Liu, X. Dai, H. Kang, Y. Xu, W. Hao, "Structural and functional properties of hydrolyzed/glycosylated ovalbumin under spray drying and microwave freeze drying," *Food Science and Human Wellness*, vol. 9, no. 1, pp. 80–87, 2020.
- [132] V. Lechevalier, C. Guérin-Dubiard, M. Anton, V. Beaumal, E. D. Briand, A. Gillard, Y. Le Gouar, N. Musikaphun, M. Pasco, D. Dupont, *et al.*, "Effect of dry heat treatment of egg white powder on its functional, nutritional and allergenic properties," *Journal of Food Engineering*, vol. 195, pp. 40–51, 2017.
- [133] J. Depree, G. Savage, "Physical and flavour stability of mayonnaise," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 12, no. 5-6, pp. 157–163, 2001.
- [134] X. Liu, J. Guo, Z.-L. Wan, Y.-Y. Liu, Q.-J. Ruan, X.-Q. Yang, "Wheat gluten-stabilized high internal phase emulsions as mayonnaise replacers," *Food Hydrocolloids*, vol. 77, pp. 168–175, 2018.
- [135] F. Shahidi, Y. Zhong, "Lipid oxidation: Measurement methods," *Bailey's industrial oil and fat products*, 2005.
- [136] A. K. Epstein, "The selection of mayonnaise equipment: Effect of metals on the keeping qualities and nutritional value of mayonnaise and salad dressing," *Oil and Fat Industries*, vol. 6, no. 10, pp. 12–13, 1929.
- [137] E. N. Frankel, "Chemistry of autoxidation: Mechanism, products and flavor significance," *Flavor chemistry of fats and oils*, pp. 1–37, 1985.
- [138] Y.-T. LI HSIEH, J. M. REGENSTEIN, "Factors affecting quality of fish oil mayonnaise," *Journal of food science*, vol. 56, no. 5, pp. 1298–1301, 1991.
- [139] D. G. Bradley, D. B. Min, "Singlet oxygen oxidation of foods," *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, vol. 31, no. 3, pp. 211–236, 1992.
- [140] M. Lennersten, H. Lingnert, "Influence of wavelength and packaging material on lipid oxidation and colour changes in low-fat mayonnaise," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 33, no. 4, pp. 253–260, 2000.
- [141] C. Jacobsen, K. Hartvigsen, P. Lund, M. K. Thomsen, L. H. Skibsted, G. Hølmer, J. Adler-Nissen, A. S. Meyer, "Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise: 4. effect of tocopherol concentration on oxidative deterioration," *European Food Research and Technology*, vol. 212, no. 3, pp. 308–318, 2001.
- [142] D. J. McClements, E. A. Decker, "Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems," *Journal of food science*, vol. 65, no. 8, pp. 1270–1282, 2000.

- [143] J. B. Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Saeb, J. Oehlenschläger, *et al.*, *Seafood research from fish to dish: Quality, safety and processing of wild and farmed seafood*. Wageningen Academic Publishers, 2006.
- [144] C. Jacobsen, K. Hartvigsen, P. Lund, A. S. Meyer, J. Adler-Nissen, J. Holstborg, G. Hølmer, "Oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise 1. assessment of propyl gallate as an antioxidant by discriminant partial least squares regression analysis," *European Food Research and Technology*, vol. 210, no. 1, pp. 13–30, 1999.
- [145] F. M. Abu-Salem, A. A. Abou-Arab, "Chemical, microbiological and sensory evaluation of mayonnaise prepared from ostrich eggs," *Grasas y aceites*, vol. 59, no. 4, pp. 352–360, 2008.
- [146] Y. Kishk, M. H. Allam, M. Mostafa, S. El-Deep, "Oxidative stability of low calorie-free cholesterol mayonnaise," *Annals of Agriculture Science Ain Shams University*, vol. 41, no. 3, pp. 1163–1175, 2003.
- [147] J.-i. TAKAI, Y. ENDO, M. OKUZAKI, K. FUJIMOTO, "Autoxidation of fish oil in mayonnaise-like o/w type emulsion," *Food science and technology research*, vol. 9, no. 4, pp. 383–386, 2003.
- [148] C. Jacobsen, K. Hartvigsen, P. Lund, M. K. Thomsen, L. H. Skibsted, J. Adler-Nissen, G. Hølmer, A. S. Meyer, "Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise 3. assessment of the influence of the emulsion structure on oxidation by discriminant partial least squares regression analysis," *European Food Research and Technology*, vol. 211, no. 2, pp. 86–98, 2000.
- [149] D. Causeret, E. Matringe, D. Lorient, "Ionic strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules," *Journal of food science*, vol. 56, no. 6, pp. 1532–1536, 1991.
- [150] C. Jacobsen, J. Adler-Nissen, A. S. Meyer, "Effect of ascorbic acid on iron release from the emulsifier interface and on the oxidative flavor deterioration in fish oil enriched mayonnaise," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 47, no. 12, pp. 4917–4926, 1999.
- [151] M. Thomsen, C. Jacobsen, L. Skibsted, "Initiation mechanisms of oxidation in fish oil enriched mayonnaise," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 211, pp. 381–386, 2000.
- [152] P. W. Araujo, R. G. Brereton, "Experimental design III. quantification," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 15, no. 3, pp. 156–163, 1996.
- [153] D. Baş, I. H. Boyacı, "Modeling and optimization 1: Usability of response surface methodology," *Journal of food engineering*, vol. 78, no. 3, pp. 836–845, 2007.
- [154] M. A. Bezerra, R. E. Santelli, E. P. Oliveira, L. S. Villar, L. A. Escaleira, "Response surface methodology (rsm) as a tool for optimization in analytical chemistry," *Talanta*, vol. 76, no. 5, pp. 965–977, 2008.
- [155] T. Lundstedt, E. Seifert, L. Abramo, B. Thelin, Å. Nyström, J. Pettersen, R. Bergman, "Experimental design and optimization," *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, vol. 42, no. 1-2, pp. 3–40, 1998.
- [156] R. H. Myers, "Response surface methodology, allyn and bacon," *Boston*, 1971.

- [157] G. E. B. W. G. Hunter, J. S. Hunter, "Statistics for experimenters: An introduction to design, data analysis, and model building," 1987.
- [158] G. Hanrahan, K. Lu, "Application of factorial and response surface methodology in modern experimental design and optimization," *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 36, no. 3-4, pp. 141–151, 2006.
- [159] M. Karadeniz, S. Sahin, G. Sumnu, "Enhancement of storage stability of wheat germ oil by encapsulation," *Industrial crops and products*, vol. 114, pp. 14–18, 2018.
- [160] H. Tolouie, M. A. Mohammadifar, H. Ghomi, A. S. Yaghoubi, M. Hashemi, "The impact of atmospheric cold plasma treatment on inactivation of lipase and lipoxygenase of wheat germs," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 47, pp. 346–352, 2018.
- [161] Y. Zou, Y. Gao, H. He, T. Yang, "Effect of roasting on physico-chemical properties, antioxidant capacity, and oxidative stability of wheat germ oil," *LWT*, vol. 90, pp. 246–253, 2018.
- [162] F. Liu, Z. Chen, J. Shao, C. Wang, C. Zhan, "Effect of fermentation on the peptide content, phenolics and antioxidant activity of defatted wheat germ," *Food Bioscience*, vol. 20, pp. 141–148, 2017.
- [163] R. D. Gili, R. M. T. Irigoyen, M. C. Pencic, S. A. Giner, P. D. Ribotta, "Wheat germ thermal treatment in fluidised bed. experimental study and mathematical modelling of the heat and mass transfer," *Journal of Food Engineering*, vol. 221, pp. 11–19, 2018.
- [164] L. Wang, Y. Ding, X. Zhang, Y. Li, R. Wang, X. Luo, Y. Li, J. Li, Z. Chen, "Effect of electron beam on the functional properties and structure of defatted wheat germ proteins," *Journal of Food Engineering*, vol. 202, pp. 9–17, 2017.
- [165] S. Ma, X.-x. Wang, X.-l. Zheng, S.-q. Tian, C. Liu, L. Li, Y.-f. Ding, "Improvement of the quality of steamed bread by supplementation of wheat germ from milling process," *Journal of Cereal Science*, vol. 60, no. 3, pp. 589–594, 2014.
- [166] B. Xu, S.-L. Zhou, W.-J. Miao, C. Gao, M.-J. Cai, Y. Dong, "Study on the stabilization effect of continuous microwave on wheat germ," *Journal of Food Engineering*, vol. 117, no. 1, pp. 1–7, 2013.
- [167] E. Debonne, I. De Leyn, J. Verwaeren, S. Moens, F. Devlieghere, M. Eeckhout, F. Van Bockstaele, "The influence of natural oils of blackcurrant, black cumin seed, thyme and wheat germ on dough and bread technological and microbiological quality," *LWT*, vol. 93, pp. 212–219, 2018.
- [168] P. K. Jha, V. Kudachikar, S. Kumar, "Lipase inactivation in wheat germ by gamma irradiation," *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 86, pp. 136–139, 2013.
- [169] F. Liu, L. Wang, R. Wang, Z. Chen, "Calcium-induced disaggregation of wheat germ globulin under acid and heat conditions," *Food research international*, vol. 62, pp. 27–34, 2014.
- [170] R. Sun, Z. Zhang, X. Hu, Q. Xing, W. Zhuo, "Effect of wheat germ flour addition on wheat flour, dough and chinese steamed bread properties," *Journal of Cereal Science*, vol. 64, pp. 153–158, 2015.

- [171] K.-X. Zhu, X.-P. Wang, X.-N. Guo, "Isolation and characterization of zinc-chelating peptides from wheat germ protein hydrolysates," *Journal of Functional Foods*, vol. 12, pp. 23–32, 2015.
- [172] B. Yazicioglu, S. Sahin, G. Sumnu, "Microencapsulation of wheat germ oil," *Journal of food science and technology*, vol. 52, no. 6, pp. 3590–3597, 2015.
- [173] C. de Campo, P. P. Dos Santos, T. M. H. Costa, K. Paese, S. S. Guterres, A. de Oliveira Rios, S. H. Flôres, "Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*salvia hispanica* l.) as wall material: Characterization and stability evaluation," *Food Chemistry*, vol. 234, pp. 1–9, 2017.
- [174] E. Cengiz, M. Dogan, S. Karaman, "Characterization of rheological interactions of gleditsia triacanthos gum with some hydrocolloids: Effect of hydration temperature," *Food Hydrocolloids*, vol. 32, no. 2, pp. 453–462, 2013.
- [175] D. Yebeyen, M. Lemenih, S. Feleke, "Characteristics and quality of gum arabic from naturally grown acacia senegal (linne) willd. trees in the central rift valley of ethiopia," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, no. 1, pp. 175–180, 2009.
- [176] H. Shabani, G. Askari, K. Jahanbin, F. Khodaeian, "Evaluation of physicochemical characteristics and antioxidant property of prunus avium gum exudates," *International journal of biological macromolecules*, vol. 93, pp. 436–441, 2016.
- [177] R. Sibaja-Hernández, A. Román-Guerrero, G. Sepúlveda-Jiménez, M. Rodríguez-Monroy, "Physicochemical, shear flow behaviour and emulsifying properties of acacia cochliacantha and acacia farnesiana gums," *Industrial crops and Products*, vol. 67, pp. 161–168, 2015.
- [178] F. Rincón, J. Muñoz, P. Ramirez, H. Galán, M. C. Alfaro, "Physicochemical and rheological characterization of prosopis juliflora seed gum aqueous dispersions," *Food Hydrocolloids*, vol. 35, pp. 348–357, 2014.
- [179] H. Khouryieh, T. Herald, F. Aramouni, S. Alavi, "Intrinsic viscosity and viscoelastic properties of xanthan/guar mixtures in dilute solutions: Effect of salt concentration on the polymer interactions," *Food Research International*, vol. 40, no. 7, pp. 883–893, 2007.
- [180] J. Bak, B. Yoo, "Intrinsic viscosity of binary gum mixtures with xanthan gum and guar gum: Effect of nacl, sucrose, and ph," *International journal of biological macromolecules*, vol. 111, pp. 77–81, 2018.
- [181] P. V. Gadkari, S. Tu, K. Chiyarda, M. J. Reaney, S. Ghosh, "Rheological characterization of fenugreek gum and comparison with other galactomannans," *International journal of biological macromolecules*, vol. 119, pp. 486–495, 2018.
- [182] S. Razmkhah, M. A. Mohammadifar, S. M. A. Razavi, M. T. Ale, "Purification of cress seed (*lepidium sativum*) gum: Physicochemical characterization and functional properties," *Carbohydrate Polymers*, vol. 141, pp. 166–174, 2016.
- [183] K. Jahanbin, S. Moini, A. R. Gohari, Z. Emam-Djomeh, P. Masi, "Isolation, purification and characterization of a new gum from acanthophyllum bracteatum roots," *Food hydrocolloids*, vol. 27, no. 1, pp. 14–21, 2012.

- [184] S. M. A. Razavi, S. W. Cui, Q. Guo, H. Ding, "Some physicochemical properties of sage (*salvia macrosiphon*) seed gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 35, pp. 453–462, 2014.
- [185] N. Li, G. Qi, X. S. Sun, D. Wang, "Characterization of gum isolated from camelina seed," *Industrial crops and products*, vol. 83, pp. 268–274, 2016.
- [186] M. T. Yilmaz, G. Kutlu, E. Tulukcu, O. S. Toker, O. Sagdic, S. Karaman, "Rheological characteristics of *salvia sclarea* seed gum solutions at different hydration temperature levels: Application of three interval thixotropy test (3itt)," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 71, pp. 391–399, 2016.
- [187] E. D. Herculano, H. C. de Paula, E. A. de Figueiredo, F. G. Dias, V. d. A. Pereira, "Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated eucalyptus *staigeriana* essential oil," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 61, no. 2, pp. 484–491, 2015.
- [188] H. C. Carneiro, R. V. Tonon, C. R. Grosso, M. D. Hubinger, "Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials," *Journal of food engineering*, vol. 115, no. 4, pp. 443–451, 2013.
- [189] L. Ricaurte, M. Hernández-Carrión, M. Moyano-Molano, A. Clavijo-Romero, M. X. Quintanilla-Carvajal, "Physical, thermal and thermodynamical study of high oleic palm oil nanoemulsions," *Food chemistry*, vol. 256, pp. 62–70, 2018.
- [190] F. da Silva Stefani, C. de Campo, K. Paese, S. S. Guterres, T. M. H. Costa, S. H. Flôres, "Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material: Characterization, stability and enrichment of orange juice," *Food Research International*, vol. 120, pp. 872–879, 2019.
- [191] L. S. Guinesi, E. T. G. Cavaleiro, "The use of dsc curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples," *Thermochimica Acta*, vol. 444, no. 2, pp. 128–133, 2006.
- [192] G. Dodi, A. Pala, E. Barbu, D. Peptanariu, D. Hritcu, M. Popa, B. Tamba, "Carboxymethyl guar gum nanoparticles for drug delivery applications: Preparation and preliminary in-vitro investigations," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 63, pp. 628–636, 2016.
- [193] R. Cakir-Koc, Y. Budama-Kilinc, Z. Kaya, B. B. Orcen, E. Ucarhus, "Coconut oil-loaded chitosan nanoparticles for the treatment of acne vulgaris: Cytotoxicity, antibacterial activity, and antibiofilm properties," *FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*, p. 2642, 2018.
- [194] M. Rahbari, M. Aalami, M. Kashaninejad, Y. Maghsoudlou, S. S. A. Aghdaei, "A mixture design approach to optimizing low cholesterol mayonnaise formulation prepared with wheat germ protein isolate," *Journal of food science and technology*, vol. 52, no. 6, pp. 3383–3393, 2015.
- [195] J. Li, Y. Wang, W. Jin, B. Zhou, B. Li, "Application of micronized konjac gel for fat analogue in mayonnaise," *Food Hydrocolloids*, vol. 35, pp. 375–382, 2014.
- [196] Y. Kishk, H. E. Elsheshetawy, "Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability, rheological measurements, and sensory characteristics," *Annals of Agricultural Sciences*, vol. 58, no. 2, pp. 213–220, 2013.

- [197] V. M. Rojas, L. F. d. C. B. Marconi, A. Guimarães-Inácio, F. V. Leimann, A. Tanamati, Â. M. Gozzo, R. H. B. Fuchs, M. F. Barreiro, L. Barros, I. C. Ferreira, *et al.*, "Formulation of mayonnaises containing pufas by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils," *Food chemistry*, vol. 274, pp. 220–227, 2019.
- [198] A. N. El-Bostany, M. Ahmed, A. Amany, *et al.*, "Development of light mayonnaise formula using carbohydrate-based fat replacement.," *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 5, no. 9, pp. 673–682, 2011.
- [199] A. Altunkaya, R. V. Hedegaard, J. Harholt, L. Brimer, V. Gökmen, L. H. Skibsted, "Oxidative stability and chemical safety of mayonnaise enriched with grape seed extract," *Food & function*, vol. 4, no. 11, pp. 1647–1653, 2013.
- [200] T. Ghorbanzade, S. M. Jafari, S. Akhavan, R. Hadavi, "Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt," *Food Chemistry*, vol. 216, pp. 146–152, 2017.
- [201] M. J. Romero-Guzmán, N. Köllmann, L. Zhang, R. M. Boom, C. V. Nikiforidis, "Controlled oleosome extraction to produce a plant-based mayonnaise-like emulsion using solely rapeseed seeds," *LWT*, vol. 123, p. 109 120, 2020.
- [202] M. Minekus, M. Alminger, P. Alvito, S. Ballance, T. Bohn, C. Bourlieu, F. Carriere, R. Boutrou, M. Corredig, D. Dupont, *et al.*, "A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus," *Food & function*, vol. 5, no. 6, pp. 1113–1124, 2014.
- [203] A. M. Dantas, I. M. Mafaldo, P. M. de Lima Oliveira, M. dos Santos Lima, M. Magnani, G. d. S. C. Borges, "Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier," *Food chemistry*, vol. 274, pp. 202–214, 2019.
- [204] S. Karaman, S. Karasu, F. Tornuk, O. S. Toker, U. Gecgel, O. Sagdic, N. Ozcan, O. Gül, "Recovery potential of cold press byproducts obtained from the edible oil industry: Physicochemical, bioactive, and antimicrobial properties," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 63, no. 8, pp. 2305–2313, 2015.
- [205] V. Raikos, A. McDonagh, V. Ranawana, G. Duthie, "Processed beetroot (*beta vulgaris* l.) as a natural antioxidant in mayonnaise: Effects on physical stability, texture and sensory attributes," *Food Science and Human Wellness*, vol. 5, no. 4, pp. 191–198, 2016.
- [206] V. L. Singleton, J. A. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents," *American journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, no. 3, pp. 144–158, 1965.
- [207] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier, C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT-Food science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995.
- [208] C. Chang, J. Li, X. Li, C. Wang, B. Zhou, Y. Su, Y. Yang, "Effect of protein microparticle and pectin on properties of light mayonnaise," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 82, pp. 8–14, 2017.

- [209] M. Primacella, T. Wang, N. C. Acevedo, "Characterization of mayonnaise properties prepared using frozen-thawed egg yolk treated with hydrolyzed egg yolk proteins as anti-gelator," *Food Hydrocolloids*, vol. 96, pp. 529–536, 2019.
- [210] O. S. Toker, S. Karasu, M. T. Yilmaz, S. Karaman, "Three interval thixotropy test (3ıtt) in food applications: A novel technique to determine structural regeneration of mayonnaise under different shear conditions," *Food Research International*, vol. 70, pp. 125–133, 2015.
- [211] L. Huang, T. Wang, Z. Han, Y. Meng, X. Lu, "Effect of egg yolk freezing on properties of mayonnaise," *Food Hydrocolloids*, vol. 56, pp. 311–317, 2016.
- [212] J. P. Maran, B. Priya, "Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste," *Carbohydrate Polymers*, vol. 115, pp. 732–738, 2015.
- [213] A. M. Estévez, C. Saenz, M. L. Hurtado, B. Escobar, S. Espinoza, C. Suárez, "Extraction methods and some physical properties of mesquite (*prosopis chilensis* (mol) stuntz) seed gum," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, no. 12, pp. 1487–1492, 2004.
- [214] Y. López-Franco, C. Cervantes-Montaña, K. Martinez-Robinson, J. Lizardi-Mendoza, L. Robles-Ozuna, "Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*prosopis* spp.)," *Food Hydrocolloids*, vol. 30, no. 2, pp. 656–660, 2013.
- [215] A. M. Amin, A. S. Ahmad, Y. Y. Yin, N. Yahya, N. Ibrahim, "Extraction, purification and characterization of durian (*durio zibethinus*) seed gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 21, no. 2, pp. 273–279, 2007.
- [216] S. M. A. Razavi, S. W. Cui, H. Ding, "Structural and physicochemical characteristics of a novel water-soluble gum from *lallemania royleana* seed," *International journal of biological macromolecules*, vol. 83, pp. 142–151, 2016.
- [217] S. Teimouri, S. Abbasi, N. Sheikh, "Effects of gamma irradiation on some physicochemical and rheological properties of persian gum and gum tragacanth," *Food Hydrocolloids*, vol. 59, pp. 9–16, 2016.
- [218] Y. Brummer, W. Cui, Q. Wang, "Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum," *Food hydrocolloids*, vol. 17, no. 3, pp. 229–236, 2003.
- [219] M. H. Sherahi, M. Fathi, F. Zhandari, S. M. B. Hashemi, A. Rashidi, "Structural characterization and physicochemical properties of *descurainia sophia* seed gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 66, pp. 82–89, 2017.
- [220] D. Salarbashi, M. Tafaghodi, "An update on physicochemical and functional properties of newly seed gums," *International journal of biological macromolecules*, vol. 119, pp. 1240–1247, 2018.
- [221] P. R. Bhushette, U. S. Annapure, "Physicochemical, functional and rheological investigation of *soymida febrifuga* exudate gum," *International journal of biological macromolecules*, vol. 111, pp. 1116–1123, 2018.
- [222] S. Saeidy, A. Nasirpour, G. Djelveh, A.-V. Ursu, A. Marcati, C. Gardarin, C. Laroche, C. Delattre, G. Pierre, J. Keramat, *et al.*, "Rheological and functional properties of *asafoetida* gum," *International journal of biological macromolecules*, vol. 118, pp. 1168–1173, 2018.

- [223] J. Kang, S. W. Cui, J. Chen, G. O. Phillips, Y. Wu, Q. Wang, "New studies on gum ghatti (*anogeissus latifolia*) part 1. fractionation, chemical and physical characterization of the gum," *Food hydrocolloids*, vol. 25, no. 8, pp. 1984–1990, 2011.
- [224] Y. Wu, W. Cui, N. Eskin, H. Goff, "An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties," *Food Research International*, vol. 42, no. 8, pp. 1141–1146, 2009.
- [225] S. Y. Seo, Y.-R. Kang, Y.-K. Lee, J. H. Lee, Y. H. Chang, "Physicochemical, molecular, emulsifying and rheological characterizations of sage (*salvia splendens*) seed gum," *International journal of biological macromolecules*, vol. 115, pp. 1174–1182, 2018.
- [226] S. Hosseini-Parvar, L. Matia-Merino, K. Goh, S. M. A. Razavi, S. A. Mortazavi, "Steady shear flow behavior of gum extracted from *ocimum basilicum* l. seed: Effect of concentration and temperature," *Journal of food engineering*, vol. 101, no. 3, pp. 236–243, 2010.
- [227] P. H. Richardson, J. Willmer, T. J. Foster, "Dilute solution properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions," *Food Hydrocolloids*, vol. 12, no. 3, pp. 339–348, 1998.
- [228] M. A. Mohammadifar, S. M. Musavi, A. Kiumarsi, P. A. Williams, "Solution properties of targacanthin (water-soluble part of gum tragacanth exudate from *astragalus gossypinus*)," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 38, no. 1, pp. 31–39, 2006.
- [229] S. M. Razavi, T. M. Moghaddam, B. Emadzadeh, F. Salehi, "Dilute solution properties of wild sage (*salvia macrosiphon*) seed gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 29, no. 1, pp. 205–210, 2012.
- [230] Y. Viturawong, P. Achayuthakan, M. Suphantharika, "Gelatinization and rheological properties of rice starch/xanthan mixtures: Effects of molecular weight of xanthan and different salts," *Food Chemistry*, vol. 111, no. 1, pp. 106–114, 2008.
- [231] K. Qian, S. Cui, Y. Wu, H. Goff, "Flaxseed gum from flaxseed hulls: Extraction, fractionation, and characterization," *Food Hydrocolloids*, vol. 28, no. 2, pp. 275–283, 2012.
- [232] L. Sciarini, F. Maldonado, P. Ribotta, G. Pérez, A. León, "Chemical composition and functional properties of *gleditsia triacanthos* gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, no. 2, pp. 306–313, 2009.
- [233] A. Koocheki, A. R. Taherian, A. Bostan, "Studies on the steady shear flow behavior and functional properties of *lepidium perfoliatum* seed gum," *Food Research International*, vol. 50, no. 1, pp. 446–456, 2013.
- [234] H. Mirhosseini, B. T. Amid, "Effect of different drying techniques on flowability characteristics and chemical properties of natural carbohydrate-protein gum from durian fruit seed," *Chemistry Central Journal*, vol. 7, no. 1, pp. 1–14, 2013.

- [235] S. W. Cui, G. O. Phillips, B. Blackwell, J. Nikiforuk, "Characterisation and properties of acacia senegal (l.) willd. var. senegal with enhanced properties (acacia (sen) supergum™): Part 4. spectroscopic characterisation of acacia senegal var. senegal and acacia (sen) supergum™ arabic," *Food hydrocolloids*, vol. 21, no. 3, pp. 347–352, 2007.
- [236] C. Acikgoz, "Extraction and characterization of pectin obtained from quince fruits (*cydonia vulgaris pers*) grown in turkey," *Asian Journal of Chemistry*, vol. 23, no. 1, p. 149, 2011.
- [237] A. Kumar, M. Ahuja, "Carboxymethyl gum kondagogu: Synthesis, characterization and evaluation as mucoadhesive polymer," *Carbohydrate polymers*, vol. 90, no. 1, pp. 637–643, 2012.
- [238] B. S. Gupta, B. P. Jelle, T. Gao, "Application of atr-ftir spectroscopy to compare the cell materials of wood decay fungi with wood mould fungi," 2015.
- [239] S. Figueiró, J. C. Góes, R. Moreira, A. Sombra, "On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films," *Carbohydrate polymers*, vol. 56, no. 3, pp. 313–320, 2004.
- [240] E. I. Nep, B. R. Conway, "Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: Effect of drying method," *Carbohydrate Polymers*, vol. 84, no. 1, pp. 446–453, 2011.
- [241] S. Faria, C. L. de Oliveira Petkowicz, S. A. L. De Morais, M. G. H. Terrones, M. M. De Resende, F. P. de Franca, V. L. Cardoso, "Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth," *Carbohydrate polymers*, vol. 86, no. 2, pp. 469–476, 2011.
- [242] J.-x. Jiang, H.-l. Jian, C. Cristhian, W.-m. Zhang, R.-c. Sun, "Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *gleditsia* seeds as potential food gum substitutes," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 4, pp. 732–737, 2011.
- [243] V. Dos Santos, B. Souza, J. Teixeira, A. Vicente, M. Cerqueira, "Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof," *Journal of food science and technology*, vol. 52, no. 12, pp. 8292–8299, 2015.
- [244] M. Zohuriaan, F. Shokrolahi, "Thermal studies on natural and modified gums," *Polymer Testing*, vol. 23, no. 5, pp. 575–579, 2004.
- [245] V. Vinod, R. Sashidhar, K. Suresh, B. R. Rao, U. V. Saradhi, T. P. Rao, "Morphological, physico-chemical and structural characterization of gum kondagogu (*cochlospermum gossypium*): A tree gum from india," *Food Hydrocolloids*, vol. 22, no. 5, pp. 899–915, 2008.
- [246] M. A. Cerqueira, B. W. Souza, J. Simões, J. A. Teixeira, M. R. M. Domingues, M. A. Coimbra, A. A. Vicente, "Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources," *Carbohydrate polymers*, vol. 83, no. 1, pp. 179–185, 2011.
- [247] F. Rashid, Z. Ahmed, S. Hussain, J.-Y. Huang, A. Ahmad, "Linum usitatissimum l. seeds: Flax gum extraction, physicochemical and functional characterization," *Carbohydrate polymers*, vol. 215, pp. 29–38, 2019.

- [248] M. B. Santos, C. H. C. Dos Santos, M. G. de Carvalho, C. W. P. de Carvalho, E. E. Garcia-Rojas, "Physicochemical, thermal and rheological properties of synthesized carboxymethyl tara gum (*caesalpinia spinosa*)," *International journal of biological macromolecules*, vol. 134, pp. 595–603, 2019.
- [249] H. Yang, J. Irudayaraj, S. Otgonchimeg, M. Walsh, "Rheological study of starch and dairy ingredient-based food systems," *Food chemistry*, vol. 86, no. 4, pp. 571–578, 2004.
- [250] M. Marcotte, A. R. T. Hoshahili, H. Ramaswamy, "Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature," *Food Research International*, vol. 34, no. 8, pp. 695–703, 2001.
- [251] M. Dogan, A. Kayacier, E. Ic, "Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation," *Food Hydrocolloids*, vol. 21, no. 3, pp. 392–396, 2007.
- [252] L. Wang, H.-M. Liu, C.-Y. Zhu, A.-J. Xie, B.-J. Ma, P.-Z. Zhang, "Chinese quince seed gum: Flow behaviour, thixotropy and viscoelasticity," *Carbohydrate polymers*, vol. 209, pp. 230–238, 2019.
- [253] A. Kayacier, M. Dogan, "Rheological properties of some gums-salep mixed solutions," *Journal of Food Engineering*, vol. 72, no. 3, pp. 261–265, 2006.
- [254] M. Anvari, M. Tabarsa, R. Cao, S. You, H. S. Joyner, S. Behnam, M. Rezaei, "Compositional characterization and rheological properties of an anionic gum from *alyssum homolocarpum* seeds," *Food Hydrocolloids*, vol. 52, pp. 766–773, 2016.
- [255] B. Abbastabar, M. H. Azizi, A. Adnani, S. Abbasi, "Determining and modeling rheological characteristics of quince seed gum," *Food Hydrocolloids*, vol. 43, pp. 259–264, 2015.
- [256] S. Razmkhah, S. M. A. Razavi, M. A. Mohammadifar, "Dilute solution, flow behavior, thixotropy and viscoelastic characterization of cress seed (*lepidium sativum*) gum fractions," *Food Hydrocolloids*, vol. 63, pp. 404–413, 2017.
- [257] S. Balaghi, M. A. Mohammadifar, A. Zargaraan, H. A. Gavlighi, M. Mohammadi, "Compositional analysis and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of iranian *astragalus*," *Food Hydrocolloids*, vol. 25, no. 7, pp. 1775–1784, 2011.
- [258] X. Li, Y. Fang, H. Zhang, K. Nishinari, S. Al-Assaf, G. O. Phillips, "Rheological properties of gum arabic solution: From newtonianism to thixotropy," *Food Hydrocolloids*, vol. 25, no. 3, pp. 293–298, 2011.
- [259] M. T. Ghannam, M. N. Esmail, "Rheological properties of carboxymethyl cellulose," *Journal of applied polymer science*, vol. 64, no. 2, pp. 289–301, 1997.
- [260] E. M. nez de la Ossa *et al.*, "Quality of wheat germ oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 77, no. 9, pp. 969–974, 2000.
- [261] P. Shao, P. Sun, Y. Ying, "Response surface optimization of wheat germ oil yield by supercritical carbon dioxide extraction," *food and bioproducts processing*, vol. 86, no. 3, pp. 227–231, 2008.

- [262] B. C. Porto, M. Cristianini, "Evaluation of cashew tree gum (anacardium occidentale l.) emulsifying properties," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 59, no. 2, pp. 1325–1331, 2014.
- [263] M. Ahuja, A. Kumar, *et al.*, "Gum ghatti–chitosan polyelectrolyte nanoparticles: Preparation and characterization," *International journal of biological macromolecules*, vol. 61, pp. 411–415, 2013.
- [264] C. Tan, J. Xie, X. Zhang, J. Cai, S. Xia, "Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin," *Food Hydrocolloids*, vol. 57, pp. 236–245, 2016.
- [265] S. Rahaiee, M. Hashemi, S. A. Shojaosadati, S. Moini, S. H. Razavi, "Nanoparticles based on crocin loaded chitosan-alginate biopolymers: Antioxidant activities, bioavailability and anticancer properties," *International journal of biological macromolecules*, vol. 99, pp. 401–408, 2017.
- [266] H. Espinosa-Andrews, K. E. Enriquez-Ramirez, E. Garcia-Márquez, C. Ramirez-Santiago, C. Lobato-Calleros, J. Vernon-Carter, "Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes," *Carbohydrate polymers*, vol. 95, no. 1, pp. 161–166, 2013.
- [267] V. L. B. Isaac, L. Cefali, B. Chiari, M. Almeida, H. Ribeiro, M. A. Correa, "Effect of various thickening agents on the rheological properties of oil-in-water emulsions containing nonionic emulsifier," *Journal of dispersion science and technology*, vol. 34, no. 6, pp. 880–885, 2013.
- [268] J. Surh, E. A. Decker, D. J. McClements, "Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin," *Food Hydrocolloids*, vol. 20, no. 5, pp. 596–606, 2006.
- [269] R. Wongsagonsup, S. Shobsngob, B. Oonkhanond, S. Varavinit, "Zeta potential (ζ) analysis for the determination of protein content in rice flour," *Starch-Stärke*, vol. 57, no. 1, pp. 25–31, 2005.
- [270] D. Sotomayor-Gerding, B. D. Oomah, F. Acevedo, E. Morales, M. Bustamante, C. Shene, M. Rubilar, "High carotenoid bioaccessibility through linseed oil nanoemulsions with enhanced physical and oxidative stability," *Food Chemistry*, vol. 199, pp. 463–470, 2016.
- [271] B. Heurtault, P. Saulnier, B. Pech, J.-E. Proust, J.-P. Benoit, "Physico-chemical stability of colloidal lipid particles," *Biomaterials*, vol. 24, no. 23, pp. 4283–4300, 2003.
- [272] S. Hoeller, A. Sperger, C. Valenta, "Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 370, no. 1-2, pp. 181–186, 2009.
- [273] E. Yilmaz, H.-H. Borchert, "Design of a phytosphingosine-containing, positively-charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides," *European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceutics*, vol. 60, no. 1, pp. 91–98, 2005.

- [274] M. I. Guerra-Rosas, J. Morales-Castro, L. A. Ochoa-Martinez, L. Salvia-Trujillo, O. Martín-Belloso, "Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils," *Food Hydrocolloids*, vol. 52, pp. 438–446, 2016.
- [275] V. Polychniatou, C. Tzia, "Evaluation of surface-active and antioxidant effect of olive oil endogenous compounds on the stabilization of water-in-olive-oil nanoemulsions," *Food chemistry*, vol. 240, pp. 1146–1153, 2018.
- [276] H. Ilyasoglu, S. N. El, "Nanoencapsulation of epa/dha with sodium caseinate–gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 56, no. 2, pp. 461–468, 2014.
- [277] S. Ghayempour, S. M. Mortazavi, "Preparation and investigation of sodium alginate nanocapsules by different microemulsification devices," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 132, no. 17, 2015.
- [278] S. Raeisi, S. M. Ojagh, S. Y. Quek, P. Pourashouri, F. Salaün, "Nano-encapsulation of fish oil and garlic essential oil by a novel composition of wall material: Persian gum-chitosan," *LWT*, vol. 116, p. 108494, 2019.
- [279] Y. P. Timilsena, R. Adhikari, C. J. Barrow, B. Adhikari, "Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate chia seed gum complex coacervates," *International journal of biological macromolecules*, vol. 91, pp. 347–357, 2016.
- [280] J. Luna-Guevara, C. Ochoa-Velasco, P. Hernández-Carranza, J. Guerrero-Beltrán, "Microencapsulation of walnut, peanut and pecan oils by spray drying," *Food structure*, vol. 12, pp. 26–32, 2017.
- [281] W. Kolanowski, G. Laufenberg, B. Kunz, "Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose," *International journal of food sciences and nutrition*, vol. 55, no. 4, pp. 333–343, 2004.
- [282] D. A. Rodea-González, J. Cruz-Olivares, A. Román-Guerrero, M. E. Rodríguez-Huezo, E. J. Vernon-Carter, C. Pérez-Alonso, "Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*salvia hispanica* l.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices," *Journal of Food Engineering*, vol. 111, no. 1, pp. 102–109, 2012.
- [283] W. Klaypradit, Y.-W. Huang, "Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 41, no. 6, pp. 1133–1139, 2008.
- [284] S. Laplante, S. L. Turgeon, P. Paquin, "Emulsion stabilizing properties of various chitosans in the presence of whey protein isolate," *Carbohydrate Polymers*, vol. 59, no. 4, pp. 425–434, 2005.
- [285] H. Gholizadeh, A. A. Naserian, H. Xin, R. Valizadeh, A. M. Tahmasbi, P. Yu, "Detecting carbohydrate molecular structural makeup in different types of cereal grains and different cultivars within each type of grain grown in semi-arid area using ftr spectroscopy with uni-and multi-variate molecular spectral analyses," *Animal Feed Science and Technology*, vol. 194, pp. 136–144, 2014.

- [286] E. F. de Oliveira, H. C. Paula, R. C. de Paula, "Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 113, pp. 146–151, 2014.
- [287] B. Sarmiento, D. Ferreira, F. Veiga, A. Ribeiro, "Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through dsc and ftir studies," *Carbohydrate polymers*, vol. 66, no. 1, pp. 1–7, 2006.
- [288] S. Rao, G. Xu, X. Lu, R. Zhang, L. Gao, Q. Wang, Z. Yang, X. Jiao, "Characterization of ovalbumin-carvacrol inclusion complexes as delivery systems with antibacterial application," *Food Hydrocolloids*, vol. 105, p. 105753, 2020.
- [289] S. Jana, M. K. Trivedi, R. M. Tallapragada, A. Branton, D. Trivedi, G. Nayak, R. Mishra, "Characterization of physicochemical and thermal properties of chitosan and sodium alginate after biofield treatment," *Pharmaceutica Analytica Acta*, vol. 6, no. 10, 2015.
- [290] J. Yang, O. N. Ciftci, "Encapsulation of fish oil into hollow solid lipid micro-and nanoparticles using carbon dioxide," *Food chemistry*, vol. 231, pp. 105–113, 2017.
- [291] M. Karimi, P. Avci, R. Mobasser, M. R. Hamblin, H. Naderi-Manesh, "The novel albumin–chitosan core–shell nanoparticles for gene delivery: Preparation, optimization and cell uptake investigation," *Journal of nanoparticle research*, vol. 15, no. 5, pp. 1–14, 2013.
- [292] D. A. ŞELEÇİ, Z. P. GÜMÜŞ, M. Yavuz, M. ŞELEÇİ, R. Bongartz, F. Stahl, H. COŞKUNOL, S. Timur, T. Scheper, "A case study on in vitro investigations of the potent biological activities of wheat germ and black cumin seed oil," *Turkish Journal of Chemistry*, vol. 39, no. 4, pp. 801–812, 2015.
- [293] N. Lucyszyn, A. F. Lubambo, L. Ono, T. A. Jó, C. F. De Souza, M. R. Sierakowski, "Chemical, physico-chemical and cytotoxicity characterisation of xyloglucan from guibourtia hymenifolia (moric.) j. leonard seeds," *Food hydrocolloids*, vol. 25, no. 5, pp. 1242–1250, 2011.
- [294] K. Huanbutta, W. Sittikijyothin, "Use of seed gums from tamarindus indica and cassia fistula as controlled-release agents," *Asian journal of pharmaceutical sciences*, vol. 13, no. 5, pp. 398–408, 2018.
- [295] T. Kean, M. Thanou, "Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 62, no. 1, pp. 3–11, 2010.
- [296] K. Ghafoor, M. M. Özcan, F. AL-Juhami, E. E. Babiker, Z. I. Sarker, I. A. M. Ahmed, M. A. Ahmed, "Nutritional composition, extraction, and utilization of wheat germ oil: A review," *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 119, no. 7, p. 1600160, 2017.
- [297] S. G. Gorji, H. E. Smyth, M. Sharma, M. Fitzgerald, "Lipid oxidation in mayonnaise and the role of natural antioxidants: A review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 56, pp. 88–102, 2016.

- [298] S. Martillanes, J. Rocha-Pimienta, M. V. Gil, M. C. Ayuso-Yuste, J. Delgado-Adámez, "Antioxidant and antimicrobial evaluation of rice bran (*oryza sativa* l.) extracts in a mayonnaise-type emulsion," *Food chemistry*, vol. 308, p. 125 633, 2020.
- [299] M. Cornelia, T. Siratantri, R. Prawita, "The utilization of extract durian (*durio zibethinus* l.) seed gum as an emulsifier in vegan mayonnaise," *Procedia Food Science*, vol. 3, pp. 1–18, 2015.
- [300] R. Smittle, "Microbiological safety of mayonnaise, salad dressings, and sauces produced in the united states: A review," *Journal of food protection*, vol. 63, no. 8, pp. 1144–1153, 2000.
- [301] D. J. McClements, "Theoretical prediction of emulsion color," *Advances in colloid and interface science*, vol. 97, no. 1-3, pp. 63–89, 2002.
- [302] R. Santipanichwong, M. Suphantharika, "Carotenoids as colorants in reduced-fat mayonnaise containing spent brewer's yeast β -glucan as a fat replacer," *Food Hydrocolloids*, vol. 21, no. 4, pp. 565–574, 2007.
- [303] A. Raymundo, N. Osório, A. Reis, I. Sousa, J. Empis, "Novel emulsions containing functional colourings in both phases," in *Functionalities of pigments in food—conference proceedings*, Sociedade Portuguesa de Quimica Publ, 2002, pp. 189–193.
- [304] J. J. Park, I. F. Olawuyi, W. Y. Lee, "Characteristics of low-fat mayonnaise using different modified arrowroot starches as fat replacer," *International journal of biological macromolecules*, vol. 153, pp. 215–223, 2020.
- [305] S. Mun, Y.-L. Kim, C.-G. Kang, K.-H. Park, J.-Y. Shim, Y.-R. Kim, "Development of reduced-fat mayonnaise using α gtase-modified rice starch and xanthan gum," *International journal of biological macromolecules*, vol. 44, no. 5, pp. 400–407, 2009.
- [306] S. Thaiudom, K. Khantarat, "Stability and rheological properties of fat-reduced mayonnaises by using sodium octenyl succinate starch as fat replacer," *Procedia Food Science*, vol. 1, pp. 315–321, 2011.
- [307] A. Akcicek, S. Karasu, "Utilization of cold pressed chia seed oil waste in a low-fat salad dressing as natural fat replacer," *Journal of Food Process Engineering*, vol. 41, no. 5, e12694, 2018.
- [308] C. Chung, D. J. McClements, "Structure–function relationships in food emulsions: Improving food quality and sensory perception," *Food structure*, vol. 1, no. 2, pp. 106–126, 2014.
- [309] R. J. Hamilton, J. B. Rossell, "Analysis of oils and fats," Elsevier Applied Science Publishers, Tech. Rep., 1986.
- [310] A.-M. Haahr, C. Jacobsen, "Emulsifier type, metal chelation and ph affect oxidative stability of n-3-enriched emulsions," *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 110, no. 10, pp. 949–961, 2008.
- [311] S. El-Deab, H. Ghamry, "Nutritional evaluation of roselle seeds oil and production of mayonnaise," *Inter. J. Food Sci. Nutr. Engin*, vol. 7, pp. 32–37, 2017.

- [312] G. A. Miguel, C. Jacobsen, C. Prieto, P. J. Kempen, J. M. Lagaron, I. S. Chronakis, P. J. Garcia-Moreno, "Oxidative stability and physical properties of mayonnaise fortified with zein electrosprayed capsules loaded with fish oil," *Journal of Food Engineering*, vol. 263, pp. 348–358, 2019.
- [313] D. Hermund, C. Jacobsen, I. S. Chronakis, A. Pelayo, S. Yu, M. Busolo, J. M. Lagaron, R. Jónsdóttir, H. G. Kristinsson, C. C. Akoh, *et al.*, "Stabilization of fish oil-loaded electrosprayed capsules with seaweed and commercial natural antioxidants: Effect on the oxidative stability of capsule-enriched mayonnaise," *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 121, no. 4, p. 1 800 396, 2019.
- [314] V. Giacintucci, C. Di Mattia, G. Sacchetti, L. Neri, P. Pittia, "Role of olive oil phenolics in physical properties and stability of mayonnaise-like emulsions," *Food chemistry*, vol. 213, pp. 369–377, 2016.
- [315] G. W. Lu, P. Gao, "Emulsions and microemulsions for topical and transdermal drug delivery," in *Handbook of non-invasive drug delivery systems*, Elsevier, 2010, pp. 59–94.
- [316] T. Moschakis, B. S. Murray, E. Dickinson, "Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 284, no. 2, pp. 714–728, 2005.
- [317] Q. Zhao, Z. Long, J. Kong, T. Liu, D. Sun-Waterhouse, M. Zhao, "Sodium caseinate/flaxseed gum interactions at oil–water interface: Effect on protein adsorption and functions in oil-in-water emulsion," *Food Hydrocolloids*, vol. 43, pp. 137–145, 2015.
- [318] B. Yesiltas, P. J. Garcia-Moreno, A.-D. M. Sørensen, A. M. S. Caindec, G. Hyldig, S. Anankanbil, Z. Guo, C. Jacobsen, "Enrichment of mayonnaise with a high fat fish oil-in-water emulsion stabilized with modified datem c14 enhances oxidative stability," *Food Chemistry*, vol. 341, p. 128 141, 2020.
- [319] N. Mahfoudhi, M. Sessa, M. Chouaibi, G. Ferrari, F. Donsi, S. Hamdi, "Assessment of emulsifying ability of almond gum in comparison with gum arabic using response surface methodology," *Food Hydrocolloids*, vol. 37, pp. 49–59, 2014.
- [320] M. D'Archivio, C. Filesi, R. Vari, B. Scazzocchio, R. Masella, "Bioavailability of the polyphenols: Status and controversies," *International journal of molecular sciences*, vol. 11, no. 4, pp. 1321–1342, 2010.
- [321] A. M. Cheong, C. P. Tan, K. L. Nyam, "In-vitro gastrointestinal digestion of kenaf seed oil-in-water nanoemulsions," *Industrial Crops and Products*, vol. 87, pp. 1–8, 2016.
- [322] C. Dinnella, P. Minichino, A. M. D'Andrea, E. Monteleone, "Bioaccessibility and antioxidant activity stability of phenolic compounds from extra-virgin olive oils during in vitro digestion," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 55, no. 21, pp. 8423–8429, 2007.
- [323] Z. Li, H. Jiang, C. Xu, L. Gu, "A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals," *Food Hydrocolloids*, vol. 43, pp. 153–164, 2015.

- [324] T. H. Borges, C. Cabrera-Vique, I. Seiquer, "Antioxidant properties of chemical extracts and bioaccessible fractions obtained from six spanish monovarietal extra virgin olive oils: Assays in caco-2 cells," *Food & function*, vol. 6, no. 7, pp. 2375–2383, 2015.
- [325] A. Rueda, S. Cantarero, I. Seiquer, C. Cabrera-Vique, M. Olalla, "Bioaccessibility of individual phenolic compounds in extra virgin argan oil after simulated gastrointestinal process," *LWT*, vol. 75, pp. 466–472, 2017.
- [326] M.-J. Bermúdez-Soto, F.-A. Tomás-Barberán, M.-T. García-Conesa, "Stability of polyphenols in chokeberry (*aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion," *Food chemistry*, vol. 102, no. 3, pp. 865–874, 2007.
- [327] S.-C. Chew, C.-P. Tan, K. Long, K.-L. Nyam, "In-vitro evaluation of kenaf seed oil in chitosan coated-high methoxyl pectin-alginate microcapsules," *Industrial Crops and Products*, vol. 76, pp. 230–236, 2015.
- [328] F. Vallejo, A. Gil-Izquierdo, A. Pérez-Vicente, C. Garcia-Viguera, "In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin c," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 52, no. 1, pp. 135–138, 2004.
- [329] Y.-H. Wong, C.-P. Tan, K. Long, K.-L. Nyam, "In vitro simulated digestion on the biostability of hibiscus cannabinus l. seed extract," *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 32, no. 2, pp. 177–181, 2014.
- [330] M. Delfanian, M. A. Sahari, "Improving functionality, bioavailability, nutraceutical and sensory attributes of fortified foods using phenolics-loaded nanocarriers as natural ingredients," *Food Research International*, p. 109 555, 2020.
- [331] T. H. Borges, J. A. Pereira, C. Cabrera-Vique, I. Seiquer, "Study of the antioxidant potential of arbequina extra virgin olive oils from brazil and spain applying combined models of simulated digestion and cell culture markers," *Journal of Functional Foods*, vol. 37, pp. 209–218, 2017.
- [332] E. Frankel, "Antioxidant protocols for foods and biological systems," *Antioxidants in food and biology. Facts and fiction*, The Oily Press, PJ Barnes & Associates, Bridgwater (UK), pp. 77–104, 2007.
- [333] L. Zhu, J. Chen, X. Tang, Y. L. Xiong, "Reducing, radical scavenging, and chelation properties of in vitro digests of alcalase-treated zein hydrolysate," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 8, pp. 2714–2721, 2008.
- [334] I. Seiquer, A. Rueda, M. Olalla, C. Cabrera-Vique, "Assessing the bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of extra virgin argan oil by simulated digestion and caco-2 cell assays. comparative study with extra virgin olive oil," *Food chemistry*, vol. 188, pp. 496–503, 2015.
- [335] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, S. E. n. Karademi r, M. Altun, "Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The cuprac method," *Free radical research*, vol. 39, no. 9, pp. 949–961, 2005.

- [336] L. K. MacDonald-Wicks, L. G. Wood, M. L. Garg, "Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, no. 13, pp. 2046–2056, 2006.
- [337] J. Stokes, J. Telford, "Measuring the yield behaviour of structured fluids," *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, vol. 124, no. 1-3, pp. 137–146, 2004.
- [338] A. P. Batista, A. Raymundo, I. Sousa, J. Empis, "Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases," *Food hydrocolloids*, vol. 20, no. 1, pp. 44–52, 2006.
- [339] F. Guilmineau, U. Kulozik, "Influence of a thermal treatment on the functionality of hen's egg yolk in mayonnaise," *Journal of Food Engineering*, vol. 78, no. 2, pp. 648–654, 2007.
- [340] L. Ma, G. Barbosa-Cánovas, "Rheological characterization of mayonnaise. part II: Flow and viscoelastic properties at different oil and xanthan gum concentrations," *Journal of Food Engineering*, vol. 25, no. 3, pp. 409–425, 1995.
- [341] E. Dickinson, "Properties of emulsions stabilized with milk proteins: Overview of some recent developments," *Journal of Dairy Science*, vol. 80, no. 10, pp. 2607–2619, 1997.
- [342] G. Katsaros, M. Tsoukala, M. Giannoglou, P. Taoukis, "Effect of storage on the rheological and viscoelastic properties of mayonnaise emulsions of different oil droplet size," *Heliyon*, vol. 6, no. 12, e05788, 2020.
- [343] V. D. Alves, F. Freitas, N. Costa, M. Carvalheira, R. Oliveira, M. P. Gonçalves, M. A. Reis, "Effect of temperature on the dynamic and steady-shear rheology of a new microbial extracellular polysaccharide produced from glycerol byproduct," *Carbohydrate Polymers*, vol. 79, no. 4, pp. 981–988, 2010.
- [344] L. Xu, G. Xu, T. Liu, Y. Chen, H. Gong, "The comparison of rheological properties of aqueous welan gum and xanthan gum solutions," *Carbohydrate polymers*, vol. 92, no. 1, pp. 516–522, 2013.
- [345] L. Xu, H. Gong, M. Dong, Y. Li, "Rheological properties and thickening mechanism of aqueous diutan gum solution: Effects of temperature and salts," *Carbohydrate polymers*, vol. 132, pp. 620–629, 2015.
- [346] F. Sun, Q. Huang, J. Wu, "Rheological behaviors of an exopolysaccharide from fermentation medium of a cordyceps sinensis fungus (cs-hk1)," *Carbohydrate polymers*, vol. 114, pp. 506–513, 2014.
- [347] J. Munoz, P. Sherman, "Dynamic viscoelastic properties of some commercial salad dressings," *Journal of Texture Studies*, vol. 21, no. 4, pp. 411–426, 1990.
- [348] V. Kiosseoglou, P. Sherman, "Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of o/w emulsions and mayonnaise 1. viscoelasticity of groundnut oil-in-water emulsions and mayonnaise," *Journal of texture studies*, vol. 14, no. 4, pp. 397–417, 1983.
- [349] T. Tadros, "Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions," *Advances in colloid and interface science*, vol. 108, pp. 227–258, 2004.

- [350] F. Mancini, L. Montanari, D. Peressini, P. Fantozzi, "Influence of alginate concentration and molecular weight on functional properties of mayonnaise," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 35, no. 6, pp. 517–525, 2002.
- [351] I. N. Hayati, Y. B. C. Man, C. P. Tan, I. N. Aini, "Stability and rheology of concentrated o/w emulsions based on soybean oil/palm kernel olein blends," *Food Research International*, vol. 40, no. 8, pp. 1051–1061, 2007.
- [352] A. Franck, "Technological functionality of inulin and oligofructose," *British journal of nutrition*, vol. 87, no. S2, S287–S291, 2002.
- [353] M. Drake, L. Ma, B. Swanson, G. B. Cánovas, "Rheological characteristics of milkfat and milkfat-blend sucrose polyesters," *Food research international*, vol. 27, no. 5, pp. 477–481, 1994.
- [354] Z. H. Tekin, S. Karasu, "Cold-pressed flaxseed oil by-product as a new source of fat replacers in low-fat salad dressing formulation: Steady, dynamic and 3-itt rheological properties," *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 44, no. 9, e14650, 2020.
- [355] F. Delgado-Vargas, A. Jiménez, O. Paredes-López, "Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 40, no. 3, pp. 173–289, 2000.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgileri:

Makale

1. G. Kutlu, F. Bozkurt, F. Tornuk, “Extraction of a novel water-soluble gum from nettle (*Urtica dioica*) seeds: Optimization and characterization,” *International journal of biological macromolecules*, vol. 162, pp. 480–489, 2020.