

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**ÇOKLU EMÜLSİYON YAPILARIN DİZAYNI**

**VE POTANSİYEL GIDA UYGULAMALARI**

**Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sedef Nehir EL**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Sunuş Tarihi : 30.11.2018**

**Bornova-İZMİR**

**2018**



**Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ** tarafından **doktora** tezi olarak sunulan “**Çoklu emülsiyon yapıların dizaynı ve potansiyel gıda uygulamaları**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 30.11.2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı** : Prof. Dr. Sedef Nehir EL  
**Raportör Üye** : Prof. Dr. Sibel KARAKAYA  
**Üye** : Prof. Dr. Şebnem HARSA  
**Üye** : Doç. Dr. Cem KARAGÖZLÜ  
**Üye** : Dr. Öğr.Üyesi Beste BAYRAMOĞLU





## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “**Çoklu emülsiyon yapıların dizaynı ve potansiyel gıda uygulamaları**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

30 /11 / 2018



Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ



**ÖZET****“ÇOKLU EMÜLSİYON YAPILARIN DİZAYNI VE POTANSİYEL GIDA UYGULAMALARI”**

İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ, Hülya

Doktora tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

Kasım 2018, 97 sayfa

Çoklu emülsiyonların, sağlıklı gıda üretiminde yağ içeriğinin azaltılması, yağ asidi profilinin geliştirilmesi, fonksiyonel bileşenlerin enkapsülasyonu ve tat yoğunluğunu artırarak gıdaların şeker/tuz içeriklerinin azaltılması gibi potansiyel uygulama alanları bulunmaktadır. Bu çalışmada, tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak ve demir mineralinin enkapsülasyonu amacıyla üç farklı özellikte çoklu emülsiyon sistemleri tasarlanmış ve karakterize edilmiştir.

Çalışmada, öncelikle çoklu emülsiyonu oluşturacak olan tekli emülsiyonun stabilitesi üzerine çalışılmıştır. Tatlılık ve tuzluluk algısını arttırmak üzere hazırlanacak olan tekli emülsiyonlar faz ayrılması açısından, demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanacak olan tekli emülsiyon da oksidatif stabilite açısından incelenmiştir. Tat algısını arttırmak üzere hazırlanan tekli emülsiyonlarda lipofilik emülgatör (PGPR) konsantrasyonunun, su fazı içeriğinin ve yağ: su fazı oranının stabilite üzerine etkisi incelenmiş ve stabil tekli emülsiyon hazırlanmasında ağırlıkça % 4 konsantrasyonunda PGPR, 60:40 yağ: su fazı oranı ve magnezyum klorür içeren su fazı etkili bulunmuştur. Demir enkapsülasyonu için hazırlanan tekli emülsiyonda da yapıya peyniraltı suyu protein ilavesinin, oksidasyon stabilitesini önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

Çalışmada hazırlanmış olan çoklu emülsiyonlar, ağırlıkça üç farklı dış su fazı: tekli emülsiyon oranında hazırlanmış ve emülsiyonlar damlacık boyutu, mikroyapı, reoloji, kremleşme stabilitesi, enkapsülasyon verimliliği, *in vitro* lipid hidrolizi, demir biyoerişilebilirliği açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen tüm

emülsiyonlarda dış su fazı: tekli emülsiyon oranının damlacık büyüklüğünü ve viskoziteyi etkilediği belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Dış su fazı: tekli emülsiyon oranı 60:40 olan ikili emülsiyonlarda viskozite değeri en yüksek, damlacık boyutu da en düşük bulunmuştur. Tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonlarda dış su fazı: tekli emülsiyon oranının lipit hidrolizi üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir. Demir biyoerişebilirliğinin dış su fazı oranı arttıkça azaldığı, enkapsülasyon verimliliğinin ise arttığı saptanmıştır. Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonlar, aynı miktarda tuz ve şeker içeren tekli emülsiyonlardan duyusal olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Tuz içeren çoklu emülsiyon tekli emülsiyona kıyasla katılımcıların % 68'i tarafından daha tuzlu, şeker içeren emülsiyon ise katılımcıların % 75'i tarafından daha tatlı bulunmuştur.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, gıdaların tat yoğunluğunu arttırarak tuz ve şeker içeriklerinin azaltılmasına ve demir bileşiğinin enkapsülasyonu ile biyoerişebilirliğinin arttırılmasına olanak sağlayan çoklu emülsiyon sistemlerinin tasarlanması için önem taşımaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Emülsiyon, stabilite, damlacık boyutu, reoloji, mikroyapı, tuzluluk, tatlılık, demir, *in vitro* sindirim.



**ABSTRACT****DESIGN OF MULTIPLE EMULSION STRUCTURES AND POTENTIAL  
FOOD APPLICATIONS**

İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ, Hülya

PhD in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

November 2018, 97 pages

The possible application of double emulsions in the healthy food production includes reducing fat content, improving fat acid profile, encapsulation of functional components, and reducing sugar/salt content of foods by increasing the perception of taste intensity. In this study, three different emulsion systems for enhancing the saltiness, sweetness perception and encapsulating the iron component were designed and characterized.

In the study briefly, the stability of the single emulsions, which will form the multiple emulsions, was studied. The primary emulsions to be prepared to increase sweetness and salinity perception was examined in terms of phase separation and the primary emulsion to be prepared for iron encapsulation was also examined for oxidative stability. The effect of lipophilic emulsifier (PGPR) concentration, water phase composition and oil:water phase ratio on stability was investigated in the emulsions prepared to increase the taste perception; PGPR in a concentration of 4% by weight, water phase ratio of 60:40 oil: water phase ratio and magnesium chloride content in the internal aqueous phase was found effective in the preparation stable primary emulsion. For the primary emulsion prepared for iron encapsulation, it was also found that addition of whey protein isolate to emulsions was significantly increased the oxidation stability ( $p < 0.05$ ).

In the study, the multiple emulsions were prepared with three different external water phases: single emulsion ratio and the emulsions were evaluated in terms of droplet size, microstructure, rheology, *in vitro* lipid digestibility, iron bioavailability. It was determined that the ratio of external aqueous phase: single

emulsion has an effect on the droplet size and viscosity of all emulsions obtained ( $p < 0.05$ ). The emulsion with a 60:40 ratio had the highest viscosity value and the lowest droplet size. It was determined that the ratio of the external water phase to single emulsion had no effect on lipid hydrolysis of double emulsions prepared to increase taste perception. Iron bioavailability decreased with increasing external water phase ratio while encapsulation efficiency increased. The multiple emulsions prepared to increase the saltiness and sweetness perception were found different from the primary emulsions containing the same salt and sugar amount at the level of  $p < 0,001$ . Sixty-eight percent and 75 % of the participants found the multiple emulsions saltier and sweeter compared to the single emulsions, respectively.

The information obtained from this study is important in that it allows for the design of multiple emulsion systems that enhance the taste of foods to reduce salt and sugar content and encapsulate iron with high encapsulation efficiency and bioaccessibility.

**Keywords:** Emulsion, stability, droplet particle size, rheology, microstructure, saltiness, sweetness, iron, *in vitro* digestion.

## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince her türlü konuda değerli görüş ve deneyimini bana aktararak katkıda bulunan, yardımını ve desteğini her zaman hissettiğim değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sedef Nehir EL'e,

Lisansüstü öğrenimim süresince her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sibel KARAKAYA'ya,

Tez çalışmam süresince sağladığı değerli katkılar için tez izleme komitesi üyesi Doç. Dr.Cem KARAGÖZLÜ'ye,

Çalışmamın en zor anlarında hayat kurtarıcı çözümleri ile bana her zaman destek veren, varlığını her zaman bir abla kadar yakın hissettiğim Ar. Gör Dr. Şebnem ŞİMŞEK'e,

Doktora tez çalışmam süresince tezime mali yönden destek olan TUBİTAK TOVAG'a (Proje No: 114O209) ve Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi' ne (EBİLTEM) (Proje No: 2015/BİL/2018),

Tez çalışmam boyunca desteklerini ve dostluklarını her zaman hissettiğim Dr. V. Hazal ÖZYURT, Ar. Gör. Dr. Hülya ÇAKMAK, Yük. Müh. Aslı KANCABAŞ KILINÇ, Yük. Müh. Birgül HIZLAR, Yük. Müh. Celalettin DEĞERLİ ve Merve Eda EKER'e,

Hayatım süresince maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan, çalışmamın en sıkıntılı zamanlarında beni motive ederek cesaretlendiren sevgili annem Şenay İLYASOĞLU, babam Adil İLYASOĞLU'na ve sevgisini her zaman hissettiğim biricik ablam Yasemin İLYASOĞLU ACUN'a,

Çalışmaların süresince eşsiz bir sabır sergileyen, sevgisi ve varlığı ile bana güç veren biricik eşim Metin BÜYÜKKESTELLİ'ye,

Özgür bir ortamda çalışmamın yolunu açan ulu önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e çok teşekkür ederim.

Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER TABLOSU .....	xvii
ÇİZELGELER TABLOSU .....	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxiii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1 Emülsiyon .....	4
2.2 Çoklu Emülsiyon .....	4
2.3 Çoklu Emülsiyon Bileşimi .....	5
2.3.1 Su fazı .....	5
2.3.2 Yağ fazı (Y) .....	5
2.3.3 Emülgatörler .....	6
2.4 Çoklu Emülsiyonun Hazırlanması .....	9
2.4.1 Faz dönüşüm yöntemi .....	9

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.4.2 İki basamaklı emülsifikasyon yöntemi .....	10
2.5 Çoklu Emülsiyonda Stabilite Problemleri .....	11
2.6 Çoklu Emülsiyonun Gıda Sanayinde Kullanımı .....	12
2.6.1 Gıdaların yağ içeriğinin azaltılması.....	12
2.6.2 Gıdaların yağ asidi profilinin geliştirilmesi.....	14
2.6.3 Besin öğelerinin enkapsülasyonu .....	14
2.6.4 Tat algısının artırılması .....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	26
3.1 Materyal.....	26
3.2 Emülsiyonların hazırlanması .....	26
3.2.1 Tekli emülsiyonların ( $S_1/Y$ ) hazırlanması .....	27
3.2.2 İkili emülsiyonlarının ( $S_1/Y/S_2$ ) hazırlanması .....	29
3.3 Analizler .....	32
3.3.1 Tekli ve ikili emülsiyonlarda faz dönüşümünün kontrolü.....	32
3.3.2 Tekli emülsiyonlarda sedimentasyon indeksi.....	32
3.3.3 Tekli ve ikili emülsiyonların damlacık boyut ve boyut dağılımı .....	33

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

3.3.4 Tuzluluk algısını arttırmak amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonun içereceği tuz miktarının belirlenmesi.....	34
3.3.5 Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan tekli emülsiyonun oksidasyon stabilitesi .....	35
3.3.6 Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimliliği.....	37
3.3.7 İkili emülsiyonların mikroyapısı .....	38
3.3.8 İkili emülsiyonların reolojik özelliklerinin belirlenmesi .....	38
3.3.9 İkili emülsiyonların kremleşme stabilitesi.....	39
3.3.10 <i>In vitro</i> lipid hidrolizi .....	39
3.3.11 Demir biyoerişebilirliği .....	43
3.3.12 İkili emülsiyonlarda bulunan tuzun ve sakkarozun duyuşal değerlendirilmesi .....	44
3.4 İstatistiksel Değerlendirme .....	46
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1 Tekli ve İkili Emülsiyonlarda Faz Dönüşümü Kontrolü .....	47
4.2 Tuzluluk ve Tatlılık Algısı için Hazırlanan Tekli Emülsiyonlarda Stabilite ...	48

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.2.1 S <sub>1</sub> fazının içeriğinin ve PGPR konsantrasyonunun etkisi.....	48
4.2.2 Yağ: su fazı oranının etkisi.....	50
4.3 İkili Emülsiyonda Kullanılan Tuz Miktarının Duyusal Analizi ile Belirlenmesi .....	52
4.4. Enkapsüle Demir İçeren Tekli Emülsiyonlarda Oksidasyon Stabilitesi.....	53
4.5 İkili Emülsiyonlarda Osmotik Basıncın Dengelenmesi .....	55
4.6 Enkapsülasyon Verimliliği .....	57
4.7 İkili Emülsiyonların Damlacık Boyutu ve Mikroyapısı .....	58
4.8 İkili Emülsiyonların Reolojisi .....	63
4.9 İkili Emülsiyonların Kremleşme Stabilitesi .....	70
4.10 <i>In vitro</i> Lipit Hidrolizi .....	71
4.11 Demir Biyoerişilebilirliği .....	75
4.12 İkili Emülsiyonun Tuzluluk ve Tatlılık Açısından Duyusal Değerlendirilmesi .....	77
5. SONUÇ.....	80
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	98



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 İkili emülsiyonun şematik gösterimi. ....	5
2.2 Çoklu emülsiyonların ikili emülsifikasyon yöntemi ile hazırlanması .....	11
2.3 Mayonezin mikroyapısı .....	13
2.4 Tuz algısı oluşumunun şematik gösterimi. ....	24
3.1 Duyusal değerlendirme formu (1). ....	34
3.2 <i>In vitro</i> sindirim akım şeması .....	41
3.3 Örneklerin panelistlere sunum şekli. ....	45
3.4 Tuzluluk algısının belirlenmesi için uygulanan duyusal değerlendirme formu .....	46
3.5 Tatlılık algısının belirlenmesi için uygulanan duyusal değerlendirme formu .	46
4.1 Faz dönüşümü kontrolüne ait görüntüler .....	47
4.2 Farklı PGPR konsantrasyonu ve su fazı ile hazırlanmış tekli emülsiyonların 25°C’de bir ay depolama sonrası görüntüleri .....	49
4.3 Y:S <sub>1</sub> oranının S <sub>1</sub> /Y emülsiyonlarının damlacık boyut dağılımı üzerine etkisi....	50
4.4 Y:S <sub>1</sub> oranının S <sub>1</sub> /Y emülsiyonlarının sedimentasyon indeksi üzerine etkisi...52	
4.5 Farklı S <sub>2</sub> : S <sub>1</sub> /Y oranına sahip olan ikili emülsiyonlarda demirin enkapsülasyon verimliliği .....	58

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.6 Farklı $S_2:S/Y_1$ oranına sahip ikili emülsiyonların damlacık boyut dağılımı ...	60
4.7 Farklı $S_1/Y: S_2$ oranına sahip, tuzluluk algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri .....	62
4.8 Farklı $S_1/Y: S_2$ oranına sahip, tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri.....	62
4.9 Farklı $S_1/Y: S_2$ oranına sahip, demir enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri .....	63
4.10 İkili emülsiyonların kayma gerilimi- kayma hızı profilleri.....	65
4.11 İkili emülsiyonların görünür viskozite-kayma hızı profilleri .....	66
4.12 Enkapsüle demir içeren ikili emülsiyonların kremleşme indeksi.....	71
4.13 A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan tekli emülsiyonların ( $S_1/Y$ ) lipid hidroliz profilleri .....	72
4.14 A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan tekli ( $S_1/Y$ ) lipid hidroliz profilleri.....	73
4.15 A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonlarının lipid hidroliz profilleri.....	74
4.16 A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonlarının lipid hidroliz profilleri.....	75

4.17 Farklı  $S_2:S_1/Y$  oranına sahip ikili emülsiyonların demir biyoerişilebilirliği .76





## ÇİZELGELER TABLOSU

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Demir enkapsülasyonu için hazırlanan tekli ve ikili emülsiyonların demir içerikleri.....	31
3.2 Hazırlanan ikili emülsiyonların içerikleri.....	32
3.3 Oksidasyon stabilitesi belirlenen örneklerin içerikleri.....	36
3.4 <i>In vitro</i> sindirimde kullanılan sindirim sıvılarının kimyasal içerikleri.....	40
4.1 Farklı Y: S <sub>1</sub> oranına sahip S <sub>1</sub> /Y emülsiyonlarının depolama sonrası damlacık boyutu.....	51
4.2 Bir porsiyon salatada tercih edilen tuz, suyu ve zeytinyağı miktarları.....	52
4.3 Peroksit ve p-anisidin değerleri.....	54
4.4 İkili emülsiyonların S <sub>2</sub> fazlarının ozmotik basıncı.....	56
4.5 Ozmotik denge için iç su fazında kullanılması gereken MgCl <sub>2</sub> konsantrasyonları.....	56
4.6 Farklı S <sub>2</sub> :S <sub>1</sub> /Y oranı sahip ikili emülsiyonların damlacık boyutu.....	59
4.7 Farklı faz oranına sahip ikili emülsiyonların reolojik özellikleri.....	69
4.8 Tuzluluk algısına ait duyu analizi sonuçları.....	77
4.9 Tatlılık algısına ait duyu analizi sonuçları.....	78



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
D[32]	Sauter ortalama çap
D[43]	Hacim ağırlıklı ortalama çap
$\tau$	Kayma gerilimi (Pa)
$\tau_0$	Kayma eşiği (Pa)
$\tau_{\text{beklenen}}$	Beklenen kayma gerilimi (Pa)
$\tau_{\text{deneysel}}$	Deneysel kayma gerilimi (Pa)
$\gamma$	Kayma hızı ( $s^{-1}$ )
$\eta$	Plastik viskozite (Pa.s)
<u>Kısaltmalar</u>	
A- Demir	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 60:40 olan demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
A <sub>1</sub>	Örneğin 350 nm’de absorbanı
A <sub>1kör</sub>	İzooktan çözeltisinin 350 nm’de absorbanı
A <sub>2</sub>	Örnek+p-anisidin çözeltisinin 350 nm’de absorbanı
A <sub>2kör</sub>	İzooktan+p-anisidin çözeltisinin çözeltisinin 350 nm’de absorbanı
A-Sakkaroz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 60:40 olan tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon

A-Tuz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 60:40 olan tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
A-yağ	Analize alınan toplam yağ miktarı (g)
B-Demir	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 70:30 olan demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
B-Sakkaroz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 65:35 olan tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
B-Tuz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 65:35 olan tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
C-Demir	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 80:20 olan demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
C-Sakkaroz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 70:30 olan tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
C-Tuz	S <sub>2</sub> fazı: S <sub>1</sub> /Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 70:30 olan tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon
EV(%)	Enkapsülasyon verimliliği (%)
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
Fe <sup>+2</sup>	Ferroz
Fe <sup>+3</sup>	Ferrik
FeCl <sub>3</sub>	Demir (III) klorür
Fe <sub>T</sub>	Emülsiyondaki toplam demir miktarı
Fe <sub>t</sub>	t zamanında S <sub>2</sub> fazına geçen demir miktarı
FR(%)	S <sub>2</sub> fazına geçen demir yüzdesi (%)



GRAS	Genellikle güvenilir kabul edilen
HLB	Hidrofilik-lipofilik denge
ho	Emülsiyondan ayrılan yağın yüksekliği
ht	Emülsiyonun toplam yüksekliği
i	Van't Hoff's faktörü
K	Akışkanlık indeksi (Pa.s)
K	Kör denemede harcanan sarfiyat (ml)
KI	Kremleşme indeksi
m	Analize alınan örnek miktarı (g)
M	Molarite
$M_{A(\text{yağ})}$	Yağın molekül ağırlığı (g/mol)
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
$M_{NaOH}$	Sodyum hidroksit molaritesi
MRPs	Fındık proteini-mannoz Maillard reaksiyonu ürünleri
N	akış davranış indeksi
N	Normalite
NaCl	Sodyum klorür
Na-kazeinat	Sodyum kazeinat
P	Osmotik basınç (Pa)

PGPR	Poligliserol polirisinolat
PPI	Fındık proteini izolatu
PPM	Bezelye proteini-mannoz karışımı
R	İdeal gaz sabiti
$R^2$	Regresyon katsayısı
RMSE	Kök ortalama kare hatası
S	Sarfiyat (ml)
S/Y	Yağ içinde su emülsiyonu
$S_1$	İç su fazı
$S_1/Y/S_2$	Su içinde yağ- yağ içinde su emülsiyonu
$S_2$	Dış su fazı
SAS	Simüle ağız sıvısı
SDS	Simüle incebağırsak (duodenal) sıvısı
SGS	Simüle mide sıvısı
SI	Sedimentasyon indeksi
Span 80	Sorbitan monoleat
SYA(%)	Serbest yağ asidi (%)
T	Sıcaklık (Kelvin cinsinden)
TCA	Trikloroasetik asit

$V_{\text{NaOH}}$	Titrasyon sarfedilen NaOH hacmi (ml)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
x	Son reaksiyon karışımındaki enzim miktarı (mg)
$X_{\text{pankreatin}}$	Pankreatin çözeltisi konsantrasyonu (mg/ml)
$X_{\text{pepsin}}$	Pepsin çözeltisi konsantrasyonu (mg/ml)
Y	Yağ fazı
Y/S	Su içinde yağ emülsiyonu
$Y_1/S/Y_2$	Yağ içinde su- su içinde yağ emülsiyonu
Z	Zeytinyağı
ZP	Zeytinyağı + PGPR karışımı
ZPF	Zeytinyağı+ PGPR+ fosfat tamponun emülsiyonu
ZPFD	Zeytinyağı+ PGPR+ fosfat tamponu+ demir emülsiyonu
ZPFDD	Zeytinyağı+ PGPR+ fosfat tamponu+ demir+ peyniraltı suyu hidrolizatı emülsiyonu



## 1. GİRİŞ

Günümüzde yaşam kalitesini arttırmak, uzun süreli yaşamaktan daha önemli bir konu haline gelmiştir. Sağlıklı yaşlanmak ve yaşa bağlı oluşabilecek hastalık risklerini en aza indirebilmek için temel etkenler beslenme ve fiziksel aktivitedir. Bu hastalık risklerinin azaltılmasında, beslenme konusunda yapılan önerilerin yer aldığı 'Beslenme Rehberleri (Dietary Guidelines)' en önemli kaynaklardır. Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve birçok beslenme rehberlerinin beslenme ve sağlık konusundaki altı ortak görüşü bulunmaktadır. Bu görüşlerden biri daha az sodyum (tuz) tüketimi, bir diğeri ise rafine şeker tüketiminin azaltılması ve kompleks karbonhidrat tüketiminin arttırılmasıdır. Dünyada ve ülkemizde aşırı tuz tüketimi birçok kronik hastalığın temelini oluşturmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar, ülkemizde tuz tüketiminin WHO' nun önerdiği değerin yaklaşık üç katı kadar olduğunu göstermiştir.. Bu durum, yüksek tansiyon ve kalp damar hastalıkları açısından risk taşımaktadır. Aşırı şeker tüketimi de alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması, obezite, diyabet, kalp-damar hastalıkları gibi kronik hastalıkların, bazı kanser türlerinin ve bilişsel zayıflama ile ilişkilendirilen hastalıkların risklerini oluşturmaktadır (Rippe and Angelopoulos, 2016). Oluşumunda aşırı şeker ve tuz tüketiminin önemli bir etken olduğu obezite, kanser, diyabet, kalp-damar hastalıkları gibi bulaşıcı olmayan hastalıkların dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde ilk sırada yer alması şeker ve tuz tüketiminin azaltılmasının ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır (T.C Sağlık Bakanlığı, 2016).

Son yıllarda karakteristiklerinden dolayı çoklu emülsiyonların sağlıklı ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde kullanılması ile ilgili yeni çalışmalar hız kazanmıştır. Çoklu emülsiyonların sağlıklı gıda üretiminde potansiyel uygulama alanları çok geniş bir perspektifte değerlendirilmektedir (Jiménez-Colmenero, 2013). Çoklu emülsiyonlar, tat algısını değiştirmek üzere tasarlanabilen sistemlerdir. Örneğin, bu emülsiyonlarda sadece en dıştaki su fazına tuz ilavesi ile tuzluluk algısında artış sağlanabilmektedir. Ağızda yer alan tat reseptörleri, çoklu emülsiyonların sadece dış su fazında yer alan tuzu algılamakta ve iç su fazında (S<sub>1</sub>) yer alan tuzun ise algı üzerine etkisi bulunmamaktadır (Kilcast and Angus, 2007). Çoklu emülsiyonlarının bir diğer kullanım alanı da biyoaktif

bileşenlerin en içte yer alan su fazında enkapsülasyonudur. Çoklu emülsiyonlar ile enkapsülasyonun istenmeyen tat ve kokuyu maskeleyme, biyoaktif bileşenlerin vücutta sindirim sırasında kontrollü salınmasını sağlama ve biyoaktif bileşenleri çevresel koşullardan korunması gibi birtakım avantajları bulunmaktadır (Muschiolik and Dickinson, 2017). Çoklu emülsiyonlar klasik emülsiyonlara nazaran stabilitesi düşük olan sistemlerdir; bu durum çoklu emülsiyonların gıda alanında uygulamalarını kısıtlamaktadır. Çoklu emülsiyonların stabilitesi sistemde kullanılan yağ, emülgatör çeşidi, kullanılan yöntemler, saklama koşulları, sistemde bulunan fazların birbirine oranı vb. birçok faktörden etkilenmektedir. Çoklu emülsiyonların özelliklerinin ve karakteristiklerinin kavranması, stabilitelelerinin ve gıda endüstrisinde potansiyel uygulamalarının artırılmasına olanak sağlamaktadır.

Bu bilgiler doğrultusunda, tez kapsamında tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak ve demir bileşiğinin enkapsülasyonu amacıyla üç farklı özellikte çoklu emülsiyon sistemlerinin tasarlanması ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda tat algısının artırılmasına yönelik hipotezimiz, çalışmada kullanılacak olan tuz veya şekerin ikili emülsiyonun sadece dış su fazına yerleştirilmesi ile ağızdaki tat reseptörleri tarafından doğrudan algılanarak, daha yoğun hissedilmesidir. Böylece, ikili emülsiyonlarda tekli emülsiyonlara göre dış fazda daha düşük tuz veya şeker konsantrasyonlarının kullanımı mümkün olacaktır. Demir enkapsülasyonunda ise demir ikili emülsiyonunun en içteki su fazına yerleştirilerek oksijen ile temasının olabildiğince kesilmesi ve kötü tadın maskelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, öncelikle stabil tekli emülsiyon ( $S_1/Y$ ) sistemleri için formülasyon geliştirilmesi, sonrasında da bu tekli emülsiyon sistemlerinden faydalanılarak stabil çoklu emülsiyon sistemlerinin geliştirilmesi üzerine çalışılmıştır. Tekli emülsiyonlarda stabilitenin sağlanmasında yağ:su fazının oranı, lipofilik emülgatör konsantrasyonu ve iç su fazının içeriği incelenmiştir. Demir içeren tekli emülsiyon da oksidasyon stabilitesi açısından incelenmiştir. Daha sonrasında stabil tekli emülsiyonlar ile farklı faz oranlarında ikili emülsiyonlar hazırlanarak, emülsiyonların damlacık boyut ve dağılımı, reoloji, sedimentasyon stabilitesi, mikroyapı görüntüleme, duyusal analiz, *in vitro* lipit sindirim, demir biyoerişilebilirliği gibi analizlerle karakterizasyonları tanımlanmıştır. Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacıyla hazırlanan çoklu

emülsiyonlar aynı su:yağ oranına sahip ve aynı miktarda tuz/sakkaroz içeren tekli emülsiyonlar ile Yönel Üçgen Testi kullanılarak duyusal açıdan değerlendirilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Emülsiyon

Emülsiyon, birbiri ile karışmayan en az iki sıvının, genellikle su ve yağ, birbiri içerisinde bir emülgatör varlığında dağılması ile meydana gelen, makroskopik boyutta homojen görünümlü mikroskopik boyutta ise heterojen olan dispers sistemdir (Gönül, 2000; Acartürk vd., 2009; Pichot, 2010). Bir emülsiyonda damlacıkları oluşturan faz dağılan, sürekli olmayan veya iç faz olarak, damlacıkları çevreleyen sıvıyı oluşturan faz ise sürekli veya dış faz olarak adlandırılmaktadır (McClements, 2015).

Yağ damlacıklarının su içerisinde olduğu su içinde yağ (Y/S) emülsiyonu ve su damlacıklarının yağ içerisinde olduğu yağ içinde su (S/Y) emülsiyonu olmak üzere iki farklı emülsiyon sistemi mevcuttur. İlk emülsiyon sisteminde hidrofilik, diğer emülsiyon için de hidrofobik emülgatöre gereksinim duyulmaktadır. Emülgatör seçimi emülsiyon oluşumu ve uzun süreli stabilitenin sağlanması açısından önem taşımaktadır (Tadros, 2013; Alvarez, 2017).

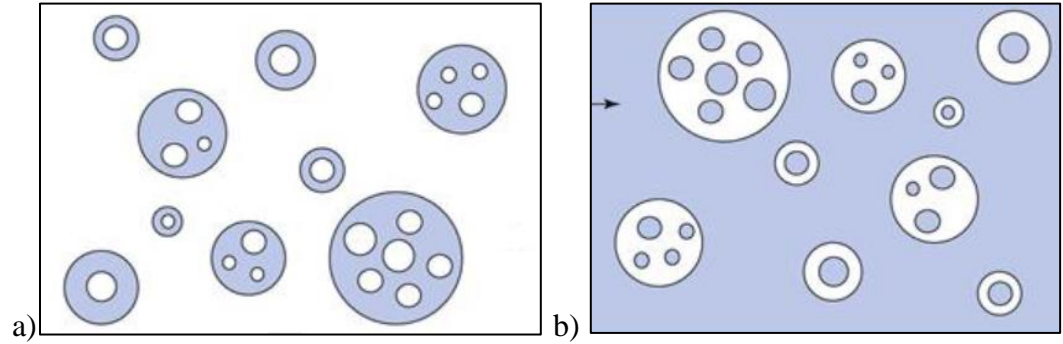
### 2.2 Çoklu Emülsiyon

Bir emülsiyon başka bir emülsiyonun dağılan fazı olarak kullanılabilir; su içinde yağ emülsiyonunun yağ içerisinde homojenize edilmesi veya yağ içinde su emülsiyonunun su içerisinde homojenize edilmesi ile elde edilen kompleks çoklu emülsiyon ikili veya daha fazla emülsiyon sistemleri olarak bilinmektedir (Alvarez, 2017). Çoklu emülsiyon terimi ilk kez 1925 yılında Seifriz tarafından tanımlanmıştır, ancak 1980'li yıllarda detaylı olarak çalışılmaya başlanmıştır. Çoklu emülsiyon, su içinde yağ ve yağ içinde su emülsiyonlarının aynı anda bir arada bulunduğu, hidrofilik ve lipofilik emülgatörler ile stabilize edilen polidispers kompleks bir sistemdir (Garti and Bisperink, 1998; Khan et al., 2006).

Su içinde yağ-yağ içinde su (S/Y/S) ve yağ içinde su-su içinde yağ (Y/S/Y) olmak üzere iki farklı çoklu emülsiyon sistemi mevcuttur (Şekil 2.1). S/Y/S emülsiyonunda yer alan yağ damlacıkları içerisinde dağılmış su damlacıkları, Y/S/Y emülsiyonunda ise su damlacıkları içerisinde dağılmış halde yağ damlacıkları yer almaktadır. İki farklı faz ve tek yağ-su arayüzeyinden oluşan



tekli emülsiyonlara kıyasla çoklu emülsiyonlar üç farklı faz ve iki yağ-su arayüzeyi içermektedir (Dickinson, 2011).



Şekil 2.1 İkili emülsiyonun şematik gösterimi a) S/Y/S, b) Y/S/Y emülsiyonu, mavi renkler yağı temsil etmektedir (Aulton and Taylor, 2018).

### 2.3 Çoklu Emülsiyon Bileşimi

Bu tez çalışmasında S/Y/S emülsiyonu ile çalışıldığından bu emülsiyon sisteminin bileşimine değinilmiştir. S/Y/S emülsiyonun ana bileşenleri hidrofobik ve hidrofilik emülgatörler, iç ( $S_1$ ) ve dış ( $S_2$ ) su fazları ile yağ fazıdır (Su, 2008).

#### 2.3.1 Su fazı (S)

Su fazı S/Y emülsiyonunun dağılan fazını, S/Y/S emülsiyonun da sürekli fazını oluşturmaktadır. İç su fazı genellikle tuz, şeker ve besin öğeleri gibi maddeleri içeren çözeltilerdir. Dış su fazı ise emülgatör (proteinler vb.) ve stabilizatörden (polisakkaritler gibi) oluşan bir çözeltilerdir. Su fazlarının hacimsel oranları ve içerdikleri maddelerin miktarı S/Y/S emülsiyonun stabilitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Su, 2008).

#### 2.3.2 Yağ fazı (Y)

S/Y/S emülsiyonun kararlılığını belirleyen önemli faktörlerden biri yapısında bulunan S/Y emülsiyonun stabilitesidir; bu stabilite yağ fazının hidrofobitesi ile yakından ilişkilidir. Yağ fazı, iç ve dış su fazını birbirinden ayıran bir membran gibi davranmaktadır. İç veya dış su fazında çözünen polar moleküller, iki faz arasındaki konsantrasyon farkı nedeni ile yağ fazından difüzyon yolu ile geçebilmektedir. Moleküller çoğunlukla yağ fazında yer alan hidrofobik

emülgatörün miselleri ile taşınmaktadır. Meydana gelen su difüzyonu, iç su damlacıklarının şişmesine, patlamasına ya da büzülmesine neden olarak çoklu emülsiyonun stabilitesi olumsuz yönde etkilemektedir. Gıda bazlı stabil bir S/Y/S emülsiyonun hazırlanmasında yağ fazının viskozitesinin ve suda çözünürlüğünün düşük olması gerekmektedir (Su, 2008; Sonakpuriya et al., 2013).

Çoklu emülsiyonların hazırlanmasında soya, susam, yer fıstığı, aspir gibi bitkisel kaynaklı birçok yağ çeşidi kullanılabilir. Fakat birçok bitkisel yağın viskozitesi ve suda çözünürlüğü yüksektir. Ayrıca bu yağlar ile emülsiyon hazırlanmasında sisteme yüksek enerji verilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda soya yağı, mısır yağı ve ayçiçek yağı içeren stabil çoklu emülsiyonlar yüksek molekül ağırlığına sahip emülgatörler kullanılarak elde edilmiştir (Su, 2008). Yağ kaynağı olarak hafif sıvı parafin, skualen gibi hidrokarbonlar ile etil oleat ve izopropil miristat gibi yağ asitlerinin esterleri de kullanılabilir. Bitkisel kaynaklardan elde edilen yağlar biyobozunur özellikte iken mineral yağlar vücuttan oldukça yavaş atılmaktadır. Genellikle mineral yağlar ile hazırlanan çoklu emülsiyonlar, bitkisel yağlar ile hazırlananlara kıyasla daha kararlıdır. Kararlılık ve tutma etkinliği açısından yağlar; hafif sıvı parafin >skualen >susam yağı> mısır veya yer fıstığı yağı şeklinde sıralanabilir (Agrawal et al., 2015).

### 2.3.3 Emülgatörler

Emülgatörlerin görevi, emülsiyon damlacıklarının etrafında adsorplanmış bir tabaka oluşturmaktır. Bu tabaka, yüzey gerilimini düşürerek emülsifikasyona yardımcı olmanın yanında damlacıkları flokülasyon ve koalesanse karşı korur. Emülgatörlerin bir arayüzeyde kendiliğinden toplanması için yüzey aktif olması gerekmektedir (Robins and Wilde, 2003). Gıda emülgatörleri, aynı molekül üzerinde hem su seven hem de yağ seven (veya çeken) bölgelere sahip kimyasal maddelerdir. Suyu çeken kısım genellikle iyoniktir ve hidrofilik olarak isimlendirilir. Yağı çeken lipofilik uç, genellikle bir yağ asidi gibi uzun zincirli bir hidrokarbon bölgesidir (Clark, 2013). Lipofilik ve hidrofilik kısımların çeşidi ve boyutu, çok fazlı sistemlerde fonksiyonel davranışı belirlemektedir. Bu ilişkinin belirlenmesinde deneysel olarak ölçülebilen hidrofilik-lipofilik dengeden

(Hydrophilic Lipophilic Balance, HLB) faydalanılmaktadır (Christensen, 2011). Bir emülgatörün HLB değeri, elde edilecek olan emülsiyonun çeşidinin (S/Y veya Y/S) belirlenmesinde kullanılan bir parametredir (Matos et al., 2013). HLB değerleri 1 ile 20 arasında değişmektedir; düşük HLB değerine sahip emülgatörler yağ içinde su emülsiyonları, yüksek HLB değerine sahip emülgatörler ise su içinde yağ emülsiyonları için uygundur (Candau and Ottewill, 1990).

İkili emülsiyon, iki farklı türde emülgatör gerektiren iki farklı arayüzeyden meydana gelmektedir. S/Y/S emülsiyonunda iç arayüzey için gerekli emülgatör hidrofobik, dış arayüzey için gerekli emülgatör hidrofilik özellikte olmalıdır. Birçok durumda emülsiyonun kararlılığının artırılması amacıyla her bir arayüzey için iki veya daha fazla emülgatörün karışımı kullanılmaktadır (Sjöblom, 2001). Genellikle, hidrofobik özellikteki emülgatör için HLB değerinin 2-7, hidrofilik özellikteki emülgatör için HLB değerinin ise 6-16 arasında olması uygundur. Sistemde çok az miktarda emülgatör kullanımı kararsız sistemlerin oluşmasına neden olurken fazla miktarda emülgatör kullanılması da toksik etkilere ve kararlılığının bozulmasına neden olabilmektedir (Sivapriya et al., 2016). Çoklu emülsiyon ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda çeşitli iyonik ve iyonik olmayan monomerik emülgatörler kullanılmıştır. Zamanla bu emülgatörler ile elde edilen S/Y/S emülsiyonunun stabilitesini uzun süre koruyamadığı saptanmıştır. Bunun nedeni bu emülgatörlerin hem stabilize edici ajan hem de taşıma işleminde işlev görmesidir. Emülgatörlerin bir arayüzeyden diğerine migrasyonu nedeniyle bu çeşit emülgatörler ile hazırlanan emülsiyonların damlacık boyutu büyüktür ve emülsiyonun stabilitesi kısa sürelidir. Günümüzde monomerik emülgatörler yerine arayüzeyde daha güçlü ve sabit filmlerin oluşmasını sağlayan polimerik emülgatörler veya makromoleküler amfifilikler (poligliserol polirisinolat veya süt proteinleri gibi) kullanılmaktadır. Emülgatör olarak kullanılan protein, polisakkarit ve konjugatlar, iç damlacıklarının koaleansını önleyerek sterik stabilizasyonu arttırmaktadırlar (Su, 2008; Luo et al., 2016).

### **2.3.3.1 Lipofilik emülgatörler**

Lipofilik emülgatörün çeşidi ve konsantrasyonu tekli ve çoklu emülsiyonların karakteristiklerini etkilemektedir. Çoklu emülsiyonu yapısında yer alan S/Y tekli emülsiyonun hazırlanmasında kullanılan birkaç lipofilik emülgatör

bulunmaktadır (Cofrades et al., 2013). Bunlar içerisinde kastor yağının yağ asitlerinin poligliserol ile kısmi esterifikasyonu sonucu elde edilen poligliserol polirisinolat (PGPR, E476) en çok kullanılan emülgatördür (Dridi et al., 2016). PGPR, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından genellikle güvenli olarak (GRAS) kabul edilen sentetik bir emülgatördür (Clayton, 2014). PGPR, S/Y emülsiyonunun oluşumunda en etkili oligomerik emülgatör olarak bilinmektedir; gıda endüstrisi tarafından erimiş çikolatanın akış özelliklerini geliştirmek ve kakao yağını azaltmak amacıyla tek başına veya soya lesitini ile birlikte yaygın olarak kullanılmaktadır (Su, 2008). PGPR, yağ olarak bitkisel yağın kullanıldığı S/Y/S emülsiyonunda en stabil yapıyı oluşturmaktadır. Gıda formülasyonlarına % 5'den fazla katıldığında hoş olmayan bir tada neden olmaktadır. Bu nedenle fonksiyonel gıda uygulamalarında çoklu emülsiyonları hazırlarken PGPR kullanımını azaltmak veya diğer gıda kaynaklı materyaller ile kısmen ikame etmek gerekmektedir (Jiménez-Colmenero, 2013).

Çoklu emülsiyon hazırlanmasında kullanılan diğer lipofilik emülgatörlerden bazıları sorbitan monooleat (Span 80) ve lesitindir (Clayton, 2014). Lesitin, lipofilik emülgatörler içerisinde gıda bazlı doğal tek emülgatördür. Lesitin soya, yumurta gibi farklı kaynaklarda bulunan fosfolipidlerin karışımından oluşan, başlıca bileşeni fosfotidilkolin olan bir emülgatördür. Span 80 ise sorbitol ve yağ asitleri arasındaki bir reaksiyon sonucu elde edilen sorbitan yağ asidi esterleridir (Ushikubo and Cunha, 2014).

### **2.3.3.2 Hidrofilik emülgatörler**

S/Y/S emülsiyonunun dış arayüzeyinin stabilizasyonu, ikinci emülsifikasyon işleminden önce S<sub>2</sub> fazına ilave edilen hidrofilik emülgatör ile sağlanmaktadır (Yıldırım, 2015). Lipofilik emülgatörlere kıyasla S/Y/S emülsiyonunda kullanılmak üzere daha çok hidrofilik emülgatör seçeneği bulunmaktadır (Clayton, 2014). S<sub>2</sub> fazında yer alabilecek hidrofilik emülgatör ve stabilizatörleri düşük-moleküllü emülgatörler (Tween 20, lesitin), hidrokolloidler (gam arabik, jelatin) ve süt proteinleri (peyniraltı suyu izolatu, sodyum kazeinat) oluşmaktadır (Muschiolik and Dickinson, 2017).

Bir süt proteini olan sodyum kazeinatın (Na-Kazeinat), yağ-su arayüzeyinde emülgatör ve stabilizatör olarak davrandığı bilinmektedir. Na-Kazeinat, ağırlıkça yaklaşık 4:1:4:1 oranlarında  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - ve  $\kappa$ - kazeinden oluşmaktadır; yapısında yer alan kazeinler yağ damlacıklarının yüzeyine adsorbe olmakta ve nötr pH' da elektrostatik ve sterik itmeye neden olacak şekilde arayüzeyde polielektrolit bir tabaka oluşturmaktadır (Su, 2008; Sabouri, 2016). Tek emülgatör yerine iki hidrofilik emülgatör veya hidrofilik emülgatör ile stabilizatörün kullanılması ile çoklu emülsiyonda daha olumlu sonuçlar alınmaktadır (Prichapan and Klinkesorn, 2014). O'Regan ve Mulvihill (2010), hidrofilik emülgatör olarak Na-Kazeinat yerine Na-Kazeinat ve maltodekstrin konjugatının kullanılmasının hem emülsiyonun stabilitesini hem de enkapsülasyon verimliliğini arttırdığını bildirmişlerdir.

Wang et al. (2017), yaptıkları bir çalışmada hidrofilik emülgatör olarak modifiye nişasta, fındık proteini izolatu (PPI), Tween 80, pektin, kitosan, peyniraltı suyu izolatu, bezelye proteini-mannoz karışımı (PPM) ve fındık proteini-mannoz Maillard reaksiyonu ürünlerinden (MRPs) yararlanmışlar ve bu emülgatörler ile elde ettikleri çoklu emülsiyonları mikroyapı, zeta potansiyeli, viskozite, damlacık boyutu ve dağılımı açısından incelemişlerdir. MRPs, PPI, pektin ve PPM ile hazırlanan emülsiyonlar, damlacık boyutlarının büyüklüğü nedeniyle kararsız bulunmuştur. Stabilitenin sağlanması açısından en etkili Tween-80 bulunmuştur.

## **2.4 Çoklu Emülsiyonun Hazırlanması**

Çoklu emülsiyon hazırlanmasında faz dönüşüm yöntemi (tek basamaklı emülsifikasyon) veya iki basamaklı emülsifikasyon yöntemi kullanılmaktadır (Ghosh, 2011).

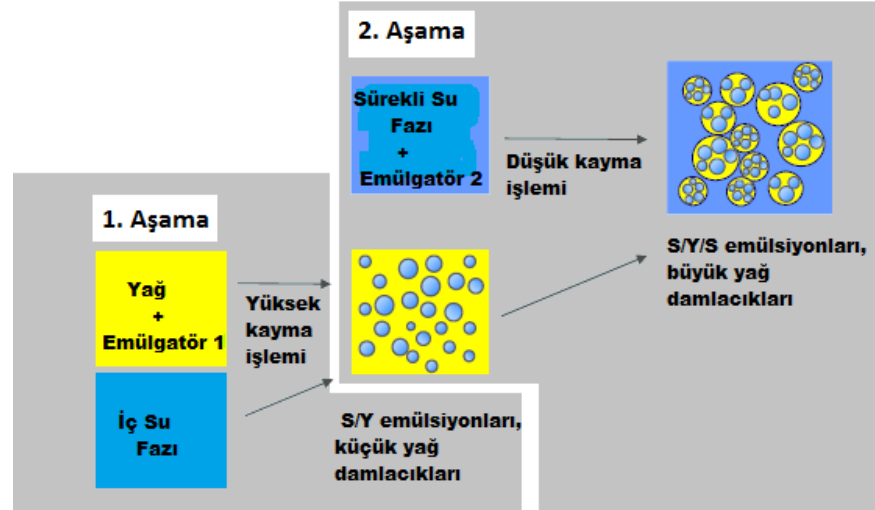
### **2.4.1 Faz dönüşüm yöntemi**

İkili emülsiyon elde edilmesinde ilk olarak faz dönüşüm yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, dış faz içerisinde yeniden dağılabilen konsantre tekli emülsiyondan çok tabakalı yapının oluşumudur ve tek aşamalıdır. İki arayüzey arasında emülgatörün dağılımını kontrol etmek zor olduğundan elde edilen

emülsiyonun stabilitesi oldukça düşüktür. Bu işlemin diğer bir dezavantajı damlacık boyut dağılımının geniş bir aralıkta olmasıdır, bu durum polidispersitenin büyük olmasına neden olmaktadır. Tüm bu dezavantajlar birçok araştırmacının zamanla bu yöntemi kullanmayı bırakmasına yol açmıştır. Bu yöntemin ampirik ve biraz tesadüfi olmasından dolayı çoklu emülsiyonların mikroyapıları üzerinde kontrol sağlama ihtiyacı nedeniyle iki basamaklı emülsifikasyon yöntemi benimsenmiştir (Cullen, 2009; Fanun, 2010; Petsev, 2004).

#### **2.4.2 İki basamaklı emülsifikasyon yöntemi**

Birçok çoklu emülsiyon, iki aşamada hazırlanmaktadır. S/Y/S emülsiyonun elde edilmesinde ilk basamak S/Y emülsiyonunun hazırlanmasıdır; su, yağ ve hidrofobik emülgatörden oluşan karışıma güçlü homojenizasyon işlemi uygulanmaktadır. Küçük su damlacıkları içeren stabil bir S/Y emülsiyonu elde etmek için yüksek kaymalı ve uzun süreli homojenizasyon işlemi uygulanması gerekmektedir. Endüstride bu aşama yüksek hızlı karıştırıcı, yüksek-basınç homojenizatörü veya kolloid değirmen gibi mekanik cihazlar ile gerçekleştirilmektedir. İkinci aşamada ise daha önceden hazırlanan S/Y emülsiyonu yavaşça hidrofilik emülgatör içeren dış su fazına eklenmektedir (Şekil 2.2). Ekleme işlemi orta dereceli karıştırma eşliğinde yavaş ve aşamalı olarak gerçekleştirilmelidir. Emülsiyon yapısındaki iç damlacıkların kırılmasını önlemek için çok güçlü bir homojenizasyon işleminden kaçınılmalıdır. Bununla birlikte, ikinci basamak genellikle polidispersitesi yüksek dış damlacıklar (homojenizasyon koşulları çok hafif ise) veya düşük enkapsülasyon verimliliği (homojenizasyon çok yoğun ise) ile sonuçlanmaktadır. Bu yöntem ile elde edilen çoklu emülsiyonda damlacık boyut dağılımı 10 ile 50µm arasında değişmektedir (Petsev, 2004; Cullen, 2009; Sivapriya et al., 2016).



Şekil 2.2 Çoklu emülsiyonların ikili emülsifikasyon yöntemi ile hazırlanması (Syrebe, 2012).

Alternatif olarak, çoklu emülsiyon, tekli emülsiyonun bir mikro gözenekli membran veya mikrofabrike kanal dizileri boyunca sürekli sıvı fazına zorlanması yolu ile de üretilebilmektedir. Bu yöntem, geleneksel emülsifikasyon işlemlerine kıyasla çok daha az kayma ile sonuçlanarak damlacıkların bozulmamasını, tutma etkinliğinin yüksek olmasını ve tek düzeli dağılımının olmasını sağlamaktadır (Sivapriya et al., 2016).

## 2.5 Çoklu Emülsiyonda Stabilite Problemleri

S/Y/S emülsiyonunda, dört olası mekanizma kararlılığın bozulmasına neden olmaktadır:

- iç su damlacıklarının koalesansı,
- yağ damlacıklarının koalesansı,
- yağ filminin kırılarak iç su damlacıklarının kaybedilmesi ve
- su ve suda çözünür maddelerin yağ aracılığı ile her iki su fazına geçmesi (Sivapriya et al., 2016)

Bu mekanizmalar, lipofilik emülgatör tarafından oluşturulan ters misel taşınımı veya her iki su fazı arasındaki ozmotik basınç farklılıklarına bağlı olarak yağ fazı boyunca gerçekleşen basit difüzyon nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Ozmotik dengenin sağlanamaması, depolama esnasında S/Y/S emülsiyonlarında stabilitenin bozulmasına sebep olan en önemli nedenlerdendir. Verimin ve

stabilitenin yüksek olmasında ozmotik basınç farkının mutlaka sıfır olması gerekmez, ancak olabildiğince düşük olmasında fayda bulunmaktadır (Sivapriya et al., 2016; Muschiolik and Dickinson, 2017). Ozmotik basınç farkına bağlı olarak su, yağ fazı aracılığı ile bir su fazından diğer su fazına geçebilmektedir. İç su fazının dış su fazından daha yüksek ozmotik basınca sahip olması durumunda, su içteki faza geçmektedir; bu durum su damlacıklarının şişerek patlamasına neden olmaktadır. Ozmotik basıncın dış su fazında fazla olması durumunda ise, su dış su fazına geçmektedir; bu durum da iç su damlacıklarının büzülmesine neden olmaktadır (Jiao and Burgess, 2008).

Çoklu emülsiyonda stabilitenin artırılması birçok çalışmanın başlıca amaçlarındadır. Stabilitenin sağlanması amacıyla uygulanabilecek çözümler şu şekilde gruplandırılabilir:

- iç su damlacıklarının boyutunun kontrolü,
- yağ fazının modifikasyonu,
- iç su fazına makromolekül ilave edilmesi ve
- emülsiyon yapısında yer alan yağ damlacıklarının kararlılığının sağlanması (Su, 2008).

## **2.6 Çoklu Emülsiyonun Gıda Sanayinde Kullanımı**

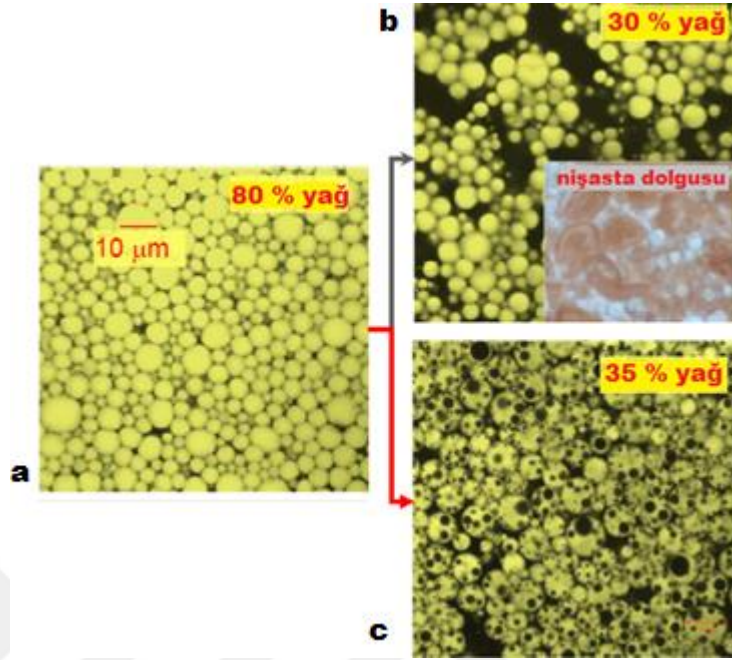
Çoklu emülsiyon, sağlıklı gıdaların tasarlanmasında yağ içeriğinin azaltılması, yağ asit profilinin geliştirilmesi, besin öğelerinin enkapsülasyonu ve tat algısının (tuzluluk, tatlılık gibi) artırılması gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

### **2.6.1 Gıdaların yağ içeriğinin azaltılması**

Çoklu emülsiyonun kullanımı ile yağı azaltılmış ürünlerin üretilmesi mümkündür. Çoklu emülsiyon, tekli emülsiyon ile aynı damlacık boyut dağılımı ve aynı dağılmış faz hacminde hazırlanabilir; bu durumda yağ fazı içerisinde su damlacıkları bulunduğu lipit damlacıklarının su damlacıkları ile yer değiştirmesi nedeniyle yağ içeriğinin azalması ile kalori alımında azalma sağlanmaktadır. Bu değişim duyuşal açıdan bir farklılık yaratmamaktadır. Bu



şekilde % 40'a kadar yağın azaltılması mümkündür (Jiménez-Colmenero, 2013; Anonymus, 2011).



Şekil 2. 3 Mayonezin mikroyapısı a) orijinal mayonez, b) klasik yöntemle yağı azaltılmış mayonez, c) çoklu emülsiyon kullanımı ile yağı azaltılmış mayonez (Syrebe, 2012).

S/Y/S emülsiyon teknolojisi ile yağı azaltılmış bir ürün, klasik yöntemle yağı azaltılmış bir ürünle kıyaslandığında duyuşal algı bakımından yağlı orijinal ürüne daha yakın bulunmaktadır. Bu durum, S/Y/S emülsiyon teknolojisinde yağ fazı oranının ve yüzey alanının daha yüksek olmasından, dağılmış fazın (yağ fazı) su damlacıkları ile doldurulmuş olmasının duyuşal algılama açısından zor olmasından ve yağ damlacıkları arasında etkileşim kuvvetlerinin olmasından kaynaklanmaktadır (Syrebe, 2012). Emülsiyonların duyuşal özellikleri incelendiğinde damlacık çapı arttıkça algılanan kremamsılık ve yağlılık hissinde de artış olduğu saptanmıştır. S/Y emülsiyonuna kıyasla, S/Y/S emülsiyonunda yer alan yağ damlacıkları daha büyük olduğundan algılanan kremamsılık da daha fazladır. Çoklu emülsiyonda kremamsılık algısının fazlalığı, daha az yağ kullanılarak orijinal emülsiyonunkine benzer yağlılık hissini elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Böylelikle çoklu emülsiyon kullanımı ile hem aynı duyuşal özellikler hem de yağ oranında azalma sağlanmış olmaktadır (Leal-Calderon, 2015). Şekil 2.3'de görüldüğü üzere mayonez ürünü, yapısındaki boşlukların

büyük bir kısmı (% 80 kadarı) yağ ile dolu olan, tadı ve dokusunu buna borçlu olan su içinde yağ emülsiyonudur. Klasik yağı azaltılmış mayonez ürününde, yapıdaki yağın eksikliğinden kaynaklanan boşluk sürekli faza (su fazı) nişasta maddesi katılması ile giderilmektedir. Çoklu emülsiyon (S/Y/S emülsiyonu) kullanımı ile yağ içeriği azaltılmış mayonez ürününde ise yağ damlacıklarının içlerinin su damlacıkları ile doldurulması esastır (Syrebe, 2012).

### **2.6.2 Gıdaların yağ asidi profilinin geliştirilmesi**

Et ve süt ürünleri gibi bazı gıdaların yapısında bulunan yağların, sağlık açısından daha iyi yağ asidi kompozisyonuna sahip yağlar ile formüle edilmiş çoklu emülsiyonlar ile yer değiştirmesi fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi açısından yeni olanaklar sunmaktadır. Çoklu emülsiyonların hazırlanmasında çok çeşitli bitki (zeytinyağı, ayçiçek yağı, chia, keten tohumu yağı gibi) ve deniz canlıları kaynaklı yağlar (balık ve alg yağı) kullanılabilmesine rağmen, yapılan çalışmalarda bunların çok azından faydalanılmıştır. Zeytinyağı hem oleik asit kaynağı olması hem de diğer yağlara kıyasla sağladığı teknolojik özelliklerden dolayı ikili emülsiyonların hazırlanmasında kullanılmaktadır (Jiménez-Colmenero, 2013). Carrillo-Navas et al. (2012), S/Y/S emülsiyonlarının lipit profilini geliştirmek amacıyla hazırladıkları çoklu emülsiyonun yapısında yer alan tekli emülsiyonun yağ fazında chia tohumu yağından faydalanmışlardır.

### **2.6.3 Besin öğelerinin enkapsülasyonu**

Emülsiyon ile enkapsülasyon yöntemi, hem suda çözünen hem de yağda çözünen sıvı maddeleri enkapsüle etmek amacı ile uygulanabilen bir yöntemdir. Emülsiyon yapısında yer alan sıvı damlacıkların etrafında çoklu tabaka oluşturulması ile enkapsüle çekirdek materyalinin kararlılığının yüksek olması sağlanmaktadır. Emülsiyon içerisindeki sıvı damlacıklar, özellikle suda çözünür maddeler, emülsiyonun dondurarak veya püskürterek kurutulması ile kuru toz formda da elde edilebilirler (Prichapan and Klinkesorn, 2014). Emülsiyon ile enkapsülasyon, enkapsüle edilen moleküllerin kimyasal olarak kararlı kalmasının sağlanması, kontrollü salınım ve yüksek verimlilikte enkapsülasyon gibi olumlu özellikleri nedeni ile yaygın olarak kullanılan popüler yöntemlerden biridir (Lu et

al., 2016). Çoklu emülsiyonlar her ne kadar tekli emülsiyonlardan daha az kararlı olsalar da bazı potansiyel avantajlara sahip sistemlerdir. İç su fazı, sürekli dış su fazından ayrı tutulmak koşulu ile aroma maddelerinin, vitaminlerin, minerallerin, amino asitlerin, biyoaktif proteinlerin, enzimlerin veya peptidlerin enkapsülasyonunda taşıyıcı olarak kullanılabilir (Berendsen, 2014). Çoklu emülsiyonların enkapsülasyonda kullanılmasının sağladığı birtakım avantajlar bulunmaktadır:

- sindirim sırasında ağız, mide ve/veya ince bağırsakta besin öğelerinin kontrollü bir hızla salınabilmesi,
- suda çözünen bazı bileşenlerin izole edilmesi ile kimyasal bozunma, enzimatik bozunma, ışık ve oksidasyona karşı korunabilmesi,
- istenmeyen tat ve kokuya sahip suda çözünür besin öğelerinin iç su fazında hapsedilerek çiğneme esnasında istenmeyen bu duyuşal özelliklerin maskelenmesidir (Kanouni et al., 2002; Jiménez Colmenero, 2013; Alvarez, 2017).

İstenmeyen tat ve kokuların maskelenmesi çoklu emülsiyonların önemli avantajlarındanıdır. Proteine alerjisi olan yetişkinler için üretilen özel ürünlerde protein hidrolizatı veya peptid gibi bileşenlerin kullanımı söz konusu olabilir. Ancak bu bileşenler oldukça acı veya istenmeyen bir tada sahiptir. Çoklu emülsiyon sisteminde içteki su fazına bu bileşenlerin eklenmesi ile istenmeyen tadın maskelenmesi mümkün olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, % 70 oranında çoklu emülsiyonda kullanılan hidrolizat vanilyalı kremaya katıldığında algılanan acılık önemli düzeyde azaltılmıştır (Anonymus, 2011).

Bu tez kapsamında hazırlanan stabil çoklu emülsiyon sistemlerinin enkapsülasyon uygulaması demir minerali üzerinde uygulandığı için bundan sonraki kısımda demir bileşığı ve enkapsülasyonu ile ilgili bilgilere yer verilmiştir.

Demir minerali, gezegenimizi oluşturan başlıca elementlerden biridir (Collins, 2016). İnsanoğlu antik çağlardan beri demir mineralinin, sağlık ve hastalık açısından önemini bilmektedir. Mısırlılar, Hindular, Yunanlılar ve

Romalılar demiri tıbbi amaçlı kullanmışlardır. Beslenme açısından bakıldığında uzun yıllar demirin hemoglobin oluşumu ve vücutta oksijen taşınmasındaki rolü üzerine yoğunlaşmıştır (Abbaspour et al., 2014). Bir geçiş metali olan demir,  $Fe^{+2}$  (ferroz) ve  $Fe^{+3}$  (ferrik) olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır. Demirin bu iki formu arasında geçiş yapabilmesi, demirin redoks reaksiyonlarında katalizör olarak yer almasına, elektron transferine katılabilmesine ve ligandları bağlayabilmesine olanak sağlamaktadır (Mesías et al., 2017). Birkaç istisna dışında demir tüm yaşayan organizmalar açısından önem taşımaktadır, özellikle insan sağlığı açısından kritik bir role sahiptir. Oksijen bağlanması ve taşınımı (hemoglobin gibi), elektron taşınımı (sitokrom gibi hem taşıyan enzimler) ve oksidatif metabolizma (NADH dehidrogenaz gibi demir-sülfür içeren enzimler) gibi biyolojik reaksiyonlarda yer alan esansiyel bir besin ögesidir. Demir minerali, hücre çoğalması ve DNA sentezi açısından da önem taşımaktadır (Collins, 2016). İnsan vücudundaki toplam demirin % 60 ile 70'i hemoglobin yapısında bulunmaktadır. Toplam demirin % 10' luk kısmı ise sitokromozomların, demir içeren enzimlerin ve kas hücrelerine oksijen taşıyan miyoglobinin yapısında yer almaktadır. Sağlıklı bireylerde geriye kalan % 20 ve 30'luk kısmı oluşturan demir fazlası ferritin ve hemosiderin olarak depolanmaktadır (Lieu et al., 2001; Clifford et al., 2015).

Demir minerali eksikliği, dünya nüfusunun yaklaşık % 66-80' ini etkileyen, bunların da % 30' undan fazlasının anemik olmasına neden olan dünyada en yaygın görülen beslenme sorunudur (Mesías et al., 2017). Demir minerali eksikliği, büyümenin sağlanması ve kan kaybından kaynaklı demir kaybının yeniden karşılanması gibi demirin gerekli olduğu metabolik taleplere demir emiliminin yetersiz kalmasından ve demir depolarının tükenmesinden kaynaklanan bir durumdur. Demir eksikliğinin başlıca nedenleri arasında biyoyararışlı demirin az miktarda tüketilmesi, hızlı büyüme, hamilelik, menstürasyon ve kamçılı kurt, kancalı kurt gibi patolojik enfeksiyonların neden olduğu aşırı kan kaybı sonucu artan demir gereksinimi ve demir emiliminde meydana gelen bozukluk sayılabilir (Abbaspour et al., 2014). Bebekler, küçük çocuklar, hamile bayanlar, menstrual kanaması fazla olan kadınlar, sıklıkla kan bağışında bulunanlar, kanser hastaları, mide ve bağırsak hastalıkları ve kalp yetmezliği olan ve ameliyat geçirmiş kişiler, demir eksikliği açısından risk taşıyan

gruplardır (U.S Department of Health & Human Services, 2018). Yapılan çalışmalar, demir eksikliğinin fiziksel çalışma performansında, duygusal sağlık ve bilişsel işlevlerde azalma ve olumsuz gebelik sonuçları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Beck et al., 2014). Hafif demir eksikliğinde dahi beyin gelişiminin bozulması, öğrenme ve davranışı etkileyen işlevsel bozuklukların tersine döndürülemeyeceği gerçeği son yıllarda demir eksikliğinin önlenmesine yönelik çalışmaların hız kazanmasına neden olmuştur. Demir eksikliğinin önlenmesinde genellikle aşağıdaki üç stratejiden bir veya birkaç tanesi uygulanmaktadır:

- demir takviyesi (hamile bayanlar ve okul öncesi çocuklar gibi belli hedef gruplara demir tabletlerinin verilmesi),
- belli gıdaların demir ile zenginleştirilmesi,
- diyetle alınan demirin emilim miktarını arttırmak üzere gıda ve beslenme eğitimi verilmesi (WHO and FAO, 2004).

Gıdaların demir ile zenginleştirilmesinde kullanılabilecek birçok demir bileşiği mevcuttur. Demir esas olarak ferrik formunda bulunmaktadır ve demirin ferroz formunun ferrik forma göre biyoyararlılığının daha yüksek olduğu bilinmektedir; bunun nedeni ferrik demirin bağırsakta çözünürlüğünün düşük olmasıdır. Bununla birlikte ferrik demir bağırsakta askorbik asit gibi indirgen ajanların ve mide hidroklorik asidinin etkisi ile çözünürlüğü yüksek olan ferroz forma indirgenebilir. Zenginleştirme için demir kaynağı seçiminde biyoyararlılık dışında dikkate alınması gereken başka hususlarda vardır. Bunlar çözünürlük, tat, renk, stabilite, higroskopisite ve oksidasyondur (Huma et al., 2007). Demir ile zenginleştirme sırasında karşılaşılan başlıca problemler doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna bağlı olarak acı tatta artış olması, gıdanın renginde değişiklik gözlenmesi ve bunlara bağlı olarak zenginleştirilmiş gıdanın tüketici tarafından kabul edilmemesidir. Renk değişikliğine örnek olarak tahıl ürünlerinde yeşil veya mavimsi renklenme, çikolata ve kakaoda grileşme, tuzda sarı veya kırmızı/kahverengiye doğru koyulaşma örnek verilebilir. Duyusal özelliklerde gözlenen farklılıklar oldukça değişkendir ve her zaman öngörülebilir nitelikte değildir. Bu nedenle, potansiyel bir demir bileşiği seçerken zenginleştirilecek olan gıdanın duyusal özellikleri üzerindeki etkilerinin önceden belirlenmesi gerekmektedir (WHO and FAO, 2006).

Demir bileşenlerinin neden olduğu kötü tadı maskeleyerek, biyoyararlılığını arttırmak ve oksijen difüzyonuna karşı bariyer oluşturarak demiri oksidasyona karşı korumak amacıyla yaygın olarak enkapsülasyon yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Çeşitli araştırmacılar farklı demir tuzlarını kullanarak demiri enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon için uygun duvar materyalinin seçilmesi ve duvar materyalinin fizikokimyasal özellikleri mikrokapsüllerin işlevselliklerinin belirlenmesinde kritik bir role sahiptir (Gupta et al., 2015a; Gupta et al., 2015b). Besin öğelerinin enkapsülasyonu amacıyla püskürtmeli kurutma, akışkan yatak kaplama, püskürterek soğutma ve dondurma, koaservasyon, lipozom, eriyik ekstrüzyon, hapsederek enkapsülasyon, nanoenkapsülasyon, dondurarak kurutma ve emülsifikasyon gibi birçok yöntem ve teknik uygulanabilmektedir. Ancak tüm gıda sistemleri için tek bir etkili yöntem bulunmamaktadır. Her bir yöntemin farklı avantajları ve kısıtlamaları bulunmaktadır. Fakat çoklu S/Y/S emülsiyonları, besin öğelerinin su fazında kolayca dağılmasını ve oldukça kararlı bir yapıda kalmasını sağlayarak içeceklerin ve su bazlı gıdaların besin öğeleri ile zenginleştirilmesinde kullanılabilen bir yöntemdir. Bu yöntem endüstriyel boyutta da kolaylıkla uygulanabilmektedir (Prichapan and Klinkesorn, 2014).

Ferroz bisglisinat, fitat ve polifenollerden etkilenmediği için vücutta emilimi yüksek olan fakat gıdanın diğer bileşenleri ile etkileşime girerek, istenmeyen tat oluşumu ve hızlıca okside olma gibi olumsuz etkileri olan ve demir desteği olarak sıklıkla kullanılan bir demir bileşimidir (Jiménez-Colmenero, 2013). Bu olumsuz etkileri azaltmak veya önlemek için, Jimenez-Alvarado et al. (2009) yaptıkları çalışmada dış su fazı protein:polisakkarit kompleksi ile stabilize edilmiş S/Y/S emülsiyonunun iç su fazına ferroz bisglisinatı enkapsüle etmişlerdir. Kompleks oluşumu için protein kaynağı olarak peyniraltı suyu konsantresi, polisakkarit olarak gam arabik, düşük metoksilli pektin ve mesquite gam ile çalışılmışlardır. Protein: polisakkarit kompleksinde yer alan polisakkaritin molekül ağırlığı arttıkça damlacık boyutlarının küçüldüğü, oksidasyona karşı korumanın ve enkapsülasyon stabilitesinin arttığı saptanmıştır. Buna göre peynir altı suyu konsantresi: mesquite gam ikilisinin bir arada kullanıldığı kompleks en uygun bulunmuştur.

Choi et al. (2009),  $Fe^{+3}$  bileşimini S/Y/S emülsiyonun iç su fazında enkapsüle etmiş ve sonrasında bu ikili emülsiyonu yağ fazı balık yağı gibi oksidasyona oldukça duyarlı olan bir Y/S emülsiyonu ile karıştırarak demirin oksidasyon eğilimini incelemişlerdir. Enkapsüle demir içeren ikili emülsiyonun, balık yağı içeren emülsiyona ilave edilmesinin lipit oksidasyonuna neden olmadığı, ikili emülsiyonun demirin lipit ile olan temasını engellediği sonucuna varmışlardır. Bu nedenle yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri ve demir içeren gıdaların hazırlanmasında bu sistemlerin kullanılma potansiyeli yüksektir.

Zhang et al. (2016) yaptıkları çalışmada demir sülfatın enkapsüle edildiği aljinat/agaroz mikrokapsüllerini, iyonik katılaştırma yöntemi ile S/Y/S/S çoklu emülsiyonun bir arada kullanıldığı premiks membran emulsifikasyon yöntemi ile başarılı bir şekilde hazırlamışlardır. Bu çalışmada elde edilen mikrokapsüller, gıda katkı maddeleri teknolojisi ve ilaç endüstrisi açısından büyük bir potansiyele sahiptir.

#### **2.6.4 Tat algısının arttırılması**

Hızlı kentleşme, yaşam şartlarının değişmesi, gelişen teknoloji nedeni ile değişen diyet alışkanlıkları, işlenmiş-enerji değeri yüksek gıdaların tüketiminin artmasına sebep olmuştur. Bu tarz gıdaların genel olarak tuz, şeker, doymuş ve trans yağlar açısından zengin olmaları sağlığı olumsuz yönde etkilemektedir. (WHO, 2016). Dünya Sağlık Örgütü'nün gıdaların trans yağ asidi, doymuş yağ asidi, şeker ve tuz içeriklerin azaltılmasına yönelik yayınlamış olduğu Fiziksel Aktivite, Sağlık ve Diyet ile İlişkili Küresel Stratejiler bildirgesi sonrası gıda ve içecek endüstrisindeki birçok firma mevcut ürünlerini yeniden reformüle etmeye başlamıştır (Kloss et al., 2015).

Bu tez kapsamında gıdaların tuz ve şeker içeriklerinin azaltılmasına olanak sağlayacak nitelikte tuz ve şeker algısının arttırılmasına yönelik stabil çoklu emülsiyon sistemlerinin hazırlanması ve potansiyel gıda kullanımı üzerine çalışıldığı için bundan sonraki kısımda tuz ve şeker bileşiklerine, gıdalarda içeriklerinin azaltılma stratejilerine ve algılarının çoklu emülsiyon sistemleri ile arttırılması konularına değinilmiştir.

Türkiye yıllık ortalama 2,3 ile 2,5 milyon ton arasında değişen şeker tüketimi ile dünya ülkeleri arasında 14. sırada, Avrupa Birliği ülkeleri içerisinde de Almanya ve Fransa'dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye bu tüketim miktarları ile dünya şeker tüketiminin % 1,4'lük, Avrupa Birliği ülkeleri toplamının da % 12'lik kısmını oluşturmaktadır (USDA Foreign Agricultural Service, 2017; Eştürk, 2018). Dünyadaki şeker tüketiminde ise gelişmekte olan ülkeler küresel şeker tüketiminin % 77'sini oluşturmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde şeker tüketimi son 10 yılda ortalama % 1,83 oranında artış göstermiş ve artmaya da devam etmektedir (International Sugar Organization, 2018). Hindistan, Doğu Asya ve Latin Amerika şeker tüketiminde büyümeye devam eden yerlerdir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), önümüzdeki on yıl içerisinde bu yerlerde yaklaşık % 2 oranında yıllık artış öngörmektedir. Gelişmiş ülkelerde ise kişi başına şeker tüketimi son on yılda sağlık konusundaki birtakim endişeler nedeniyle azalmaya devam etmesine rağmen kişi başına tüketim miktarı halen yüksektir ve bazı bireylerin günlük toplam enerjisinin % 20'sini oluşturmaktadır (Siervo et al., 2013). Dünya Sağlık Örgütü, bulaşıcı olmayan hastalıkların ve diş çürüklerinin önlenmesi için şekerin yaşam boyunca düşük miktarda tüketilmesini, yetişkin ve çocuklar için günlük şeker alımının, toplam kalori ihtiyacının % 10'unu aşmamasını tavsiye etmektedir (WHO, 2015). Aşırı şeker tüketimi, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması, obezite, diyabet, kalp-damar hastalıkları gibi kronik hastalıkların, bazı kanser türlerinin ve bilişsel zayıflama riskinde artış ile ilişkilendirilen sağlıksız bir beslenme şeklidir (Rippe and Angelopoulos, 2016). Oluşumunda aşırı şeker ve tuz tüketiminin önemli bir etken olduğu obezite, kanser, diyabet, kalp-damar hastalıkları gibi bulaşıcı olmayan hastalıkların dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde ilk sırada yer alması şeker tüketiminin azaltılmasının ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır (T.C Sağlık Bakanlığı, 2014).

Tuz tüketimi ise ülkeler arası farklılık göstermektedir, 2010 yılı tuz tüketimi verilerine göre Kenya'da kişi başına günlük 4 g tuz tüketilirken Kazakistan'da bu miktar 15 g'a kadar çıkmaktadır. Dünya'da tuz tüketiminin fazla olduğu ülkeler genel olarak Doğu Avrupa ve Asya'dadır (World Cancer Research Fund International, 2016). Ülkemizde Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nin 2008 yılında gerçekleştirdiği 'Türkiye'de Tuz Tüketimi Çalışmasında



(SALTurk-1)' günlük tuz tüketim miktarının 18 g/gün olduğu, aynı derneğin 2012 yılında gerçekleştirdiği SALTurk-2 çalışmasında ise bu miktarın bir miktar düşüşle 15 g/gün olduğu saptanmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2016). Dünya Sağlık Örgütü, yetişkinler için kişi başına günlük sodyum tüketiminin 2 g' ın (5 g tuz/gün) üzerine çıkmamasını önermektedir. Amerika Birleşik Devletlerinin 2015-2020 Beslenme Rehberi ise kişi başına sodyum alımının günde 2-3 g' dan fazla olmamasını önermektedir. World Cancer Research Fund International, tüm kaynaklardan alınan günlük tuz miktarının kişi başına 6 g'dan daha az olması gerektiğini tavsiye etmektedir. Günlük önerilen tuz miktarları ile ülkemiz ve dünyada tüketilen tuz tüketimleri karşılaştırıldığında, tuz alımının önerilen miktarların üzerinde olduğu gözlenmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar, aşırı tuz tüketiminin kan basıncının ve dolayısıyla kalp-damar hastalıkları ve böbrek hastalıklarını riskinin artmasına neden olduğunu göstermektedir. Dünyadaki ölümlerin büyük çoğunluğu, kan basıncı seviyesinin normalin çok üstünde olması nedeniyle ortaya çıkan kalp-damar hastalıklarından kaynaklanmaktadır (European Commission, 2014). Tuz tüketimi ile sağlık arasındaki bu olumsuz ilişki, tuz tüketiminin azaltılmasını zorunlu kılmaktadır.

Gıdaların şeker içeriğinin azaltılmasında; kısmen/tamamen şekerin ikame edilmesi, şeker miktarının doğrudan/aşamalı azaltılması ve çoklu duyuşsal etkileşimlerinden faydalanılması gibi yöntemler uygulanırken, gıdaların tuz içeriğinin azaltılmasında da benzer yöntemler uygulanmaktadır. Bunlar, tuz miktarının aşamalı olarak azaltılması, tuz ikamelerinin ve lezzet arttırıcı ajanların kullanılması, aroma ve tat etkileşimlerinden faydalanılması (Dötsch et al., 2009; Di Monaco et al., 2018).

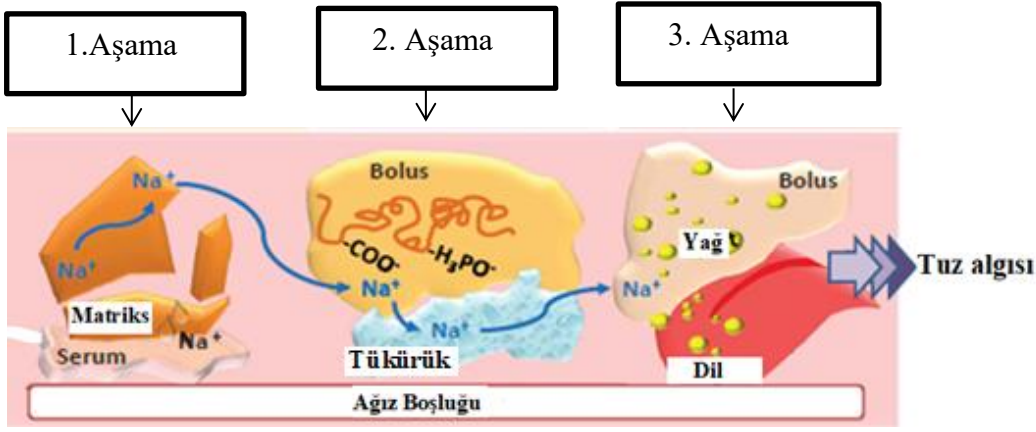
Şekerin ikame edilmesi, genellikle hem alternatif tatlandırıcıların hem de dolgu maddelerinin (hacim sağlayıcı ajan) birlikte kullanımını gerektirmektedir (Di Monaco et al., 2018). Tatlandırıcılar, gıdalara tatlılık vermek veya tatlılığı arttırmak amacıyla katılan bir grup katkı maddesidir. Yapay tatlandırıcılar ve şeker alkollerini olmak üzere iki grup tatlandırıcı bulunmaktadır. Yapay tatlandırıcılar, sakkarozu göre tatlılık derecesi yüksek olan ve yüksek miktarda şekerin sağladığı tatlılığı az miktarda kullanım ile sağlayan sentetik maddelerdir. Aspartam, asesülfam-K, sakkarin, sukraloz, siklamat, neotam sıklıkla kullanılan yapay

tatlandırıcılardır. Şeker alkolleri ise basit şekerlerden üretilen, ince bağırsakta tamamen sindirilmeyen, kolonda bir miktar fermente olan, çözünürlüğü yüksek, indirgen olmayan, esmerleşme reaksiyonlarına sakkarozdan daha dayanıklı olan maddelerdir (Chattopadhyay et al, 2014; Gültekin et al., 2017). Şekerin bir gıdaya tatlılık vermek dışında hacim kazandırma, su tutma, gevreklik sağlama gibi özellikleri de bulunmaktadır. Bu nedenle şekerin tatlandırıcılar ile ikame edilmesi gıdanın yapısında birtakım değişikliklere neden olabilmektedir. Dolgu maddeleri, şekerin eksikliğinde gıdanın yapısında meydana gelen olumsuz değişiklikleri telafi etmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Polidekstroz, inulin, dirençli nişasta, fruktooligosakkaritler sıklıkla kullanılan dolgu maddeleridir (O'Donnell and W. Kearsley, 2012). Şekerin doğrudan/aşamalı azaltılması ise yasal kısıtlamalara, tüketici tercihi ve gıdanın reçetesine bağlıdır (Di Monaco et al., 2018). Tuz ikameleri, tuz ile benzer duyu özelliklere sahip fakat tuz içermeyen, potasyum klorür, lityum klorür gibi maddelerdir. Lezzet artırıcı ajanlar ise tuz seviyesinin düşük olması durumunda tadın iyileştirilmesinde kullanılırlar. Monosodyum glutamat, baharatlar, laktatlar bunlara örnek verilebilir (Institute of Medicine, 2010). Tuz ikameleri ve lezzet artırıcılar tek başlarına kullanıldıklarında tuzun sahip olduğu tüm fonksiyonlarını sağlayamazlar, bu nedenle gıdalarda genellikle her ikisi birlikte kullanılmaktadır (Stieger and van de Velde 2013). Gıdaların şeker içeriğinin azaltılmasında uygulanabilecek stratejilerden biri işlenmiş gıda ürününe ilave edilen şekerin miktarını aşamalı olarak azaltmaktır. Kademeli şeker azaltılması, yavaş ilerleyen bir yöntem olduğundan tüketiciler herhangi bir değişim fark etmeden daha düşük şeker konsantrasyonuna sahip ürünlere alışkın hale gelmektedir (Oliveira et al., 2016). Gıdaların tuz içeriğinin aşamalı olarak azaltılması, ekmek, kuru çorba ve sos gibi ürünlere uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemin etkileri uzun zaman sonra görülmektedir, ayrıca bu yöntemin uygulandığı gıdanın üreticilerinin aralarında işbirliği olması gerekmektedir (Stieger and van de Velde, 2013). Gıdaların tuz ve şeker içeriğini azaltmada kullanılan diğer yöntem tat-aroma etkileşimlerinden faydalanarak gıdaların bileşimine uygun aroma maddelerinin kullanılmasıdır (Stieger and van de Velde, 2013; Di Monaco et al., 2018). Tüm bu yaklaşımlar beraberinde birtakım zorlukları da getirmektedir, bunlardan iki veya daha fazlasının birlikte kullanılması ile kabul edilebilir nitelikte bir ürün elde etmek mümkün olmaktadır.

Gıdaların tuz ve şeker içeriğinin azaltılması nedeniyle şeker ve tuz algısında meydana gelen kayıp, gıdanın mikroyapısında yapılacak modifikasyonlarla karşılanabilmektedir. Bu amaçla gıda yapısının modifikasyonu ile tat algısının artırılması yöntemi uygulanmaktadır. Bu yöntem, gıdanın yapısından yer alan sodyumun yüzde 95' lik kısmının ağızda salınmadığı, dolayısıyla tuzluluk algısının oluşmasına katkı sağlamadığının saptanması ile ortaya çıkmıştır (Stieger and van de Velde, 2013; Kuo and Lee, 2014). Tuzluluk algısının oluşumu birbirine bağlı 3 ayrı aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.4). İlk aşama sodyumun, gıdanın yapısından ağız boşluğuna salınmasıdır. Sodyum, tuzlu tadın oluşumundan sorumludur; bu nedenle çiğneme esnasında ağız boşluğuna salınması önemli bir aşamadır. Salınım, sodyumun konsantrasyon farkından kaynaklanan kütle transferi ve sodyuma karşı oluşan direnç nedeniyle meydana gelmektedir. İkinci aşama sodyumun ağız boşluğunda dağılmasıdır, bu aşama sodyumun gıdanın yapısından salınıp dilin yüzeyine ulaşmasını kapsamaktadır. Bu aşamada parçalanmış gıda partikülleri, salgılanan tükürük ile karışmakta ve bolusa dönüşmektedir. Üçüncü aşama, sodyumun dilin yüzeyinden tat reseptörlerine transferi ve sonrasında tuzluluk algısından sorumlu bilişsel sinyal iletiminin oluşmasıdır. Tuzluluk algısı, iyon kanallarından iyon taşınımı ile oluşmaktadır. Katı gıdalarda tuzluluk algısı 3 aşamada oluşurken, sıvı-benzeri ürünlerde ise son 2 aşamada oluşmaktadır (Kuo and Lee, 2014; Institute of Medicine, 2010).

Ağız sindirimi süresince gıda yapısı ve algısı arasındaki ilişki göz önüne alındığında şeker ve tuz algısını arttırmak amacıyla gıdanın yapısında yapılabilecek değişimler aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Gıdanın mekanik özelliklerinin modifikasyonu,
- Gıda matriksinden sıvı salınımının artırılması,
- Bolus reolojisinin modifikasyonu,
- Tuz ve şekerin gıda yapısında homojen olmayan dağılımı (Stieger and van de Velde, 2013; Kuo and Lee, 2014; Busch et al., 2013; Chiu et al., 2015).



Şekil 2.4 Tuz algısı oluşumunun şematik gösterimi (Kuo and Lee, 2014).

Gıda yapısına hava eklenmesi, tekli ve çoklu emülsiyon sistemlerinin kullanılması ile tuz ve şekerin gıda yapısında homojen olmayan şekilde dağılması sağlanabilmektedir. Bu yöntemde genel prensip, gıdanın içerdiği toplam tuz ve şeker miktarının sabit tutulup gıda hacminin bir kısmının tuz/şeker içermeyen yapılardan (hava, yağ vb.) oluşturulması ile toplam tuz/şeker miktarı ve hacmi aynı olan gıdaya kıyasla gıdanın tat reseptörleri ile ilişkili kısmın tuz/şeker konsantrasyonunun artırılması ile tuzluluk/tatlılık algısının artırılmasıdır (Kuo and Lee, 2014). Chiu et al. (2015) yaptıkları çalışmada hidrojel yapısına hava ilave edilmesi ile hem sodyum salınımında hem tuzluluk algısında artış sağlamışlardır. Çalışmada aynı tuz konsantrasyonuna sahip kontrol örneği ile yapısında hava bulunan ve tuz miktarı % 40 - 80 oranında azaltılmış yapıların tuzluluk algılarının aynı olduğu saptanmıştır. Ayrıca yapısına hava ilave edilmiş örnekler, aynı tuz miktarına sahip yapısında hava bulunmayan örneklerle kıyasla daha tuzlu algılanmıştır ( $p < 0.05$ ). Mosca et al. (2010), karışık agar/jelatin jeli katmanlarından oluşan model sistemlerde sakkarozun dağılımının tatlılık algısı üzerine etkisini incelemiştir. Tüm örnekler % 10 sakkaroz içerecek şekilde, aynı reolojik ve mekanik özellikte hazırlanmıştır. Yapılan duyu analizi ile sakkarozun homojen olmayan bir şekilde dağılım gösterdiği çok katmanlı örnekler ile sakkarozun homojen dağılım gösterdiği referans örnek tatlılık algısı bakımından karşılaştırılmıştır. Katmanlar arasında sakkaroz konsantrasyonu bakımından büyük farklılık olan örnekler, referans örneğe kıyasla daha tatlı algılanmıştır. Model sistemlerde sakkaroz içeren tabakaların konumunun tatlılık algısını etkilemediği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar, tat yoğunluğunda herhangi bir azalmaya neden olmadan sakkaroz içeriğini % 20 oranında azaltmanın sakkarozun

gıda yapısında homojen olmayan dağılımı ile mümkün olabileceğini göstermektedir. Tuz ve şekerin gıda yapısında homojen olmayan şekilde dağıtılmasında kullanılan bir diğer yöntem emülsiyon teknolojisidir. Sıvı bir fazda tat bileşenlerinin konsantrasyonunun artırılmasının tat yoğunluğunu arttırdığı bilinmektedir, bu nedenle su fazının ikame edilmesi yoluyla tat konsantrasyonlarının arttırıldığı teknikler ile duyuşal açıdan herhangi bir farklılık yaratmadan gıdanın içeriğindeki şeker ve tuz gibi tat bileşenlerinin miktarının azaltılması mümkündür (Chiu et al., 2015). Bir emülsiyon yapısında yer alan yağ fazı, gıdanın hacmine katkı sağlayan fakat tuz/şeker içermeyen kısımdır, bu durum tuzun/şekerin su fazında daha yüksek konsantrasyonda olmasına neden olmaktadır. Yüksek konsantrasyondaki tuz/şeker ise daha yoğun olarak algılanmaktadır (Syrebe, 2012). Bu kapsamda çoklu emülsiyonlar da gıdalarının tat algısını değiştirmek (tatlı, tuzlu, acı gibi) amacıyla da kullanılabilen sistemlerdir. S/Y/S çoklu emülsiyonlarının dil yüzeyi ile etkileşime girdiğı ve tat üzerine etkisi olan fazı, en dışta yer alan su fazıdır. Bu nedenle dış su fazında bulunan tat bileşigi dil yüzeyi tarafından algılanırken iç su fazında yer alan tat bileşigi algılanmamaktadır (Jiménez-Colmenero, 2013). S/Y/S emülsiyonu, iki farklı su veya yağ fazı içerdiğinden, farklı bileşenler yapının farklı kısımlarında hapsedilebilir. S/Y/S emülsiyonunun sadece dış su fazına tat bileşenin ilave edilmesi ile tat yoğunluğunda artış sağlanabilir (Norton and Norton, 2010). Lad et. al (2012) tarafından yapılan çalışmada ikili emülsiyonda ve bu emülsiyonu içeren sıvı bir gıdada (sebze çorbası) tuzluluk algısını arttırmak amaçlanmıştır. Bu çalışmada tekli ve ikili emülsiyonların tuz içerikleri aynı olmasına karşın ikili emülsiyonun ve bu emülsiyonu içeren gıdanın tuzluluk algısında artış olduğı saptanmıştır. Panelistler ikili emülsiyonun daha viskoz olduğunu belirtmiştir, bunun da algıda farklılık yaratma üzerine etkisi olduğı düşünölmektedir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan poligliserol polirisinolat (PGPR, Palsgaard 4150) Teknoroma Temsilcilik İç ve Dış Tic. Ltd. Şti' den, peyniraltı suyu proteini izolatu (BIPRO, Davisco Foods International Inc. USA) Kavi Gıda'dan, sızma ve riviera zeytinyağı (Kristal marka) ve duyusal analizde kullanılan süzme yoğurt (Sütaş marka) İzmir'deki bir süpermarketten temin edilmiştir. Emülsiyonların hazırlanmasında içme suyu (Pınar Uludağ, pH 7.76) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan lipaz (L3126), safra asidi (B8631), pepsin (P7012), pankreatin (P7545), gliseril tribütrat (91010), hemoglobin (H2500), trikloroasetik asit (T6399), sodyum taurodeoksikolat (T0875), tris (hidroksimetil) aminometan (252859), p-toluen-sulfonil-L-arginin metil ester (TAME) (T4626), sodyum klorür (S9625), sodyum kazeinat (C8654) magnezyum klorür (M9272), demir klorür (157740), sodyum azid (S2002), p-anisidin (A88255), 3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid sodium salt (ferrozine) (82950), hidroksilamin hidroklorür (431362) ve D-(+)-sakkaroz (84100) Sigma-Aldrich (USA) firmasından temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

#### 3.2 Emülsiyonların hazırlanması

Çalışmada, tuzluluk ve tatlılık algısının arttırılması ile demir bileşiğinin enkapsüle edilmesi amacıyla üç farklı özellikte su içinde yağ-yağ içinde su ( $S_1/Y/S_2$ ) ikili emülsiyonları hazırlanmıştır. Bu emülsiyonların hazırlanmasında iki aşamalı emülsifikasyon yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle yağ içinde su ( $S_1/Y$ ) tekli emülsiyonları hazırlanmıştır. Ardından elde edilen tekli emülsiyonlar hazırlanan ikinci bir su ( $S_2$ ) fazı içinde çözündürülerek ikili emülsiyonlar elde edilmiştir. Tüm emülsiyonlar oda sıcaklığında ( $25^{\circ}\text{C}$ ) hazırlanmıştır. Hem tekli hem de ikili tüm emülsiyonların hazırlanmasında, su olarak içme suyu (Pınar Uludağ, pH 7.76) kullanılmıştır.

### 3.2.1 Tekli emülsiyonların (S<sub>1</sub>/Y) hazırlanması

Tekli emülsiyonlar, toplam ağırlık 20 g olacak şekilde falkon tüpte hazırlanmıştır. Emülsiyonun hazırlanmasında öncelikle iç su (S<sub>1</sub>) fazı ve yağ (Y) fazı hazırlanmıştır. Yağ ve lipofilik emülgatörden oluşan yağ fazı üzerine S<sub>1</sub> fazı ilave edilerek 15.000 rpm' de buz banyosu eşliğinde 10 dakika yüksek hızlı homojenizatör (Ultra-Turrax T25 disperser) ile homojenizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada tatlılık, tuzluluk ve demir ile ilgili hazırlanan üç farklı tekli emülsiyon aynı yöntemle hazırlanmıştır, fakat emülsiyonlar yağ fazı ve S<sub>1</sub> fazı içerikleri ile yağ fazı: su fazı oranı bakımından farklı hazırlanmıştır.

**Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan tekli emülsiyonlar:** Tuzluluk için hazırlanan tekli emülsiyonda yağ olarak sızma zeytinyağı kullanılmıştır. Elde edilen tekli emülsiyon daha ileriki aşamalarda salata sosu yapımında kullanılacağı için sızma zeytinyağı tercih edilmiştir. Tatlılık için hazırlanan tekli emülsiyonda ise riviera zeytinyağı kullanılmıştır. Lipofilik emülgatör olarak her iki emülsiyonda da PGPR ile çalışılmıştır. Tekli emülsiyonların hazırlanmasında en iyi stabiliteyi sağlayabilmek için; lipofilik emülgatör olarak PGPR konsantrasyonun, su fazının (S<sub>1</sub>) içeriğinin ve yağ fazı:su fazı oranlarının belirlenmesi amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Öncelikle PGPR konsantrasyonun ve su fazının içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanacak olan ikili emülsiyonun dış su (S<sub>2</sub>) fazında sırasıyla kullanılacak olan sodyum klorürün ve sakkarozun oluşturacağı ozmotik basıncı dengelemek amacıyla tekli emülsiyonların S<sub>1</sub> fazları, magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca Na-kazeinatın hidrofilik emülgatör olarak etkisini belirlemek amacıyla S<sub>1</sub> fazı, MgCl<sub>2</sub> + Na-kazeinat ve sadece MgCl<sub>2</sub> içerecek şekilde iki farklı içerikte hazırlanmıştır. MgCl<sub>2</sub> % 5, Na-kazeinat ise % 0.5 konsantrasyonunda olacak şekilde S<sub>1</sub> fazına ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan PGPR konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla, yağ fazının ağırlıkça % 1- 2- 3- 4- 5 ve 6'sı PGPR olacak şekilde altı farklı konsantrasyon ile çalışılmıştır. Tekli emülsiyonlar, iki farklı içerikteki S<sub>1</sub> fazının ve farklı konsantrasyonlarda PGPR içeren altı farklı yağ fazının kullanılması ile hazırlanmıştır. Hazırlanan emülsiyonlar kapaklı cam tüplere konarak 25°C' de depolanmış ve örneklerde faz ayrımı olup olmadığı gözlenmiştir. Faz ayrımı

açısından en stabil emülsiyonu sağlayan S<sub>1</sub> fazı içeriği (sadece MgCl<sub>2</sub> içeren) ve PGPR konsantrasyonu (yağ fazının % 4'ü kadar PGPR) belirlendikten sonra ağırlıkça oranları 60:40, 70:30 ve 80:20 olmak üzere üç farklı yağ fazı: su fazı oranı ile çalışılmıştır. Hazırlanan bu emülsiyonlarda damlacık boyutu ve kinetik stabilite analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre stabilite açısından en başarılı faz oranı (60:40) ile elde edilen tekli emülsiyon, ikili emülsiyonların hazırlanmasında kullanılmıştır.

**Demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan tekli emülsiyon:** Tekli emülsiyon, yağ fazı: su fazı oranı ağırlıkça 80:20 olacak şekilde hazırlanmıştır. Emülsiyonun hazırlanmasında yağ fazı, riviera zeytinyağı ve lipofilik emülgatör olarak PGPR kullanılarak hazırlanmıştır. PGPR, yağ fazının ağırlıkça % 4'ü kadar kullanılmıştır. Buna göre 50 ml'lik falkon içerisine 0,64 g PGPR tartılmış ve üzerine toplam ağırlık 16 g olacak şekilde Riviera zeytinyağı ilave edilmiştir. Zeytinyağı ve PGPR karışımı 5 dakika süresince vortekslenerek yağ fazı hazırlanmıştır. S<sub>1</sub> fazı toplam ağırlığı 4 g olacak ve demir içerecek şekilde hazırlanmıştır. S<sub>1</sub> fazının içereceği demir miktarının belirlenmesinde Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği (2017/018) dikkate alınmıştır. Bu yönetmeliğine göre demir için günlük referans alım değeri 14 mg'dır. Yönetmeliğe göre sağlık ve beslenme beyanı yapılabilmesi için, demir içeren gıdanın ilgili mevzuatta tanımlanan belirgin miktarı ihtiva etmesi gerekmektedir. Bu yönetmeliğe göre vitaminler ve mineraller için belirgin miktarın belirlenmesinde aşağıdaki değerler kullanılmaktadır:

-içecekler dışındaki ürünler ve süt için, 100 g veya 100 ml ürünün belirtilen beslenme referans değerinin en az % 15'i karşılanması durumunda,

- içecekler için, 100 ml ürünün belirtilen referans değerinin en az % 7,5'ini karşılaması durumunda veya,

-eğer gıda tek porsiyonluk ambalajda sunuluyorsa veya ambalaj sadece tek tüketim biriminden oluşuyorsa, söz konusu ürünün belirtilen beslenme referans beslenme değerinin az % 15'ini karşılaması durumunda, bu miktar belirgin miktar olarak kabul edilir.



Kodekste belirtilen bilgiler doğrultusunda 100 g ikili emülsiyonun minimum 2,5 mg demir içermesine karar verilmiştir. Buna göre ikili emülsiyon formülasyonunda kullanılacak olan fazların oranları ( $S_2$ :  $S_1/Y$  oranı 80:20, 70:30 ve 60:40) dikkate alınarak 20 g tekli emülsiyon 2,5 mg demir içerecek şekilde hazırlanmıştır. Tekli emülsiyonun demir miktarının (2.5 mg)  $S_1$  fazından geldiği ve emülsiyonda kullanılacak olan demir formunun molekül ağırlığı dikkate alınarak hesaplama yapılmıştır. Çalışmada demir kaynağı olarak demir klorür ( $FeCl_3$ ) kullanılmıştır (1 g Fe için yaklaşık 3 g  $FeCl_3$  gerekmektedir).  $S_1$  fazı, demir konsantrasyonu 0,625 mg demir/g olacak şekilde 20 mM pH 7 fosfat tamponunda hazırlanmıştır. Su fazı hazırlanırken demir ile kompleks oluşturması amacıyla ortama peynir altı suyu proteini izolatı ilave edilmiştir, ortama lave edilecek izolat miktarının belirlenmesinde 1 g izolatın 19 mg demiri bağladığı kabul edilmiştir (Sugiarto, 2004). Özetle, su fazının hazırlanmasında 0,04538 g  $FeCl_3$  tartılmış ve üzerine 20 mM pH 7 fosfat tamponu ilave edilerek manyetik karıştırıcı eşliğinde karıştırılmıştır. Ardından ortama 0,822 g peyniraltı suyu proteini izolatı ilave edilmiş ve karıştırma işlemine bir süre daha devam edilmiştir. pH kontrol edilerek 1 M NaOH ile pH 7'ye ayarlanmıştır. Çözeltinin toplam ağırlığı 25 g olacak şekilde ortama fosfat tamponu ilave edilmiş ve böylelikle 0,625 mg Fe/g konsantrasyonunda  $S_1$  fazı hazırlanmıştır.

### 3.2.2 İkili emülsiyonlarının ( $S_1/Y/S_2$ ) hazırlanması

**Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyonlar:** Tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyonun  $S_2$  fazı, sodyum klorür ve hidrofilik emülgatör olarak sodyum kazeinat içerecek şekilde içme suyu ile hazırlanmıştır.  $S_2$  fazında kullanılacak olan sodyum klorür (NaCl) miktarı duyuusal analiz ile belirlenmiştir. Tatlılık algısını artırmak amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonun  $S_2$  fazı ise sakkaroz ve hidrofilik emülgatör olarak sodyum kazeinat içerecek şekilde içme suyu ile hazırlanmıştır. Sakkaroz, ikili emülsiyonun toplam ağırlığının % 15'ini oluşturacak şekilde  $S_2$  fazına ilave edilmiştir. Her iki emülsiyonda da hidrofilik emülgatör olarak kullanılan Na-kazeinat miktarının belirlenmesi için farklı oranlarda Na-kazeinat içeren  $S_2$  fazları ile hazırlanan ikili emülsiyonlar faz ayrımı açısından gözlemlenmiştir. Na-kazeinat oranı olarak  $S_2$  fazının ağırlıkça % 1'i olacak şekilde denemelere

başlanmış ve faz ayrımı gözlenmeyen, stabil bir ikili emülsiyon elde edilinceye kadar Na-kazeinat miktarı arttırılmıştır. Bu doğrultuda  $S_2$  fazının ağırlıkça % 1-13'ü kadar Na-kazeinat ile çalışılmıştır ve emülsiyonun stabilitesini sağlama açısından en uygun Na-kazeinat oranı % 12,5 olarak belirlenmiştir.  $S_2$  fazı hazırlanırken oda sıcaklığında en az 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonrası  $S_2$  fazlarının yeterli derecede hidrasyonunun sağlanması amacıyla gece boyunca buzdolabı koşullarında depolanmışlardır. 3.2.1' de belirtilen şekilde gün içerisinde hazırlanan tekli emülsiyonlar, bir gün önceden hazırlanmış ve bir gece buzdolabında depolanmış  $S_2$  fazına manyetik karıştırıcı eşliğinde damla damla ilave edilmiş ve elde edilen ikili emülsiyonlar karıştırıcıda 20 dakika süresince karıştırılmıştır. İkili emülsiyonlar  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranı ağırlıkça 60:40, 65:35 ve 70:30 olacak şekilde hazırlanmıştır ve tuzluluk algısı için hazırlanan emülsiyonlar sırası ile A-Tuz, B-Tuz, C-Tuz, tatlılık algısı için hazırlananlar ise sırasıyla A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz emülsiyonları olarak kodlanmıştır.

Tuzluluk algısını arttırmak için hazırlanan ikili emülsiyonların  $S_2$  fazları içerdikleri sodyum klorür, tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyonların  $S_2$  fazları da içerdikleri sakkaroz nedeniyle yüksek ozmotik basınca sahiptir. İkili hazırlanmasında iç ve dış su fazlarının ozmotik basınçlarının eşit olması sistemin stabilitesi açısından önemlidir. Bu nedenle hazırlanan tüm ikili emülsiyonların her birinin  $S_2$  fazlarının ozmotik basıncı hesaplanmıştır, ardından aynı ozmotik basınca sahip olacak şekilde  $S_1$  fazlarının  $MgCl_2$  konsantrasyonları hesaplanmıştır.  $S_2$  fazlarının ozmotik basınçlarının hesaplanmasında,  $S_2$  fazlarının içerdiği tuz/sakkaroz miktarları ve  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranları göz önünde bulundurulmuştur. Dış su fazında hidrofilik emülgatör olarak kullanılacak sodyum kazeinat miktarı dikkate alınmamıştır, bunun nedeni sodyum kazeinatın molekül ağırlığınının oldukça büyük olmasına bağlı olarak molaritesinin ve dolayısı ile ozmotik basıncının ihmal edilebilir olmasıdır. İç ve dış su fazlarının ozmotik basınçlarının hesaplanmasında van't Hoff eşitliği kullanılmıştır (Khalid et al., 2013):

$$P = i \times M \times R \times T$$

P: ozmotik basınç (Pa),

i: van't Hoff faktörü,

M: çözeltinin molaritesi (M),

R: ideal gaz sabiti (8.314 J \*/ K\*mol),

T: Kelvin cinsinden sıcaklık (K) değeri.

**Demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan ikili emülsiyonlar:** İkili emülsiyonlar, S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y emülsiyonu oranı ağırlıkça 60:40, 70:30 ve 80:20 ve toplam ağırlıkları 20 g olacak şekilde hazırlanmış ve sırası ile A-Demir, B-Demir ve C-Demir olarak kodlanmıştır. S<sub>2</sub> fazı ağırlıkça % 12,5 sodyum kazeinat içerecek şekilde içme suyu kullanılarak hazırlanmış ve elde edilen çözelti oda sıcaklığında en az 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonrası S<sub>2</sub> fazının yeterli derecede hidrasyonunun sağlanması amacıyla gece boyunca buzdolabı koşullarında depolanmıştır. Ertesi gün buzdolabından alınarak oda sıcaklığına getirilen S<sub>2</sub> fazından gerekli miktarda 50 ml'lik falkon tüpe tartılmış ve üzerine 3.2.1'de belirtilen şekilde hazırlanmış olan S<sub>1</sub>/Y emülsiyonu ilave edilmiştir. Karışım yüksek hızlı homojenizatorde 3800 rpm' de 5 dakika homojenize edilmiştir. Depolanacak örnekler için ortama ağırlıkça % 0,1 sodyum azide ilave edilmiş ve inkübatörde (Velp Scientifica FOC 225E) 20°C'de depolanmıştır.

Çalışmada demir enkapsülasyonu için hazırlanmış olan tekli ve ikili emülsiyonların demir içerikleri Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3. 1 Demir enkapsülasyonu için hazırlanan tekli ve ikili emülsiyonların demir içerikleri.

Tekli Emülsiyon			İkili Emülsiyon	
Faz oranı (Y:S <sub>1</sub> fazı)	20 g emülsiyonun S <sub>1</sub> fazı miktarı (g)	20 g emülsiyonun demir içeriği (mg)	Faz oranı (S <sub>2</sub> :S <sub>1</sub> /Y fazı)	100 g emülsiyonun demir içeriği(mg)
80:20	4	2,5	80:20	2,5
			70:30	3,75
			60:40	5

Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak ve demiri enkapsüle etmek amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonun içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Hazırlanan ikili emülsiyonların içerikleri.

Emülsiyon çeşidi	Yağ fazı		İç su fazı		Dış su fazı		
	Yağ	Lipofilik emülgatör	Su	Bileşen	Su	Hidrofilik Emülgatör	Bileşen
<b>Tuzluluk algısı arttırılmış emülsiyon</b>	Sızma zeytinyağı	PGPR	İçme suyu	MgCl <sub>2</sub>	İçme suyu	Sodyum kazeinat	NaCl
<b>Tatlılık algısı arttırılmış emülsiyon</b>	Riviera zeytinyağı	PGPR	İçme suyu	MgCl <sub>2</sub>	İçme suyu	Sodyum kazeinat	Sakkaroz
<b>Enkapsüle demir içeren emülsiyon</b>	Riviera zeytinyağı	PGPR	Fosfat tamponu	FeCl <sub>3</sub>	İçme suyu	Sodyum kazeinat	-

### 3.3 Analizler

#### 3.3.1 Tekli ve ikili emülsiyonlarda faz dönüşümünün kontrolü

Çalışma kapsamında hazırlanan tüm tekli emülsiyonlarda ve bu tekli emülsiyonlar ile hazırlanmış olan ikili emülsiyonlarda analiz öncesi faz dönüşümü olayının gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir. Faz dönüşümü olayı, bir su içerisinde yağ emülsiyonunun yağ içerisinde su emülsiyonuna dönmesi veya aksi şekilde gerçekleşen olay olarak tanımlanmaktadır (Çelebi, 2009). Faz dönüşümünü kontrol etmek için birkaç damla emülsiyon, içerisinde su ve yağ bulunan iki ayrı behere eklenmiş ve karıştırılmıştır, ardından emülsiyonun hangi sıvı içerisinde çözüldüğü gözlemlenmiştir (Ma and Hadzija, 2013).

#### 3.3.2 Tekli emülsiyonlarda sedimentasyon indeksi

Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacıyla 3.1’de belirtildiği gibi üç farklı yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan emülsiyonlar ağzı kapaklı cam tüplere alınmış ve 25°C’de 21 gün süresince depolanmıştır. Depolama süresince emülsiyonlarda faz ayrımı olup olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca 7 ve 21 gün depolama sonrası örnekler, Surh et. al. (2007) tarafından belirtilen şekilde 6500

rpm' de 30 dakika santrifüjlenmiş (Thermo Scientific marka IEC CL31R Multispeed) ve ayrılan yağ fazı, sedimentasyon indeksi (SI) olarak ifade edilmiştir. Bu amaçla depolama süresince tüplerin üst kısmında ayrılan yağ kısmın yüksekliği ( $h_o$ ) ölçülmüş ve ilk emülsiyon yüksekliği ( $h_t$ ) ile kıyaslanmıştır (Ushikubo and Cunha, 2014):

$$SI (\%) = \left( \frac{h_o}{h_t} \right) \times 100$$

### 3.3.3 Tekli ve ikili emülsiyonların damlacık boyut ve boyut dağılımı

Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacıyla 3.1'de belirtildiği gibi üç farklı yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan S<sub>1</sub>/Y emülsiyonları damlacık boyut ve boyut dağılımı analizi için Malvern marka Mastersizer 2000 model lazer difraktometresi kullanılmıştır. Optik parametreler: dağıtıcı faz (hekzan) refraktif indeksi 1,38, partikül absorpsiyon indeksi 0,01 ve dağılan faz (içme suyu) refraktif indeksi 1,33 olarak seçilmiştir. Ölçümler, üç gün arayla iki kez gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Malvern 2000 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak ile demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan tüm S<sub>1</sub>/Y/S<sub>2</sub> emülsiyonlarının damlacık boyutu ve damlacık boyut dağılımı analizi Malvern marka Mastersizer 3000 model lazer difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir. Optik parametreler: dağıtıcı faz (su) refraktif indeksi 1,330; partikül absorpsiyon indeksi 1 ve partikül refraktif indeksi 1,650 olarak seçilmiştir. Ölçümler, örnekler hazırlandıktan sonraki iki saat içinde gerçekleştirilmiştir ve Malvern 3.10 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada partikül boyutu, yüzey alanı ağırlıklı ortalama çap D[3,2] (Sauter ortalama çap) ve hacim ağırlıklı ortalama çap D[4,3] (De Brouckere ortalama çap) olarak verilmiştir:

$$D[3,2] = \left[ \frac{\sum n_i * d_i^3}{\sum n_i * d_i^2} \right]$$

$$D[4,3] = \frac{\left[ \sum n_i * d_i^4 \right]}{\left[ \sum n_i * d_i^3 \right]}$$

Her iki eşitlikte de yer alan  $n_i$ ,  $d_i$  çapındaki partikül sayısını temsil etmektedir (Özen, 2006).

### 3.3.4 Tuzluluk algısını arttırmak amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonun içereceği tuz miktarının belirlenmesi

İkili emülsiyonun dış su fazına yerleştirilecek olan tuz miktarını belirlemek amacıyla iki aşamalı duyuşal değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Birinci bölümde, sıralama testi uygulanarak, katılımcılardan derecelendirilmiş tuz yoğunluğunu ayırt etmeleri istenmiştir. İçme suyu en düşük tuz konsantrasyonlu, 2 g/ L sodyum klorür içeren çözelti de en yüksek tuz konsantrasyonlu referans çözelti olarak tanımlanmıştır. Ardından, farklı konsantrasyonlarda (0,25-0,5-1-2 g/L) hazırlanmış ve kodlanmış olan sodyum klorür çözeltileri rasgele katılımcılara sunulmuş ve katılımcılardan dört farklı çözeltiyi yoğunluklarına göre en düşükten en yükseğe doğru sıralamaları istenmiştir. Analiz iki kez tekrarlanmıştır. Bu bölümde kullanılan duyuşal değerlendirme formu Şekil 3.1' de verilmiştir.

Panelistin adı, soyadı:		Tarih: .../.../...
Size su ve en yüksek konsantrasyonda tuz çözeltisi sunulmuştur. Bu iki çözeltiyi referans olarak size sunulan dört adet çözeltiyi tuz yoğunluğuna göre en düşükten en yükseğe doğru sıralayınız.		
	<u>Tuz yoğunluğu</u>	
	Sıra	<u>rnek kodu</u>
En düşük	1	.....
	2	.....
	3	.....
En yüksek	4	.....

Şekil 3.1 Duyusal değerlendirme formu (1).

İkinci bölüme tuz çözeltilerini konsantrasyon olarak doğru Şekilde sıralayan katılımcılar ile devam edilmiştir. Bu aşamada, bir porsiyon (100 g) doğranmış

iceberg marulu ve bu salatada kullanılmak üzere ağırlıkları önceden belirlenmiş sızma zeytinyağı, taze sıkılmış limon suyu ve tuz ayrı ayrı kaplarda katılımcılara sunulmuştur. Katılımcılardan bu malzemeleri kendi damak zevklerine göre salata hazırlamada kullanmaları istenmiştir. Her bir katılımcının bir porsiyon salata için kullandığı tuz, limon suyu ve zeytinyağı miktarları, ilk ağırlıkları ile kullanım sonrası ağırlıkları arasındaki farka göre hesaplanmıştır. Analiz iki kez tekrarlanmıştır.

### **3.3.5 Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan tekli emülsiyonun oksidasyon stabilitesi**

Demir, gıdalardaki en önemli pro-oksidanlardan biridir. Bu nedenle demir içeren emülsiyon sistemlerinde lipid oksidasyonunun önlenmesi için demirin lipid ile olan temasının kesilmesi gerekmektedir (Choi et al, 2009). Araştırmacılar gıda ürünlerini demir ile zenginleştirirken oluşabilecek lipid oksidasyonunu minimize etmek için, demiri bir makromolekül ile kompleks oluşturmakta veya demirin şelatlı bir formunu kullanmaktadır (Sugiarto et al., 2010). Çalışmada enkapsüle edilecek demir bileşiğinin, peyniraltı suyu protein hidrolizatı ile birlikte kullanılması ile oksidasyon stabilitesinin artırılması amaçlanmıştır. Hem serbest halde hem de peyniraltı suyu hidrolizatı ile kompleks halinde demir içeren tekli emülsiyonlar oksidasyon stabilitesi açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmada kullanılan zeytinyağı (Z), zeytinyağı + PGPR karışımı (ZP), zeytinyağı + PGPR + fosfat tamponu emülsiyonu (ZPF), zeytinyağı + PGPR + fosfat tamponu + demir emülsiyonu (ZPFD) ve zeytinyağı + PGPR + fosfat tamponu + demir + peynir altı suyu hidrolizatı emülsiyonu (ZPFDP) olmak üzere 5 farklı örneğin oksidasyon stabilitesi belirlenmiştir (Çizelge 3.3) Örnekler hızlandırılmış oksidasyon testine tabi tutulmuştur. Bu amaçla örnekler 65°C'de etüvde depolanarak ısıl işleme maruz bırakılmıştır. 24 ve 48 saat sonrasında etüvden alınan örneklerin oksidasyon stabilitesini belirlemek amacı ile peroksit sayısı ve p-anisidin değeri analizleri gerçekleştirilmiştir. Peroksit sayısı birincil oksidasyon ürünlerini, p-anisidin değeri de ikincil oksidasyon ürünlerini temsil etmek üzere seçilmiş analizlerdir.

Çizelge 1.3 Oksidasyon stabilitesi belirlenen örneklerin içerikleri.

Örnekler	Zeytinyağı	PGPR	Fosfat Tamponu	Demir	Peyniraltı suyu proteini izolatı
Z	✓				
ZP	✓	✓			
ZPF	✓	✓	✓		
ZPFD	✓	✓	✓	✓	
ZPFDP	✓	✓	✓	✓	✓

### **3.3.5.1 Peroksit sayısı**

Örneklerin peroksit sayısı IUPAC (1979)'a göre belirlenmiştir. Analiz için yaklaşık 1 g örnek temiz bir erlene alınmış ve üzerine 10 ml klorofom ilave edilerek hızlıca çalkalanmıştır. Ardından ortama 15 ml asetik asit ve 1 ml doygun potasyum iyodür çözeltisi ilave edilmiştir, ağzı sıkıca kapatılan erlen kuvvetli bir şekilde 1 dakika boyunca çalkalanmıştır. Karanlıkta 5 dakika boyunca bekletilen erlene 75 ml saf su ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Ortama indikatör olarak 3 ml % 1'lik nişasta çözeltisi ilave edilmiş ve ardından 0.002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Kör deneme için ortama örnek ilave edilmeksizin tüm işlemler aynen uygulanmıştır. Örneklerin peroksit sayısı aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır ve sonuçlar 1 kg yağda bulunan milieşdeğer oksijen cinsinden verilmiştir:

$$\text{Peroksit sayısı} = \frac{(S - K) * N * 1000}{m}$$

S: titrasyonda harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (ml),

K: kör deneme için harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (ml),

N: kullanılan sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi,

m: analize alınan örnek miktarı (g).

### **3.3.5.2 p-Anisidin değeri**

p-Anisidin değeri, Nikovska (2010)'un uyguladığı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Analiz için 0,5 g emülsiyon tartılmıştır ve izooktan ile hacmi 25



ml'ye tamamlanan karışım vortekslendikten sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santifüj sonrası supernatant kısmın absorbansı 350 nm'de Amersham Biosciences Novaspec Plus görünür bölge spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür ( $A_1$ ), kör olarak izooktan kullanılmıştır. Ayrıca santrifüj sonrası 5 ml supernatant test tüpüne aktarılmış ve üzerine 1 ml p-anisidin (0,25 g/10 ml glasiyel asetik asit) eklenmiştir. 10 dakika boyunca karanlıkta bekletilen örneklerin absorbansı 350 nm' de ölçülmüştür ( $A_2$ ), kör olarak izooktan + p-anisidin çözeltisi kullanılmıştır. Örneklerin p-anisidin değerleri aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$p - anisidin\ değeri = 25 * \frac{1,2 * (A_2 - A_{2kör}) - (A_1 - A_{1kör})}{m}$$

$A_1$ : örneğin absorbansı,

$A_{1kör}$ : izooktan çözeltisinin absorbansı,

$A_2$ : örnek+ p-anisidin çözeltisinin absorbansı,

$A_{2kör}$ : izooktan+ p-anisidin çözeltisinin absorbansı,

m: analize alınan yağ miktarı (g).

### 3.3.6 Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimliliği

Enkapsülasyon verimliliği Sapei et al. (2012)' in uyguladığı yönteme göre uygulanmıştır. Yöntem  $S_1$  fazında serbest hale gelip  $S_2$  fazına geçen demir miktarı ile orantılı olarak emülsiyonun elektriksel iletkenliğinin artması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla hazırlanan ikili emülsiyonlar 25°C'de 15 gün boyunca depolanmış ve belirli zamanlarda emülsiyonların elektriksel iletkenlikleri Mettler Toledo Seven Excellence Multiparameter pH/iletkenlik ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. Her emülsiyonun körü olarak aynı oranda  $S_2$  fazı: $S_1/Y$  emülsiyonuna sahip olan ve yapısında demir içermeyen ikili emülsiyonlar kullanılmıştır. Demir içeren ve demir içermeyen ikili emülsiyonların elektriksel iletkenlikleri arasındaki farkın  $S_1$  fazından  $S_2$  fazına geçen demirden kaynaklandığı kabul edilmiştir. Kalibrasyon grafiği çiziminde 0- 20 mg  $FeCl_3/100$  g konsantrasyon aralığında

çalışılmıştır. Kalibrasyon grafiğinin çiziminde kullanılan demir çözeltileri emülsiyonların hazırlanmasında kullanılan içme suyu ile hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafiği ile elektiksel iletkenlik değerleri demir konsantrasyonuna çevrilmiştir. Enkapsülasyon verimliliği, aşağıda verilen eşitliklerden faydalanılarak hesaplanmıştır:

$$FR(\%) = \frac{Fe_t}{Fe_T} \times 100$$

$$EV(\%) = 100 - FR(\%)$$

FR (%) = S<sub>2</sub> fazına geçen demir fraksiyonu,

Fe<sub>t</sub>= t zamanında S<sub>2</sub> fazına geçen demir,

Fe<sub>T</sub>= emülsiyondaki toplam demir miktarı,

EV(%)= enkapsülasyon verimliliği.

### 3.3.7 İkili emülsiyonların mikroyapısı

Çalışmada hazırlanan tüm ikili emülsiyonların mikroyapıları PSARON marka Floptik model tam otomatik mikroskop sistemi kullanılarak incelenmiştir. Yağ damlacıklarının net şekilde görüntülenebilmesi amacıyla emülsiyonlar bir miktar su ile seyreltilmiş ardından bir damla örnek lama yerleştirilerek üzeri lamel ile kapatılmıştır. Örneklerin incelenmesinde 10x objektif lensi kullanılmıştır.

### 3.3.8 İkili emülsiyonların reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmada hazırlanan tüm ikili emülsiyonların reolojik özellikleri, DHR-3 Reometre (TA Instruments, USA) kullanılarak belirlenmiştir. Reoloji ölçümlerinde 40 mm zımpara kaplı (sand-blasted) plaka kullanılmış. Kayma hızı 0 1/s'den 200 1/s'ye arttırılırken vizkoziteye karşılık kayma gerilimi ölçümleri yapılmıştır. Tüm reolojik ölçümler 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Kayma zamanı 2 dakika olarak ayarlanmıştır. Emülsiyonlar hazırlandıktan iki saat sonra analize alınmıştır ve her bir emülsiyon için üç ölçüm gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.9 İkili emülsiyonların kremleşme stabilitesi

Çalışmada hazırlanan ikili emülsiyonların fiziksel stabilitesi belirlemek amacı Liu et al. (2012) tarafından kullanılan yöntem ile kremleşme indeksi ölçümü gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla hazırlanan tüm emülsiyonlar ağzı kapalı cam tüplere (çap= 2.4 cm, yükseklik= 5.12 cm) aktarılmış ve 15 gün süresince 25°C’de depolanmıştır. 15 gün süresince belli aralıklarla emülsiyonların alt kısmında ayrılan serum yüksekliği ( $H_s$ ) ve toplam emülsiyon yüksekliği ( $H_t$ ) ölçülerek kremleşme indeksi hesaplanmıştır:

$$KI(\%) = \frac{H_s}{H_t} \times 100$$

### 3.3.10 *In vitro* lipid hidrolizi

Tatlılık ve tuzluluk algısını arttırmak üzere hazırlanmış olan emülsiyonların bileşimlerinin (yağ, protein, sakkaroz ve NaCl) yağ hidroliz kinetiği ve derecesi üzerindeki etkilerini incelemek üzere *in vitro* lipid hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Analiz hem tekli hem de ikili emülsiyonlara uygulanmıştır. Emülsiyonların ağız ve gastrik sindirimi Minekus et al. (2014) tarafından geliştirilen *in vitro* sindirim yöntemine göre, ince bağırsak sindirimi ise pH-stat yöntemi ile Mat et al. (2016)’e göre gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan sindirim sıvılarının kimyasal içerikleri Çizelge 3.4’de verilmiştir. *in vitro* sindirim akış şeması da Şekil 3.2’ de verilmiştir. *In vitro* sindirimde kullanılan enzimlerin aktiviteleri Minekus et al. (2014)’un yöntemine göre belirlenmiş ve Şekil 3.2’de belirtilen enzim aktivitelerini karşılayacak miktarda enzim çözeltileri hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 2 *In vitro* sindirimde kullanılan sindirim sıvılarının kimyasal içerikleri.

	Stok Kons.		SAS (pH 7) *		SGS (pH 3) *		SDS (pH 7) *	
			Stoktan eklenen	Final Kons.	Stoktan eklenen	Final Kons.	Stoktan eklenen	Final Kons.
	g/L	M	mL	mM	mL	mM	mL	mM
KCl	37.3	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO <sub>3</sub>	84	1	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
NaCl	117	2	-	-	11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	30.5	0.15	0.5	0.15	0.4	0.1	1.1	0.33
NH <sub>4</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	48	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	-	-

\*SAS simüle ağız sıvısı, SGS simüle mide (gastrik) sıvısı, SDS simüle incebağırsak (duedonal) sıvısı

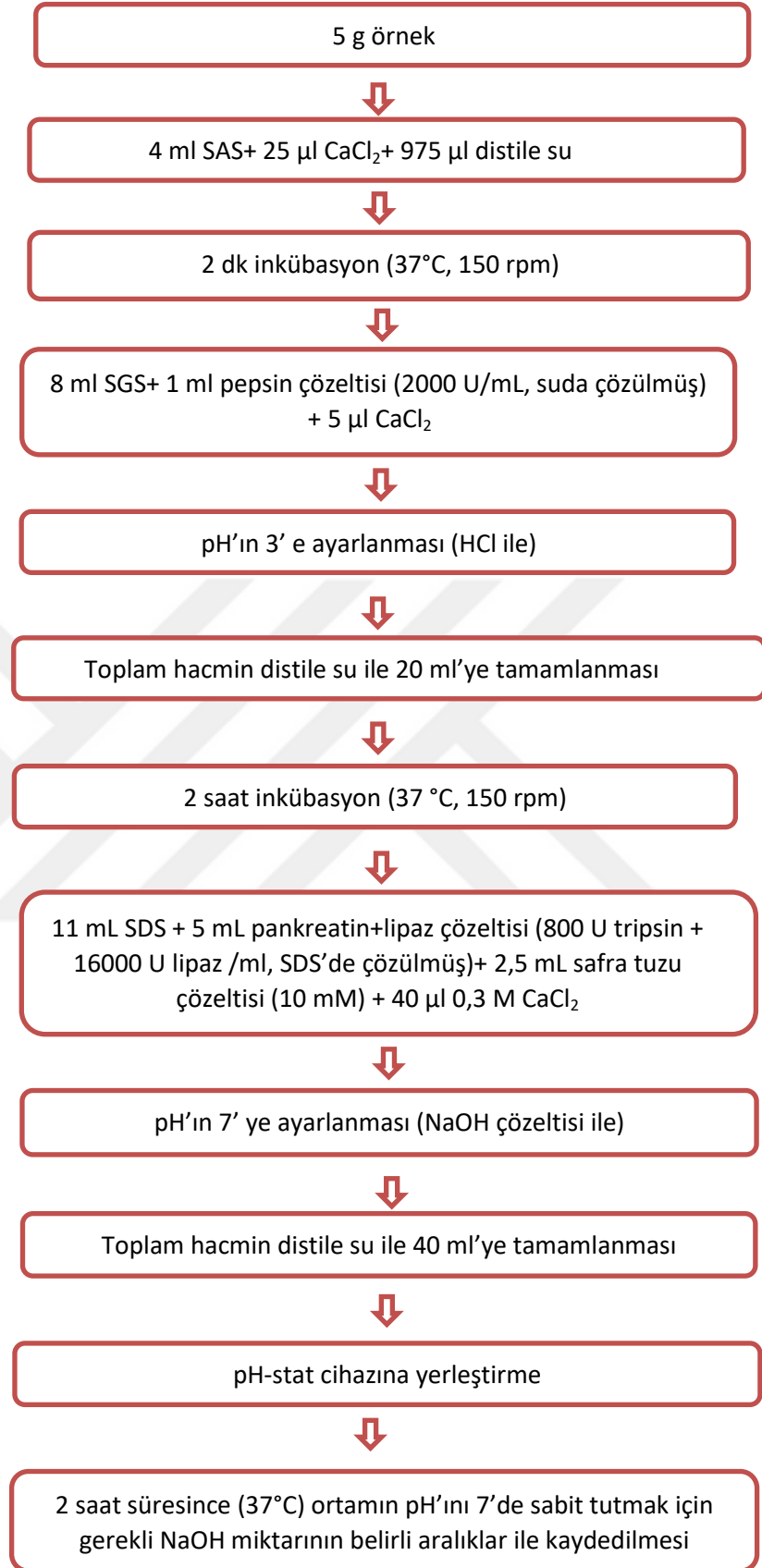
\*\*Stok çözeltilerin pH'ı ayarlandıktan sonra hacim distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

**Pepsin aktivitesinin belirlenmesi:** Substrat olarak % 2 konsantrasyonda, pH'ı 2'ye ayarlanmış hemoglobin çözeltisi kullanılmıştır. Stok pepsin enzimi çözeltisi, 1 mg/g konsantrasyonunda 150 mM NaCl ile hazırlanmıştır. Analiz öncesi stok pepsin çözeltisinden 5-30 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda pepsin çözeltileri hazırlanmıştır. 37°C'ye ayarlanan termal karıştırıcıya (Eppendorf ThermoMixer C, Almanya) yerleştirilen her bir eppendorf tüpüne 500 µl hemoglobin çözeltisi eklenmiş ve tüplerin 37°C'ye gelmesi için 3-4 dakika beklenilmiştir. Tüplere 100 µl pepsin çözeltilerinden eklenmiş ve 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda reaksiyon 1 ml % 16'luk trikloroasetik asit çözeltisi ile sonlandırılmıştır. Her bir örneğin körü, pepsin çözeltisi eklenmemiş hemoglobin çözeltilerine TCA eklenmesi ve sonrasında 100 µl pepsin çözeltisi ilave edilmesi ile hazırlanmıştır. Tüpler 10000 g' de 15 dakika boyunca 20°C'de santrifüjlenmiş ve ardından 280 nm'de absorbansları okunmuştur. Pepsin aktivitesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır:

$$\text{Ünite (mg)} = \frac{(A_{280} \text{ Test} - A_{280} \text{ Kör}) * 1000}{\Delta t * X}$$

Δt: Reaksiyon süresi (10 dakika)

X: pepsin çözeltisi konsantrasyonu (mg/ml).

Şekil 3.2 *In vitro* sindirim akım şeması

**Pankreatik tripsin aktivitesinin belirlenmesi:** Pankreatin enziminin tripsin aktivitesinin belirlenmesi amacıyla 0,046 M konsantrasyonunda ve 0,115 M CaCl<sub>2</sub> içeren Tris-HCl tamponu (pH 8.1) ve enzim substratı olarak 10mM TAME kullanılmıştır. 25°C'ye ayarlanan Thermomixer cihazına yerleştirilen her bir eppendorf tüpüne 1,3 ml Tris-HCl tamponu ile 150 µl enzim substratı eklenmiş ve karıştırılmıştır. Karışım 25°C'de 3-4 dakika inkübe edilmiştir. Test küvetine 50 µl pankreatin çözeltisi (0,25-1,0 mg/mL, 1 mM HCl içerisinde), kör olarak kullanılacak küvete ise enzim yerine 1 mM HCl eklenmiş ve karıştırılmıştır. Absorbansdaki değişim 247 nm'de 10 dk boyunca kaydedilmiştir. Kinetik ölçüm sonucu elde edilen datayı içeren grafiğin ilk lineer kısmının eğimi kullanılarak aşağıdaki formüle göre enzim aktivitesi hesaplanmıştır:

$$\text{Ünite (mg)} = \frac{(A_{247} \text{ Test} - A_{247} \text{ Kör}) * 1000 * 1,5}{540 * X}$$

ΔA<sub>247</sub>: Test (enzim) ve kör için elde edilen eğrinin ilk lineer kısmının

eğimi, (ünite absorbans/dk)

540: TAME' nin 247 nm'de molar ekstinksiyon katsayısı

1,5: reaksiyon karışımının ml olarak hacmi (Tris-HCl + TAME + Enzim)

X: son reaksiyon karışımındaki enzim miktarı (mg).

**Pankreatik lipaz aktivitesinin belirlenmesi:** Pankreatin enziminin lipaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla sırası ile 36, 9000, 200 ve 2080 mg/L konsantrasyonunda Tris, NaCl, CaCl<sub>2</sub> ve sodyum taurodeoksikolat içeren analiz çözeltisi ve 1 mg/ml konsantrasyonunda pankreatin çözeltisi hazırlanmıştır. 37°C'ye ayarlanan pH-stat cihazına (KEM Kyoto otomatik potansiyometrik titratör) yerleştirilen bir behere 14,5 ml ve 0,5 ml gliseril tribütrat eklenmiştir. Karışımın pH'ı 8'e ayarlanmış ve 10 dakika süresince pH'ın değişip değişmediğini kontrol edilmiştir. Daha sonra karışıma 10-100 µl pankreatin çözeltisi ilave edilmiş ve pH'ı 8'de sabit tutmak için 10 dakika boyunca 0,1 M NaOH ile manuel titrasyon gerçekleştirilmiştir. Titrasyon üç farklı hacimde pankreatin çözeltisi (50-75 ve 100 µl) ile tekrarlanmıştır. Pankreatik lipaz aktivitesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır:

$$\text{Ünite (mg)} = \frac{R(\text{NaOH}) * 1000}{v * [E]}$$

R(NaOH): NaOH' ın ortama verilme hızı (µmol/dakika), eğrinin lineer kısmının eğimi,

v: enzim çözeltisinin hacmi (µl),

[E]: enzim çözeltisinin konsantrasyonu (mg / ml).

İnce bağırsak sindirimi sırasında ortamın pH'ın da gözlenen düşüş, açığa çıkan serbest yağ asitlerinin yanısıra emülsiyonların S<sub>2</sub> fazında bulunan sodyum kazeinatın sindirimi sonucu açığa çıkan amino asitlerden de kaynaklanmaktadır. Bu nedenle her emülsiyonun S<sub>2</sub> fazına da *in vitro* sindirim uygulanmıştır. Her iki analiz arasındaki sarfiyat farkı, açığa çıkan yağ asitlerinden kaynaklı pH düşüşünü dengelemek için ortama verilmesi gereken NaOH miktarı olarak kabul edilmiştir. Lipoliz sonucu açığa çıkan serbest yağ asitlerinin (SYA) yüzdesi aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Mat et al. 2016):

$$SYA (\%) = \left( \frac{V_{\text{NaOH}} * M_{\text{NaOH}} * M_{\text{A(yağ)}}}{A_{\text{yağ}} * 2} \right) * 100$$

V<sub>NaOH</sub>: sindirim sonrası açığa çıkan serbest yağ asitlerinin nötralize edilmesi için gerekli sodyum hidroksit hacmi (ml),

M<sub>NaOH</sub>: sodyum hidroksit molaritesi (M),

A<sub>yağ</sub>: analize alınan toplam yağ miktarı,

M<sub>A(yağ)</sub>: yağın molekül ağırlığı (900 g/mol).

### 3.3.11 Demir biyoerişebilirliği

Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonlarda *in vitro* sindirim sonrası biyoerişilebilir demir miktarını saptamak amacıyla 3.3.8' deki benzer *in vitro* sindirim protokolu uygulanmıştır. Bu sindirim protokolün farkı, ince bağırsak sindirimi sırasında pH-stat cihazının kullanılmayıp sindirim işleminin 2 saat süresince çalkalamalı inkübatörde (Stuart SI500)

gerçekleştirilmiş olmasıdır. Sindirim süresi bitiminde örnekler 10.000 g'de 4°C' de 15 dakika süresince santrifüj edilmiştir ve sindirim işleminin durdurulması için supernatant kısmına Pefabloc proteaz inhibitörü eklenmiştir. Örnekler demir analizi yapıncaya kadar - 18°C derecede depolanmıştır.

*In vitro* sindirim sonrası örneklerin demir içeriklerinin belirlenmesi için Choi et al. (2009) tarafından uygulanan yöntem kullanılmıştır. Analiz öncesi örnekler 0,45 µm Millipore filtreden geçirilerek olası yağ kalıntısı ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Analiz için mikropolanın kuyucuklarına 100 µl örnek ve 100 µl % 10 hidroksilamin hidroklorür çözeltisi (0,25 N HCl ile hazırlandı) eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika beklenmiştir. Ardından üzerine 100 µl 9 mM ferrozine çözeltisi eklenmiş ve 10 dakika daha oda sıcaklığında beklenmiştir. Süre bitiminde örneklerin absorbansı Thermo Varioskan Flash mikropolada 562 nm'de okunmuştur. Absorbans grafiği için 0-10 mg/L konsantrasyonunda ferrik klorür çözeltileri kullanılmıştır. Örneklerin demir biyoerişebilirliği aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

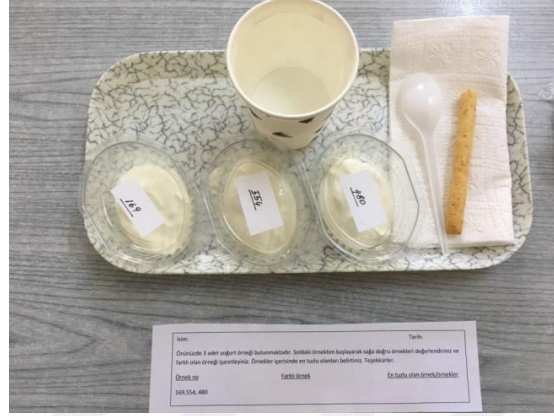
$$\text{Demir biyoerişebilirliği (\%)} = \frac{\text{in vitro sindirim sonrası demir miktarı}}{\text{başlangıçta ilave edilen demir miktarı}} \times 100$$

### 3.3.12 İkili emülsiyonlarda bulunan tuzun ve sakkarozun duyuşal değeriendirilmesi

Bu değeriendirmede amaç aynı tuz/sakkaroz içeriğine sahip ikili ve kontrol tekli emülsiyonlar arasında tuzluluk/tatlılık açısından farklılık olup olmadığının belirlenmesi ve farklılığın tuzun/sakkarozun algılanma yoğunluğu olarak değeriendirilmesidir. Tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon, 3.3.4' de gerçekleştirilen duyuşal analiz sonuçlarına göre belirlenen tuz miktarı (toplam emülsiyonun ağırlıkça % 3'ü) emülsiyonun sadece dış su fazında olacak şekilde hazırlanmıştır. Tatlılık algısını arttırmak amacı ile hazırlanan ikili emülsiyon da toplam emülsiyonun ağırlıkça % 15'i kadar sakkaroz emülsiyonun sadece dış su fazında olacak şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca hem tuzluluk hem de tatlılık için hazırlanan ikili emülsiyonların karakterizasyonu sonucu en stabil emülsiyon, S<sub>2</sub>:S<sub>1</sub>:Y oranı ağırlıkça % 60:40 olan emülsiyon olduğu için duyuşal değeriendirme de bu bu faz oranına sahip emülsiyon



kullanılmıştır. Duyusal değerlendirmede kontrol örneği olarak aynı miktarda tuz/sakkaroz içeriğine ve su: yağ fazı oranına sahip su içinde yağ (S/Y) tekli emülsiyonu kullanılmıştır.



Şekil 3.3 Örneklerin panelistlere sunum şekli.

Çalışmada on bir panelist ile çalışılmış ve duyusal değerlendirme yönsel üçgen testi ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan kontrol (tekli) ve ikili emülsiyonlar ayrı ayrı ağırlıkça 3:1 oranında süzme yoğurt ile karıştırılmıştır. Panelistlere aynı anda hem ikili emülsiyon hem de kontrol emülsiyon ile karıştırılmış süzme yoğurtlar sunulmuş ve panelistlerden önce farklı olan örneği seçmesi daha sonrasında da tek veya eşlenmiş örneklerin tuzluluk/tatlılık açısından değerlendirmesi istenmiştir. Örnekler panelistlere 20 g'lık porsiyonlar halinde, tuzsuz kraker ve su eşliğinde sunulmuştur. Duyusal değerlendirmede örneklerin panelistlere sunum şekli Şekil 3.4' de verilmiştir. Analiz iki kez gerçekleştirilmiş ve birinde eşlenmiş örnek olarak ikili emülsiyonlu yoğurt, diğerinde tekli emülsiyonlu yoğurt kullanılmıştır. Analizde kullanılan tuzluluk duyusal değerlendirmesine ait form Şekil 3.4'de, tatlılık değerlendirmesine ait değerlendirme formu da Şekil 3.5'de verilmiştir. Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde Altuğ ve Elmacı (2005)'de bulunan "Üçgen testinde farklılıkları belirlemek için gereken yanıt sayıları" tablosu kullanılarak ikili ve tekli emülsiyonun arasındaki farklılık istatistiği olarak  $p < 0,001$  önem düzeyinde incelenmiştir. Tuzluluk ve tatlılık algısı ile ilgili sonuçlar da cevaplarının yüzdesi şeklinde verilmiştir.

İsim:	Tarih:	
Önünüzde 3 adet yoğurt örneği bulunmaktadır. Soldaki örnekten başlayarak sağa doğru örnekleri değerlendiriniz ve farklı olan örneği işaretleyiniz. Örnekler içerisinde en tuzlu olanı/olanları belirtiniz. Teşekkürler.		
<u>Örnek no</u>	<u>Farklı örnek</u>	<u>En tuzlu olan örnek/örnekler</u>
169, 554, 480		

Şekil 3.4 Tuzluluk algısının belirlenmesi için uygulanan duyuşal değerlendirme formu.

İsim:	Tarih:	
Önünüzde 3 adet yoğurt örneği bulunmaktadır. Soldaki örnekten başlayarak sağa doğru örnekleri değerlendiriniz ve farklı olan örneği işaretleyiniz. Örnekler içerisinde en tatlı olanı/olanları belirtiniz. Teşekkürler.		
<u>Örnek no</u>	<u>Farklı örnek</u>	<u>En tatlı olan örnek/örnekler</u>
318, 536, 712		

Şekil 3.5 Tatlılık algısının belirlenmesi için uygulanan duyuşal değerlendirme formu.

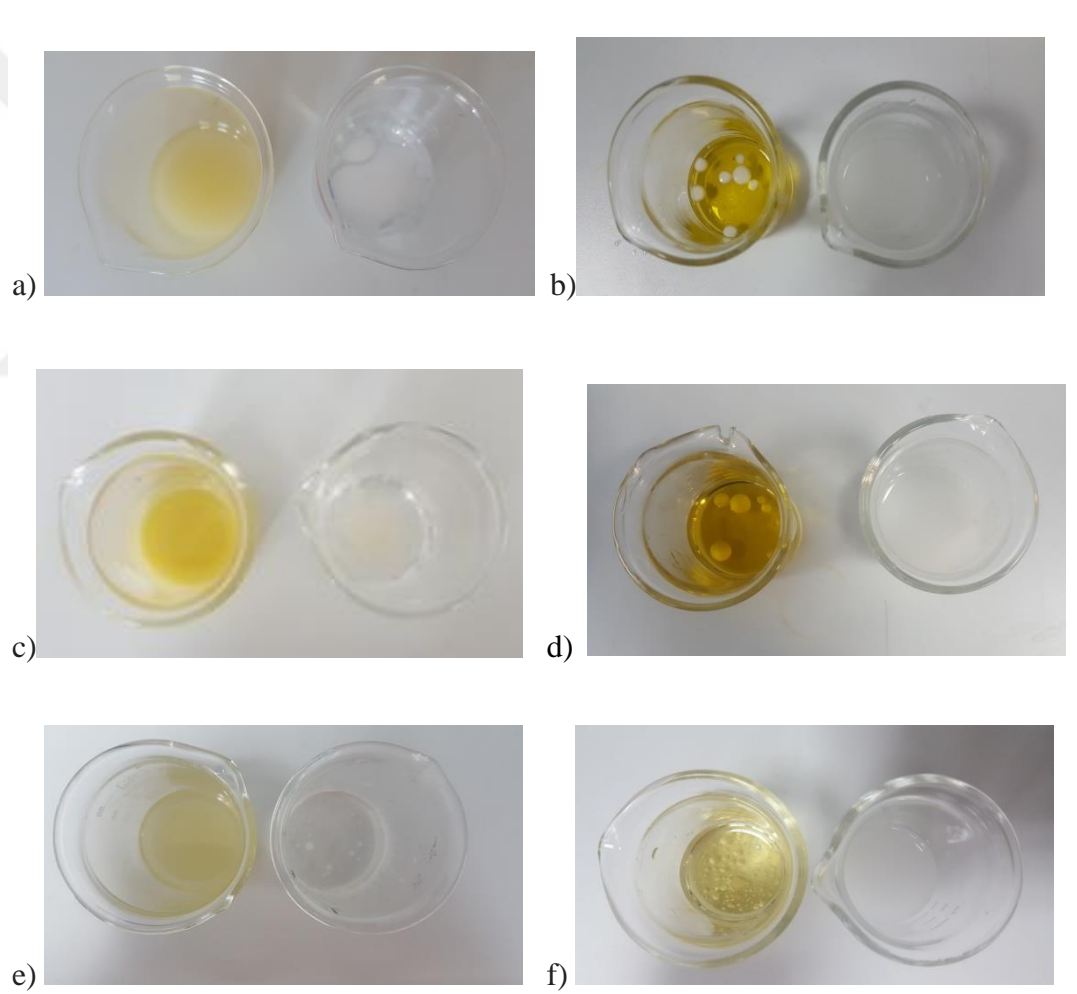
### 3.4 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen veriler Microsoft Excel 2010 çalışma sayfasında hesaplanmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla IBM SPSS 25 istatistik analiz paket programı kullanılmıştır. İncelenen bir değişken açısından ikiden fazla grubun birbiri ile karşılaştırılmasının gerektiği durumlarda değerler arasında fark olup olmadığı One Way ANOVA, bir değişkene ait iki ayrı zamandaki ölçümler arasındaki fark olup olmadığı Eşleştirilmiş t- testi ile saptanmış ve farklılık % 95 güven aralığında Duncan ve LSD testleri ile değerlendirilmiştir. Reolojik analizlerde kullanılan modelin deneysel verilerle uyumluluğu SPSS programı kullanılarak doğrusal olmayan regresyon analizi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Tekli ve İkili Emülsiyonlarda Faz Dönüşümü Kontrolü

Faz dönüşümünün kontrolü amacıyla yapılan analiz sonrası yağ içerisinde çözünen tekli emülsiyonlar yağ içerisinde su emülsiyonu, su içerisinde çözünen emülsiyonlar ise su içerisinde yağ emülsiyonu olarak tanımlanmaktadır. İkili emülsiyonlardan da yağ içerisinde çözünen ikili emülsiyonlar yağ içerisinde su-su içerisinde yağ ikili emülsiyonu, su içerisinde çözünenler ise su içerisinde yağ-yağ içerisinde su ikili emülsiyonu olarak tanımlanmaktadır (Ma and Hadzija, 2013). Çalışma kapsamında hazırlanan tekli ve ikili emülsiyonların su ve yağ içerisinde çözüldürülmesi ile elde edilen görüntüler Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1 Faz dönüşümü kontrolüne ait görüntüler, a-b) tuzluluk algısı için hazırlanan sırasıyla tekli ve ikili emülsiyon, c-d) tatlılık algısı için hazırlanan sırasıyla tekli ve ikili emülsiyon, f) demir enkapsülasyonu için hazırlanan sırasıyla tekli ve ikili emülsiyonlar.

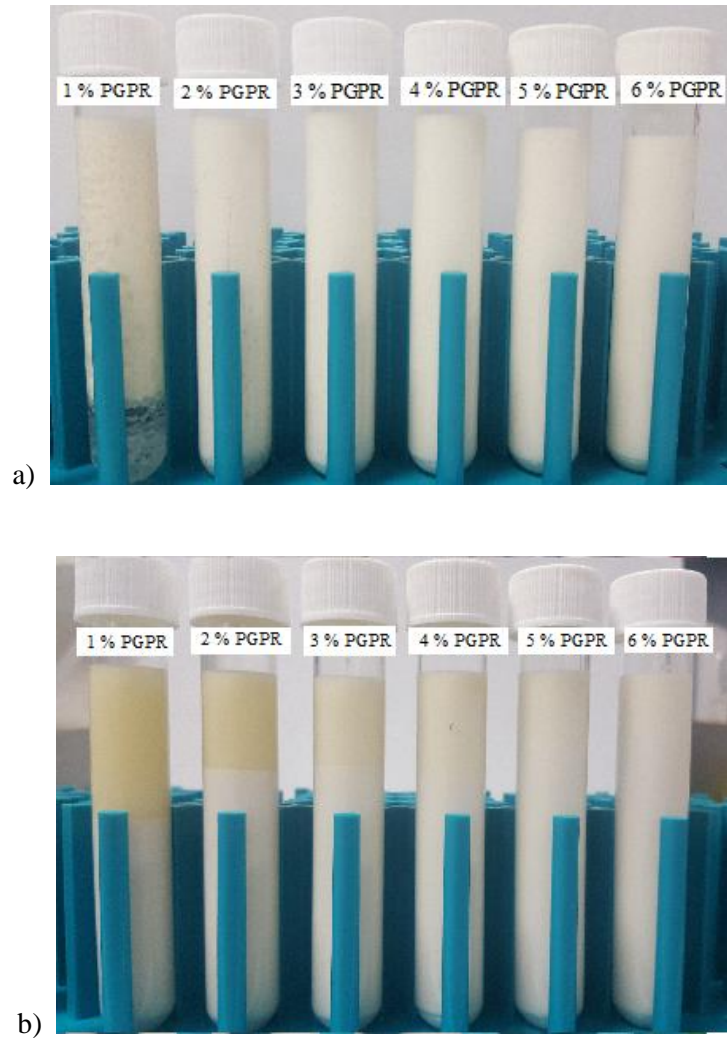
Şekil 4.1’de görüldüğü üzere tüm tekli emülsiyonlar yağda çözülmüş, suda ise çözünmeden damlacık şeklinde kalmışlardır. Tüm ikili emülsiyonlar ise suda çözünürken yağ içerisinde çözünmeden damlacık şeklinde kalmışlardır. Bu durum tekli emülsiyonların dış fazının yağ olduğunu ve hazırlanan emülsiyonların yağ içerisinde su emülsiyonu olduğunu, ikili emülsiyonların ise dış fazının su olduğunu ve hazırlanan tüm ikili emülsiyonların su içerisinde yağ-yag içerisinde su emülsiyonu olduğunu doğrulamaktadır. Tüm bu veriler, tekli ve ikili emülsiyonlarda herhangi bir faz dönüşümü oluşmadığını göstermektedir.

## **4.2 Tuzluluk ve Tatlılık Algısı için Hazırlanan Tekli Emülsiyonlarda Stabilite**

### **4.2.1 S<sub>1</sub> fazının içeriğinin ve PGPR konsantrasyonunun etkisi**

Tekli emülsiyon stabilitesi formülasyonda kullanılan bileşenlere bağlı iken, ikili emülsiyon stabilitesi de tekli emülsiyonun stabil olmasına bağlıdır (Su, 2008). Bu nedenle, tekli emülsiyonun stabilitesi üzerine iç su fazının (S<sub>1</sub>), lipofilik emülgatör konsantrasyonunun ve su:yağ fazı oranının etkilerinin incelenmesi önemlidir. Çalışmada hazırlanan S<sub>1</sub>/Y emülsiyonlarının 25°C’de 1 ay depolama sonrası görünüşleri Şekil 4.2’de verilmiştir. İç su fazında sadece MgCl<sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan tekli emülsiyonlarda, % 1 ve % 2 PGPR konsantrasyonuna sahip olanlar dışında sedimentasyon veya faz ayrışması gözlenmemiştir. % 1 ve 2 PGPR konsantrasyonuna sahip emülsiyonlarda su damlacıklarının tüpün dibine çöktüğü (sedimentasyon) gözlenmiştir. Sedimentasyon, sürekli faz ile dağılmış faz arasındaki yoğunluk farkından kaynaklanan tersine çevrilebilir bir durumdur. Bu durum yağ içinde su emülsiyonlarında gözlenmektedir (Tadros, 2006; Killian, 2011). Dağılmış fazın daha düşük yoğunluğa sahip olması durumunda, damlacıklar emülsiyonun yüzeyine doğru hareket ederek kremi bir tabaka oluşturur; dağılmış fazın daha yüksek yoğunluğa sahip olması durumunda ise damlacıklar aşağıya doğru hareket ederek bir tortu tabakası oluşturur (Fraj et al., 2017). PGPR’nin % 1 ve % 2 konsantrasyonları stabil tekli emülsiyon hazırlanmasında ara yüzey gerilimini azaltma açısından yetersiz kalmıştır. Ushikubo ve Cunha (2014)’e göre emülgatör ilavesi ara yüzey geriliminde hızlı bir düşüşe ve daha küçük damlacıklar oluşturarak stabilitenin daha yüksek

olmasına neden olmaktadır. Şekil 4.2.b’de görüldüğü üzere  $MgCl_2$  ve Na-kazeinatın iç su fazında birlikte kullanıldığı tekli emülsiyonların hepsinde faz ayrımı gözlenmiş ancak sedimentasyon gözlenmemiştir. Faz ayrımı, PGPR konsantrasyonu daha düşük olan emülsiyonlarda daha belirgin olarak gözlenmiştir. Su (2008), Na-kazeinatın hem tamponlu hem de tamponsuz sistemlerde  $S_1/Y$  emülsiyonu stabilitesi üzerine etkisini incelemiştir; Na-kazeinat tamponlu sistemde stabiliteyi sağlama açısından olumlu bulunurken, tamponlanmamış sistemde ise PGPR’ın emülsifiye edici özelliği üzerine olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır.

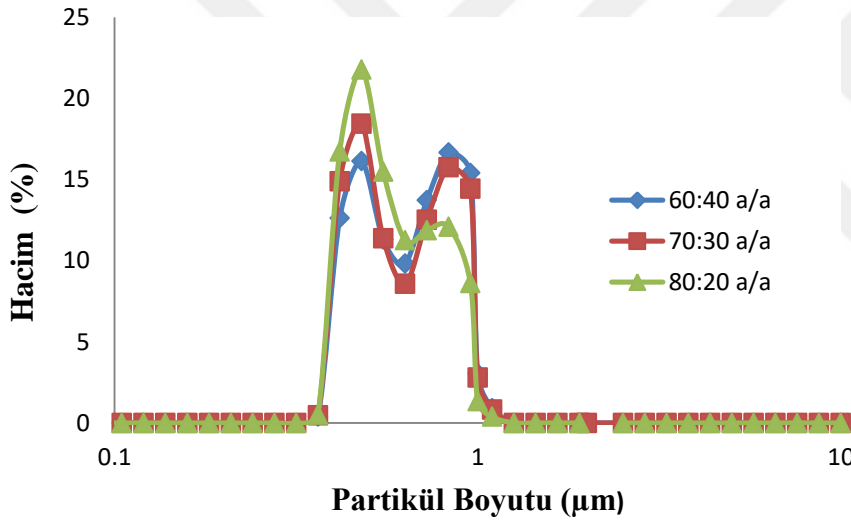


Şekil 4.2. Farklı PGPR konsantrasyonu ve su fazı ile hazırlanmış tekli emülsiyonların  $25^{\circ}C$ 'de bir ay depolama sonrası görüntüleri: a) % 5  $MgCl_2$ , b) % 5  $MgCl_2$  + % 0,5 Na-Kazeinat.

Elde edilen veriler doğrultusunda çalışmanın bundan sonraki aşamalarında tatlılık ve tuzluluk algısını arttırmak amacı ile hazırlanan tekli emülsiyonlar, iç su fazı  $MgCl_2$ , yağ fazı ise % 4 PGPR içerecek şekilde hazırlanmıştır.

#### 4.2.2 Yağ: su fazı oranının etkisi

Farklı dağılmış faz (su fazı) oranına sahip  $S_1/Y$  emülsiyonlarına ait damlacık boyut dağılımı Şekil 4.3' de verilmiştir. Tüm tekli emülsiyonlar bimodal boyut dağılımı göstermiştir; birinci pik 0,5  $\mu m$  civarında diğer pik ise 0,8  $\mu m$  civarındadır. Dağılmış faz oranının ağırlıkça % 20' den % 40' a yükselmesi, 0,5  $\mu m$  civarındaki parçacıkların hacminde azalmaya neden olurken, 0,8  $\mu m$  civarında artışa neden olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Y:S<sub>1</sub> oranının S<sub>1</sub>/Y emülsiyonlarının damlacık boyut dağılımı üzerine etkisi.

Ağırlıkça % 20, 30 ve 40 dağılmış faz içeren tekli emülsiyonların hazırlandıkları güne ait (0. Gün) ve 25°C' de 3 gün depolama sonrası Sauter ortalama çapları  $D[3,2]$  Çizelge 4.1'de verilmiştir. Farklı Y:S<sub>1</sub> oranına sahip olan tekli emülsiyonların damlacık boyutları birbirinden farklı bulunmuştur; en küçük damlacık boyutu Y:S<sub>1</sub> oranı 80:20 olan emülsiyonda saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Xu et al. (2013), S/Y emülsiyonlarında su içeriğinin ortalama damlacık çapı üzerinde etkisini araştırmışlar ve emülsiyonun su içeriğinde azalmaya bağlı olarak damlacık çapında da azalma olduğunu saptamışlardır. Depolama sonrası damlacık boyutları incelendiğinde, Y:S<sub>1</sub> oranı 60:40 olan emülsiyonda önemli bir farklılık

saptanmamıştır. Diğer emülsiyonların depolama sonrası damlacık boyutlarında ise farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

Çizelge 4.1 Farklı Y: S<sub>1</sub> oranına sahip S<sub>1</sub>/Y emülsiyonlarının depolama sonrası damlacık boyutu.

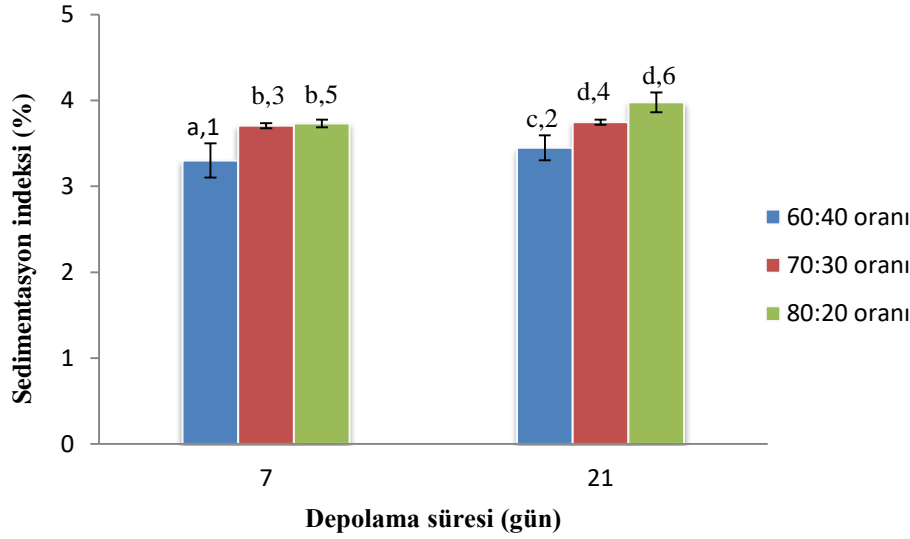
Y: S <sub>1</sub> oranı	0. gün	3. gün
	D <sub>32</sub> (µm)	D <sub>32</sub> (µm)
60:40	0,586 ± 0,006 <sup>a,1</sup>	0,591 ± 0,007 <sup>d,1</sup>
70:30	0,568 ± 0,000 <sup>b,2</sup>	0,589 ± 0,001 <sup>d,3</sup>
80:20	0,535 ± 0,001 <sup>c,4</sup>	0,549 ± 0,007 <sup>e,5</sup>

Değerler ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a-b</sup> Farklı harfler aynı sütundaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ( $p<0,05$ ).

<sup>1-2</sup> Farklı sayılar aynı satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ( $p<0,05$ ).

25°C'de 21 gün süresince depolama sonrası emülsiyonlarda faz ayrımı gözlenmemiş ancak 7 ve 21 gün depolama sonrası santrifüj edilen tüm emülsiyonların üst kısımlarında hafif bir yağ tabakası gözlenmiştir. Ayrılan yağ tabakasının hacmi dikkate alınarak hesaplanan sedimentasyon indeksine ait sonuçlar, Şekil 4.4' de verilmiştir. Y:S<sub>1</sub> oranı 60:40 olan tekli emülsiyonun sedimentasyon indeksinin 7 ve 21 gün depolama sonrası diğer örneklerle göre daha düşük olduğunu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Yedi gün depolama sonrası Y:S<sub>1</sub> oranı 70:30 ve 80:20 olan tekli emülsiyonların sedimentasyon indeksi arasında fark bulunmazken, 21 gün depolama sonrası dağılmış faz oranındaki artış ile sedimentasyon indeksinin arttığı gözlenmiştir. Ushikubo ve Cunha (2014), dağılmış faz oranının arttırılmasının görünür viskozitede artışa, sedimentasyon hızında ise düşüşe neden olduğunu belirtmişler ve % 40 su içeriğine sahip emülsiyonu % 30 su içeriğine sahip emülsiyona kıyasla daha stabil bulmuşlardır. En yüksek damlacık boyutuna sahip olmasına karşın en düşük sedimentasyon indeksine ve depolama sonrası damlacık çapında farklılık olmaması nedeni ile tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak üzere ikili emülsiyonların hazırlanmasında yağ fazı:su fazı oranı ağırlıkça 60:40 olan tekli emülsiyon kullanılmıştır.



Şekil 4.4. Y:S<sub>1</sub> oranının S<sub>1</sub>/Y emülsiyonlarının sedimentasyon indeksi üzerine etkisi. Barlar üzerindeki farklı harfler farklı Y:S<sub>1</sub> oranına sahip ve aynı süre depolanan örnekler arasındaki, farklı sayılar ise aynı Y:S<sub>1</sub> oranına sahip olup depolama süreleri farklı örnekler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

#### 4.3 İkili Emülsiyonda Kullanılan Tuz Miktarının Duyusal Analiz ile Belirlenmesi

Tuz çözeltilerini konsantrasyonlarına göre doğru şekilde sıralayan on bir katılımcı ile gerçekleştirilen tuz miktarının belirlenmesine yönelik duyusal analiz sonunda her katılımcının salatasında kullandığı malzemelerin miktarlarını belirlemek üzere kaselerde kalan tuz, limon suyu ve zeytinyağı miktarları tartılmıştır. Bir porsiyon salata (100 g) için kullanılan tuz, limon suyu ve zeytinyağı için minimum, maksimum ve aritmetik ortalama değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Bir porsiyon salatada tercih edilen tuz, limon suyu ve zeytinyağı miktarları.

	Minimum (g)	Maksimum (g)	Ortalama (g)
Tuz	0,10	0,8	0,31 ± 0,22
Limon suyu	2,48	9,84	5,15 ± 2,05
Zeytinyağı	1,19	9,45	4,42 ± 2,56
Toplam	3,77	20,09	9,86 ± 4,47

Değerlendirme sonuçlarına göre bir porsiyon salata için ortalama 0,31 g tuz, 5,15 g limon suyu ve 4,4 g zeytinyağı içeren toplamda yaklaşık 10 g salata



sosu kullanılmıştır. Bu sonuçlara göre, ikili emülsiyonun hazırlanmasında dış su fazında yer alacak tuz miktarının, 3 g tuz/ 100 g olmasına karar verilmiştir.

#### **4.4. Enkapsüle Demir İçeren Tekli Emülsiyonlarda Oksidasyon Stabilitesi**

Demir benzeri geçiş metalleri, özellikle doymamış yağ asitlerini içeren emülsiyon bazlı gıda ürünlerinin lipid oksidasyon hızını ve derecesini arttırmaktadırlar. Bu nedenle gıda ürünlerine demir eklenmesi, birçok gıda ürününün kalitesini ve raf ömrünü azaltmaktadır (Prichapan et al., 2018). Demirin yağ fazı ile olan temasının engellenmesi, yağ fazının oksidasyon stabilitesini oldukça yükseltmektedir. EDTA, sitratlar, proteinler gibi suda çözünür şelatlar su fazında yer alan demiri bağlayarak ve demirin yağ fazına erişmesini engelleyerek emülsiyonların lipid oksidasyonunu engellemektedirler. Çalışmada demiri bağlayarak lipid oksidasyonunu engellemesi amacıyla peynir altı suyu hidrolizati kullanılmıştır. Çizelge 4.3’de çalışmada kullanılan riviera zeytinyağının kendisine ve emülsiyonu oluşturan her bir bileşen ile olan kombinasyonuna ait peroksit ve p-anisidin analizlerinin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.3’de görüldüğü üzere 65°C’de 1 ve 2 gün süreyle depolama sonrası demirin serbest halde bulunduğu emülsiyonun (ZPFD) peroksit değeri, diğer tüm örneklere göre oldukça yüksektir ( $p < 0,05$ ). Demire ilavaten peynir altı suyu bulunan tekli emülsiyonun (ZPFDP) 1 ve 2 gün süreyle depolama sonrası peroksit değeri ile yapısında demir bulunmayan tekli emülsiyonun (ZPF) peroksit değeri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). p-anisidin analizine ait sonuçlar da peroksit analizi sonuçları ile benzerlik göstermektedir. ZPFD örneğinin 65°C’de 1 gün ve 2 gün depolama sonrası ölçülen p-anisidin değerleri, diğer tüm örneklere kıyasla yüksek bulunmuşken, ZPFDP emülsiyonu ile ZPF emülsiyonu arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). Hem peroksit hem p-anisidin analizi sonuçları peyniraltı suyunun, emülsiyonun oksidasyon stabilitesini arttığını göstermektedir.

Çizelge 4.3 Peroksit ve p-anisidin değerleri.

Örnek	Peroksit Değeri (meq aktif oksijen/kg yağ)		p-anisidin değeri (p-AV)	
	1.gün	2. gün	1.gün	2. gün
Z	6,68 ± 0,30 <sup>a</sup>	8,39 ± 0,32 <sup>c</sup>	5,12 ± 0,17 <sup>f</sup>	5,83 ± 1,40 <sup>l</sup>
ZP	6,73 ± 0,77 <sup>a</sup>	8,31 ± 1,20 <sup>c</sup>	4,23 ± 1,21 <sup>f</sup>	4,04 ± 0,19 <sup>j,k</sup>
ZPF	7,90 ± 0,86 <sup>a</sup>	11,32 ± 0,92 <sup>d</sup>	2,13 ± 0,32 <sup>g</sup>	2,88 ± 0,61 <sup>k</sup>
ZPFD	30,11 ± 3,48 <sup>b</sup>	68,21 ± 1,49 <sup>e</sup>	19,37 ± 1,12 <sup>h</sup>	25,01 ± 0,50 <sup>l</sup>
ZPFDP	8,40 ± 0,57 <sup>a</sup>	13,25 ± 0,77 <sup>d</sup>	2,20 ± 0,32 <sup>g</sup>	4,02 ± 0,00 <sup>j,k</sup>

\*Z zeytinyağı, ZP zeytinği+PGPR karışımı, ZPF zeytinyağı+PGPR ve fosfat tamponu emülsiyonu, ZPFD zeytinyağı+PGPR+ fosfat tamponu ve demir emülsiyonu, ZPFDP zeytinyağı+PGPR+ fosfat tamponu, demir emülsiyonu

Değerler ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a-b</sup> Farklı harfler aynı sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0,05).

Proteinler, su içinde yağ emülsiyonlarının oluşumunu ve stabilizasyonunu kolaylaştırmak amacıyla yaygın olarak emülgatör olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca proteinler, iki değerlikli iyonlarla kompleks yapabilmeleri ve tirozil kalıntılarının radikal türlerini temizleyebilmeleri nedeniyle de gıdalarda bulunan doğal antioksidan kaynaklarıdır. Proteinlerin iyonik grupları (fosfoseril ve karboksilik gruplar) kalsiyum, demir ve çinko ile gibi metal iyonları ile etkileşime girerek onları bağlayabilmektedirler (Sturza and Curchi, 2011). Bağlanma sırasında gerçekleşen metal-protein etkileşimleri, metalin çeşidine, proteinin yapısında yer alan uygun kısımlara ve çevresel koşullara bağlıdır (Sugiarto, 2004). Bazı araştırmacılar proteinlerin demir ile kompleks yapmasının, demir içeren emülsiyon model sistemlerinin veya sütün lipid oksidasyonunu azalttığını belirtmişlerdir (Caetano-Silva, 2018).

Sugiarto et. al. (2010) yaptıkları çalışmada linoleik asit emülsiyonlarının protein-demir kompleksleri varlığında oksidasyon derecelerini incelemişler ve bağlı demirin pro-oksidan etkisini serbest demir ile karşılaştırmışlardır. Lipit

oksidasyon deneyleri, demirin serbest formda olmasına kıyasla proteine bağlandığı zaman lipid oksidasyonunu katalize etme yeteneğini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Bu durum, süt proteini-demir kompleksi ile demirin gıdalara yüksek biyoyararlılıkta, çözünme sorunu yaşanmadan ve istenmeyen tada neden olmadan ilave edilebilmesine olanak sağlamaktadır.

Çalışmada elde edilen verilerde de peynir altı suyu proteininin demir içeren emülsiyona ilave edilmesi ile lipid oksidasyonunu önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5 İkili Emülsiyonlarda Osmotik Basıncın Dengelenmesi

$S_1/Y/S_2$  ikili emülsiyonlarında, yağ fazı iç ve dış su fazını ayıran tabaka görevi görmektedir; osmotik basınç farkına bağlı olarak suyun bir su fazından diğerine geçişi mümkündür. Osmotik basıncın dış su fazında yüksek olması durumunda iç su fazından dış su fazına su transferi gerçekleşmektedir. Bu durum iç su damlacıklarının büzülmesine neden olarak sistemin stabilitesini bozmaktadır. İç ve dış su fazı arasındaki osmotik denge, gerekli miktarda elektrolitlerin, şekerin veya polisakkaritlerin kullanımı ile sağlanmaktadır (Jiao and Burgess, 2008; Dickinson, 2011). Çalışmada hazırlanan ikili emülsiyonlardan birinin dış su fazında tuzun, diğer emülsiyonun dış fazında ise sakkaroz varlığına bağlı olarak dış su fazlarının osmotik basıncı yüksektir. İç su fazında demir içeren diğer ikili emülsiyondaki osmotik basınç, demirin miktarı göz önünde bulundurulduğunda ihmal edilmiştir. Literatürde, dış su fazında 0.63 g /100 g konsantrasyonunda tuz içeren ikili emülsiyon ile ilgili sadece Lad et al. (2012) tarafından yapılmış bir çalışma bulunmaktadır; bu çalışmada da osmotik dengeyi sağlamak için iç su fazında potasyum klorür (KCl) kullanılmıştır. Çalışmamızda iç ve dış su fazlarının osmotik basıncını dengelemek amacıyla iç su fazında  $MgCl_2$  kullanılması tercih edilmiştir. Her bir  $S_1/Y: S_2$  oranı için  $S_2$  fazının osmotik basıncı ve  $S_1$  fazında kullanılması gereken  $MgCl_2$  konsantrasyonları hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.4 ve 4.5'de verilmiştir. Çizelge 4.5' den elde edilen verilere göre, A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonların iç su fazları sırasıyla 100 g başına 5,43- 5, 02 ve 4, 66 g  $MgCl_2/ 100$  g olacak şekilde hazırlanmıştır. A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonlarının iç fazları ise sırası ile 2,32- 2,14 ve 1,99 g  $MgCl_2/ 100$  g olacak şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 4.4 İkili emülsiyonların S<sub>2</sub> fazlarının ozmotik basıncı.

İkili emülsiyon	S <sub>2</sub> fazı bileşenleri	Konsantrasyon (g/100g S <sub>2</sub> )	Molekül ağırlığı (g/mol)	Molarite (mM)	Ozmolarite (osm/m <sup>3</sup> )	Ozmotik basınç (kPa)
<b>A-TUZ</b> (60:40)	NaCl	5	58,44	855,58	1711,16	3954,98
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,93
<i>Toplam</i>						<b>3956,91</b>
<b>B-TUZ</b> (65:35)	NaCl	4,62	58,44	789,76	1579,53	3650,75
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,93
<i>Toplam</i>						<b>3652,68</b>
<b>C-TUZ</b> (70:30)	NaCl	4,29	58,44	733,35	1466,71	3389,99
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,93
<i>Toplam</i>						<b>3391,91</b>
<b>A-SAKKAROZ</b> (60:40)	Sakkaroz	25	342,30	730,35	730,35	1688,06
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,67
<i>Toplam</i>						<b>1689,73</b>
<b>B-SAKKAROZ</b> (65:35)	Sakkaroz	23,08	342,30	674,17	674,17	1558,21
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,67
<i>Toplam</i>						<b>1559,88</b>
<b>C-SAKKAROZ</b> (70:30)	Sakkaroz	21,43	342,30	626,08	626,08	1446,91
	Na-Kazeinat	12,5	300000	0,42	0,83	1,67
<i>Toplam</i>						<b>1448,58</b>

Hidrofilik emülgatör olarak kullanılan sodyum kazeinatın miktarının belirlenmesi için hazırlanan emülsiyonların % 1-9 konsantrasyon aralığında hemen faz ayrımı gözlenmiştir; % 10-12 konsantrasyonunda ise 24 saat içerisinde faz ayrımı gözlenmiştir. % 12.5 ve % 13 Na-kazeinat kullanılarak hazırlanan ikili emülsiyonlarda faz ayrımı gözlenmemiştir; çalışmanın sonraki aşamalarında % 12.5 Na-K konsantrasyonu ile çalışılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 4.5 Ozmotik denge için iç su fazında kullanılması gereken MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları.

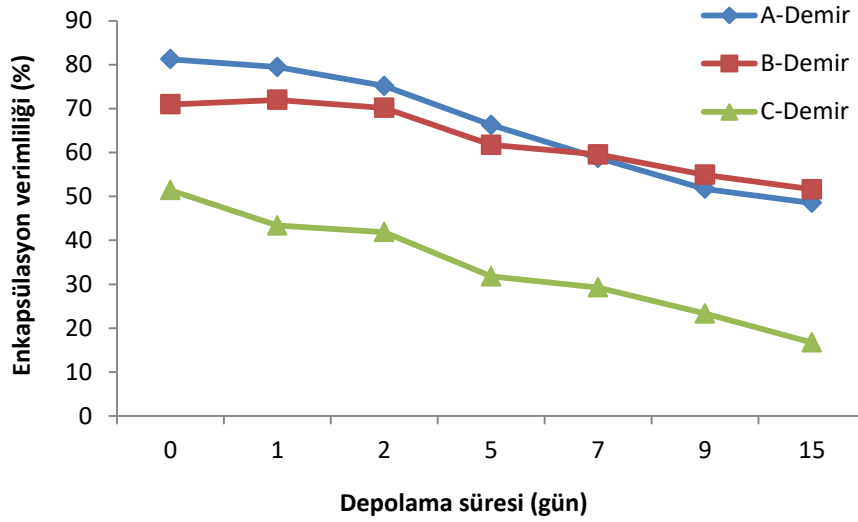
İkili emülsiyon	S <sub>1</sub> fazı bileşenleri	Gerekli ozmotik basınç (kPa)	Ozmolarite (osm/m <sup>3</sup> )	Molarite (mM)	Molekül ağırlığı (g/mol)	Gerekli MgCl <sub>2</sub> konsantrasyonu (g/ 100 g S <sub>1</sub> )
A-Tuz	MgCl <sub>2</sub>	3956,91	1711,99	570,66	95,22	<b>5,43</b>
B-Tuz	MgCl <sub>2</sub>	3652,68	1580,36	526,79	95,22	<b>5,02</b>
C-Tuz	MgCl <sub>2</sub>	3391,91	1467,54	489,18	95,22	<b>4,66</b>
A-Sakkaroz	MgCl <sub>2</sub>	1689,73	731,07	243,69	95,22	<b>2,32</b>
B-Sakkaroz	MgCl <sub>2</sub>	1559,88	674,89	224,96	95,22	<b>2,14</b>
C-Sakkaroz	MgCl <sub>2</sub>	1448,58	626,74	208,91	95,22	<b>1,99</b>

#### 4.6 Enkapsülasyon Verimliliği

Demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan farklı  $S_2:S_1/Y$  oranına sahip ikili emülsiyonların  $25^\circ\text{C}$ 'de 15 gün depolama süresince enkapsülasyon değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.5'de verilmiştir.  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40 ve 70:30 olan ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimlilikleri sırası ile % 79.46 ve % 71.99'dan (1 gün depolama sonrası) % 48.52 ve % 51.60'a (15 gün depolama sonrası) düşmüştür.  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 80:20 olan ikili emülsiyonun ise enkapsülasyon verimliliği % 43.45'den (1 gün depolama sonrası) % 16.17'ye düşmüştür. Elde edilen veriler ikili emülsiyonların  $S_2$  fazı oranı arttıkça enkapsülasyon verimliliğinin azaldığını, artan  $S_1$  fazı ve dolayısı ile demir konsantrasyonu ile enkapsülasyon verimliliğinin arttığını göstermektedir. Benzer sonuçlara literatürde de rastlanmıştır.

Peng (2018) demir enkapsülasyonu amacı ile zeytinyağı ile hazırladığı ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimliliğinin % 97'den % 82'ye düştüğünü, yüksek yağ içeriğine sahip emülsiyonların enkapsülasyon verimliliğinin düşük yağ içeriğine sahip ikili emülsiyonlarınkinden daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Bu durumun, yüksek yağ içeriğinin ikili emülsiyonun viskozitesini artırarak Stokes Kanununa karşı daha iyi stabilize sağlaması ve böylelikle demirin enkapsülasyon verimliliğinin arttırmasından kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Prichapan et al. (2018), farklı demir sülfat konsantrasyonuna (ağırlıkça % 0,1- 0,25 ve 0,5 ) sahip su içinde yağ emülsiyonlarının sekiz saat süresince ölçtükleri enkapsülasyon verimliliklerinin artan demir sülfat konsantrasyonu ile arttığını belirtmişlerdir ( $p < 0,05$ ). Bunun nedenini, artan demir konsantrasyonu ile çözünürlüğün azalması ve böylelikle demirin yağ fazı aracılığı ile su damlacıklarının dışına difüze olma eğiliminin azalması olarak açıklamışlardır.



Şekil 4.5 Farklı  $S_2$ :  $S_1/Y$  oranına sahip olan ikili emülsiyonlarda demirin enkapsülasyon verimliliği

Simiquelia et al. (2018), S/Y/S emülsiyonunun farklı kısımlarına demir sülfat ( $FeSO_4$ ) ilave ederek demir tuzunun neden olduğu istenmeyen tadın maskelenme potansiyelini değerlendirdikleri çalışmalarında hazırladıkları emülsiyonların  $4^\circ C$ 'de 30 gün depolama süresince enkapsülasyon verimliliklerini ölçmüşlerdir. Farklı formülasyonlarda hazırladıkları demir sülfat konsantrasyonu 0,042 g/100 g olan ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimliliğinin 1 gün depolama sonrası % 89 ile % 95, 30 gün depolama sonrasında da 67,42 ile % 76,09 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca iç su fazı oranındaki artışla enkapsülasyon verimliliğinin arttığını saptamışlardır.

#### 4.7 İkili Emülsiyonların Damlacık Boyutu ve Mikroyapısı

İkili emülsiyon, damlacık içinde damlacık içeren yapısı nedeni ile tekli emülsiyona kıyasla daha büyük partikül boyutuna sahip olan bir sistemdir. Bu emülsiyonun damlacık boyut dağılımının, emülsiyonun tadı, rengi, stabilitesi ve reolojisi üzerinde önemli bir rol rolü bulunmaktadır (Su, 2008; Clayton, 2014). Çizelge 4.6' da farklı  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranına sahip emülsiyonların damlacık boyutları verilmiştir. Hazırlanan tüm ikili emülsiyonlarda  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranınının 60:40 olması durumunda en düşük damlacık boyutu elde edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Miyagawa et al., (2015), küçük damlacık boyutuna sahip olan emülsiyonların stabilitesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu açıdan  $S_2$

fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40 olan emülsiyonların stabilitesinin daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.6 Farklı  $S_2:S_1/Y$  oranı sahip ikili emülsiyonların damlacık boyutu.

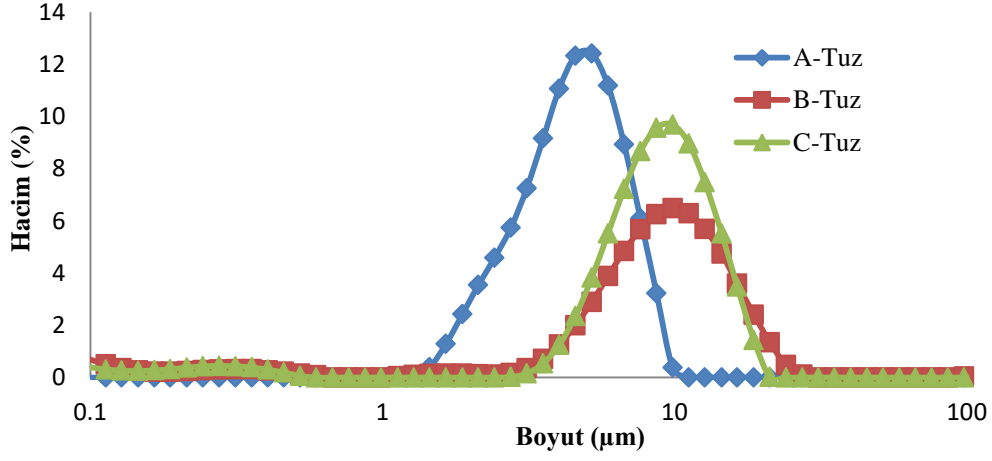
	<b>Tuz</b>	<b>Sakkaroz</b>	<b>Demir</b>
$S_2: S_1/Y_1$ oranı	$D_{43}$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{43}$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{43}$ ( $\mu\text{m}$ )
60:40	$4,953 \pm 0,055^a$	$8,587 \pm 0,361^d$	$4,443 \pm 0,284^g$
65:35	$7,780 \pm 1,355^b$	$15,867 \pm 0,551^e$	-
70:30	$7,940 \pm 0,421^b$	$12,266 \pm 0,115^f$	$10,700 \pm 0,163^h$
80:20	-	-	$8,226 \pm 0,075^i$

Değerler  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

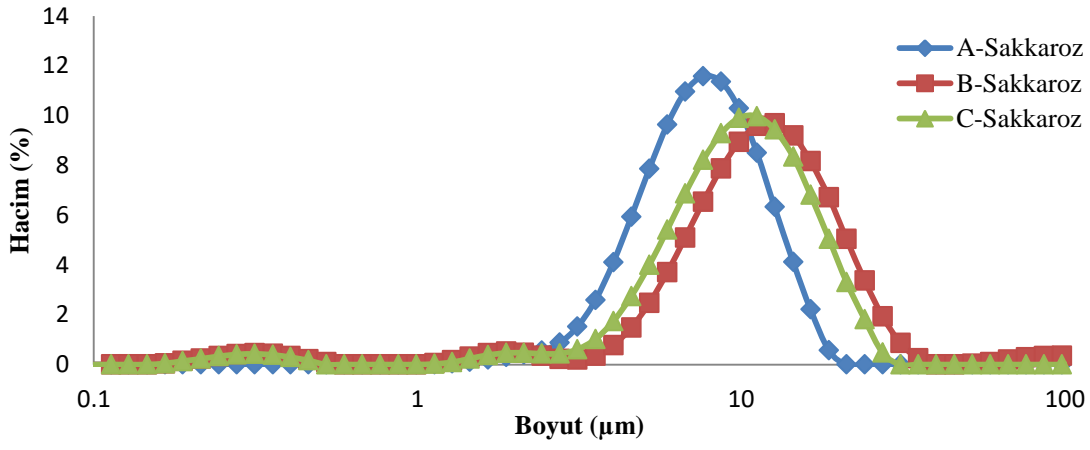
<sup>a-b</sup> Farklı harfler aynı sütundaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ( $p < 0,05$ ).

Choi et al. (2009), 4 mg demir /100 g emülsiyon konsantrasyonunda demiri enkapsüle etmek için hazırladıkları  $S_1/Y/S_2$  ikili emülsiyonların damlacık boyutunu  $9,260 \pm 0,030$  olarak bulmuşlardır.  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranını 80:20 olacak şekilde ayarlamışlardır.

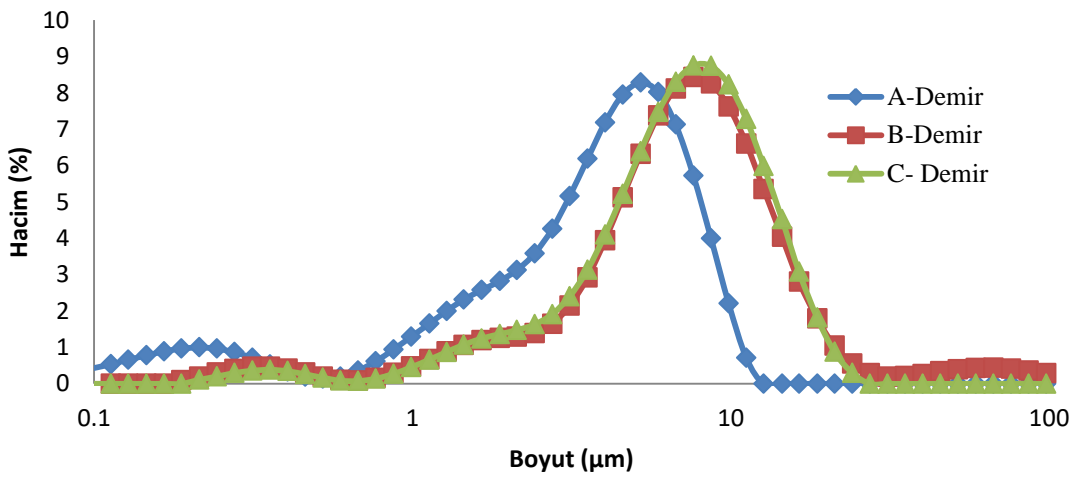
Lad et al. (2012), dış su fazında sodyum klorür içeren (0,63 g tuz/100 g emülsiyon) ve  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranı 70:30 olan  $S_1/Y/S_2$  ikili emülsiyonların damlacık boyutunu  $30.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$  olarak bulmuşlardır.



a)



b)



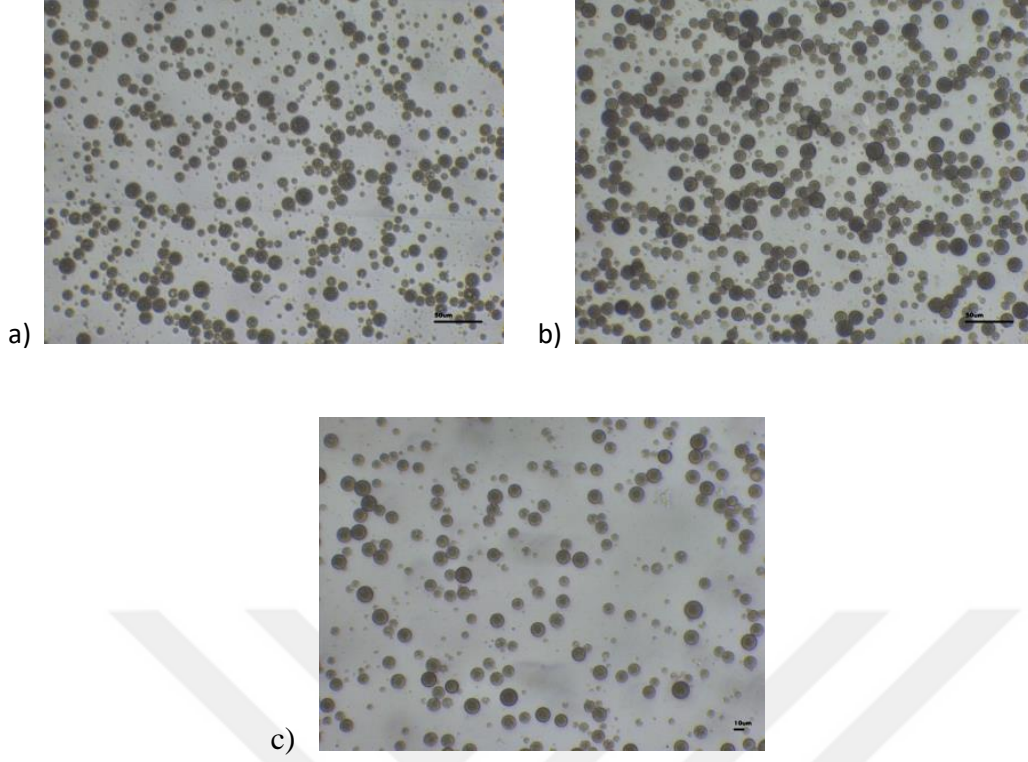
c)

Şekil 4.6 Farklı  $S_2:S/Y_1$  oranına sahip ikili emülsiyonların damlacık boyut dağılımı. a) tuzluluk algısı, b) tatlılık algısı, c) demir enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonlar.

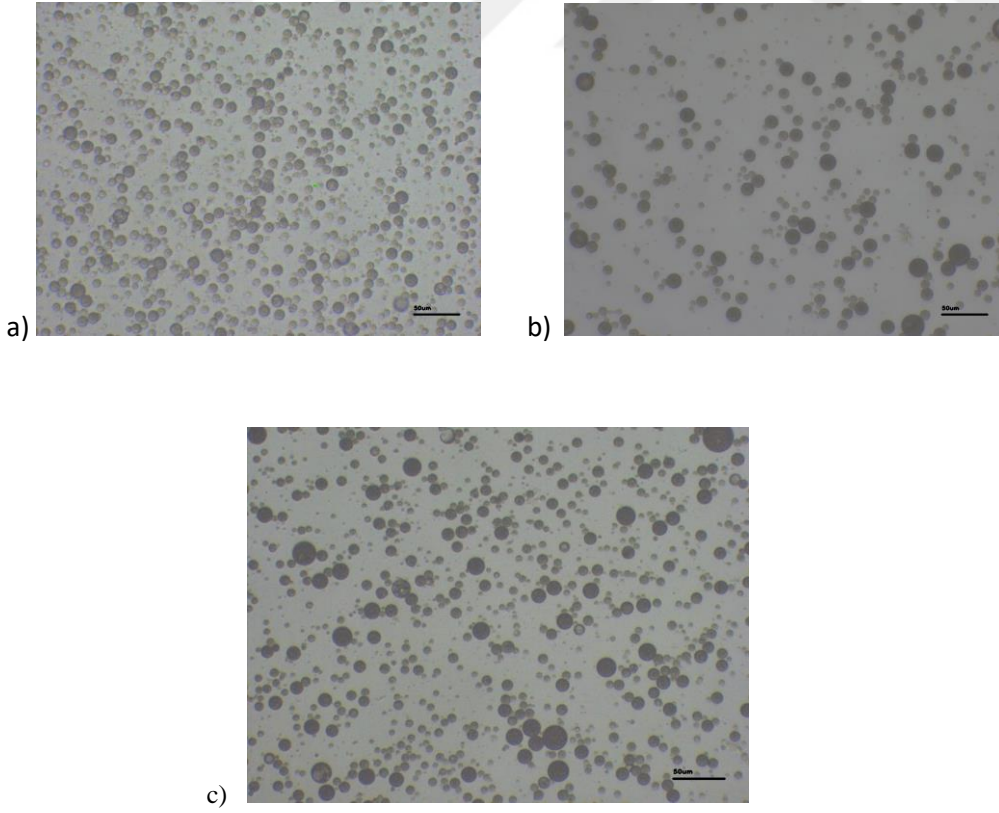


Şekil 4.6' de farklı  $S_1/Y: S_2$  oranına sahip ikili emülsiyonların damlacık boyut dağılımları verilmiştir. Literatürde ikili emülsiyonlar için monomodal, bimodal ve trimodal partikül boyut dağılımı tanımlanmıştır (Cofrades et al., 2013). Çalışmamızda tüm ikili emülsiyonlar monomodal bir dağılım göstermiştir. Şekilde 4.6'da görüldüğü üzere dağılmış faz oranı % 40 olan emülsiyonlar (A-Tuz, A-Sakkaroz ve A-Demir) diğer faz oranlarına kıyasla daha düşük bir damlacık boyutu altında dağılım göstermiştir. A-Tuz, A-Sakkaroz ve A-Demir emülsiyonlarında damlacık boyutu sırası ile ~10, ~18 ve ~10  $\mu\text{m}$  altında dağılım göstermiştir. Dağılmış faz oranı % 35 ve % 30 olan B-Tuz ve C-Tuz emülsiyonlarında damlacık boyutu ~20  $\mu\text{m}$  altında dağılım gösterirken, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz emülsiyonları ~27  $\mu\text{m}$  altında dağılım göstermiştir. Dağılmış faz oranı % 30 ve % 20 olan B-Demir ve C-Tuz emülsiyonlarında ise ~21  $\mu\text{m}$  altında boyut dağılımı olduğu saptanmıştır. Agrawal et al., (2015), dağılmış fazın ( $S_1/Y$  emülsiyonu) sürekli faza olan oranının ikili emülsiyonların stabilitesini ve verimini etkilediğini, % 22-50 oranında dağılmış fazın stabil bir ikili emülsiyon elde edilmesinde etkili olduğu ve daha yüksek dağılmış faz oranının emülsiyonun stabilitesinde düşüş gözleneceğini belirtmiştir.

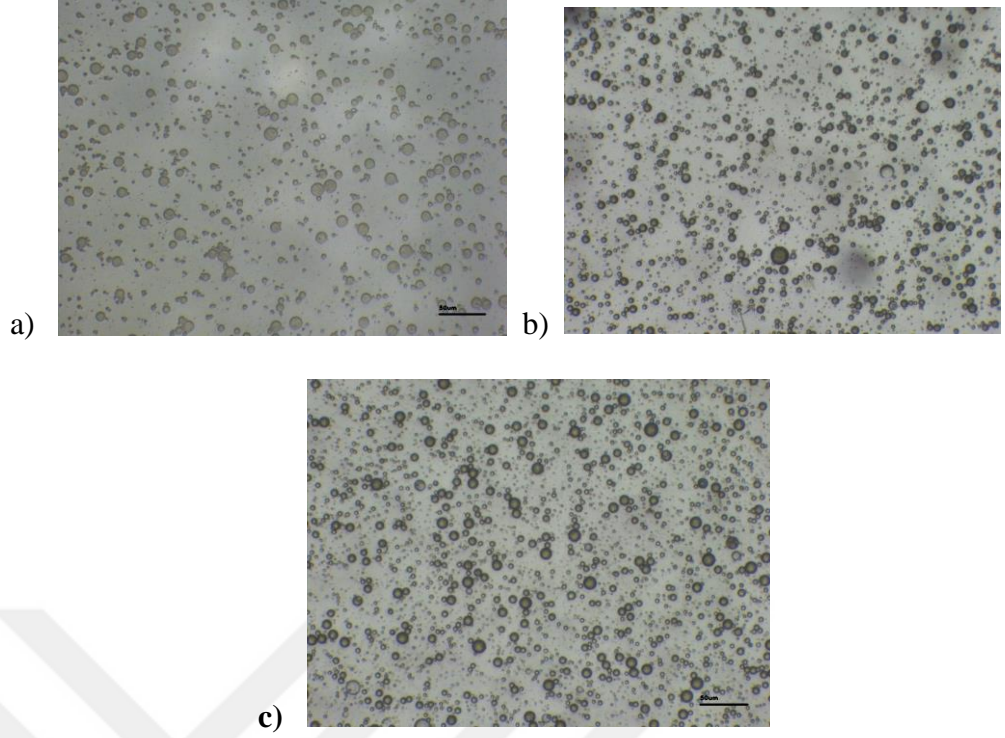
İkili emülsiyonların mikroyapıları Şekil 4.7-4.8 ve 4.9'da verilmiştir; tüm emülsiyonlarda dağılmış haldeki yağ damlacıklarının içinde su damlacıklarının olduğu görülmektedir. İkili emülsiyon damlacıkları, tekli emülsiyonları temsil eden kapalı su damlacıklarından dolayı koyu renkte gözükmektedir (Su, 2008). Choi et al. (2009), demirin enkapsülasyonu amacı ile hazırladıkları ikili emülsiyonlarda da aynı durumu gözlemlemişlerdir.



Şekil 4.7 Farklı  $S_1/Y: S_2$  oranına sahip, tuzluluk algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri, a) A-Tuz b) B-Tuz ve c) C-Tuz.



Şekil 4.8 Farklı  $S_1/Y: S_2$  oranına sahip, tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri, a) A-Sakkaroz b) B-Sakkaroz ve c) C-Sakkaroz.

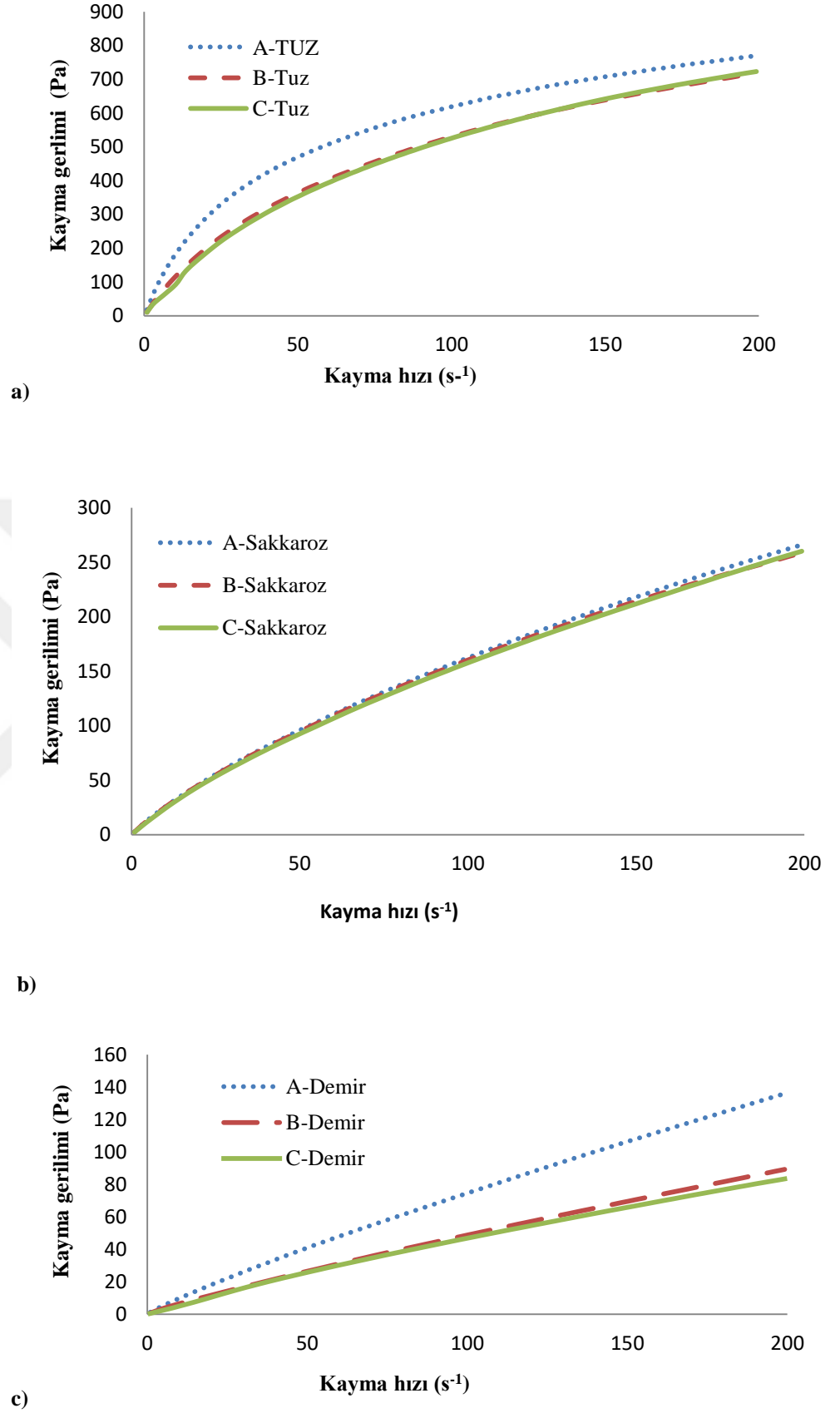


Şekil 4.9 Farklı  $S_1/Y: S_2$  oranına sahip, demir enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonların optik mikroskop görüntüleri, a) A-Demir b) B-Demir ve c) C-Demir.

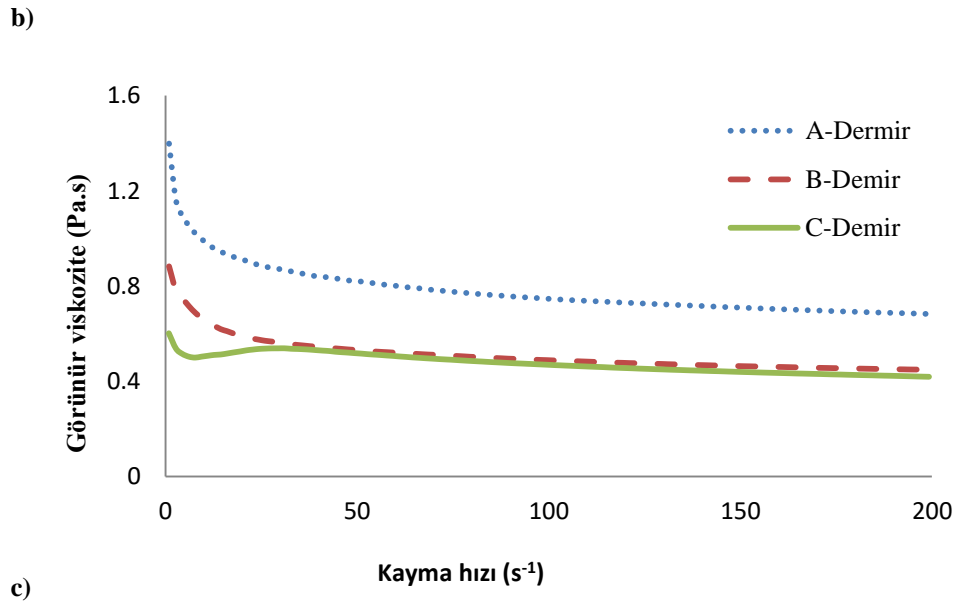
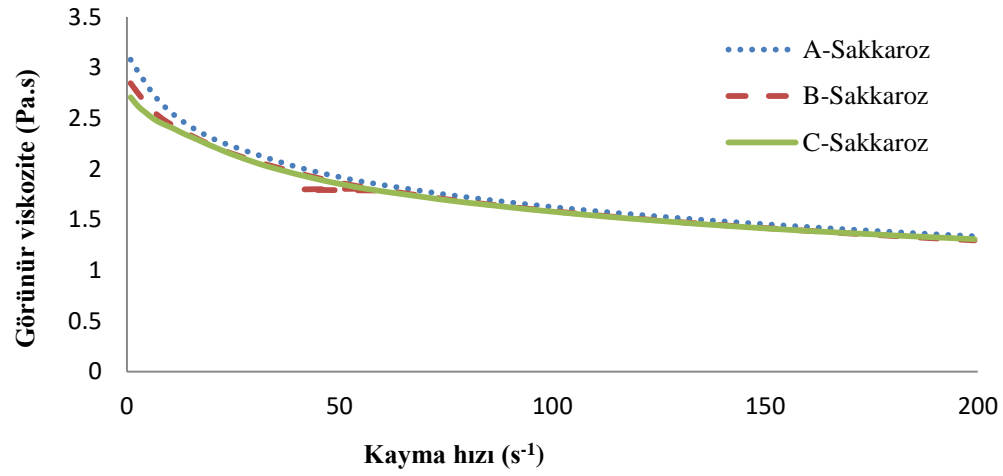
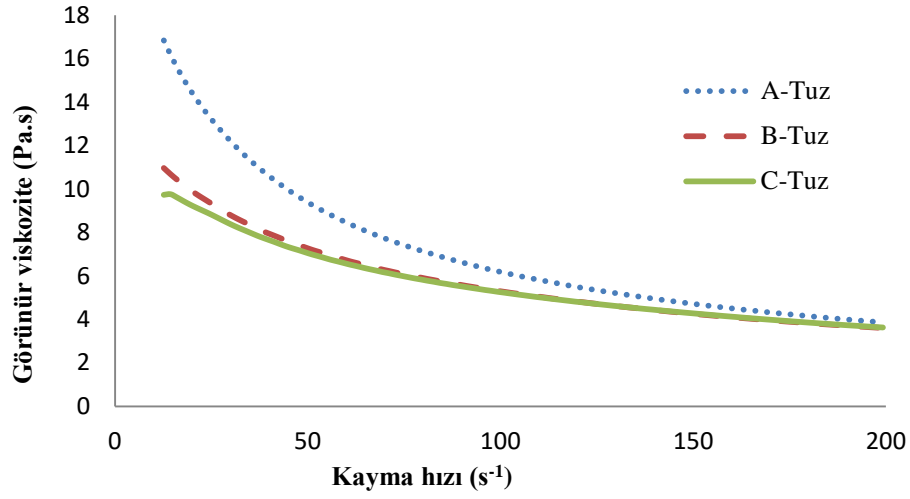
#### 4.8 İkili Emülsiyonların Reolojisi

Ağırlıkça farklı  $S_2:S_1/Y$  oranına sahip olan ikili emülsiyonların kayma gerilimleri ile uygulanan kayma hızı arasındaki ilişkileri Şekil 4.10'da verilmiştir. Tüm emülsiyonlarda kayma hızı arttıkça kayma geriliminin de arttığı gözlenmiştir. Şekil 4.11'de ise ikili emülsiyonlara uygulanan kayma hızı ile görünür viskozitelerindeki değişim verilmiştir. Tüm ikili emülsiyonların görünür viskozitesi, uygulanan kayma hızı arttıkça azalmaktadır. Bu durum, hazırlanan ikili emülsiyonların Newtonian olmayan akışkan özelliğinde olduğunu göstermektedir. Genelde emülsiyon, süspansiyon veya yüksek molekül ağırlıklı maddelerin çözeltisi gibi akışkanlar Newtonian olmayan davranış göstermektedir (Süren, 2010). Newtonian olmayan akışkanda uygulanan kayma gerilimi ile kayma hızının doğrusal olarak değişmez; bu durum akışkanın yapısında bulunan maddelerin sergilemiş olduğu karmaşık yapı ve deformasyon etkilerinden kaynaklanmaktadır (Kumar, 2012). Ayrıca Newtonian olmayan akışkanın viskozitesi kayma hızına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Çelebi, 2009). van der Horst et al. (2000),  $S/Y/S$  emülsiyonlarının reolojisinin dağılmış faz ( $S_1/Y$ ) ve iç su fazı oranına bağlı olduğunu, Keyvani et al. (2014)'de dağılmış faz

oranı düşük olan emülsiyonların Newtonian akışkan özellik gösterirken, yüksek olan emülsiyonların ise Newtonian olmayan akışkan özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca Şekil 4.10'da emülsiyonların dağılmış faz oranı arttıkça viskozitelerinin arttığı ve dağılmış faz oranı fazla olan emülsiyonların (A kodlu olanlar) viskozitelerinde gözlenen azalmanın daha fazla olduğu görülmektedir. Ariffin et al. (2016), yağ içinde su emülsiyonları için yapmış oldukları viskozite analizlerinde benzer şekilde su fazının hacmindeki artış ile emülsiyonların viskozitesinin arttığını, % 40 su fazına sahip olan emülsiyonun % 30 ve % 20 su fazı oranına sahip emülsiyonlara kıyasla daha yüksek viskoziteye sahip olduğunu saptamışlardır. Emülsiyon yapısındaki su miktarı arttıkça emülsiyonların hidrojen bağı sayısının arttığını ve bu durumun damlacıklar arasındaki etkileşime bağlı olarak hidrodinamik kuvvetlerin artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Hacimsel olarak su oranı arttıkça emülsiyonun sıvı filmlerin deformasyonuna bağlı olarak elastikiyet gösterdiği ve bu durumun viskozitede artışa neden olduğunu ifade etmişlerdir. Tüm ikili emülsiyonlarda "A" kodlu olan ikili emülsiyonların viskozitelerinin yüksek olması damlacık boyutu ile de ilişkili olabilir. Pal (1996), damlacık boyutundaki azalmanın viskozitede belirgin bir artışa neden olduğunu belirtmiştir. Bölüm 4.6' da belirtildiği üzere  $S_2$  fazı:  $S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40 olan tüm ikili emülsiyonlar en küçük damlacık boyutuna sahiptir ( $p < 0,05$ ), bu durum da bu emülsiyonların en yüksek viskoziteye ve en küçük damlacık boyutuna sahip olduğu söylenebilir. Keyvani et al. (2014) yaptıkları çalışmada sonuçlarımıza benzer şekilde dağılmış faz oranı fazla olan ikili emülsiyonların kayma hızındaki artışa bağlı olarak viskozitesinde gözlenen azalmanın daha fazla olduğunu saptamışlar; dış fazda bulunan suyun fazla olması durumunda komşu parçacıkların birbirlerinden daha uzak olduğunu ve bunun neticesinde viskozitenin daha çok azaldığını belirtmişlerdir.



Şekil 4.10 İkili emülsiyonların kayma gerilimi- kayma hızı profilleri. a) tuzluluk algısı, b) tatlılık algısı, c) demir enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonlar.



Şekil 4.11 İkili emülsiyonların görünür viskozite- kayma hızı profilleri. a) tuzluluk algısı, b) tatlılık algısı, c) demir enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonlar.

Deneysel kayma gerilimi - kayma hızı ölçümleri Üssel model (Power-Law), Herschley Bulkley, Bingham plastik ve Newtonian gibi farklı reolojik matematiksel modeller kullanılarak işlenmiştir (Kumar, 2012):

$$\tau = K * \gamma^n \quad (\text{Üssel model})$$

$$\tau = \tau_0 + K * \gamma^n \quad (\text{Herschley Bulkley modeli})$$

$$\tau = \tau_0 + \eta * \gamma \quad (\text{Bingham plastik modeli})$$

$$\tau = \eta * \gamma \quad (\text{Newtonian modeli})$$

$\tau$ : kayma gerilimi (Pa)

$\tau_0$ : kayma eşiği (Pa)

$\gamma$ : kayma hızı ( $s^{-1}$ )

K: akışkanlık indeksi ( $Pa \cdot s^n$ )

n : akış davranış indeksi (birimsiz)

$\eta$ : plastik viskozite ( $Pa \cdot s$ ).

Reoloji modellerinin değerlendirilmesinde kök ortalama kare hatası (RMSE) ve regresyon katsayısından ( $R^2$ ) yararlanılmıştır; en yüksek  $R^2$  ve en düşük RMSE değerine sahip olan model en uygun model olarak kabul edilmiştir. RMSE değerleri, aşağıda verilen eşitliğe göre ilgili kayma hızına denk gelen beklenen ve deneysel kayma gerilimi değerleri kullanılarak hesaplanmıştır:

$$RMSE = \frac{1}{N} \left[ \sum_{i=1}^N (\tau_{deneysel} - \tau_{beklenen})^2 \right]^{0.5}$$

$\tau_{deneysel}$ : deneysel kayma gerilimi (Pa)

$\tau_{beklenen}$ : beklenen kayma gerilimi (Pa)

N: veri sayısı.

İkili emülsiyonlar için kullanılan reolojik modellerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve regresyon katsayıları Çizelge 4.7' de verilmiştir. Herschley Bulkeley modelinde tüm emülsiyonlar için  $\tau_0$  değerleri negatif çıktığı için model uyumsuz bulunmuş ve çizelgede bu modele ait katsayılar verilmemiştir. Üssel model, diğer modellere kıyasla en yüksek  $R^2$  ve en düşük RMSE değerlerine sahip olması nedeniyle en uygun model olarak kabul edilmiştir. Yıldırım (2015) dış su fazında farklı materyaller kullanarak hazırladıkları ikili emülsiyonlar için, en uygun model olarak üssel modeli seçmişlerdir. Bu modelde yer alan  $n$  değeri, akışkanın davranışı hakkında bilgi veren birimsiz bir değerdir.  $n$  değeri 1'den küçük olan akışkanlar kayma ile incelen (pseudo-plastik) akışkan özelliğindedir (Kumar, 2012). Buna göre çalışmada hazırlanan tüm ikili emülsiyonlar,  $n$  değerlerinin 1'den küçük olması nedeni ile kayma ile incelen akışkan davranışı göstermektedir. Luo et. al. (2016) yaptıkları çalışmada dış su fazında lesitin kullanarak hazırladıkları ikili emülsiyonların kayma ile incelen akışkan özelliği gösterdiğini saptamışlardır. Akışkanlık katsayısı olan  $K$  değeri de akışkanların viskozitesi hakkında fikir vermektedir (Kumar, 2012). Bu değer tüm 'A' emülsiyonlarında B ve C emülsiyonlarına kıyasla daha yüksektir; bu durum ikili emülsiyonların viskozitesinin dağılmış faz oranındaki artış ile arttığını doğrulamaktadır.



Çizelge 4.7 Farklı faz oranına sahip ikili emülsiyonların reolojik özellikleri.

Örnek kodu	Üssel Model				Bingham Plastik				Newtonian		
	K	n	R <sup>2</sup>	RMSE	μ	τ <sub>0</sub>	R <sup>2</sup>	RMSE	μ	R <sup>2</sup>	RMSE
<b>A-Tuz</b>	90,570±0,338	0,412±0,004	0,984±0,001	22,970±0,583	2,897±0,061	275,910±1,313	0,873±0,001	63,959±1,083	4,965±0,071	0,281±0,019	151,846±1,044
<b>B- Tuz</b>	45,128±0,134	0,529±0,003	0,993±0,003	15,803±0,186	3,074±0,070	177,333±1,670	0,931±0,002	48,067±0,344	4,403±0,082	0,700±0,008	100,732± 0,895
<b>C- Tuz</b>	39.154±0,713	0.558±0,008	0.992±0,000	17,278±0,127	3,187±0,072	161,680±2,616	0,937±0,006	46,694±0,381	4,426±0,092	0,757±0,015	93,797± 0,233
<b>A-Sakkaroz</b>	5,273±0,332	0,743±0,008	1,000±0,000	1,533±0,076	1,262±0,031	28.270±1,718	0,988±0,001	8,112±0,426	1,473±0,042	0,951±0,004	16,290±0,934
<b>B-Sakkaroz</b>	5,458±0,516	0,732±0,010	0,999±0,000	1,983±0,130	1,229±0,010	28.922±1,322	0,985±0,002	8,600±0,370	1,445±0,013	0,945±0,005	16,804±0,757
<b>C-Sakkaroz</b>	4,956±0,977	0,752±0,033	1,000±0,000	0,501±0,122	1,235±0,014	26.472±5,010	0,989±0,004	8,108±0,668	1,519±0,070	0,938±0,007	17,265±1,828
<b>A-Demir</b>	1,359±0,019	0,870±0,007	1,000±0,000	0,197±0,055	0,664±0,018	6,588±0,224	0,998±0,000	1,785±0,096	0,714±0,016	0,991±0,001	3,742±0,145
<b>B-Demir</b>	0,863±0,023	0,877±0,006	1,000±0,000	0,103±0,006	0,436±0,003	4,122±0,159	0,998±0,000	1,085±0,106	0,467±0,001	0,992±0,001	2,327±0,120
<b>C-Demir</b>	0,904±0,052	0,856±0,010	1,000±0,000	0,503±0,022	0,411±0,000	4,240±0,370	0,996±0,001	1,599±0,117	0,443±0,004	0,988±0,002	2,653±0,218

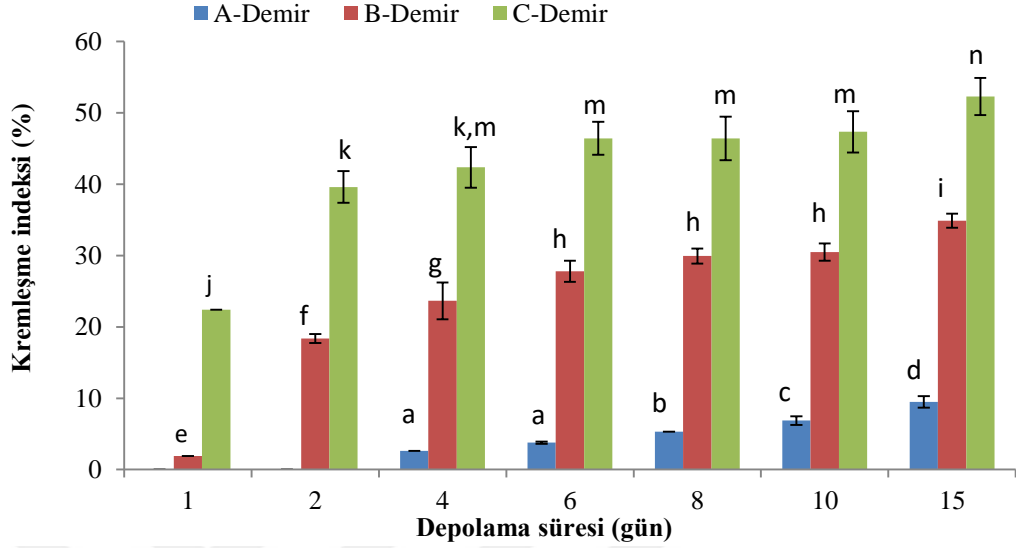
Değerler ± standart sapma olarak verilmiştir.

#### 4.9 İkili Emülsiyonların Kremleşme Stabilitesi

Kremleşme, bir emülsiyonun dağılmış ve sürekli fazının yoğunluklarının eşit olmaması durumunda, dağılmış fazın yer çekimi etkisi ile yukarı doğru hareket etmesidir. Kremleşme hızı, emülsiyon damlacık boyutunun azaltılması, iki fazın yoğunluğunun eşitlenmesi ve sürekli fazın viskozitesinin artırılması ile yavaşlatılabilmektedir (Su, 2008; Killian, 2011). Kremleşme indeksi, emülsiyonun yapısında gerçekleşen damlacık agregasyonu hakkında dolaylı olarak bilgi verir ve indeksi küçük olan bir emülsiyon, yüksek olana emülsiyona kıyasla daha stabildir (Liu et al., 2012).

Çalışma kapsamında demir enkapsülasyonu amacı ile hazırlanan ikili emülsiyonların 25°C’de 15 gün depolanması süresince ölçülen kremleşme indeksleri Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Tüm emülsiyonlarda kremleşme indeksinin depolama süresine bağlı olarak arttığı görülmektedir. S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranı 60:40 olan A-Demir emülsiyonunda 25°C’de 1 ve 2 gün depolama sonrası kremleşme gözlenmemiştir. Dört ve altı gün depolama sonrası kremleşme indeksleri sırasıyla % 2.63 ± 0.16 ve % 3.77 ± 0.003 bulunmuş olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p > 0,05). S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranı 70:30 olan B-Demir emülsiyonunda 25°C’ de 6, 8 ve 10 gün depolama sonrası kremleşme indeksleri sırasıyla % 27,78 ± 1,05, % 29,94 ± 1,22 ve % 30.49 ± 0,99 bulunmuş olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p > 0,05). S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranı 80:20 olan C-Demir emülsiyonunda ise 25°C’de 2 ve 4 gün depolama sonrası kremleşme indeksleri ile 4, 6, 8 ve 10 gün depolama sonrası kremleşme indeksleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamıştır (p > 0,05). Depolama süresi aynı olan farklı S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranına sahip ikili emülsiyonlar kremleşme indeksi açısından karşılaştırıldığında S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranı 60:40 olan emülsiyonun kremleşme indeksi en düşük (kremleşme stabilitesi en yüksek), S<sub>2</sub> fazı: S<sub>1</sub>/Y oranı 80:20 olan emülsiyonun ise kremleşme indeksi en yüksek bulunmuştur (p < 0,05). İkili emülsiyonun yapısında bulunan S<sub>1</sub>/Y emülsiyonun oranının artması ile kremleşme stabilitesinin de arttığı görülmektedir. Mun et al. (2014) de S/Y emülsiyon hacminin S/Y/S emülsiyonun enkapsülasyon verimliliğini ve stabilitesini etkilediğini belirtmişlerdir. S/Y hacmi daha fazla olan (% 40 ve 50 gibi) S/Y/S emülsiyonlarda, S/Y hacmi % 20 ve 30

olan ikili emülsiyonlara kıyasla kremleşmenin daha az, enkapsülasyon verimliliğinin ise daha yüksek olduğunu saptamışlardır.



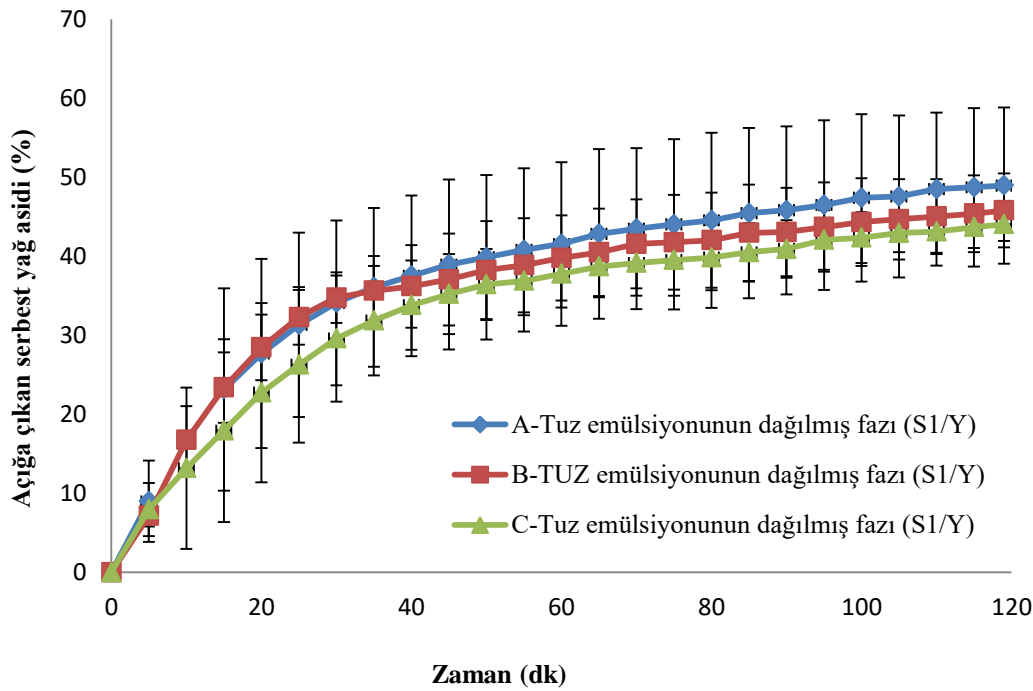
Şekil 4.12 Enkapsüle demir içeren ikili emülsiyonların kremleşme indeksi. Barlar üzerindeki farklı harfler aynı  $S_2:S_1/Y$  oranına sahip depolama süreleri farklı örnekler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir.

#### 4.10 *In vitro* Lipit Hidrolizi

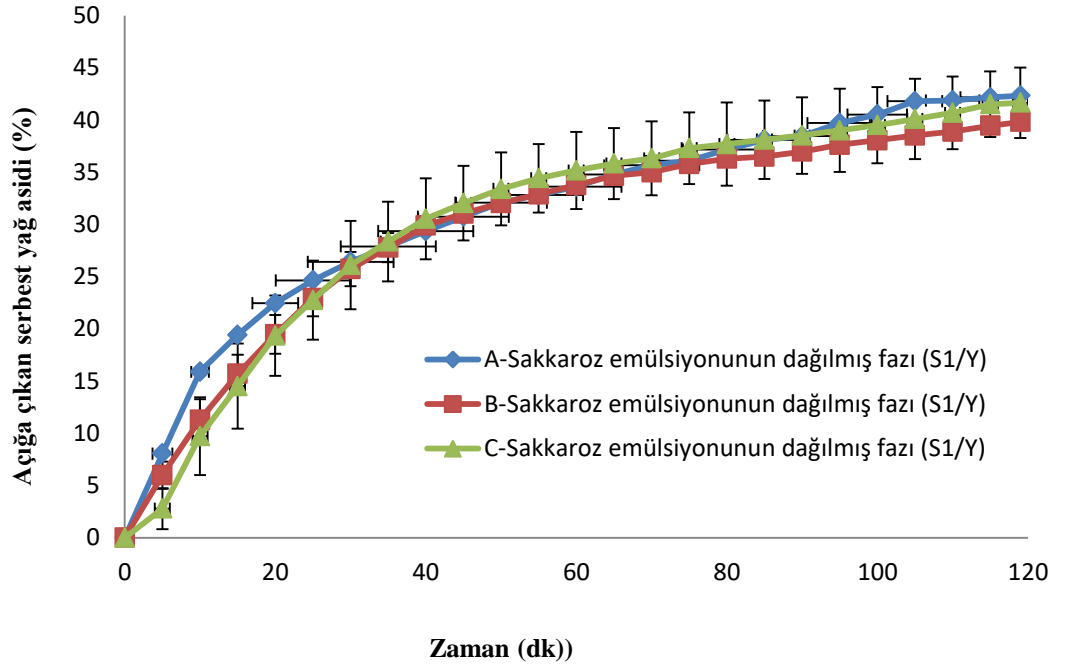
Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonlarda ve bu ikili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan tekli  $S_1/Y$  emülsiyonlarda, emülsiyon bileşimindeki farklılıkların lipid hidroliz ve kinetiği üzerine etkisi incelenmiştir. Şekil 4.13 ve 4.14 *in vitro* sindirim sırasında tuzluluk algısını arttırmak ve şeker algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların hazırlanmasından kullanılan  $S_1/Y$  emülsiyonlarına ait *in vitro* sindirim sırasındaki lipid hidroliz profilleri verilmiştir. Bu profiller, *in vitro* sindirim sırasında serbest hale geçen yağ asitlerinin hızı ve büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir.

Şekil 4.13 ve 4.14'da görüldüğü üzere tekli emülsiyonlar için elde edilen eğrilerin şekilleri benzerdir; her iki emülsiyon çeşidinde de ilk 35-40 dakikada hidroliz hızı artmakta ve sonrasında yavaşlamaktadır, fakat pseudo-düzlüğe ulaşmamaktadır. Mat et al. (2016), sindirim sırasında açığa çıkan lipoliz ürünlerinin reaksiyonu inhibe etmesinin veya belirli ölçüde gerçekleşerek lipaz için mevcut olan arayüzey alanının azalmasına neden olan koalesansın, lipid hidrolizinin yavaşlama nedenleri olabileceğini belirtmişlerdir. A-Tuz, B-Tuz ve

C-Tuz emülsiyonlarının sürekli fazlarının iki saatlik bağırsak sindirimi sonrası lipid hidroliz dereceleri sırasıyla % 48.9±9.9, 45.8±4.7 ve 44.1±2.1' dir. İkili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan S<sub>1</sub>/Y tekli emülsiyonların içerik açısından farklılıkları yapılarında bulunan MgCl<sub>2</sub> miktarlarıdır ve miktar açısından A-Tuz > B-Tuz > C-Tuz şeklinde sıralanabilirler. Emülsiyondan açığa çıkan serbest yağ asitlerinin hızları ve büyüklüğü arasında önemli bir farklılık (p>0.05) bulunmamakla beraber magnezyum içeriğindeki artışla lipid hidrolizde de artış gözlenmiştir. En yüksek MgCl<sub>2</sub> içeriğine (5,43 g / 100 g S<sub>1</sub>) sahip olan A-Tuz emülsiyonunun tekli emülsiyonu, en yüksek lipid hidrolizi derecesine sahiptir. Magnezyum içeriği arttıkça lipid hidroliz derecesinin arttığı gözlenmiştir. Sonuçlarımız, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> metal iyonlarının varlığında lipaz aktivitesinde artış olduğunu savunan Bisht et al. (2013) ile uyumludur. A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz emülsiyonlarının sürekli fazlarının lipid hidroliz dereceleri de sırasıyla % 42.34±4,18, 38,83±0,08 ve 41,67±3,37' dir. Tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan tekli emülsiyonların lipid hidroliz derecelerinin tuzluluk algısını arttırmak üzere hazırlanan tekli emülsiyonlara kıyasla daha düşük olmasının nedeni yapılarında daha az miktarda MgCl<sub>2</sub> bulunmasından kaynaklanabilir (Çizelge 4.5).



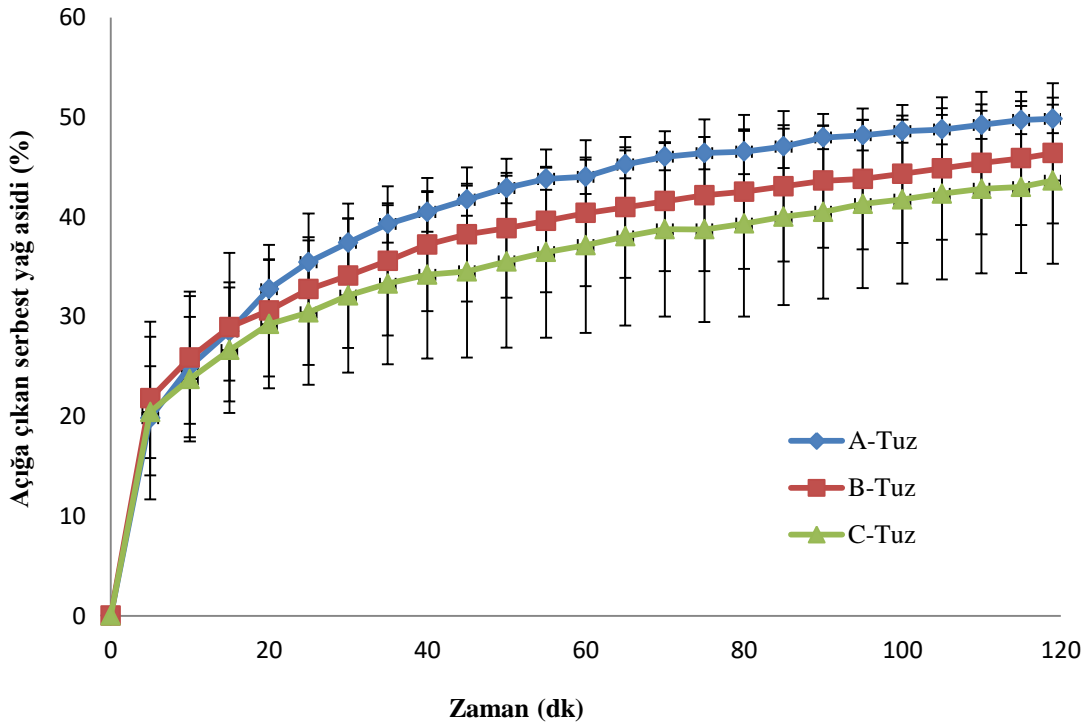
Şekil 4.13 A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan tekli emülsiyonların (S<sub>1</sub>/Y) lipid hidroliz profilleri.



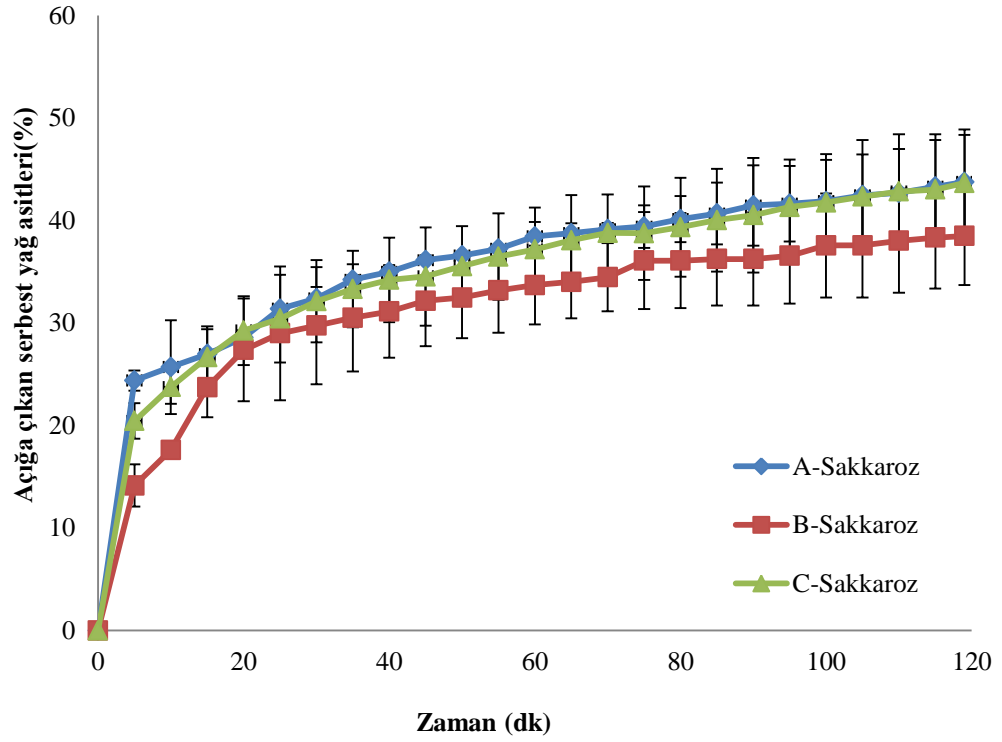
Şekil 4.14. A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonların dağılmış fazını oluşturan tekli (S<sub>1</sub>/Y) lipid hidroliz profilleri.

Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonların lipid sindirim hızı ve derecesi, S<sub>1</sub>/Y: S<sub>2</sub> oranından bağımsız olarak birbirlerine benzer lipid hidroliz kinetiğine ve büyüklüğüne sahiptir (Şekil 4. 15 ve 4.16). A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonlarının iki saatlik bağırsak sindirimi sonrası lipid hidroliz dereceleri sırası ile % 49.8±1.4, 46.4±7.0 ve 43.6±8.3 olarak saptanmıştır. A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonlarının ise lipid hidroliz dereceleri de sırasıyla, % 43,75±4,59, 38,48 ±4,77 ve 40,85±5,22 olarak bulunmuştur. İkili emülsiyonlar için elde edilen bu değerler, dağılmış fazlarını oluşturan S<sub>1</sub>/Y tekli emülsiyonlarının hidroliz dereceleri ile kıyaslandığında her bir ikili emülsiyonunun yapısında bulunan dağılmış fazın lipid hidroliz derecesi ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. İkili emülsiyonların protein-polisakkarit kompleksleri, konjugatlar veya protein bazlı emülgatörler kullanılarak koruyucu bir dış yağ-su arayüzü ile hazırlanması sindirim esnasında lipid salınımının gecikmesini sağlamaktadır (Muschiolik, and Dickinson, 2017). Fakat bu koruyucu tabakanın safra tuzlarının varlığında lipid sindirimi üzerinde sınırlı bir etkisi bulunmaktadır (Li, 2012). Bu çalışmada sodyum kazeinat ikili emülsiyonunun koruyucu tabakası gibi davranmaktadır. İzoelektrik pH'ı 4,6 olan

sodyum kazeinat bağırsak pH'ında (pH 7) anyonik özellik göstermektedir (İlyasoğlu ve El, 2011). Mun et al (2015), bağırsak sindirimi sırasında ikili emülsiyonların negatif yükünde artış olduğunu, bu olayında safra ekstraktının anyonik kısımlarının emülsiyon damlacıklarının yüzeyine adsorbe olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Safra tuzları, koruyucu protein tabakasını veya onların proteoliz ürünlerini emülsiyon damlacıklarının yüzeyinden uzaklaştırmaktadır. Böylelikle pankreatik lipazın, emülsiyon damlacıklarının yüzeyine ulaşması kolaylaşmaktadır. Bu durumun tekli ve ikili emülsiyonların lipid hidroliz derecelerinin birbirlerine benzer olmasına neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.15 A-Tuz, B-Tuz ve C-Tuz ikili emülsiyonlarının lipid hidroliz profilleri.



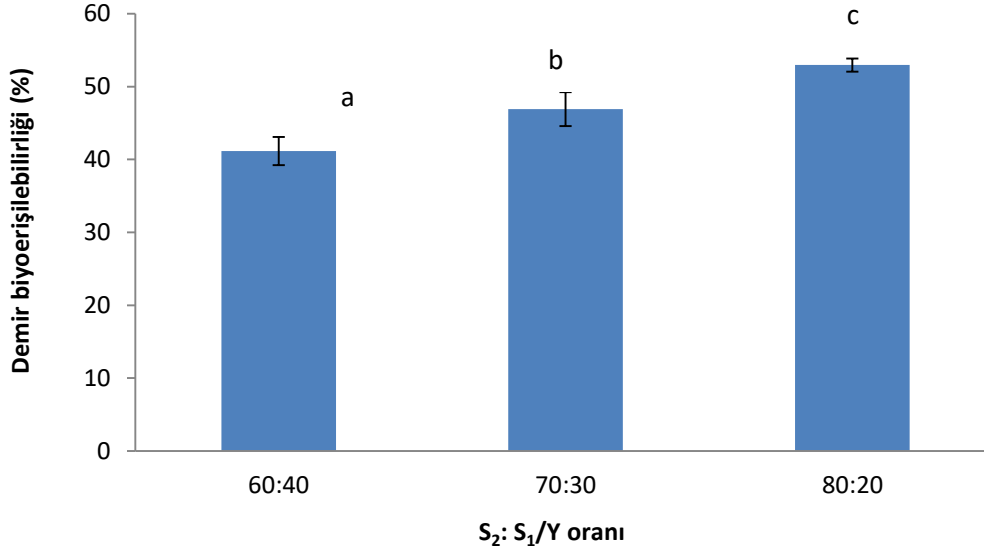
Şekil 4.16 A-Sakkaroz, B-Sakkaroz ve C-Sakkaroz ikili emülsiyonlarının lipid hidroliz profilleri.

#### 4.11 Demir Biyoerişilebilirliği

Biyoerişilebilirlik, gıda matriksinden açığa çıkararak mide-ince bağırsak sisteme salınan ve emilim için hazır olan gıda bileşeninin başlangıçtaki miktarına oranıdır (Carbonell-Capella et al., 2014).

A-Demir, B-Demir ve C-Demir ikili emülsiyonlarının yüzde biyoerişilebilirlikleri sırasıyla  $41,17 \pm 1,94$ ,  $46,93 \pm 2,33$  ve  $52,97 \pm 0,89$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.17). Dış su fazının oranı arttıkça demir biyoerişilebilirliğinde artış olduğu, S<sub>2</sub>: S<sub>1</sub>/Y oranı ağırlıkça 80:20 olan ikili emülsiyonun en yüksek demir biyoerişilebilirliğine sahip olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Romita et al. (2011), tuzu hem iyot hem de demir bakımından zenginleştirdikleri çalışmalarında ferröz fumaratı püskürterek kurutma yöntemi ile mikrokapsüle etmişlerdir. Hazırlanan mikrokapsüllerin biyoerişilebilirliği simüle mide ortamında (pH 1) ölçülmüş olup ilk 30 dakika içerisinde % 75, 120 dakikada ise % 78'den fazla demirin salındığı saptanmıştır.



Şekil 4.17 Farklı S<sub>2</sub>: S<sub>1</sub>/Y oranına sahip ikili emülsiyonların demir biyoerişilebilirliği. Barlar üzerindeki farklı harfler değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0,05).

Katuwavila et al. (2016) yaptıkları çalışmada demir içeren aljinat nanopartiküllerinin farklı pH koşullarında (pH 7.4, 6 ve 2) *in vitro* demir salınımını 96 saat boyunca incelemişlerdir. pH 7.4. ve 6'da 7-8 saat süresince inkübasyon sonrası toplam enkapsüle edilmiş demirin % 25-30 kadarının salındığını ve bu salınımın büyüklüğünün aljinatın hidrofilik yapıda olmasından kaynakladığını belirtmişlerdir. Sonraki 78 saat süresince salınımın daha kademeli bir şekilde devam ettiğini, 96 saatlik işlem sonunda pH 7.4'de demirin % 65' inin, pH 6'da ise demirin % 70' inin salındığını saptamışlardır.

Churio and Valenzuela (2018), hem ve hem olmayan demir- maltodekstrin mikropartikülleri hazırladıkları ve karakterize ettikleri çalışmada demir salınımını simüle gastrointestinal koşullarda incelemişlerdir. Mide koşullarında inkübasyon sonrası ferröz sülfat mikropartiküllerinden başlangıç miktarına oranla % 31,8 ile 37,4 arasında demirin salındığı; mide sonrası bağırsak koşullarında da gerçekleştirilen inkübasyon sonrası demirin tamamının salındığını belirtmişlerdir.

Singh et al. (2018), gıdaları zenginleştirmede kullanmak üzere püskürtmek kurutma yöntemi ile hazırladıkları enkapsüle demir içeren mikroenkapsüllerin pH'a (pH 1, 4 ve 7) bağımlı salınım kinetiklerini incelemiştir. pH 1'de 2 saat inkübasyon sonrası kitosan kaplı mikrokapsüllerden demirin tamamına yakının, pH 4'de kullanılan kitosan miktarına bağlı olarak demirin % 67 ile % 94' ünün, pH 7'de ise % 10 ile % 18'sinin salındığını saptamışlardır.



Görüldüğü üzere mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntem, kaplama materyaline ve sindirim modelinin pH'ına bağlı olarak demir salınımının geniş bir aralıkta olduğu söylenebilir.

#### 4.12 İkili Emülsiyonun Tuzluluk ve Tatlılık Açısından Duyusal Değerlendirilmesi

İkili emülsiyonların tuzluluk açısından değerlendirilmesi amacıyla uygulanan yönsel üçgen testi 11 katılımcı ile 2 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir ve toplam yanıt sayısı 22 olarak elde edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.8' de verilmiştir. Panelistlerin 17'si farklı olan örneği belirlemiştir. Altuğ ve Elmacı (2005)'de yer alan 'Üçgen testinde farklılıkları belirlemek için gereken yanıt sayıları' tablosunda göre % 95 olasılıkla "farklılık vardır" sonucuna ulaşılabilmesi için en az 12 kez farklı örneğin belirlenmesi gerektiğinden istatistiksel olarak örnekler arasında önemli bir farklılık olduğu saptanmıştır. Ayrıca katılımcıların % 68'si ikili emülsiyonu, tekli emülsiyona kıyasla daha tuzlu bulmuştur.

Çizelge 4.8 Tuzluluk algısına ait duyusal analiz sonuçları.

	Farklı örneği bulabilen katılımcı sayısı	İkili emülsiyonu daha tuzlu bulan katılımcı sayısı
1.Tekrar	9	9
2.Tekrar	8	6
Toplam	17	15

Lad et al. (2012), aynı miktarda (0,63 g/100 g) tuz içeren ikili ve tekli emülsiyonları tuzluluk açısından kıyaslamak amacıyla eşlenmiş kıyaslama testini kullanmışlardır. Kırkbir katılımcı ile gerçekleştirdikleri duyusal analizde katılımcılardan 27'si ikili emülsiyonu daha tuzlu bulduğunu bildirmiştir.

Paula et al (2017), yaptıkları çalışmada yağ miktarı ve sodyum miktarını sabit tuttukları farklı hacimlerde iç su fazı içeren S/Y/S emülsiyonlarını tuzluluk algısı açısından incelemişlerdir. İç su fazı konsantrasyonu yüksek olan emülsiyonun daha tuzlu bulunduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.9 Tatlılık algısına ait duyusal analiz sonuçları.

	Farklı örneği bulabilen katılımcı sayısı	İkili emülsiyonu daha tatlı bulan katılımcı sayısı
1.Tekrar	9	8
2.Tekrar	8	7
Toplam	17	15

İkili emülsiyonların tatlılık açısından değerlendirilmesi amacıyla uygulanan yönelmiş üçgen testi 10 katılımcı ile 2 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir ve toplam yanıt sayısı 20 olarak elde edilmiştir. Tablo 4.9'de görüldüğü üzere yanıtlardan 17'sinde farklı olan örnek doğru şekilde bulunmuştur. Bu durum, aynı miktarda sakkaroz içeriğine sahip olan tekli ve ikili emülsiyonlar arasında tatlılık açısından istatistiksel olarak bir farklılık olduğunu göstermektedir. Katılımcıların % 75'i ikili emülsiyonu, tekli emülsiyona kıyasla daha tatlı bulmuştur.

Su içinde yağ emülsiyonlarında, hem yağ fazının hacmindeki hem de emülsiyonun yapısında bulunan tuz veya şekerin konsantrasyonundaki değişimlere bağlı olarak tuzluluk veya tatlılık algısı da değişmektedir. Emülsiyonun yapısında yer alan tuz veya sakkaroz miktarını sabit tutarak sisteme yağ ilave edilmesi tat algısında artışa neden olmaktadır. Bu durum, su fazında yer alan tat bileşeninin konsantrasyonundaki artışa bağlanabilir. Emülsiyon bazlı çalışmalar, yağ damlacıklarının su yerine kullanılan hacim tamamlayıcı dolgu maddeleri olduğunu savunmaktadır. Emülsiyonun su miktarının az olması durumunda, su fazında aynı tuz veya şeker konsantrasyonunu korumak için daha az tat bileşeni kullanılabilir. Algılanan tat yoğunluğunun, tat bileşenlerinin konsantrasyonlarındaki artış ile arttığının bilinmesi emülsiyon yapısındaki su fazının yağ damlacıkları ile ikame edilmesi gibi, tat konsantrasyonunu artırma yöntemlerini cazip hale gelmiştir (Goh et al., 2010; Kuo and Lee, 2014). Su içinde yağ tekli emülsiyonunda tat bileşeni dış su fazında çözünürken, su içinde yağ-yağ içinde su ikili emülsiyonunda ise tuz hem iç su fazında hem de dış su fazında çözündürülebilir. İkili emülsiyonun dış su fazında bulunan tuz tat reseptörleri tarafından algılanırken, iç su fazında yer alan tuz ise algılanamamaktadır.

Emülsiyonun içerdiği tüm tuzun dış su fazında çözündürülmesi ile maksimum tuzluluk algısı sağlanmaktadır. Dolayısıyla, iç ve dış su fazında çözünen tuz miktarına bağlı olarak farklı tuzluluk algılarına sahip ikili emülsiyonlar elde edilebilir. Aynı tuz içeriğine sahip Y/S emülsiyonu ile S/Y/S emülsiyonu (sadece dış su fazında tuz içeren) karşılaştırıldığında ikili emülsiyonun dış su fazındaki tuz konsantrasyonu daha yüksek olacaktır; bu durumda tuzun daha yoğun algılanmasını sağlayacaktır (Kilcast and Angus, 2007; Jiménez-Colmenero, 2013).

Duyusal değerlendirme sonucu elde ettiğimiz sonuçlar, tuzluluk veya tatlılık algısında etkili olan faktörün emülsiyonun yapısında bulunan toplam tuz veya sakkaroz miktarı olmadığını, emülsiyonun sürekli fazındaki tuz veya sakkaroz konsantrasyonu olduğu hipotezini doğrulamaktadır.

## 5. SONUÇ

Çoklu emülsiyonlar, tekli emülsiyonlara kıyasla stabilitelerini daha kısa süre koruyabilen sistemler olmalarına karşın sağlıklı ve fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesine olanak sağlayan sistemlerdir. Gıdaların yağ içeriğinin azaltılması, yağ profilinin iyileştirilmesi, biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonu ve tat algısının artırılması gibi potansiyel gıda uygulama alanları bulunmaktadır. Tat algısının artırılmasında temel prensip emülsiyonun tamamında bulunan tat bileşiminden ziyade emülsiyonun sürekli fazında yer alan tat bileşiminin konsantrasyonunun tat algısı üzerine etkisi olmasıdır. Çoklu emülsiyonların bir diğer kullanım alanı olan enkapsülasyonun sağladığı en önemli avantajlardan biri de demir gibi gıdada istenmeyen tat ve kokuya neden olan, yağın oksidasyona stabilitesini azaltan bir bileşimin gıda formülasyonlarında kullanılmasına olanak sağlamasıdır. Bu çalışmada da çoklu emülsiyonların bu özelliklerinden yararlanılarak sağlıklı ve fonksiyonel gıda üretiminde kullanılmak üzere tuzluluk ve tat algısını arttırmak, demir bileşimini enkapsüle etmek amacıyla üç ayrı çoklu emülsiyon sistemleri elde edilmiş ve potansiyel gıda uygulamaları ile duyuşal açıdan değerlendirilmiştir.

Çalışmada öncelikle ikili emülsiyonların hazırlanmasında kullanılacak olan tekli emülsiyonların stabilitesi üzerine çalışılmıştır, elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir:

- Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak amacıyla hazırlanan tekli emülsiyonların stabilitesi üzerine yapılan analizler ile lipofilik emülgatör olarak kullanılan PGPR'in ortamda ağırlıkça yağın % 4'ü kadar bulunmasına, yağ:su fazı oranının 60:40 olmasına ve su fazında  $MgCl_2$  kullanılmasına karar verilmiştir.  $MgCl_2$ ,  $S_1$  fazının osmotik basıncının çalışma sonunda elde edilecek olan ikili emülsiyonun  $S_2$  fazının osmotik basıncına yakın olması için kullanılmıştır.
- Enkapsüle demir içeren tekli emülsiyonun oksidasyon stabilitesini belirlemek üzere hızlandırılmış oksidasyon sonrası uygulanan peroksit ve p-anisidin analizi sonuçları ortama ilave edilen peyniraltı suyu proteininin demirden kaynaklı oksidasyonu önemli ölçüde engellediği

saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Protein içermeyen, sadece demir içeren emülsiyonda peroksit ve p-anisidin sonuçları sırasıyla  $30,11 \pm 3,48$  ve  $19,37 \pm 1,2$  bulunmuştur, demirin protein ile beraber bulunduğu emülsiyonlarda ise peroksit ve p-anisidin sonuçları sırasıyla  $8,40 \pm 0,57$  ve  $2,20 \pm 0,32$  bulunmuştur.

Çalışmanın ikinci aşamasında stabilitesi sağlanan tekli emülsiyonlar kullanılarak ikili aşamalı emülsifikasyon yöntemi ile ikili emülsiyonlar hazırlanmıştır. Tuzluluk ve tatlılık algısını arttırmak üzere hazırlanan ikili emülsiyonlar  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40, 65:35 ve 70:30 olacak şekilde hazırlanmıştır. Demirin enkapsülasyonu için hazırlanan ikili emülsiyonlarda  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40, 70:30 ve 80:20 olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu emülsiyonlara ait sonuçları aşağıda verilmiştir:

- Tüm emülsiyonlarda sürekli fazın ( $S_2$  fazı) miktarı azaldıkça damlacık boyutunda da istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır. Buna göre  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40 olan emülsiyonlar en düşük damlacık boyutuna sahiptir. Tuzluluk, tatlılık ve demir ile ilgili hazırlanan ikili emülsiyonların 60:40 oranında  $D_{43}(\mu m)$  değerleri sırası ile  $4,953 \pm 0,055$  -  $8,587 \pm 0,361$  ve  $4,443 \pm 0,284$  olarak belirlenmiştir.
- Tat algısını arttırmak üzere hazırlanan emülsiyonlarda farklı faz oranlarından kaynaklı farklı emülsiyon içeriklerinin *in vitro* lipid hidroliz hızına ve kinetiğine etkisi olup olmadığını belirlemek üzere uygulanan pH-stat yöntemi ile birleştirilmiş *in vitro* sindirim sonrası lipid hidroliz eğrisinde ve büyüklüğünde bir farklılık saptanmamıştır.
- Emülsiyonların mikroyapıları birbirine benzer şekilde en dışta sürekli faz olarak su, onun içerisinde ise içinde su damlacıkları bulunan yağ damlacıkları gözlenmiştir. Yapılan faz dönüşüm testiyle de tüm ikili emülsiyonların dış fazlarının suyun oluşturduğu doğrulanmıştır.
- Demir enkapsülasyonu amacıyla hazırlanan ikili emülsiyonların enkapsülasyon verimliliğinin  $S_2:S_1/Y$  emülsiyonu oranı 60:40 olan emülsiyonda en yüksek olduğunu,  $S_2$  oranı arttıkça azaldığı saptanmıştır. Demir biyoerişebilirliğinin ise  $S_2$  oranı arttıkça arttığı,  $S_2:S_1/Y$

emülsiyonu oranı 80:20 olan ikili emülsiyonun % 52,970±0.891 biyoerişebilirliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

- Duyusal olarak değerlendirilen tuzluluk ve tatlılık algısını artırmak üzere hazırlanmış ikili emülsiyonlar, aynı miktarda tuz ve şeker içeren tekli emülsiyonlardan (su içinde yağ)  $p<0,05$  düzeyinde farklı bulunmuştur; sırasıyla katılımcıların % 68'i ve % 75'i çoklu emülsiyonu tekli emülsiyona kıyasla daha tuzlu/tatlı bulmuşlardır. Bu durum, gıdaların tat algısında herhangi bir değişime neden olmadan tuz veya şeker içeriklerinin azaltılmasına olanak sağlamaktadır.

Günümüzde çoklu emülsiyonların gıda sanayinde kullanımına yönelik yapılmış olan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Mevcut çalışmalar da çoğunlukla gıdaların yağ içeriğinin azaltılmasına yönelik çalışmalardır. Yapılan literatür taramasında tuzluluk algısının arttırılmasına yönelik literatürde bir çalışmaya rastlanılmış, tatlılık algısının arttırılmasına yönelik ise herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Beslenme Rehberlerinin tüketimlerinin azaltılması yönünde önerilerde bulunduğu tuz ve sakkaroz gibi iki bileşenin tat algısının arttırılması ile herhangi bir duyuşal farklılığa neden olmadan gıdadaki miktarlarının azaltılmasına olanak sağlayan bu çalışma hem bilim açısından hem de gıda endüstrisi açısından önem taşımaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar çoğunlukla çoklu emülsiyonların oluşturulması ve karakterizasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmanın çoklu emülsiyonların gıda uygulamalarındaki kullanılabilirliğini incelemesi açısından da literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbaspour, N., Hurrell, R. and Kelishadi, R.,** 2014, Review on iron and its importance for human health, *Journal of Research in Medical Sciences*, 9(2): 164–174 pp.
- Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S. ve Tırnaksız, F.,** 2009, Modern Farmasotik Teknoloji, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Ankara, 452s.
- Altuğ, T. ve Elmacı, Y.,** 2005, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Meta Basım, İzmir, 150s.
- Agrawal, A., Kulkarni, S. and Sharma, S.B.,** 2015. Recent advancements and applications of multiple emulsions, *International Journal of Advances in Pharmaceutics*, 4(6):94-103pp.
- Allen, L., Benoist, B. de, Dary, O. and Hurrell, R.,** 2006, Guidelines on Food Fortification with Micronutrients. *WHO, FAO, UN*, 341.
- Alvarez, R.U.,** 2017, Encapsulation and Release of Amino Acids in Double (W/O/W) Emulsion, MSc Thesis, Gent University, 51p.
- Anderson, J. and Fitzgerald, C.,** 2010, Iron: An Essential Nutrient, *Food and Nutrition Series Health*, (9):1–3pp.
- Anonymus,** 2011, Multiple Emulsions for New Functionalities: An emerging ingredient technology offers promise for improved texture, tastes and nutritional profiles, *Prepared Foods*, 180 (6): 99-106pp.
- Ariffin, T.S.T., Yahyaa, E. and Husin, H.,** 2016, The Rheology of Light Crude Oil and Water-in-Oil-Emulsion, *Procedia Engineering*, 148: 1149 – 1155pp.
- Beck, K.L., Conlon, C. A., Kruger, R. and Coad, J.,** 2014, Dietary determinants of and possible solutions to iron deficiency for young women living in industrialized countries: A review. *Nutrients*, 6(9):3747–3776pp.
- Berendsen, R.,** 2014, Encapsulation of procyanidins in double emulsions stabilized by protein–polysaccharide complexes, Doctoral Thesis, Universitat Rovira i Virgili, 174p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bisht, D., Yadav, S. K. and Darmwal, N.S,** 2013, An oxidant and organic solvent tolerant alkaline lipase by *P. aeruginosa* mutant: Downstream processing and biochemical characterization, *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4): 1305–1314pp.
- Busch, J.L.H.C., Yong, F.Y.S. and Goh, S.M.,** 2013, Sodium reduction: Optimizing product composition and structure towards increasing saltiness perception. *Trends in Food Science & Technology*, 29:21-34pp.
- Caetano-Silva, M.E., Barros Mariutti, L.R., Bragagnolo, N., Bertoldo-Pacheco, M.T. and Netto, F.M.,** 2018, Whey peptide–iron complexes increase the oxidative stability of oil-in-water emulsions in comparison to iron salts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (8):1981-1989pp.
- Candau, F. and Ottewill, R.H.,** 1990, An Introduction to Polymer Colloids, Springer, Netherlands, 228p.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M. Barba, F. J., Esteve, M. J. and Frigola, A.,** 2014, Analytical Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13: 155-171pp.
- Carrillo-Navas, H., Cruz-Olivares, J.,Varela-Guerrero, V., Alamilla-Beltrán, L., Eduardo Vernon-Carter, E.J. and Pérez-Alonso, C.,** 2012, Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer–protein blends, *Carbohydrate Polymers*, 87(2): 1231-1235pp.
- Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U. and Chakraborty, R.,** 2014, Artificial sweeteners – a review, *Journal of Food Science and Technology*, 51(4):611–621pp.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Chiu, N., Hewson, L., Yang, N., Linforth, R. and Fisk, I.** 2015, Controlling salt and aroma perception through the inclusion of air fillers, *LWT - Food Science and Technology*, 63(1): 65–70pp.
- Choi, S.J., Decker, E.A. and McClements, D. J.,** 2009, Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. *Food Chemistry*, 116(1):271–276pp.
- Christensen, C.C.,** 2011, Emulsifiers used in food applications, focusing on the meat processing industry, *Palgaard Technical Paper*, 5.
- Churio, O. and Valenzuela, C.,** 2018, Development and characterization of maltodextrin microparticles to encapsulate heme and non-heme iron, *LWT - Food Science and Technology*, 96:568-575pp.
- Clark, J.P.,** 2013, Emulsions: When oil and water do mix, *Food Technology Magazine*, 67(8): 80-82pp.
- Clayton, D.B.,** 2014, Stability of W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> double emulsion made with milk fat and a simplified make procedure and its use in reduced-fat cheese.
- Clifford, J., Niebaum, K. and Bellows, L.,** 2015, Iron: An Essential Nutrient, Colorado State University Food and Nutrition Series|Health, Fact Sheet No. 9.356.
- Cofrades, S., Antoniou, I., Solas, M.T., Herrero, A.M. and Jiménez-Colmenero, F.,** 2013, Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems”, *Food Chemistry*, 141:338-346pp.
- Collins, J.F.,** 2016, Molecular, Genetic and Nutritional Aspects of Major Aspects and Trace Minerals, Academic Press, 576p.
- Cullen, P.J.,** 2009, Food Mixing: Principles and Applications, John Wiley & Sons, 304p.
- Çelebi, N.,** 2009, Emülsiyonlar, *Modern Farmosetik Teknolojisi*, 277–279s.
- Di Monaco, R., Miele, N.A., Cabisidan, E.K. and Cavella, S.,** 2018, Strategies to reduce sugars in food, *Current Opinion in Food Science*, 19:92–97pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dickinson, E.**, 2011, Double Emulsions Stabilized by Food Biopolymers, *Food Biophysics*, 6:1–11pp.
- Dridi, W., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F. and Cansell, M.**, 2016, Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions, *Food Chemistry*, 202: 205–211pp.
- Dötsch, M., Busch, J., Batenburg, M., Liem, G., Tareilus, E., Mueller, R. and Meijer, G.**, 2009, Strategies to reduce sodium consumption: A food industry perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(10): 841–851pp.
- European Commission**, 2014, Survey on Members States' Implementation of the EU Salt Reduction Framework, [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/nutrition\\_physical\\_activity/docs/salt\\_report1\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/nutrition_physical_activity/docs/salt_report1_en.pdf) (Erişim Tarihi: 05.06.2018).
- Fanun, M.**, 2009, Properties of microemulsions with sugar surfactants and peppermint oil, *Colloid Polymer Science*, 287: 899-910pp.
- FAO and World Health Organization**, 1998, Vitamin and mineral requirements in human nutrition Second edition. *World Health Organization*, 1–20pp.
- Fraj, J.L., Petrović, L.B., Milinković, J.R., Katona, J.M., Bučko, S.D. and Spasojević, L.M.**, 2017, Properties of water in oil emulsions (W/O) stabilized with mixtures of PGPR and polyglycerol fatty acid esters, *Acta Periodica Technologica*, 48:95–107pp.
- Garti, N. and Bisperink, C.**, 1998, Double emulsions: Progress and applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 3(6):657–667pp.
- Ghasemi, H., Mazloomi, H. and Hajipour, H.**, Stabilization of multiple emulsions using natural surfactants, 1–8pp.
- Ghosh, S.**, 2011, Formulation and characterisation of multiple emulsions with various additives. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(2):751- 759pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Goh, S. M., Leroux, B., Groeneschild, C. a. G. and Busch, J. L. H. C.,** 2010, On the effect of tastant excluded fillers on sweetness and saltiness of a model food. *Journal of Food Science*, 75(4): 245–249pp.
- Gönül, N.,** 2000, Süspansiyon ve Emülsiyon Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 82, Ankara, 89s.
- Gupta, C., Chawla, P., Arora, S., Tomar, S.K. and Singh, A.K.,** 2015a, Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method – Milk fortification, *Food Hydrocolloids*, 43: 622-628pp.
- Gupta, C., Chawla, P. and Arora, S.** 2015b, Development and evaluation of iron microencapsules for milk fortification. *CYTA - Journal of Food*, 13(1):116–123pp.
- Gültekin, F., Öner, M.E., Savaş, H.B. ve Doğan, B.,** 2017, Tatlandırıcılar, glikoz intoleransı ve mikrobiyota, *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1 (special issue):34-38ss.
- Hashimoto, Y., Kim, D.J. and Adams, J.C.,** 2011, The roles of fascins in health and disease, *Journal of Pathology*, 224(3):289–300pp.
- Huma, N., Salim-Ur-Rehman, Anjum, F. M., Murtaza, M. A. and Sheikh, M. A,** 2007, Food fortification strategy - Preventing iron deficiency anemia: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3):259–265pp.
- Ilyasoglu, H. and El, S.N.,** 2014, Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2): 461-468pp.
- Institute of Medicine,** 2010, Strategies to Reduce Sodium intake in The United States, The National Academies Press, Washington.
- International Sugar Organization,** 2018, New information from the Institute of Food Science and Technology provides technical analysis on dietary sugars, <https://www.isosugar.org/sugarsector/sugar> (Erişim Tarihi: 09.09.2018).

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- IUPAC**, 1979, Standart Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 6<sup>th</sup> edition, Pergamon Press, Oxford.
- Jiao, J. and Burgess, D.J.** 2008, Multiple Emulsion Stability: Pressure Balance and Interfacial Film Strength, Multiple Emulsions: Technology and Applications, Aserin, A.(Editor), John Wiley & Sons, New Jersey.
- Jimenez-Alvarado R., Beristain C.I, Medina-Torres L., Roman-Guerra A. and Vernon-Carter E.J.**, 2009, Ferrous bisglycinate content and release in  $W_1/O/W_2$  multiple emulsions stabilized by protein polysaccharide complexes, *Food Hydrocolloids*, 23:2425-2433pp.
- Jiménez-Colmenero, F.** 2013, Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods, *Food Research International*, 52:64-74pp.
- Kanouni, M., Rosano, H. and Naouli, N.**, 2002, Preparation of a stable double emulsion ( $W_1/O/W_2$ ): role of the interfacial films on the stability of the system, *Advances in Colloid and Interface Science*, 99(3): 229–254pp.
- Katuwavila, N. P, Perera, A. D. L. C., Dahanayake, D., Karunaratne,V., Amaratunga, G. A. J. and Nedra Karunaratne, D.**, 2016, Alginate nanoparticles protect ferrous from oxidation: potential iron delivery system, *International Journal of Pharmaceutics*, 513(1-2): 404-409pp.
- Keyvani, M., Davarpanah, L. and Vahabzadeh, F.**, 2014, Rheological characterization of ferrous sulfate-containing water-in-oil-in-water ( $W_1/O/W_2$ ) double emulsions, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(9):1681-1694pp.
- Khalid, N., Kobayashi, I., Neves, M. A., Uemura, K.,and Nakajima, M.**, 2013, Preparation and Characterization of Water-in-Oil-in-Water Emulsions Containing a High Concentration of L-Ascorbic Acid, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(6):1171–1178pp.
- Khan, A.Y., Talegaonkar, S., Iqbal, Z., Ahmad, F.J. and Khar, R.K.**, 2006, Multiple emulsion overview, *Current Drug Delivery*, 3(4), 429-443pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kilcast, D. and Angus, F.**, 2007, Reducing Salt in Foods: Practical Strategies, Cambridge: Woodhead Press, 383p.
- Killian, L.B.A.**, 2011, Development of water-in-oil emulsions for application to model chocolate products, MSc Thesis, The Pennsylvania State University, 126p.
- Kloss, L., Meyer, J. D., Graeve, L. and Vetter, W.**, 2015. Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union- A review. *NFS Journal*, 1:9–19.
- Kumar, S.**, 2012, Biogas, InTech, Rijeka, 417p.
- Kuo, W. Y. and Lee, Y.**, 2014. Effect of food matrix on saltiness perception-implications for sodium reduction. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 906–923pp.
- Lad, M., Hewson, L. and Wolf, B.**, 2012, Enhancing saltiness in emulsion based foods. *Flavour*, 1:1-13pp.
- Leal-Calderon, F.**, 2015, Strategies to reduce fat, NaCl and sugar intake without compromising taste, University of Bordeaux, <http://www.iterg.com/IMG/pdf/ENSCBP.pdf> (Erişim tarihi: 17 Haziran 2017).
- Li, L.**, 2012, *In vitro* gastrointestinal digestion of oil-in water emulsions, Master Thesis, Riddet Institute, Massey University. New Zealand,
- Lieu, P.T., Heisla, M., Peterson, P. A. and Yang, Y.**, 2001, The roles of iron in health and disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 22: 1-87pp.
- Liu, L., Zhao, Q., Liu, T., Kong, J., Long, Z. And Zhao, M.**, 2012, Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil–water interface: Relationship to emulsion stability, *Food Chemistry*, 132:1822–1829pp.
- Lu, W., Kelly, A. L. and Miao, S.**, 2016, Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols, *Trends in Food Science and Technology*, 47:1–9pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Luo, S., Zhang, C., Hu, L., Zhang, Z., Niu, Y. and Zhang, W.,** 2016, Stability and rheology of three types of w/o/w multiple emulsions emulsified with lecithin, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38(11): 1530–1535pp.
- Ma, J.K.H. and Hadzija, B.W.,** 2013, Basic Physical Pharmacy, Jones & Bartlett Learning, United States of America, 595p.
- Mat, D.J.L., Le Feunteun, S., Michon, C. and Souchon, I.,** 2016, In vitro digestion of foods using pH-stat and the INFOGEST protocol: Impact of matrix structure on digestion kinetics of macronutrients, proteins and lipids, *Food Research International*, 88:226–233pp.
- Matos, M., Gutiérrez, G., Coca, J. and Pazos, C.** 2013, Preparation of water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double emulsions containing trans-resveratrol, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 442:69–79pp.
- McClements, D.J.,** 2015, Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, CRC Press, 690p.
- Mesías, M., Seiquer, I. and Navarro, M.P.,** 2013, Iron Nutrition in Adolescence, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(11):1226–1237pp.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménéard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. and Brodkorb, A.,** 2014, A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5:1113-1124pp.
- Miyagawa, Y., Katsuki, K., Matsuno, R. and Adachi, S.,** 2015, Effect of oil droplet size on activation energy for coalescence of oil droplets in an O/W emulsion, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 79(10):1695–1697pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Mosca, A.C., van de Velde, F, Bult, J.H.F., van Boekel, M.A.J.S. and Stieger, M.,** 2010, Enhancement of sweetness intensity in gels by inhomogeneous distribution of sucrose, *Food Quality and Preference*, 21(7): 837-842pp.
- Mun, S., Choi, Y. and Kim, Y.R.,** 2015, Lipase digestibility of the oil phase in a water-in-oil-in-water emulsion, *The Food Science and Biotechnology*, 24(2): 513-520pp.
- Mun, S., Choi, Y., Park, S., Surh, J. and Kim, Y.R.,** 2014, Release properties of gel-type W/O/W encapsulation system prepared using enzymatically-modified starch, *Food Chemistry*, 157:77–83pp.
- Muschiolik, G. and Dickinson, E.,** 2017, Double Emulsions Relevant to Food Systems: Preparation, Stability, and Applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3):532–555pp.
- Nikovska, K.,** 2010, Oxidative stability and rheological properties of oil-in-water emulsions with walnut oil, *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2(3):172–177pp.
- Norton, J.E. and Norton, I.T.,** 2010, Designer colloids—towards healthy everyday foods?, *Soft Matter*, 6(16):3735-3742pp.
- O'Donnell, K. and Kearsley, M.,** 2012, Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology, Wiley-Blackwell, 504p.
- O'Regan, J. and Mulvihill, D. M.,** 2010, Sodium caseinate-maltodextrin conjugate stabilized double emulsions: Encapsulation and stability, *Food Research International*, 43(1), 224–231pp.
- Oliveira, D., Reis, F., Deliza, R., Rosenthal, A., Giménez, A. and Ares, G.,** 2016, Difference thresholds for added sugar in chocolate-flavoured milk: Recommendations for gradual sugar reduction, *Food Research International*, 89(1): 448-453pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Özen, A.E.**, 2006, Yağsız Fermente Süt İçeceğinin Yapısal Özelliklerinin Serum Proteini Konsantresi Kullanılarak İyileştirilmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 68s.
- Pal, R.**, 1996, Effect of Droplet Size on the Rheology of Emulsions, *AICHE Journal*, 42(11): 3181-3190pp.
- Paula, D. de A., de Oliveira, E. B., de Carvalho Teixeira, A. V. N., Soares, A. de S. and Ramos, A. M.**, 2017, Double emulsions (W/O/W): Physical characteristics and perceived intensity of salty taste. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(2), 475–483pp.
- Petsev, N. D.**, 2004, Emulsions: Structure, Stability and Interactions, Elsevier (1 ed.), 767p.
- Pichot, R.**, 2010, Stability and Characterization of Emulsions in The Presence of Colloidal Particles and Surfactants, PhD Thesis, University of Birmingham, 219p.
- Prichapan, N. and Klinkesorn, U.**, 2014, Factor affecting the properties of water-in-oil-in-water emulsions for encapsulation of minerals and vitamins, *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 36(6):651-661pp.
- Prichapan, N., McClements, D.J. and Klinkesorn, U.**, 2018, Iron Encapsulation in Water-in-Oil Emulsions: Effect of Ferrous Sulfate Concentration and Fat Crystal Formation on Oxidative Stability, *Journal of Food Science*, 83: 309-317pp.
- Rippe, J.M. and Angelopoulos, T.J.**, 2016, Relationship between added sugars consumption and chronic disease risk factors: Current understanding, *Nutrients*, 8(11), 697.
- Robins, M.M. and Wilde, P.J.**, 2003, Colloids and emulsions, Encyclopaedia of Food Science and Nutrition, 1517–1524pp.
- Romita, D., Cheng, Y-L. and Diosady, L. L.**, 2011, Microencapsulation of ferrous fumarate for the production of salt double fortified with iron and iodine, *International Journal of Food Engineering*, 7(3), Article 5.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sabouri, S.**, 2016, Sodium Caseinate-stabilized Emulsion: A Carrier Matrix to Improve the Delivery of Epigallocatechin-gallate, PhD Thesis, The University of Guelph, 156p.
- Sapei, L., Naqvi, M. A. and Rousseau, D.**, 2012, Stability and release properties of double emulsions for food applications, *Food Hydrocolloids*, 27(2):316–323pp.
- Siervo, M., Montagnese, C., Mathers, J.C., Soroka, K.R., Stephan, B.C.M. and Wells, J.C.K.**, 2013, Sugar consumption and global prevalence of obesity and hypertension: an ecological analysis, *Public Health Nutrition*, 17(3): 587–596pp.
- Simiqueli, A.A., de Oliveira, E.B., Minim, L.A., Reis, P.S., Teixeira Ribeiro Vidigal, M.C., Filho, T.L. and Rodrigues Minim, V.P.**, 2018, W/O/W emulsions applied for conveying FeSO<sub>4</sub>: Physical characteristics and intensity of metallic taste perception, *LWT - Food Science and Technology*, 100:278-286pp.
- Singh, A. P., Siddiqui, J. and Diosady, L. L.**, 2018, Characterizing the pH-dependent release kinetics of food-grade spray drying encapsulated iron microcapsules for food fortification, *Food Bioprocess Technology*, 11(2):435–446pp.
- Sivapriya, S., Daisy, P.A, Bobby Johns G., Praveen Raj, R., Noby, T. and Carla, B.**, 2016, Multiple emulsions a comprehensive review, *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 2(5), 83-88.
- Sjöblom, J.**, 2001. Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology, Marcel Dekker, United States of America, 736p.
- Sonakpuriya, P., Bhowmick, M., Pandey, G. K., Joshi, A. and Dubey, B.**, 2013, Formulation and evaluation of multiple emulsion of Valsartan, *International Journal of Pharm Tech Research*, 5(1):132–146pp.
- Stieger, M. and van de Velde, F.**, 2013, Microstructure, texture and oral processing: New ways to reduce sugar and salt in foods, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 18(4), 334–348.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Sturza, R. and Curchi, D.**, 2011, Researches on the encapsulation of non-hemic iron in double food emulsions, *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati: Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, 180–190pp.
- Su, J.**, 2008, Formation and stabilization of food-grade water-in-oil-in-water emulsion, PhD Thesis. Riddet Institute, Massey University, 213p.
- Sugiarto, M., Ye, A., Taylor, M.W. and Singh, H.**, 2010, Milk protein-iron complexes: Inhibition of lipid oxidation in an emulsion, *Dairy Science and Technology*, 90:87–98pp.
- Sugiarto, M.W.**, 2004, Studies on the Binding of Iron and Zinc to Milk Protein Products, Doctoral Thesis, Massey University, 214p.
- Surh, J., Mun, S. and McClements, D.J.**, 2007, Preparation and Characterization of Water/Oil and Water/Oil/Water Emulsions Containing Biopolymer-Gelled Water Droplets, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(1):175–184pp.
- Süren, F.**, 2010, Haşhaş Tohumu Ezmesi ve Üzüm Pekmezi Karışımlarının Reolojik Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 67s.
- Syrebe, A.**, 2012, Processing of double emulsions, SCI Conference “Science & Technology of Food Emulsions.
- Tadros, T.F.**, 2013, Emulsion Formation and Stability, Wiley-VCH, 272p.
- T.C. Sağlık Bakanlığı**, 2014, Kamu Kurum ve Kuruluşlarında Şeker ve Tuz Kullanımı ile İlgili Düzenleme, Genelge 2014/4.
- T.C. Sağlık Bakanlığı**, 2016, Türkiye Aşırı Tuz Tüketiminin Azaltılması Programı 2017-2021.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı**, 2017, Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği,  
<http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.23281&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=beslenme>, (Erişim Tarihi: 17.03.2017).
- USDA Foreign Agricultural Service**, 2017, Turkey Annual Sugar Report,  
[https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Sugar%20Annual\\_Ankara\\_Turkey\\_4-14-2017.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Sugar%20Annual_Ankara_Turkey_4-14-2017.pdf) (Erişim Tarihi: 20.06.2017).
- Ushikubo, F.Y. and Cunha, R.L.**, 2014, Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*, 34:145–153pp.
- U.S Department of Health & Human Services**, 2018, Iron Fact Sheet for Health, <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-HealthProfessional/> (Erişim Tarihi: 25.09.2018).
- van der Horst, B.M., Langelaan, H.C. and Gotsis, A.D.**, 2000, Rheological studies of water-in-oil-in-water double emulsions, *Progr Colloid Polym Sci*, 115 : 315-319pp.
- Wang, J., Shi, A., Agyei, D. and Wang, Q.**, 2017, Formulation of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsions containing trans-resveratrol, *RSC Advances*, 7(57), 35917–35927pp.
- World Cancer Research Fund International**, 2016, Salt Consumption,  
<http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/link-between-lifestyle-cancer-risk/salt-consumption> (Erişim Tarihi: 09.09.2017).
- World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2004, Vitamin and mineral requirements in human nutrition,  
<http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241546123/en/> (Erişim Tarihi: 18.06.2018).
- World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2006, Guidelines on food fortification with micronutrients.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- World Health Organization (WHO)**, 2001, Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention and Control, A guide for program managers. *WHO Guideline*, 1–114pp.
- World Health Organization (WHO)**, 2015, Guideline: Sugars intake for adults and children, Geneva.
- World Health Organization (WHO)**, 2016, Salt Reduction, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs393/en/> (Erişim Tarihi: 09.09.2017).
- Xu, B., Kang, W., Wang, X. and Meng, L.**, 2013, Influence of water content and temperature on stability of W/O crude oil emulsion. *Petroleum Science and Technology*, 31(10):1099–1108pp.
- Yıldırım, M.**, 2015, Stability of Double Emulsions for Food Applications, MSc Thesis, Middle East Technical University, 151p.
- Zhang, B., Yang, T., Wang, Q., Zhang, G., Huo, J., Huang, J. and Wang, L.**, 2016, Fabrication of uniform alginate-agarose microcapsules loading FeSO<sub>4</sub> using water-oil-water-oil multiple emulsions system combined with premix membrane emulsification technique, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 498: 128–138pp.

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Almanya’da doğan Hülya İLYASOĞLU, ilkokulu Hakimiyet-i Milliye İlköğretim Okulu’nda, ortaokul ve liseyi Konak Anadolu Lisesi’nde tamamlamıştır. 2003 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği’ni kazanmış ve 2007 yılında başarıyla mezun olmuştur. 2008 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Eğitimin 3. döneminde Socrates - Erasmus programı kapsamında İtalya’da Università della Marche Üniversitesinde 3 ay süreyle staj yapmıştır. “Sodyum kazeinat ve gam arabik kompleksi ile nanoenkapsüle edilmiş EPA/DHA preparatının meyve suyu zenginleştirilmesinde kullanılması” konulu yüksek lisans tezini 2011 yılında başarı ile tamamlamıştır. 2012 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında doktora öğrenimine başlamıştır. 2017 yılında Positive COST aksiyonunun kısa süreli bilimsel görev programı kapsamında Fransa’da INRA Enstitüsü’nde 2 ay süreyle araştırma yapmıştır. 2016 yılından beri E.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü, Beslenme Bilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.