

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BALIK YAĞI-ASTAKSANTİN MİKROEMÜLSİYONLARINDA DOĞAL
EMÜLGATÖR OLARAK ÇÖVEN BİTKİSİ (*Gypsophila bicolor*)
SAPONİNLERİNİN KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe AYGÜN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA ve İŞLEME TEKNOLOJİSİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BALIK YAĞI-ASTAKSANTİN MİKROEMÜLSİYONLARINDA DOĞAL
EMÜLGATÖR OLARAK ÇÖVEN BİTKİSİ (*Gypsophila bicolor*)
SAPONİNLERİNİN KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe AYGÜN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA ve İŞLEME TEKNOLOJİSİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BALIK YAĞI-ASTAKSANTİN MİKROEMÜLSİYONLARINDA DOĞAL
EMÜLGATÖR OLARAK ÇÖVEN BİTKİSİ (*Gypsophila bicolor*)
SAPONİNLERİNİN KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe AYGÜN
SU ÜRÜNLERİ AVLAMA ve İŞLEME TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BALIK YAĞI-ASTAKSANTİN MİKROEMÜLSİYONLARINDA DOĞAL
EMÜLGATÖR OLARAK ÇÖVEN BİTKİSİ (*Gypsophila bicolor*)
SAPONİNLERİNİN KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe AYGÜN

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA ve İŞLEME TEKNOLOJİSİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 15/06/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ	(Danışman)	[imza]
Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU		[imza]
Doç. Dr. Mehmet TORUN		[imza]
Prof. Dr. Taçnur BAYGAR		[imza]
Doç. Dr. İlknur BAĞDATLI		[imza]

ÖZET

BALIK YAĞI-ASTAKSANTİN MİKROEMÜLSİYONLARINDA DOĞAL EMÜLGATÖR OLARAK ÇÖVEN BİTKİSİ (*Gypsophila bicolor*) SAPONİNLERİNİN KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Tuğçe AYGÜN

Doktora Tezi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ

Haziran 2023; 93 sayfa

Bu tez çalışmasında, öncelikli olarak, pek çok fonksiyonel özelliğe sahip bir bileşik olan astaksantin karides atıklarından elde edilip, yine fonksiyonel bir bileşik olan balık yağında dağıtılarak suda çözünür hale getirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla da tamamen doğal yapılı bir emülsiyon sistemi oluşturmak için çöven kökü saponinlerinin, kullanım olanakları araştırılmıştır. Son yıllarda temiz etiketli ve doğal içerikli gıda sistemlerine artan tüketici talebi doğrultusunda, saponin emülsiyonları üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Bu çalışmalar küresel ölçekte özellikle sabun ağacına (*Quillaja saponaria*) yoğunlaşmış olup, ülkemizde de benzer özelliklere sahip olan çöven kökleri özellikle lokum ve helva sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çalışma kapsamında, öncelikle kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*) işleme atıklarından astaksantin ekstrakte edilmiştir. Elde edilen astaksantin içeren yağlı ekstrakt, balık yağı (uskumru yağı) ile seyreltilerek astaksantin yağ içinde dispersiyonu sağlanmıştır. Astaksantin-balık yağı karışımı, çöven bitkisi (*Gypsophila bicolor*) kökü saponinleri (I), soya lesitini (II) ve tween-80 (III) yardımı ile emülsifiye edilmiştir. Çöven kökü saponinleri eldesinde, astaksantin ekstraksiyonunda ve emülsiyonların oluşturulmasında, ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği uygulanmıştır. Doğal ve sentetik yapılı, farklı emülgatör maddeler kullanılarak hazırlanan astaksantin-balık yağı emülsiyonları oda sıcaklığında ($25\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) 30 gün depolanmıştır. Depolama süresince 0., 10., 20. ve 30. günlerde emülsiyonların reolojik, fizikokimyasal ve oksidatif özellikleri karşılaştırılmıştır. Depolama sıcaklığının, depolama süresinin ve kullanılan emülgatör tipinin, emülsiyonların depolama süresince stabilitesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla emülsiyon stabilite indeksi, ısı stabilite indeksi, partikül boyutu, viskozite, bulanıklık ve renk ölçümleri, optik mikroskop analizi, peroksit ve antioksidan aktivite tayini, yağ asidi profili ve astaksantin konsantrasyonu belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan karideslerin atık miktarı $\%57,59\pm0,66$ olarak belirlenmiştir. Atıklardan elde edilen ekstrakt verimi ise 100 g kuru maddede $17,0\pm0,8$ g olarak bulunmuştur.

Emülsiyonların ısı stabilite indeksleri incelendiğinde, 70°C 'den itibaren emülsiyonlar arasında farklılık görülmeye başlanmış, test edilen değerler aralığında, tween-80 emülsiyonunun ısı stabilitesi daha yüksek bulunurken, lesitin emülsiyonunun sıcaklığa karşı en hassas emülsiyon olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyonların depolama

stabiliteleeri incelendiğinde beklenildiğı üzere soğukta muhafazada, emülsiyonların daha kararlı olduğı belirlenmiştir. Depolama süresi uzadıkça, emülsiyon stabilitesi azalmıştır. Oda sıcaklığında depolamada, tween-80 emülsiyonu diğer emülsiyonlara kıyasla istatistiksel açıdan daha kararlı iken, buzdolabı sıcaklığında depolamada tween-80 ve saponin emülsiyonları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Bu da özellikle gıda ve ilaç sistemlerinde sentetik bir emülgatör yerine doğal emülgatör olarak çöven kökü saponini kullanımını teşvik edebilir.

Emülsiyonların renk stabilitesi incelendiğinde, örneklerin sahip olduğı renkte, solmadan kaynaklanan L^* değerinde artış ve a^* , b^* değerlerinde azalış görülmüştür. Bu azalışın ise oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlarda daha fazla olduğı tespit edilmiştir. Emülsiyonların bulanıklık değerleri incelendiğinde, 0. gün verilerinde örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli derecede farklılıklar görülmüştür. Tween-80 emülsiyonu diğer emülsiyonlara kıyasla daha berrak ölçülmüş ve depolama süresince bulanıklık değeri artmıştır. Lesitin emülsiyonunun bulanıklık değeri en yüksek ölçülmüş ve depolama süresince bu değeri giderek azalmıştır.

Depolama süresince emülsiyonların partikül boyutu artmış, buna bağılı olarak da viskozite de artış gözlemlenmiştir. Pek çok emülsifiye sistemde olduğı gibi, çalışmadaki tüm emülsiyonlar kayma hızındaki artışla birlikte viskozite de azalış gösteren psödoplastik akış sergilemiştir. Tüm sonuçlar incelendiğinde çöven kökü saponinlerinin stabil emülsiyon oluşturmada kullanımı umut vadetmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Astaksantin, Doğal Emülgatör, Emülsiyon, Saponin, Ultrasonikasyon.

JÜRİ: Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ

Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU

Doç. Dr. Mehmet TORUN

Prof. Dr. Taçnur BAYGAR

Doç. Dr. İlknur BAĞDATLI

ABSTRACT

INVESTIGATION OF USAGE POSSIBILITIES OF GYPSUM PLANT (*Gypsophila bicolor*) SAPONINS AS NATURAL EMULSIFIERS IN FISH OIL- ASTAXANTHIN MICROEMULSIONS

Tuğçe AYGÜN

PhD Thesis in Department of Aquatic Food Processing

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Osman Kadir TOPUZ

Haziran 2023; 93 pages

In this thesis, it was primarily aimed to obtain astaxanthin, a compound with many functional properties, from shrimp waste and to make it soluble in water by dispersing it in fish oil, which is also a functional compound. For this purpose, the possibilities of using gypsum root saponins were investigated to create a completely natural emulsion system. In recent years, studies on saponin emulsions have been increasing in line with the increasing consumer demand for clean label and natural ingredient food systems. These studies have focused on the soap tree (*Quillaja saponaria*) on a global scale, and gypsum roots, which have similar characteristics in our country, are widely used in the Turkish delight and halva industry.

In the scope of the thesis, astaxanthin was first extracted from red shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) processing waste. The resulting astaxanthin-loaded extract was diluted with fish oil (mackerel oil) to provide dispersion of astaxanthin in oil. Astaxanthin-fish oil mixture was emulsified with the help of *Gypsophila bicolor* root saponins (I), soy lecithin (II) and tween-80 (III). Ultrasonic assisted extraction technique has been applied in the extraction of gypsum root saponins, the extraction of astaxanthin and the formation of emulsions. Astaxanthin-fish oil emulsions, prepared using different natural and synthetic emulsifiers, were stored at room temperature ($25\pm1^{\circ}\text{C}$) and refrigerator temperature ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) for 30 days. The rheological, physicochemical, and oxidative properties of the emulsions were compared on the 0th, 10th, 20th and 30th days of storage. Emulsion stability index, heat stability index, particle size, viscosity, turbidity and colour measurements, optical microscopy analysis, peroxide and antioxidant activity determination, fatty acid profile and astaxanthin concentration was determined.

After grinding, the root crops were weighed 50 g, washed with n-hexane to remove their lipophilic compounds, and then subjected to ultrasonic assisted extraction with 500 ml of ethanol-water (70%-30%) mixture for 20 minutes. After undergoing various washing processes, the remaining sample was dissolved in 25 ml of methanol, 25 ml of ether was added, and the saponins were precipitated by centrifugation at 5500 rpm for 10 minutes. The samples were placed on blotting paper and kept in a desiccator for 1 night and then weighed. The amount of saponin in the gypsum roots was determined as 3.37 ± 0.29 g/100 g dry sample.

It was determined that the waste amount of shrimps used in the study as 57.59%±0.66%. The extract yield obtained from the wastes was found to be 17.0±0.8 g per 100 g dry matter.

When the heat stability indices of the emulsions were examined, there was a difference between the emulsions starting from 70°C, and the heat stability of the tween-80 emulsion was found to be higher in the range of the tested values, while the lecithin emulsion was found to be the most sensitive to temperature. Considering the storage stability of the emulsions, it was determined that the emulsions were more stable in cold storage, as expected. The longer the storage time, the lower the emulsion stability. While tween-80 emulsion was more stable than other emulsions in room temperature storage, there was no statistically significant difference between tween-80 and saponin emulsions in refrigerator temperature storage. This may encourage the use of linseed root saponin as a natural emulsifier rather than a synthetic emulsifier, especially in food and pharmaceutical systems.

According to the colour stability results of the emulsions, an increase in L* value due to fading and a decrease in a*, b* values were observed in the colour of the samples. It was determined that this decrease was higher in emulsions stored at room temperature. The turbidity values of the emulsions showed that there were statistically significant differences between the samples in day 0 data. Tween-80 emulsion was measured clearer compared to other emulsions and the turbidity value increased during storage. The turbidity value of the lecithin emulsion was measured the highest and this value gradually decreased during storage.

During storage, the particle size of the emulsions increased, and accordingly, an increase in viscosity was observed. As with many emulsified systems, all emulsions in the study exhibited pseudoplastic flow, which decreased in viscosity with an increase in shear rate. When all the results were examined, it was concluded that the use of celandine root saponins in forming stable emulsions is promising.

KEYWORDS: Astaxanthin, Emulsion, Natural Emulsifier, Saponin, Ultrasonication.

COMMITTEE: Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ

Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU

Doç. Dr. Mehmet TORUN

Prof. Dr. Taçnur BAYGAR

Doç. Dr. İlknur BAĞDATLI

ÖNSÖZ

Özellikle doğal emülgatörlerin emülsiyon sistemlerinde kullanımının son yıllarda artış gösterdiği görülmektedir. Literatürde saponin içeren farklı doğal kaynakların emülsiyon sistemlerinde kullanımı ile ilgili çalışmalar olmakla birlikte çöven otu saponinlerinin yağ/su emülsiyon sistemlerinde kullanımı ve stabilite özellikleri ile ilgili yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Tez çalışmasında ‘Çöven otu’ olarak da bilinen Gypsophila bitkisi kökleri saponinleri ile emülsifiye edilmiş astaksantin yüklü balık yağının, doğal ve sentetik iki farklı yapıdaki emülgatör madde ile stabilitesi kıyaslanmıştır. Ayrıca astaksantin de artık maddelerden elde edilmesi “sıfır atık” kapsamında çalışmayı değerli kılmaktadır. Çöven kökü saponinlerinin gıda ve ilaç dağıtım sistemlerinde kullanım olanaklarını araştırmak için daha spesifik ve kapsamlı çalışmalar da yapılmalıdır.

Bu süreçte beni yönlendirerek Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Anabilim Dalında lisansüstü öğrenim yapma imkânı veren danışman hocam sayın Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ’a destekleri ve anlayışı için teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmalarım süresince değerli katkılarıyla çalışmalarına yön veren ve yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyeleri sayın Prof. Dr. Pınar Yerlikaya KEBAPÇIOĞLU, Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU ve Doç. Dr. Mehmet TORUN’a katkı ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarımın kimyasal analizleri sırasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Gizem Nazlı URAL’a, Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Adem KAYA’ya, Gıda Yüksek Mühendisi Kübra GÜNGÖR’e, Gıda Yüksek Mühendisi Ahmet HACIOĞLU’na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın özellikle üretim kısmında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Öğretim Görevlisi Dr. Ahmet AYGÜN’e, şimdiden “ben bilim adamı olmak istiyorum ama ne bulacağımı bilmiyorum anne, her şey bulunmuş zaten” sözleriyle en büyük motivasyon kaynağım olan canım oğlum Ömer Bera AYGÜN’e, her türlü fedakarlığıyla her zor anımda yanımda olan canım annem Hacer SAK’a, pes ettiğim anlarda beni hep destekleyen Ablam Tuğba SAK’a, abim Kemal SAK’a, yeğenim Arda SAK’a ve tüm aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Son olarak bu tezi, hayattaki en büyük şanslarımdan biri olan, hep akademisyen olmamı hayal eden ancak bu günlerimde yanımda olamayan rahmetli babam Mustafa SAK’a armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	16
2. KAYNAK TARAMASI	18
2.1. Balık Yağı.....	18
2.2. Astaksantin	19
2.2.1. Astaksantin ekstraksiyonu	21
2.3. Karides.....	22
2.4. Çöven kökü (<i>Gypsophila bicolor</i>).....	24
2.3.1. Saponinlerin kullanım alanları.....	27
2.4. Emülsiyon Teknolojisi	28
2.4.1. Emülsiyonların Stabilitesi.....	29
2.4.2. Emülgatörlerin Önemi	30
2.4.3. Emülsiyonların Karakterizasyonu	31
2.4.4. Emülsiyon Hazırlamada Ses Dalgalarının Etkisi.....	31
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1. Materyal.....	33
3.2. Metot	33
3.2.1. Çöven bitkisi köklerinden saponin ekstraksiyonu	33
3.2.2. Karides atıklarından astaksantin ekstraksiyonu.....	33
3.2.3. Balık yağı ekstraksiyonu	35
3.2.4. Astaksantin-balık yağı emülsiyon sisteminin oluşturulması	35
3.3. Analizler	36
3.3.1. Toplam saponin miktarı.....	36
3.2.2. Köpük testi.....	37
3.3.3. Astaksantin kompozisyonunun belirlenmesi	37
3.3.4. Antioksidan aktivite tayini.....	37
3.3.5. Totox tayini.....	38

3.3.6. Yağ asitleri profilinin belirlenmesi	38
3.3.7. Emülsiyon stabilite indeksinin belirlenmesi	39
3.3.8. Emülsiyon ısı stabilite indeksinin belirlenmesi	39
3.3.9. Parçacık boyutu ölçümü	40
3.3.10. Viskozite ölçümü	40
3.3.11. Bulanıklık ölçümü	40
3.3.12. Optik mikroskop analizi	40
3.3.13. Renk Ölçümü	40
3.3.14. İstatiksel analiz	41
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	42
4.1. Çöven köküne ait bulgular	42
4.1.1. Çöven köklerine ait kuru madde ve su aktivite değerleri.....	42
4.1.2. Toplam saponin miktarı	42
4.1.3. Köpük testi	42
4.2. Karides atıklarına ait bulgular.....	43
4.2.1. Astaksantin ekstraksiyon verimi ve kuru madde miktarı.....	43
4.2.2. Astaksantin konsantrasyonu.....	43
4.3. Yağ asitleri profili	46
4.4. Emülsiyonların ısı ve depolama stabilitelerine ait bulgular.....	48
4.4.1. Emülsiyonların ısı stabilite indeksi	48
4.4.2. Emülsiyonların depolama stabilite indeksleri	49
4.5. Totox tayini	51
4.6. Partikül boyutu analizi	53
4.7. Antioksidan aktivite tayini	56
4.8. Viskozite tayini	57
4.9. Emülsiyonlarda renk ölçüm değerleri	63
4.10. Bulanıklık ölçümü (NTU)	75
4.11. Optik mikroskop ölçümleri	78
5. SONUÇLAR.....	81
6. KAYNAKLAR.....	84

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Balık Yağı-Astaksantin Mikroemülsiyonlarında Doğal Emülgatör Olarak Çöven Bitkisi (*Gypsophila Bicolor*) Saponinlerinin Kullanım Olanaklarının Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

15/06/2023

Tuğçe AYGÜN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde

°C : Derece santigrat

μ : mikro

μg : Mikrogram

aw : Su aktivitesi

cm : Santimetre

Da : Dalton

dak : Dakika

g : Gram

kg : Kilogram

kHz : Kilohertz

mg : Miligram

mL : Mililitre

mm : Milimetre

mM : Milimolar

nm : Nanometre

Pa : Paskal

ppm : mg/L

rpm : Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per Minute)

s : Saniye

β : beta

ζ : zeta

ω : omega

Tez yazımı sırasında ondalık ayırıcı olarak virgül kullanılmıştır (“21,01”).

Kısaltmalar

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ABTS : 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

BEAC : BHT Eşdeğeri Antioksidan Kapasite

BHT : Bütilen Hidroksi Toluen

C : Kroma

DHA : Dokosahekzaenoik Asit

EPA : Eikosapentaenoik Asit

FAO : Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)

FDA : Amerikan İlaç Dairesi

GC : Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)

h° : Hue açısı

HLB : Hidrofilik Lipofilik Denge

HPLC : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

K.O : Kareler Ortalaması

p-AV : Para-anisidin Değeri

PV : Peroksit Değeri

SAS : İstatiksel Analiz Sistemi (Statistical Analysis System)

SD : Serbestlik Derecesi

UAE : Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (Ultrasonic Assisted Exraction)

VK : Varyans Kaynağı

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. EPA ve DHA yağ asitleri zincirleri	18
Şekil 2.2. Astaksantin Kimyasal Yapısı	20
Şekil 2.3. Karidesin morfolojik bölümleri	23
Şekil 2.4. İki yasındaki <i>Gypsophila bicolor</i> türüne ait çiçekler ve kökler	25
Şekil 2.5. Saponinlerin yapısal adlandırılması	25
Şekil 2.6. Triterpenoid saponinlerde monodezmazide ve bidezmozide yapı	26
Şekil 2.7. A: Su içinde yağ emülsiyonu, B: Yağ içinde su emülsiyonu, C: Su içinde yağ içinde su emülsiyonu, D: Yağ içinde su içinde yağ emülsiyonu	28
Şekil 2.8. Farklı emülsiyon instabilite mekanizmaları (Kremalaşma, Topaklanma, Birleşme, Çökme, Ostwald olgunlaşması)	30
Şekil 3.1. Çöven köklerinde boyut küçültme	33
Şekil 3.2. Karideslerin yıkanıp ayıklanması	34
Şekil 3.3. Karides atıklarından astaksantin ekstraksiyonu	35
Şekil 3.4. Astaksantin-balık yağı emülsiyon sisteminin oluşturulması	36
Şekil 3.5. Toplam saponin miktarının belirlenmesi	36
Şekil 3.6. Emülsiyonların ısı stabilitesi ölçümü	39
Şekil 3.7. Hue açısı renk skalası	41
Şekil 4.1. Köpük testi sonuçlarına ait görsel	42
Şekil 4.2. Oda sıcaklığı (a) ve buzdolabı sıcaklığında (b) depolanan emülsiyonların depolama süresinde EPA+DHA miktarlarındaki değişim	46
Şekil 4.3. Emülsiyonların 0. Gününe ait görünür viskozite değerleri	60
Şekil 4.4. Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlara ait viskozite değerleri	61
Şekil 4.5. Buzdolabında depolanan emülsiyonlara ait viskozite değerleri	62
Şekil 4.6. Emülsiyonların 0. Gününe ait L^* , a^* ve b^* değerlerine ait veriler; L) Lesitin kullanılarak hazırlanan emülsiyon; S) Saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyon; T) Tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyon;	64
Şekil 4.7. Emülsiyonların depolama süresince çekilen görüntüleri	65
Şekil 4.8. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların a^* değerleri	69
Şekil 4.9. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların b^* değerleri	71

Şekil 4.10. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonlara ait bulanıklık değerleri (NTU).....	77
Şekil 4.11. Emülsiyonların ışık mikroskobu altındaki 0.Gün görüntüleri	78
Şekil 4.12. Oda sıcaklığında depolanmış emülsiyonların ışık mikroskobu altındaki görüntüsü.....	79
Şekil 4.13. Buzdolabında depolanmış emülsiyonlara ait ışık mikroskobu görüntüleri	80



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı bitki türlerine ait saponin miktarları	27
Çizelge 4.1. <i>Aristaeomorpha foliacea</i> karidesinin işleme artık miktarı (%)	43
Çizelge 4.2. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen astaksantin değerlerine (ppm) ait veriler	44
Çizelge 4.3. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince astaksantin değerlerine (ppm) ait veriler	44
Çizelge 4.4. Emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonlarına ait varyans analiz sonuçları.....	45
Çizelge 4.5. Emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (ppm)	45
Çizelge 4.6. Emülsiyonların 0. gününe ait yağ asidi içeriği (%)	47
Çizelge 4.7. Emülsiyonların ısı stabilite indeksi verilerine ait değerler	48
Çizelge 4.8. Emülsiyonların oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolama süresince ölçülen stabilite indeksi değerlerine ait veriler	49
Çizelge 4.9. Emülsiyonların buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolama süresince ölçülen stabilite indeksi değerlerine ait veriler	50
Çizelge 4.10. Emülsiyonların depolama stabilitelerine ait varyans analiz sonuçları	50
Çizelge 4.11. Emülsiyonların depolama stabilitesi sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	51
Çizelge 4.12. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen peroksit değerlerine ait veriler	52
Çizelge 4.13. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen peroksit değerlerine ait veriler	52
Çizelge 4.14. Emülsiyonların peroksit değerlerine ait varyans analiz tablosu	52
Çizelge 4.15. Emülsiyonların peroksit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	53
Çizelge 4.16. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen d_{43} değerlerine ait veriler	54
Çizelge 4.17. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen d_{43} değerlerine ait veriler	54
Çizelge 4.18. Emülsiyonların d_{43} değerlerine ait varyans analizi tablosu	54

Çizelge 4.19. Emülsiyonların d_{43} değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	55
Çizelge 4.20. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen antioksidan aktivite değerlerine (TEAC) ait veriler	56
Çizelge 4.21. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen antioksidan aktivite değerlerine (TEAC) ait veriler.....	56
Çizelge 4.22. Emülsiyonların antioksidan değerlerine ait varyans analizi tablosu	57
Çizelge 4.23. Emülsiyonların antioksidan değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	57
Çizelge 4.24. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen viskozite değerlerine ait veriler	58
Çizelge 4.25. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen viskozite değerlerine (TEAC) ait veriler.....	58
Çizelge 4.26. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan viskozite değerlerine ait varyans analizi sonuçları	59
Çizelge 4.27. Emülsiyonların viskozite değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	59
Çizelge 4.28. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen L^* değerlerine ait veriler	63
Çizelge 4.29. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen L^* değerlerine ait veriler.....	63
Çizelge 4.30. Emülsiyonların L^* , a^* , b^* , C değerleri ve h° sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları	66
Çizelge 4.31. Emülsiyonların L^* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	67
Çizelge 4.32. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen a^* değerlerine ait veriler.....	67
Çizelge 4.33. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen a^* değerlerine ait veriler	68
Çizelge 4.34. Emülsiyonların a^* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	68
Çizelge 4.35. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen b^* değerlerine ait veriler.....	69
Çizelge 4.36. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen b^* değerlerine ait veriler	70

Çizelge 4.37. Emülsiyonların b^* değeri sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	70
Çizelge 4.38. Oda sıcaklığında ($24\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen kroma değerlerine ait veriler	72
Çizelge 4.39. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen kroma değerlerine ait veriler	72
Çizelge 4.40. Emülsiyonların kroma değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	73
Çizelge 4.41. Oda sıcaklığında ($24\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait veriler	73
Çizelge 4.42. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait veriler	74
Çizelge 4.43. Emülsiyonların h° değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	74
Çizelge 4.44. Oda sıcaklığında ($24\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen bulanıklık değerlerine ait veriler	75
Çizelge 4.45. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen bulanıklık değerlerine ait veriler	75
Çizelge 4.46. Emülsiyonların bulanıklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları	76
Çizelge 4.47. Emülsiyonların bulanıklık değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	76

1. GİRİŞ

Balık yağı, sağlıklı beslenme için oldukça önemli olan, özellikle kardiovasküler ve immünolojik hastalıkları önlediği bilinen eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5 ω -3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6 ω -3) başta olmak üzere, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) zengin bir kaynağı olarak kabul edilmektedir (Ryan ve Symington, 2015). Gıda otoriteleri, balık yağının faydalı özelliklerinden yararlanmak için, ekmek, yoğurt gibi farklı gıda ürünlerine ve salata sosu ve mayonez gibi emülsiyon sistemlerine balık yağını ekleyerek ω -3 PUFA tüketimini artırmayı tavsiye etmektedir (Asnaashari vd., 2014). Ancak ω -3 yağ asitleri yüksek doymamış (çift bağ) yapısı nedeniyle ısıya, ışığa ve oksijene karşı oldukça hassastır ve bu da ω -3 yağ asitlerinin gıda bileşeni olarak kullanımını sınırlamaktadır (Comunian vd., 2018). Oksidasyon nedeniyle oluşan hidroperoksitler istenmeyen tat ve kokuya neden olmaktadır. Oluşan hidroperoksitler sadece istenmeyen kokular ve tatlar üretmekle kalmaz, aynı zamanda beslenme kalitesini ve güvenliğini de azaltmaktadır (Kaushik vd., 2015).

Balık yağını özellikle sıvı gıdalara (örneğin süt, içecekler ve soslar) dahil etmek için su içinde balık yağı emülsiyonları gibi dağıtım sistemlerinin uygulanması başarılı bir yöntemdir. Böylece, yağ ve oksijen ve/veya prooksidanlar (örneğin serbest radikaller ve metal iyonları) arasında fiziksel bir bariyer (örneğin ara yüzey tabakası) oluşturulmakta ve balık yağı gıda sistemi içerisinde oksidasyona karşı korunmaktadır (García-Moreno vd., 2016).

Balık yağı gibi fonksiyonel bir bileşik olan astaksantin, doğada algler, kabuklu su ürünleri, somon, alabalık gibi kaynaklarda bulunan ve yağda çözünür bir bileşik olan, ksantofil grubu karotenoid çeşididir. Kimyasal yapısı itibarıyla β -karotene ve E vitaminine benzemesine rağmen, astaksantin antioksidan aktivitesi β -karotenden 38, E vitamininden 500 kat ve C vitamininden ise tam 6000 kat daha fazladır (Dong vd., 2013). Yapılan bazı klinik çalışmalar sonucu astaksantin serbest radikalleri etkin bir şekilde temizlediği, anti-tümör, anti-inflamatuar, kan kolesterolünü düşürücü ve koroner kalp hastalığı riskini azaltıcı etkisinin olduğu belirtilmiştir (Zhao vd., 2019). Bu özellikleri sayesinde astaksantin gıda, ilaç, kozmetik ve yem sanayinde yaygın kullanım alanına sahiptir.

Astaksantin doğal yollarla elde edilebildiği gibi kimyasal olarak da sentezlenebilmektedir. Ancak kimyasal yolla elde edilen astaksantin doğal kaynaklardan elde edilene kıyasla biyoyararlılığının düşük ve daha güvensiz olması nedeniyle, gıda alanında kullanımı yasaklanmıştır. Bu da doğal kaynaklardan elde edilen astaksantin ihtiyacını arttırmıştır (Dong vd., 2013).

Kırmızı karides türleri, doğal astaksantin kaynağı olarak bilinmektedir (Estaca vd., 2016, Wang vd., 2018). Karides endüstrisinde, karides etinin rengi, tüketici tercihini etkileyen önemli bir kalite parametresidir. Bu nedenle, kırmızı renk gelişiminin derecesi, karideslerin ticari değerini belirleyen önemli bir faktördür (Wang vd., 2018). Karideslerin işlenmesi sırasında, türe, boyuta ve kabuk soyma işlemine bağlı olarak, hammadde ağırlığının yaklaşık %40-50'si baş, kuyruk ve kabuk gibi yenmeyen atık parçalardan oluşmaktadır (Parjikolaei vd., 2015). Bu atıklar, doğrudan gıda olarak değerlendirilmeyebilmekte, ancak yine de değerli besinler ve proteinler, kitin, lipitler ve karotenoid pigmentler (ana pigment maddesi astaksantin) gibi fonksiyonel bileşikler içermektedir. Bu değerli bileşenlerin atıklardan geri kazanılması, yalnızca karides işleme firmaları için ekonomik değer taşımakla kalmamakta, aynı zamanda karides atıklarının kirlilik potansiyelini de en aza indirmektedir. Karides atıkları, karotenoid

(astaksantin) geri kazanımı için en ucuz hammaddedir ve sentetik karotenoid için de daha iyi bir alternatiftir (Sachindra ve Mahendrakar, 2005).

Diğer taraftan değerli bir bileşik olan astaksantin yüksek lipofilik özellik göstermesi nedeniyle, suda çözünürlüğü çok azdır. Ayrıca doymamış yapısı nedeniyle kolayca okside olabildiğinden depolama stabilitesi de düşüktür (Zhao vd., 2019). Yapılan çalışmalarda, serbest haldeki astaksantin, ısıtma işlemi ya da depolama sırasında ışıığa, sıcaklığa, pH'a ve oksijene karşı hassas olduğu ortaya konulmuştur (Feng vd., 2018).

Astaksantin gibi, yağda çözünen bileşiklerin suda çözünür özelliklerinin ve stabilitelerinin artırılmasına yönelik lipozomlar, emülsiyonlar, katı lipid partiküller gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Su içinde yağ emülsiyonları gıda, ilaç ve kozmetik gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılan emülsiyon çeşitlerinden biridir. Yağ fazı olarak kullanılan materyallerin polaritesi, viskozitesi ve diğer fizikokimyasal özellikleri emülsiyon oluşumunu ve stabilitesini doğrudan etkilemektedir (Jin vd., 2016). Ayrıca, bitkisel yağların yapısında yer alan trigliseritlerin büyük molekül yapıları ve yüksek viskoziteleri nedeniyle, faz değişim sıcaklığı ve yüksek basınç homojenizasyon teknikleri ile emülsiyon üretimini zorlaştırmaktadır (Roohinejad, 2015).

Stabil bir emülsiyon sisteminin hazırlanmasında karbonhidratlar, lipidler, amino asitler, peptitler, proteinler, enzimler, fenolik bileşikler, terpenoidler ve saponinler gibi bazı yüzey aktif maddelerin sıklıkla kullanıldığı rapor edilmektedir (Yang ve McClement, 2013). Son yıllarda emülgatör ihtiyacının karşılanması amacıyla çeşitli kaynaklardan elde edilen saponinlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar artmıştır.

Saponinler, steroid ya da triterpenoid yapıda, lipofilik yapıya sahip bir çekirdek ve karbonhidrat yan zincirlerine sahip, glikozit yapıya sahip bileşiklerdir. Doğada bazı deniz hayvanlarında, pek çok bitkide ve özellikle baklagillerde doğal olarak bulunmaktadır. Bitkisel kaynaklarda triterpenoid saponinler bitkinin kök ve riboz kısmında birikirken; steroidal saponinler bulunduğu bitkinin yapraklarında yer almaktadır. Saponinler güçlü köpük oluşturma özelliğine ve yapısındaki hem hidrofilik hem lipofilik uçlar (amfifilik özellik) sayesinde yüzey aktivitesini düşürme özelliğe sahiptir (Güçlü ve Uyanık, 2004). Özellikle bitkilerin kök kısmında bulunan triterpenoid saponinlerin, emülsiyon sistemlerinde istenen viskoelastik yapıyı ve emülsiyonda stabiliteyi sağladığı belirtilmiştir (Góral ve Wojciechowski, 2020).

Çalışmada ilk olarak kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*) işleme artıklarından elde edilen astaksantin içeren yağlı ekstrakt, balık yağı (uskumru yağı) ile seyreltilerek astaksantin yağ içinde dispersiyonu sağlanmıştır. Elde edilen astaksantin-balık yağı karışımı soya fasulyesi lesitini (I) çöven kökü (*Gypsophila bicolor*) saponinleri (II) ve tween-80 (III) gibi emülgatörler kullanılarak emülsifiye edilmiştir. Doğal ve sentetik yapıya farklı emülgatörler kullanılarak elde edilmiş olan astaksantin-balık yağı emülsiyonları oda sıcaklığı ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) bir ay depolanmıştır. Depolanmaları süresince emülsiyonların reolojik, fizikokimyasal ve oksidatif özellikleri karşılaştırılarak çöven kökü (*Gypsophila bicolor*) saponinlerinin emülgatör olarak kullanım özellikleri belirlenmiştir.

Yapılan tez çalışmasında astaksantin su içerisinde çözünürlüğünün ve dolayısıyla biyoyararlılığının artırılması için tamamen doğal bileşiklerden hazırlanmış su içinde yağ emülsiyonları oluşturularak çöven kökü saponinlerinin emülsifiye sistemlerde kullanım olanaklarının ve emülsiyonların depolama süresince fiziksel ve kimyasal stabilite özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Balık Yağı

Balık yağı, eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6) başta olmak üzere, omega-3 (ω -3) çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) başlıca kaynağıdır. EPA ve DHA yağ asitlerine ait zincir yapısı Şekil 2.1’de verilmektedir. Birden fazla çift bağ içeren bu yapısal özellik sayesinde balık yağı, üzerinde uzun yıllardır kapsamlı çalışmalar yapılan fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar, balık yağının kan pıhtılaşması, koroner kalp hastalığı ve hipertansiyon riskini azalttığını, kardiyak aritmilerini ve ani ölümleri önlediğini ve beyin fonksiyonlarını iyileştirdiğini göstermektedir (Sidhu, 2003; Ellulu vd., 2015). Balık yağının bu faydalı özelliklerinden yararlanmak için günlük beslenmede balık tüketime önem verilmelidir. Ancak taze balığa ulaşım mümkün olmadığında ya da balık tüketimi çeşitli nedenlerle tercih edilmediğinde, balık yağı ile zenginleştirilmiş gıdaların kullanımı tavsiye edilmektedir (Jamshidi vd., 2020).



Şekil 2.1. EPA ve DHA yağ asitleri zincirleri

Balık yağında lipit oksidasyonunun hızı, kimyasal yapıdaki çift bağ sayısının artmasıyla artmaktadır. Yüksek doymamışlık seviyeleri nedeniyle ω -3 PUFA'ler hava (oksijen), ışık ve yüksek sıcaklığa maruz kaldıklarında kolayca okside olmaktadır (Comunian vd., 2018). Yağ asitlerinin oksidasyonu gıdanın lezzetini, aromasını, dokusunu, raf ömrünü ve rengini etkilemekte, bu da balık yağının gıda maddelerinde kullanımını sınırlamaktadır (Ye vd., 2009). Balık yağında oksidasyonu önlemek ve balık yağının çeşitli gıda maddelerine ilave etmek için miseller, emülsiyonlar, mikroemülsiyonlar, nanoemülsiyonlar, çoklu emülsiyonlar, katı lipit nanoparçacıkları ve mikroenjeller gibi pek çok koloidal dağıtım sistemi bulunmaktadır (McClements, 2018).

Balık yağını özellikle süt, içecekler ve soslar gibi sıvı gıdalara dahil etmek için su içinde balık yağı emülsiyonlarının uygulanması başarılı bir yöntemdir. Böylece, yağ ve oksijen ve/veya prooksidanlar (örneğin serbest radikaller ve metal iyonları) arasında ara yüzey tabakası benzeri fiziksel bir bariyer oluşturulmakta ve balık yağı gıda sistemi içerisinde oksidasyona karşı korunmaktadır (García-Moreno vd., 2016). Ayrıca gıda matriksi balık yağının fonksiyonel özelliğine sahip olurken, balık yağındaki istenmeyen balıgımsı koku da maskelenmiş olmaktadır (Bai vd., 2019). Bununla birlikte, oksidasyonun önlenmesi amacıyla balık yağı ile, güçlü bir antioksidan özelliğe sahip

olan astaksantin kullanımı ile ilgili de birçok çalışma bulunmaktadır (Otton vd., 2012; Barros vd., 2012; Polotow vd., 2015).

2.2. Astaksantin

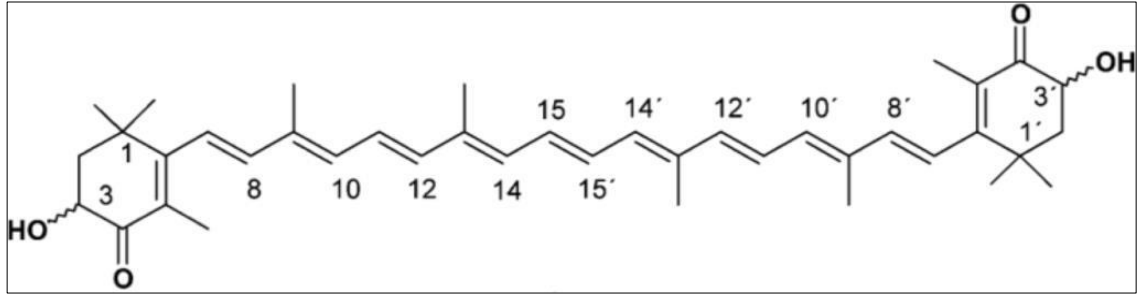
Karotenoidler, bitkiler ve bazı fotosentetik mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, izopren birimlerinden oluşan ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}=\text{CH}_2$), lipofilik yapılı, sarıdan kırmızıya kadar renk veren pigmentlerdir (Bonet vd., 2020, Rehman vd., 2020). Doğada, 600'ün üzerinde bilinen karotenoid çeşidi bulunmakla birlikte, karotenoidler temelde karotenler (a, b, g karoten, likopen vb.) ve ksantofiller (a ksantofil, lutein, astaksantin, zeaksantin vb.) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Kimyasal yapılarında oksijen bulunan karotenoidler ksantofiller olarak adlandırılırken, oksijen bulundurmeyen hidrokarbon yapılar karotenleri oluşturmaktadır.

Karotenoidlerin etkileri, hücre zarlarıyla nasıl etkileştiklerine bağlı olarak değişmektedir. Polar yapıdaki ksantofil grubu karotenoidlerin lipit peroksidasyonu üzerindeki etkileri, çoklu doymamış yağ asidi ile zenginleştirilmiş bir membran modeli ile değerlendirilmektedir. Likopen ve β -karoten gibi polar yapıda olmayan karoten grubu karotenoidler, membran yapısını koruyan polar ksantofillerin aksine, membran bozukluğuna ve lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (Fassett ve Coombes, 2011). Ksantofillerde oksijen atomu, hidroksil (lutein, zeaksantin vb.), epoksit (neoksantin, fukosantin, violaksantin vb.) ve karbonil (astaksantin, kantaksantin, kapsantin vb.) gibi farklı fonksiyonel formlarda bulunmaktadır (Saini vd. 2020). Ksantofillerin uç kısmında bulunan hidroksil grupları onlara fonksiyonel özellik kazandırır ve özellikle astaksantin gibi ksantofil grupları önemli antioksidan özellik göstermektedir (Martinez-Dalgado vd., 2017).

Astaksantin (3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4,4'-dione) yağda çözünen, kırmızı turuncu renkte, terpen yapılı ksantofil grubu karotenoid çeşididir (Gao vd., 2020). Kimyasal olarak karotenoidlerden sentezlenebildiği gibi, çeşitli biyolojik kaynaklardan da ekstrakte edilebilmektedir. Ancak kimyasal olarak sentezlenen astaksantin stabilitesi ve vücut tarafından emilimi azdır. Bu nedenle insan beslenmesinde güvenilir kabul edilmemektedir. Astaksantin fonksiyonel özellikleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalara bakıldığında astaksantin güçlü antioksidan özelliği sayesinde, cilt yaşlanmasını önlediği (Davinelli, 2018), bağışıklık sistemini güçlendirdiği (Park vd., 2010), karaciğer yağlanmasını azalttığı (Ni vd., 2015), kan akışını düzenleyerek kardiovasküler hastalıkları önlediği (Saito vd., 2012), kanser ve diyabeti önlediği (Sztretye, 2019), göz sağlığını koruduğu (Giannaccare, 2020), beyin gelişimine katkı sağladığı (Grimmig vd., 2019), erkek üreme sistemine olumlu etkilerinin olduğu (Comhaire vd., 2005) bildirilmiştir.

Astaksantin ilk olarak 1938 yılında Richard Kuhn tarafından istakozlardan izole edilmiş ve hayvan sağlığını iyileştirdiği bildirilmiştir. 1987 yılında ise, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), astaksantini su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisi için bir yem katkı maddesi olarak onaylamış ve daha sonra 1999'da da bir diyet takviyesi (nütrasotik) olarak kullanımı onaylanmıştır (Fassett ve Coombes, 2011). Astaksantin ekstraksiyonu için algler, mayalar, kompleks bitkiler ve kabuklu su ürünleri, somon, alabalık gibi doğal kaynaklar kullanılabilir. Ayrıca flamingo ve bıldırcın gibi bazı kuşların tüylerinde de astaksantin bulunmaktadır. Astaksantin,

Rhodotorula çeşidi mayalardan (%0,4) ve *Haematococcus pluvialis* (%1,5-3) türü mikroalglerden üretilbildiği gibi çeşitli kabuklu su ürünlerinden de ekstrakte edilebilmektedir (Li, 2020).



Şekil 2.2. Astaksantin Kimyasal Yapısı (Fassett vd. 2011)

Astaksantine ait kimyasal yapı Şekil 2.2’de verilmektedir. Astaksantin yapı itibariyle β -karotene ve E vitaminine benzemesine rağmen, astaksantin antioksidan aktivitesi β -karotenden yaklaşık 40, E vitamininden 500 kat ve C vitamininden ise tam 6000 kat daha fazladır (Dong vd., 2013). Diğer karotenoid çeşitlerine kıyasla astaksantinde antioksidan özelliği arttıran ilave 2 oksijen grubu bulunmaktadır. Bu sayede astaksantin, serbest radikallerin zincirlerini kırarak lipid oksidasyonuna ve oksidatif strese karşı oldukça etkilidir (Xia vd., 2020). Astaksantin, polien zincirindeki çift bağların çokluğu ve her iyondaki karbonil ve hidroksil fonksiyonel grupların varlığı sayesinde oksijen söndürme ve serbest radikalleri temizleme önemli rol oynamaktadır. Ayrıca lipofilik bir omurga ve hidrofilik uçlar sayesinde hücre zarında düzgün bir transmembran hizalanması oluşturmaktadır. Bu yapı da astaksantin polar uçlarının, sitoplazma içine ve hücre zarının dışındaki sulu ortama yeterince etki ederek omurgadaki çift bağlar boyunca elektron transferini kolaylaştırarak yüzeydeki serbest radikalleri temizlemeyi sağlamaktadır.

Güçlü antioksidan özelliği sayesinde astaksantin, başta insan sağlığı ve beslenmesi olmak üzere su ürünleri yetiştiriciliği ve kozmetik sanayii gibi dünya çapında çok geniş kullanım alanına sahiptir (Yu ve Liu, 2020). Bazı nütrasötik bileşikler mide sistemi üzerinde etki ederken, bazıları da mide zarlarına nüfuz etmekte ve kan dolaşımıyla organlara ve hücrelere taşınmaktadır. E vitamini gibi bazı nütrasötikler su bazlı gıdalarda (özellikle içecekler) çözünmezken, kateşinler gibi nütrasötikler yağ bazlı ürünlerde çözünmez. Bazı bileşikler ise (likopen, lutein, koenzim Q10 gibi) hemen hemen hiçbir gıda sınıfı sürekli faz içerisinde çözünmezler. Kısaca, nütrasötik bileşikleri ve gıda katkı maddelerini çözündürme ve gıdalara taşınmak ve biyoyararlanımı arttırmak için taşıyıcı sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda giderek artan ihtiyacına rağmen, astaksantin kullanımı hala baskın kokusu, sulu sistemlerde düşük çözünürlüğü, hızlı metabolize olması, yüksek konjuge yapısı ve doymamışlık düzeyi nedeni ile kısıtlanmaktadır. Saf haldeki astaksantin kırmızı renktedir, ancak proteinler veya lipoproteinler ile kompleks oluşturduğunda mavi veya mor renge dönüşmektedir (Feng vd., 2018). Serbest astaksantin, ısıl işlem veya depolama sırasında ışığa, sıcaklığa, pH’a ve oksijene duyarlıdır. Olumsuz koşullara maruz kaldığında astaksantin kimyasal olarak bozulma eğilimindedir ve beraberinde renk solması ve biyolojik aktivite kaybı ortaya çıkmaktadır (Zhao vd., 2019). Bu nedenle, potansiyel endüstriyel

uygulamalar için astaksantin özelliklerini geliştirmek için bu kısıtlamaların üstesinden gelmek gerekmektedir.

Piyasada bulunan astaksantinler doğal ekstraksiyon veya sentetik üretim ile elde edilmektedir. Doğal astaksantin için piyasa bedeli yaklaşık 2500-7000 ABD doları/kg iken, sentetik astaksantin için 1000 ABD doları/kg olarak bildirilmiştir (Dave vd., 2020). Sentetik olarak üretilen astaksantin pazarı büyüklüğü, 2017 yılında 550 milyon ABD doları olarak bildirilmekte ve bu rakam dünya pazarının yaklaşık %95'i oluşturmaktadır. 2018 ile 2024 yılları arası tahmin dönemi boyunca bileşik yıllık büyüme oranının %4,8 olacağı tahmin edilmektedir (Fang vd., 2019). Kozmetik ve su ürünleri yetiştiriciliğinin haricinde özellikle nütrosotik olarak kullanılan sentetik astaksantin, tüketicilerde güvenlik endişesine ve sağlıkla ilgili bazı yasal sorunlar oluşturmaktadır. Bu endişe tüketiciler tarafından doğal astaksantine olan talepte artışa neden olmaktadır. Özellikle diyet takviyeleri üretiminde temel doğal astaksantin kaynağı olarak *Haematococcus pluvialis* türü alglerden yararlanılmaktadır. 2017 yılında H. *Pluvialis*'den üretilen astaksantin yaklaşık %50'sini küresel nütrosotik endüstrisinin kullandığı ancak, 2018 yılı tahmini piyasa değerinin 2500-15000 ABD doları/kg arasında değiştiği bildirilmektedir (Li vd., 2020b). Hem doğal kaynaklı astaksantin çok yüksek fiyatlara temin edilmesi hem de büyük ölçekli alg yetiştiriciliğinde ortaya çıkan bazı problemler doğal astaksantin için yeni kaynak ihtiyaçları oluşturmaktadır. Ayrıca yetiştiricilik alanında kullanılan sentetik astaksantinlerin yem fiyatlarında %25'lik bir artışa neden olduğu, bu nedenle yerli üretim doğal karotenoid kaynakların kullanılmasının önemli ve daha ekonomik olacağı bildirilmektedir (Gündüz vd., 2018). Günümüz tüketici taleplerini karşılamak amacıyla güvenilir, ekonomik ve çevre dostu bir astaksantin kaynağı olarak karideslerin baş, kabuk ve kuyruk gibi atık kısımlarının değerlendirilmesi üzerinde çalışılan önemli bir konudur.

2.2.1. Astaksantin ekstraksiyonu

Endüstriyel atıklardan değerli bileşiklerin elde edilmesinde geleneksel ve yeni çeşitli ekstraksiyon tekniklerinden yararlanılmaktadır. Solvent ekstraksiyonu, yağda çözündürme, süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu, ultrasonik destekli ekstraksiyon, enzimatik hidroliz gibi pek çok farklı ekstraksiyon metodu astaksantin eldesi için kullanılmaktadır (Handayani vd., 2008, Hu vd., 2019, Deng vd., 2020).

Solvent ekstraksiyonu astaksantin eldesi için yaygın olarak kullanılan ancak, verimi düşük bir yöntemdir. Astaksantin ekstraksiyonu için orta polariteye sahip solventlerin ve kombinasyonlarının kullanımının daha etkili olduğu belirtilmiştir (Dave vd., 2020). Gıda endüstrilerinde, diklorometan, dimetil sülfoksit ve kloroform gibi yüksek toksisiteye sahip çözücülerin kullanımına izin verilmezken, aseton, etanol, etil asetat, izopropanol, hekzan ve metil etil keton gibi bazı çözücüler kullanılabilir. Çözücülerin izin verilen kalıntı miktarı kullanıldığı yiyeceklerin türüne bağlı olarak değişmektedir (Gulzar vd., 2020a).

Ekolojik bir ekstraksiyon tekniği olarak bilinen bitkisel yağ ekstraksiyonu çevre sorunlarını önlemede avantajlı olmasına rağmen, kullanılan yağların yüksek viskozitesi, daha az yayılım göstermesi ve ekstraksiyon parametreleri üzerine kapsamlı bir çalışmanın olmaması ve dolayısıyla optimum çalışma koşullarına ulaşamaması gibi

nedenlerle, geleneksel yöntemlere kıyasla verimli bir ekstraksiyon sağlamamaktadır (Parjikolaei vd., 2015).

Enzimatik hidroliz tekniği, verimli bir uygulama olmasına rağmen, karotenoid protein kompleksinin koruyucu değerinin sürekli proteoliz nedeniyle ile azaldığı, bu nedenle, çoğu zaman antioksidan veya proteaz ekleme gibi ilave işlemler gerektirdiği belirtilmiştir (Zhao vd., 2019).

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ucuz, toksik olmayan, 30 derece üzeri sıcaklıklarda ve 7 MPa'nın üzeri basınçta çalışıla bilinen bir yöntemdir (Ahmadkelayeh ve Hawboldt, 2020). Ancak bu yöntem tek başına uygulandığında verimli değildir. Astaksantin çözünürlüğünün artırılması için yüksek basınç (>400 bar) ya da polar solvent ilavesi gerekmektedir (Sánchez-Camargo vd., 2012).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyonu, olarak da adlandırılmaktadır. Ekstraksiyonda uygulanan ultrasonik güç, sıcaklık ve çözücü yoğunluğu kritik parametreler olarak kabul edilmektedir (Rammuni vd., 2019). Hem mekanik hem de termal etkisinden dolayı oldukça etkilidir ve hücre duvarının kolaylıkla parçalanması sağlamaktadır (Grimi vd. 2014). Ultrasonik destekli ekstraksiyon uygulamaları düşük yoğunluklu yüksek frekanslı ultrason ve yüksek yoğunluklu düşük frekanslı ultrason olarak 2 şekilde yapılmaktadır. Düşük yoğunluklu ultrason herhangi bir fizikokimyasal yıkıma neden olmamakta, daha çok sonografi gibi algılama/teşhis amaçlı kullanılmaktadır. Yüksek yoğunluklu ultrason uygulamaları ise 20-100 kHz'lik frekanslarla yapılmakta ve örneğe akustik titreşimler uygulanmaktadır. Bu titreşimler örnek içinden geçerken kavitasyon (boşluk oluşumu) meydana getirmekte ve bu da ortamda çok sayıda ufacık kabarcıklar üreterek ve katıların mekanik olarak sarsılmasına ve partiküllerin kopmasına neden olmaktadır (Grosso vd. 2015). Ultrasonik destekli ekstraksiyon, büyük moleküllerin parçalanmasında, partiküllerin nano boyuta küçültülmesinde, çeşitli biyoaktif maddelerin matrisden çıkarılmasında, emülsiyon oluşturulmasında ve homojenizasyon gibi çok çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Koshani ve Jafari, 2019). Literatür incelemeleri sonucu, ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminin, "Yeşil Gıda İşleme" tekniklerinden kabul edildiği, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla biyomoleküllerin eldesinde daha güvenli, verimli ve umut vadeden bir yöntem olduğu görülmektedir (Khoo vd., 2020). Gerçekleştirilen tez çalışmasında, karides atıklarından astaksantin ekstraksiyonu için basit, verimli, toksik olmayan ve işlem süresi kısa olan bir yöntem olarak bilinen ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi seçilmiştir (Prameela, 2017).

2.3. Karides

Başlıca pembe-kırmızı karides türleri olan *Aristeus antennatus*, *Aristeomorpha foliacea* ve *Parapenaeus longirostris* doğal astaksantin kaynağı olarak bilinmektedir (Gomez-Estaca vd., 2016, Wang vd., 2018). Karides endüstrisinde, karides etinin rengi, tüketici tercihini etkileyen önemli bir kalite parametresidir. Bu nedenle, kırmızı renk gelişiminin derecesi, karideslerin ticari değerini belirleyen önemli bir faktördür (Wang vd., 2018). Tez çalışmasında ticari değeri yüksek, kırmızı karides olarak bilinen *Aristaeomorpha foliacea* türü karides atıkları kullanılmıştır.

Sistematik Sınıflandırılması;

Şube: Arthropoda

Sınıf: Crustacea

Altsınıf: Malacostraca

Takım: Decapoda

Alt takım: Natantia

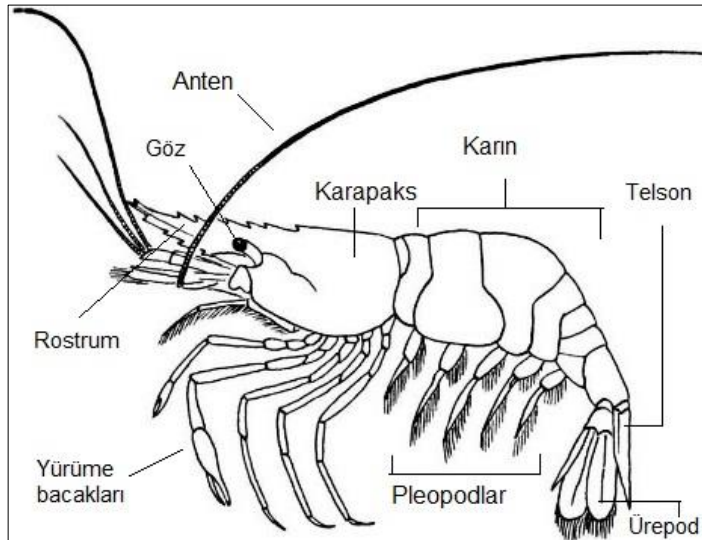
Bölüm: Penaeidea

Familya: Aristaeidae

Tür: *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) şeklindedir

Dev kırmızı karides *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827), bilinen en geniş coğrafi aralıklardan birine sahip, demersal, derin deniz türüdür (Cartes vd., 2014). Ilıman ve tropikal bölgelerde, dünyanın tüm okyanuslarında bulunmaktadır. Akdeniz kıyılarında oldukça değer verilen, ekonomik açıdan önemli ve iyi bilinen balıkçılık kaynakları arasındadır (Bono vd., 2016).

Dev kırmızı karidese ait morfolojik bölümler Şekil 2.3'te verilmektedir. Karapaks kısa tüylerle örtülüdür. Rostrumu dişilerde ve genç erkeklerde uzun ve yukarı kıvrık, erkeklerde daha kısa olup üst tarafı 5-6 dişlidir. Karnının I. ve II. segmentleri kaburgasız, diğerlerinde geriye uzanan kısa dişli birer sırt kaburgası bulunur. Boyu en fazla 22cm uzunluğa erişebilir ve genellikle 15-18cm 'dir.



Şekil 2.3. Karidesin morfolojik bölümleri

Karides üretiminde özellikle Asya ülkeleri (%80), ABD, Avrupa, Kanada, Japonya ve Güney Kore en büyük çiftlik karidesi üreticileridir. Dünya genelinde karides üretiminin, 2025 yılına kadar 7,3 milyon tona ulaşması beklenmektedir (Nirmal vd., 2020).

İşlenmiş deniz ürünlerinin yaklaşık %45'ini karides oluşturmakta ve genellikle karides, et olarak işlenmektedir. Bu pazar payına bağlı olarak her yıl yaklaşık 6–8 milyon ton kabuklu atığının oluştuğu bildirilmektedir. (Mao vd., 2017). İşlenmiş karidesler, başı alınmış karides veya kabuksuz karides olarak sınıflanabilmektedir. Atık kısım olarak ise sadece baş, sefalotoraks (baş ve gövde) ve/veya dış iskelet ayrılabilir (Mezzomo vd., 2013). Karideslerin işlenmesi sırasında, türe, boyuta ve kabuk soyma işlemine bağlı olarak, hammadde ağırlığının yaklaşık %40-50'si baş, kuyruk ve kabuk gibi yenmeyen atık parçalardan oluşmaktadır (Parjikolaei vd., 2015). Bu atıklar, doğrudan gıda olarak değerlendirilmeyebilir, ancak yine de değerli besinler ve proteinler, kitin, lipitler ve karotenoid pigmentler (ana pigment maddesi astaksantin) gibi fonksiyonel bileşikleri içermektedir. Bu değerli bileşenlerin atıklardan geri kazanılması, yalnızca karides işleme firmaları için ekonomik değer taşımaz, aynı zamanda karides atıklarının endüstriyel kirlilik potansiyelini de en aza indirmektedir. Karides atıkları, karotenoid geri kazanımı için en ucuz hammadde ve sentetik karotenoidlere göre de daha iyi bir alternatiftir (Sachindra ve Mahendrakar, 2005).

Karides atıkları %18-40 protein, %35 mineral ve %14-30 kitinden oluşmakta ve bunlara ek olarak iyi bir karotenoid pigment (özellikle astaksantin) kaynağıdır (Ambigaipalan ve Shahidi, 2017).

2.4. Çöven kökü (*Gypsophila bicolor*)

Alem	: Plantae (bitkiler)
Takım	: Caryophyllales
Familiya	: Caryophyllaceae (karanfilgiller)
Cins	: <i>Gypsophila</i>
Tür	: <i>Gypsophila bicolor</i>

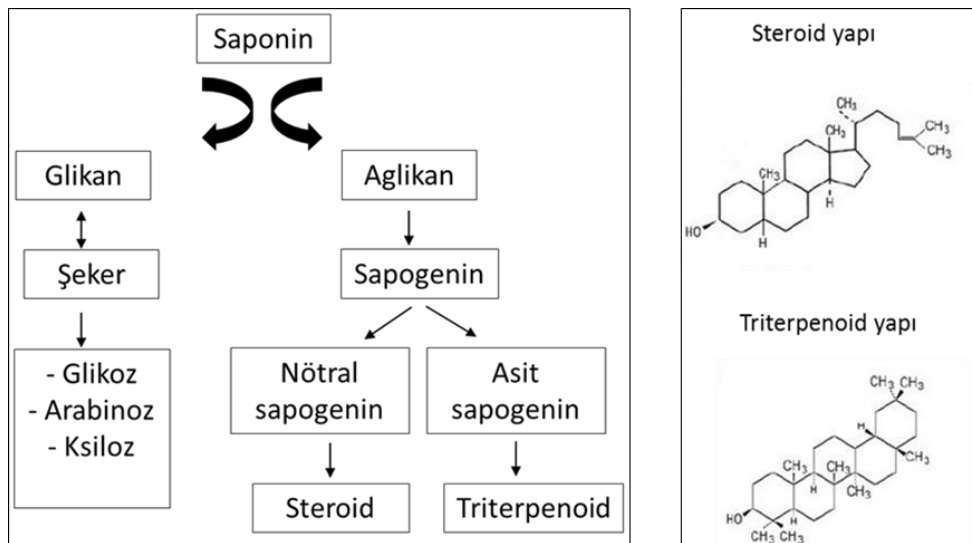
Çöven, çöven otu ya da çöğen olarak adlandırılan bitki, (Caryophyllaceae) familyasına ait, ekonomik öneme sahip, 5-120 cm boyunda bir bitki cinsidir (Kaya vd., 2012). Çöven otu, Türkiye'de Orta ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişen, Haziran-Temmuz aylarında beyaz çiçekler açan, çok yıllık, kazık köklü, otsu bir bitkidir (Öztürk, 2010). *Gypsophila bicolor* türüne ait çiçekler ve kökler Şekil 2.4'te verilmektedir. Türkiye'de *Gypsophila* cinsine ait 53 tür bulunmaktadır ve bunun 33'ü endemiktir (Çağlayanlar, 2006). Bu *Gypsophila* türlerinden yalnızca 5 türü, çöven kökü ekstraktı üretiminde kullanılmaktadır (Pazır vd., 2013).



Şekil 2.4. İki yasındaki *Gypsophila bicolor* türüne ait çiçekler ve kökler (İnan, 2006)

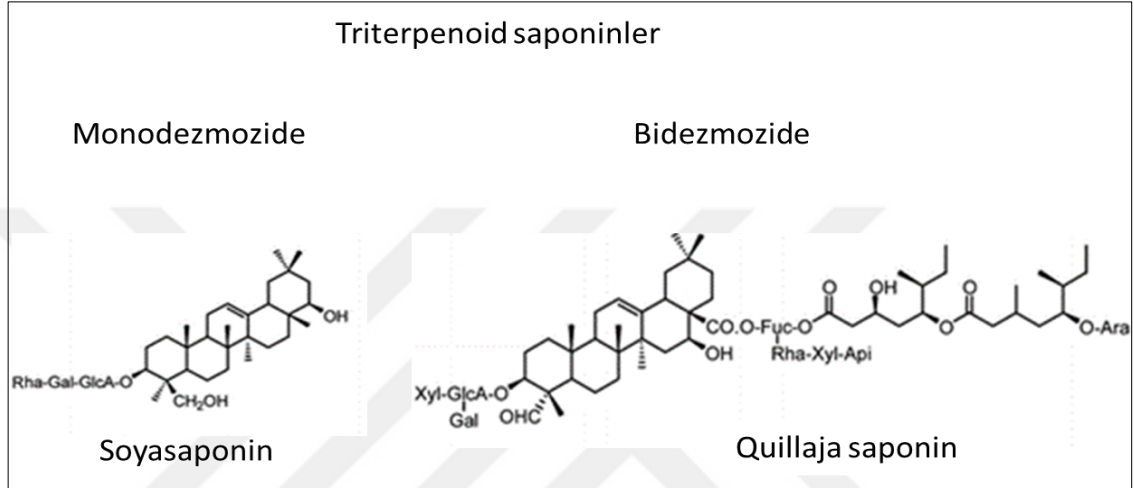
Saponin adı, sabun anlamına gelen Latince “sapo” kelimesinden türetilmiştir, çünkü saponin molekülleri sabun benzeri bir köpük oluşturabilmektedir. Saponinlerin verimi bazı türlerde %20'ye (kuru ağırlık) ulaşabilir, ancak büyüme dönemine, bitkinin bir kısmına ve mevsime göre değişebilmektedir. Bir bitki içindeki saponinlerin en yüksek verimi, türlere bağlı olarak, genellikle köklerde veya tohumlarda bulunmaktadır. Ham saponinler, acı bir tada sahip beyaz bir toz şeklinde görünmekte ve hapsirmayı kolayca tetiklemektedir (Böttger ve Melzig, 2011).

Saponinler, 600 ila 2000 Da arasında değişen düşük molekül ağırlığına sahip ikincil bitki bileşikleridir (Press vd., 2000). Hidrokarbon yapıları karmaşıktır. Saponinlerin yapısal adlandırması Şekil 2.5'te verilmektedir. Saponinler, glikan ve aglikan (sapogenin) olmak üzere iki kısımdan oluşmakta ve aglikan kısmına göre de steroidal veya triterpenoidal saponinler olarak ayrılmaktadırlar (Güçlü ve Uyanık, 2004).



Şekil 2.5. Saponinlerin yapısal adlandırılması (Press vd., 2000)

Aglıkan kısımdaki OH, COOH ve CH₃ gibi yapılar saponinlere fonksiyonel özellik kazandırmaktadır. Glikan kısım ise fonksiyonel grupların birine/birkaçına bağlanmış, düz ya da dallı zincirli oligosakkaritlerden oluşmaktadır. Ayrıca saponinler, aglıkan kısmına bağlanan şeker sayısına göre monodezmozide (tek şeker grubu bağlı), bidezmozide (iki şeker grubu bağlı) ve tridezmozide (üç şeker grubu bağlı) olarak adlandırılmaktadır (Mugford ve Osbourn, 2012). Triterpenoid saponinlere ait monodezmozide ve bidezmozide yapı Şekil 2.6’da verilmektedir. Genel olarak bağlanan şeker yapıları glikoz, galaktoz, riboz, ksiloz, arabinoz, früktoz, ramnoz ve gliküronik asittir.



Şekil 2.6. Triterpenoid saponinlerde monodezmozide ve bidezmozide yapı (Mugford ve Osbourn 2012)

Saponinlerin esas kaynağı bitki materyalleri olmakla birlikte, bazı deniz hıyar ve deniz yıldızı türleri de saponin içermektedir. Bazı bitki türlerine ait saponin miktarları Çizelge 2.1’de verilmektedir. Şu ana kadar üzerinde en çok çalışılan saponin kaynağı ginseng’dir ve soya, nohut şeker pancarı da saponin içeren diğer bitkisel kaynaklardır.

Üzerinde kapsamlı bir şekilde çalışılmış triperpenoid yapıları saponin grubuna en iyi örnek andes bölgesine özgü bir ağaç olan *Quillaja saponaria*’dan elde edilen saponinlerdir. Bunun dışında soya fasulyesi, fasulye, bezelye, yonca, çay, ıspanak, şeker pancarı, kinoa, meyan kökü, ayçiçeği, at kestanesi ve ginsengde de triterpenoid yapıları saponinler tespit edilmiştir. Ticari olarak en yaygın kullanılan steroid yapıları saponin ise *Yucca schidigera*’dan elde edilmektedir (Yücekutlu ve Bildacı 2008).

Saponinler bitkisel materyallerin farklı kısımlarında, farklı miktarlarda bulunmaktadır. *Vaccaria* türlerinde saponin miktarı en çok köklerde (Güçlü- Üstündağ vd, 2007), *Gypsophila* türlerinde köklerde (Voutquenne-Nazabadioko vd., 2013) ve *Gymnema sylvestre* türlerinin yapraklarında (Mandal vd., 2009) bulunmaktadır.

Çizelge 2.1. Bazı bitki türlerine ait saponin miktarları (Küçükkurt ve Fidan, 2008)

Bitki	Saponin (g/kg KM)
Nohut (<i>Cicer arietinum</i> L.)	2,3-60
Soya Fasulyesi (<i>Glycine Max</i> L. Merrill)	43
Yonca (<i>Medicago sativa</i> L.)	56
Yonca Filizleri	87
Yeşil Fasulye (<i>P. vulgaris</i>)	13
Maş Fasulyesi (<i>P. mungo</i>)	0,5-5,7
Fıstık (<i>Arachis hypogaena</i> L.)	6,3
Ispanak (<i>Spinacea oleracea</i> L.)	47
Mercimek (<i>Lens culinaris</i>)	3,7-4,6
Susam Tohumu (<i>Sesamun indicum</i> L.)	3,0
Yeşil Bezelye (<i>Pisum sativum</i> ssp.)	11
Kuşkonmaz (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	15
Sarımsak (<i>Allium sativum</i> L.)	2,9
Yulaf (<i>Avena sativa</i> L.)	1,0
Pancar (<i>Beta vulgaris</i>)	58
Bakla (<i>Vicia faba</i>)	3,5

2.3.1. Saponinlerin kullanım alanları

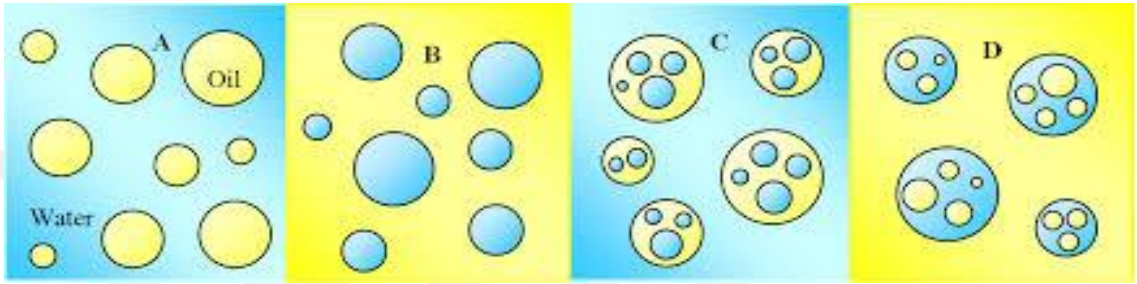
Saponinlerin yapısal çeşitliliğinin çok olması onlara farklı fonksiyonel özellikler kazandırmaktadır. Ticari olarak tıpta, eczacılıkta, kozmetik sanayiinde, temizlik maddeleri üretiminde, gıda sanayiinde (doğrudan gıda olarak ya da emülsifiye film, helva, dondurma ve otlu peynir üretiminde) kullanıldığı bildirilmektedir (Şimşek, 2011). Çöven bitkisinden elde edilen kök ve rizomların kaynatılması sonucu elde edilen ve ana bileşeni saponin olan çöven kökü ekstraktı; tahin helvası, koz helva ve pafla lokumu olarak adlandırılan gıdaların üretiminde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Pazır vd., 2013).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde saponinlerin anti-bakteriyel, anti-fungal, antioksidan, amonyak bağlayıcı, bağırsak epitel hücrelerinde yüzey gerilimini düşürücü etkilerinin olduğunu göstermiştir (Cheok vd., 2014, Duman ve Keser, 2018).

Ayrıca bazı saponinlerin (özellikle *Drymaria arenarioides*) sapotoksin adı verilen protoplazmatik bir toksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu saponinler seyreltik asitlerle hidrolize olup dekstroza, galaktoza, pentoz ve saponogen adı verilen bileşiklere parçalanmaktadır. Saponinler ağız yolu ile alındığı zaman normal koşullarda, insanlarda toksik etkiye neden olmazken deney hayvanları üzerinde bazı fizyolojik etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Şimşek, 2011).

2.4. Emülsiyon Teknolojisi

Emülsiyonlar, birbiri içinde karışmayan en az iki farklı sıvı (genellikle su ve yağ) ve bir emülgatör maddeden oluşan, termodinamik açıdan kararsız sistemlerdir. Sistem içerisinde miktar olarak daha az bulunan kısım dağılmış (iç) faz, daha fazla bulunan kısım ise sürekli (dış) faz şeklinde adlandırılmaktadır. Emülsiyonlar, yağ partiküllerinin emülsiyon içindeki miktarına göre, su içinde yağ (y/s) ve yağ içinde su (s/y) emülsiyonları olarak temelde 2 grupta incelenmektedir (Zhou et al., 2021). Ancak su içerisinde, yağ içerisinde su emülsiyonu (s/y/s) ve yağ içerisinde, su içerisinde yağ emülsiyonu (y/s/y) gibi çok fazlı emülsiyonlarda bulunmaktadır. Emülsiyon fazlarına ait bu gruplar Şekil 2.7’de verilmektedir.



Şekil 2.7. A: Su içinde yağ emülsiyonu, B: Yağ içinde su emülsiyonu, C: Su içinde yağ içinde su emülsiyonu, D: Yağ içinde su içinde yağ emülsiyonu (Prichapan ve Klinkesorn, 2014)

Yağda çözünen (hidrofobik) bileşiklerin yüklenmesinde su içinde yağ emülsiyonlarından yararlanılırken, suda çözünen bileşiklerin yüklenmesinde yağ içinde su emülsiyonları kullanılmaktadır (Gao vd., 2021). Emülsiyon teknolojisi, gıda endüstrisinde süt, tereyağı, dondurma, meşrubat, mayonez, çeşitli soslar ve sosis üretimi gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Güngör vd., 2013).

Emülsiyonların stabilitesi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu faktörlere bağlı olarak emülsiyonlarda depolama boyunca kremalaşma, çökme, topaklaşma, birleşme ve Ostwald olgunlaşması gibi fiziksel stabiliteyi bozan bazı unsurlar bulunmaktadır (Yan vd., 2020). Daha stabil emülsiyonlar oluşturmak için çok çeşitli emülgatör maddeler bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde sentetik yüzey aktif maddelerin kullanımı, temiz etiketleme gereksinimleri, istenmeyen tatlar ve potansiyel toksisite nedeniyle sınırlıdır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından onaylanan fosfolipidler, proteinler ve polisakkaritler dahil olmak üzere gıda emülsiyonları oluşturmak için emülgatör olarak başka tür doğal yüzey aktif moleküller kullanılmıştır.

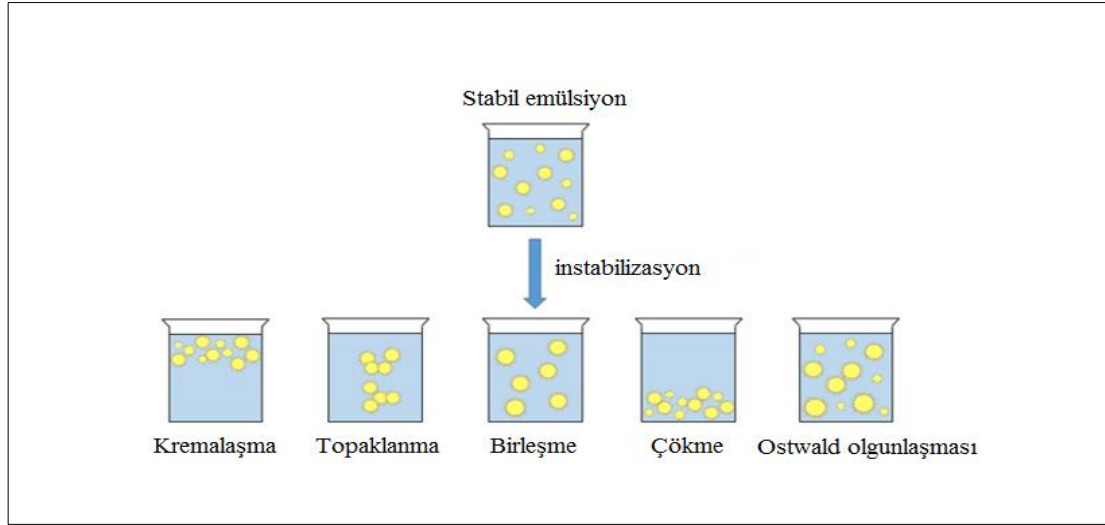
Emülsifikasyon sırasında bir emülgatör veya bir yüzey aktif maddenin varlığı, adsorpsiyon, kapsülleme veya kimyasal bağlantılar gibi çeşitli mekanizmalarla karışmayan fazlar arasındaki arayüz enerjisini azaltmaktadır. Arayüzey enerjisindeki azalma, karışmayan sıvıların yüzey alanını azaltma ve bir sulu faz tabakasının (daha yüksek yoğunluk) üzerinde bir yağ fazı tabakasından (daha düşük yoğunluk) oluşan bir sisteme ayrılma eğilimini en aza indirerek emülsiyonları stabilize etmektedir (Niroula vd., 2021).

2.4.1. Emülsiyonların Stabilitesi

Emülsiyonlar, su ve yağ fazları arasındaki yüzey alanını arttırmak için gereken pozitif serbest enerjiden ve su ve yağın farklı yoğunluklara sahip olmasından dolayı termodinamik olarak kararsız sistemlerdir. Bu nedenle bu yapılar, su ve yağ arasındaki temas yüzeyini en aza indirmek için bir su tabakasının (daha yüksek yoğunluklu) üzerinde bir yağ tabakasından (düşük yoğunluklu) oluşan bir sisteme ayrılma eğilimindedir (McClements ve Decker, 2000). Bir emülsiyonun, zaman içerisinde özelliklerindeki değişikliklere direnç gösterme yeteneği "Emülsiyon stabilitesi" olarak tanımlanmaktadır (Alagöz vd., 2019).

Emülsiyon hazırlamada kullanılan emülgatörün türü ve konsantrasyonu, uygulanan metot ve üretim sonrası çevresel koşullara (Sıcaklık, süre, pH, bağlı olarak emülsiyonların stabilitesi 2 haftadan 2 aya kadar çıkabilmektedir. Emülsiyonların stabilitesi bozan yapılar fiziksel ve kimyasal olarak ayrılabilir. Stabilitayı bozan fiziksel etkiler Şekil 2.8’de verilmektedir. Fiziksel stabilitenin bozulmasına neden olan olaylara kremalaşma, flokülasyon, koalesans, faz dönüşümü ve Ostwald olgunlaşması örnek verilirken; kimyasal instabilitenin nedenleri oksidasyon ve hidroliz olmaktadır (McClements, 2015). Emülsiyonların kararlılığını etkileyen fiziksel faktörler de sterik ve elektrostatik etkileşimler olarak iki grupta incelenebilmektedir. Sterik etkileşimler, bir emülsiyon sisteminin arayüzey tabakasının kalınlığı ile ilgilidir (Shao vd., 2020). Farklı yapıdaki emülgatörler, yeterli kalınlıkta bir arayüzey oluşturduğunda, emülsiyon güçlü bir itme kuvveti ile stabilize edilmektedir. Ancak, damlacığın arayüz tabakası yeterince kalın olmadığında, emülsiyon başlangıçtaki fizikokimyasal özelliklerini kaybetmeye başlamakta ve “kremalaşma” veya “Ostwald olgunlaşması” ortaya çıkabilmektedir. Damlacığın yoğunluğu (dağılmış faz), sürekli fazından daha düşük olduğunda kremalaşma meydana gelmektedir.

Ostwald olgunlaşmasında ise küçük damlacıklar çözelti içinde çözünmekte ve daha büyük damlacıklar oluşturmak için yeniden birilmektedir. Bu işlemin itici gücü, eğrilik etkilerinden dolayı daha büyük damlacıklara kıyasla daha küçük damlacıkların yakınındaki yağ moleküllerinin daha yüksek çözünürlüğüdür. Daha büyük ve daha küçük boyutlu damlacıkların Laplace basınçları (Biri diğeri içinde disperse edilen iki sıvının küresel ara yüzündeki yüzey geriliminden doğan basınç farkına) farklı olduğundan, daha küçük boyutlu yağ damlacıklarının daha büyük olanlardan daha yüksek yerel yağ çözünürlüğüne sahip olması, Ostwald olgunlaşmasına neden olan Kelvin etkisinden kaynaklanmaktadır (Capek, 2004, Leong vd., 2009). Bu nedenle Ostwald olgunlaşmasının önlenmesi, aroma ve / veya uçucu yağlar içeren gıda ürünlerinin geliştirilmesi için önemli bir sorundur (Han vd., 2018).



Şekil 2.8. Farklı emülsiyon instabilite mekanizmaları (Kremalaşma, Topaklanma, Birleşme, Çökme, Ostwald olgunlaşması) (Shao vd., 2020)

Damlacıkların arayüzey mukavemeti yetersiz olduğunda, elektrostatik etkileşimler emülsiyonun stabilitesinde anahtar rol oynamaktadır. Elektrostatik etkileşim zayıfladığında, emülsiyon kararsız hale gelebilmekte ve “birleşme” veya “topaklanma” oluşabilmektedir. Küçük damlacıklardan büyük kütlelerin oluşumu “birleşme” olarak adlandırılmaktadır. Birleşme ve topaklanmanın mekanizmaları benzerdir ve ortak özelliği, damlacıklar arasındaki elektrostatik itmenin çekici etkileşime (Van der Waals etkileşimi) direnecek kadar güçlü olmamasıdır. Flokülasyon ise, damlacıkların, çarpışmasıyla bir araya toplanması olayıdır.

Gıda emülsiyonlarının kalitesi üzerinde olumsuz etkileri olan kimyasal veya biyokimyasal kalite kusurları arasında lipit oksidasyonu, tat ve renkteki bozulmalar büyük önem arz etmektedir (McClements, 2015).

2.4.2. Emülgatörlerin Önemi

Emülgatörler, yağ-su ara yüzeyinde adsorbe edilebilen, yüzey gerilimini azaltan ve emülsiyon damlacıklarının toplanmasını önleyen yüzey aktif maddelerdir. Emülgatörler hem damlacık parçalanmasında hem de birleşmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Emülgatörler, damlacık deformasyonuna karşı direnci azaltan arayüzey gerilimini düşürerek, damlacıkların parçalanmasına yardımcı olmaktadır (Schultz vd., 2004).

Genellikle düşük moleküler ağırlıklı emülgatörler, yüksek moleküler ağırlıklı emülgatörler ve katı parçacıklar olarak sınıflandırılmaktadır (Berton-Carabin vd., 2014). Gıda proteinleri, özellikle bitki bazlı olanlar, bitki proteini ile stabilize edilmiş emülsiyonların stabilitesini olumsuz yönde etkileyebilecek büyük moleküler ağırlığa ve zayıf çözünürlüğe sahiptir (Taha vd., 2020). Sentetik sürfektanlar (Tweenler gibi) ve biyo yüzey aktif maddelerin (fosfolipidler, lesitinler ve saponinler gibi) düşük molekül ağırlıklı emülgatörlerdir (Bai vd., 2016).

Küçük molekül ağırlıklı yüzey aktif maddelerin çözünürlüklerinin tanımlanmasında HLB (hidrofilik-lipofilik denge) terimi kullanılmaktadır. Düşük HLB sayılarına (2-6) sahip yüzey aktif maddeler yağ fazına bölünürken, yüksek HLB sayılarına (8-18) sahip yüzey aktif maddeler su fazına bölünmektedir (McClements ve Jafari, 2018). Ayrıca S/Y emülsiyonları için optimum HLB değerinin 3.5 ve Y/S emülsiyonları için de optimum HLB değerinin 12 olduğu bildirilmiştir (Altuğ, 2001). HLB değeri emülgatör seçiminde tek faktör değildir. Bunun dışında emülgatörlerin yüzey aktivitesi, adsorbsiyon kinetiği, yüzey yükü gibi özellikleri de stabil bir emülsiyon sistemi için önemlidir. Bir emülgatörün yüzey yükü ne kadar yüksek olursa, belirli bir emülsiyonu stabilize etmek için o kadar fazla emülgatör gerekmektedir (Oztürk ve McClement, 2016).

Belirli bir uygulama için bir emülgatörlerin seçimi, moleküler ve fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra kullanım kolaylığına, yasal durumuna ve maliyetine bağlıdır. En uygun sonuç için emülgatörlerin işlevsel özelliklerinin benzer koşullar altında karşılaştırılması gerekmektedir, böylece üreticiler belirli bir ürün için en uygun olanı seçebilir.

2.4.3. Emülsiyonların Karakterizasyonu

Emülsiyon sistemlerini karakterize etmek için, kararlılık indeksi, damlacık boyutu ve dağılımı, Zeta Potansiyeli (Ç-potansiyeli), reolojik özellikleri ve mikro görüntü gibi ölçümler yapılmaktadır. İdeal olarak kararlı bir emülsiyon, sürekli fazdaki damlaların düzenli bir hacim dağılımı ve zaman içinde bir damla boyutu dağılımı sabiti ile karakterize edilmektedir. Gıda emülsiyonlarının fiziksel stabilitesinin büyük bir kısmı sürekli faz tarafından belirlenir, ancak damlacık boyutlarının dağılımı da önemli bir rol oynamaktadır (Voda ve Duynhoven, 2009).

Genel olarak, gıda emülsiyonları, aralarında çeşitli koloidal etkileşimler (örneğin Van der Waals, elektrostatik, sterik, hidrofobik vb.) gösterebilen ve emülsiyonların yapısını önemli ölçüde etkileyen damlacıklar içermektedir. Aynı damlacık konsantrasyonuna sahip iki emülsiyon, koloidal etkileşimlerine bağlı olarak düşük viskoziteli bir Newton sıvısından oldukça visko-elastik bir malzemeye dönüşebilmektedir (McClements, 2005).

Reolojik ölçümler, gıda bilimcileri tarafından, emülsiyonlar içindeki bileşenlerin yapısal organizasyonu ve etkileşimleri hakkında temel bilgiler sağlamak için analitik bir araç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak gıda emülsiyonlarının reolojik özelliklerine (örneğin, bir borudan akış, bir karıştırıcıda karıştırma, bir ısı değiştiriciden geçiş, vb.) bağlı olarak tasarlanan daha rasyonel bir şekilde işleme operasyonlarının çalışılmasına ihtiyaç vardır (Bellalta vd., 2012).

2.4.4. Emülsiyon Hazırlamada Ses Dalgalarının Etkisi

Emülsiyonlar kendiliğinden oluşan bir sistem değildir ve damlacıkları üretmek için enerji girişi gerekmektedir. Genel olarak, yüksek kesmeli karıştırma, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrason jeneratörleri gibi dispersiyon veya yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemleri olarak tasarlanmış birçok mekanik cihaz bulunmaktadır. Damlacık boyutunu nano seviyelere düşürme yeteneği, yüksek verimlilik ve ekonomik

performans nedeniyle, ultrasonik homojenizasyon şu anda emülsiyonların hazırlanmasında en umut verici 'yeşil teknolojidir' (Al-Maqtari vd., 2021)

Bir homojenleştirici içinde damlacık parçalamanın etkinliği, kesmenin yoğunluğu tarafından kontrol edilmektedir. Ultrasonik sistemlerde fiziksel kesme, ağırlıklı olarak akustik kavitasyon işlemiyle sağlanmaktadır. Akustik dalga, basınç dalgalanmalarının neden olduğu mikro kabarcıkların oluşumu, büyümesi ve ardından çökmesi ile oluşmaktadır (Leong vd., 2009).

Ultrason genliği, kavitasyonun etkinliği belirleyen önemli bir parametredir. Genliğin artırılması, ultrasonik gücün artmasına neden olmakta ve kavitasyon gerçekleşmektedir. Kavitasyon ise lokal ısınmaya neden olarak hücre duvarının yıkımını sağlamaktadır. Bu nedenle ısıya hassas bileşiklerde ultrasonik işlemin kullanımında yüksek genliklerde çalışmak uygun değildir (Turan ve Atalay, 2021).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında emülsiyonlar, yüksek verim elde edilmesinin yanı sıra, klasik yöntemlere kıyasla daha düşük viskozite ve daha küçük parçacık boyutu sağladığı bildirilen (Li ve Xiang, 2019), ultrasonik destekli prob kullanılarak hazırlanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*) ve uskumru balığı (*Scomber scombrus*), yerel balık marketten temin edilmiştir (Başoğlu Ltd., Antalya, Türkiye). Saponin eldesinde kullanılan çöven (*Gypsophila bicolor*) kökleri, çöven suyu üretimi yapan İstanbul Tarım Ürünleri Gıda San. Tic. Ltd. Şti. firmasından satın alınmıştır. Emülsiyon oluşturmada kullanılan Soya lesitini Smart Kimya Tic. ve Danışmanlık Ltd. Şti. (İzmir)'den, Tween-80, Merck (Almanya)'dan ve çalışmada kullanılan diğer kimyasal maddeler Sigma-Aldrich (Missouri, USA) ve Merck (Almanya)'dan temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Çöven bitkisi köklerinden saponin ekstraksiyonu

Kuru halde temin edilen çöven kökleri laboratuvar tipi çekiçli değirmen yardımıyla kırılmış ve 2-3 mm gözenek çaplı elekten geçirilerek standardize edilmiştir. Ardından 1:10 (kök (g): su (ml)) oranında su-etanol (%30- %70) ile karıştırılarak 24 saat boyunca bekletilerek masere edilmiştir.



Şekil 3.1. Çöven köklerinde boyut küçültme

Daha sonra sıcaklık 75°C'ye sabitlenerek, 20 dk süre ile ultrasonik destekli ekstraksiyon (Bandelin, Sonopuls UW200, Berlin, Almanya) yapılarak çöven bitkisi köklerinde bulunan saponinlerin suya geçişi sağlanmıştır (%40 genlikte- 20kHz). Elde edilen karışım kaba filtre kağıdından süzülmüş, saponince bol sıvı kısım vakum altında konsantre edilmiştir.

3.2.2. Karides atıklarından astaksantin ekstraksiyonu

Antalya Körfez'inden yerel balıkçılarca avlanarak limana getirilen ve ardından soğuk zincir korunarak buz içerisinde laboratuvara aktarılan kırmızı karidesler (*Aristaeomorpha foliacea*) saf su ile yıkandıktan sonra, baş alma ve kabuk çıkarma

işlemleri yapılmıştır. Kabuk, baş ve karapakslardan oluşan karides atıkları 500 ml'lik balonlara aktararak dondurarak kurutucu (Telstar, Lyoquest -55, İspanya) yardımı ile su aktivitesi değeri a_w : 0.40'in altına ininceye kadar kurutulmuştur.



Şekil 3.2. Karideslerin yıkanıp ayıklanması

Su aktivitesi ölçüm cihazı (Aqualab 4, Almanya) kullanılarak su aktivitesi değeri uygunluğu ölçülen kurutulmuş karides işleme artıkları, laboratuvar tipi öğütücü (Bosch MKM6000, Almanya) yardımı ile öğütülmüş ve delik çapı 2 mm olan elek yardımı ile standardize edilmiştir. Daha sonra Hu vd.'nin (2019) belirttiği yöntemin kısmen modifiye edilmiş şekline göre karides atıklarından astaksantin ekstrakte edilmiştir. Yönteme göre, çözgen olarak saf etanol (%99) kullanılmış ve ultrasonik homojenizatör (Bandelin, Sonopuls UW200, Berlin, Almanya) ile sıcaklık maksimum 50°C'ye sabitlenerek 1 saat ekstrakte edilmiş ve astaksantin içeren yağlı ekstrakt elde edilmiştir.



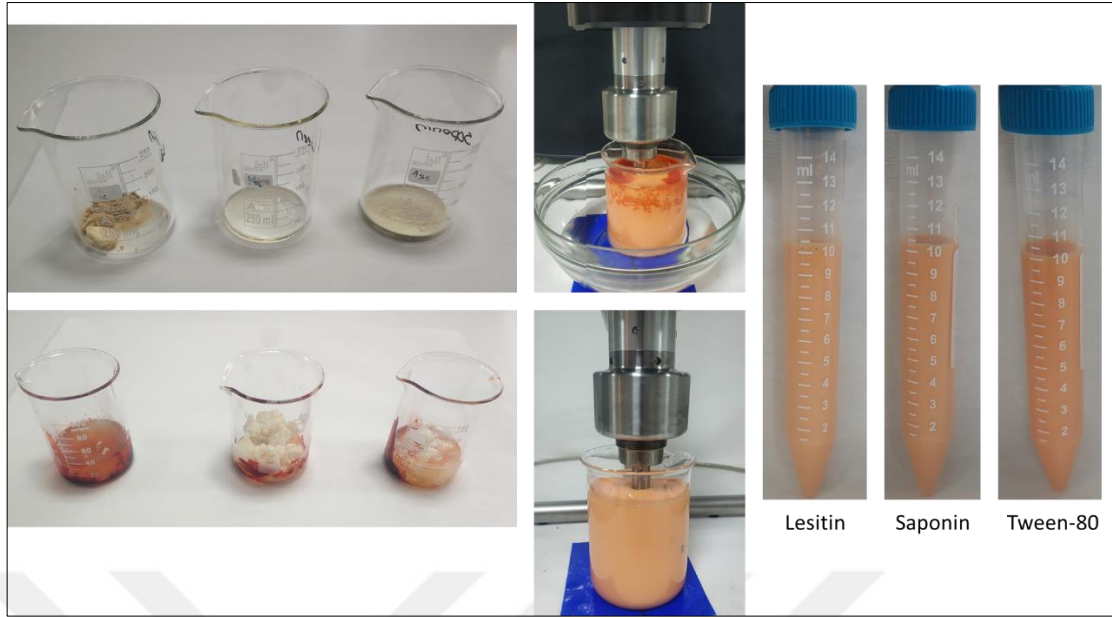
Şekil 3.3. Karides atıklarından astaksantin ekstraksiyonu

3.2.3. Balık yağı ekstraksiyonu

Balık yağı elde edilmesi amacıyla uskumru balıklarından yararlanılmıştır. Yağ ekstraksiyonu Bligh and Dyer metoduna göre yapılmıştır (Bligh and Dyer 1959). Ortalama boyu ve ortalama ağırlığı sırasıyla 23 ± 2 cm ve 105 ± 3 g olan uskumru balıklarının iç organları temizlenmiş ve yıkanmıştır. Temizlenen uskumrular küçük parçalara ayrıldıktan sonra ekstrakte edilip, yağ fazı watman:1 filtre kâğıdı ile ayrılmıştır. Sıvı faz içerisindeki çözücü, döner buharlaştırıcı yardımıyla 45°C 'de uçurulduktan sonra üzerine azot gazı uygulanarak emülsiyon gerçekleştirilinceye kadar -80°C 'de ultra derin dondurucu (Dairei Europe, ULTF -80) içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Astaksantin-balık yağı emülsiyon sisteminin oluşturulması

Astaksantin yüklü su içinde yağ emülsiyonlarının oluşturulmasında Yang ve McClement'in (2013) belirttiği metodun kısmen modifiye edilmiş şekli kullanılmıştır. Öncelikle astaksantin içeren yağlı ekstrakt, balık yağı ile ağırlıkça %1 oranında karıştırılmıştır. Sulu faz ise ağırlıkça %2 oranında emülgatör içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu oranlar yapılan ön denemeler ve literatür çalışmaları sonucunda belirlenmiştir. Astaksantin emülsiyonları oluşturmak için 2 aşamalı homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. İlk olarak, %10 yağ fazı (Astaksantin + balık yağı) ve %90 su fazı [emülgatör + Tampon çözelti (10 mM sodyum fosfat, pH:7)] karıştırılarak 5 dk boyunca 5,000 rpm'de homojenize edilerek kaba bir emülsiyon oluşturulmuş, sonrasında mikro boyutta emülsiyonlar oluşturabilmek için 20 kHz'lik problu ultrasonik homojenizatör (Bandelin, Sonopuls UW200, Berlin, Almanya) yardımıyla emülsiyonlar hazırlanmıştır. Elde edilen emülsiyonlar 15ml'lik test tüplerine alınıp alüminyum folyo ile sarılarak, 24 ± 1 ve 4 ± 1 $^\circ\text{C}$ 'de 1 ay depolanarak emülsiyonların depolama süresince kalite değişimleri belirlenmiştir.



Şekil 3.4. Astaksantin-balık yağı emülsiyon sisteminin oluşturulması

3.3. Analizler

3.3.1. Toplam saponin miktarı

Saponinler, Lalitha ve ark. (1987)'ın bildirdikleri yöntemin kısmen modifiye edilmesiyle ekstrakte edilmiştir. Yaklaşık 50 g öğütülmüş çöven otu (*Gypsophila*) kökü önce n-hekzan ile yıkanarak lipofilik bileşiklerinden arındırılmış, ardından 500 ml etanol-su (%70-%30) karışımı ile 20 dk süreyle ultrasonik destekli ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Daha sonra süzülmüş ekstrakt ayırma hunisine alınarak 75 ml eter ile yıkanmış, atık üst faz olan eter fazı ayrılmış; alt faz, bütanol ile yıkanmış (5x60ml). Bütanol fazı cam balonda toplanarak döner buharlaştırıcıda 1-2 ml örnek kalana kadar konstantre edilmiştir. Kalan örnek 25 ml metanolde çözündürüldükten sonra 25 ml eter ilave edilmiş ve 5500 d/d'da 10 dk santrifüjlenerek saponinler çöktürülmüştür. Örnekler kurutma kağıdına alınarak, 1 gece desikatörde bekletildikten sonra tartılmıştır. Sonuçlar ağırlıkça "%" olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.5. Toplam saponin miktarının belirlenmesi

3.2.2. Köpük testi

Saponin izolasyonu sonucu elde edilen örnekleri saponin içerip içermediğinin hızlı bir tayini olan Froth testi ile örneklerin köpük oluşturma seviyesi belirlenmiştir. Bunun için, 2 g toz haldeki örnek 20 ml su ile su banyosunda kaynatılıp süzölmüştür. Alınan 5 ml süzöntü, 5 ml saf su ile karıştırılmış, kuvvetlice çalkalanarak köpürme indeksi kontrol edilmiştir.

3.3.3. Astaksantin kompozisyonunun belirlenmesi

Karides işleme artıklarındaki astaksantin miktarı HPLC (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA) yöntemi ile belirlenmiştir (Gimeno vd. 2007). Okuma için öncelikle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Standart stok astaksantin çözeltisi metanol ile 5 farklı derişimde (5, 10, 25, 50 ve 100 ppm olmak üzere) hazırlanmıştır. 3 tekerrürlü denemeler sonucunda standartların kromatografya tutunma zamanları tam olarak tespit edildikten sonra kalibrasyon grafiği çizilmiş ve buna göre de 490 nm dalga boyunda ekstraktların astaksantin miktarlarının okunmuştur. Elde edilen ekstrakttan 15 ml'lik tüp içerisine 0,5 g tartılıp üzerine 1:10 (g/ml) oranını sağlayacak şekilde 5 ml mobil faz eklenmiştir. Ardından kısa bir süre ultrasonik banyoda da tutularak çözöndürölmesi sağlanan ekstrakt 0,45 µm membran filtreden (Sartorius NY, USA) süzölerek HPLC viallerine alınmış ve bu vialler HPLC cihazının otomatik örnekleyci kısmına yerleştirilmiştir. Enjeksiyon süresi (injection time) 6 dk, enjeksiyon miktarı ise 20 µL olarak belirlenmiştir. Mobil faz olarak ultra saf su; methanol; dichloromethane; acetonitrile (4,5;28;22;45,5 v;v;v;v) kullanılırken akış hızı olarak ta 1,75 ml/dk belirlenmiştir (Lorenz ve Cysewski 2000; Yuan ve Chen 1998). Örneklerdeki astaksantin miktarı µg/L (ppm) cinsinden belirlenmiştir.

3.3.4. Antioksidan kapasite tayini

Antioksidan kapasite tayini Miller vd. (1993)'de belirtilen yöntemle göre spektrofotometre (Thermo Scientific Evolution 160 UV-VIS) ile 734 nm 'de yapılmıştır. Yöntemde trolox yerine BHT kullanılmıştır. Yöntem; 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyonunun referans antioksidanlar ile ekstrakte edilen antioksidanlar tarafından absorpsiyonunun engellenmesinin veya toplam radikal süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması temeline dayanmaktadır. Sonuçlar BHT-trolox eşitliğinin sağlanarak gram örnek başına Trolox eşdeğer antioksidan kapasite cinsinden okunmaktadır (TEAC/g). ABTS radikal katyonu (ABTS +), 5mg ABTS tabletleri 2,45 mM Potasyum persülfat çözeltisi ile reaksiyona sokulup 12 ile 16 saat arasında oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek oluşturulmuştur.

Sonuçta elde edilen verilerle çizilen, emülsiyonlara ait eğimlerin BHT konsantrasyonlarına ait eğime oranlaması sonucu incelenen antioksidan maddenin 1 µM trolox karşılığı olarak gösterdiği antioksidan kapasitesi trolox-BHT eşitliği de sağlanarak belirlenmiştir.

(Örneğe ait eğim / trolox'a ait eğim) x seyreltme faktörü = TEAC değeri µM trolox/TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

3.3.5. Totox tayini

Totox değeri birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin toplam değerini ifade etmektedir. Bu durumda hem peroksit değeri hem de para-anisidin değeri değerlendirilmektedir.

Totox değerine ait formülasyon; Totox Değeri = (2 PV+ p-AV)

PV: Peroksit Değeri AV: p-anisidin değeri

3.3.5.1. Peroksit tayini

Peroksit analizi AOAC (1990)'de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Alınan örnek (1 g) üzerine kloroform: asetik asit (1:1.5) çözeltisi ve 1 ml potasyum iyodür eklenerek yağın iyice çözülmesi sağlanmıştır. Karanlıkta 5 dakika bekletilmesinin ardından bir miktar su ve indikatör olarak %1'lik nişasta çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım, 0.01 N sodyum tiyosülfat eşliğinde titre edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanmıştır.

$$PV \text{ (meq/kg)} = (V-B \times Nf / W) \times 1000$$

V: harcanan sodyum tiyosülfat miktarı; B: kör için harcanan sodyum tiyosülfat miktarı; W: örnek ağırlığı; Nf: sodyum tiyosülfatın normalitesi

3.3.5.2. Paraanisidin tayini

P-Av analizi Frankel (1984)'in belirttiği yöntemle göre yapılmıştır. Örneklerin 0,5 g'ı 25 ml n-hekzan içerisinde çözülecek ve spektrofotometrede absorbansı ölçülmüştür (A1).

Çözeltiden alınan 5 ml üzerine 1 ml para-anisidin standardı (Merck 800458, Almanya) eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiş ve absorbansı ölçülmüştür (A2). Örneklerle ait para-anisidin değeri 350 nm'deki spektrofotometrik ölçümlerle elde edilen absorbans değerleri yardımıyla aşağıda verilen formülle hesaplanarak belirlenmiştir.

$$\text{Para-anisidin değeri (p-Av)} = 25 (1,2 \times (A2 - A1)) / \text{örnek ağırlığı}$$

A1= Para-anisidin eklenmeden önce 350 nm'deki absorbans

A2= Para-anisidin eklendikten sonra 350 nm'deki absorbans

3.3.6. Yağ asitleri profilinin belirlenmesi

Yağ asitleri metil esterifikasyonunda Gulzar ve Benjakul, (2019b).)'un belirttiği yöntem kullanılmıştır. Örneklerden alınan 10 mg, n-heptan (2 ml) içerisinde çözülmüştür. Karışıma 4 ml 2 M metanolde hazırlanmış KOH ilave edilerek 2 dakika süre ile vortekslenip, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen üst faz kromatogram için kullanılmıştır.

Gaz kromatografisi koşulları: BPx70 silika kolon (50 m x 0.22 mm, film kalınlığı 0.25µm; SGE Inc., Victoria, Avustralya) ve alev iyonizasyon dedektörü ile donatılmış olan gaz kromatografisi (Perkin Labor, Clarus 500) kullanılmıştır. Fırın

sıcaklığı 140 °C’de 5 dak ile başladı, 4 °C/dak artışla 200 °C’ye ulaşarak 1°C/dak artışla 220 °C’de son bulmuştur. Enjeksiyon sıcaklığı 220°C ve taşıyıcı gaz olan Helyumun akış hızı 1.0 ml/dak olarak belirlenmiştir. Dedektör sıcaklığı 280 °C’ye ve split oranı 1:50 olacak şekilde ayarlamalar yapılmıştır.

Yağ asitleri metil esterlerinin standartlarına ait çıkış zamanlarının elde edilen çıkış zamanları ile kıyaslaması sonucu örneklerdeki yağ asitleri tanımlanmıştır. Sonuçlar tanımlanabilen yağ asitleri toplamının %’si olarak verilmiştir.

3.3.7. Emülsiyon stabilite indeksinin belirlenmesi

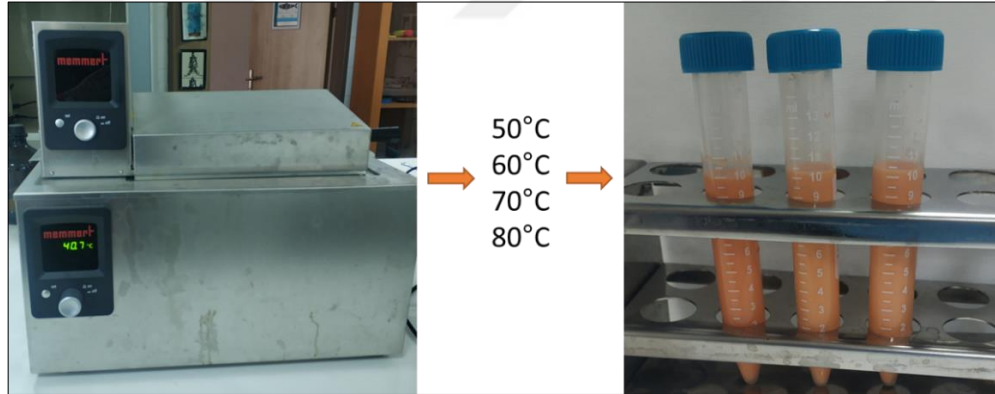
Emülsiyon stabilite indeksi (ESI), emülsiyonların stabilite derecesini belirtmek için kullanılır. ESI, Kan ve ark.’nın (2020) yöntemine göre, küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Emülsiyonlar hacim göstergeli, vidalı kapaklı şeffaf falcon tüplerde 24±1°C ve 4±1°C’de 30 gün süreyle saklanmıştır. Üst veya alt katmanın yüksekliği görsel gözlem ile elde edilmiş ve ESI aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

$$\text{Krema indeksi} = \text{Hs}/\text{Ht} \times 100$$

Denklemde yer alan Ht, emülsiyonun toplam yüksekliği ve Hs, alt katmanın yüksekliğini ifade etmektedir.

3.3.8. Emülsiyon ısı stabilite indeksinin belirlenmesi

Emülsiyonların ısı stabilitesi Primacella vd. (2019)’nin belirttiği yöntemle göre küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Emülsiyonların ısı stabilitesi ölçümü

Örnekler (5 g) 15 ml’lik konik santrifüj tüplerine alınmış, farklı sıcaklıklarda (50, 60, 70 ve 80 °C) 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Üstte biriken yağ fazı pastör pipeti yardımıyla alınarak belirtilen formül uygulanmıştır:

$$\text{HSM} (\%) = 100 \times [(\text{W1}) / (\text{W0})]$$

HSM: emülsiyonun ısı stabilitesi (%)

W0: emülsiyonun başlangıç ağırlığı

W1: emülsiyonun, yağ fazı ayrıldıktan sonraki ağırlığı

3.3.9. Parçacık boyutu ölçümü

Örneklerin parçacık boyutu ölçümü, droplet size analyzer (Mastersizer 2000S, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler için yaklaşık 1 g emülsiyon, çözgen olarak ise 2-propanol kullanılmıştır. Her bir emülsiyon için, ölçümler tekrarlı halde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar hacim ağırlıklı ortalama çap (d_{43}) değerine göre μm cinsinden verilmiştir.

3.3.10. Viskozite ölçümü

Emülsiyonların reolojik özellikleri Qiu vd'nin (2015) yöntemine göre küçük bir değişiklikle, oda sıcaklığında bir bob and cup geometrisine sahip dinamik bir kesme reometresi (Lamy B one Plus modeli, Lamy Rheology Inst. Lyon, Fransa) kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan bobun çapı 25 mm ve kabin çapı 27.5 mm'dir. Emülsiyonların görünen viskozitesi, kesme oranının bir fonksiyonu olarak ölçülmüştür (0.01 ila 300 s^{-1}).

En düşük viskoziteli emülsiyonlar için güvenilir reolojik ölçümler sadece 5 ila 300 s^{-1} arasındaki kesme hızlarında yapılabilmektedir. Bu nedenle, bir güç yasası modeli sadece bu kayma hızı içindeki verilere uygulanmıştır. Akış davranışı indeksi (n) ve tutarlılık katsayısı (K), aşağıda verilen güç yasası modeli kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\eta = K \dot{\gamma}^{n-1}$$

Burada η , viskozite (mPa.s), $\dot{\gamma}$ kesme hızı (s^{-1}), K tutarlılık indeksi (Pa.sn) ve n , etkisinin etkisiyle ilgili akış davranışı hakkında bilgi sağlayan endeks oldu kesme hızıdır. Kesme inceltme sıvısı için n : $n < 1$, Newton sıvısı için $n = 1$ ve kesme koyulaştırma sıvısı için $n > 1$ değeri kullanılmıştır.

3.3.11. Bulanıklık ölçümü

Emülsiyonlara ait bulanıklık değerleri, bir türbidimetre (Model 2100N, Hach Co. Loveland, CO, USA) kullanılarak belirlenmiştir. Emülsiyonlar, damıtılmış su ile 100 kat seyreltilmiştir. Örnekler (30 mL) bir numune hücreğine yerleştirilip kapatılmış ve homojenlik sağlamak için 4 kez yavaşça ters çevrilmiştir. Türbidimetrede okunan değerler Nefelometrik Bulanıklık Birimleri (NTU) olarak ifade edilmiştir.

3.3.12. Optik mikroskop analizi

Deiyonize su ile 1:100 oranında seyreltilmiş emülsiyon damlacıklarının şeklini, boyutunu ve görünümünü gözlemek için bir ışık mikroskobu (Olympus D-25 ışık mikroskobu Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. Emülsiyon damlacıklarının görüntüleri 20 kat (20x) büyütmede alınmıştır.

3.3.13. Renk Ölçümü

Emülsiyonların renk değeri, renk ölçüm cihazı (Minolta CR 400, Osaka, Japonya) ve CIE-Lab renk skalası kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler cihazın kuvarz kabı kullanılarak sıvıda ölçüm yapılmıştır. CIE-Lab renk skalası üç boyutlu renk ölçümünü esas almaktadır ve buna göre $L^* = 0$ ile 100 arası siyahlık ve beyazlık, $a^* = -80$

ile +100 arası yeşillik ve kırmızılık, $b^* = -80$ ile +70 arası mavilik ve sarılık boyutunu veya yerini göstermektedir (Nielsen 1998).

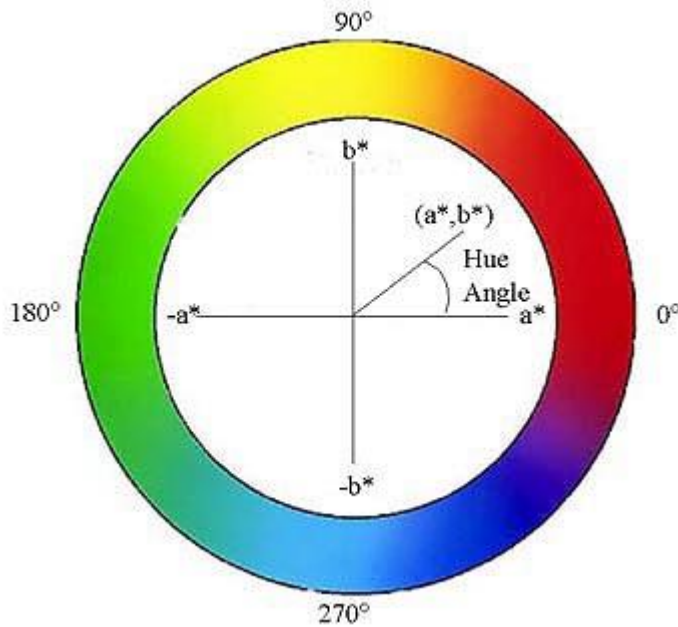
Daha sonra renk değerleri kullanılarak örneklerin, kroma (C) ve hue açısı (h°) değerleri aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır. Hue açısı renk skalası Şekil 3.7’de verilmiştir.

$$EI = 100.(X-0,31)0,17 \quad (3.3)$$

$$x = (a+1,75.L)/(5,645.L+a-3,012) \quad (3.4)$$

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.5)$$

$$h = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (3.6)$$



Şekil 3.7. Hue açısı renk skalası

3.3.14. İstatiksel analiz

Araştırma iki tekerrürlü, analizler ise paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Deneme faktöriyel olarak düzenlenmiş, 4 farklı emülgatör ile emülsiyon hazırlama ve 3 (0., 15., 30. günler) farklı depolama süresi olacak şekilde uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, önemli bulunan ana varyasyon kaynakları ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine tabi tutulmuştur ($P < 0.05$).

Varyans analizlerinde güven sınırı asgari %95 olarak alınmıştır. Varyans analizi SAS Institute (Cary, NC, ABD) tarafından hazırlanan “The SAS system for Windows V9” isimli istatistiksel yazılım program kullanılarak yapılmış ve sonuçlar çizelgeler üzerinde tartışılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.Çöven köküne ait bulgular

4.1.1. Çöven köklerine ait kuru madde ve su aktivite değerleri

Öğütülmüş Çöven köklerine ait su aktivite değeri $0,59 \pm 0,01$ a_w olarak ölçülmüştür. Köklerden elde edilen saponin örneklerinin kuru madde miktarı $92,97 \pm 0,17$ g/100 g olarak belirlenmiştir. Çöven kökü tozu kullanılan bir çalışmada, köklerden elde edilen ekstraktlar püskürtürerek kurutucuda kurutulmuş ve su aktivitesinin 0,36, kuru madde miktarının ise 96,11 g/100 g olduğu bildirilmiştir (Çam ve Topuz, 2018). Su aktivitesi değerinin daha düşük olduğu örneklerde, kuru madde miktarının daha yüksek olduğu belirtilmiş ve sonuçlar, bu çalışmada elde edilen bulgular ile uyum içindedir.

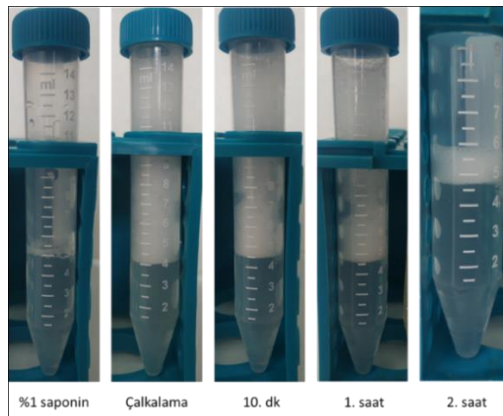
4.1.2. Toplam saponin miktarı

Toz haline getirilmiş çöven kökü örnekleri 12 saat boyunca su ve %70 etanol içeren etanol-su karışımı ile masere edilmiştir. Su ve etanol-su karışımının çözen olarak kullanıldığı ultrasonik destekli ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların toplam saponin miktarı sırasıyla $2,14 \pm 0,43$ g/100 g kuru örnek ve $3,37 \pm 0,29$ g/100 g kuru örnek olarak belirlenmiştir.

Szakiel vd. (2011) yaptığı çalışmada, Gypsophila türlerinde kuru ağırlıkta 4 g/100 g'a varan triterpenoid saponinler ve gypsogenin türevleri olduğunu bildirmiştir. Kołodziej vd. (2019) ise Gypsophila türlerinde (*G. pacifica* ve *G. scorzonifolia*) sırasıyla 3,88 g/100 g ve 4,53 g/100 g kuru kök saponin içeriği tespit etmiştir. Çalışmamızda elde edilen bulgular referans araştırmalarla uyum içerisindedir.

4.1.3. Köpük testi

Saponinler, suyla karıştırıldıklarında köpük oluşturan bileşiklerdir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen örneklerin saponin içerip içermediğinin hızlı bir tayini olan köpük testi ile örneklerin köpük oluşturma seviyesi belirlenmiştir. Örnekteki saponin içeriği ne kadar fazla ise oluşan köpük seviyesinin de o kadar kalıcı olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2010).



Şekil 4.1. Köpük testi sonuçlarına ait görsel

Köpük testi sonucuna ait görseller Şekil 4.1’de verilmiştir. Çalkalama sonucu elde edilen köpükler 2 saat boyunca izlenmiştir. 1. saatin sonunda köpük yüksekliğinin 10 cm’nin üzerinde olduğu görülmüştür. Yüksekliğin 10 dakikanın sonunda 2 cm’nin üzerinde olması saponin pozitif olarak değerlendirilmektedir (Danas, 2012). Köpük yüksekliğinin 10. dakikada yaklaşık 10 cm olduğu, 2. saatin sonunda ise 2 cm’nin altına düştüğü gözlemlenmiştir. Bu da ekstraksiyon sonucu elde edilen örneklerin iyi birer saponin kaynağı olduğu göstermiştir.

4.2.Karides atıklarına ait bulgular

4.2.1. Astaksantin ekstraksiyon verimi ve kuru madde miktarı

Çalışmada kullanılan *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin işleme artık miktarı Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Çizelgeye göre karideslerin atık miktarı %57,59 olarak belirlenmiştir. Sachindra ve Mahendrakar (2005)’in belirttiğine göre karideslerin %45-60’ını artık kısımlar oluşturmaktadır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, bu verilerle uyumludur.

Çizelge 4.1. *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin işleme artık miktarı (%)

Karides	Oran (%)
Kabuk + Baş	57,59±0,66
Et	42,41±0,72

Dondurarak kurutulmuş karides atıklarına ait su aktivite değeri $0,38\pm0,02$ a_w olarak bulunmuştur. Örneklerin kuru madde miktarları $93,97\pm0,97$ g/100 g olarak hesaplanmıştır. Ekstraksiyon verimi, astaksantin içeren yağlı ekstrakt miktarına göre belirlenmiştir. Buna göre karides artıklarından elde edilen ekstrakt verimi 100 g kuru maddede $17,0\pm0,8$ g olarak bulunmuştur. Gómez-Estaca vd. (2017)’nin etil asetat kullanarak, 30 dakikalık maserasyon ile karides atıklarından elde ettiği ekstrakt verimi $7,9\pm2,5$ g/100 g kuru madde olarak bildirilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen değerlerin daha yüksek olmasının sebebi ekstraksiyonun ultrasonik destekli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca uygulanan çözgen, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi gibi parametreler de ekstraksiyon verimi üzerine etkili olmaktadır.

4.2.2. Astaksantin konsantrasyonu

Karides atıklarının ekstrakte edilmesiyle elde edilen, astaksantin içeren yağlı ekstraktın astaksantin içeriği, $241,27\pm3,15$ ppm olarak bulunmuştur. Yapılan benzer bir çalışmada Atlantik karidesi (*Pandalus borealis*) atıkları metanol, aseton ve hekzan/2-propanol (3:2) kullanılarak ultrasonik destekli yöntem ile ekstrakte edilmiş ve kuru maddedeki astaksantin içeriğinin sırasıyla $57,34\pm2,72$, $270,04\pm19,55$, ve $284,48\pm27,95$ ppm olduğu belirtilmiştir (Dave vd., 2020). Bu çalışmada, astaksantin içeren yağlı ekstraktın astaksantin konsantrasyonu ($241,27\pm3,15$ ppm) referans çalışmadaki sonuçların arasında bir değerde olduğu bulunmuştur. Bu farklılığın da kullanılan karides türünden ya da ekstraksiyonda kullanılan çözgenlerin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Oda sıcaklığı ($24\pm 1^\circ\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen astaksantin değerlerine ait veriler Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir. Emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonuna ait varyans analizi Çizelge 4.4'te ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen astaksantin değerlerine (ppm) ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$0,89\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$0,95\pm 0,02^{\text{Ab}}$	$1,10\pm 0,05^{\text{Aa}}$
	5.Gün	$0,63\pm 0,00^{\text{Bb}}$	$0,86\pm 0,00^{\text{Ba}}$	$0,95\pm 0,05^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$0,50\pm 0,00^{\text{Cb}}$	$0,71\pm 0,01^{\text{Ca}}$	$0,64\pm 0,00^{\text{Ba}}$
	20.Gün	$0,35\pm 0,00^{\text{Dc}}$	$0,53\pm 0,00^{\text{Db}}$	$0,60\pm 0,00^{\text{Ba}}$
	30.Gün	$0,29\pm 0,00^{\text{Dc}}$	$0,40\pm 0,00^{\text{Eb}}$	$0,49\pm 0,00^{\text{Ba}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C, D, E) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.2 incelendiğinde, oda sıcaklığında depolanan örneklerin, depolama süresince hem lesitin hem saponin hem de tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonların astaksantin içeriklerinin azaldığı bulunmuştur. Ancak tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonlarda astaksantin içeriğinin daha iyi korunduğu, lesitin ile saponin arasında 0. günde istatistiksel açıdan önemli bir fark yokken, 30 günlük depolama sonunda saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların astaksantin içeriğinin lesitine göre daha iyi korunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince astaksantin değerlerine (ppm) ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$0,89\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$0,95\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$1,10\pm 0,05^{\text{Aa}}$
	5.Gün	$0,66\pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,88\pm 0,05^{\text{Bb}}$	$1,05\pm 0,05^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$0,64\pm 0,00^{\text{Bb}}$	$0,73\pm 0,00^{\text{Ca}}$	$0,67\pm 0,00^{\text{Bb}}$
	20.Gün	$0,51\pm 0,05^{\text{Cb}}$	$0,63\pm 0,00^{\text{Da}}$	$0,62\pm 0,00^{\text{Ca}}$
	30.Gün	$0,40\pm 0,00^{\text{Dc}}$	$0,52\pm 0,00^{\text{Eb}}$	$0,58\pm 0,00^{\text{Ca}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C, D, E) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Buzdolabında depolanan emülsiyonların astaksantin içeriği incelendiğinde, oda sıcaklığında depolanan örneklerle benzer şekilde, 0. günde lesitin ve saponin örneklerinin astaksantin içerikleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken, tween-80'in emülsiyonları daha iyi koruduğu görülmüştür. Depolama süresince emülsiyonların astaksantin içeriği azalmış ve 30. günde ise en yüksek korumanın tween-80 ile en düşük korumanın lesitin ile sağlandığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4 incelendiğinde varyans kaynaklarının örneklerin depolama stabilitesi üzerine istatistiksel açıdan önemli ölçüde etki ettiği görülmüştür. Çizelge 4.5' e göre ise, buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonunun, oda sıcaklığında muhafaza edilen emülsiyonların astaksantin konsantrasyonuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Çizelge 4.4. Emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonlarına ait varyans analiz sonuçları

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama sıcaklığı (A)	1	0,12	319,71**
Depolama süresi (B)	3	0,19	524,67**
Emülgatör (C)	2	0,36	985,00**
A*B	3	0,03	72,13**
A*C	2	0,01	18,34**
B*C	6	0,17	478,19**
A*B*C	6	0,004	12,23**
Hata	72	0,0004	

(*), $p<0,05$ seviyesinde, (**) ise, $p<0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Emülsiyonların içeriğindeki astaksantin düşük sıcaklıklarda daha iyi muhafaza edildiği görülmüştür. Ayrıca Tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonlardaki astaksantin içeriğinin istatistiksel açıdan önemli derecede en yüksek, lesitin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların ise en düşük olduğu, saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların ise Tween-80'e daha yakın olmakla birlikte orta seviyede olduğu görülmüştür ($p<0,01$).

Çizelge 4.5. Emülsiyonlardaki astaksantin konsantrasyonlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (ppm)

Sıcaklık (°C)	Oda	Buzdolabı			
	0,69±0,04 ^b	0,77±0,04 ^a			
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80		
	0,59±0,04 ^c	0,76±0,04 ^b	0,85±0,05 ^a		
Depolama Süresi (Gün)	0.Gün	5.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	0,85±0,04 ^a	0,83±0,09 ^a	0,78±0,08 ^b	0,64±0,02 ^c	0,56±0,03 ^d

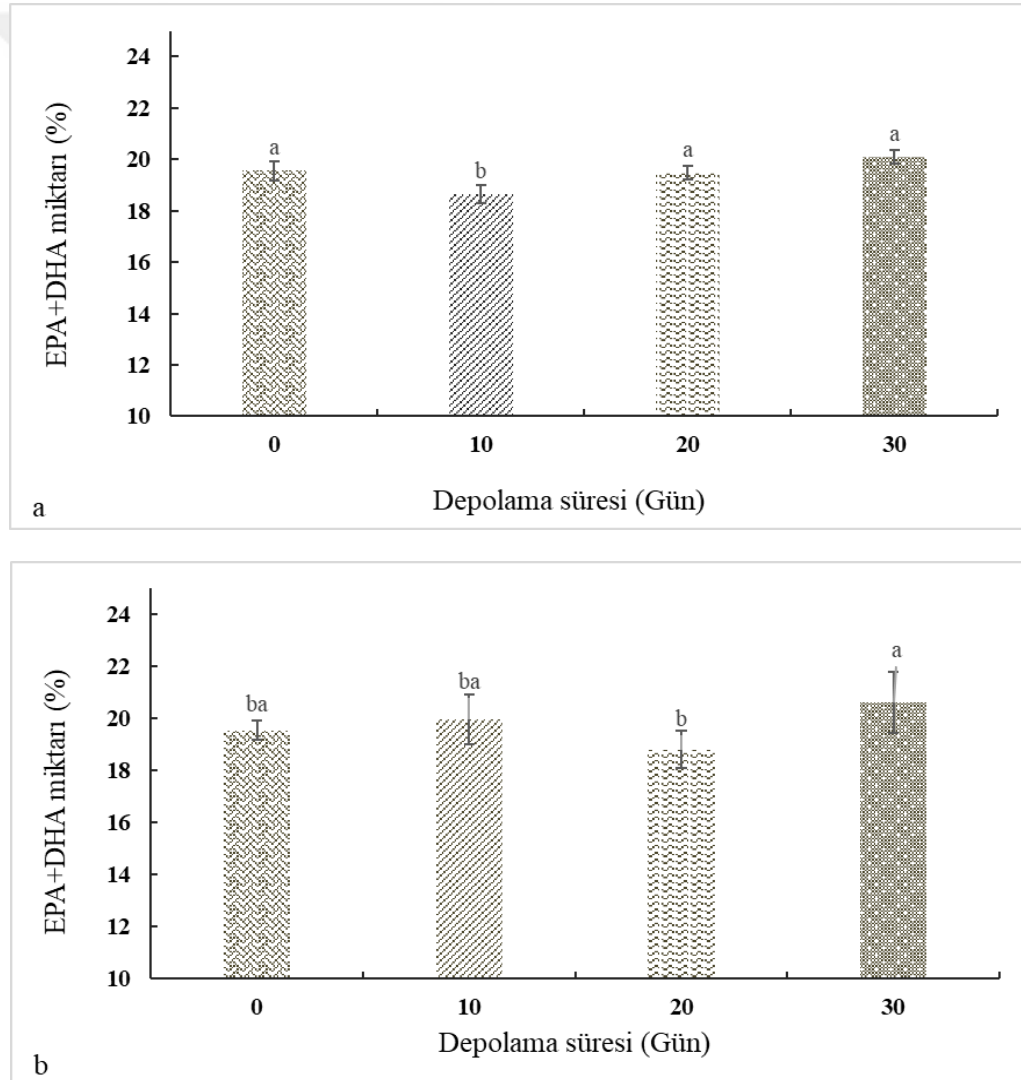
Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Depolama süresince özellikle de 5. günden sonra örneklerin astaksantin içeriğinin, düzenli olarak azaldığı ve 30 günlük depolama süresi sonunda toplamda yaklaşık %34 azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Literatürde de mikroekapsüle astaksantin tozunun 25 ve 45 °C'de muhafaza edildiği, her iki sıcaklıkta da astaksantin içeriğinin düzenli olarak azaldığı, bunun yanında da 25 °C'de muhafaza edilen örneklerin astaksantin içeriğinin daha iyi korunduğu belirtilmiştir (Morales vd. 2021).

4.3.Yağ asitleri profili

Emülsiyonların başlangıç gününe ait yağ asidi profili Çizelge 4.6' da gösterilmiştir. Sonuçlar, emülsiyonların yağ asidi profilleri arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Çizelgeye göre, lesitin ve tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların doymuş yağ asidi içeriği arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmazken, saponin ile hazırlanan emülsiyonların doymamış yağ asidi içeriği, diğer iki emülsiyona kıyasla yüksek bulunmuştur.

Emülsiyonlara ait MUFA değerleri incelendiğinde, tween-80 ile hazırlanan örneklerin diğerlerine göre istatistiksel açıdan farklı ve daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Örneklerin PUFA içeriğine bakıldığında, tüm emülsiyonların PUFA içeriğinin birbirinden farklı olduğu ve miktarların çoktan aza doğru sırasıyla lesitin, saponin ve tween-80 şeklinde olduğu görülmüştür. Bu farklılığının emülgatörlerin birbirinden çok farklı kimyasal yapıda olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.2. Oda sıcaklığı (a) ve buzdolabı sıcaklığında (b) depolanan emülsiyonların depolama süresinde EPA+DHA miktarlarındaki değişim

Çizelge 4.6. Emülsiyonların 0. gününe ait yağ asidi içeriği (%)

Yağ asitleri (g/100g)	Lesitin	Saponin	Tween-80
C10:0	0,09±0,02	0,60±0,06	0,14±0,02
C14:0	5,80±0,32	6,94±0,10	6,16±0,04
C15:0	0,11±0,07	0,08±0,03	0,20±0,05
C16:0	14,11±0,31	16,49±0,45	13,19±0,08
C17:0	0,19±0,02	0,18±0,03	0,17±0,01
C18:0	2,20±0,01	2,91±0,01	2,05±0,02
C20:0	0,21±0,06	0,97±0,02	0,38±0,05
C21:0	ND	0,02±0,02	0,01±0,01
C22:0	19,58±0,47	18,66±0,62	20,74±0,58
C23:0	0,31±0,13	0,10±0,05	ND
ΣSFA	42,59±1,41^b	46,93±1,37^a	43,02±0,49^b
C14:1	0,20±0,02	0,14±0,01	0,10±0,10
C15:1	ND	0,10±0,01	0,02±0,02
C16:1	2,50±0,01	3,77±0,01	2,83±0,07
C17:1	0,10±0,01	0,45±0,01	0,34±0,08
C18:1n9t	1,48±0,05	0,32±0,04	1,10±0,03
C18:1n9c	9,86±0,04	9,55±0,06	14,12±0,10
C20:1n9	11,01±0,06	12,69±0,47	10,25±0,07
C22:1n9	0,86±0,01	0,32±0,01	1,15±0,06
C24:1n9	0,86±0,08	0,67±0,07	1,24±0,05
ΣMUFA	26,85±0,13^b	27,98±0,38^b	31,13±0,04^a
C18:2n6t	0,31±0,01	0,34±0,02	0,20±0,02
C18:2n6c	7,34±0,19	1,78±0,06	1,32±0,09
C18:3n6	0,19±0,02	0,25±0,07	0,19±0,06
C18:3n3	1,77±0,04	1,39±0,02	1,19±0,03
C20:3n3	0,20±0,2	0,30±0,02	0,28±0,01
C20:2n6	0,21±0,00	0,27±0,01	0,26±0,04
C20:4n6	0,05±0,05	0,13±0,03	ND
C20:5n3 (EPA)	7,24±0,06	7,44±0,31	6,99±0,04
C22:6n3 (DHA)	11,34±0,11	12,81±0,04	11,77±0,04
ΣPUFA	28,63±0,08^a	24,69±0,22^b	23,84±0,59^c
Total	98,06±0,59	99,59±0,28	97,98±0,06
N.D.	1,94±0,59	0,41±0,28	2,02±0,06
n3	20,54±0,15	21,93±0,30	20,63±0,35
n6	8,09±0,23	2,77±0,06	1,96±0,10
n3/n6	2,54±0,09	7,95±0,34	9,08±0,27

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Emülsiyonların yağ asidi içeriğinin depolamaya bağlı değişimini değerlendirmek amacıyla, örneklerin EPA+DHA değerlerinin toplamı yorumlanmıştır. Oda sıcaklığında ve buzdolabı sıcaklığında depolanan emülsiyonların EPA+DHA değerlerinin değişimi sırasıyla Şekil 4.2’de verilmiştir. Şekil 4.2 incelendiğinde emülsiyonların EPA+DHA değerlerinin depolamanın 0. Ve 30.günlerinde ölçülen değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli derecede farklılıklar görülmemiştir. Bu da özellikle peroksit değerleri ile karşılaştırıldığında, emülsiyonlarda depolama süresince oksidasyondan kaynaklı bir bozulma olmadığını göstermektedir.

Pasifik beyaz kardeşinin sefalotoraksından ultrasonik destekle ekstrakte edilen yağı yağ asitleri profilinin incelendiği bir çalışmada EPA+DHA içeriği 13,27-16,25 g/100 g yağ olarak bildirilmiştir (Gulzar ve Benjakul, 2018). Tez çalışmasında referans çalışmaya göre nispeten daha yüksek EPA-DHA içeriği tespit edilmiştir. Bunun nedeninin ise kullanılan karidesin türü ve kısımları olduğu düşünülmektedir.

4.4. Emülsiyonların ısı ve depolama stabilitelerine ait bulgular

4.4.1. Emülsiyonların ısı stabilite indeksi

Emülsiyonların ısı stabilitesi, emülsiyon özelliğinin sıcaklığın etkisiyle oluşan değişimlere karşı gösterdiği dayanıklılığın bir göstergesidir. Isı stabilite indeksi 0-100 arasında değişmektedir ve bu değer 100’e ne kadar yakınsa, emülsiyon o kadar stabildir. Isı stabilitesi ölçümlerine ait değerler Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Emülsiyonların ısı stabilite indeksi verilerine ait değerler

Sıcaklık	Lesitin	Saponin	Tween-80
50°C	100±0,00 ^{Aa}	100±0,00 ^{Aa}	100±0,00 ^{Aa}
60°C	100±0,00 ^{Aa}	100±0,00 ^{Aa}	100±0,00 ^{Aa}
70°C	99,75±0,25 ^{Ab}	99,80±0,20 ^{Ab}	99,85±0,15 ^{Aa}
80°C	98,60±0,10 ^{Bb}	98,85±0,15 ^{Bab}	99,45±0,05 ^{Ba}

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p < 0,01$).

Çizelge 4.7. incelendiğinde emülsiyonların ısı stabilite indekslerinin 98,60-100,00 arasında değiştiği görülmüştür. Emülsiyonların ısı stabilite indeksleri arasında 50°C, 60°C ve 70°C’lerde istatistiksel açıdan önemli derecede bir farklılık bulunmazken, sıcaklığın 80°C’ye ulaşmasıyla birlikte ısıl stabilitenin azaldığı tespit edilmiştir.

Emülsiyonlar arası ısıl stabilite farklılığının ise sıcaklığın 70°C’ye ulaşmasıyla başladığı belirlenmiştir. 70°C’de tween-80 ile hazırlanan emülsiyonlar daha yüksek stabiliteye (99,82) sahiptir. 80°C’de tween-80 ile saponin emülsiyonları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmazken, lesitin emülsiyonunun diğerlerine kıyasla daha az stabil kaldığı belirlenmiştir ($p < 0,01$).

Farklı emülgatör maddeler (tween-80, arap zımkı ve lesitin) kullanılarak hazırlanan balık yağı emülsiyonlarının partikül çapları arasında, sıcaklığın 30°C’den 70°C’ye kadar artırılmasıyla önemli bir değişiklik bildirilmezken, sıcaklığın 60°C’den 70°C’ye çıkarılmasıyla örneklerde bozulma başladığı ve zeta potansiyelleri arasında önemli ölçüde artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada en stabil emülsiyonun

tween-80 ile hazırlanan emülsiyon olduğu belirtilmiştir (Shi vd., 2020). Sonuçlar referans çalışma ile uyumludur.

Pastörize ya da sterilize edilmiş emülsiyon bazlı sistemlerde tween-80'in emülgatör olarak kullanımı ısı açıdan daha stabil bir emülsiyon sağlamaktadır ancak, doğal emülgatör tercih edilmesi halinde saponinlerin soya lesitinine ikame olarak kullanımı önerilebilmektedir.

4.4.2. Emülsiyonların depolama stabilite indeksleri

Emülsiyonlar, raf ömrü süresince fiziksel ve kimyasal olarak bozulma eğilimindedir. Emülsiyonun stabilitesi, emülsiyon kararlılığı ve dayanıklılığının bir göstergesi olup, faz ayrılması meydana gelmeksizin geçen süre olarak da tanımlanmaktadır. Emülsifiye sistemlerde özellikle kremalaşma, flokülasyon, birleşme, Ostwald olgunlaşması, faz ayrımı gibi çeşitli fiziksel bozulmalar etkili olmaktadır. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen stabilite indeksi değerlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.8 incelendiğinde oda sıcaklığında depolanan örnekler arasında 0. ve 10. günlerde istatistiksel açıdan önemli farklılıklar görülmezken, depolamanın 20. ve 30. günlerinde tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların, diğer emülsiyonlara göre daha kararlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Çizelge 4.8. Emülsiyonların oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolama süresince ölçülen stabilite indeksi değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$100\pm0,00^{\text{Aa}}$	$100\pm0,00^{\text{Aa}}$	$100\pm0,00^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$96,78\pm0,45^{\text{Ba}}$	$96,62\pm0,47^{\text{Ba}}$	$99,02\pm0,00^{\text{ABa}}$
	20.Gün	$96,76\pm0,43^{\text{Bb}}$	$96,11\pm0,22^{\text{Bb}}$	$99,01\pm0,00^{\text{ABa}}$
	30.Gün	$94,15\pm1,13^{\text{Cb}}$	$93,69\pm0,42^{\text{Cb}}$	$98,52\pm0,49^{\text{Ba}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların depolama stabilitesi 30 günlük depolama sonunda azalırken, depolama süresince tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların daha kararlı kaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Emülsiyonlar arası stabilite farkı 20. günden itibaren başlamış, 30. günde de devam etmiştir. Lesitin ve saponin örneklerinde depolama stabilitesi açısından istatistiksel bir farklılık belirlenmezken, tween-80 örneği hem depolama süresince hem de emülgatör çeşitleri incelendiğinde en dayanıklı emülsiyon olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Emülsiyonların buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolama süresince ölçülen stabilite indeksi değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$100\pm 0,00^{\text{Aa}}$	$100\pm 0,00^{\text{Aa}}$	$100\pm 0,00^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$97,80\pm 0,24^{\text{Bab}}$	$97,33\pm 0,23^{\text{Bb}}$	$99,01\pm 0,00^{\text{ABa}}$
	20.Gün	$96,45\pm 0,49^{\text{BCc}}$	$96,77\pm 0,45^{\text{Bb}}$	$98,53\pm 0,48^{\text{Ba}}$
	30.Gün	$95,33\pm 0,78^{\text{Cb}}$	$96,24\pm 0,82^{\text{Bab}}$	$98,04\pm 0,00^{\text{Ba}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Buzdolabında depolanan emülsiyonların depolama stabiliteeleri arasında 10. günden itibaren istatistiksel açıdan önemli derecede farklılıklar görülmeye başlanmıştır. İlk 10 günlük periyotta lesitin, saponine kıyasla daha stabil kalmaktayken, 10. günden itibaren lesitin stabilitesindeki bozulmanın saponine göre daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir. Tween-80'in ise depolama süresince lesitin ve saponine göre daha stabil kaldığı tespit edilmiştir.

Emülsiyonların depolama stabiliteelerine ait varyans analizi Çizelge 4.10'da ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Çizelge 4.10 incelendiğinde varyans kaynaklarının örneklerin depolama stabilitesi üzerine istatistiksel açıdan önemli ölçüde etki ettiği görülmüştür.

Çizelge 4.10. Emülsiyonların depolama stabiliteelerine ait varyans analiz sonuçları

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama sıcaklığı (A)	1	1,94	5,24**
Depolama süresi (B)	3	100,37	90,58**
Emülgatör (C)	2	38,12	51,61**
A*B	3	2,55	2,30*
A*C	2	3,02	4,10**
B*C	6	16,49	7,44**
A*B*C	6	2,90	1,31*
Hata	24	8,86	

(*), $P<0,05$ seviyesinde, (**) ise, $P<0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Çizelge 4.11 incelendiğinde, farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların depolama stabiliteeleri arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar olduğu ve buzdolabında depolanan örneklerin oda sıcaklığında depolananlara kıyasla daha stabil kaldığı görülmüştür.

30 günlük depolama sonunda emülsiyonların stabilite indeksleri arasında istatistiksel açıdan önemli azalışlar olmuştur. 10. ve 20. günlerdeki stabilite indeksleri arasında önemli farklılıklar bulunmazken, bu değerler 0.güne göre daha düşük, 30. Güne göre daha yüksek stabilite göstermiştir. Lesitin ve saponin ile hazırlanan emülsiyonların 30 günlük stabilite indeksleri arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmazken, tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların stabilite indeksi lesitin ve saponinden daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Emülsiyonların depolama stabilitesi sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Oda	Buzdolabı		
	97,56±0,45 ^b	97,96±0,33 ^a		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	97,16±0,52 ^b	97,10±0,52 ^b	99,02±0,18 ^a	
Depolama Süresi (Gün)	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	100±0,00 ^a	97,76±0,31 ^b	97,27±0,35 ^b	95,16±0,52 ^c

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0,01$).

Çöven saponinleri ile yaygın bir emülgatör olarak kullanılan soya lesitini arasında stabilite indeksleri açısından fark olmaması emülsiyon teknolojisinde doğal emülgatörlerin kullanımı için umut vadetmektedir.

Lesitin ve Tween-80 kullanarak hazırlanan O/W emülsiyon sistemleri üzerine yapılan bir çalışmada, lesitin düşük HLB değeri nedeniyle oda sıcaklığında tween-80'e kıyasla suda daha az çözündüğünü ve dolayısıyla daha düşük emülsiyon stabilitesi sağladığı bildirilmiştir. (Rocchio vd., 2017).

Ayrıca Riquelme vd. (2019), tarafından yapılan benzer bir çalışmada da daha düşük molekül ağırlığına sahip emülgatörlerin (soya lesitini) yüzey gerilimini azaltma özelliğinin de düşük olduğu dolayısıyla, daha düşük emülsiyon stabilitesi gösterdiği ve tween-80'in emülsiyon stabilitesinin lesitin ve saponin ile hazırlanan emülsiyonlara kıyasla daha yüksek stabilite gösterdiği bildirilmiştir.

Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada, lesitin ve tween-80 kullanarak hazırlanan gıda emülsiyonlarının stabilitesi incelenmiş, 10°C'de depolanan emülsiyonların stabilitesinin, 25°C'dekinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Züge vd., 2013). Sonuçlar referans çalışmalarla uyum içerisinde.

4.5.Totox tayini

Örneklerdeki toplam oksidasyon değeri (Totox), yağlı bileşiklerde oluşan birincil (peroksit) ve ikincil (*para*-anisidin) oksidasyon ürünlerinin konsantrasyonuna göre hesaplanmaktadır. Analiz sonuçlarında ikincil oksidasyon ürünü konsantrasyonlarının oluşmaması nedeniyle, oksidasyonun belirlenmesinde peroksit değerinden yararlanılmıştır. Oda sıcaklığında (24±1°C) ve buzdolabı sıcaklığında (4±1°C) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen peroksit değerlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13'te gösterilmiştir.

Oda sıcaklığında depolanan örneklerin peroksit değerleri arasında emülgatör çeşidine göre 0., 20. ve 30. günlerde istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmemiştir ($p<0,05$). Saponin örneklerinde peroksit değeri 30. günde 0. güne kıyasla artmıştır ($p<0,05$). Bu da saponin emülsiyonlarının test edilen değerler arasında diğer emülsiyonlara kıyasla oksidasyona karşı daha hassas olduğu göstermiştir.

Çizelge 4.12. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen peroksit değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$1,73\pm 0,11^{\text{Aa}}$	$1,72\pm 0,10^{\text{Ba}}$	$1,60\pm 0,02^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$1,92\pm 0,10^{\text{Ab}}$	$2,96\pm 0,10^{\text{Aa}}$	$1,31\pm 0,11^{\text{Ab}}$
	20.Gün	$2,03\pm 0,41^{\text{Aa}}$	$1,95\pm 0,30^{\text{Ba}}$	$1,45\pm 0,10^{\text{Aa}}$
	30.Gün	$1,41\pm 0,57^{\text{Aa}}$	$2,95\pm 0,02^{\text{Aa}}$	$1,48\pm 0,10^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Buzdolabı sıcaklığında depolanan örneklerin peroksit değerleri incelendiğinde depolama süresince emülgatör çeşitleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır. Saponin ve tween-80 örneklerinin peroksit değeri depolama süresince stabil kalırken lesitin örneğinin peroksit değerinde dalgalanmalar görülmüş, soğukta depolamanın lesitin emülsiyonunu oksidasyona karşı hassaslaştırdığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen peroksit değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$1,73\pm 0,11^{\text{ABa}}$	$1,72\pm 0,10^{\text{Aa}}$	$1,60\pm 0,02^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$1,29\pm 0,125^{\text{Ca}}$	$1,38\pm 0,16^{\text{Aa}}$	$1,22\pm 0,21^{\text{Aa}}$
	20.Gün	$1,90\pm 0,00^{\text{Aa}}$	$1,80\pm 0,11^{\text{Aa}}$	$1,50\pm 0,04^{\text{Aa}}$
	30.Gün	$1,57\pm 0,10^{\text{Ba}}$	$1,39\pm 0,00^{\text{Aa}}$	$1,59\pm 0,20^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Emülsiyonların peroksit değerlerine ait varyans analizi Çizelge 4.14'te ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir. Çizelge 4.14'e göre depolama sıcaklığı ve emülgatör çeşidinin ve bunların interaksiyonlarının, örneklerin peroksit değeri üzerine istatistiksel açıdan önemli ölçüde etki ettiği görülmüştür ($p<0,01$). Peroksit değerinin, test edilen değerler arasında, depolama süresinden bağımsız olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14. Emülsiyonların peroksit değerlerine ait varyans analiz tablosu

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama sıcaklığı (A)	1	1,21	17,16**
Depolama süresi (B)	3	0,02	0,33
Emülgatör (C)	2	1,06	15,10**
A*B	3	0,37	5,27**
A*C	2	0,79	11,14**
B*C	6	0,22	3,05*
A*B*C	6	0,25	3,52*
Hata	24	0,07	

(*), $p<0,05$ seviyesinde, (**) ise, $p<0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Emülsiyonlarda lipit oksidasyonu mekanizması, ara yüzey tabakası ve sulu fazın varlığından dolayı yağ fazı ile karşılaştırıldığında oldukça farklıdır ve oksijen konsantrasyonu, pH ve sulu fazın iyonik gücü, damlacık boyutu ve ara yüzey özellikleri gibi birçok faktöre bağlıdır (Öztürk vd., 2017). Tüm varyans kaynaklarının emülsiyonların peroksit değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, beklenildiği gibi soğukta depolamanın emülsiyonları oksidasyondan daha iyi koruduğu görülmüştür (Çizelge 4.15). Emülgatör çeşitlerine göre ise tween-80 emülsiyonlarının oksidasyona karşı daha stabil olduğu belirlenirken, saponin emülsiyonlarının oksidasyona karşı daha hassas olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. Emülsiyonların peroksit değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Oda	Buzdolabı			
	1,88±0,12 ^a	1,56±0,05 ^b			
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80		
	1,70±0,09 ^b	1,99±0,16 ^a	1,47±0,05 ^c		
Depolama Süresi (Gün)	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün	
	1,68±0,03 ^a	1,68±0,19 ^a	1,77±0,09 ^a	1,74±0,18 ^a	

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0.01$).

Ghorbanzade ve arkadaşları (2017), kapsüllenmiş balık yağı içeren yoğurt numuneleri için, peroksit değerinin 21 günlük depolama boyunca hemen hemen sabit kaldığını bildirmiştir. Gulzar ve Benjakul (2020) ise ultrasonikasyon ve mikrofludizasyon yöntemleriyle karides yağını emülsifiye etmiş, ultrasonik yöntem kullandığı numunelerin daha fazla oksidatif stabilite gösterdiği ve 45 günlük depolamaya kadar numunelerin peroksit değerinde hafif bir artış olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda da 30 günlük depolama süresince peroksit değerleri sabit kalmış olup sonuçlar referans çalışmalar ile uyumlu görülmüştür.

4.6. Partikül boyutu analizi

Partikül boyutu analizi, emülsiyonların kararlılığı ve yapısı hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca, emülsiyonlardaki dağılmış parçacıkların büyüme sürecinin ve boyutlarının zaman içindeki değişiminin belirlenmesini sağlamaktadır (Ursica vd., 2005). Farklı emülgatör maddelerle hazırlanmış ve farklı sıcaklıklarda depolanmış emülsiyonların 10 günlük periyotlarla parçacık boyutu analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda örneklerin partikül boyutu hakkında bilgi veren hacim ağırlıklı ortalama çap (d_{43}) değerleri μm cinsinden belirlenmiştir. d_{43} değeri büyük partiküllerin varlığına daha duyarlıdır ve bu nedenle d_{43} değeri emülsiyonların parçacık boyutunu belirlemek için daha yaygın olarak kullanılır (McClement 2004). Bu yüzden çalışmada emülsiyonların depolamaya bağlı stabilitesi d_{43} değerleri üzerinden değerlendirilmiştir. Oda sıcaklığında ve buzdolabı sıcaklığında depolanan emülsiyonların d_{43} değerlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.16 ve Çizelge 4.17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen d_{43} değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$4,14\pm 0,06^{\text{Ca}}$	$4,75\pm 0,58^{\text{Ba}}$	$4,28\pm 0,04^{\text{Da}}$
	10.Gün	$33,64\pm 1,75^{\text{Ba}}$	$5,62\pm 1,30^{\text{BAb}}$	$6,58\pm 0,05^{\text{Cb}}$
	20.Gün	$63,50\pm 0,90^{\text{Aa}}$	$2,49\pm 0,21^{\text{Cc}}$	$8,07\pm 0,19^{\text{Bb}}$
	30.Gün	$82,49\pm 1,18^{\text{Aa}}$	$7,80\pm 0,29^{\text{Ac}}$	$10,88\pm 0,15^{\text{Ab}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.16 incelendiğinde emülsiyonların başlangıç partikül boyutu değerleri (d_{43}) arasında istatistiksel açıdan önemli derecede bir farklılık bulunmamıştır ($p<0,05$). Ancak depolama süresince özellikle lesitin emülsiyonlarının partikül boyunda keskin bir artış görülmüştür. 30 günlük depolama sonunda en küçük partikül boyutuna sahip örnek saponin emülsiyonu olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen d_{43} değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$4,10\pm 0,20^{\text{ABa}}$	$4,75\pm 0,58^{\text{ABa}}$	$4,28\pm 0,04^{\text{Ca}}$
	10.Gün	$4,38\pm 0,19^{\text{Aa}}$	$5,41\pm 1,09^{\text{Aa}}$	$6,40\pm 0,44^{\text{Ba}}$
	20.Gün	$3,92\pm 0,12^{\text{ABb}}$	$4,20\pm 0,65^{\text{Bb}}$	$6,35\pm 0,12^{\text{Ba}}$
	30.Gün	$3,68\pm 0,03^{\text{Bb}}$	$5,41\pm 0,72^{\text{Ab}}$	$8,15\pm 0,14^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.17 incelendiğinde lesitin ve saponin örneklerinin partikül boyutu değerleri arasında, depolama süresince, istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmemiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.18. Emülsiyonların d_{43} değerlerine ait varyans analizi tablosu

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama Sıcaklığı (A)	1	1798,18	75,21**
Depolama Süresi (B)	3	663,19	27,74**
Emülgatör (C)	2	1780,78	74,48**
A*B	3	275,60	11,53**
A*C	2	2675,20	111,89**
B*C	6	303,37	12,69**
A*B*C	6	494,634	20,69**
Hata	24	23,91	

(*), $P<0,05$ seviyesinde, (**) ise, $P<0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Emülsiyonların depolama süresince hesaplanan d_{43} değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir. Emülgatör, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin d_{43} değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($p<0.01$) önemli bulunmuştur.

Emülsiyonların depolama süresince ölçülen d_{43} değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.19’da verilmiştir. En küçük d_{43} değeri (5,05 μm) saponine ait emülsiyonlarda görülürken, en yüksek d_{43} değeri (24,98 μm) lesitine ait emülsiyonlarda ölçülmüştür. Buzdolabında depolanan emülsiyonların partikül boyutunun (6,89 μm), oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların partikül boyutundan (19,13 μm) daha küçük olduğu görülmüştür. Ayrıca 30 günlük depolama süresince, örneklerin partikül boyutu her 10 günlük periyotta istatistiksel açıdan önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.01$).

Çizelge 4.19. Emülsiyonların d_{43} değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Oda	Buzdolabı		
	19,13±5,38 ^a	6,89±1,42 ^b		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	24,98±7,72 ^a	5,05±0,41 ^c	9,00±2,00 ^b	
Depolama Süresi (Gün)	0	10	20	30
	4,39±0,13 ^d	10,38±3,16 ^c	15,38±6,66 ^b	19,68±8,58 ^a

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0.01$).

Riquelme ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, Tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonların, quillaja saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyonlara göre daha küçük partikül boyutuna sahip olduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında ise çöven saponinleri kullanılarak hazırlanan emülsiyonların, Tween-80 ve soya lesitini kullanılarak hazırlanan emülsiyonlardan istatistiksel açıdan önemli ölçüde daha küçük partikül boyutuna sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuç, saponin kaynağının emülsiyonlardaki partikül boyutunu etkilediğini göstermektedir. Ayrıca literatürde sıklıkla rastlanan quillaja saponinlerine alternatif olarak çöven kökü saponinlerinin kullanılabileceği düşünülmektedir.

Farklı bir çalışmada ise tween-20 ve saponin (Gypenosides) kullanılarak yüksek basınçlı homojenizatör yardımı ile emülsiyonlar oluşturulmuş ve partikül boyutları (d_{43}) sırasıyla 145±6 ve 125±2 nm olarak bulunmuştur (Chen vd. 2018). Bu çalışmadaki sonuçların, referans çalışmadaki sonuçlara göre daha yüksek olmasının sebebinin emülsiyon formülasyonu ve/veya yüksek basınçlı homojenizasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanında bu çalışmaya benzer şekilde yapay bir emülgatör olan tween-20 kullanılarak elde edilen emülsiyonların partikül boyutu, saponin kullanılarak elde edilen emülsiyonların partikül boyutundan daha büyük olduğu bildirilmiştir.

4.7. Antioksidan kapasite tayini

Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen antioksidan kapasite (TEAC) değerlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21’de verilmiştir. Çizelge 4.20 incelendiğinde, depolama süresince saponin emülsiyonunun antioksidan kapasitesi nispeten sabit kalırken, lesitin ve tween-80 emülsiyonlarının antioksidan kapasiteleri 30 günün sonunda artmıştır ($p<0,05$). Emülsiyonların 0. gün antioksidan kapasite değerleri arasında en yüksek değer tween-80, en düşük değer ise lesitin emülsiyonunda belirlenmiştir. 30. gün antioksidan değerlerinde ise emülgatörler arası istatistiksel bir farklılık görülmemiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.20. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen antioksidan kapasite değerlerine (TEAC) ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$0,53\pm 0,02^{\text{Cb}}$	$0,54\pm 0,02^{\text{Bba}}$	$0,58\pm 0,04^{\text{Ca}}$
	5.Gün	$0,64\pm 0,13^{\text{BCa}}$	$0,48\pm 0,04^{\text{Ba}}$	$0,38\pm 0,04^{\text{Da}}$
	10.Gün	$0,72\pm 0,02^{\text{Ba}}$	$0,77\pm 0,28^{\text{Ba}}$	$0,75\pm 0,06^{\text{Ba}}$
	20.Gün	$0,65\pm 0,03^{\text{BCb}}$	$1,84\pm 0,06^{\text{Aa}}$	$0,72\pm 0,02^{\text{Bb}}$
	30.Gün	$0,91\pm 0,06^{\text{Aa}}$	$0,87\pm 0,04^{\text{Ba}}$	$0,95\pm 0,03^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.21’e göre depolama süresince saponin emülsiyonlarının antioksidan kapasite değerlerinde önemli bir fark görülmezken, lesitin emülsiyonunun antioksidan kapasite değerinde 20. günden itibaren önemli bir azalış olmuştur ($p<0,05$). 30. gün sonunda buzdolabı sıcaklığında depolanan emülsiyonların antioksidan kapasite değerlerinde tween-80 emülsiyonu diğer emülsiyonlara kıyasla daha yüksek değerde iken, en düşük antioksidan kapasite değeri lesitin emülsiyonunda tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.21. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen antioksidan kapasite değerlerine (TEAC) ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$0,53\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$0,54\pm 0,02^{\text{Aba}}$	$0,58\pm 0,04^{\text{Ca}}$
	5.Gün	$0,61\pm 0,13^{\text{Aa}}$	$0,51\pm 0,09^{\text{Aa}}$	$0,47\pm 0,04^{\text{Ca}}$
	10.Gün	$0,61\pm 0,07^{\text{Aa}}$	$0,81\pm 0,21^{\text{Aa}}$	$0,90\pm 0,13^{\text{Aa}}$
	20.Gün	$0,44\pm 0,03^{\text{Bb}}$	$0,47\pm 0,02^{\text{Ab}}$	$0,67\pm 0,04^{\text{Ba}}$
	30.Gün	$0,30\pm 0,04^{\text{Cc}}$	$0,55\pm 0,04^{\text{Ab}}$	$0,69\pm 0,04^{\text{Ba}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların antioksidan kapasite değerleri arasında sıcakta depolanan emülsiyonlarda antioksidan kapasite değerinde nispeten daha fazla bir değişim ve artış tespit edilmiştir. Depolama süresince 10. günden itibaren, parçalanma ya da bozulmaya uğrayarak emülsiyon sistemine salınan astaksantin nedeniyle antioksidan kapasitenin arttığı düşünülmektedir. Sonuçlar depolama ile azalan astaksantin konsantrasyonu ve referans çalışma ile uyumludur (Jiang ve Zhu, 2019).

Çizelge 4.22. Emülsiyonların antioksidan kapasite değerlerine ait varyans analizi tablosu

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama Sıcaklığı (A)	1	0,47	35,06**
Depolama Süresi (B)	4	0,19	14,30**
Emülgatör (C)	2	0,10	7,69*
A*B	4	0,23	16,73**
A*C	2	0,12	9,05**
B*C	8	0,11	7,83**
A*B*C	8	0,11	8,35**
Hata	30	0,40	

(*), $p < 0,05$ seviyesinde, (**) ise, $p < 0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Tüm varyans kaynaklarının emülsiyonların antioksidan kapasite değerleri üzerine etkileri incelendiğinde, saponin ve tween-80 emülsiyonları arasında istatistiksel açıdan önemli derecede fark görülmezken, lesitin emülsiyonun antioksidan kapasite değerinin diğer emülsiyonlara kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

Çizelge 4.23. Emülsiyonların antioksidan değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Oda	Buzdolabı			
	0,76±0,06 ^a	0,57±0,03 ^b			
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80		
	0,59±0,04 ^b	0,74±0,09 ^a	0,67±0,04 ^a		
Depolama Süresi (Gün)	0.Gün	5.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	0,55±0,01 ^b	0,52±0,03 ^b	0,76±0,05 ^a	0,79±0,14 ^a	0,71±0,07 ^a

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).

4.8.Viskozite tayini

Emülsiyonların, oda sıcaklığında ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) depolama süresince, 150 s^{-1} kayma hızında ölçülen viskozite değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.25'te gösterilmiştir. Çizelge 4.24 incelendiğinde emülsiyonların 0. gün viskozite değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli derece farklılık bulunmazken, 30 günlük depolama sonunda saponin emülsiyonlarına ait viskozite değeri diğer emülsiyonlara kıyasla düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Saponin ve tween-80 emülsiyonlarının viskozite değeri oda sıcaklığında 30 günlük depolama süresince sabit kalırken, lesitin emülsiyonlarının viskozite değeri istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.24. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen viskozite değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$4,61\pm 0,26^{\text{Ba}}$	$4,67\pm 0,13^{\text{Aa}}$	$4,51\pm 0,10^{\text{BAa}}$
	10.Gün	$4,94\pm 0,27^{\text{Ba}}$	$4,67\pm 0,32^{\text{Aa}}$	$4,12\pm 0,18^{\text{Bb}}$
	20.Gün	$5,21\pm 0,04^{\text{Ba}}$	$4,58\pm 0,17^{\text{Ab}}$	$3,98\pm 0,03^{\text{Bb}}$
	30.Gün	$6,60\pm 0,16^{\text{Aa}}$	$4,58\pm 0,03^{\text{Ab}}$	$4,96\pm 0,14^{\text{Ab}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Buzdolabında depolanan emülsiyonların viskozite değerleri (Çizelge 4.25) ise 30 günlük depolama sonunda birbirinden istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Lesitin emülsiyonlarına ait viskozite değeri diğer emülsiyonlara kıyasla daha düşük bulunurken, tween-80 ile hazırlanan emülsiyonlar 30 günün sonunda en yüksek viskozite değerini vermiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.25. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen viskozite değerlerine (TEAC) ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$4,61\pm 0,26^{\text{Aa}}$	$4,67\pm 0,13^{\text{Ba}}$	$4,51\pm 0,10^{\text{Ba}}$
	10.Gün	$4,47\pm 0,12^{\text{Aa}}$	$3,68\pm 0,08^{\text{Ca}}$	$4,10\pm 0,15^{\text{Ba}}$
	20.Gün	$4,22\pm 0,18^{\text{Aa}}$	$4,21\pm 0,06^{\text{CBa}}$	$4,33\pm 0,21^{\text{Ba}}$
	30.Gün	$4,96\pm 0,23^{\text{Ac}}$	$5,88\pm 0,20^{\text{Ab}}$	$8,41\pm 0,23^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.25 incelendiğinde, saponin ve tween-80 emülsiyonlarının viskozite değerlerinde depolama süresince artış görülürken, lesitin emülsiyonlarının viskozite değerleri arasında 30 günlük depolama süresince önemli derecede bir fark tespit edilmemiştir ($p<0,05$).

Tüm emülsiyonların viskozite değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.26'da bu sonuçlara ait Duncan çoklu karşılaştırma sonuçları ise Çizelge 4.27'de verilmiştir. Çizelge 4.26 incelendiğinde depolama sıcaklığının, test edilen değerler arasında, emülsiyonların viskozite değerlerini etkilemediği tespit edilmiştir. Depolama süresi ve emülgatör çeşidinin ise emülsiyonların viskozite değerleri üzerinde önemli derecede etkisi olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$).

Çizelge 4.26. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan viskozite değerlerine ait varyans analizi sonuçları

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama Sıcaklığı (A)	1	0,04	0,72
Depolama Süresi (B)	3	6,40	100,80**
Emülgatör (C)	2	0,44	6,97**
A*B	3	1,39	21,87**
A*C	2	2,96	46,61**
B*C	6	0,83	13,07**
A*B*C	6	1,41	22,21**
Hata	24	0,06	

(*), $p < 0,05$ seviyesinde, (**) ise, $p < 0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Çizelge 4.27 incelendiğinde, tween-80 ve lesitin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların viskozite değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli ölçüde bir farklılık olmadığı ancak, saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların viskozite değerinin diğerler emülsiyonlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresince örneklerin viskozite değerleri arasında önemli ölçüde artış tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

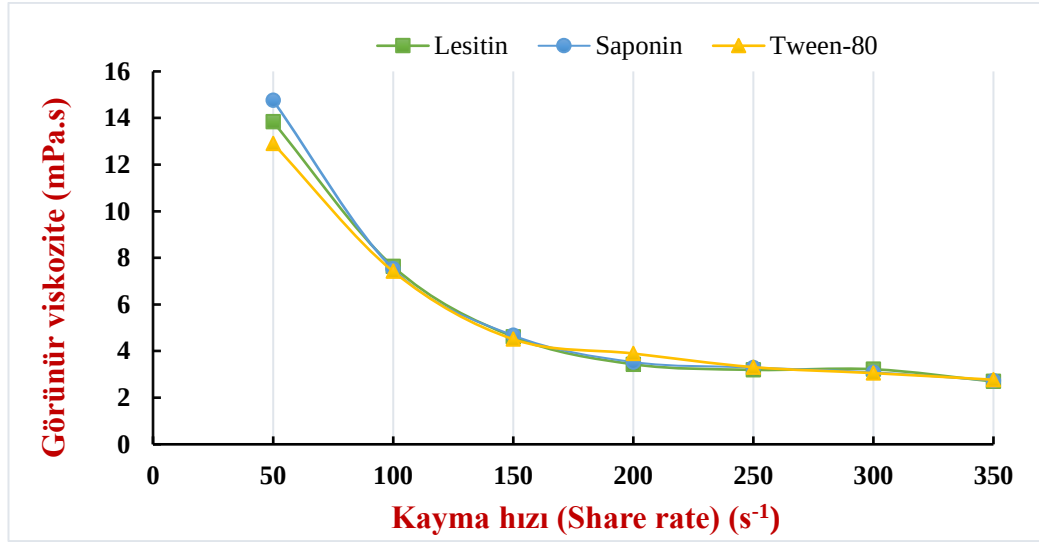
Çizelge 4.27. Emülsiyonların viskozite değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
	4,78±0,14 ^a	4,85±0,25 ^a		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	4,95±0,18 ^a	4,63±0,15 ^b	4,86±0,35 ^a	
Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	4,60±0,06 ^b	4,33±0,14 ^c	4,44±0,12 ^{cb}	5,90±0,39 ^a

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).

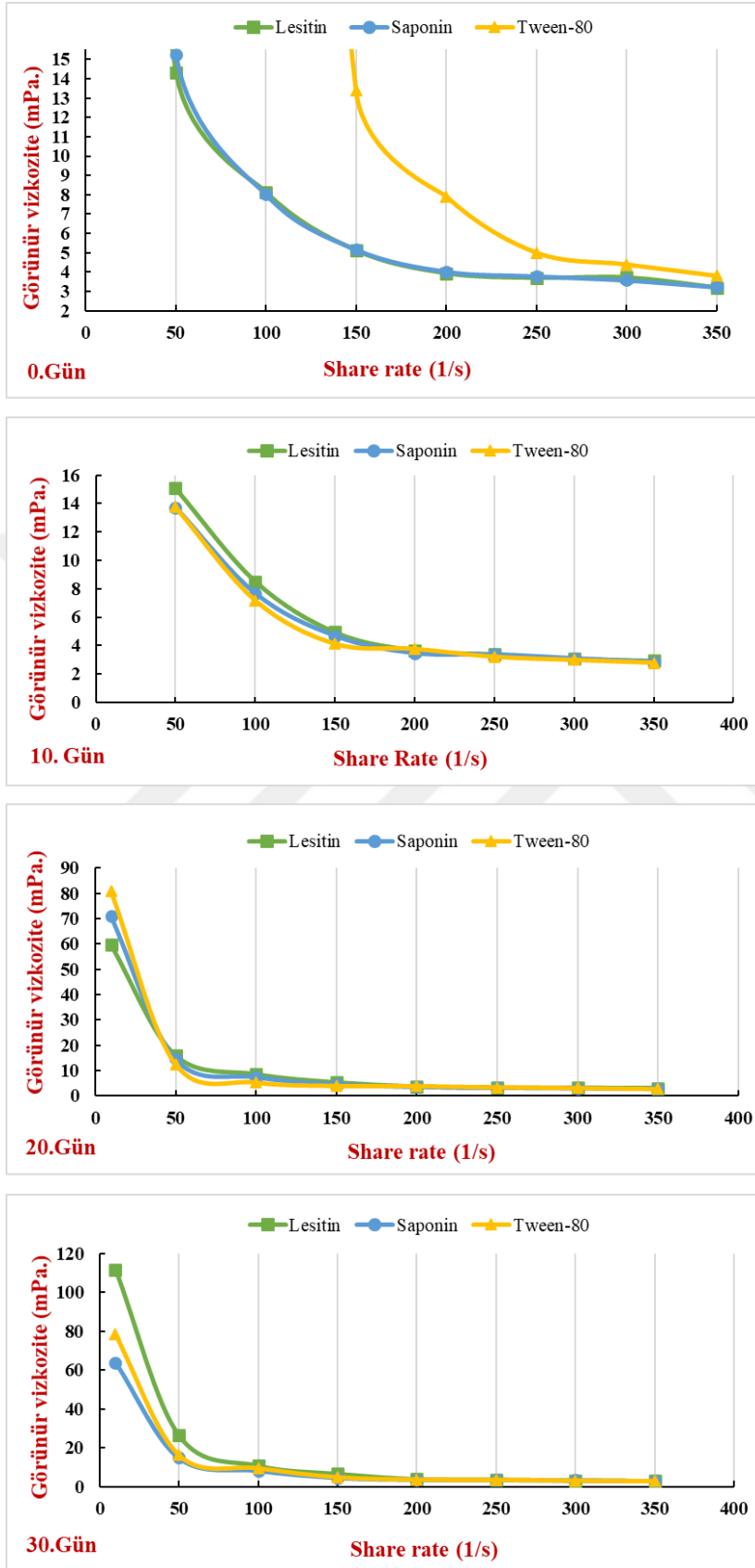
Riquelme ve arkadaşları (2019), farklı emülgatör karışımları kullanarak (Tween-80 ve quillaja saponin) avokado yağı bazlı nanoemülsiyonlar oluşturmuş, nanoemülsiyonların görünür viskozitesinin, tween-80'e, quillaja saponin ilave edilmesiyle azaldığı bildirmiştir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar referans çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Tüm emülsiyonlarda, kayma hızlarının (shear rate) artmasıyla viskozitelerin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.3). Bunun nedeni olarak, literatürde, artan kayma hızı ile, partiküllerin birbiri ile etkileşiminin azalması sonucu partikül boyutunun küçülerek, viskoziteyi azalması olduğu bildirilmektedir (Anarjan vd., 2012). Buna bağlı olarak, depolama süresince viskozitenin artması, partikül boyutundaki artışla ilişkilendirilmektedir ve Çizelge 4.19'daki partikül boyutu artışı sonuçları da bu değişimi doğrulamaktadır.

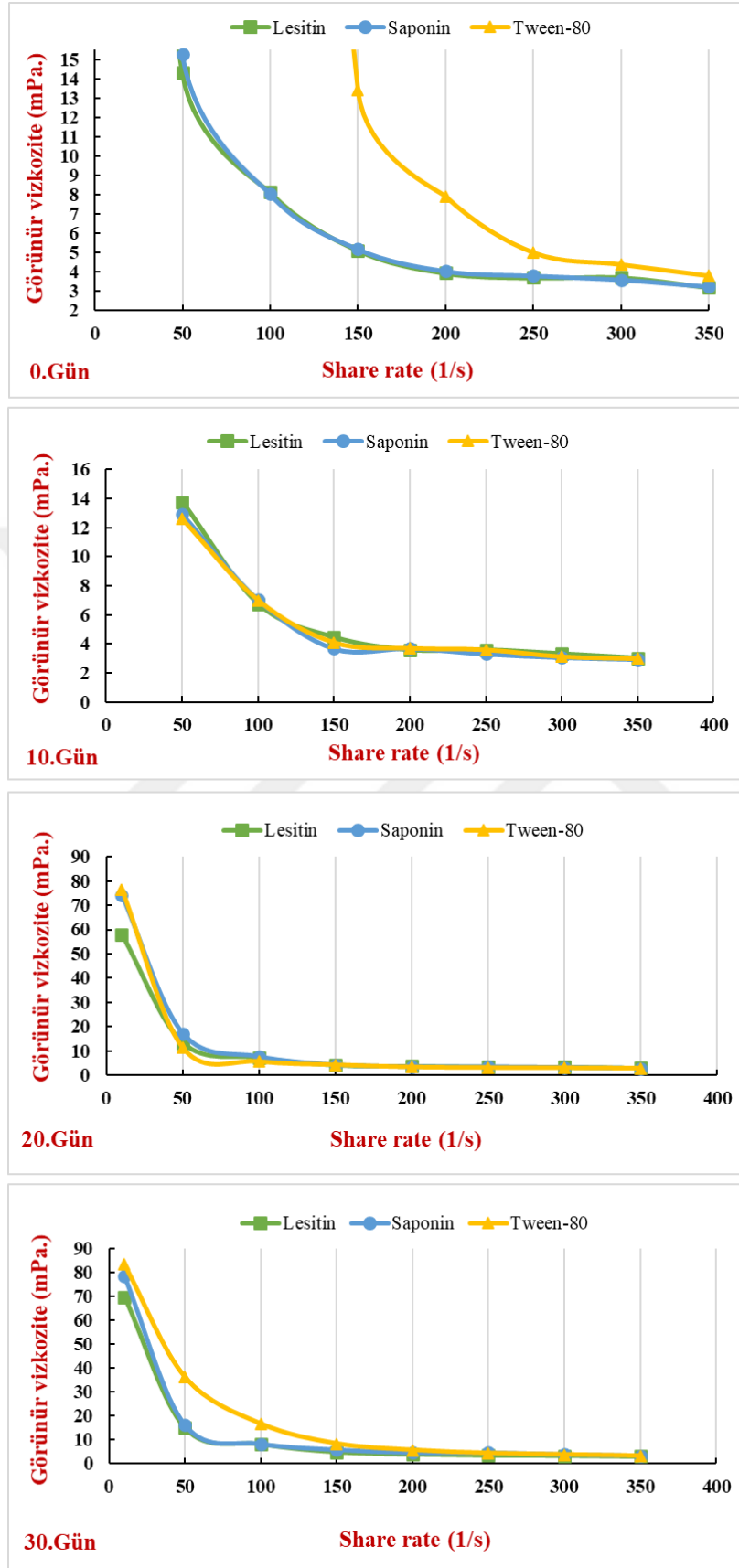


Şekil 4.3. Emülsiyonların 0. Gününe ait görünür viskozite değerleri

Kayma hızı arttıkça viskozitesi azalan sistemler psödoplastik akış göstermektedir. Bu sistemlere kaymayla incelen sistemler denilmektedir. Pek çok emülsiyon ve jel yapılan bu tipte akış göstermektedir (Cheng vd., 2023; Liu vd., 2016). Tez çalışması sonucu elde edilen akış grafiklerine göre de hazırlanan emülsiyonlar psödoplastik akış sergilemektedir ve referanslarla doğrulanmaktadır.



Şekil 4.4. Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlara ait viskozite değerleri



Şekil 4.5. Buzdolabında depolanan emülsiyonlara ait viskozite değerleri

4.9. Emülsiyonlarda renk ölçüm değerleri

Renk pigmentlerinin varlığı ve bu pigmentlerdeki renk değişikliği örneklerin karotenoid (astaksantin) içeriği ile ilişkili olması açısından önemlidir. Farklı emülgatör maddeler kullanılarak hazırlanan emülsiyon örneklerinin farklı sıcaklıklarda (4 ve 25°C) depolama süresince L* (parlaklık/koyuluk), a* [(+) kırmızılık/ (-) yeşillik] ve b* [(+) sarılık/(-) mavilik] renk değerleri ölçülmüştür. Bu değerlere ait veri tabloları Çizelge 4.28 ve Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.28. Oda sıcaklığında (24±1°C) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen L* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
24±1°C	0.Gün	70,24±0,07 ^{Ca}	70,42±0,07 ^{Da}	65,93±0,72 ^{Bb}
	10.Gün	71,09±0,01 ^{Ba}	71,40±0,01 ^{Ca}	66,42±0,01 ^{Bb}
	20.Gün	71,24±0,03 ^{Bb}	72,16±0,04 ^{Ba}	68,09±0,02 ^{ABc}
	30.Gün	72,08±0,04 ^{Ab}	73,94±0,02 ^{Aa}	66,91±0,01 ^{Ac}

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların L* değerinde, 0. günde lesitin ve saponin örnekleri arasında fark bulunmazken, tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların daha koyu renkte olduğu görülmüştür. Depolamanın 20. gününe kadar lesitin ve saponin örnekleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı, 20. günden itibaren saponin emülsiyonlarında renkte solma olduğu görülmüştür. Tüm emülsiyonlarda depolamanın 0. gününden 30.gününe kadar renkte solma tespit edilirken, tween-80 örneklerinde rengin lesitin ve saponin örneklerine kıyasla nispeten daha stabil kaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

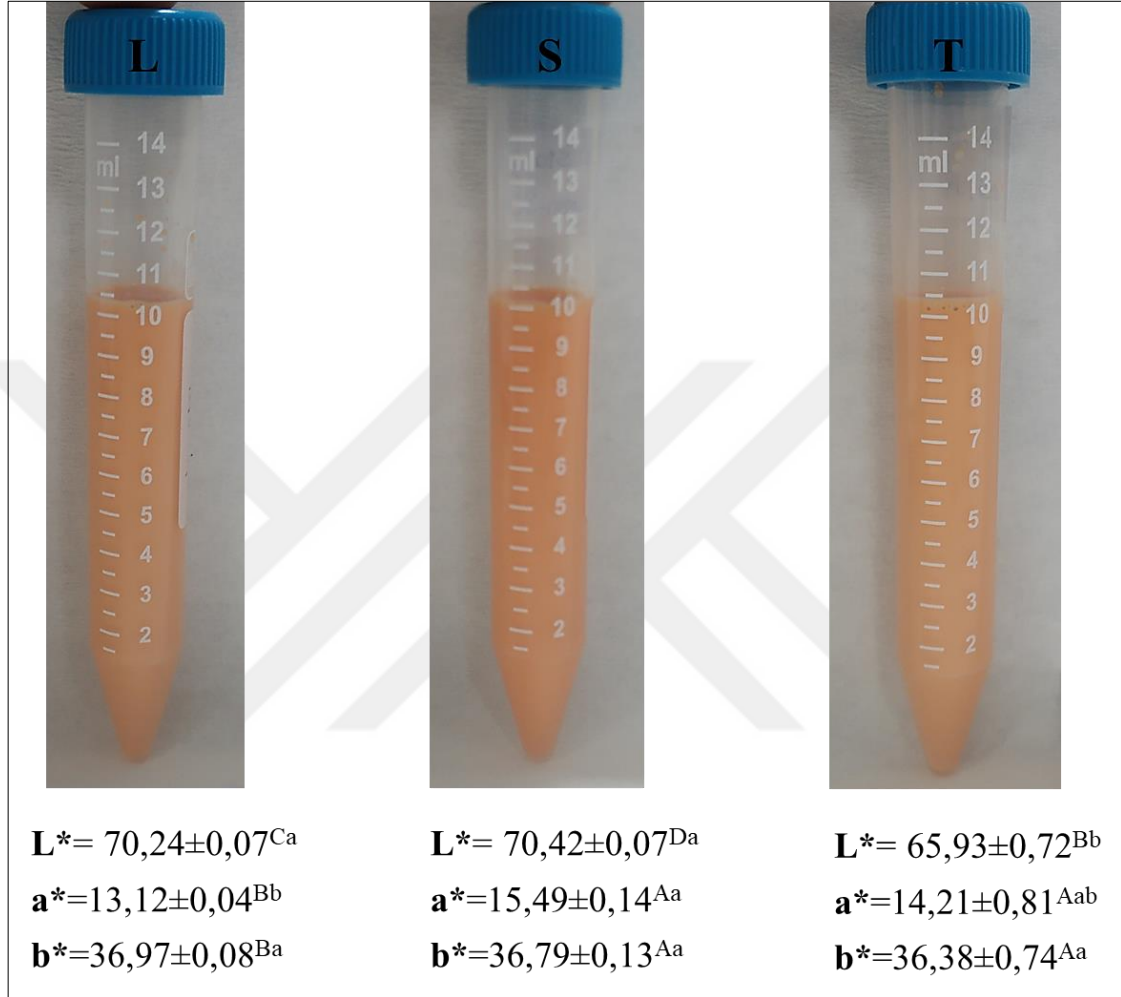
Çizelge 4.29. Buzdolabı sıcaklığında (4±1°C) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen L* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
4±1°C	0.Gün	70,24±0,07 ^{Ba}	70,42±0,07 ^{Aa}	65,93±0,72 ^{Ab}
	10.Gün	70,55±0,04 ^{Aa}	70,44±0,04 ^{Aa}	65,89±0,09 ^{Ab}
	20.Gün	70,70±0,00 ^{Aa}	70,08±0,02 ^{Ba}	66,15±0,03 ^{Ab}
	30.Gün	70,70±0,05 ^{Aa}	70,50±0,02 ^{Aa}	65,95±0,02 ^{Ab}

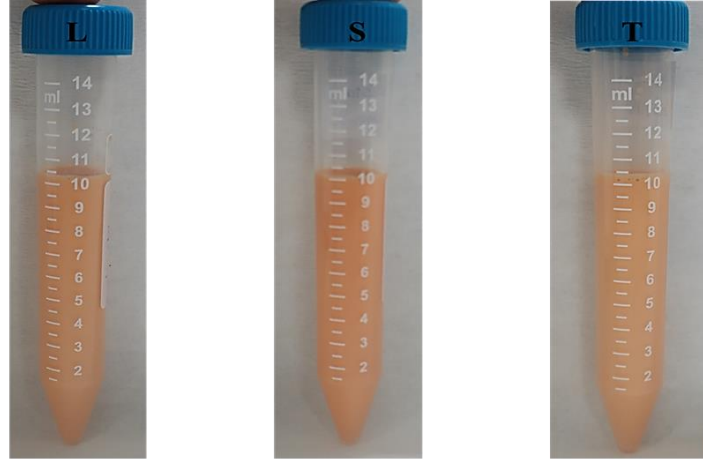
Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Buzdolabı sıcaklığında depolanan lesitin ve saponin emülsiyonlarının L* değerlerinin arasında, 30 gün boyunca istatistiksel açıdan önemli derecede bir fark bulunmamıştır ($p<0,05$). Tween-80 emülsiyonlarının depolama süresince rengi daha iyi koruduğu tespit edilmiştir. Emülsiyonun L* değerleri, düşük depolama sıcaklığında nispeten sabit kalırken, daha yüksek sıcaklıkta depolanan emülsiyonun L* değerinde keskin bir artış görülmüştür (Çizelge 4.29).

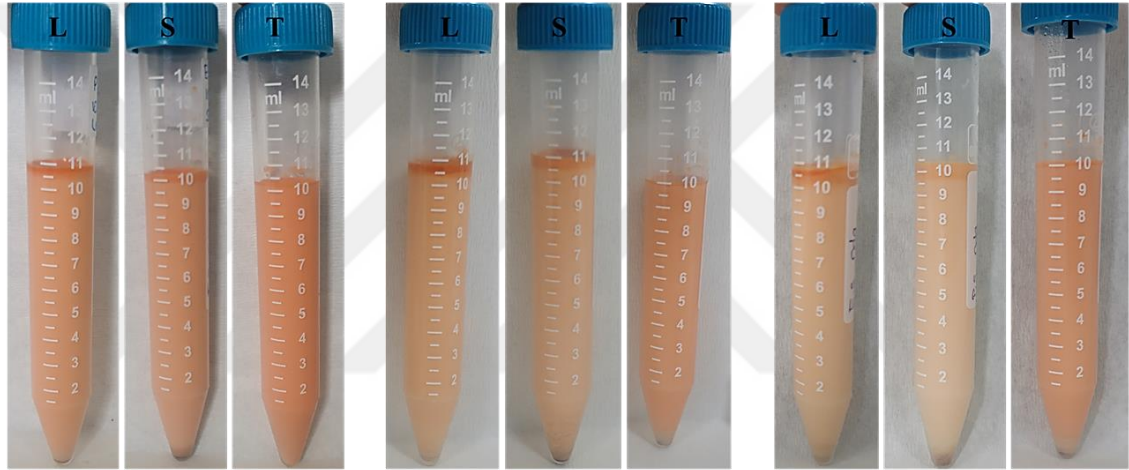
Emülsiyonların tüm varyans kaynakları dikkate alınarak ölçülen renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.30'da bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.31'de gösterilmiştir. Çizelge 4.30 incelendiğinde tüm varyans kaynaklarının ve bunların interaksiyonlarının, örneklerin L^* , a^* , b^* , C değerleri ve h açısı üzerine istatistiksel açıdan önemli ölçüde etki ettiği görülmektedir.



Şekil 4.6. Emülsiyonların 0. Gününe ait L^* , a^* ve b^* değerlerine ait veriler; L) Lesitin kullanılarak hazırlanan emülsiyon; S) Saponin kullanılarak hazırlanan emülsiyon; T) Tween-80 kullanılarak hazırlanan emülsiyon;



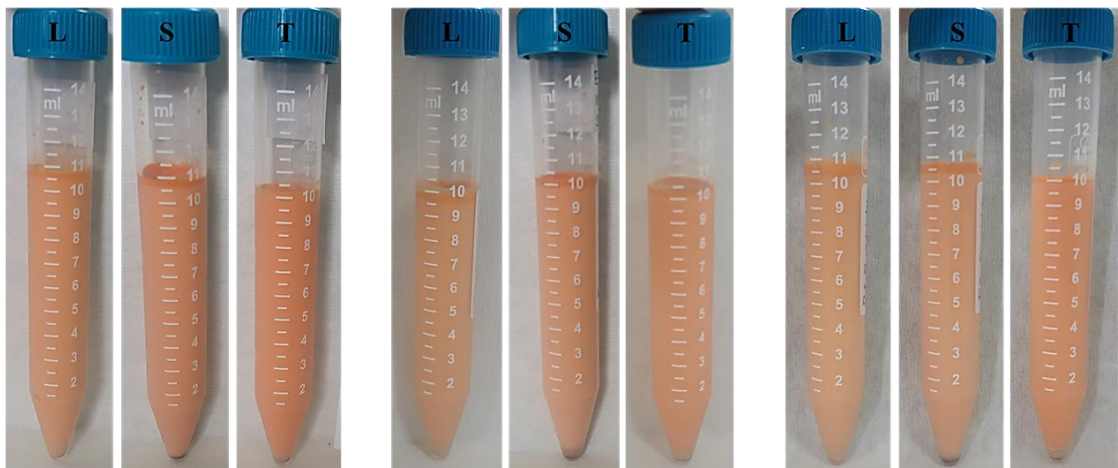
0. gün

Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) depolama

10. gün

20. gün

30. gün

Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolama

10. gün

20. gün

30. gün

Şekil 4.7. Emülsiyonların depolama süresince çekilen görüntüleri

Çizelge 4.30. Emülsiyonların L*, a*, b*, C değerleri ve h° sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	L*		a*		b*		Kroma (C)		Hue Açısı (h°)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Depolama Sıcak. (A)	1	25,80	416,04**	107,59	436,07**	110,57	513,99**	88,54	144,89**	51,17	157,51**
Depolama Süresi (B)	3	6,20	99,97**	28,31	114,72**	62,67	291,32**	42,78	70,02**	7,41	22,82**
Emülgatör (C)	2	227,19	3663,11**	0,08	0,31	27,50	127,84**	11,57	18,93**	3,80	11,69**
A*B	3	4,51	72,73**	19,70	79,83**	31,22	145,11**	22,06	36,11**	8,09	24,90**
A*C	2	2,17	35,00**	5,35	21,67**	2,43	11,30**	2,57	4,20*	4,11	12,66**
B*C	6	1,21	19,48**	8,62	34,93**	7,87	36,58**	6,23	10,20**	4,97	15,29**
A*B*C	6	0,98	15,76**	4,96	20,12**	7,41	34,53**	5,17	8,46**	2,56	7,88**
Hata	72	0,06		0,25		0,22		0,61		0,32	

(*), p<0,05 seviyesinde, (**) ise, p<0,01 seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Çizelge 4.31 incelendiğinde, depolama süresince oda sıcaklığında depolamanın emülsiyonlarda renk solmasını teşvik ettiğini ve depolama süresince her 10 günlük periyotlarda renk solmasının oransal olarak devam ettiğini göstermektedir. Emülsiyonların gıda renklendiricisi olarak kullanılacağı sistemlerde özellikle soğukta muhafazanın renk stabilitesini daha iyi koruyabileceği düşünülmektedir. Gulzar ve Benjakul (2020), yaptığı bir çalışmada ultrasonik destekle emülsifiye edilmiş karides yağının L* değerinin 2 haftalık depolamadan 8. Haftaya kadar arttığını bunun yanında a* değerinde de karides yağından kaynaklı oluşan kırmızı rengin giderek azaldığını bildirmiştir. Çalışma sonuçları referans çalışma ile uyum içindedir.

Çizelge 4.31. Emülsiyonların L* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

L* değeri	Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
		69,99±0,36 ^a	68,96±0,31 ^b		
	Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
		70,85±0,11 ^b	71,17±0,22 ^a	66,40±0,15 ^c	
Depo Süresi		0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
		68,85±0,44 ^d	69,31±0,47 ^c	69,72±0,43 ^b	70,02±0,58 ^a

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0,01$).

Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların a* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.32 ve Çizelge 4.33'te verilmiştir.

Çizelge 4.32. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen a* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	13,12±0,04 ^{Bb}	15,49±0,14 ^{Aa}	14,21±0,81 ^{Aab}
	10.Gün	14,18±0,06 ^{Aa}	12,35±0,04 ^{Bb}	12,90±0,15 ^{Bb}
	20.Gün	12,26±0,08 ^{Ca}	11,03±0,05 ^{Cb}	9,70±0,07 ^{Cc}
	30.Gün	9,52±0,03 ^{Db}	7,62±0,08 ^{Dc}	12,47±0,01 ^{Ba}

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.32 incelendiğinde, örneklerin tümünde depolama sonunda kırmızı renkte önemli derecede solma tespit edilmiştir. 0. Günde saponin emülsiyonlarında en yüksek kırmızılık rengi belirlenirken depolama sonunda en düşük kırmızılık değeri elde edilmiştir. Bu da saponinin, depolama süresince emülsiyonda renk solmasını teşvik ettiğini, tween-80'in ise emülsiyonda rengi daha iyi koruduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.33 incelendiğinde ise depolama boyunca saponin ve tween-80 emülsiyonlarında kırmızı renkte nispeten bir azalış görülürken, lesitin emülsiyonunda 10. günden itibaren kırmızılık renginde artış tespit edilmiştir. Bu farklılığın astaksantin lesitin emülsiyonundaki çözünürlüğünün nispeten daha yavaş olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.33. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen a^* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$13,12\pm0,04^{\text{Bb}}$	$15,49\pm0,14^{\text{Aa}}$	$14,21\pm0,81^{\text{Aab}}$
	10.Gün	$14,38\pm0,06^{\text{Ab}}$	$15,05\pm0,04^{\text{Aa}}$	$13,90\pm0,15^{\text{CBc}}$
	20.Gün	$14,05\pm0,08^{\text{Ab}}$	$14,21\pm0,05^{\text{Ba}}$	$14,10\pm0,07^{\text{Bb}}$
	30.Gün	$14,01\pm0,04^{\text{Ab}}$	$14,12\pm0,08^{\text{Ba}}$	$13,74\pm0,01^{\text{Cc}}$

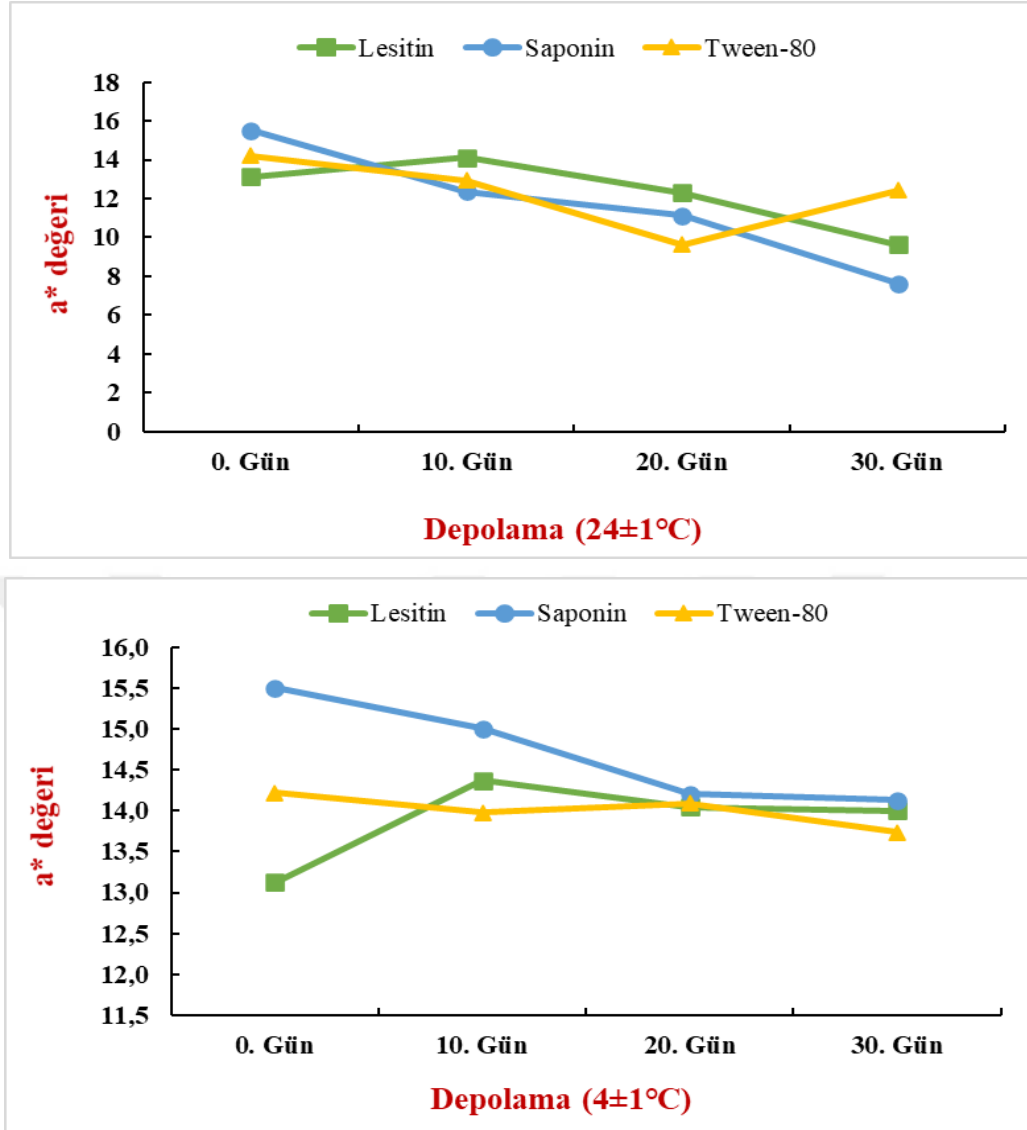
Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Tüm varyans kaynaklarının emülsiyonların a^* değerleri üzerine etkisine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.34'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların a^* değerleri arasında, istatistiksel açıdan önemli farklı farklılıklar görülmüştür ($p<0,01$). Buzdolabında depolanan örneklerin kırmızılık değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tahmin edildiği üzere soğukta muhafaza, emülsiyonlarda rengi daha iyi korumuştur. a^* değerleri arasında, emülgatör çeşitlerine göre istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken, depolama süresince örneklerin kırmızılık değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.34. Emülsiyonların a^* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

a* değeri	Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
		12,08±0,32 ^b	14,20±0,10 ^a		
	Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
		13,09±0,26 ^a	13,18±0,46 ^a	13,16±0,29 ^a	
	Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
14,28±0,27 ^a		13,80±0,19 ^b	12,57±0,36 ^c	11,93±0,51 ^d	

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).



Şekil 4.8. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların a* değerleri

Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların b* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.35 ve Çizelge 4.36'da verilmiştir.

Çizelge 4.35. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen b* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$36,97\pm 0,08^{\text{Ba}}$	$36,82\pm 0,07^{\text{Aa}}$	$36,38\pm 0,74^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$38,07\pm 0,08^{\text{Aa}}$	$34,65\pm 0,04^{\text{Bc}}$	$35,09\pm 0,04^{\text{Ab}}$
	20.Gün	$35,20\pm 0,05^{\text{Ca}}$	$31,68\pm 0,0^{\text{Cb}}$	$30,33\pm 0,23^{\text{Bb}}$
	30.Gün	$30,59\pm 0,13^{\text{Db}}$	$28,81\pm 0,04^{\text{Dc}}$	$33,63\pm 0,02^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.35 incelendiğinde, emülsiyonların başlangıç b^* değerleri arasında önemli bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$). Lesitin ve saponin emülsiyonlarının b^* değerinde, depolama süresince azalış belirlenmiş, depolama sonunda en düşük b^* değeri saponin emülsiyonunda tespit edilmiştir. Tween-80 emülsiyonunun b^* değerinde depolama süresince bir değişim bulunmamıştır.

Çizelge 4.36. Buzdolabı sıcaklığında ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen b^* değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4 \pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$36,97 \pm 0,14^{\text{Aa}}$	$36,79 \pm 0,13^{\text{Aa}}$	$36,44 \pm 1,30^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$37,58 \pm 0,01^{\text{Aa}}$	$36,24 \pm 0,12^{\text{Bb}}$	$35,62 \pm 0,14^{\text{Ac}}$
	20.Gün	$36,61 \pm 0,04^{\text{Ba}}$	$34,70 \pm 0,07^{\text{Dc}}$	$35,31 \pm 0,16^{\text{Ab}}$
	30.Gün	$37,17 \pm 0,06^{\text{Aa}}$	$35,30 \pm 0,01^{\text{Cb}}$	$35,25 \pm 0,01^{\text{Ab}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p < 0,05$).

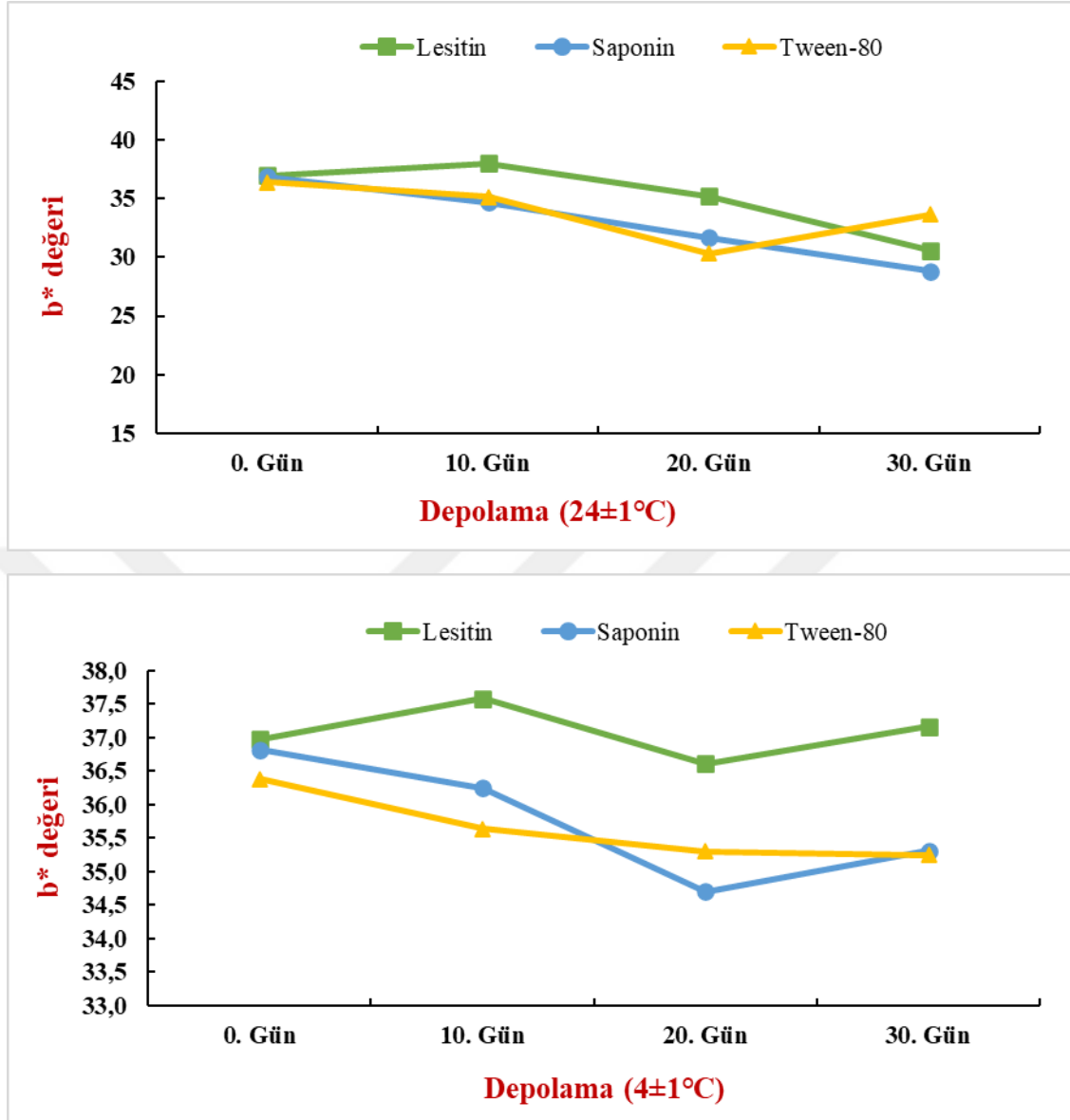
Çizelge 4.36 incelendiğinde ise, lesitin ve tween-80 emülsiyonlarının b^* değeri 30 günlük depolama sonunda bir değişim göstermezken, saponin emülsiyonlarının b^* değerinde önemli derecede azalış belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Emülsiyonların b^* değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.37’de verilmiştir. Çizelge 4.37’ye göre, örnekler arasında, depolama sıcaklığına, emülgatör çeşidine ve depolama süresine bağlı olarak, istatistiksel açıdan önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Buzdolabında depolanan örneklerin, oda sıcaklığında depolanan örneklerle kıyasla daha sarı renkte olduğu belirlenmiştir. Lesitin ile hazırlanan emülsiyonların diğerlerine kıyasla daha sarı renkte olduğu görülürken, saponin ile hazırlanan örneklerin b^* değeri ise en düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin ise emülgatörlerin başlangıç renklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ham soya lesitini sarı renkte iken, ticari tween-80 şeffafa yakın bir renkte ve ekstrakte edilen saponinin ise beyaza yakın bir renkte olması bu farkı oluşturmuş olabilir. Ayrıca depolama süresince örneklerin sarılık değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.37. Emülsiyonların b^* değeri sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	Sıcaklık	Oda	Buzdolabı				
		$34,02 \pm 0,42^{\text{b}}$	$36,17 \pm 0,14^{\text{a}}$				
b^* değeri	Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80			
		$36,14 \pm 0,40^{\text{a}}$	$34,38 \pm 0,47^{\text{c}}$	$34,76 \pm 0,35^{\text{b}}$			
	Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün		
		$36,73 \pm 0,17^{\text{a}}$	$36,21 \pm 0,26^{\text{b}}$	$33,97 \pm 0,46^{\text{c}}$	$33,46 \pm 0,60^{\text{d}}$		

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).



Şekil 4.9. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların b* değerleri

Emülsiyonların kırmızılık (a^*) ve sarılık (b^*) değerleri düşük depolama sıcaklığında nispeten azalmış ve sıcaklığının artmasıyla kademeli olarak azalmaya başlamıştır. Emülsiyonların renk değerleri arasında kırmızı renkte solmadan kaynaklanan L^* değerinde artış ve a^* , b^* değerlerinde azalış görülmektedir. Bu değişimin astaksantin oksidasyonundan ya da depolama sıcaklığına bağlı olarak astaksantin izomerizasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Sonuçlar referans çalışmalar ile uyum içindedir (Bonet vd., 2020; Gulzar ve Benjakul, 2020).

Kitosan ve pektin kullanılarak stabilize edilmiş çoklu astaksantin emülsiyonları üzerine yapılan bir çalışmada, depolama sıcaklığı yükseldikçe L^* değerinde artış ile birlikte astaksantin bozulmasının göstergesi olan a^* değerinde azalış ve b^* değerinde azalış olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2019).

Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların renk yoğunluğunu ifade eden kroma (C) değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.38 ve Çizelge 4.39'da verilmiştir. Çizelge 4.38'e göre, lesitin ve saponin emülsiyonlarının C değerlerinde depolama süresince azalış tespit edilirken, tween-80 emülsiyonunda önemli derecede bir fark bulunmamıştır. a^* ve b^* değerlerine benzer şekilde C değerini de en iyi koruyan örnek tween-80 olarak belirlenirken, saponin emülsiyonu en düşük C değerini vermiştir.

Çizelge 4.38. Oda sıcaklığında ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen kroma değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$39,29\pm0,20^{\text{Ba}}$	$39,94\pm0,23^{\text{Aa}}$	$39,11\pm1,80^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$40,49\pm0,19^{\text{Aa}}$	$36,79\pm0,06^{\text{Bc}}$	$37,43\pm0,04^{\text{Ab}}$
	20.Gün	$37,30\pm0,08^{\text{Ca}}$	$33,58\pm0,02^{\text{Cb}}$	$31,88\pm0,44^{\text{Bc}}$
	30.Gün	$32,14\pm0,40^{\text{Db}}$	$29,80\pm0,04^{\text{Dc}}$	$35,87\pm0,02^{\text{Aa}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.39 incelendiğinde, lesitin ve tween-80 emülsiyonlarının renk yoğunluğu 30 günlük soğukta depolama sonunda değişiklik göstermezken, saponin emülsiyonunun renk yoğunluğu 20.günden itibaren azalış göstermiştir.

Çizelge 4.39. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen kroma değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm1^{\circ}\text{C}$	0.Gün	$39,29\pm0,20^{\text{Ba}}$	$39,94\pm0,23^{\text{Aa}}$	$39,11\pm1,80^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$40,24\pm0,19^{\text{Aa}}$	$39,20\pm0,19^{\text{Aab}}$	$38,27\pm0,29^{\text{Ab}}$
	20.Gün	$39,19\pm0,06^{\text{Ba}}$	$37,50\pm0,04^{\text{Bb}}$	$37,93\pm0,27^{\text{Ab}}$
	30.Gün	$39,71\pm0,02^{\text{ABa}}$	$38,03\pm0,02^{\text{Bb}}$	$37,81\pm0,08^{\text{Ac}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,01$).

Tüm varyans kaynaklarının emülsiyonların C değerleri üzerine etkisine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.40'ta verilmiştir. Çizelge 4.40 incelendiğinde, buzdolabında depolanan emülsiyonların renk yoğunluğunun, oda sıcaklığında depolanan örneklerle göre istatistiksel açıdan önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu da soğukta muhafazanın emülsiyonlarda renk stabilitesini daha iyi koruduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.40. Emülsiyonların kroma değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
	36,14±0,71 ^b	38,85±0,22 ^a		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	38,46±0,66 ^a	36,85±0,85 ^b	37,18±0,62 ^b	
Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	39,45±0,34 ^a	38,74±0,42 ^b	36,23±0,79 ^c	35,56±1,06 ^d

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).

Saponin ve tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların kroma değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı, ancak lesitin ile hazırlanan emülsiyonların kroma değerlerinin, saponin ve tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların kroma değerlerine göre önemli derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,01$). Ayrıca, depolama süresince, emülsiyonların hazırlandığı ve her 10 gün sonunda yapılan analiz sonuçlarına göre örneklerin renk yoğunluklarının istatistiksel açıdan önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara L^* değeri sonuçlarıyla birlikte bakıldığında L^* değeri daha yüksek olan örneklerin renk yoğunluğunun da daha düşük olduğu, aksine L^* değeri düşük olan örneğin ise renk yoğunluğunun daha yüksek olduğu görülmektedir.

Montero ve arkadaşlarının (2016) yaptığı bir çalışmada, karides atıklarından elde edilen astaksantin kroma değerleri bu çalışma ile benzer şekilde 36,0-38,1 aralığında bulunmuş ve 110 günlük depolama sonunda azalış göstermiştir. Bu azalışın nedeninin depolama süresinde astaksantin parçalanması nedeniyle renk yoğunluğundaki azalıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hue açısı (h°) değeri örneklerin renk skalasındaki tam rengini gösteren bir değerdir. 0° tam kırmızı 90° ise tam sarı rengi ifade etmektedir. Örneklerin h° değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi incelendiğinde sonuçların 68,57 ile 70,63 arasında değiştiği görülmektedir. ($p < 0,01$).

Çizelge 4.41. Oda sıcaklığında ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24 \pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	70,49±0,07 ^{BCa}	67,16±0,29 ^{Ca}	68,79±1,24 ^{Ba}
	10.Gün	69,60±0,09 ^{Cb}	70,41±0,01 ^{Ba}	69,82±0,23 ^{Bab}
	20.Gün	70,81±0,17 ^{Bb}	70,70±0,23 ^{Bb}	72,37±0,13 ^{Aa}
	30.Gün	72,42±0,29 ^{Ab}	75,17±0,17 ^{Aa}	69,79±0,13 ^{Bc}

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.41'e göre, emülsiyonların 0. Gün h° değerleri arasında istatistiksel farklılık bulunmazken, 30 günün sonunda saponin emülsiyonu daha sarı renkte görünürken, tween-80 emülsiyonu kırmızı renge daha yakın bulunmuştur. Ayrıca tween-80 emülsiyonunun 0. ve 30. gün h° değerleri arasında istatistiksel farklılık

görülmemiştir ($p<0,05$). Çizelge 4.42 incelendiğinde ise, tween-80 emülsiyonunun h° değerinde depolama süresince farklılık belirlenmezken, lesitin ve saponin emülsiyonlarının h° değerinde artış görülmüştür ($p<0,05$). 30 günün sonundaki h° değerleri incelendiğinde ise saponin ve tween-80 emülsiyonları arasında önemli ölçüde bir fark bulunmazken, lesitin emülsiyonunun h° değerinin 0. güne kıyasla nispeten azaldığı tespit edilmiştir. Bunun da Çizelge 4.33 ve 4.36'daki gibi, soğukta muhafazanın, astaksantin lesitin emülsiyonunda çözünürlüğünü geciktirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.42. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm1^\circ\text{C}$	0.Gün	$70,49\pm0,07^{\text{Aa}}$	$67,16\pm0,29^{\text{Ba}}$	$68,79\pm1,24^{\text{Aa}}$
	10.Gün	$69,06\pm0,24^{\text{BCa}}$	$67,50\pm0,13^{\text{ABb}}$	$68,58\pm0,33^{\text{Aab}}$
	20.Gün	$69,00\pm0,18^{\text{Ca}}$	$67,69\pm0,11^{\text{ABc}}$	$68,25\pm0,22^{\text{Ab}}$
	30.Gün	$69,35\pm0,15^{\text{Ba}}$	$68,19\pm0,03^{\text{Ab}}$	$68,69\pm0,05^{\text{Ab}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,05$).

Çizelge 4.43 incelendiğinde, oda sıcaklığında depolanan örneklerin h° değerinin, buzdolabında depolanan örneklerin h° değerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Beklenildiği gibi soğukta muhafaza renk solmasını nispeten engellemiştir.

Çizelge 4.43. Emülsiyonların h° değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
	70,63±0,41 ^a	68,57±0,20 ^b		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	70,16±0,28 ^a	69,25±0,67 ^b	69,39±0,36 ^b	
Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	68,82±0,47 ^c	69,17±0,29 ^c	69,81±0,49 ^b	70,61±0,74 ^a

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0,01$).

Kullanılan emülgatör çeşitlerine göre h° sonuçları, kroma değeri sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Saponin ve tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların h° değerleri arasında önemli bir fark olmadığı, ancak lesitin ile hazırlanan emülsiyonların hue açısı değerlerinin, saponin ve tween-80 ile hazırlanan emülsiyonlarınkine göre istatistiksel açıdan önemli derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,01$). Emülsiyonların depolama süresince hue açısındaki değişimine bakıldığında, 0.gün ile 10.gün sonuçları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken, 20.gün ve 30.gün ölçümlerinde h° değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. Depolama süresiyle birlikte emülsiyonlarda renk solmasının artması, ölçülen tüm renk değerleri sonuçları ile örtüşmektedir.

4.10. Bulanıklık ölçümü (NTU)

Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların bulanıklık değerlerine ait değerler sırasıyla Çizelge 4.46 ve Çizelge 4.47’de verilmiştir. Çizelge 4.46 incelendiğinde emülsiyonların 0. gün bulanıklık değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli derecede farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Lesitin emülsiyonu en yüksek bulanıklık değerine sahipken, tween-80 emülsiyonu diğerlerine göre daha berrak olarak tespit edilmiştir. Bu farklılığın lesitin düşük HLB değeri nedeniyle oda sıcaklığında tween-80’e kıyasla suda daha az çözünmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.44. Oda sıcaklığında ($24\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen bulanıklık değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$24\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$31,42\pm 0,02^{\text{Aa}}$	$25,26\pm 0,05^{\text{Bb}}$	$8,90\pm 0,00^{\text{Cc}}$
	10.Gün	$29,68\pm 0,03^{\text{Ba}}$	$26,73\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$9,96\pm 0,01^{\text{Bc}}$
	20.Gün	$29,65\pm 0,06^{\text{Ba}}$	$26,76\pm 0,01^{\text{Ab}}$	$9,94\pm 0,02^{\text{Bc}}$
	30.Gün	$19,89\pm 0,01^{\text{Cb}}$	$22,29\pm 0,01^{\text{Ca}}$	$12,81\pm 0,00^{\text{Ac}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,01$).

Çizelge 4.44 ve Çizelge 4.45 incelendiğinde lesitin ve saponin emülsiyonlarında depolama süresince bulanıklık değeri azalırken, tween-80 emülsiyonunda bulanıklığın arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.45. Buzdolabı sıcaklığında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan emülsiyonların depolama süresince ölçülen bulanıklık değerlerine ait veriler

Depolama sıcaklığı	Depolama süresi	Lesitin	Saponin	Tween-80
$4\pm 1^\circ\text{C}$	0.Gün	$31,42\pm 0,02^{\text{Aa}}$	$25,26\pm 0,05^{\text{Bb}}$	$8,90\pm 0,00^{\text{Cc}}$
	10.Gün	$23,79\pm 0,01^{\text{Ca}}$	$23,65\pm 0,06^{\text{Ca}}$	$8,74\pm 0,01^{\text{Db}}$
	20.Gün	$25,52\pm 0,03^{\text{Bb}}$	$27,29\pm 0,00^{\text{Aa}}$	$9,83\pm 0,01^{\text{Bc}}$
	30.Gün	$21,86\pm 0,01^{\text{Db}}$	$22,89\pm 0,01^{\text{Da}}$	$12,76\pm 0,01^{\text{Ac}}$

Değerler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b, c) ve aynı sütundaki farklı büyük harfler (A, B, C) değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir ($p<0,01$).

Tüm test edilen faktörlerin bulanıklık değeri üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.46’da bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.47’de verilmiştir. Çizelge 4.46’ya göre tüm değişkenlerin, örneklerin bulanıklık değerlerini istatistiksel açıdan önemli derecede etkilediği tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Çizelge 4.46. Emülsiyonların bulanıklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları

V.K	S.D.	K.O.	F Değeri
Depolama Sıcaklığı (A)	1	29,98	9101,89**
Depolama Süresi (B)	3	45,633	13847,7**
Emülgatör (C)	2	2701,24	820026**
A*B	3	27,63	8386,43**
A*C	2	20,93	6355,28**
B*C	6	84,12	25538,6**
A*B*C	6	14,37	4362,34**
Hata	72	0,003	

(*), $P < 0,05$ seviyesinde, (**) ise, $P < 0,01$ seviyesinde farklılık ifade etmektedir.

Çizelge 4.47 incelendiğinde farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonların bulanıklık değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmuştur ($p < 0,01$). Oda sıcaklığında depolanan örneklerin, buzdolabında depolanan örneklerle göre daha bulanık olduğu görülmüştür. 1 aylık depolama süresi boyunca örneklerin bulanıklık değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir azalış belirlenmiştir. Bu azalışın ise depolama süresince, emülsiyon stabilitesindeki azalıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

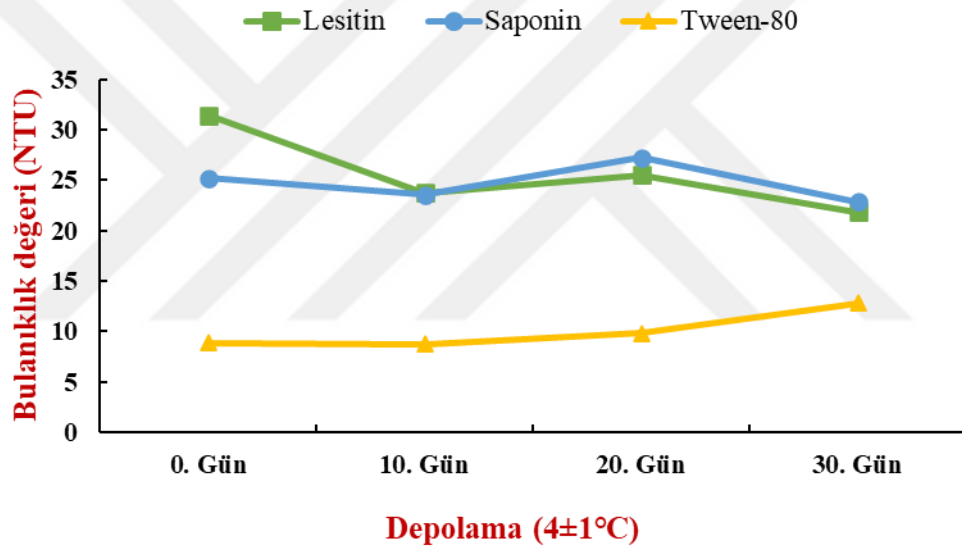
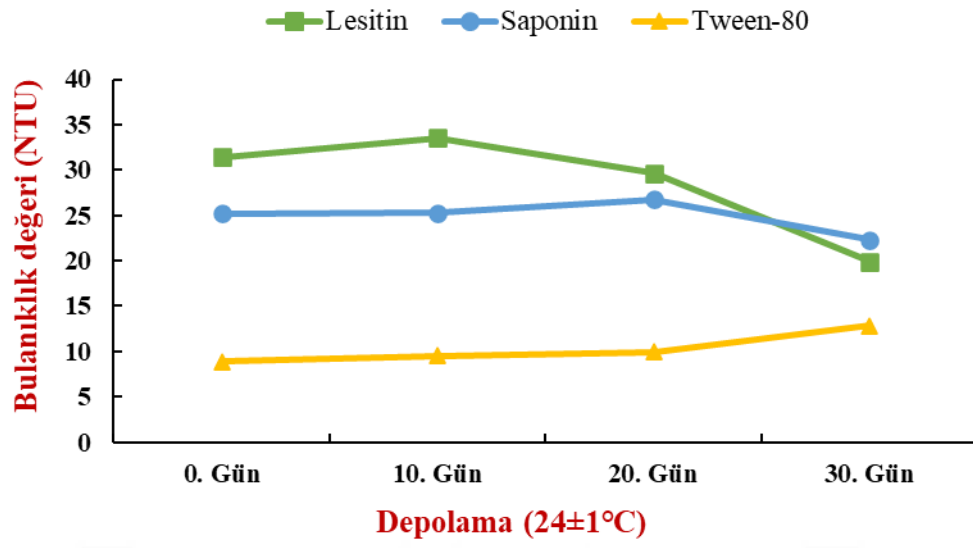
Çizelge 4.47. Emülsiyonların bulanıklık değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık	Oda	Buzdolabı		
	21,27±1,25 ^a	20,15±1,10 ^b		
Emülgatör	Lesitin	Saponin	Tween-80	
	27,14±0,85 ^a	24,80±0,30 ^b	10,20±0,28 ^c	
Depo Süresi	0.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün
	21,85±1,98 ^a	20,74±1,85 ^c	21,48±1,73 ^b	18,76±0,89 ^d

Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler, örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,01$).

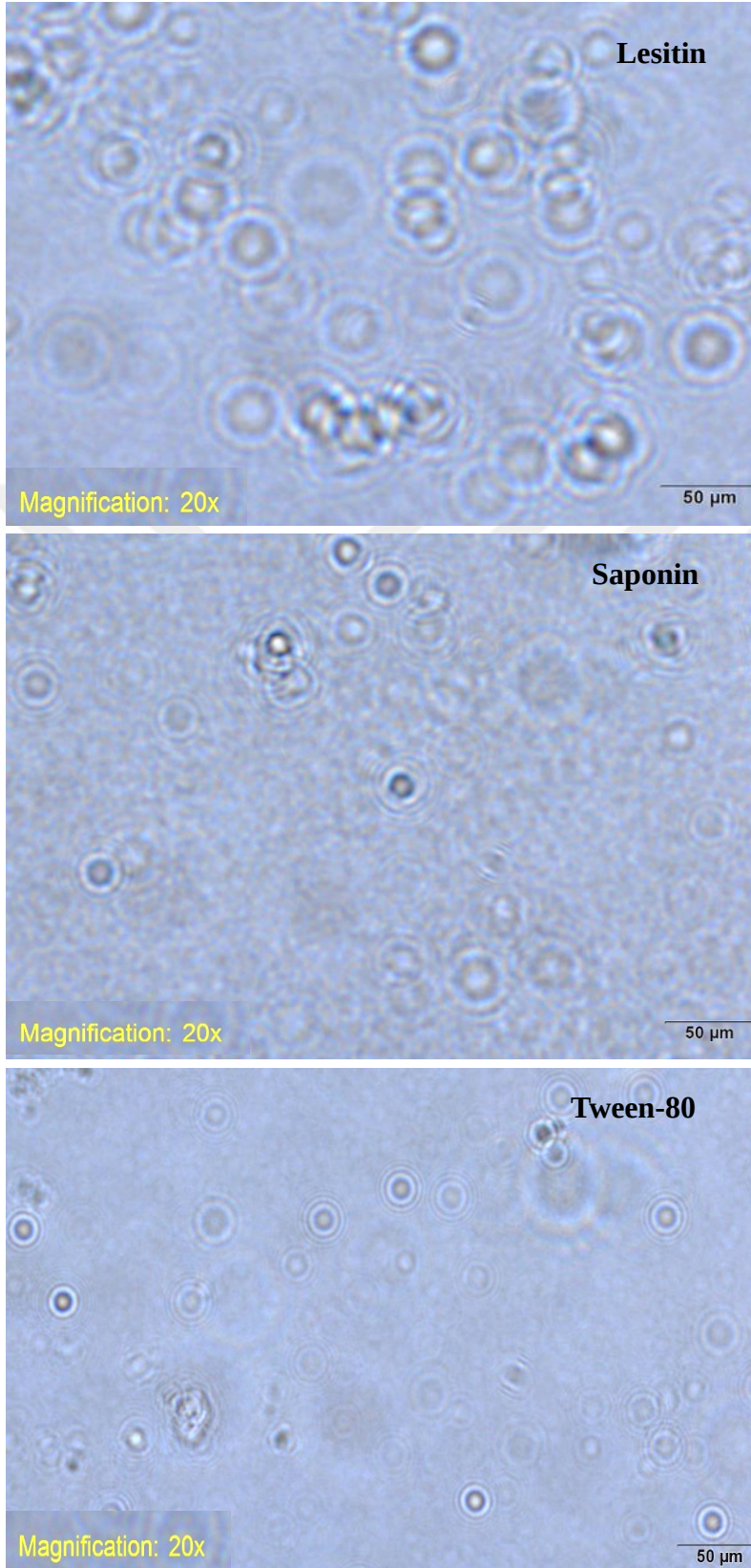
Yapılan bir çalışmada, soya lesiti kullanılarak emülsifiye edilmiş astaksantin oleoresinlerinin sulu çözeltisinde depolama süresinde bulanıklık değerlerinde önemli azalış olduğu bildirilmiştir (Bustos-Garza vd., 2013).

Kitosan ve pektin kullanılarak hazırlanan astaksantin emülsiyonlarında pH değişimine göre emülsiyonların bulanıklık değerleri incelenmiş, kitosan emülsiyonlarının 2-6 pH'da berrak iken daha yüksek pH'da moleküllerin birleşmesinden kaynaklı bulanıklık görülmüştür. Pektin çözeltisinde ise pH 4-7 aralığında hafif bulanık, pH 8-10'da ise berraklaştığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar pektin moleküllerinin ya da çözünmeyen pektinlerin güçlü bir negatif yüke sahip olduğunda daha yüksek pH'da ayrıştığını göstermiştir (Liu vd., 2019).

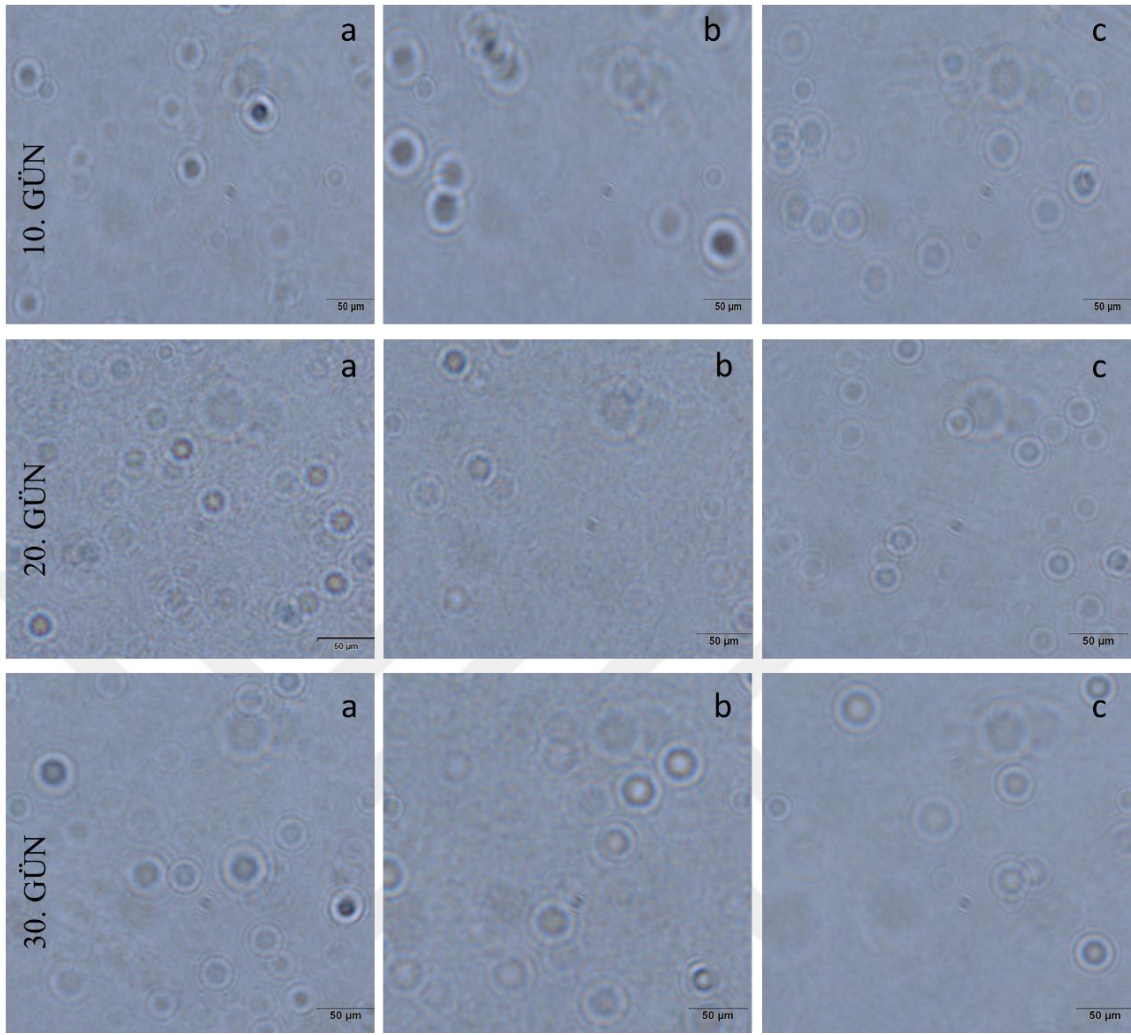


Şekil 4.10. Farklı sıcaklıklarda depolanan emülsiyonlara ait bulanıklık değerleri (NTU)

4.11. Optik mikroskop ölçümleri

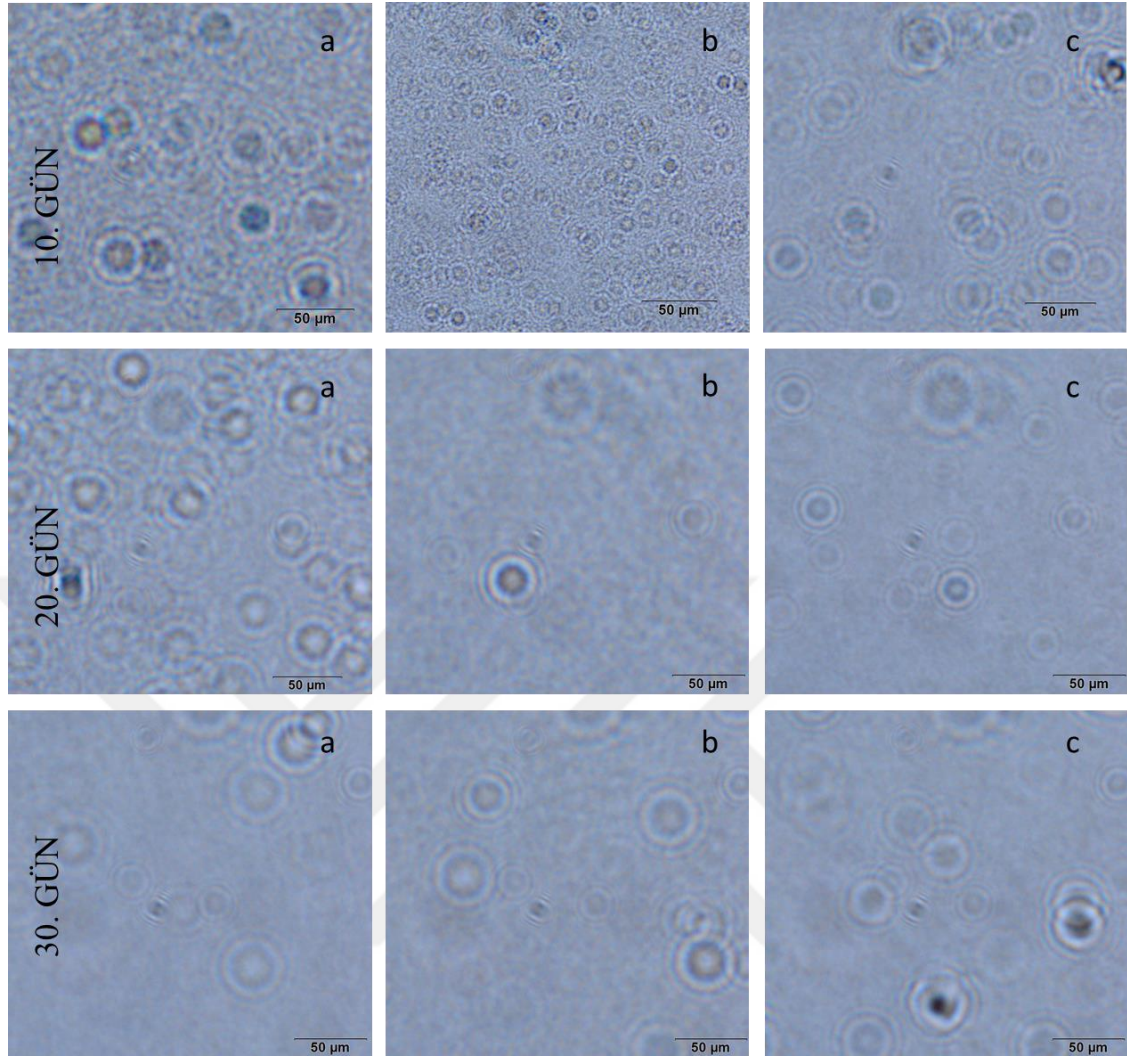


Şekil 4.11. Emülsiyonların ışık mikroskobu altındaki 0.Gün görüntüleri



Şekil 4.12. Oda sıcaklığında depolanmış emülsiyonların ışık mikroskobu altındaki görüntüsü

Emülsiyonların ışık mikroskobu altındaki 20 kat yakınlaştırılmış 0. Gün görselleri Şekil 4.11’ de verilmiştir. Partikül boyutlarını kıyaslamak için ölçek 50 µm olarak belirlenmiştir. Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların depolama süresince belirlenen görüntüleri Şekil 4.12’de, buzdolabında sıcaklığında depolanan emülsiyonların görüntüleri ise Şekil 4.13’te verilmiştir.



Şekil 4.13. Buzdolabında depolanmış emülsiyonlara ait ışık mikroskobu görüntüleri

Emülsiyonların mikroskop altındaki görüntülerinde herhangi bir kümeleşme ve topaklanmaya rastlanmamıştır. Özellikle oda sıcaklığında depolanan lesitin emülsiyonlarındaki yüzeyde oluşan Kremalaşma haricinde, emülsiyonlarda önemli bir fiziksel instabilizasyon ile karşılaşılmamıştır.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, gıda emülsiyonlarında yaygın olarak kullanılan doğal bir emülgatör madde olan soya lesitini ve sentetik bir emülgatör olan tween-80 yerine çöven kökünden elde edilen saponinin kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla karides işleme atıklarından etanol ekstraksiyonu ile elde edilen astaksantin içeren yağlı ekstrakt, balık yağı içerisinde ağırlıkça %1 oranında karıştırılmıştır. Bu karışım ağırlıkça %2 emülgatör madde (Soya lesitini, çöven kökü saponini veya tween-80) içeren sulu faz ile karıştırılarak homojenize edilmiştir. Su içinde (%90) yağ emülsiyonları (%10) oluşturmada ultrasonik destekli homojenizatör kullanılmıştır. Hazırlanan emülsiyonlar 15ml'lik falkon tüplerinde alınarak oda sıcaklığı ($24\pm1^{\circ}\text{C}$) ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) 30 gün boyunca depolanmıştır. Depolama süresince, 0., 10., 20. ve 30. günlerde depolama analizleri yapılmıştır.

Su aktivite değeri $0,59\pm0,01$ a_w olarak ölçülen öğütülmüş çöven köklerinin, etanol (%70) ile ekstraksiyonu sonucu saponin içeriği $3,37\pm0,29$ g/100 g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Örneklerin saponin içerip içermediğinin hızlı bir tayini olan köpük testi ile örneklerin köpük oluşturma seviyesi belirlenmiş, elde edilen ekstraktın iyi bir saponin kaynağı olduğu tespit edilmiştir.

Astaksantin eldesinde kullanılan karideslerin $57,59\pm0,66$ oranında atık (kabuk ve baş), $42,41\pm0,72$ oranında et içerdiği belirlenmiştir. Karides atıkları, su aktivitesi $0,38\pm0,02$ a_w 'ye kadar dondurularak kurutulmuştur. Ultrasonik destek ile ekstrakte edilen atıkların verimi, 100 g kuru maddede $17,0\pm0,8$ g olarak bulunmuştur. Astaksantin içeren yağlı ekstraktın astaksantin konsantrasyonu, $241,27\pm3,15$ ppm olarak belirlenmiştir.

Emülsiyonların ısı stabilite indeksleri incelendiğinde, sıcaklığın 70°C 'ye ulaşmasıyla örnekler arası farklılığın başladığı görülmüştür. 70°C 'de tween-80 ile hazırlanan emülsiyonların daha yüksek ısıl stabiliteye ($99,82$) sahip olduğu bulunmuştur. 80°C 'de tween-80 ile saponin emülsiyonları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmazken, lesitin emülsiyonunun diğerlerine kıyasla daha az stabil kaldığı belirlenmiştir ($p<0,01$).

Emülsiyonların depolama stabilite indekslerine bakıldığında, beklenildiği üzere buzdolabında depolanan emülsiyonların oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlara kıyasla daha kararlı kaldığı tespit edilmiştir ($p<0,01$). Depolamanın 10. ve 20. günlerinde stabilite indeksinin önemli bir değişiklik göstermediği, ancak depolama süresince stabilitenin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,01$). Emülgatör çeşitlerine göre depolama stabiliteleri incelendiğinde, oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlarda lesitin ve saponin örnekleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken, tween-80 emülsiyonu diğerler emülsiyonlara kıyasla istatistiksel açıdan daha stabil bulunmuştur ($p<0,05$). Buzdolabında depolamada ise saponin emülsiyonu daha kararlı kalarak tween-80 ile arasında istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir ($p<0,05$). Oluşan stabilite farklılıklarının emülgatörlerin molekül ağırlığından kaynaklandığı, daha düşük molekül ağırlığına sahip emülgatörün (soya lesitini) yüzey gerilimini azaltma özelliğinin de düşük olduğu dolayısıyla, depolama süresince diğer emülsiyonlara kıyasla daha az stabil kaldığı düşünülmektedir.

Emülsiyonların depolama süresince ölçülen partikül boyutu analizine göre, oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların d_{43} değeri, buzdolabında depolanan emülsiyonlara göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca depolama boyunca da tüm emülsiyonların d_{43} değeri artış göstermiştir ($p<0,01$). Tüm varyans kaynaklarının d_{43} değeri üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek partikül boyutu lesitin emülsiyonlarında tespit edilirken, en küçük partikül boyutu saponin emülsiyonlarında belirlenmiştir.

Partikül boyutu sonuçları ile benzer şekilde, emülsiyonların viskozite değerleri de depolama süresince nispeten artmıştır ($p<0,01$). Ancak emülsiyonların viskozite değerlerinin oda depolama sıcaklığından bağımsız olduğu, oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların viskozite değerleri ile buzdolabı sıcaklığında depolanan emülsiyonların viskozite değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlarda en yüksek viskoziteye sahip emülsiyon lesitin iken, buzdolabında depolanan emülsiyonlarda en düşük viskozite lesitin emülsiyonu olarak belirlenmiştir ($p<0,01$). Tüm varyans kaynaklarının emülsiyonların viskozite değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, partikül boyutu sonuçları ile benzer şekilde, viskozitenin de en yüksek lesitin emülsiyonunda en düşük ise saponin emülsiyonunda olduğu tespit edilmiştir. Bu da artan kayma hızı ile, partiküllerin birbiri ile etkileşiminin azalması sonucu partikül boyutunun küçülerek, viskoziteyi azaltmasına bağlanmıştır.

Emülsiyonların peroksit değeri sonuçları depolama süresince 1,22 ile 2,96 arasında ölçülmüştür. Depolama süresince peroksit değerleri arasında önemli bir fark oluşmamıştır. Oda sıcaklığında depolanan örneklerin peroksit değeri, buzdolabında depolanan örneklerin peroksit değerinden istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek olarak belirlense de literatürde bildirilen değerlerin oldukça altında kalmıştır ($p<0,01$). En yüksek peroksit değeri saponin emülsiyonlarında, en düşük peroksit değeri ise tween-80 emülsiyonlarında ölçülmüştür ($p<0,01$).

Depolama süresince ölçülen antioksidan aktivite değerleri 0,34-1,90 aralığında değişim göstermiştir. Oda sıcaklığında depolanan örneklerin ve depolamanın sonuna doğru emülsiyonların antioksidan aktivite değerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). Bunun, emülsiyon sistemine salınan astaksantinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örneklerin siyahlık/beyazlık değeri hakkında bilgi veren L^* değerleri 65,89-73,94 aralığında değişmiştir. Astaksantin kaynaklı kırmızı rengin solmasından dolayı, oda sıcaklığında depolanan emülsiyonların L^* değeri, buzdolabındaki emülsiyonların L^* değerine göre daha yüksek bulunmuştur. Renk solması her 10 günlük ölçümlerde devam etmiş ve L^* değeri depolama süresince artmıştır. Buzdolabında depolanan emülsiyonların 0. ve 30. gün sonuçları arasında önemli derecede bir fark görülmezken, oda sıcaklığında depolanan emülsiyonlardan saponinin L^* değeri depolama sonuna doğru artış göstermiştir. Emülsiyonların renk değerleri arasında kırmızı renkte solmadan kaynaklanan L^* değerinde artış ve a^* , b^* değerlerinde azalış görülmektedir. Bu değişimin depolama sıcaklığına bağlı olarak astaksantin izomerizasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bulanıklık değerlerine ait veriler incelendiğinde, depolama süresince emülsiyonların daha berraklaştığı görülmüştür. Emülgatörlerin çözünürlüğü ile orantılı olarak da bulanıklık değeri en yüksek lesitin emülsiyonunda, en düşük de tween-80 emülsiyonlarında ölçülmüştür.

Bu çalışma, tamamen doğal bileşenlerden oluşan emülsiyon sistemlerine, astaksantini yüklemenin etkili bir yolunu oluşturmuştur. Böylece balık yağı ve astaksantin suda çözünürlüğü ile biyoyararışlılığı da arttırılmıştır. Farklı yüzey aktif maddeler kullanılarak oluşturulan astaksantin ile zenginleştirilmiş bu emülsiyonlar, fonksiyonel yiyecek ve içeceklerde nütrosötik veya doğal renklendiriciler olarak kullanılabilir.

Doğal bir yüzey aktif bileşik olan çöven kökü saponinleri stabil bir emülsiyon oluşturmada etkin bir şekilde kullanılmıştır. Özellikle çöven kökünden elde edilen saponinlerle hazırlanmış emülsiyonlar, yaygın olarak kullanılan soya lesitini emülsiyonlarına kıyasla daha stabil özellik göstermiştir. Ayrıca çöven kökü saponinlerinin, soya lesitini ve tween-80'e kıyasla daha ekonomik olması da ticari açıdan önemlidir. Çöven kökü saponinlerinin gıda ve ilaç endüstrisindeki emülsifiye sistemlere dahil edilmesi için optimizasyon çalışmaları yapılması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Ahmadkelayeh, S., & Hawboldt, K. (2020). Extraction of lipids and astaxanthin from crustacean by-products: A review on supercritical CO₂ extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 94-108.
- Al-Maqtari, Q. A., Ghaleb, A. D., Mahdi, A. A., Al-Ansi, W., Noman, A. E., Wei, M., Yao, W. (2021). Stabilization of water-in-oil emulsion of *Pulicaria jaubertii* extract by ultrasonication: Fabrication, characterization, and storage stability. *Food Chemistry*, 350, 129249.
- Altuğ, T. (2001). Gıda Katkı Maddeleri, Meta Basım. Bornova, izmir, 17-39.
- Ambigaipalan, P., & Shahidi, F. (2017). Bioactive peptides from shrimp shell processing discards: Antioxidant and biological activities. *Journal of Functional Foods*, 34, 7-17.
- Anarjan, N., Tan, C. P., Nehdi, I. A., & Ling, T. C. (2012). Colloidal astaxanthin: Preparation, characterisation and bioavailability evaluation. *Food chemistry*, 135(3), 1303-1309.
- Anonim. 1998. Association of Official Analytical Chemists 8th edn, rev. A. Gaithersburg.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R., & Sharif, A. (2014). Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food chemistry*, 159, 439-444.
- Bai, L., Huan, S., Gu, J., McClements, D. J. (2016). Fabrication of oil-in-water nanoemulsions by dual-channel microfluidization using natural emulsifiers: Saponins, phospholipids, proteins, and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 61, 703-711.
- Bai, X., Li, C., Yu, L., Jiang, Y., Wang, M., Lang, S., & Liu, D. (2019). Development and characterization of soybean oil microcapsules employing kafirin and sodium caseinate as wall materials. *Lwt*, 111, 235-241.
- Barros, M. P., Marin, D. P., Bolin, A. P., Macedo, R. D. C. S., Campoio, T. R., Fineto Jr, C., ... & Otton, R. (2012). Combined astaxanthin and fish oil supplementation improves glutathione-based redox balance in rat plasma and neutrophils. *Chemico-Biological Interactions*, 197(1), 58-67.
- Bellalta, P., Troncoso, E., Zúñiga, R. N., Aguilera, J. M. (2012). Rheological and microstructural characterization of WPI-stabilized O/W emulsions exhibiting time-dependent flow behavior. *LWT-Food science and Technology*, 46(2), 375.
- Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., & Genot, C. (2014). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Involvement of the interfacial layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 945-977.
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959;37:911-7.
- Bonet, M. L., Ribot, J., Galmés, S., Serra, F., & Palou, A. (2020). Carotenoids and carotenoid conversion products in adipose tissue biology and obesity: Pre-clinical and human studies. *Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11).

- Bono, G., Okpala, C. O. R., Alberio, G. R., Messina, C. M., Santulli, A., Giacalone, G., Spagna, G. (2016). Toward shrimp consumption without chemicals: Combined effects of freezing and modified atmosphere packaging (MAP) on some quality characteristics of Giant Red Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) during storage. *Food Chemistry*, 197, 581-588.
- Böttger, S., Melzig, M. F. (2011). Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. *Phytochemistry Letters*, 4(2), 59-68.
- Bustos-Garza, C., Yáñez-Fernández, J., & Barragán-Huerta, B. E. (2013). Thermal and pH stability of spray-dried encapsulated astaxanthin oleoresin from *Haematococcus pluvialis* using several encapsulation wall materials. *Food Research International*, 54(1), 641-649.
- Cam, I. B., Topuz, A. (2018). Production of soapwort concentrate and soapwort powder and their use in Turkish delight and tahini halvah. *Journal of Food Process Engineering*, 41(1), e12605.
- Capek, I. (2004). Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. *Advances in colloid and interface science*, 110(1-2), 49-74.
- Cartes, J. E., Fanelli, E., Kaporis, K., Bayhan, Y. K., Ligas, A., López-Pérez, C., ... & Scarcella, G. (2014). Spatial variability in the trophic ecology and biology of the deep-sea shrimp *Aristaeomorpha foliacea* in the Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 87, 1-13.
- Chen, Y. F., Yang, C. H., Chang, M. S., Ciou, Y. P., & Huang, Y. C. (2010). Foam properties and detergent abilities of the saponins from *Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), 4417-4425.
- Chen, Z., Shu, G., Taarji, N., Barrow, C. J., Nakajima, M., Khalid, N., & Neves, M. A. (2018). Gypenosides as natural emulsifiers for oil-in-water nanoemulsions loaded with astaxanthin: Insights of formulation, stability and release properties. *Food chemistry*, 261, 322-328.
- Cheng, J., Shen, S., Yang, H., Tang, D., Wang, X., Lin, Y., & Liu, X. (2023). Improved physicochemical stability and bioaccessibility of astaxanthin-loaded oil-in-water emulsions by a casein-caffeic acid–glucose ternary conjugate. *Food Research International*, 163, 112153.
- Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., & Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16-40.
- Comhaire, F. H., Gareem, Y. E., Mahmoud, A. H. M. E. D., Eertmans, F., & Schoonjans, F. R. A. N. K. (2005). Combined conventional/antioxidant “Astaxanthin” treatment for male infertility: a double blind, randomized trial. *Asian Journal of Andrology*, 7(3), 257-262.
- Comunian, T. A., Ravanfar, R., Selig, M. J., & Abbaspourrad, A. (2018). Influence of the protein type on the stability of fish oil in water emulsion obtained by glass microfluidic device. *Food Hydrocolloids*, 77, 96-106.
- Çağlayanlar, E. (2006). Çöven ekstraktının maya performansı, hamur reolojik özellikleri ve ekmek kalitesi üzerine etkisi (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Dave, D., Liu, Y., Pohling, J., Trenholm, S., & Murphy, W. (2020). Astaxanthin recovery from Atlantic shrimp (*Pandalus borealis*) processing materials. *Bioresource Technology Reports*, 11, 100535.
- Davinelli, S., Nielsen, M. E., & Scapagnini, G. (2018). Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review. *Nutrients*, 10(4), 522.
- Deng, J. J., Mao, H. H., Fang, W., Li, Z. Q., Shi, D., Li, Z. W., & Luo, X. C. (2020). Enzymatic conversion and recovery of protein, chitin, and astaxanthin from shrimp shell waste. *Journal of Cleaner Production*, 271, 122655.
- Dong, L.Y.; Jin, J.; Lu, G.; Kang, X.L. Astaxanthin attenuates the apoptosis of retinal ganglion cells in db/db mice by inhibition of oxidative stress. *Mar. Drugs* 2013, 11, 960–974.
- Duman, E., & Keser, A. (2018). Saponinler ve diabetes mellitus üzerine potansiyel etkileri. *Ankara Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 50-60.
- Ellulu, M. S., Khaza'ai, H., Abed, Y., Rahmat, A., Ismail, P., & Ranneh, Y. (2015). Role of fish oil in human health and possible mechanism to reduce the inflammation. *Inflammopharmacology*, 23(2), 79-89.
- Fang, N., Wang, C., Liu, X., Zhao, X., Liu, Y., Liu, X., ... & Zhang, H. (2019). De novo synthesis of astaxanthin: From organisms to genes. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 162-171.
- Fassett, R. G., & Coombes, J. S. (2011). Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine drugs*, 9(3), 447-465.
- Feng, Z. Z., Li, M. Y., Wang, Y. T., & Zhu, M. J. (2018). Astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*: microencapsulation with carboxymethyl cellulose sodium and microcrystalline cellulose and effects of microencapsulated astaxanthin on yogurt properties. *Lwt*, 96, 152-160.
- Frankel, E. N. (1984). Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(12), 1908-1917.
- Gao, J., Fang, C., Lin, Y., Nie, F., Ji, H., & Liu, S. (2020). Enhanced extraction of astaxanthin using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and potassium phosphate. *Food chemistry*, 309, 125672.
- Gao, Y., Lei, Y., Wu, Y., Liang, H., Li, J., Pei, Y., ... & Liu, S. (2021). Beeswax: A potential self-emulsifying agent for the construction of thermal-sensitive food W/O emulsion. *Food Chemistry*, 349, 129203.
- García-Moreno, P. J., Guadix, A., Guadix, E. M., & Jacobsen, C. (2016). Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with fish protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 203, 124-135.
- Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S., & Hadavi, R. (2017). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food chemistry*, 216, 146-152.
- Giannaccare, G., Pellegrini, M., Senni, C., Bernabei, F., Scoria, V., & Cicero, A. F. G. (2020). Clinical applications of astaxanthin in the treatment of ocular diseases: Emerging insights. *Marine drugs*, 18(5), 239.

- Gimeno, M., Ramírez-Hernández, J. Y., Martínez-Ibarra, C., Pacheco, N., García-Arrazola, R., Bárzana, E., Shirai, K. (2007). One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(25), 10345-10350.
- Gómez-Estaca, J., Calvo, M. M., Álvarez-Acero, I., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2017). Characterization and storage stability of astaxanthin esters, fatty acid profile and α -tocopherol of lipid extract from shrimp (*L. vannamei*) waste with potential applications as food ingredient. *Food Chemistry*, 216, 37-44.
- Gomez-Estaca, J., Comunian, T. A., Montero, P., Ferro-Furtado, R., & Fávoro-Trindade, C. S. (2016). Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin–cashew gum complex. *Food Hydrocolloids*, 61, 155-162.
- Góral, I., Wojciechowski, K. (2020). Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts. *Advances in colloid and interface science*, 279, 102145.
- Grimi, N., Dubois, A., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2014). Selective extraction from microalgae *Nannochloropsis* sp. using different methods of cell disruption. *Bioresource technology*, 153, 254-259.
- Grimmig, B., Hudson, C., Moss, L., Peters, M., Subbarayan, M., Weeber, E. J., Bickford, P. C. (2019). Astaxanthin supplementation modulates cognitive function and synaptic plasticity in young and aged mice. *GeroScience*, 41, 77.
- Grosso, C., Valentão, P., Ferreres, F., Andrade, P. B. (2015). Alternative and efficient extraction methods for marine-derived compounds. *Marine Drugs*, 13(5), 3182-3230.
- Gulzar, S., & Benjakul, S. (2018). Ultrasound waves increase the yield and carotenoid content of lipid extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(5), 1700495.
- Gulzar, S., Benjakul, S. (2019). Effect of pre-treatments on yield and properties of lipid extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by ultrasonic assisted process. *LWT*, 100, 106-113.
- Gulzar, S., Benjakul, S. (2020). Characteristics and storage stability of nanoliposomes loaded with shrimp oil as affected by ultrasonication and microfluidization. *Food Chemistry*, 310, 125916.
- Gulzar, S., Raju, N., Nagarajarao, R. C., & Benjakul, S. (2020a). Oil and pigments from shrimp processing by-products: Extraction, composition, bioactivities and its application-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 307-319.
- Güçlü, B. K., & Uyanık, F. (2004). Saponinler ve biyolojik önemi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2).
- Güçlü-Üstündağ, Ö., Balsevich, J., & Mazza, G. (2007). Pressurized low polarity water extraction of saponins from cow cockle seed. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 619-630.

- Gündüz, H., Öztürk, F., Hamzaçebi, S., & Akpınar, M. D. (2018). Su Ürünleri işleme atıklarının değerlendirilmesi. *Aquat Sci Eng*, 33(1), 1-5.
- Güngör, Ö., Zungur, A., Mehmet, K. O. Ç., & Kaymak-Ertekin, F. (2013). Emülsiyonların özellikleri ve emülsifikasyon koşullarının aroma ve yağların mikroenkapsülasyonu üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 11(2), 116-124.
- Han, S. W., Song, H. Y., Moon, T. W., & Choi, S. J. (2018). Influence of emulsion interfacial membrane characteristics on Ostwald ripening in a model emulsion. *Food chemistry*, 242, 91-97.
- Handayani, A. D., Indraswati, N., & Ismadji, S. (2008). Extraction of astaxanthin from giant tiger (*Panaeus monodon*) shrimp waste using palm oil: studies of extraction kinetics and thermodynamic. *Bioresource Technology*, 99(10), 4414-4419.
- Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R., & Wang, L. (2019). Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 24-29.
- Jamshidi, A., Cao, H., Xiao, J., & Simal-Gandara, J. (2020). Advantages of techniques to fortify food products with the benefits of fish oil. *Food Research International*, 137, 109353.
- Jiang, G. L., Zhu, M. J. (2019). Preparation of astaxanthin-encapsulated complex with zein and oligochitosan and its application in food processing. *Lwt*, 106, 179-185.
- Jin, W., Xu, W., Liang, H., Li, Y., Liu, S., & Li, B. (2016). Nanoemulsions for food: properties, production, characterization, and applications. In *Emulsions* (pp. 1-36). Academic Press.
- Kan, X., Yan, Y., Ran, L., Lu, L., Mi, J., Zhang, Z., ... & Cao, Y. (2020). Evaluation of bioaccessibility of zeaxanthin dipalmitate from the fruits of *Lycium barbarum* in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 105, 105781.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2015). Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of functional foods*, 19, 868-881.
- Kaya, A. S., Karagüzel, Ö., Aydınşakir, K., Kazaz, S., & Özçelik, A. (2012). Türkiye’de doğal olarak yetişen bazı gypsophila (*Gypsophila* sp.) türlerinin süs bitkisi olarak kullanım olanakları. *Derim*, 29(1), 37-47.
- Khoo, K. S., Chew, K. W., Yew, G. Y., Manickam, S., Ooi, C. W., & Show, P. L. (2020). Integrated ultrasound-assisted liquid biphasic flotation for efficient extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Ultrasonics sonochemistry*, 67, 105052.
- Kołodziej, B., Sęczyk, Ł., Sugier, D., Kędzia, B., Chernetskyy, M., Gevrenova, R., & Henry, M. (2019). Determination of the yield, saponin content and profile, antimicrobial and antioxidant activities of three *Gypsophila* species. *Industrial Crops and Products*, 138, 111422.
- Koshani, R., & Jafari, S. M. (2019). Ultrasound-assisted preparation of different nanocarriers loaded with food bioactive ingredients. *Advances in Colloid and Interface Science*, 270, 123-146.

- Küçükkurt, İ., Fidan, A. F. (2008). Saponinler ve bazı biyolojik etkileri. *Kocatepe Veterinary Journal*, 1(1), 89-96.
- Lalitha, T., Seshadri, R., & Venkataraman, L. V. (1987). Isolation and properties of saponins from *Madhuca butyracea* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(5), 744-748.
- Leong, T. S. H., Wooster, T. J., Kentish, S. E., & Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrasonics sonochemistry*, 16(6), 721-727.
- Li, J., Guo, C., & Wu, J. (2020a). Astaxanthin in liver health and disease: a potential therapeutic agent. *Drug Design, Development and Therapy*, 2275-2285.
- Li, X., Wang, X., Duan, C., Yi, S., Gao, Z., Xiao, C., ... & Li, J. (2020b). Biotechnological production of astaxanthin from the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Advances*, 43, 107602.
- Li, Y., & Xiang, D. (2019). Stability of oil-in-water emulsions performed by ultrasound power or high-pressure homogenization. *PLoS One*, 14(3), e0213189.
- Liu, C., Tan, Y., Xu, Y., McClements, D. J., & Wang, D. (2019). Formation, characterization, and application of chitosan/pectin-stabilized multilayer emulsions as astaxanthin delivery systems. *International journal of biological macromolecules*, 140, 985-997.
- Liu, F., Wang, D., Xu, H., Sun, C., & Gao, Y. (2016b). Physicochemical properties of β -carotene emulsions stabilized by chlorogenic acid-lactoferrin-glucose/polydextrose conjugates. *Food Chemistry*, 196, 338-346.
- Lorenz, R.T., Cysewski, G.R. (2000). Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in biotechnology*, 18(4), 160
- Mandal, V., Dewanjee, S., Mandal, S. C. (2009). Microwave-assisted extraction of total bioactive saponin fraction from *Gymnema sylvestre* with reference to gymnemagenin: a potential biomarker. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 20(6), 491-497.
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., & Xue, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814-823.
- Martínez-Delgado, A. A., Khandual, S., & Villanueva-Rodríguez, S. J. (2017). Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. *Food Chemistry*, 225, 23-30.
- McClements, D. J. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current opinion in colloid & interface science*, 9(5), 305-313.
- McClements, D. J. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.
- McClements, D. J. (2018). Recent developments in encapsulation and release of functional food ingredients: delivery by design. *Current Opinion in Food Science*, 23, 80-84.

- McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of food science*, 65(8), 1270-1282.
- McClements, D. J., & Jafari, S. M. (2018). Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in colloid and interface science*, 251, 55-79.
- Mezzomo, N., Martínez, J., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. (2013). Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Supercritical fluid extraction of carotenoid fraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 74, 22-33.
- Miller, J. K., Brzezinska-Slebozinska, E., & Madsen, F. C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823.
- Montero, P., Calvo, M. M., Gómez-Guillén, M. C., & Gómez-Estaca, J. (2016). Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. *LWT*, 70, 229-236.
- Morales, E., Burgos-Díaz, C., Zúñiga, R. N., Jorkowski, J., Quilaqueo, M., & Rubilar, M. (2021). Influence of O/W emulsion interfacial ionic membranes on the encapsulation efficiency and storage stability of powder microencapsulated astaxanthin. *Food and Bioproducts Processing*, 126, 143-154.
- Mugford, S. T., & Osbourn, A. (2013). Saponin synthesis and function. Isoprenoid synthesis in plants and microorganisms: New concepts and experimental approaches, 405-424.
- Ni, Y., Nagashimada, M., Zhuge, F., Zhan, L., Nagata, N., Tsutsui, A., Ota, T. (2015). Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Scientific reports*, 5(1), 15.
- Nielsen, H. S. (1998). Discrimination and detailed decomposition in a logit model. *Economics Letters*, 61(1), 115-120.
- Nirmal, N. P., Santivarangkna, C., Rajput, M. S., & Benjakul, S. (2020). Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 20-35.
- Niroula, A., Gamot, T. D., Ooi, C. W., & Dhital, S. (2021). Biomolecule-based pickering food emulsions: Intrinsic components of food matrix, recent trends and prospects. *Food Hydrocolloids*, 112, 106303.
- Otton, R., Marin, D. P., Bolin, A. P., de Cássia Santos Macedo, R., Campoio, T. R., Fineto, C., Mattei, R. (2012). Combined fish oil and astaxanthin supplementation modulates rat lymphocyte function. *European journal of nutrition*, 51(6), 707-718.
- Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1-6.
- Öztürk, B., Ugu, M., Serdaroğlu, M. (2017). Egg white powder-stabilised multiple (water-in-olive oil-in-water) emulsions as beef fat replacers in model system meat emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(7), 2075.

- Öztürk, S. E., Çapcı, A., Çalışkan, Ö., & Anıl, H. (2010). Helva Üretiminde Kullanılan Çöven Suyundan [Çöven Otu (*Gypsophila arrostii*)] gypsogenin'nin İzolasyonu, Saflandırılması ve Değişik Türevlerinin Sentezi.
- Parjikolaie, B. R., El-Houri, R. B., Fretté, X. C., & Christensen, K. V. (2015). Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste. *Journal of Food Engineering*, 155, 22-28.
- Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L., & Chew, B. P. (2010). Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition & metabolism*, 7, 1-10.
- Pazır, F., Özdikicierler, O., & Dirim, N. (2013). Tahin helvası üretiminde çöven ekstraktı tozunun kullanılması. *İçindekiler/Content*, 95.
- Polotow, T. G., Poppe, S. C., Vardaris, C. V., Ganini, D., Guariroba, M., Mattei, R., Barros, M. P. (2015). Redox status and neuro inflammation indexes in cerebellum and motor cortex of wistar rats supplemented with natural sources of Omega-3 fatty acids and astaxanthin: fish oil, krill oil, and algal biomass. *Marine drugs*, 13(10), 6117-6137.
- Prameela, K., Venkatesh, K., Immandi, S. B., Kasturi, A. P. K., Krishna, C. R., Mohan, C. M. (2017). Next generation nutraceutical from shrimp waste: The convergence of applications with extraction methods. *Food chemistry*, 237, 121.
- Press, J. B., Reynolds, R. C., May, R. D., & Marciani, D. J. (2000). Structure/function relationships of immunostimulating saponins. *Studies in natural products chemistry*, 24, 131-174.
- Prichapan, N., & Klinkesorn, U. (2014). Factor affecting the properties of water-in-oil-in-water emulsions for encapsulation of minerals and vitamins. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 36(6).
- Primacella, M., Wang, T., & Acevedo, N. C. (2019). Characterization of mayonnaise properties prepared using frozen-thawed egg yolk treated with hydrolyzed egg yolk proteins as anti-gelator. *Food Hydrocolloids*, 96, 529-536.
- Qiu, C., Zhao, M., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Influence of protein type on oxidation and digestibility of fish oil-in-water emulsions: Gliadin, caseinate, and whey protein. *Food Chemistry*, 175, 249-257.
- Rammuni, M. N., Ariyadasa, T. U., Nimarshana, P. H. V., & Attalage, R. A. (2019). Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. *Food chemistry*, 277, 128-134.
- Rehman, A., Tong, Q., Jafari, S. M., Assadpour, E., Shehzad, Q., Aadil, R. M., Ashraf, W. (2020). Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. *Advances in colloid and interface science*, 275, 102048.
- Riquelme, N., Zúñiga, R. N., Arancibia, C. (2019). Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. *Lwt*, 111, 760-766.
- Rocchio, J., Neilsen, J., Everett, K., & Bothun, G. D. (2017). A solvent-free lecithin-Tween 80 system for oil dispersion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical*

- and Engineering Aspects, 533, 218-223.
- Roohinejad, S., Oey, I., Wen, J., Lee, S. J., Everett, D. W., & Burritt, D. J. (2015). Formulation of oil-in-water β -carotene microemulsions: Effect of oil type and fatty acid chain length. *Food chemistry*, 174, 270-278.
- Ryan, L., & Symington, A. M. (2015). Algal-oil supplements are a viable alternative to fish-oil supplements in terms of docosahexaenoic acid (22: 6n-3; DHA). *Journal of functional foods*, 19, 852-858.
- Sachindra, N. M., & Mahendrakar, N. S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195-1200.
- Saini, R. K., Keum, Y. S., Daglia, M., & Rengasamy, K. R. (2020). Dietary carotenoids in cancer chemoprevention and chemotherapy: A review of emerging evidence. *Pharmacological research*, 157, 104830.
- Saito, M., Yoshida, K., Saito, W., Fujiya, A., Ohgami, K., Kitaichi, N., ... & Ohno, S. (2012). Astaxanthin increases choroidal blood flow velocity. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 250, 239-245.
- Sánchez-Camargo, A. P., Meireles, M. Â. A., Ferreira, A. L., Saito, E., & Cabral, F. A. (2012). Extraction of ω -3 fatty acids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste using supercritical CO₂+ ethanol mixtures. *The Journal of Supercritical Fluids*, 61, 71-77.
- Schultz, S., Wagner, G., Urban, K., & Ulrich, J. (2004). High-pressure homogenization as a process for emulsion formation. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 27(4), 361-368.
- Shao, P., Feng, J., Sun, P., Xiang, N., Lu, B., & Qiu, D. (2020). Recent advances in improving stability of food emulsion by plant polysaccharides. *Food Research International*, 137, 109376.
- Shi, M. J., Wang, F., Jiang, H., Qian, W. W., Xie, Y. Y., Wei, X. Y., & Zhou, T. (2020). Effect of enzymatic degraded polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* on the physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions. *Food chemistry*, 322, 126774.
- Sidhu, K. S. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 336-344.
- Szakiel, A., Pączkowski, C., Henry, M. (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*, 10(4), 471-491.
- Sztrettye, M., Dienes, B., Gönczi, M., Czirják, T., Csernoch, L., Dux, L., ... & Keller-Pintér, A. (2019). Astaxanthin: A potential mitochondrial-targeted antioxidant treatment in diseases and with aging. *Oxidative Medicine and cellular longevity*, 2019.
- Şimşek, Ö., F. (2011) *Gypsophila arrostii* Guss. var. *Nebulosa* Boiss Heldr. Bark. Bitkisinin kimyasal ve biyokimyasal özellikleri (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Taha, A., Ahmed, E., Ismaiel, A., Ashokkumar, M., Xu, X., Pan, S., Hu, H. (2020). Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 363-377.
- Turan, S., Atalay, D., İslamoğlu, R. S., Özoğlu, M., & Demirtaş, M. (2021). Ultrasonik destekli ekstraksiyon parametrelerinin kuşburnu (*rosa canina* l.) meyvesinin toplam fenolik ve karotenoid miktarları ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. *Gıda*, 46(3), 726-738.
- Ursica, L., Tita, D., Palici, I., Tita, B., & Vlaia, V. (2005). Particle size analysis of some water/oil/water multiple emulsions. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 37(5), 931-936.
- Voda, M. A., & Van Duynhoven, J. (2009). Characterization of food emulsions by PFG NMR. *Trends in food science & technology*, 20(11-12), 533-543.
- Voutquenne-Nazabadioko, L., Gevrenova, R., Borie, N., Harakat, D., Sayagh, C., Weng, A., ... & Henry, M. (2013). Triterpenoid saponins from the roots of *Gypsophila trichotoma* Wender. *Phytochemistry*, 90, 114-127.
- Wang, W., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Hossain, M. S., & Moss, A. S. (2018). Effects of dietary astaxanthin supplementation on juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 491, 197-204.
- Xia, W., Tang, N., Kord-Varkaneh, H., Low, T. Y., Tan, S. C., Wu, X., & Zhu, Y. (2020). The effects of astaxanthin supplementation on obesity, blood pressure, CRP, glycemic biomarkers, and lipid profile: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacological research*, 161, 105113.
- Yan, X., Ma, C., Cui, F., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2020). Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 293-303.
- Ye, A., Cui, J., Taneja, A., Zhu, X., & Singh, H. (2009). Evaluation of processed cheese fortified with fish oil emulsion. *Food research international*, 42(8), 1093-1098.
- Yu, W., & Liu, J. (2020). Astaxanthin isomers: Selective distribution and isomerization in aquatic animals. *Aquaculture*, 520, 734915.
- Yücekutlu, A. N., & BİLDACI, I. (2008). Determination of Plant Saponins and Some of *Gypsophila* Species: A review of the literature. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 36(2), 129-135.
- Zhao, T., Yan, X., Sun, L., Yang, T., Hu, X., He, Z., ... & Liu, X. (2019). Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 354-361.
- Zhou, L., Zhang, J., Xing, L., & Zhang, W. (2021). Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 493-512.
- Züge, L. C. B., Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Silveira, J. L. M., & de Paula Scheer, A. (2013). Catastrophic inversion and rheological behavior in soy lecithin and Tween 80 based food emulsions. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 72-77.

ÖZGEÇMİŞ

TUĞÇE AYGÜN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2018-2023	Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme A.B.D, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2017	Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği A.B.D, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2008-2013	Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ücretli öğretim elemanı	Akdeniz Üniversitesi
2018-2019	Akdeniz Üniversitesi Finike M.Y.O, Antalya
Sorumlu yönetici	Ercanlar Gıda San. Ltd. Şti., Antalya
2013-2014	
Sorumlu yönetici	Doğan Güneş Yaşlı Bakımevi, Antalya
2022-2023	

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Topuz, O. K., Aygün, T., Ural, G. N. (2020). Caviar-like hydrogel beads containing different concentrations of NaCl and melanin-free squid ink. Food Bioscience, 100652.
- 2- Topuz, O. K., Aygün, T., Alp, A. C., Yatmaz, H. A., Torun, M., & Yerlikaya, P. (2021). Characterization and emulsifying properties of aquatic lecithins isolated from processing discard of rainbow trout fish and its eggs. Food Chemistry, 339, 128103.
- 3- Yerlikaya, P., Alp, A. C., Tokay, F. G., Aygun, T., Kaya, A., Topuz, O. K., & Yatmaz, H. A. (2022). Determination of fatty acids and vitamins A, D and E intake through fish consumption. International Journal of Food Science & Technology, 57(1), 653-661.
- 4- AYGÜN, T., & TOPUZ, O. (2021). Optimization of Extraction Parameters and Effect of Different Solvent Systems on The Omega-3 Fatty Acids Content of Algal Oil (Nannochloropsis sp.). Eurasian Journal of Food Science and Technology, 5(2), 174-189.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Topuz O.K., Yerlikaya P., Uçak İ., Gümüş B., Sak T., " Inhibition of lipid oxidation in fish oil by using pomegranate peel (Punica granatum) extract.", AGRIBALKAN Balkan Agricultural Congress, EDİRNE, TÜRKİYE, 8-11 Eylül 2014, pp.574-574
- 2- Aygün T., Topuz O.K., Aygün A., "Su ürünleri kaynaklı fosfolipidler: Özellikleri, kaynakları ve uygulama alanları", 18. Su Ürünleri Sempozyumu 2015, İZMİR, TÜRKİYE, 1-4 Eylül 2015, cilt.1, no.1, ss.451-451
- 3- Topuz O.K., Aygün T., Aygün A., "Alabalık (Oncorhynchus mykiss) yumurtasının besinsel özellikleri ", 18. Su Ürünleri Sempozyumu 2015, İZMİR, TÜRKİYE, 1-4 Eylül 2015, cilt.1, no.1, ss.451-451
- 4- Topuz O.K., Aygün T., "Biotechnological production of omega-3 fatty acids from microalgae", TAFT 2015 5th Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference, Nantes, FINLANDIYA, 12-15 Ekim 2015, vol.1, no.1, pp.95-95
- 5- Topuz O.K., Aygün T., "Pysicochemical properties of freeze dried rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) roe", Northeast Agricultural & Biological Engineering Conference, Newark, ABD, 12-15 Temmuz 2015, vol.1, no.15-027, pp.19-19
- 6- Aygün T., Topuz O.K., "Effect of solvent polarity on the eicosapentaenoic acid (EPA) content of algal (N. oculata) oil." XIIIth International Conference of Food Physicists Conference, Antalya, TURKEY, 25-27 Ekim 2018, vol.1, no.1, pp 66.