

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**D VİTAMİNİNİN FARKLI ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ İLE
ENKAPSÜLASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şeyma Nur AVCI

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sibel ULUATA

OCAK 2023

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**D VİTAMİNİNİN FARKLI ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ İLE
ENKAPSÜLASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şeyma Nur AVCİ

(36193220008)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sibel ULUATA

OCAK 2023

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca kıymetli bilgisi, tecrübesi ve görüşleriyle her konuda bana destek olan saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Sibel ULUATA'ya,

Bu çalışmam süresince destek ve katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Gökhan DURMAZ'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında öneri, destek ve katkılarıyla yanımda olan sevgili çalışma arkadaşlarıma,

Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca maddi ve manevi her konuda beni destekleyen , bu süreçte her zaman yanımda olan, sonsuz sevgi, özveri ve anlayışlarından dolayı CANIM AİLEME,

Ayrıca bu tez çalışmasına FYL-2021-2355 proje kodu ile maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne

Teşekkür Ederim.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “D VİTAMİNİNİN FARKLI ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ İLE ENKAPSÜLASYONU” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Şeyma Nur AVCI



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1 D Vitaminin Yapısı ve Fonksiyonu	3
2.2 D Vitamini Kaynakları.....	5
2.3 D Vitamini Düzeyleri Günlük Alınması Gereken Dozajlar ve Toksisite	8
2.3.1 D vitamini eksikliği	10
2.3.2 D vitamini fazlalığı.....	12
2.4 Emülsiyonlar	13
2.4.1 Pickering emülsiyon.....	14
2.5 Emülsiyon Üretim Yöntemleri.....	24
2.5.1 Ultrasonikasyon yöntemi	24
2.5.2 Yüksek basınç homojenizatör	26
2.6 Lipit ve Lipit Oksidasyonu	27
2.6.1 Oto-oksidasyon mekanizması	28
2.6.2 Lipit oksidasyonu belirleme yöntemleri.....	29
2.7 Simüle Edilmiş Sindirim Koşullarında Emülsiyonların Davranışları ve Biyogeçişlilikleri.....	30
2.7.1 Simüle <i>in vitro</i> sindirim sistemi prensibi	33
3. KAYNAK ÖZETLERİ	34
4. MATERYAL VE YÖNTEM	40
4.1 Materyal	40
4.1.1 Araştırma materyali	40
4.1.2 Kullanılan kimyasallar	40
4.2 Yöntem.....	41
4.2.1 Emülsiyon hazırlama.....	42
4.2.2 Emülsiyonun fiziksel özellikleri	43
4.2.3 Oksidatif stabilite testleri	45
4.2.4 <i>In vitro</i> sindirim testleri.....	47

4.2.5 İstatistiksel analizler	48
5. ARAŞTIRMA BULGULARI	49
5.1 Fiziksel Stabilite	49
5.1.1 Partikül boyutu ve partikül yükü	49
5.1.2 Termal stabilite.....	52
5.1.3 İyonik şiddetin fiziksel stabilite üzerine etkisi.....	55
5.1.4 pH stabilitesi.....	59
5.2 Oksidatif Stabilite Testleri	63
5.3 Simule <i>İn Vitro</i> Sindirimde Emulsiyonların Serbest Yağ Asidi Salınımı	68
5.4 D Vitamini Biyogeçişliliğinin Belirlenmesi	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	75
7. KAYNAKLAR.....	78
8. ÖZGEÇMİŞ	87

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: Bazı gıdaların D vitamini içeriği.	6
Çizelge 2.2: D Vitamini İçin Diyet Referans Alımları.	9
Çizelge 2.3: Kandaki serum 25(OH)D Konsantrasyonu ve Sağlık üzerindeki Etkileri.....	10
Çizelge 2.4: Partikül çaplarına göre emülsiyonlar.	13



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: D ₃ ve D ₂ bileşikleri arasındaki büyük yapısal farkı gösteren (mavi) 25-hidroksivitamin D ₃ (solda) ve 25-hidroksivitamin D ₂ 'nin (sağda) yapıları.	3
Şekil 2.2: D vitamini sentezi ve metabolizması.	4
Şekil 2.3: Bir Pickering emülsiyonunun ve geleneksel (yüzey aktif madde bazlı) bir emülsiyonun kabaca şekli.	15
Şekil 2.4: Emülsiyon oluşumu ve emülsiyon stabilizasyonu.	18
Şekil 2.5: Bancroft kuralına göre hidrofilik ve hidrofobik partiküller.	20
Şekil 2.6: Emülsiyon bozulma süreçleri.	22
Şekil 2.7: Damlacığın koalesansı, yağ ve sıvı fazın tamamen ayrılmasına yol açar.	23
Şekil 2.8: Ostwald olgunlaşma sürecinin şematik diyagramı.	24
Şekil 2.9: Ultrasonik Prob Homojenleştirici.	26
Şekil 2.10: Emülsiyon yapılarında önemli değişikliklere neden olabilen insan gastrointestinal yolundaki fizyolojik koşulların şematik gösterimi.	31
Şekil 2.11: Simüle edilmiş ince bağırsak koşullarında sindirimden sonra kalan materyalin santrifüjlenmesinden sonra tipik olarak oluşan üç fazın şematik diyagramı.	33
Şekil 4.1: Deney planı.	41
Şekil 4.2: Bezelye (solda) ve mercimek (sağda) proteini jel görünüşleri.	43
Şekil 4.3: Farklı sıcaklık değerlerinde ısıtılma tabi tutulmuş emülsiyon örnekleri.	44
Şekil 4.4: Farklı pH değerlerine ayarlanan emülsiyon örnekleri.	44
Şekil 4.5: Farklı NaCl konsantrasyonları içeren emülsiyonlar.	45
Şekil 5.1: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlarla (KTY, A.Y ve MCT) oluşturulan geleneksel emülsiyonların partikül boyutu ve yükü.	50
Şekil 5.2: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlarla (KTY, A.Y ve MCT) oluşturulan pickering emülsiyonların partikül boyutu ve yükü.	51
Şekil 5.3: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	53
Şekil 5.4: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.	54
Şekil 5.5: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	54
Şekil 5.6: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.	55
Şekil 5.7: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	56
Şekil 5.8: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.	57
Şekil 5.9: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	58
Şekil 5.10: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	59

Şekil 5.11: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	60
Şekil 5.12: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.	61
Şekil 5.13: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.	62
Şekil 5.14: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.	62
Şekil 5.15: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince hidroperoksit değerleri.	64
Şekil 5.16: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince TBARS değerleri.	65
Şekil 5.17: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince hidroperoksit değerleri.	67
Şekil 5.18: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince TBARS değerleri.	67
Şekil 5.19: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda harcanan NaOH'ın (mL) zamana karşı değişimi.	69
Şekil 5.20: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda harcanan NaOH'ın (mL) zamana karşı değişimi.	69
Şekil 5.21: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların %SYA salınımlarının zamana karşı değişimi.	70
Şekil 5.22: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların %SYA salınımlarının zamana karşı değişimi.	70
Şekil 5.23: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların toplam %SYA salınımları.	71
Şekil 5.24: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların toplam %SYA salınımları.	72
Şekil 5.25: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlara ait (%) biyogeçişlilik oranı.	74
Şekil 5.26: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlara ait (%) biyogeçişlilik oranı.	74

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

µm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
mM	: Milimolar
ζ	: Zeta Potansiyeli
α	: Alfa
dk	: Dakika
pH	: Potential of Hydrogen; Hidrojen Gücü
IOM	: Institute of Medicine; Tıp Enstitüsü
DRIs	: Dietary Reference Intakes; Diyet Referans Alımları
EAR	: Estimated Avarage Range; Tahmini Ortalama Aralığı
RDA	: Recommended Daily Allowance; Önerilen Besin Tüketimi
IU	: İnternational Unit; Uluslararası Ünite
g	: Gram
mL	: Mililitre
nmol	: Nanomol
l	: Litre
UVA	: Ultraviole A ışınları
UVB	: Ultraviole B ışınları
µg	: Mikrogram
S/Y	: Yağ içinde su
Y/S	: Su içinde yağ
ÇDYA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
TDYA	: Tekli doymamış yağ asitleri
MCT	: Medium chain triglyceride; Orta zincirli trigliserit
LCT	: Long chain triglyceride; Uzun zincirli trigliserit
B.P	: Bezelye Proteini
M.P	: Mercimek Proteini
KTY	: Keten Tohumu Yağı
A.Y	: Ayçiçek Yağı
BaCl₂	: Baryum klorür
TCA	: Trikloroasetik asit
TBA	: Tiyobarbitürik asit
BHT	: Bütülllenmiş hidroksi tolüen

GIS	: Gastrointestinal Sistem
PV	: Peroxide Value; Peroksid Sayısı
TBARS	: Tiyoarbitürük Asit Reaktif Maddeler
MDA	: Malonaldehit
SYA	: Serbest Yağ Asidi
ALA	: Alfa-linoleik asit
DHA	: Dokosahekzaenoik Asit
EPA	: Eikozapentaenoik Asit



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

D VİTAMİNİNİN FARKLI ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ İLE ENKAPSÜLASYONU

Şeyma Nur AVCİ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

87+X sayfa

2022

Danışman: Doç. Dr. Sibel ULUATA

Bu çalışmada, D vitamini enkapsülasyonu ultrason yöntemi ile geleneksel emülsiyon ve yüksek basınçlı homojenizatör kullanılarak pickering emülsiyon üretimi yapılmıştır. Emülsiyon üretiminde; farklı zincir uzunluğu ve doymamışlık oranına sahip üç farklı yağ (Orta zincirli yağ asidi içeren yağ (MCT), Ayçiçek ve keten tohumu yağı; %5 a/a) ve % 95 su fazı (bezelye ve mercimek proteini içeren: %0,5 a/a) kullanılmıştır. Pickering emülsiyon üretimi için bitkisel proteinlerden jel üretilerek nanoagregatlar elde edilmiş ve emülgatör olarak kullanılmışlardır. Her iki yöntemle elde edilen D vitamini (%0,01) içeren emülsiyonların fiziksel, oksidatif stabiliteleri ve D vitamini biyoyeçişliliği ile serbest yağ asidi salımları karşılaştırılmıştır. Geleneksel emülsiyonlarda partikül büyüklüğü $0,205\pm0,00$ ile $0,98\pm0,07$ μm , partikül yükleri ise $-31,2\pm1,27$ ile $-49,2\pm1,90$ mV arasında; pickering emülsiyonlarda partikül boyutu $0,15\pm0,00$ ile $12,6\pm0,26$ μm , partikül yükleri ise $-25,2\pm0,21$ ile $-41,2\pm2,40$ mV arasında belirlenmiş ve fiziksel olarak stabil emülsiyonlar elde edilmiştir. Oksidatif stabilite testlerinde geleneksel ve pickering emülsiyonda; mercimek proteini ile stabilize edilen ayçiçek ve keten tohumu emülsiyonlarının lipit hidroperoksit ve TBARS değerlerindeki artış aynı yağların bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonlarına göre daha fazladır. Tüm pickering emülsiyonlarının PV ve TBARS değerlerindeki oluşumunun daha yavaş olduğu görülmüştür. *In vitro* sindirim testlerinde; pickering ve geleneksel emülsiyonlarda % SYA salınımları $53,9\pm1,04$ ile $115,9\pm5,21$ arasında ölçülmüş ve aralarında anlamlı bir farklılık görülmezken, pickering emülsiyonlarda D vitamini biyoyeçişliliğinin yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, iki yöntem karşılaştırıldığında geleneksel emülsiyonlara göre pickering emülsiyonların daha iyi oksidatif stabiliteye, kontrollü SYA salınımına ve yüksek D vitamini biyoyeçişliliğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: D vitamini, Enkapsülasyon, Geleneksel Emülsiyon, Pickering Emülsiyon, Biyoyeçişlilik

ABSTRACT

Master Thesis

ENCAPSULATION OF VITAMIN D WITH DIFFERENT ENCAPSULATION TECHNIQUES

Şeyma Nur AVCI

Inonu University
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Food Engineering

87+X sayfa

2022

Supervisor: Assoc. Prof. Sibel ULUATA

In this study, vitamin D encapsulation was produced in conventional emulsion by ultrasound method and pickering emulsion using high pressure homogenizer. In emulsion production; three different oils with different chain lengths and unsaturation ratios (Medium-chain fatty acid containing oil (MCT), Sunflower and linseed oil; 5% w/w) and 95% water phase (containing pea and lentil protein: 0,5% w /w) was used. For the production of Pickering emulsion, gels were produced from vegetable proteins and nanoaggregates were obtained and used as emulsifiers. The physical and oxidative stability of emulsions containing vitamin D (0.01%) obtained by both methods, bioavailability of vitamin D and free fatty acid releases were compared. In conventional emulsions, particle sizes were determined between $0,205\pm0,00$ and $0,98\pm0,07$ μm , and particle charges were determined between $-31,2\pm1,27$ and $-49,2\pm1,90$ mV; In pickering emulsions, particle sizes were $0,15\pm0,00$ to $12,6\pm0,26$ μm , particle charges were $-25,2\pm0,21$ and $-41,2\pm2,40$ mV. All emulsions were physically stable. The oxidative stability in conventional and pickering emulsions; the increase in hydroperoxide and TBARS values of sunflower seed and flaxseed emulsions stabilized with lentil protein is higher than that of the same oil emulsions stabilized with pea protein. The formation of all pickering emulsions in PV and TBARS values were observed to be slower. In in vitro digestion test; while %FFA emulsions in pickering and conventional emulsions were measured between $\%53,9\pm1,04$ and $\%115,9\pm5,21$ and no significant difference was found between them, in pickering emulsions, bioavailability of vitamin D was observed to be approximately 2 times higher. As a result, when compared, it was determined that pickering emulsions had better oxidative stability, controlled FFA release and higher vitamin D bioavailability than conventional emulsions.

Keywords: Vitamin D, Encapsulation, Conventional Emulsion, Pickering Emulsion, Bioavailability

1. GİRİŞ

D vitamini, insan sağlığını korumak ve bağışıklık sistemini geliştirmek için diyetle alınması gerekli olan hidroforik bir mikro besindir. Öncelikli olarak D₂ vitamini (ergokalsiferol) ve D₃ vitamini (kolekalsiferol) olmak üzere iki farklı moleküler formda bulunur. İnsanlarda, D₃ vitamini formu D₂ vitamini formundan daha fazla biyolojik etkiye sahiptir ve genellikle ışığa maruz kaldıktan sonra cilt tarafından sentezlenir. Birtakım önemli biyokimyasal yolun kontrolünde kritik bir rol oynayan D₃ vitamininin biyolojik olarak aktif formu kalsitrioldr. (25-dihidroksi vitamin D₃). Yeterli güneş ışığına maruz kalmayan kişilerde ve metabolik (obezite veya hiperparatiroidizm) veya gastrointestinal (lyak veya inflamatuvar bağırsak hastalığı) bozuklukları olan kişilerde genellikle vitamin D₃ eksikliği görülmektedir (Winuprasith ve diğ, 2018). İnsan sağlığı için gerekli olan nutrasötik bir ajandır ancak bu vitaminin miktarı, çoğu gıdada yeterli değildir ve bu nedenle birçok üretici vitaminle zenginleştirilmiş ürünler geliştirmeyi tercih etmektedir (Sharifi ve Jahangiri, 2018). D vitamini çevresel streslere (ışık, ısı ve oksijen gibi) karşı oldukça hassas olması ve kolayca oksitlenebilirliğinden dolayı işlevselliğinde ve fizyolojik faydalarında kayıplar meydana gelmektedir (Ozturk ve diğ, 2015). Bu yüzden gıda işleme sırasında bozulmaya karşı korumak için emülsiyon bazlı dağıtım sistemleri tercih edilmekte ve daha kararlı bir emülsiyon, D vitamininin daha yüksek korunmasına yol açmaktadır (Sharifi ve Jahangiri, 2018).

Emülsiyon, sıvılardan birinin diğer sıvı içinde küçük küresel damlacıklar halinde dağıldığı birbiri içinde çözünmeyen iki sıvıdan oluşan sistemlerdir (McClements, 2007). Lipofilik aktif bileşenlerin (biyoaktif lipitler, yağda çözünen vitaminler, antimikrobiyaller, antioksidanlar, nutrasötikler ve ilaçlar gibi) oral tüketime uygun olmaları için sulu ortama dahil edilmesi gereken bir çok ticari uygulama vardır ve bu uygulamalara gıdalar, sağlık hizmetleri ürünleri ve ilaçlar örnek olarak verilebilir. Bu amaca ulaşmanın en uygun yollarından biri, lipofilik aktif bileşenleri mikroemülsiyonlar, nanoemülsiyonlar veya emülsiyonlar gibi kolloidal tabanlı dağıtım sistemleri içinde kapsüllemek olduğu bildirilmiştir (Ziani ve diğ, 2012). Son yıllarda farklı bir emülsiyon türü olan pickering emülsiyonları olarak da adlandırılan partikül stabilize emülsiyonlara artan bir ilgi söz konusudur (Berton Carabin ve Schroen, 2015).

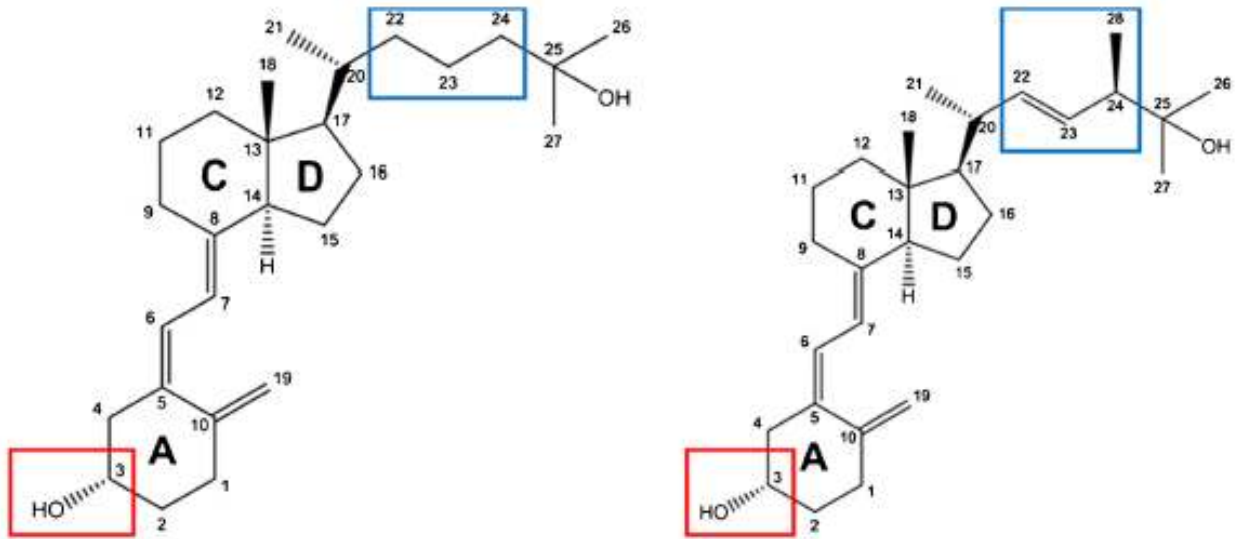
Geleneksel emülsiyonlarda stabilizasyon yüzey aktif maddeler aracılığıyla, pickering emülsiyonlarda ise katı parçaçıklar tarafından sağlanır (Jiang ve diğ, 2020). Genel olarak, Pickering emülsiyonları, Ostwald olgunlaşması ve koelesans gibi fiziksel değişimlere karşı olağanüstü bir stabilite gösterir (Tavernier ve diğ, 2016). Emülsiyonlar termodinamik olarak kararsız sistemler olup çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar nedeniyle zamanla parçalanma eğilimindedirler. Bu nedenle, emülgatörler uzun süreli stabilite sağlamak için emülsiyonlara dahil edilmektedir. Emülsiyonları stabilize etme yeteneklerine ek olarak, kullanılan emülgatörün doğası da emülsiyon oluşumunun kolaylığını ve son ürünün fonksiyonel özelliklerini belirlemektedir (McClements ve Jafari, 2018). Birçok protein, su içinde yağ emülsiyonlarında oluşumu kolaylaştırma, stabiliteyi geliştirme ve istenen fizikokimyasal özellikleri üretme yeteneklerinden dolayı emülgatör olarak kullanılabilen yüzey aktif moleküllerdir. Proteinler, insan diyetinde enerji, olağan vücut büyümesi ve işleyişi için ihtiyaç duyulan önemli makro besinler arasındadır. Bitkisel proteinler, hayvansal proteinlere nazaran daha iyi ve daha ucuz bir alternatif olmuştur. Bitkisel proteinler, son yıllarda gıda endüstrisinde ucuz olmaları, benzer besleyici ve fonksiyonel özelliklere sahip olmaları nedeniyle, farklı ürünlerin hazırlanmasında hayvansal ve süt proteinlerinin yerine geçmektedir. Sentetik ve hayvansal içerik içermediğinden dolayı veganlar ve vejeteryanlar gibi özel beslenme ihtiyaçları olan tüketiciler için daha uygundur (Sharif ve diğ, 2018).

Bu çalışmada farklı bitkisel proteinler, farklı yağlar kullanılarak ultrasonikatör ve yüksek basınçlı homojenizatör cihazlarıyla sırasıyla geleneksel emülsiyonlar ve pickering emülsiyonlar hazırlanmıştır. Bu emülsiyonların çevresel koşullarda (sıcaklık, pH, iyonik şiddet) fiziksel stabiliteleri, oksidatif stabiliteleri araştırılmıştır. Ayrıca hazırlanan emülsiyonlarda simüle edilmiş gastrointestinal sistemdeki lipit emülsiyonlarının serbest yağ asidi (SYA) salınımı ve D vitamininin biyogeçişliliğinin lipit varlığında değişimi araştırılmıştır. Sonuç olarak D vitamini içeren bitkisel proteinlerle stabilize edilen farklı emülsiyonların özellikleri karşılaştırarak model gıda uygulamalarında kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

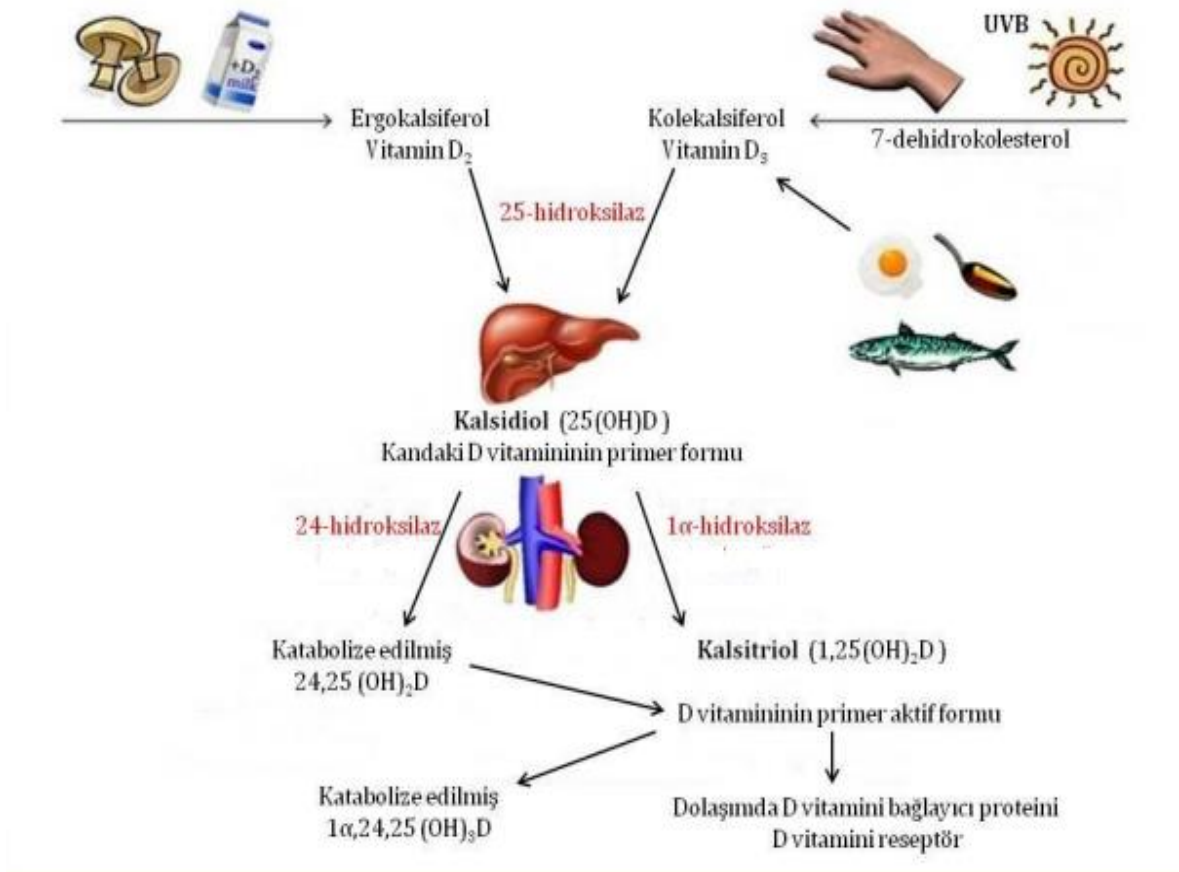
2.1 D Vitaminin Yapısı ve Fonksiyonu

Çeşitli formlarda bulunan yağda çözünen bir sterol grubu olan D vitamininin diğer formlara göre biyolojik ve kimyasal yönden önemli olan iki farklı formu bulunur (Şekil 2.1). Bunlardan biri hayvansal kaynaklı gıda maddelerinde bulunan kolekalsiferol (D₃ vitamini) ve bir diğer formu ise yabani mantarlar gibi bazı mantarlarda bulunan ergokalsiferoldür (D₂ vitamini) (Elsori ve Hammoud, 2018). Vitamin D₃, 7-dehidrokolesterolden (D₃ provitamini) 290-315 nm dalga boyunda ultraviyole B ışınları ile radyasyon ve sıcaklığın etkisi altında deride sentezlenir (Glerup ve diğ, 2000). Ergokalsiferol olarak da bilinen D₂ vitamin 22 (C22) ve 24. (C24) karbon atomları arasındaki çift bağ ve 24. karbon atomuna bağlı metil grubu bulundurmasından dolayı D₃ vitamininden ayrılır (Şekil 2.1). Bu durum D₃ vitaminin D₂ vitaminine göre biyolojik etkinliğinin 3-10 kat daha fazla olmasına yol açar (Akkoyun ve diğ, 2014).



Şekil 2.1: D₃ ve D₂ bileşikleri arasındaki büyük yapısal farkı gösteren (mavi) 25-hidroksivitamin D₃ (solda) ve 25-hidroksivitamin D₂'nin (sağda) yapıları (Chouinard ve diğ, 2017).

Güneş ışığı D vitamini için çok önemli bir kaynaktır. Normal şartlar altında deri, vücudun D vitamini ihtiyacının %80- 100'ünü karşılayabilmektedir (Hatun ve diğ, 2003). İnsan derisinde, ultraviyole ışığa maruz kalmanın bir sonucu olarak oluşan D vitamini biyolojik olarak aktif değildir (Reid ve Bolland, 2020). Deride üretilen ve diyetle alınan D vitaminini ilk olarak karaciğerde 25 hidroksilaz enzimi ile 25 hidroksivitamin D'ye [25(OH)D], daha sonrasında böbreklerde 1,α-hidroksilaz enzimi ile biyolojik olarak aktif form olan 1,25 dihidroksivitamin D'ye [1,25(OH)₂D] dönüştürülür (Fidan ve diğ, 2014) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: D vitamini sentezi ve metabolizması (Ün ve Duman, 2019).

2.2 D Vitamini Kaynakları

D vitamini genellikle "güneş ışığı" vitamini olarak bilinir. Cildin güneş ışığına maruz kalması sonucu sentezlenir ve böylece tavsiye edilen alımın yaklaşık olarak %80'i bu şekilde vücuda sağlanmış olur. Güneş ışığına sınırlı düzeyde maruz kalınıyorsa, yeterli alım miktarını karşılamak için besinsel kaynaklarına bağımlılık artar. Bu yüzden D vitamini açısından zengin olan gıdalara ihtiyaç duyulur ve bu gıdalar arasında uskumru, sardalye, karaciğer, somon gibi yağlı balıklar ve az miktarda olsa yumurta ve kırmızı et gibi diğer besinler bulunur. Bu besinler haricinde ton balığı, süt, maydanoz, su teresi, brokoli gibi besinlerde D vitamini açısından zengin besinler grubuna eklenilebilir. Çizelge 2.1'de bazı gıdaların D vitamini içeriği gösterilmiştir. Her ne kadar bu besinler D vitamini bakımından zengin olsa da hiçbir gıda maddesi günlük alınması gereken D vitaminini tam olarak karşılayamamaktadır ve bu yüzden D vitamininin diyetel alımında takviye edilmiş yiyecekler büyük bir öneme sahiptir (Cribb ve diğ., 2015).

Amerikan Tıp Birliği Gıda Konseyi raşitizme engel olmak için ilk olarak 1933'te D vitaminini süte takviye etmiştir. Süt, çocuklar, hamile ve emzikli kadınlar için temel bir gıda maddesi olduğu ve insanların kemik gelişimi için gerek duyduğu iki besin maddesi olan fosfor ve kalsiyum bakımından yüksek olduğu için besin aracı olarak seçilmiştir (Dwyer ve diğ., 2015).

Türk Gıda Kodeksi gıdalara vitaminler, mineraller ve belirli diğer öğelerin eklenmesi hakkında yönetmelik hükümlerine göre D vitamini ergokalsiferol ve kolekalsiferol formlarında gıdalara eklenebilmekte ve buna ek olarak Mevzuatta madde 6'da belirtildiği gibi vitaminler ve minerallerin eklenmesiyle ilgili bazı kısıtlamalar yer almaktadır. Bu yönetmelikte meyveler, sebzeler, balık, kırmızı ve kanatlı et dahil işlenmemiş gıdalar ve hacmen alkol miktarı %1,2'den fazla olan içeceklere vitamin ve minerallerin eklenemeyeceği bildirilmiştir (TGK, 2017).

Çizelge 2.1: Bazı gıdaların D vitamini içeriği (O’Mahony ve diğ, 2011).

BESİNLER	D Vitamini İçeriği (µg/100 g)
BALIK	
Morina karaciğeri yağı	210,0–250,0
Somon, vahşi (Pasifik)	13,1–24,7
Somon, vahşi (Atlantik)	5,9
Somon, çiftlik	6,0
Ringa balığı, Baltık, çiğ	5,7-15,4
Kipper filetosu, çiğ	8,0
Uskumru, çiğ	8,8-16,1
Sardalya, salamurada konserve	4,6
Ton balığı, yağda konserve	6,7
Hamsi, yağda konserve	1,7-3,0
Morina	Eser miktar-2,6
Dil balığı	Eser miktar-2,8
MANTARLAR	
Mantarlar, yabani olarak yenilebilir (<i>Cantharellus tubaeformis</i>)	13,6-29,8
Mantar, <i>Cantharellus cibarius</i>	5,3-14,2
Mantar, beyaz düğme (<i>Agaricus bisporus</i>)	0,2
Mantar, beyaz düğme (<i>Agaricus bisporus</i>), UV ışınli	11,9

Çizelge 2.1 (devamı): Bazı gıdaların D vitamini içeriği (O’Mahony ve diğ, 2011).

GÜNLÜK BESİNLER	
Süt, bütün, takviye edilmemiş	0,1
Süt, güçlendirilmiş	1,3-2,0
Peynir, çedar	0,3-0,6
Yoğurt, sade	0,1
ET VE YUMURTA	
Karaciğer, sığır eti, çiğ	1,2
Sığır eti, kaburga eti, çiğ	0,1
Domuz eti, kurutulmuş domuz pastırması, çiğ	1,6
Jambon	0,7-1,1
Tavuk, göğüs, çiğ	0,1
Türkiye, dilimler	2,2
Tereyağı	1,5
Yumurta, bütün, çiğ	1,8-2,05
Yumurta, sarısı, çiğ	4,9-5,4
TAHİL ÜRÜNLERİ	
Kahvaltılık gevrekler, takviye edilmiş	2,8-8,3
Takviye edilmiş ekmek	3,0

Çiftlikte yetişen somon balığında verilen yeme göre D vitamini içeriği değişmektedir. Mantarlar kategorisinde ise D vitamini D₂ formunda bulunmaktadır (O’Mahony ve diğ, 2011).

2.3 D Vitamini Düzeyleri Günlük Alınması Gereken Dozajlar ve Toksisite

Son zamanlarda, yapılan kliniksel araştırma makalelerinde Kuzey Amerika ve dünya çapındaki nüfusun büyük bir bölümünün D vitamini açısından “eksik” olduğu sonucuna varılmıştır. Besin ögesini “eksikliği” veya “yetersizliği” kavramlarının neyi ifade ettiğini anlamak için tıp enstitüsünün besin ögesi referans değerlerinin ne olduğunu bilmek, tanımlamak ve ifade etmek gerekir (O’Shea ve Bindman, 2016).

Institute of Medicine (IOM), Dietary Reference Intakes (DRIs) olarak adlandırılan insanların besin alımlarını tasarlamak ve değerlendirmek için kullanılan bir takım referans değerler geliştirmiştir. Bu referans değerler İngilizce kaynaklarda Estimated Average Range (EAR) ve Recommended Daily Allowance (RDA) olarak tanımlanmaktadır (Şenkal ve diğ, 2018). EAR değeri normal bir dağılımdaki ortalama gereksinim ifade eder ve nüfus geneli için en uygun gereksinimi yansıtırken, ikinci bir DRIs referans değeri olan RDA, dağılımın en yüksek ucunda olan insanlar için tahmin edilen gereksinimi yansıtmaktadır (O’Shea ve Bindman, 2016).

D vitamininin kemik sağlığındaki önemli rolünden dolayı EAR’ da 1 ila 70 yaş arası kişiler için günde 400 International Unit (IU) ve 70 yaşından büyük kişiler için ise kişi başına 600 IU; RDA’ da ise sırasıyla günde 600 IU ve 800 IU alınmasının uygun olduğu bildirilmiştir. Çizelge 2.2’de yaş gruplarına göre D Vitamini İçin Diyet Referans Alımları gösterilmiştir. (O’Shea ve Bindman, 2016). Akut toksisite, D vitamini dozlarının 10.000 IU/gün’ü aşmasından kaynaklanmakta ve bu seviye IOM tarafından önerilen 4000 IU/günlük üst limitinden daha fazladır (Marcinowska-suchowierska, 2018). D vitamini için belirlenen üst seviye alımı ölçeğin üst ucundaki güvenli sınırı belirtir ve bu sınır insanların ihtiyaç duyduğu veya tüketmesi gerekli olan miktarlar olarak yanlış anlaşılmamalıdır. Bu değerler yaşa göre farklılık gösterebilir ve D vitamininin önerilen günde 4.000 IU’yu geçtiği durumlarda zarar verme riskinin artmaya başladığı sonucuna varılmıştır (Bandeira ve diğ, 2010). D vitamini için 1IU=40 µg’dır (Cannell ve Hollis, 2008).

Çizelge 2.2: D Vitamini İçin Diyet Referans Alımları (R. Gupta ve diğ, 2019).

	EAR (IU/gün)	RDA (IU/gün)	ÜST SEVİYE ALIMI(IU/gün)
0 ila 6 ay arası bebekler	200	200	1000
6 ila 12 aylık bebekler	260	260	1500
1-3 yaş	400	600	2500
4-8 yaş	400	600	3000
9-13 yaş	400	600	4000
14–18 yaş	400	600	4000
19–30 yaş	400	600	4000
31–50 yaş	400	600	4000
51-70 yaş arası erkek	400	600	4000
51-70 yaş arası kadın	400	600	4000
> 70 yaşında	400	600	4000
14-18 yaşında, hamile/emziren	400	600	4000
19-50 yaşında, hamile/emziren	400		4000

2.3.1 D vitamini eksikliği

D vitamini eksikliği önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiş ve yapılan son araştırmalarda dünya genelinde bir milyardan fazla insanın D vitamini eksikliği olduğu sonucuna varılmıştır (Wood ve Cheetham, 2016). Biyolojik olarak aktif form olan 1,25 (OH)₂D'nin D vitamini eksikliği olan çocuklarda ve yetişkinlerde normal veya yüksek olduğu durumlar olabilmekte ve bu yüzden D vitamini durumu hakkında sağlıklı bir bilgi verememektedir. Bu yüzden kandaki D vitamini durumunu belirlemek için 25(OH)D'nin düzeyine bakmanın en iyi yöntem olduğu bildirilmiştir (Hosseini-Nezhad ve Holick, 2013).

D vitamini düzeyleri hakkında birçok fikir ortaya atılmış ve serumdaki 25(OH)D <20 g/ml (veya 50 nmol/l) değerinin eksikliği, 20-30 g/ml (veya 50 ila 75 nmol/l) aralığında yetersizliği ve > 30 g/ml (veya 75 nmol/l) düzeyinde D vitamini yeterliliğini gösterdiği sonucuna varılmıştır (Das ve diğ., 2013). Kandaki serum 25(OH)D Konsantrasyonu ve bu konsantrasyonlara göre sağlık üzerindeki etkileri çizelge 2.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.3: Kandaki serum 25(OH)D Konsantrasyonu ve Sağlık üzerindeki Etkileri (R. Gupta ve diğ., 2019).

Serum D vitamini konsantrasyonu		Sağlık durumu
nmol/l	g/ml	
< 30	<12	Bebeklerde ve çocuklarda raşitizme, yetişkinlerde osteomalaziye neden olan D vitamini eksikliği
30 ile < 50	12 ile <20	Kemik ve genel sağlık için yetersiz
≥50	≥ 20	Kemik ve genel sağlık için yeterli
> 125	> 50	Özellikle > 150 nmol/l (> 60 g/ml) gibi yüksek seviyelerde potansiyel yan etkiler

Bir steroid hormonu olan D vitamini, kalsiyum ile fosfor metabolizması ve bağışıklık sistemi üzerinde birçok etkisi bulunmaktadır (Hintzpeter ve diğ, 2008). D vitamininin olmadığı durumlarda diyetteki kalsiyumun yalnızca %10-15'i, fosforun ise yaklaşık %60'ı emilebilmektedir. 1,25-dihidroksivitamin D'nin D vitamini alıcısı ile karşılıklı etkileşimi, bağırsaktan kalsiyum emiliminin verimliliğini %30-40'a, fosfor emiliminin verimliliğini ise yaklaşık olarak %80'e kadar arttırmaktadır (Holick, 2007). D vitamini kemik ve mineral metabolizması için çok önemli bir yere sahiptir (Pilz ve diğ, 2019). Sanayi devrimi başlaması ile birlikte D vitamini eksikliği ortaya çıkmış ve güneş olmayan, dar sokak aralarında yaşayan çocuklarda şiddetli kemik hastalığı olan raşitizmin belirtileri olan büyümede yavaşlama, bacakların eğilmesi, bükülmesi ve uzun kemiklerin uçlarının genişlemesi gibi sorunlarla karşılaşmıştır (Holick, 2003). D vitamini eksikliği raşitizm ve osteomalazi gibi kemik hastalıkları haricinde birçok kronik hastalık riskini de tetikleyebilmektedir (Pilz ve diğ, 2019).

Ev gibi kapalı mekanlarda çok vakit geçirmek, şiddetli hava kirliliği, uzun süreli bulut örtüsü, cildin giysilerle kapatılması ve güneş kremi kullanmak ciltteki D vitamini üretimini ciddi anlamda kısıtlamaktadır (Kohlmeier, 2020). Güneş kremleri, UVB ve bir miktar UVA (321-400 nm) radyasyonu deriden içeri girmeden önce emilimine neden olur (Holick ve diğ, 2018). İnsan derisinde previtamin D₃ üretiminden sorumlu olan 290-315 nm dalga boylarına sahip güneş spektrumunun UVB kısmıdır. Bu yüzden, epidermise ulaşan UVB fotonlarının sayısındaki değişiklik D₃ vitamininin kutanöz üretiminde bir etkiye neden olabilmektedir (Holick, 2003). Kuzey enlemlerinde, özellikle kış aylarında UVB radyasyon, D vitamininin ciltteki sentezi için çok düşüktür (Itkonen ve diğ, 2018). Kış aylarında güneşin zenit açısı arttıkça güneş ışığı stratosferik ozon tabakasından daha eğik bir açıyla süzülür ve bu da dünya yüzeyine ulaşan previtamin D₃ üretiminden sorumlu olan UVB ışığının azalmasına neden olur (Webb ve diğ, 1988). Güneş ışığı kış aylarında 37°K'nın üzerinde ve 37°G'nin altındaki enlemlerde deride D₃ vitamini sentezini başlatmak için yetersiz kalır (Holick, 2006).

2.3.2 D vitamini fazlalığı

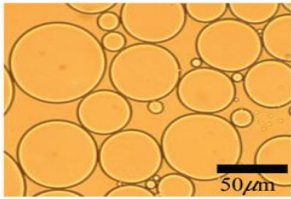
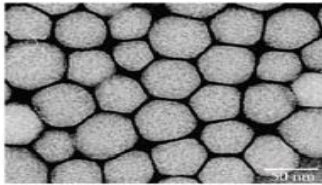
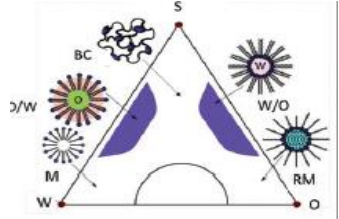
D vitamini toksisitesi hipervitaminoz D olarak da adlandırılan, nadiren görülsede insan vücudunda aşırı miktarda D vitamini bulunduğunda ortaya çıkan ciddi bir durumdur. D vitamini toksisitesine genellikle gıdalardan alınan veya güneşe maruz kalma sonucunda sentezlenen değil de yüksek dozlarda takviye D vitamini almak sebep olmaktadır. Vücut güneşe maruz kalma yoluyla üretilen D vitamini miktarını düzenlemekte ve alınan takviyeli gıdalar çok miktarda D vitamini içermemektedir (A. K. Gupta ve diğ, 2014). Yeterli D vitamini için gerekli olan UVB radyasyonu miktarı, derinin en az oranda kızarması ile üretilen D vitamini veya ağızdan alınan 10.000–25.000 IU D vitamini miktarından hesaplanabilmektedir. Minimum kızarma cildin pembeye dönmesi için gereken süre olarak tanımlanabilir. Bu sürenin uzunluğu coğrafi konuma, cilt rengine, vücut yağ yüzdesine ve yaşa göre değişmektedir. Aşırı güneş ışığına maruz kalınması sonucunda D vitamini güneş ışığını ayrıştırmakta ve bu yüzden güneş ışığı intoksikasyona neden olmamaktadır (Alshahrani ve Aljohani, 2013).

D vitamini eksikliği, azalmış kalsiyum Emilimi ve bunun sonucunda ikincil hiperparatiroidizm ile alakalıdır ve bu da kan sıvısında yeterli kalsiyum konsantrasyonlarını korumak için kemikten kalsiyum alımına neden olmaktadır. Aynı şekilde, D vitamini toksisitesinde ise, bağırsaktan artan kalsiyum Emilimi ve hiperkalsemi ile alakalıdır. Ayrıca, D vitamini fazlalığı kemik Emilimini artırarak kalsiyum seviyelerini daha da artırabilmektedir (P. N. Taylor ve Davies, 2018). D vitamini fazlalığına bağlı VDT (hipervitaminoz D), ciddi sağlık sorunlarına yol açan kalıcı veya uzun süreli şiddetli hiperkalsemi ile karakterize edilmiş klinik bir durumdur. Hiperkalsemi, D vitamininin yüksek dozlarının veya D vitamini metabolizma ürünlerinin [25(OH)D, 1,25(OH)₂D] kontrolsüz kullanımından sonra gelişir (Marcinowska-suchowierska, 2018). Hiperkalsemi özellikle down sendromlu veya tiroit bezi gelişmemiş olan bebeklerde bağırsak Emiliminin artması veya D vitamini metabolizmasının azalması durumunda ortaya çıkmaktadır (Özkan ve diğ, 2012). Artan bağırsak kalsiyum Emilimine bağlı hiperkalsemi tedavisinde diyetle alınan kalsiyumun ve D vitamini alımının azaltılması işe yaramaktadır. Ancak serum 25 (OH) D vitamini düzeyi yüksek olduğu durumlarda her zaman hiperkalsemi görülmeyebilir. Yönergelerde D vitamini intoksikasyonu için serum 25(OH) vitamin D >150 µg/L ve kalsiyum >10.5 mg/dL olarak tarif edilmektedir (A. K. Gupta ve diğ, 2014).

2.4 Emülsiyonlar

Emülsiyonlar, birbiri içinde karışmayan iki veya daha fazla sıvıdan meydana gelen sistemlerdir (Pal, 2011). Gıda sistemlerindeki damlacıkların ortalama çapı 100 nm ile 100 µm arasındadır ancak bazı sistemlerde damlacıkların ortalama çapı daha büyük veya daha küçük olabilmektedir (McClements ve diğ, 2007). Su ve yağdan oluşan bu sistemlerde suda çözünmeyen kısım yağ fazı olarak adlandırılır (Chen ve diğ, 2020). Bir emülsiyondaki damlacıkları oluşturan maddeye dağılmış faz, etrafındaki sıvıyı oluşturan maddeye ise sürekli faz denir. Bir yağ fazında dağılmış su damlacıklarından oluşan bir sisteme yağ içinde su (S/Y) emülsiyonu, sulu bir fazda dağılmış yağ damlacıklarından oluşan bir sisteme ise su içinde yağ (Y/S) emülsiyonu denilmektedir (McClements ve diğ, 2007). Su içinde yağ emülsiyonlarına mayonez dahil çoğu gıda emülsiyonu ve yağ içinde su emülsiyonlarına ise margarin örnek verilebilir. Emülsiyonlar, yağ ve su fazlarının bulundukları konumlarına göre uygun bir şekilde sınıflandırılabilirler. Partikül çaplarına göre sınıflandırılan ve bazı özellikleri verilen emülsiyonlar çizelge 2.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.4: Partikül çaplarına göre emülsiyonlar (A. Gupta ve diğ, 2016).

	Makroemülsiyon	Nanoemülsiyon	Mikroemülsiyon
			
Boyut	1-100 µm	20-500 nm	10-100 nm
Şekil	Küresel	küresel	küresel, katmanlı
stabilite	termodinamik olarak kararsız, zayıf kinetik stabilitesi zayıf	termodinamik olarak kararsız, kinetik açıdan stabil	termodinamik olarak stabil
hazırlama yöntemi	yüksek ve düşük enerji yöntemleri	yüksek ve düşük enerji yöntemleri	düşük enerji yöntemleri
polidispersite	genellikle yüksek	genellikle düşük	genellikle düşük

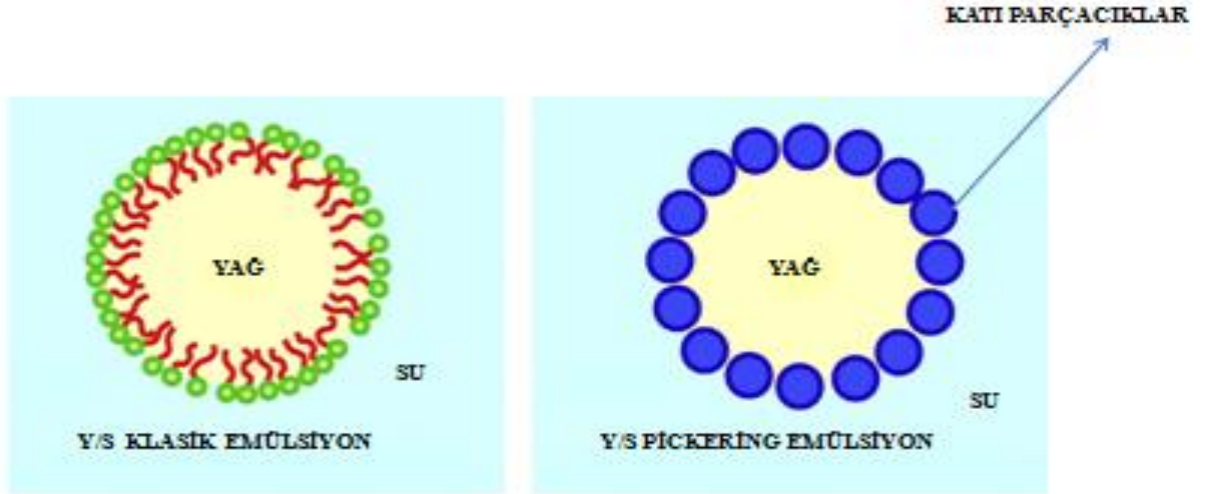
Geleneksel bir emülsiyon olan makroemülsiyonlar ortalama yarıçapları 100 nm ile 100 µm arasında olan damlacıklara sahiptirler. Damlacıklar ışığın dalga boyuna ($d \approx \lambda$) benzer bir boyuta sahip ve çok güçlü bir şekilde ışık saçtığı için optik olarak bulanık veya opak olmaya yatkındırlar (McClements, 2010). Geleneksel emülsiyonlar, özellikle bir Y/S emülsiyonundaki yağ damlacığının hidrofobik alanında çözülebilen lipofilik bileşenler için kararlı dağıtım sistemleri olarak bilinmektedir. Yağ içinde su geleneksel emülsiyonlarda lipofilik bileşiklerin kapsüllenmesi ve dağıtılması, hazırlama kolaylığı ve düşük maliyet, yağ-su arayüzünü tasarlayarak bileşenin fiziksel ve kimyasal stabiliteside dahil birçok avantajı vardır. Ancak, geleneksel emülsiyonlar bu koşullar altında fiziksel ve kimyasal kararsızlığa yol açabilecek çevresel zorluklara karşı (ısıtma, soğutma, yüksek pH, ve yüksek iyonik kuvvet) hassas olmalarından dolayı birtakım dezavantajları vardır.

Fiziksel kararsızlık koalesans, flokülasyon, Ostwald olgunlaşması veya kremalaşmayı, kimyasal kararsızlık ise oksidasyon ve hidrolizi içermektedir (Niakousari ve diğ, 2018). Geleneksel emülsiyonlar, kolay hazırlanmaları ve düşük maliyetlerinden dolayı daha karmaşık lipid bazlı dağıtım sistemlerine kıyasla daha çok tercih edilmektedir (P. Taylor ve diğ, 2009).

Son zamanlarda, emülsiyon teknolojisinde gıdalardaki uygulama alanlarını genişletebilecek bir dizi ilerleme kaydedilmiştir. Pickering emülsiyonları, yüksek iç fazlı emülsiyonlar, nanoemülsiyonlar ve çoklu emülsiyonlar gibi birçok yeni emülsiyon türleri geliştirilmiştir (Bai ve diğ, 2021).

2.4.1 Pickering emülsiyon

Pickering emülsiyonları, su içinde yağ (Y/S), yağ içinde su (S/Y) veya çoklu emülsiyonlarda yüzey aktif maddeler yerine katı parçacıklar tarafından stabilize edilen bir emülsiyon örneğidir (Chevalier ve Bolzinger, 2013) (Şekil 2.3). İlk olarak 20. yüzyılın başlarında Ramsden ve Pickering tarafından tanımlanmıştır (Jiang ve diğ, 2020).



Şekil 2.3: Bir Pickering emülsiyonunun ve geleneksel (yüzey aktif madde bazlı) bir emülsiyonun kabaca şekli (Chevalier ve Bolzinger, 2013).

Genel olarak emülsiyonlar iki karışmayan faz arasındaki yüksek yüzey enerjisinden dolayı kararsız sistemlerdir. Geleneksel emülsiyonlar yağ-su ara yüzey gerilimini azaltan ve sıvı damlacıkların etrafında moleküler bir tabaka oluşturan yüzey aktif maddeler veya amfilik polimerler tarafından stabilize edilirler (Jiang ve diğ, 2020). Pickering emülsiyon yönteminde ise genel olarak kullanılan emülgatörler yerine stabilizasyon katı parçacıklar ile sağlanır. Bu emülsiyonun stabilizasyonu ise emülsiyon damlacıklarının yüzeyinde katı parçacıklarının adsorpsiyonu yoluyla karışmayan iki faz arasındaki arayüzey enerjisini azaltarak gerçekleşir (Sharkawy ve diğ, 2020). Adsorpsiyon mekanizması yüzey aktif maddelerden çok farklıdır, çünkü katı parçacıkların amfilik olması gerekmemektedir (Chevalier ve Bolzinger, 2013).

Katı parçacıkların yüzeyinin su ve yağ tarafından kısmen ıslanması, katı parçacıkların yağ-su ara yüzeyinde güçlü bir şekilde bağlanmasından kaynaklanır (Chevalier ve Bolzinger, 2013). Pickering emülsiyon partikülleri hem yağ hem de su fazı tarafından kısmi çift ıslanabilirlik özelliğine sahip parçacıklar tarafından stabilize edilir ve bu da partiküllerin yağ-su arayüzünde birikmesine neden olur. Katı parçacıklar tarafından stabilize edilen emülsiyon türü, yağ-parçacık-su ara yüzeyindeki temas açısından yola çıkarak belirlenebilir. Temas açısı 90°'den büyük olan parçacıklar genellikle yağ içinde su

(S/Y) emülsiyonlarını temas açısı 90°'den küçük olan parçacıklar ise su içinde yağ (Y/S) emülsiyonunu oluşturur (Chen ve diğ, 2020).

2.4.2.1 Emülsiyonlarda lipit fazı

Bitki ve hayvan kaynaklarından elde edilen lipitler, büyüme ve gelişim için ihtiyaç duyulan temel besinler oldukları için insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Acevedo Fani ve Singh, 2022). Normal diyetle, lipitler toplam kaloringin %20 ila %40'ına katkıda bulunur ve insan vücudu tarafından sentezlenmeyen linoleik asit ve α -linolenik asit gibi esansiyel yağ asitleri kaynağı ihtiyacını karşılar. Bununla beraber, lipitler yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E ve K vitaminleri) ve hidrofobik polifenoller gibi biyoaktif moleküllerin taşıyıcılarıdır. Lipitler ayrıca hücre zarlarının yapısal bileşenleridir, hücre sinyal verme yollarında yer alır ve steroid hormonlarının öncüleridir (Acevedo Fani ve Singh, 2022).

Yağ asitleri, bir hidrokarbon zinciri ve bir uçta bulunan karboksil grubu içeren bir molekül sınıfıdır. Zincir uzunluğuna bağlı olarak, yağ asitleri >12 karbon atomlu uzun zincirli yağ asitleri, 6-12 karbon atomlu orta zincirli yağ asitleri ve <6 karbon atomlu kısa zincirli yağ asitleri olarak sınıflandırılır (Acevedo Fani ve Singh, 2022). Yağ asitleri iki temel çeşitten oluşur: doymuş ve doymamış yağ asitleri ve aralarındaki tek fark hidrokarbon zincirinde karbon-karbon çift bağlarının varlığı veya yokluğudur. Doymuş yağ asitlerinin hidrokarbon zincirinde çift bağ yoktur ve doymamış yağ asitleri en az bir çift bağ içerir. Doymamış yağ asitleri de kendi içinde iki alt gruba ayrılır: tek bir çift bağa sahip tekli doymamış yağ asitleri ve iki veya daha fazla çift bağa sahip çoklu doymamış yağ asitleri (T. Y. Wang ve diğ, 2013). Çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA'lar), karbon zincirlerinde çoklu çift bağ içeren yağ asitleri grubudur. Çoğunluk olarak keten tohumu yağı, alg yağı ve balık yağı gibi bitkilerde ve hayvanlarda bulunmaktadır (C. Wang ve diğ, 2020). Hayvansal yağlar yüksek oranda doymuş yağ asitleri içerirken, bitkisel yağlar hayvansal yağlardan daha yüksek oranda doymamış yağ asitleri içermektedir (T. Y. Wang ve diğ, 2013).

Yağların, birçok gıda ürününün tadı ve dokusunu geliştirmede önemli rolleri vardır. Orta zincirli trigliseritler (MCT'ler), uzun zincirli trigliseritlere (LCT'ler) göre suda daha yüksek çözünürlüğe, ama daha düşük arayüzey gerilimine ve daha düşük moleküler ağırlığına sahiptir (Taha ve diğ, 2018). Orta zincirli trigliserit (MCT) yağı, palm çekirdeği yağı ve hindistancevizi yağı gibi zengin kaynaklardan ayırmsal damıtma yoluyla sentetik

olarak üretilen bir tür diyet trigliserittir. Baskın bileşenler kaprilik (C8) ve kaprik (C10) yağ asitleri (sırasıyla %53 ve %36-47), az miktarda da kaproik (C6) ve laurik (C12) yağ asitleri içermektedir. MCT yağı, düşük bir erime noktasına (C8: 16,7°C, C10: 31,3°C) sahip aromasız doymuş bir yağdır. MCT yağı, keton cisimlerine daha hızlı metabolize edilebilir ve uzun zincirli trigliseritlerden daha verimli bir şekilde emilebilir. 1950'lerde, MCT yağı, emilim bozukluğu sendromlarının tedavisi için klinik bir besin maddesi olarak tanıtılmıştır (San ve diğ, 2022).

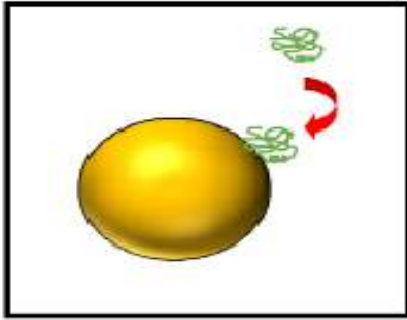
Ayçiçek yağı, ayçiçeği tohumlarından presleme, soğuk presleme yöntemi veya heksan gibi uygun bir çözücü ile ekstraksiyon yoluyla elde edilen bir yağdır. Ayçiçek yağının bileşimi linoleik asit (%66), oleik asit (%21,3), palmitik asit (%6,4), araşidonik asit (%4), stearik asit (%1,3) ve behenik asitten (%0.8) oluşmaktadır (Arianto ve Cindy, 2019). Yani ayçiçek yağı ağırlıklı olarak oleik asit (omega-9)-linoleik asit (omega-6) olmak üzere tekli doymamış (TDYA) ve çoklu doymamış (ÇDYA) yağ asitlerinin bir karışımıdır (Atarian ve diğ, 2019). Ayçiçek yağı ayrıca 609 mg/kg α - tokoferol içermektedir. Kozmetiklerdeki α - tokoferol (E Vitamini), bir antioksidan görevi görüp UV radyasyonuna karşı koruma sağlamaktadır (Arianto ve Cindy, 2019).

Keten tohumu yağı, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerine (ÇDYA'lar) dönüştürülen esansiyel bir yağ asidi olan omega-3 yağ asidinin (α -linolenik asit: ALA, %50-60) en zengin kaynağıdır: eikosapentaenoik asit (EPA) & dokosaheksaenoik asit (DHA). Balık yüksek miktarda omega-3 yağ asitleri (EPA ve DHA) içermektedir. Ancak vejetaryenler için önerilen omega-3 alımı oldukça zordur ve bu yüzden omega-3 yağ asitlerinin en zengin kaynağı olan keten tohumu yağı, vejetaryen diyetindeki bu omega-3 boşluğunu doldurmak için kullanılmaktadır. Keten tohumu yağı ucuzdur ve kolayca bulunabilir; ancak yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri içerdikleri için (>%75), oksijen ve metal iyonları varlığında ve yüksek sıcaklıklarda oksidasyona karşı son derece hassastır ve bu da işleme koşulları sırasında toksik hidroperoksitlerin ve tat vermeyen bileşiklerin oluşmasına neden olabilmektedir. α -linolenik asidin (ALA, C18:3, omega-3) oleik aside (C18:1) göre oksidasyona 20 kat daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Goyal ve diğ, 2015). Keten tohumu yağı, ALA'nın en zengin bitki bazlı kaynaklarından biridir (%60'tan fazla), ancak keten tohumu yağının fonksiyonel gıdalarda uygulanması birçok nedenden dolayı sınırlandırılmıştır. Depolama ve sindirim sırasında keten tohumu yağının (KTY) oksidasyon tüketimi, ALA'nın miseldeki konsantrasyonunu azaltıp emilimini daha da sınırlandırması bu nedenlere örnek olarak verilebilir (Cheng ve diğ, 2021).

2.4.2.2 Emülgatörler

Emülgatörler yağ ve su gibi birbirine karışmayan iki sıvının oluşturduğu bir emülsiyonu stabilize etmek ve dağılmış fazın globüllerinin birleşmesini engellemek için kullanılan yüzey aktif maddelerdir (Siyal ve diğ, 2017). Emülsiyon karışımlarında ara yüzey gerilimini azaltmak için kullanılan yağ-su veya su-yağ ara yüzeyinde bütünleşmiş olan hem hidrofilik hem de hidrofobik bileşenlerden oluşan moleküllerdir (Lam ve Nickerson, 2013). Bir emülgatör madde emülsiyona ilave edilmesi ile yağ su içinde dağılabilen küçük parçalara ayrılır ve dağılmış damlacıkların etrafında bir savunma duvarı oluşturmak için yağ-su arayüzüne absorbe edilirler. Emülgatör maddenin etkisi ile iki faz arasındaki gerilimi azaltarak sabit bir ara yüzey filmi oluşturup emülsiyonu stabilize etmek mümkündür (Siyal ve diğ, 2017). Emülgatörlerin başarılı emülsiyon bazlı ürünleri oluşturmasında iki önemli görevi vardır. Bunlardan ilki homojenizasyon sırasında ince lipid damlacıklarının ilk oluşumunu kolaylaştırmak, ikinci görevi ise oluşturduktan sonra lipid damlacıklarının stabilitesini arttırmaktır (McClements ve Gumus, 2016) (Şekil 2.4).

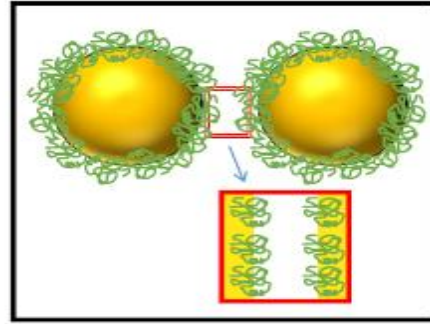
EMÜLSİYON OLUŞUMU



Gereksinimler:

- Hızlı bir şekilde adsorbe olmak
- Daha düşük arayüz gerilimi
- Damlacık parçalanmasına yardım etmek

EMÜLSİYON STABİLİZASYONU



Gereksinimler:

- Güçlü itici kuvvetler oluşturmak
- Dirençli ara yüzey tabakası oluşturmak
- Damlacık birikmesini önlemek

Şekil 2.4: Emülsiyon oluşumu ve emülsiyon stabilizasyonu (McClements ve Gumus, 2016).

Gıda sınıfında en sık kullanılan emülgatörler proteinler, fosfolipitler, polisakkaritler ve küçük moleküllü yüzey aktif maddelerdir. Bu çalışmada emülgatör olarak bezelye ve mercimek proteini kullanılan bir çalışmada baklagillerin yenilebilir tohumlarının, yağ damlacıkları etrafında kısmen kalın tabakalar oluşturan amfilik proteinler içerdiği ve dolayısıyla emülsiyon oluşumunu ve stabiliteyi arttırdığı gözlemlenmiştir (Gumus ve diğ, 2017a). Bakliyat proteinleri nişasta, lipitler, mineraller ve yüksek değerli besinler için önemli bir kaynaktır. Esansiyel amino asitleri sağlamaları, su/yag bağlama kapasiteleri, çözünürlük, köpüklenme ve emülgatör özellikleri ve gıda ürünlerinin kalitesini arttırabilecek jel oluşumu gibi önemli fonksiyonel özelliklere sahiptirler (Hayati Zeidanloo ve diğ, 2019). Baklagil proteinleri başlıca çözünürlük davranışlarına göre globulinler, albüminler ve glutelinler olarak sınıflandırılan depo proteinleridir ve bu proteinlerden bakliyatlarda en fazla bulunan tuzda çözünen globulinlerdir. Bakliyatlarda bulunan toplam proteinin %10-20'sini suda çözünen albüminler oluştururken, %10-20'sinde seyreltik asit ve baz çözeltilerinde çözünen glutelinler oluşturur (Jarpa Parra, 2018).

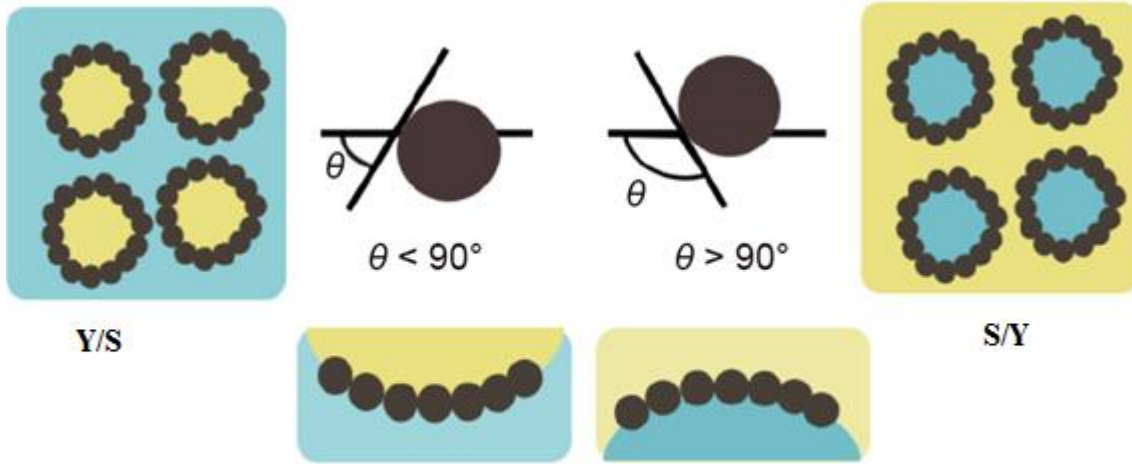
Bezelye %18-30, mercimek ise %26-30 protein içerir. Bitki bazlı oldukları için gıda alerjisine neden olmaz, piyasada yeteri kadar bulunurlar ve diğer baklagillere kıyasla jel oluşturma özelliği yüksektir. Esansiyel amino asitler, özellikle lizin amino asidi bakımından birçok baklagil yetersizdir; ancak mercimek 624 mg/100 g lizin içermekte ve bezelye ise diğer baklagillerden daha fazla lizin içeriğine (%7,5'in üzerinde) sahiptir. Bezelye ve mercimek birlikte tüketildiğinde, 70 kg ağırlığındaki yetişkin bir bireyin günlük lizin ihtiyacını karşılamaktadır (Arshad ve diğ, 2022). Son zamanlarda hayvansal kaynaklı ürünler yerine bitkisel kaynaklı ürünlere ilgi artmakta ve bu yüzden gıda endüstrisinde bitkisel kaynaklı emülgatörler tercih edilmektedir. Baklagillerden elde edilen proteinlerin, düşük maliyeti, çok miktarda bulunması, besleyici faydaları, olumlu tüketici algısı, düşük alerjenite, iyi fonksiyonel özellikleri, vegan ve vejetaryan gibi bazı tüketicilerin diyet tercihlerinden dolayı gıda endüstrisinde kullanımı yaygınlaşmaktadır (Gumus ve diğ, 2017a).

2.4.2.3 Emülsiyon stabilitesi

Emülsiyonun zaman içinde fizikokimyasal özelliklerindeki değişikliklere direnç gösterme yeteneğine emülsiyon stabilitesi denir (Low ve diğ, 2020). Geleneksel emülsiyonlarda stabilite, iki fazın arayüzey özelliklerini değiştiren amfifilik bileşiklerin adsorpsiyonu ile sağlanır. Pickering emülsiyonlarda ise sıvılar arasındaki arayüzeyde katı

parçacıkların absorpsiyonu, damlacıklar arasındaki birleşmeyi kısıtlamak için bir engel oluşturmaktadır. Katı partiküller, yağ ve su arasındaki arayüzeyde her iki faz tarafından kısmen ıslanma (yani çift ıslanabilirlik) üzerine adsorbe edilebilirler ve adsorpsiyonları, yüksek enerjili yağ-su arayüzünün yüzeyinde bir azalmaya neden olur. Partikül ıslanabilirliğinin prensibi hidrofilik partiküller tarafından stabilize edilen su içinde yağ (Y/S) emülsiyonları ve hidrofobik partiküller tarafından stabilize edilen yağ içinde su (S/Y) emülsiyonları olmak üzere pickering emülsiyonları iki tipte sınıflandırılabilir. Partikül stabilize emülsiyonlarda, emülsiyon türü seçimi, temas açısı kullanılarak ölçülen ıslanabilirlik ile belirlenir (Gonzalez Ortiz ve diğ, 2020). Temas açısının derecesine göre hidrofilik yüzeylere sahip partiküller, Y/S emülsiyonlarını ve kısmen hidrofobik partiküller ise S/Y emülsiyonlarını oluşturmaya daha yatkındırlar (Harman ve diğ, 2019) (Şekil 2.5).

Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi Bancroft kuralına göre, hidrofilik partiküller (yani, su fazı boyunca ölçülen $<90^\circ$ temas açısına sahip) Y/S emülsiyonlarını stabilize etmek için, hidrofobik partiküller ise (yani, temas açısı $>90^\circ$ olan) S/Y emülsiyonlarını stabilize etmek için daha elverişlidir (Gonzalez Ortiz ve diğ, 2020).

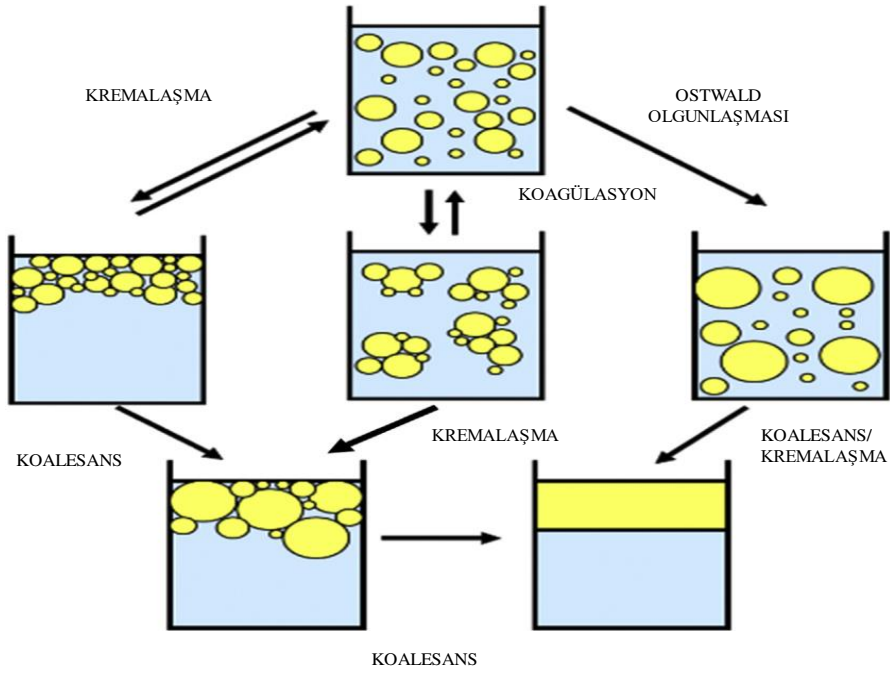


Şekil 2.5: Bancroft kuralına göre hidrofilik ve hidrofobik partiküller (Gonzalez Ortiz ve diğ, 2020).

Emülsiyonun zamanla boyut, şekil, reoloji, morfoloji gibi fiziksel özelliklerini sürdürme yeterliliğine emülsiyonun fiziksel stabilitesi denir (Low ve diğ, 2020). Bir emülsiyonun içindeki partiküllerin boyutu, reolojik, optik, stabilite ve salınım gibi özelliklerini etkilemektedir. Bir emülsiyonun parçaçık boyutu dağılımı çeşitli emülsiyon oluşturma koşulları veya sistemin yapısı ile kontrol altına alınabilir (McClements, 2011).

Emülsiyonda daha küçük damlacıklar homojenizasyonun şiddeti veya süresini arttırarak veya kullanılan emülgatör konsantrasyonunu artırarak üretilmektedir (McClements ve diğ, 2007). Emülsiyonda küçük damlacık boyutu emülsiyonları flokülasyon, koalesas, kremalaşma gibi fiziksel olarak kararsızlaşmaya karşı dayanıklı hale getirir (Wooster ve diğ, 2008).

Gıda emülsiyonu damlacıkları, yağ damlacıkları yüzeyinde adsorbe edilen mineral iyonlar veya biyopolimerlerden dolayı daima bir elektrik yüküne sahiptir (Zhou ve diğ, 2021). Gıda emülsiyonlarının stabilite ve fonksiyonel işlevselliğinde damlacıkların üzerindeki elektrik yükünün işareti ve büyüklüğünün önemli bir yeri vardır (McClements, 2011). Bir damlacığın elektriksel özellikleri genellikle yüzey elektrik potansiyeli (ψ), yüzey yük yoğunluğu (σ) ve/veya ζ -potansiyel (ζ) gibi terimlerle tanımlanmaktadır (P. Taylor ve diğ, 2011). Emülsiyondaki damlacığın ζ -potansiyelini ölçmek, yüzey potansiyelinden veya yük yoğunluğundan daha kolaydır ve bu yüzden damlacık yükleri çoğu zaman ζ -potansiyeli ile belirlenir (McClements, 2007). Zeta potansiyeli yüzeyin hemen dışındaki sıvı tabaka ile sürekli faz arasındaki kuvvet olarak tanımlanır ve ayrıca partikül yüzeyindeki net yükün ve ara yüzeydeki elektrik potansiyelinin dağılımının bir ölçüsünü belirtir (Cano Sarmiento ve diğ, 2018). Kararlı bir emülsiyonda sulu faz boyunca yağ globülleri homojen bir dağılım gösterir (Degner ve diğ, 2014). Kararsız emülsiyonlarda ise gıdada kremalaşma gibi ürünün kalitesinde bir düşüş ve raf ömrünü kısaltan bazı durumlar gerçekleşebilir (Hu ve diğ, 2017). Termodinamik olarak kararsız olan emülsiyonlarda yer çekimsel ayrılma, koalesans, flokülasyon, Ostwald olgunlaşması ve faz ayrımı gibi fiziksel değişiklikler raf ömrünü kısaltan durumlara örnek olarak verilebilir (Low ve diğ, 2020) (Şekil 2.6).

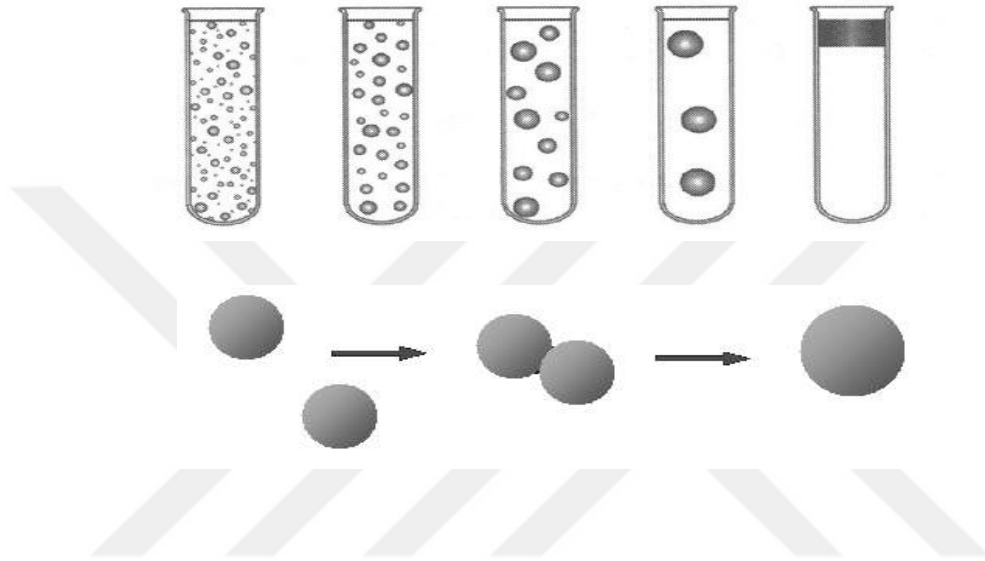


Şekil 2.6: Emülsiyon bozulma süreçleri (Yamashita ve diğ, 2017).

Bir emülsiyonda sürekli, fazdan daha düşük yoğunluğa sahip damlacıkların yükselip üstte bir katman oluşturmaya kremalaşma tam tersi durumda yani sürekli fazdan daha yüksek yoğunluğa sahip damlacıkların alçalarak emülsiyonun altında bir katman oluşturmada sedimantasyon denir (Gonzalez Ortiz ve diğ, 2020). Yer çekimsel ayrılma olan kremalaşma ve sedimantasyonunun meydana gelme hızı, damlacık konsantrasyonunun artmasıyla azalmaktadır (McClements ve diğ, 2007).

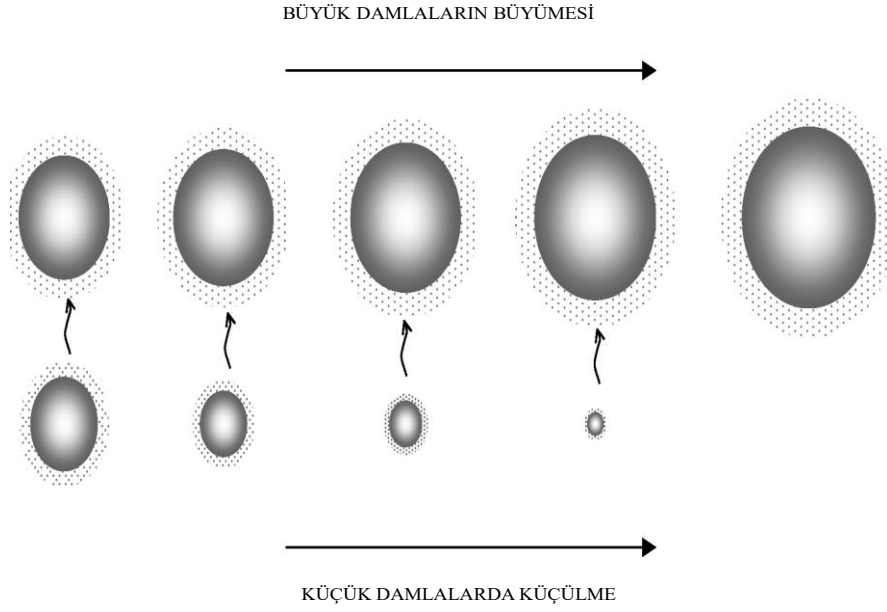
Flokülasyon, iki veya daha fazla damlacığın kendine özel bireysel bütünlüklerini koruyarak kümeleşmesiyle meydana gelen bir olaydır. Bir emülsiyonda damlacık topaklaşmasının gerçekleşme eğilimi, başlıca damlacıklar arasında etki eden çekici ve itici kuvvetlerin dengesine bağlıdır. Emülsiyonun damlacıkları arasında çekici kuvvetler baskınsa damlacıklarda toplanma eğer itici kuvvetler baskınsa toplanmaya karşı bir direnç görülür. Gıda emülsiyonlarındaki başlıca çekici etkileşimler Van der Waals ve hidrofobik kuvvetler olup itici etkileşimler ise elektrostatik ve sterik kuvvetlerdir (McClements, 2007).

Koalesans, iki veya daha fazla damlacığın birbirine yaklaşp daha büyük bir damlacık oluşturmak üzere birleştğinde ortaya çıkar. Bu mekanizma flokülasyonda olduğu gibi damlacıklar arasında etki eden çekici kuvvetlerin itme kuvvetlerinden daha ağır bastığında ve damlacıkların temas ettiğinde yağ damlacıklarının etrafındaki ara yüzey tabakaları bozulduğunda ortaya çıkma eğilimindedir (McClements ve Jafari, 2018). Genellikle, krema katmanındaki emülsiyon damlacıklarının birbirine çok yakın olması, birleşme riskini daha fazla arttırmaktadır (Xiao ve diğ, 2016) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Damlacığın koalesansı, yağ ve sıvı fazın tamamen ayrılmasına yol açar (Güngör ve diğ, 2013).

Ostwald olgunlaşması (OR), araya giren sürekli faz boyunca yağ moleküllerinin yayılmasından dolayı zamanla daha büyük damlacıkların büyümesi ve daha küçük damlacıkların büzülmesi ile meydana gelir (Şekil 2.8). Bu işlemin itici kuvveti, bükülme etkilerinden dolayı daha büyük damlacıklara kıyasla daha küçük damlacıkların çevresindeki yağ moleküllerinin daha yüksek çözünürlüğüdür (McClements ve Jafari, 2018). Ostwald olgunlaşması, çoğu gıda emülsiyonunun, özellikle Y/S emülsiyonları için, fiziksel kararsızlığın göz ardı edilebilir bir nedenidir, çünkü triaçilgliserollerin sudaki çözünürlüğü fazlasıyla düşüktür (Berton Carabin ve Schroen, 2015).



Şekil 2.8: Ostwald olgunlaşma sürecinin şematik diyagramı (McClements, 2007).

2.5 Emülsiyon Üretim Yöntemleri

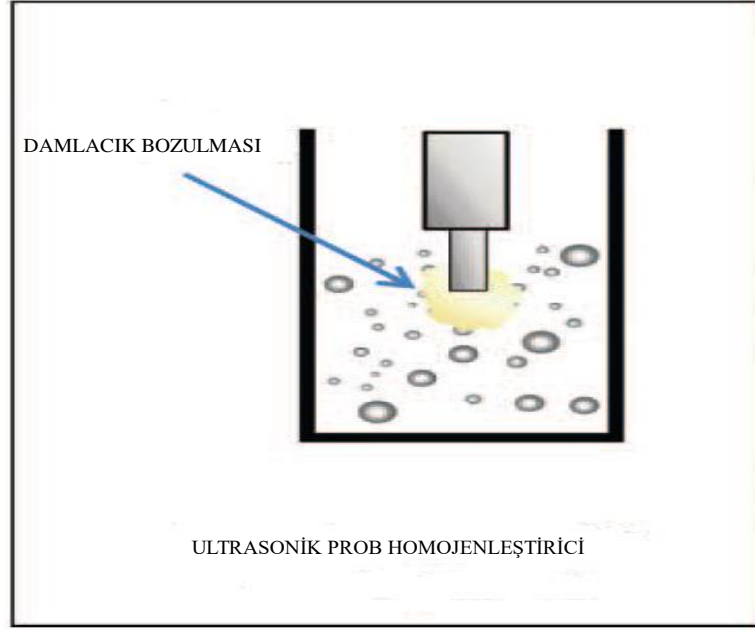
Emülsiyonlar yüksek enerjili ve düşük enerjili yöntemler kullanılarak üretilmektedir. Yüksek enerjili yöntemlerde, mekanik cihazlar gerek duyulan büyük parçalayıcı kuvvetleri sağlamaktadır. Düşük enerjili yöntemlerde ise herhangi bir dış kuvvet gerekmemektedir. Yüksek enerjili yöntemlerde, mikroakışkanlaştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler veya ultrasonik homojenizatörler gibi mekanik cihazlar kullanılmaktadır (Çınar, 2017). Bu çalışmada ultrasonik homojenizatör ve yüksek basınç homojenizatör yöntemleri kullanılmıştır.

2.5.1 Ultrasonikasyon yöntemi

Ultrason, 20 kHz ila 10 MHz frekans aralığındaki ses dalgalarını içeren termal olmayan bir teknolojidir. Üstelik ultrason toksik olmayan, enerji açısından verimli, çevre dostu bir yöntemdir (Silva ve Chandrapala, 2021). Ultrason, sıvı bir ortamdan geçerken sıvının mekanik titreşimine yol açar ve sıvı içinde akustik bir akış oluşturur. Sıvı ortam, normal

koşullar altında olduğu gibi çözünmüş gaz çekirdekleri içeriyorsa bunlar ultrasonun etkisiyle büyüyebilir. Ultrasonik bir alan altında mikro-kabarcıkların büyümesi ve çökmesi olayına akustik kavitasyon denir. Akustik kavitasyon kabarcıklarının çökmesi de adyabatiktir (ısı değişimsizdir) ve kısa bir süre için kabarcıklar içinde çok yüksek sıcaklıklar meydana getirir ve bu aşırı sıcaklık koşulları altında, oldukça reaktif radikaller üretilir (Ashokkumar, 2011).

Sonikatörler, yağ ve su fazlarını çok küçük damlacıklara parçalamada gerekli olan güçlü parçalayıcı kuvvetleri oluşturmak için yüksek yoğunluklu ultrasonik dalgalar kullanırlar. Enerji girişi, alternatif bir elektrik voltajına karşılık olarak genişleyen ve büzülen piezoelektrik kuvars kristalleri içeren sonikatör probları kullanılarak sağlanır. Sonikatör probunun ucu, kavitasyon etkilerine, yani sıvıda küçük kabarcıkların oluşumuna, büyümesine ve çökmesine yol açan yoğun mekanik titreşimler ürettiği homojenize edilen sıvıların içine yerleştirilir. Kavitasyon tarafından oluşturulan mikro kabarcıkların çökmesi, sonikatör probunun yakın çevresinde damlacık parçalanmasına yol açan şiddetli yıkıcı kuvvetleri ortaya çıkarır. Etkili ve eşit dağılımlı homojenizasyon için emülsiyonun damlacık bozulmasının gerçekleştiği alanda yeterli süre bekletilmesi gerekmektedir (McClements ve Rao, 2011) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Ultrasonik Prob Homojenleştirici (McClements ve Rao, 2011).

Gıda endüstrisinde düşük frekanslı ultrason (20–100 kHz) yaygın olarak kullanılmaktadır (Silva ve Chandrapala, 2021). Gıda işlemede ultrasonun iyi bilinen kullanımlarından biri ultrasonik emülsifikasyondur. Emülsifikasyon, biri diğerinin içinde küçük damlacıklar halinde dağılan iki karışmaz sıvıdan (genellikle yağ ve su) oluşan bir yapının üretildiği işlemdir (Chandrapala ve diğ, 2012). Ultrason altında emülsiyonların oluşumu iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada yağ-su emülsiyonlarının emülsifikasyonu sırasında yağ fazı sulu faza dağılır ve sono-türbülans tarafından üretilen mekanik titreşimler tarafından yönlendirilen daha büyük boyutlu damlacıklar oluşturur. İkinci aşamada, yağ-su arayüzeyine yakın ses kabarcıkları tarafından oluşturulan kesme kuvvetlerinin bir sonucu olarak daha fazla damlacık parçalanması gerçekleşir ve son olarak mikron altı emülsiyonlar elde edilir (Silva ve Chandrapala, 2021).

2.5.2 Yüksek basınç homojenizatör

Yüksek basınçlı homojenizasyon, bir akışkan ürünün basınç arttırıcıları tarafından pompalandığı ve genellikle mikrometre derecesinde ölçülen dar bir boşluktan yüksek basınçta akışa zorlanmasıyla ortaya çıkan bir süreçtir (Cristianini, 2017).

Yüksek basınçlı homojenizatör, gıda uygulamalarında küçük damlalar ve dar boyut dağılımları ile emülsiyonlar oluşturmak için kullanılır. Damlaların boyutu ve dağılım genişliği, stabilite, reaktiflik ve ağızda bıraktığı his gibi birçok değişken için önemlidir (Håkansson ve diğ, 2009). Bir polidispers sıvı sisteminin partikül boyutunda azalmayı sağlayan fiziksel sürece homojenizasyon denir ve asıl sonuç ise dar bir boyut aralığındaki daha küçük parçacıkların sayısının artırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda kullanılan en yaygın donanım günümüzde valf teknolojisine dayanmaktadır. Valf teknolojisinde bir akışkan homojenizasyon valfinden geçmeye zorlanır ve ürünün maruz kaldığı mekanik kuvvetler partiküllerin ayrışmasına yol açar. Standartlara uygun homojenizasyon yaklaşık 20-50 MPa basınç seviyelerinde, kimya, biyoteknoloji ve gıda endüstrilerinde sıvı dispersiyonların partikül boyutunu azaltmak ve depolama sırasında faz ayrımını önlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Comuzzo, 2019). Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bu cihaz yağ ve su fazlarından doğrudan emülsiyon üretmekten ziyade önceden oluşturulan kaba emülsiyondaki damlacıkların boyutlarını küçültmede daha etkilidir (McClements, 2011).

2.6 Lipit ve Lipit Oksidasyonu

Lipit oksidasyonu, lipitlerin oksijen aktif türlerle etkileşiminden kaynaklanan karmaşık bir kimyasal değişim dizilişini nitelendirmek için kullanılan genel bir terimdir. Bir gıdada lipit oksidasyonunun belirli mekanizması, var olan reaktif türlerin doğasına ve fizikokimyasal çevrelerine bağlıdır. Lipit oksidasyonu üç farklı aşamaya ayrılabilir: başlangıç, geliştirme ve sonlanma (McClements ve Decker, 2000).

Lipit oksidasyonu, üretilen gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerin genel olarak kalitesini etkileyen karmaşık bir olaydır. Reaksiyon, doymamış lipitlerin bozunmasını kapsar ve kötü tatlar ve aromaların ("acılaşma") oluşumu, besin değerinde bir azalmaya ve toksik reaksiyon ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanır. Yağlı ürünlerin üretimi, depolanması ve kullanımı sırasında lipit oksidasyonundan çeşitli mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kimyasal yollar bakımından, lipit oksidasyonunun enzimatik oksidasyon, fotooksidasyon veya otooksidasyon yoluyla gerçekleşebileceği bilinmekte ve bu da sıcaklık, ışığa maruz kalma, oksijen içeriği, formüle edilen lipitlerin doymama derecesi, pro-oksidan türlerinin varlığı gibi farklı faktörlerle başlatılabilir (Villeneuve ve diğ, 2021).

2.6.1 Oto-oksidasyon mekanizması

Lipitler, karmaşık mekanizmalar yoluyla farklı faktörlerin neden olduğu oksidatif reaksiyonlara karşı kimyasal olarak en kararsız gıda bileşenlerinden biridir. Bu reaksiyonlarda yer alan ana faktörler, lipit yapısının türünü ve çevresini kapsar. Yağ asitlerindeki doymamışlığın derecesi, ışık ve ısıya maruz kalma, moleküler oksijen, pro-oksidan ve antioksidan bileşenlerin varlığı lipitlerin oksidatif stabilitesini etkileyen unsurlardır. Yağ asitlerindeki doymamış grupların artmasıyla lipit oksidasyonu önemli derecede artar. ÇDYA'lar, tekli doymamış yağ asitlerinden daha hızlı oksitlenir. Linoleik asit (C18:2) oksidasyonu, oleik asitten (C18:1) on kat daha hızlı gerçekleşir, bu da linolenik asidin oksidasyonundan (C18:3) 20 ila 30 kat daha yavaş meydana gelmektedir. Bunun başlıca nedeni, hidrojenin bir karbon çift bağından ayırması için gerekli olan enerjinin onu bir metil karbonundan ayırmak için gerek duyulan enerjiden, özellikle de karbon iki çift bağ arasında olduğunda, daha az enerjinin gerekli olmasından kaynaklanmaktadır (Amaral ve diğ, 2018).

Otoksidasyon, kendi kendini programlayan radikal reaksiyonları içeren ve katalitik faaliyete (sıcaklık, pH, metal iyonları ve serbest radikaller) bağlı olan karmaşık kimyasal bir olaydır. Genel olarak oksidasyon mekanizması üç adımda gerçekleşir (Amaral ve diğ, 2018).

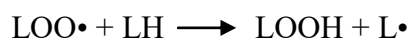
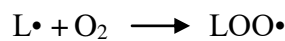
1. Oksijen ve yağ asitleri gibi oksidasyon substratlarının yok olması
2. Oksidasyonun birincil ürünleri olan peroksitlerin ve hidroperoksitlerin oluşumu
3. Aldehitler, alkoller ve diğer uçucu ve uçucu olmayan bileşikler gibi ikincil ürünlerin oluşumu

Otoksidasyon, başlangıç, gelişme ve sonlanma olmak üzere üç aşamada gerçekleşir (Villeneuve ve diğ, 2021).

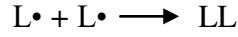
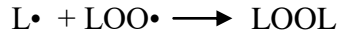
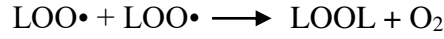
(1) BAŞLANGIÇ - SERBEST RADİKALLERİN OLUŞUMU;



(2) GELİŞME - SERBEST RADİKAL ZİNCİR REAKSİYONLARI;



(3) SONLANMA - RADİKAL OLMAYAN ÜRÜNLERİN OLUŞUMU



Başlangıç adımında, alkil radikali ($\text{L}\bullet$) olarak bilinen bir yağ asidi radikali, bir başlatıcı varlığında bir yağ asidinden bir hidrojenin çıkarılmasıyla oluşturulur ($\text{In}\bullet$) (Denklem (1)). Alkil radikali oluştuğunda, serbest radikal çift bağ sistemi üzerinde hareket alanını arttırmış olabilir ve bu da çift bağ kaymasına ve çoklu doymamış yağ asitleri durumunda konjuge çift bağların oluşumuna neden olur. Gelişmenin ilk adımı, alkil radikalinden daha yüksek bir enerjiye sahip olan peroksil radikalinin ($\text{LOO}\bullet$) oluşmasıyla ortaya çıkan alkil radikaline oksijen ilavesini kapsar (Denklem (2)). Böylelikle oluşan peroksil radikali, başka bir doymamış yağ asidinden hidrojeni alabilir ve bir lipit hidroperoksit (LOOH) ve yeni bir alkil radikali (Denklem (3)) meydana getirebilir. Bu süreç ise iki serbest radikalın radikal olmayan tür oluşturmak için etkileşimi ile sonlanacaktır (Chaiyasit ve diğ, 2007).

2.6.2 Lipit oksidasyonu belirleme yöntemleri

2.6.2.1 Peroksit değeri

Lipit oksidasyonunun birincil ürünleri, genellikle peroksitler olarak adlandırılan hidroperoksitlerdir. Bu yüzden, oksidasyon derecesinin bir ölçüsü olarak peroksit konsantrasyonunun belirlenmesi uygundur (Gray, 1978).

Peroksit içeriğinin belirlenmesi için demir içeren oksidasyon yönteminin kullanımı iyodometriden daha basittir. Bunun temel sebebi iyot çözeltilerinin oksidasyona karşı yüksek duyarlılığı ile karşılaştırıldığında, demir iyonunun havada bulunan oksijen tarafından kendiliğinden oksidasyona karşı daha düşük duyarlılığıdır (Ansorena, 2013). Demir iyonları iyi bir redoks potansiyeline sahiptir ve genellikle lipit oksidasyonunda katalizör görevi görür. Fe(III) -tiyosiyanat yöntemi, duyarlılığı ve basitliği nedeniyle peroksit değerini (PV) belirlemek için geliştirilmiştir. Bu yöntem, hidroperoksitler tarafından asidik bir ortamda Fe(II) 'nin Fe(III) 'e oksidasyonuna dayanır, bu daha sonra tiyosiyanat ile reaksiyona girer. Ortaya çıkan Fe(III) tiyosiyanat kompleksi, 500-510 nm'de güçlü bir absorpsiyona sahiptir (Sagymbek ve Yu, 2021).

2.6.2.2 Tiyoarbitürük (TBARS) metodu

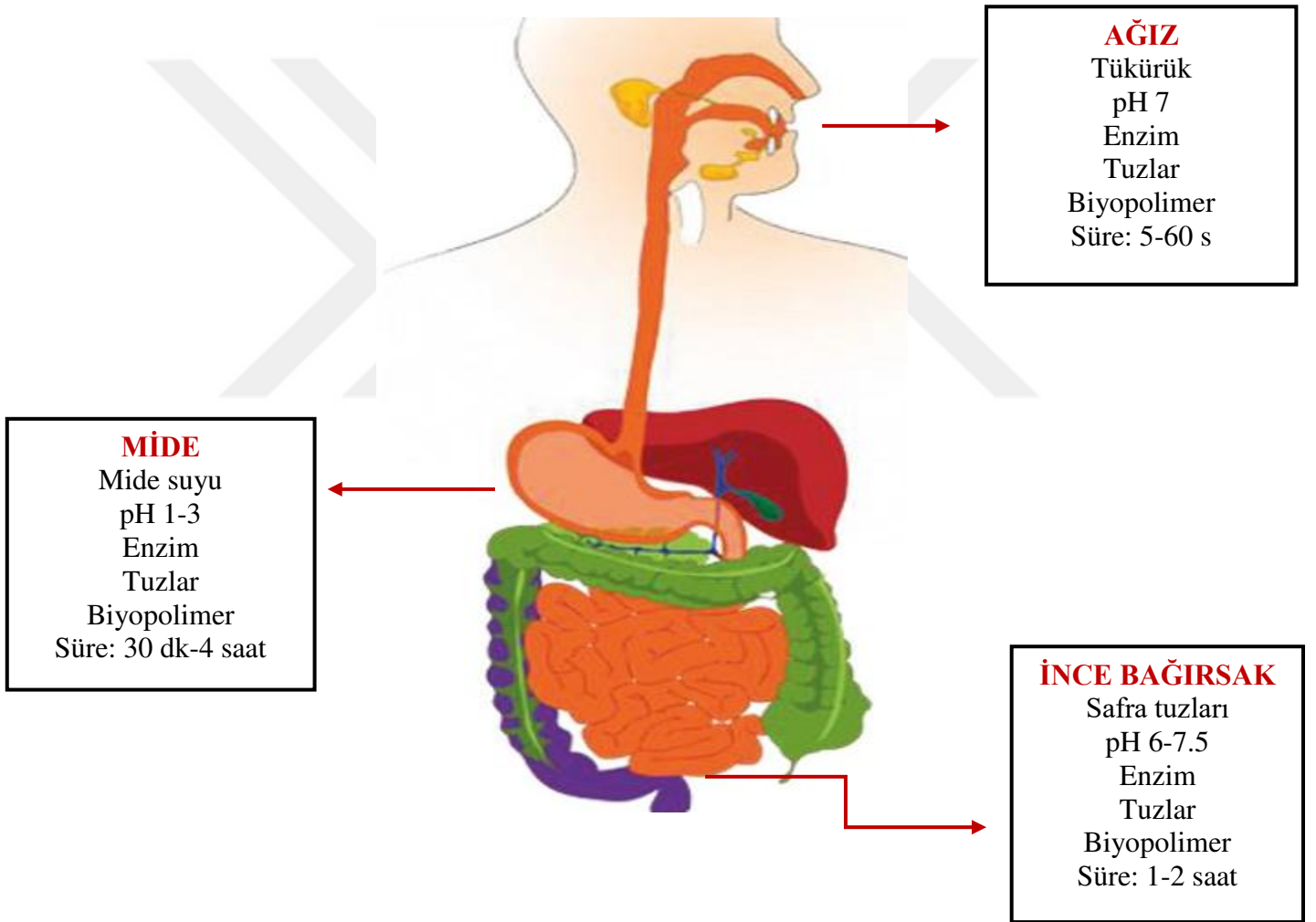
Lipit birincil oksidasyon ürünleri, daha fazla oksidasyon koşullarına maruz bırakılırsa, aldehitler, ketonlar, epoksitler, hidroksi bileşikler, oligomerler ve polimerler dahil ikincil oksidasyon ürünleri oluşabilir. Malondialdehit (MDA), ikincil lipit oksidasyonu sırasında en fazla miktarda üretilen aldehitlerden biridir ve oksidasyon işareti olarak en yaygın kullanılanıdır. MDA'nın belirlenmesi için en yaygın olarak kullanılan yöntem, kırmızı floresan MDA-tiyoarbitürük asit (MDA-TBA) kompleksinin spektrofotometrik tayinidir. Tepkime, 532 nm'de görünür spektrumunda absorbe eden ve kırmızı-pembe bir renk üreten bir birleşik olan MDA-TBA'nin oluşumuna yol açar. MDA haricinde lipit peroksidasyonundan elde edilen diğer moleküller de TBA ile reaksiyona girip 532 nm'de ışığı absorbe edebilir ve ölçülen genel absorpsiyon sinyaline katkıda sağlayabilmektedir (Ansorena, 2013).

2.7 Simüle Edilmiş Sindirim Koşullarında Emülsiyonların Davranışları ve Biyogeçişlilikleri

Sindirim, vücudun enerji, büyüme ve hücre onarımı için adsorbe edebileceği ve kullanabileceği basit yapılara (glikoz, amino asitler, yağ asitleri vb.) parçalama işlemidir. Besinler sindirim sisteminin her bir bölümünde adsorbe edilmeden önce hem mekanik hem de kimyasal sindirime uğramaktadır. Sindirim ağızdan mideye ve mideden ince bağırsağa şeklinde birbirini izleyen bir işlem olup besinlerin ince bağırsağa gelmeden tükürük ve mide sıvıları tarafından kısmen sindirildiği dikkate alınmalıdır (Mao ve Miao, 2015) (Şekil 2.10).

İnsan gastrointestinal (GI) sistemi içinde lipitlerin sindirilebilirliğini anlama ve kontrolünü sağlama konusunda son zamanlarda giderek artan bir ilgi söz konusudur (Li ve diğ, 2011). Yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K) genellikle ince bağırsakta belirli yerlerde ve sindirilmiş diyetel katı ve sıvı yağların sindirim ürünleri ile birlikte emilmektedir. Yağda çözünen vitaminler, vücut dolaşımına bırakılıp daha sonra karaciğerde aktif olan safra tuzları, fosfolipitler ve lipid sindirim ürünlerinden oluşan şilomikronlara dahil edilir. D vitamini, suda zayıf çözünürlüğü ve düşük oral biyoyararlanımından dolayı, biyoerişilebilirliğini artırabilen lipit bazlı dağıtma sistemleri içinde kapsüllenir (Ozturk ve diğ, 2015). Sindirim sırasında emülsiyonlarda gerçekleşen yapısal değişiklikler lipit sindirimini etkileyebilmektedir (Lamothe ve diğ, 2020). Lipit

sindirimini doğru bir şekilde simüle eden işe yarar *in vitro* modeller geliştirmek için emülsifiye edilmiş bir lipitin insan gastrointestinal (GI) yolundan geçerken meydana gelen temel fizikokimyasal ve fizyolojik işlemlerin anlaşılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Yutma işleminden sonra emülsifiye lipidler ağız, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsaktan geçerken sindirilme veya emilme yeteneklerine etki eden bir dizi fiziksel ve kimyasal değişikliklerle karşılaşılır (McClements ve Li, 2010).



Şekil 2.10: Emülsiyon yapılarında önemli değişikliklere neden olabilen insan gastrointestinal yolundaki fizyolojik koşulların şematik gösterimi (Brodkorb ve diğ, 2019; Mao ve Miao, 2015).

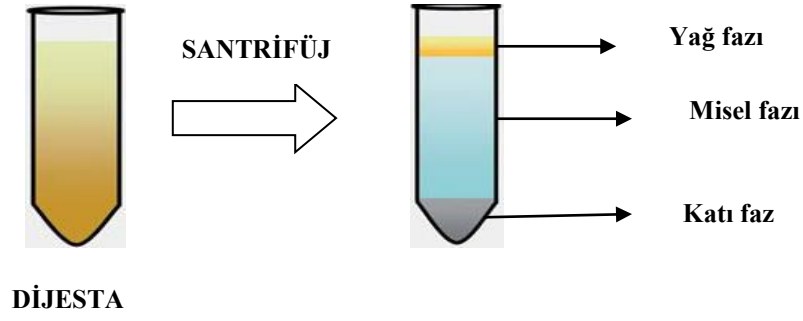
Biyoyararlanım sindirilen besin veya bileşiğin vücut sisteminde dolaşıma ulaşan ve kullanılan fraksiyonu olarak tanımlanabilir (Wood, 2005). Genel olarak, biyoyararlanım gastrointestinal sindirimi, absorpsiyon, metabolizma, doku dağılımı ve biyoaktiviteyi içine almaktadır. Biyoyararlanım bakımından bir iddiada bulunulduğunda, analiz edilen bileşenin etkili bir biçimde sindirildiği ve özümsemiği emildikten sonra insan sağlığı üzerinde olumlu bir etki ortaya koyduğu gösterilmelidir (Carbonell Capella ve diğ, 2014).

Lipofilik biyoaktif maddeleri kapsüllemek, muhafaza etmek ve salıvermek için lipit bazlı dağıtım sistemleri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda emülsiyonlar, hem suda dağılıbilirliği hem de oral biyoyararlanımı artırmak üzere tasarlanabildikleri için, yağda çözünen biyoaktif maddelerin (A, D, E ve K vitamini gibi) dağıtımında önemli bir yere sahip olmuşlardır (Ozturk ve diğ, 2015). Lipofilik bileşenler için biyoyararlanım (F) şu şekilde tanımlanabilir:

$$F = F_B \times F_T \times F_M$$

Burada F_B , gıda matrisinden sindirim sisteminin özsularına salınan lipofilik bileşenlerin biyoerişilebilirlik katsayısı; F_T bağırsak epitelyumu boyunca taşınan lipofilik bileşenlerin taşıma katsayısı; F_M ise metabolize olmadan sistemik dolaşıma ulaşan lipofilik bileşenlerin fraksiyonu şeklinde ifade edilmektedir (McClements ve Li, 2010).

Sindirim işlemi sırasında lipit damlacıkları içinde kapsüllenmiş biyoaktif lipofilik bileşenlerin salınımını izlemek için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri, üç farklı katmana ayrılan sindirilmiş numuneyi santrifüj etmektir: altta sindirilmeyen katı faz, ortada bir sulu faz ve üstte yağ fazı. Katı faz sindirilmemiş proteinler, diyet lifleri, safra tuzları, serbest yağ asitleri ve mineraller gibi yüksek yoğunluklu çözünmeyen maddeler içerir. Sulu faz safra tuzları, fosfolipitler ve serbest yağ asitleri gibi lipit sindirim ürünleri içeren karışık miseller ve veziküller içermektedir. Yağ fazında ise yağ damlacıkları veya sindirilmemiş yağlar bulunmaktadır (McClements ve Li, 2010) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: Simüle edilmiş ince bağırsak koşullarında sindirimden sonra kalan materyalin santrifüjlenmesinden sonra tipik olarak oluşan üç fazın şematik diyagramı (McClements ve Li, 2010).

2.7.1 Simüle *in vitro* sindirim sistemi prensibi

Simüle *in vitro* sindirimde simüle edilmiş ağız, mide ve ince bağırsak koşulları altında lipit sindiriminin *in vitro* karakterizasyonu için gıda ve ilaç araştırmalarında sık kullanılan analitik bir araçtır (McClements ve Li, 2010). Sindirim, gıdanın ağız, mide ve bağırsak olmak üzere birbirini izleyen üç sindirim aşamasına maruz bırakılmasını kapsamaktadır. Ağız fazı, gıdanın simüle ağız sıvısı ile ağız sıvısı amilazlı veya amilazsız katı veya yarı katı maddeler için gıdanın simüle edilmiş çiğnenmesini kapsar ve bu aşama ağız fazı için pH 7’de gerçekleştirilir. Tüm simüle *in vitro* sindirim sistemine sıvı veya katı her gıda için ağız fazı aşaması dahil edilmelidir. Lipit sindirimi midede insanlarda gastrik lipaz; triağılgliceritler ve diğer bazı esterler üzerindeki etkisiyle başlamakta ve mide lipolizi triağılgliceritlerin genel sindirimine katkı sağlamaktadır (Brodkorb ve diğ, 2019).

İnce bağırsak fazında ise simüle edilmiş ince bağırsak sıvısındaki lipazın lipit sindirimini katalizlediği varsayılır; bu da, her bir trigliserit molekülü için bir monogliserit ve iki serbest yağ asidi oluşumuna yol açar. Lipit sindirimi tarafından üretilen serbest yağ asitlerinin arttıkça artan asitliği önceden ayarlanmış nötralize etmek ve böylece başlangıçtaki önceden ayarlanmış pH değerinde tutmak için sindirim hücrelerine eklenmesi gereken alkali (NaOH) konsantrasyonu ilave edilerek zamana karşı harcanan miktar kaydedilir. pH-stat titrasyon yöntemi, pH'yı etkileyen bir tepkimenin meydana geldiği sistemlerde sabit bir pH'yı sağlamak için seyreltik asidik (HCl) veya alkali çözeltilerin (NaOH) kontrollü ilavesine dayanmaktadır (Ficara ve diğ, 2003).

Bu ilave edilen hacimler, mide ve bağırsak fazları için ihtiyaç duyulan asit ve bazların gerekli hacminin göstergesidir (Brodkorb ve diğ, 2019). pH-stat yönteminin uygulanması benzer deney koşulları altında farklı sistemlere göre nispeten daha basit ve hızlıdır (McClements ve Li, 2010).

3. KAYNAK ÖZETLERİ

Ultrasonla üretilen su içinde ayçiçek yağı emülsiyonlarını stabilize etmek için yapılan bir çalışmada ticari mercimek proteini konsantresi (LPC) ve peynir altı suyu proteini konsantresi (WPC) kullanılmıştır. Yüksek yoğunluklu ultrasonun (HIUS) (0, 300, 600, 900 ve 1200 W) LPC ile stabilize edilmiş emülsiyon özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve LPC kullanmanın dezavantajları ve zorluklarını değerlendirmek amacıyla WPC tarafından stabilize edilen emülsiyonla karşılaştırılmıştır. Hazırlanmış olan emülsiyonların ortalama damlacık çapı, 0 W güçte 5,44 μm 'den 600 W'ta 2,07 μm 'ye kadar damlacıkların çapında önemli bir azalma görülmüştür. Aynı şekilde WPC ile hazırlanan emülsiyonlarda da düşük partikül boyutu sonuçları elde edilmiş ancak LPC diyet lifi içeriği yüksek olduğu için çalışmanın sonunda LPC'nin koloidal sistemleri stabilize etmek için gelecek vaat eden bir bitki proteini olduğu bildirilmiştir (Mekala ve diğ, 2022).

Yapılan bir başka çalışmada farklı ultrason emülsifikasyon koşullarının (20 kHz, 2, 6, 12 veya 18 dakika) orta zincirli trigliseritler (MCT) ve uzun zincirli trigliseritleri (LCT'ler, palm, soya fasulyesi ve kolza yağı) içeren soya fasulyesi protein izolatı stabilize edilmiş emülsiyonların fizikokimyasal özellikleri araştırılmıştır. MCT emülsiyonlarının, 18 dakika boyunca ultrason emülsifikasyondan sonra en düşük damlacık boyutuna sahip olduğu bulunmuş ve bu durum MCT'lerin düşük moleküler ağırlığı ve yüksek suda çözünürlüğünden kaynaklandığı bildirilmiştir (Taha ve diğ, 2018).

Üç tür baklagil proteini (mercimek, bezelye ve bakla) ile stabilize edilmiş balık yağı emülsiyonları ile yapılan bir çalışmada yüksek basınçlı bir mikro-akışkanlaştırıcı kullanılarak üretilen emülsiyonlar peynir altı suyu proteinleri kullanılarak üretilenlerle karşılaştırılmıştır. Birincil (peroksitler) ve ikincil (TBARS) lipid oksidasyon ürünlerinin oluşumu, emülsiyonlar 37°C'de hızlandırılmış (+100 μM demir sülfat) veya hızlandırılmamış (ilave demir yok) koşullar altında sırasıyla 21 veya 33 gün depolanarak belirli günlerde ölçümleri yapılmıştır. İncelenen tüm sistemlerde, sulu fazda adsorbe edilmemiş proteinlerin varlığı lipid oksidasyon hızını etkileyen en önemli faktör olarak

görülmüştür. Adsorplanmamış proteinlerin yıkama yoluyla emülsiyonlardan uzaklaştırılması geçiş metallerinin adsorbe edilen proteinlere bağlanmasına dayandırılarak daha hızlı lipid oksidasyonuna yol açtığı belirtilmiştir. Genel olarak bu çalışma, su içinde yağ emülsiyonlarının emülgatör olarak baklagil proteinleri kullanılarak üretilebileceğini ve oksidatif stabilitelerinin bezelye ve bakla proteinlerinde, yıkanmış sistemlerde genellikle kullanılan bir hayvan proteini olan peynir altı suyu proteini kullanılarak üretilen emülsiyonlardan daha iyi olabileceği sonucuna varılmıştır (Gumus ve diğ, 2017b).

Schoener ve arkadaşlarının (2019) yaptıkları bir çalışmada vitamin takviyeli emülsiyonların üretimi için taşıyıcı yağ türünde mısır, balık veya keten tohumu yağı ve emülgatör olarak son zamanlarda bitki esaslı emülgatörlere artan ilgi nedeniyle bezelye proteini kullanılan bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmanın devamında keten tohumu yağı baz alınarak pH'nın zeta potansiyeli (ζ), ortalama damlacık çapı ve fiziksel stabilite üzerine etkisi incelenmiştir. Bezelye proteini kaplı damlacıkların ζ potansiyeli, düşük pH'da katyonik iken yüksek pH'da anyonik sonuçlar elde edilmiştir. Emülsiyonların partikül boyutu, yüksek asidik koşullar pH 2 ve bazik koşullar pH 7 ila 9 da diğer pH'lara göre düşük sonuçlar kaydedilmiş ancak protein kaplı damlacıkların izoelektrik noktasına yani pI'sının pH 4 ila 5 arasında olduğu pH'larda kısmen yüksek sonuçlar elde edilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada çeşitli gıda ürünlerinde D vitamininin stabilitesini geliştirmek için bezelye proteini nanoemülsiyonunun (PPN) kullanımını araştırmıştır. Birkaç gıda formülasyonlarının (yağsız inek sütü, konserve portakal suyu, portakal suyu tozu, muz sütü ve bebek maması) vitamin D-PPN ile güçlendirilmesi incelenmiş ve renk, viskozite, nem içeriği, kimyasal bileşim, D vitamini stabilitesi, antioksidan aktivite ve morfoloji açısından işlenmemiş ham bezelye proteini (UPP) ile karşılaştırılmıştır. Protein nanoemülsiyonunun D vitamini takviyesi için çok iyi bir aday olduğu görülmüş ve PPN'nin fizikokimyasal özellikleri, UPP'ye göre daha yüksek su tutma kapasitesi, daha yüksek köpürme kabiliyeti, daha iyi emülsiyon özelliği, daha az renk değişimi ve daha yüksek antioksidan aktiviteler dahil olmak üzere birçok avantajı olduğu sonucuna varılmıştır. Gıda ürünlerinde PPN ve D vitamini kullanımı renk, viskozite, kimyasal bileşim veya antioksidan aktivite gibi unsurlarında bir sonuç elde edilmemiş ancak D vitaminini içeriğini başarılı bir şekilde artırmış ve onu UV bozulmasına karşı muhafaza ettiği bildirilmiştir (Akkam ve diğ, 2021).

Zhang ve arkadaşlarının (2020) yaptıkları bir çalışmada bileşimi ağırlıkça %20 ayçiçek yağı ve %0,05-1,0 protein olan pickering emülsiyonları oluşturmak için bitki proteini bazlı mikrojel partikülleri tasarlanmıştır. Pickering Y/S emülsiyon damlacıklarının özelliklerini anlamak için, sulu fazdaki bezelye proteini mikrojel (PPM) dispersiyonlarının kolloidal davranışı ilk olarak farklı pH değerlerinde (pH 2 ila pH 9) incelenmiştir. Bezelye proteini mikrojelinin sulu dispersiyonu, pH 7 ila pH 9'da 200 ila 400 nm arasında değişen hidrodinamik çaplara ve yüksek negatif yüklere (-30 ila -35 mV) sahip olduğu ve pI'nın pH 5'te olduğu gözlemlenmiştir. En küçük damlacık boyutu ise 25 µm ile PPM'nin yüksek adsorpsiyon verimliliği pH 7'de sergilediği görülmüştür.

Gıda endüstrisinin birçok sektörü, daha doğal, çevre dostu ve sürdürülebilir ürünler meydana getirmek için sentetik veya hayvan esaslı bileşenlerin bitki esaslı alternatiflerle değiştirmekle ilgilenmektedir. Bunlarla alakalı yapılan bir çalışmada, bakla, bezelye ve mercimek proteini konsantrelerinin, omega-3 yağ asitleri ile takviye edilmiş su içinde yağ emülsiyonlarında doğal emülgatörler olarak potansiyel kullanımları araştırılmıştır. Emülgatör türünün emülsiyonların oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkisi, farklı tuz konsantrasyonları altında damlacık özelliklerindeki (boyut ve yük) değişikliklerin ölçümü yapılmıştır. Tüm protein konsantreleri için, artan tuz konsantrasyonu ile ζ-potansiyelinin büyüklüğünde bir azalma meydana gelmiştir. 100 ve 200 mM NaCl'de bakla emülsiyonlarında ve 100 mM'de bezelye protein emülsiyonlarında partikül boyutunda bir artış ve yoğun kremalaşma görülmüştür. Mercimek proteininde ise diğer proteinlerin aksine partikül boyutunda bir artış ve kremalaşma gözlemlenmemiştir (Gumus ve diğ, 2017a).

Yapılan bir başka çalışmada nohut (CPI) ve mercimek (LPI) proteini izolatu ile stabilize edilmiş emülsiyonların damlacık boyutu ve damlacık yükü değerlendirilmiştir. Damlacıkların zeta potansiyeli pH 3'te (>+30 mV) pozitif, izoelektrik noktada sıfır, pH yükseldikçe negatif değerler görülmüş ve pH 9,7'de maksimum 53,3 mV'a değerine ulaşmıştır. CPI ve LPI ile stabilize edilmiş emülsiyonların izoelektrik noktaları sırasıyla 4,49 ve 4,56 olduğu bildirilmiştir. Hem CPI hem de LPI ile stabilize edilmiş emülsiyonların hacim-yüzey ortalama çapları için pH 5,5'te 1,3-24,1 µm'ye kıyasla pH 3 ve 8'de 1,2 -9,5 µm'lik daha küçük damlacık boyutu dağılımları gözlenmiş ve bu bulgular, CPI ve LPI'nin, pH 3 ve 8'de net bir yüke sahip oldukları ve izoelektrik noktalarından önemli ölçüde uzaklaştırılan pH değerlerinde daha fazla çözünür hale geldikleri için pH 5,5'e göre daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Can Karaca ve diğ, 2011).

Simüle edilmiş bir gastrointestinal model kullanarak taşıyıcı yağ tipinin E vitamininin biyoerişilebilirliği ve moleküler formu üzerindeki etkisiyle alakalı bir çalışma yapılmıştır. Taşıyıcı yağlar olarak uzun zincirli trigliseritler (LCT) ve orta zincirli trigliseritler (MCT) kullanılmıştır. MCT ile oluşturulan emülsiyonlarda lipit sindirim hızının, oluşan serbest yağ asitlerinin suda dağılıbilirliğindeki farklılıklara dayandırılarak LCT emülsiyonlarından daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Sindirimden sonra vitamin E'nin toplam biyoerişilebilirliğinde ise tam tersi bir sonuç LCT'nin MCT emülsiyonlarından daha yüksek olduğu görülmüş ve bu da uzun zincirli yağ asitlerinden oluşturulan karışık misellerin daha yüksek çözünürlük kapasitesi olduğuna dayandırılmıştır (Yang ve McClements, 2013).

Bir başka çalışmada vitamin takviyeli nanoemülsiyonların üretiminde taşıyıcı yağ tipinin (mısır, balık veya keten tohumu yağı) simüle edilmiş gastrointestinal davranışı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Mısır yağı nanoemülsiyonları, balık veya keten tohumu yağlarından daha hızlı sindirilmiş ve mısır yağının ince bağırsağın sonunda balık ve keten tohumu yağlarına göre daha büyük bir trigliserit fraksiyonunun sindirildiği bildirilmiştir. Farklı taşıyıcı yağlar için vitamin biyoerişilebilirliği ise mısır yağı > keten tohumu yağı $\approx$ balık yağı şeklinde sonuçlar elde edilmiş ve bu sonuçlar, tekli doymamış yağ asitleri bakımından zengin yağların (mısır yağı gibi) D₃ vitaminini kapsüllemek için çoklu doymamış zengin yağlardan (keten tohumu veya balık yağı gibi) daha iyi olduğunu göstermiştir (Schoener ve diğ, 2019).

D vitamini kapsülleme işleminde D vitamini takviyeleri için süt ürünü olmayan fonksiyonel gıdaların kullanımını yaygınlaştırmak adına yapılan bir çalışmada bezelye proteini ile stabilize edilmiş emülsiyonlar kullanılmıştır. Protein gibi büyük moleküler yüzey aktif maddeler kullanılarak küçük emülsiyon damlacıkları hazırlamak biraz zor olmasına rağmen bu çalışmada, yüksek basınçlı homojenleştirici kullanılarak 170 ila 350 nm'lik nanoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Nanoemülsiyonlar, 170-350 nm boyutları, -25 mV zeta potansiyeli ile iyi stabilite ve yüksek vitamin kapsülleme verimliliği (%94–96) göstermiştir. Genel olarak, bu araştırma bezelye proteini tarafından stabilize edilen nanoemülsiyonların D vitamini emilimini geliştirme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varmıştır (Walia ve Chen, 2020).

Bezelye (PP), nohut (CP) ve mercimek (LP) proteinlerinin fizikokimyasal ve emülsifiye edici özelliklerine odaklanan başka bir çalışmada, üç protein izolatı da, yüksek derecelerde denatürasyona uğramalarına rağmen iyi çözünürlük ve yüksek termal stabilite dahil olmak üzere benzer fizikokimyasal özellikler sergilemiştir. Emülsifiye etme yeteneği ve stabilitesi ile ilgili olarak, üç protein izolatında da en olumsuz sonuçlar izoelektrik noktalarında görülmüştür ($pI=4,5$). pH değeri pI 'den uzaklaştıkça emülsiyon stabilitesinde önemli sonuçlar elde edilmiştir. Genel olarak bezelye, nohut ve mercimek proteinlerinin gıda emülgatörleri olarak büyük potansiyele sahip olduğu bu çalışma ile gösterilmiştir (Ladjal ettoumi ve diğ, 2015).

Walia ve arkadaşlarının (2017) yaptığı bir çalışmada D vitamini, daha yüksek oral biyoyararlanım için balık yağı içinde kapsüllenmiştir. Su içinde yağ nanoemülsiyonu ultrasonikasyon tekniği kullanılarak hazırlanmıştır (300-450 nm damlacık boyutu aralığında) ve 90 günden fazla raf ömrü sergilemiştir. Yağ fazı olarak balık yağı, yüzey aktif madde ise Tween-20 ve fonksiyonel bileşik olan D Vitamini karışımında sürekli faz olarak su fazı ilave edilmiştir. Analiz için 300-450 nm aralığında parçacık boyutlarına sahip kararlı numuneler seçilip daha yüksek ve daha düşük yağ konsantrasyonu içeren nanoemülsiyonlar için kapsülleme verimliliği sırasıyla %95,7 ve %98,2 olarak hesaplanmıştır. Nanoemülsiyonların, yutulmadan sonra simüle edilmiş ağız ve mide koşullarından geçirilip daha yüksek yağ konsantrasyonuna sahip nanoemülsiyonun vitamin moleküllerinin çoğunu simüle edilmiş gastrik faz altında kapsüllenmiş halde tutarak D vitamininin biyoyararlanımını arttırmada başarılı olduğu bildirilmiştir.

Farklı taşıyıcı yağ türleri ile hazırlanan Y/S nanoemülsiyonları içinde kapsüllenmiş D_3 vitamininin biyoerişilebilirliği üzerindeki etkisi, simüle edilmiş bir gastrointestinal sistem (GIT) modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Lipit sindirimi sırasında serbest yağ asidi salınımında orta zincirli trigliseritler (MCT) > mısır yağı-balık yağı > portakal yağı > mineral yağı şeklinde azalan sonuçlar elde edilmiştir. D_3 vitamininin ölçülen biyoerişilebilirliğinde ise mısır yağı balık yağı > portakal yağı > mineral yağ > MCT yağı sıralamasıyla tam tersi sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar, taşıyıcı yağ tipinin, lipit damlacıklarından biyoaktif maddelerin salınımındaki farklılıklara ve bunların karışık misellerde çözünmelerine dayandırılarak lipit sindirimi ve vitamin biyoerişilebilirliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu şeklinde ifade edilmiştir (Ozturk ve diğ, 2015).

Bir başka çalışmada keten tohumu yağı, nohut (CPI) veya mercimek protein izolatu (LPI) ve maltodekstrin içeren bir duvar materyali matrisi kullanılarak mikrokapsülleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Farklı yağ konsantrasyonlarda (ağırlıkça %5,3–21,0) mikrokapsüllerin hem fizikokimyasal özellikleri hem de mikro yapısı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Emülsiyon yağı konsantrasyonundaki bir artışın, yağ damlacık çapında ve mikrokapsül yüzey yağ içeriğinde bir artışa ve yağ kapsülleme verimliliğinde bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Keten tohumu yağının optimum kapsülleme verimliliği % 83,5 olarak kaydedilmiş ve bu deneysel koşullar kullanılarak oluşturulan mikrokapsüller, oda sıcaklığında 25 günlük bir depolama süresi boyunca serbest yağa ve oksidasyona karşı koruyucu bir etki göstermiştir (Karaca ve diğ, 2013).

Yemeklik yağların sindirilebilirliği ve besleyici değerleri hakkında yapılan araştırmalar sonucunda nanoemülsiyon formunda lipofilik biyoaktifleri kapsüllemek için sentetik yağların doğal yağlarla değiştirilmesine son zamanlarda ilgi artmıştır. Yapılan bir çalışmada amaç gelişmiş stabilite ve biyoerişilebilirlik için maksimum kolekalsiferol konsantrasyonunu (D₃ vitamini) yenilebilir yağa hapseden kararlı nanoemülsiyonlar oluşturmak olmuştur. Ayçiçek yağı, Tween 85 ve izopropanol (1:1) yüzey aktif madde karışımı ile nanoemülsiyonlar oluşturulmuştur. Kolekalsiferol içeren bu nanoemülsiyonların ortalama damlacık boyutu 57,7 ila 158,13 nm arasında ölçülmüştür. Simüle edilmiş bir mide-bağırsak sindirim modeli kullanan biyoerişilebilirlik çalışmalarında kapsüllenmiş vitamin D₃'ün %98'inin salındığı sonuçları elde edilmiş ve bu çalışmanın yenilebilir yağ nanoemülsiyonlarının gelecekteki gelişimi ve fonksiyonel gıdalarda ve besin takviyelerinde kullanımları için çok önemli olduğu belirtilmiştir (Inapurapu ve diğ, 2021).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Materyal

4.1.1 Araştırma materyali

Bu çalışma kapsamında Wellcare markasına ait saf D₃ vitamini temin edilmiş ve analizi yapılana kadar -18°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Analizler için gerekli olan emülsifiyerler; sırasıyla %80 protein içeren bezelye ve %55 protein içeren mercimek proteini konsantreleri (sırasıyla Vitessence Pulse 1803 ve 2550) Ingredion Inc. (Bridgewater, NJ) tarafından sağlanmıştır. Kullanılacak olan yağlar; uzun zincirli yağ asitleri olarak bilinen keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı Malatya ilindeki yerel marketlerden ve orta zincirli trigliserit (MCT) ise WITARIX firmasından (IOI Oleo'dan WITARIX® MCT 60/40) temin edilmiştir.

4.1.2 Kullanılan kimyasallar

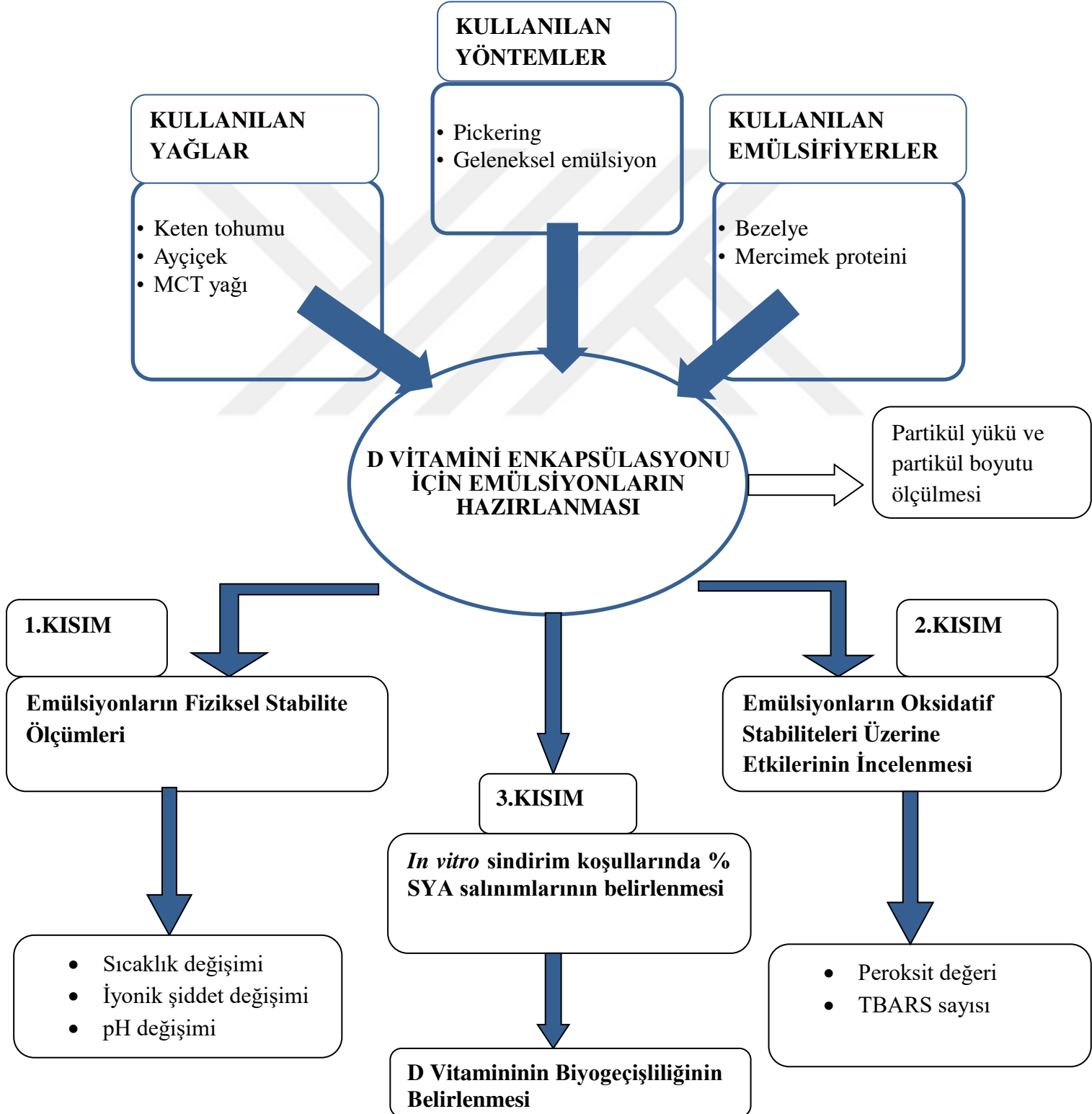
Bu tez çalışmasında kullanılan kloroform, bütanol, metanol, izooktan, izopropil alkol; amonyum tiyosiyanat (NH₄SCN), demir klorür (FeCl₂), TBA (tiyobarbütirik asit), TCA (triklorasetik asit), BHT (bütil hidroksi toluen), hidroklorik asit ve *in-vitro* sindirim analizinde kullanılan müsin (midesel mukozadan), pepsin (midesel mukozadan), pankreatik lipaz (domuz pankreasından) ve safra tuzları ve NaCl Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

4.1.3 Kullanılan cihazlar

Bu tez kapsamında; çoklu manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, Almanya), saf su cihazı (Nüve, ND8, Türkiye), su banyosu (Memmert wtb 24, Almanya), etüv (Ecocell,Munih Almanya), vorteks (Heidolph, İtalya), su banyosu (NB 20 water bath, Nuve, Ankara, Türkiye), hassas terazi (Sunny Hengping Scientific Instrument Co., Ltd., Çin), santrifüj (Thermo Scientific-SL16R, ABD), buz yapma makinesi (Flake buz makinası, ISM-50, Türkiye), soğutmalı santrifüj (Nüve, Türkiye), çoklu manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, Almanya), sonikatör (Soniprep 150-SANYO, Birleşik Krallık), pH metre (Mettler Toledo Five Easy F20, ABD), yüksek devirli parçalayıcı (IKA T18 digital, Staufen, Almanya), yüksek basınç homojenizatörü (ISA-NLM100, Ilshin Autoclave Co., Daejeon, Kore), UV-VIS çift ışın yollu spektrofotometre (UV-1800,

SHIMADZU, Japonya), Konica Minolta Chroma Meter CR-5, MİTSUBİSHİ GT-200 otomatik titratör, çalkalamalı inkübatör (Microtest MCS-120, Türkiye), ultra saf su cihazı (Millipore-Q, ABD), pH stat (Metrohm, Ionenstrasse, Herisau, İsviçre), zeta potansiyel (Zetasizer Nano -ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Birleşik Krallık) ve partikül ölçüm cihazı (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Birleşik Krallık) ve otomatik pipet setleri kullanılmıştır.

4.2 Yöntem



Şekil 4.1: Deney planı.

4.2.1 Emülsiyon hazırlama

Bu çalışmada su içinde yağ (Y/S) geleneksel emülsiyonları hazırlamak için %5 taşıyıcı yağlar (MCT, Ayçiçek yağı (A.Y) ve keten tohumu yağı (KTY)) içinde çözünmüş %0,01 D vitamini ve %0,5 sürfaktan (bezelye proteini (B.P) ve mercimek proteini (M.P)) içeren pH 7'deki 10 mM fosfat tamponu ile karıştırılmıştır. Emülgatörler 30 mL tampon ile oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra bir gece buzdolabında bekletilmiş ve analiz öncesinde çıkarılan emülgatörler oda sıcaklığına gelene tekrar karıştırılmıştır. Analizde kullanılacak olan D vitamini ise yağ fazı ile birlikte 4°C de 24 saat boyunca karıştırılmış ve daha sonrasında emülgatör çözeltisi ve tampon ilave edilerek yüksek hızlı karıştırıcı (IKA T18 digital, Staufen) da 10000 rpm'de 2 dk boyunca homojenize edilmiş ve böylece ön emülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ön emülsiyonlar 6-8 dk arasında sonikasyona (Soniprep 150-SANYO) tabi tutularak son emülsiyonlar elde edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan diğer bir yöntem olan pickering emülsiyonlarda ise kullanılacak protein-tampon karışımları % protein oranlarına göre eklenilmesi gereken protein miktarları hesaplanarak (%18,75 bezelye proteini ve %81,25 tampon, %22,73 mercimek proteini ve % 77,27 tampon) bir gün öncesinden karıştırılıp buzdolabında bekletilmiştir. Protein jeli elde etmek için bir önceki gün karıştırılan proteinler önceden 90°C'ye getirilen sıcak su banyosunda (Memmert wtb 24) 60 dk bekletilmiş ve daha sonra buz banyosunda (Flake buz makinası, ISM-50) bekletilerek jel halini almışlardır. Şekil 4.2'de buz banyosundan çıkarılan jel haline gelen emülgatörler gösterilmiştir. Jel haline gelen emülgatörler (%10 protein jeli ve %30 tampon) tampon ile karıştırılıp yüksek hızlı homojenizatörde 10000 rpm'de 3'er dk boyunca homojenize edilmiştir. Daha sonra yüksek basınçlı homojenizatörde (ISA-NLM100, Ilshin Autoclave Co.) 3 defa geçirilerek boyutları küçülmüş ve emülsiyon hazırlamak için kullanılır hale gelmiştir.



Şekil 4.2: Bezelye (solda) ve mercimek (sağda) proteini jel görünüşleri.

Geleneksel emülsiyon yönteminde olduğu gibi D vitamini içeren yağ fazı ile aynı şekilde hazırlanmış ve jel dispersiyonu ile karıştırılarak emülgatör D vitamini-yağ karışımı ve tampon bir beherde bir araya getirilmiş ve daha sonra yüksek hızlı karıştırıcıda (IKA T18 digital, Staufen) 10000 rpm’de 2’şer dk boyunca homojenize edilmiş ve böylece ön emülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ön emülsiyonlar buz banyosunda (Flake buz makinası, ISM-50) bekletilerek 10000 psi basınçta yüksek basınçlı homojenizatörden (ISA-NLM100, Ilshin Autoclave Co) 4 defa geçirilerek son emülsiyon halini almıştır. Bu çalışma kapsamında D vitamini içermeyen emülgatör ve tampon karışımı kontrol örnekleri de kullanılmıştır. Yapılan çalışmaların sonunda 3 farklı yağ, 2 farklı emülgatör ve 2 farklı yöntem kullanılarak toplamda 12 emülsiyon oluşturulmuştur.

4.2.2 Emülsiyonun fiziksel özellikleri

4.2.2.1 Partikül boyutu ve partikül yükü ölçümleri

Oluşturulan emülsiyonların partikül boyutu mastersizer (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern) ve partikül yükü dinamik ışık saçınımlı zetasizer (Zetasizer Nano-ZS) ile pH 7 olan fosfat tamponunda 500 kat seyreltilerek ölçülmüştür. Analiz sonuçları ortalama partikül çapı (d. μ m) ($D_{3,2}$) ve partikül yükü (mV) olarak kaydedilmiştir.

4.2.2.1.1 Termal stabilite

%5 farklı yağ içeren Y/S emülsiyonları 30, 50, 70 ve 90°C’lerde sıcak su banyosunda 30’ar dk sıcaklık uygulamasının ardından 24 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Şekil 4.3’te 24 saat bekleme öncesinde emülsiyon örnekleri gösterilmiştir.

30°C 50°C 70°C 90°C



Şekil 4.3: Farklı sıcaklık değerlerinde ısıtılmış emülsiyon örnekleri.

24 saat bekletilen emülsiyonlar partikül boyutu ölçmek için mastersizer cihazında (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern), partikül yükü (mV) için ise emülsiyonlar pH 7 olan fosfat tamponunda 500 kat seyreltilerek zeta potansiyelleri partikül elektroforez enstrümanı (Zetasizer Nano-ZS) ile ölçülmüştür. Ölçümler, oda sıcaklığında iki kez tekrarlamıştır.

4.2.2.1.2 pH stabilitesi

%5 farklı yağ içeren Y/S emülsiyonlarının farklı pH koşullarında stabilitesinin araştırılması için pH'ları (3, 4, 5, 6, 7 ve 8) 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak ayarlanan emülsiyonlar test tüplerine alınarak 24 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Şekil 4.4'te 24 saat bekleme öncesinde emülsiyon örnekleri gösterilmiştir.

pH 3 4 5 6 7 8



Şekil 4.4: Farklı pH değerlerine ayarlanan emülsiyon örnekleri.

Emülsiyonların partikül boyutunu ölçmek için mastersizer cihazında (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern) ölçüme alınmıştır. Partikül yükü (mV) için emülsiyonlar çalışılan pH'daki fosfat tamponu ile 500 kat seyreltilerek test tüplerine alınıp seyreltilen örnekler zeta (ζ) potansiyeli plastik küvetlerine doldurulmuştur ve ölçümler oda sıcaklığında (25°C) partikül elektroforez enstrümanı (Zetasizer Nano-ZS) ile yapılmıştır. Ölçümler iki kez tekrarlanmıştır.

4.2.2.1.3 İyonik şiddet stabilitesi

Emülsiyon stabilitesine farklı tuz konsantrasyonlarının etkisinin ölçmek için NaCl (100-500 mM) içeren emülsiyonlar hazırlanarak test tüplerine aktarılmıştır. Aktarılan emülsiyonlar 25°C'de 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Farklı yağ ve farklı emülgatör kullanılarak oluşturulan emülsiyonları fosfat tamponu (pH 7) ile 500 kat seyreltilip partikül yükleri (mV) partikül elektroforez enstrümanı (Zetasizer Nano-ZS) ile partikül boyutları ise mastersizer cihazında (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern) ölçümü yapılmıştır. Ölçümler oda sıcaklığında iki kez tekrarlanmıştır. Şekil 4.5'te 24 saat bekleme öncesinde emülsiyon örnekleri gösterilmiştir.

0 100 200 300 400 500 mM



Şekil 4.5: Farklı NaCl konsantrasyonları içeren emülsiyonlar.

4.2.3 Oksidatif stabilite testleri

Bu çalışmada hazırlanan emülsiyonlar 3'er mL alınarak ağzı kapaklı deney tüplerine aktarılıp 32°C'de inkübatörde oksidasyona bırakılmıştır. 32°C'de oksidasyona bırakılan geleneksel emülsiyon ve pickering emülsiyon örneklerinden deneyin başlangıcında (0.

gün) 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 15, 18 ve 21. günlerde örnekler inkübatörden (Ecocell, Münih Almanya) çıkarılarak aynı gün ölçümleri yapılmıştır.

4.2.3.1 Peroksit sayısı

Birincil oksidasyon ürünü olan peroksit değerinde çok küçük değişikliğe gidilerek, Uluata ve arkadaşları (2015) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlenmiştir. Emülsiyon örneklerinden 0,2 mL, 1,5 mL izooktan/2-propanol solüsyonu (3:1, v/v) ile karıştırılıp ve 10 sn vortekslenmiş ve bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Karıştırılmış çözelti 3000 rpm hızda 2 dk santrifüj edildikten sonra üst organik katmandan 0.2 mL alınarak farklı bir cam deney tüpüne aktarılıp 2,8 mL metanol/bütanol çözeltisi (2:1, v/v) üzerine eklenmiştir. Ardından bu karışıma 30 µL demir (Fe_2^+) çözeltisi ilave edilerek 15 sn vortekslenmiştir. Daha sonra bu çözelti 20 dk karanlık ortamda bekletilip absorbansı 510 nm’de UV-visible spektrofotometrede (UV-1800, SHIMADZU) ölçülerek sonuçlar kaydedilmiştir.

Fe_2^+ çözeltisi; 0,144 M FeSO_4 saf su içinde çözündürülmesi ile oluşan çözeltiden ve 0,132 M BaCl_2 çözeltisinden aynı miktarlarda alınıp santrifüj edilmiş ve oluşan karışımın üst fazı ile NH_4SCN çözeltisinden aynı miktarda alınıp karıştırılmış ve bu işlem için gerekli olan karışım her seferinde taze olarak hazırlanmıştır. Hidroperoksit konsantrasyonları, kümen hidroperoksitten hazırlanan standart bir kalibrasyon eğrisi kullanılıp belirlenmiştir.

4.2.3.2 TBARS değeri

İkincil oksidasyon ürünleri Mcdonald ve Hultin (1987)’in geliştirdiği TBARS testinde birkaç değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Analiz için 1 mL örnek ve 2 mL TBA reaktifi 75 g triklorasetik asit (TCA), 1,88 g TBA, 414 g ultra saf su, 8,8 mL HCl (% 37) alınarak etanolde çözündürülmüş %2’lik BHT ile karıştırılıp hazırlanmıştır ve örneğe eklenerek 90°C’ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. Daha sonra sıcak su banyosundan çıkarılan örnekler soğuk su içerisinde 10 dk soğutulmaya bırakılmış ve ardından 3000 rpm’de 5 dk süreyle santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi yapılan örnek tüplerinde biriken sulu fazın absorbansı 532 nm’de TBA çözeltisine karşı okunmuştur.

4.2.4 *In vitro* sindirim testleri

İnsan gastrointestinal sisteminde meydana gelen karmaşık fizyolojik ve fizikokimyasal olayları doğru bir şekilde modellemek için lipid damlacıklarının karşılaştığı çeşitli bağırsak sıvılarının bileşimini, yapısını ve hareketlerini simüle etmek gerekir. Bu çalışmada D vitamini ile karıştırılmış üç farklı yağ (keten tohumu yağı, Ayçiçek yağı ve MCT) kullanılarak hazırlanan emülsiyonlarda yağların sindirimi INFOGEST 2 yöntemi (Brodkorb ve diğ, 2019) modifiye edilerek analizler gerçekleştirilmiştir. Ağız, mide ve ince bağırsak olmak üzere sindirim 3 aşamada gerçekleşmiştir.

4.2.4.1 Ağız fazı

Ağız sindirimi simülasyonunda 20 mL emülsiyonlar, daha önceki çalışmalara göre hazırlanmış 0,6 g müsin içeren 20 mL yapay tükürük solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra karışımın pH'ı 6,8'e ayarlanıp 100 rpm'de sürekli çalkalama ile 37°C'de 10 dk inkübe edilmiştir.

4.2.4.2 Mide fazı

Mide fazında simüle mide sıvısı stok solüsyonu (SGFSS), 2 g NaCl ve 7 mL 12 N HCl 1 L çift damıtılmış su içinde çözündürülmüştür. Ağızdan alınan 20 mL bolus numunesi, 20 mL SGFSS ile 0,064 g pepsin karıştırılarak hazırlanan 20 mL yapay mide sıvısı ile karıştırılıp daha sonra pH 3'e ayarlanarak 100 rpm'de sürekli çalkalama ile 2 saat 37°C'de inkübe edilmiştir.

4.2.4.3 İnce bağırsak fazı

Mide fazından sindirimi tamamlanan örneklerden 30 mL alınarak temiz bir beher içinde 37°C'de 10 dk su banyosuna bırakılmış ve 10 dk'dan sonra çıkarılan örneklerin pH'sı, 1 M NaOH ile 7'ye ayarlanmıştır. Numuneye tampon çözeltisi içinde çözülmüş 3,5 mL safra tuzu ve 2,5 mL lipaz enzimi ilave edilmiştir. pH-stat cihazı inkübasyon süresi boyunca numunenin pH'sını 7'de tutmak için harcanılan NaOH çözeltisinin hacmi kaydedilmiştir.

Serbest yağ asidi (SYA) salınımı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%SYA = 100 \times \frac{V_{NaOH} \times M_{NaOH} \times m_{NaOH} \times m_{yağ}}{w_{lipit} \times 2}$$

%SYA = Serbest Yağ Asidi (%)

V_{NaOH} = Harcanan NaOH miktarı (L).

M_{NaOH} = NaOH çözeltisinin molaritesi.

m_{yağ} = Kullanılan yağın Molekül ağırlığı

w_{yağ} = Sindirim sisteminde mevcut yağın ağırlığı (gram)

4.2.4.4 Biyogeçişlilik oranının belirlenmesi

Simüle edilmiş ince bağırsak fazı sonucunda elde edilen dijest örneklerinden 30 mL alınarak 25°C’de 4000 rpm’de 40 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen misel fazından bulunan D vitamini miktarı belirlenmiştir. Daha sonra D vitaminini ekstrakte etmek için santrifüj sonrası misel fazından 3 mL ve 3 mL de izooktan-etanol karışımından alınarak cam tüplere aktarılmış ve 20 sn vorteklendikten sonra 1700 rpm’de 12 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj sonunda D vitamininin belirlenmesi için üst fazdan numuneler alınıp 265 nm’de UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak absorbanları okunmuştur.

D vitamininin farklı konsantrasyonları ile hazırlanmış bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak sindirime uğratılmış örneklerdeki D vitamini konsantrasyonları hesaplanmıştır.

$$\text{Biyogeçişlilik(\%)} = \frac{m_{\text{misel}}}{m_{\text{digesta}}} \times 100$$

Yukarıdaki formül kullanılarak D vitamininin biyogeçişlilik oranı hesaplanmıştır. Bu denklemde; m_{misel} = misel fraksiyonundaki D vitamini miktarı, m_{digest} = digestadaki D vitamini miktarını ifade etmektedir.

4.2.5 İstatistiksel analizler

Yapılan bu çalışmada her bir analiz en az 2 kere tekrarlanmış ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 17,0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel önem düzeyleri “One way ANOVA (Analysis of variances - tek yönlü varyans analizi)” testi ve “DUNCAN” post-hoc testiyle belirlenmiştir

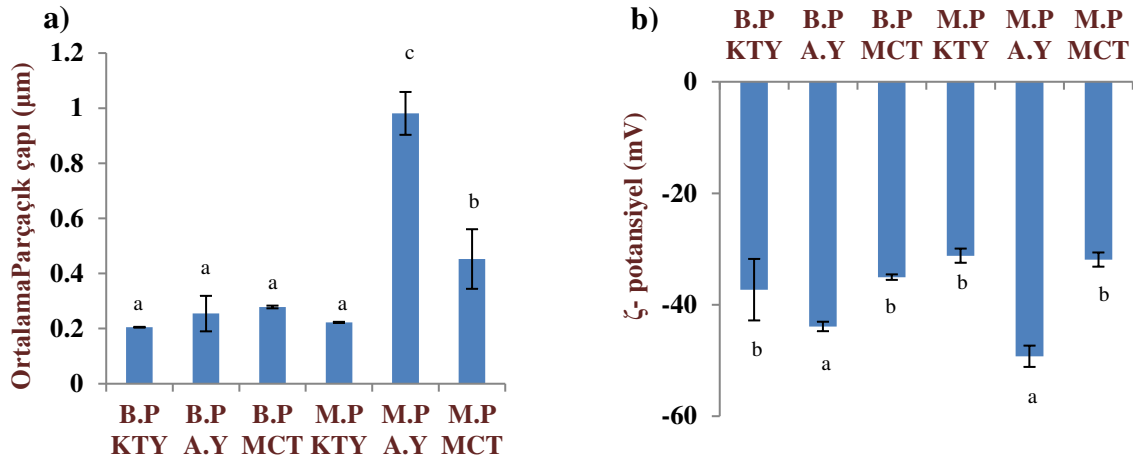
5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1 Fiziksel Stabilité

5.1.1 Partikül boyutu ve partikül yükü

Ultrason ile homojenize edilerek üretilen geleneksel emülsiyonların partikül boyutları sonuçları incelenmiştir. B.P–KTY, B.P–A.Y, B.P–MCT ve M.P–KTY, M.P–A.Y, M.P–MCT emülsiyon örneklerinin sonuçları sırasıyla $0,205\pm0,00\ \mu\text{m}$, $0,255\pm0,06\ \mu\text{m}$, $0,279\pm0,00\ \mu\text{m}$ ve $0,223\pm0,00\ \mu\text{m}$, $0,981\pm0,07\ \mu\text{m}$, $0,453\pm0,10\ \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 5.1a). Sonuçlar incelendiğinde genel olarak bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonların en küçük partikül boyutlarına sahip oldukları gözlemlenmiştir. Gümüş ve arkadaşlarının (2017a) baklagil proteini üzerine yaptıkları çalışmadaki sonuçlar ile karşılaştırılınca bu çalışmadaki bezelye proteinleriyle stabilize edilmiş emülsiyonların partikül sonuçları daha düşük, mercimek proteinleriyle stabilize edilmiş emülsiyonların partikül boyutu daha yüksek çıkmıştır. Bununla birlikte, başka bir çalışmada bezelye proteini stabilize emülsiyonları sürekli olarak yüksek basınçlı bir homojenleştiriciden geçirerek daha küçük damlacıklar üretilebileceği bildirilmiştir (Niroula ve diğ, 2022). Bu çalışmada yapılan bazı çalışmalara kıyasla farklı sonuçlar elde edilmiş ve bu durumu ise kullanılan proteinlerin doğasının, köken veya izolasyondaki farklılıklarından kaynaklandığı şeklinde yorumlamak mümkündür.

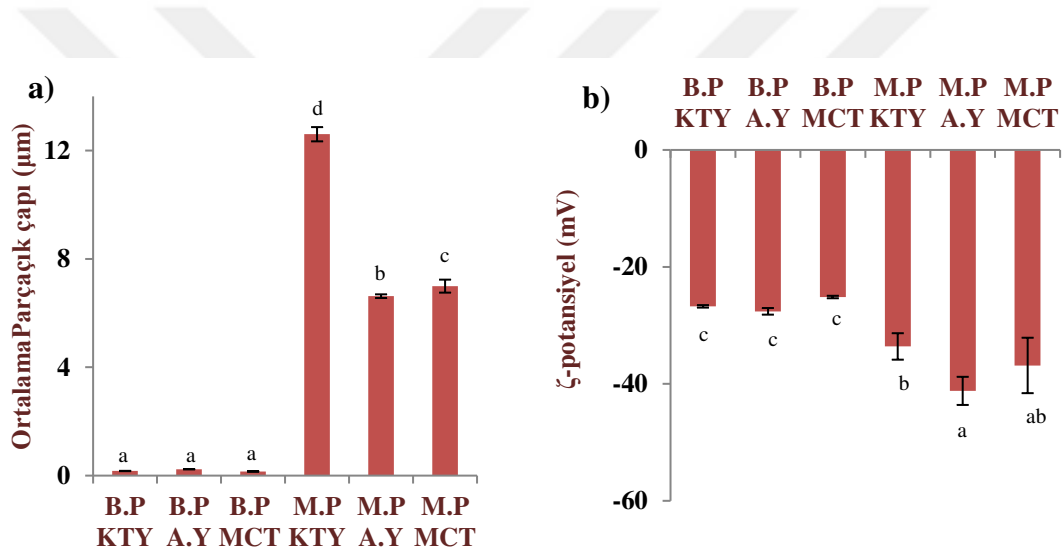
Protein kaplı lipit damlacıkların yüzey potansiyeli (ζ -potansiyel) sonuçları negatif yüklü çıkmıştır. B.P–KTY, B.P–A.Y, B.P–MCT ve M.P–KTY, M.P–A.Y, M.P–MCT emülsiyon örneklerinin ζ -potansiyel sonuçları sırasıyla $-37,3\pm5,51\ \text{mV}$, $-43,9\pm0,84\ \text{mV}$, $-35,05\pm0,49\ \text{mV}$ ve $-31,2\pm1,27\ \text{mV}$, $-49,25\pm1,90\ \text{mV}$, $-31,9\pm1,27\ \text{mV}$ olarak ölçülmüştür. Genel olarak bu çalışmada istisnalar haricinde bezelye proteinin partikül yükü sonuçları daha yüksek çıkmıştır (Şekil 5.1b). Yüksek bir zeta potansiyeli değeri, emülsiyon damlacıkları arasında daha güçlü elektrostatik itme sağlayarak emülsiyon stabilitesinin artmasına yol açmaktadır. Bezelye proteini ile yapılan bir çalışmada protein izolatının partikül boyutu yükü arttıkça bezelye protein emülsiyonlarının damlacık boyutunun azaldığı sonucuna varılmıştır (Burger ve Zhang, 2019). Mercimek proteini ise bezelye proteinine kıyasla genel olarak ζ -potansiyel sonuçları negatif olarak daha düşük çıkmış ve mercimek proteini ile yapılan bir çalışma ile paralel sonuçlar elde edilmiştir (Funke ve diğ, 2022).



Şekil 5.1: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlarla (KTY, A.Y ve MCT) oluşturulan geleneksel emülsiyonların partikül boyutu ve yükü (Küçük harfler (a, b, c) farklı emülgatörler ve farklı yağlar ile üretilen geleneksel emülsiyon örnekleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir ($p < 0,05$); Duncan)).

Yüksek basınçlı homojenizatör ile üretilen pickering emülsiyonların partikül boyutları sonuçları incelenmiştir. B.P–KTY, B.P–A.Y, B.P–MCT ve M.P–KTY, M.P–A.Y, M.P–MCT sonuçları sırasıyla $0,170 \pm 0,00 \mu\text{m}$, $0,234 \pm 0,00 \mu\text{m}$, $0,156 \pm 0,00 \mu\text{m}$ ve $12,6 \pm 0,26 \mu\text{m}$, $6,63 \pm 0,06 \mu\text{m}$, $6,70 \pm 0,23 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 5.2a). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonlarda en küçük partikül yükleri gözlemlenmiştir. Protein kaplı lipid damlacıkların partikül yükü (ζ-potansiyel) sonuçları negatif yüklü çıkmıştır. B.P–KTY, B.P–A.Y, B.P–MCT ve M.P–KTY, M.P–A.Y, M.P–MCT örneklerinin ζ-potansiyel sonuçları sırasıyla $-26,8 \pm 0,21 \text{ mV}$, $-27,6 \pm 0,56 \text{ mV}$, $-25,2 \pm 0,21 \text{ mV}$ ve $-33,6 \pm 2,26 \text{ mV}$, $-41,2 \pm 2,40 \text{ mV}$, $-36,9 \pm 4,73 \text{ mV}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 5.2b). Zhang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada farklı konsantrasyonda bezelye proteini mikrojelleri ile pickering emülsiyonları tasarlayarak en küçük damlacık boyutlarına ($D_{4,3}$) $\sim 25 \mu\text{m}$ sahip, pH 7'de yağ-su arayüzünde bezelye proteini mikrojelinin mükemmel birleşme kararlılığı ve yüksek adsorpsiyon verimliliği sergilediği bildirilmiştir. Bu çalışmanın devamında $-37,3 \pm 3,47$ ile $-40,9 \pm 0,95 \text{ mV}$ arasında değişen ζ-potansiyel değerleri görülmüş ve bu damlacıkların yüksek negatif partikül yüküne sahip olduğunu, dolayısıyla damlacıklara yeterli elektrostatik stabilite sağladığı şeklinde ifade edilmiştir. Küçük partikül boyutunun damlacık ara yüzeyi etrafında yoğun tabaka oluşumuna neden olduğunu ve bu da damlacık birleşmesini etkili bir şekilde önlediği gözlemlenmiştir.

Son zamanlarda bitki proteini bazlı partiküller kullanılarak pickering emülsiyonlarının stabilize edilmesi üzerine yapılan çalışmalarda bir artış söz konusudur. Ancak bezelye proteini konusundaki bezelye proteinlerinin jelleşme özellikleri, ısıtılma işlem görmüş fibriller gibi güçlü araştırmalar göz önüne alındığında, pickering emülsiyon damlacıklarını stabilize etmek amacıyla bezelye proteini bazlı parçacıkların tasarlanmasına nispeten daha az ilgi gösterilmiş ve aynı durum mercimek proteini içinde söz konusudur (Zhang ve diğ., 2020). Her iki yönteme bakacak olursak bezelye proteininde partikül boyutları daha düşük ve mercimek proteininde daha yüksek sonuçlar görülmüştür. Genel olarak geleneksel emülsiyon örneklerinde daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Her iki yöntem arasında partikül boyutu ve partikül yükleri arasında anlamlı bir farklılık görülmüştür.



Şekil 5.2: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlarla (KTY, A.Y ve MCT) oluşturulan pickering emülsiyonların partikül boyutu ve yükü (Küçük harfler (a, b, c) farklı emülgatörler ve farklı yağlar ile üretilen pickering emülsiyon örnekleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir (p<0,05); Duncan)).

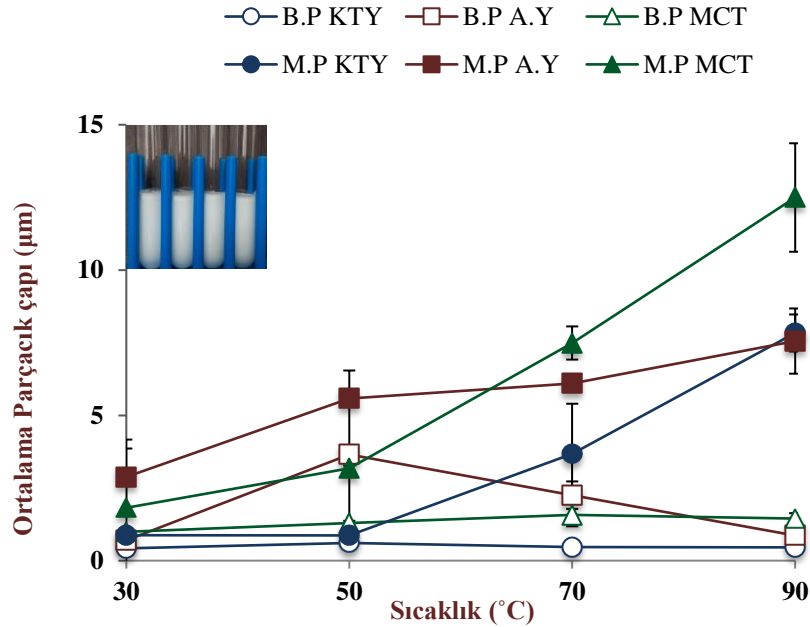
5.1.2 Termal stabilite

Oluşturulan pickering ve geleneksel emülsiyonları 30, 50, 70 ve 90°C’ lerde 30 dk ısıtma işlemine maruz bırakılmıştır. Isıtma işlemi sonucunda 24 saat inkübasyona bırakılan emülsiyonların partikül boyutu sonuçları Şekil 5.3 ve 5.5’te partikül yükleri ise Şekil 5.4 ve 5.6’da gösterilmiştir.

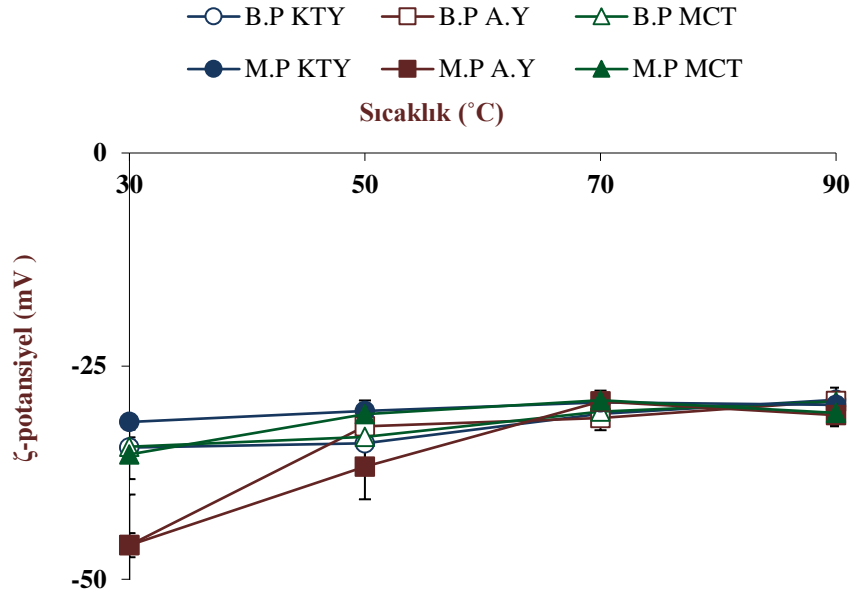
Emülsiyonların ısıtma işlemine maruz bırakılmaları sonucunda adsorpsiyon katmanlarındaki proteinin sülfidril veya polar olmayan gruplarındaki değişikliklerden dolayı emülsiyon stabilitesini etkilemektedir (Taha ve diğ, 2018). Bir emülsiyonda adsorbe edilmiş proteinler termal denatürasyon sıcaklığının üzerinde ise polar olmayan yüzey grupları açığa çıktığından artan hidrofobik çekim nedeniyle topaklanma meydana gelebilmektedir (Ozturk ve Mcclements, 2016). Proteinler kullanılarak yapılan bir çalışmada termal denatürasyon sıcaklıkları bezelye proteini için 80–86°C ve mercimek proteinlerinde ise 80°C olduğu bildirilmiştir (Gumus ve diğ, 2017a). Partikül boyutu sonuçlarında 30°C’den 90°C’ye doğru artan sıcaklıklarda geleneksel emülsiyonlarda $0,42\pm0,03$ ve $12,4\pm1,86$ μm aralığında pickering emülsiyonlarda ise $0,31\pm0,00$ ve $18,8\pm0,66$ μm aralığında bir artış gözlemlenmiştir.

Geleneksel emülsiyonlarda bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutları $0,42\pm0,03$ ve $3,6\pm2,89$ μm aralığında mercimek proteininde ise $0,86\pm0,01$ ve $12,4\pm1,86$ μm aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Pickering emülsiyonda bezelye proteini hazırlanan emülsiyonlarda $0,31\pm0,00$ ve $0,81\pm0,66$ μm aralığında mercimek proteininde ise $6,2\pm2,05$ ve $18,8\pm0,66$ μm aralığında partikül boyutları gözlemlenmiştir. Genel olarak emülsiyon örneklerinde 90°C’de partikül boyutlarında bir artış görülmüş ve bezelye proteininde ise sıcaklık artışı ile partikül boyutunda daha stabil sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 5.3 ve 5.5). Soya proteini ile yapılan bir çalışmada sıcaklık artışıyla emülsiyonlarda topaklanma meydana gelmiş ve bu topaklanma sıcaklığın 95°C’ye çıkarılmasıyla partikül boyutunda daha belirgin bir artış gözlemlenmiştir (Taha ve diğ, 2018). Peynir altı suyu proteini izolatu ile yapılan bir çalışmada ise 65°C’nin üzerindeki emülsiyon damlacıklarının daha yüksek topaklanma seviyesinde olmasını yağ-su arayüzüne adsorbe edilen protein moleküllerinin sıcaklık nedeniyle açılmasına dayandırılmıştır (Chanamai ve Mcclements, 2002).

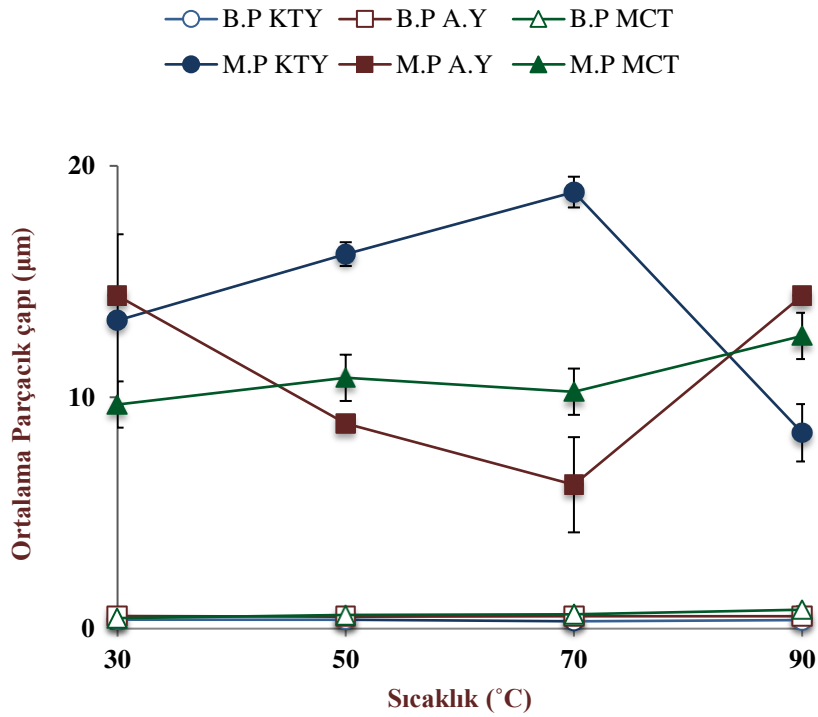
Zeta potansiyeli, protein yüzeyinde bulunan yük miktarını ifade etmek ve protein stabilitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilen önemli bir fiziksel parametredir. Sıcaklık, bir proteinin zeta potansiyelini etkileyen en önemli değişkenlerden biridir. Proteindeki zeta potansiyeli değerindeki değişiklikler protein yapısında topaklanmaya, üç boyutlu yapısal değişikliklere ve proteinin denatürasyonu gibi sonuçlara neden olabilir (Chen ve diğ, 2018). Bu çalışmada geleneksel emülsiyonlarda partikül yüklerinde 30°C ve 50°C sıcaklıklarda $-30,2 \pm 0,49$ ve $-45,9 \pm 5,93$ mV aralığında pickering emülsiyonda ise $-27,1 \pm 1,27$ ve $-37,5 \pm 0,98$ mV aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek sıcaklık olan 70°C ve 90°C de geleneksel emülsiyonlarda $-29,1 \pm 0,49$ ve $-30,7 \pm 1,20$ mV aralığında pickering emülsiyonlarda ise $-25,3 \pm 0,56$ ve $-33,9 \pm 0,49$ mV aralığında sonuçlar elde edilmiş ve düşük sıcaklıklarda negatif yükün büyüklüğü çok daha yüksek çıkmıştır (Şekil 5.4 ve 5.6). Geleneksel emülsiyonlarda bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonların partikül yükleri $-28,9 \pm 0,63$ ve $-45,9 \pm 1,41$ mV aralığında mercimek proteininde ise $-29,0 \pm 1,13$ ve $-46,0 \pm 5,93$ mV aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Pickering emülsiyonda bezelye proteini hazırlanan emülsiyonlarda $-24,8 \pm 0,42$ mV ve $-28,7 \pm 0,07$ mV aralığına mercimek proteininde ise $-29,8 \pm 1,20$ ve $-39,2 \pm 1,48$ mV aralığında partikül yükleri elde edilmiştir. Emülsiyon örneklerinde partikül boyutlarına nazaran partikül yüklerinde daha stabil sonuçlar elde edilmiştir.



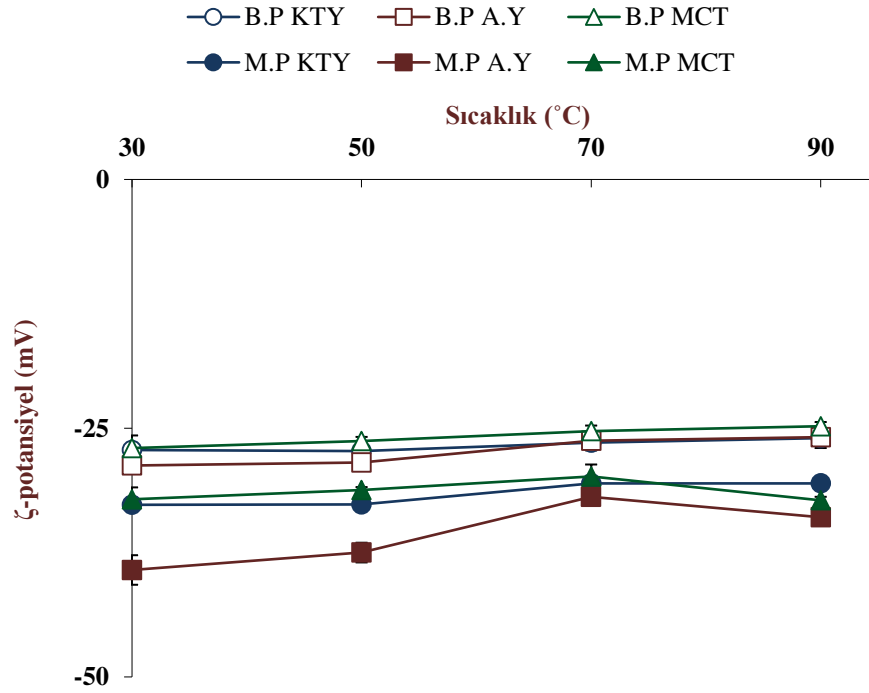
Şekil 5.3: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.



Şekil 5.4: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.



Şekil 5.5: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.



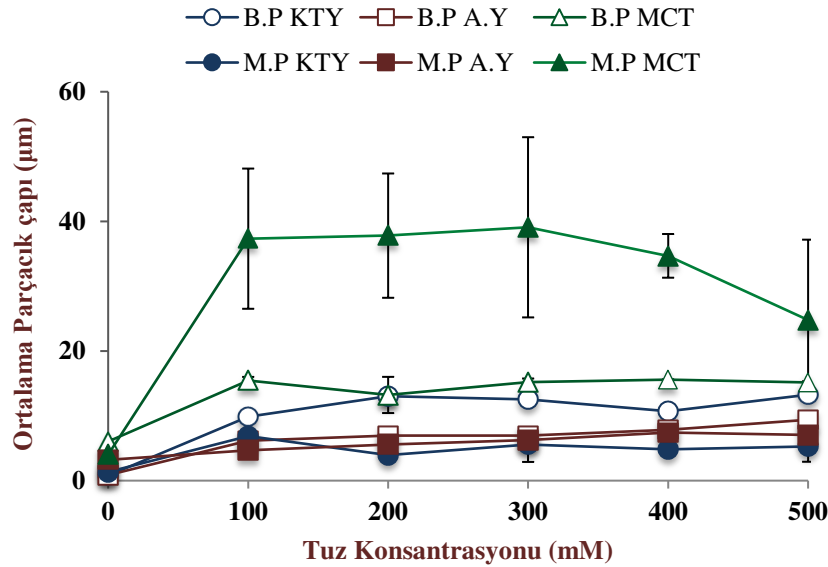
Şekil 5.6: Sıcaklığın farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.

5.1.3 İyonik şiddetin fiziksel stabilite üzerine etkisi

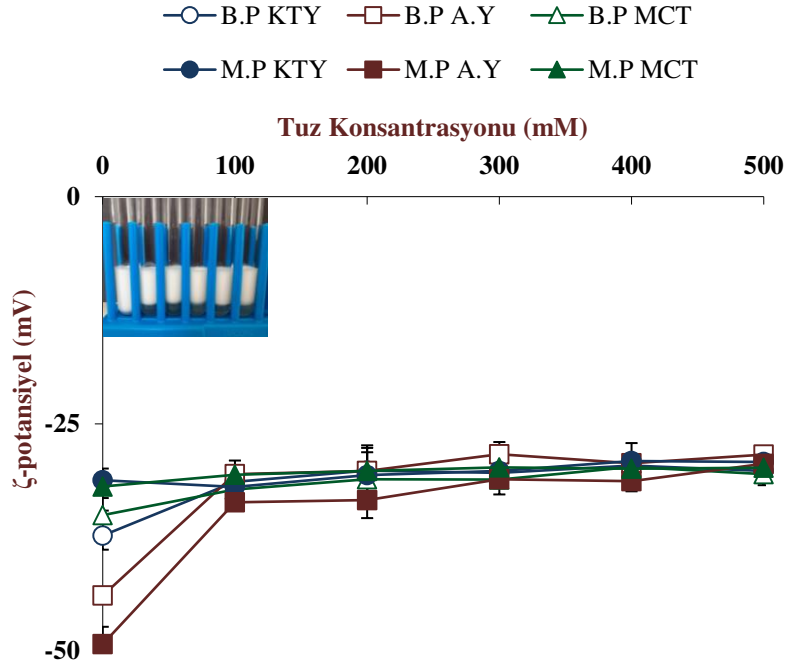
Farklı iki yöntem kullanılarak oluşturulan tüm emülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerinde iyonik gücün etkisi 0 ile 500 mM NaCl ilave edilerek ve 24 saat karanlık ortamda bekletildikten sonra partikül büyüklükleri ve partikül yükleri ölçülerek incelenmiştir. Farklı tuz konsantrasyonunda partikül boyutu incelendiğinde geleneksel emülsiyon örneklerinde 100 mM NaCl ilave edilmesiyle $0,78 \pm 0,20$ μm 'den $37,3 \pm 10,8$ μm 'ye kadar bir artış gözlemlenmiş (Şekil 5.7) ve artan tuz konsantrasyonu ile partikül boyutunda nispeten daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutları $0,78 \pm 0,20$ ve $15,5 \pm 0,04$ μm aralığında mercimek proteininde ise $1,3 \pm 0,04$ ve $39,0 \pm 13,8$ μm aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Genel olarak bezelye proteininin mercimek proteinine kıyasla aralarında çok büyük bir fark olmamakla birlikte bezelye proteini ile hazırlanan emülsiyonların partikül boyutu daha yüksek çıkmıştır. Peynir altı suyu proteini kullanılarak yapılan bir çalışmada artan tuz konsantrasyonu ile partikül boyutlarında kısmen bir artış gözlemlenmiştir. Bu emülsiyonlarda 100 mM NaCl üzerindeki tuz konsantrasyonlarında damlacık topaklanmasına karşı oldukça kararsız

olduğu görülmüş ve bu durum esasen elektrostatik itme ile stabilize oldukları gerçeğine dayandırılmıştır (Ozturk ve Mcclements, 2016).

Emülsiyon oluşturmada kullanılan MCT yağında diğer kullanılan yağlara nazaran çok yüksek sonuçlar elde edilmiş ve bu durum ise MCT yağı kullanılarak oluşturulan emülsiyonların tuza karşı daha hassas olmasından ve bu da daha düşük yüzey yüküne bağlı olabilmesinden kaynaklanmaktadır (Taha ve diğ., 2018). Farklı tuz konsantrasyonlarının partikül yüküne etkileri incelendiğinde 100 mM NaCl ilavesi ile ζ -potansiyelinin büyüklüğünde $-49,2 \pm 1,90$ mV'den $-30,5 \pm 0,35$ mV'ye doğru bir azalma ve artan tuz konsantrasyonu ile partikül yükünde kısmen bir düşüş gözlemlenmiştir (Şekil 5.8). Bezelye proteini ile stabilize edilen emülsiyonların partikül yükleri $-30,1 \pm 0,63$ ve $-43,9 \pm 0,84$ mV aralığında mercimek proteininde ise $-29,1 \pm 1,97$ ve $-49,2 \pm 1,90$ mV aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum ise elektrostatik perdelemeye, yani negatif yüklü damlacık yüzeyleri etrafında öncelikli olarak karşı iyon (Na^+) birikimine dayandırılmıştır (Ozturk ve Mcclements, 2016; Gumus ve diğ., 2017a). Farklı tuz konsantrasyonlarında emülsiyon stabilitesinin genel olarak değişmemesi bitki bazlı emülgatörlerin kullanılmasının farklı gıda sistemlerinde iyi bir tercih olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.7: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.

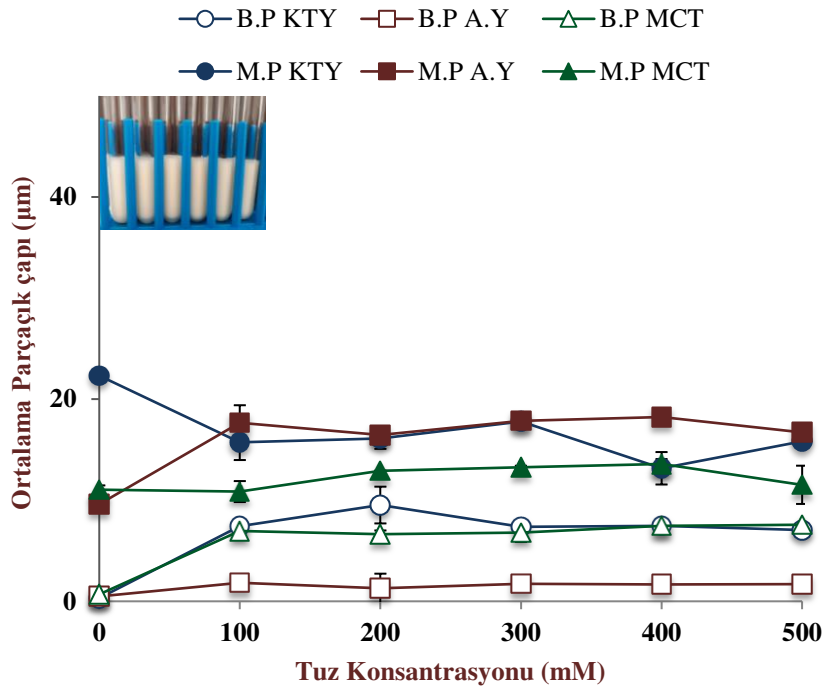


Şekil 5.8: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.

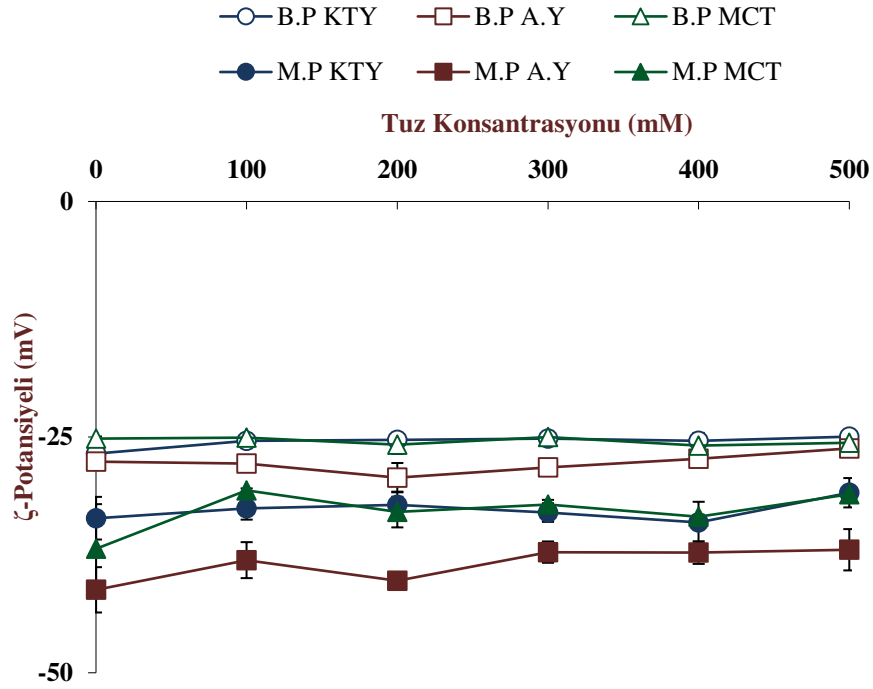
Bir diğer yöntem olan pickering emülsiyonda aynı şekilde farklı tuz konsantrasyonlarında gerçekleştirilen partikül boyutu ve partikül yükü incelenmiştir. Emülsiyonların partikül boyutları incelendiğinde 100 mM NaCl ilave edilmesiyle $0,31 \pm 0,01 \mu\text{m}$ 'den $17,6 \pm 1,72 \mu\text{m}$ 'ye kadar bir artış gözlemlenmiş ve daha sonra artan tuz konsantrasyonu ile partikül boyutunda dikkate değer bir artış görülmemiştir (Şekil 5.9). Bezelye proteini ile hazırlanan emülsiyonlarda $0,31 \pm 0,01$ ve $9,5 \pm 1,81 \mu\text{m}$ aralığına mercimek proteininde ise $9,06 \pm 0,04$ ve $22,3 \pm 0,72 \mu\text{m}$ aralığında partikül boyutları ölçülmüştür. Genel olarak farklı tuz konsantrasyonlarında kullanılan iki protein içinden bezelye proteininde daha küçük partikül boyutları gözlemlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada elde edilen sonuçlar ile bulduğumuz sonuçlarda bir paralellik görülmüş ve artan tuz konsantrasyonu ile partikül boyutunda belirgin bir değişiklik görülmediği bildirilmiştir (Joshi ve diğ., 2012).

İyonik şiddetin partikül yüküne olan etkisi incelendiğinde emülsiyonlara 100 mM konsantrasyonundaki NaCl ilavesiyle genel olarak partikül yükünde $-41,2 \pm 2,40 \text{ mV}$ 'den $-25,05 \pm 0,07 \text{ mV}$ 'ye doğru bir düşüş ve daha sonra NaCl ilavesiyle partikül yükünde ufak çaplı değişiklikler görülmüştür (Şekil 5.10). Pickering emülsiyonda bezelye proteini

hazırlanan emülsiyonlarda $-24,9 \pm 0,49$ mV ve $-29,3 \pm 1,55$ mV aralığına mercimek proteininde ise $-30,6 \pm 0,21$ mV ve $-41,2 \pm 2,40$ mV aralığında partikül yükleri elde edilmiştir. Bezelye proteini ile yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş (Zhang ve diğ, 2020) ve bu sonuçlar ise yüksek iyonik kuvvet, daha çok disülfid bağına, daha güçlü hidrofobik etkileşimlere, daha güçsüz hidrojen bağlarına ve elektrostatik etkileşimlere katkı sağladığı, çekici kuvvetleri güçlendirdiği ve itici kuvvetleri ise zayıflattığı şeklinde yorumlanmıştır (Ziye ve diğ, 2015). Pickering yöntemi ile hazırlanan örneklerde geleneksel emülsiyonlara kıyasla daha stabil sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 5.9: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.



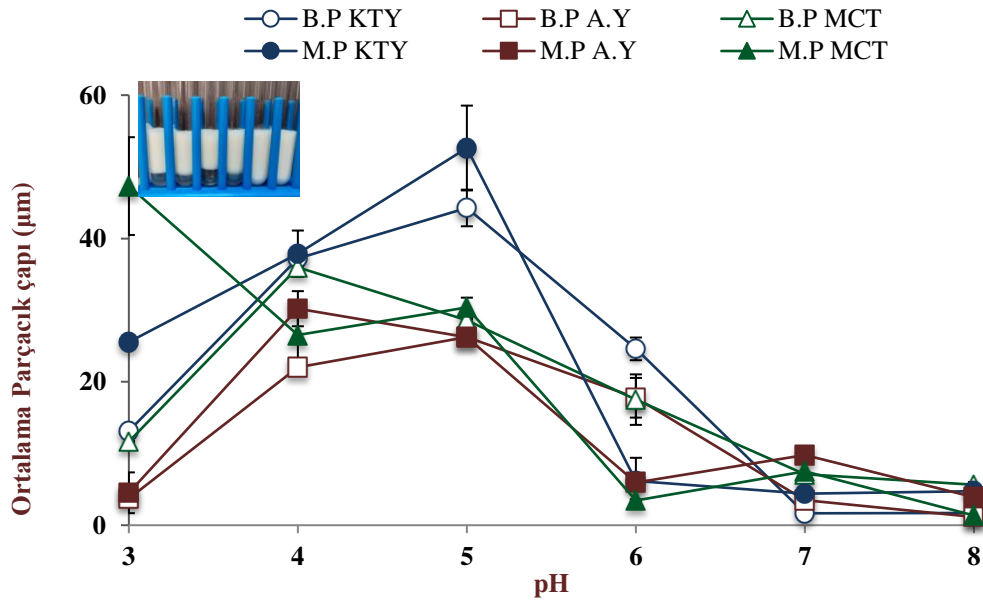
Şekil 5.10: NaCl konsantrasyonunun farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.

5.1.4 pH stabilitesi

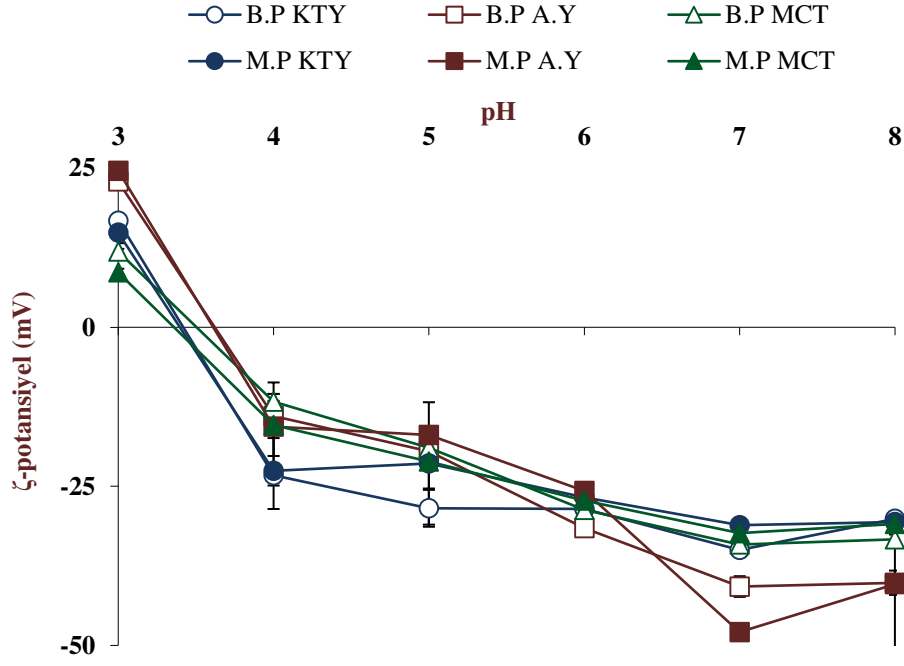
Emülsiyon örneklerinin farklı pH (3-8) aralıklarında partikül boyutu ve partikül yükü ölçülmüştür. İzoelektrik nokta (pI), bir proteinin sıfır net yük taşıdığı değer olarak tanımlanmıştır (Pihlasalo ve diğ, 2012). Baklagiller genellikle büyük bir globulin fraksiyonundan ve küçük bir albümin fraksiyonundan meydana gelmektedir. Globulinler için izoelektrik nokta (pI), pH 4.5 civarındayken albüminlerin pI'si pH 6 civarındadır ve bu nedenle damlacıkların net sıfır yüküne sahip olduğu pH'nın bu değerler arasında olması beklenmektedir (Gumus ve diğ, 2017a). Analizi yapılan geleneksel emülsiyon örneklerinde izoelektrik noktaya yakın olan pH'larda partikül boyutlarında bir artış gözlemlenmiş ve diğer pH'larda partikül boyutlarında bir düşüş görülmüştür (Şekil 5.11). Yapılan bir çalışmada da izoelektrik noktaya yakın olan pH haricinde diğer pH değerlerinde partikül boyutunun kısmen düşük olduğu kaydedilmiştir. Bu durum ise net bir yüke sahip oldukları izoelektrik noktalarından önemli ölçüde uzaklaştırılan pH değerlerinde proteinlerin daha fazla çözünür hale geldikleri için, bu pH'larda emülsiyon oluşumunun homojenizasyon

aşamasında küçük damlacıklar üretmede izoelektrik noktaya göre daha etkili olduğu şeklinde ifade edilmiştir (Can Karaca ve diğ, 2011).

Yapılan bir çalışmada yüksek asidik koşullarda ve bazik koşullarda partikül boyutu diğerlerine göre düşük çıktığı ve protein kaplı damlacıkların pI'sine yakın koşullarda diğerlerine göre daha yüksek sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Schoener ve diğ, 2019). Bu çalışmada da geleneksel emülsiyon örneklerinden yüksek asidik koşullar ve izoelektrik noktasında sırasıyla $47,3 \pm 6,81 \mu\text{m}$, $52,6 \pm 5,91 \mu\text{m}$ en yüksek değerler ve bazik koşullarda $1,15 \pm 1,28 \mu\text{m}$ değeriyle en düşük partikül boyutları elde edilmiştir. Bezelye proteini ile stabilize edilmiş emülsiyonlar mercimek proteini ile stabilize edilmiş emülsiyonlara kıyasla pH değişimlerine karşı daha kararlı bir davranış sergilemiştir. Hazırlanan emülsiyonlarda farklı pH'larda partikül yükü sonuçları incelendiğinde asidik koşullarda pH 3'te pozitif, diğer pH değerlerinde negatif sonuçlar elde edildiği Şekil 5.12 de gösterilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada pH'nın 8'den 2'ye düşmesiyle, ζ -potansiyel değerlerinde giderek negatif değerden pozitif değerlere doğru bir değişim görülmüş ve bu durum ise proteinlerin karboksil gruplarının ve amino gruplarının yavaş yavaş protonlanmasının bir sonucu olarak, negatif yüklü proteinlerden pozitif yüklü proteinlere doğru giderek değişebileceği gerçeğiyle bağlantılı olabileceği bildirilmiştir (Ladjal ettoumi ve diğ, 2015).

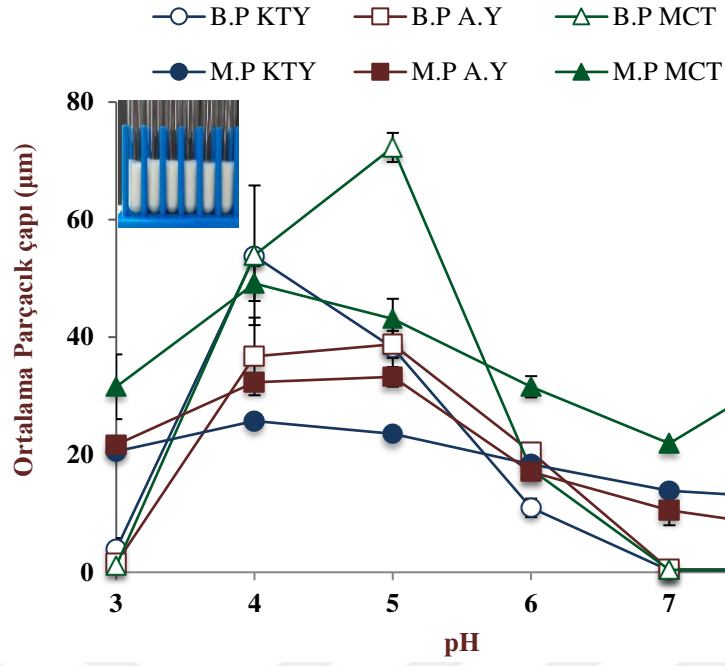


Şekil 5.11: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.

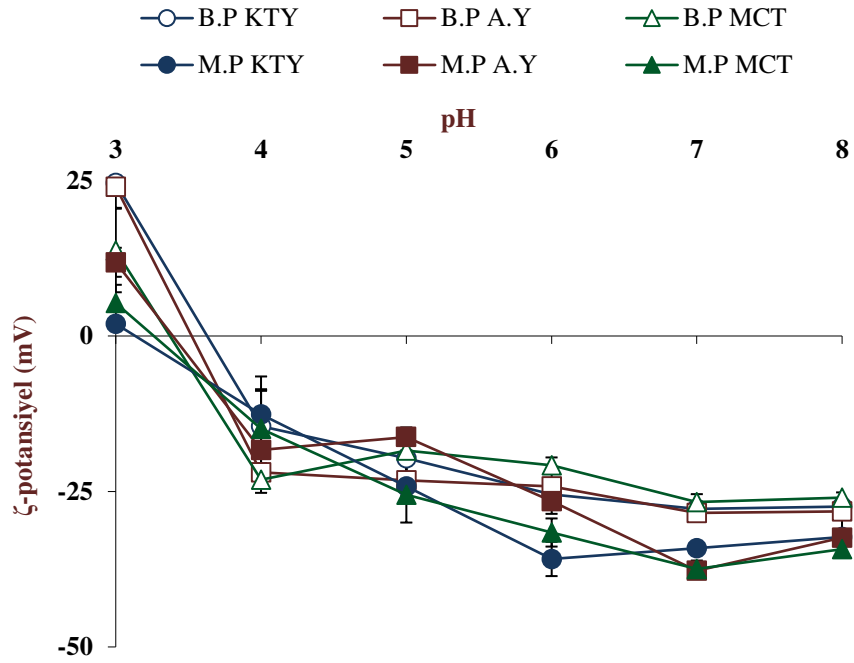


Şekil 5.12: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.

Pickering emülsiyon yönteminde aynı koşullar altında partikül boyutu ve partikül yükü incelenmiş ve Şekil 5.13 ve 5.14 de gösterilmiştir. Bu çalışmada emülsiyon örneklerinden yüksek asidik koşullar ve izoelektrik noktada sırasıyla $31,5 \pm 5,50 \mu\text{m}$, $72,2 \pm 2,47 \mu\text{m}$ en yüksek değerler ve bazik koşullarda $0,32 \pm 0,00 \mu\text{m}$ değeriyle en düşük partikül boyutları elde edilmiştir. Analizi yapılan diğer yöntemdeki gibi pH 3-4-5 aralığında partikül boyutunda bir artış gerçekleşip diğer pH'larda düşüş gözlemlenmiştir (Şekil 5.13). Genel itibariyle mercimek proteininde izoelektrik noktaya kadar partikül boyutundaki artış bezelye proteinine kıyasla daha yavaş gerçekleşmiş, diğer pH'larda ise bezelye proteininde ani bir düşüş olup daha küçük partikül boyutları kaydedilmiştir. Bezelye proteini ile yapılan bir çalışmadaki sonuçlar ile elde ettiğimiz sonuçlar arasında bir paralellik söz konusu olmuştur. Aynı çalışmada pH 5'te en yüksek partikül boyutuna sahip olduğu görülmüş ve bu durum elektrostatik itmede azalma ve şiddetli bir Van der Waals çekici kuvvetinin neden olduğu protein agregasyonundan kaynaklandığı şeklinde ifade edilmiştir (Yi ve diğ., 2021). Pickering emülsiyon yönteminde de geleneksel emülsiyonda olduğu gibi partikül yükü sonuçları benzerlik göstermiş ve izoelektrik noktaya yaklaşınca net yükün sıfır olduğu görülmüştür (Yi ve diğ., 2021; Zhang ve diğ., 2020) (Şekil 5.14).



Şekil 5.13: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül çapı üzerindeki etkisi.



Şekil 5.14: pH değişiminin farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda ortalama partikül yükü üzerindeki etkisi.

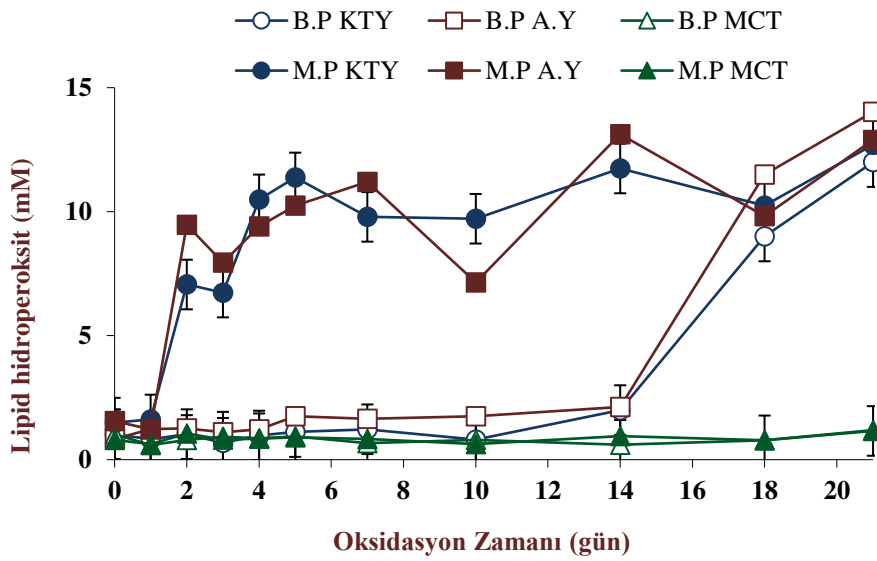
5.2 Oksidatif Stabilit  Testleri

Lipit oksidasyonu, doymamış yağlar ve oksijen arasında otokatalitik bir şekilde gerçekleşen bir serbest radikal zincir tepkimesidir (Chaiyasit ve diğ, 2007). Emülsiyon sistemlerinde damlacık yüzeyinde bulunan lipit hidroperoksitler ile sulu fazdan meydana gelen geçiş metalleri arasındaki etkileşimin lipit oksidasyonunda temel sebep olduğu bildirilmiştir (McClements ve Decker, 2000). Bu yüzden arayüzey alanındaki bir artış doymamış yağlar ve sulu fazda     nm   metal iyonları gibi prooksidan bileşikler ile teması kurarak lipit oksidasyonunu kolaylaştırmaktadır (Berton-Carabin ve diğ, 2014). Yapılan bu çalışmada 32 C sıcaklıkta 21 gün boyunca emülsiyon örneklerinin oksidatif stabilitelerini belirlemek için birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerine bakılmıştır. Birincil oksidasyon ürünlerini belirlemek için peroksit değerleri, ikincil bozulma ürünlerini belirlemede ise tiyobarb tik asit sayısında meydana gelen değişikliklerin ölçümü için TBARS yöntemi kullanılmıştır.

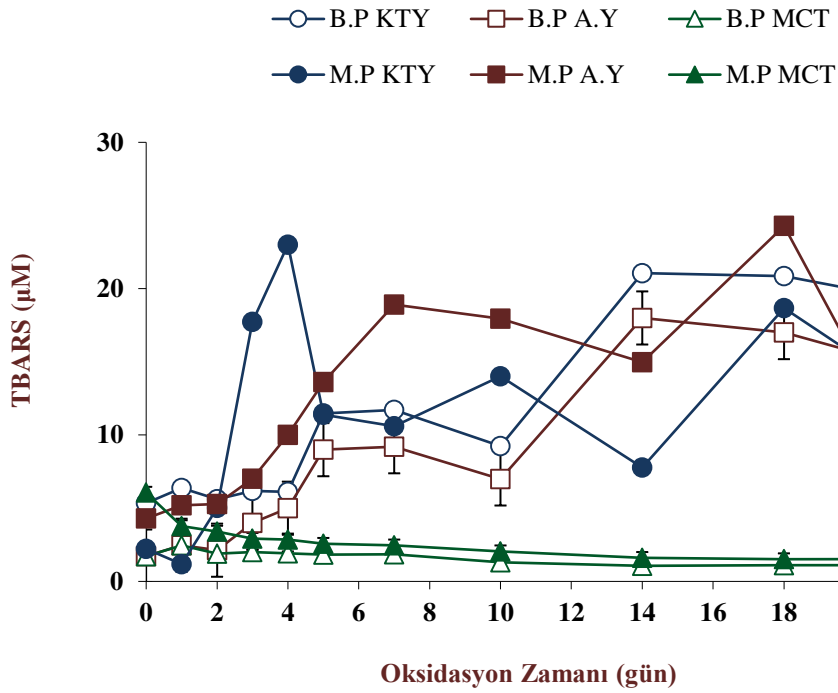
32 C’de 21 günlük depolama sırasında geleneksel ve pickering emülsiyon örneklerinin lipit hidroperoksit ve TBARS değerleri incelenmiştir. Mercimek proteini ve uzun zincirli doymamış yağ asitleri bakımından zengin olan ayçiçeği ve keten tohumu yağ örneklerindeki lipit hidroperoksit değerleri incelendiğinde her iki emülsiyonda 1. günden sonra hızlı bir artış ve 14. gününde lipit hidroperoksit oluşumunun en yüksek seviyeye ulaşıldığı gözlemlenmiştir. Orta zincirli yağ asidi içeren MCT emülsiyonu örneklerinde ise 21 günlük depolama boyunca stabil artışlar görülmüş ve depolamanın son gününde en yüksek lipit hidroperoksit değeri ölçülmüştür. Bezelye proteini kullanılarak hazırlanan ayçiçek yağ ve keten tohumu yağ örneklerinde 14. günde hızla bir artış gerçekleşmiş ve en yüksek lipit hidroperoksit değeri 21. günde kaydedilmiştir. MCT yağ örneklerinde ise 21 günlük depolama süresince stabil bir artış gözlemlenmiştir ( ekil 5.15). Bu çalışmada kullanılan mercimek proteininde bezelye proteinine nazaran daha yüksek lipit hidroperoksit sonuçları elde edilmiş ve bozulma reaksiyonları daha çabuk gerçekleşmiştir.

32 C’de depolanan geleneksel emülsiyon  rneklerinin TBARS değerleri incelendiğinde uzun zincirli yağ asitlerine sahip B.P–KTY, B.P–A.Y ve M.P–KTY, M.P–A.Y örneklerinde 2. günden itibaren bir artış görülmüş ve 21 günlük depolama boyunca stabil olmayan artışlar gerçekleşmiştir. B.P–MCT ve M.P–MCT  rneklerinde TBARS değerlerinin oksidasyonun son gününe kadar stabil olduğu görülmektedir ( ekil 5.16).

Emülsiyonların başlangıç değerlerindeki bu farklılık yapılan bir çalışmada bazı oksidasyonların önceden gerçekleştiği veya kullanılan proteinlerin bazı oksidasyon ürünlerini içerdiği şeklinde bir varsayımda bulunulmuştur (Gumus ve diğ, 2017b). Emülsiyon örneklerinde depolama süresince lipid hidroperoksit ve TBARS değerleri ayçiçeği ve keten tohumu yağı örneklerinde daha yüksek sonuçlar kaydedilmiş ve bu durum bu yağların çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğu ve bundan dolayı kolaylıkla oksitlenebilmelerinden kaynaklandığı şeklinde ifade edilmiştir (Kuhn ve Cunha, 2012).



Şekil 5.15: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince hidroperoksit değerleri.



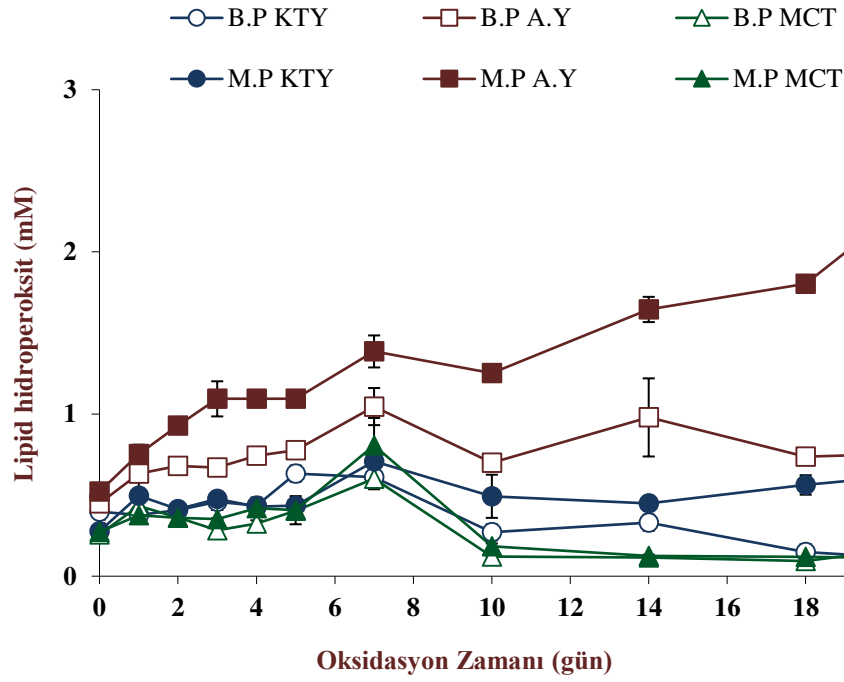
Şekil 5.16: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince TBARS değerleri.

Pickering emülsiyon yöntemi ile hazırlanan örneklerde aynı şekilde 32°C’de 21 günlük depolama süresince lipid hidroperoksit ve TBARS değerleri incelenmiştir. M.P–KTY, M.P–MCT, B.P–KTY, B.P–A.Y ve B.P–MCT örneklerinde lipid hidroperoksit değerlerinde 7. güne kadar bir artış söz konusu olmuş ve en yüksek lipid hidroperoksit değerleri 7. günde ölçülmüştür. B.P–A.Y ve M.P–KTY emülsiyon örneklerinde 21. gün boyunca stabil olmayan bir artış gerçekleşmiş ve M.P–MCT, B.P–KTY ve B.P–MCT örneklerinde ise 10. günden depolamanın son gününe kadar bir artış olmayıp stabil değerler elde edilmiştir. MP–A.Y örneklerinin lipid hidroperoksit değerlerinde ise diğer örneklere göre depolama boyunca sürekli bir artış gerçekleşmiş ve en yüksek lipid hidroperoksit değeri 21. günde kaydedilmiştir (Şekil 5.17). 32°C’de depolanan emülsiyon örneklerinin TBARS değerleri incelendiğinde en yüksek sonuçlar M.P–KTY ve B.P–KTY örneklerinde kaydedilmiştir. M.P–KTY örneklerinde 4. günden 21. güne kadar sürekli bir artış, B.P–KTY örneklerinde ise 4. günden 21. güne kadar stabil olmayan artışlar gözlemlenmiştir. B.P–A.Y, M.P–AY, B.P–MCT ve M.P–MCT emülsiyon örneklerinde 4.güne kadar artış görülmüş ve 5. günden depolama sonuna kadar yavaş ilerleyen bir

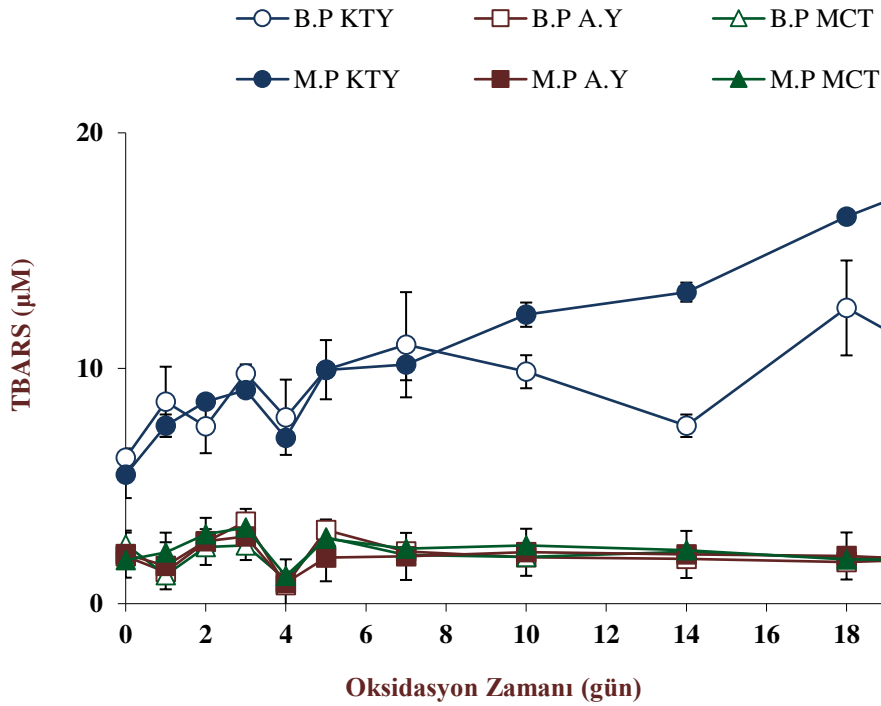
azalma söz konusu olmuştur (Şekil 5.18). Pickering emülsiyon yönteminde geleneksel emülsiyonlara nazaran daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Her iki yöntemde de bezelye proteini ile hazırlanan örneklerde depolama boyunca oksidasyon nispeten daha yavaş gerçekleşmiştir.

Lipit oksidasyonu lipit hidroperoksitler ve geçiş metalleri (pro-oksidanlar) arasındaki etkileşimin ana sebep olduğu bir tepkimedir (Yan ve diğ, 2020). Emülsiyonlardaki lipit oksidasyonu, doymamış lipitlerin ve pro-oksidanların varlığı ve ortaya çıkmasından dolayı yağ-su arayüzünde başlamakta ve arayüzün bileşimi ve kalınlığı, lipit oksidasyonunun kontrolünde önemli bir unsur olabilmektedir (Waraho ve diğ, 2011). Lipit oksidasyon stabilitesini arttırmak için demirin hidroperoksit ile etkileşime girme yeteneğini engellemek etkili bir çözümdür. Pro-oksidanların sürekli fazdaki fiziksel konumu (pro-oksidanın damlacık yüzeyiyle yakın temasa geçmesini engellemek için) ve damlacık arayüzey özellikleri (yük ve kalınlık gibi) demirin gücünü baskılayabilecek etkili değişkenlerdir (Kargar ve diğ, 2012).

Su içinde yağ emülsiyonlarında ise lipitler ve suda çözünür prooksidanlar arasındaki etkileşimleri kolaylaştıran geniş yüzey alanları nedeniyle lipit oksidasyonu hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (Waraho ve diğ, 2011). Pickering emülsiyon üzerine yapılan bir çalışmada adsorbe edilmiş parçacıkların daha kalın bir arada toplanan ara yüzey tabakasının, küçük moleküllü yüzey aktif maddelere kıyasla yağ fazını oksidasyona karşı korumada daha iyi olabileceği bildirilmiş ve çalışmanın devamında partikül stabilize emülsiyonların geleneksel emülsiyonlara kıyasla yağ oksidasyonunu önlemede daha etkili olduğunu gözlemlenmiştir (Nikbakht Nasrabadi ve diğ, 2020). Sonuç itibarıyla pickering emülsiyonları protein tarafından stabilize edildikleri için yağ damlacıklarını kaplayan kalın protein tabakası bulunmakta ve bu durumda damlacıklardaki lipit hidroperoksitleri ve sulu fazdaki geçiş metal iyonları arasındaki teması engellediği şeklinde bir açıklama yapmak mümkündür (Yan ve diğ, 2020). Bu çalışmada da pickering emülsiyonlarda bozulma reaksiyonları daha yavaş gerçekleşmiştir ve bu durum ise parçacıkların ara yüzey tabakasının yağ oksidasyonunu önlemede daha etkili olduğu açıklamasını desteklemektedir.



Şekil 5.17: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince hidroperoksit değerleri.

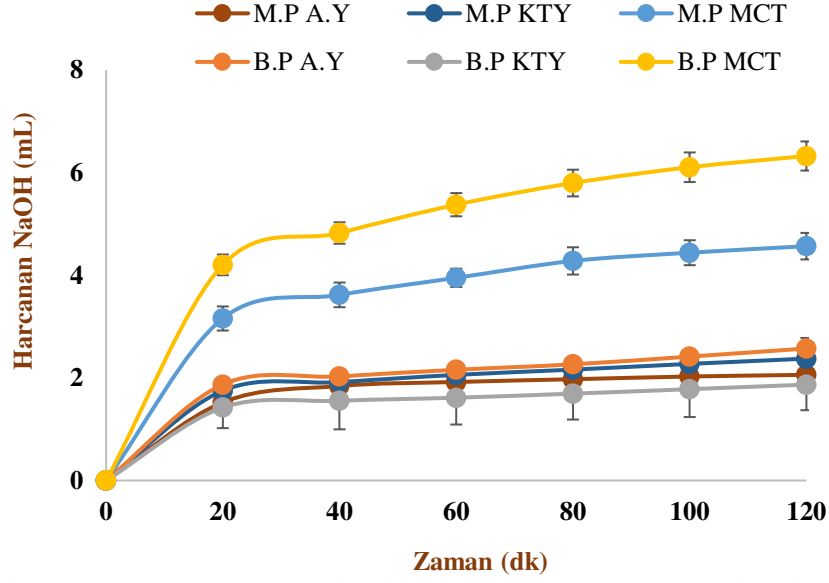


Şekil 5.18: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların 32°C de oksidasyon süresince TBARS değerleri.

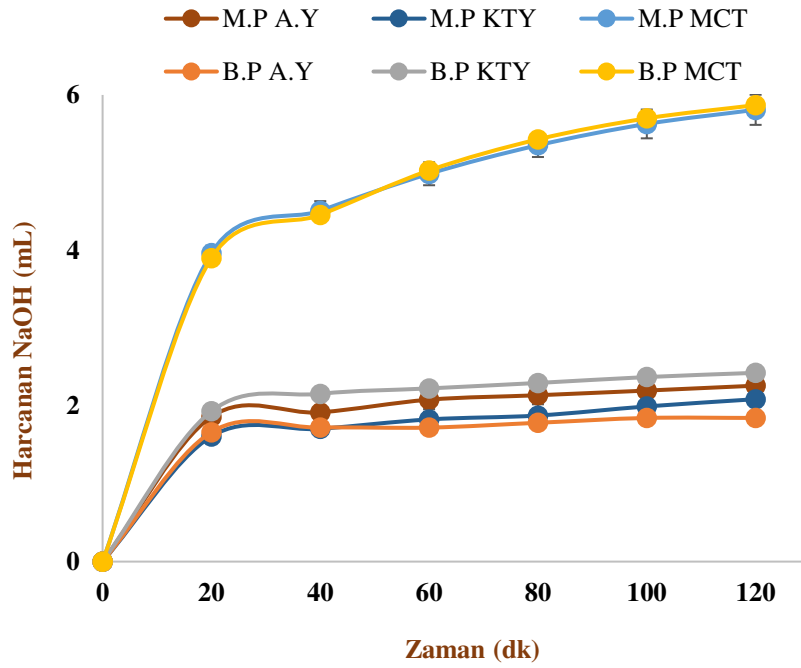
5.3 Simüle *In Vitro* Sindirimde Emülsiyonların Serbest Yağ Asidi Salınımı

Farklı yağlar ve farklı sürfaktanlar kullanılarak hazırlanmış geleneksel ve pickering emülsiyonların simüle ince bağırsak koşullarında sindirimi sonucu serbest yağ asidi (SYA) salınımının sindirim zamanına göre değişimi Şekil 5.21 ve 5.22’de verilmiştir. Her iki yöntemde de orta zincirli yağ asidi içeren MCT yağlarında daha yüksek, uzun zincirli yağ asitleri grubunda bulunan keten tohumu ve ayçiçek yağında sonuçlar daha düşük çıkmıştır. Bu durum keten tohumu ve ayçiçek yağından salınan uzun zincirli SYA’ların lipit damlacık yüzeylerinde birikmiş olabileceği ve bu nedenle daha fazla lipaz etkisini engellemiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bununla birlikte, orta zincirli SYA’lar, oluşumdan sonra hızla sulu faza geçerek lipazın çalışmaya devam etmesini kolaylaştırmaktadır (Ozturk ve diğ, 2015).

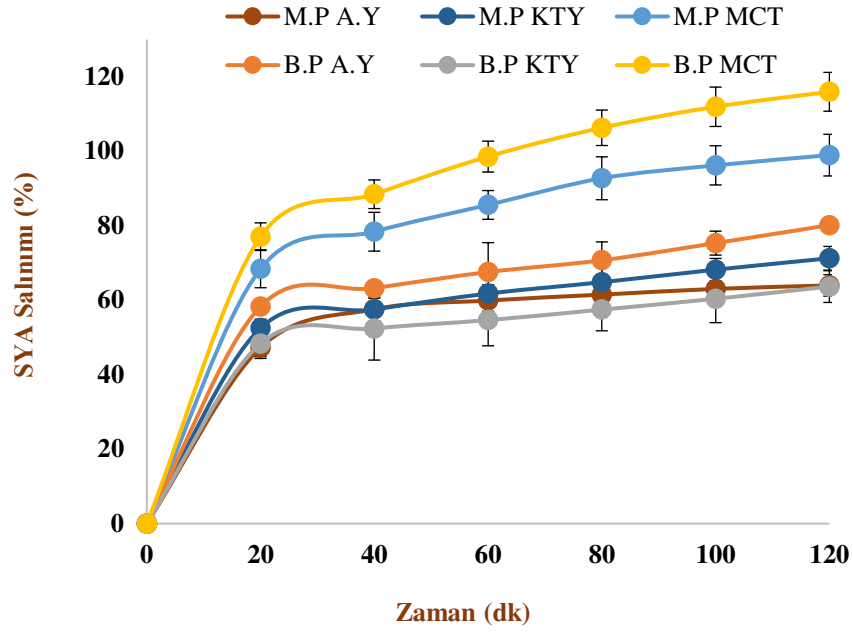
Keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı emülsiyonlarının lipit sindirim profillerinde benzerlik görülmüş ve bunun nedeni ise muhtemelen her ikisinin de uzun zincirli trigliserit içermesinden kaynaklanmaktadır. Her iki yöntemin birbirleriyle kıyaslanması sonucunda istatistik olarak bir farklılık görülmemiştir. Serbest yağ asidi salınımı harcanan NaOH miktarları, ortamda bulunan yağ miktarları, kullanılan yağ fazı kompozisyonunu oluşturan bileşiklerin molekül ağırlıkları ve kullanılan NaOH çözeltisinin normalitesi ile hesaplanmaktadır. Şekil 5.19 ve 5.20’ye bakıldığında harcanan NaOH miktarının artması ile serbest yağ asidi salınımında bir artış gözlemlenmiştir. Geleneksel emülsiyon ve pickering emülsiyon örneklerinde harcanan NaOH miktarı uzun zincirli yağ asidi bakımından zengin olan ayçiçek ve keten tohumu yağlarında 1 ila 2 ml arasında, orta zincirli yağ asidi içeren MCT örneklerinde ise 3 ila 6 ml arasında olduğu gözlemlenmiştir.



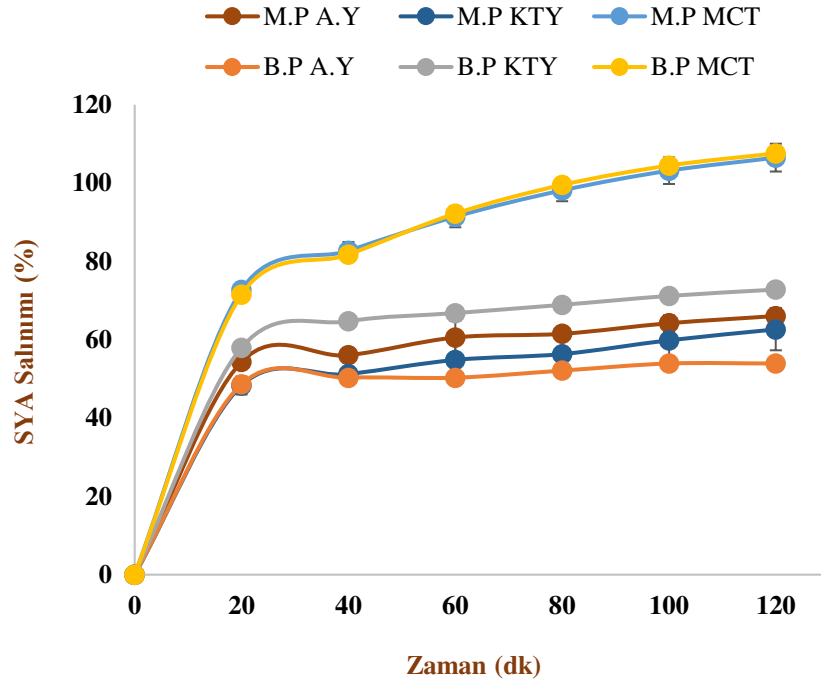
Şekil 5.19: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlarda harcanan NaOH'ın (mL) zamana karşı değişimi.



Şekil 5.20: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlarda harcanan NaOH'ın (mL) zamana karşı değişimi.

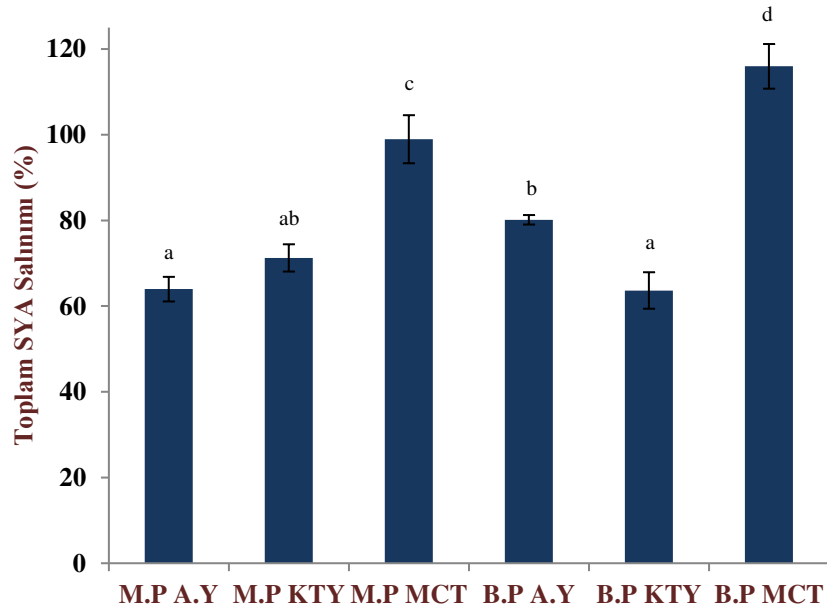


Şekil 5.21: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların %SYA salınımlarının zamana karşı değişimi.

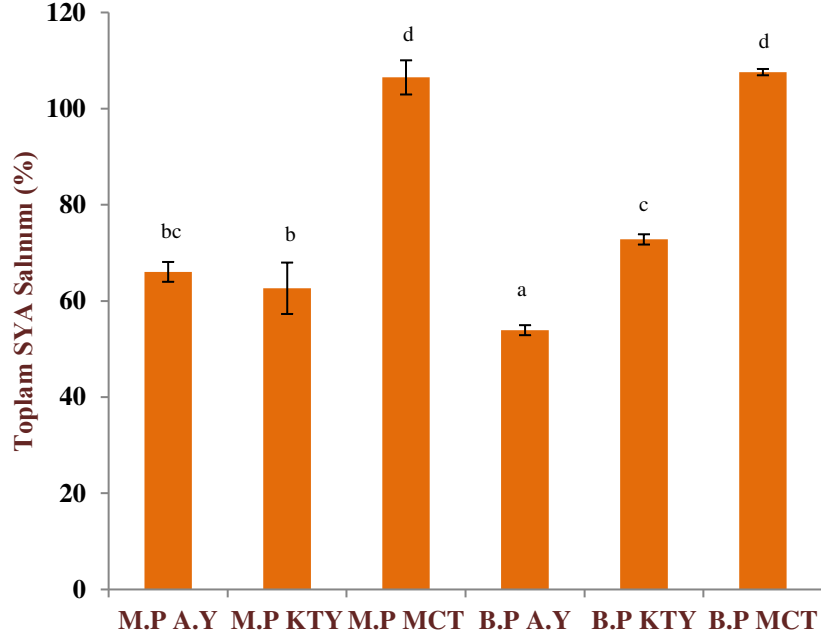


Şekil 5.22: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların %SYA salınımlarının zamana karşı değişimi.

Hazırlanan geleneksel ve pickering emülsiyon örneklerinden kontrol örnekleri (D vitamini ve sürfaktan karışımı) çıkarılarak 120 dakikalık sindirim boyunca toplam %SYA salınımları hesaplanmıştır. M.P–A.Y, M.P–KTY, M.P–MCT ve B.P–A.Y, B.P–KTY, B.P–MCT geleneksel emülsiyon örneklerinin %SYA sonuçları sırasıyla %63,9±2,86, %71,3±3,18, %98,9±5,60 ve %80,1±1,10, %63,6±4,25, %115,9±5,21, bir diğer yöntem olan pickering emülsiyon örnekleri M.P–A.Y, M.P–KTY, M.P–MCT ve B.P–A.Y, B.P–KTY, B.P–MCT’nin ise %SYA sonuçları sırasıyla %66,1±2,06, %62,6±5,34, %106,5±3,55 ve %53,9±1,04, %72,8±1,06, %107,6±0,65 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda SYA değerlerinde kullanılan yağlara göre önemli farklılıklar gözlemlenmiştir (Şekil 5.23 ve 5.24).



Şekil 5.23: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonların toplam %SYA salınımları (Küçük harfler (a, b, c) farklı yağlar ve farklı emülgatörler ile üretilen örnekler arasındaki farklılığı ifade etmektedir ($p < 0,05$); Duncan)).



Şekil 5.24: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonların toplam %SYA salınımları (Küçük harfler (a, b, c) farklı yağlar ve farklı emülgatörler ile üretilen örnekler arasındaki farklılığı ifade etmektedir ($p < 0,05$); Duncan)).

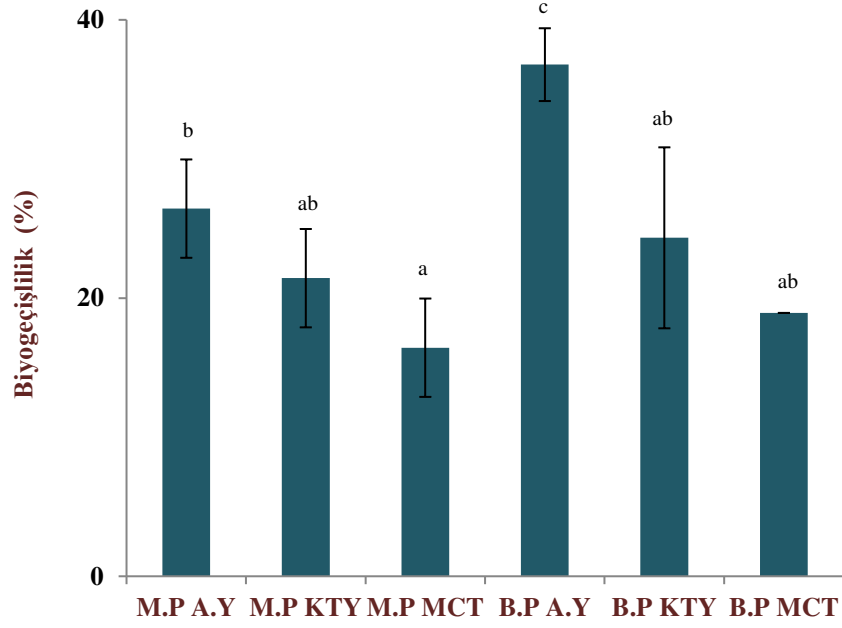
5.4 D Vitamini Biyogeçişliliğinin Belirlenmesi

Yapılan bu çalışmada farklı yağlar ve farklı sürfaktanlar kullanılarak hazırlanmış geleneksel ve pickering emülsiyonların biyogeçişlilik Şekil 5.25 ve 5.26’de gösterilmiştir. Hazırlanan geleneksel ve pickering emülsiyon örneklerinden kontrol örnekleri (D vitamini ve sürfaktan karışımı) çıkarılarak (%) biyogeçişlilik oranları hesaplanmıştır. Farklı emülsiyon teknikleri kullanılarak kapsüllen D vitamininin biyogeçişlilik sonuçları taşıyıcı yağ türüne göre farklılık göstermiştir. Daha önceden yapılan çeşitli araştırmalara göre yüksek oranda hidrofobik biyoaktif maddelerin dağıtımı için kullanılan taşıyıcı yağın doğasının, biyogeçişlilik üzerinde büyük bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Schoener ve diğ, 2019). Bu çalışma sonucunda M.P–A.Y, M.P–KTY, M.P–MCT ve B.P–A.Y, B.P–KTY, B.P–MCT geleneksel emülsiyon örneklerinde (%) biyogeçişlilik oranları sırasıyla %26,4±3,53, %21,4±3,53, %16,4±3,53 ve %36,8±2,61, %24,3±6,50, %18,9±0,00, diğer yöntem olan pickering emülsiyon örnekleri M.P–A.Y, M.P–KTY, M.P–MCT ve B.P–A.Y, B.P–KTY, B.P–MCT’nin ise (%) biyogeçişlilik sonuçları sırasıyla %79,4±6,36, %47,1±2,61, %30,6±1,90 ve %85,1±1,20, %46,9±5,65, %39,1±6,78 olarak ölçülmüştür.

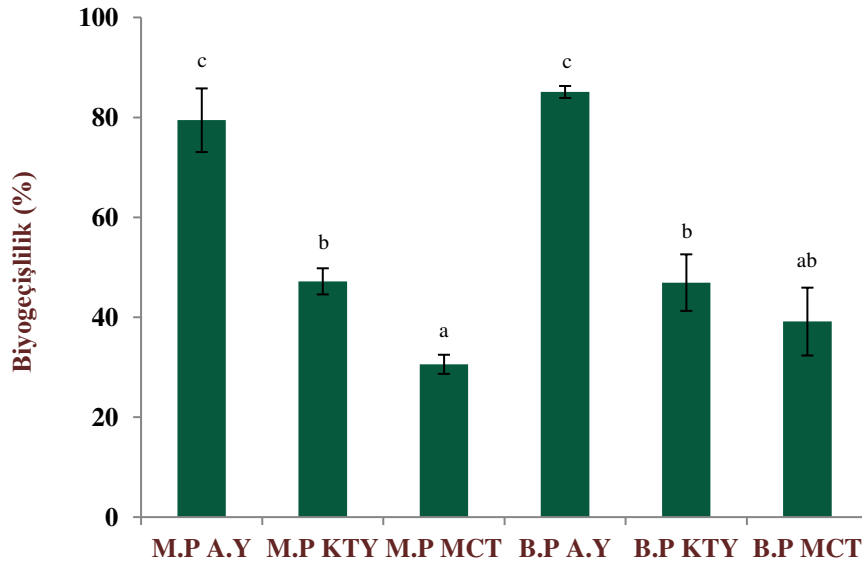
Bu sonuçlar incelendiğinde uzun zincirli yağ asitleri grubunda bulunan keten tohumu ve ayçiçek yağı örneklerinin biyogeçişlilik yüzdeleri MCT yağı içeren örneklerle göre daha yüksek çıkmıştır.

Uzun zincirli (LCT) ve orta zincirli (MCT) yağ asitleri ile yapılan bir çalışmada LCT emülsiyonlarında daha yüksek D₃ vitamini biyogeçişliliği elde edilmiş ve bu durum sindirimden sonra oluşan misellerin çözünme kapasitesine dayandırılmıştır (Ozturk ve diğ, 2015). Uzun zincirli yağ asitleri, büyük lipofilik biyoaktif molekülleri barındırabilen daha büyük polar olmayan sistemlere sahip olan karışık miseller oluşturur. MCT emülsiyonlarda ise tam tersi bir durum söz konusu olup büyük lipofilik biyoaktif maddeler, orta zincirli yağ asitleri tarafından oluşturulan karışık misellerde bulunan daha küçük polar olmayan sistemlere kolayca uyum sağlayamamaktadır. Bu yüzden, uzun zincirli SYA'lardan oluşturulan karışık miseller, orta zincirli SYA'lar tarafından oluşturulandan daha yüksek çözünürlük kapasitelerine sahip olma eğilimindedirler (Ozturk ve diğ, 2015).

MCT yağ asitlerine göre daha yüksek sonuçlar veren LCT yağ asitlerinin çoklu doymamış yağ asitleri bakımında yüksek olan keten tohumu yağında ayçiçeği yağına göre daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada da ÇDYA bakımından yüksek olan keten tohumu veya balık yağının biyogeçişlilik sonucu %43 civarında, TDYA bakımından zengin olan mısır yağının biyogeçişlilik sonucu ise %78 olarak kaydedilmiştir. Bu durum ise çoklu doymamış yağ asitleri bakımından yüksek olan yağların tekli doymamış yağ asitlerine nazaran karışık misellerdeki hidrofobik alanların yağ asidi zincirlerinin aşırı bükülmesiyle daha küçük olabileceği ve netice itibariyle ÇDYA ile karıştırılmış misellerin TDYA ile karıştırılmış misellerden daha düşük bir çözündürme kapasitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. (Schoener ve diğ, 2019). Nanoemülsiyon bazlı dağıtım sisteminin D vitamini biyogeçişliliği üzerine etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada D vitamini biyogeçişliliğinin bu sistemler aracılığıyla yaklaşık 4 kat arttığı bildirilmiştir (Kadappan ve diğ, 2018). Yapılan bu çalışmayla benzer sonuçlar elde edilmiş ve yağda cözünen bir vitamin olan D vitamininin biyogeçişliliğini artırmak için emülsiyon bazlı dağıtım sistemlerinin büyük bir öneme sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Genel olarak pickering emülsiyon örneklerinde daha yüksek sonuçlar elde edilmiş ve her iki yöntem arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir.



Şekil 5.25: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen geleneksel emülsiyonlara ait (%) biyogeoçişlilik oranı (Küçük harfler (a, b, c) farklı yağlar ve farklı emülgatörler ile üretilen örnekler arasındaki farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$); Duncan)).



Şekil 5.26: Farklı emülgatörler (B.P ve M.P) ve farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) ile stabilize edilen pickering emülsiyonlara ait (%) biyogeoçişlilik oranı (Küçük harfler (a, b, c) farklı yağlar ve farklı emülgatörler ile üretilen örnekler arasındaki farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$); Duncan)).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, sonikasyon metodu kullanılarak üretilen geleneksel emülsiyon ve yüksek basınçlı homojenizatör kullanılarak pickering emülsiyonlar üretilmiştir. Geleneksel emülsiyon örneklerinde partikül boyutları $0,205\pm0,00$ ila $0,98\pm0,07$ μm aralığında, pickering emülsiyonda ise $0,15\pm0,00$ ila $12,6\pm0,26$ μm olarak belirlenmiştir. Partikül yükleri incelendiğinde, geleneksel emülsiyon örneklerinde $-31,2\pm1,27$ mV ila $-49,2\pm1,90$ mV, pickering emülsiyonda ise $-25,2\pm0,21$ mV ve $-41,2\pm2,40$ mV aralığında bulunmuştur. Farklı emülgatörler kullanılarak hazırlanan her iki emülsiyon örneklerinden bezelye proteini ile stabilize edilen örneklerde en küçük partikül boyutları tespit edilmiştir.

Çevresel koşulların değiştirilmesinin emülsiyonların stabilitesi üzerindeki etkileri incelendiğinde kullanılan emülgatör örneklerinin termal denatürasyon sıcaklığının altında açılmaya başladığı ve bu nedenle proteinin üç boyutlu yapısındaki değişikliklerinin, sıcaklıkla damlacık yükü üzerinde bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Damlacık yükünde gözlemlenen düşüşe rağmen, emülsiyonların damlacık topaklanmasına ve kremalaşmaya karşı kısmen daha stabil olduğu görülmüştür ve bu durumu damlacıklar arasındaki elektrostatik ve sterik itmelerin düşük iyonik kuvvetlerde topaklanmayı engellemek için yeteri kadar güçlü olduğu şeklinde yorumlamak mümkündür. Her iki yöntem için de bezelye proteini ile hazırlanan emülsiyonlarda daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Emülsiyonlara 100 mM NaCl ilave edilmesiyle partikül boyutunda artış gözlemlenmiş ve daha sonra tuz konsantrasyonu artmasıyla damlacık boyutunda önemli bir artış görülmemiştir. İyonik şiddetin partikül yüküne olan etkisi incelendiğinde emülsiyonlara 100 mM konsantrasyonundaki NaCl ilavesiyle genel olarak partikül yükünde bir düşüş ve daha sonra artan NaCl konsantrasyonu ile partikül yükünde ufak çaplı değişiklikler görülmüştür.

Farklı tuz konsantrasyonlarında emülsiyon stabilitesinin genel olarak değişmemesi bitki bazlı emülgatörlerin kullanılmasının farklı gıda sistemlerinde iyi bir tercih olduğunu göstermektedir. Pickering yöntemi ile hazırlanan örneklerde geleneksel emülsiyonlara kıyasla daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Farklı pH'larda analizi yapılan emülsiyon örneklerinde izoelektrik noktaya yakın olan pH'larda partikül boyutlarında bir artış gözlemlenmiş ve diğer pH'larda partikül boyutlarında bir düşüş görülmüştür. Bu durum ise ortalama partikül çapı, damlacıkların yük taşımadığı pH'ya yani izoelektrik noktaya yakın olan pH haricinde diğer pH değerlerinde kısmen daha düşük olduğu şeklinde ifade etmek

mümkündür. Pickering emülsiyon yönteminde de geleneksel emülsiyonda olduğu gibi partikül yükü sonuçları benzerlik göstermiş ve izoelektrik noktaya yaklaşıncı net yükün sıfır olduğu görülmüştür.

Farklı yağlar (KTY, A.Y ve MCT) kullanılarak hazırlanan geleneksel ve pickering emülsiyonlarının 32°C’de 21 günlük depolama boyunca oksidatif stabiliteleri incelenmiştir. Geleneksel emülsiyonlarda beklenildiği üzere çoklu doymamış yağ asitleri bakımından çok zengin keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının depolama süresince lipit hidroperoksit ve TBARS değerleri MCT ile üretilen emülsiyonlara göre yüksek çıkmıştır. Pickering emülsiyonları protein tarafından stabilize edildikleri için yağ damlacıklarını kaplayan kalın protein tabakası bulunmakta ve bu durumda ise damlacıklardaki lipit hidroperoksitleri ve sulu fazdaki geçiş metal iyonları arasındaki teması engellemektedir. Bu yüzden pickering emülsiyon yönteminde geleneksel emülsiyonlara nazaran oksidatif olarak daha stabil sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada bezelye proteini ile hazırlanan örneklerde mercimek proteini ile hazırlanan örneklerle kıyasla oksidasyon daha yavaş gerçekleşmiştir. Bu durumu ise mercimek proteinin önceden oksidasyon ürünlerini içermesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlamak mümkündür.

D vitamini içeren farklı yağlar kullanılarak hazırlanmış geleneksel ve pickering emülsiyonların *in vitro* ince bağırsak koşullarında sindirimi sonucu serbest yağ asidi salınımının (SYA) sindirim zamanına göre değişimi araştırılmıştır. Geleneksel emülsiyonların %SYA salınım değerleri %63,6±4,25 ile %115,9±5,21 arasında, pickering emülsiyonlarda ise %53,9±1,04 ile %107,6±0,65 arasında ölçülmüştür. Geleneksel emülsiyonlar M.P–MCT > M.P–KTY > M.P–A.Y ve B.P–MCT > B.P–A.Y > B.P–KTY, pickering emülsiyonlar ise M.P–MCT > M.P–A.Y > M.P–KTY ve B.P–MCT > B.P–KTY > B.P–A.Y şeklinde sıralanmaktadır. D vitamini ile hazırlanmış geleneksel ve pickering emülsiyon örneklerinde orta zincirli yağ asidi olan MCT yağlarında daha yüksek, uzun zincirli yağ asitleri grubunda bulunan keten tohumu ve ayçiçeği yağında sonuçlar daha düşük çıkmıştır. Kontrollü salınım sistemlerinde amaç enkapsüle edilmiş hassas bileşenin korunması ve zamanla bu bileşenin ayarlanmış ölçüde salınmasıyla gerçekleşen bir işlemdir. Hassas bileşenlerin enkapsülasyonu zor olabilir ve bu yüzden bu bileşenlerde kontrollü salınım ve koruma gerekmektedir. Bu çalışmada pickering emülsiyon ve geleneksel emülsiyon örneklerinde %SYA salınımda birbirlerine yakın sonuçlar elde edilmiş ve her iki yöntem arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

D Vitamini biyogeçişliliğinin belirlenmesi analizinde farklı yağlar ile hazırlanan geleneksel ve pickering emülsiyonların % biyogeçişlilik oranları incelenmiştir. Geleneksel emülsiyonlarda $16,4 \pm 3,53$ ile $36,8 \pm 2,61$ arasında, pickering emülsiyonlarda ise $30,6 \pm 1,90$ ile $85,1 \pm 1,20$ arasında sonuçlar elde edilmiştir. Genel olarak her iki yöntemde de LCT yağ asitlerine sahip yani keten tohumu ve ayçiçeği yağları; MCT sonuçlarına göre daha yüksek çıkmıştır. Bu durum ise LCT yağ asitlerinin MCT yağ asitlerine göre büyük lipofilik biyoaktif molekülleri barındırabilen daha büyük polar olmayan sistemlere sahip olan karışık miseller oluşturabilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bu yüzden, uzun zincirli SYA'lardan oluşturulan karışık miseller, orta zincirli SYA'lar tarafından oluşturulandan daha yüksek çözünürlük kapasitelerine sahip olma eğilimindedirler. Her iki grup arasında anlamlı bir farklılık görülmüş ve pickering emülsiyonlarda % biyogeçişlilik sonuçları daha yüksek çıkmıştır.

Genel olarak D vitamini farklı enkapsülasyonu teknikleri kullanılarak yapılan bu çalışmada yeni bir yöntem olan pickering emülsiyon yönteminin lipit oksidasyonuna daha dayanıklı ve raf ömrünün daha uzun olduğu görülmüştür. Hazırlanan emülsiyonlarda hayvansal kaynaklı emülgatörler yerine tamamen bitki bazlı emülgatörler kullanıldığı için vegan ve vejetaryan gibi belirli diyet gereksinimleri olan tüketiciler için uygun bir çalışma olmuştur. Lipit sindirimi ve biyogeçişlilik analizleri sonucunda kullanılan farklı yağlarla D vitamini biyoyararlanımını arttırabileceği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, D vitamini açısından zengin, oksidasyona karşı dayanıklı fonksiyonel gıda ürünleri üretimi için katkı sağlayabilecek bir çalışma olduğu düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Acevedo-Fani, A., & Singh, H. (2022).** Biophysical insights into modulating lipid digestion in food emulsions. *Progress in Lipid Research*, 85, 101129. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101129>.
- Akkam, Y., Rababah, T., Costa, R., Almajwal, A., Feng, H., Laborde, J. E. A., Abulmeaty, M. M., & Razak, S. (2021).** Pea protein nanoemulsion effectively stabilizes vitamin d in food products: A potential supplementation during the covid-19 pandemic. *Nanomaterials*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/nano11040887>.
- Akkoyun, H. T., Bayramoğlu, M., Ekin, S., & Çelebi, F. (2014).** D Vitamini Ve Metabolizma İçin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(3), 213–219. <https://doi.org/10.17094/avbd.05043>.
- Alshahrani, F., & Aljohani, N. (2013).** Vitamin D: Deficiency, sufficiency and toxicity. *Nutrients*, 5(9), 3605–3616. <https://doi.org/10.3390/nu5093605>.
- Amaral, A. B., Viana, M., & Caetano, S. (2018).** *Lipid oxidation in meat : mechanisms and protective factors – a review*. 2061.
- Ansorena, D. (2013).** A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods : a challenging task. 1–15. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1866-9>.
- Arianto, A., & Cindy, C. (2019).** Preparation and Evaluation of Sunflower Oil Nanoemulsion as a Sunscreen. 7(22), 3757–3761.
- Arshad, M., Anwar, S., Pasha, I., Ahmed, F., & Aadil, R. M. (2022).** Original article Development of imitated meat product by utilizing pea and lentil protein isolates. 3031–3037. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15631>.
- Ashokkumar, M. (2011).** The characterization of acoustic cavitation bubbles - An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 864–872. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.016>.
- Atarian, M., Rajaei, A., Tabatabaei, M., Mohsenifar, A., & Bodaghi, H. (2019).** SC. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.008>.
- Bai, L., Huan, S., Rojas, O. J., & McClements, D. J. (2021).** Recent Innovations in Emulsion Science and Technology for Food Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(32), 8944–8963. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01877>.
- Bandeira, F., Griz, L., Freese, E., Lima, D. C., Thé, A. C., Diniz, E. T., Marques, T. F., & Lucena, C. S. (2010).** Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 54(2), 227–232. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302010000200020>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12097>.
- Berton-Carabin, C. C., & Schroën, K. (2015).** Pickering emulsions for food applications: Background, trends, and challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6, 263–297. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110822>.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019).** INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>.
- Burger, T. G., & Zhang, Y. (2019).** Recent progress in the utilization of pea protein as an

- emulsifier for food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 86, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>.
- Can Karaca, A., Nickerson, M. T., & Low, N. H. (2011).** Lentil and chickpea protein-stabilized emulsions: Optimization of emulsion formulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 13203–13211. <https://doi.org/10.1021/jf203028n>.
- Cannell, J. J., & Hollis, B. W. (2008).** Use of vitamin D in clinical practice. *Alternative Medicine Review*, 13(1), 6–20.
- Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., García, H. S., & Gutiérrez-López, G. F. (2018).** Zeta Potential of Food Matrices. *Food Engineering Reviews*, 10(3), 113–138. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9176-z>.
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2014).** Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 155–171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>.
- Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., Decker, E. A., Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007).** *Oxidation Role of Physical Structures in Bulk*. 8398. <https://doi.org/10.1080/10408390600754248>.
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012).** Ultrasonics in food processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(5), 975–983. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.01.010>.
- Chen, J., Mu, T., & Zhang, M. (2018).** *Effect of heat treatments on the structure and emulsifying properties of protein isolates from cumin seeds (Cuminum cyminum)*. 2. <https://doi.org/10.1177/1082013218788753>.
- Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020).** Food-grade pickering emulsions: Preparation, stabilization and applications. *Molecules*, 25(14). <https://doi.org/10.3390/molecules25143202>.
- Cheng, C., Yu, X., Huang, F., Peng, D., Chen, H., Chen, Y., Huang, Q., & Deng, Q. (2021).** Effect of different structural flaxseed lignans on the stability of flaxseed oil-in-water emulsion: An interfacial perspective. *Food Chemistry*, 357(October 2020), 129522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129522>.
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M. (2013).** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>.
- Chouinard, C. D., Cruzeiro, V. W. D., Beekman, C. R., Roitberg, A. E., & Yost, R. A. (2017).** *Investigating Differences in Gas-Phase Conformations Mobility-Mass Spectrometry and Theoretical Modeling*. April. <https://doi.org/10.1007/s13361-017-1673-4>.
- Çinar, K. (2017).** *A review on nanoemulsions: preparation methods and*. 18(1), 73–83.
- Comuzzo, P. (2019).** *Potential Applications of High Pressure Homogenization in Winemaking: A Review*.
- Cribb, V. L., Northstone, K., Hopkins, D., & Emmett, P. M. (2015).** Sources of vitamin D and calcium in the diets of preschool children in the UK and the theoretical effect of food fortification. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 28(6), 583–592. <https://doi.org/10.1111/jhn.12277>.
- Cristianini, M. (2017).** *Application of high-pressure homogenization on gums Ricardo Henrique Belmiro, a Alline Artigiani Lima Tribst b and. August*.

- <https://doi.org/10.1002/jsfa.8695>.
- Das, B., Kumar Mishra, T., Narayan Routray, S., Satpathy, C., & Mishra, H. (2013).** Vitamin D deficiency: A new risk factor for cardiovascular disease. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 14(3–4), 247–252. <https://doi.org/10.2174/1874192401509010040>.
- Degner, B. M., Chung, C., Schlegel, V., Hutkins, R., & McClements, D. J. (2014).** Factors influencing the freeze-thaw stability of emulsion-based foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 98–113. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12050>.
- Dwyer, J. T., Wiemer, K. L., Dary, O., Keen, C. L., King, J. C., Miller, K. B., Philbert, M. A., Tarasuk, V., Taylor, C. L., Gaine, P. C., Jarvis, A. B., & Bailey, R. L. (2015).** *Fortification and Health : Challenges and Opportunities 1 – 4*. 124–131. <https://doi.org/10.3945/an.114.007443.micronutrient>.
- Elsori, D. H., & Hammoud, M. S. (2018).** Vitamin D deficiency in mothers, neonates and children. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 175, 195–199. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.023>.
- Ficara, E., Rozzi, A., & Cortelezzi, P. (2003).** Theory of pH-stat titration. *Biotechnology and Bioengineering*, 82(1), 28–37. <https://doi.org/10.1002/bit.10541>.
- Fidan, F., Alkan, B. M., & Tosun, A. (2014).** Çalin pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği. *Türk Osteoporoz Dergisi*, 20(2), 71–74. <https://doi.org/10.4274/tod.94830>.
- Funke, M., Loeffler, M., Winkelmeyer, C., Kraymer, M., Boom, R., & Weiss, J. (2022).** Emulsifying properties of lentil protein preparations obtained by dry fractionation. *European Food Research and Technology*, 248(2), 381–391. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03883-y>.
- Glerup, H., Mikkelsen, K., Poulsen, L., Hass, E., Overbeck, S., Thomsen, J., Charles, P., & Eriksen, E. F. (2000).** Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *Journal of Internal Medicine*, 247(2), 260–268. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2000.00595.x>.
- Gonzalez Ortiz, D., Pochat-Bohatier, C., Cambedouzou, J., Bechelany, M., & Miele, P. (2020).** Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications. *Engineering*, 6(4), 468–482. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.08.017>.
- Goyal, A., Sharma, V., & Upadhyay, N. (2015).** *Development of stable flaxseed oil emulsions as a potential delivery system of ω -3 fatty acids*. 52(July), 4256–4265. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1370-2>.
- Gray, J. I. (1978).** Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(6), 539–546. <https://doi.org/10.1007/BF02668066>.
- Gumus, C. E., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2017a).** *Formation and Stability of ω -3 Oil Emulsion-Based Delivery Systems Using Plant Proteins as Emulsifiers : Lentil , Pea , and Faba Bean Proteins*. 186–197. <https://doi.org/10.1007/s11483-017-9475-6>.
- Gumus, C. E., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2017b).** Impact of legume protein type and location on lipid oxidation in fish oil-in-water emulsions : Lentil , pea , and faba bean proteins. *Food Research International*, 100(June), 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.029>.
- Güngör, Ö., Zungur, A., Koç, M., & Kaymak-ertekin, F. (2013).** *Emülsiyonların Özellikleri ve Emülsifikasyon Koşullarının Aroma ve Yağların Mikroenkapsülasyonu Üzerine Etkisi*. 11(2), 116–124.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016).** and applications. *Soft Matter*, 12, 2826–2841. <https://doi.org/10.1039/C5SM02958A>.
- Gupta, A. K., Jamwal, V., Sakul, & Malhotra, P. (2014).** Hypervitaminosis D and

- systemic manifestations: A comprehensive review. *Journal International Medical Sciences Academy*, 27(4), 236–237.
- Gupta, R., Behera, C., Paudwal, G., Rawat, N., Baldi, A., & Gupta, P. N. (2019).** Recent Advances in Formulation Strategies for Efficient Delivery of Vitamin D. *AAPS PharmSciTech*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1231-9>.
- Håkansson, A., Trägårdh, C., & Bergenståhl, B. (2009).** Dynamic simulation of emulsion formation in a high pressure homogenizer. *Chemical Engineering Science*, 64(12), 2915–2925. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2009.03.034>.
- Harman, C. L. G., Patel, M. A., Guldin, S., & Davies, G. L. (2019).** Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 39, 173–189. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.017>.
- Hatun, P., Bereket, A., Çalýkođlu, A. S., & Özkan, B. (2003).** *Günümüzde D vitamini yetersizliđi ve nütrisyonel rikets* *. 224–241.
- Hayati Zeidanloo, M., Ahmadzadeh Ghavidel, R., Ghiafeh Davoodi, M., & Arianfar, A. (2019).** Functional properties of Grass pea protein concentrates prepared using various precipitation methods. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4799–4808. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03930-3>.
- Hintzpeter, B., Scheidt-Nave, C., Müller, M. J., Schenk, L., & Mensink, G. B. M. (2008).** Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany. *Journal of Nutrition*, 138(8), 1482–1490. <https://doi.org/10.1093/jn/138.8.1482>.
- Holick, M. F. (2003).** Vitamin D: A millenium perspective. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(2), 296–307. <https://doi.org/10.1002/jcb.10338>.
- Holick, M. F. (2006).** High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings*, 81(3), 353–373. <https://doi.org/10.4065/81.3.353>.
- Holick M.F., Binkley N.C., Bischoff-Ferrari H.A., Gordon C.M., H. D. A. (2018).** *Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases , cancers , and cardiovascular disease 1 – 4.* 80(February), 1678–1688.
- Hossein-Nezhad, A., & Holick, M. F. (2013).** Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clinic Proceedings*, 88(7), 720–755. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.05.011>.
- Hu, Y. T., Ting, Y., Hu, J. Y., & Hsieh, S. C. (2017).** Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.021>.
- Inapurapu, S. P., Pullakhandam, R., & Bodiga, S. (2021).** Physicochemical studies of sunflower oil based vitamin D nanoemulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 0(0), 1–11. <https://doi.org/10.1080/01932691.2021.2016440>.
- Itkonen, S. T., Erkkola, M., & Lamberg-Allardt, C. J. E. (2018).** Vitamin D fortification of fluid milk products and their contribution to vitamin D intake and vitamin D status in observational studies—a review. *Nutrients*, 10(8), 1–19. <https://doi.org/10.3390/nu10081054>.
- Jarpa-Parra, M. (2018).** Lentil protein: a review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 892–903. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13685>.
- Jiang, H., Sheng, Y., & Ngai, T. (2020).** Pickering emulsions: Versatility of colloidal particles and recent applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 49, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.04.010>.
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F., Kasapis, S., & Barrow, C. J. (2012).** *Interfacial and emulsifying properties of lentil protein isolate.* 134, 1343–

1353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.029>.
- Kadappan, A. S., Guo, C., Gumus, C. E., Bessey, A., Wood, R. J., McClements, D. J., & Liu, Z. (2018).** *The Efficacy of Nanoemulsion-Based Delivery to Improve Vitamin D Absorption: Comparison of In Vitro and In Vivo Studies*. 1700836, 1–8. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700836>.
- Karaca, A. C., Nickerson, M., & Low, N. H. (2013).** Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin : Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. *Food Chemistry*, 139(1–4), 448–457. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.040>.
- Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2012).** Journal of Colloid and Interface Science Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid And Interface Science*, 366(1), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.09.073>.
- Kohlmeier, M. (2020).** Avoidance of vitamin D deficiency to slow the COVID-19 pandemic. 67–73. <https://doi.org/10.1136/bmjnph-2020-000096>.
- Kuhn, K. R., & Cunha, R. L. (2012).** Flaxseed oil - Whey protein isolate emulsions: Effect of high pressure homogenization. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 449–457. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.016>.
- Ladjal-ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., & Romero, A. (2015).** *Pea , Chickpea and Lentil Protein Isolates : Physicochemical Characterization and Emulsifying Properties*. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9411-6>.
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013).** Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975–984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>.
- Lamothe, S., Jolibois, E., & Britten, M. (2020).** Effect of emulsifiers on linseed oil emulsion structure, lipolysis and oxidation during: In vitro digestion. *Food and Function*, 11(11), 10126–10136. <https://doi.org/10.1039/d0fo02072a>.
- Li, Y., Hu, M., & McClements, D. J. (2011).** Factors affecting lipase digestibility of emulsified lipids using an in vitro digestion model: Proposal for a standardised pH-stat method. *Food Chemistry*, 126(2), 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.027>.
- Low, L. E., Siva, S. P., Ho, Y. K., Chan, E. S., & Tey, B. T. (2020).** Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion. *Advances in Colloid and Interface Science*, 277, 102117. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102117>.
- Mao, L., & Miao, S. (2015).** Structuring Food Emulsions to Improve Nutrient Delivery During Digestion. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 439–451. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9108-0>.
- Marcinowska-suchowierska, E. (2018).** *Vitamin D Toxicity – A Clinical Perspective*. 9(September), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00550>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10596.x>.
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007).** Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), 109–124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>.
- McClements, David Julian. (2007).** Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,

- 47(7), 611–649. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>.
- McClements, David Julian. (2010).** Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 241–269. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100722>.
- McClements, David Julian. (2011).** Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7(6), 2297–2316. <https://doi.org/10.1039/c0sm00549e>.
- McClements, David Julian, & Gumus, C. E. (2016).** Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 3–26. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>.
- McClements, David Julian, & Jafari, S. M. (2018).** Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 251, 55–79. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.12.001>.
- McClements, David Julian, & Li, Y. (2010).** Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food and Function*, 1(1), 32–59. <https://doi.org/10.1039/c0fo00111b>.
- McClements, David Julian, & Rao, J. (2011).** Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285–330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>.
- Mcdonald, R. E., & Hultin, H. (1987).** Some Characteristics of the Enzymic Lipid Peroxidation System in the Microsomal Fraction of Flounder Skeletal Muscle. 52(1), 15–21.
- Mekala, S., Keven, E., & Marleny, S. (2022).** Mechanism , kinetics , and physicochemical properties of ultrasound - produced emulsions stabilized by lentil protein : a non - dairy alternative in food systems. *European Food Research and Technology*, 248(1), 185–196. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03871-2>.
- MF, H. (2007).** Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357(3), 266–281.
- Niakousari, M., Damyeh, M. S., Gahruie, H. H., Bekhit, A. E. D. A., Greiner, R., & Roohinejad, S. (2018).** Conventional emulsions. *Emulsion-based Systems for Delivery of Food Active Compounds: Formation, Application, Health and Safety*, 1–27. <https://doi.org/10.1002/9781119247159.ch1>.
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., Goli, S. A. H., & Van der Meeren, P. (2020).** Effect of thymol and Pickering stabilization on in-vitro digestion fate and oxidation stability of plant-derived flaxseed oil emulsions. *Food Chemistry*, 311(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125872>.
- Niroula, A., Alshamsi, R., Sobti, B., & Nazir, A. (2022).** Optimization of Pea Protein Isolate-Stabilized Oil-in-Water Ultra-Nanoemulsions by Response Surface Methodology and the Effect of Electrolytes on Optimized Nanoemulsions.
- O'Mahony, L., Stepien, M., Gibney, M. J., Nugent, A. P., & Brennan, L. (2011).** The potential role of vitamin D enhanced foods in improving vitamin D status. *Nutrients*, 3(12), 1023–1041. <https://doi.org/10.3390/nu3121023>.
- O'Shea, L., & Bindman, A. B. (2016).** Personal Health Budgets for Patients with Complex Needs. *New England Journal of Medicine*, 375(19), 1815–1817. <https://doi.org/10.1056/nejmp1606040>.
- Özkan, B., Hatun, Ş., & Bereket, A. (2012).** Vitamin D intoxication. *Turkish Journal of Pediatrics*, 54(2), 93–98. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1955.tb17409.x>.
- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M., & McClements, D. J. (2015).** Nanoemulsion delivery

- systems for oil-soluble vitamins: Influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D3 bioaccessibility. *Food Chemistry*, 187, 499–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.065>.
- Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016).** ScienceDirect Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.008>.
- Pal, R. (2011).** Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 16(1), 41–60. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.10.001>.
- Pihlasalo, S., Auranen, L., Hänninen, P., & Härmä, H. (2012).** Method for estimation of protein isoelectric point. *Analytical Chemistry*, 84(19), 8253–8258. <https://doi.org/10.1021/ac301569b>.
- Pilz, S., Zittermann, A., Trummer, C., Theiler-Schwetz, V., Lerchbaum, E., Keppel, M. H., Grübler, M. R., März, W., & Pandis, M. (2019).** Vitamin D testing and treatment: A narrative review of current evidence. *Endocrine Connections*, 8(2), R27–R43. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0432>.
- Reid, I. R., & Bolland, M. J. (2020).** Calcium and/or vitamin D supplementation for the prevention of fragility fractures: Who needs it? *Nutrients*, 12(4), 1–9. <https://doi.org/10.3390/nu12041011>.
- Sagymbek, A., & Yu, X. (2021).** Analytical methods for determining the peroxide value of edible oils: A. *Food Chemistry*, 358(January), 129834. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129834>.
- San, S. M., Jaturanpinyo, M., & Limwikrant, W. (2022).** Effects of Wall Material on Medium-Chain Triglyceride (MCT) Oil Microcapsules Prepared by Spray Drying. *Pharmaceutics*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061281>.
- Schoener, A. L., Zhang, R., Lv, S., & Julian, D. (2019).** *Function*. <https://doi.org/10.1039/c9fo00116f>.
- Şenkal, E., Ünüvar, E., Seren, L., Göl, C., Durankuş, F., & Bakılmasının, D. V. (2018).** *D Vitamini Bakılmasının Gerekliği ve Düzeylerinin Yorumu*. 18(3), 97–102. <https://doi.org/10.5222/j.child.2018.79037>.
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., Safdar, W., & Zhong, F. (2018).** Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.002>.
- Sharifi, F., & Jahangiri, M. (2018).** Investigation of the stability of vitamin D in emulsion-based delivery systems. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 24(2), 157–167. <https://doi.org/10.2298/CICEQ160408028S>.
- Sharkawy, A., Filomena, M., & Rodrigues, A. E. (2020).** Chitosan-based Pickering emulsions and their applications: A review. *Carbohydrate Polymers*, 250(April), 116885. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116885>.
- Silva, M., & Chandrapala, J. (2021).** Ultrasonic Emulsification of Milk Proteins Stabilized Primary and Double Emulsions: A Review. *Food Reviews International*, 00(00), 1–23. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1934006>.
- Siyal, F. A., Babazadeh, D., Wang, C., Arain, M. A., Saeed, M., Ayasan, T., Zhang, L., & Wang, T. (2017).** Emulsifiers in the poultry industry. *World's Poultry Science Journal*, 73(3), 611–620. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000502>.
- Taha, A., Hu, T., Zhang, Z., Bakry, A. M., Khalifa, I., & Pan, S. (2018).** *Ultrasonics - Sonochemistry Effect of different oils and ultrasound emulsification conditions on the physicochemical properties of emulsions stabilized by soy protein isolate*. 49(August), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.08.020>.
- Tavernier, I., Wijaya, W., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., & Patel, A. R. (2016).**

- Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 159–174. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.023>.
- Taylor, P., McClements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., Weiss, J., McClements, D. J., Decker, E. A., & Park, Y. (2009).** *Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods* (Sayı May 2013). <https://doi.org/10.1080/10408390902841529>.
- Taylor, P., McClements, D. J., & Rao, J. (2011).** *Toxicity Food-Grade Nanoemulsions : Formulation , Fabrication , Properties ,. January 2013, 37–41.* <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>.
- Taylor, P. N., & Davies, J. S. (2018).** A review of the growing risk of vitamin D toxicity from inappropriate practice. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(6), 1121–1127. <https://doi.org/10.1111/bcp.13573>.
- Türk Gıda Kodeksi (2017).** <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/03/20170307-3.htm>
- Uluata, S., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2015).** *Physical stability , autoxidation and photosensitized oxidation of # -3 oils in nanoemulsion prepared with natural and synthetic surfactants Physical stability , autoxidation and photosensitized oxidation of ω-3 oils in nanoemulsion prepared with natural .* <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03572>.
- Ün, İ., & Duman, İ. (2019).** Sekosteroid hormon olarak D vitamini ve kanser ilişkisi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 9(1), 19–29. <https://doi.org/10.31020/mutftd.456806>.
- Villeneuve, P., Bourlieu-Lacanal, C., Durand, E., Lecomte, J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2021).** Lipid oxidation in emulsions and bulk oils: a review of the importance of micelles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–41. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2006138>.
- Walia, N., Dasgupta, N., Ranjan, S., Chen, L., & Ramalingam, C. (2017).** Fish oil based vitamin D nanoencapsulation by ultrasonication and bioaccessibility analysis in simulated gastro-intestinal tract. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39(November 2016), 623–635. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.021>.
- Walia, N., & Chen, L. (2020).** Pea protein based vitamin D nanoemulsions: Fabrication, stability and in vitro study using Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 305(April 2019), 125475. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125475>.
- Wang, C., Sun, C., Lu, W., Gul, K., Mata, A., & Fang, Y. (2020).** Emulsion structure design for improving the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 2955–2971. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12621>.
- Wang, T. Y., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q. H. (2013).** New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *European Journal of Clinical Investigation*, 43(11), 1203–1223. <https://doi.org/10.1111/eci.12161>.
- Waraho, T., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2011).** Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends in Food Science and Technology*, 22(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.003>.
- Webb, A. R., Kline, L., & Holick, M. F. (1988).** *Influence of Season and Latitude on the Cutaneous Synthesis of Vitamin D 3 : Exposure to Winter Sunlight in Boston and Edmonton Will Not Promote Vitamin D 3 Synthesis in Human Skin * I !* 67(2), 0–5.
- Winuprasith, T., Khomein, P., Mitbumrung, W., Suphantharika, M., Nitithamyong, A., & McClements, D. J. (2018).** Encapsulation of vitamin D3 in pickering emulsions stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose: Impact on in vitro

- digestion and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 83, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.047>.
- Wood, C. L., & Cheetham, T. D. (2016).** Vitamin D: Increasing supplement use among at-risk groups (NICE guideline PH56). *Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition*, 101(1), 43–45. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2015-308299>.
- Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008).** *Ripening Stability*. 10, 12758–12765.
- Xiao, J., Li, Y., & Huang, Q. (2016).** Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends. *Trends in Food Science and Technology*, 55, 48–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.010>.
- Yamashita, Y., Miyahara, R., & Sakamoto, K. (2017).** Emulsion and emulsification technology. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*, 489–506. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00028-8>.
- 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 and Technology*, 103(July), 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.005>.
- Yang, Y., & McClements, D. J. (2013).** Vitamin E bioaccessibility : Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. *Food Chemistry*, 141(1), 473–481. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.033>.
- Yi, J., Gan, C., Wen, Z., Fan, Y., & Wu, X. (2021).** Food Hydrocolloids Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase pickering emulsions for β -carotene protection and delivery. *Food Hydrocolloids*, 113(December 2020), 106497. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106497>.
- Zhang, S., Holmes, M., Ettelaie, R., & Sarkar, A. (2020).** Food Hydrocolloids Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions : Responsiveness to pH and ionic strength. *Food Hydrocolloids*, 102(November 2019), 105583. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105583>.
- 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 and Technology*, 110(1), 493–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.008>.
- Ziani, K., Fang, Y., & McClements, D. J. (2012).** Encapsulation of functional lipophilic components in surfactant-based colloidal delivery systems: Vitamin E, vitamin D, and lemon oil. *Food Chemistry*, 134(2), 1106–1112. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.027>.
- Ziye, Z., Yuling, Y., Xiaozhi, T., Yinji, C., & Yuan, Y. (2015).** *Effects of Ionic Strength on Chemical Forces and Functional Properties of Heat-induced Myofibrillar Protein Gel*. 21(4). <https://doi.org/10.3136/fstr.21.597>.

8. ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Şeyma Nur AVCI

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans :** 2018, İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
- **Yüksek Lisans:** 2022, İnönü Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

MESLEKİ DENEYİM:

Staj Deneyimi:

- İnönü Üniversitesi, Gıda Analizleri Laboratuvarı, 2015 – 2018
- Megsaş Malatya Ekmek Gıda Sanayi Ve Ticaret Anonim, 07.2017-08.2017
- Malatya Kayısı Araştırma İstasyonu, 06.2017-07.2017