

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI YÖNTEMLER VE TAŞIYICI MADDELER KULLANILARAK ELDE
EDİLEN SAFRAN (*Crocus sativus* L.) EMÜLSİYONLARININ DEPOLAMA
STABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Negin AZARABADİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**FARKLI YÖNTEMLER VE TAŞIYICI MADDELER KULLANILARAK ELDE
EDİLEN SAFRAN (*Crocus sativus* L.) EMÜLSİYONLARININ DEPOLAMA
STABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Negin AZARABADİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

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

**FARKLI YÖNTEMLER VE TAŞIYICI MADDELER KULLANILARAK ELDE
EDİLEN SAFRAN (*Crocus sativus* L.) EMÜLSİYONLARININ DEPOLAMA
STABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Negin AZARABADI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından FBA-2015-891 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2019

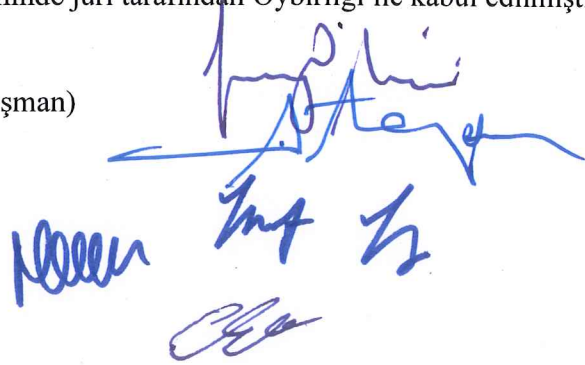
T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI YÖNTEMLER VE TAŞIYICI MADDELER KULLANILARAK ELDE
EDİLEN SAFRAN (*Crocus sativus* L.) EMÜLSİYONLARININ DEPOLAMA
STABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Negin AZARABADİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 12 Temmuz 2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Danışman)
Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ
Prof. Dr. Numan HODA
Doç. Dr. Canan Ece TAMER



ÖZET

FARKLI YÖNTEMLER VE TAŞIYICI MADDELER KULLANILARAK ELDE EDİLEN SAFRAN (*Crocus sativus* L.) EMÜLSİYONLARININ DEPOLAMA STABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Negin AZARABADI

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Temmuz 2019; 189 sayfa

Safran, pahalı ve az bulunan bir baharat olmasına rağmen özgün rengi ve aroması nedeniyle tercih edilir. Tüketicilerin kullanıma hazır gıdalara yönelik artan talebi de göz önünde bulundurularak safran ekstraktının kolay bulunabilir ve kullanılabilir, stabil bir formda tüketiciye sunulmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, İran'dan temin edilen, Kategori-I sınıfında tanımlanan ve ISO standardına göre 1.sınıf kalitede olan safran örnekleri kullanılmıştır. Örneklere 3 farklı safran:su oranı (0.5:1, 1:1 ve 2:1, w/v), 3 farklı sıcaklık (60, 70 ve 80°C) ve 10 farklı sürede (5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ve 360 dk) işlemler uygulanarak ekstraksiyon optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum şartlarda elde edilen ekstrakt ile ISO'da belirtilen standart yöntemle hazırlanan ekstrakt, renklendirme gücü açısından karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu ekstraksiyon yöntemlerinin renklendirme gücü üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) düzeyde bulunmamıştır. Ayrıca yaptığımız ekstraksiyon çalışmasında ISO yöntemine eşdeğer sonuçların daha kısa sürede elde edilebileceği görülmüştür. Ancak, yüksek sıcaklıktan kaçınmak amacıyla uygulanan ekstraksiyon işleminin oda sıcaklığında gerçekleştirilmesi, uluslararası geçerliliği olan bir yöntem olması ve ayrıca enerji tasarrufu sağlaması bakımından da çalışmanın diğer basamaklarında ekstraksiyon metodu olarak ISO yöntemi tercih edilmiştir.

ISO 3632-2 yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktı konsantre etmek amacıyla ultrafiltrasyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlemde filtre materyali (PESU ve Hydrosart), ayırma sınırı (1, 5 ve 10 kDa), permeat:retentat oranı (60:40, 70:30 ve 80:20), basınç (2 ve 3 bar) ve sıcaklık (4 ve 25°C) parametreleri optimize edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda 1 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon (PESU) filtre ile 4°C sıcaklık, 2 bar basınç ve permeat:retentat oranının 80:20 olduğu koşullarda elde edilen retentat safran örneklerinde renk bileşenleri (h° değeri düşük ve C^* değerinin yüksek) en iyi şekilde konsantre edilmiştir. Ultrafiltrasyon işlemi sonucunda elde edilen konsantre ekstrakt (retentat), tek katmanlı (su/yağ) emülsiyon haline getirilmiştir. Tek katmanlı emülsiyonun formülü (yağ, sürfektan ve ekstrakt oranı), D-optimal birleşik dizayn kullanılarak optimize edilmiş ve buna göre optimum oranlar; %67 ayçiçek yağı, %6 poligliserol polirisinolat (PGPR) ve %27 safran konsantresi olarak tespit edilmiştir.

Optimum formül ile hazırlanan tek katmanlı emülsiyon, ayrıca çok katmanlı emülsiyon sistemi elde etmek için de kullanılmıştır. Ancak UF işlemi çok katmanlı emülsiyon için gerekli konsantrasyonda ekstrakt elde edilmesi için yeterli olmamıştır. Bu

sebeple ve çalışmanın amacı göz önünde bulundurularak safran oranı daha yüksek bir ekstrakt hazırlanmış ve çok katmanlı emülsiyonun üretiminde kullanılmıştır. Çok katmanlı emülsiyon formülü optimizasyonunda farklı taşıyıcılar (maltodekstrin, peyniraltı suyu proteini izolatı (WPI) ve β -siklodekstrin (BSD)) ve bunların farklı oranları bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Renk değerleri ve parçacık boyutu değerleri göz önünde bulundurularak; iç fazı optimum koşullarda hazırlanan S/Y emülsiyonunun; dış fazı ise WPI-BSD kompleksinin ve tek başına β -siklodekstrinin oluşturduğu 2 farklı S/Y/S çoklu emülsiyon sistemi hazırlanmış ve bunlarda da depolama analizleri gerçekleştirilmiştir.

Optimizasyon verileri doğrultusunda, toplamda 7 farklı formül 2 tekerrür halinde üretilmiş ve 35 gün boyunca 3 farklı sıcaklıkta depolama (5, 25 ve 45°C) gerçekleştirilmiştir. Depolama süresince örneklerde her 5 günde bir; parçacık boyutu (D_{43} ve açıklık), model gıdada renk (L^* , h° ve C^*), stabilite (ESI), krosin salınımı (%FR), enkapsülasyon etkinliği (%EE), mikroskop ile parçacık boyutu görüntüleme (0. gün ve 35. gün), krosin içeriği (0. gün ve 35. gün) ve duyusal analiz (0. gün ve 35. gün, 25°C’de depolanan örneklerde) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda emülsiyon formunda olmayan örneklerde depolama sıcaklığına ve süresine bağlı olarak renk bileşenleri ciddi oranda zarar görmüş ve bu örnekler model gıda olarak kullanılan pilavları renklendirmede başarılı olamamıştır. Ancak emülsiyon formunda olan örneklerin yüksek sıcaklıklarda uygun süre depolama koşullarında dahi model gıdada renklendirme yetenekleri devam etmiştir. Bu emülsiyonların stabilitesi üzerinde; emülsiyonda kullanılan hidrokolloidlerin ve mekanik karıştırıcıların da etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Çift katmanlı emülsiyon, Ekstraksiyon, Safran (*Crocus sativus* L.), Stabilite, Tek katmanlı emülsiyon, Ultrafiltrasyon, Ultrasonikasyon

JÜRİ: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Prof. Dr. Numan HODA

Doç. Dr. Canan Ece TAMER

ABSTRACT

STORAGE STABILITY OF SAFFRON (*Crocus sativus* L.) EMULSIONS OBTAINED BY DIFFERENT METHODS AND CARRIERS

Negin AZARABADI

PhD Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

July 2019; 189 pages

Saffron, due to its characteristic color and aroma, is a demanded spice despite being expensive and rare. It is thought to be important to supply it in a stabilized and readily available form considering the growing demand of consumers for ready-to-use foods. In this study, saffron samples, obtained from Iran, classified in Category-I class according to ISO standard and defined as first grade quality, were used. Extraction optimization was conducted using 3 different saffron: water ratios (0.5: 1, 1: 1 and 2: 1, w/v), 3 different temperatures (60, 70 and 80°C) and 10 different time periods (5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300 and 360 min). Extracts prepared at optimum conditions was compared to the extract prepared according to standard method of ISO. There was insignificant difference ($P>0.05$) between two extractions in terms of coloring power. Furthermore, it was seen by the optimization study that the equivalent values that of a standard method could be achieved in shorter time periods. However, ISO method was chosen as an extraction method for following stages of the study to avoid high temperature since it is applied at room temperature, providing energy saving and recognized at globally.

Ultrafiltration was applied to concentrate the saffron extracts, obtained using by method of ISO 3632-2. In this stage, parameters of filter material (PESU and Hydrosart), cut off value (1, 5 and 10 kDa), permeate: retentate ratio (60:40, 70:30 and 80:20), pressure (2 and 3 bar) and temperature (4 and 25°C) were optimized. Color compounds of saffron extracts were concentrated in best form (low h° with high C^* value) as retentate by using optimum conditions determined as 1 kDa of cut off value with PESU filter at 2 bar and 4°C with the permeate: retentate ratio of 80:20. Following subsequent to ultrafiltration, single layer emulsion (water/oil) was prepared using concentrated extract (retentate). Formula of single layer emulsion was optimized by using D-optimal integrated design approach and constituents of emulsion was determined as 67% of sunflower seed oil, 6% of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and 27% of saffron concentrate.

Single layer emulsion with optimum formula was also used in preparation of multi-layer emulsion. But ultra-filtered extract did not meet the required concentration for preparation of multi-layer emulsion. Thus, an extract with higher saffron content was prepared to use in multilayer emulsion formula. Different hydrocolloids (maltodextrin, whey protein isolate (WPI) and β -cyclodextrin (β CD)) and their ratio in the emulsion were used as independent variable in optimization of multi-layer emulsion. One inner

phase of w/o emulsion was chosen as inner phase with two different outer phases as WPI- β CD complex and only β CD to prepare w/o/w multi-layer emulsion system considering color and particle size values and analyses were conducted during storage.

Eventually, 7 different formulas were produced in 2 replicates and stored for 35 days at 3 different temperatures (5, 25 and 45°C). Throughout storage, analyses such as particle size (D_{43} and açıklık), color in model food (L^* , h° and C^*), encapsulation stability index (ESI), fraction of released crocin (FR%), encapsulation efficiency (EE%) were conducted every fifth day, while microscopic monitoring of particle size, crocin content and sensorial analyses were conducted in the beginning and end of storage. Color compounds of samples maintained as only saffron concentrate were significantly degraded and those samples were found to be unfavorable to color pilaf used as model food. But coloring ability of saffron concentrate in emulsion form was preserved even at high temperatures during storage. Mechanical mixers and preferred hydrocolloids were determined to be significantly efficient on emulsion stability.

KEYWORDS: Double Layer Emulsion, Extraction, Saffron (*Crocus sativus* L.), Single Layer Emulsion, Stability, Ultrafiltration, Ultrasonication

COMMITTEE: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Prof. Dr. Numan HODA

Assoc. Prof. Dr. Canan Ece TAMER

ÖNSÖZ

Dünya üzerinde belirli bölgelerde yetiştirilebilmesinin, toplanmasının ve üretiminin yoğun bir emek gerektirmesi, geniş alanlardan miktarca çok az ürün alınabilmesi safranı dünyanın en pahalı baharatı yapmaktadır. Safran; pahalı ve az bulunan bir baharat olmasına rağmen rengi ve aroması nedeniyle kullanımı oldukça yaygındır. Tüketicilerin kullanıma hazır gıdalara artan talebi de göz önünde bulundurularak safran ekstraktının sürekli bulunabilir, kolay kullanılabilir ve stabil bir formda tüketiciye sunulmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada farklı taşıyıcı maddeler (maltodekstrin, peyniraltı suyu proteini izolatu, β -siklodekstrin, PGPR vd) kullanılarak üretilen safran emülsiyonlarının (S/Y ve S/Y/S) kalite özellikleri ve stabilitesi araştırılmıştır.

Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek öğrenim fırsatını sağlayan ve bu süreç içerisinde beni yönlendiren, her türlü imkânı sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR olmak üzere, çalışmamız süresince tavsiye ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayhan TOPUZ ve Prof. Dr. Yusuf YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Araştırma kapsamında laboratuvar kapılarını bana açan, tavsiyelerde bulunan ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa KARHAN ve Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN'e, Prof. Dr. Mustafa ERBAŞ ve Doç. Dr. İrfan TURHAN'a teşekkür ederim. Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde eğitime başladığım günden itibaren desteğini esirgemeyen ve yüksek öğrenim fırsatını sağlayan Sayın Prof. Dr. Muharrem CERTEL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezin her aşamada tecrübelerinden yararlandığım ve hiçbir konuda yardımını esirgemeyen Öğr. Gör. Atike Nur DURAK'a, çalışma süresince her türlü yardıma koşan Gıda. Yük. Müh. Ecem VURAL'a ve desteğini daima hissettiğim Dr. Hanife Aydan YATMAZ'a, Gıda. Yük. Müh. Sinem SALMAN'a ve Gıda. Müh. Ali ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Araştırma esnasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, Öğr. Gör. Dr. Aslı ARSLAN KULCAN'a, Dr. Firuze ERGİN'e, Kimya Yük. Müh. Taner ERKAYMAZ'a, Gıda. Yük. Müh. Ahmet HACIOĞLU'na ve manevi desteğini esirgemeyen bütün yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamı finansal olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Uzaktan moral desteğini esirgemeyen, sevgi ve şefkatleri ile her an yanımda hissettiğim sevgili ablam Dr. Niloufar AZARABADİ, eniştem Müh. Adel LOTFIPOUR ve evimizin neşe kaynakları Yasmin ve Benyamin LOTFIPOUR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bu tezi hayattaki en büyük şansım olan annem Tahere BEHRAVESH ve babam Dr. Sirous AZARABADİ'ye armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Safran (<i>Crocus sativus</i> L.).....	3
2.1.1. Yetiştirme ve işleme teknolojisi	3
2.1.2. Safranda taşıyıcı ve hileler.....	5
2.1.3. Safranın sınıflandırılması	5
2.1.4. Safranın kimyasal yapısı	7
2.1.5. Safranın sağlık üzerine etkisi	11
2.1.6. Safranın kullanım alanları	13
2.2. Ultrafiltrasyon	14
2.3. Emülsiyon.....	16
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1. Materyal	27
3.2. Metot	27
3.2.1. Safran örneklerinin ekstraksiyonu.....	27
3.2.2. Ultrafiltrasyon optimizasyonu	29
3.2.3. Emülsiyon optimizasyonu	30
3.2.4. Depolama	33
3.2.5. Analizler	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1. Safran örneklerinin nem oranı	45
4.2. Safran örneğinin kalite sınıfının belirlenmesi	45
4.3. Ekstraksiyon optimizasyonu	45
4.4. UF optimizasyonu	51
4.4.1. Filtre materyali seçimi.....	51
4.4.2. Ayırma sınırı optimizasyonu	58

4.4.3. Besleme oranı, basınç ve sıcaklık optimizasyonu	66
4.5. Tek katmanlı (S/Y) emülsiyon formülü optimizasyonu.....	90
4.5.1. Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulaması	104
4.6. Çoklu emülsiyon (S/Y/S) formülü optimizasyonu.....	105
4.7. Depolama	121
4.7.1. Renk analizi	121
4.7.2. Parçacık boyutu analizi	136
4.7.3. Stabilite testi	145
4.7.4. Mikroskop ile mikro yapı görüntü analizi.....	150
4.7.5. Krosin salınımı	152
4.7.6. Enkapsülasyon etkinliği	158
4.7.7. Krosin profili (LC-MS/MS)	163
4.7.8. Duyusal analiz	171
5. SONUÇLAR	175
6. KAYNAKLAR.....	179
7. EKLER	189
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Farklı yöntemler ve taşıyıcı maddeler kullanılarak elde edilen safran (*Crocus sativus* L.) emülsiyonlarının depolama stabilitesinin araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

12/07/2019


Negin Azarabadi

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	: Santimetre
cm ³	: Santimetreküp
kDa	: Kilodalton
kHz	: Kilohertz
kg	: Kilogram
kPa	: Kilopaskal
L	: Litre
G	: Yerçekimi kuvveti
g	: Gram
M	: Molar
m	: metre
MHz	: Megahertz
mg	: miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
m/z	: kütle/yük oranı
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir kısım
s	: Saniye
α	: Alfa
β	: Beta
\$	: Dolar
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde

μ	: Mikro
μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Alg	: Aljinat
BSD	: Betasiklodekstrin
CAC	: Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu
CAR	: Carboxen
Cs	: Kitosan
CSL	: Kalsiyum stearoil laktilat
DAD	: Diyot Dizi Dedektörü
d/dk	: Devir/Dakika
dk	: Dakika
DVB	: Divinylbenzene
DE	: Dekstroz eşdeğeri
EE	: Enkapsülasyon Etkinliği
ESI	: Enkapsülasyon Stabilité İndeksi
FA	: Yağ asitleri
FR	: Krosin salınımı
GC-MS	: Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi
HLB	: Hidrofilik-Lipofilik Denge
HPLC	: Performanslı Sıvı Kromatografisi
HTCC	: 4-hidroksi-2,6,6-trimetil-1-karboksaldehit-1-siklohekzen
ISO	: Uluslararası Standartlar Teşkilâtı

KO	: Kareler ortalaması
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrometresi
MD	: Maltodekstrin
MF	: Mikrofiltrasyon
MÖ	: Milattan önce
MWCO	: En Son Tutulan Molekül Ağırlığı
NF	: Nanofiltrasyon
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PESU	: Polietersülfon
pH	: Hidrojenin Gücü
PGE	: Poligliserol Esterleri
PGPR	: Poligliserol Polirisinolat
PVP	: Polivinilpirrolidon
SD	: Serbestlik derecesi
SPME	: Katı faz mikroekstraksiyonu
SSL	: Sodyum stearoil laktilat
S/Y	: Su/Yağ
S/Y/S	: Su/Yağ/Su
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
TO	: Ters Ozmoz
UF	: Ultrafiltrasyon
UV	: Ultraviyole
US	: Ultrasonik ses
vd	: Ve diğerleri
VK	: Varyasyon kaynağı
Y/S	: Yağ/Su

Y/S/Y : Yağ/Su/Yağ

WPI : Peyniraltı suyu proteini izolatu

WPC : Peyniraltı suyu proteini konsantresi

*Tezde ondalık ayırıcı olarak nokta (.) kullanılmıştır.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Safran (<i>Crocus sativus</i> L.)	1
Şekil 2.1. İran marketlerinde satılan farklı kalitelerde ve farklı renklendirme güçlerine sahip safran sınıfları (Sarghol, Bunch, Konge, Negin ve Poushal) (Anonymous1).	6
Şekil 2.2. Safranda bulunan başlıca karotenoidlerin kimyasal yapıları (Bathaie vd. 2014)	8
Şekil 2.3. Safranda bulunan bazı kimyasal bileşiklerin yapısı (Shahi vd. 2016).....	9
Şekil 2.4. Pikrokrosinin, HTCC ve safranala dönüşüm mekanizması (Jalali-Heravi vd. 2009)	10
Şekil 2.5. HTCC'nin; safranal, 2,6,6-trimetil-1,4-sikloheksadien-1-karboksaldehid, 2,6,6-trimetil-3-okso-1-sikloheksen-1-karboksaldehid ve 4-hidroksi-2,6,6-trimetil-3-okso-sikloheks-1-en-1-karboksaldehit bileşiklerine dönüşüm mekanizması (Maggi vd. 2010)	11
Şekil 2.6. İzoforonun; 4-ketoizoforon, 2-hidroksi-4,4,6-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on, 2-hidroksi-3,5,5-trimetilsikloheks-2-en-1,4-dion ve 4-hidroksi-3,5,5-trimetil-2-sikloheksen-1-on bileşiklerine dönüşüm mekanizması (Maggi vd. 2010).....	11
Şekil 2.7. Membran çeşitleri (Varzakas ve Tzia 2014).....	15
Şekil 2.8. Tek katmanlı emülsiyonlar; yağ içinde su (S/Y) ve su içinde yağ (Y/S) emülsiyonları ve çoklu emülsiyonlar (Y/S/Y ve S/Y/S) (Jafari 2017)	17
Şekil 2.9. Gıdalarda kullanılan emülsiyon esaslı sistemlere örnekler: a) emülsiyonlar; b) çok katmanlı emülsiyonlar; c) dolu katı parçacıklar; d) mikro kümeler; e) çoklu emülsiyonlar; f) kolloidosomlar; g) doldurulmuş hidrojel parçacıkları ve h) nanoemülsiyonlar (McClements 2015).....	17
Şekil 2.10. Ostwald olgunlaşması (McClements 2015).....	18
Şekil 2.11. a) Yüksek hızlı karıştırıcı; b) Ultrasonik karıştırıcı (McClements 2016)	22
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan safran örneği (Kategori I)	27
Şekil 3.2. Ton açısı değerlerinin değişimine bağlı olarak renk tonları (McLellan vd. 1995)	36
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan krosin standardının absorbans değerleri.....	38
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-1-1 standardının absorbans değerleri.....	40
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-1-2 standardının absorbans değerleri.....	40
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-3 standardının absorbans değerleri.....	40
Şekil 3.7. Duyusal analiz; renk yoğunluğu skalası formu	41
Şekil 3.8. Safranlı pilav duyusal analiz formu	42
Şekil 3.9. Safranlı pilav kullanılarak yapılan duyusal analiz.....	42
Şekil 4.1. Sıcaklığın ve safran: su oranının, renk verme gücü üzerine etkisi	49
Şekil 4.2. Süre ve safran: su oranının, renk verme gücü üzerine etkisi	49
Şekil 4.3. Süre ve sıcaklığın, renk verme gücü üzerine etkisi	50
Şekil 4.4. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların L* değeri üzerine etkisi	55

Şekil 4.5. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların a^* değeri üzerine etkisi	55
Şekil 4.6. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların b^* değeri üzerine etkisi	55
Şekil 4.7. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların h° değeri üzerine etkisi	56
Şekil 4.8. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarları (mg/L).....	57
Şekil 4.9. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait L^* değerleri	62
Şekil 4.10. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait a^* değerleri	62
Şekil 4.11. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait b^* değerleri	62
Şekil 4.12. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait h° değerleri	63
Şekil 4.13. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentatlarının ve permeatlarının krosin (mg/L) değerleri.....	65
Şekil 4.14. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın L^* değeri üzerine etkisi	72
Şekil 4.15. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın L^* değeri üzerine etkisi	72
Şekil 4.16. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın a^* değeri üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.17. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın a^* değeri üzerine etkisi	73
Şekil 4.18. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın b^* değeri üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.19. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın b^* değeri üzerine etkisi	74
Şekil 4.20. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın h° değeri üzerine etkisi.....	74
Şekil 4.21. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın h° değeri üzerine etkisi	74
Şekil 4.22. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın C^* değeri üzerine etkisi	75
Şekil 4.23. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın C^* değeri üzerine etkisi	75
Şekil 4.24. a) Beslenen ekstrakt (E-2); b) Optimum şartlarda elde edilen retentat (PESU filtre, 1kDa, 2 bar, 4°C, 80:20 besleme oranı) ve c) Aynı şartlarda elde edilen permeat (PESU, 1kDa, 2 bar, 4°C, 80:20 besleme oranı)	78
Şekil 4.25. Farklı sıcaklık ve basıncın, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi	80
Şekil 4.26. Farklı basınç ve P:R oranının, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi	81
Şekil 4.27. Farklı sıcaklık ve P:R oranının, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi	81
Şekil 4.28. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranı kullanılarak elde edilen retentatların krosin miktarları (mg/L) (R:retentat)	82
Şekil 4.29. Sıcaklık ve P:R oranının, % geri kazanım üzerine etkisi	86
Şekil 4.30. Sıcaklık ve basıncın, % geri kazanım üzerine etkisi.....	86

Şekil 4.31. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranının % geri kazanım üzerine etkisi	87
Şekil 4.32. Sıcaklık ve P:R oranının, % kayıp üzerine etkisi	87
Şekil 4.33. Sıcaklık ve basıncın, % kayıp üzerine etkisi	88
Şekil 4.34. Basınç ve P:R oranının, % kayıp üzerine etkisi.....	88
Şekil 4.35. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranının % kayıp üzerine etkisi	89
Şekil 4.36. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların hacim ağırlıklı ortalama (D_{43}) değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği	93
Şekil 4.37. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların hacim-yüzey ortalama (D_{32}) değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği	94
Şekil 4.38. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların açıklık değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği	96
Şekil 4.39. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların L^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği.....	98
Şekil 4.40. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların a^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği.....	99
Şekil 4.41. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların b^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği.....	101
Şekil 4.42. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların h° değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği.....	102
Şekil 4.43. Farklı içeriklere sahip, tek katmanlı, safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların, C^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri a) Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve b) 3 boyutlu yüzey grafiği.....	104
Şekil 4.44. Safranlı pilavların L^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	111
Şekil 4.45. Safranlı pilavların a^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	112
Şekil 4.46. Safranlı pilavların b^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	112
Şekil 4.47. Safranlı pilavların h° değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	113
Şekil 4.48. Safranlı pilavların C^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	114
Şekil 4.49. S/Y/S emülsiyonlarının D_{43} değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	119
Şekil 4.50. S/Y/S emülsiyonlarının D_{32} değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	119
Şekil 4.51. S/Y/S emülsiyonlarının Açıklık değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi	120

Şekil 4.52. Depolama sıcaklığı ve formülün safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi	125
Şekil 4.53. Depolama süresi ve formülün safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi	125
Şekil 4.54. Depolama süresi ve sıcaklığının safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi	125
Şekil 4.55. Depolama sıcaklığının ve formülün safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi	130
Şekil 4.56. Depolama süresinin ve formülün safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi	130
Şekil 4.57. Depolama süresinin ve sıcaklığının safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi	130
Şekil 4.58. Depolama sıcaklığının ve formülün safranlı pilavların C^* değerleri üzerine etkisi	135
Şekil 4.59. Depolama süresinin ve formülün safranlı pilavların C^* değerleri üzerine etkisi	135
Şekil 4.60. Depolama süresinin ve sıcaklığının safranlı pilavların C^* değerleri üzerine etkisi	135
Şekil 4.61. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi	140
Şekil 4.62. Depolama süresinin ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi	140
Şekil 4.63. Depolama süresinin ve sıcaklığının, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi	140
Şekil 4.64. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların açıklık değeri üzerine etkisi	145
Şekil 4.65. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerine üzerine etkisi	149
Şekil 4.66. Depolama süresinin ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerine üzerine etkisi	149
Şekil 4.67. Depolama süresinin ve sıcaklığın, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerine üzerine etkisi	149
Şekil 4.68. C formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün $5^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün $25^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün $45^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği	150
Şekil 4.69. D formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün $5^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün $25^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün $45^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği	150
Şekil 4.70. E formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün $5^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün $25^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün $45^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği	151
Şekil 4.71. F formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün $5^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün $25^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün $45^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği	151
Şekil 4.72. G formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün $5^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün $25^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün $45^\circ C$ 'de depolanan emülsiyon örneği	151

Şekil 4.73. H formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri a) Üretim günü, b) 35 gün 5°C’de depolanan emülsiyon örneği, c) 35 gün 25°C’de depolanan emülsiyon örneği d) 35 gün 45°C’de depolanan emülsiyon örneği	151
Şekil 4.74. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi	157
Şekil 4.75. Depolama süresi ve formülün, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi	157
Şekil 4.76. Depolama sıcaklığının ve süresinin, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi	157
Şekil 4.77. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi	162
Şekil 4.78. Depolama süresi ve formülün, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi	162
Şekil 4.79. Depolama sıcaklığının ve süresinin, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi	162
Şekil 4.80. Depolamaya bağlı renk yoğunluğuna ait duyusal analiz sonuçları	171
Şekil 4.81. Depolamaya bağlı duyusal analiz sonuçları	173

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Safranın biyolojik etkinliği ve ilaç olarak kullanımı üzerine çalışan bazı bilim merkezleri (Kafi 2006).....	12
Çizelge 2.2. Farklı gıdalarda kullanılan safran konsantrasyonları (Kafi 2006).....	14
Çizelge 2.3. Membran ayırma tekniklerinin nitelikleri (Cemeroğlu vd. 2004)	15
Çizelge 2.4. Gıda sanayiinde kullanılan bazı emülgatörlerin HLB değerleri (McClements ve Gumus 2016)	21
Çizelge 3.1. Ekstraksiyon optimizasyon koşulları	28
Çizelge 3.2. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtrenin optimizasyon parametreleri.....	30
Çizelge 3.3. S/Y emülsiyonlarının formülüne (Yağ: PGPR: Ekstrakt (K-1)) ait optimizasyon çalışmaları için D-optimal birleşik dizayna ait deneme deseni.....	31
Çizelge 3.4. Dış sulu faz sistemlerinin formüllerine faktöriyel dizayn deneme deseni.....	32
Çizelge 3.5. Depolama örneklerinin formülleri	34
Çizelge 3.6. LC-MS/MS analiz koşulları.....	39
Çizelge 4.1. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücü (ortalama±standart sapma).....	46
Çizelge 4.2. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücüne ait varyans analiz sonuçları	47
Çizelge 4.3. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücünün ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	48
Çizelge 4.4. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın (E-1) renklendirme gücü ve ISO yöntemi ile hazırlanan ekstraktın (E-2), krosin cinsinde %1'lik renk verme gücüne ait varyans analiz sonuçları	50
Çizelge 4.5. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın (E-1) renklendirme gücü ve ISO yöntemi ile hazırlanan ekstraktın (E-2), krosin cinsinde %1'lik renk verme gücünün ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	50
Çizelge 4.6. Farklı filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentatlarının ve permeatlarının renk değerleri	51
Çizelge 4.7. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları	53
Çizelge 4.8. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	54
Çizelge 4.9. Farklı filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentat ve permeatlarının krosin (mg/L) değerleri	56
Çizelge 4.10. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları	57
Çizelge 4.11. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (n=2).....	57
Çizelge 4.12. PESU filtre, 70:30 (permeat: retentat) oran ve farklı ayırma sınırları kullanılarak hazırlanan retentatların ve permeatların renk değerleri	58
Çizelge 4.13. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları	60
Çizelge 4.14. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	61

Çizelge 4.15. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarları (mg/L).....	64
Çizelge 4.16. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.17. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	65
Çizelge 4.18. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk değerleri.....	67
Çizelge 4.19. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk değerleri.....	67
Çizelge 4.20. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerine ait varyans analiz sonuçları	69
Çizelge 4.21. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerine ait varyans analiz sonuçları	69
Çizelge 4.22. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	71
Çizelge 4.23. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	76
Çizelge 4.24. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarları (mg/L).....	79
Çizelge 4.25. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarları (mg/L) ait varyans analiz sonuçları	79
Çizelge 4.26. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	80
Çizelge 4.27. UF koşullarına bağlı olarak retentat ve permeatlardaki krosin miktarının (mg/L) değişimi	83
Çizelge 4.28. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerleri	84
Çizelge 4.29. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerine ait varyans analiz sonuçları	84
Çizelge 4.30. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	85

Çizelge 4.31. D-optimal birleşik dizayn kullanılarak hazırlanan deneme desenine ait deneysel sonuçlar	91
Çizelge 4.32. Hacim ağırlıklı ortalama çap (D_{43}) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	92
Çizelge 4.33. Hacim-yüzey ortalama çap (D_{32}) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	94
Çizelge 4.34. Açıklık değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	95
Çizelge 4.35. Parlaklık (L^*) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	97
Çizelge 4.36. a^* Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	99
Çizelge 4.37. b^* Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	100
Çizelge 4.38. h° Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	102
Çizelge 4.39. C^* değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	103
Çizelge 4.40. Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulamasına ait analiz sonuçları	104
Çizelge 4.41. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavlara ait L^* , a^* ve b^* değerleri	106
Çizelge 4.42. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavlara ait L^* , h° ve C^* değerleri	107
Çizelge 4.43. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ait varyans analizi sonuçları	108
Çizelge 4.44. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	110
Çizelge 4.45. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutları	115
Çizelge 4.46. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutlarına ait varyans analizi sonuçları	116
Çizelge 4.47. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutlarının ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	118
Çizelge 4.48. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L^* değerleri	122
Çizelge 4.49. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L^* değerlerine ait varyans analizi sonuçları	123
Çizelge 4.50. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L^* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	124
Çizelge 4.51. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerleri	127
Çizelge 4.52. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait varyans analizi	128
Çizelge 4.53. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu	129
Çizelge 4.54. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C^* değerleri	132

Çizelge 4.55. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C* değerlerine ait varyans analizi sonuçları	133
Çizelge 4.56. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	134
Çizelge 4.57. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan D ₄₃ değerleri (µm).....	137
Çizelge 4.58. Emülsiyonların D ₄₃ değerlerine ait varyans analizi sonuçları	138
Çizelge 4.59. Emülsiyonların D ₄₃ değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	139
Çizelge 4.60. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerleri.....	142
Çizelge 4.61. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları	143
Çizelge 4.62. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	144
Çizelge 4.63. Emülsiyonların depolama boyunca D ₄₃ değeri üzerinden hesaplanan ESİ değerleri.....	146
Çizelge 4.64. Emülsiyonların depolama boyunca D ₄₃ değeri üzerinden hesaplanan ESİ değerlerine ait varyans analizi sonuçları	147
Çizelge 4.65. Emülsiyonların depolama boyunca D ₄₃ değeri üzerinden hesaplanan ESİ değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	148
Çizelge 4.66. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerleri.....	153
Çizelge 4.67. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine ait varyans analizi sonuçları	154
Çizelge 4.68. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	156
Çizelge 4.69. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerleri	159
Çizelge 4.70. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	160
Çizelge 4.71. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları	161
Çizelge 4.72. Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profilili	164
Çizelge 4.73. Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profiline ait varyans analiz sonuçları	165
Çizelge 4.74. Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırmalı Test sonuçları	165
Çizelge 4.75. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profili	166
Çizelge 4.76. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profiline ait varyans analiz sonuçları	166
Çizelge 4.77. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırmalı Testi sonuçları	167
Çizelge 4.78. Çoklu emülsiyonların krosin profili	168
Çizelge 4.79. Çoklu emülsiyonların krosin profiline ait varyans analiz sonuçları	169
Çizelge 4.80. Çoklu emülsiyonların krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	170

1. GİRİŞ

Safran Iridaceae familyasına ait *Crocus sativus* L. (Şekil 1.1), çiçeklerinin koyu kırmızı stigmalarının kurutulması sonucu elde edilen dünyanın en pahalı (50-60 ABD\$/g) baharatının elde edildiği bitkidir (Amanpour vd. 2018). Safran Fars ve Araplar tarafından Za'afarn (sarı çiçek) olarak adlandırılırken, dünyanın bazı bölgelerinde ise kırmızı altın olarak anılmakta (Ramadan vd. 2012; Shahi vd. 2016) ve yetiştiriciliği MÖ 1500-2500 yıllarına dayanmaktadır. Günümüzde Çin, İtaçıklıkya, İtalya, Hindistan, Pakistan, Türkiye, Fransa, İsviçre ve Yunanistan gibi birçok ülkede yetiştirilen safranın menşei İran olarak bilinmektedir. Nitekim İran günümüzde safranı en çok üreten ülke olup, dünya safran ihtiyacının %80'ini karşılamaktadır. İran'da toplam safran üretiminin %95'i ise Horasan bölgesinde gerçekleştirilmektedir (Ramadan vd. 2012; Shahi vd. 2016).



Şekil 1.1. Safran (*Crocus sativus* L.)

Türkiye’de safran yetiştiriciliği, Safranbolu ilçesinde bulunan 15 köyde yaklaşık 55 dekarlık alanda ve 50 çiftçi aile tarafından gerçekleştirilmektedir. Karabük Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü’nün 2017 yılında yayınladığı “Dünyanın En Pahalı Baharatı Safranbolu Safranı” adlı proje raporuna göre 2016 yılında bu bölgede toplamda 12 kg safran üretimi gerçekleştirilmiştir. 2014 yılında Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yapılan bir çalışma sonucu Türk safranı Karaarslan adı ile tescillenmiştir (Anonim 1 ; Arslan 2016).

Safran bitkisinin yaş ağırlığının %86.42’sini taç yapraklar (petal), %5.93’ünü erkek organlar (stamen) ve %7.64’ünü dişi organlar (stigma ve style (boyuncuk)) oluşturmaktadır (Şekil 1.1) (Rouhani vd. 2015). Bir çiçekte 3 adet (2-3 cm uzunluğunda) stigma bulunmakta olup, bu stigmaların toplamda yaklaşık 2 mg ağırlığında olduğu bildirilmektedir. Safran olarak bilinen baharat aslında safran bitkisinde bulunan bu stigmaların toplanması ve kurutulması ile elde edilir (Shahi vd. 2016).

Safran yetiştiriciliği oldukça zahmetli olup; 1 kg kuru safran, 80 kg taze çiçekten (110000- 165000 adet çiçek) elde edilmektedir. Ürünün kalitesi; yetiştirme, işleme teknolojisi (çiçeklerin toplanması, ayıklanması ve kurutma), depolama ve ekstraksiyon koşulları ile doğrudan ilişkilidir (Gracia vd. 2009; Shahi vd. 2016).

Safran ekstraktı; *Crocus sativus* L. çiçeğinin kırmızı renkli stigmalarının kurutulup öğütüldükten sonra belirli bir süre (5-10 dk) sıcak suda bekletilmesi ile elde edilmektedir. Söz konusu ekstrakt; içerdiği renk, aroma ve lezzet bileşenleri nedeni ile

birçok gıdanın (et, tavuk, balık, deniz mahsulleri, pilav, salata sosları, tatlılar, lokum, çay, alkollü ve alkolsüz içecekler vd.) hazırlanması ve üretiminde kullanılmaktadır (Şekil 1.1).

Günümüzde insanlar vakitlerinin büyük bir kısmını çalışarak harcamaktadırlar. Bu nedenle yemek yaparken ihtiyaç duydukları malzemelerin olabildiğince kullanıma hazır olmasını tercih etmektedirler. Geleneksel yöntemle hazırlanan safran ekstraktının çevresel faktörlere bağlı (ısı, ışık, oksijen vd.) olarak raf ömrü (stabilitesi) düşüktür. Ayrıca ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak renk ve aroma kayıplarının meydana gelmesi ve nispeten uzun ekstraksiyon süresi gibi bazı olumsuz faktörler de söz konusudur. Bu sebeplerden dolayı safran; marketlerde kurutulmuş stigma formuna alternatif olarak safran tozu, safran spreyi, kapsüllenmiş safran gibi formlarda da tüketime sunulmaktadır. Safran pahalı bir baharat olduğundan tüketiciye sunulurken maliyet avantajı sağlamak amacıyla katkılanan doğal ve/veya yapay renklendiriciler ürünün taşıdığı nedene olmaktadır. Çeşitli koruyucu katkı maddelerinin de raf ömrünü artırmak için ürüne eklendiği bilinmektedir.

Safran; pahalı ve az bulunan bir baharat olmasına rağmen yoğun rengi ve aroması nedeniyle kullanımı oldukça yaygındır. Tüketicilerin kullanıma hazır gıdalara yönelik artan talebi de göz önünde bulundurularak safran ekstraktının kolay bulunabilir ve kullanılabilir, stabil bir formda tüketiciye sunulmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, İran'dan temin edilen, Kategori-I sınıfında tanımlanan ve ISO standardına (Anonymous2) göre 1.sınıf kalitede olan safran örnekleri kullanılmıştır. Örneklerle; 3 farklı safran:su oranı (0.5:1, 1:1 ve 2:1, w/v), 3 farklı sıcaklık (60, 70 ve 80°C) ve 10 farklı süre (5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ve 360 dk) işlemleri uygulanarak ekstraksiyon optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum şartlarda elde edilen ekstrakt ile ISO'da belirtilen yöntemle hazırlanan ekstrakt renklendirme gücü açısından karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu ekstraksiyon yöntemlerinin renklendirme gücü üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) düzeyde bulunmamıştır. ISO yöntemi; hem uluslararası geçerliliği olan bir yöntem olduğu, hem de uygulanan ekstraksiyon oda sıcaklığında gerçekleştirildiği ve bu da enerji tasarrufu sağladığı için çalışmanın diğer basamaklarında ekstraksiyon metodu olarak tercih edilmiştir. ISO 3632-2 yöntemi (Anonymous2) kullanılarak elde edilen ekstraktı konsantre etmek amacıyla ultrafiltrasyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlemde; filtre materyali (PESU ve Hydrosart), ayırma sınırı (1, 5 ve 10 kDa), permeat:retentat oranı (60:40, 70:30 ve 80:20), basınç (2 ve 3 bar) ve sıcaklık (4 ve 25°C) parametreleri optimize edilmiştir. Ultrafiltrasyon işlemi sonucunda elde edilen konsantre ekstrakt (retentat), tek katmanlı (Su/Yağ) emülsiyon sistemine dönüştürülmüştür. Tek katmanlı emülsiyonun formülü (yağ, sürfektan (PGPR) ve ekstrakt), D-optimal birleşik dizayn yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Optimum formül ile hazırlanan tek katmanlı emülsiyon, çok katmanlı emülsiyon sistemi elde etmek için kullanılmıştır. Ancak ultrafiltrasyon (UF) işlemi çok katmanlı emülsiyon için gerekli konsantrasyonda ekstrakt elde edilmesi için yeterli olmamıştır. Bu sebeple ve çalışmanın amacı göz önünde bulundurularak safran oranı daha yüksek bir ekstrakt hazırlanmış ve çok katmanlı emülsiyonun üretiminde kullanılmıştır. Çok katmanlı emülsiyon formülü optimizasyonunda farklı taşıyıcılar (maltodekstrin, peyniraltısuyu proteini izolatu, β -siklodekstrin) ve bunların farklı oranları bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Optimum olarak belirlenen ilk 2 formüle sahip emülsiyona ultrasonikasyon işlemi uygulanmıştır. Son olarak bu 2 ayrı formüldeki emülsiyon sistemleri 35 gün boyunca 3 farklı sıcaklıkta depolanarak depolama stabiliteleri araştırılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Safran (*Crocus sativus* L.)

2.1.1. Yetiştirme ve işleme teknolojisi

Safran bitkisi (*Crocus sativus* L.); 30-50° kuzey enlemleri ile 10°batı-80°doğu boylamları arasında, Akdeniz ikliminde yetişen, dünyanın en pahalı baharatının elde edildiği bitkidir. Bazı kaynaklara göre safranın menşei; İran, Yunanistan, Türkiye ve bazı Asya ülkeleri olarak bilinmektedir (Kazemi vd. 2011). Bu kaynaklara göre safranı ilk defa İranlılar; Yunanlılar, Romalılar, Çinliler ve Araplara ihraç etmişlerdir. Aynı zamanda sürgüne giden İranlılar tarafından Suriye’de (Şam) ilk defa safran ekimi yapılmıştır. Onuncu yüzyılda İaııklıkıyollar safran yetiştiriciliğini Araplardan öğrenmişlerdir. Safran, satış birimi ton ve kilogram yerine miskal olan tek bitkidir (Kazemi vd. 2011). Bir miskal, 4.722 g’a eşdeğerdir (Hinz 1990). Günümüzde ise safran satışında daha çok gram kullanılmaktadır. İaııklıkıyollardan sonra 18. yüzyılda İngiltere’de Walden bölgesinde safran yetiştiriciliği gelişmiş ve günümüzde bu bölge halen Saffron Walden olarak bilinmektedir (Kazemi vd. 2011).

Crocus sativus L.’nin de içinde yer aldığı “Iridaceae” familyası; rizomlu, yumrulu, kormlu ve soğanlı, çok yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır. Iridaceae familyası yeryüzünde yaklaşık 60 cins ve 1500 tür içeren oldukça büyük bir familyadır (Behnia 2012; Mauseth 2014). *Crocus* cinsinin genellikle Akdeniz bölgesine dağılmış 100 kadar türü bulunmakta ve çiçekleri güzel olması nedeni ile genelde süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Behnia 2012; Vurdu ve Çiçek 1992; Warburg 1957). *Crocus sativus* L. soğanı; yuvarlak, sert, etli, içi beyaz, dışı kahverengi, 0.5-60 g ağırlığında, yaprakları yeşil, ince ve yaklaşık 10 cm uzunluğundadır. Safran çiçekleri ise 6 adet mor renkli taç yaprak (petal), 3 adet sarı renkli erkek organ (stamen) ve 3 adet stigmanın 1 adet boyuncuk (style) ile bağlandığı dişilik organından oluşmaktadır. Safran genellikle kışın sıfırın altında 20°C’ye kadar düşen, yazın ise +40°C’yi bulan, yıllık yağış miktarı 150-300 mm olan, kuru iklim koşullarında ve deniz seviyesinden 1300-2400 m yükseklikte bölgelerde yetiştirilmektedir (Maghsoudi 2011).

Safran; kireçli, pH’ı 7-8 civarında olan topraklarda iyi yetişir. İran’ın geleneksel dikim yönteminde tarlada çukurlar açılır ve her çukura soğanın büyüklüğüne bağlı olarak 3-5 adet soğan yerleştirilir. Soğanlar toprağa yerleştirilmeden önce kök bölgesinde bulunan kabuk kısmen soyulur. Bu şekilde hazırlanan soğanlar suyu daha kolay emebilmekte ve dolayısı ile daha kolay çimlenebilmektedir. Çukurların birbirine mesafesi 6-8 cm’dir. Dikim için seçilen soğanlar uygun ağırlıkta (8 g) ve sağlıklı olmalı; herhangi bir yara, bere ve hastalık içermemelidir. Bu yüzden dikimden önce safran soğanlarının mantar dezenfektanları ile yıkanması önerilir. Ayrıca hastalıktan şüphelenilen soğanların dikimine izin verilmemelidir. Her hektara 3-10 ton soğan dikilmektedir. Diğer bir deyişle her dönüme yaklaşık 400 kg soğan dikilmektedir. İran’da soğanların toprağa dikimi haziran-ekim ayları arasında yapılır. Dikim sonrası tarlanın yüzeyi hayvansal gübreler ile örtülür. Böylece soğanların ihtiyacı olan besin maddeleri ve gelişmeleri için sıcak ortam sağlanmaya çalışılır (Behnia 2012; Maghsoudi 2011).

Safran bitkisinin su ihtiyacının düşük olması bu bitkinin yarı kurak bölgelerde kolayca yetiştirilmesine neden olmuştur. Rakımın yüksek ve sıcaklığın düşük olduğu

bölgelerde sonbaharın başlarında sulama yapılır. Rakım düştükçe ve sıcaklık arttıkça, çiçeklenme gecikmekte, ilk sulama tarihi sonbaharın ortasına veya bazen sonlarına doğru ertelenmektedir. İlk sulamadan sonra günlük ortalama sıcaklığın 12°C'den daha düşük olduğu dönemlerde ilk safran çiçekleri tarlada görülmeye başlar. Ancak sıcaklığın yüksek olması çiçeklerden önce yaprakların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu yüzden tarlanın sulanması çiçeklenme döneminden 14-21 gün önce yapılmakta ve böylece çiçeklerin yapraklardan önce ortaya çıkması sağlanmaktadır. Çiçeklerin yapraklardan önce ortaya çıkması safranın kalitesinin artmasının yanı sıra hasat giderlerinin düşmesine de neden olmaktadır (Behnia 2012; Maghsoudi 2011).

Safran yetiştiriciliği yoğun işçilik gerektirir. Keşmir'de 1 hektar alanda yaklaşık 560 yevmiye harcanarak safran yetiştiriciliği gerçekleştirilmektedir. Buna göre; 80 yevmiye dikim esnasında, 120 yevmiye toprak düzenlemede, 160 yevmiye yabancı ot mücadelesinde, 120 yevmiye çiçek toplama ve ayıklama için gerekli iken 80 yevmiye yavruleyen soğanları topraktan çıkarıp sınıflandırmada gereklidir (Behnia 2012).

Safran çiçeklerinin toplanması yoğun işçilik ve el emeği gerektirir. Bunun nedeni ise çiçeklerin topraktan birkaç santimetre yükseklikte, sık ve uzun ince yaprakların arasında bulunmasıdır. Bitkide çiçeklenme sonbaharda gerçekleşmekte ve 2-3 hafta sürmektedir. Bu süre zarfında çiçekler hemen hemen her gün işçiler tarafından el ile toplanmaktadır. Toplanan çiçekler fazla bekletilmeden (soldurulmadan) ayıklama işlemine tâbi tutulmaktadır. Ayıklama; 3 adet kırmızı renkli stigmanın, çiçeğin taç yaprakları ve erkek organlarından el ile ayrılması ile gerçekleştirilir. Bu aşama yoğun emek gerektirmekte ancak kapalı ortamda oturarak yapılabildiği için nispeten kolay olmaktadır (Negbi 2003). Bir kadın işçinin saatte 50–60 g tepeciği çiçekten ayırabilmesi, ortalama 80–120 bin çiçekten 5 kg yaş tepecik, bundan da 1 kg kuru ürün alınması ve çiçek veriminin 80–90 kg/da olup, günde 2.5-3.5 kg çiçek/da toplanması bitkinin en pahalı baharat olmasının başlıca sebepleri arasındadır (Çavuşoğlu ve Erkel 2005; Ünalı 2007). Geleneksel yöntemlere alternatif olarak mekanik (fan) ve suda-yüzdürme yöntemleri ile de çiçek ayıklama gerçekleştirilebilmektedir. Ancak suda-yüzdürme yöntemi ile ayıklamada bazı renkli bileşenlerin suya geçmesi düşük kalitede son ürün elde edilmesi sebebiyle pek fazla tercih edilmemektedir (Negbi 2003).

Ayıklama işlemi sonucunda hazırlanan stigmalar kurutma işlemine tâbi tutulmaktadır. Kullanılan kurutma yöntemi nihai ürün kalitesini doğrudan etkilemektedir (Negbi 2003). Güneşte kurutma, İran'ın geleneksel kurutma yöntemlerinden biridir. Bu yöntemde ayıklanan stigmalar, tutamlar halinde fırça şeklinde bir araya getirilmekte ve üzerine temiz bez örtülmüş bir sepete yerleştirilmektedir. Daha sonra sepetler asılarak stigmalar güneşte ve bazen gölgede kurutma işlemine tâbi tutulmaktadır. Burada kurutma işleminin yeterliliği işçilerin tecrübesine bağlı olarak göz kararı ile değerlendirilmektedir. Bu şekilde üretilen safran baharatının renklendirme gücü düşük, nem, küf ve mikrobiyal yükü yüksektir (Omidibi vd. 2000). Güneşte kurutma yöntemi, günümüzde Hindistan safranının üretiminde kullanılmaktadır (Kanakis vd. 2004). Bir diğer kurutma yöntemi ilk defa Yunanistan safranının üretiminde kullanılmıştır. Bu yöntemde göre stigmalar özel eleklerin üzerine yerleştirilmekte ve 30-35°C sıcaklıkta yaklaşık 10-12 saat boyunca karanlıkta kurutma işlemine tâbi tutulmaktadır (Gregory vd. 2005; Negbi 2003).

Elek üzerinde, ateş eşliğinde kurutma yöntemi ise ilk defa İaııklıkıyollar tarafından keşfedilmiş olup günümüzde İran ve İaııklıkıyol safranlarının üretiminde

kullanılmaktadır. Bu şekilde üretilen safranlar el değmeden üretilmekte olup yüksek renklendirme gücüne ve düşük mikrobiyal yüke sahiptirler. Buna göre 50-200 g stigma özel eleklerle yerleştirilmekte ve 75°C’de (özel kurutma fırınlarında) doğrudan ateşe maruz bırakılmadan, 15-20 dakika kurutma işlemine tâbi tutulmaktadır. Bu süre sonunda ön yüzeyi kuruyan stigmalar başka bir eleğe aktarılmakta (ters düz edilmektedir) ve tekrar 15 dakika kurutma işlemine tâbi tutulmaktadır. Yaklaşık 3-4 kez tekrar eden bu işlem sonucunda nem oranı %10-12’ye düşen stigmalar (30-40 g), temiz bir bezin üzerine soğutma amacıyla serilmektedir. Yeterince soğuyan safran baharatı özel ambalajlarda paketlenerek satışa sunulmaktadır (Gregory vd. 2005; Kanakis vd. 2004).

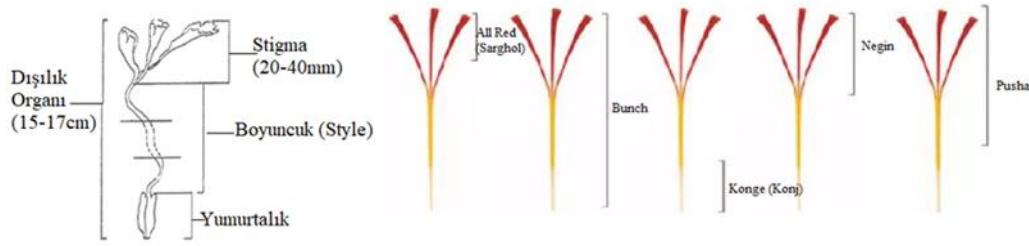
2.1.2. Safranda tağşiş ve hileler

Safranın çok aranan bir baharat olması ve fiyatının da çok yüksek olması nedeniyle hilelere de açık olacağı ortadadır. Nitekim ülke ve bölgelere göre değişmekle birlikte safrana yapılan yaygın hileler genel olarak aşağıda belirtildiği gibi sınıflandırılabilir (Peter 2001);

1. Bölgesel ve uluslararası pazarlarda ürünün orijinal yetiştirilme bölgesi konusunda alıcılar yanıltılabilmektedir. Bu yanıltma bir ülke içerisinde en kaliteli safran yetiştirilen bölgenin veya meşhur ülke adının kullanılması şeklinde yapılabilir.
2. Ürün, eski ürünle ve/veya çiçeğin dışı borusu ile karıştırılabilir.
3. Çiçeğin diğer parçalarıyla karıştırılabilir.
4. Ağırlığı arttırmak amacıyla nem, şurup, bal, gliserin, bazı yağlar, baryum sülfat, kalsiyum karbonat, nişasta, potasyum hidroksit, laktoz ve bazı tuzlar safrana katılabilir.
5. Diğer safran türleri, narçiçeği, kırmızıbiber tozu, gelincik çiçeği, pırasa kökü ve safran stigmalarına benzeyen değişik bitki parçalarının boyanmış kısımları gibi başka bitkiler katılabilir.
6. Bazı durumlarda tuzlu lifler ve kuru et katılabilir.
7. Renklendirilmiş jelâtin gibi yapay ürünler katılabilir.
8. Organik renklendirici maddeler (pikrik asit, fuksin ve katran türevleri) katılabilir.

2.1.3. Safranın sınıflandırılması

Tarihten günümüze gelinceye kadar gıda, ilaç, kozmetik ve boya endüstrisi gibi farklı endüstri dallarında kullanılan ve ekonomik önemini hiç kaybetmemiş olan safran; bugün dünyada ticareti yapılan en pahalı baharat durumundadır. Pahalı bir baharat olması nedeniyle safrana geçmişte olduğu gibi günümüzde de tağşiş ve hileler yapılmaktadır. Ancak gerçek safranın pazarda farklı kalite sınıfları ve buna bağlı olarak farklı fiyatları da mevcuttur. Nitekim İran marketlerinde satılan safranlar farklı kalite ve renklendirme gücüne sahiptir. Bunun temel nedeni safranın farklı oranda stigma ve boyuncuk (style) içeriğmesi ile ilgilidir. İran marketlerinde satılan bu ürünler organik safran, Negin safran, Sargol (all red) safran, Poushal safran, Bunch safran, Beyaz safran, Konge (Konj) safran ve diğer ürünler olarak sınıflandırılmakta ve halk arasında bu şekilde isimlendirilmektedir (Şekil 2.1) (Anonymous1).



Şekil 2.1. İran marketlerinde satılan farklı kalitelere ve farklı renklendirme güçlerine sahip safran sınıfları (Sarghol, Bunch, Konge, Negin ve Poushal) (Anonymous1)

Dünya safran ihtiyacının %80'ini karşılayan İran için safran stratejik öneme sahiptir. Bu nedenle yapılan hilelerin önüne geçebilmek ve safranın kalitesine göre sınıflandırmak amacıyla İran Standartlar ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü (*Institute of standards and Industrial Reserch of Iran*) tarafından yayınlanan 259-1 ve 259-2 sayılı safran standardına göre; safran, fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından 4 farklı şekilde Mükemmel (Momtaz), İpliksi-1 (Reshteiye-1), İpliksi-2 (Reshteiye-2) ve İpliksi-3 (Reshteiye-3) sınıflandırılmıştır. Mükemmel, İpliksi-1, İpliksi-2 ve İpliksi-3 safranlarında stigmalar sırası ile %0.5, %5, %10 ve %20 oranından fazla boyuncuk içermemelidirler. Mükemmel ve İpliksi-1 sınıfında olan safranlarda nem oranı %10'dan fazla, İpliksi-2 ve İpliksi-3'te bu oran %12'den fazla olmamalıdır. Aynı standarda göre asitte çözünmeyen kül miktarının Mükemmel ve İpliksi-1 sınıfı safranlar için kuru maddede sırasıyla en fazla %0.5 ve %1 iken İpliksi-2 ve İpliksi-3 safranları için kuru maddede en fazla % 1.5; suya geçen ekstrakt miktarının kuru maddede en fazla % 65; ham lif miktarının kuru maddede en az %5.5 ve en fazla % 6; toplam azot miktarının ise kuru maddede en fazla %3 olması gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca safranın renk (krosin) ve acılık (pikrokrosin) açısından kalitesini belirleyen ve yukarıda da bahsedildiği üzere sınıflandırmada kullanılan bileşenlerinin limitleri ise 259-2 tarafından spektrofotometrik bir ölçüm yöntemiyle belirlenmiş ve bu yöntemle göre safranın %1'lik sulu çözeltisinin 257 nm'de pikrokrosin bileşiğinin vermiş olduğu absorbans değeri üzerinden hesaplanan renk verme gücünün; Mükemmel, İpliksi-1, İpliksi-2 ve İpliksi-3 sınıfları için sırasıyla 85, 80, 70 ve 70 olması gerektiği bildirilmiştir. 440 nm'de krosinin vermiş olduğu absorbans değeri ise Mükemmel, İpliksi-1, İpliksi-2 ve İpliksi-3 sınıfları için sırasıyla 220, 200, 180 ve 150 olması gerektiği bildirilmektedir. Bununla birlikte yine aynı çözeltideki, sınıflandırmada kullanılmayan ama safranın kalitesinin bir ölçütü olarak ana aroma bileşeni olan safranalin 330 nm'de vermiş olduğu absorbans üzerinden hesaplanan değer 20-50 arasında olması gerektiği bildirilmiştir.

İran Standartlar ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü tarafından yayınlanan 259-1 ve 259-2 sayılı standart, aynı zamanda uluslararası bir standart olan ISO/TS 3632-1:20 (Bölüm 1: Safranın Özellikleri) ve ISO/TS 3632-2:2003 (Bölüm 2: Analiz Metotları)'ü kapsamaktadır. ISO/TS 3632-2 göre de safran fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından 4 farklı şekilde sınıflandırılmıştır. Ancak burada Kategori I, Kategori II, Kategori III ve Kategori IV olarak isimlendirilmiştir. ISO yönteminde safranın %1'lik sulu çözeltisinin 257 nm'de pikrokrosin bileşiğinin vermiş olduğu absorbans değeri üzerinden hesaplanan renk verme gücünün Kategori I, Kategori II, Kategori III ve Kategori IV için sırasıyla 70, 55, 40 ve 30 olması gerektiği bildirilmiştir. 440 nm'de krosinin vermiş olduğu absorbans değeri ise Kategori I, Kategori II, Kategori III ve Kategori IV için sırasıyla 190, 150, 110 ve 80 olması gerektiği bildirilmektedir (Anonymous2). Bununla birlikte yine aynı

çözeltideki, sınıflandırmada kullanılmayan ama safranın kalitesinin bir ölçütü olarak ana aroma bileşeni olan safranalin 330 nm’de vermiş olduğu absorbans üzerinden hesaplanan değerin İran standardına benzer olarak 20-50 arasında olması gerektiği bildirilmiştir.

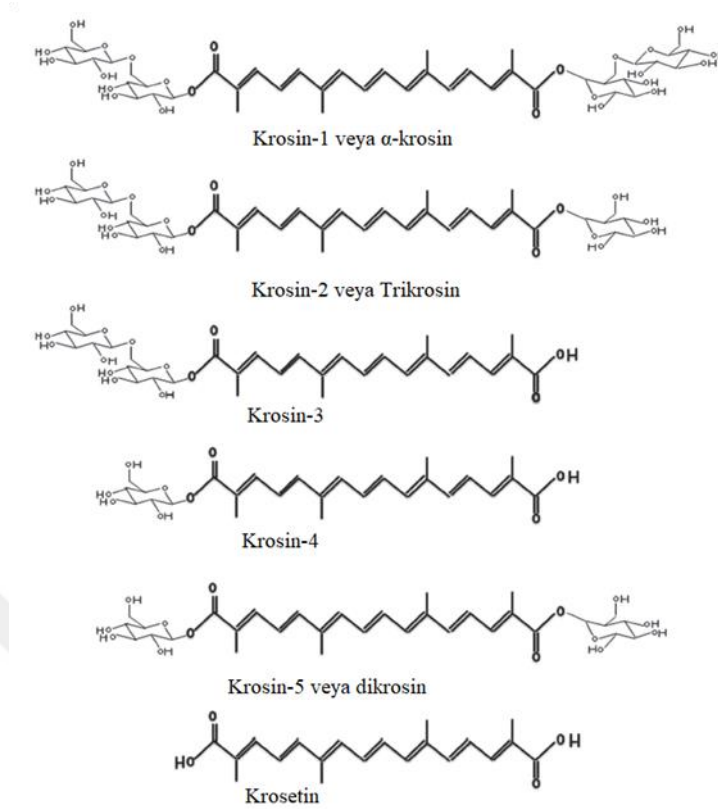
2.1.4. Safranın kimyasal yapısı

Karotenoidler, bitkiler tarafından hücre içindeki plastitlerde (kloroplastlar ve kromoplastlar) sentezlenen bileşiklerdir. Hayvansal dokulara ancak beslenme aracılığıyla taşınır ve orada modifiye edilerek depolanır. 5 karbonlu sekiz izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle 40 karbonlu merkezi bir iskeletten oluşur. Karotenoidler; karotenler ve ksantofiller olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Karotenler sadece karbon ve hidrojen atomundan oluşurken; ksantofiller oksijen atomu bulunduran hidroksi, epoksi, keto, karboksi ve metoksi gibi gruplar da içerirler. Başlıca karotenoidler; α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin, likopen, lutein, zeaksantin, astaksantin, kantaksantin ve fukoksantin olarak bilinmektedir. Astaksantin, kantaksantin ve fukoksantin sırası ile yeşil alglerde, somonda ve kahverengi alglerde bulunmaktadır. Yumurta sarısı ise β -kriptoksantin, lutein ve zeaksantin içermektedir. α -karoten ve β -karoten ise yeşil, sarı, turuncu meyvelerde ve yeşil yapraklı sebzelerde bulunmaktadır. Koyu yeşil yapraklı sebzeler, kırmızı biber, mısır ve domates de lutein ve zeaksantin içermektedir (Saldamlı 2007, Bolhasani 2014).

Karotenoidler, genellikle yağda ve organik çözücülerde çözünür. Likopen gibi bazı karotenoidler asiklik yapıdadır. Ancak karotenoidlerin çoğu, molekülün yalnızca bir ucunda ya da her iki ucunda da sıklık halka içerir. Örneğin β -karotenin polien zincirinin her iki ucunda da üç adet metil bileşiği içeren siklohekzen halkası bulunmaktadır. Ama krosin, polien zincirinin her iki ucunda glikozil birimi bulundurduğu için çoğu karotenoidden farklı olarak suda çözünür. Diğer karotenoidlere kıyasla ortam koşullarından daha fazla etkilenir (Saldamlı 2007, Bathaie 2014).

Safran baharatı yaklaşık % 10 nem, % 53 suda çözünen madde (%14 şeker, %10 gam, %8 pentozan, %6 pektin, %6 nişasta, %2 α -krosin, %1 diğer karotenoidler), %12 protein, %6 kül, %6 uçucu olmayan yağ, %1 uçucu yağ, %5 lif ve diğer bileşikler içermektedir (Christodoulou vd. 2015). Yapılan bazı bilimsel araştırmalar sonucunda safran stigmalarında 150’den fazla farklı kimyasal bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler; lipofilik ve hidrofilik karotenoidler, proteinler, aminoasitler, mineraller, müsilaj, nişasta, zamlar, vitaminler (özellikle riboflavin ve tiamin), pigmentler (krosin, α - ve β - karoten, antosiyanin, likopen, flavonoidler ve zeaksantin), alkaloidler, saponinler, safranin (aromatik terpen), pikrokrosin (acı tat) ve krosetinlerden oluşmaktadır. Safranın karakteristik bileşenlerinden olan krosin ve pikrokrosin; zeaksantin biyooksidatif bölünmesi sonucu sentezlenir. (Shahi vd. 2016; Wang vd. 2014).

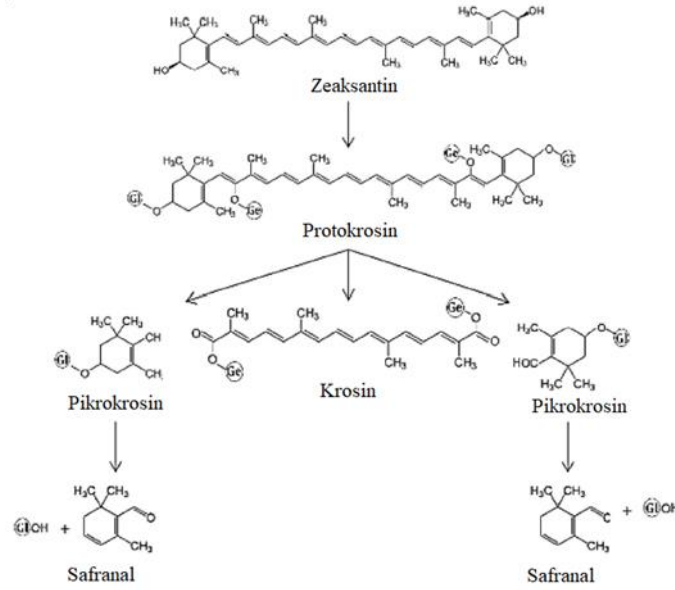
Krosin (8,8-diapokaroten-8,8-dioik asit) safranda bulunan mono-glikozil veya di-glikozil polien esteri bileşik grubuna verilen isim olup, $C_{44}H_{70}O_{28}$ kapalı kimyasal formülüne ve 976.96 g/mol molekül ağırlığına sahiptir (Shahi vd 2016). Krosin, safrandaki en önemli ve başlıca pigment (~%80) olup, safranın parlak sarı-kırmızı renginden sorumludur. Şekil 2.2’de de görüldüğü gibi bu bileşik cis- ve trans- formunda bulunabilir (Shahi vd. 2016; Tarantilis vd. 1995).



Şekil 2.2. Safranda bulunan başlıca karotenoidlerin kimyasal yapıları (Bathaie vd. 2014)

Krosinler, anomerik karbon atomları üzerinde bir karboksilik asit grubu tarafından esterleşmiş karbonhidrat (D-glukozil veya D-gentiobioz) grupları içermektedir (Bathaie vd. 2014). Krosin-1, dokuz konjuge çift bağa sahip olan krosetinin kısa karbon zinciridir (Kafi 2006). İyonik olmayan Krosin-1 ($C_{44}H_{64}O_{24}$, molekül ağırlığı: 977 g/mol, erime noktası: $186^{\circ}C$) safranın sarı-kırmızı renginden sorumlu en önemli hidrofilik karotenoid olup kuru safran kitlesinin %10'undan fazlasını oluşturmaktadır (Bathaie vd. 2014; Bolandi ve Ghoddusi 2006; Lage ve Cantrell 2009). Yapılan literatür taramaları sonucu bu bileşiğin bazı kaynaklarda Krosin-1, α -krosin ve trans-krosetin di-(b-D-gentiobiosyl) ester olarak da adlandırıldığı görülmüştür (Bathaie vd. 2014; Caballero-Ortega vd. 2007; Lage ve Cantrell 2009; Shahi vd. 2016).

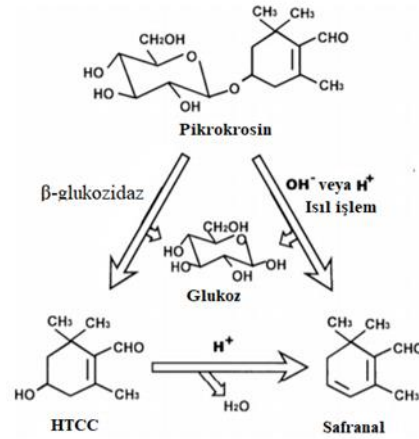
Erime noktası $285^{\circ}C$ ve molekül ağırlığı 328.4 g/mol olan krosetin (8,8'-diapo-8,8'-karotenoik asit, $C_{20}H_{24}O_4$), bir krosin öncüsü olup doğal bir karotenoid dikarboksilik asittir. Bu bileşik, safranın kırmızı renginden sorumlu ikinci lipofilik karotenoiddir (Amanpour vd. 2018; Shahi vd. 2016; Xi vd. 2007). Krosetin, krosin glikozitlerinin hidrolizi sonucunda oluşmaktadır (Şekil 2.3). Krosetin serbest asit formunda su ve çoğu organik çözücüde (piridin ve dimetilsülfoksit hariç) çözünmez. Bununla birlikte, anyonik türleri suda çözünmektedir. Ayrıca krosetin, seyreltik sulu sodyum hidroksit veya diğer sulu alkali çözeltilerde ($pH < 9$) çözünür. Krosetin, safran stigmasının toplam ağırlığının yaklaşık % 0.3'ünü oluşturmaktadır. Çoğunlukla trans izomeri formunda görülen bu bileşen, safranda cis-krosetin ve glikozitleri olarak da (iz miktarda) görülmektedir (Bathaie vd. 2014). Yapılan birçok bilimsel çalışma sonucunda krosetinlerin sağlık üzerine olumlu (kardiyovasküler, kanser önleyici, antidepresan, antioksidan vb.) etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Shahi vd. 2016; Xi vd. 2007).



Şekil 2.3. Safranda bulunan bazı kimyasal bileşiklerin yapısı (Shahi vd. 2016)

Safranda acı tattan sorumlu olan pikrokrosin (4-(β -D-glikopiranoziloksi)-2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-karboksaldehit) kuru maddede %1-13 oranında bulunur (Alonso vd. 2001; Kiani vd. 2018; Maggi vd. 2010). Renksiz bir monoterpen glikozit olan pikrokrosin ($C_{16}H_{26}O_7$), safranlal ve HTCC (4-hidroksi-2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-karboksaldehit) gibi aromatik bileşenlerin öncüsüdür (Lage ve Cantrell 2009; Pitsikas 2016).

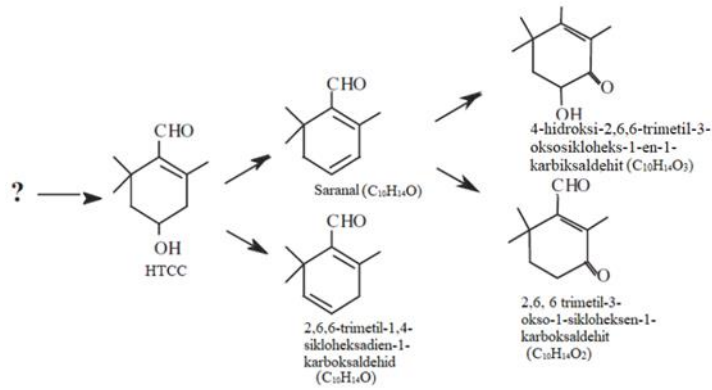
Safranlal (2,6,6-trimetil-1,3-sikloheksadien-1-karboksaldehid), bir monoterpen aldehit olup pikrokrosinin aglikanıdır. 150.21 g/mol ağırlığına sahip olan bu molekül safranin aromasından sorumludur ve kuru maddede %0.001-0.006 oranında bulunmaktadır (Carmona vd. 2007; Kiani vd. 2018; Maggi vd. 2010). Yapılan bilimsel araştırmalara göre, stigmada kurutma ve depolama sırasında gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar sonucunda pikrokrosin β -glukozidaz enziminin etkisiyle de safranala dönüşmektedir (Şekil 2.4). Bu çalışmaların sonuçlarına göre bu nedenlerle taze stigmalarda safranlal bulunmamaktadır (Carmona vd. 2007; Maggi vd. 2010). Maggi vd. (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada depolama koşullarına bağlı olarak safranda bulunan aroma bileşiklerinin değişim mekanizmaları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; depolama koşullarının da etkisiyle safrandaki safranlal içeriği zamana bağlı olarak artarken 2 yıldan daha fazla depolanan örneklerde (8-9 yıl) bu miktarın zamanla tekrar azaldığı belirtilmiştir.



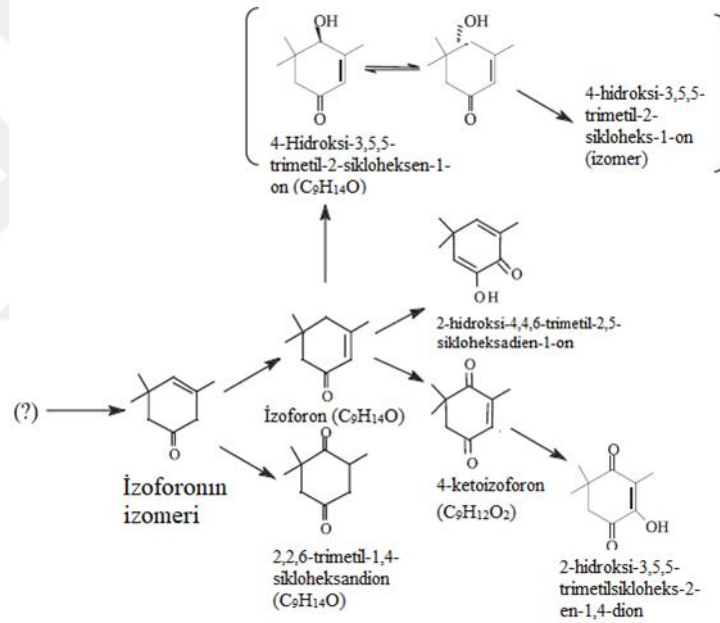
Şekil 2.4. Pikrokrosinin, HTCC ve safranala dönüşüm mekanizması (Jalali-Heravi vd. 2009)

Safranda bulunan aroma bileşenleri, yapılarına ve / veya öncüllerine bağlı olarak iki gruba ayrılmaktadır. İlk grup safranin yapısına benzerlik gösteren C_9 ve C_{10} (3,5,5-trimetil-2-sikloheksen-1-on (izofoforon); 2,2,6-trimetil-1,4-sikloheksandion; 4-hidroksi-3,5,5-trimetil-2-sikloheks-1-on; 2,6,6-trimetil-2-sikloheksen-1,4-dion (4-ketoizofoforon); 3,5,5 trimetil-3 -sikloheksen-1-on (izofoforonun bir izomeri) ve 2-hidroksi-4,4,6-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on) bileşiklerinden oluşmaktadır. İzoforon safranda bulunan 2,2,6-trimetil-1,4-sikloheksandion ve ondan bağımsız olarak 4-ketoizofoforon ve 2-hidroksi-4,4,6-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on gibi aromatik bileşiklerin öncüsüdür (Şekil 2.5). Ayrıca izoforonun indirgenmesi sonucu ortaya çıkan 4-hidroksi-3,5,5-trimetil-2-sikloheksen-1-on depolama süresi ile doğrudan ilişkili olan (zamana bağlı olarak artan) diğer bir aromatik bileşiktir. Şekil 2.5 ve 2.6'da izoforon ve HTCC'nın dönüşüm mekanizmaları gösterilmektedir (Maggi vd. 2010).

C_{13} -Norizoprenoitler olarak bilinen ikinci grup, lipofilik karotenoidlerin parçalanması ile oluşur ve 1-pozisyonunda kısmen doymamış C_4 zincirine sahip bileşenleri (4-hidroksi-2,6,6-trimetil-3-okso-sikloheksa-1,4-dien-1-karboksaldehid, 2,6,6-trimetil-4-hidroksi-karboksaldehid-1-sikloheksen (HTCC), 2,6,6-trimetil-1,4-sikloheksadien-1-karboksaldehid (safranin izomeri) ve 3- [(E) -but-1-enil] -2,4,4-trimetil-sikloheks-2-enol) içermektedir (Maggi vd. 2010).



Şekil 2.5. HTCC'nin; safranal, 2,6,6-trimetil-1,4-sikloheksadien-1-karboksaldehid, 2,6,6-trimetil-3-okso-1-sikloheksen-1-karboksaldehid ve 4-hidroksi-2,6,6-trimetil-3-okso-sikloheks-1-en-1-karbiksaldehit bileşiklerine dönüşüm mekanizması (Maggi vd. 2010)



Şekil 2.6. İzoforonun; 4-ketoizoforon, 2-hidroksi-4,4,6-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on, 2-hidroksi-3,5,5-trimetilsikloheks-2-en-1,4-dion ve 4-hidroksi-3,5,5-trimetil-2-sikloheksen-1-on bileşiklerine dönüşüm mekanizması (Maggi vd. 2010)

2.1.5. Safranın sağlık üzerine etkisi

Safranın antik çağlardan günümüze kadar tıbbî amaçlar için de kullanıldığı bilinmektedir (Negbi 2003). Ünlü hekim ve filozof Ebu Ali Sina (İbn-i Sina) (Avicenna) tarafından yazılan El-Kanun fi't-Tıb (Canon medicinae) kitabının ikinci cildinde safranın sağlık üzerine etkileri tartışılmış ve karşılaştırılmıştır (Hosseinzadeh ve Nassiri-Asl 2013).

Safranın aktif bileşenlerinin (krosinler, pikrokrosin ve safranal) farmakolojik özellikleri, kimyasal yapılarına bağlıdır (Razak vd. 2017). Farklı ülkelerin geleneksel tıp

tarihinde safranin sedatif, ateş düşürücü, balgam söktürücü ve afrodizyak olarak; ayrıca spazmın, boğmacanın, astımın ve çeşitli sindirim hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Hosseinzadeh ve Nassiri-Asl 2013; Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh 2015). Günümüzde ise depresyonun (Hosseinzadeh vd. 2003; Karimi vd. 2001; Wang vd. 2010), alzheimerin (Akhondzadeh vd. 2010; Papandreou vd. 2006), parkinsonun (Ahmad vd. 2005; Purushothuman vd. 2013) ve kardiyovasküler (Joukar vd. 2013; Khorı vd. 2012) hastalıkların tedavisinde safrandan yararlanılmaktadır.

Safran ekstraktı, içerdiği karotenoid (krosinler ve krosetin) bileşikleri nedeni ile yüksek antioksidan özelliğine sahip olup artan oksidatif stresi içeren hastalık süreçleri için olası bir tedavi yöntemi olarak etkisi; hücre, hayvan ve bazen insan modellerinde araştırılmıştır (Bolhasani vd. 2005; Jose Bagur vd. 2018). Yapılan birçok bilimsel çalışma sonucunda karotenoidlerin biyoyararlılığı tespit edilirken, bu bileşiklerin emilim ve metabolizma fonksiyonları henüz tam olarak keşfedilmemiştir (Jose Bagur vd. 2018). Farmakokinetik açıdan, ağız yolu ile alınan krosinlerin bağırsak sisteminde büyük ölçüde krosetine hidrolize olduğu varsayılmaktadır. Kyriakoudi vd. (2013) yaptığı bir çalışmada krosetin ve pikrokrosin esterlerinin sırasıyla yaklaşık %50 ve %70'inin *in vitro* gastrointestinal sindirim koşullarında biyolojik olarak kullanılabilir olduğunu belirlemişlerdir.

Çizelge 2.1. Safranin biyolojik etkinliği ve ilaç olarak kullanımı üzerine çalışan bazı bilim merkezleri (Kafi 2006)

Enstitü	Ülke
Amalar Kanseri Araştırma Merkezi	Hindistan
Gıda Teknolojisi Araştırma Merkezi	Hindistan
Minnesota İlaç Okulu	Amerika Birleşik Devletleri
Athena Ziraat Üniversitesi	Yunanistan
Azerbaycan Bilim Akademisi	Azerbaycan
Kyosho Üniversitesi	Japonya
Tokyo Üniversitesi	Japonya
Morica Üniversitesi	Japonya
Ulusal Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Japonya
Cortarro Üniversitesi	Meksika

Safran; rahatlatıcı, balgam söktürücü, neşelendirici, sindirim uyarıcı, spazm yatıştırıcı, adet düzenleyici ve cenin düşürücü gibi çeşitli özellikleri nedeni ile geleneksel ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca karaciğer, dalak ve idrar enfeksiyonları, kanlı ishal, ateş, kızamık, hepatit, kolera, diyabet ve cilt hastalıklarına karşı da kullanıldığı bildirilmektedir. İngiliz eczacılık kodeksinde; safran şurubu, safran gliserini ve safran tentürü terimlerinden bahsedilmektedir (Bhargava 2011; Hossein 2000; Kafi 2006; Samarghandian vd. 2014). Safranin tıbbi özellikleri ile ilgili geleneksel bilgiler, bu baharata karşı bilimsel ilgiyi artırmıştır ve bu nedenle son on yılda birçok ilaç araştırma merkezi tarafından safranin biyolojik ve tıbbi potansiyeli hakkında araştırma yapılmış ve yayımlanmıştır (Çizelge 2.1) (Kafi 2006; Negbi 2003). Krosin ve krosetin kullanımı sonrası kanda bulunan kolesterol ve trigliserit düzeylerinin azalması da safran ile ilgili bulgulardandır (Kafi 2006; Nair vd. 1991). Ayrıca gerçekleştirilen birçok bilimsel çalışmada safranin anti-kanserojen etkiye sahip olduğu da bildirilmektedir (Duke 2002; Kafi 2006).

Yüzyıllardır baharat olarak kullanılan safran için rapor edilen toksisite verileri farklılık göstermektedir (Broadhead vd. 2016). Çalışmalarda; günlük 1.5 g safran tüketiminin nispeten güvenli iken, 5 g'dan fazla tüketiminin zararlı ve 20 g tüketiminin ise ölümcül olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca günde 10 g'dan fazla safran tüketiminin mide kanamasına neden olduğu da rapor edilmiştir (Schmidt vd. 2007). Bir bitki organı safranın, alerjiye neden olabileceği de düşünülmektedir. Bu tür alerjiler genel olarak safran tarımında çalışan işçilerde görülmektedir (Feo vd. 1997; Martínez vd. 2007).

2.1.6. Safranın kullanım alanları

Safranın geçmişten günümüze tarih boyunca farklı ülkeler ve kültürler tarafından baharat, boya, parfüm, kozmetik ürün ve ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. Kafi (2006)'ye göre safran çiçeklerine ilk defa İran'da bulunan Zagros ve Alvand dağlarında rastlanmıştır. Zaman içerisinde Part hanedanlığı zamanında safran diğer mallar ile birlikte Çin, Roma, Hindistan ve Yunanistan'a ihraç edilmiştir. Diğer yandan safran İran'ın çok önemli padişahları ve hanedanları (Part hanedanı, Sassanid hanedanı) tarafından yemek, parfüm, tütsü, mektup kağıdı, ipek, kumaş ve kilim boyamada kullanılmıştır (Mousavi ve Bathaie 2011).

Safran pek çok İran ve İaıklıkıyol yemeğinin yapımında kullanılmaktadır. Safranlı pilav, zerde (Sholezard), sohan (bir çeşit tatlı), zulbia (farklı bir tulumba tatlısı çeşidi), helva ve paella gibi birçok geleneksel yemeğin önemli bir bileşenidir. Ayrıca İran'ın bazı bölgelerinde safran çayı ve safranlı ekmek de yapılmaktadır. Günümüzde safran, endüstrinin birçok kolunda yer almaktadır. Bunlardan en önemli olanlar gıda, yem ve ilaç endüstrileridir (Mousavi ve Bathaie 2011).

Safran kendine has renk, aroma ve lezzet bileşenleri nedeni ile yüzyıllardır baharat olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda gıda endüstrisinde sentetik renklendirici maddeler yerine bitki orijinli doğal renklerin kullanımına olan talep giderek artmaktadır (Kafi 2006). Günümüzde safranın şekerlemelerde, alkollü ve alkolsüz içeceklerde; ayrıca tereyağı, peynir ve dondurma gibi süt ürünlerinde renk ve lezzet artırıcı olarak kullanımı çok yaygındır. Ayrıca safran ABD'de sosis, margarin ve katı yağ üretiminde de renklendirici olarak kullanılmaktadır (Amanpour vd. 2018; Hossein 2000; Kafi 2006). Çizelge 2.2'de farklı gıdalarda kullanılan safran miktarları gösterilmektedir.

Son yıllardaki çalışmalara göre safranın taç yapraklarında da yüksek oranda antosiyanin (kırmızı-mor renkli) mevcuttur (Jafari vd. 2016; Khazaei vd. 2014). Taç yapraklarından hazırlanan ekstraktlar asidik ortamda kırmızı renge dönüşmektedir. Bu nedenle, hasat sonrası ayıklanan safran çiçeklerinden elde edilen çok miktarda taç yaprağı sentetik boyalara ikame olarak doğal ve antosiyanince zengin kırmızı renk maddesi eldesinde kullanılmaktadır (Hemmati 2001; Hemmati Kakhki ve Rahimi 1994; Jafari vd. 2016; Kafi 2006; Khazaei vd. 2014).

Çizelge 2.2. Farklı gıdalarda kullanılan safran konsantrasyonları (Kafi 2006)

Kullanılan gıdalar	Miktar (ppm)
Şekerleme Ürünleri	10.00
Alkolsüz içecekler	1.30- 7.50
Alkollü içecekler	200.00
Dondurma	1.30- 90.00
Et	260.00
Yemeklerde baharat olarak	50.00

Safran tarımında her bir hektar alandan yaklaşık 1.5 ton kuru yaprak elde edilmektedir. İran’da safran tarımı gerçekleştirilen 47.000 hektar alandan elde edilen çok miktardaki kuru yaprak ayrıca hayvan yemi üretiminde de kullanılabilir. Kuru safran yaprakları yüksek oranda lif, düşük oranda mineral ve protein içermektedir. Yaprakların yem amaçlı kullanılması hakkında Valizadeh (1988) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, safran yeminin yonca gibi geleneksel hayvan yemlerine kıyasla sindiriminin daha kolay olduğu tespit edilmiştir. Bu yem çeşidinin fiyatı da diğer yemlere kıyasla daha ucuz olup, dışardan eklenen protein takviyesi ile iyi bir hayvan yemi alternatifi olarak kullanılabilir (Kafi 2006).

2.2. Ultrafiltrasyon

Membran teknolojisi, süt ve içecek endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan meyve suyu durultma ve konsantrasyonu için geleneksel termal tekniklere alternatif olarak ortaya çıkmış bir yöntemdir. Bilindiği üzere ısı işlem; gıdaların muhafazası (raf ömrü uzatma) ve konsantrasyonu için en çok kullanılan yöntemdir. Ancak endüstriyel ısı işlemlerin; besin bileşenleri (antosiyantinler, karotenoidler, vitaminler, proteinler) ve duysal parametreler (renk, aroma, lezzet gibi) üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu birçok bilimsel çalışma ile sabittir. Bu yüzden son dönemde membran ayırma yöntemleri, daha az insan gücü gereksinimi, daha yüksek verim ve geleneksel filtrasyondan daha kısa olan işlem süreleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bhattacharjee vd. 2017)

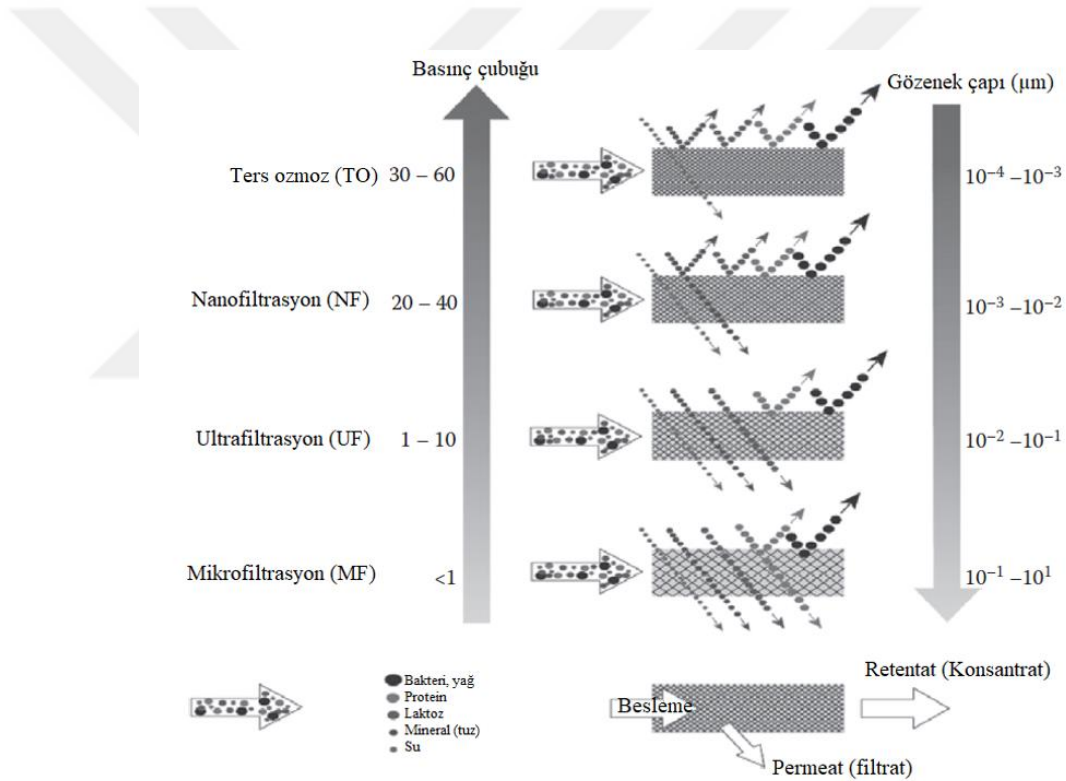
Membran, sıvıdan ayrılmak istenen parçacıkların boyutlarından daha küçük gözenekli, çok ince filtre dokusuna verilen isimdir. Bu doku daha poroz bir destek üzerine yerleştirilerek bir filtre ünitesi elde edilmekte ve bu ünitelerin kombinasyonuyla modüller oluşturulmaktadır. Modern membran sistemleri polimer materyallerden veya seramik materyallerden üretilmektedir. Membran filtrasyon tekniği mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters ozmoz (hiperfiltrasyon) olarak başlıca dört başlık altında sınıflandırılmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004).

Mikrofiltrasyon (MF) uygulamasında yaklaşık 0.1 µm veya daha büyük gözenek çapına sahip membranlar kullanılmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004). Ultrafiltrasyon (UF) uygulamasında kullanılan membranların gözenek çaplarının 10^{-2} - 10^{-1} µm olması nedeni ile bu sistemler ile başta protein, pektin, yağ, maya, küf ve bakteriler olmak üzere büyük moleküllü bileşiklerin sıvıdan ayrıştırılması sağlanabilmektedir. UF sistemlerinden; su, parçacık boyutu 10^{-3} µm’de küçük olan tuzlar, şekerler, aromatik bileşenler ve benzeri unsurlar geçebilmektedir (Cemeroğlu vd. 2004; Varzakas ve Tzia 2014). Nanofiltrasyon (NF) uygulamasında fenolik madde molekülleri gibi daha küçük moleküllerin dahi

tutulabildiği, 10^{-3} - 10^{-2} μm gözenek çapına sahip membranlar kullanılmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004; Varzakas ve Tzia 2014). Ters ozmoz (TO) veya hiperfiltrasyon uygulamalarında ise sadece suyun geçtiği, fakat çözünmüş tuzların bile tutulabileceği nitelikte 10^{-4} - 10^{-3} μm gözenek çapına sahip membran sistemleri kullanılmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004; Varzakas ve Tzia 2014). Membran filtrasyonun bu farklı uygulamalarının başlıca nitelikleri Çizelge 2.3 (Cemeroğlu vd. 2004) ve Şekil 2.7'de (Varzakas ve Tzia 2014) verilmiştir.

Çizelge 2.3. Membran ayırma tekniklerinin nitelikleri (Cemeroğlu vd. 2004)

Ayırma tekniği	Por çapı	Minimal ayırma sınırı	Transmembran basıncı
Mikrofiltrasyon	$> 0.1 \mu\text{m}$	Partiküller	Düşük, 10 bar'a kadar
Ultrafiltrasyon	50-200 nm	Moleküller	Orta, 40 bar'a kadar
Nanofiltrasyon	1-50 nm	Küçük moleküller	10 bar'a kadar
Ters ozmoz	$< 1 \text{ nm}$	İyonlar	Yüksek, 100 bar'a kadar



Şekil 2.7. Membran çeşitleri (Varzakas ve Tzia 2014)

Ultrafiltrasyon işlemi, son 20 yıldır gıda işleme endüstrisinde daha az termal hasar ve daha iyi aroma muhafazası için geleneksel ayırma işlemlerine göre yüksek seçicilik ve daha düşük enerji tüketimi gibi avantajları nedeniyle yaygın bir şekilde uygulanmaktadır (Bhattacharjee vd. 2017; Mohammad vd. 2012).

Bir UF membranının performansı; transmembran basıncı, çapraz akış hızı, çözünmüş katıların konsantrasyonu, kirlenme düzeyi ve en son tutulan molekül ağırlığı (MWCO (molecular weight cut-off)) gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. MWCO, gözenek genişliği ile ilişkili bir terimdir ve bir UF membranının ayırma yeteneklerini tarif etmek

için kullanılır (Sánchez vd. 2008). Ancak molekül ağırlığı çoğu kez MWCO değerini tanımlamada her zaman bir anlam ifade etmeyebilmektedir. Eğer aynı molekül ağırlığına sahip iki molekülden biri daha fazla dallanmış bir yapıdaysa, yapısında daha az yan dalı olan moleküle göre UF membranında tutulması daha farklı olacaktır (Cemeroğlu vd. 2004).

Ultrafiltrasyon sırasında membranı geçemeyen katı parçacıklarla makro moleküller sürüklenip götürülür fakat aynı unsurlar tekrar besleme tankına geri döndüğü için devamlı bir sirkülasyon sonucunda bu maddeler açısından konsantre (retentat veya konsantrat) hale gelir. Diğer yandan ultrafiltrasyon sırasında sirküle edilen sıvının bir kısmı membranı sürekli olarak aşar ve sistemi terk eder (permeat veya filtrat) (Cemeroğlu vd. 2004).

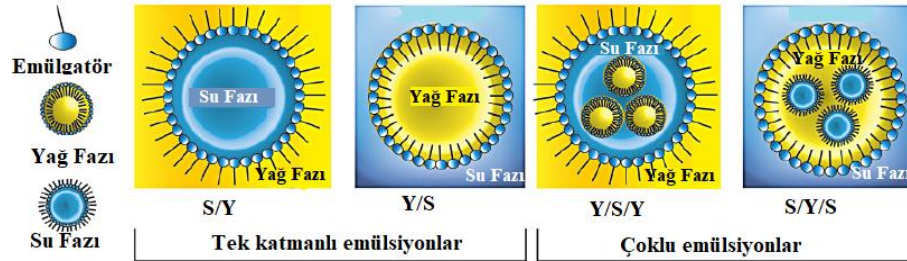
Yapılan literatür taramalarında, yakın zamana kadar safranın biyoaktif bileşenlerinin ayrıştırılması için kolon kromatografisi, HPLC ve TLC (Guijarro-Díez vd. 2017; Sujata vd. 1992; Tarantilis vd. 1994; Valle Garcia-Rodriguez vd. 2014) gibi tekniklerin kullanıldığı görülmüştür. Ancak ultrafiltrasyon tekniğinin biyoaktif bileşenlerin saflaştırılması ve konsantre edilmesi konusunda başarılı olmasına rağmen, safran ekstraktında kullanıldığı bir çalışmaya Sánchez vd. (2008) tarafından gerçekleştirilen çalışma dışında rastlanmamıştır. Söz konusu çalışmada santrifüj tipi ultrafiltrasyonun, safranın (*Crocus sativus* L.) sulu ekstraktında yer alan biyoaktif bileşenlere etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada 3 farklı firmadan, 5 farklı özelliğe (polietersülfon (PES) ve rejenere selüloz (RC), MWCO aralığı 1-100 kDa) olan toplamda 16 adet santrifüj tipi UF filtre temin edilmiş ve bu filtreler kullanılarak elde edilen konsantratların biyoaktif bileşen içeriği (7 farklı krosetin esteri, pikrokrosin ve 2 farklı kaempferol glikozit) UV-vis spektroskopisi ve HPLC analiz yöntemleri ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre farklı MWCO aralığına sahip PES ve RC filtre materyallerinin bu biyoaktif bileşenleri farklı oranlarda saflaştırabildiği tespit edilmiştir.

2.3. Emülsiyon

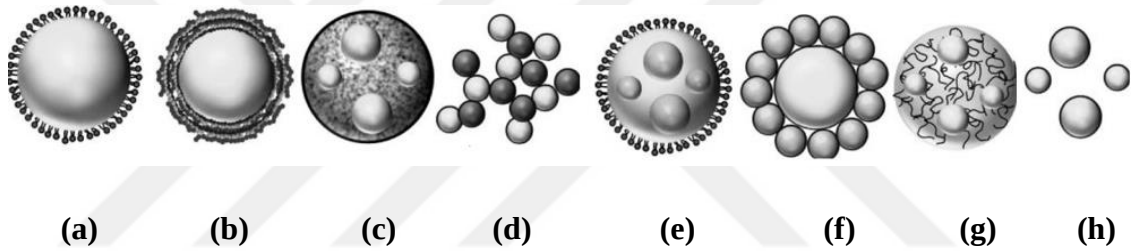
Emülsiyonlar, birbiriyle karışmayan en az iki sıvının (genellikle yağ ve su) birbirleri içerisinde küçük damlacıklar halinde dağılması ile oluşan sistemlerdir (İlyasoğlu ve El 2010; McClements 2015). Birçok gıdada bu damlacık boyutu 100 nm ile 100 µm arasında değişmektedir. Ancak fizikokimyasal özelliklerinden dolayı son zamanlarda damlacık çapı 100 nm'den küçük olan emülsiyonların üretimi revaçtadır (McClements 2015). Bir emülsiyon içindeki damlacıkları oluşturan madde, dağılmış, süreksiz veya iç faz olarak adlandırılırken; çevreleyen sıvıyı oluşturan madde, sürekli veya dış faz olarak adlandırılmaktadır. Emülsiyonlar, yağın ve sulu fazların üç boyutlu dağılımına bağlı olarak tek katmanlı emülsiyonlar, hava/sıvı emülsiyonları ve çoklu emülsiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır (İlyasoğlu ve El 2010; McClements 2015).

Tek katmanlı emülsiyonlar (Y/S ve S/Y) sulu fazda dağılmış yağ damlacıklarından, ya da yağ fazında dağılmış su damlacıklarından oluşan sistemlerdir. Sulu fazda dağılmış yağ damlacıklarından oluşan bir sisteme, su içinde yağ (Y/S) emülsiyonu denmektedir (Şekil 2.9). Süt, krema, mayonez, içecekler, çorbalar ve sosların örnek verilebileceği bu tip emülsiyonlar genel olarak su ile seyreltilebilirler, suya benzer özellikler gösterirler, hızlı bir şekilde kurutulabilirler ve yıkanarak kolayca yüzeyden

uzaklaştırılabilirler (Altuğ 2001). Bir yağ fazında dağılmış su damlacıklarından oluşan bir sisteme ise yağ içinde su (S/Y) emülsiyonu denmektedir (Şekil 2.8). Margarin ve tereyağında olduğu gibi bu emülsiyonlar ise daha zayıf bir elektrik iletkenliğine sahiptirler, organik çözümler veya yağlar ile seyreltilebilirler ve yıkanarak uzaklaştırılmaları zordur (McClements 2015).



Şekil 2.8. Tek katmanlı emülsiyonlar; yağ içinde su (S/Y) ve su içinde yağ (Y/S) emülsiyonları ve çoklu emülsiyonlar (Y/S/Y ve S/Y/S) (Jafari 2017)



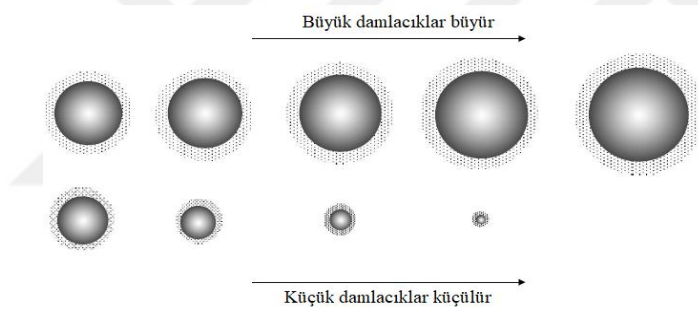
Şekil 2.9. Gıdalarda kullanılan emülsiyon esaslı sistemlere örnekler: **a)** emülsiyonlar; **b)** çok katmanlı emülsiyonlar; **c)** dolu katı parçacıklar; **d)** mikro kümeler; **e)** çoklu emülsiyonlar; **f)** koloidosomlar; **g)** doldurulmuş hidrojel parçacıkları ve **h)** nanoemülsiyonlar (McClements 2015)

Yumurta akının köpürmesi ile elde edilen kremalı pastalar ve benzeri ürünlerde hava/sıvı emülsiyonlarından yararlanılmaktadır. Havalandırılmış emülsiyonlar veya köpükler; unlu mamuller, dondurma, kabartılmış margarin ve süslemelerde bulunmaktadır. Bu ürünlerdeki emülsiyonlar gıdanın hacim ve kabarma özelliklerini etkilemektedir (Altuğ 2001).

Çoklu emülsiyonlar sulu bir sürekli fazda dağıtılmış olan daha büyük yağ damlacıkları içinde dağılmış su damlacıklarından (S/Y/S emülsiyonlar) ya da bu durumun tersinden oluşan yağlı bir sürekli fazda dağıtılmış olan daha büyük su damlacıkları içinde dağılmış yağ damlacıkları (Y/S/Y emülsiyonlar) meydana gelmektedir (Şekil 2.8). Bu tip emülsiyonlar bazı bileşenlerin salınımını kontrol etmek, emülsiyon bazlı gıda ürünlerinin toplam yağ içeriğini azaltmak ve bir bileşenin normalde etkileşime girebileceği başka bir bileşenden veya çevresel faktörlerden izole edilmesi gibi amaçlarla üretilmektedir. Çoklu emülsiyonlar, tek katmanlı emülsiyonlara göre avantajları nedeniyle son dönemde gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Çoklu emülsiyonların yanı sıra, bu grup aynı zamanda nano emülsiyonlar (*nanoemulsions*), çok katmanlı emülsiyonlar (*multilayer emulsions*), koloidosomlar (*colloidosomes*), doldurulmuş hidrojel

parçacıkları (*filled hydrogel particles*) ve mikro kümeleri (*microclusters*) içerir (Şekil 2.9) (McClements 2015). Son dönemde araştırmacılar ekonomik anlamda gıdaya uygun malzemeler kullanarak; istenen kalite özelliklerine, fonksiyonel performanslara ve raf ömrüne sahip yapısal emülsiyonlar geliştirmek amaçlı çalışmalar gerçekleştirmektedir.

Emülsiyonlar termodinamik olarak kararsız sistemlerdir ve bu nedenle zamana bağlı olarak; yer çekimi veya merkezkaç gibi dış kuvvetlerin etkisi ile **çökme ve kremleşme**, iki ya da daha fazla damlacığın bir araya gelmesi ile **flokülasyon (topaklanma)**, damlacıkların komşu damlacıklar ile çarpışmalarından oluşabilecek daha büyük damlacıklar ve buna bağlı olarak faz ayrılması olarak tanımlanan **parçacık birleşmesi** ve dağılmış fazın araya giren sürekli fazı boyunca bir damlacıktan diğerine kütle taşınması sonucu damlacık boyutu geniş bir istatistiksel dağılım sergileyen emülsiyonlarda (polidispers emülsiyon) büyük parçacıkların küçük parçacıklara nazaran daha fazla büyümesi olarak tanımlanan **Ostwald olgunlaşması** (Şekil 2.10) gibi çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar nedeniyle parçalanma eğilimi gösterebilmektedirler (Altuğ 2001; McClements 2015; McClements ve Jafari 2018; Tadros 2009). Ostwald olgunlaşması, gıda emülsiyonlarında yağ fazının (kanola, mısır, balık, zeytin, hurma, yerfıstığı veya ayçiçeği yağı gibi) uzun zincirli trigliserit içermesi nedeni ile ihmal edilebilmektedir. Diğer bir deyişle, bu trigliserit ve suyun karşılıklı çözünürlüğü çok düşüktür (McClements 2015).



Şekil 2.10. Ostwald olgunlaşması (McClements 2015)

Emülsiyonların stabilitesi ile ilgili teoride partiküllerin çekme ve itme kuvvetleri arasındaki denge esas alınmaktadır. Çekme kuvvetleri (Van der Waals çekim kuvveti) emülsiyonun stabilitesini düşürürken, itme kuvvetleri (benzer elektrik yüklerindeki çift katmanlar arası elektrostatik itme) dağılmış damlacıkların ayrılmışlığını koruyarak stabilite sağlamaktadır (Altuğ 2001).

Ticari gıda emülsiyonları çok çeşitli gıda katkı maddeleri (yağlar, emülgatörler, koyulaştırıcı maddeler, jelleştirici maddeler, tamponlama sistemleri, koruyucular, antioksidanlar, şelatlama maddeleri, tatlandırıcılar, tuzlar, renklendiriciler, tat vericiler, vs) içermektedirler. Emülsiyon bazlı bir gıda ürününün fizikokimyasal, duyu ve besleyici özellikleri mevcut bileşenlerin türüne, fiziksel konumlarına ve birbirleriyle etkileşimlerine bağlıdır. Bir gıda üreticisinin, emülsiyon bazlı bir gıda ürününün tasarımı, formülasyonu ve üretimi sırasında vermesi gereken en önemli kararlardan biri, söz konusu uygulama için en uygun bileşenlerin seçimidir (McClements ve Gumus 2016).

Emülsiyon bazlı gıdaların üretim formüllerinde, son ürünün raf ömrü ve stabiliteğini artırmak amacı ile emülsifiye edici ajanlar (emülgatörler) kullanılmaktadır. Emülgatörler, aynı molekül üzerinde hem hidrofilik hem de hidrofobik gruplara sahip olan amfifilik molekülüdür (McClements ve Jafari 2018). Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) tanımında, emülgatörler; “gıdada yağ ve su gibi birbiri ile karışmayan iki veya daha fazla fazın karışmasını sağlamak amacıyla ilave edilen maddeler” şeklinde ifade edilmiştir (Altuğ 2001). Gıda emülgatörleri hayvansal ve bitkisel orijinli yenilebilir yağ asitlerinin veya gliserol, propilen, glikol, sorbitol, sukroz gibi polivalan alkollerin esterlerinden oluşmaktadır. Bu esterler; laktik, tartarik, sitrik asit gibi organik asitler ile daha ileri bir esterifikasyona tâbi tutularak farklı emülgatör tipleri elde edilmektedir. Emülgatörler küçük moleküllü yüzey aktif maddeler, fosfolipitler, proteinler ve polisakkaritler olmak üzere 4 alt sınıfa ayrılmaktadır (Altuğ 2001).

Küçük moleküllü yüzey aktif maddeler genel olarak polar olmayan bir kuyruk grubuna ve polar bir uç grubuna sahiptirler (McClements ve Jafari 2018). Gıda endüstrisinde kullanılan küçük moleküllü yüzey aktif maddelerin çoğu iyonik olmayan sentetik molekülüdür (Tweenler (40, 60 ve 80), Açıklıklar (40, 60 ve 80), monoglisitler, şeker esterleri, poligliserol esterleri vd.). Ancak bunların dışında son zamanlarda bazı doğal ürünler de (Quillaja saponinler) bu amaçla kullanılmaktadır (Jafari 2017; McClements ve Jafari 2018). Poligliserol esterleri, zararsız olmaları nedeniyle, birçok gıdanın üretim teknolojisinde kullanılmakta olup ilk defa 1960 yılında ABD’de gıdalarda kullanımı yasallaştırılmıştır. Yasal açıdan, gıda sınıfı poligliserol esterleri iki sınıfa ayrılmaktadırlar. Bunlar; yenilebilir yağ asitlerinin poligliserol esterleri (E-475 veya PGE) ve poligliserol polirisinolat (E-476 veya PGPR) olarak tanımlanmaktadır. Su içeriği %80 olan yağ içinde su emülsiyonlarında PGPR, kararlı emülsiyonlar oluşturabilen başarılı bir yüzey aktif maddesi olarak bilinmektedir (Bastida-Rodríguez 2013). Türk Gıda Kodeksi “Sürülebilir Yağlar/Margarin ve Yoğun Yağlar Tebliği” nde tanımlanan %41 veya daha az yağ içeriğine sahip sürülebilir yağlar ve %10’dan daha az yağ içeren benzer sürülebilir ürünlere ek olarak emülsifiye edilmiş soslarda maksimum 4000 mg/L veya mg/kg PGPR kullanımına izin verilmiştir. Diğer yandan Türk Gıda Kodeksi “Kakao ve Kakao Ürünleri Tebliği”ne göre bu oran maksimum 5000 mg/L veya mg/kg olarak belirlenmiştir.

Yiyecek ve içecek uygulamalarında kullanılan fosfolipidler genellikle, asetonda çözünmeyen fosfolipid ve fosfolipid olmayan bileşenlerin kompleks bir karışımından oluşan lesitinler olarak da adlandırılmaktadır. Doğal lesitin bileşenleri genellikle gliserol omurgasına bağlı iki yağ asidine sahiptir. Ancak zincirlerden biri, kimyasal veya enzimatik olarak farklı fonksiyonel özelliklere sahip bileşenler oluşturmak üzere çıkarılabilir. Örneğin, liyo-lesitinler, geleneksel lesitinlerden daha hidrofilik olma eğilimindedir ve bu nedenle su içinde yağ emülsiyonların stabilize edilmesi amacı ile kullanılmaktadır (McClements ve Jafari 2018).

Birçok gıdada bulunan proteinler (peynir altı suyu proteinleri, kazeinler, yumurta proteinleri, soya proteinleri, jelatin, et proteinleri ve bezelye proteinleri) yüzeylerinde hem polar hem de polar olmayan gruplara sahip olan amfifilik molekülüdür (Jafari 2017; McClements ve Jafari 2018). Diğer yandan proteinler, ısıtma gibi yıkıcı etkilere maruz kalmadıkça, çözelti içerisinde tutulabilen üç boyutlu yapıya sahip bileşiklerdir. Proteinler, bir yağ-su ara yüzüne adsorbe edildiğinde, yapılarının hidrofobik bölgesi yağ fazının yüzeyine yerleşmekte veya kısmen çözölmektedir. Bununla birlikte, büyük miktarlarda

düzenli yapıya sahip olmayan kazeinlerde bile, yağ-su ara yüzüne adsorbe olan hidrofobik yan zincirlere sahip birçok amino asit grubu bulunmaktadır. Bir protein adsorbe edildiğinde, proteinin polipeptit omurgası, arayüz ile temas eden noktaların (yan zincirlerin) sıkı bir şekilde kapanmasını önleyerek, arayüzey arasındaki gerilimi düşürmektedir (Dalglish vd. 2004). Başka bir deyişle proteinler, damlacık yüzeylerine adsorbe olduktan sonra oluşan ara yüzlerin özelliklerini etkileyerek küresel veya sarmal yapılar oluşturabilen emülgatörlerdir. Proteinlerin elektriksel özellikleri, emülsiyonların fiziksel ve kimyasal stabilitesini (kararlılığını) doğrudan etkilemektedir (Jafari 2017; McClements ve Jafari 2018)

Gıda katkı maddeleri olarak kullanılan birçok polisakkarit, zayıf yüzey etkinliğine sahip yüksek hidrofilik moleküllerdir ve bu nedenle uygun emülsifiye özelliğine sahip değildir. Diğer yandan, bir dizi doğal veya modifiye edilmiş polisakkarit, hidrofilik bir zincire bağlı hidrofobik gruplara sahiptir (örneğin arap zımkı, modifiye nişasta, modifiye selüloz ve pektin) (McClements ve Jafari 2018). Hidrolize nişastalar; ucuz, kokusuz, yüksek konsantrasyonda düşük viskozite gösteren, oksijen geçirgenliği düşük olan ve bu nedenden dolayı iyi koruma sağlayan taşıyıcı maddelerdir. Bu maddelerin koruma dereceleri hidrolize nişastanın dekstroz eşdeğerliği (DE) ile doğrudan ilişkilidir. DE 20'den küçük ise hidrolize nişasta maltodekstrin olarak adlandırılırken 20'nin üzerinde bulunan hidrolize nişasta mısır şurubu olarak isimlendirilmektedir (Tontul 2011). Jelleştirici ve yoğunlaştırıcı olarak kullanılan pektin, galakturonik asit bakımından zengin bir polisakkarit olup, bitkilerin hücre duvarından elde edilmektedir (Cemeroğlu vd. 2004). Bir diğer polisakkarit olan siklodekstrinler (α , β ve δ) Y/S/Y emülsiyonlarının stabilitesini sağlayan bileşiklerdir. Ayrıca siklodekstrin türüne bağlı olarak emülsiyonların stabilizatör etkinliği ($\alpha > \beta > \delta$) değişmektedir. Tanaka ve arkadaşları tarafından 1995 yılında yayınlanan bir patentte (60-45229 sayılı Japon Patent Yayını) safranda bulunan krosetin bileşiklerinin stabilitesini sağlamak amacı ile siklodekstrin yapısında bulunan polisakkarit bileşiklerini kullanılmıştır (Bathaie vd. 2014; Bathaie ve Mousavi 2010). Son yıllarda gıda ve ilaç endüstrilerinde, ara yüzey materyali olan protein-polisakkarit karışımlarının kullanılması yaygınlaşmıştır. Protein ve polisakkarit molekülleri arasındaki etkileşim, kovalent bağlar veya fiziksel olarak elektrostatik etkileşimler sonucu kimyasal yollar ile gerçekleşmektedir. Nitekim polisakkaritler pH, iyonik kuvvet ve biyopolimer yük dağılımına bağlı olarak çözünebilir kompleksler veya koaservatlar oluşturabilmektedirler. Özetle, protein-polisakkarit komplekslerinde proteinler stabilizatör görevi üstlenirken polisakkaritler emülsiyon yapısını yoğunlaştırarak kararlı yapıların oluşumunu sağlamaktadırlar (Dickinson 2008).

İstenilen amaca uygun emülgatör veya emülgatör karışımının seçiminde yardımcı olarak birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri de molekülün hidrofilik ve lipofilik özelliklerinin esas alınmasıdır. Bu yöntem, deneysel metoda dayanan HLB (Hidrofilik-Lipofilik Denge) sistemi kullanılarak belirlenmektedir. Bu teoriye göre her bir emülgatör kendi hidrofilik-lipofilik dengesini gösteren bir nümerik değer ile ifade edilmektedir. En basit şekilde HLB değeri; emülgatörlerin yağ ve su fazları tarafından bağlı ıslatma ölçütü olarak düşünülmektedir (Altuğ 2001). Çizelge 2.4'te gıda sanayisinde kullanılan emülgatörlerin HLB değerleri verilmiştir (McClements ve Gumus 2016). Gıda endüstrisinde HLB değerinin kullanımı, birçok gıda emülgatörünün nişasta ve proteinler ile kuvvetli interaksiyonlar oluşmasından dolayı sınırlı olmaktadır. Yapılan literatür taramaları sonucuna göre S/Y tipi emülsiyonların hazırlamasında 4-6 arası, Y/S tipi

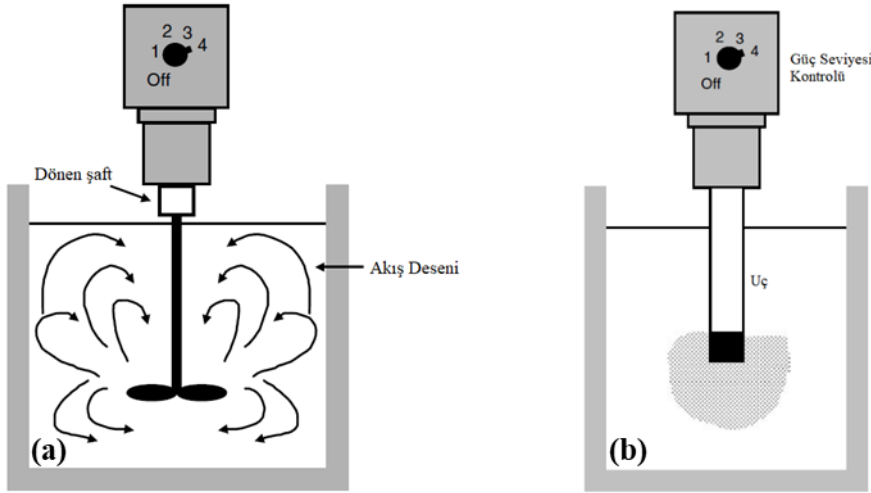
emülsiyonların hazırlamasında ise 8-18 arası HLB değerine sahip yüzey aktif ajanların kullanılması önerilmektedir. HLB değeri 7 olan yüzey aktif maddeleri nötral olarak adlandırılmaktadır. Diğer yandan S/Y emülsiyonları için optimum HLB değerinin 3.5 ve S/Y emülsiyonları için de optimum HLB değerinin 12 olduğu bildirilmiştir (Altuğ 2001).

Çizelge 2.4. Gıda sanayiinde kullanılan bazı emülgatörlerin HLB değerleri (McClements ve Gumus 2016)

Kimyasal adı	Kısaltma	Çözünürlük	HLB Değeri
Lesitin	-	Su ve Yağ	2-8
Lysoleşitin	-	Su	8-11
Yağ asidi tuzları	FA	Su ve Yağ	1-3
Sodyum stearoil laktilat	SSL	Su	11
Kalsiyum stearoil laktilat	CSL	Yağ	7-9
Sorbitan monooleat	Açıklık 80	Yağ	4.3
Sorbitan monostearat	Açıklık 60	Yağ	4.7
Sorbitan monopalmitat	Açıklık 40	Yağ	6
Sorbitan monolorat	Açıklık 20	Yağ	8.6
Sorbitan tristearat	Açıklık 65	Yağ	2.2
Polioksietilen sorbitan monooleat	Tween 80	Su	15
Polioksietilen sorbitan monostearat	Tween 60	Su	14.9
Polioksietilen sorbitan monopalmitat	Tween 40	Su	15.6
Polioksietilen sorbitan monolorat	Tween 20	Su	16.7
Polioksietilen sorbitan tristearat	Tween 65	Su	10.5
Poligliserol polirisinolat	PGPR	Yağ	1.5

Emülsiyon oluşturmak için sırasıyla yağ-su, emülgatör ve homojenleştiriciler gibi önemli üç öge bir araya getirilmelidir (Vural vd. 2004). Gıda emülsiyonlarının üretimi için endüstriyel ve laboratuvar tipi farklı homojenleştirme cihazları geliştirilmiştir ve bu cihazların her birinin kendine özgün avantajları ve dezavantajları mevcuttur.

Yüksek hızlı karıştırıcılar gıda endüstrisindeki yağ ve sulu fazları doğrudan homojenize etmek için kullanılan en yaygın araçlardır. Bu cihazlar 3600 d/dk hıza kadar yükselme yeteneğine sahiptirler (Şekil 2.11). Bu tip cihazlarda karıştırma kafasının hızlı dönüşü, yağ ve su arasındaki ara yüzleri parçalayan, sıvıların birbirine karışmasına neden olan ve daha büyük damlacıkları küçük damlacıklara bölen; uzunlamasına dönme ve radyal hız gradyanlarının bir kombinasyonunu oluşturur. Ayrıca karıştırma kafasının dizaynı da karıştırma verimini doğrudan etkilemektedir. Diğer yandan emülsiyon üretimi esnasında bileşenlerden herhangi birinin ısıya duyarlı olması durumunda, homojenizasyon sırasında teknenin sıcaklığının kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu cihazların kullanılması ile düşük ve orta seviyede viskoziteye sahip emülsiyonlar üretilmektedir. Ayrıca bu cihazlar ile damlacık boyutu 2-10 µm olan emülsiyonlar üretilmektedir. Özetle; yüksek hızlı karıştırıcılar, gıda emülsiyonları oluşturmak için kullanılmasının yanı sıra, bileşenlerin, özellikle toz içeriklerin etkili bir şekilde dağılmasını ve çözünmesini sağlamaktadır (McClements ve Gumus 2016).



Şekil 2.11. a) Yüksek hızlı karıştırıcı; b) Ultrasonik karıştırıcı (McClements 2016)

Yüksek parçalayıcı karıştırıcılar (Ultra-turrax); rotor geometrili, radyal açıklıkları olan, birbirine geçen halkalara sahiptirler. Rotor, sistemin merkezine girerken akışkanın hızlanmasına neden olur. Daha sonra müteakip hızlanmalar ve yavaşlamalar meydana gelir. Sonuç olarak türbülanslı bir akışla yüksek teğetsel/ kayma kuvvetleri üretilir. Böylece damlacıklar daha küçük parçalara (2-10 μm) ayrılabilir (Jafari 2017).

Emülsiyon üretiminde ultrasonik karıştırıcılar da (piezoelektrik transdüserler ve sıvı jet jeneratörleri) kullanılmaktadır. Denge durumunda bulunan bir ortamda parçacıkların hareketleri ile art arda gelen basınç değişikliklerinden oluşan mekanik titreşim “ses” olarak tanımlanırken saniyedeki titreşimi (frekans) gösteren birim Hertz (Hz) olarak tanımlanmaktadır. Buna ek olarak, insan kulağının algılama üst sınırı olan 20 kHz’den büyük frekanstaki sesler Ultrasonik ses (US) olarak bilinmektedir. US dalgaları, ferroelektrik materyallerin yüksek elektrik alanda elastik deformasyonu ve materyaldeki moleküllerin polarizasyonunun ortak etkisi ile oluşturulabilmektedir. Uygun şekilde kesilmiş kuvars, kurşun zirkonat ve baryum titanat gibi kristaller piezoelektrik özelliği göstermektedirler. Bu kristallere belirli bir doğrultuda basınç uygulandığında, buna dik doğrultuda bir elektrik alan oluşur veya tersi olarak bu kristallere alternatif bir elektrik akımı uygulandığında, bu kristallerde titreşimler oluşabilmektedir. Kristalin büyüklüğü ve doğal titreşimlerin frekansı, uygulanan elektrik sinyali frekansına eşit olacak şekilde ayarlandığında çok yoğun titreşimler (US) elde edilebilmektedir. US dalgaları ortamda boylamsal olarak ilerlemekte, farklı frekans ve dalga boyunda farklı mekanik, fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal etkilere neden olmaktadır. Etkileri farklı noktalarda çok kısa zamanlarda oluşup kaybolan, sıcaklığı 5000°C’ye, basıncı 50 MPa’a kadar çıkabilen vakumlu boşluklar (kavitasyonlar) ve ters yönlü ardışık basınç dalgaları ile gerçekleştirilmektedir. Söz konusu kavitasyonun oluşma nedeni, boylamsal olarak ilerleyen dalgaların ardışık olarak neden olduğu sıkışma ve genleşmelerdir. Kavitasyonların oluştuğu noktaların sınırlarında, sıvı fazında bulunan moleküller hızlı bir şekilde buhar fazına geçerek kavitasyonun içerisine difüze olurlar. Ancak kavitasyon çöktüğünde, bu moleküllerin enerjisi buharlaşmaya yetemediğinden tekrar yoğunlaşarak hızlı bir şekilde sıvı faza geçerler. Bu geri yoğunlaşma sırasında çarpışan moleküllerin artması ile şok dalgalar oluşur ve bu şok dalgaları kavitasyonların oluştuğu noktalarda sıcaklık ve basınç yükselmesine neden olurlar (Durak 2013).

Emülsiyon üretiminde ultrasonik karıştırıcılar (piezoelektrik transdüserler ve sıvı jet jeneratörleri) kullanılmaktadır. Piezoelektrik transdüserler birçok araştırma laboratuvarında bulunan tezgâh üstü ultrasonik homojenizatörler olup düşük hacimli (birkaç cm^3 – birkaç 100 cm^3) emülsiyonların üretimi için kullanılmaktadırlar (Şekil 2.11). Ultrasonik bir homojenizatörde, genellikle uça sivrilen koruyucu bir metal muhafaza içinde bir piezoelektrik kristal bulunmaktadır. Bu tip karıştırıcılarda yüksek yoğunluklu bir elektrik dalgası uygulanır ve bu da içindeki piezoelektrik kristalin hızla salınmasına ve ultrasonik bir dalga oluşturmaya neden olur. Ultrasonik dalga, dönüştürücünün ucuna doğru çevrilir ve etrafındaki sıvılara yayılarak sıvıların daha küçük parçalara ayrılmasına ve birbirleriyle karışmasına neden olan kavitasyona neden olur. Ancak uzun süre ultrasonikasyon işlemine maruz kalan emülsiyonlarda (lipidlerin oksidasyonunu, polisakkaritlerin depolimerizasyonunu veya proteinlerin denatürasyonunu) bozukluklar meydana gelebilmektedir (McClements ve Gumus 2016).

Ultrasonik homojenleştiricilerin etkinliğini belirleyen temel faktörler; ultrasonik dalgaların yoğunluğu, süresi ve sıklığıdır. Prensip olarak 5 MHz'e kadar yüksek frekanslara sahip ultrasonik dalgalar kullanılarak emülsiyonlar oluşturulabilir ancak homojenizasyon etkinliği, artan frekansla azalır. Bu nedenlerden dolayı çoğu ticari cihaz, frekansları 20-50 kHz arasında olan ultrasonik dalgalar kullanır. Homojenizasyon sırasında üretilen damlacıkların boyutu, ultrasonik radyasyonun yoğunluğunu artırarak veya uygulanma süresini uzatarak azaltılabilir (McClements ve Gumus 2016).

Esfanjani vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada safran ekstraktının, farklı emülgatörler ile (pektin ve peynir altı suyu proteini) çoklu (çift katmanlı) emülsiyona ve bunu takiben toz forma dönüştürülerek (püskürterek kurutma yöntemi) elde edilen nano kapsüllerin (<100 nm) stabilite özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, %10 safran ekstraktı içeren S/Y emülsiyonuna (mikroemülsiyon) protein/polisakkarit (peynir altı suyu konsantresi (WPC)/pektin) içeren bir duvar malzemesi (emülgatör karışımı) eklenerek çift katmanlı (S/Y/S) emülsiyon oluşturulmuştur. Elde edilen tozlarda; parçacık boyutu, renklendirme gücü ve aktif bileşenlerin (krosin, pikrokrosin ve safran) enkapsülasyon verimi araştırılmıştır. Söz konusu çalışmanın sonuçlarına göre, WPC/pektin ile stabilize edilmiş S/Y/S emülsiyonlarının renklendirme gücünün ve kapsülleme veriminin mikro kapsüllere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Safran ekstraktı içeren çok katmanlı emülsiyonların hazırlamasında kullanılan protein/polisakkarit bazlı emülgatörlerin, nihai emülsiyon stabilitesi üzerine etkinliği Esfanjani vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada araştırılmıştır. Bu amaçla ilk olarak iki farklı safran ekstraktı oranı (%5 ve %10) içeren S/Y bazlı mikro emülsiyonlar üretilmiştir. Daha sonra bu mikroemülsiyonlar farklı emülgatör ve bunların farklı kombinasyonları (peynir altı suyu protein konsantresi (WPC)-maltodekstrin veya WPC-pektin-maltodekstrin) ile S/Y/S çoklu emülsiyonlara dönüştürülmüştür. Bu şekilde hazırlanan emülsiyonların depolama boyunca (22 gün) stabilitesi (parçacık boyutu, stabilite ölçümü, etken bileşenlerin enkapsülasyon etkinliği) araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, %5 iç faz ile birlikte WPC-pektin-maltodekstrin içeren emülsiyonlarda zamana bağlı düşük salınım ve yüksek stabilite tespit edilmiştir.

Mehrnia vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada spontan yöntem ile üretilen krosin yüklü nano emülsiyonlarda emülsifikasyonu etkileyen faktörler (farklı non-iyonik emülgatörler (PGPR ve Açıklık 80), krosin konsantrasyonu (%0,1 ve %0,2), emülgatörün

suya oranı (%SWR (25-175), karıştırma süresi (2, 2,5 ve 3 saat) ve karıştırma hızı (400, 700 ve 1000 d/dk)) araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, PGPR'nin nano emülsiyonların hazırlanmasında başarılı olduğu ve bu emülgatör ile hazırlanan emülsiyonlarının yüksek stabiliteye (parçacık boyutu, kayma viskozitesi, renk (L^* , a^* ve b^*) sahip olduğu tespit edilmiştir.

Diğer bir çalışmada angum zamkı, gam arabik ve peynir altı suyu proteini ile hazırlanan krosin içeren nano emülsiyonların, reolojik ve salınım özellikleri araştırılmıştır. Farsça sakız veya Zedu olarak da bilinen Angum zamkı, yabani veya dağ badem ağacının (*Amygdalus scoparia* Spach) salgısıdır. Bu çalışmada da diğer çalışmalarda olduğu gibi spontan yöntem ile önce krosin ekstraktı içeren S/Y emülsiyonu hazırlanmış daha sonra angum zamkı içeren dış sulu faz (S), peynir altı suyu proteini ile karıştırılarak S/Y/S emülsiyonuna dönüştürülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre Angum zamkı ile hazırlanan emülsiyonlarda gam arabik ile hazırlananlara göre 10 kat daha yüksek viskozite ve jelleşme değeri tespit edilmiştir. Ayrıca en yüksek damlacık boyutu Angum zamkı ile hazırlanan emülsiyonlarda görülmesine rağmen en düşük kremleşme ve yüksek stabilite değerleri yine aynı emülsiyonlarda tespit edilmiştir (Mehrnia vd. 2017).

Maggi vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada parabenlerin (metil paraben ve propil paraben) safran ekstraktında bulunan biyoaktif bileşenlerin (krosetin esterleri ve pikrokrosin) raf ömrü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Krosetin esterlerinin bozulmasının birinci dereceden kinetik model ile uyumlu olduğu değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarla her iki parabenin varlığında da krosetin esterlerinin raf ömrünün uzadığı tespit edilirken; pikrokrosin için etkili olmadıkları belirlenmiştir. Ancak literatürde gıda yoluyla alınan parabenin kişilerde ağır cilt rahatsızlıklarına (deride kızarıklıklar, şişkinlik, kaşıntı ve ağrı) neden olduğu bilinmektedir. Dokulara yerleşen parabenler östrojen hormonlarını artırarak denge bozulmasına ve kanser tümörlerin oluşmasına da neden olmaktadır (Yıldız ve Çabuk 2018).

Rahaiee vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada krosin satabilitesini artırmak amacı ile farklı taşıyıcı konsantrasyonu (kitosan (Cs) ve sodyum aljinat (Alg)) kullanılarak enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Cevap-yüzey metodunun sonuçlarına göre enkapsülasyon ortamının pH değeri, Cs ve Alg konsantrasyonlarının parçacık boyutu ve EE (enkapsülasyon etkinliği) üzerine önemli ölçüde etkili olduğu bildirilmiştir.

Diğer bir çalışmada safranin sulu ekstraktı, pullulan, olivinilpirrolidon-360 (PVP-360) ve polivinilpirrolidon-40 (PVP-40) ile kapsüllenmiş (dondurarak kurutma) ve buna bağlı olarak krosin degradasyon kinetiği incelenmiştir. Bu çalışmada 35°C sıcaklıkta, karanlık ortamda ve farklı su aktivitelerinde (0.43, 0.53, 0.64 ve 0.75) muhafaza edilen örneklerin polar özelliği taşıyan pigmentlerinin renk gücü periyodik ölçümler ile tayin edilmiştir. Polimerik yapıdaki materyallerin büyük ölçüde krosetin glikozitlerinin oksidasyonunu azaltırken, PVP-40 ile kapsüllenen örneklerde stabilitenin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Selim vd. 2000).

Kyriakoudi vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı parametrelere bağlı (metanol-su oranı, sonikasyon gücü ve süresi) ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile safranda bulunan biyoaktif bileşenlerin optimum ekstraksiyon koşulları, cevap-yüzey

metodu ile araştırılmıştır. Ayrıca çalışmada UV-vis spektrofotometrik ve HPLC-DAD metotları karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilere göre maksimum krosin konsantrasyonu; %50 metanol, 0.2 döngü sayısı ve 30 dakika ultrasonikasyon uygulanan ekstraktlarda tespit edilmiştir.

Mohammadi vd. (2016b) tarafından yapılan bir çalışmada antioksidanca zengin olan zeytin yaprağı ekstraktının (100, 200 ve 300 mg/L konsantrasyonda), soya fasulyesi yağında nanoemülsiyona dönüştürülerek oksidatif stabilitesi araştırılmıştır. Elde edilen çalışma sonucuna göre üretiminin birinci gününde S/Y emülsiyonların parçacık boyutu 6.16 nm iken çift katmanlı emülsiyonlarda (WPC ve WPC-pektin) bu değer sırası ile 675 ve 1443 nm olarak belirlenmiştir. Diğer yandan çalışma sonucuna göre kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktlarının peroksit stabilite değeri kapsüllenmemiş örneklerle nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak dağılmış emülsiyon damlacıkları ile fenolik bileşiklerin bloke edilmesi nedeniyle, kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktlarının termal stabilitesi daha düşük tespit edilmiştir.

Bir diğer çalışmada ise, zeytin yaprağının fenolik bileşikleri, WPC-pektin kompleksleri vasıtası ile nanokapsül forma dönüştürülmüş ve elde edilen kapsüllerin zamana bağlı (1-20 gün depolama) stabilitesi (parçacık boyutu, sedimentasyon analizi, viskozite ölçümü, enkapsülasyon etkinliği ve renk) araştırılmıştır. Bu çalışmanın birinci basamağında S/Y emülsiyonu ve ikinci basamağında S/Y/S (WPC ve WPC-pektin) emülsiyonları üretilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 1 günde WPC ve WPC-pektin emülsiyonlarının enkapsülasyon etkinliği sırası ile %93.34 ve %96.64 iken 20 gün sonunda bu değerler sırası ile %72.73 ve %88,81 olarak belirlenmiştir. Diğer bir deyişle bu çalışmada en düşük fenolik salınımı WPC-pektin çoklu emülsiyonlarında tespit edilmiştir (Mohammadi vd. 2016a).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada Kategori-I olarak tanımlanan ve ISO standardına (Anonymous 2) göre 1.sınıf kalitede olan safran örnekleri kullanılmıştır (Şekil 3.1). Örnekler İran’da faaliyet gösteren ticari bir firmadan temin edilmiş, karanlıkta ve oda sıcaklığında analiz edilinceye kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan safran örneği (Kategori I)

Emülsiyon üretiminde kullanılan materyaller; ayçiçek yağı (Yudum), maltodekstrin (Sigma-Aldrich, cas no:9050-36-6), β -siklodekstrin (Sigma-Aldrich, cas no:7585-39-9), peynir altı suyu proteini izolatu (Hipro Isowhey), PGPR (Palsgaard, 4175-31079302), sodyum benzoat (Tito E211) üretici firmalardan çalışmanın niteliğine uygun olarak tedarik edilmiştir. Analizlerde kullanılan diğer kimyasallar Merck veya Sigma-Aldrich firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Safran örneklerinin ekstraksiyonu

Bu bağlamda ilk olarak Cevap Yüzey Metodu kullanılarak Box-Behnken deneme deseni oluşturulmuş ve ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Ancak varyans analizi sonuçlarında model uygunsuzluğu (lack of fit) önemli bulunduğu ($P>0.05$) için bu yöntemin kullanılmasının uygun olmadığı anlaşılmış ve ekstraksiyon optimizasyonunda faktöriyel deneme deseni kullanılmıştır.

Faktöriyel deneme deseni için yapılan literatür incelemesi ile; safran: su oranı, sıcaklık ve süre parametrelerinin alt ve üst limitleri belirlenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon 3 farklı safran:su oranı (0.5:1, 1:1 ve 2:1, w/v (g/L)), 3 farklı sıcaklık (60, 70 ve 80°C) ve 10 farklı süre (5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ve 360 dk) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1).

Örneklerin ekstraksiyon optimizasyonu çalışmasında Gismondi vd. (2012) tarafından kullanılan ekstraksiyon metodu revize edilerek uygulanmıştır. Bu bağlamda öğütülüp 500 μ m gözenek açıklığına sahip elekten geçirilmiş safran örnekleri hassas terazi ile tartılıp, yaklaşık 250 mL hacimli amber renkli şişelere aktarılmıştır. Daha sonra Çizelge 3.1’de belirtildiği gibi; her örneğe 3 farklı sıcaklıkta, 10 dakika boyunca ultrasonik su banyosunda degaze edilmiş saf su eklenmiştir. Bunu takiben hazırlanan

ekstraktlar da 1 dakika boyunca ultrasonik su banyosunda degaze edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan şişelerin ağzı kapatılarak çalkalamalı su banyosunda (115 d/dk) Çizelge 3.1’de belirtildiği gibi 3 farklı sıcaklık ve 10 farklı sürede ekstraksiyon işlemine tâbi tutulmuştur. Sürelerin sonunda su banyosundan çıkartılan ekstraktlar kaba filtre kâğıdından süzölmüş ve degradasyonu önlemek için 20 dakika boyunca buz banyosunda bekletilmiştir. Tüm bu işlemler yapılırken amber şişeler, mezür ve ultrasonik su banyosunun sıcaklıklarının çalışılan sıcaklıkta olmasına dikkat edilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri; karanlıkta, 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve analizler 3 paralelli olarak yürütölmüştür.

Çizelge 3.1. Ekstraksiyon optimizasyon koşulları

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Safran: su oranı		
60	5	0.5:1	1:1	2:1
	10	0.5:1	1:1	2:1
	20	0.5:1	1:1	2:1
	30	0.5:1	1:1	2:1
	60	0.5:1	1:1	2:1
	120	0.5:1	1:1	2:1
	180	0.5:1	1:1	2:1
	240	0.5:1	1:1	2:1
	300	0.5:1	1:1	2:1
	360	0.5:1	1:1	2:1
70	5	0.5:1	1:1	2:1
	10	0.5:1	1:1	2:1
	20	0.5:1	1:1	2:1
	30	0.5:1	1:1	2:1
	60	0.5:1	1:1	2:1
	120	0.5:1	1:1	2:1
	180	0.5:1	1:1	2:1
	240	0.5:1	1:1	2:1
	300	0.5:1	1:1	2:1
	360	0.5:1	1:1	2:1
80	5	0.5:1	1:1	2:1
	10	0.5:1	1:1	2:1
	20	0.5:1	1:1	2:1
	30	0.5:1	1:1	2:1
	60	0.5:1	1:1	2:1
	120	0.5:1	1:1	2:1
	180	0.5:1	1:1	2:1
	240	0.5:1	1:1	2:1
	300	0.5:1	1:1	2:1
	360	0.5:1	1:1	2:1

Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstraktların kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinden %1’lik renk verme gücü Eşitlik 3.2 ve 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır (bakınız sayfa 33 ve 34).

Diğer yandan ISO (3236-2) (Anonymous 2) metodunda belirtildiği şekilde de ekstraksiyon yapılmıştır. Bu standarda göre; safran örnekleri öğütülüp, 500 µm gözenek açıklığına sahip elekten geçirilmiş ve 0.500 ± 0.001 g öğütülmüş örnek tartılıp 1 L hacimli amber renkli balon jojeye aktarılmıştır. Üzerine 900 mL saf su eklenen karışım oda sıcaklığında ($\sim 25^\circ\text{C}$) 1000 d/dk hızla çalışan manyetik karıştırıcıda 1 saat karıştırılmış ve sonrasında balon joje hacim çizgisine tamamlanmıştır. Sürenin sonunda, hazırlanan ekstrakt kaba filtre kâğıdından geçirilerek süzülmüştür. Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstraktın kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinde %1'lik renk verme gücü yine Eşitlik 3.2 ve 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.2. Ultrafiltrasyon optimizasyonu

ISO 3632-2 (Anonymous 2) yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktın konsantrasyonunu artırmak amacı ile ultrafiltrasyon işlemi uygulanmıştır. Denemeler, laboratuvar tipi ultrafiltrasyon sistemi (Sartorius, Göttingen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Her deneme öncesinde gün içinde taze ekstrakt hazırlanmıştır. Ultrafiltrasyon optimizasyonu kademeli olarak yapılmıştır.

- Uygun filtrenin seçimi: Bunun için oda sıcaklığında, 2 bar basınç altında beslenen ekstraktın %70'i permeat, %30'u retentat olarak alınacak şekilde, ikisi de 5 kDa ayırma gücüne sahip iki farklı filtre materyali (hydrosart (selüloz bazlı membran) ve polietersülfon (PESU)) kullanılarak konsantrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonucunda elde edilen permeat ve retentatta çeşitli fiziksel (renk analizi) ve kimyasal analizler (krosin miktarı) yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda gözenek çapının küçük olması nedeniyle, 5 kDa ayırma sınırına ve polietersülfon filtre materyaline sahip membran ile retentatta istenilen renk bileşenleri (Krosin) en iyi şekilde konsantre edilebilmiştir.

- Ayırma sınırı: Bu amaçla; oda sıcaklığında, 2 bar basınç altında beslenen ekstraktın %70'i permeat, %30'u retentat olacak şekilde, 3 farklı (10, 5 ve 1 kDa) ayırma sınırına sahip, PESU materyal içeren membrandan geçirilerek konsantrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonucunda elde edilen permeat ve retentatta çeşitli fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU materyal içeren filtre ile konsantre edilen retentatta renk bileşenleri en iyi şekilde konsantre edilebilmiştir.

- 1 kDa ayırma sınırına sahip, PESU materyal içeren membran filtre kullanılarak yapılacak konsantrasyon işleminin optimizasyonu için ilk olarak Cevap Yüzey Metodu kullanılarak Box-Behnken deneme deseni oluşturulmuş ve ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Ancak deneme deseni sonuçlarına göre model uyumsuzluğu (lack of fit) önemli bulunduğu ($P > 0.05$) için bu yöntemin kullanılmasının uygun olmadığı anlaşılmıştır. Bu nedenle konsantrasyon işleminin optimizasyonunda faktöriyel deneme deseni kullanılmıştır. Faktöriyel deneme deseni için yapılan literatür incelemesi sonucunda 3 farklı besleme oranı (permeat: retentat oranı 80:20; 70:30 ve 60:40), 2 farklı sıcaklık (4 ve 25°C) ve 2 farklı basınç (2 ve 3 bar) belirlenip denemeler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2). Her denemenin sonunda membran temizlik prosedürü (sistemden 50°C 'de 1 M NaOH çözeltisi 1 saat sirküle edilip ve süre sonunda permeat tutulması) uygulanmıştır.

Ultrafiltrasyon işlemleri; karanlıkta, 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve analizler (renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*)), toplam krosin ve verim) 3 paralelli olarak yürütülmüştür.

Çalışmanın diğer basamaklarında bu şekilde hazırlanan retentattan, “K-1” olarak bahsedilmiştir. Optimum şartlarda elde edilen bu retentat bir sonraki aşamaya kadar -80°C’de depolanarak muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.2. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtrenin optimizasyon parametreleri

Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	P:R
4	2	60:40
	2	70:30
	2	80:20
4	3	60:40
	3	70:30
	3	80:20
25	2	60:40
	2	70:30
	2	80:20
25	3	60:40
	3	70:30
	3	80:20

3.2.3. Emülsiyon optimizasyonu

Safran ekstraktları iki farklı (tek katmanlı (S/Y) ve çoklu (S/Y/S)) yöntem kullanılarak emülsiyon sistemlerine dönüştürülmüştür.

3.2.3.1. Tek katmanlı (S/Y) emülsiyon formülü optimizasyonu

Tek katmanlı S/Y emülsiyonlarına ait formüllerin (Yağ: PGPR: Ekstrakt (K-1) oranı) optimizasyon çalışmaları için Cevap Yüzey Metodu ve D-optimal birleşik dizayn (Design Expert 7) kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Deneme deseni için; yapılan literatür incelemesi sonucuna göre, hacimde toplam oran %100’e tamamlanacak şekilde, ayçiçek yağı (%60-80), PGPR (%0.5-10) ve ekstrakt (K-1) (%10-39) içeriğinin alt ve üst limitleri belirlenmiştir. Esfanjani vd. (2015) ve Mehrnia vd. (2016)’nın metotları kullanılarak, desende belirtilen miktarlarda ayçiçek yağı ve PGPR hassas terazi yardımı ile tartılıp, 10°C sıcaklıktaki su banyosuna bağlı çift cidarlı behere aktararak, 30 dk boyunca 700 d/dk hızda, pervaneli karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Sürenin sonunda elde edilen karışıma 90 dakika boyunca pastör pipeti ile damla damla ekstrakt (K-1) eklenmiştir. Bu yöntemle farklı formüllerde toplam 16 emülsiyon elde edilmiştir. Oluşturulan emülsiyonlar 35 gün boyunca 30°C’ye ayarlı etüvde depolanmıştır.

Mikroemülsiyonların normal emülsiyonlara göre en önemli avantajlarından biri saydam veya yarı saydam görünimleri olup, bu durum onları yiyecek ve içeceklerde kullanmaya uygun hale getirmektedir. Saydam veya yarı saydam emülsiyon elde

edilirken; ışığın saçılmasını önlemek için, emülsiyonun parçacık çapları ışığın dalga boyundan yeterince küçük olmalıdır. Sürfektan ve ekstrakt hacmine dayalı olarak yapılan emülsiyon formülü optimizasyonlarında; partikül boyutunun düzensiz değişiminden dolayı, bunun yanı sıra renk koordinatlarının da yorumlanması iyi bir yöntemdir (Mehrnia 2016).

Çizelge 3.3. S/Y emülsiyonlarının formülüne (Yağ: PGPR: Ekstrakt (K-1)) ait optimizasyon çalışmaları için D-optimal birleşik dizayna ait deneme deseni

Desen	A:Yağ	B: PGPR	C: Ekstrakt (K-1)
1	71.055	10.000	18.995
2	60.000	9.397	30.603
3	77.790	10.000	12.210
4	60.000	9.397	30.603
5	80.000	5.697	14.303
6	66.068	0.500	33.432
7	75.524	7.701	16.774
8	69.654	4.009	26.336
9	74.576	3.569	21.855
10	80.000	0.562	19.438
11	60.000	0.502	39.498
12	80.000	0.562	19.438
13	77.790	10.000	12.210
14	65.088	9.983	24.929
15	80.000	5.697	14.303
16	60.000	0.502	39.498

Depolama sonunda, araştırmanın amacına uygun olarak emülsiyonda parçacık boyutu (hacim ağırlıklı ortalama çap, hacim-yüzey ortalama çap ve açıklık) ve model gıdada renk analizleri (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar arasındaki ilişki modellenmiştir. Bu veriler doğrultusunda optimum şartlarda elde edilen S/Y emülsiyon formülü bir sonraki aşama olan S/Y/S emülsiyonun üretiminde kullanılmıştır.

S/Y emülsiyon formülü optimizasyonu; parçacık boyutu ve renk değerleri sonuçları kullanılarak cevapların her biri için belirlenen en uyumlu modelin regresyon eşitlikleri (Eşitlik 3.1) cevap yüzey metodu ile oluşturulmuştur.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_4 A.B + \beta_5 A.C + \beta_6 B.C + \beta_7 A^2 + \beta_8 B^2 + \beta_9 C^2 + \alpha \quad (3.1)$$

Burada;

Y: Cevapları (D_{43} , D_{32} , Açıklık, L^* , a^* , b^* , h° ve C^*)

A: Yağ oranını

B: PGPR oranını

C: Ekstrakt oranını

β_0 : Kesişim değerini

$\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5, \beta_6, \beta_7, \beta_8, \beta_9$: Bağımsız değişkenlerin katsayı değerlerini ve

α : Hatayı göstermektedir.

3.2.3.2. Çoklu emülsiyon (S/Y/S) formülü optimizasyonu

Çok katmanlı emülsiyonların üretiminde ilk başta K-1 ekstraktı kullanılmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar doğrultusunda, yapılan UF işlemlerine rağmen K-1'in çok katmanlı emülsiyon üretimi için yeterince konsantrite olmadığı tespit edilmiştir. Bu sebepten dolayı ve çalışmanın amacı göz önünde bulundurularak daha konsantrite bir ekstrakt elde etmek için; Esfanjani vd. (2015)'e ait, safran oranı yüksek ancak su oranı düşük (6.67:1) ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Buna göre 500 µm gözenek çaplı elekten geçirilmiş 10 g öğütülmüş safran örneği 150 mL'lik amber renkli balon jøjeye aktarılmıştır ve karışım oda sıcaklığında (~25°C) 1000 d/dk hızda çalışan manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Sürenin sonunda ekstrakt kaba filtre kâğıdından geçirilerek süzölmüş ve bir sonraki aşamaya kadar -80°C'de depolanarak muhafaza edilmiştir. Tez kapsamında, bu şekilde elde edilen konsantrite ekstrakt, "K-2" olarak adlandırılmıştır.

Çoklu emülsiyon sistemi kademeli olarak hazırlanmıştır. Bunun için literatür araştırmaları sonucuna göre (Bathaie ve Mousavi 2010; Esfanjani vd. 2015; Esfanjani vd. 2017; Lutz vd. 2009b), öncelikle 7 farklı formülle dış sulu fazlar hazırlanmıştır (Çizelge 3.4). Daha sonra, bir önceki basamakta optimize edilen S/Y fazı hazırlanmıştır. Bu emülsiyonların hazırlanma basamakları aşağıdaki gibidir;

-Çözelti A (Dış sulu faz sistemleri): Dış sulu faz çözeltisi, S/Y/S emülsiyonlarının hazırlanması için kullanılan ana çözeltidir. Bunun için, Çizelge 3.4'te gösterildiği gibi faktöriyel dizayn kullanılarak formül için optimizasyon deneme deseni oluşturulmuştur. Esfanjani vd. (2015)'e göre denemede kullanılan çözeltiler fosfat tamponu (pH=6) içerisinde ayrı ayrı hazırlanmıştır. WPI içeren formüller 1 gece boyunca buzdolabında bekletilirken diğer formüller oda sıcaklığında bekletilmiştir.

- Çözelti B (S/Y): S/Y emülsiyon optimizasyon basamağının sonucuna göre son hacim %67 Ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 K-2 içerecek şekilde çözelti hazırlanmıştır.

- A, B çözeltileri ve antimikrobiyal olarak da %0.05 sodyum benzoat (Lutz vd. 2009b) 10°C sıcaklıktaki su banyosuna bağlı çift cidarlı behere aktarılacak önce 5dk 12000 d/dk hızda daha sonra 8 dk 15000 d/dk hızda ultra-turrax (IKA T18 Dijital ULTRA-TURRAX) yardımı ile homojenize edilmiştir (Esfanjani vd. 2015).

Çizelge 3.4. Dış sulu faz sistemlerinin formüllerine faktöriyel dizayn deneme deseni

Formül	İçerik
MD	%8'lik maltodekstrin (MD)
WPI	%8'lik Peyniraltı suyu proteini izolatu (WPI)
BSD	%1.7 β-siklodekstrin (β-SD)
MD-WPI	Son hacimde; %8 MD ve %8 WPI
MD-BSD	Son hacimde; %8 MD ve %1.7 β-SD
MD-WPI-BSD	Son hacimde; %8 MD, %8 WPI ve %1.7 β-SD
WPI-BSD	Son hacimde; %8 WPI ve %1.7 β-SD

Emülsiyon sistemleri 2 tekerrürlü olarak üretilip 30°C sıcaklıktaki etüvde 35 gün boyunca depolanmış ve her 5 günde bir depolama analizleri (parçacık boyutu dağılımı ve

model gıdada renk analizi) yapılmıştır. En iyi renk stabilitesine sahip 2 farklı emülsiyon formülü belirlenerek bir sonraki basamak olan ultrasonikasyon destekli S/Y/S emülsiyon üretiminin optimizasyon çalışmasında kullanılmıştır.

3.2.3.3. Ultrasonikasyon destekli S/Y/S emülsiyon optimizasyonu

Ultrasonikasyon destekli S/Y/S emülsiyonları iki basamaklı olarak hazırlanmıştır. Bunun için bir önceki basamağın sonuçlarına göre S/Y/S emülsiyonları hazırlanmış ve daha sonra örnekler (Rahaiee vd. 2015)'e göre 20 kHz frekansta ve %100 genlikte çalışan ultrasonikasyon cihazı (Bandelin HD3200, Bandelin Electronics, Berlin, Almanya) kullanılarak homojenize edilmiştir. Ultrasonikasyon süresini belirlemek amacı ile ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Bunun için, yüksek sıcaklıkta emülsiyon bozulmasını önlemek amacı ile üretim 4°C sıcaklığa soğutulmuş çift cidarlı beherde ve 10 farklı sürede (15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 ve 240 s) gerçekleştirilmiştir. Her üretim sonunda emülsiyon çıkış sıcaklıkları ölçülmüş ve 30°C'yi geçmeyen emülsiyonlara parçacık boyutu ve model gıdada renk (L^* , a^* , b^* ve h° , C^*) analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda en iyi stabilite sağlayan ultrasonikasyon desteğiyle hazırlanmış S/Y/S emülsiyonu depolanmış ve depolama analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Depolama

Optimizasyon verileri doğrultusunda Çizelge 3.5'te gösterilen formülizasyona sahip ürünler, 2 tekerrür halinde üretilmiştir. Hazırlanan formüllere ayrıca %0.05 oranında antimikrobiyal (sodyum benzoat) eklenmiştir. 35 gün boyunca 3 farklı sıcaklıkta depolama (5, 25 ve 45°C) gerçekleştirilmiş ve depolama süresince ürünler her 5 günde bir analiz edilmiştir. Çizelge 3.5'te belirtilen parametrelere uygun hazırlanan emülsiyonlarda; parçacık boyutu (D_{43} ve açıklık), model gıdada renk (L^* , h° ve C^*), stabilite testi (ESİ), krosin salınımı (%FR), enkapsülasyon verimi (%EE), mikroskop ile parçacık boyutu görüntüleme (0. gün ve 35. gün), LC-MS-MS (0. gün ve 35. gün) ve duyu analizi (0. gün ve 35. gün, 25°C'de depolanan örneklerde) gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.5. Depolama örneklerinin formülleri

Formül kodu	Formül
A	K-1 ekstraktı: ISO 3236-2 göre hazırlanmış (Safran:su oranı 0.5:1) ve ultrafiltrasyon işlemi (PESU, 1kDa, 2 bar, 4°C, besleme oranı %20 retentant) ile konsantre edilmiştir.
B	K-2 ekstraktı: 10 g safran 150 mL'lik amber renkli balon jojeye aktarılmış ve karışım oda sıcaklığında (~25°C), 1000 d/dk hızda çalışan manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca ekstrakte edilmiştir.
C	S/Y-1: %67 ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 K-1 ekstraktı içermektedir.
D	S/Y-2: %67 ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 K-2 ekstraktı içermektedir.
E	S/Y/S-1: S/Y-2 emülsiyonu ve dış sulu fazda %1.7 β-SD içermektedir (Ultra-turrax uygulanmış).
F	S/Y/S-2: S/Y-2 emülsiyonu ve dış sulu fazda %8 WPI ve %1.7 β-SD içermektedir (Ultra-turrax uygulanmış).
G	S/Y/S-3: S/Y-2 emülsiyonu ve dış sulu fazda %1.7 β-SD içermektedir (Ultra-turrax + Ultrasonikasyon uygulanmış).
H	S/Y/S-4: S/Y-2 emülsiyonu ve dış sulu fazda %8 WPI ve %1.7 β-SD içermektedir (Ultra-turrax + Ultrasonikasyon uygulanmış).

3.2.5. Analizler

3.2.5.1. Safranda nem tayini

Çalışmada kullanılacak olan ticari safran örneğinde ISO 3632-2'e (Anonymous 2) göre nem tayini yapılmıştır. Bu amaçla örneklerden 2.5±0.001 g tartılıp, 103°C sıcaklığa ayarlı etüvde 16 saat boyunca sabit tartıma ulaşınca kadar kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan örneklerin son ağırlıkları ölçülmüştür. Safran numunesinin nem içeriği (w_{MV}) Eşitlik 3.2 yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\% w_{MV} = (M_0 - M_4) * \% \frac{100}{M_0} \quad (3.2)$$

M_0 : Örnek miktarı (g)

M_4 : Kurutma sonrası ağırlık (g)

3.2.5.2. ISO 3632–2 standardına göre safranın sınıfının belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak olan ticari safran örneğinin ISO 3632-2 (Anonymous 2) tarafından yapılan sınıflandırmada hangi kategoride olduğunu belirleyebilmek amacıyla aynı standart tarafından belirtilen ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakt elde edilmiştir. Bunun için safran örnekleri öğütülüp, 500 µm gözenek açıklığına sahip elekten geçirilmiş ve 0.500 ± 0.001 g öğütülmüş örnek tartılıp 1 L hacimli amber renkli balon jojeye aktarılmıştır. Üzerine 900 mL saf su eklenen karışım oda sıcaklığında (~25°C) 1000 d/dk hızla çalışan manyetik karıştırıcıda 1 saat karıştırılmış ve sonrasında balon joje hacim çizgisine tamamlanmıştır. Sürenin sonunda, hazırlanan ekstrakt kaba filtre kâğıdından

geçirilerek süzölmüştür. Bu ekstraktan 25 mL alınarak 250 mL'lik balon jöjeye aktarılmış ve balon jöje su ile hacim çizgisine tamamlanmıştır. Daha sonra bu ekstrakt 0.45 µm'lik PTFE filtreden geçirilerek kuvars küvetler kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Shimadzu, Japonya) 440 nm dalga boyunda absorbands değeri okunmuştur. Renklendirme gücü, absorbands değeri kullanılarak Eşitlik 3.3'e göre hesaplanmıştır.

$$E_{1\text{ cm}}^{\%1} = \frac{D \cdot C}{H} \quad (3.3)$$

$E_{1\text{ cm}}^{\%1}$: 1cm kenar uzunluğuna sahip kuvars küvetteki %1'lik çözeltinin 440 nm dalga boyundaki renk verme gücü,

D: Özgöl absorbands,

C: Seyreltme faktörü,

H: safran numunesinin nem içeriğı.

3.2.5.3. Renk analizi

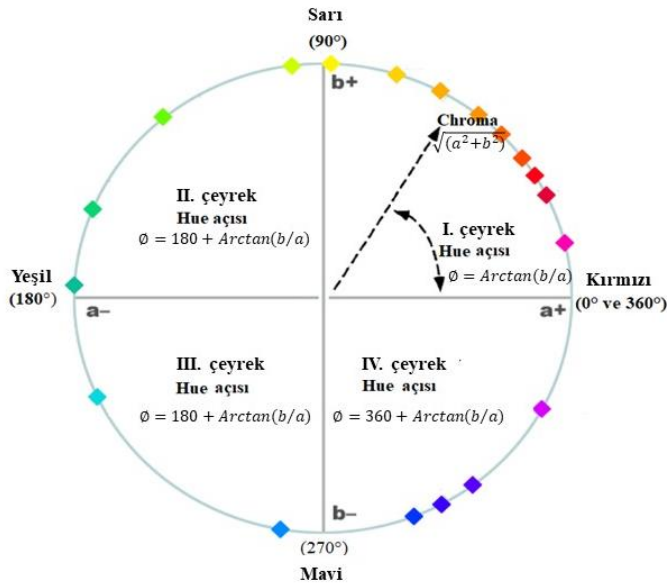
Ultrafiltrasyon işlemi sonucunda elde edilen permeat ve retentatların renk ölçümleri UltraScan-VIS Hunterlab (Virginia, ABD) renk ölçüm cihazı kullanılarak, emülsiyonlarda ise model gıdada (safranlı pilavda) Konica- Minolta (CR-400) renk ölçüm cihazı kullanılarak yapılmıştır. Saydam sıvılarda; ortam ışığından etkilenmesi nedeniyle Konica- Minolta (CR-400, Osaka, Japonya) renk ölçüm cihazı doğru sonuç vermeyeceğı için, permeat ve retentatların analizleri, ölçümün karanlık bir haznede gerçekleştirildiğı UltraScan-VIS Hunterlab renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Bu analiz 2 tekerrür ve 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Renk; L^* (koyuluk-açıklık), a^* (yeşillik-kırmızılık), b^* (mavilik-sarılık) Hunter lab renk parametreleri cinsinden ifade edilmiştir. Renk ölçüm cihazları her ölçüm öncesinde kendi kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir. h° , a^* ve b^* değeri pozitif olduğu durumda Eşitlik 3.4, a^* değeri negatif ve b^* değeri pozitif olduğu durumda Eşitlik 3.5'e göre hesaplanmıştır. Renk yoğunluğu (kroma*) değeri Eşitlik 3.6'e göre hesaplanmıştır (McLellan vd. 1995). Şekil 3.2'de ton açısı (h°) değeri değişimine bağı renk tonları gösterilmiştir.

$$\text{I. Çeyrekte } h^\circ = \text{ArcTan}(b^*/a^*) \quad (3.4)$$

$$\text{II. Çeyrekte } h^\circ = 180 + \text{ArcTan}(b^*/a^*) \quad (3.5)$$

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (3.6)$$



Şekil 3.2. Ton açısı değerlerinin değişimine bağlı olarak renk tonları (McLellan vd. 1995)

Ultrafiltrasyon işlemi sonucunda elde edilen permeat ve retentatların renk ölçümü için öncelikle UltraScan-VIS Hunterlab renk ölçüm cihazı kendi siyah (blank) ve beyaz (white) kalibrasyon plakaları kullanılarak kalibre edilmiştir. Cihazın ölçüm haznesine yaklaşık 120 mL safran ekstraktı aktararak renk değerleri okunmuştur.

Emülsiyonlarda ise renk ölçümleri model gıdaya (safranlı pilavda) katıldıktan sonra Konica- Minolta (CR-400) renk ölçüm cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bunun için 70 g yasemin pirince, 100 mL saf su ve 10 mL emülsiyon eklenmiş ve karışım 8 dk boyunca pilav pişirme makinesinde (Pars khazar rice cooker 61TYAN, İran) pişirilmiştir. Renk ölçümü için cihaz öncelikle kendi kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir. Cihazın ölçüm haznesi safranlı pilav ile silme bir şekilde doldurulduktan sonra 3 ayrı noktadan renk ölçümü yapılmıştır.

3.2.5.4. Emülsiyonlarda parçacık boyutu dağılımı

Emülsiyonlarda parçacık boyutu analizleri lazer difraksiyon prensibi ile çalışan parçacık boyut analiz cihazı (Malvern, Mastersizer 2000SR, İngiltere) ve bu cihaza bağlanan sıvı modülü (Malvern Hydro 2000S, İngiltere) kullanılarak Fuchs vd (2006)'a göre yapılmıştır. Analiz, örneklerin cihaz haznesi içerisinde disperse edilmesiyle ve 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ise cihazın yazılımı (Malvern Application Ver. 5.60) yardımıyla hacim ağırlıklı ortalama çap (De Brouckere), hacim-yüzey ortalama çap (Sauter) ve Açıklık olarak değerlendirilmiştir. Sauter ortalama çap değeri, aynı hacim/yüzey oranına sahip kürelerin (parçacıkların) ortalama çapını; Açıklık değeri ise, belirli bir yığın içerisinde bulunan partiküllerin dağılımını ifade etmektedir. Burada hacim ağırlıklı ortalama çap Eşitlik 3.7'ye, Sauter ortalama çap Eşitlik 3.8'e ve Açıklık değeri Eşitlik 3.9'a göre hesaplanmıştır (Esfenjani 2017).

$$D_{43} = (\sum n_i d_i^4) / (\sum n_i d_i^3) \quad (3.7)$$

$$D_{32} = (\sum n_i d_i^3) / (\sum n_i d_i^2) \quad (3.8)$$

$$Açıklık = \frac{[d(v.90)-d(v.10)]}{d(v.50)} \quad (3.9)$$

D_{43} : Hacim ağırlık ortalama φ ap (μ m)

D_{32} : Sauter ortalama φ ap (μ m)

$n_i d_i$: d_i φ apına sahip n_i tane par φ acık

$d(v.10)$: %10 k $\ddot{u}$ m $\ddot{u}$ latif hacme sahip e $\ddot{s}$ de $\ddot{g}$ er hacimsel φ ap (μ m)

$d(v.50)$: %50 k $\ddot{u}$ m $\ddot{u}$ latif hacme sahip e $\ddot{s}$ de $\ddot{g}$ er hacimsel φ ap (μ m)

$d(v.90)$: %90 k $\ddot{u}$ m $\ddot{u}$ latif hacme sahip e $\ddot{s}$ de $\ddot{g}$ er hacimsel φ ap (μ m)

3.2.5.5. Stabilite testi

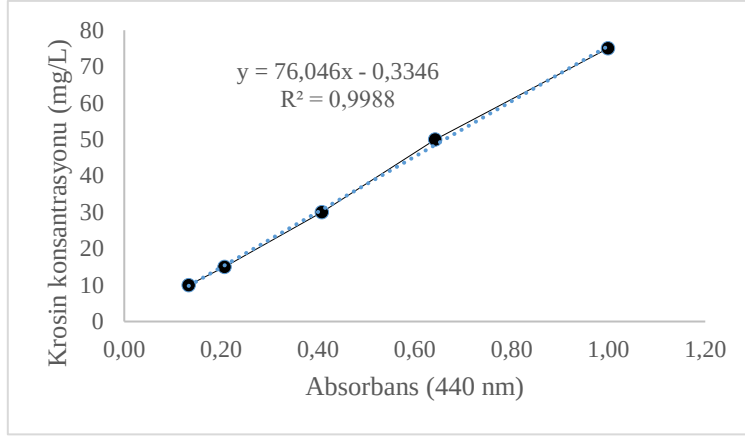
Em $\ddot{u}$ lsiyonların stabilitesinin belirlenmesi amacıyla yakla $\ddot{s}$ ık 10 mL em $\ddot{u}$ lsiyon bir test t $\ddot{u}$ p $\ddot{u}$ ne aktarılmı $\ddot{s}$ ve t $\ddot{u}$ pler a $\ddot{g}$ zı kapatılarak 35 g $\ddot{u}$ n boyunca 5°C, 25°C ve 45°C sıcaklıktaki karanlık ortamda hareketsiz bir $\ddot{s}$ ekilde depolanmı $\ddot{s}$ tır. Depolama s $\ddot{u}$ resince 5 g $\ddot{u}$ nl $\ddot{u}$ k periyotlarla faz ayrımları izlenmi $\ddot{s}$ ve em $\ddot{u}$ lsiyonların par φ acık boyutları $\ddot{o}$ l $\ddot{c}$ $\ddot{u}$ lm $\ddot{u}$ şt $\ddot{u}$ r. Hesaplamalar, 0. g $\ddot{u}$ n de $\ddot{g}$ erlerine oranlanarak Enkaps $\ddot{u}$ lasyon Stabilite İndeksi (ESI) olarak hesaplanmı $\ddot{s}$ tır. ESI de $\ddot{g}$ eri 1’den b $\ddot{u}$ y $\ddot{u}$ k bir de $\ddot{g}$ erdir ve bu de $\ddot{g}$ er b $\ddot{u}$ y $\ddot{u}$ d $\ddot{u}$ k $\ddot{u}$ re stabilitenin bozuldu $\ddot{g}$ unu ifade etmektedir (Esfanjani vd. 2017).

3.2.5.6. Mikroskop ile mikro yapı g $\ddot{u}$ r $\ddot{u}$ nt $\ddot{u}$ analizi

Mehrnia vd. (2017)’nin y $\ddot{o}$ ntemine g $\ddot{u}$ re em $\ddot{u}$ lsiyonlarda mikro yapının belirlenmesinde floresan mikroskop (MCX300, MICROS Produktions und handelsgesmbH. Veit/Glan, Avusturya) kullanılmı $\ddot{s}$ tır. Mikroskop altındaki g $\ddot{u}$ r $\ddot{u}$ nt $\ddot{u}$ lerin dijital foto $\ddot{g}$ raf makinesi (EOS 450D, Canon Inc., Tokyo, Japonya) ile foto $\ddot{g}$ rafları $\ddot{c}$ ekilm $\ddot{u}$ şt $\ddot{u}$ r.

3.2.5.7. Krosin analizi

$\mathcal{C}$ alı $\ddot{s}$ ma sırasında hazırlanan ekstraktlarda, UF i $\ddot{s}$ lemiyle elde edilen retentat ve permeatlarda, bunların yanı sıra em $\ddot{u}$ lsiyon sistemlerinde krosin analizi ger $\ddot{c}$ ekle $\ddot{s}$ tirilmi $\ddot{s}$ tir. Analizi yapılacak $\ddot{o}$ rnekler uygun seyreltme i $\ddot{s}$ lemine tabi tutulduktan sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800) 440 nm dalga boyunda absorbens de $\ddot{g}$ erleri okunmu $\ddot{s}$ tur. Krosin miktarı; krosin standardı (Sigma-Aldrich 17304) ile olu $\ddot{s}$ turulan kurve yardımıyla, elde edilen absorbens de $\ddot{g}$ erlerinden mg/L cinsinden hesaplanmı $\ddot{s}$ tır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan krosin standardının absorbans değerleri

3.2.5.8. Krosin salınımı (% FR)

Safran emülsiyonlarında % krosin salınımı, Esfenjani vd. (2017) tarafından kullanılan metot revize edilerek hesaplanmıştır. Bunun için 5 g safran emülsiyonu deney tüpüne aktarılıp üzerine 5 mL fosfat tamponu (pH=7) eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 4°C’de, 2268 G kuvvetinde, 90 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulanmıştır. Sürenin sonunda donan yağlı faz, sulu fazdan dikkatli bir şekilde ayrılmıştır. Sulu faza uygun seyreltme işlemi uygulanmış ve daha sonra spektrofotometrede 440 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. Elde edilen absorbanslardan, standart krosin kurvesi (Şekil 3.3) yardımıyla krosin miktarı (mg/L) hesaplanmıştır. Daha sonra bu değerler Eşitlik 3.8 kullanılarak ve %FR değerine dönüştürülmüştür.

$$\%FR = \frac{M_0 - M_n}{M_0} * 100 \quad (3.8)$$

M_0 = Başlangıç krosin miktarı (mg/L)

M_n = n. depolama günündeki krosin miktarı (mg/L)

3.2.5.9. Enkapsülasyon etkinliği (% EE)

Safran emülsiyonlarında bulunan krosinlerin enkapsülasyon etkinliği (%EE) Eşitlik 3.9’a göre hesaplanmıştır (Esfanjani vd. 2015).

$$\%EE = 100 - \%FR \quad (3.9)$$

3.2.5.10. UF verimi

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanılarak farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranı kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların geri kazanımları, toplam geri kazanım ve kayıplar sırasıyla Eşitlik 3.10, 3.11, 3.12 ve 3.13’e göre hesaplanmıştır. Burada; V_0 ; beslenen ekstraktın hacmini, V_R ; retentat hacmini ve V_F ; permeat hacmini ifade etmektedir. Ayrıca C_0 ; beslenen ekstraktın konsantrasyonunu, C_R ; retentat konsantrasyonunu ve C_F ; permeat konsantrasyonunu, içerdiği krosin miktarı (mg/L) üzerinden ifade etmektedir (Sánchez vd. 2008).

$$\% \text{ Permeat geri kazanımı} = \left(\frac{V_F \times C_F}{V_0 \times C_0} \right) \times 100 \quad (3.10)$$

$$\% \text{ Retentat geri kazanımı} = \left(\frac{V_R \times C_R}{V_0 \times C_0} \right) \times 100 \quad (3.11)$$

$$\% \text{ Toplam geri kazanım} = \% \text{ Permeat geri kazanımı} + \% \text{ Retentat geri kazanımı} \quad (3.12)$$

$$\% \text{ Kayıp} = 100 - \% \text{ Toplam geri kazanım} \quad (3.13)$$

3.2.5.11. Krosin profili (LC-MS/MS)

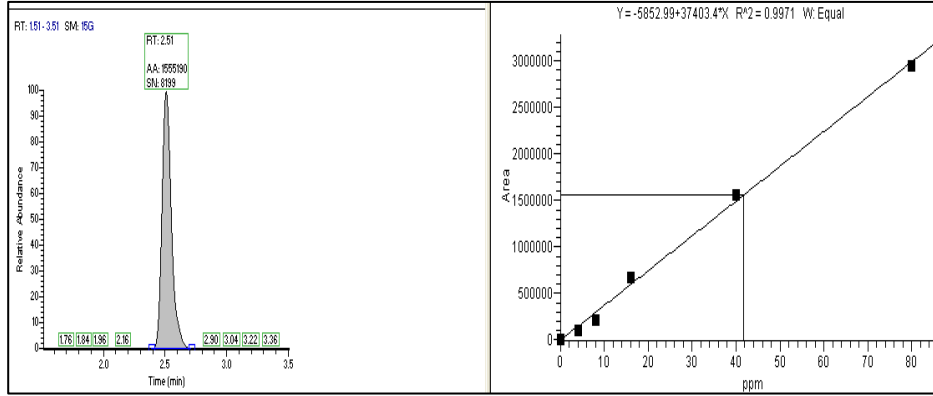
Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırma Merkezi'nde bulunan LC-MS/MS cihazında krosin bileşenlerinin tayini için hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. LC-MS/MS analiz metodu parametreleri Çizelge 3.6'da belirtilmiştir;

Çizelge 3.6. LC-MS/MS analiz koşulları

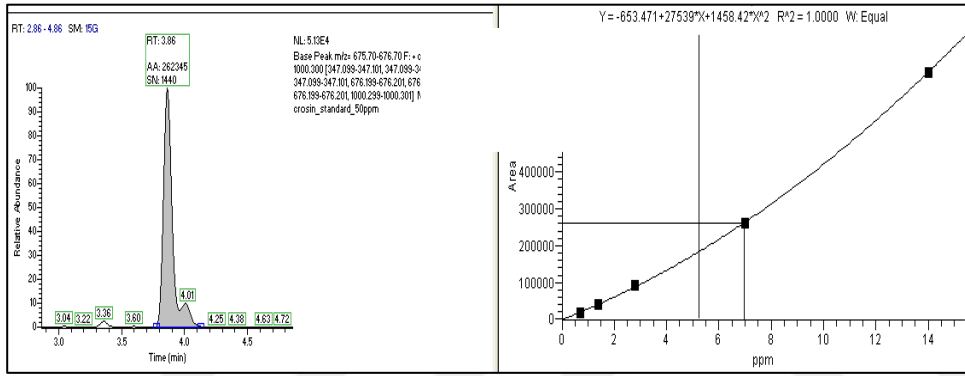
Kolon:	Thermo- Hypersil Gold- C18- Dim. (mm) 50X2.1- Particle Sz. (µ) 1.9			
Solvent A:	Su:MeOH 95:5 %0.1 formik asit 4mM AA			
Solvent B:	MeOH:Su 95:5 %0.1 formik asit 4mM AA			
Operasyon modu:	Low pressure (0..~7000PSI)			
Min Pressure:	0 bar			
Max Pressure:	900 bar			
Pressure stability	10 bar			
	Süre(Dakika)	A%	B%	µL/dakika
Gradient programı	0	70.0	30.0	300.0
	4	10.0	90.0	300.0
	5	70.0	30.0	300.0
	6	70.0	30.0	300.0

Tez kapsamında satın alınan krosin standardından (Sigma-Aldrich 17304) %50 su ve %50 metanol kullanılarak konsantrasyonu 200 ppm olan stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra standarda iyonlaştırıcı olarak sodyum asetat ilave edilmiştir. Sigma-Aldrich tarafından yayınlanan standart kataloğunda bu standardın Krosin-1 olduğu belirtilmiştir ve kütle spektrofotometresinde pozitif iyon yönünde uygulanan farklı kuvvetler sonucunda Krosin-3 de başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.

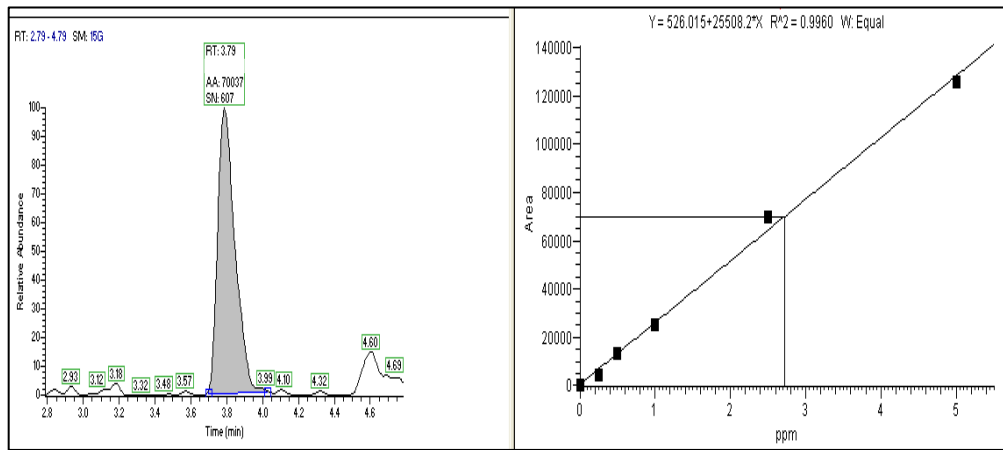
Elde edilen iyonlaştırma parametrelerine göre stok Krosin standart çözeltisi, konsantrasyonu 0, 5, 10, 20, 50 ve 100 ppm olacak şekilde seyreltilerek cihaza enjeksiyon yapılmıştır. Krosin-1-1, Krosin-1-2 ve Krosin-3 standart eğrileri sırasıyla Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6'da gösterildiği gibidir.



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-1-1 standardının absorbans değerleri



Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-1-2 standardının absorbans değerleri



Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Krosin-3 standardının absorbans değerleri

Örnekler, LC-MS/MS cihazına enjekte edilmeden önce ön ekstraksiyon işlemine tâbi tutulmuştur. Bunun için sıvı emülsiyonlardan 5 ± 0.001 g alınarak 15 mL'lik deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 5 mL fosfat tampon (pH 7) eklenmiştir. Hazırlanan karışım 4°C sıcaklıkta, 2268 G kuvvetinde 90 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Esfenjani

2015). Santrifüj işlemi sonunda donarak ayrılan yağ fazı örneklerden dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve geride kalan sulu faz uygun seyreltme yapılarak LC-MS/MS'e enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.12. Duyusal analiz

Çalışma kapsamında üretilen safran ekstraktlarının ve bu ekstraktları içeren emülsiyonların duyusal olarak değerlendirilmesi model gıdada gerçekleştirilmiştir. Model gıda olarak safranın en çok kullanıldığı yemeklerden biri olan pirinç pilavı seçilmiş ve duyusal analizler bunun üzerinden yürütülmüştür. Bu bağlamda literatür taramaları sonucunda bulunan yöntemler safrana göre revize edilerek 2 farklı duyusal analiz formu hazırlanmıştır (Şekil 3.7 ve 3.8). Şekil 3.7'de gösterilen formda, panelistlerden safranlı pilavlarda gördükleri rengi 0'dan 100'e kadar olan renk yoğunluk skalası üzerinde işaretlemeleri istenmiştir. Şekil 3.8'de gösterilen formda ise panelistlerden safranlı pilavlara ait renk, görünüş, koku, tat ve ağızda bıraktığı his hakkında 2'den 5'e kadar puanlama yapmaları istenmiştir. Duyusal analizler 2 tekrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Onoğur 2011)

Tarih:

Panelistin Adı-Soyadı:

Değerlendirilen Örnek: Safranlı pilav

Sizlere sunulan örneklerde safranlı pilavdan beklediğiniz (göz ile tespit edebildiğiniz/edemediğiniz) sarı rengi verilen skala üzerinde uygun olan yoğunluk değeri ile tanımlayınız. Zaman ayırdığınız için teşekkürler.

0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Tespit edilmesi oldukça zor (1.4)		Çok düşük yoğunlukta sarı renk (17.2)		Düşük yoğunlukta Sarı renk (35.4)		Sarı renk (53.3)		Yoğun sarı renk (60.1)		Çok yoğun sarı renk (100)

Şekil 3.7. Duyusal analiz; renk yoğunluğu skalası formu

Safranlı pilav												
PUAN	KOKU VE TAT				AĞIZDA BIRAKTIĞI HİS				RENK VE GÖRÜNÜŞ			
5	Safranlı pilava has tat ve koku (Küf ve yab. Mad. kokusu yok).				Pirinç pilavından beklenen yağlılık hissi				Rengini muhafaza etmiş, parlak sarı renk			
	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10
4	Safranlı pilava has tat ve koku				Yüksek yağlılık hissi				Yetersiz sarı renk			
	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10
3	Yabancı madde kokusu ve tadı Hafif küf kokusu				Düşük yağlılık hissi				Doğal olmayan renk ve görünüm			
	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10
2	Ekşimiş, acımiş koku ve tat Küf kokusu ve tadı				Yağdan kaynaklanan acılaşmış tat				Renksiz			
	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10 	65 	32 	94 	10

Şekil 3.8. Safranlı pilav duyusal analiz formu

Duyusal analiz için 70 g yasemin pirince, 100 mL saf su, 0.2 g tuz ve her pilavda eşit miktarda safran ekstraktı (0.25 mL) içerecek şekilde depolama örnekleri (A, B, C, D, E, F, G, H) eklenmiştir. Karışım 8 dk boyunca pilav pişirme makinesinde (Pars khazar rice cooker 61TYAN, İran) pişirilmiştir. 25°C’de depolanan pilavlar, daha önce örneklerle aşinâ edilmiş 5 kadın ve 5 erkek paneliste depolamanın 0. ve 35. günlerindeki duyusal analizde sunulmuştur (Şekil 3.14).



Şekil 3.9. Safranlı pilav kullanılarak yapılan duyusal analiz

3.2.5.13. İstatistiksel analizler

Tek katmanlı emülsiyonların formül optimizasyon çalışmaları için Cevap Yüzey Design Expert 7 Analiz Programı (Trial Version, State-Ease Inc.Minneapolis, ABD), D-optimal birleşik dizayn kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon optimizasyonu, UF optimizasyonu, çok katmanlı emülsiyon optimizasyonu ve depolama analizleri 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş. Sonuçlar SAS bilgisayar programında varyans analizine tabi tutulmuş, farklı bulunan sonuçlar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.





4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Safran örneklerinin nem oranı

Çalışmada kullanılan safran örneklerinin nem oranı %7.11 olarak tespit edilmiştir. Nem oranı ISO 3632-2 (Anonymous2) safran kalite standardına göre önemli olup, bu standartta safran stigmalarında nem oranının %12'den fazla olmaması gerektiği bildirilmektedir. Nitekim örneklerin nem oranı belirtilen değerin altında belirlenmiştir.

4.2. Safran örneğinin kalite sınıfının belirlenmesi

Safran üreten ülkelerde elde edilen safranlar kalitelerine göre farklı şekillerde ve isimlerde kalite sınıflarına ayrılmaktadır. Nitekim İran pazarında safran; Sarghol, Bunch, Konge, Negin ve Poushal gibi sınıflarını ifade eden isimlerle satılmaktadır. Ayrıca yapılan hilelerin önüne geçebilmek ve safran kalitesine göre sınıflandırmak amacıyla İran Standartlar ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü tarafından yayınlanan 259-1 ve 259-2 sayılı safran standardına göre; safran, fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından 4 farklı şekilde Mükemmel (Momtaz), İpliksi-1 (Reshteiye-1), İpliksi-2 (Reshteiye-2) ve İpliksi-3 (Reshteiye-3) sınıflandırılmıştır.

Ülkeler arasındaki anlayış ve tanımlama farklılıklarını gidermek, ticarete ortak değer oluşturmak, yapılan hileleri önlemek amacıyla ISO/TS 3632 standardında da safran sınıfları tanımlanmıştır. İran Standartlar ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü tarafından yayınlanan 259-1 ve 259-2 sayılı standart, aynı zamanda ISO/TS 3632-1:20 (Bölüm 1: Safranın Özellikleri) ve ISO/TS 3632-2:2003 (Bölüm 2: Analiz Metotları)'ü de kapsamaktadır. ISO/TS 3632-2 göre de safran fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından 4 farklı şekilde sınıflandırılmıştır. Ancak burada Kategori I, Kategori II, Kategori III ve Kategori IV olarak isimlendirilmiştir (Anonymous 2).

ISO 3632-2 standardına (Anonymous 2) göre krosin üzerinden safranların renk verme gücünün (%1'lik çözeltisinin 440 nm'deki absorbansı ($E_{1cm}^{%1}$ 440) minimum değerlerinin Kategori I için 190; Kategori II için 150; Kategori III için 110 ve Kategori IV için ise 80 olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan analiz sonucunda ticari safran örneğinin renk verme gücü 244.32 olarak hesaplanmış olup, çalışmada kullanılan örneğin I. kategoriye girdiği tespit edilmiştir.

4.3. Ekstraksiyon optimizasyonu

Farklı sıcaklıklarda, safran:su oranında ve sürelerde yürütülen ekstraksiyon çalışması sonucunda elde edilen ekstaktlarda, kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinden %1'lik renk verme gücü ($E_{1cm}^{%1}$ 440) hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde, sıcaklık artışı ile renk verme gücünün arttığı tespit edilmiştir. Diğer bir deyişle safran: su oranı, 0.5:1 olan ekstrakt örneklerinde 60, 70 ve 80°C'deki en yüksek krosin cinsinden %1'lik renk verme gücü sırası ile 225.58, 243.39 ve 246.25 olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan ekstraksiyon süresi uzadıkça belirli bir noktaya kadar renk verme gücü artarken sürenin daha da uzaması ile bu değer tüm örneklerde önemli derecede azalmıştır. Safran: su oranı, 0.5:1 olan ekstrakt örneklerinde 60, 70 ve 80°C'de, maksimum renk verme gücü sırası ile 30., 10. ve 5. dakikalarda tespit edilmiştir. Bu durum 1:1 ve 2:1 safran: su oranı içeren örneklerde de geçerlidir. Aynı

çizelge incelendiğinde, sıcaklığın artması ile degradasyonun daha erken başlamıştır. 60°C’de ekstrakte edilen örneklerde 60. dakikadan sonra renk verme gücü azalır iken 80°C’de ekstrakte edilen örneklerde bu süre 10 dakikaya inmiştir.

Çizelge 4.1. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücü (ortalama±standart sapma)

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Safran: su oranı								
		0.5:1			1:1			2:1		
60	5	218.82	±	8.33	208.61	±	4.75	201.55	±	2.27
	10	220.75	±	2.73	211.54	±	6.03	204.85	±	3.94
	20	222.59	±	8.93	214.66	±	2.02	207.58	±	1.30
	30	225.58	±	2.37	222.07	±	5.71	216.93	±	3.62
	60	224.46	±	2.95	218.75	±	4.19	207.15	±	4.95
	120	216.95	±	0.36	209.42	±	4.89	206.29	±	3.52
	180	207.89	±	3.05	199.13	±	4.91	189.52	±	0.51
	240	189.23	±	0.41	185.53	±	3.85	185.42	±	3.18
	300	186.47	±	1.68	170.08	±	0.93	168.24	±	2.61
	360	184.90	±	0.25	161.02	±	0.87	157.79	±	1.53
70	5	229.06	±	4.78	221.71	±	2.31	214.88	±	8.09
	10	243.39	±	1.39	239.62	±	2.71	230.37	±	3.22
	20	241.14	±	1.81	235.09	±	4.50	221.80	±	1.25
	30	238.26	±	0.67	225.54	±	0.81	211.69	±	5.63
	60	207.86	±	2.37	206.77	±	2.40	197.16	±	0.79
	120	196.94	±	0.78	192.57	±	3.15	189.81	±	8.10
	180	179.34	±	0.73	172.35	±	1.20	161.42	±	2.74
	240	168.83	±	0.10	155.94	±	4.15	150.32	±	2.55
	300	153.58	±	2.62	144.70	±	2.76	140.24	±	3.20
	360	136.57	±	0.00	124.75	±	2.62	121.02	±	5.83
80	5	246.25	±	0.08	240.01	±	8.97	229.25	±	5.86
	10	240.11	±	0.71	230.37	±	1.39	214.61	±	3.70
	20	232.15	±	0.26	218.53	±	0.42	213.85	±	1.01
	30	220.48	±	0.37	217.50	±	5.03	211.73	±	0.89
	60	216.86	±	0.78	210.83	±	1.68	207.50	±	2.43
	120	216.86	±	0.78	210.83	±	1.68	207.50	±	2.43
	180	182.72	±	0.05	181.24	±	0.27	180.46	±	0.65
	240	167.06	±	0.85	163.18	±	2.17	81.53	±	5.20
	300	143.05	±	0.76	136.05	±	4.54	79.08	±	0.26
	360	126.04	±	0.97	114.01	±	1.51	75.14	±	3.30

Çizelge 4.1 incelendiğinde safranın ekstraksiyonunda ilginç bazı hususlar dikkat çekmektedir. Bunlardan birincisi, sıcaklığın artması ile birlikte ekstraksiyon hızının ve çözünen madde miktarının arttığı, böylece aynı derecede etkin ekstraktın çok daha kısa sürede elde edildiği görülmektedir. Nitekim daha yüksek renk verme gücüne sahip ekstraktlar 80°C sıcaklıkta 5 dakika içinde elde edilirken, 60°C sıcaklıkta bu seviyede renklendirme gücüne sahip ekstrakt elde edilememiştir. En yüksek renklendirme gücüne

sahip ekstrakt da bu sıcaklıkta ancak 30. dakikada elde edilmiştir. Öte yandan safran:su oranındaki safranın artışı da beklendiği gibi ekstraktta renklendirme gücünü artırmamıştır. Tam aksine safran:su oranı küçüldükçe elde edilen ekstraktta renklendirme gücü artmıştır. Bu konu safran gibi en pahalı baharatın kullanımında yüksek verim elde etmek açısından çok önemlidir. Aslında bu durum, optimizasyon çalışmalarının önemli olduğunu da açıkça göstermektedir.

Farklı sıcaklıklarda, safran: su oranlarında ve sürelerde yürütülen ekstraksiyon çalışması sonucunda elde edilen değerlerin, kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinden %1'lik renk verme gücüne ($E_{1\text{ cm}}^{\%1}$ 440) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2'de, bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde sıcaklık, safran:su oranı, süre ve bu uygulamaların birbirleri ile olan interaksiyonlarının safran ekstraktlarının kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinden %1'lik renk verme gücü üzerinde etkinin istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli olduğu görülmektedir. Safran: su oranındaki artışın krosin bileşenlerinin ekstraksiyon verimi üzerinde azaltıcı etkisi olduğu, ekstraksiyonun gerçekleştiği ortamda madde geçişini düzenleyen itici unsur olan konsantrasyon farkının azalmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Jalali-Heravi vd tarafından 2009 yılında yapılan bir çalışmada, safran ekstraksiyonlarının çözücü oranının artırılmasının ekstraksiyon verimini arttırdığı ancak çözeltinin konsantrasyonunun azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklığın artması renkten sorumlu olan bileşenlerin suya geçişini artırırken bozulma reaksiyonlarının da hızlanmasına neden olmaktadır (Tsimidou ve Tsatsaroni 1993). Orfanou ve Tsimidou (1996) tarafından yapılan bir çalışmada soğuk su ile ekstrakte edilen safran örneğinin 1 saat sonunda renk verme gücü 241.9 olarak belirlenirken, 24 saat sonunda bu değer 195.0'a düşmüştür. Diğer bir deyişle renk verme gücü, süre uzadıkça degradasyona bağlı olarak azalmıştır. Cossignani vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada safran stigmaları farklı sıcaklık ve sürelerde kurutulmuş, ardından renk verme gücü hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 50°C'de, 45, 60 ve 75 dakika kurutulan örneklerin renk verme gücü, sırasıyla 44.1, 211 ve 166.3 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücüne ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F
Sıcaklık (A)	2	4067.79	151.33**
Safran: su oranı (B)	2	6104.14	227.09**
Süre (C)	9	21713.2	807.78**
A x B	4	483.15	17.97**
B x C	18	159.73	5.94**
A x C	18	1704.32	63.40**
A x B x C	36	207.08	7.70**
Hata	26.88		

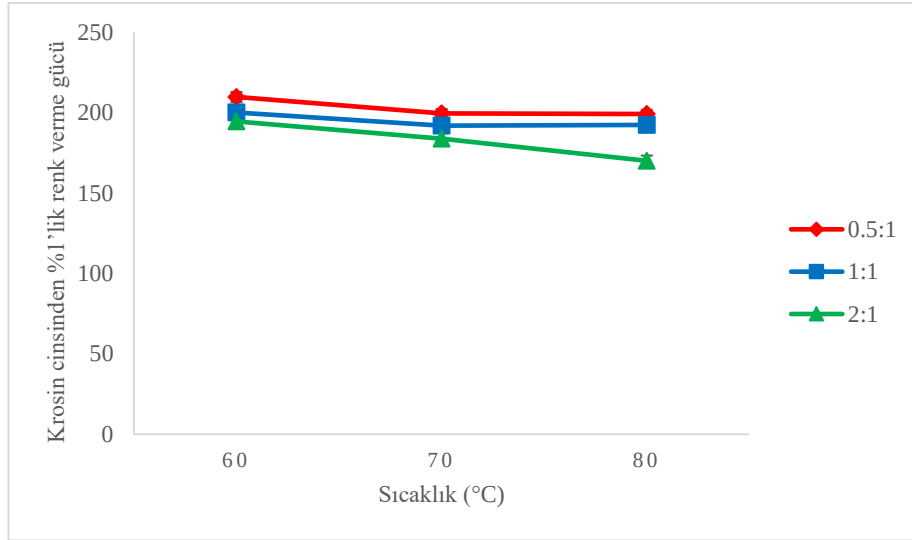
(**) $P<0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çizelge 4.3. Safran ekstraktlarının ekstraksiyon koşullarına bağlı renk verme gücünün ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	60	70	80	
	185.09 ^c ± 6.39	191.76 ^b ± 4.93	201.46 ^a ± 2.50	
Safran: su oranı	2:1	1:1	0.5:1	
	182.12 ^c ± 5.64	193.99 ^b ± 4.47	202.19 ^a ± 4.30	
Süre (dk)	360	300	240	
	133.47 ^h ± 30.93	146.83 ^g ± 29.59	160.78 ^f ± 31.96	
	180	120	60	
	183.79 ^e ± 14.00	198.33 ^d ± 10.94	210.82 ^c ± 8.38	
	30	20	5	10
	221.09 ^b ± 9.20	223.04 ^{ba} ± 11.29	223.35 ^{ba} ± 15.21	226.18 ^a ± 14.00

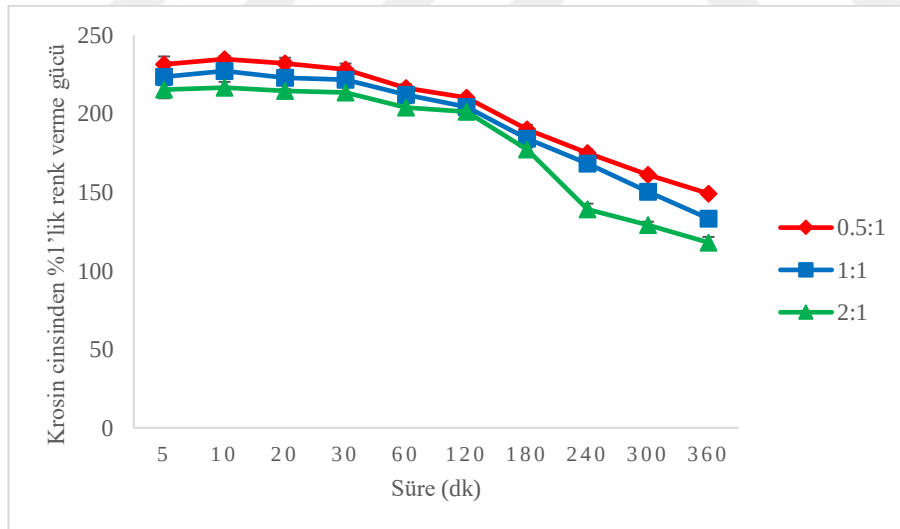
Kuru madde miktarına bağlı krosin cinsinden %1'lik renk verme gücüne ($E_{1cm}^{1\%}$ 440) ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları incelendiğinde; 80°C'de (201.46), safran: su oranının 0.5:1 (202.19) ve sürenin 10 dakika (226.18) olduğu örneklerinin renklendirme gücü değerlerinin ortalamalarının diğerlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Sıcaklık açısından 80°C'de ekstrakte edilen örneklerde renk verme gücü değeri ortalamaları 201.46 olarak belirlenir iken, 70°C'de ekstrakte edilen örneklerde 191.76 ve 60°C'de ekstrakte edilen örneklerde 185.09 olarak belirlenmiştir. Safran: su oranı 1:2 olan örneklerde renk verme gücü değeri ortalama 202.19 olarak belirlenirken safran: su oranı 1:1 olan örneklerde renk verme gücü değeri 193.99 ve safran: su oranı 2:1 olan örneklerde renk verme gücü değeri ortalamaları 183.12 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, 10, 5, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300 ve 360 dakika ekstrakte edilen safran örneklerinde renk verme gücü değeri ortalamaları sırasıyla 226.18, 223.35, 223.04, 221.09, 210.82, 198.33 183.79, 160.78, 146.83 ve 133.47 olarak belirlenmiştir.

Farklı safran:su oranları ve farklı ekstraksiyon sıcaklıkları sonucu elde edilen safran ekstraktlarının %1'lik renk verme gücüne ait grafik Şekil 4.1'de verilmiştir. Bu grafik incelendiğinde 0.5:1 ve 1:1 safran:su oranına sahip örneklerde renk verme gücünün birbirine yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca bu grafiğe göre renk verme gücünün 0.5:1 örneklerinde diğer örneklere kıyasla daha yüksek olduğu da açıkça görülmektedir. Diğer örneklere kıyasla 2:1 örneklerinde, sıcaklığın artmasıyla renklendirme gücünün azaldığı anlaşılmaktadır.



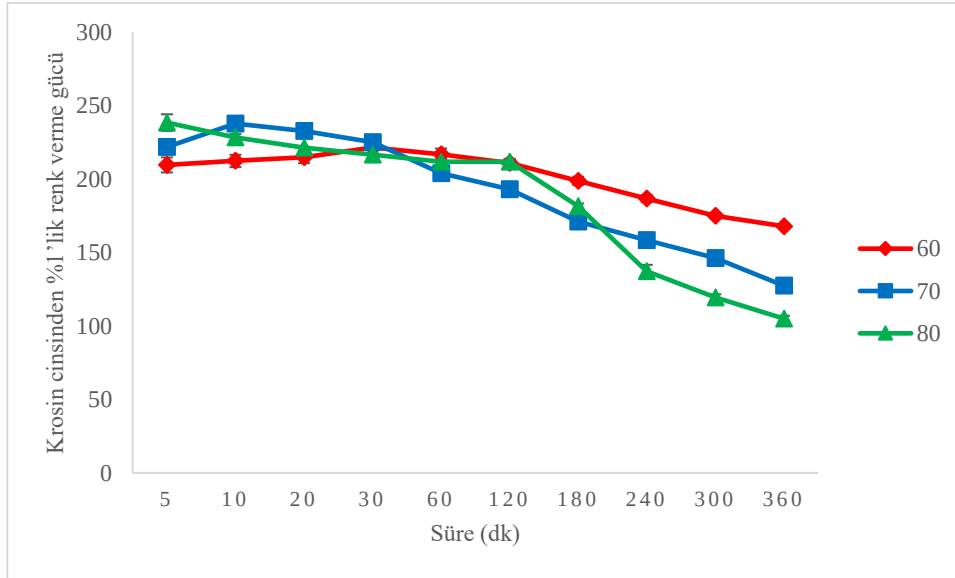
Şekil 4.1. Sıcaklığın ve safran: su oranının, renk verme gücü üzerine etkisi

Farklı safran:su oranları ve farklı ekstraksiyon süreleri sonucu elde edilen safran ekstraktarın %1'lik renk verme gücü Şekil 4.2'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde genel olarak en yüksek renklendirme gücünün 0.5:1 örneklerinde ve en düşük renklendirme gücünün ise 2:1 örneklerinde olduğu görülmektedir. Ayrıca 60 dakikadan sonra renklendirme gücünün hızla azaldığı ve bunun degradasyonun hızlanmasıyla ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.2. Süre ve safran: su oranının, renk verme gücü üzerine etkisi

Süre ve sıcaklığın, renklendirme gücü üzerine etkisi Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Yüksek sıcaklıkta renklendirme gücü, sürenin başlarında yüksekken; sürenin ilerlemesiyle birlikte sıcaklıkla degradasyonun hızlanması sonucu renklendirme gücünün aniden düştüğü anlaşılmaktadır. En kısa sürede en yüksek renklendirme gücü 80°C'de ekstrakte edilen örneklerde görülmektedir.



Şekil 4.3. Süre ve sıcaklığın, renk verme gücü üzerine etkisi

Sonuçlar incelendiğinde sıcaklık arttıkça renklendirme gücünün arttığı, safran:su oranı arttıkça ve ekstraksiyon süresi 10 dakikanın üzerine çıktıkça örneklerde krosin cinsinden %1'lik renk verme gücünün ($E_{1cm}^{1\%}$ 440) azaldığı tespit edilmiştir.

Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın renklendirme gücü ve ISO yöntemi (Anonymous2) ile hazırlanan ekstraktın renklendirme gücü arasındaki fark istatistiki olarak araştırılmıştır. Buna göre optimum şartlarda hazırlanan E-1 örneğinde renklendirme gücü 246.25 iken bu değer E-2 örneği için 244.32 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu yöntemler arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. ISO yöntemi (Anonymous2), hem uluslararası geçerliliği olan bir yöntem olduğu hem de ekstraksiyonun oda sıcaklığında gerçekleştirilmesiyle enerji tasarrufu sağladığı için çalışmanın diğer basamaklarında ekstraksiyon metodu olarak tercih edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın (E-1) renklendirme gücü ve ISO yöntemi ile hazırlanan ekstraktın (E-2), krosin cinsinde %1'lik renk verme gücüne ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F
Ekstraksiyon yöntemi	1	3.72	0.86
Hata	2	4.33	

Çizelge 4.5. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın (E-1) renklendirme gücü ve ISO yöntemi ile hazırlanan ekstraktın (E-2), krosin cinsinde %1'lik renk verme gücünün ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	E-1	E-2
Renklendirme gücü	246.25 ^a ± 2.94	244.32 ^a ± 0.01

4.4. UF optimizasyonu

4.4.1. Filtre materyali seçimi

4.4.1.1. Renk analizi

ISO 3632–2 (Anonymous2) yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktın (E-2) konsantrasyonunu artırmak amacı ile UF işlemi uygulanmıştır. Bu işlem; oda sıcaklığında ($\sim 25^{\circ}\text{C}$), 2 bar basınç altında beslenen ekstraktın %70'i permeat, %30'u retentat alınacak şekilde, 5kDa ayırma sınırına sahip iki farklı filtre materyali (hydrosart (selüloz bazlı membran) ve polietersülfon (PESU)) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonucunda retentat ve permeatlara renk analizleri (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) yapılmış ve elde edilen değerler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentatlarının ve permeatlarının renk değerleri

	Filtre	L^*	a^*	b^*	h°	C^*
Kontrol	-	70.75 $\pm$ 0.99	47.29 $\pm$ 1.39	120.80 $\pm$ 1.61	50.13 $\pm$ 0.34	129.74 $\pm$ 1.00
Retentat	Hydrosart	71.02 $\pm$ 0.01	47.29 $\pm$ 0.01	121.09 $\pm$ 0.00	50.16 $\pm$ 0.00	130.00 $\pm$ 0.01
	PESU	58.25 $\pm$ 0.00	60.12 $\pm$ 0.00	98.84 $\pm$ 0.25	45.67 $\pm$ 0.03	115.71 $\pm$ 0.20
Permeat	Hydrosart	74.99 $\pm$ 0.01	41.98 $\pm$ 0.04	127.38 $\pm$ 0.00	51.39 $\pm$ 0.01	134.13 $\pm$ 0.01
	PESU	86.38 $\pm$ 0.01	14.64 $\pm$ 0.01	135.11 $\pm$ 0.00	55.63 $\pm$ 0.00	136.09 $\pm$ 0.00

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentatın renk değerleri, kontrol örneğinin (E-2) renk değerlerine yakındır. PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın L^* , b^* , h° , C^* değerlerinin kontrol örneğine ve Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen örneğe göre düşük, a^* değerinin ise yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen permeatın L^* , b^* , h° , C^* değerlerinin kontrol örneğine ve PESU filtre kullanılarak elde edilen permeata göre yüksek, a^* değerinin ise düşük olduğu görülmektedir.

Elde edilen değerler, Şekil 3.2 (bakınız sayfa 35)'de yer alan Ton açısına bağlı renk tonu diyagramına göre incelenmiştir. Ton açısı $0-90^{\circ}$ arasında iken renk tonu pembe-sarı olarak değişmektedir. Diğer bir deyişle, ton açısı yaklaşık 30° iken renk daha kırmızı olmasına rağmen ton açısı büyüdükçe sarıya yaklaşmaktadır. Çizelge 4.6 incelendiğinde PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton değeri 45.67 iken, kontrol örneği için bu değer 50.13 ve Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentat için ise 50.16 olarak tespit edilmiştir. Yani; PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton değeri düşük olup renk tonu kırmızıya daha yakın iken kontrol örneği ve Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton değeri daha yüksek olmasına rağmen, değer 90° 'ye yaklaşması nedeni ile renk tonu açık kırmızı-turuncu renge daha yakındır. Ayrıca aynı çizelge incelendiğinde L^* (parlaklık) değeri ve Ton değeri arasında doğrusal bir ilişki olduğu da görülmektedir.

Kroma* (C^*) değeri arttıkça renk yoğunluğu artmaktadır. Çizelge 4.6 incelendiğinde PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatta C^* değeri, kontrol örneği ve Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentata göre daha düşüktür. Ancak Ton açıları göz önünde bulundurulduğunda, PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın

renginin kırmızıya yakın olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneği ve Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentatların C^* değerleri yüksek olup renk tonu turuncuya daha yakındır. Elde edilmek istenen konsantre ekstraktın renginin kırmızıya yakın olması istenmektedir. Bu nedenle daha düşük renk yoğunluğuna sahip olmasına rağmen Ton açısı itibarıyla renk tonu kırmızıya yakın olan retentat tercih edilmiştir. Ayrıca aynı çizelgeye göre; C^* değeri ile b^* (sarılık) değeri arasında ve L^* değeri ile C^* değeri arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Çizelge 4.6 incelendiğinde; a^* değeri yüksek olan örneklerde rengin kırmızıya daha yakın olduğu, b^* değeri yüksek olan örneklerde ise rengin sarıya daha yakın olduğu görülmektedir.

Aynı koşullarda iki farklı filtre materyali (hydrosart (selüloz bazlı membran) ve polietersülfon (PESU)) kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’de ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 incelendiğinde filtre materyalinin, elde edilen retentatların L^* , a^* , b^* ve h° değerleri üzerine etkisi $P<0.01$ düzeyinde ve C^* değeri üzerine etkisi $P<0.05$ düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Aynı çizelgeye göre filtre materyalinin, elde edilen permeatların L^* , a^* ve h° değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak $P<0.05$ düzeyinde iken, b^* değeri üzerine etkisi $P<0.01$ düzeyindedir.

Çizelge 4.7. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları

		L*		a*		b*		h°		C*	
VK	SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Filtre çeşidi(F)-Retentat	2	106.34	63.60**	109.70	74.05**	325.80	35.06**	13.36	49.93**	133.84	25.82*
Hata	3	1.67		1.48		9.29		0.27		5.18	
Filtre çeşidi(F)-Permeat	2	130.73	23.03*	63.77	16.20*	102.53	30.71**	16.60	22.93*	21.10	5.91
Hata	3	5.67		37.90		3.34		0.72		3.57	

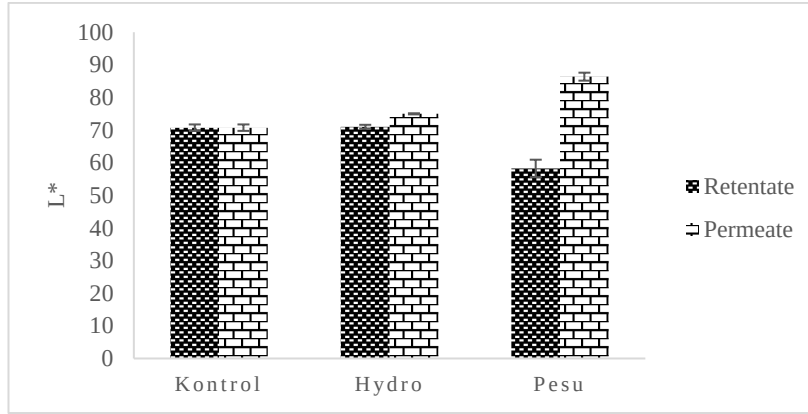
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çizelge 4.8. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

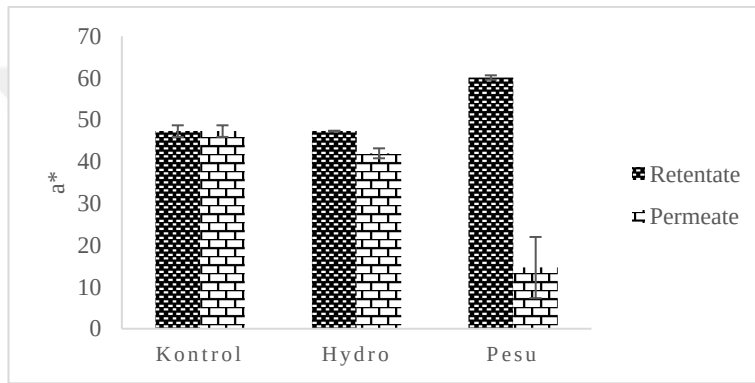
Retentat	L*	PESU	Kontrol	Hydrosart
		58.26 ^b ± 1.73	70.75 ^a ± 1.4	71.02 ^a ± 0.23
	a*	Kontrol	Hydrosart	PESU
		47.29 ^b ± 1.97	47.30 ^b ± 0.13	60.12 ^a ± 0.75
	b*	PESU	Kontrol	Hydrosart
		98.85 ^b ± 4.73	120.81 ^a ± 2.28	121.10 ^a ± 0.53
	h°	PESU	Kontrol	Hydrosart
		45.67 ^b ± 0.75	50.14 ^a ± 0.49	50.16 ^a ± 0.06
	C*	PESU	Kontrol	Hydrosart
		115.71 ^b ± 3.66	129.75 ^a ± 1.41	130.00 ^a ± 0.45
Permeat	L*	Kontrol	Hydrosart	PESU
		70.75 ^b ± 1.4	75.00 ^b ± 0.87	86.39 ^a ± 3.78
	a*	PESU	Hydrosart	Kontrol
		14.65 ^b ± 10.34	41.99 ^a ± 1.68	47.29 ^a ± 1.97
	b*	Kontrol	Hydrosart	PESU
		120.81 ^c ± 2.28	127.39 ^b ± 1.29	135.11 ^a ± 1.77
	h°	Kontrol	Hydrosart	PESU
		50.14 ^b ± 0.49	51.40 ^b ± 0.33	55.64 ^a ± 1.35
	C*	Kontrol	Hydrosart	PESU
		129.75 ^b ± 1.41	134.13 ^{ba} ± 0.7	136.09 ^a ± 2.87

Çizelge 4.8’de, aynı koşullarda farklı filtre materyalleri kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların L*, a*, b*, h° ve C* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları verilmiştir. Buna göre PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın L*, b*, h° ve C* değerleri diğer örneklerle göre düşük iken, a* değeri yüksek bulunmuştur. Diğer yandan, PESU filtre kullanılarak elde edilen permeatta L*, b*, h° ve C* değerleri diğer örneklerle göre daha yüksek iken, a* değeri daha düşüktür.

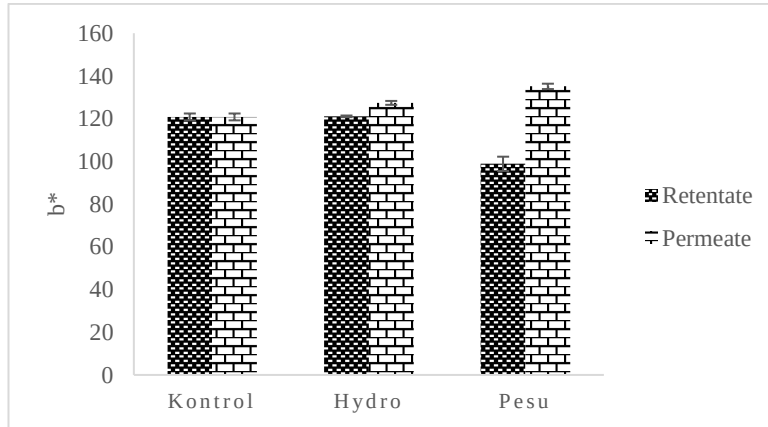
Farklı filtre materyalleri kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların L*, a*, b* ve h° değerlerine ait grafikler Şekil 4.4, Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7’de verilmiştir. Bu grafikler inceliğinde Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentat ve permeatın renk değerlerinin kontrol örneğinin (E-2) renk değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar Hydrosart filtrenin, ekstraktın renk özelliklerini etkilemediğini ve dolayısıyla konsantre etmekte başarılı olmadığını göstermektedir. Diğer yandan, PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın L* ve b* değerleri yüksekken a* ve h° değerleri düşüktür. Ayrıca bu sonuçlar da PESU filtre kullanıldığında sistemden çıkan retentatın istenilen renk özelliklerini taşıdığını göstermiştir.



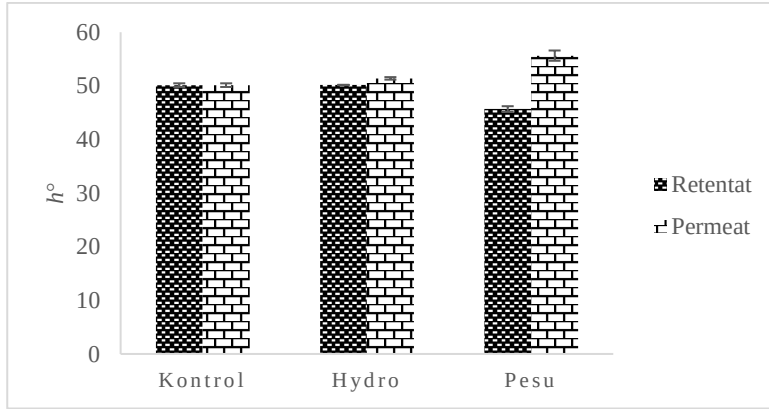
Şekil 4.4. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların L^* değeri üzerine etkisi



Şekil 4.5. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların a^* değeri üzerine etkisi



Şekil 4.6. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların b^* değeri üzerine etkisi



Şekil 4.7. Farklı filtre materyallerinin retentat ve permeatların h° değeri üzerine etkisi

4.4.1.2. Krosin miktarı

Oda sıcaklığında ($\sim 25^\circ\text{C}$), 2 bar basınç altında beslenen ekstraktın %70'i permeat, %30'u retentat olacak şekilde, 5kDa ayırma sınırına sahip iki farklı filtre materyali (Hydrosart (selüloz bazlı membran) ve polietersülfon (PESU)) kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin (mg/L) miktarları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Çizelge 4.9 incelendiğinde kontrol örneğinde (E-2) krosin miktarı 1656.49 mg/L iken Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen retentatın ve permeatın krosin miktarları sırası ile 1678.12 ve 1764.63 mg/L olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan, PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın ve permeatın krosin miktarları sırası ile 2662.85 ve 1349.87 mg/L olarak hesaplanmıştır. Ayrıca Şekil 4.9 incelendiğinde, kontrol örneğindeki krosin miktarı ile Hydrosart filtre kullanılarak elde edilen hem retentatın hem de permeatın krosin miktarı benzerlik gösterirken; PESU filtre ile elde edilen retentatın krosin miktarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Buna göre Hydrosart filtre, beslenen ekstraktı konsantre edemezken PESU filtre krosini tutarak retentatta kalmasını sağlamıştır.

Çizelge 4.9. Farklı filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentat ve permeatlarının krosin (mg/L) değerleri

	Filtre	Krosin (mg/L)
Kontrol	-	1656.49 $\pm$ 7.63
Retentat	Hydrosart	1678.12 $\pm$ 6.36
	PESU	2662.85 $\pm$ 8.91
Permeat	Hydrosart	1764.63 $\pm$ 3.82
	PESU	1349.87 $\pm$ 8.91

Farklı filtre materyali kullanılarak elde edilen retentatların ve permeatların krosin miktarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bu çizelgeye göre kullanılan filtre materyalinin, elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarı üzerine etkisinin istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları

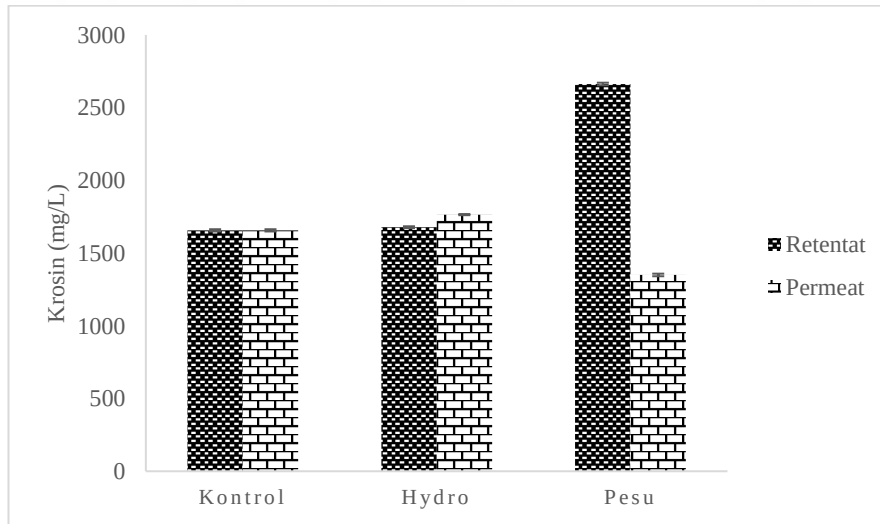
	VK	SD	KO	F
Retentat	Filtre çeşidi	2	660977.25	5565.94**
	Hata	3	118.75	
Permeat	Filtre çeşidi	2	92575.58	912.47**
	Hata	3	101.46	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Farklı filtre materyali kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Buna göre, PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatın krosin miktarı yüksek iken permeatlarda bu durumun tam tersi görülmektedir. Bu da krosinin retentatta konsantre olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.11. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (n=2)

Retentat	Kontrol	Hydrosart	PESU
	1656.49 ^b ± 10.8	1678.12 ^b ± 8.99	2662.85 ^a ± 12.6
Permeat	PESU	Kontrol	Hydrosart
	1349.88 ^c ± 12.59	1656.49 ^b ± 10.8	1764.63 ^a ± 5.4



Şekil 4.8. Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarları (mg/L)

Farklı filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerleri ve krosin miktarları (mg/L) birlikte incelendiğinde, PESU filtre ile elde edilen retentatın diğer örneklerle göre daha konsantre olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Çalışmamızda filtre materyali olarak PESU filtre kullanılmasına karar verilmiştir.

Sanchez (2008) tarafından yapılan bir çalışmada santrifüj filtrasyon işleminin sulu safran ekstraktlarının kompozisyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtrenin, neredeyse pikrokrosince tamamen arındırılmıştır krosince zengin safran konsantratu elde etmek için en uygun filtre materyali olduğu belirtilmiştir.

4.4.2. Ayırma sınırı optimizasyonu

4.4.2.1. Renk analizi

Filtre materyali olarak PESU filtrenin seçilmesinden sonra ayırma sınırı için optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; oda sıcaklığında ($\sim 25^{\circ}\text{C}$), 2 bar basınç altında beslenen ekstraktın %70'i permeat, %30'u retentat olacak şekilde, 3 farklı ayırma sınırına (1, 5 ve 10 kDa) sahip PESU filtre kullanılmıştır. Ayırma sınırı değerleri literatürde yapılan benzer çalışmalar referans alınarak belirlenmiş olup bu yüzden daha yüksek ayırma sınırına sahip filtreler tercih edilmemiştir (Sánchez vd. 2008). Bu işlem sonucunda retentat ve permeatlara renk analizleri (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) yapılmış ve elde edilen değerler Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. PESU filtre, 70:30 (permeat: retentat) oran ve farklı ayırma sınırları kullanılarak hazırlanan retentatların ve permeatların renk değerleri

	kDa	L^*	a^*	b^*	h°	C^*
Kontrol	-	70.75 $\pm$ 0.99	47.29 $\pm$ 1.39	120.80 $\pm$ 1.61	50.13 $\pm$ 0.34	129.74 $\pm$ 1.00
	1	57.77 $\pm$ 0.07	59.56 $\pm$ 0.01	104.10 $\pm$ 0.01	46.42 $\pm$ 0.00	119.94 $\pm$ 0.01
Retentat	5	58.25 $\pm$ 0.00	59.96 $\pm$ 0.17	98.84 $\pm$ 0.25	45.71 $\pm$ 0.07	115.62 $\pm$ 0.13
	10	61.46 $\pm$ 0.01	47.29 $\pm$ 0.02	121.16 $\pm$ 0.04	50.16 $\pm$ 0.01	130.06 $\pm$ 0.03
	1	94.61 $\pm$ 0.01	-8.05 $\pm$ 0.02	71.26 $\pm$ 0.04	124.44 $\pm$ 0.01	71.71 $\pm$ 0.03
Permeat	5	98.33 $\pm$ 0.29	-5.78 $\pm$ 0.02	117.72 $\pm$ 0.34	123.31 $\pm$ 0.00	117.86 $\pm$ 0.34
	10	88.05 $\pm$ 0.11	46.06 $\pm$ 0.02	81.05 $\pm$ 0.06	46.50 $\pm$ 0.00	93.23 $\pm$ 0.06

Çizelge 4.12 incelendiğinde, permeatların L^* değerleri kontrol örneğine göre daha yüksek iken retentatlarda bu değerlerin daha düşük olduğu görülmektedir. Diğer yandan 10 kDa ayırma sınırı kullanılarak elde edilen retentat ve permeatın a^* değerinin kontrol örneğinkine yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca 10 kDa ayırma sınırı kullanılarak elde edilen retentatın b^* , h° ve C^* değerlerinin kontrol örneğinkine yakın olduğu görülmektedir. 10 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtrenin, örneğin renk değerleri üzerine genel olarak bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Çizelge 4.12'ye göre filtrenin ayırma sınırı yükseldikçe hem retentatta hem de permeatta L^* , b^* , h° ve C^* değerleri artmakta ancak a^* değer azalmaktadır. Diğer yandan 1 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton açısı daha düşük olup renk kırmızıya yakın iken 10 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton açısının daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca Ton açısı ve b^* değeri arasında doğrusal bir ilişki mevcut olup b^* değeri yüksek olan örneklerde sarılık oranı daha yüksektir. Retentatlarda C^* değeri; 10 kDa ayırma sınırı için 130.06 iken 1 kDa için 119.94 olarak tespit edilmiştir. 1 kDa ayırma sınırı için Ton açısı en düşük olup (46.42) böylece bu ayırma sınırı ile elde edilen retentatta renk kırmızıya en yakındır. Diğer

yandan kırmızılığı doğrudan ifade eden a^* değeri (59.56) de bu retentatta diğer örneklerle göre en yüksek seviyededir.

Aynı çizelgede permeatların renk değerleri incelendiğinde, 1 kDa ve 5 kDa ayırma sınırı kullanılarak elde edilen permeatların renk değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Diğer yandan, bu iki ayırma sınırında da Ton açısı 90° 'den fazla olup renk sarıdan yeşile doğru değişmektedir. Bu durum a^* değerinin negatif olması ile de doğrudan ilişkilidir. Ayrıca; 10 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen permeatın Ton açısı, 1 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen retentatın Ton açısına çok yakındır. Ancak 1 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen retentatta C^* değerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar 1kDa ve 10 kDa ayırma sınırı için renk tonu yakın bulunmasına rağmen renk yoğunluğunun 1 kDa ayırma sınırına sahip filtre kullanılarak elde edilen retentatta daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Aynı koşullarda 3 farklı ayırma sınırına (1, 5 ve 10 kDa) sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) varyans analiz sonuçları Çizelge 4.13'te ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.14'te verilmiştir. Çizelge 4.13 incelendiğinde ayırma sınırının, elde edilen safran retentat ve permeatlarının L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerleri üzerine etkisinin istatistiki olarak $P<0.01$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	L*		a*		b*		h°		C*	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Filtre çeşidi(F)-Retentat	3	72.47	50.11**	103.72	72.20**	263.01	35.23**	11.31	50.98**	104.25	24.81**
Hata	4	1.45		1.38		7.46		0.22		4.20	
Filtre çeşidi(F)-Permeat	3	298.68	209.87**	1916.82	1359.57**	1273.85	705.66**	3810.79	38103.1**	1340.34	1657.84**
Hata	4	1.42		1.41		1.80		0.10		0.81	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

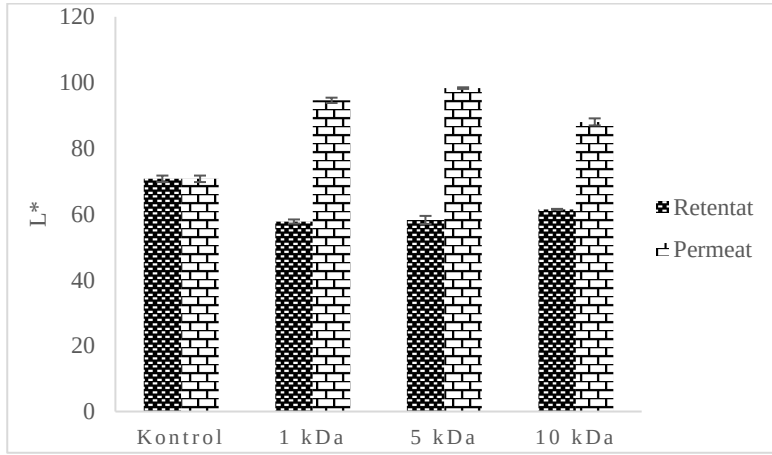
Çizelge 4.14. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların renk değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Retentat	L*	1 kDa	5 kDa	10 kDa	Kontrol
		57.78 ^c ± 0.88	58.26 ^{cb} ± 1.73	61.47 ^b ± 0.21	70.75 ^a ± 1.40
	a*	10 kDa	Kontrol	5 kDa	1 kDa
		47.30 ^b ± 0.13	47.29 ^b ± 1.97	59.57 ^a ± 1.17	59.96 ^a ± 0.52
	b*	1 kDa	5 kDa	Kontrol	10 kDa
		98.85 ^b ± 4.73	104.10 ^b ± 1.46	120.81 ^a ± 2.28	121.16 ^a ± 0.38
	h°	1 kDa	5 kDa	Kontrol	10 kDa
		45.71 ^b ± 0.70	46.42 ^b ± 0.40	50.14 ^a ± 0.49	50.17 ^a ± 0.05
	C*	1 kDa	5 kDa	Kontrol	10 kDa
		115.62 ^b ± 3.78	119.94 ^b ± 0.69	129.75 ^a ± 1.41	130.06 ^a ± 0.31
	L*	Kontrol	10 kDa	5 kDa	1 kDa
		70.75 ^d ± 1.40	88.06 ^c ± 1.52	94.62 ^b ± 1.40	98.33 ^a ± 0.35
	a*	1 kDa	5 kDa	10 kDa	Kontrol
		-8.05 ^b ± 1.10	-5.78 ^b ± 0.70	46.07 ^a ± 0.26	47.29 ^a ± 1.97
Permeat	b*	1 kDa	5 kDa	10 kDa	Kontrol
		71.26 ^c ± 0.00	81.06 ^b ± 1.41	117.72 ^a ± 0.16	120.81 ^a ± 2.28
	h°	10 kDa	Kontrol	5 kDa	1 kDa
		46.50 ^d ± 0.27	50.14 ^c ± 0.49	123.31 ^b ± 0.10	124.44 ^a ± 0.28
	C*	1 kDa	10 kDa	5 kDa	Kontrol
		71.71 ^d ± 0.13	93.23 ^c ± 1.10	117.86 ^b ± 0.19	129.75 ^a ± 1.41

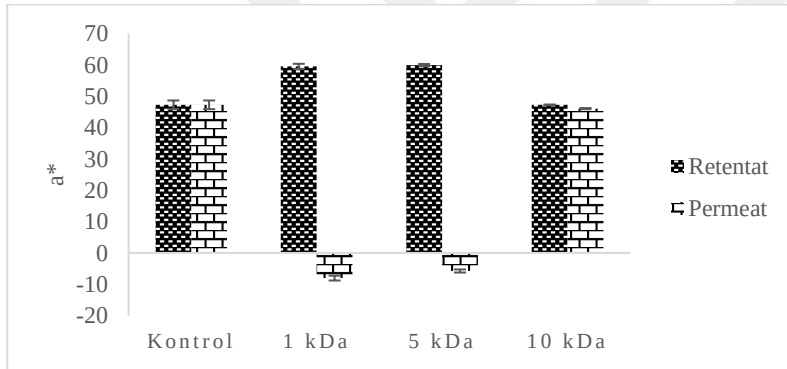
Çizelge 4.14'te aynı koşullarda 3 farklı ayırma sınırına (1, 5 ve 10 kDa) sahip filtre kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların L*, a*, b*, h° ve C* değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları verilmiştir. Buna göre retentatlarda en düşük b*, h° ve C* değeri, 1kDa ayırma sınırı için bulunurken; aynı renk değerleri için en yüksek 10 kDa ayırma sınırında bulunmuştur. Aynı çizelgeye göre, permeatların L* değeri en düşük kontrol örneğinde ve en yüksek 1 kDa ayırma sınırında görülmüştür. Permeat için en düşük a*, b* ve C* değerleri 1 kDa ayırma sınırında görülürken, en düşük h° değeri 10 kDa ayırma sınırında görülmektedir.

Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait renk değerlerinin değişimi Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12'de gösterilmiştir. Bu şekiller incelendiğinde 10 kDa ayırma sınırına ait değerlerin kontrol örneğine çok yakın olduğu görülmüş ve bu ayırma sınırının ekstraktın renk değerleri üzerine herhangi bir etkide bulunmadığı değerlendirilmiştir. Hem 1 kDa hem de 5 kDa ayırma sınırı için L*, a* ve h° değerleri permeat ve retentatta orantılı olarak değişmiştir. Ayrıntılı olarak ifade etmek gerekirse bu iki ayırma sınırı için L* ve h° değerleri permeatta artarken retentatta azalmıştır. a* değeri ise permeatta azalırken retentatta artmıştır. Bu iki sonuç

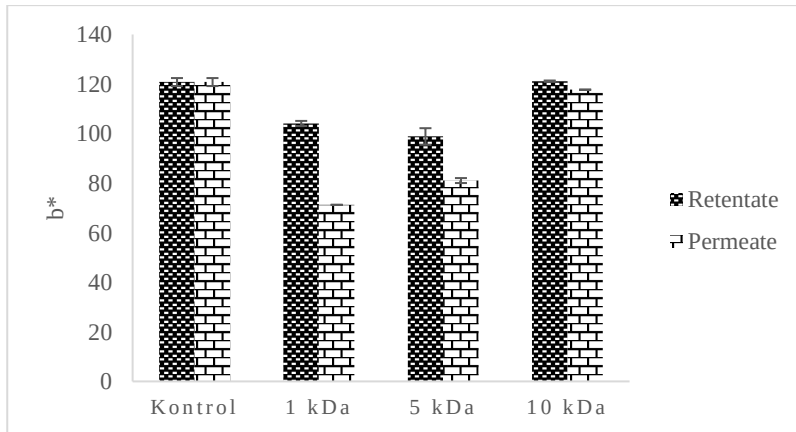
birlikte değerlendirildiğinde hem 1kDa hem de 5 kDa ayırma sınırı için retentatın parlaklığının ve kırmızılığının arttığı sonucuna varılmıştır.



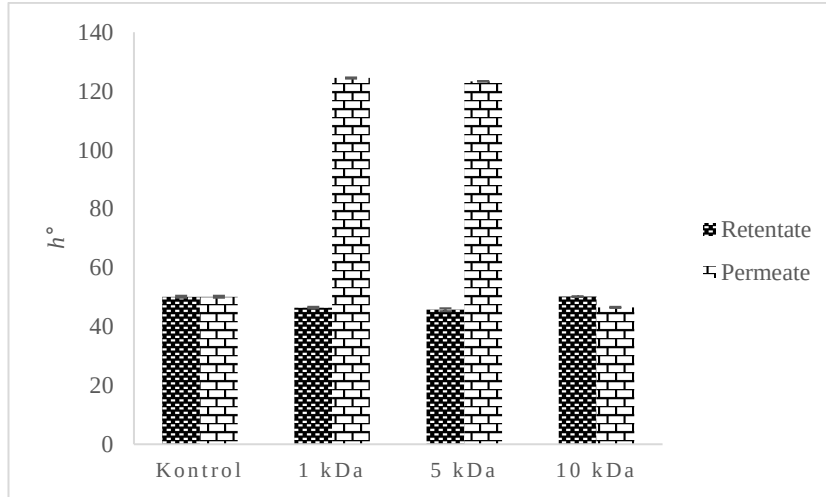
Şekil 4.9. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait L* değerleri



Şekil 4.10. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait a* değerleri



Şekil 4.11. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait b* değerleri



Şekil 4.12. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatlara ait h° değerleri

Diğer renk değerlerinden farklı olarak b^* değerinin hem permeatta hem de retentatta azaldığı görülmüştür. Sarılığı ifade eden bu değer hem permeatta hem retentatta azalmasının nedeninin, beslenen ekstrakttaki toplam karotenoidlerin bir kısmının filtreden geçerken daha büyük bir kısmının filtrede tutulması olduğu düşünülmektedir. Permeat ve retentatlar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise retentatların b^* değerlerinin permeatlardan daha yüksek olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle bu veri retentatın sarılığının permeattan yüksek olduğunu göstermektedir.

UF membranının ayırma yeteneklerini tarif etmek için MWCO veya kDa terimi kullanılmaktadır (Sanchez vd 2008). Bu değerler membranın gözenek boyutu ile ilgilidir. Ancak aynı molekül ağırlığı ve farklı dallanmış yapıya sahip iki molekülün filtreye tutunma özellikleri farklı olup, daha fazla dallanmış yapıya sahip molekül filtrenin yüzeyine daha çok tutunma yeteneğine sahiptir. Ghorbandoust Goleroudbary ve Ghoreishi (2016) tarafından yapılan bir çalışmada safranın sarı-kırmızı renginden sorumlu olan krosin bileşiklerinin molekül ağırlığı (MW) 976.96 g olarak rapor edilmiştir. Krosin bileşenlerinin MW değeri ve zincirli yapılarına ek olarak trans ve cis formları göz önünde bulundurulduğunda, UF işlemi sırasında bu bileşiklerin membranı geçemeyip tekrar besleme tankına geri döndüğü için devamlı sirkülasyon sonucunda krosinler açısından konsantre hale gelmiş bir retentat elde edilmektedir. Diğer yandan ultrafiltrasyon sırasında sirküle edilen safran ekstraktının bir kısmı membranı sürekli olarak aşarak, sistemi terk edebilmektedir. Bu nedenle; 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtresi 10 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtresine göre daha fazla renk bileşenini konsantre edebilme yeteneğine sahiptir. Diğer bir deyişle, dallı ve uzun zincirli bir doğal yapıya sahip krosin bileşenlerinin 1 kDa filtrelerin küçük gözenek çapı nedeniyle bu membranı aşamayıp retentatta konsantre olduğu düşünülmektedir.

4.4.2.2. Krosin miktarı

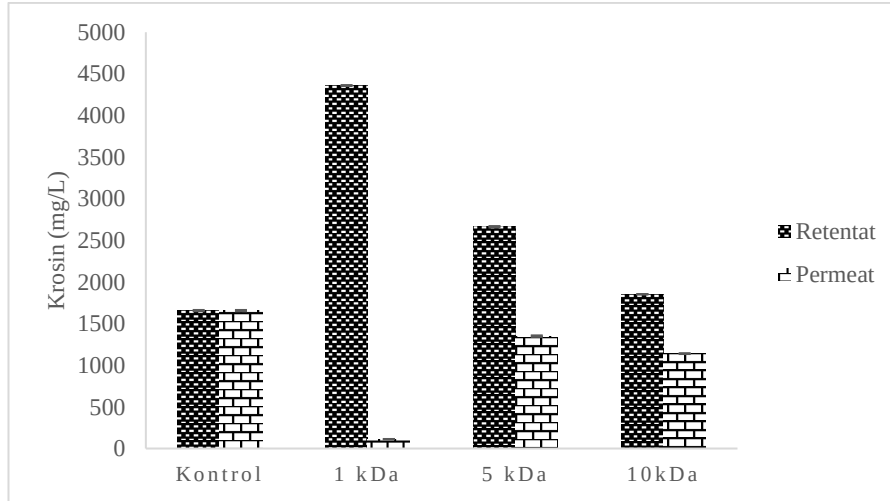
PESU filtre, 70:30 (permeat: retentat) oran ve farklı ayırma sınırları (1, 5 ve 10 kDa) kullanılarak hazırlanan retentat ve permeatların krosin miktarına (mg/L) ait veriler Çizelge 4.15'te verilmiş, Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Çizelge 4.15 incelendiğinde, kontrol

örneğinin (E-2) ve 1, 5, 10 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtre kullanılarak elde edilen retentatların krosin miktarları sırası ile 1656.49, 4359.80, 2662.85 ve 1852.42 mg/L olarak bulunurken 1, 5, ve 10 kDa permeatların krosin miktarları sırası ile 112.47, 1349.87 ve 1139.95 mg/L olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.13 incelendiğinde 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtre ile 2 bar basıçta, 25°C sıcaklıkta, 70:30 (permeat: retentat) oranı kullanılarak elde edilen retentatın krosin miktarının diğer örneklerinkine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca aynı şekle göre en düşük miktarı 1 kDa-permeat örneklerinde görülmektedir. Bu durum safranda bulunan ve renkten sorumlu olan krosin bileşenlerinin molekül ağırlığının 1 kDa ayırma gücüne sahip olan filtreden geçemeyecek kadar yüksek olmasıyla ve özellikle de molekülün dallanmış yapısı ile açıklanmaktadır. Diğer bir deyişle dallanmış yapıda ve yüksek molekül ağırlıklı krosin bileşenleri retentatta konsantre edilirken, krosinlerin çok az bir kısmı permeata geçebilmektedir.

Çizelge 4.15. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarları (mg/L)

	kDa	Krosin (mg/L)
Kontrol	-	1656.49 ± 7.63
	1	4359.80 ± 0.00
Retentat	5	2662.85 ± 8.91
	10	1852.42 ± 0.00
	1	112.47 ± 2.29
Permeat	5	1349.87 ± 8.91
	10	1139.95 ± 5.09

PESU filtre, 70:30 (permeat: retentat) oran ve farklı ayırma sınırları (1, 5 ve 10 kDa) kullanılarak hazırlanan retentat ve permeatların krosin miktarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16'da ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.17'de verilmiştir. Çizelge 4.16 incelendiğinde hem retentatlarda hem de permeatlarda, ayırma sınırının krosin miktarı (mg/L) üzerine istatistik olarak etkisi yüksek düzeyde ($p < 0.01$) anlamlı bulunmuştur. Çizelge 4.17'ye göre; retentatlarda en yüksek krosin miktarı (4359.80 mg/L) 1kDa ayırma sınırına sahip filtrede, en düşük krosin miktarı (1656.49 mg/L) ise 10 kDa ayırma sınırına sahip filtrede elde edilmiştir. Permeatlarda ise en yüksek krosin miktarı (1349.88 mg/L) 10 kDa ayırma sınırına sahip filtrede, en düşük krosin miktarı (112.47 mg/L) ise 1 kDa ayırma sınırına sahip filtrede görülmektedir.



Şekil 4.13. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak hazırlanan safran retentatlarının ve permeatlarının krosin (mg/L) değerleri

Çizelge 4.16. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F
Filtre çeşidi(F)-Retentat	2	3030410.60	44020.6**
Hata	3	68.84	
Filtre çeşidi(F)-Permeat	2	895959.20	10619.1**
Hata	3	84.37	

(**) $p < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çizelge 4.17. Farklı ayırma sınırlarına sahip filtreler kullanılarak elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	Kontrol	10 kDa	5 kDa	1 kDa
Retentat	1656.49 ^d ± 10.8	1852.42 ^c ± 0.00	2662.85 ^b ± 12.6	4359.80 ^a ± 0.00
	1 kDa	5 kDa	10 kDa	Kontrol
Permeat	112.47 ^d ± 3.24	1139.95 ^c ± 7.20	1349.88 ^b ± 12.59	1656.49 ^a ± 10.8

Şekil 4.13'te açıkça görüldüğü gibi 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtrede krosin bileşiklerinin neredeyse tamamı retentatta tutulmuştur. Nitekim Sanchez (2008) tarafından yapılan, santrifüj filtrasyon işleminin sulu safran ekstraktlarının kompozisyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışma bu durumu doğrulamaktadır. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtrenin, neredeyse pikrokrosinden tamamen arındırılmıştır krosince zengin safran konsantratu elde etmek için en uygun filtre materyali olduğu belirtilmiştir.

4.4.3. Besleme oranı, basınç ve sıcaklık optimizasyonu

4.4.3.1. Renk analizi

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanılarak, 3 farklı besleme oranı (permeat: retentant oranı 80:20; 70:30 ve 60:40), 2 farklı sıcaklık (4 ve 25°C) ve 2 farklı basınç (2 ve 3 bar) altında denemeler gerçekleştirilmiştir. Retentatların ve permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.18 ve 4.19'da verilmiştir.

Çizelge 4.18 incelendiğinde, 4°C'de üretilen örneklerin L^* , a^* ve b^* değerlerinin 25°C'dekilere göre genel olarak daha yüksek olduğu, h° değerlerinin ise birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Aynı çizelgede, 4°C'de 2 bar basınç altında üretilen retentatların L^* , b^* ve C^* değerlerinin 3 bar basınç altında üretilen örneklerle göre daha yüksek olduğu görülmektedir. 60:40 besleme oranına sahip retentatların h° değeri, 80:20 besleme oranına sahip retentatlarından yüksektir. Diğer yandan 4°C'de ve 2 bar basınç altında üretilen 60:40, 70:30 ve 80:20 besleme oranlarına sahip retentatlarda C^* değeri artma eğilimi göstererek, sırası ile 115.93, 120.58 ve 122.50 olarak bulunmuştur. Aynı çizelgeye göre, 4°C'de ve 2 bar basınçta üretilen 80:20 besleme oranına sahip retentatta a^* (kırmızılık) değerinin, aynı koşullarda 60:40 besleme oranına sahip retentatinkine göre daha yüksek olduğu görülürken; a^* değeri arttıkça L^* (parlaklık) değerinin azaldığı görülmektedir. Diğer yandan, en düşük L^* değeri 4°C'de ve 2 bar basınçta üretilen 80:20 besleme oranına sahip retentatta elde edilmiş olup; L^* değerinin, h° değeri ile doğru; a^* ve C^* değeri ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir.

Ton açısı değerine bağlı renk tonu diyagramı (Bakınız sayfa 35, Şekil 3.2) incelendiğinde, h° değeri ~30-90° aralığında iken renk kırmızıdan sarıya; 90-180° arasında iken ise sarıdan yeşile doğru değişmektedir. Diğer bir deyişle a^* ve b^* değeri pozitif iken renk tonu pembe-kırmızı-turuncu-sarı, b^* değeri pozitif ve a^* değeri negatif iken renk sarı-yeşil tonlarında görülmektedir (Mc Clime vd, 1994). 4°C'de ve 2 bar basınçta üretilen 80:20 besleme oranına sahip retentatta L^* ve h° değeri düşük, a^* ve C^* değeri yüksektir. Yani bu koşullarda elde edilen retentat koyu, yoğun ve kırmızımsı bir renge sahiptir (Şekil 4.6).

Çizelge 4.19 incelendiğinde, permeatların h° değerinin 120'den yüksek ve a^* değerinin negatif olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle elde edilen permeatların rengi sarı-yeşil tonları arasında değişmektedir. Bunun durumun; suda çözünür karotenoidlerin büyük bir kısmının retentatta kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla permeatların rengi, konsantre bir safran ekstraktından beklenen özellikleri taşımamaktadır.

Çizelge 4.18. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk değerleri

Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	P:R	L*			a*			b*			h°			C*		
4	2	60:40	70.13	±	0.01	54.40	±	0.01	102.37	±	0.01	47.26	±	0.00	115.93	±	0.00
		70:30	59.93	±	0.02	61.12	±	0.01	103.93	±	0.53	46.09	±	0.07	120.58	±	0.44
		80:20	59.29	±	0.02	66.83	±	0.02	102.66	±	0.02	44.82	±	0.00	122.50	±	0.02
	3	60:40	59.69	±	0.01	60.55	±	0.01	111.19	±	0.01	46.99	±	0.00	126.60	±	0.00
		70:30	59.36	±	0.01	60.73	±	0.01	101.53	±	0.01	45.89	±	0.00	118.32	±	0.01
		80:20	57.96	±	0.01	60.37	±	0.01	100.69	±	0.02	45.86	±	0.00	117.41	±	0.01
25	2	60:40	63.14	±	0.01	56.94	±	0.01	108.32	±	0.02	47.38	±	0.00	122.39	±	0.02
		70:30	57.77	±	0.07	59.56	±	0.01	104.10	±	0.01	46.42	±	0.00	119.94	±	0.01
		80:20	57.82	±	0.01	53.62	±	0.01	84.99	±	0.03	45.21	±	0.00	100.51	±	0.03
	3	60:40	63.35	±	0.02	56.53	±	0.02	108.76	±	0.02	47.50	±	0.00	122.57	±	0.02
		70:30	61.54	±	0.01	57.89	±	0.01	105.55	±	0.01	46.90	±	0.00	120.40	±	0.01
		80:20	58.95	±	0.02	55.10	±	0.00	94.32	±	0.01	46.18	±	0.00	109.24	±	0.01

Çizelge 4.19. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk değerleri

Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	P:R	L*			a*			b*			h°			C*		
4	2	60:40	94.73	±	0.01	-9.30	±	0.02	88.87	±	0.02	124.29	±	0.00	89.36	±	0.02
		70:30	95.89	±	0.01	-10.45	±	0.01	72.07	±	0.02	125.02	±	0.00	72.83	±	0.02
		80:20	98.25	±	0.02	-8.38	±	0.01	31.48	±	0.05	127.30	±	0.01	32.58	±	0.05
	3	60:40	94.10	±	0.01	-7.38	±	0.01	96.93	±	0.05	123.82	±	0.00	97.23	±	0.05
		70:30	95.53	±	0.06	-8.74	±	0.03	73.53	±	0.03	124.57	±	0.01	74.05	±	0.02
		80:20	98.19	±	0.00	-9.37	±	0.01	43.62	±	0.03	126.34	±	0.00	44.62	±	0.03
25	2	60:40	93.04	±	0.01	-5.71	±	0.01	111.49	±	0.03	123.35	±	0.00	111.63	±	0.03
		70:30	94.61	±	0.01	-8.05	±	0.01	71.26	±	0.04	124.44	±	0.00	71.71	±	0.04
		80:20	97.07	±	0.01	-9.37	±	0.02	70.97	±	0.02	124.79	±	0.00	71.58	±	0.03
	3	60:40	92.81	±	0.01	-5.22	±	0.01	117.37	±	0.06	123.23	±	0.00	117.50	±	0.06
		70:30	93.82	±	0.02	-7.95	±	0.02	106.26	±	0.02	123.77	±	0.00	106.58	±	0.01
		80:20	96.19	±	0.01	-11.48	±	0.01	63.54	±	0.02	125.71	±	0.00	64.62	±	0.01

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanılarak, 3 farklı besleme oranı (permeat: retentant oranı 80:20; 70:30 ve 60:40), 2 farklı sıcaklık (4 ve 25°C) ve 2 farklı basınç (2 ve 3 bar) altında elde edilen retentat ve permeatlara ait renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) varyans analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 incelendiğinde sıcaklığın; b^* ve h° değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($P<0.05$) iken, a^* ve C^* değerleri üzerine etkisi yüksek düzeyde istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) olduğu görülmektedir. Basınç, b^* değeri üzerine etkisi $P<0.05$ düzeyinde istatistiki olarak önemli iken L^* ve C^* değerinin etkisi $P<0.01$ düzeyinde önemlidir. Aynı çizelgeye göre permeat: retentat oranının, L^* değeri üzerine etkisi istatistiki olarak $P<0.01$ düzeyinde önemliyken; b^* , h° ve C^* değerleri üzerine etkisi $P<0.05$ düzeyinde önemli olarak belirlenmiştir. Varyans kaynaklarının ikili interaksiyonlarının (Sıcaklık x basınç, Basınç x permeat:retentat oranı, sıcaklık x permeat:retentat oranı) renk değerleri üzerine etkisi genelde istatistiki olarak $P<0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Sıcaklık x basınç x permeat:retentat oranı varyans kaynaklarının üçlü interaksiyonunun ise yalnızca a^* , b^* ve C^* değerleri üzerine etkisinin istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) olduğu belirlenmiştir.

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanılarak, 3 farklı besleme oranı (permeat: retentant oranı 80:20; 70:30 ve 60:40), 2 farklı sıcaklık (4 ve 25°C) ve 2 farklı basınç (2 ve 3 bar) altında elde edilen permeatlara ait renk değerleri (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) Çizelge 4.21’de incelenmiştir. Bazı varyans kaynaklarının renk değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak farklı düzeylerde önemli bulunmuştur. Ancak elde edilen permeatların renk özelliklerinin beklenen değerlerde olmaması nedeniyle (Çizelge 4.19) bu istatistiksel sonuçlar değerlendirilmemiştir.

Çizelge 4.20. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerine ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	L^*		a^*		b^*		h°		C^*	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Sıcaklık (A)	1	2.36	1.18	98.86	77.74**	44.34	6.27*	1.19	4.86*	115.19	28.74**
Basınç (B)	1	30.94	15.42**	1.33	1.05	51.39	7.27*	0.43	1.75	44.34	11.06**
P:R (C)	2	24.64	12.28**	3.85	3.03	35.83	5.07*	1.03	4.22*	22.7	5.66*
A x B	1	12.86	6.41*	1.18	0.93	0.14	0.02	0.02	0.09	0.06	0.01
B x C	2	57.98	28.89**	26.42	20.78**	273.22	38.67**	6.07	24.77**	186.71	46.59**
A x C	2	23.41	11.66**	41.43	32.58**	89.55	12.67**	0.1	0.41	129.39	32.29**
A x B x C	2	6.37	3.17	26.19	20.59**	93.4	13.22**	0.12	0.51	119.44	29.80**
Hata	12	20.1		1.27		7.06		0.24		4.01	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çizelge 4.21. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerine ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	L^*		a^*		b^*		h°		C^*	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Sıcaklık (A)	1	13.9	17.05**	5.68	1.77	3009.66	70.68**	6.12	33.52**	2946.61	69.52**
Basınç (B)	1	0.07	0.09	1.03	0.32	52.74	1.24	0.04	0.22	49.74	1.17
P:R (C)	2	3.99	4.90*	6.49	2.02	402.77	9.46**	1.38	7.56**	387.63	9.15**
A x B	1	0.00	0.00	0.15	0.05	509.5	11.96**	0.99	5.43*	497.86	11.75**
B x C	2	25.81	31.65**	13.46	4.18*	5232.47	122.88**	10.55	57.79**	5102.94	120.40**
A x C	2	0.19	24.00	6.89	2.14	204.88	4.81*	0.44	2.40	206.78	4.88*
A x B x C	2	0.07	0.08	4.88	1.51	14.21	0.33	0.46	2.54	14.87	0.35
Hata	12	0.82		3.22		42.58		0.18		42.38	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.22 ve Çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelge 4.22 incelendiğinde, en yüksek L^* (parlaklık) değeri 4°C , 2 bar ve 60:40 besleme oranında elde edilen retentatta tespit edilirken; en düşük değer 25°C , 3 bar ve 80:20 besleme oranında elde edilen retentatta tespit edilmiştir. Aynı çizelgeye göre en yüksek a^* değeri 4°C , 2 bar ve 80:20 besleme oranında elde edilen retentatta bulunurken; en yüksek b^* değeri 4°C , 3 bar ve 60:40 besleme oranında elde edilen retentatta görülmektedir. En düşük h° değerinin ise 4°C , 2 bar ve 80:20 besleme oranında elde edilen retentatta tespit edilirken; en yüksek C^* değeri 4°C , 3 bar, 60:40 besleme oranında elde edilen retentatta görülmektedir.

Anuar vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada İran, İaııklıkya ve Keşmir'den temin edilen safranlarda CIELAB renk ölçüm cihazı kullanılarak metanol ekstraktlarında renk ölçümü gerçekleştirilmiştir. Bunun için 0.032 g safran örneği 40 mL metanol'de ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstrakt 0.45 μm filtreden geçirildikten sonra renk analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ekstraktın renk değerleri; L^* (90.61-92.26), a^* (-0.11- -5.36), b^* değeri (122.83- 118.37), h° (89.77-92.59) ve C^* değeri (122.83-118.50) olarak tespit edilmiştir. Metanol kullanılarak ekstrakte edilen safran ekstraktlarının özellikle a^* değerinin sulu ekstraktlarındaki farklı olarak negatif bir değerde olmasının, lipofilik karakterdeki diğer karotenoidlerin krosinin aksine organik çözücülerde daha iyi çözünmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

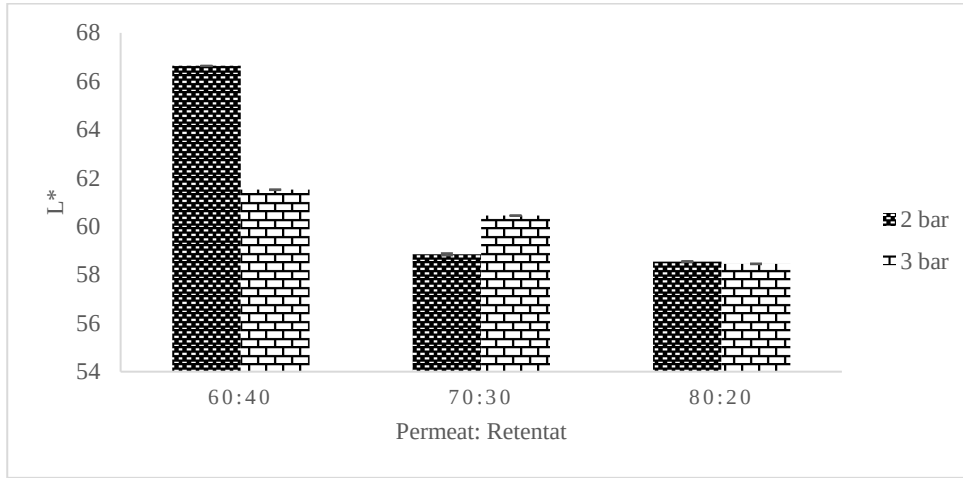
Başka bir çalışmada safran, koyun sütünde ekstrakte (farklı sıcaklık ve sürelerde) edilmiş ve elde edilen ürünün yağ oranına bağlı renk değışimleri incelenmiştir. Safran konsantrasyonunun yanı sıra sütün yağ içeriğinin de renk değışimi üzerine istatistiki olarak önemli düzeyde etkisi olduğu gösterilmiştir. Daha yüksek süt yağı içeriğine sahip örneklerde renk daha sarı iken daha yüksek safran ekstraktı içeren örneklerde rengin kırmızıya yakın olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir deyişle 10 mg/mL safran içeren örneklerde renk değerleri L^* , 57.78- 62.86, a^* , 33.97- 30.71, b^* , 71.44-76.70, C^* , 79.20-84.27 ve h° , 64.57-68.17 arasında değışmektedir. Safran konsantrasyonu arttıkça L^* , b^* ve h° değerinin düştüğu, a^* değerinin ise yükseldiği rapor edilmiştir (Licón vd. 2012).

Çizelge 4.22. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

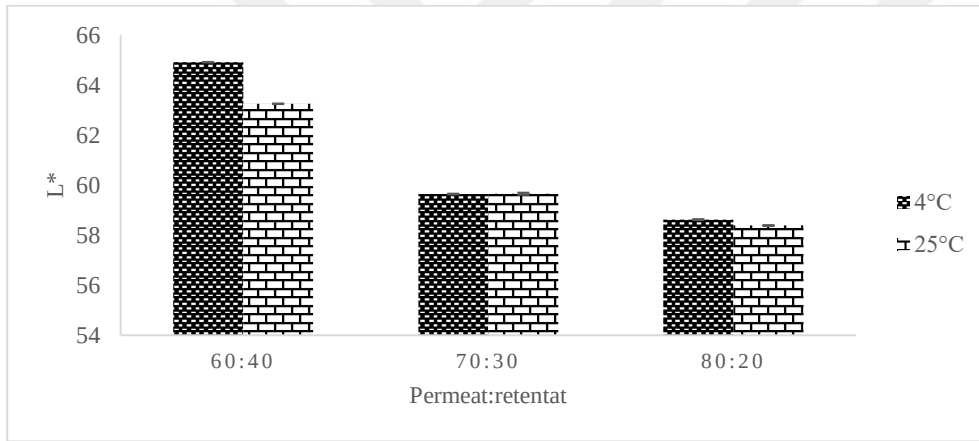
L*	Sıcaklık (°C)	25	4
		60.43 ^a ± 2.64	61.06 ^a ± 4.43
	Basınç	3	2
		59.61 ^b ± 2.15	61.88 ^a ± 4.40
P:R	80:20	70:30	60:40
	59.46 ^b ± 1.78	60.04 ^b ± 2.22	62.74 ^a ± 5.20
a*	Sıcaklık (°C)	25	4
		56.610 ^b ± 2.22	60.67 ^a ± 2.80
	Basınç	3	2
		58.40 ^a ± 4.71	58.87 ^a ± 2.48
P:R	60:40	70:3	80:20
	58.01 ^b ± 2.92	58.53 ^{ab} ± 2.61	59.38 ^a ± 5.31
b*	Sıcaklık (°C)	25	4
		101.01 ^b ± 9.24	103.73 ^a ± 4.07
	Basınç	2	3
		100.91 ^b ± 8.15	103.83 ^a ± 5.90
P:R	80:20	70:30	60:40
	100.53 ^b ± 4.80	101.90 ^{ba} ± 11.14	104.68 ^a ± 3.01
h°	Sıcaklık (°C)	4	25
		46.15 ^b ± 0.90	46.60 ^a ± 0.92
	Basınç	2	3
		46.24 ^a ± 1.13	46.51 ^a ± 0.66
P:R	80:20	70:30	60:40
	46.13 ^b ± 1.27	46.21 ^b ± 0.60	46.79 ^a ± 0.69
C*	Sıcaklık (°C)	25	4
		115.84 ^b ± 2.52	120.22 ^a ± 1.15
	Basınç	2	3
		116.67 ^b ± 2.34	119.39 ^a ± 1.64
P:R	80:20	70:30	60:40
	116.34 ^b ± 1.69	118.04 ^b ^a ± 3.92	119.71 ^a ± 1.00

Basınç x besleme oranı ve sıcaklık x besleme oranı interaksiyonlarının L^* değeri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.14 ve 4.15'te incelenmiştir. Besleme oranı 60:40 iken hem

yüksek basınç hem de yüksek sıcaklık ayrı ayrı değerlendirildiğinde L^* değerinde azalışa neden olduğu görülmektedir.

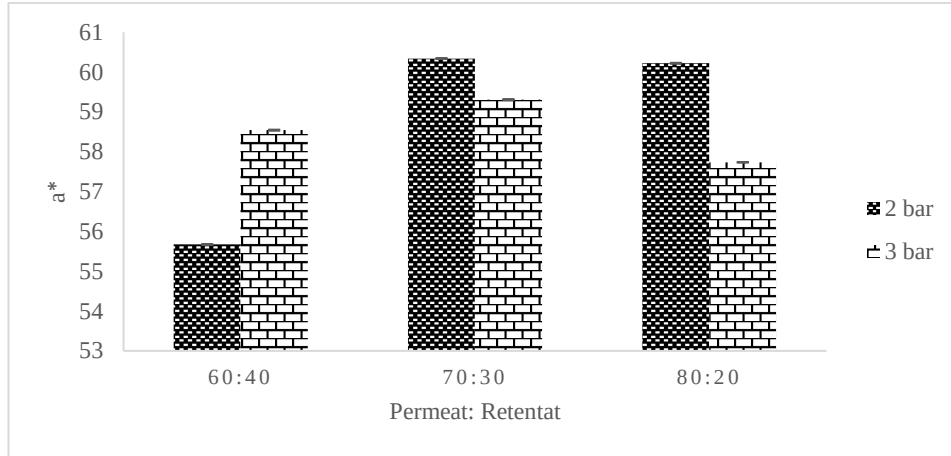


Şekil 4.14. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın L^* değeri üzerine etkisi

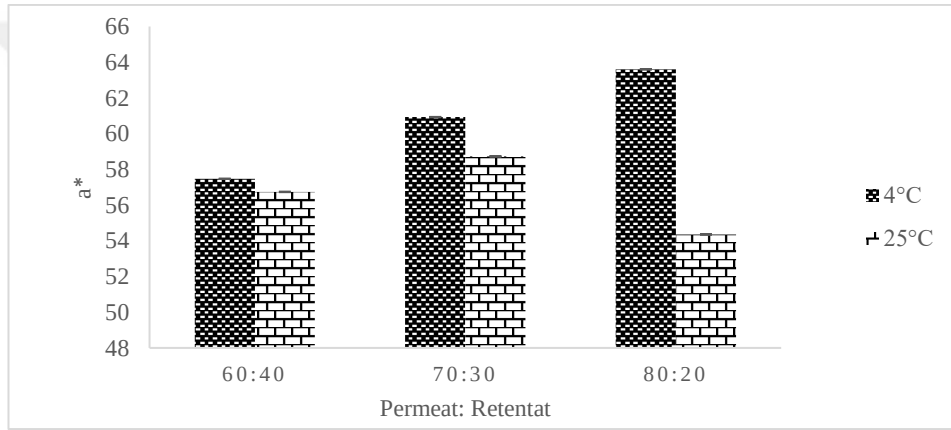


Şekil 4.15. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın L^* değeri üzerine etkisi

Basınç x besleme oranı ve sıcaklık x besleme oranı interaksiyonlarının a^* değeri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.16 ve 4.17’de incelenmiştir. Besleme oranı 70:30 ve 80:20 iken, hem düşük basınç hem de düşük sıcaklık ayrı ayrı değerlendirildiğinde a^* değerinde artışa neden olduğu görülmektedir.

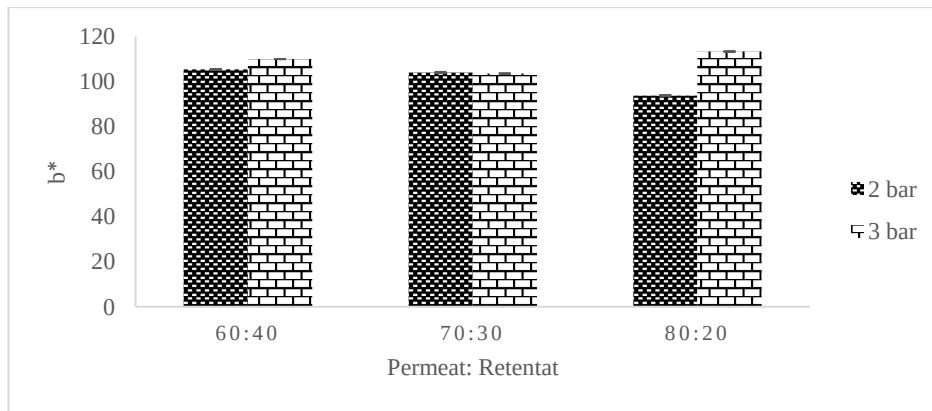


Şekil 4.16. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın a^* değeri üzerine etkisi

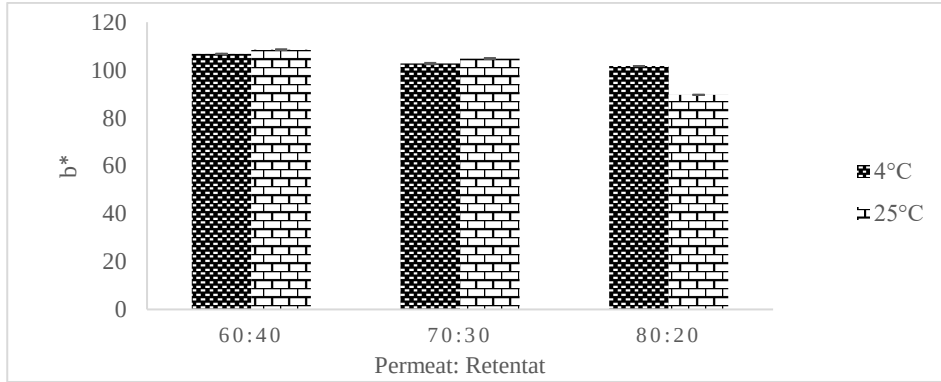


Şekil 4.17. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın a^* değeri üzerine etkisi

Basınç x besleme oranı ve sıcaklık x besleme oranı interaksiyonlarının b^* değeri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.18 ve 4.19’da incelenmiştir. Besleme oranı 80:20 iken, yüksek basınç ve düşük sıcaklık ayrı ayrı değerlendirildiğinde b^* değerinde artışa neden olmuştur.

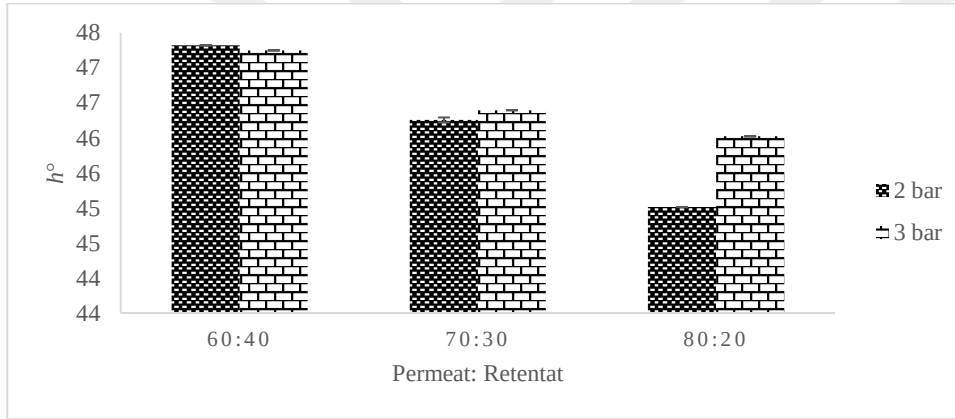


Şekil 4.18. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın b^* değeri üzerine etkisi

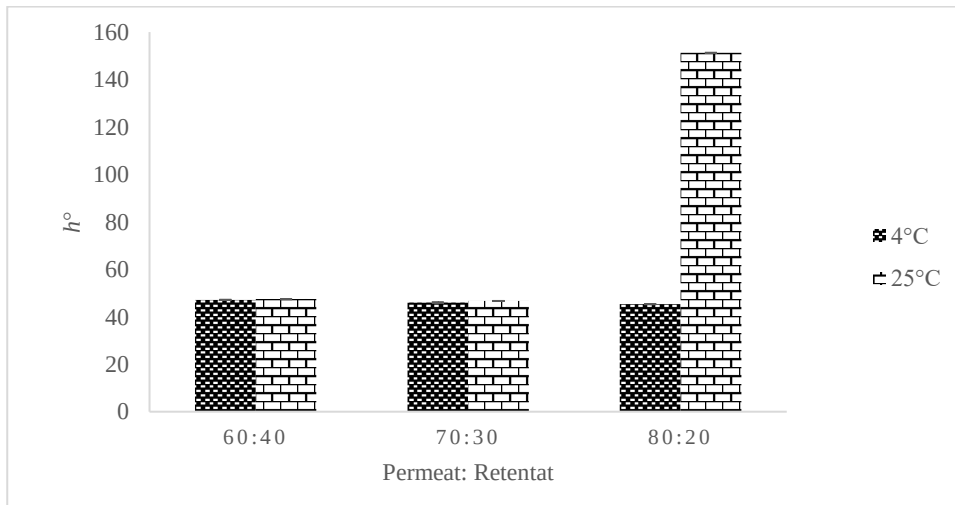


Şekil 4.19. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın b^* değeri üzerine etkisi

Basınç x besleme oranı ve sıcaklık x besleme oranı interaksiyonlarının h° değeri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.20 ve 4.21’de incelenmiştir. Besleme oranı 80:20 iken, hem düşük basınç hem de düşük sıcaklık ayrı ayrı değerlendirildiğinde h° değerinde azalışa neden olduğu görülmektedir.

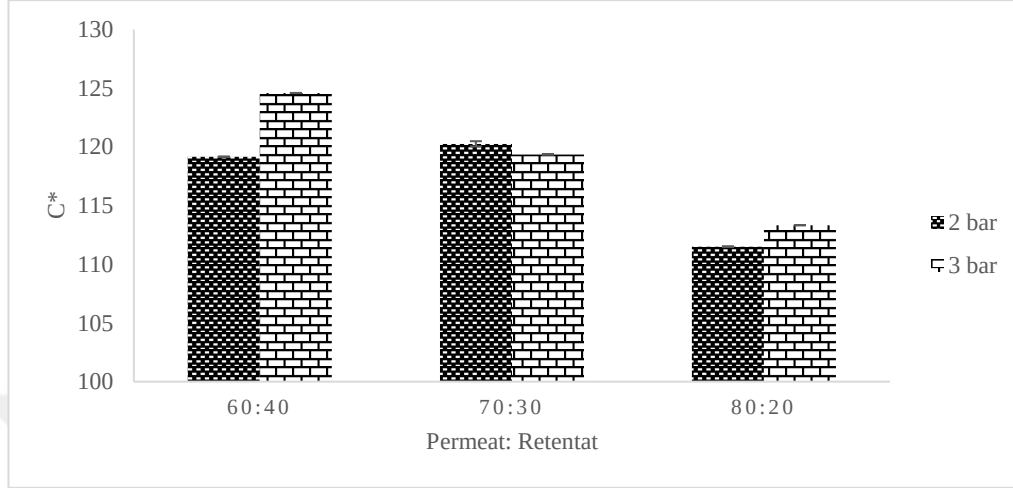


Şekil 4.20. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın h° değeri üzerine etkisi

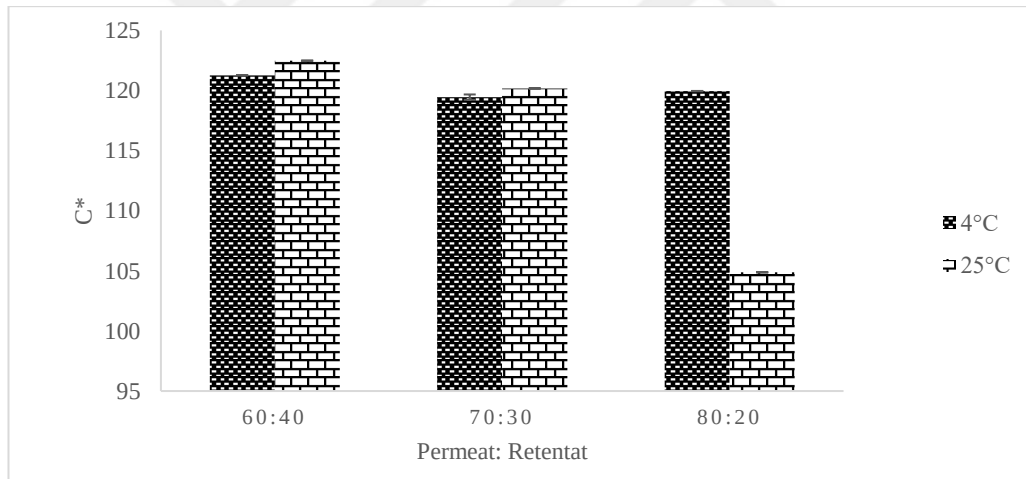


Şekil 4.21. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın h° değeri üzerine etkisi

Basınç x besleme oranı ve sıcaklık x besleme oranı interaksiyonlarının C^* değeri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.22 ve 4.23'te incelenmiştir. Besleme oranı 60:40 iken, yüksek basınç C^* değerinde artışa neden olmaktadır. Besleme oranı 80:20 iken ise, düşük sıcaklık C^* değerinde artış sağlamıştır.



Şekil 4.22. Farklı basınç ve besleme oranlarının, retentatın C^* değeri üzerine etkisi



Şekil 4.23. Farklı sıcaklık ve besleme oranlarının, retentatın C^* değeri üzerine etkisi

Çizelge 4.22'de ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentatların L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlara göre en düşük L^* , b^* , h° ve C^* değerleri 80:20 besleme oranına sahip retentatlarda, en yüksek L^* , b^* , h° ve C^* değerleri ise 60:40 besleme oranına sahip retentatta görülmektedir. En düşük a^* değeri 25°C'de elde edilen retentattayken, en yüksek a^* değeri 4°C'de elde edilen retentatta bulunmuştur.

Çizelge 4.23. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların renk (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

L*	Sıcaklık (°C)	25		4	
		94.59 ^b	± 1.87	96.12 ^a	± 1.7
	Basınç (bar)	3		2	
95.30 ^a		± 1.85	95.41 ^a	± 2.05	
P:R	60:40		70:3		80:20
	94.57 ^b	± 1.17	95.56 ^a	± 2.55	95.94 ^a ± 1.72
a*	Sıcaklık (°C)	25		4	
		7.96 ^a	± 2.71	9.94 ^a	± 1.43
	Basınç (bar)	2		3	
8.24 ^a		± 1.8	8.66 ^a	± 2.56	
P:R	70:30		60:40		80:20
	7.59 ^a	± 2.18	8.38 ^a	± 2	9.38 ^a ± 2.23
b*	Sıcaklık (°C)	4		25	
		67.75 ^b	± 25.14	90.15 ^a	± 23.02
	Basınç (bar)	3		2	
77.47 ^a		± 25.24	80.43 ^a	± 28.17	
P:R	80:20		70:30		60:40
	71.74 ^b	± 24.66	79.19 ^a	± 34.94	85.92 ^a ± 17.67
h°	Sıcaklık (°C)	25		4	
		124.22 ^b	± 0.99	125.23 ^a	± 1.29
	Basınç (bar)	2		3	
124.68 ^a		± 1.34	124.76 ^a	± 1.17	
P:R	80:20		60:4		70:30
	125.10 ^b	± 1.16	124.28 ^b	± 0.66	134.79 ^a ± 1.63
C*	Sıcaklık (°C)	4		25	
		68.44 ^b	± 24.86	90.60 ^a	± 22.72
	Basınç (bar)	3		2	
78.08 ^a		± 24.91	80.96 ^a	± 27.88	
P:R	80:20		70:30		60:40
	72.46 ^b	± 24.35	79.72 ^a	± 34.56	86.38 ^a ± 17.48

Çizelge 4.23'te ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen permeatların L^* , a^* , b^* , h°

ve C^* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlara göre en düşük L^* değeri 60:40 besleme oranına sahip permeatlarda, en yüksek L^* değeri ise 4°C 'de elde edilen permeatlarda görülmektedir. En düşük a^* değeri 70:30 besleme oranına sahip permeattayken, en yüksek a^* değeri 4°C 'de elde edilen permeatta bulunmuştur. En düşük b^* değeri 4°C 'de elde edilen permeatta görülürken, en yüksek b^* değeri 25°C 'de elde edilen permeatta görülmüştür. En düşük h° değeri 25°C 'de elde edilen permeattayken, en yüksek h° değeri 70:30 besleme oranına sahip permeatlarda bulunmuştur. En düşük ve en yüksek C^* değeri ise sırasıyla 4 ve 25°C 'de elde edilen permeatlarda görülmüştür.

Safranda renkten sorumlu olan bileşikler suda çözünen karotenoidler olup bu bileşiklerin rengi sarı, turuncu ve kırmızı aralığında değişmektedir (Shahi vd. 2016). Ton açısı değerine bağlı renk tonu diyagramına göre, h° değerinin ~30-90 olduğu aralıkta renk kırmızıdan sarıya doğru değişmektedir (McLellan vd. 1995). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda; ayırma sınırı 1kDa olan PESU filtre kullanılarak 4°C 'de, 2 bar basınçta ve P:R oranının 80:20 olduğu koşullarda elde edilen retentatın h° değeri en düşük, C^* değeri ise en yüksektir. Bu sebeple, bu örnekteki rengin suda çözünür karotenoidlerden kaynaklandığı ve ekstrakt artık konsantre olduğu için rengin diğer örneklerle göre daha yoğun olduğu düşünülmektedir.

Ordoudi (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, safran ekstraktına hile amaçlı katılan karminik asit ve bazı yapay renklendiricilerin tespiti için farklı yöntemler denenmiştir. Bu amaçla, farklı coğrafi orijine sahip ISO 3632-1 standardına (Anonymous2) göre yüksek kalitede olan 12 farklı safran örneğinden sulu ekstraktlar hazırlanarak bunların renk değerleri ölçülmüş ve böylece yüksek kaliteli safran ile hazırlanan ekstrakttan beklenmesi gereken ortalama renk değeri tespit edilmiştir. Gerçek ve yüksek kalitede safranla hazırlanan bu ekstraktların Ton açısı değeri ortalama 57 olarak bulunmuş ve bu değer yaklaşık 52-62 aralığında değiştiği görülmüştür. Renk yoğunluğunu ifade eden C^* değeri ise ortalama 92 olarak bulunmuş ve bu değer 80-98 arasında değiştiği belirtilmiştir. Çalışmamızda gerçek safrandan ISO 3632-1 standardına göre hazırlanan ekstraktın Ton açısı değeri 50.13 olarak bulunmuştur. Referans çalışmada renk ölçümü yapılan ekstrakt 5 g/L safran içerecek şekilde hazırlanırken, çalışmamızda ISO 3632-1 standardının belirttiği gibi 0.5 g/L safran içerecek şekilde hazırlanmıştır. Ton açısı değerinin literatürdeki değerin az da olsa altında kalmasının nedeninin bu konsantrasyon farkı olduğu düşünülmektedir. Nitekim çalışmamızda kullanılan safranın kalitesi ilgili standartta belirtildiği şekilde analiz edilmiş ve doğrulanmıştır. Ayrıca çalışmamızda optimum olarak tespit edilen koşullarda elde edilen retentatın Ton açısı değeri 44.82 olarak tespit edilmiştir. UF işlemi sırasında krosinin bir kısmı permeata geçerken büyük bir kısmı retentatta kalmaktadır. Ton açısı değerindeki düşüşün bundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak retentata ait diğer renk değerleri incelendiğinde renk yoğunluğunu ifade eden C^* değeri 122.50 olarak bulunmuştur. Yani UF işlemi çözeltinin karakteristik renk tonunu koruyarak konsantre bir forma dönüştürdüğü düşünülmektedir.

Elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde; istenilen renk tonuna sahip ve en yoğun rengi içeren örneği elde edebilmek için ayırma sınırı 1kDa olan PESU filtre kullanılarak 4°C 'de, 2 bar basınçta ve P:R oranının 80:20 olduğu koşullar UF işlemi için optimum olarak seçilmiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. a) Beslenen ekstrakt (E-2); **b)** Optimum şartlarda elde edilen retentat (PESU filtre, 1kDa, 2 bar, 4°C, 80:20 besleme oranı) ve **c)** Aynı şartlarda elde edilen permeat (PESU, 1kDa, 2 bar, 4°C, 80:20 besleme oranı)

4.4.3.2. Krosin miktarı

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarları (mg/L) spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.24'te verilmiş ve Şekil 4.25, 4.26, 4.27 ve 4.28'de gösterilmiştir. Çizelge 4.24 incelendiğinde; retentatların krosin miktarları, permeatlarınkine göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, PESU filtre kullanıldığında her koşulda konsantrasyon işleminin retentatta gerçekleştiğini göstermektedir. Diğer yandan 4°C'de elde edilen retentatlarda krosin miktarının 25°C'de elde edilen retentatlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Aynı çizelgeye ve Şekil 4.25, 4.26, 4.27 ve 4.28'e göre, en yüksek krosin miktarına (7568.45 mg/L); 4°C'de ve 2 bar basınçta elde edilen besleme oranı 80:20 olan retentatta ulaşılmıştır.

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatların krosin miktarlarına (mg/L) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.25'te ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.26'da verilmiştir.

Çizelge 4.25 incelendiğinde tüm varyans kaynaklarının ve bunların interaksyonlarının retentatların krosin miktarı üzerine istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) etkili olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.26'ya göre retentatlarda en düşük krosin miktarı (3912.13 mg/L) 25°C'de elde edilen örneklerde iken, en yüksek krosin miktarı (4731.11 mg/L) besleme oranı 80:20 olan örneklerde elde edilmiştir. Aynı çizelgeye göre permeatlarda en düşük krosin miktarı (117.11 mg/L) besleme oranı 60:40 olan örneklerde iken, en yüksek krosin miktarı (123.82 mg/L) besleme oranı 80:20 olan örneklerde elde edilmiştir.

Çizelge 4.24. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarları (mg/L)

	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	P:R	Krosin (mg/L)		
Kontrol	-	-	-	1656.49	±	7.63
Retentat	4	2	60:40	3943.00	±	3.31
			70:30	5098.78	±	7.94
			80:20	7568.45	±	3.31
		3	60:40	3565.90	±	3.31
			70:30	4685.62	±	4.96
			80:20	6096.44	±	0.00
	25	2	60:40	3519.59	±	19.85
			70:30	4359.80	±	0.00
			80:20	4705.47	±	1.65
		3	60:40	3084.61	±	8.27
			70:30	3504.71	±	1.65
			80:20	4298.60	±	11.58
Permeat	4	2	60:40	119.34	±	3.56
			70:30	116.67	±	4.45
			80:20	113.99	±	1.53
		3	60:40	131.17	±	0.13
			70:30	121.37	±	2.29
			80:20	114.76	±	0.00
	25	2	60:40	119.97	±	0.13
			70:30	112.47	±	2.29
			80:20	105.73	±	0.38
		3	60:40	144.40	±	1.15
			70:30	139.69	±	9.92
			80:20	107.25	±	5.73

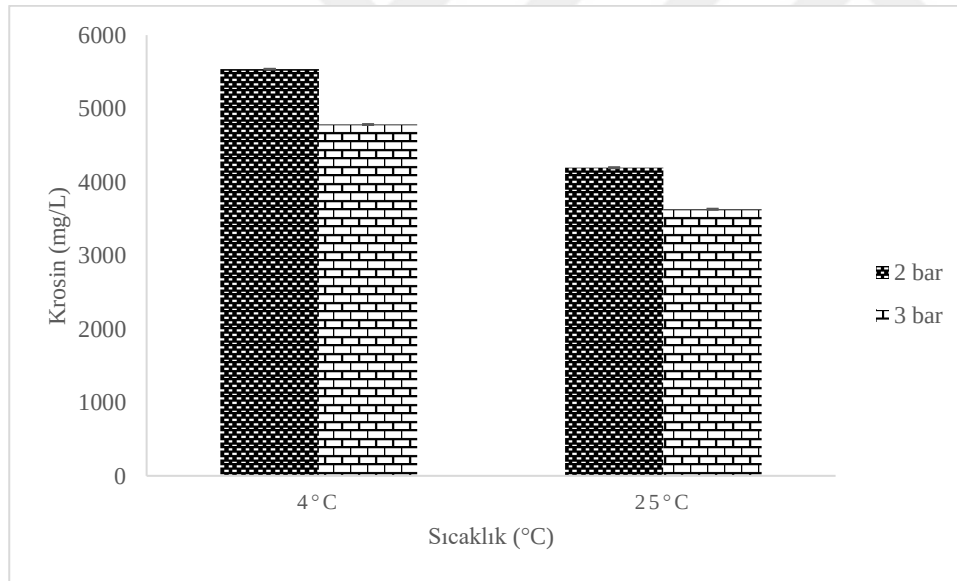
Çizelge 4.25. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarları (mg/L) ait varyans analiz sonuçları

	VK	SD	KO	F
Retentat	Sıcaklık (A)	1	9338585	77573.2**
	Basınç (B)	1	337350.6	2802.28**
	P:R (C)	2	574796.7	4774.69**
	A x B	1	35002528	2907.57**
	B x C	2	9948171	82636.9**
	A x C	2	682788.6	5671.75**
	A x B x C	2	1363138	11323.2**
	Hata	12	120.38	
Permeat	Sıcaklık (A)	1	24.91	0.84
	Basınç (B)	1	7.31	0.25
	P:R (C)	2	90.32	3.04
	A x B	1	13.97	0.47
	B x C	2	1183.42	39.87
	A x C	2	26.14	0.88
	A x B x C	2	281.26	9.47
	Hata	12	29.68	

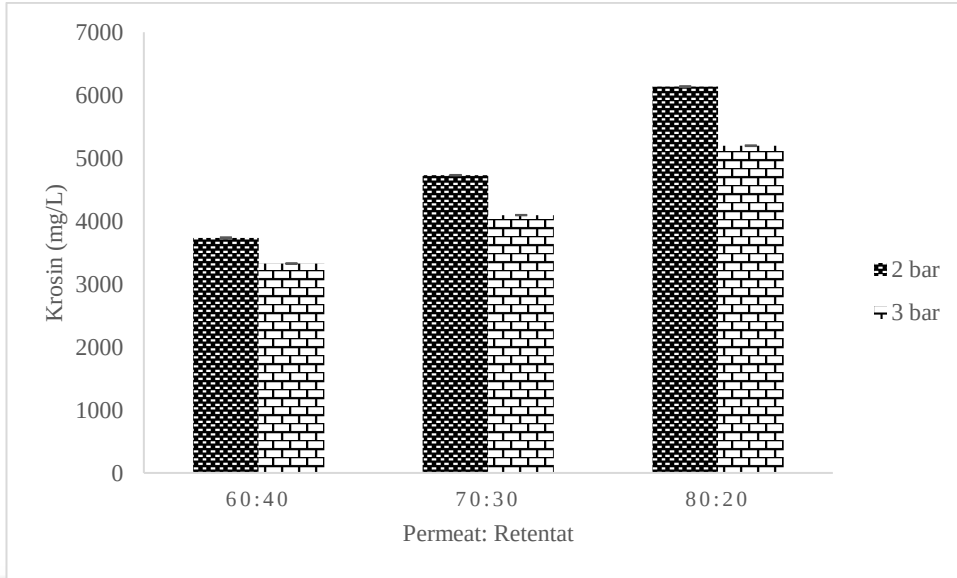
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çizelge 4.26. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre, farklı besleme oranları (P:R oranı) kullanılarak farklı sıcaklık ve basınçlarda elde edilen retentat ve permeatlara ait krosin miktarlarının (mg/L) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

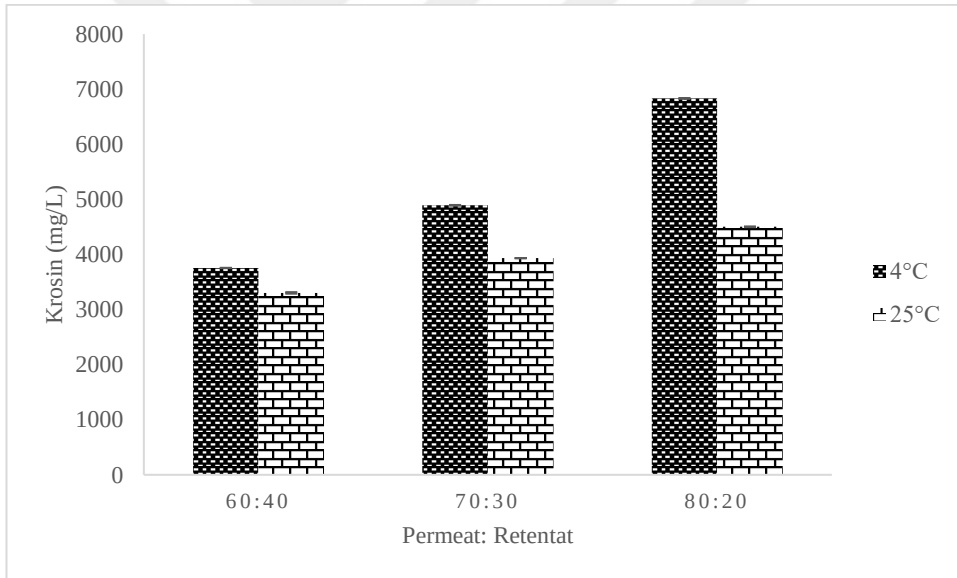
Retentat	Sıcaklık (°C)	25		4	
		3912.13 ^b ± 173.41		5159.7 ^a ± 406.92	
	Basınç (bar)	3		2	
		4417.36 ^b ± 296.51		4654.47 ^a ± 419.44	
Permeat	P:R	60:40		70:30	
		4230.29 ^c ± 220.32		4646.34 ^b ± 355	
				80:20	
				4731.11 ^a ± 657.92	
Permeat	Sıcaklık (°C)	4		25	
		119.55 ^a ± 6.61		121.59 ^a ± 4.81	
	Basınç (bar)	2		3	
		120.02 ^a ± 3.37		121.12 ^a ± 3.95	
Permeat	P:R	60:40		70:30	
		117.11 ^b ± 1.61		120.82 ^{ba} ± 5.05	
				80:20	
				123.82 ^a ± 5.69	



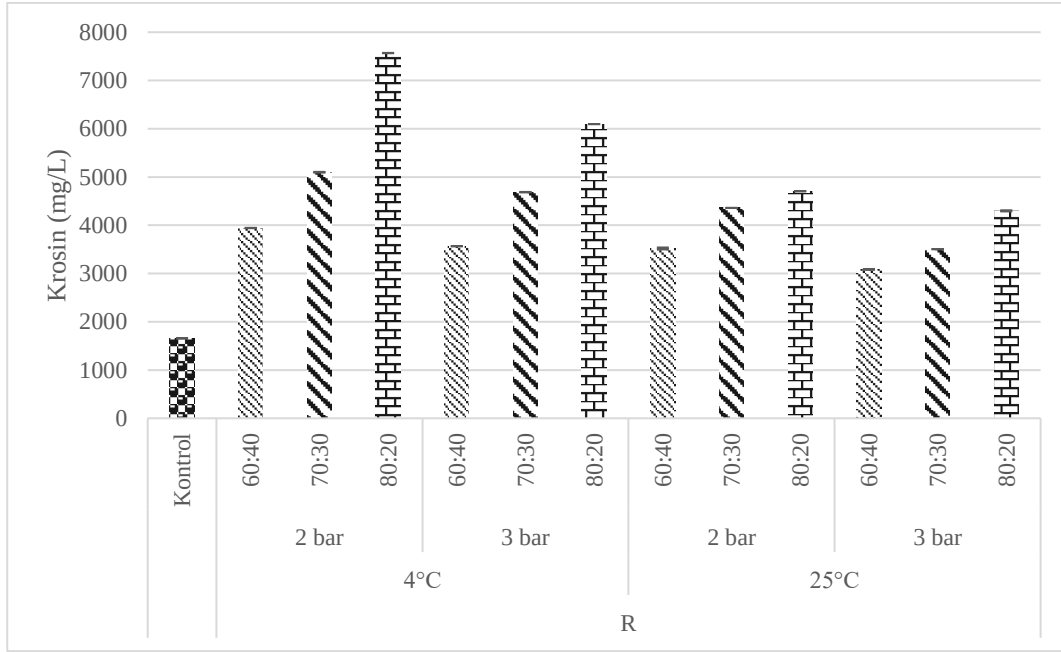
Şekil 4.25. Farklı sıcaklık ve basıncın, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi



Şekil 4.26. Farklı basınç ve P:R oranının, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi



Şekil 4.27. Farklı sıcaklık ve P:R oranının, retentatların krosin miktarları (mg/L) üzerine etkisi



Şekil 4.28. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranı kullanılarak elde edilen retentatların krosin miktarları (mg/L) (R:retentat)

Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranı kullanılarak elde edilen retentatların krosin miktarları (mg/L) Şekil 4.28’de gösterilmiştir. 4°C sıcaklık ve 2 bar basınçta elde edilen 80:20 besleme oranına sahip retentatın en yüksek krosin değerine sahip olduğu açıkça görülmektedir. Beslenen ekstrakttaki (E-2) krosinin ne kadarının permeat olarak filtreden geçtiği, ne kadarının ise filtrede tutularak retentatta kaldığı Çizelge 4.28’de gösterilmiştir. Permeat ve retentatlardaki krosin miktarlarının toplamının, beslenen ekstraktın krosin içeriğinden düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin krosinin sıcaklık artışına ve bunun yanı sıra uygulama süresine bağlı olarak kayba uğraması olduğu düşünülmektedir. Diğer bir deyişle 25°C’de UF uygulanan örneklerde uygulama süresinin de artmasına bağlı olarak krosin degradasyonu da artmaktadır.

Çizelge 4.27. UF koşullarına bağlı olarak retentat ve permeatlardaki krosin miktarının (mg/L) değişimi

		Retentat Krosin miktarı	Permeat Krosin miktarı	Toplam Krosin miktarı	Beslenen ekstrakt (E-2) Krosin miktarı
4°C	2 bar	60:40	158 mg/ 40 mL	7 mg/ 60 mL	165 mg/ 100mL
		70:30	153 mg/ 30 mL	8 mg/ 70 mL	161 mg/ 100mL
		80:20	151 mg/ 20 mL	9 mg/ 80 mL	160 mg/ 100mL
	3 bar	60:40	143 mg/ 40 mL	8 mg/ 60 mL	151 mg/ 100mL
		70:30	141 mg/ 30 mL	8 mg/ 70 mL	149 mg/ 100mL
		80:20	122 mg/ 20 mL	9 mg/ 80 mL	131 mg/ 100mL
25°C	2 bar	60:40	141 mg/ 40 mL	7 mg/ 60 mL	148 mg/ 100mL
		70:30	131 mg/ 30 mL	8 mg/ 70 mL	139 mg/ 100mL
		80:20	94 mg/ 20 mL	8 mg/ 80 mL	112 mg/ 100mL
	3 bar	60:40	123 mg/ 40 mL	9 mg/ 60 mL	132 mg/ 100mL
		70:30	105 mg/ 30 mL	10 mg/ 70 mL	115 mg/ 100mL
		80:20	86 mg/ 20 mL	9 mg/ 80 mL	95 mg/ 100mL

166 mg/100 mL

Sanchez (2008) tarafından yapılan bir çalışmada santrifüj filtrasyon işleminin sulu safran ekstraktlarının kompozisyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtrenin, neredeyse pikrokrosince tamamen arındırılmıştır krosince zengin safran konsantrati elde etmek için en uygun filtre materyali olduğu belirtilmiştir. Santrifüj filtrasyonda ekstraktın filtreden geçmesi için gerekli basınç santrifüj kuvvetiyle sağlandığı için uygun santrifüj süresine sabit filtrat hacmine ulaşılan nokta olarak karar verilmiştir. Santrifüj filtrasyon işlemi 20°C’de gerçekleştirilmiş olup sıcaklığın etkisi incelenmemiştir.

Çalışmamızda UF işlemi için optimum olarak seçilen koşullar; 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtre, 4°C sıcaklık, 2 bar basınç ve 80:20 besleme oranıdır. Bu verilere göre elde edilen sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.4.3.3. UF verimi

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerleri Çizelge 4.28’de verilmiştir. Bu çizelgeye göre degrade olan ve/veya membranda adsorblanan krosetin esterleri kayıp olarak kabul edilmiştir. Elde edilen verilere göre, 4°C’de üretilen örneklerin kayıp oranı, 25°C’de üretilenlere göre daha düşük iken 3 bar basınç altında üretilen örneklerin kayıp oranı, 2 bar basınç altında üretilenlerinkine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle 4°C ve 2 bar basınç altında üretilen örneklerde krosince zengin retentatlar elde edilebilmektedir.

Çizelge 4.28. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerleri

Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	P:R	% Geri kazanım			% Kayıp		
4	2	60:40	99.54	±	0.21	0.46	±	0.21
		70:30	97.27	±	0.33	2.73	±	0.33
		80:20	96.20	±	0.10	3.80	±	0.10
	3	60:40	90.86	±	0.08	9.14	±	0.08
		70:30	89.99	±	0.19	10.01	±	0.19
		80:20	79.15	±	0.00	20.85	±	0.00
25	2	60:40	89.33	±	0.48	10.67	±	0.48
		70:30	83.71	±	0.10	16.29	±	0.10
		80:20	61.92	±	0.04	38.08	±	0.04
	3	60:40	79.72	±	0.16	20.28	±	0.16
		70:30	69.38	±	0.45	30.62	±	0.45
		80:20	57.08	±	0.42	42.92	±	0.42

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.29'da verilmiştir. Buna göre, tüm varyans kaynaklarının ve bunların interaksyonlarının (% geri kazanım için basınç x besleme oranı interaksyonu hariç) % geri kazanım ve % kayıp üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.29. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerine ait varyans analiz sonuçları

	VK	SD	KO	F
% Geri kazanım	Sıcaklık (A)	1	2290.28	36888.00**
	Basınç (B)	1	807.01	12998.00**
	P:R (C)	2	655.19	10552.70**
	A x B	1	10.10	162.69**
	B x C	2	0.21	3.44
	A x C	2	120.26	1936.95**
	A x B x C	2	54.46	877.16**
	Hata	12	0.06	
% Kayıp	Sıcaklık (A)	1	2085.63	14704.40**
	Basınç (B)	1	636.64	4488.54**
	P:R (C)	2	559.90	3947.49**
	A x B	1	2.96	20.88**
	B x C	2	1.99	14.01**
	A x C	2	156.76	1105.21**
	A x B x C	2	48.42	341.39**
	Hata	12	0.14	

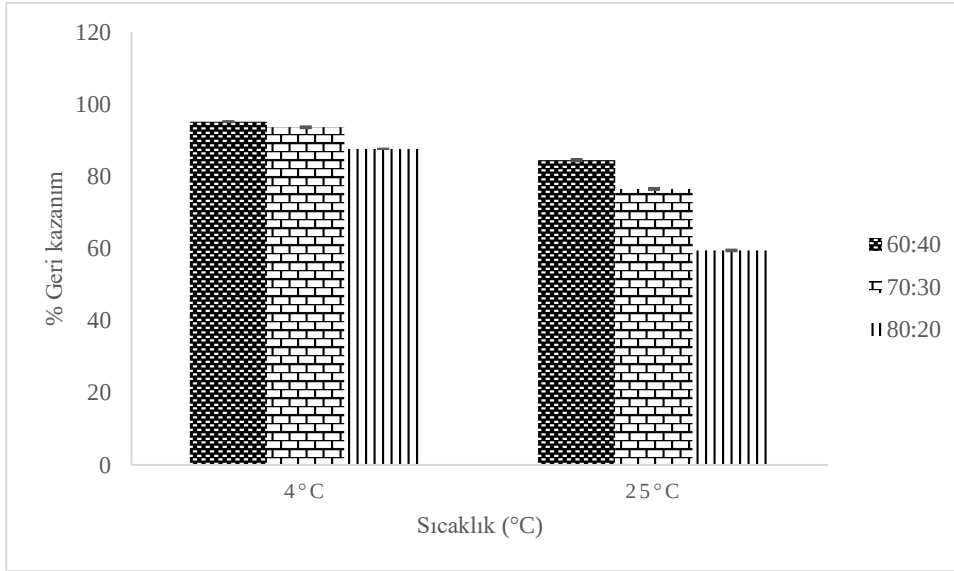
(**) $P<0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.30'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, en düşük geri kazanım (%68.43) 80:20 besleme oranında elde edilirken, en yüksek geri kazanım (%87.97) 4°C'de elde edilmiştir. Ayrıca, en düşük kayıp (%7.83) 4°C'de, en yüksek kayıp ise (%26.48) 4°C'de görülmektedir.

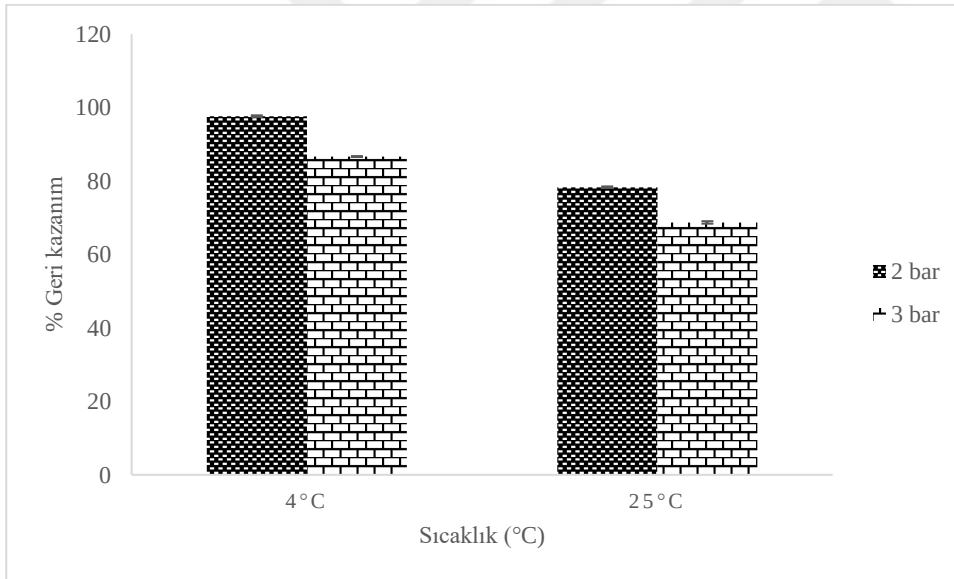
Çizelge 4.30. Ayırma sınırı 1 kDa olan PESU filtre kullanımında farklı sıcaklık, basınç ve besleme oranına bağlı olarak % geri kazanım ve % kayıp değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

% geri kazanım	Sıcaklık (°C)	25		4	
		68.44 ^b	± 12.47	87.97 ^a	± 8.36
	Basınç (bar)	3		2	
		72.41 ^b	± 12.43	84.00 ^a	± 14.34
% kayıp	P:R	80:20		70:3	
		68.43 ^c	± 16.58	79.91 ^b	± 11.34
	Sıcaklık (°C)	4		25	
		7.83 ^b	± 7.04	26.48 ^a	± 12.17
% kayıp	Basınç (bar)	2		3	
		12.01 ^b	± 13.4	22.31 ^a	± 12.25
	P:R	60:40		70:30	
		10.14 ^c	± 7.53	14.91 ^b	± 10.98
% kayıp	P:R	80:20		60:4	
		86.28 ^a	± 9.51	26.41 ^a	± 16.48

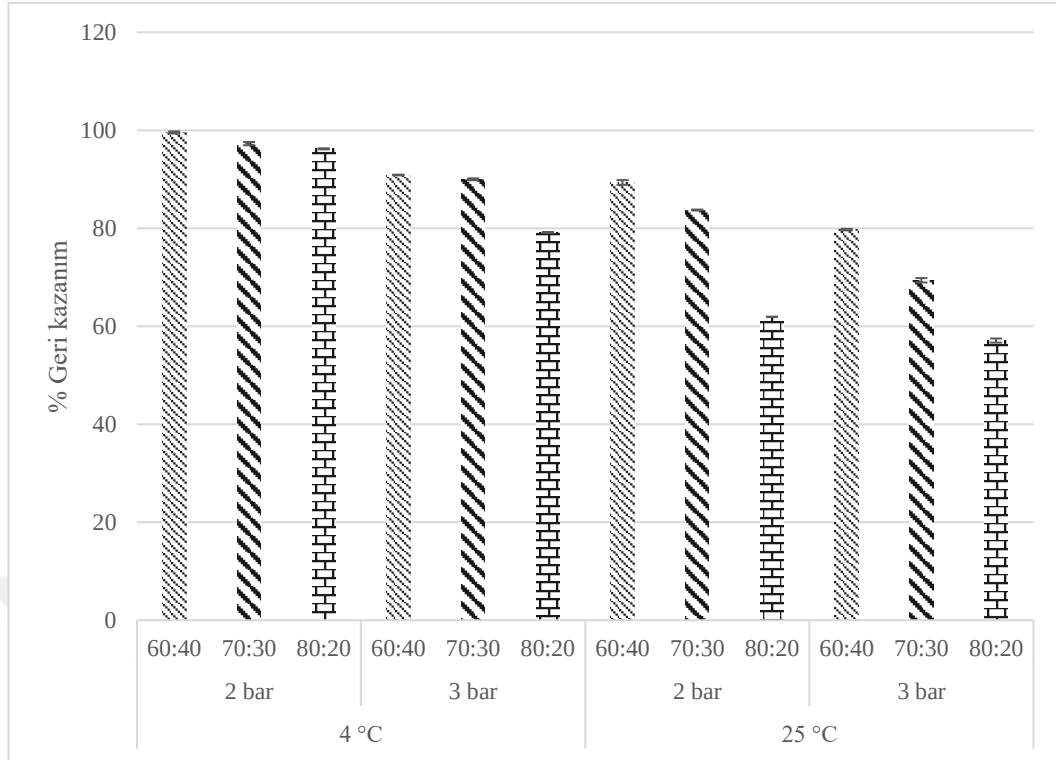
Tsimidou ve Tsatsaroni (1993) tarafından yapılan bir safran pigmentlerinin farklı pH, ışık, sıcaklık ve oksijen ortamında davranışları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, safranda bulunan renk bileşenlerin oksijen ortamında stabilitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Yapılan birçok literatür taramaları sonucunda safran ekstraksiyon işlemlerinin kapalı, azot, karbondioksit vb. gazı eşliğinde yapılması, araştırmacılar tarafından önerilmektedir. Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35 incelendiğinde, 25°C'de üretilen örneklerde kaybın 4°C'de üretilen örneklerle göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca, genel olarak 60:40 besleme oranında 80:20 oranına göre geri kazanım oranının yüksek ve kayıp oranının düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.29, 4.31, 4.32, 4.34 ve 4.35). Bunun yanı sıra 3 bar altındaki işlemde geri kazanımın düşük, kaybın ise yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.30, 4.31, 4.33, 4.34 ve 4.35). Bunun nedenin 3 bar basınç uygulamasıyla filtre materyalinde adsorblanan bileşiklerin artması olduğu düşünülmektedir. Nitekim 3 bar basınçla çalışılan filtrelerin temizleme prosedürü de bu sebepten dolayı uzun ve zahmetli olmaktadır. Basıncın 2 bar olduğu koşulda 80:20 besleme oranına sahip örneklerin üretimi yaklaşık 8 saatte gerçekleşirken, 60:40 besleme oranına sahip örneklerde bu işlem yaklaşık 3 saat sürmektedir. Diğer bir deyişle 80:20 besleme oranında örnekler daha uzun süre ortam koşullarına maruz kaldığı için kaybın daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun UF işleminin doğası gereği üretim esnasında örneklerin; ışık, sıcaklık ve oksijene maruz kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



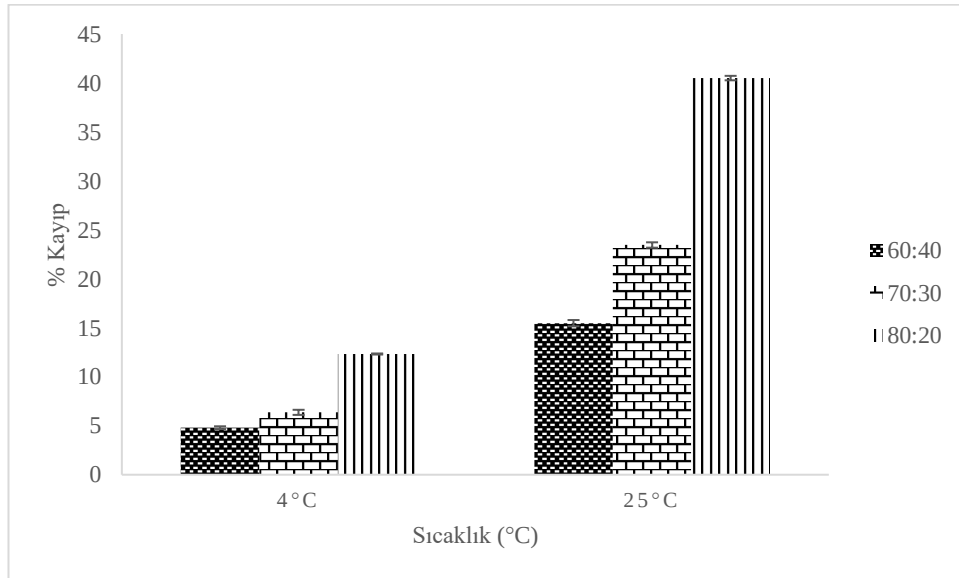
Şekil 4.29. Sıcaklık ve P:R oranının, % geri kazanım üzerine etkisi



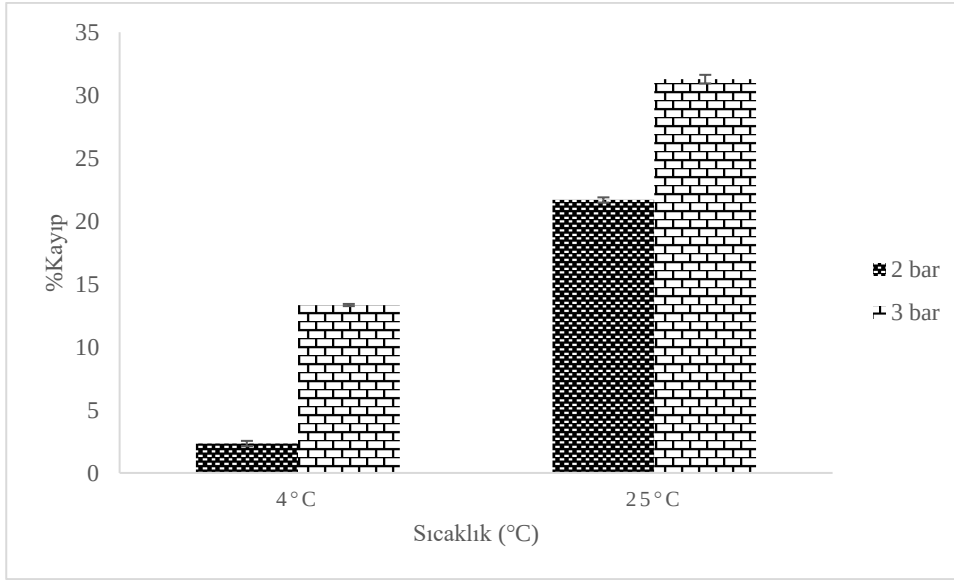
Şekil 4.30. Sıcaklık ve basıncın, % geri kazanım üzerine etkisi



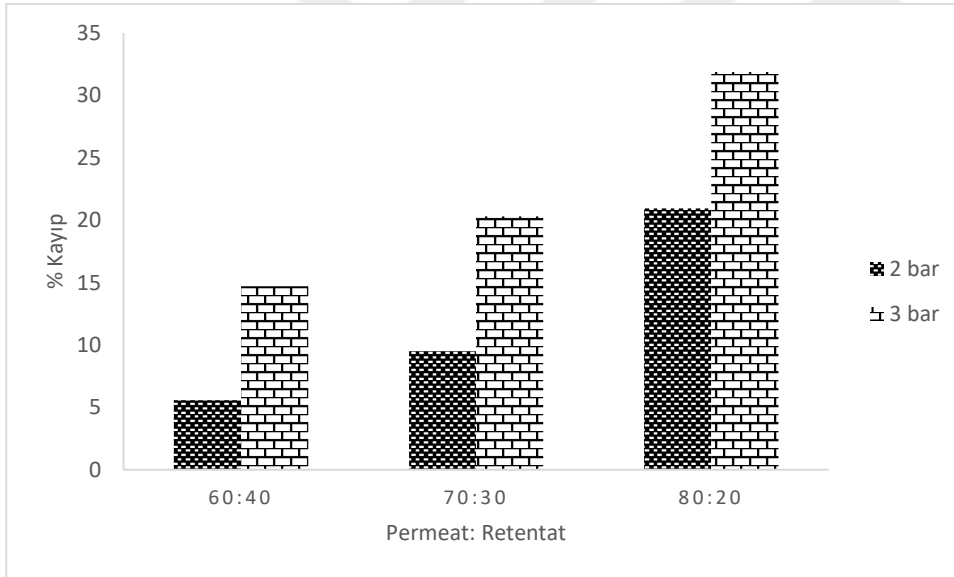
Şekil 4.31. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranının % geri kazanım üzerine etkisi



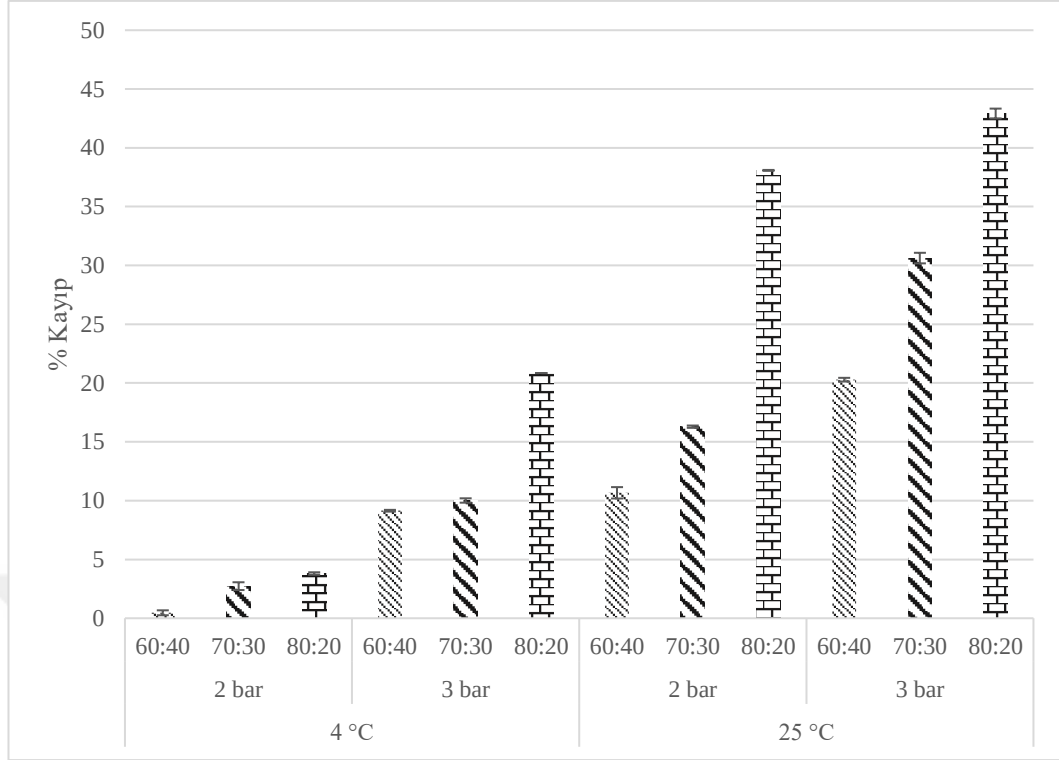
Şekil 4.32. Sıcaklık ve P:R oranının, % kayıp üzerine etkisi



Şekil 4.33. Sıcaklık ve basıncın, % kayıp üzerine etkisi



Şekil 4.34. Basınc ve P:R oranının, % kayıp üzerine etkisi



Şekil 4.35. Farklı sıcaklık, basınç ve P:R oranının % kayıp üzerine etkisi

Santrifüjlü ultrafiltrasyonun safran ekstraktının bileşimi üzerine etkisi Sánchez vd. (2008) tarafından incelenmiştir. Uygulamalar 20°C’de gerçekleştirilmiş ve 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtrede kayıp %21.1 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtrede kayıp %26.48 olarak hesaplanmıştır. Bu farkın sıcaklıktaki artıştan kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

4.5. Tek katmanlı (S/Y) emülsiyon formülü optimizasyonu

Tek katmanlı S/Y emülsiyonlarının içeriği D-optimal birleşik dizayn kullanılarak belirlenmiştir. Deneme deseninin bağımsız değişkenlerini; Yağ, PGPR ve Safran ekstraktı oranı oluşturmaktadır. Bu oranlar, toplamı %100 olacak şekilde literatürde belirtilen değerler göz önünde bulundurularak seçilmiştir (Esfanjani vd. 2015; Esfanjani vd. 2017; Lutz vd. 2009b; Mehrnia vd. 2016; Mohammadi vd. 2016a). Buna göre hazırlanan karışımdaki yağ oranı %60-80, PGPR oranı % 0.5-10 ve ekstrakt oranı %12.20- 39.49 arasında değişmektedir. Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlarda parçacık boyutu ve renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Cevap olarak; en küçük parçacık boyutu (D_{43} , D_{32} , Açıklık); en düşük L^* , b^* , h° değerleri, en yüksek a^* ve C^* değerleri seçilmiştir (Çizelge 4.31).

Optimizasyon çalışmalarında bağımlı değişkenler ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel model; özel kübik, kübik ve quadratik regresyon analizleri yapılarak oluşturulmuştur. Elde edilen verilerin, model uyumsuzluğu (Lack of fit) değeri, saf hata, varyasyon katsayısı (CV), tahmini hataların karelerinin toplamı (PRESS), regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı (R^2_{dzt}), tahmini belirleme katsayısı ($Pred-R^2$) ve yeterli kesinlik parametreleri analiz edilmiştir. Her bir değişkenin yanıtlar üzerindeki istatistiki önemi %95 güven aralığında Fischer (F-testi) testi uygulanarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak önemli olmayan ($P>0.05$) etkiler modelden çıkarılmıştır (Koç 2015; Myers vd. 2016).

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı, düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı hesaplanarak belirlenmektedir. Regresyon katsayısı, deneysel verilerde yer alan ve model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmaktadır (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda, modellerin tümünde varyasyonun büyük bir kısmı (R^2 0.86-0.99) modeller tarafından açıklanmaktadır.

Bir modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimlerin istatistiksel olarak önemsiz olmasına rağmen R^2 ’nin artırılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, düzeltilmiş regresyon katsayısı değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir. R^2 ve R^2_{dzt} değerlerinin arasındaki farkın 0.2’den küçük olması istenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda R^2 ve R^2_{dzt} değerlerinin arasındaki fark 0.01-0.1 arasında değişmektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsü olup, büyük varyasyon katsayısı değeri, verilerin ortalamadan çok fazla saptığı anlamına gelmektedir. Ayrıca küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalama ile aynı değerler olduğu anlamına gelmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda CV değerleri %0.24-4.75 aralığında değişmiştir.

Bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemlerde bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için Yeterli kesinlik ve PRESS istatistikleri kullanılmaktadır. Bu iki değer 4’ten büyük olması gerekmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda bu iki değer de tüm modellerde 4’ten büyüktür.

Çizelge 4.31. D-optimal birleşik dizayn kullanılarak hazırlanan deneme desenine ait deneysel sonuçlar

Den. No	Yağ (%)	PGPR (%)	Safran ekstraktı (%)	D ₄₃ (µm)	D ₃₂ (µm)	Açıklık	L*	a*	b*	h°	C*
1	71.005	10.000	18.995	137.64	136.00	1.26	96.71	-5.30	36.57	95.03	36.96
2	60.000	9.397	30.603	181.76	173.78	0.95	98.22	-5.13	37.95	94.84	38.29
3	77.790	10.000	12.210	175.95	164.49	1.02	96.14	-6.02	32.98	95.73	33.52
4	60.000	9.397	30.603	190.83	179.36	1.00	97.96	-5.13	37.98	94.84	38.32
5	80.000	5.697	14.303	171.16	173.70	0.95	95.89	-5.54	33.78	95.38	34.23
6	66.068	0.500	33.432	173.66	168.50	1.01	93.92	-4.63	51.43	94.03	51.64
7	75.524	7.701	16.774	153.99	142.66	1.12	96.20	-5.53	35.86	95.19	36.28
8	69.654	4.009	26.336	160.04	148.81	1.09	96.63	-4.95	42.64	94.50	42.93
9	74.576	3.569	21.855	162.22	155.06	1.09	96.30	-5.10	39.93	94.71	40.25
10	80.000	0.562	19.438	178.08	164.37	1.06	91.55	-6.06	42.97	94.95	43.40
11	60.000	0.502	39.498	171.71	158.16	1.04	95.69	-4.13	50.81	93.87	50.98
12	80.000	0.562	19.438	171.12	168.47	1.13	91.85	-6.05	42.33	94.99	42.76
13	77.790	10.000	12.210	182.16	177.90	1.04	95.96	-5.77	32.42	95.64	32.93
14	65.088	9.983	24.929	159.82	157.28	1.22	97.54	-4.35	36.99	94.52	37.24
15	80.000	5.697	14.303	187.45	183.96	1.07	95.43	-5.98	34.01	95.60	34.53
16	60.000	0.502	39.498	172.08	152.35	1.01	95.37	-4.27	51.32	93.91	51.49

Farklı içeriklere sahip safran emülsiyonlarının, 30°C’de 35 gün boyunca depolanması sonucunda parçacık boyutu analizi gerçekleştirilmiş ve Çizelge 4.32’de hacim ağırlıklı ortalama çap (D_{43}) değerlerine ait, varyans analizi sonuçları verilmiştir. Bu çizelgeye göre, hacim ağırlıklı ortalama çap (D_{43}) değerinin model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal gürültü oranı D_{43} değeri için 10.534 olarak belirlenmiş ve değerin 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve $R^2_{döl}$ değerleri sırasıyla 0.86 ve 0.76 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1’e yakın olması sonuç denklemlerinin, deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve $R^2_{döl}$ ile arasındaki farkın 0.2’den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda $R^2_{döl}$ ve $Pred-R^2$ farkının 0.2’den küçük olduğu Çizelge 4.32’de görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.32. Hacim ağırlıklı ortalama çap (D_{43}) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	D_{43}	
		KO	P-değeri
Model	6	2332.01	0.0020*
Lineer karışım	2	23.54	0.7617
AB	1	181.96	0.0670
AC	1	5.10	0.7354
BC	1	225.00	0.0458*
ABC	1	870.06	0.0014*
Kalıntı	9	377.48	
Model uyumsuzluğu	4	160.18	0.52
Saf Hata	5	217.30	
Toplam	15	2709.49	

Model	R^2	$R^2_{döl}$	$Pred-R^2$	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Özel kübik	0.86	0.76	0.57	3.80	1148.28	10.534

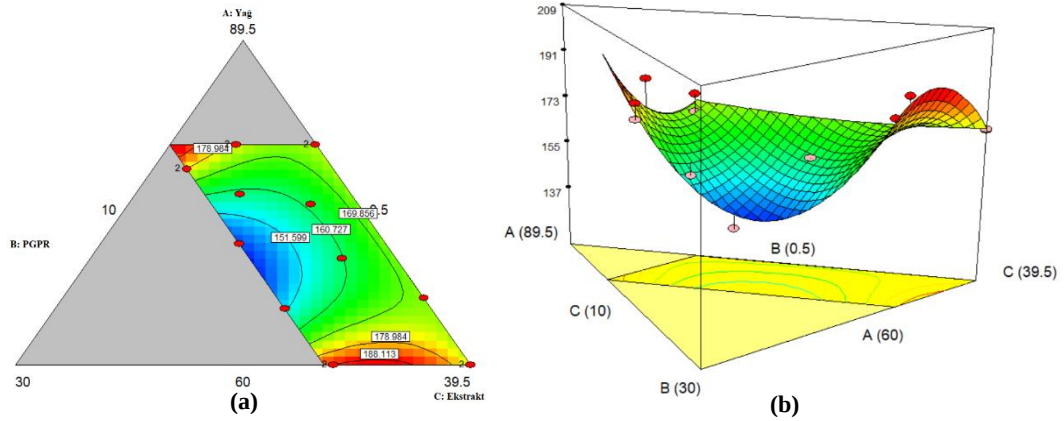
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, $R^2_{döl}$: Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde D_{43} değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar; özel kübik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.1’de verilmiştir ($P<0.01$). BC ve ABC interaksiyonlarının $P<0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur. AB ve AC interaksiyonlarının $P>0.05$ olması nedeni ile model denklemine dahil edilmemiştir.

$$D_{43} = + 425.97 * BC - 1331.24 * ABC \quad (4.1)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinin merkez noktası olan %71 yağ, %19 Ekstrakt ve %10 PGPR içeriğinin olduğu durumda hacim ağırlıklı ortalama çap (D_{43}) değeri, istenildiği gibi minimum olmaktadır (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların hacim ağırlıklı ortalama (D_{43}) değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Yağ miktarı arttıkça daha küçük damlacıklar oluşması nedeniyle emülsiyonun D_{43} değeri azalmaktadır. PGPR kullanılarak hazırlanan emülsiyonlarda enkapsülant (dış faz) miktarı arttıkça parçacık çapının azaldığı literatürde bildirilmektedir (Mehrnia 2016). Sürfektan miktarı arttıkça parçacık boyutunun küçüldüğü genel olarak bildirilse de, çalışmamızda sürfektan miktarı arttığında D_{43} değeri yani parçacık boyutu da artmaktadır. Bunun nedeninin fazla sürfektanın, yüksek viskoziteye sahip sıvı kristal bir faz oluşturmasından kaynaklandığı literatürde yer almaktadır (Mehrnia 2016).

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlarda parçacık boyutu analizi gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.33’te hacim-yüzey ortalama çap (D_{32}) değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Bu çizelgeye göre, D_{32} değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) anlaşılmaktadır. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal gürültü oranı, D_{32} değeri için 9.19 olarak belirlenmiş ve değerin 4’ün üzerinde olması nedeniyle model denkleminin yeterli olduğu görülmüştür. Önerilen model denkleminin R^2 ve $R^2_{döl}$ değerleri sırasıyla 0.93 ve 0.83 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1’e yakın olması sonuç denklemlerinin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğunu göstermektedir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmekte ve $R^2_{döl}$ ile farkının 0.2’den düşük olması istenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda bu değerin $R^2_{döl}$ ile farkı 0.78 olup bu değer 0.2 büyüktür. Bunun nedeninin D_{32} değerinin örneklerde küçük parçacıkların varlığına duyarlı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızdaki gibi nispeten büyük parçacık boyutuna sahip örneklerde D_{43} değeri daha duyarlıdır. Nitekim varyans kaynaklarının ve bunların interaksiyonlarının tamamının bu D_{32} değeri üzerine etkisi istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

AB, AC, BC, ABC, AB (A-B), AC (A-C) ve BC (B-C) interaksiyonlarının $P > 0.05$ olması nedeni ile model denklemi oluşturulamamıştır.

Çizelge 4.33. Hacim-yüzey ortalama çap (D_{32}) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

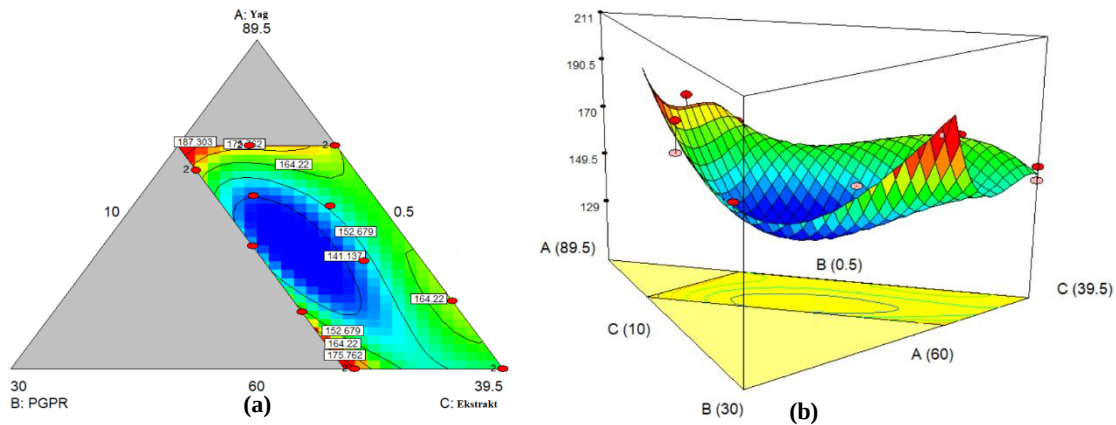
Kaynak	SD	D_{32}	
		KO	P-değeri
Model	9	2607.26	0.0073*
Lineer karışım	2	64.14	0.4223
AB	1	94.00	0.1379
AC	1	32.48	0.3534
BC	1	79.42	0.1669
ABC	1	65.52	0.2031
AB(A-B)	1	94.10	0.1378
AC(A-C)	1	88.24	0.1485
BC(B-C)	1	69.27	0.1923
Kalıntı	6	192.67	
Model uyumsuzluğu	1	9.27	0.6365
Saf Hata	5	183.40	
Toplam	15	2799.93	

Model	R^2	$R^2_{döl}$	Pred- R^2	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Kübik	0.93	0.83	0.05	3.48	2667.76	9.19

* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması, $R^2_{döl}$: Düzeltilmiş R^2

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinin merkez noktası olan %71 yağ, %21 Ekstrakt ve %7 PGPR içeriğinin olduğu durumda, Hacim-yüzey ortalama çap (D_{32}) değerinin istenildiği gibi minimum olduğu Şekil 4.37’de görülmektedir.



Şekil 4.37. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların hacim-yüzey ortalama (D_{32}) değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlarda parçacık boyutu analizi gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.34’te Açıklık değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Çizelge 4.34’e göre, Açıklık değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) gösterilmiştir. Model denkleminin yeterli

kesinliğinin göstergesi olan sinyal gürültü oranı açıklık değeri için 12.19 olarak belirlenmiş ve değerin 4'ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve $R^2_{döl}$ değerleri sırasıyla 0.90 ve 0.82 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1'e yakın olması sonuç denklemlerin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmekte ve $R^2_{döl}$ değerinden farkının 0.2'den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Elde ettiğimiz sonuçlarla, önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.34. Açıklık değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	Açıklık	
		KO	P-değeri
Model	6	0.010	0.0006*
Lineer karışım	2	6.029×10^{-3}	0.1546
AB	1	0.034	0.0007*
AC	1	4.54×10^{-4}	0.5693
BC	1	0.032	0.0008*
ABC	1	0.045	0.0002*
Kalıntı	9	0.012	
Model uyumsuzluğu	4	4.390×10^{-4}	0.99
Saf Hata	5	0.011	
Toplam	15	0.011	

Model	R^2	$R^2_{döl}$	$Pred-R^2$	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Özel kübik	0.90	0.82	0.69	3.38	0.035	12.19

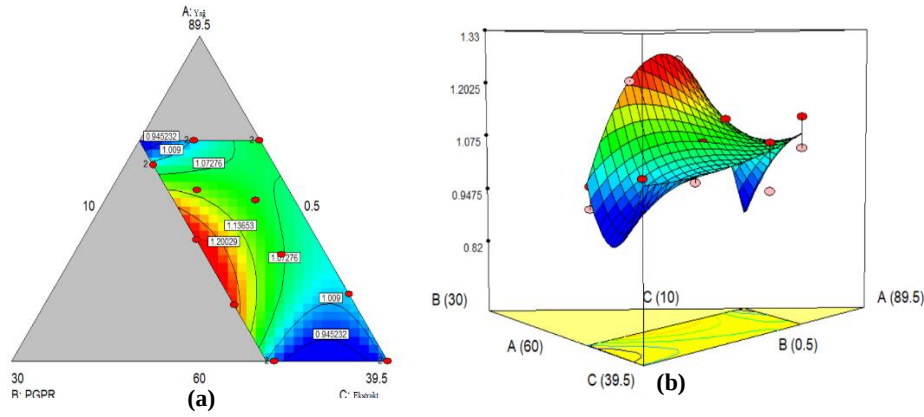
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması, $R^2_{döl}$: Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde Açıklık değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar özel kübik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.2'de verilmiştir ($P < 0.01$). AB, BC ve ABC interaksiyonlarının $P < 0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur. AC interaksiyonu $P > 0.05$ olması nedeni ile model denkleme dahil edilmemiştir.

$$\text{Açıklık} = - 6.18 * AB - 5.09 * BC + 9.56 * ABC \quad (4.2)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %60 yağ, %34 ekstrakt ve %6 PGPR içeriğinin olduğu durumda, açıklık değerinin istenildiği gibi minimum olduğu Şekil 4.38'de gösterilmiştir.



Şekil 4.38. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların açıklık değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlar model gıdaya (pilav) uygulanarak renk analizleri model gıdada gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.35’te L^* (parlaklık) değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Buna göre, L^* değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistikî açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) gösterilmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal gürültü oranı L^* değeri için 35.88 olarak belirlenmiş ve değerin 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve R^2_{djl} değerleri sırasıyla 0.99 ve 0.98 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1’e yakın olması sonuç denklemlerin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve R^2_{djl} değerinden farkının 0.2’den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Elde ettiğimiz sonuçlarla önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.35. Parlaklık (L^*) değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	L^*	
		KO	P-değeri
Model	9	52.68	< 0.0001*
Lineer karışım	2	41.87	< 0.0001*
AB	1	0.61	0.0135*
AC	1	0.07	0.2841
BC	1	0.65	0.0117*
ABC	1	0.88	0.0060*
AB(A-B)	1	0.78	0.0079*
AC(A-C)	1	0.16	0.1279
BC(B-C)	1	0.92	0.0054*
Kalıntı	6	0.31	
Model uyumsuzluğu	1	0.06	0.33
Saf Hata	5	0.25	
Toplam	15	52.98	

Model	R^2	$R^2_{d\tilde{z}l}$	Pred- R^2	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Kübik	0.99	0.98	0.75	0.24	13.08	35.88

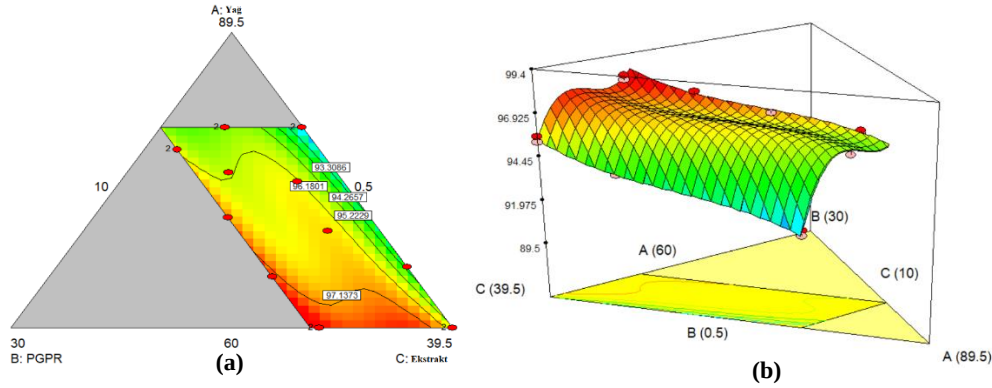
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması, $R^2_{d\tilde{z}l}$: Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde L^* değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar kübik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.4'te verilmiştir ($P < 0.01$). AB, BC ve ABC interaksiyonlarının $P < 0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur. AC interaksiyonunun önem seviyesi $P > 0.05$ olması nedeni ile model denkleme dahil edilmemiştir.

$$L^* = -460.39 \cdot AB - 459.92 \cdot BC + 504.44 \cdot ABC + 289.09 \cdot AB(A-B) - 242 \cdot BC(B-C) \quad (4.4)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %78.5 yağ, %21 ekstrakt ve %0.5 PGPR içeriğinin olduğu durumda, pilavın L^* değerinin istenildiği gibi minimum olduğu Şekil 4.39'da görülmektedir.



Şekil 4.39. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların L^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

PGPR oranı azaldıkça pilav örneklerinin L^* değeri azalmaktadır. Bu durum; PGPR oranının artmasıyla, kristal yapısından dolayı ışığın daha fazla dağılmasına ve parlaklığın artmasına neden olmasından kaynaklanmaktadır (Mehrnia 2016).

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C 'de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlar model gıdaya (pilav) uygulanarak renk analizleri model gıdada gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.36'da a^* (kırmızılık) değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Buna göre, a^* değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) gösterilmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal/gürültü oranı a^* değeri için 11.04 olarak belirlenmiş ve değerin 4'ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve $R^2_{\text{döl}}$ değerleri sırasıyla 0.91 ve 0.85 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1'e yakın olması sonuç denklemlerin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $\text{Pred-}R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve $R^2_{\text{döl}}$ değerinden farkının 0.2'den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Elde ettiğimiz sonuçlarla önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.36. a* Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	a*	
		KO	P-değeri
Model	6	5.84	0.0003*
Lineer karışım	2	4.86	< 0.0001*
AB	1	4.400*10 ⁻³	0.7961
AC	1	1.192*10 ⁻⁴	0.9660
BC	1	1.056*10 ⁻⁴	0.9680
ABC	1	0.24	0.0826
Kalıntı	9	0.56	
Model uyumsuzluğu	4	0.42	0.09
Saf Hata	5	0.14	
Toplam	15	6.40	

Model	R ²	R ² _{dzl}	Pred-R ²	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Özel kübik	0.91	0.85	0.72	4.75	1.79	11.04

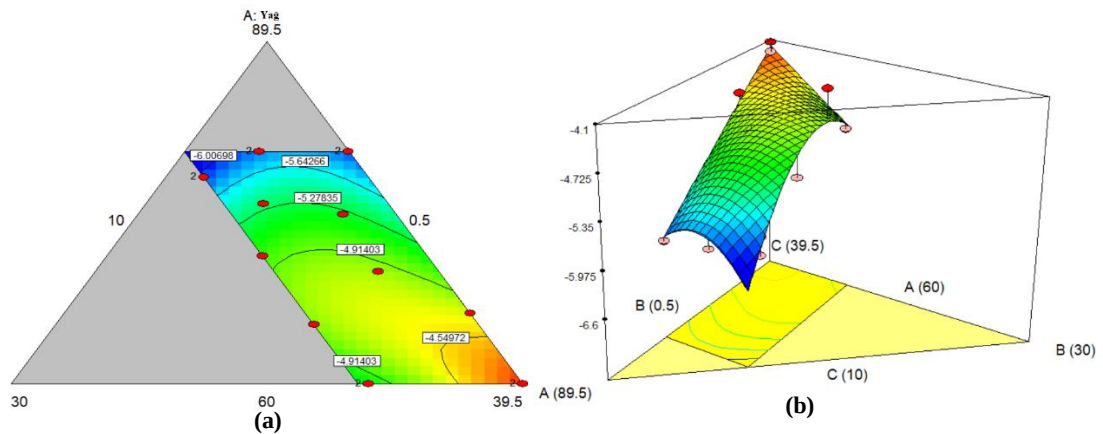
* P < 0.05 seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması, R²_{dzl}: Düzeltilmiş R²

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde a* değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar özel kübik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.5'te verilmiştir (P<0.01).

$$a^* = -6.91 * A - 6.82 * B - 4.19 * C \quad (4.5)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %60 yağ, %39.5 ekstrakt ve %0.5 PGPR içeriğinin olduğu durumda, pilavın a* değerinin istenildiği gibi maximum olduğu Şekil 4.40'ta görülmektedir.



Şekil 4.40. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların a* değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Ekstrakt oranı arttıkça pilavların a^* değerinin arttığı Şekil 4.40'ta görülmektedir. a^* değerindeki artış kırmızılaşmayı ifade ettiği için yüksek oranda safran ekstraktı içeren emülsiyonlarla hazırlanan pilavlarda bu değer yüksektir.

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C'de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlar model gıdaya (pilav) uygulanarak renk analizleri model gıdada gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.37'de b^* (sarılık) değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Buna göre, b^* değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) görülmektedir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal gürültü oranı b^* değeri için 56.64 olarak belirlenmiş ve değerin 4'ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve R^2_{dzt} değerleri 0.99 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1'e yakın olması sonuç denklemlerin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve R^2_{dzt} değerinden farkının 0.2'den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Elde ettiğimiz sonuçlarla önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.37. b^* Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	b*				
		KO	P-değeri			
Model	5	621.68	< 0.0001*			
Lineer karışım	2	590.74	< 0.0001*			
AB	1	6.70	0.0007*			
AC	1	13.64	< 0.0001*			
BC	1	15.28	< 0.0001*			
Kalıntı	10	2.84				
Model uyumsuzluğu	5	2.33	0.06			
Saf Hata	5	0.52				
Toplam	15	624.52				
Model	R ²	R ² _{dzl}	Pred-R ²	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik	0.99	0.99	0.98	1.33	6.54	56.64

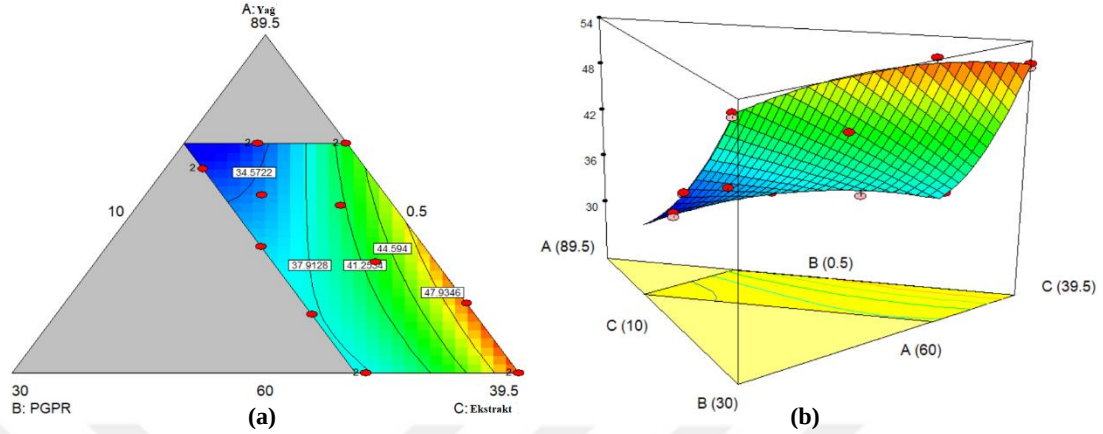
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, R^2_{dzt} : Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde b^* değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar kuadratik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.7'da verilmiştir ($P < 0.01$). AB, AC ve BC interaksiyonlarının $P < 0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur.

$$b^* = +31.91 * A + 75.82 * B + 51.28 * C - 68.43 * AB + 21.23 * AC - 99.42 * BC \quad (4.7)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %60 yağ, %39.5 ekstrakt ve %0.5 PGPR içeriğinin olduğu durumda, pilavın b^* değerinin istenildiği gibi maximum olduğu Şekil 4.41’de görülmektedir.



Şekil 4.41. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların b^* değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Ekstrakt oranı arttıkça pilavların b^* değerinin arttığı Şekil 4.41’de görülmektedir. b^* değerindeki artış sarılaşmayı ifade ettiği için yüksek oranda safran ekstraktı içeren emülsiyonlarla hazırlanan pilavlarda bu değer yüksektir.

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlar model gıdaya (pilav) uygulanarak renk analizleri model gıdada gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.38’de h^* değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Buna göre, h^* değerinin model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$) gösterilmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal/gürültü oranı h^* değeri için 29.81 olarak belirlenmiş ve değerin 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve R^2_{dzt} değerleri sırasıyla 0.98 ve 0.97 olarak tespit edilmiştir. $Pred-R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve R^2_{dzt} ile arasındaki farkın 0.2’den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda R^2_{dzt} ve $Pred-R^2$ farkının 0.2’den küçük olduğu Çizelge 4.32’de görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.38. h° Değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	h°	
		KO	P-değeri
Model	6	5.10	< 0.0001*
Lineer karışım	2	4.68	< 0.0001*
AB	1	0.02	0.1758
AC	1	0.04	0.0656
BC	1	0.04	0.0676
ABC	1	0.07	0.0194*
Kalıntı	9	0.08	
Model uyumsuzluğu	4	0.05	0.24
Saf Hata	5	0.03	
Toplam	15	5.18	

Model	R^2	$R^2_{döl}$	Pred- R^2	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Özel kübik	0.98	0.97	0.95	1.00	0.24	29.81

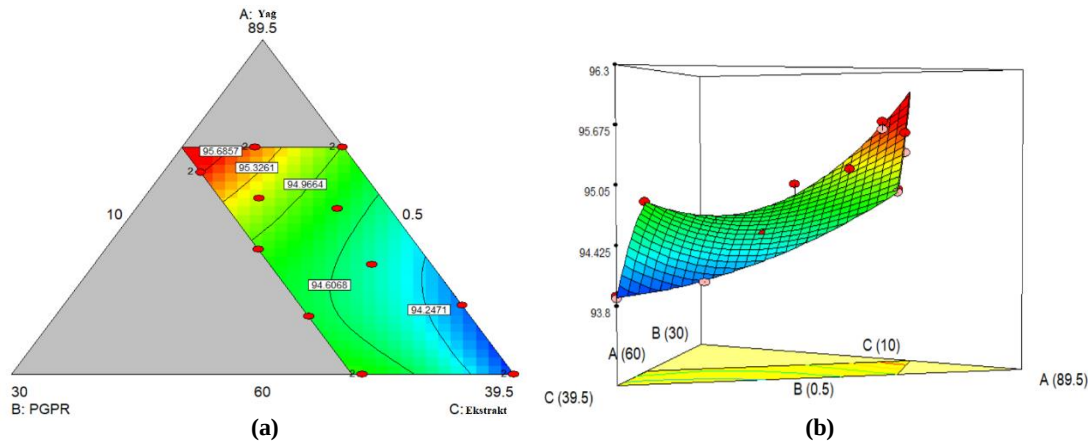
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: karelere ortalaması, $R^2_{döl}$: Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde h° değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar özel kübik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.8'de verilmiştir ($P < 0.01$). ABC etkisinin $P < 0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur.

$$h^\circ = +96.00 * A + 93.17 * B + 93.89 * C - 11.78 * ABC \quad (4.8)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %60 yağ, %39.5 ekstrakt ve %0.5 PGPR içeriğinin olduğu durumda, pilavın h° değerinin istenildiği gibi minimum olduğu Şekil 4.42'de görülmektedir.



Şekil 4.42. Farklı içeriklere sahip tek katmanlı safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların h° değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Ekstrakt oranı arttıkça pilavların h° değerinin azaldığı Şekil 4.42'de görülmektedir. Ton açısı değerlerinin değişimine bağlı olarak renk tonları diyagramında

(Bakınız sayfa 35, Şekil 3.2) bağlı h° değeri tam 90° iken sarı rengi ifade etmektedir. Ekstrakt oranının en yüksek olduğu ve en düşük h° 'nın elde edildiği noktada bu değer 93.8° 'e kadar düşmüştür.

Deneme planına göre hazırlanan safran emülsiyonları 30°C 'de 35 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan emülsiyonlar model gıdaya (pilav) uygulanarak renk analizleri model gıdada gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.44'te C^* değerlerine ait, ANOVA sonuçları verilmiştir. Buna göre, C^* değerinin model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun istatistiki açıdan önemli olmadığı ($P>0.05$) gösterilmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğinin göstergesi olan sinyal/gürültü oranı C^* değeri için 53.41 olarak belirlenmiş ve değerin 4'ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermektedir. Önerilen model denkleminin R^2 ve $R^2_{\text{döl}}$ değerleri 0.99 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1'e yakın olması sonuç denklemlerin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamına gelmektedir. $\text{Pred-}R^2$, bağımsız değişken değerleri için model denkleminin bağımlı değişken değerlerini çeşitlendirebilme yeteneğini ifade etmektedir ve $R^2_{\text{döl}}$ ile arasındaki farkın 0.2'den küçük olması beklenmektedir (Koç 2015; Myers vd. 2016). Çalışmamızda $R^2_{\text{döl}}$ ve $\text{Pred-}R^2$ farkının 0.2'den küçük olduğu Çizelge 4.39'da görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, önerilen model denklemlerinin başarı düzeyinin oldukça iyi olduğu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.39. C^* değeri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	SD	C^*	
		KO	P-değeri
Model	5	602.39	< 0.0001*
Lineer karışım	2	572.34	< 0.0001*
AB	1	6.90	0.0008*
AC	1	12.68	< 0.0001*
BC	1	15.35	< 0.0001*
Kalıntı	10	3.09	
Model uyumsuzluğu	5	2.53	0.06
Saf Hata	5	0.56	
Toplam	15	605.47	

Model	R^2	$R^2_{\text{döl}}$	$\text{Pred-}R^2$	% CV	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik	0.99	0.99	0.98	1.38	7.1	53.41

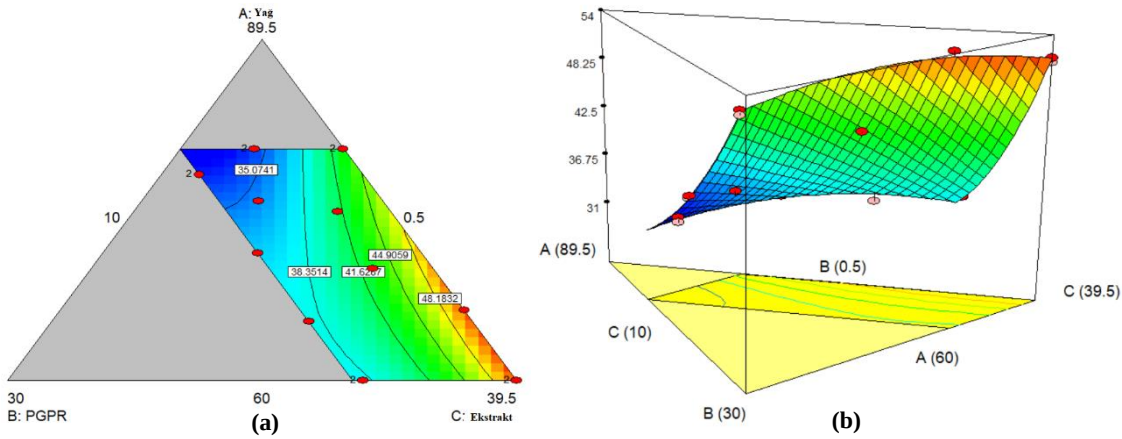
* $P < 0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A: Yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt, SD: Serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması, $R^2_{\text{döl}}$: Düzeltilmiş R^2

İstatistiki açıdan önemli olan parametreler değerlendirildiğinde C^* değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen sonuçlar Kuadratik model kullanılarak, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.9'da verilmiştir ($P<0.01$). AB, AC ve BC interaksiyonlarının $P<0.05$ seviyede önemli olduğu bulunmuştur.

$$C^* = +32.70 \cdot A + 76.62 \cdot B + 51.46 \cdot C - 69.43 \cdot AB + 20.47 \cdot AC - 99.66 \cdot BC \quad (4.9)$$

Karışım formülüne ait 3 boyutlu yüzey grafiğinde %60 yağ, %39.5 ekstrakt ve %0.5 PGPR içeriğinin olduğu durumda, pilavın C^* değerinin istenildiği gibi maksimum olduğu şekil 4.43'te görülmektedir.



Şekil 4.43. Farklı içeriklere sahip, tek katmanlı, safran emülsiyonları kullanılarak hazırlanan pilavların, C* değerlerine ait optimizasyon grafikleri **a)** Kontur grafiği (A: yağ, B: PGPR, C: Ekstrakt) ve **b)** 3 boyutlu yüzey grafiği

Ekstrakt oranı arttıkça pilavların C* değerinin azaldığı Şekil 4.43'te görülmektedir. C* değeri rengin yoğunluğunu ifade etmektedir. Ekstrakt oranının en yüksek olduğu ve en yüksek C* değerinin elde edildiği noktada bu değer 51.45'e kadar yükselmiştir. Ekstrakt oranı yüksek olan emülsiyonlarla hazırlanan pilavların renk yoğunluklarının arttığı görülmektedir.

Safran emülsiyonları için formül optimizasyonu üzerine yapılan önceki araştırmalarda renk değerleri, emülsiyonlar model gıdalara uygulanarak analiz edilmemiştir. Ancak safran emülsiyonu için önemli olan emülsiyonun kendi renginden ziyade renk vereceği gıdadaki başarıdır. Bu husustan; renk değerlerinin emülsiyonlarda analiz edildiği önceki çalışmalarda da bahsedilmiş olup, rengin model gıdada analiz edilmesi önerilmiştir (Esfanjani 2017).

4.5.1. Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulaması

Optimizasyon çalışması sonucunda D-optimal birleşik dizayn tarafından önerilen modele ait tek katmanlı emülsiyon için optimum oranlar; %67 ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 K-1 ekstraktıdır. Bu formülasyona göre hazırlanan tek katmanlı emülsiyonun sonuç tahminlerinin deneysel olarak doğrulaması yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.40'ta verilmiştir. Optimum koşullarda hazırlanan tek katmanlı emülsiyonun D₄₃, D₃₂, Açıklık, L*, a*, b*, h° ve C* değerleri için deneysel sonuçlar, teorik sonuçlarla sırasıyla %94.47, 99.57, 97.95, 99.70, 96.39, 99.03, 97.16 ve 99.07 oranında benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.40. Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulamasına ait analiz sonuçları

	D ₄₃ (µm)	D ₃₂ (µm)	Açıklık	L*	a*	b*	h°	C*
Model tarafından tahmin edilen	158.07	138.65	1.10	96.60	-4.80	37.53	94.71	37.86
Gerçekleşen	167.32	139.25	1.12	96.89	-4.98	37.90	97.48	38.22
% Doğruluk	94.47	99.57	97.95	99.70	96.39	99.03	97.16	99.07
% Hata	5.53	0.43	1.79	0.30	3.61	0.98	2.83	0.94

4.6. Çoklu emülsiyon (S/Y/S) formülü optimizasyonu

Çok katmanlı emülsiyonların üretiminde ilk başta iç sulu fazı K-1 ekstraktı olan tek katmanlı emülsiyon kullanılmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar doğrultusunda, uygulanan UF işlemiyle konsantre edilen K-1'in çok katmanlı emülsiyon üretimi için yeterli miktarda renk verme gücünde olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle ve çalışmanın amacı göz önünde bulundurularak daha konsantre bir ekstrakt elde etmek için; Esfanjani vd. (2015)'e ait, safran oranı yüksek (6.67:1) bir ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Bunun için 500 µm gözenek çaplı elekten geçirilmiş 10 g öğütülmüş safran örneği 150 mL'lik amber renkli balon jojeye aktarılmıştır ve karışım oda sıcaklığında (~25°C) 1000 d/dk hızda çalışan manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda ekstrakt kaba filtre kâğıdından geçirilerek süzölmüş ve bir sonraki aşamaya kadar -80°C' de depolanarak muhafaza edilmiştir. Tez kapsamında bu şekilde elde edilen konsantre ekstrakt, "K-2" olarak adlandırılmıştır.

Çoklu emülsiyon sistemi kademeli olarak hazırlanmıştır. Öncelikle iç faz olarak, bir önceki basamakta optimize edilen S/Y emülsiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra literatür araştırmalarıyla seçilen 7 farklı formülle dış sulu fazlar hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). Bu emülsiyonların hazırlanma basamakları "Materyal ve Metot" bölümü içerisindeki "Çoklu emülsiyon (S/Y/S) formülü optimizasyonu" başlığı altında verilmiştir.

Emülsiyon sistemleri 2 tekerrürlü olarak üretilip 30°C sıcaklıktaki etüvde 35 gün boyunca depolanmış ve her 5 günde bir depolama analizleri (model gıdada renk analizi ve parçacık boyutu dağılımı) gerçekleştirilmiştir. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan pilavlara ait renk analizi sonuçları Çizelge 4.41 ve 4.42'de verilmiştir.

Çizelge 4.41 ve 4.42 incelendiğinde tüm safranlı pilav örnekleri için L^* ve h° değerleri depolama boyunca artmıştır. L^* değerindeki artış, safranlı pilavların renginin zamana bağlı olarak açıldığını gösterirken; h° değerindeki artış ise istenen renk olan sarıdan ($h^\circ=90^\circ$) uzaklaşarak yeşile doğru yaklaştığını ifade etmektedir. Yine aynı çizelgelere göre a^* , b^* ve C^* değerlerinde depolama boyunca azalma olduğu görülmektedir. Kırmızılığı ifade eden a^* ve sarılığı ifade eden b^* değerlerindeki azalma safranlı pilavların rengini veren bileşenlerin zamanla bozulduğunu göstermektedir. Mevcut rengin yoğunluğunu ifade eden C^* değerindeki azalma ise rengin zamanla azaldığını göstermektedir. Safranlı pilavların renklendirilmesinde kullanılan çoklu emülsiyonların kararlılığı ile ilgili en net bilgiyi L^* değerinden ziyade C^* değeri vermektedir. Çünkü beklenen özellik; pilavların renginin koyu değil, yoğun olmasıdır.

Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.43'te verilmiştir. Safranlı pilavların renk değerleri üzerine formülün ve depolama süresinin etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) bulunmuştur. Ayrıca bu varyans kaynaklarının interaksiyonlarının L^* ve h° açısı hariç diğer renk değerleri üzerine etkisi de istatistiki olarak yüksek düzeydedir ($P<0.01$).

Çizelge 4.41. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavlara ait L*, a* ve b* değerleri

		Depolama süresi (Gün)							
		0	5	10	15	20	25	30	35
L*	MD	87.15 ± 1.10	87.50 ± 0.41	87.93 ± 0.53	88.03 ± 0.54	88.27 ± 0.55	88.41 ± 1.04	90.43 ± 1.55	90.83 ± 1.57
	WPI	85.32 ± 1.76	85.81 ± 0.55	85.90 ± 0.56	87.45 ± 0.10	87.90 ± 0.25	88.09 ± 0.44	88.15 ± 0.06	88.39 ± 0.19
	BSD	81.93 ± 1.06	84.09 ± 0.06	84.18 ± 0.07	86.67 ± 0.32	86.69 ± 0.18	86.96 ± 0.02	87.09 ± 0.51	87.26 ± 0.85
	MD-WPI	84.77 ± 0.43	84.88 ± 0.41	85.35 ± 0.19	87.40 ± 1.32	87.81 ± 0.48	88.13 ± 0.04	88.18 ± 0.69	88.21 ± 0.41
	MD-BSD	83.19 ± 0.09	83.42 ± 0.28	85.08 ± 1.14	86.42 ± 0.27	86.63 ± 0.59	86.95 ± 0.03	87.58 ± 0.46	87.81 ± 0.38
	MD-WPI-BSD	85.14 ± 0.63	85.90 ± 0.52	86.13 ± 0.19	86.31 ± 0.22	86.62 ± 0.81	86.70 ± 1.01	87.94 ± 0.23	88.77 ± 0.45
	WPI-BSD	84.15 ± 0.02	86.34 ± 0.10	86.42 ± 0.45	86.50 ± 0.08	86.46 ± 0.43	87.00 ± 0.81	87.66 ± 0.20	87.86 ± 0.19
a*	MD	-5.06 ± 0.21	-5.49 ± 0.00	-5.65 ± 0.00	-6.55 ± 0.03	-6.63 ± 0.43	-7.18 ± 0.07	-7.29 ± 0.26	-7.56 ± 0.35
	WPI	-3.62 ± 0.13	-5.04 ± 0.17	-5.13 ± 0.02	-5.57 ± 0.12	-6.92 ± 0.07	-6.91 ± 0.27	-6.58 ± 0.36	-6.67 ± 0.17
	BSD	-4.04 ± 0.08	-4.19 ± 0.11	-5.06 ± 0.24	-5.54 ± 0.01	-5.88 ± 0.75	-6.14 ± 0.12	-6.56 ± 0.08	-6.55 ± 0.15
	MD-WPI	-4.71 ± 0.15	-4.86 ± 0.18	-5.20 ± 0.02	-5.21 ± 0.03	-6.24 ± 0.15	-6.27 ± 0.12	-6.64 ± 0.20	-7.05 ± 0.25
	MD-BSD	-3.78 ± 0.13	-3.83 ± 0.12	-4.99 ± 0.52	-5.60 ± 0.09	-6.75 ± 0.09	-6.80 ± 0.13	-6.94 ± 0.06	-6.90 ± 0.37
	MD-WPI-BSD	-4.49 ± 0.14	-4.52 ± 0.15	-4.62 ± 0.32	-5.35 ± 0.25	-5.35 ± 0.82	-5.55 ± 0.30	-5.66 ± 0.00	-6.41 ± 0.02
	WPI-BSD	-3.84 ± 0.28	-4.03 ± 0.35	-4.52 ± 0.36	-4.53 ± 0.13	-4.54 ± 0.01	-4.98 ± 0.16	-5.37 ± 0.64	-5.54 ± 0.30
b*	MD	38.14 ± 0.82	37.96 ± 0.82	28.38 ± 0.06	23.77 ± 1.10	23.15 ± 0.38	21.44 ± 0.68	18.81 ± 0.43	16.70 ± 1.22
	WPI	38.04 ± 0.35	36.96 ± 0.69	36.92 ± 0.40	36.83 ± 0.66	34.15 ± 0.67	33.65 ± 1.35	29.41 ± 0.49	28.89 ± 0.00
	BSD	38.15 ± 0.47	37.20 ± 0.07	36.83 ± 1.54	35.28 ± 0.07	35.07 ± 0.03	34.62 ± 1.07	33.70 ± 1.21	33.04 ± 1.32
	MD-WPI	38.48 ± 0.12	36.69 ± 0.17	36.31 ± 0.32	36.20 ± 0.23	33.26 ± 1.58	32.19 ± 1.72	28.91 ± 1.36	26.99 ± 1.13
	MD-BSD	34.45 ± 0.31	31.59 ± 0.45	31.46 ± 0.98	26.23 ± 0.00	20.93 ± 0.00	18.76 ± 1.31	17.41 ± 0.21	13.40 ± 0.84
	MD-WPI-BSD	39.41 ± 0.14	39.24 ± 0.16	38.14 ± 0.40	35.28 ± 0.25	34.43 ± 0.17	32.40 ± 0.11	30.13 ± 0.87	27.83 ± 0.14
	WPI-BSD	39.07 ± 0.14	38.96 ± 0.17	36.20 ± 1.77	35.99 ± 0.79	35.86 ± 0.62	35.68 ± 0.51	33.09 ± 0.15	32.07 ± 0.70

MD: maltodekstrin, WPI: peyniraltı suyu proteini izolatu, BSD: betasiklodekstrin

Çizelge 4.42. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavlara ait L*, h° ve C* değerleri

		Depolama süresi (Gün)															
		0		5		10		15		20		25		30		35	
L*	MD	87.15	± 1.10	87.5	± 0.41	87.93	± 0.53	88.03	± 0.54	88.27	± 0.55	88.41	± 1.04	90.43	± 1.55	90.83	± 1.57
	WPI	85.32	± 1.76	85.81	± 0.55	85.90	± 0.56	87.45	± 0.10	87.90	± 0.25	88.09	± 0.44	88.15	± 0.06	88.39	± 0.19
	BSD	81.93	± 1.06	84.09	± 0.06	84.18	± 0.07	86.67	± 0.32	86.69	± 0.18	86.96	± 0.02	87.09	± 0.51	87.26	± 0.85
	MD-WPI	84.77	± 0.43	84.88	± 0.41	85.35	± 0.19	87.4	± 1.32	87.81	± 0.48	88.13	± 0.04	88.18	± 0.69	88.21	± 0.41
	MD-BSD	83.19	± 0.09	83.42	± 0.28	85.08	± 1.14	86.42	± 0.27	86.63	± 0.59	86.95	± 0.03	87.58	± 0.46	87.81	± 0.38
	MD-WPI-BSD	85.14	± 0.63	85.90	± 0.52	86.13	± 0.19	86.31	± 0.22	86.62	± 0.81	86.70	± 1.01	87.94	± 0.23	88.77	± 0.45
	WPI-BSD	84.15	± 0.02	86.34	± 0.10	86.42	± 0.45	86.50	± 0.08	86.46	± 0.43	87.00	± 0.81	87.66	± 0.20	87.86	± 0.19
h°	MD	97.92	± 0.53	98.03	± 0.54	102.47	± 0.81	102.75	± 0.08	103.75	± 0.23	105.48	± 0.05	105.49	± 0.68	106.18	± 1.32
	WPI	97.77	± 0.44	97.84	± 0.45	99.40	± 0.16	99.78	± 0.14	101.48	± 0.31	102.36	± 0.07	103.73	± 0.09	105.01	± 1.28
	BSD	96.19	± 0.22	96.27	± 0.21	98.56	± 0.11	98.64	± 1.23	100.02	± 0.26	100.97	± 0.79	101.22	± 1.31	101.31	± 0.91
	MD-WPI	96.32	± 0.03	96.38	± 0.02	97.84	± 0.15	98.64	± 0.02	100.28	± 0.06	101.48	± 0.88	101.56	± 0.84	102.84	± 0.27
	MD-BSD	98.20	± 0.27	98.27	± 0.28	98.23	± 0.18	99.41	± 1.15	101.94	± 2.11	104.05	± 1.12	104.62	± 0.14	105.59	± 0.75
	MD-WPI-BSD	97.17	± 0.30	97.26	± 0.34	97.52	± 0.00	98.59	± 0.01	100.90	± 0.24	101.29	± 0.30	102.43	± 0.01	102.68	± 0.17
	WPI-BSD	97.27	± 0.27	97.37	± 0.28	98.51	± 0.49	98.80	± 0.01	100.80	± 0.42	100.85	± 0.40	101.25	± 0.66	101.99	± 1.07
C*	MD	38.41	± 0.77	38.34	± 0.77	29.08	± 0.06	24.05	± 0.00	23.84	± 0.36	22.88	± 0.00	19.04	± 0.00	16.06	± 0.00
	WPI	38.68	± 0.34	38.60	± 0.34	38.02	± 0.79	37.18	± 0.62	34.62	± 0.66	34.43	± 1.38	30.27	± 0.50	28.26	± 1.48
	BSD	38.81	± 0.46	38.75	± 0.45	37.62	± 0.08	35.33	± 0.98	35.29	± 0.04	35.30	± 0.98	33.84	± 1.84	33.43	± 1.23
	MD-WPI	40.81	± 0.65	40.69	± 0.70	36.79	± 0.25	36.55	± 0.34	33.64	± 1.59	32.86	± 1.65	29.51	± 1.47	28.28	± 1.72
	MD-BSD	35.00	± 0.33	34.80	± 0.32	31.93	± 0.43	27.95	± 1.27	27.89	± 6.31	18.09	± 0.00	17.99	± 0.21	16.45	± 0.69
	MD-WPI-BSD	40.26	± 0.57	39.93	± 0.72	38.83	± 0.00	35.98	± 0.30	34.82	± 0.17	32.99	± 0.14	30.85	± 0.89	28.53	± 0.16
	WPI-BSD	39.39	± 0.13	39.28	± 0.15	36.86	± 1.75	36.42	± 0.79	36.59	± 0.17	36.32	± 0.57	34.74	± 2.10	33.74	± 0.08

MD: maltodekstrin, WPI: peyniraltı suyu proteini izolatu, BSD: betasiklodekstrin

Çizelge 4.43. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ait varyans analizi sonuçları

L* a* b* <i>h</i>° C*											
VK	SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Formül (A)	6	14.81	17.66**	4.70	33.72**	301.79	301.79**	27.33	33.91**	329.56	117.45**
Depolama süresi (B)	7	26.23	31.27**	11.58	82.86**	227.50	227.5**	87.23	108.23**	294.21	104.85**
A x B	42	0.78	0.92	0.29	2.06**	12.52	12.52**	1.12	1.39	15.12	5.39**
Hata	56	0.84		0.14		1.21		0.80		2.81	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

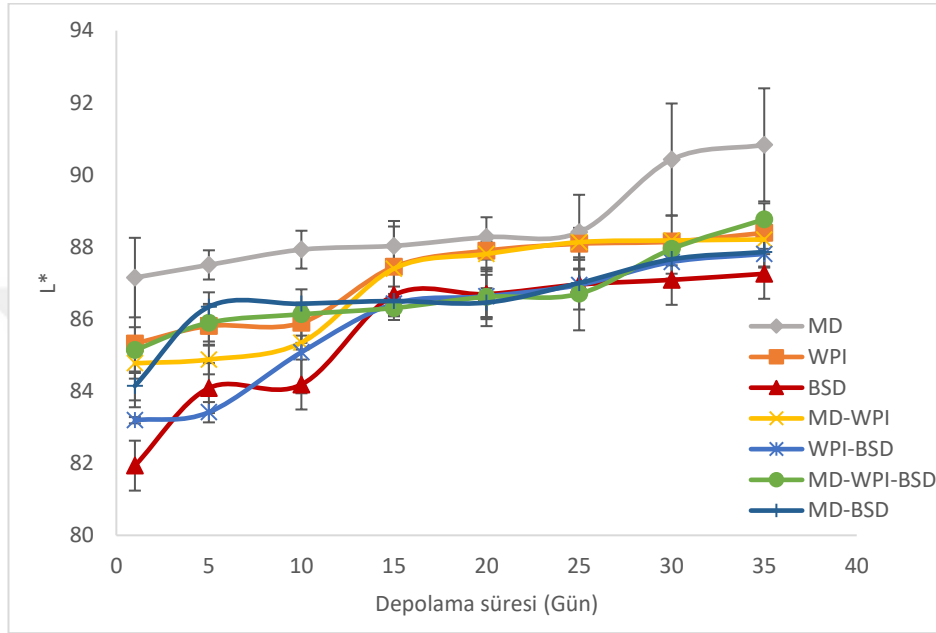
Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.44'te verilmiştir. En düşük L^* değerleri örneklerin 0. gününde görülürken, en yüksek L^* değeri MD içeren emülsiyonla hazırlanan örnekte görülmüştür. En düşük a^* değerleri örneklerin 35. gününde ölçülürken, en yüksek a^* değerleri ise örneklerin 0. gününde ölçülmüştür. En düşük b^* değeri MD-BSD içeren emülsiyonla hazırlanan örnekte tespit edilirken, en yüksek b^* değeri ise örneklerin 0. gününde tespit edilmiştir. En düşük ve yüksek h° değerleri sırasıyla örneklerin 0.ve 35. gününde elde edilmiştir. En düşük C^* değeri MD içeren emülsiyonla hazırlanan örnekte görülürken, en yüksek C^* değeri örneklerin 0. gününde görülmüştür.



Çizelge 4.44. Çoklu emülsiyon sistemleri (S/Y/S) ile hazırlanan safranlı pilavların renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , h° ve C^*) ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

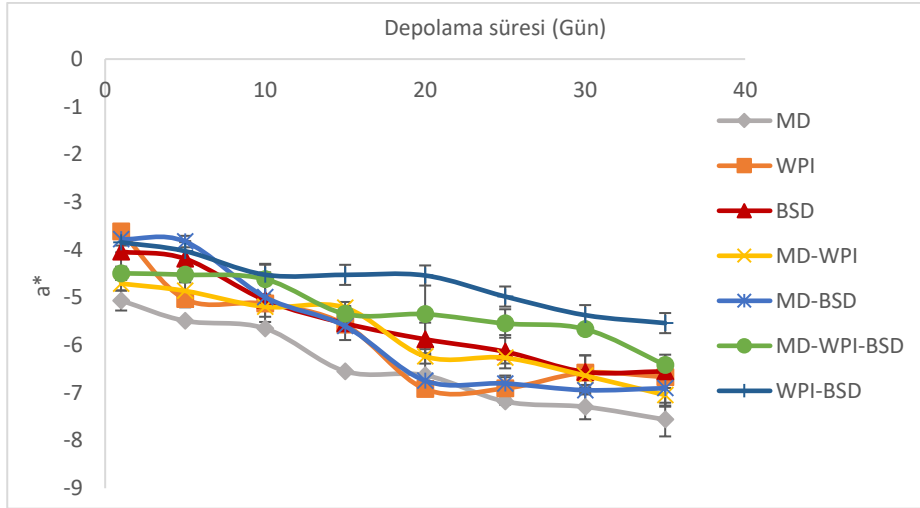
	Formül	BSD	WPI-BSD	MD-BSD	MD-WPI	WPI	MD-WPI-BSD	MD
		85.61 ^c ± 1.97	85.89 ^c ± 1.81	86.55 ^b ± 1.16	86.69 ^b ± 1.27	86.84 ^b ± 1.63	87.12 ^b ± 1.41	88.57 ^a ± 1.66
L*	Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30
		84.52 ^e ± 1.87	85.42 ^d ± 1.40	85.85 ^d ± 1.27	86.97 ^c ± 0.87	87.20 ^c ± 0.90	87.46 ^{cb} ± 0.96	88.15 ^{ab} ± 1.26
a*	Formül	MD	MD-WPI	MD-BSD	WPI	BSD	MD-WPI-BSD	WPI-BSD
		-6.43 ^e ± 0.93	-5.80 ^d ± 1.15	-5.49 ^{cd} ± 1.00	-5.77 ^{cd} ± 0.87	-5.70 ^{cd} ± 1.34	-5.24 ^b ± 0.74	-4.67 ^a ± 0.67
b*	Depolama süresi (Gün)	35	30	25	20	15	10	5
		-6.67 ^g ± 0.55	-6.43 ^{eg} ± 0.60	-6.26 ^{fe} ± 0.47	-6.04 ^e ± 0.59	-5.48 ^d ± 0.95	-5.02 ^c ± 0.78	-4.56 ^b ± 0.73
h°	Formül	MD-BSD	MD	MD-WPI	MD-WPI-BSD	WPI	WPI-BSD	BSD
		24.28 ^e ± 7.51	26.04 ^d ± 7.94	33.63 ^c ± 4.06	34.36 ^{cb} ± 3.50	34.61 ^b ± 4.15	35.49 ^a ± 1.96	35.86 ^a ± 2.50
C*	Depolama süresi (Gün)	35	30	25	20	15	10	5
		25.56 ^h ± 7.33	27.35 ^g ± 6.37	29.82 ^f ± 6.62	30.98 ^e ± 5.99	32.80 ^d ± 5.22	34.89 ^c ± 3.53	36.94 ^b ± 2.50
h°	Formül	BSD	WPI-BSD	MD-WPI-BSD	MD-WPI	WPI	MD-BSD	MD
		99.15 ^c ± 2.18	99.42 ^c ± 2.44	99.73 ^c ± 2.28	99.60 ^c ± 1.86	100.92 ^b ± 2.64	101.29 ^b ± 3.20	102.76 ^a ± 3.20
C*	Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30
		97.26 ^e ± 0.82	97.35 ^e ± 0.83	98.93 ^d ± 1.65	99.52 ^d ± 1.58	101.31 ^c ± 1.49	102.35 ^b ± 1.83	102.90 ^b ± 1.81
C*	Formül	MD	MD-BSD	WPI	MD-WPI	MD-WPI-BSD	BSD	WPI-BSD
		26.26 ^c ± 7.84	26.46 ^c ± 8.01	36.05 ^{ba} ± 2.25	35.01 ^b ± 3.91	34.89 ^b ± 4.69	35.27 ^b ± 4.19	36.67 ^a ± 2.17
C*	Depolama süresi (Gün)	35	30	25	20	15	10	5
		26.39 ^f ± 7.10	28.03 ^e ± 6.64	30.41 ^d ± 6.82	32.38 ^c ± 5.19	33.35 ^c ± 5.03	35.59 ^b ± 3.58	38.63 ^a ± 1.89
C*	Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30
		103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07	103.66 ^a ± 2.07

Şekil 4.44'te görüldüğü gibi safranlı pilavların L^* değerleri tüm formüller için depolama boyunca artmaktadır. BSD içeren emülsiyon ile hazırlanan safranlı pilavın L^* değerindeki en büyük değişim depolamanın 0-5. ve 10-15. günleri arasında gerçekleşmiştir. MD ve MD-WPI-BSD içeren emülsiyonlar ile hazırlanan safranlı pilavların L^* değerleri ilk 25 gün büyük bir değişim göstermezken 25-30. Günler arasında yükselmiştir. BSD ve MD-BSD içeren emülsiyonlarla hazırlanan safranlı pilavların L^* değeri ilk 5 gün içinde ciddi miktarda yükselmiştir.



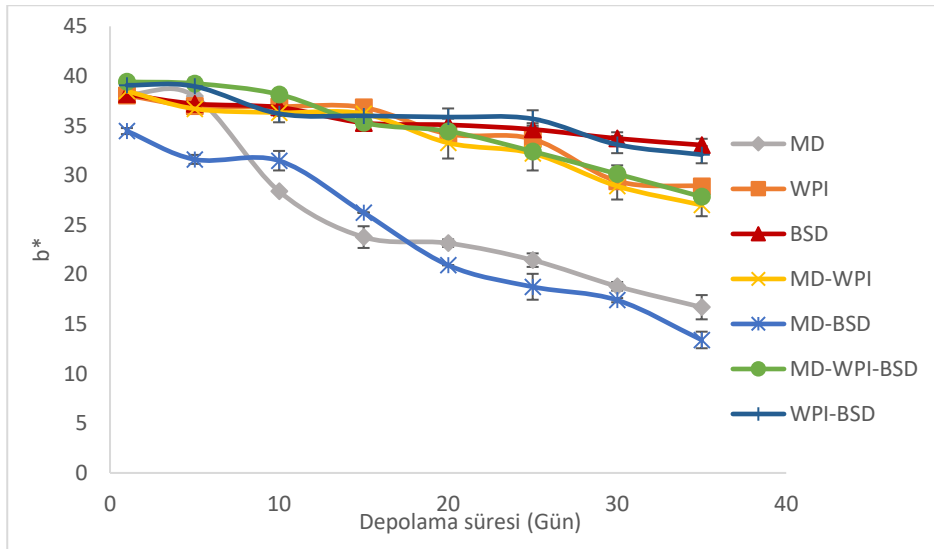
Şekil 4.44. Safranlı pilavların L^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

Şekil 4.45'te görüldüğü gibi depolama süresi boyunca tüm örneklerin a^* değerlerinde azalma görülmüştür. En büyük değişim WPI ve MD-BSD içeren emülsiyonlarla hazırlanan safranlı pilavlarda görülmüştür. Özellikle WPI'nın, depolama sıcaklığı olan 30°C sıcaklıkta bozulma hızının yüksek olduğu literatürde de bildirilmektedir. En az değişimin ise WPI-BSD içeren emülsiyonla hazırlanan safranlı pilavda görülmüştür. WPI tek başına kullanıldığında hızla bozulurken, WPI-BSD içeren emülsiyonla hazırlanan pilavdaki renk değişimi en düşük olmuştur. BSD'in safrandan elde edilen rengi korumada başarılı olduğu literatürde de bildirilmektedir (Bathaie ve Mousavi 2010).



Şekil 4.45. Safranlı pilavların a^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

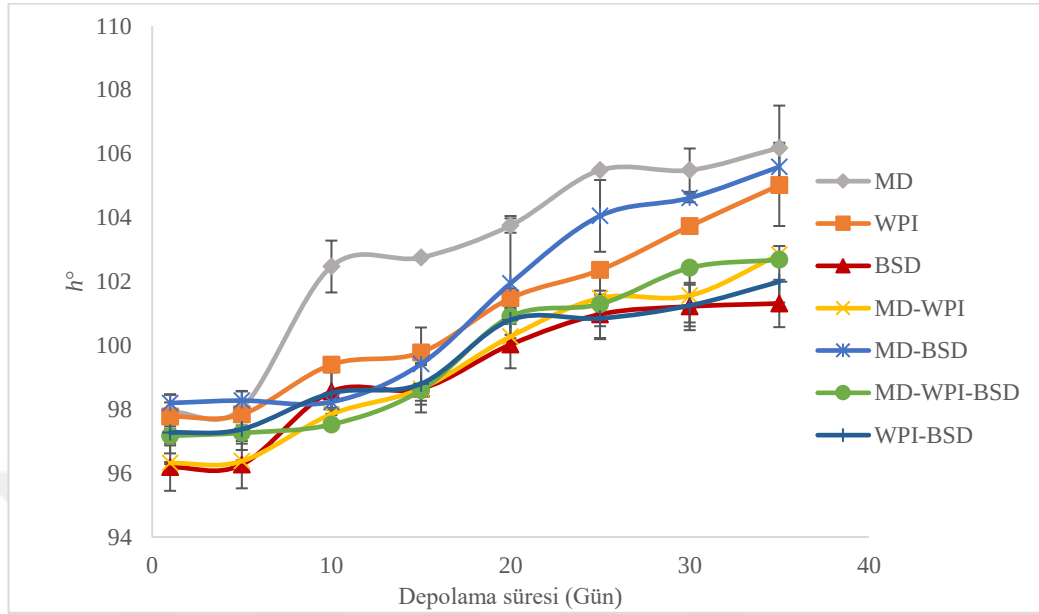
Şekil 4.46 incelendiğinde, sarılığı ifade eden b^* değerinde en büyük değişim MD ve MD-BSD içeren emülsiyonlarla hazırlanan safranlı pilavlarda görülmüştür. En az değişim ise BSD ve WPI-BSD içeren emülsiyonlarla hazırlanan safranlı pilavlarda görülmüştür. Bu bileşenlerin safranlı pilava sarı rengini veren bileşenleri koruyabildiği anlaşılmaktadır. Siklodekstrinin krosetin ile kompleks oluşturduğunda krosetinin stabilitesini artırdığı 1995 yılında ABD’de yeni bir buluş olarak 5,424,407 numarasıyla patentlenmiş ve yayınlanmıştır. Benzer şekilde krosin stabilizasyonunun artırılması konusunda bu kompleksin başarılı olduğu Japonya’da da 60-45229 numarasıyla patentlenmiştir (Bathaie ve Mousavi 2010).



Şekil 4.46. Safranlı pilavların b^* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

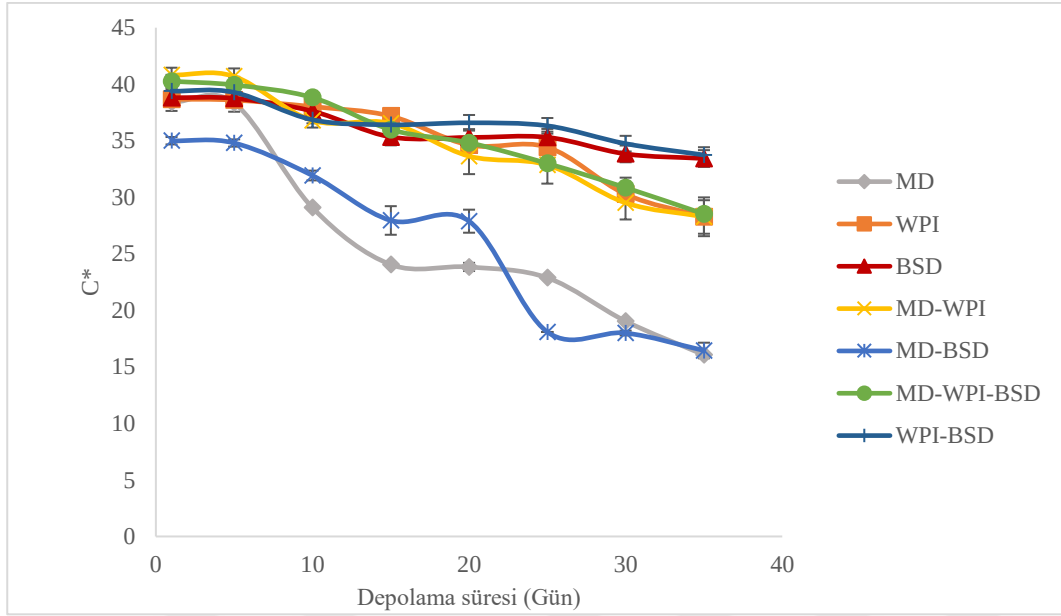
Şekil 4.47 incelendiğinde tüm örneklerin h° değerleri depolama süresi boyunca artmıştır. h° değerindeki artış, örneklerin istenen renk olan sarıdan ($h^\circ \sim 90^\circ$) uzaklaşarak yeşile doğru yaklaştığını ifade etmektedir. MD içeren emülsiyonla hazırlanan pilavın h°

değerinde 5-10. günler arasında yükselme olduğu ve yine en büyük renk değişiminin 35. günün sonunda bu örnekte gerçekleştiği görülmektedir.



Şekil 4.47. Safranlı pilavların h° değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

Şekil 4.48’de görüldüğü gibi safranlı pilavların C^* değerleri tüm formüller için depolama boyunca azalmaktadır. Renk yoğunluğundaki azalmayı ifade eden bu değer safranlı pilavların depolama süresine ve içerdikleri emülsiyona bağlı stabilitelerinin en önemli göstergesi durumundadır. En yüksek renk kaybı, MD ve WPI-BSD içeren emülsiyonlar ile hazırlanan safranlı pilavlarda görülmüştür. En düşük renk kaybının ise WPI-BSD ve BSD içeren emülsiyonlar ile hazırlanan pilavlarda olduğu yine aynı şekilde açıkça görülmektedir. BSD’in; safranın renginden sorumlu bileşiklerle kompleks oluşturarak bu bileşiklerin stabilitesini artırdığını bildiren bilimsel çalışmaların yanı sıra, biri ABD’de diğeri Japonya’da olmak üzere iki farklı patent de mevcuttur (Bathaie ve Mousavi 2010). Literatürde yer alan bir başka çalışmada WPC içeren safran emülsiyonunun enkapsülasyon etkinliği, MD-WPC içeren safran emülsiyonunununkinden yüksek bulunmuştur (Esfanjani vd. 2015). Çalışmamızda WPI ve MD-WPI içeren emülsiyonların C^* değerlerinde büyük bir fark görülmemektedir. Bunun WPI’nın WPC’den daha yüksek miktarda protein içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Lutz vd. (2009b) tarafından yapılan bir çalışmada da emülsiyon stabilitesinin artırılmasında WPI’nın tek başına başarılı olmadığı bildirilmektedir.



Şekil 4.48. Safranlı pilavların C* değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan safran emülsiyonlarının, model gıdanın (safranlı pilav) renk değerleri üzerine etkisi genel olarak değerlendirildiğinde bu değerlerin tek tek değil bir arada yorumlandığında anlam kazandığı görülmektedir. Safranlı pilava doğru rengi en yoğun şekilde veren ve bu rengi en uzun süre muhafaza edebilen çoklu emülsiyon tespit edilmek istenmiştir. Tüm bu veriler incelenerek bu özellikleri sağlayan WPI-BSD ve tek başına BSD içeren olmak üzere 2 farklı dış sulu faz seçilmiştir.

Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutu analizi sonuçları Çizelge 4.45'te verilmiştir. Tüm örneklerde D_{43} , D_{32} ve Açıklık değerlerinin depolama boyunca arttığı görülmektedir. Emülsiyonların parçacık çapları hakkında bilgi veren bu değerler, zamanla parçacıkların birleşerek daha büyük parçacıklar oluşturduğunu göstermektedir.

Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutu değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.46'da verilmiştir. Bu çizelge incelendiğinde tüm varyans kaynaklarının ve bunların interaksiyonlarının parçacık boyutu değerleri üzerinde etkisinin istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) anlamlı olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.45. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutları

Formül	Depolama süresi (Gün)													
	0	5	10	15	20	25	30	35						
D ₄₃ (µm)	MD	22.44 ± 0.33	69.69 ± 0.02	97.93 ± 1.39	103.57 ± 2.33	109.25 ± 1.23	114.80 ± 0.50	134.89 ± 1.91	162.06 ± 0.40					
	WPI	14.74 ± 0.11	16.77 ± 0.59	34.34 ± 0.83	58.27 ± 2.05	72.31 ± 0.15	87.28 ± 0.39	89.47 ± 0.97	100.04 ± 3.95					
	BSD	10.71 ± 0.19	15.69 ± 0.06	21.74 ± 0.34	23.63 ± 0.22	31.00 ± 0.37	33.19 ± 1.06	35.04 ± 0.44	37.66 ± 0.00					
	MD-WPI	9.05 ± 0.09	29.45 ± 0.04	41.93 ± 0.27	73.25 ± 0.49	95.08 ± 0.43	118.66 ± 0.22	122.53 ± 0.13	129.68 ± 0.29					
	MD-BSD	41.16 ± 1.68	63.09 ± 0.13	84.24 ± 0.03	105.9 ± 0.20	127.17 ± 0.39	149.48 ± 0.08	151.63 ± 1.11	155.32 ± 0.34					
	MD-WPI-BSD	8.19 ± 0.24	19.08 ± 0.19	31.02 ± 0.10	51.82 ± 0.26	72.59 ± 0.01	93.28 ± 0.11	114.02 ± 0.18	115.75 ± 0.12					
	WPI-BSD	11.75 ± 0.88	12.86 ± 0.07	14.53 ± 0.45	16.87 ± 0.56	18.16 ± 0.27	21.96 ± 0.16	23.25 ± 0.14	26.36 ± 0.63					
D ₃₂ (µm)	MD	6.18 ± 0.11	12.17 ± 0.49	17.11 ± 0.31	21.64 ± 0.74	58.1 ± 0.72	64.99 ± 1.24	72.69 ± 1.82	135.54 ± 0.93					
	WPI	4.60 ± 0.08	15.22 ± 0.14	25.31 ± 0.17	37.25 ± 0.21	56.56 ± 0.02	63.58 ± 0.99	74.80 ± 4.58	93.26 ± 1.70					
	BSD	5.56 ± 0.12	8.01 ± 0.03	12.66 ± 1.18	13.32 ± 0.02	14.51 ± 0.10	15.64 ± 0.11	16.40 ± 0.02	17.36 ± 0.19					
	MD-WPI	3.22 ± 0.09	13.18 ± 0.07	23.51 ± 0.21	41.61 ± 2.26	55.10 ± 0.48	64.42 ± 0.09	85.69 ± 0.60	104.14 ± 0.00					
	MD-BSD	6.33 ± 0.17	17.51 ± 2.10	26.19 ± 0.18	34.68 ± 0.84	53.31 ± 0.28	63.32 ± 0.20	75.56 ± 1.46	126.27 ± 1.93					
	MD-WPI-BSD	13.30 ± 0.11	23.95 ± 0.27	34.64 ± 0.02	44.6 ± 0.57	54.36 ± 0.27	63.80 ± 0.31	84.24 ± 0.32	104.04 ± 0.21					
	WPI-BSD	3.89 ± 0.27	3.72 ± 0.06	5.08 ± 0.52	7.31 ± 0.60	9.81 ± 0.76	12.10 ± 0.21	13.39 ± 0.25	14.81 ± 0.60					
Açıklık	MD	2.93 ± 0.19	3.27 ± 0.08	3.44 ± 0.19	3.63 ± 0.32	3.79 ± 0.35	4.18 ± 0.34	5.28 ± 0.24	7.21 ± 0.95					
	WPI	0.85 ± 0.10	1.11 ± 0.00	1.25 ± 0.04	1.41 ± 0.10	1.50 ± 0.17	1.70 ± 0.33	2.22 ± 0.59	3.00 ± 0.46					
	BSD	0.55 ± 0.06	0.67 ± 0.08	0.87 ± 0.02	0.85 ± 0.05	0.91 ± 0.07	1.04 ± 0.06	1.31 ± 0.09	1.93 ± 0.43					
	MD-WPI	1.15 ± 0.16	1.49 ± 0.07	1.73 ± 0.00	2.04 ± 0.12	2.54 ± 0.10	3.00 ± 0.28	3.66 ± 0.17	6.00 ± 1.87					
	MD-BSD	2.36 ± 0.07	2.67 ± 0.04	2.85 ± 0.12	2.94 ± 0.04	3.19 ± 0.17	3.84 ± 0.38	4.37 ± 0.65	5.79 ± 0.13					
	MD-WPI-BSD	2.11 ± 0.09	2.13 ± 0.08	2.25 ± 0.07	2.34 ± 0.08	2.60 ± 0.03	2.97 ± 0.05	3.35 ± 0.05	4.63 ± 0.35					
	WPI-BSD	0.57 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.63 ± 0.00	0.75 ± 0.00	0.89 ± 0.03	0.93 ± 0.02	1.03 ± 0.03	1.21 ± 0.13					

MD: maltodekstrin, WPI: peyniraltı suyu proteini izolatu, BSD: betasiklodekstrin

Çizelge 4.46. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutlarına ait varyans analizi sonuçları

		D ₄₃ (µm)		D ₃₂ (µm)		Açıklık	
VK	SD	KO	F	KO	F	KO	F
Formül (F)	6	12650.12	7441.06**	2470.51	947.13**	26.02	107.45**
Depolama süresi (D)	7	16642.34	9789.37**	13067.48	5009.73**	11.27	46.54**
F x D	42	403.44	237.31**	258.54	99.12**	0.51	2.09**
Hata	56	1.70		2.61		0.24	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

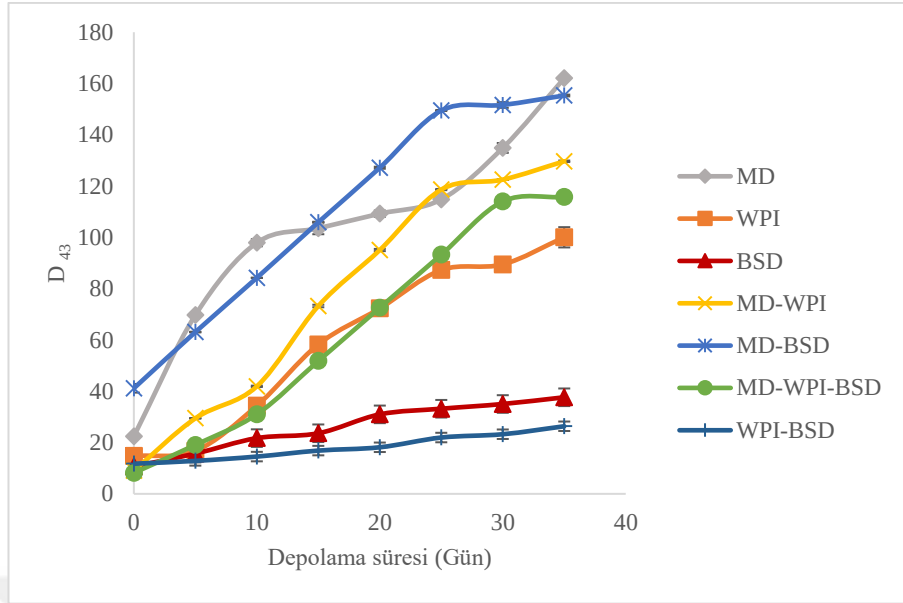
Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutu değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.47’de verilmiştir. En düşük D_{43} değerleri depolamanın 0. gününde görülürken, en yüksek D_{43} değeri MD-BSD içeren emülsiyonda görülmüştür. En düşük D_{32} değerleri depolamanın 0. gününde elde edilirken, en yüksek değerler ise 35. gününde elde edilmiştir. En düşük Açıklık değeri WPI-BSD içeren emülsiyonda hesaplanırken, en yüksek Açıklık değerleri ise depolamanın 35. gününde hesaplanmıştır.

Çizelge 4.45, Şekil 4.49, 4.50 ve 4.51 incelendiğinde BSD, WPI ve WPI-BSD içeren emülsiyonların parçacık boyutlarının küçük olduğu ve depolama boyunca diğer emülsiyonlarınkine göre çok daha az değiştiği görülmektedir. Bu durumun; protein-polisakkarit karışımının kullanılmasının bunların tek başına kullanılmasına kıyasla daha stabil emülsiyonlar oluşturmaktan kaynaklandığı değerlendirilmiştir (Esfanjani vd. 2017; McClement 2004).

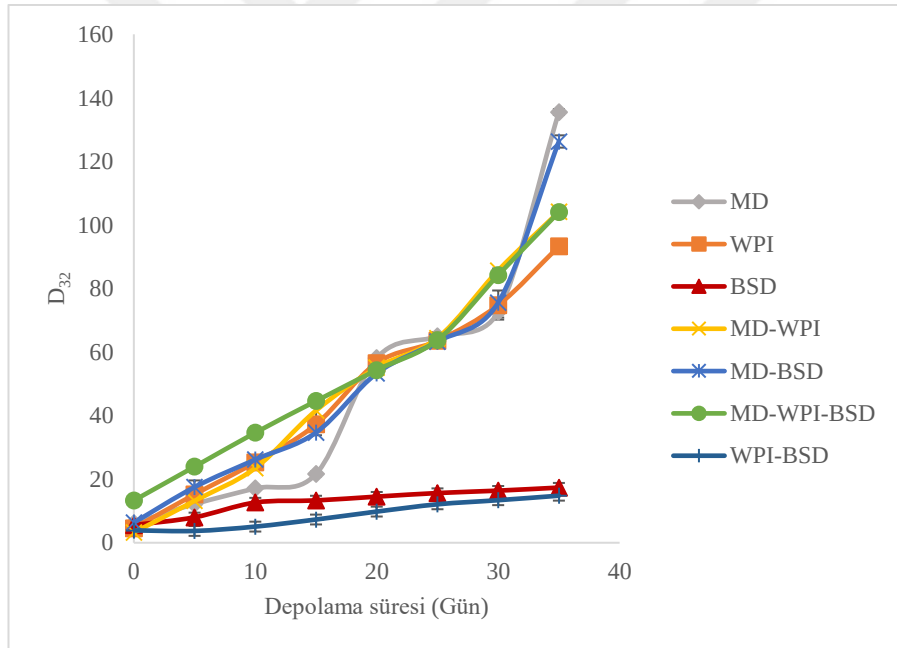
Hem renk değerleri hem de parçacık boyutu değerleri göz önünde bulundurularak; iç fazını optimum koşullarda hazırlanan S/Y emülsiyonunun; dış fazını ise WPI-BSD kompleksinin ve tek başına BSD’in oluşturduğu 2 farklı S/Y/S emülsiyon sistemi hazırlanmış ve bunlarda da depolama analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.47. Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutlarının ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

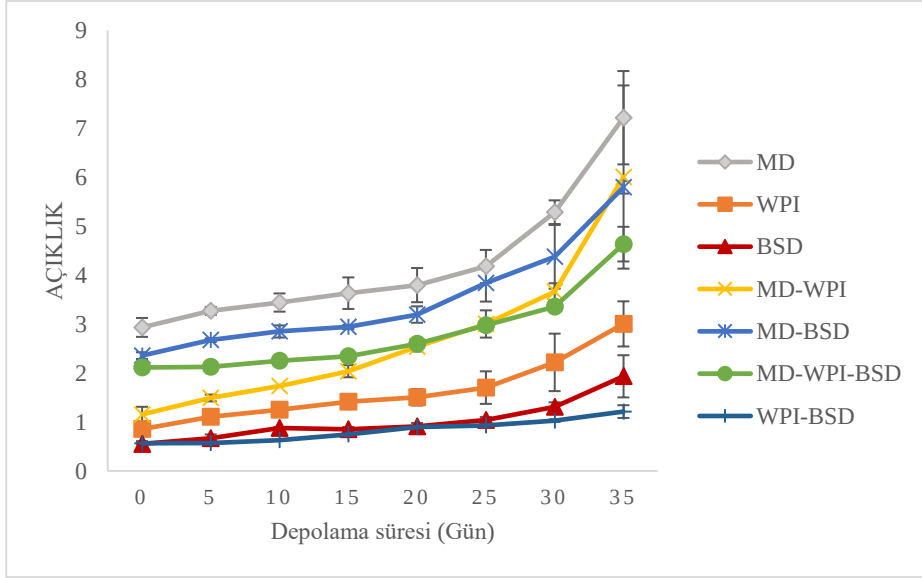
	Formül	WPI-BSD	BSD	WPI	MD-WPI-BSD	MD-WPI	MD	MD-BSD
		18.22 ^g ± 5.08	26.08 ^f ± 9.38	59.15 ^e ± 32.58	63.22 ^d ± 40.78	77.45 ^c ± 44.77	101.83 ^b ± 40.52	109.75 ^a ± 42.05
D₄₃ (µm)		0	5	10	15	20	25	30
	Depolama süresi (Gün)	16.86 ^h ± 11.3	32.38 ^g ± 22.95	46.53 ^f ± 30.67	61.90 ^e ± 33.78	75.08 ^d ± 38.19	88.38 ^c ± 44.43	95.83 ^b ± 47.54
		103.84 ^a ± 51.54						
	Formül	WPI-BSD	BSD	WPI	MD	MD-WPI	MD-BSD	MD-WPI-BSD
		8.76 ^f ± 4.27	12.93 ^e ± 4.03	46.32 ^d ± 29.83	48.55 ^c ± 42.19	48.86 ^c ± 34.16	50.40 ^b ± 37.30	52.87 ^a ± 29.50
D₃₂ (µm)		0	5	10	15	20	25	30
	Depolama süresi (Gün)	6.16 ^h ± 3.23	13.40 ^g ± 6.33	20.64 ^f ± 9.42	28.63 ^e ± 14.03	43.11 ^d ± 20.41	49.70 ^c ± 23.55	60.39 ^b ± 30.30
		85.06 ^a ± 47.34						
	Formül	WPI-BSD	BSD	WPI	MD-WPI-BSD	MD-BSD	MD-WPI	MD
		0.82 ^e ± 0.23	1.02 ^e ± 0.45	1.63 ^d ± 0.73	2.70 ^c ± 1.67	2.80 ^c ± 0.84	3.50 ^b ± 1.13	4.22 ^a ± 1.42
Açıklık		0	5	10	15	20	25	30
	Depolama süresi (Gün)	1.50 ^f ± 0.92	1.70 ^{ef} ± 0.99	1.86 ^{def} ± 1.00	1.99 ^{de} ± 1.04	2.21 ^{cd} ± 1.10	2.52 ^c ± 1.29	3.03 ^b ± 1.56
		4.25 ^a ± 2.34						



Şekil 4.49. S/Y/S emülsiyonlarının D_{43} değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi



Şekil 4.50. S/Y/S emülsiyonlarının D_{32} değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi



Şekil 4.51. S/Y/S emülsiyonlarının Açıklık değeri üzerine depolama süresi ve formülün etkisi

4.7. Depolama

Optimizasyon çalışmalarından alınan veriler sonucunda, Çizelge 3.5'te formülleri verilen örnekler 2 tekerrürlü olarak üretilmiştir. Depolama süresince mikrobiyal bozulmasının önlenmesi için tüm formüllere %0.05 oranında sodyum benzoat eklenmiştir. 35 gün boyunca 3 farklı sıcaklıkta (5, 25 ve 45°C) depolanan örneklerin 5 günde bir depolama analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.7.1. Renk analizi

Çalışma boyunca olduğu gibi, depolama stabilitesi araştırılırken de renk analizleri model gıdada (safranlı pilav) gerçekleştirilmiştir. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L^* değerleri Çizelge 4.48'de verilmiştir. Tüm örneklerde L^* değerlerinin depolama boyunca yükseldiği görülmektedir. Parlaklığı ifade eden L^* değerindeki bu artış tüm örneklerin renklerinin az veya çok solduğunu göstermektedir. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerin L^* değerleri, düşük sıcaklıkta depolananlara göre daha fazla artmıştır. Mehrnia vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada da tek katmanlı emülsiyonların 2 haftalık depolama sonunda L^* değerlerinde artış görüldüğü tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda depolanmış pilavların, depolamanın 0 ve 35 günlerindeki görüntüleri EK-1'de verilmiştir. Bu fotoğraflar Nikon (D3100, Almanya) fotoğraf makinesi ile sabit ışıktaki, fotoğraf kabininde çekilmiştir.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L^* değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.49'da verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle etkileşimlerinin, örneklerin L^* değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.48. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L* değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)													
		0	5	10	15	20	25	30	35						
A	5	86.04 ± 0.45	86.94 ± 0.17	89.28 ± 0.08	90.56 ± 0.12	91.49 ± 0.09	91.65 ± 0.09	92.51 ± 0.13	92.48 ± 0.02						
	25	86.04 ± 0.45	87.09 ± 0.54	89.44 ± 0.02	90.74 ± 0.16	92.13 ± 0.28	92.18 ± 0.80	92.94 ± 0.17	93.30 ± 0.23						
	45	86.04 ± 0.45	91.49 ± 0.30	93.32 ± 0.13	95.30 ± 0.14	96.87 ± 0.67	98.47 ± 0.01	99.09 ± 0.02	99.67 ± 0.03						
B	5	85.47 ± 0.01	86.43 ± 0.05	87.55 ± 0.20	88.71 ± 0.20	89.49 ± 0.35	90.41 ± 0.05	92.86 ± 1.19	92.58 ± 0.04						
	25	85.47 ± 0.01	87.55 ± 0.02	89.45 ± 0.01	90.60 ± 0.16	91.79 ± 0.49	92.66 ± 0.05	93.40 ± 0.08	95.45 ± 0.21						
	45	85.47 ± 0.01	90.52 ± 0.10	92.43 ± 0.05	94.93 ± 0.11	96.52 ± 0.03	97.57 ± 0.21	98.83 ± 0.69	99.01 ± 0.24						
C	5	96.41 ± 0.22	97.00 ± 0.61	97.48 ± 0.33	97.93 ± 0.12	98.24 ± 0.09	98.66 ± 0.09	99.17 ± 0.22	99.58 ± 0.15						
	25	96.41 ± 0.22	97.64 ± 0.13	98.02 ± 0.05	98.28 ± 0.00	98.57 ± 0.02	99.03 ± 0.08	99.39 ± 0.12	99.57 ± 0.07						
	45	96.41 ± 0.22	98.29 ± 0.07	98.15 ± 0.04	98.52 ± 0.08	98.81 ± 0.30	99.04 ± 0.11	99.44 ± 0.11	99.95 ± 0.04						
D	5	93.44 ± 0.51	95.04 ± 0.53	96.54 ± 0.53	97.73 ± 1.01	98.09 ± 0.93	98.63 ± 0.76	99.16 ± 0.42	99.91 ± 0.01						
	25	93.44 ± 0.51	95.89 ± 0.58	96.91 ± 0.85	97.85 ± 0.11	98.61 ± 0.18	99.07 ± 0.35	99.44 ± 0.19	99.75 ± 0.06						
	45	93.44 ± 0.51	96.46 ± 0.22	97.72 ± 0.06	98.82 ± 0.48	99.34 ± 0.37	99.77 ± 0.24	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00						
E	5	94.59 ± 1.04	96.13 ± 0.51	96.61 ± 0.66	97.34 ± 0.22	97.89 ± 0.10	98.31 ± 0.05	99.18 ± 0.17	99.61 ± 0.13						
	25	94.59 ± 1.04	96.57 ± 0.58	96.99 ± 0.60	97.86 ± 0.21	98.64 ± 0.03	99.08 ± 0.03	99.40 ± 0.15	99.57 ± 0.07						
	45	94.59 ± 1.04	96.57 ± 0.55	96.49 ± 1.01	98.07 ± 0.20	98.83 ± 0.28	99.26 ± 0.06	99.56 ± 0.08	99.92 ± 0.06						
F	5	92.22 ± 0.65	94.97 ± 0.29	96.49 ± 0.27	97.75 ± 0.07	98.37 ± 0.39	99.21 ± 0.26	99.48 ± 0.17	99.83 ± 0.05						
	25	92.22 ± 0.65	95.49 ± 0.57	96.82 ± 0.26	97.85 ± 0.22	98.50 ± 0.30	99.62 ± 0.33	99.90 ± 0.10	100.00 ± 0.00						
	45	92.22 ± 0.65	96.83 ± 0.00	97.63 ± 0.05	98.14 ± 0.28	98.81 ± 0.30	99.47 ± 0.27	99.88 ± 0.12	100.00 ± 0.00						
G	5	94.17 ± 1.37	95.24 ± 1.05	96.63 ± 0.44	97.23 ± 0.49	98.14 ± 0.36	98.61 ± 0.26	99.14 ± 0.07	99.79 ± 0.10						
	25	94.17 ± 1.37	95.76 ± 0.44	96.71 ± 0.22	97.45 ± 0.03	98.20 ± 0.06	98.61 ± 0.10	99.26 ± 0.09	99.81 ± 0.16						
	45	94.17 ± 1.37	96.22 ± 0.26	97.24 ± 0.08	98.01 ± 0.03	98.66 ± 0.45	98.94 ± 0.25	99.50 ± 0.22	99.90 ± 0.10						
H	5	93.84 ± 0.19	95.41 ± 0.38	96.27 ± 0.34	96.90 ± 0.52	97.65 ± 0.35	98.18 ± 0.30	98.80 ± 0.15	99.44 ± 0.09						
	25	93.84 ± 0.19	95.86 ± 0.76	96.35 ± 0.66	97.35 ± 0.34	97.62 ± 0.20	98.69 ± 0.14	99.13 ± 0.20	99.45 ± 0.03						
	45	93.84 ± 0.19	96.39 ± 0.18	97.37 ± 0.08	98.44 ± 0.36	99.05 ± 0.26	99.70 ± 0.10	99.96 ± 0.02	100.00 ± 0.00						

Çizelge 4.49. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L* değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	106.81	333.24**
Formül (B)	7	381.73	1190.97**
Depolama süresi (C)	7	245.36	765.53**
A* B	14	19.97	62.31**
B * C	49	4.3	13.42**
A * C	14	2.36	7.39**
A* B* C	98	0.68	2.14**
Hata	192	0.32	

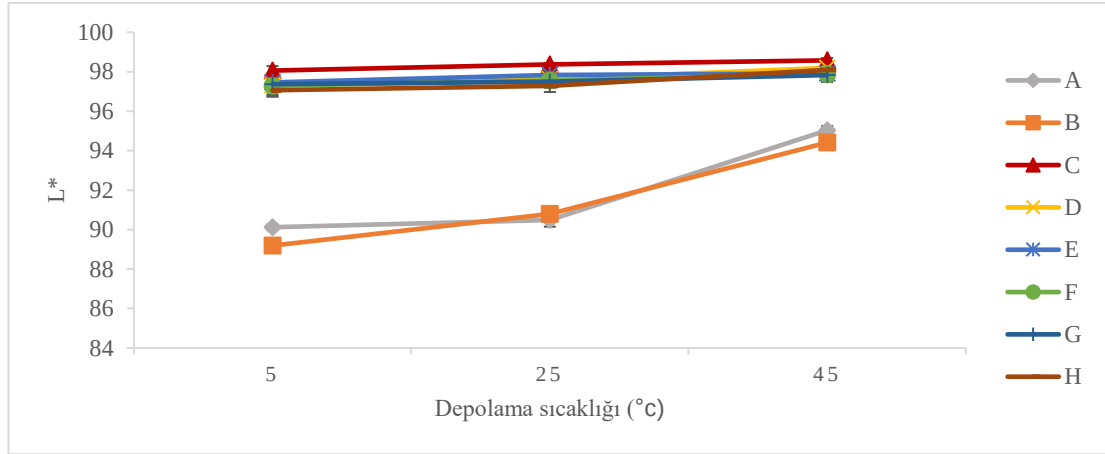
(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.50’de verilmiştir. En düşük L* değeri (91.46) B formülüne ait örneklerde görülürken, en yüksek L* değeri (98.69) depolamanın 35. gününde ölçülmüştür. En düşük L* değerlerinin B formülünde (K-2 ekstraktı) görülmesinin, emülsiyonların aksine yağ içermemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağ içeren formüllerle hazırlanan pilavların L* değerlerinin, yağın parlaklık verici etkisinden dolayı daha yüksek bulunduğu değerlendirilmiştir (McClement 2004). En yüksek L* değerlerinin, depolamanın 35. gününde ölçülmesinin de depolama süresince tüm örneklerde rengin solmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

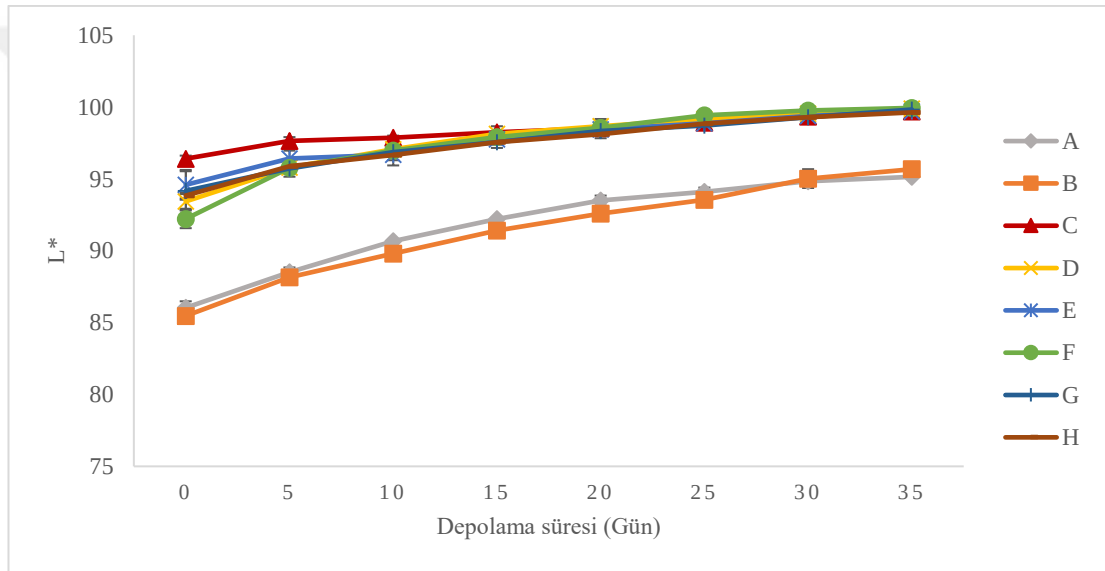
Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak L* değerinin değişimi Şekil 4.52, 4.53 ve 4.54’te verilmiştir. Şekil 4.52 incelendiğinde sadece ekstrakt içeren 2 formülle hazırlanan pilavların (A ve B) L* değerlerinin diğer örnekler göre düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin, emülsiyon içeriğindeki yağın parlaklık değerini etkilemesi olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra A ve B örnekleriyle hazırlanan pilavların L* değerlerinin sıcaklık arttıkça arttığı görülmektedir. Emülsiyon formunda olmayan bu iki örneğin sıcaklığa karşı stabilitesinin diğer örnekler göre daha düşük olduğu anlaşılmaktadır. Emülsiyon formundaki tüm örneklerin sıcaklıktan daha az etkilendiği açıkça görülmektedir. Benzer durumlar Şekil 4.53’te de görülmektedir. Yalnızca ekstrakt içeren A ve B örnekleriyle hazırlanan pilavların L* değerlerinin diğer örneklerinkinden daha düşük olduğu ve depolama süresi boyunca daha fazla yükseldiği görülmektedir. Şekil 4.54 incelendiğinde ise yüksek sıcaklıkta depolanan örneklerde L* değerinin depolama süresince arttığı ve böylece rengin bu örneklerde daha fazla solduğu görülmektedir.

Çizelge 4.50. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen L* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

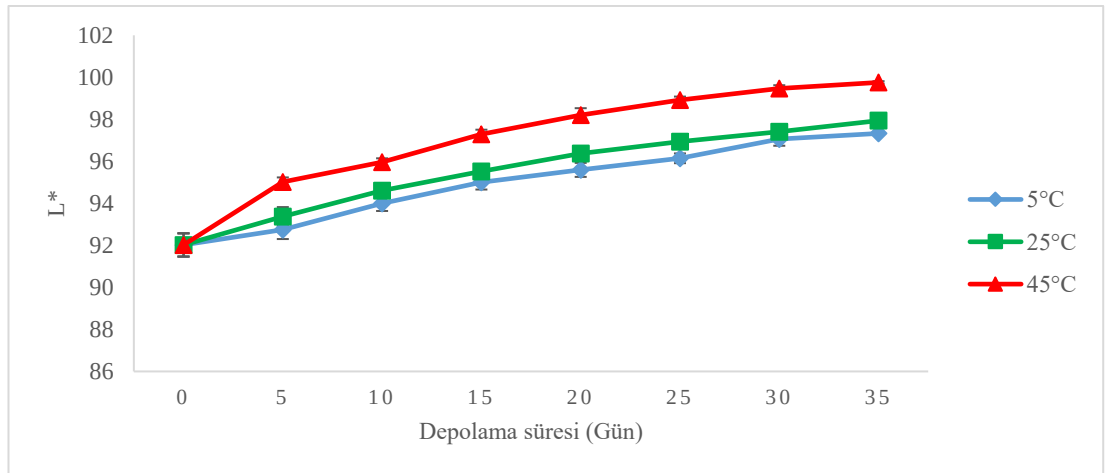
Sıcaklık (°C)	5	25	45					
	95.48 ^c ± 3.97	95.93 ^b ± 3.76	97.24 ^a ± 3.13					
Formül	B	A	H	G	F	D	E	C
	91.46 ^e ± 4.10	91.88 ^d ± 3.95	97.48 ^c ± 1.94	97.56 ^{bc} ± 1.91	97.57 ^{bc} ± 2.50	97.71 ^{bc} ± 2.17	97.73 ^b ± 1.74	98.33 ^a ± 1.04
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30	35
	92.02 ^h ± 3.89	94.24 ^g ± 3.69	95.33 ^f ± 3.20	96.35 ^e ± 2.97	97.10 ^d ± 2.78	97.70 ^c ± 2.78	98.31 ^b ± 2.48	98.69 ^a ± 2.43



Şekil 4.52. Depolama sıcaklığı ve formülün safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.53. Depolama süresi ve formülün safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.54. Depolama süresi ve sıcaklığının safranlı pilavların L^* değerleri üzerine etkisi

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerleri Çizelge 4.51’de verilmiştir. Tüm örneklerde h° değerlerinin depolama boyunca yükseldiği görülmektedir (Ek-1). Renk tonunu ifade eden h° değerindeki bu artış tüm örneklerin renklerinin istenen renk tonundan (sarı renk tonu için $h^\circ=90^\circ$) uzaklaştığını göstermektedir (Bakınız sayfa 35, Şekil 3.2). Ayrıca yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerin h° değerleri, düşük sıcaklıkta depolananlara göre daha fazla artmıştır. Mehrnia vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada da tek katmanlı emülsiyonların 2 haftalık depolama sonunda a^* değerlerinde düşüş, b^* değerlerinde ise artış görüldüğü tespit edilmiştir. Ton açısı değerlerinin değişimine bağlı olarak renk tonları diyagramı (Bakınız sayfa 35, Şekil 3.2) kullanılarak bu değişimler değerlendirildiğinde emülsiyonların renklerinin depolama süresince, çalışmamızda da olduğu gibi, istenilen renkten uzaklaştığını ifade etmektedir.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.52’de verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin h° değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.53’te verilmiştir. En düşük h° değeri (95.37) depolamanın 0. gününde görülürken, en yüksek h° değeri (105.99) A formülü ile hazırlanan pilavda ölçülmüştür. En düşük h° değerlerinin depolamanın 0. gününde görülmesinin nedeni tüm örneklerin henüz taze ve dolayısıyla beklenen renk tonunda olmasıdır. En yüksek h° değerlerinin; A formülüyle hazırlanan pilavlarda ölçülmesinin, sadece K-1 ekstraktı içeren yani emülsiyon formunda olmayan A formülünün rengini koruyamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.51. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)													
		0	5	10	15	20	25	30	35						
A	5	96.19 ± 0.36	99.79 ± 0.03	99.98 ± 0.32	102.66 ± 1.06	103.49 ± 0.53	104.84 ± 0.08	105.09 ± 0.46	107.18 ± 0.09						
	25	96.19 ± 0.36	104.39 ± 0.28	104.64 ± 0.05	104.79 ± 1.70	104.92 ± 0.06	106.05 ± 0.02	107.98 ± 0.14	111.13 ± 0.54						
	45	96.19 ± 0.36	106.14 ± 0.17	107.28 ± 1.11	108.16 ± 0.90	108.39 ± 1.01	115.40 ± 0.10	119.36 ± 0.10	123.50 ± 0.16						
B	5	96.73 ± 0.02	96.75 ± 0.32	96.77 ± 0.46	96.81 ± 0.60	96.90 ± 0.41	96.94 ± 0.34	97.15 ± 0.31	97.42 ± 0.36						
	25	96.73 ± 0.02	96.89 ± 0.27	97.13 ± 0.01	97.89 ± 0.05	97.95 ± 0.24	97.98 ± 0.20	100.44 ± 0.06	102.39 ± 0.02						
	45	96.73 ± 0.02	98.46 ± 0.08	99.47 ± 0.29	101.33 ± 0.14	103.78 ± 0.06	106.53 ± 0.03	112.62 ± 0.29	119.60 ± 0.03						
C	5	96.55 ± 0.34	97.16 ± 0.36	98.20 ± 0.37	98.77 ± 0.41	99.70 ± 0.20	104.65 ± 0.18	104.79 ± 0.48	105.33 ± 0.33						
	25	96.55 ± 0.34	97.71 ± 0.30	99.71 ± 0.09	100.53 ± 0.11	104.22 ± 0.59	104.81 ± 0.02	105.11 ± 0.21	105.43 ± 0.24						
	45	96.55 ± 0.34	98.59 ± 0.18	100.77 ± 0.12	101.31 ± 0.03	104.65 ± 0.18	105.78 ± 0.25	106.63 ± 0.31	106.87 ± 0.33						
D	5	95.55 ± 0.03	96.33 ± 0.05	96.78 ± 0.78	97.09 ± 0.01	98.40 ± 0.90	98.64 ± 0.04	98.88 ± 0.17	99.74 ± 0.19						
	25	95.55 ± 0.03	97.63 ± 0.05	98.35 ± 0.14	98.48 ± 0.16	99.32 ± 0.01	100.25 ± 0.01	101.11 ± 0.00	101.59 ± 0.07						
	45	95.55 ± 0.03	99.42 ± 0.06	101.21 ± 0.23	102.43 ± 0.24	103.42 ± 0.17	104.80 ± 0.56	105.35 ± 0.11	106.39 ± 0.13						
E	5	95.73 ± 0.30	96.34 ± 0.05	96.70 ± 0.73	96.75 ± 0.37	98.39 ± 0.87	98.66 ± 0.03	98.91 ± 0.26	99.75 ± 0.21						
	25	95.73 ± 0.30	97.36 ± 0.86	97.73 ± 0.14	98.39 ± 0.87	99.19 ± 0.10	100.57 ± 0.94	101.05 ± 1.50	101.34 ± 1.14						
	45	95.73 ± 0.30	98.39 ± 0.87	101.02 ± 0.20	102.86 ± 0.86	103.31 ± 1.02	105.28 ± 0.15	105.09 ± 0.57	106.45 ± 0.19						
F	5	94.26 ± 0.16	95.41 ± 0.45	95.82 ± 0.26	96.48 ± 0.02	97.27 ± 0.06	97.76 ± 0.53	97.73 ± 0.31	97.84 ± 0.06						
	25	94.26 ± 0.16	96.32 ± 0.26	96.53 ± 0.38	97.84 ± 0.06	98.64 ± 0.26	98.75 ± 0.13	99.31 ± 0.48	100.01 ± 0.45						
	45	94.26 ± 0.16	96.18 ± 0.28	97.84 ± 0.06	99.04 ± 0.61	100.08 ± 0.53	100.38 ± 0.03	100.93 ± 0.16	101.54 ± 1.13						
G	5	94.38 ± 0.37	95.23 ± 0.73	96.64 ± 0.37	96.83 ± 0.33	97.24 ± 0.39	97.47 ± 0.25	97.49 ± 0.53	97.93 ± 0.48						
	25	94.38 ± 0.37	96.72 ± 0.55	96.84 ± 0.20	97.49 ± 0.53	98.33 ± 0.38	98.52 ± 0.24	98.89 ± 0.21	100.12 ± 0.07						
	45	94.38 ± 0.37	97.25 ± 0.17	97.49 ± 0.53	97.70 ± 0.08	98.37 ± 0.12	99.41 ± 0.00	100.99 ± 0.56	101.78 ± 0.06						
H	5	93.59 ± 0.95	93.93 ± 0.13	94.08 ± 0.39	95.32 ± 0.30	95.35 ± 0.03	95.84 ± 0.05	95.70 ± 0.57	96.66 ± 0.00						
	25	93.59 ± 0.95	95.40 ± 0.13	95.84 ± 0.05	95.91 ± 0.06	95.94 ± 0.01	96.05 ± 0.51	96.30 ± 0.53	97.01 ± 0.14						
	45	93.59 ± 0.95	96.37 ± 0.09	99.74 ± 0.07	101.51 ± 0.05	103.74 ± 0.19	105.11 ± 0.15	106.48 ± 0.19	106.80 ± 0.07						

Çizelge 4.52. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen h° değerlerine ait varyans analizi

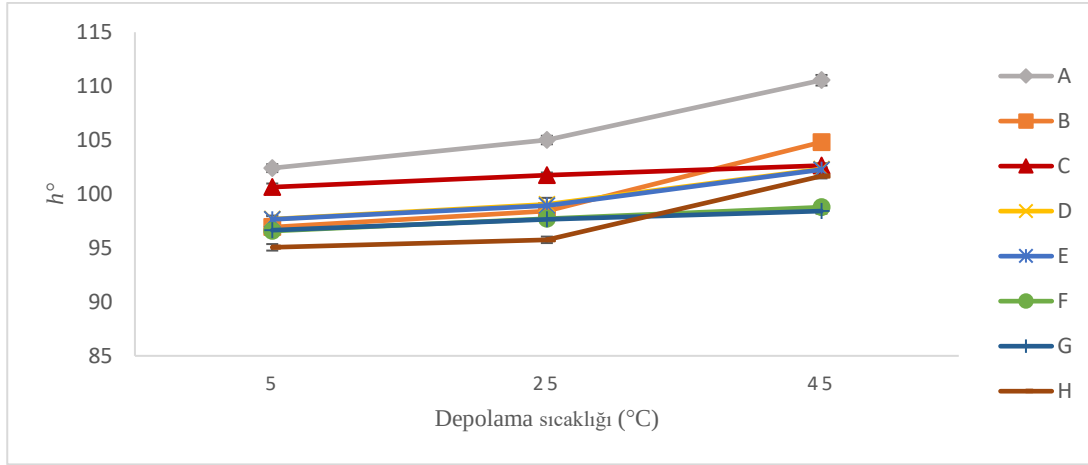
VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	762.73	2044.81**
Formül (B)	7	386.99	1037.47**
Depolama süresi (C)	7	372.1	999.97**
A * B	14	33.73	9.45**
B * C	49	11.59	31.08**
A * C	14	37.26	99.90**
A * B * C	98	4.59	12.30**
Hata	192	0.37	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

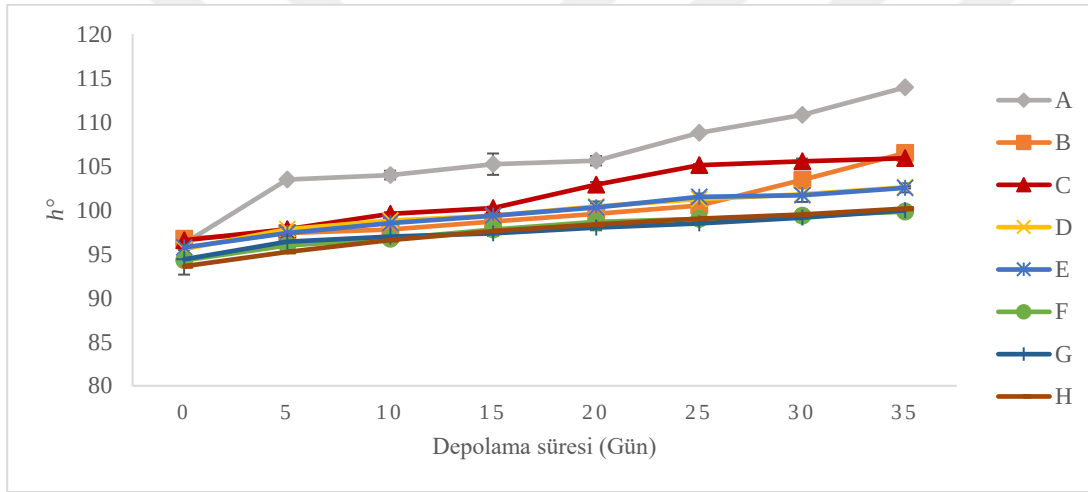
Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak h° değerinin değişimi Şekil 4.55, 4.56 ve 4.57’de verilmiştir. Şekil 4.55 incelendiğinde genel olarak sıcaklık arttıkça h° değerinin de arttığı görülmektedir. Ayrıca sadece ekstrakt içeren A formülü ile hazırlanan pilavların h° değerlerinin diğer örneklerle göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum depolama süresince sıcaklıktan en fazla etkilenenin A formülü olduğunu göstermektedir. H formülü, 5 ve 25°C sıcaklıklarda renk tonunu depolama boyunca en iyi koruyan örnek olmuştur. Bunun nedeninin; H formülünün, WPI-BSD içeren ultra-turrax ve ultrasonikasyon işlemlerinin bir arada kullanıldığı emülsiyon olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Siklodekstrinin krosetin ile kompleks oluşturduğunda krosetinin stabilitesini artırdığı 1995 yılında ABD’de yeni bir buluş olarak 5,424,407 numarasıyla patentlenmiş ve yayınlanmıştır. Benzer şekilde krosin stabilizasyonunun artırılması konusunda bu kompleksin başarılı olduğu Japonya’da da 60-45229 numarasıyla patentlenmiştir (Bathaie ve Mousavi 2010). WPI’nın bu sisteme katkısının, proteinlerin hem hidrofilik hem de lipofilik uçlara sahip olması dolayısıyla emülsiyon stabilitesini artırması olduğu düşünülmektedir (McClements 2015). Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işlemlerinin birlikte kullanılması ile de daha küçük çaplı parçacıklar elde edilmiş olduğu ve bunun da emülsiyonun stabilitesini artırdığı değerlendirilmiştir (Güngör vd. 2013; McClements 2015). Şekil 4.56 incelendiğinde depolama boyunca renk tonu en çok değişen formülün A, en az değişen formülün ise H olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle depolama süresince en az stabilite gösteren formül A iken, en yüksek stabilite gösteren formül H olmuştur. Şekil 4.5 incelendiğinde ise depolama sıcaklığı arttıkça h° değerlerinin depolama süresince arttığı ve böylece renk tonunun bu örneklerde istenen değerden uzaklaştığı görülmektedir.

Çizelge 4.53. Safranlı pılavların depolama süresince ölçülen h° değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu

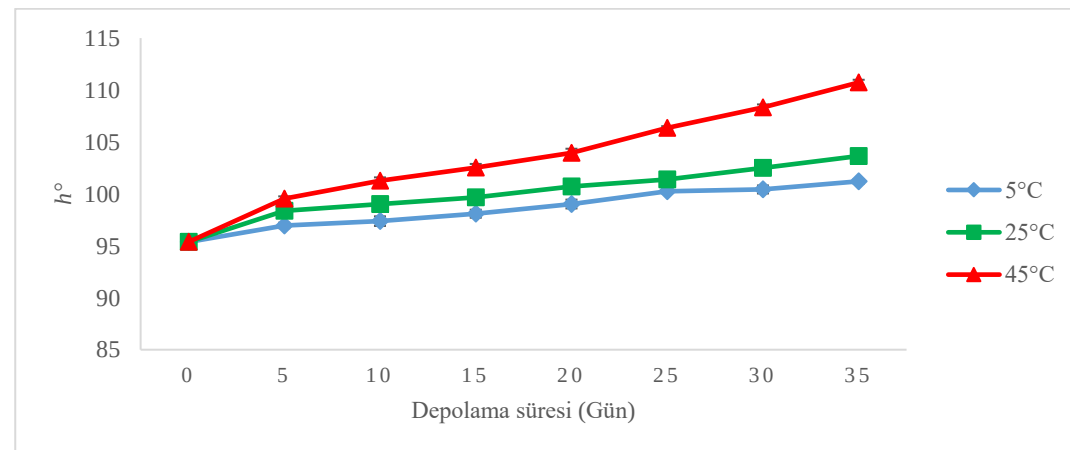
Sıcaklık (°C)	5	25	45					
	97.95 ^c ± 3.01	99.28 ^b ± 3.60	102.68 ^a ± 6.02					
Formül	H	G	F	E	D	B	C	A
	97.49 ^e ± 4.09	97.58 ^e ± 1.91	97.69 ^e ± 2.11	99.61 ^d ± 3.19	99.68 ^d ± 3.08	100.06 ^c ± 5.61	101.68 ^b ± 3.62	105.99 ^a ± 6.57
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30	35
	95.37 ^a ± 1.18	97.67 ^b ± 2.71	98.61 ^c ± 2.82	99.43 ^d ± 3.16	100.46 ^e ± 3.44	101.69 ^f ± 4.59	102.64 ^g ± 5.50	103.91 ^h ± 6.63



Şekil 4.55. Depolama sıcaklığının ve formülünün safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.56. Depolama süresinin ve formülünün safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.57. Depolama süresinin ve sıcaklığının safranlı pilavların h° değerleri üzerine etkisi

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C^* değerleri Çizelge 4.54'te verilmiştir. Genel olarak tüm örneklerin C^* değerleri depolama süresince azalmış ve artan sıcaklıktan etkilenmiştir (Ek-1). C^* değerindeki bu azalma, pilavların renk yoğunluğunun azaldığını göstermektedir. Aynı formülle renklendirilen pilavlarda da sıcaklık artışıyla birlikte renk yoğunluğu azalmıştır. Mehrnia vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada da tek katmanlı emülsiyonların 2 haftalık depolama sonunda renk yoğunluklarının azaldığı bildirilmiştir.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C^* değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.55'te verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin C^* değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C^* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.56'da verilmiştir. En düşük C^* değeri (13.59) A formülüne ait örneklerde görülürken, en yüksek C^* değeri (38.06) depolamanın 0. gününde ölçülmüştür. En düşük C^* değerlerinin; A formülüyle hazırlanan pilavlarda ölçülmesinin, sadece K-1 ekstraktı içeren yani emülsiyon formunda olmayan A formülünün renk yoğunluğunu kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. En düşük C^* değerlerinin depolamanın 0. gününde görülmesinin nedeni tüm örneklerin henüz taze ve dolayısıyla beklenen renk yoğunluğunda olmasıdır.

Çizelge 4.54. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C* değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)															
		0		5		10		15		20		25		30		35	
A	5	34.11	± 0.00	33.06	± 0.00	26.02	± 1.67	24.99	± 0.19	20.92	± 0.49	18.11	± 0.62	11.47	± 0.16	0.34	± 0.14
	25	34.11	± 0.00	16.50	± 1.16	15.34	± 1.22	13.15	± 0.34	8.04	± 0.80	4.76	± 0.15	1.38	± 0.02	0.35	± 0.09
	45	34.11	± 0.00	10.65	± 0.15	6.97	± 0.59	5.67	± 0.09	3.99	± 0.65	1.44	± 0.10	0.55	± 0.01	0.15	± 0.01
B	5	42.44	± 0.07	36.58	± 0.18	35.65	± 2.18	33.55	± 2.19	33.52	± 1.65	20.90	± 0.85	18.12	± 1.06	16.83	± 0.20
	25	42.44	± 0.07	33.51	± 0.30	30.45	± 1.20	27.27	± 1.54	23.40	± 1.58	16.83	± 0.20	11.45	± 0.10	2.57	± 0.41
	45	42.44	± 0.07	19.63	± 1.13	23.80	± 0.75	15.92	± 2.05	6.46	± 0.20	4.50	± 0.51	3.61	± 0.25	0.96	± 0.01
C	5	31.78	± 0.05	28.17	± 0.49	26.28	± 0.19	22.75	± 1.57	23.52	± 0.04	21.40	± 0.28	19.61	± 0.03	18.54	± 0.14
	25	31.78	± 0.05	26.52	± 0.01	23.89	± 1.19	19.25	± 0.04	15.84	± 0.18	10.54	± 0.07	7.79	± 0.06	5.70	± 0.23
	45	31.78	± 0.05	21.30	± 0.34	18.32	± 1.30	13.48	± 0.32	10.35	± 0.05	4.55	± 0.06	2.48	± 0.22	0.62	± 0.03
D	5	38.90	± 0.50	38.66	± 0.00	36.81	± 0.02	35.64	± 0.12	34.29	± 0.06	30.16	± 0.60	24.00	± 0.99	21.64	± 0.92
	25	38.90	± 0.50	36.54	± 0.04	33.42	± 0.06	30.88	± 0.08	28.57	± 0.09	25.41	± 1.43	23.78	± 0.56	20.71	± 0.15
	45	38.90	± 0.50	30.38	± 0.04	29.65	± 0.02	26.43	± 0.01	22.34	± 0.02	15.58	± 0.12	10.69	± 0.07	3.50	± 0.17
E	5	39.00	± 0.06	38.75	± 0.00	37.21	± 0.08	36.44	± 0.20	35.41	± 0.11	32.41	± 0.19	26.28	± 0.18	24.36	± 0.19
	25	39.00	± 0.06	37.26	± 1.82	36.67	± 0.56	31.04	± 2.57	36.97	± 3.41	37.64	± 2.84	33.72	± 3.43	31.94	± 1.73
	45	39.00	± 0.06	31.80	± 1.55	27.27	± 2.27	25.30	± 2.33	18.54	± 1.41	16.41	± 1.45	8.28	± 2.01	8.11	± 0.47
F	5	39.97	± 0.24	38.86	± 0.02	38.58	± 0.23	37.45	± 0.08	36.31	± 0.02	34.60	± 0.19	28.36	± 0.02	26.42	± 0.05
	25	39.97	± 0.24	37.41	± 0.04	37.02	± 0.29	35.44	± 0.29	42.71	± 1.19	41.61	± 0.32	34.02	± 2.65	34.34	± 4.84
	45	39.97	± 0.24	32.86	± 0.45	20.67	± 5.64	24.42	± 2.15	16.26	± 4.57	10.95	± 2.65	6.72	± 0.29	9.64	± 0.61
G	5	38.18	± 0.64	38.88	± 2.25	41.36	± 0.73	40.78	± 1.79	40.82	± 0.17	41.22	± 1.09	35.29	± 2.42	36.00	± 0.89
	25	38.18	± 0.64	40.29	± 0.87	42.10	± 1.52	39.91	± 1.98	41.30	± 0.69	40.41	± 0.76	34.53	± 0.06	34.18	± 1.03
	45	38.18	± 0.64	35.91	± 0.36	33.13	± 4.02	29.82	± 2.46	27.52	± 2.84	24.71	± 1.91	20.30	± 3.47	12.43	± 1.01
H	5	39.30	± 0.25	39.58	± 0.40	40.97	± 1.40	39.72	± 0.84	39.14	± 0.10	39.34	± 0.64	35.06	± 1.04	32.39	± 3.32
	25	39.30	± 0.25	41.05	± 0.28	41.63	± 1.02	42.73	± 0.56	39.47	± 1.77	41.58	± 1.58	36.94	± 0.82	36.76	± 1.22
	45	39.30	± 0.25	38.48	± 3.00	37.78	± 0.25	34.88	± 1.77	30.67	± 4.80	34.58	± 1.24	23.62	± 2.42	25.40	± 0.05

Çizelge 4.55. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C* değerlerine ait varyans analizi sonuçları

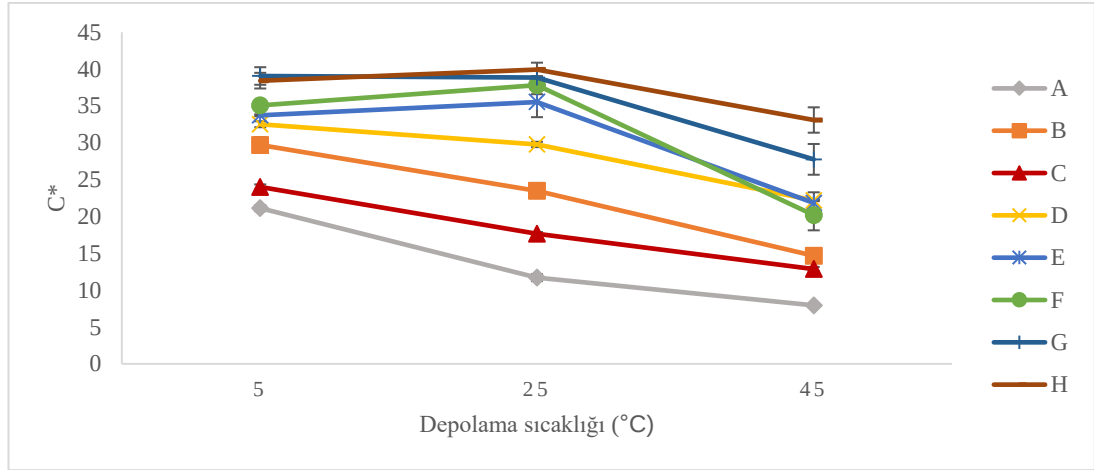
VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	4797.13	1242.20**
Formül (B)	7	3284.31	850.46**
Depolama süresi (C)	7	2370.95	613.95**
A* B	14	129.45	33.52**
B * C	49	73.01	18.91**
A * C	14	138.21	35.79**
A* B* C	98	22.2	5.75**
Hata	192	3.86	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

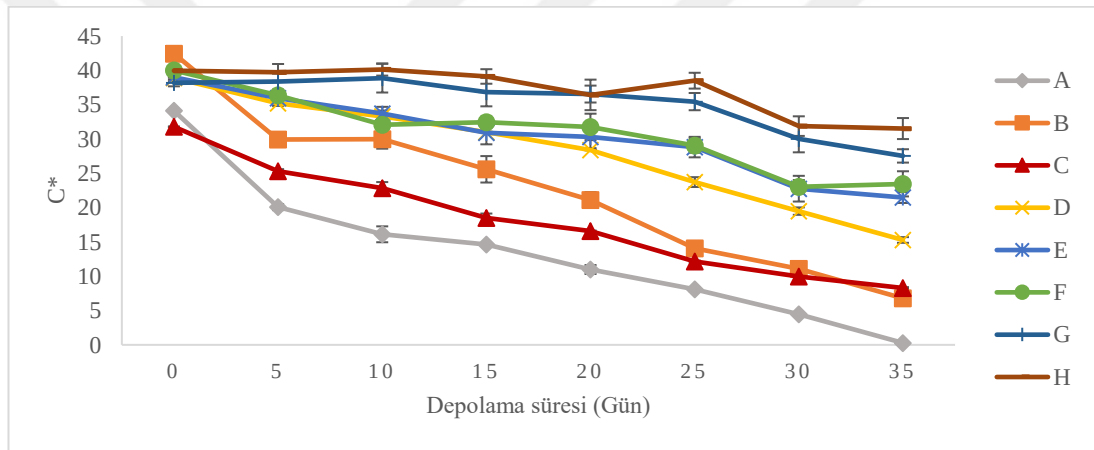
Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak C* değerinin değişimi Şekil 4.58, 4.59 ve 4.60’da verilmiştir. Şekil 4.58 incelendiğinde sadece ekstrakt içeren 2 formülle hazırlanan pilavların (A ve B) ve tek katmanlı emülsiyonlarla hazırlanan pilavların C* değerlerinin diğer örneklerle göre düşük olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle, ekstraktlar ve tek katmanlı emülsiyonlar renk yoğunluğunu koruyamamıştır. Yine aynı şekle bakılarak G ve H formülleriyle hazırlanan pilavların C* değerlerinin her depolama sıcaklığında diğer örneklerden yüksek olduğu, dolayısıyla da bu örneklerin renk yoğunluğunu koruduğu görülmektedir. Formüle ve depolama süresine bağlı C* değerlerinin ortalamaları Şekil 4.59’da görülmektedir. A formülüyle hazırlanan safranlı pilavlar depolamanın 35. gününde renk yoğunluğunu neredeyse tamamen kaybederken; B, C ve D örneklerinde de ciddi bir azalma olduğu anlaşılmaktadır. C* değerini ve dolayısıyla renk yoğunluğunu en iyi koruyan örneklerin, G ve H formülüyle hazırlanan safranlı pilavlar olduğu görülmektedir. G ve H formüllerinin üretiminde uygulanan ultrasonikasyon işleminin emülsiyon stabilitesini artırdığı, dolayısıyla bu örneklerin renk yoğunluğunu kaybetmediği değerlendirilmiştir. Şekil 4.60 incelendiğinde 45°C’de depolanan formüllerin renk yoğunluğunun depolama süresince hızla azaldığı da açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.56. Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C* değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

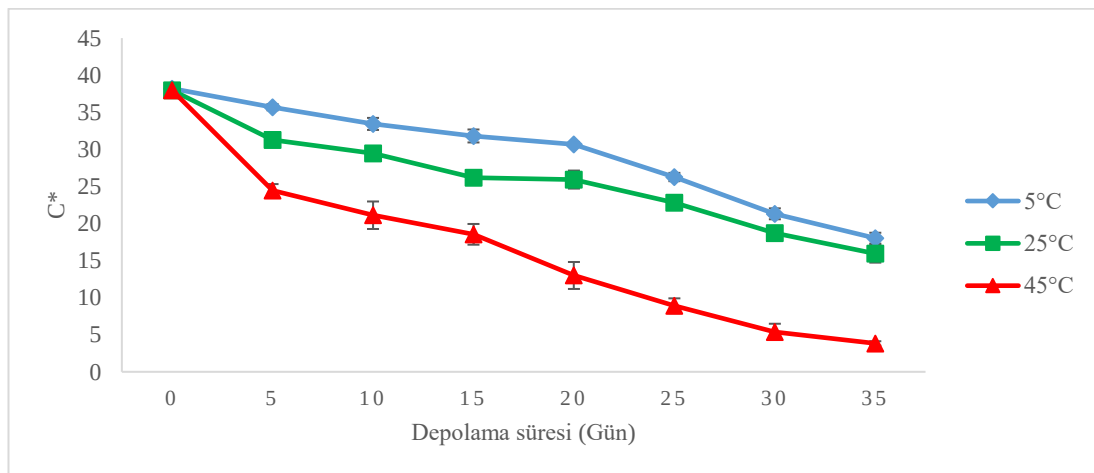
Sıcaklık (°C)	45	25	5					
	20.13 ^c ± 12.82	29.37 ^b ± 12.30	31.70 ^a ± 8.76					
Formül	A	C	B	D	E	F	G	H
	13.59 ^f ± 11.92	18.18 ^e ± 9.35	22.62 ^d ± 13.21	28.16 ^c ± 9.22	30.37 ^b ± 9.41	31.03 ^b ± 10.83	36.24 ^a ± 6.36	36.37 ^a ± 6.31
Depolama süresi (Gün)	35	30	25	20	15	10	5	0
	16.99 ^h ± 13.27	19.04 ^g ± 12.25	23.80 ^f ± 13.38	26.44 ^e ± 11.98	28.71 ^d ± 9.88	30.88 ^c ± 9.31	32.62 ^b ± 8.19	38.06 ^a ± 3.29



Şekil 4.58. Depolama sıcaklığının ve formülün safranlı pilavların C* değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.59. Depolama süresinin ve formülün safranlı pilavların C* değerleri üzerine etkisi



Şekil 4.60. Depolama süresinin ve sıcaklığının safranlı pilavların C* değerleri üzerine etkisi

4.7.2. Parçacık boyutu analizi

Farklı formüllerle hazırlanmış emülsiyonların depolama süresince 5 günlük periyotlarda parçacık boyutu analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerle, emülsiyonlara ait D_{43} ve açıklık değerleri hesaplanmıştır. Ancak D_{43} değerinin, bir emülsiyondaki büyük parçacıkların varlığına ve dolayısıyla flokülasyon gibi fenomenlere karşı D_{32} değerinden çok daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (McClement 2004). Bu yüzden çalışmada emülsiyonların depolamaya bağlı stabilitesi D_{43} değerleri üzerinden değerlendirilmiştir.

Emülsiyonların depolama boyunca D_{43} değerlerinin değişimi Çizelge 4.57’de verilmiştir. Tüm emülsiyonlarda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça parçacık boyutunun da arttığı görülmektedir. C ve D formülündeki emülsiyonların parçacık boyutlarının depolama süresince birbirine yakın değerlerde olduğu ve genel olarak diğer emülsiyonlarınkinden daha büyük parçacıklara sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin bu emülsiyonların pervaneli karıştırıcı kullanılarak üretilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer emülsiyon formüllerinde ultra-turrax ve/veya ultrasonikasyon işleminin olması o formüllere ait emülsiyonların parçacık boyutunun küçülmesine neden olduğu değerlendirilmiştir. Tek katlı emülsiyonların hazırlanmasında bu tip yüksek hızlı veya kavitasyona neden olan karıştırıcıların kullanılması, emülsiyonlarda ani sıcaklık yükselmelerine neden olmakta ve biyoaktif bileşenlere zarar vermektedir. Bu nedenle çalışmamızda tek katmanlı emülsiyonlar pervaneli karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işlemlerinin birlikte uygulandığı emülsiyonların parçacık boyutlarının depolama süresince diğer formüllere kıyasla çok daha küçük oldukları görülmektedir. Ayrıca E ve G formülüne sahip emülsiyonların parçacık boyutu F ve H formülüne sahip emülsiyonlarınkine göre daha küçük hesaplanmıştır. Bunun kaynağının emülsiyonların dış sulu fazındaki WPI’nın molekülün ağırlığının BSD’den daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Emülsiyonların depolama süresince hesaplanan D_{43} değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.58’de verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin D_{43} değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.57. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan D_{43} değerleri (μm)

Formül	Depolama sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	Depolama süresi (Gün)											
		0	5	10	15	20	25	30	35				
C	5	103.40 $\pm$ 0.67	106.26 $\pm$ 0.36	109.49 $\pm$ 0.13	112.76 $\pm$ 0.25	115.33 $\pm$ 0.05	117.66 $\pm$ 1.06	123.38 $\pm$ 0.33	125.89 $\pm$ 0.38				
	25	103.40 $\pm$ 0.67	107.67 $\pm$ 0.13	113.10 $\pm$ 1.49	117.61 $\pm$ 0.85	122.10 $\pm$ 0.06	124.88 $\pm$ 0.62	125.61 $\pm$ 0.11	128.93 $\pm$ 0.19				
	45	103.40 $\pm$ 0.67	132.42 $\pm$ 1.54	136.49 $\pm$ 0.32	143.34 $\pm$ 0.69	147.91 $\pm$ 0.26	148.63 $\pm$ 0.12	151.69 $\pm$ 0.22	157.12 $\pm$ 0.29				
D	5	102.13 $\pm$ 0.18	106.87 $\pm$ 1.41	112.28 $\pm$ 0.18	115.12 $\pm$ 0.15	116.86 $\pm$ 0.26	118.91 $\pm$ 0.39	123.75 $\pm$ 0.57	127.11 $\pm$ 0.23				
	25	102.13 $\pm$ 0.18	111.41 $\pm$ 0.19	112.97 $\pm$ 0.12	115.33 $\pm$ 0.16	116.93 $\pm$ 0.43	120.41 $\pm$ 0.19	123.82 $\pm$ 0.42	127.65 $\pm$ 0.44				
	45	102.13 $\pm$ 0.18	135.55 $\pm$ 0.71	137.79 $\pm$ 0.02	138.58 $\pm$ 0.19	139.96 $\pm$ 0.63	144.87 $\pm$ 0.70	150.13 $\pm$ 1.19	159.29 $\pm$ 0.22				
E	5	6.25 $\pm$ 0.04	13.99 $\pm$ 0.50	15.86 $\pm$ 0.42	18.61 $\pm$ 0.17	23.03 $\pm$ 0.91	26.06 $\pm$ 0.32	26.46 $\pm$ 1.43	29.02 $\pm$ 0.24				
	25	6.25 $\pm$ 0.04	17.41 $\pm$ 0.64	18.13 $\pm$ 0.49	20.44 $\pm$ 0.08	21.53 $\pm$ 0.10	25.60 $\pm$ 0.21	29.28 $\pm$ 0.35	35.21 $\pm$ 1.85				
	45	6.25 $\pm$ 0.04	40.44 $\pm$ 0.09	45.27 $\pm$ 0.01	45.61 $\pm$ 1.33	47.59 $\pm$ 0.79	50.45 $\pm$ 0.21	53.24 $\pm$ 0.31	55.77 $\pm$ 0.58				
F	5	10.57 $\pm$ 0.10	10.35 $\pm$ 0.73	10.93 $\pm$ 0.24	16.59 $\pm$ 1.03	19.42 $\pm$ 0.25	22.47 $\pm$ 0.16	22.74 $\pm$ 1.60	29.02 $\pm$ 0.24				
	25	10.57 $\pm$ 0.10	24.07 $\pm$ 3.10	29.63 $\pm$ 0.13	28.94 $\pm$ 0.53	31.70 $\pm$ 0.35	33.05 $\pm$ 0.73	36.11 $\pm$ 0.42	36.63 $\pm$ 1.13				
	45	10.57 $\pm$ 0.10	25.57 $\pm$ 0.81	28.31 $\pm$ 0.11	28.86 $\pm$ 0.25	29.27 $\pm$ 0.17	33.03 $\pm$ 1.89	55.61 $\pm$ 0.19	58.59 $\pm$ 0.14				
G	5	7.19 $\pm$ 0.00	8.75 $\pm$ 0.18	9.36 $\pm$ 0.23	10.69 $\pm$ 0.14	13.30 $\pm$ 0.11	15.36 $\pm$ 0.27	18.93 $\pm$ 1.52	21.37 $\pm$ 0.68				
	25	7.19 $\pm$ 0.00	10.61 $\pm$ 0.24	13.97 $\pm$ 0.04	17.59 $\pm$ 0.07	19.46 $\pm$ 0.06	22.68 $\pm$ 1.86	23.97 $\pm$ 0.04	28.29 $\pm$ 0.69				
	45	7.19 $\pm$ 0.00	13.95 $\pm$ 0.99	16.56 $\pm$ 0.17	20.38 $\pm$ 0.03	22.23 $\pm$ 0.14	26.47 $\pm$ 1.06	33.06 $\pm$ 1.83	42.14 $\pm$ 0.87				
H	5	10.62 $\pm$ 0.24	9.27 $\pm$ 0.04	10.61 $\pm$ 0.20	12.98 $\pm$ 0.09	16.85 $\pm$ 0.36	18.74 $\pm$ 0.25	21.39 $\pm$ 0.20	25.58 $\pm$ 0.10				
	25	10.62 $\pm$ 0.24	11.58 $\pm$ 0.17	17.48 $\pm$ 0.81	18.14 $\pm$ 0.31	20.62 $\pm$ 0.21	23.55 $\pm$ 1.23	26.46 $\pm$ 0.19	34.48 $\pm$ 0.04				
	45	10.62 $\pm$ 0.24	16.12 $\pm$ 1.11	20.24 $\pm$ 0.27	22.66 $\pm$ 0.16	25.44 $\pm$ 0.01	30.37 $\pm$ 0.09	42.05 $\pm$ 0.51	48.28 $\pm$ 1.14				

Çizelge 4.58. Emülsiyonların D_{43} değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	8592.95	9348.80**
Formül (B)	5	129346.68	140724.00**
Depolama süresi (C)	7	3270.75	3558.46**
A * B	10	378.53	411.83**
B * C	35	37.04	40.30**
A * C	14	221.84	241.36**
A * B * C	70	19.75	21.49**
Hata	144	0.91	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

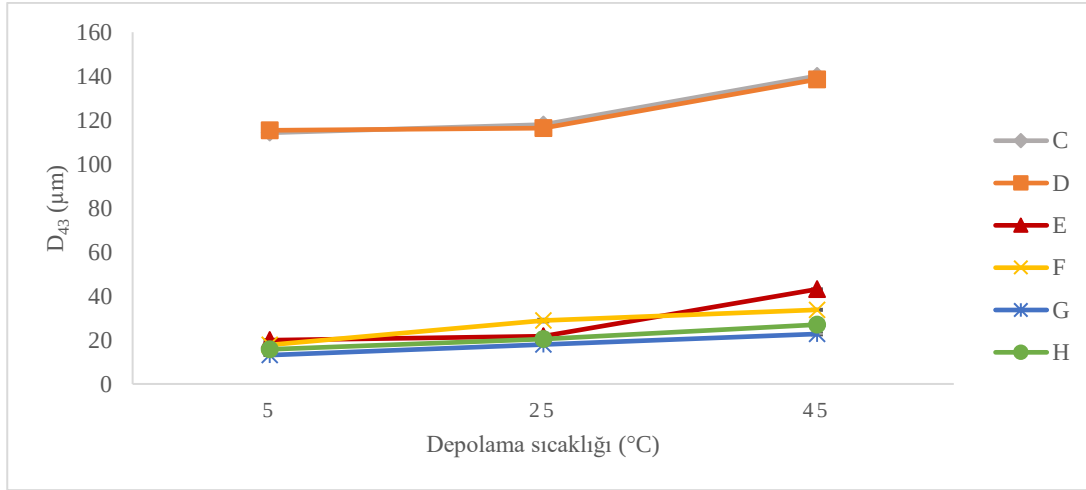
Emülsiyonların depolama süresince ölçülen D_{43} değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.59’da verilmiştir. En düşük D_{43} değeri (17.95) H formülüne ait emülsiyonlarda görülürken, en yüksek D_{43} değeri (124.10) D formülüne ait emülsiyonlarda ölçülmüştür. En düşük D_{43} değerlerinin; H formülüyle hazırlanan emülsiyonlarda ölçülmesinin, dış sulu fazda BSD içermesinde ve ultrasonikasyon işlemi uygulanmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. En yüksek D_{43} değerinin D formülüne ait emülsiyonda ölçülmesinin yukarıda da bahsedildiği gibi bu emülsiyonların hazırlanışında pervaneli karıştırıcının kullanılması olduğu düşünülmektedir.

Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak emülsiyonların D_{43} değerlerinin değişimi Şekil 4.61, 4.62 ve 4.63’te verilmiştir. Şekil 4.61 ve 4.62 incelendiğinde C ve D formülüne sahip emülsiyonlara ait eğrilerin neredeyse çakışık olduğu ve D_{43} değerlerinin diğer formüllere kıyasla, tüm sıcaklık değerlerinde ve depolama boyunca daha yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 4.63 incelendiğinde 45°C’de depolanan emülsiyonların D_{43} değerlerinin depolama süresince arttığı açıkça görülmektedir.

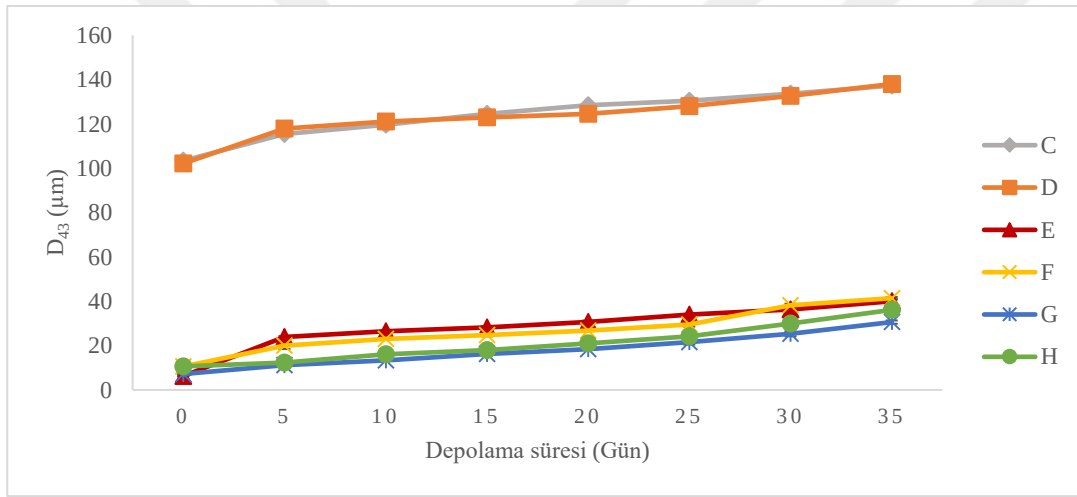
Özetle; tek katmanlı emülsiyonların parçacık boyutları diğer emülsiyonlara kıyasla büyüktür. D_{43} verilerine ait ham veri tablosunda da değerlendirildiği gibi bunun nedeninin tek katmanlı emülsiyonların pervaneli karıştırıcı kullanılarak üretilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer emülsiyon formüllerinde ultra-turrax ve/veya ultrasonikasyon işleminin olması o formüllere ait emülsiyonların parçacık boyutunun daha küçük olmasını sağladığı değerlendirilmiştir. Tek katlı emülsiyonların hazırlanmasında bu tip yüksek hızlı veya kavitasyona neden olan karıştırıcıların kullanılması, emülsiyonlarda ani sıcaklık yükselmelerine neden olmakta ve biyoaktif bileşenlere zarar vermektedir (McClements 2015). Bu nedenle çalışmamızda tek katmanlı emülsiyonlar pervaneli karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işlemlerinin birlikte uygulandığı emülsiyonların (G ve H) parçacık boyutlarının depolama süresince diğer formüllere kıyasla çok daha küçük kaldıkları görülmektedir.

Çizelge 4.59. Emülsiyonların D_{43} değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

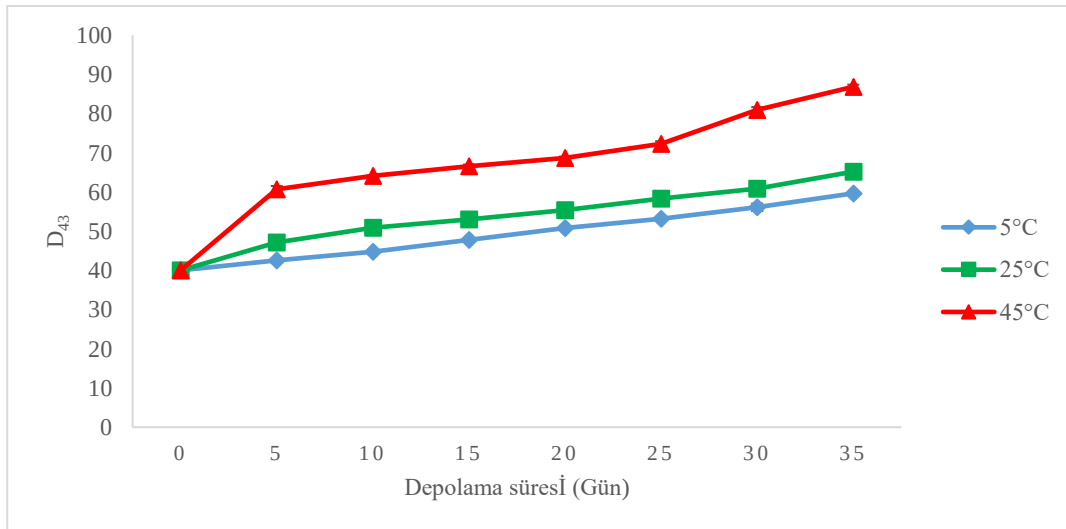
Sıcaklık (°C)	5 °C	25 °C	45 °C				
	49.37 ^c ± 47.05	53.86 ^b ± 45.76	67.53 ^a ± 53.32				
Formül	H	G	F	E	C	D	
	17.95 ^f ± 8.70	21.03 ^e ± 9.96	28.24 ^c ± 15.05	26.77 ^d ± 12.54	123.42 ^b ± 15.46	124.10 ^a ± 16.18	
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30
	40.03 ^h ± 45.02	50.13 ^g ± 48.84	53.25 ^f ± 49.31	55.79 ^e ± 49.84	58.31 ^d ± 49.98	61.29 ^c ± 49.80	65.98 ^b ± 49.63
							70.58 ^a ± 49.77



Şekil 4.61. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi



Şekil 4.62. Depolama süresinin ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi



Şekil 4.63. Depolama süresinin ve sıcaklığının, emülsiyonların D_{43} değeri üzerine etkisi

Emülsiyonların depolama boyunca açıklık değerlerinin değişimi Çizelge 4.60'da verilmiştir. Tüm emülsiyonlarda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça açıklık değerinin arttığı görülmektedir. D_{43} değerlerinde olduğu gibi açıklık değerlerinde de C ve D formülündeki emülsiyonların açıklık değerlerinin depolama süresince birbirine yakın değerlerde olduğu ve genel olarak diğer emülsiyonlarından daha büyük olduğu görülmektedir. Ultrasonikasyon uygulanan emülsiyonların (G ve H) depolama sonundaki açıklık değerinin, aynı formüle sahip olup ultrasonikasyon uygulanmayanlardan (E ve F) daha yüksek olduğu görülmektedir. Emülsiyonun homojenliği konusunda bilgi veren bu değer; ultrasonikasyon işleminin, emülsiyonların homojen yapısını korumasını desteklediği değerlendirilmiştir.

Emülsiyonların depolama süresince hesaplanan açıklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.61'de verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve depolama sıcaklığı x formül interaksyonunun, örneklerin açıklık değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Emülsiyonların depolama süresince hesaplanan açıklık değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.62'de verilmiştir. En düşük açıklık değeri (1.11) depolamanın 0. gününde görülürken, en yüksek açıklık değeri (1.49) C ve D formüllerine ait emülsiyonlarda ölçülmüştür. En düşük açıklık değerlerinin; depolamanın 0. gününde ölçülmesinin, emülsiyonların henüz taze ve homojen olmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. En yüksek açıklık değerinin C ve D formüllerine ait emülsiyonlarda ölçülmesinin yukarıda da bahsedildiği gibi bu emülsiyonların hazırlanışında pervaneli karıştırıcının kullanılması olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.60. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)																							
		0			5			10			15			20			25			30			35		
C	5	1.24	±	0.02	1.29	±	0.07	1.30	±	0.11	1.30	±	0.01	1.33	±	0.14	1.48	±	0.01	1.51	±	0.09	1.58	±	0.05
	25	1.24	±	0.02	1.29	±	0.01	1.29	±	0.01	1.38	±	0.13	1.38	±	0.08	1.51	±	0.06	1.53	±	0.09	1.67	±	0.06
	45	1.24	±	0.02	1.40	±	0.00	1.70	±	0.04	1.76	±	0.05	1.76	±	0.03	1.82	±	0.02	1.84	±	0.01	2.00	±	0.00
D	5	1.25	±	0.02	1.29	±	0.07	1.30	±	0.10	1.33	±	0.14	1.33	±	0.14	1.48	±	0.00	1.50	±	0.07	1.56	±	0.04
	25	1.25	±	0.02	1.28	±	0.01	1.29	±	0.06	1.39	±	0.09	1.39	±	0.09	1.50	±	0.05	1.69	±	0.07	1.65	±	0.05”
	45	1.25	±	0.02	1.40	±	0.01	1.44	±	0.35	1.70	±	0.05	1.75	±	0.03	1.82	±	0.02	1.84	±	0.01	2.01	±	0.01
E	5	1.11	±	0.17	1.17	±	0.27	1.21	±	0.11	1.24	±	0.07	1.35	±	0.22	1.29	±	0.19	1.32	±	0.08	1.35	±	0.04
	25	1.11	±	0.17	1.21	±	0.16	1.31	±	0.04	1.30	±	0.21	1.33	±	0.04	1.37	±	0.08	1.35	±	0.21	1.37	±	0.06
	45	1.11	±	0.17	1.22	±	0.11	1.29	±	0.07	1.35	±	0.02	1.35	±	0.03	1.36	±	0.00	1.38	±	0.13	1.37	±	0.00
F	5	1.10	±	0.04	1.14	±	0.04	1.19	±	0.17	1.22	±	0.07	1.29	±	0.03	1.33	±	0.01	1.33	±	0.03	1.36	±	0.02
	25	1.10	±	0.04	1.17	±	0.32	1.30	±	0.14	1.31	±	0.18	1.29	±	0.11	1.35	±	0.03	1.35	±	0.09	1.36	±	0.07
	45	1.10	±	0.04	1.16	±	0.01	1.28	±	0.05	1.29	±	0.00	1.33	±	0.07	1.36	±	0.02	1.37	±	0.07	1.38	±	0.07
G	5	1.10	±	0.12	1.12	±	0.03	1.16	±	0.08	1.23	±	0.15	1.25	±	0.22	1.25	±	0.06	1.25	±	0.01	1.28	±	0.02
	25	1.10	±	0.12	1.13	±	0.20	1.22	±	0.19	1.28	±	0.02	1.30	±	0.34	1.30	±	0.03	1.30	±	0.04	1.31	±	0.04
	45	1.10	±	0.12	1.20	±	0.26	1.29	±	0.05	1.29	±	0.06	1.30	±	0.14	1.30	±	0.06	1.31	±	0.01	1.34	±	0.08
H	5	0.89	±	0.05	1.08	±	0.01	1.11	±	0.06	1.15	±	0.08	1.17	±	0.08	1.20	±	0.06	1.32	±	0.11	1.27	±	0.04
	25	0.89	±	0.05	1.14	±	0.31	1.11	±	0.06	1.18	±	0.22	1.20	±	0.14	1.27	±	0.01	1.30	±	0.16	1.30	±	0.01
	45	0.89	±	0.05	1.13	±	0.28	1.15	±	0.07	1.18	±	0.03	1.19	±	0.06	1.28	±	0.02	1.29	±	0.08	1.32	±	0.10

Çizelge 4.61. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerlerine ait varyans analizi sonuçları

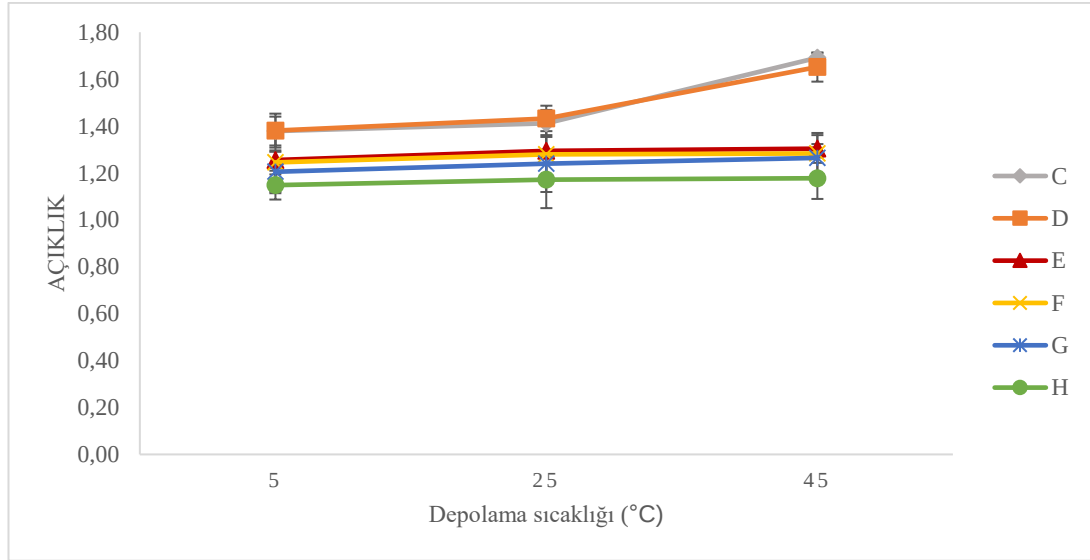
VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	0.40	16.76**
Formül (B)	5	0.89	36.92**
Depolama süresi (C)	7	0.51	21.12**
A* B	10	0.08	3.56**
B* C	35	0.01	0.69
A* C	14	0.01	0.51
A* B* C	70	0.00	0.20
Hata	144	0.02	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak emülsiyonların açıklık değerlerinin değişimi Şekil 4.64'te verilmiştir. İlgili şekil incelendiğinde tüm depolama sıcaklıklarında depolama boyunca en düşük açıklık değeri ortalamalarının H emülsiyonunda hesaplandığı görülmektedir. C ve D formülüne sahip emülsiyonlara ait eğrilerin neredeyse çakışık olduğu ve açıklık değerlerinin diğer formüllere kıyasla, tüm sıcaklık değerlerinde depolama boyunca daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca C ve D formülüne ait emülsiyonların açıklık değerlerinin 45°C'deki ortalamasının en yüksek değerde olduğu açıkça görülmektedir. Bunun nedeninin artan sıcaklıkla beraber artan flokülasyonla beraber emülsiyonun homojenliğini kaybetmesi olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.62. Emülsiyonların depolama boyunca hesaplanan açıklık değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	5 °C	25 °C	45 °C					
	1.27 ^b ± 0.17	1.30 ^b ± 0.20	1.39 ^a ± 0.27					
Formül	H	G	F	E	C	D		
	1.17 ^c ± 0.18	1.24 ^b ± 0.16	1.27 ^b ± 0.14	1.28 ^b ± 0.16	1.49 ^a ± 0.24	1.49 ^a ± 0.23		
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30	35
	1.11 ^e ± 0.15	1.21 ^d ± 0.20	1.27 ^{cd} ± 0.18	1.33 ^c ± 0.19	1.35 ^{bc} ± 0.21	1.40 ^{ab} ± 0.18	1.43 ^a ± 0.20	1.47 ^a ± 0.23



Şekil 4.64. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların açıklık değeri üzerine etkisi

4.7.3. Stabilite testi

Emülsiyonların stabilitesinin belirlenmesi amacıyla yaklaşık 10 mL emülsiyon bir test tüpüne aktarılmış ve tüpler ağzı kapatılarak 35 gün boyunca 5, 25 ve 45°C sıcaklıktaki karanlık ortamda hareketsiz bir şekilde depolanmıştır. Depolama süresince 5 günlük periyotlarla faz ayrımları izlenmiş ve emülsiyonların parçacık boyutları ölçülmüştür. Hesaplamalar D_{43} değerleri üzerinden, 0. gün değerlerine oranlanarak % Enkapsülasyon Stabilite İndeksi (ESİ) olarak hesaplanmıştır. ESİ değeri 1'den büyük bir değerdir ve bu değer büyüdükçe stabilitenin bozulduğunu ifade etmektedir (Esfanjani vd. 2017).

Depolama boyunca, D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESİ değerleri Çizelge 4.63'te verilmiştir. Tüm emülsiyonlarda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça, parçacık boyutuna bağlı ESİ değerinin arttığı görülmektedir. ESİ değerleri bakımından tek katmanlı emülsiyonların ve çoklu emülsiyonların kendi aralarında karşılaştırılmasının daha doğru olacağı düşünülmüştür. Tek katmanlı emülsiyonlarda 0. gündeki parçacık boyutunun zaten büyük olmasından ötürü depolama sonundaki parçacık boyutuyla oranlandığında yüksek stabilite gösterdiği yanılgısı oluşturmaktadır. Diğer bir deyişle aslında başlangıçta zaten büyük parçacıklara sahip tek katmanlı emülsiyonlar, depolama sonunda yine buna göre nispeten biraz daha büyük parçacıklara ulaşmıştır. Çoklu emülsiyonlar kendi aralarında değerlendirildiğinde açıkça görülmektedir ki depolama süresinin ve sıcaklığının artışından en az etkilenen emülsiyon ESİ değeri en düşük olan H formülüne sahip emülsiyondur. Bunun; hem uygulanan ultrasonikasyon işleminden, hem de protein-polisakkarit karışımının kullanılmasının bunların tek başına kullanılmasına kıyasla daha stabil emülsiyonlar oluşturmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir (Esfanjani vd. 2017; McClement 2004).

Çizelge 4.63. Emülsiyonların depolama boyunca D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)																							
		0			5			10			15			20			25			30			35		
C	5	1.00	±	0.00	1.03	±	0.00	1.06	±	0.01	1.09	±	0.00	1.12	±	0.01	1.14	±	0.00	1.19	±	0.00	1.22	±	0.00
	25	1.00	±	0.00	1.04	±	0.01	1.09	±	0.01	1.14	±	0.00	1.18	±	0.01	1.21	±	0.00	1.21	±	0.01	1.25	±	0.01
	45	1.00	±	0.00	1.28	±	0.01	1.32	±	0.01	1.39	±	0.00	1.43	±	0.01	1.44	±	0.01	1.47	±	0.01	1.52	±	0.01
D	5	1.00	±	0.00	1.05	±	0.01	1.10	±	0.00	1.13	±	0.00	1.14	±	0.00	1.16	±	0.00	1.21	±	0.00	1.24	±	0.00
	25	1.00	±	0.00	1.09	±	0.00	1.11	±	0.00	1.13	±	0.00	1.14	±	0.00	1.18	±	0.00	1.21	±	0.01	1.25	±	0.00
	45	1.00	±	0.00	1.33	±	0.00	1.35	±	0.00	1.36	±	0.00	1.37	±	0.01	1.42	±	0.00	1.47	±	0.01	1.56	±	0.00
E	5	1.00	±	0.00	2.24	±	0.07	2.55	±	0.05	2.98	±	0.01	3.69	±	0.17	4.17	±	0.08	4.23	±	0.21	4.65	±	0.01
	25	1.00	±	0.00	2.80	±	0.08	2.91	±	0.10	3.27	±	0.01	3.45	±	0.04	4.10	±	0.06	4.69	±	0.09	5.64	±	0.26
	45	1.00	±	0.00	6.48	±	0.03	7.25	±	0.05	7.31	±	0.26	7.62	±	0.08	8.08	±	0.02	8.53	±	0.10	8.94	±	0.16
F	5	1.00	±	0.00	1.00	±	0.08	1.04	±	0.01	1.57	±	0.11	1.84	±	0.01	2.13	±	0.04	2.15	±	0.17	2.75	±	0.00
	25	1.00	±	0.00	2.28	±	0.27	2.81	±	0.01	2.75	±	0.07	3.00	±	0.01	3.13	±	0.04	3.42	±	0.07	3.47	±	0.07
	45	1.00	±	0.00	2.42	±	0.10	2.68	±	0.04	2.73	±	0.05	2.77	±	0.04	3.13	±	0.21	5.27	±	0.03	5.55	±	0.04
G	5	1.00	±	0.00	1.22	±	0.02	1.30	±	0.03	1.49	±	0.02	1.85	±	0.01	2.14	±	0.04	2.63	±	0.21	2.97	±	0.09
	25	1.00	±	0.00	1.48	±	0.03	1.94	±	0.00	2.45	±	0.01	2.71	±	0.01	3.15	±	0.26	3.33	±	0.00	3.93	±	0.10
	45	1.00	±	0.00	1.94	±	0.14	2.30	±	0.03	2.83	±	0.01	3.09	±	0.02	3.68	±	0.15	4.60	±	0.25	5.86	±	0.12
H	5	1.00	±	0.00	1.00	±	0.02	1.00	±	0.00	1.22	±	0.04	1.59	±	0.00	1.76	±	0.02	2.01	±	0.03	2.41	±	0.06
	25	1.00	±	0.00	1.09	±	0.04	1.65	±	0.04	1.71	±	0.07	1.94	±	0.06	2.22	±	0.07	2.49	±	0.04	3.25	±	0.07
	45	1.00	±	0.00	1.52	±	0.14	1.91	±	0.07	2.14	±	0.06	2.40	±	0.05	2.86	±	0.06	3.96	±	0.04	4.55	±	0.21

Emülsiyonların depolama süresince parçacık boyutuna bağlı hesaplanan ESI değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.64'te verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, emülsiyonların parçacık boyutuna bağlı hesaplanan ESI değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.64. Emülsiyonların depolama boyunca D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	47.96	2792.57**
Formül (B)	5	71.85	4183.84**
Depolama süresi (C)	7	21.21	1235.27**
A * B	10	8.44	491.65**
B * C	35	2.4	140.06**
A * C	14	1.33	77.52**
A * B * C	70	0.28	16.63**
Hata	144	0.02	

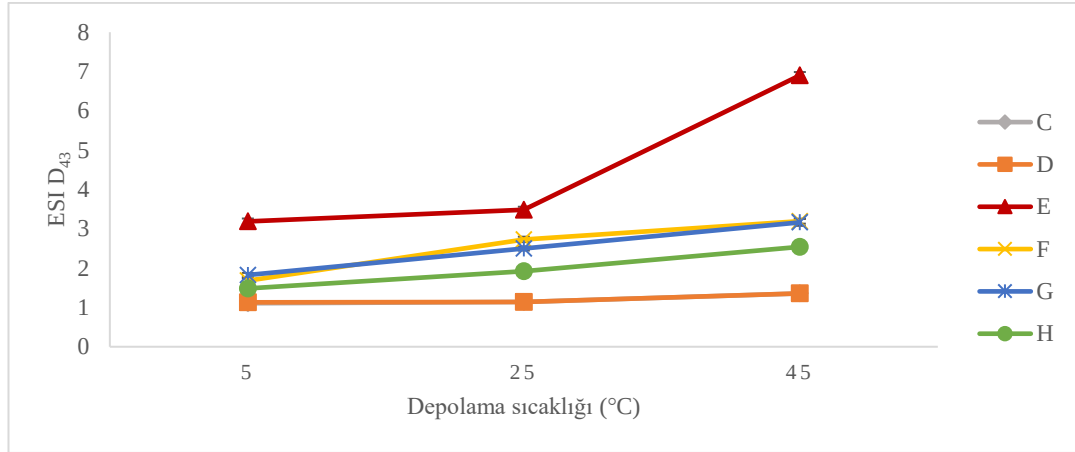
(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Emülsiyonların depolama süresince D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.65'te verilmiştir. En düşük ESI değeri (1.00) depolamanın 0. gününde görülürken, en yüksek ESI değeri (1.49) E formülüne sahip emülsiyonlarda ölçülmüştür. En yüksek ESI değerinin E formülüne sahip emülsiyonlarda ölçülmesinin nedeninin, tek başına BSD kullanımının ve ultra-turrax işleminin çoklu emülsiyon stabilitesini sağlamakta yetersiz kalması olduğu değerlendirilmiştir.

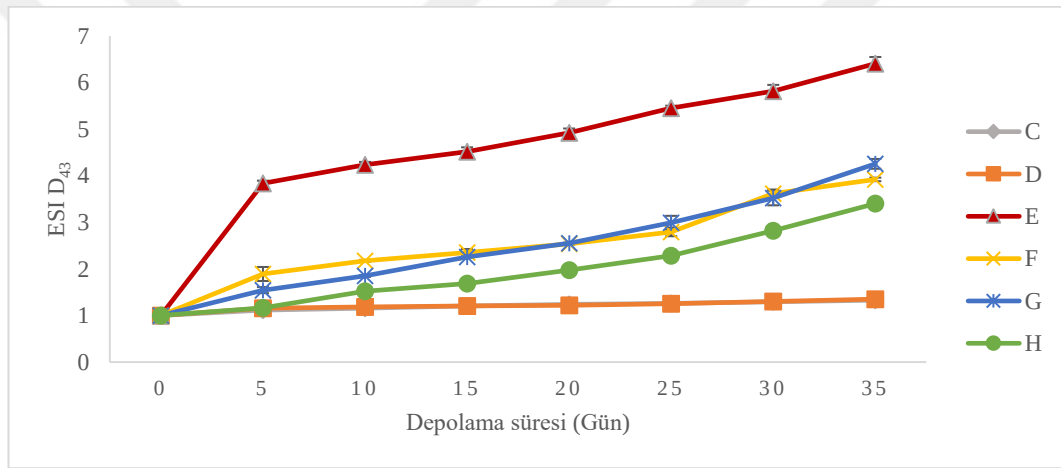
Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerinin değişimi Şekil 4.65, 4.66 ve 4.67'de verilmiştir. Şekil 4.65 ve 4.66'ya bakılırsa; çoklu emülsiyonlar kendi aralarında değerlendirildiğinde depolama süresince ve tüm depolama sıcaklıklarında en yüksek stabiliteyi H formülüne sahip emülsiyon gösterirken, en düşük stabiliteyi E formülüne sahip emülsiyon göstermiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi bunun H emülsiyonu için; hem uygulanan ultrasonikasyon işleminden, hem de protein-polisakkarit karışımının kullanılmasının bunların tek başına kullanılmasına kıyasla daha stabil emülsiyonlar oluşturmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Şekil 4.67 incelendiğinde 45°C'de depolanan emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerinin depolama süresince daha fazla arttığı görülmektedir.

Çizelge 4.65. Emülsiyonların depolama boyunca D_{43} değeri üzerinden hesaplanan ESI değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

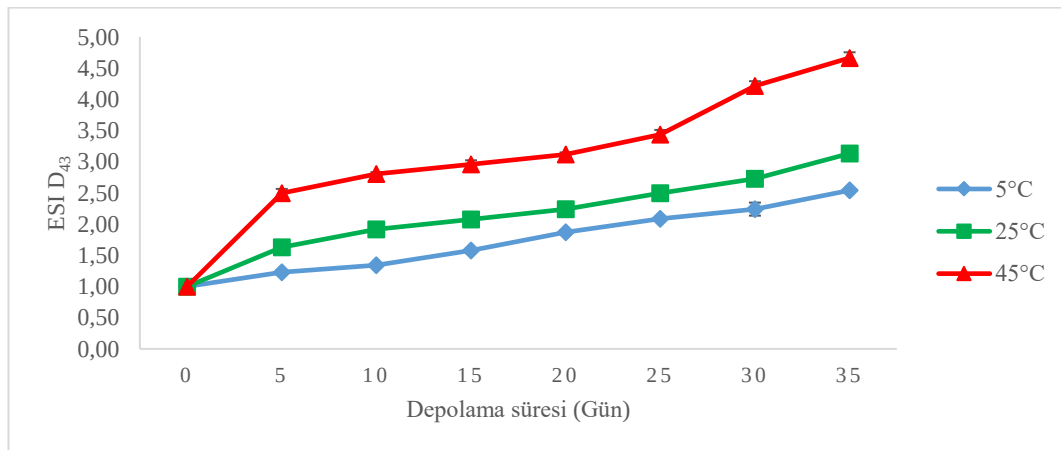
Sıcaklık (°C)	5 °C	25 °C	45 °C					
	1.74 ^c ± 0.95	2.05 ^b ± 1.14	3.09 ^a ± 2.31					
Formül	C	D	H	F	G	E		
	1.20 ^e ± 0.16	1.21 ^e ± 0.15	1.98 ^d ± 0.94	2.32 ^c ± 1.21	2.50 ^b ± 1.21	4.52 ^a ± 2.41		
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30	35
	1.00 ^h ± 0.00	1.73 ^g ± 1.29	1.96 ^f ± 1.44	2.15 ^e ± 1.45	2.35 ^d ± 1.53	2.63 ^c ± 1.67	3.03 ^b ± 1.91	3.45 ^a ± 2.10



Şekil 4.65. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan $ESİ$ değerlerine üzerine etkisi



Şekil 4.66. Depolama süresinin ve formülün, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan $ESİ$ değerlerine üzerine etkisi

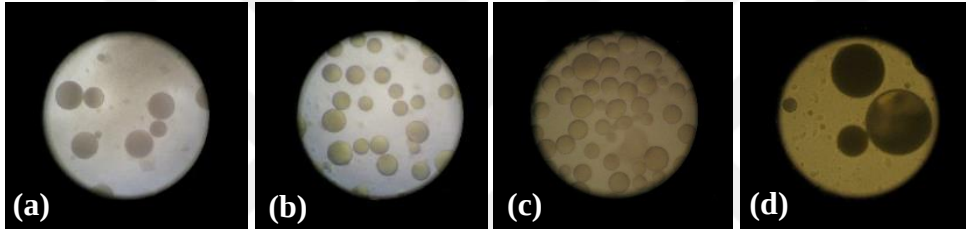


Şekil 4.67. Depolama süresinin ve sıcaklığın, emülsiyonların D_{43} değeri üzerinden hesaplanan $ESİ$ değerlerine üzerine etkisi

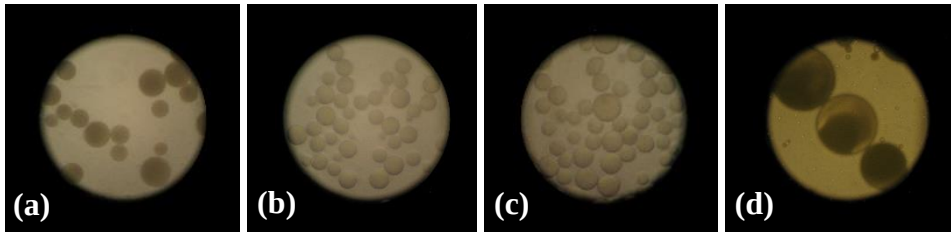
4.7.4. Mikroskop ile mikro yapı görüntü analizi

Mehrnia vd. (2017)'nin yöntemine göre emülsiyonlarda mikro yapının belirlenmesinde floresan mikroskop (MCX300, MICROS Produktions und handelsgesmbH. Veit/Glan, Avusturya) kullanılmıştır. Mikroskop altındaki görüntülerin dijital fotoğraf makinesi (EOS 450D, Canon Inc., Tokyo, Japonya) ile fotoğrafları çekilmiştir.

Tek katmanlı emülsiyonların mikro yapılarına ait görüntüler Şekil 4.68 ve Şekil 4.69'da gösterilmiştir. Çalışmanın metot basamağında detaylı bir şekilde de anlatıldığı gibi bu emülsiyonların üretiminde %67 ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 ekstrakt kullanılmıştır. Elde edilen mikroskop görüntülerine göre bu örneklerde, çoklu emülsiyonlara göre üretim esnasında uygun yağ:surfektan:ekstrakt oranı kullanılarak oldukça düzgün dairesel yapıların oluştuğu görülmektedir. Ancak bu iki emülsiyon formülü ile çoklu emülsiyonlar karşılaştırıldığında üretimin ilk gününde zaten büyük olan tek katmanlı emülsiyon parçacıklarının depolama süresine ve sıcaklığına bağlı olarak daha da büyüdüğü net bir şekilde görülmektedir.



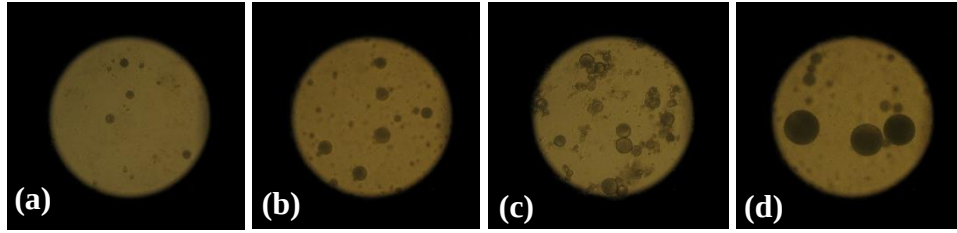
Şekil 4.68. C formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C'de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C'de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C'de depolanan emülsiyon örneği



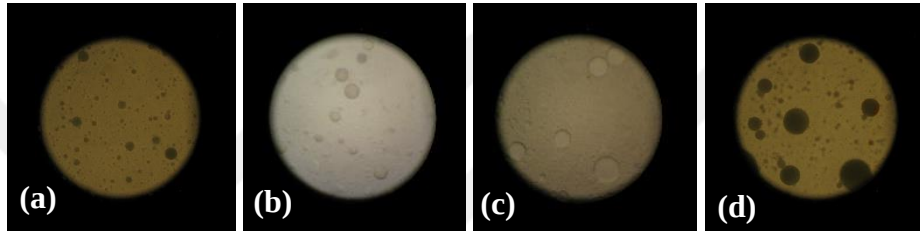
Şekil 4.69. D formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C'de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C'de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C'de depolanan emülsiyon örneği

Ultra-turrax işlemi uygulanarak E ve F formüllerine göre hazırlanan çoklu emülsiyonların mikroskop görüntüleri Şekil 4.70 ve 4.71'de gösterilmiştir. Üretim esnasında ultra-turrax kullanımı parçacık boyutlarının tek katmanlı emülsiyonlara göre daha küçük ve ultrasonikasyon sonucu üretilen emülsiyonlara göre daha büyük olmasına sebep olmuştur. Şekil 4.70 incelendiğinde 25°C'de 35 gün boyunca depolanan örnekte bariz bir şekilde flokulasyon görülmektedir. Emülsiyonlarda oluşan flokların sayısı, büyük, esneklik ve bir arada bulunma gibi özellikleri; emülsiyon sistemlerinin görünümünü, tadını, dokusunu ve stabilitesini doğrudan etkilemektedir. Flokların yapısı ve özellikleri esas olarak damlacıklar arasındaki kolloidal ve hidrodinamik etkileşimlerin niteliği ile

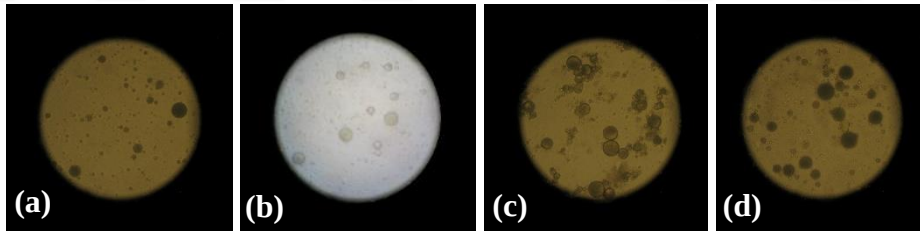
belirlenir. Ancak bunlar ayrıca damlacık çarpışmalarından sorumlu olan mekanizmaya, yani Brownian hareketi, yerçekimi veya mekanik karıştırmaya da bağlıdır (McClements 2015).



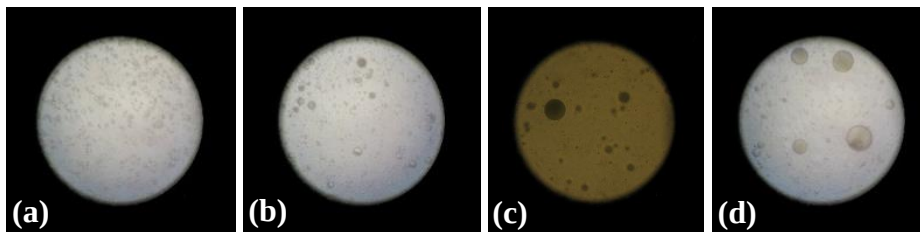
Şekil 4.70. E formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C’de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C’de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C’de depolanan emülsiyon örneği



Şekil 4.71. F formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C’de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C’de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C’de depolanan emülsiyon örneği



Şekil 4.72. G formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C’de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C’de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C’de depolanan emülsiyon örneği



Şekil 4.73. H formülüne göre üretilen emülsiyonun mikro yapı görüntüleri **a)** Üretim günü, **b)** 35 gün 5°C’de depolanan emülsiyon örneği, **c)** 35 gün 25°C’de depolanan emülsiyon örneği **d)** 35 gün 45°C’de depolanan emülsiyon örneği

Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işleminin birlikte kullanıldığı G ve H formüllerine sahip çoklu emülsiyonların mikroskop görüntüleri sırasıyla Şekil 4.72 ve 4.73'te gösterilmiştir. Üretim sonrası çekilen bu fotoğraflarda H örneğinin parçacık boyutunun diğer bütün emülsiyon formüllerine göre çok küçük ve düzgün daire formunda olduğu net bir şekilde görülmektedir.

Lutz vd. (2009a) tarafından yapılan bir çalışmada farklı S/Y/S emülsiyonlarının üretiminde farklı pH'lara sahip WPI-C63 içeren dış sulu fazlar kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada, üretim sonrası ve 1 ay depolama sonunda emülsiyonların mikroskop görüntüleri alınmış ve yapıların stabilitesi araştırılmıştır. Depolama sonunda pH 6 ve pH 8'de hazırlanan emülsiyonlar dairesel yapılarını korurken pH 2 ve pH 4'te yapının tamamen kaybolduğu rapor edilmiştir. Yine aynı ekip tarafından yapılan başka bir çalışmada iç fazında WPI, dış sulu fazları PGPR kullanılarak hazırlanan S/Y/S çoklu emülsiyonlar 28 gün depolanmıştır. Depolama sonunda çalışmamıza benzer şekilde, zaman ile büyüyen ancak dairesel yapılarını koruyan çoklu emülsiyon görüntüleri rapor edilmiştir (Lutz vd. 2009b). Parçacıklar arasındaki mekanik ve elektriksel etkileşim, bu parçacıkların birbiriyle birleşmesine engel olmaya yetmediğinde flokülasyon oluşmaktadır. Bu etkileşim; emülsifiye edici ajanların kimyasal özellikleri, faz hacim oranları, elektrolit ve iyonik emülsifiye edici ajanlar gibi çözünebilen maddelerin derişimi ile hesaplanır (Güngör vd. 2013).

4.7.5. Krosin salınımı

Farklı depolama sıcaklığı (5, 25 ve 45°C) ve süresine (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, ve 35 gün) maruz kalan emülsiyonlardaki krosin salınımına ait %FR değerleri Çizelge 4.66'da verilmiştir. Tüm emülsiyonlarda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça, fosfat tamponuna geçen krosin miktarına bağlı olarak %FR değerinin arttığı anlaşılmıştır. Diğer yandan bu değer de ESI'da olduğu gibi tek katmanlı ve çoklu emülsiyonlar kendi aralarında değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.66. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)															
		0		5		10		15		20		25		30		35	
C	5	0.00	± 0.00	1.79	± 0.00	3.95	± 0.30	6.58	± 0.18	8.49	± 0.42	13.40	± 1.44	16.03	± 0.36	20.45	± 0.00
	25	0.00	± 0.00	6.34	± 0.09	19.80	± 0.18	33.25	± 0.30	48.92	± 0.12	63.34	± 0.24	77.83	± 0.05	91.79	± 0.02
	45	0.00	± 0.00	16.27	± 0.09	25.18	± 0.33	38.94	± 0.27	53.29	± 0.15	67.64	± 0.15	79.86	± 0.10	94.77	± 0.06
D	5	0.00	± 0.00	0.41	± 0.26	5.44	± 0.13	8.62	± 0.08	13.03	± 0.69	18.73	± 0.10	22.93	± 0.15	27.91	± 0.00
	25	0.00	± 0.00	1.18	± 0.08	9.90	± 0.77	18.21	± 0.10	25.45	± 0.21	33.66	± 0.21	41.35	± 0.23	49.41	± 0.10
	45	0.00	± 0.00	6.62	± 0.08	51.17	± 10.26	39.24	± 0.19	58.92	± 0.43	74.32	± 0.19	78.86	± 0.04	95.09	± 0.06
E	5	0.00	± 0.00	0.99	± 0.20	5.43	± 0.59	8.20	± 0.16	12.09	± 0.32	15.74	± 0.08	20.02	± 0.95	22.39	± 1383
	25	0.00	± 0.00	2.26	± 0.59	13.99	± 0.40	24.85	± 0.28	37.77	± 0.83	47.84	± 1.11	60.68	± 0.00	72.57	± 0.12
	45	0.00	± 0.00	19.38	± 0.08	30.64	± 0.12	42.05	± 0.40	53.31	± 0.08	64.41	± 0.32	77.88	± 1.63	86.83	± 0.31
F	5	0.00	± 0.00	2.35	± 1.24	6.97	± 0.53	11.94	± 0.27	17.00	± 0.04	23.21	± 0.89	28.18	± 0.49	32.98	± 1471
	25	0.00	± 0.00	6.08	± 0.00	14.87	± 0.67	24.99	± 0.27	33.42	± 0.62	43.45	± 0.09	52.51	± 0.09	61.83	± 0.00
	45	0.00	± 0.00	10.87	± 0.53	22.41	± 1.11	31.29	± 0.80	44.16	± 0.98	52.86	± 1.11	65.27	± 0.16	75.69	± 0.29
G	5	0.00	± 0.00	0.46	± 0.46	4.92	± 0.46	10.18	± 0.29	14.13	± 0.23	18.82	± 0.00	23.23	± 0.31	26.89	± 1.14
	25	0.00	± 0.00	2.29	± 0.23	10.58	± 0.60	17.85	± 0.37	25.29	± 0.17	33.98	± 0.72	40.90	± 0.09	49.08	± 0.49
	45	0.00	± 0.00	3.38	± 0.26	15.56	± 0.29	27.00	± 0.63	38.39	± 0.40	48.80	± 0.51	60.98	± 0.31	72.25	± 0.17
H	5	0.00	± 0.00	0.79	± 0.00	4.14	± 0.43	8.49	± 0.18	11.92	± 0.00	13.92	± 0.36	18.49	± 0.89	22.84	± 0.32
	25	0.00	± 0.00	1.36	± 0.32	8.99	± 0.07	16.20	± 0.29	22.84	± 0.04	29.98	± 0.14	37.33	± 0.04	44.18	± 0.54
	45	0.00	± 0.00	5.07	± 1.00	15.70	± 0.21	25.41	± 0.50	35.76	± 0.07	45.32	± 0.29	55.75	± 0.18	66.10	± 0.04

Tek katmanlı emülsiyonlarda %FR değerinin çoklu emülsiyonlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Analizin genel prensibi göz önünde bulundurulduğunda, krosin salınımının yüksek olması emülsiyonun bozulduğunu, korunmak istenen biyoaktif bileşenin parçacık dışına sızdığını ifade etmektedir. Bu nedenle tek katmanlı emülsiyonlarda ve genel olarak 45°C’de depolanan örneklerde bu değer diğer örneklere göre daha fazla artış göstermiştir. Elde edilen sonuçlar Esfanjani vd. (2017) ile de benzerlik göstermektedir. Krosinlerin yüksek hidrasyonunun, uzun hidrokarbon zincirlerinin iki tarafına bağlı glikozil gruplarından veya gentiyobiyozidik şeker halkalarından kaynaklandığı bilinmektedir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; içindeki S/Y mikro emülsiyonun dispers faz içeriğinin ve dış sulu fazdaki biyopolimer tipinin, çoklu emülsiyonlarda krosin bileşiklerinin salınımı üzerinde etkili olduğunu düşünülmektedir (Shahi vd. 2016; Esfanjani vd. 2017).

Emülsiyonların depolama süresince krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.67’de verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksyonlarının, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.67. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	20791.93	11274.70**
Formül (B)	5	969.71	525.84**
Depolama süresi (C)	7	14704.69	7973.81**
A* B	10	615.16	333.58**
B* C	35	54.77	29.70**
A* C	14	1180.42	640.10**
A* B* C	70	44.72	24.25**
Hata	1.84		

(**) $P<0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.68’de verilmiştir. En yüksek %FR değeri (56.34) depolamanın 35. gününde hesaplanmıştır. En yüksek krosin salınımının depolamanın 35. gününde görülmesinin nedeninin, emülsiyonların stabilitesinin zamanla azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

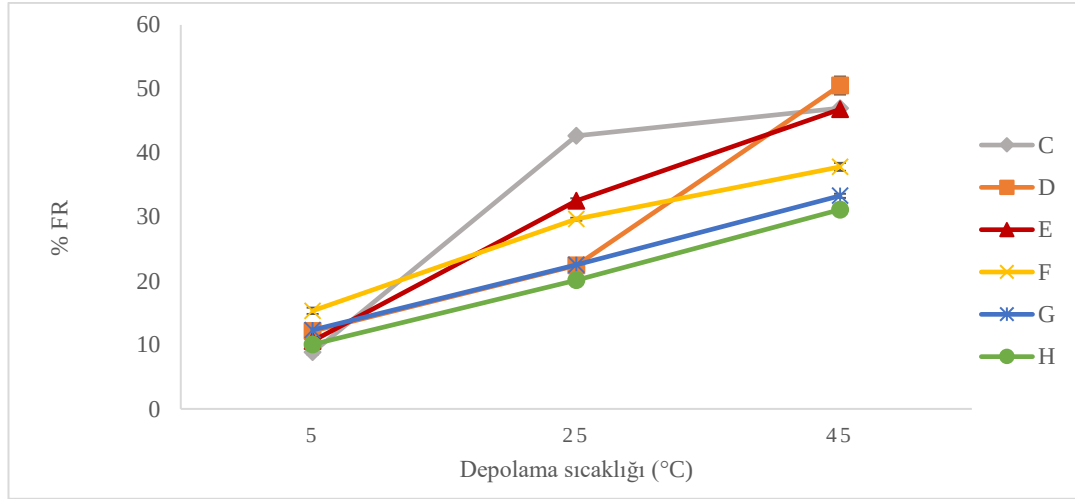
Formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak emülsiyonların %FR değerlerinin değişimine ait grafikler Şekil 4.74, 4.75 ve 4.76’da verilmiştir. Şekil 4.74 ve 4.75 incelendiğinde; genel olarak depolama süresince ve tüm depolama sıcaklıklarında en yüksek stabiliteyi H formülüne sahip emülsiyon gösterirken, en düşük stabiliteyi C formülüne sahip emülsiyon göstermiştir. Bu analiz sonuçları ve daha önceki analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde H emülsiyonu için; hem uygulanan ultrasonikasyon işleminin, hem de protein-polisakkarit kompleksinin emülsiyon stabilitesi üzerinde olumlu etki sağlamasının neden olduğu düşünülmektedir. Şekil 4.76 incelendiğinde 5°C’de depolanan emülsiyonların %FR değerlerinin depolama süresince

daha az arttığı, 45°C’de depolanan emülsiyonların %FR değerlerinin ise depolama süresinde daha çok arttığı görölmektedir. Yüksek sıcaklıkta parçacık yapısı ve dolayısıyla stabilitesi bozulan emülsiyon sistemlerinin krosin bileşiğini tutmadaki başarısının düştüğü anlaşılmaktadır.

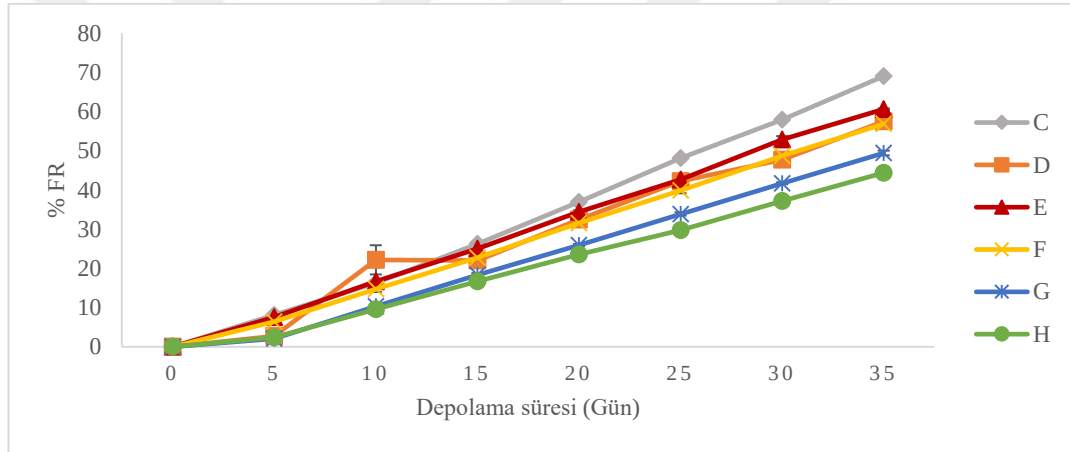


Çizelge 4.68. Emülsiyonların depolama boyunca krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

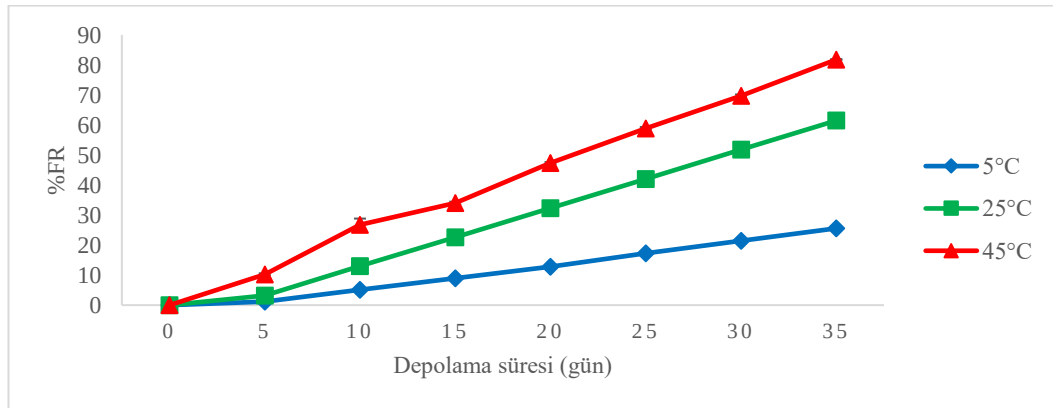
Sıcaklık (°C)	5 °C	25 °C	45 °C					
	11.49 ^c ± 9.25	28.26 ^b ± 23.33	40.82 ^a ± 28.27					
Formül	H	G	F	D	E	C		
	20.62 ^e ± 18.55	22.67 ^d ± 20.21	27.44 ^c ± 22.17	29.81 ^b ± 26.92	27.90 ^c ± 27.06	32.72 ^a ± 31.14		
Depolama süresi (Gün)	0	5	10	15	20	25	30	35
	0.00 ^h ± 0.00	4.87 ^g ± 5.39	14.21 ^f ± 10.33	21.80 ^e ± 11.73	30.71 ^d ± 15.94	39.43 ^c ± 19.90	47.52 ^b ± 22.55	56.34 ^a ± 26.35



Şekil 4.74. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi



Şekil 4.75. Depolama süresi ve formülün, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi



Şekil 4.76. Depolama sıcaklığının ve süresinin, emülsiyonların krosin miktarı üzerinden hesaplanan %FR değerlerine etkisi

4.7.6. Enkapsülasyon etkinliği

Safran emülsiyonlarında bulunan krosinlerin enkapsülasyon etkinliği (%EE), krosin salınımı değeri (%FR) üzerinden Eşitlik 3.9'dan yararlanılarak hesaplanmıştır (Esfanjani vd. 2015).

Farklı depolama sıcaklığı (5, 25 ve 45°C) ve süresine (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, ve 35 gün) maruz kalan emülsiyonların enkapsülasyon etkinliği (%EE) değerleri Çizelge 4.69'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde depolama süresi ve sıcaklığının artışının enkapsülasyon etkinliğinin azalmasına neden olduğu görülmektedir. Diğer yandan çoklu emülsiyonların enkapsülasyon etkinliğinin tek katmanlı emülsiyonlara göre daha yüksek olduğu da görülmektedir. Enkapsülasyon etkinliği ve krosin salınımı arasında ters ilişki vardır. Diğer bir deyişle krosin salınımı artarken enkapsülasyon etkinliği azalmaktadır.

Emülsiyonların depolama süresince krosin miktarına bağlı %FR üzerinden hesaplanan %EE değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.70'de verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksyonlarının, emülsiyonların %EE değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.71'de verilmiştir. En düşük %EE değeri (43.66) depolamanın 35. gününde hesaplanmıştır. Diğer bir deyişle örneklerin enkapsülasyon etkinliğinin depolamanın 35. gününde azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.69. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerleri

Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)															
		0		5		10		15		20		25		30		35	
C	5	100.00	± 0.00	98.21	± 0.00	96.05	± 0.30	93.42	± 0.18	91.51	± 0.42	86.60	± 1.44	83.97	± 0.36	79.55	± 0.00
	25	100.00	± 0.00	93.66	± 0.09	80.20	± 0.18	66.75	± 0.30	51.08	± 0.12	36.66	± 0.24	22.17	± 0.05	8.21	± 0.02
	45	100.00	± 0.00	83.73	± 0.09	74.82	± 0.33	61.06	± 0.27	46.71	± 0.15	32.36	± 0.15	20.14	± 0.10	5.23	± 0.06
D	5	100.00	± 0.00	99.59	± 0.26	94.56	± 0.13	91.38	± 0.08	86.97	± 0.69	81.27	± 0.10	77.07	± 0.15	72.09	± 0.00
	25	100.00	± 0.00	98.82	± 0.08	90.10	± 0.77	81.79	± 0.10	74.55	± 0.21	66.34	± 0.21	58.65	± 0.23	50.59	± 0.10
	45	100.00	± 0.00	93.38	± 0.08	48.83	± 10.26	60.76	± 0.19	41.08	± 0.43	25.68	± 0.19	21.14	± 0.04	4.91	± 0.06
E	5	100.00	± 0.00	99.01	± 0.20	94.57	± 0.59	91.80	± 0.16	87.91	± 0.32	84.26	± 0.08	79.98	± 0.95	77.61	± 1383
	25	100.00	± 0.00	97.74	± 0.59	86.01	± 0.40	75.15	± 0.28	62.23	± 0.83	52.16	± 1.11	39.32	± 0.00	27.43	± 0.12
	45	100.00	± 0.00	80.62	± 0.08	69.36	± 0.12	57.95	± 0.40	46.69	± 0.08	35.59	± 0.32	22.12	± 1.63	13.17	± 0.31
F	5	100.00	± 0.00	97.65	± 1.24	93.03	± 0.53	88.06	± 0.27	83.00	± 0.04	76.79	± 0.89	71.82	± 0.49	67.02	± 1471
	25	100.00	± 0.00	93.92	± 0.00	85.13	± 0.67	75.01	± 0.27	66.58	± 0.62	56.55	± 0.09	47.49	± 0.09	38.17	± 0.00
	45	100.00	± 0.00	89.13	± 0.53	77.59	± 1.11	68.71	± 0.80	55.84	± 0.98	47.14	± 1.11	34.73	± 0.16	24.31	± 0.29
G	5	100.00	± 0.00	99.54	± 0.46	95.08	± 0.46	89.82	± 0.29	85.87	± 0.23	81.18	± 0.00	76.77	± 0.31	73.11	± 1.14
	25	100.00	± 0.00	97.71	± 0.23	89.42	± 0.60	82.15	± 0.37	74.71	± 0.17	66.02	± 0.72	59.10	± 0.09	50.92	± 0.49
	45	100.00	± 0.00	96.62	± 0.26	84.44	± 0.29	73.00	± 0.63	61.61	± 0.40	51.20	± 0.51	39.02	± 0.31	27.75	± 0.17
H	5	100.00	± 0.00	99.21	± 0.00	95.86	± 0.43	91.51	± 0.18	88.08	± 0.00	86.08	± 0.36	81.51	± 0.89	77.16	± 0.32
	25	100.00	± 0.00	98.64	± 0.32	91.01	± 0.07	83.80	± 0.29	77.16	± 0.04	70.02	± 0.14	62.67	± 0.04	55.82	± 0.54
	45	100.00	± 0.00	94.93	± 1.00	84.30	± 0.21	74.59	± 0.50	64.24	± 0.07	54.68	± 0.29	44.25	± 0.18	33.90	± 0.04

Çizelge 4.70. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerlerine ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F
Depolama sıcaklığı (A)	2	20791.93	11274.70**
Formül (B)	5	969.71	525.84**
Depolama süresi (C)	7	14704.69	7973.81**
A* B	10	615.16	333.58**
B* C	35	54.77	29.70**
A* C	14	1180.42	640.10**
A* B* C	70	44.72	24.25**
Hata	1.84		

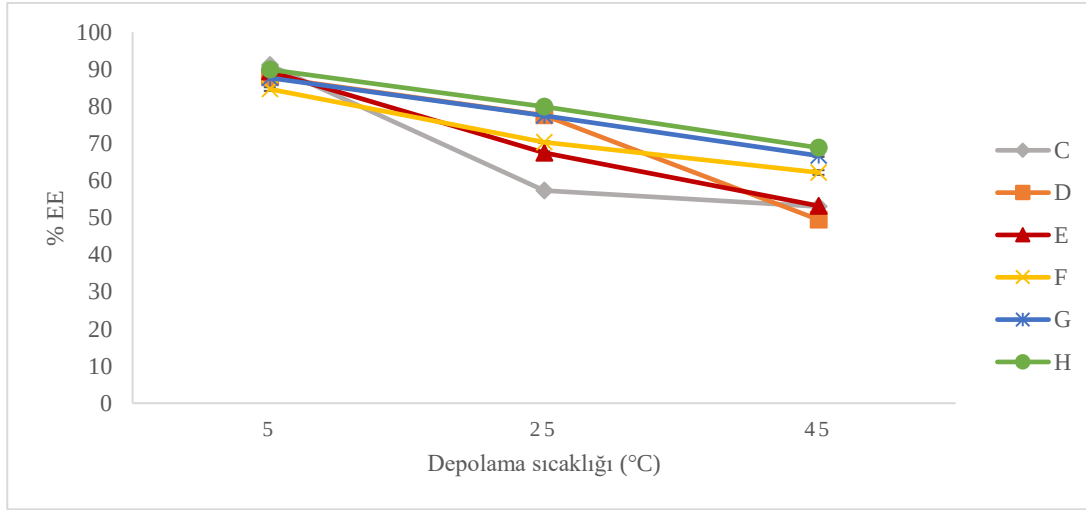
(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Şekil 4.77, 4.78 ve 4.79’da formüle, depolama sıcaklığına ve depolama süresine bağlı olarak emülsiyonların %EE değerleri grafikler halinde gösterilmiştir. Şekil 4.77 ve 4.78 incelendiğinde; genel olarak depolama süresince ve tüm depolama sıcaklıklarında en yüksek enkapsülasyon etkinliğini H formülüne sahip emülsiyon ve bunu takiben G formülüne sahip emülsiyon gösterirken, en düşük enkapsülasyon etkinliğini C formülüne sahip emülsiyon göstermiştir. Parçacık boyutu küçük ve homojen olan H ve G emülsiyonlarında fosfat tamponuna krosin salınımının az olması bu iki formülün diğer formüllere göre daha yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip olmasına ve bu nedenle kararlılığının yüksek olmasına neden olmaktadır. Şekil 4.79 incelendiğinde 45°C’de depolanan emülsiyonların enkapsülasyon etkinliği en düşük iken bu değer 5°C’de depolanan örneklerde en yüksek olduğu görülmektedir.

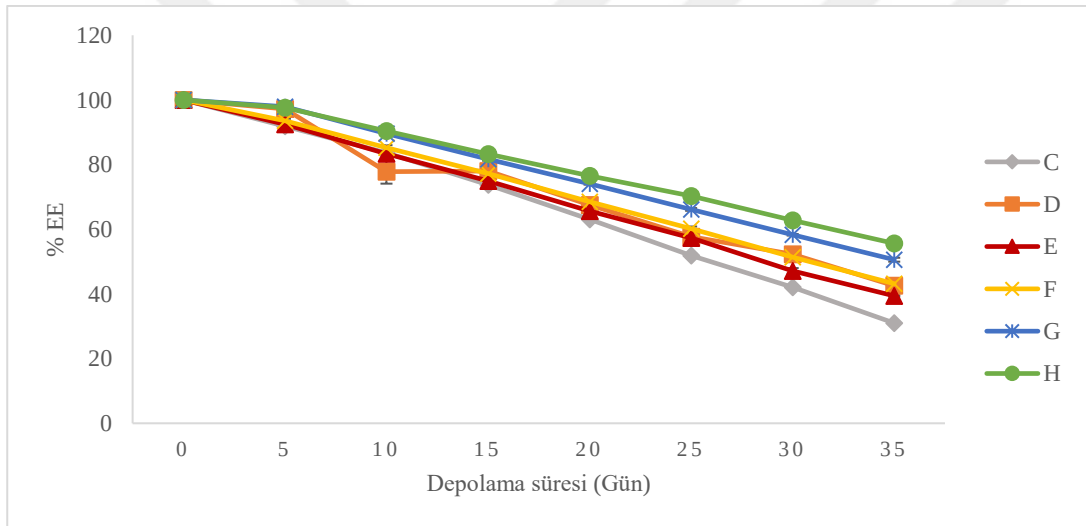
Esfanjani vd. (2017) tarafından da, protein-polisakkarit kompleksinin çoklu emülsiyonlarda yüksek enkapsülasyon etkinliği sağladığı ve enkapsüle edilen bileşiklerin salınımını kontrol ettiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.71. Emülsiyonların depolama boyunca %EE değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

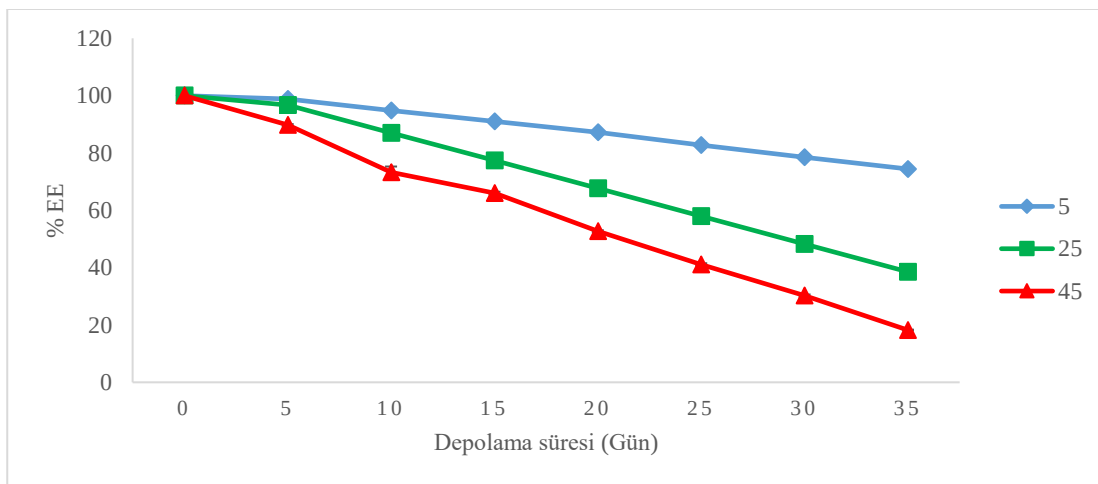
Sıcaklık (°C)	45 °C	25 °C	5 °C					
	59.18 ^c ± 28.27	71.74 ^b ± 23.33	88.51 ^a ± 9.25					
Formül	C	E	D	F	G	H		
	67.28 ^e ± 31.14	70.19 ^d ± 26.92	72.10 ^c ± 27.06	72.56 ^c ± 22.17	77.33 ^b ± 20.21	79.38 ^a ± 18.55		
Depolama süresi (Gün)	35	30	25	20	15	10	5	0
	43.66 ^h ± 26.35	52.48 ^g ± 22.55	60.57 ^f ± 19.90	69.29 ^e ± 15.94	78.20 ^d ± 11.73	85.79 ^c ± 10.33	95.13 ^b ± 5.39	100.00 ^a ± 0.00



Şekil 4.77. Depolama sıcaklığının ve formülün, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi



Şekil 4.78. Depolama süresi ve formülün, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi



Şekil 4.79. Depolama sıcaklığının ve süresinin, emülsiyonların %EE değerlerine etkisi

4.7.7. Krosin profili (LC-MS/MS)

Tez kapsamında satın alınan krosin standardından (Sigma-Aldrich 17304) %50 su ve %50 metanol kullanılarak, konsantrasyonu 200 ppm olan standart stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra standarda iyonlaştırıcı olarak sodyum asetat ilave edilmiştir. Sigma-Aldrich tarafından yayınlanan standart kataloğunda bu standardın Krosin-1 olduğu belirtilmiştir. Kütle spektrofotometresinde pozitif iyon yönünde uygulanan farklı kuvvetler sonucunda Krosin-3 de başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.

Elde edilen iyonlaştırma parametrelerine göre stok krosin standart çözeltisi, konsantrasyonu 0, 5, 10, 20, 50 ve 100 ppm olacak şekilde seyreltilerek cihaza enjeksiyon yapılmıştır. Krosin-1-1, Krosin-1-2 ve Krosin-3 standart eğrileri materyal ve metot bölümünde sırasıyla Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6’da gösterildiği gibidir.

Örnekler, LC-MS/MS cihazına enjekte edilmeden önce ön ekstraksiyon işlemine tâbi tutulmuştur. Bunun için sıvı emülsiyonlardan 5 ± 0.001 g alınarak 15 mL’lik deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 5 mL fosfat tampon (pH 7) eklenmiştir. Hazırlanan karışım 4°C sıcaklıkta, 2268 G kuvvetinde 90 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Esfenjani 2015). Santrifüj işlemi sonunda donarak ayrılan yağ fazı örneklerden dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve geride kalan sulu faz uygun seyreltme yapılarak LC-MS/MS’e enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Krosin profilleri bakımından; ekstraktlar (A ve B), tek katmanlı emülsiyonlar (C ve D) ve çoklu emülsiyonlar (E, F, G ve H) kendi aralarında değerlendirilmiştir. Çünkü emülsifikasyon işlemi sırasında formülasyona dahil olan bileşenlerin farklı su tutma/bağlama özellikleri nedeniyle analize ait seyreltme faktörlerinin doğru hesaplanamamaktadır.

Çizelge 4.72 incelendiğinde, katı:sıvı oranı yüksek bir ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstrakt (B), bileşenlerin her biri bakımından UF işleminden elde edilen retentattan (A) daha zengindir. Zaten çalışmanın ekstraksiyon ve UF optimizasyonu basamaklarında da bu konu ayrıntılı bir biçimde açıklanmıştır.

Krosinlerin isimlendirilmesinin farklı kaynaklarda farklı şekillerde yapıldığı görülmüştür. Bu tez kapsamında trans/cis-krosetin di-β-D-gentiobiozil ester yapısındaki formu Krosin-1 olarak, trans-krosetin β-D-gentiobiozil ester yapısındaki formu ise krosin-3 olarak adlandırılmıştır (Bathaie vd. 2014; Caballero-Ortega vd. 2007; Lage ve Cantrell 2009; Shahi vd. 2016). Çizelge 4.72’de görülen Krosin1-1 bileşiğinin trans-krosetin di-β-D-gentiobiozil ester, Krosin-1-2 bileşiğinin ise cis-krosetin di-β-D-gentiobiozil ester olduğu değerlendirilmiştir. Krosin-1’in yaygın bulunan formu olan trans izomerinin, cis izomerinden yaklaşık 7 kat fazla bulunduğu açıkça görülmektedir. Diğer bir deyişle Çizelge 4.72’de Krosin-1-1 ve Krosin-1-2 miktarlarının toplamı, Krosin-1 bileşeninin miktarını vermektedir.

Her iki formül (A ve B) için de ekstraktların krosin içeriğinin çok büyük bir kısmının krosin-1’den oluştuğu görülmektedir. Literatürdeki birçok kaynakta da kuru safran kütesinin %10’unu Krosin-1 bileşiğinin oluşturduğu bildirilmektedir (Finley ve Gao 2017; Shahi vd. 2016). Yine aynı çizelgede görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça 35. günün sonunda tüm bileşiklerde degradasyon artmıştır. Buradan da anlaşılabileceği gibi

karotenoidlerin suda çözünebilen nadir üyelerinden olan krosinler, yağda çözünenlerin aksine sıcaklık artışına karşı stabil değildir.

Çizelge 4.72. Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profili

Bileşen	Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)					
			0			35		
Krosin-1-1 (mg/L)	A	5	789.88	±	6.57	634.17	±	13.48
		25	789.88	±	6.57	588.79	±	4.05
		45	789.88	±	6.57	389.40	±	19.44
	B	5	2877.90	±	63.97	2190.87	±	46.83
		25	2877.90	±	63.97	1574.07	±	22.35
		45	2877.90	±	63.97	1047.85	±	7.06
Krosin-1-2 (mg/L)	A	5	108.61	±	9.07	87.43	±	63.97
		25	108.61	±	9.07	80.97	±	46.83
		45	108.61	±	9.07	53.83	±	22.35
	B	5	362.69	±	45.03	300.87	±	21.23
		25	362.69	±	45.03	216.88	±	22.96
		45	362.69	±	45.03	144.10	±	12.26
Krosin-3 (mg/L)	A	5	109.99	±	1.01	88.30	±	1.81
		25	109.99	±	1.01	81.98	±	0.63
		45	109.99	±	1.01	54.22	±	2.66
	B	5	365.89	±	11.70	305.06	±	6.76
		25	365.89	±	11.70	219.17	±	2.94
		45	365.89	±	11.70	145.90	±	1.10

A ve B formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.73'te verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının çoğunun, emülsiyonların krosin profili üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P < 0.01$) önemli bulunmuştur. Sadece Krosin-1-2 bileşiği için bazı varyans kaynaklarının ve bunların interaksiyonlarının, krosin profili üzerine etkisi istatistiki olarak önemli ($P > 0.01$) bulunmamıştır.

A ve B formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.74'te verilmiştir. En düşük Krosin-1-1 değeri (663.67 mg/L) A formülüne sahip örnekte, en yüksek Krosin-1-1 değeri (2241.08 mg/L) B formülüne sahip örnekte saptanmıştır. En düşük Krosin-1-2 değeri (91.34 mg/L) A formülüne sahip örnekte, en yüksek Krosin-1-2 değeri (291.65 mg/L) B formülüne sahip örnekte saptanmıştır. En düşük Krosin-3 değeri (92.41 mg/L) A formülüne sahip örnekte, en yüksek Krosin-3 değeri (294.64 mg/L) B formülüne sahip örnekte saptanmıştır. Bu verilere bakılarak katı:sıvı oranı yüksek bir ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktın (B), UF işleminden elde edilen retentattan (A) krosince daha zengin olduğu; dolayısıyla konsantre bir formda olduğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.73. Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profiline ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	Krosin-1-1 (mg/L)		Krosin-1-2 (mg/L)		Krosin-3 (mg/L)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Formül (A)	1	14929406.6	5696.75**	240746.6	188.60**	245369.7	3069.50**
Depolama süresi (Gün) (B)	5	3493301.06	1332.97**	46782.22	36.65**	47353.5	592.38**
Depolama sıcaklığı (°C) (C)	2	240908.89	91.93**	4534.53	3.55	4670.71	58.43**
A * B	1	1564279.68	596.90**	17346.74	13.59**	17289.25	216.28**
B * C	2	240908.89	91.93**	4534.53	3.55	4670.71	58.43**
A * C	2	103349.35	39.44**	1938.9	1.52	2003.51	25.06**
A * B * C	2	103349.35	39.44**	1938.9	1.52	2003.51	25.06**
Hata	12	2620.69		1276.47		79.94	

(**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.**Çizelge 4.74.** Emülsiyon üretiminde kullanılan safran ekstraktlarının krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırmalı Test sonuçları

	Formül	A	B
		663.67 ^b ± 153.86	2241.08 ^a ± 751.10
Krosin-1-1 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)	35	0
		1070.86 ^b ± 660.44	1833.89 ^a ± 1091.46
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		1276.26 ^c ± 1020.51	1457.66 ^b ± 961.57, 1623.20 ^a ± 1010.75
Krosin-1-2 (mg/L)	Formül	A	B
		91.34 ^b ± 22.86	291.65 ^a ± 95.15
	Depolama süresi (Gün)	35	0
		147.34 ^b ± 91.94	235.65 ^a ± 136.96
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		167.30 ^b ± 128.01	192.28 ^{ab} ± 121.56, 214.90 ^a ± 130.31
Krosin-3 (mg/L)	Formül	A	B
		92.41 ^b ± 21.43	294.64 ^a ± 294.64
	Depolama süresi (Gün)	35	0
		149.10 ^b ± 91.96	237.94 ^a ± 133.92
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		169.00 ^c ± 126.61	194.26 ^b ± 119.44, 217.31 ^a ± 128.87

Çizelge 4.75 incelendiğinde, katı:sıvı oranı yüksek bir ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstrakt içeren formüle sahip emülsiyonun (C), bileşenlerin her biri bakımından UF işleminden elde edilen retentatı içeren formüle sahip emülsiyondan (D) daha zengindir. Her iki formül (C ve D) için de emülsiyonların krosin içeriğinin çok büyük bir kısmının Krosin-1'den oluştuğu görülmektedir. Yine aynı çizelgede görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça 35. günün sonunda tüm bileşiklerde degradasyon artmıştır. Buradan da anlaşılacağı gibi karotenoidlerin suda çözünmeyen nadir üyelerinden olan krosinler, yağda çözünenlerin aksine sıcaklık artışına karşı stabil değildir. Krosin-1-2 ve Krosin-3 bileşenleri C formülüne sahip emülsiyonda 25 ve 45°C'de 35 gün depolamanın sonunda tespit edilemeyecek kadar azalmıştır.

Çizelge 4.75. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profili

Bileşen	Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)					
			0			35		
Krosin-1-1 (mg/L)	C	5	191.81	±	6.77	82.95	±	6.06
		25	191.81	±	6.77	17.98	±	0.11
		45	191.81	±	6.77	18.94	±	0.65
	D	5	287.46	±	11.80	189.40	±	2.17
		25	287.46	±	11.80	121.34	±	2.72
		45	287.46	±	11.80	78.07	±	0.98
Krosin-1-2 (mg/L)	C	5	26.31	±	1.49	21.13	±	11.80
		25	26.31	±	1.49	T.E*	±	T.E*
		45	26.31	±	1.49	T.E*	±	T.E*
	D	5	39.41	±	2.01	26.09	±	2.69
		25	39.41	±	2.01	16.73	±	1.91
		45	39.41	±	2.01	10.73	±	0.85
Krosin-3 (mg/L)	C	5	26.71	±	0.96	21.46	±	0.86
		25	26.71	±	0.96	T.E*	±	T.E*
		45	26.71	±	0.96	T.E*	±	T.E*
	D	5	40.03	±	1.67	26.37	±	0.28
		25	40.03	±	1.67	16.90	±	0.37
		45	40.03	±	1.67	10.87	±	0.14

T.E* tespit edilemedi

C ve D formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.73'te verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının çoğunun, emülsiyonların krosin profili üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.76. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profiline ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	Krosin-1-1 (mg/L)		Krosin-1-2 (mg/L)		Krosin-3 (mg/L)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Formül (A)	1	39165.37	388.10**	856.93	162.92**	879.31	433.11**
Depolama süresi (Gün) (B)	5	122685.42	1215.71**	2499.6	475.22**	2587.32	1274.40**
Depolama sıcaklığı (°C) (C)	2	8686.03	86.07**	191.43	36.39**	196.61	96.84**
A * B	1	1324.3	13.12**	7.85	1.49	8.84	4.36
B * C	2	8686.03	86.07**	191.43	36.39**	196.61	96.84**
A * C	2	596.28	5.91*	17.31	3.29	17.95	8.80**
A * B * C	2	596.28	5.91*	17.31	3.29	17.95	8.84**
Hata	12	100.92		5.25		2.03	

(*) $P<0.05$ ve (**) $P<0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Tek katmanlı emülsiyon formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.77'de verilmiştir. Buna göre en düşük Krosin-1-1 değeri (96.64 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek Krosin-1-1 değeri (208.53 mg/L) D formülüne sahip örnekte tespit edilmiştir. En düşük Krosin-1-2 değeri (12.45 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek krosin-1-2 değeri (32.86 mg/L) depolamanın 0. gününde saptanmıştır. En düşük Krosin-3 değeri (12.60 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek Krosin-3 değeri (33.37 mg/L) depolamanın 0. gününde saptanmıştır. Bu verilere bakılarak katı:sıvı oranı yüksek bir ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen edilen ekstrak kullanılarak üretilen tek katmanlı

emülsiyonların (D), UF işleminden elde edilen retentat kullanılarak üretilen tek katmanlı emülsiyonlara (C) nazaran krosince daha zengin olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.77. Tek katmanlı emülsiyonların krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırmalı Testi sonuçları

	Formül	C	D
		127.74 ^b ± 82.10	208.53 ^a ± 89.55
Krosin-1-1 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)	35	0
		96.64 ^b ± 67.60	239.64 ^a ± 50.95
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		144.07 ^b ± 110.89	154.65 ^b ± 105.56
			205.69 ^a ± 53.54
	Formül	C	D
		16.68 ^b ± 12.52	28.63 ^a ± 12.36
Krosin-1-2 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)	35	0
		12.45 ^b ± 10.49	32.86 ^a ± 7.08
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		19.11 ^b ± 16.09	20.61 ^b ± 15.45
			28.23 ^a ± 7.53
	Formül	C	D
		16.93 ^b ± 12.68	29.04 ^a ± 12.47
Krosin-3 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)	35	0
		12.60 ^b ± 10.51	33.37 ^a ± 7.10
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25
		19.40 ^b ± 16.32	20.91 ^b ± 15.64
			28.64 ^a ± 7.64

Çoklu emülsiyonlarına ait krosin profili Çizelge 4.78’de verilmiştir. Daha önceden de belirtildiği gibi emülsifikasyon işlemi sırasında formülasyona dahil olan bileşenlerin farklı su tutma/bağlama özellikleri nedeniyle analize ait seyreltme faktörleri doğru hesaplanamamaktadır. Aynı ekstraktı aynı miktarda içeren emülsiyonların 0. gündeki krosin miktarlarının aynı olması beklenirken, durumun böyle olmadığı Çizelge 4.78’de açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.78 incelendiğinde, sıcaklık arttıkça 35. günün sonunda tüm bileşiklerde degradasyon artmıştır. Buradan da anlaşılabileceği gibi karotenoidlerin suda çözünebilen nadir üyelerinden olan krosinler, yağda çözünenlerin aksine sıcaklık artışına karşı stabil değildir.

Çizelge 4.78. Çoklu emülsiyonların krosin profili

Bileşen	Formül	Depolama sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)			
			0		35	
Krosin-1-1 (mg/L)	E	5	299.73	± 10.25	236.93	± 7.76
		25	299.73	± 10.25	81.50	± 6.61
		45	299.73	± 10.25	38.63	± 2.48
	F	5	278.64	± 40.24	178.67	± 30.30
		25	278.64	± 40.24	102.21	± 16.22
		45	278.64	± 40.24	65.31	± 12.16
	G	5	334.62	± 5.96	256.88	± 2.34
		25	334.62	± 5.96	185.20	± 0.58
		45	334.62	± 5.96	113.57	± 1.37
	H	5	418.13	± 4.34	299.74	± 17.01
		25	418.13	± 4.34	212.37	± 2.66
		45	418.13	± 4.34	116.53	± 4.78
Krosin-1-2 (mg/L)	E	5	41.11	± 2.38	32.70	± 4.06
		25	41.11	± 2.38	11.30	± 1.94
		45	41.11	± 2.38	5.35	± 0.83
	F	5	30.02	± 2.54	23.82	± 2.29
		25	30.02	± 2.54	12.43	± 2.37
		45	30.02	± 2.54	8.67	± 1.01
	G	5	46.12	± 5.05	35.32	± 2.92
		25	46.12	± 5.05	25.48	± 2.26
		45	46.12	± 5.05	15.61	± 1.25
	H	5	57.59	± 5.88	41.03	± 1.44
		25	57.59	± 5.88	29.26	± 3.05
		45	57.59	± 5.88	15.97	± 0.81
Krosin-3 (mg/L)	E	5	41.74	± 1.46	32.99	± 1.05
		25	41.74	± 1.46	11.35	± 0.91
		45	41.74	± 1.46	5.38	± 0.34
	F	5	34.74	± 1.57	28.09	± 1.03
		25	34.74	± 1.57	16.22	± 0.28
		45	34.74	± 1.57	10.49	± 0.31
	G	5	46.59	± 0.79	35.77	± 0.35
		25	46.59	± 0.79	25.79	± 0.10
		45	46.59	± 0.79	15.81	± 0.20
	H	5	58.22	± 0.56	41.74	± 2.40
		25	58.22	± 0.56	29.57	± 0.35
		45	58.22	± 0.56	16.23	± 0.68

E, F, G ve H formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.79’te verilmiştir. Formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksyonlarının çoğunun, emülsiyonların krosin profili üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.79. Çoklu emülsiyonların krosin profiline ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	Krosin-1-1 (mg/L)		Krosin-1-2 (mg/L)		Krosin-3 (mg/L)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Formül (A)	3	34130.52	57.68**	954.25	41.43**	714.08	325.03**
Depolama süresi (Gün) (B)	1	369529.30	624.46**	5966.14	259.04**	6276.44	2856.81**
Depolama sıcaklığı (°C) (C)	2	25884.50	43.74**	485.67	21.09**	522.73	237.93**
A* B	3	1953.20	3.30*	103.72	4.50*	88.53	40.30**
B* C	2	25884.50	43.74**	485.67	21.09**	522.73	237.93**
A* C	6	625.58	1.06	12.58	0.55	10.40	4.74**
A* B* C	6	625.58	1.06	12.58	0.55	10.40	4.74**
Hata	24	591.75		23.03		2.20	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılığı ifade eder.

Çoklu emülsiyon formüllerinin depolama sonundaki krosin profiline ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.80’de verilmiştir. Buna göre en düşük krosin-1-1 değeri (157.30 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek Krosin-1-1 değeri (313.84 mg/L) H formülüne sahip örnekte tespit edilmiştir. En düşük Krosin-1-2 değeri (21.41 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek Krosin-1-2 değeri (43.17 mg/L) H formülüne sahip örnekte saptanmıştır. En düşük Krosin-3 değeri (22.45 mg/L) depolamanın 35. gününde görülürken, en yüksek Krosin-3 değeri (43.70 mg/L) H formülüne sahip örnekte saptanmıştır.

Sonuç olarak tüm formüllerde krosin içeriğinin çok büyük bir kısmının krosin-1’den oluştuğu görülmektedir. Literatürdeki birçok kaynakta da kuru safran kütlesinin %10’unu Krosin-1 bileşiğinin oluşturduğu bildirilmektedir (Finley ve Gao 2017; Shahi vd. 2016). Krosin-1’in yaygın bulunan formu olan trans izomerinin, cis izomerinden yaklaşık 7 kat fazla bulunduğu açıkça görülmektedir. Diğer bir deyişle Krosin-1-1 ve Krosin-1-2 miktarlarının toplamı, krosin-1 bileşeninin toplam miktarını vermektedir. Tüm çizelgelerde görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça 35. günün sonunda tüm bileşiklerde degradasyon artmıştır. Buradan da anlaşılabileceği gibi karotenoidlerin suda çözünebilen nadir üyelerinden olan krosinler, yağda çözünenlerin aksine sıcaklık artışına karşı stabil değildir.

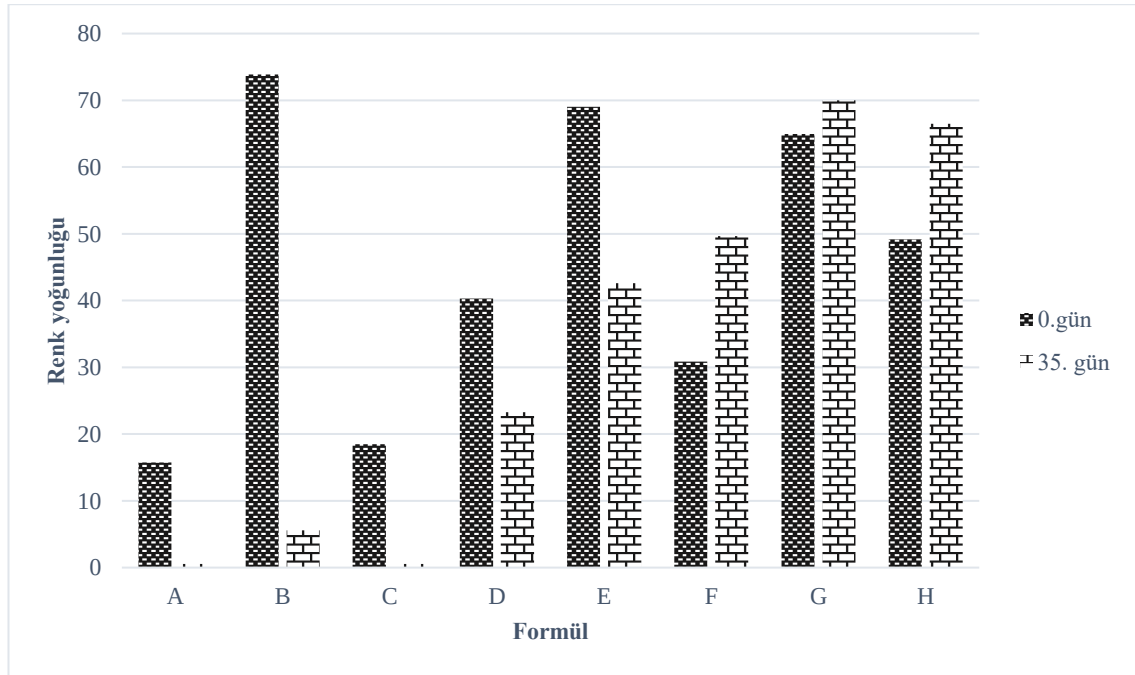
Çizelge 4.80. Çoklu emülsiyonların krosin profiline ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

	Formül	F	E	G	H
		197.02 ^c ± 98.02	209.38 ^c ± 113.76	259.92 ^b ± 89.30	313.84 ^a ± 122.42
Krosin-1-1 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)l (B)	35	0		
		157.30 ^b ± 82.08	332.78 ^a ± 58.44		
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25	5	
		208.15 ^c ± 137.54	239.05 ^b ± 112.96	287.92 ^a ± 71.23	
	Formül	F	E	G	H
		22.50 ^d ± 9.49	28.78 ^c ± 15.75	35.79 ^b ± 12.97	43.17 ^a ± 17.46
Krosin-1-2 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)l (B)	35	0		
		21.41 ^b ± 11.48	43.71 ^a ± 11.01		
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25	5	
		27.46 ^c ± 18.76	31.66 ^b ± 15.91	38.46 ^a ± 10.78	
	Formül	F	E	G	H
		26.50 ^d ± 10.24	29.15 ^c ± 15.84	36.19 ^b ± 12.43	43.70 ^a ± 17.05
Krosin-3 (mg/L)	Depolama süresi (Gün)l (B)	35	0		
		22.45 ^b ± 11.20	45.32 ^a ± 8.82		
	Depolama sıcaklığı(°C)	45	25	5	
		28.65 ^c ± 18.62	33.03 ^b ± 15.15	39.98 ^a ± 9.18	

4.7.8. Duyusal analiz

Çalışma kapsamında üretilen safran ekstraktlarının ve bu ekstraktları içeren emülsiyonların duyusal olarak değerlendirilmesi model gıdada gerçekleştirilmiştir. Model gıda olarak safranın en çok kullanıldığı yemeklerden biri olan pirinç pilavı seçilmiş ve duyusal analizler bunun üzerinden yürütülmüştür. Her formül aynı miktarda safran ekstraktı içerecek oranda pilavlara eklenmiştir. Duyusal analizler, 3.2.5.12 numaralı başlıkta ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.80 ve 4.81’de özetlenmiştir.

Şekil 4.80 incelendiğinde depolamanın 0. gününde panelistler tarafından rengi en yoğun bulunan örnek B formülüyle hazırlanan safranlı pilav olmuştur. B formülünün içeriği; yüksek katı:sıvı oranına sahip ekstrakt olup, birim hacimde A formülüne göre daha fazla renk bileşeni içermektedir. Benzer şekilde yine bu ekstraktı içeren tek katmanlı emülsiyon olan D formülüyle hazırlanan safranlı pilavın renk yoğunluğu C’ye göre daha yüksek bulunmuştur. Depolamanın sıfırinci gününde E formülüyle hazırlanan pilavın rengi F’ye göre daha yoğun bulunurken, depolamanın 35. gününde bunun tam tersi bir durum gözlenmektedir. Buradan; WPI-BSD kompleksi içeren F formülünün, yalnızca BSD içeren E formülüne göre renk yoğunluğunu daha iyi koruyabildiği anlaşılmaktadır. Depolamanın 35. gününde renk yoğunluğunu en iyi koruyan formüllerin G ve H olduğu açıkça görülmektedir. Hatta depolamanın 35. günündeki renk yoğunluklarının, başlangıçtaki yoğunluklarından daha yüksek olduğu panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Bu durumun sebebinin; depolama sonunda rengini neredeyse kaybeden A, B ve C formülleriyle hazırlanan pilavlarla aynı anda değerlendirildikleri için renklerinin göreceli olarak çok daha yoğun değerlendirilmeleri olduğu düşünülmektedir. Diğer bir deyişle rengini kaybetmiş formüllerle aynı anda kıyaslamaya sunulan F, G ve H formülleriyle hazırlanan pilavlar 0. günden daha yüksek puanlar alabilmiştir.

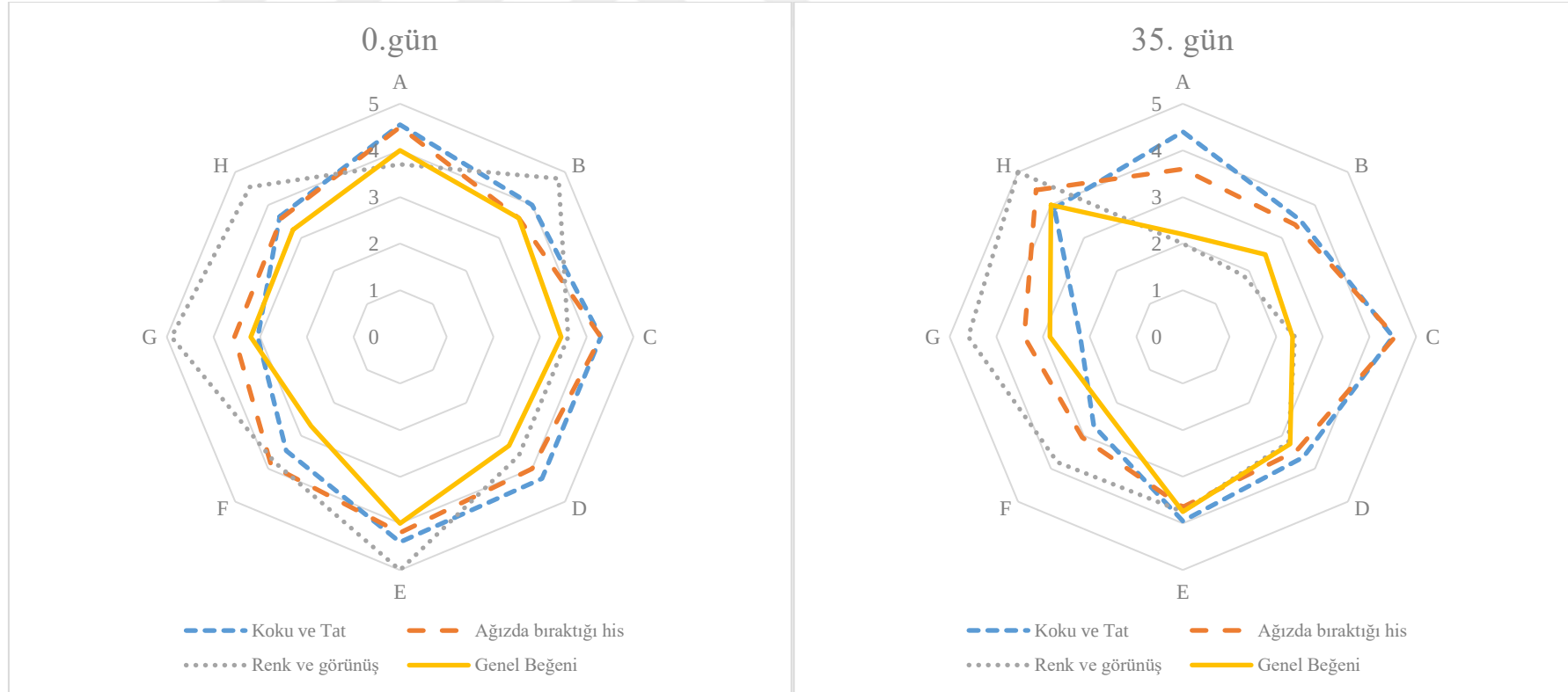


Şekil 4.80. Depolamaya bağlı renk yoğunluğuna ait duyusal analiz sonuçları

Şekil 4.81'deki 0. depolama gününe ait grafik incelendiğinde; ağızda bıraktığı his, koku ve tat açısından tüm safranlı pilavların yakın puanlar aldığı görülmektedir. Ancak renk ve görünüş bakımından en çok beğenilen safranlı pilavlar sırasıyla E, G, B ve H formülüne aittir. En az beğenilen örnek ise F formülüyle hazırlanan safranlı pilav olmuştur. Bunun nedeninin F formülünün içerdiği WPI'nın pişirme işlemi sırasında protein yapısının bozularak istenmeyen kokuya neden olması olduğu değerlendirilmiştir. Nitekim F formülü, panelistlerden en düşük koku ve tat puanını almıştır.

Şekil 4.81'deki 35. Depolama gününe ait grafik incelendiğinde renk ve görünüş olarak en çok beğenilen pilavların sırasıyla H ve G formülleriyle hazırlanmış olduğu açıkça görülmektedir. Koku ve tat açısından değerlendirildiğinde ise en çok beğenilen pilavlar sırasıyla C, A ve E formülleriyle hazırlananlardır. Genel beğeni puanına bakıldığında en çok beğenilen pilav H formülüne aitken, en az beğenilen pilavların renklerini neredeyse kaybeden A, C ve F formüllerine ait oldukları görülmüştür.





Şekil 4.81. Depolamaya bağlı duyu analizi sonuçları

5. SONUÇLAR

- Çalışmada kullanılan safran örneklerinin nem içeriği %7.11 olarak tespit edilmiştir. Bu değer ISO 3632-2 safran kalite standardındaki, safran stigmalarında nem miktarının %12'den fazla olmaması gerektiği ifadesine uygundur.
- ISO 3632-2 standardına göre krosin üzerinden safranların renk verme gücünün (%1'lik çözeltisinin 440 nm'deki absorbanşı ($E_{1\text{ cm}}^{0.1\%}$ 440)) minimum değerlerinin I. kategori için 190; II. kategori için 150; III. kategori için 110 ve IV. kategori için ise 80 olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan analiz sonucunda ticari safran örneğinin renk verme gücü 244.32 olarak hesaplanmış olup, çalışmada kullanılan örneğin I. kategoriye girdiği tespit edilmiştir.
- Ekstraksiyon optimizasyon çalışması sonucunda optimum ekstraksiyon koşulları; 0.5:1 safran su oranı, 80°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde sıcaklık arttıkça renklendirme gücünün arttığı, safran:su oranı arttıkça ve ekstraksiyon süresi 10 dakikadan fazla olan örneklerde krosin cinsinde %1'lik renk verme gücünün ($E_{1\text{ cm}}^{0.1\%}$ 440) azaldığı tespit edilmiştir. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın renklendirme gücü (E-1) ve ISO yöntemi ile hazırlanan ekstraktın renklendirme gücü (E-2) arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmüştür. ISO yöntemi, hem uluslararası geçerliliği olan bir yöntem olması hem de ekstraksiyonun oda sıcaklığında gerçekleştirilmesiyle enerji tasarrufu sağladığı düşünüldükçe çalışmanın diğer basamaklarında ekstraksiyon metodu olarak kullanılmıştır.
- UF optimizasyonu: ISO 3632-2 yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktın (E-2) konsantrasyonunu artırmak amacı ile yapılan UF işlemi için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda 1 kDa ayırma sınırına sahip PESU filtre ile 4°C sıcaklık, 2 bar basınç ve permeat:retentat oranının 80:20 olduğu koşullarda elde edilen retentatlarda renk bileşenleri (h° değeri düşük ve C^* değerinin yüksek) en iyi şekilde konsantre edilmiştir.
- D-optimal birleşik dizayn tarafından önerilen modele ait tek katmanlı emülsiyon için optimum oranlar; %67 ayçiçek yağı, %6 PGPR ve %27 K-1 ekstraktı olarak tespit edilmiştir.
- Çoklu emülsiyon sistemi kademeli olarak hazırlanmıştır. Öncelikle iç faz olarak, bir önceki basamakta optimize edilen S/Y emülsiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra literatür araştırmalarıyla seçilen 7 farklı formülle dış sulu fazlar hazırlanmıştır. Emülsiyon sistemleri 2 tekerrürlü olarak üretilip 30°C sıcaklıktaki etüvde 35 gün boyunca depolanmış ve her 5 günde bir depolama analizleri (model gıdada renk analizi ve emülsiyonda parçacık boyutu dağılımı) gerçekleştirilmiştir. L^* ve h° değerleri depolama boyunca artmıştır. L^* değerindeki artış, safranlı pilavların renginin zamana bağlı olarak açıldığını gösterirken; h° değerindeki artış ise istenen renk olan sarıdan ($h^\circ=90^\circ$) uzaklaşarak yeşile doğru yaklaştığını ifade

etmektedir. Ayrıca; a^* , b^* ve C^* değerlerinde depolama boyunca azalma olduğu görülmektedir. Kırmızılığı ifade eden a^* ve sarılığı ifade eden b^* değerlerindeki azalma safranlı pilavların rengini veren bileşenlerin zamanla bozulduğunu göstermektedir. Mevcut rengin yoğunluğunu ifade eden C^* değerindeki azalma ise rengin zamanla azaldığını göstermektedir.

- Farklı dış sulu fazlarla hazırlanan S/Y/S emülsiyonlarının depolama süresine bağlı parçacık boyutu analizi sonuçlarına göre, tüm örneklerde D_{43} , D_{32} ve Açıklık değerlerinin depolama boyunca arttığı görülmektedir. Emülsiyonların parçacık çapları hakkında bilgi veren bu değerler, zamanla parçacıkların birleşerek daha büyük parçacıklar oluşturduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre; BSD, WPI ve WPI-BSD içeren emülsiyonların parçacık boyutlarının küçük ve depolama boyunca diğer emülsiyonlarınkine göre çok daha az değiştiği tespit edilmiştir. Bu durumun; protein-polisakkarit karışımının kullanılmasının bunların tek başına kullanılmasına kıyasla daha stabil emülsiyonlar oluşturmaktan kaynaklandığı değerlendirilmiştir
- Hem renk değerleri hem de parçacık boyutu değerleri göz önünde bulundurularak; iç fazını optimum koşullarda hazırlanan S/Y emülsiyonunun; dış fazını ise WPI-BSD kompleksinin ve tek başına BSD'in oluşturduğu 2 farklı S/Y/S çoklu emülsiyon sistemi hazırlanmış ve bunlarda depolama analizleri gerçekleştirilmiştir.
- Depolama örnekleri incelendiğinde; L^* değerlerinde artış, istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur. Ayrıca A ve B formülleri ile hazırlanan pilavların L^* değerlerinin diğer örneklerle göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeninin, emülsiyon içeriğindeki yağın parlaklık değerini etkilemesi olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra A ve B örnekleriyle hazırlanan pilavların L^* değerlerinin sıcaklık arttıkça arttığı görülmektedir. Emülsiyon formunda olmayan bu iki örneğin sıcaklığa karşı stabilitesinin diğer örneklerle göre daha düşük olduğu anlaşılmaktadır.
- Depolama örneklerinde; formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin h° değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur. Diğer bir deyişle tüm örneklerde h° değerlerinin depolama boyunca yükseldiği görülmektedir. Renk tonunu ifade eden h° değerindeki bu artış tüm örneklerin renklerinin istenen renk tonundan (sarı renk tonu için $h^\circ=90^\circ$) uzaklaştığını göstermektedir.
- Safranlı pilavların depolama süresince ölçülen C^* değerleri incelendiğinde; formül, depolama sıcaklığı ve depolama süresi varyans kaynaklarının ve bunların birbiriyle interaksiyonlarının, örneklerin C^* değerleri üzerine etkisi istatistiki olarak yüksek düzeyde ($P<0.01$) önemli bulunmuştur. Genel olarak tüm örneklerin C^* değerleri depolama süresince azalmış ve artan sıcaklıktan etkilenmiştir. C^* değerindeki bu azalma, pilavların renk yoğunluğunun azaldığını

göstermektedir. Aynı formülle renklendirilen pilavlarda da sıcaklık artışıyla birlikte renk yoğunluğu azalmıştır.

- Tüm emülsiyonlarda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça parçacık boyutunun da arttığı görülmektedir. C ve D formülündeki emülsiyonların parçacık boyutlarının depolama süresince birbirine yakın değerlerde olduğu ve genel olarak diğer emülsiyonlarınkinden daha büyük parçacıklara sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin bu emülsiyonların pervaneli karıştırıcı kullanılarak üretilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer emülsiyon formüllerinde ultra-turrax ve/veya ultrasonikasyon işleminin olması o formüllere ait emülsiyonların parçacık boyutunun küçülmesine neden olduğu değerlendirilmiştir. Tek katlı emülsiyonların hazırlanmasında bu tip yüksek hızlı veya kavitasyona neden olan karıştırıcıların kullanılması, emülsiyonlarda ani sıcaklık yükselmelerine neden olmakta ve biyoaktif bileşenlere zarar vermektedir. Bu nedenle çalışmamızda tek katmanlı emülsiyonlar pervaneli karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işlemlerinin birlikte uygulandığı emülsiyonların parçacık boyutlarının depolama süresince diğer formüllere kıyasla çok daha küçük oldukları görülmektedir. Ayrıca E ve G formülüne sahip emülsiyonların parçacık boyutu F ve H formülüne sahip emülsiyonlarınkinden göre daha küçük hesaplanmıştır. Bunun kaynağının emülsiyonların dış sulu fazındaki WPI'nın molekülün ağırlığının BSD'den daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Tüm depolama sıcaklıklarında depolama boyunca en düşük açıklık değeri ortalamalarının H emülsiyonunda hesaplandığı görülmektedir. C ve D formülüne sahip emülsiyonlara ait eğrilerin neredeyse çakışık olduğu ve açıklık değerlerinin diğer formüllere kıyasla, tüm sıcaklık değerlerinde depolama boyunca daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca C ve D formülüne ait emülsiyonların açıklık değerlerinin 45°C'deki ortalamasının en yüksek değerde olduğu açıkça görülmektedir. Bunun nedeninin artan sıcaklıkla beraber artan flokülasyonla beraber emülsiyonun homojenliğini kaybetmesi olduğu düşünülmektedir.
- Çoklu emülsiyonlar kendi aralarında değerlendirildiğinde açıkça görülmektedir ki depolama süresinin ve sıcaklığının artışından en az etkilenen emülsiyon ESI değeri en düşük olan H formülüne sahip emülsiyondur. Bunun; hem uygulanan ultrasonikasyon işleminden, hem de protein-polisakkarit karışımının kullanılmasının bunların tek başına kullanılmasına kıyasla daha stabil emülsiyonlar oluşturmamasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir.
- Ultra-turrax ve ultrasonikasyon işleminin birlikte kullanıldığı G ve H formüllerine sahip çoklu emülsiyonların mikroskop görüntüleri sırasıyla incelendiğinde özellikle H örneğinin parçacık boyutunun diğer bütün emülsiyon formüllerine göre çok küçük ve düzgün daire formunda olduğu net bir şekilde anlaşılmaktadır.
- Krosin salınımı ve dolayısıyla enkapsülasyon etkinliği bakımından en iyi sonuçları veren H emülsiyonu için; hem uygulanan ultrasonikasyon işleminin, hem de protein-polisakkarit kompleksinin emülsiyon stabilitesi üzerinde olumlu etki sağlamasının neden olduğu düşünülmektedir.

- LC-MS/MS ile krosin profilleri incelendiğinde, tüm formüllerde krosin içeriğinin çok büyük bir kısmının krosin-1'den oluştuğu görülmektedir. Literatürdeki birçok kaynakta da kuru safran kütesinin %10'unu Krosin-1 bileşiğinin oluşturduğu bildirilmektedir. Krosin-1'in yaygın bulunan formu olan trans izomerinin, cis izomerinden yaklaşık 7 kat fazla bulunduğu açıkça görülmektedir. Diğer bir deyişle Krosin-1-1 ve Krosin-1-2 miktarlarının toplamı, Krosin-1 bileşeninin toplam miktarını vermektedir. Sıcaklık arttıkça 35. günün sonunda tüm bileşiklerde degradasyon artmıştır. Buradan da anlaşılacağı gibi karotenoidlerin suda çözünebilir nadir üyelerinden olan krosinler, yağda çözünenlerin aksine sıcaklık artışına karşı stabil değildir.
- Depolama gününe ait grafik incelendiğinde renk ve görünüş olarak en çok beğenilen pilavların sırasıyla H ve G formülleriyle hazırlanmış olduğu açıkça görülmektedir. Koku ve tat açısından değerlendirildiğinde ise en çok beğenilen pilavlar sırasıyla C, A ve E formülleriyle hazırlananlardır. Genel beğeni puanına bakıldığında en çok beğenilen pilav H formülüne aittir, en az beğenilen pilavlar renklerini neredeyse kaybeden A, C ve F formüllerine ait oldukları görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

- Ahmad, A.S., Ansari, M.A., Ahmad, M., Saleem, S., Yousuf, S., Hoda, M.N.ve Islam, F. 2005. Neuroprotection by crocetin in a hemi-parkinsonian rat model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81 (4): 805-813.
- Akhondzadeh, S., Sabet, M.S., Harirchian, M., Togha, M., Cheraghmakani, H., Razeghi, S., Hejazi, S.S., Yousefi, M., Alimardani, R.ve Jamshidi, A. 2010. Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 35 (5): 581-588.
- Alonso, G.L., Salinas, M.R., Garijo, J.ve Sánchez Fernández, M.A. 2001. Composition of crocins and picrocrocin from Açıklıkish saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Quality*, 24 (3): 219-233.
- Altuğ, T. 2001. Gıda katkı maddeleri. *Meta Basım, İzmir*, 281 53-77.
- Amanpour, A., Kelebek, H.ve Selli, S. 2018. GLC/HPLC Methods for Saffron (*Crocus sativus* L.). *Bioactive Molecules in Food*, 1-49.
- Anonim 1: Dünyanın en pahalı baharatı safranbolu safranı proje tanıtım toplantısı Karabük'te yapıldı. <http://www.tarim.gov.tr/EYYDB/Belgeler/safran.docx> [Son erişim tarihi: 29.05.2019]
- Anonymous 1: Grades and types of saffron. <http://persiansaffron.hamta.org/grades-and-types-of-saffron/> [Son erişim tarihi: 29.05.2019]
- Anonymous 2: Spices — Saffron (*Crocus sativus* L.) — Part 2: Test methods. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3632:-2:ed-2:v1:en> [Son erişim tarihi: 27.06.2019]
- Anuar, N., Taha, R., Mahmad, N., Mohajer, S., Che Musa, S.A.N.i.ve Zainal Abidin, Z.H. 2017. Correlation of colour, antioxidant capacity and phytochemical diversity of imported saffron by principal components analysis. *Pigment & Resin Technology*, 46 (2): 107-114.
- Arslan, N. 2016. Penceremden Tıbbi Bitkiler, Safran Üzerine Düşünceler <https://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi20/66-69.pdf> [Son erişim tarihi: 29.05.2019]
- Bastida-Rodríguez, J. 2013. The food additive polyglycerol polyricinoleate (E-476): structure, applications, and production methods. *ISRN chemical engineering*, 2013.
- Bathaie, S.Z., Farajzade, A.ve Hoshyar, R. 2014. A review of the chemistry and uses of crocins and crocetin, the carotenoid natural dyes in saffron, with particular emphasis on applications as colorants including their use as biological stains. *Biotechnic & Histochemistry*, 89 (6): 401-411.

- Bathaie, S.Z.ve Mousavi, S.Z. 2010. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50 (8): 761-786.
- Behnia, M.R. 2012. Saffron. Tehran University, Iran s.
- Bhargava, V. 2011. Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 3 22-26.
- Bhattacharjee, C., Saxena, V.ve Dutta, S. 2017. Fruit juice processing using membrane technology: A review. *Innovative food science & emerging technologies*, 43 136-153.
- Bolandi, M.ve Ghoddusi, H. 2006. Flavour and colour changes during processing and storage of saffron (*Crocus sativus* L.). *Developments in Food Science*. Elsevier, 323-326 s.
- Bolhasani, A., Bathaie, S., Yavari, I., Moosavi-Movahedi, A.ve Ghaffari, M. 2005. Separation and purification of some components of Iranian saffron. *Asian Journal of Chemistry*, 17 (2): 725.
- Broadhead, G., Chang, A., Grigg, J.ve McCluskey, P. 2016. Efficacy and safety of saffron supplementation: current clinical findings. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56 (16): 2767-2776.
- Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R.ve Abdullaev, F.I. 2007. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food chemistry*, 100 (3): 1126-1131.
- Carmona, M., Zalacain, A., Salinas, M.ve Alonso, G. 2007. A new approach to saffron aroma. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47 (2): 145-159.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A.ve Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve sebze işleme teknolojisi*, 1 1-188.
- Christodoulou, E., Kadoglou, N.P., Kostomitsopoulos, N.ve Valsami, G. 2015. Saffron: a natural product with potential pharmaceutical applications. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67 (12): 1634-1649.
- Cossignani, L., Urbani, E., Simonetti, M.S., Maurizi, A., Chiesi, C.ve Blasi, F. 2014. Characterisation of secondary metabolites in saffron from central Italy (Cascia, Umbria). *Food chemistry*, 143 446-451.
- Çavuşoğlu, A.ve Erkel, E. 2005. Kocaeli ili koşullarında safran (*Crocus sativus* L.) yetiştiriciliğinde yetiştirme yeri ve korm çapının verim ve erkencilik üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2): 179-184.
- Dalgleish, D.G., Spagnuolo, P.A.ve Goff, H.D. 2004. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal*, 14 (12): 1025-1031.

- Dickinson, E. 2008. Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4 (5): 932-942.
- Duke, J.A. 2002. Handbook of medicinal herbs. CRC press s.
- Durak, A.N. 2013. Süne ve kımıl zararına uğramış buğdaylarda proteaz enzimi iaktivasyonunda ultrasonic ses dalgalarının kullanım imkanları.Yüksek lisans, Akdeniz Üniversitesi, Antalya.48 s.
- Esfanjani, A.F., Jafari, S.M., Assadpoor, E.ve Mohammadi, A. 2015. Nano-encapsulation of saffron extract through double-layered multiple emulsions of pectin and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 165 149-155.
- Esfanjani, A.F., Jafari, S.M.ve Assadpour, E. 2017. Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets. *Food chemistry*, 221 1962-1969.
- Feo, F., Martinez, J., Martinez, A., Galindo, P., Cruz, A., Garcia, R., Guerra, F.ve Palacios, R. 1997. Occupational allergy in saffron workers. *Allergy*, 52 (6): 633-641.
- Finley, J.W.ve Gao, S. 2017. A perspective on *Crocus sativus* L.(Saffron) constituent crocin: a potent water-soluble antioxidant and potential therapy for Alzheimer's disease. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65 (5): 1005-1020.
- Gismondi, A., Serio, M., Canuti, L.ve Canini, A. 2012. Biochemical, antioxidant and antineoplastic properties of Italian saffron (*Crocus sativus* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 3 (11): 1573.
- Gracia, L., Perez-Vidal, C.ve Gracia-López, C. 2009. Automated cutting system to obtain the stigmas of the saffron flower. *biosystems engineering*, 104 (1): 8-17.
- Gregory, M.J., Menary, R.C.ve Davies, N.W. 2005. Effect of drying temperature and air flow on the production and retention of secondary metabolites in saffron. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53 (15): 5969-5975.
- Guijarro-Díez, M., Castro-Puyana, M., Crego, A.L.ve Marina, M.L. 2017. A novel method for the quality control of saffron through the simultaneous analysis of authenticity and adulteration markers by liquid chromatography-(quadrupole-time of flight)-mass spectrometry. *Food chemistry*, 228 403-410.
- Güngör, Ö., Zungur, A., Koç, M.ve Kaymak-Ertekin, F. 2013. Emülsiyonların Özellikleri ve Emülsifikasyon Koşullarının Aroma ve Yağların Mikroenkapsülasyonu Üzerine Etkisi. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 11 (2).
- Hemmati, K.A. 2001. Optimization of effective parameters on production of food color from Saffron petals.

- Hemmati Kakhki, A. ve Rahimi, S. 1994. Extraction of anthocyanin from petals of saffron (*Crocus sativus* L.) and its stability in a model beverage. *Iran. Res. Org. Sci. Technol.*
- Hinz, W. 1990. İslam'da ölçü sistemleri. Marmara Üniversitesi s.
- Hosseini, M., 2000. Evaluation of socio-economic consequences of saffron research during the past 10 years. Scientific and Industrial Research Organization of Iran, Khoran Center.
- Hosseinzadeh, H., Karimi, G. ve Niapoor, M. 2003. Antidepressant effect of *Crocus sativus* L. stigma extracts and their constituents, crocin and safranal, in mice. I International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology 650, 435-445 ss,
- Hosseinzadeh, H. ve Nassiri-Asl, M. 2013. Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Phytotherapy Research*, 27 (4): 475-483.
- İlyasoğlu, H. ve El, S.N. 2010. Nanoemülsiyonlar: oluşumları, yapıları ve kollodial salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *GIDA/The Journal of FOOD*, 35 (2).
- Jafari, S.-M., Mahdavi-Khazaei, K. ve Hemmati-Kakhki, A. 2016. Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. *Carbohydrate polymers*, 140 20-25.
- Jafari, S.M. 2017. Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries. Academic Press s.
- Jalali-Heravi, M., Parastar, H. ve Ebrahimi-Najafabadi, H. 2009. Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, 1216 (33): 6088-6097.
- Jose Bagur, M., Alonso Salinas, G., Jiménez-Monreal, A., Chaouqi, S., Llorens, S., Martínez-Tomé, M. ve Alonso, G. 2018. Saffron: An old medicinal plant and a potential novel functional food. *Molecules*, 23 (1): 30.
- Joukar, S., Ghasemipour-Afshar, E., Sheibani, M., Naghsh, N. ve Bashiri, A. 2013. Protective effects of saffron (*Crocus sativus*) against lethal ventricular arrhythmias induced by heart reperfusion in rat: a potential anti-arrhythmic agent. *Pharmaceutical biology*, 51 (7): 836-843.
- Kafi, M. 2006. Saffron (*Crocus sativus*): production and processing. Science Publishers s.
- Kanakakis, C.D., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A. ve Polissiou, M.G. 2004. Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-hydroxy-2, 6, 6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (14): 4515-4521.

- Karimi, G.R., Hosseinzadeh, H.ve Khalegh, P.P. 2001. Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Crocus sativus* in mice.
- Kazemi, M., Talebifar, M., Abedin, E.ve Saffarian, A. 2011. *Crocus*. Ayyij, Iran s.
- Khazaei, K.M., Jafari, S., Ghorbani, M.ve Kakhki, A.H. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate polymers*, 105 57-62.
- Khori, V., Alizadeh, A.M., Yazdi, H., Rakhshan, E., Mirabbasi, A., Changizi, S., Mazandarani, M.ve Nayeypour, M. 2012. Frequency-dependent electrophysiological remodeling of the AV Node by Hydroalcohol Extract of *Crocus sativus* L.(Saffron) during experimental atrial fibrillation: the role of endogenous nitric oxide. *Phytotherapy research*, 26 (6): 826-832.
- Kiani, S., Minaei, S.ve Ghasemi-Varnamkhasti, M. 2018. Instrumental approaches and innovative systems for saffron quality assessment. *Journal of Food Engineering*, 216 1-10.
- Koç, M. 2015. Farklı kurutma yöntemleri ile bal tozu üretim koşullarının optimize edilmesi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir s.
- Kyriakoudi, A., Chrysanthou, A., Mantzouridou, F.ve Tsimidou, M.Z. 2012. Revisiting extraction of bioactive apocarotenoids from *Crocus sativus* L. dry stigmas (saffron). *Analytica chimica acta*, 755 77-85.
- Kyriakoudi, A., Tsimidou, M.Z., O'Callaghan, Y.C., Galvin, K.ve O'Brien, N.M. 2013. Changes in total and individual crocetin esters upon in vitro gastrointestinal digestion of saffron aqueous extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61 (22): 5318-5327.
- Lage, M.ve Cantrell, C.L. 2009. Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocins and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. *Scientia Horticulturae*, 121 (3): 366-373.
- Licón, C., Carmona, M., Rubio, R., Molina, A.ve Berruga, M. 2012. Preliminary study of saffron (*Crocus sativus* L. stigmas) color extraction in a dairy matrix. *Dyes and Pigments*, 92 (3): 1355-1360.
- Lutz, R., Aserin, A., Wicker, L.ve Garti, N. 2009a. Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72 (1): 121-127.

- Lutz, R., Aserin, A., Wicker, L.ve Garti, N. 2009b. Release of electrolytes from W/O/W double emulsions stabilized by a soluble complex of modified pectin and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74 (1): 178-185.
- Maggi, L., Carmona, M., Del Campo, C.P., Kanakis, C.D., Anastasaki, E., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G.ve Alonso, G.L. 2009. Worldwide market screening of saffron volatile composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (11): 1950-1954.
- Maggi, L., Carmona, M., Zalacain, A., Kanakis, C.D., Anastasaki, E., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G.ve Alonso, G.L. 2010. Changes in saffron volatile profile according to its storage time. *Food Research International*, 43 (5): 1329-1334.
- Maghsoudi, S. 2011. Saffron. Science of Agricultural, Iran s.
- Martínez, F.V., Muñoz Pamplona, M.P., Urzaiz, Á.G.ve García, E.C. 2007. Occupational airborne contact dermatitis from saffron bulbs. *Contact Dermatitis*, 57 (4): 284-285.
- Mauseth, J.D. 2014. Botany: an introduction to plant biology. Jones & Bartlett Publishers s.
- McClements, D.J. 2015. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press s.
- McClements, D.J.ve 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.
- McClements, D.J.ve Jafari, S.M. 2018. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 251 55-79.
- McLellan, M., Lind, L.ve Kime, R. 1995. Ton angle determinations and statistical analysis for multiquadrant Hunter L, a, b data. *Journal of Food Quality*, 18 (3): 235-240.
- Mehrnia, M.-A., Jafari, S.-M., Makhmal-Zadeh, B.S.ve Maghsoudlou, Y. 2016. Crocin loaded nano-emulsions: factors affecting emulsion properties in spontaneous emulsification. *International journal of biological macromolecules*, 84 261-267.
- Mehrnia, M.-A., Jafari, S.-M., Makhmal-Zadeh, B.S.ve Maghsoudlou, Y. 2017. Rheological and release properties of double nano-emulsions containing crocin prepared with Angum gum, Arabic gum and whey protein. *Food hydrocolloids*, 66 259-267.

- Mohammad, A.W., Ng, C.Y., Lim, Y.P. ve Ng, G.H. 2012. Ultrafiltration in food processing industry: review on application, membrane fouling, and fouling control. *Food and bioprocess technology*, 5 (4): 1143-1156.
- Mohammadi, A., Jafari, S.M., Assadpour, E. ve Esfanjani, A.F. 2016a. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. *International journal of biological macromolecules*, 82 816-822.
- Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfanjani, A.F. ve Akhavan, S. 2016b. Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food chemistry*, 190 513-519.
- Mousavi, S.Z. ve Bathaie, S.Z. 2011. Historical uses of saffron: Identifying potential new avenues for modern research. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1 (2): 57-66.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. ve Anderson-Cook, C.M. 2016. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. John Wiley & Sons s.
- Nair, S., Pannikar, B. ve Panikkar, K. 1991. Antitumour activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer letters*, 57 (2): 109-114.
- Nassiri-Asl, M. ve Hosseinzadeh, H. 2015. Neuropharmacology effects of saffron (*Crocus sativus*) and Its active constituents. *Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease*. Elsevier, 29-39 s.
- Negbi, M. 2003. Saffron: *Crocus sativus* L. CRC Press s.
- Omidibi, R., Sadeghi, B. ve Ramezani, A. 2000. Effect of cultivated areas on saffron (*Crocus sativus* L.) quality. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 1 (3-4): 167-178.
- Onoğur, T.A. 2011. Gıdalarda duyuşal değęrlendirme. Sidas Yayıncılık s.
- Ordoudi, S. A., Staikidou, C., Kyriakoudi, A., & Tsimidou, M. Z. 2018. A stepwise approach for the detection of carminic acid in saffron with regard to religious food certification. *Food chemistry*, 267, 410-419.
- Orfanou, O. ve Tsimidou, M. 1996. Evaluation of the colouring strength of saffron spice by UV—Vis spectrometry. *Food chemistry*, 57 (3): 463-469.
- Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M. ve Lamari, F.N. 2006. Inhibitory activity on amyloid- β aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (23): 8762-8768.
- Pitsikas, N. 2016. Constituents of saffron (*Crocus sativus* L.) as potential candidates for the treatment of anxiety disorders and schizophrenia. *Molecules*, 21 (3): 303.

- Purushothuman, S., Nandasena, C., Peoples, C.L., El Massri, N., Johnstone, D.M., Mitrofanis, J. ve Stone, J. 2013. Saffron pre-treatment offers neuroprotection to nigral and retinal dopaminergic cells of MPTP-treated mice. *Journal of Parkinson's disease*, 3 (1): 77-83.
- Rahaiee, S., Shojaosadati, S.A., Hashemi, M., Moini, S. ve Razavi, S.H. 2015. Improvement of crocin stability by biodegradable nanoparticles of chitosan-alginate. *International journal of biological macromolecules*, 79 423-432.
- Ramadan, A., Soliman, G., Mahmoud, S.S., Nofal, S.M. ve Abdel-Rahman, R.F. 2012. Evaluation of the safety and antioxidant activities of *Crocus sativus* and Propolis ethanolic extracts. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16 (1): 13-21.
- Razak, S.I.A., Anwar Hamzah, M.S., Yee, F.C., Kadir, M.R.A. ve Nayan, N.H.M. 2017. A Review on Medicinal Properties of Saffron toward Major Diseases. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 23 (2): 98-116.
- Rouhani, R., Eyenafshar, S. ve Ahmadzadeh, R. 2015. Study of anthocyanin and antionidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11 (2): 161-170.
- Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M. ve Samini, F. 2014. Ameliorative effect of saffron aqueous extract on hyperglycemia, hyperlipidemia, and oxidative stress on diabetic encephalopathy in streptozotocin induced experimental diabetes mellitus. *BioMed research international*, 2014.
- Sánchez, A.M., Carmona, M., Prodanov, M. ve Alonso, G.L. 2008. Effect of centrifugal ultrafiltration on the composition of aqueous extracts of saffron spice (*Crocus sativus* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56 (16): 7293-7301.
- Schmidt, M., Betti, G. ve Hensel, A. 2007. Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 157 (13-14): 315.
- Selim, K., Tsimidou, M. ve Biliaderis, C. 2000. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. *Food chemistry*, 71 (2): 199-206.
- Shahi, T., Assadpour, E. ve Jafari, S.M. 2016. Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of 'red gold'; saffron. *Trends in food science & technology*, 58 69-78.
- Sujata, V., Ravishankar, G. ve Venkataraman, L. 1992. Methods for the analysis of the saffron metabolites crocin, crocetins, picrocrocin and safranal for the determination of the quality of the spice using thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 624 (1-2): 497-502.

- Tadros, T.F. 2009. Emulsion science and technology: a general introduction. Wiley-VCH: Weinheim s.
- Tarantilis, P.A., Polissiou, M.ve Manfait, M. 1994. Separation of picrocrocin, cis-trans-crocins and safranal of saffron using high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 664 (1): 55-61.
- Tarantilis, P.A., Tsoupras, G.ve Polissiou, M. 1995. Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 699 (1-2): 107-118.
- Tontul, İ. 2011. Keten tohumu yağının püskürterek kurutmayla mikroenkapsülasyonu üzerine farklı taşıyıcı madde ve emülsiyon uygulamalarının etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans, Akdeniz Üniversitesi, Antalya. 85 s.
- Tsimidou, M.ve Tsatsaroni, E. 1993. Stability of saffron pigments in aqueous extracts. *Journal of Food Science*, 58 (5): 1073-1075.
- Ünalı, Ü.E. 2007. Tehdit ve tehlike altında bir kültür bitkisi : Safran (*Crocus sativus* L.). *Journal of Social Science*, 53.
- Valizadeh, R. 1988. Use of saffron leaves as animal feed. *Annual report. Scientific and Industrial Research Organization of Khorasan, Mashhad, Iran*.
- Valle Garcia-Rodriguez, M., Serrano-Diaz, J., Tarantilis, P.A., López-Córcoles, H., Carmona, M.ve Alonso, G.L. 2014. Determination of saffron quality by high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62 (32): 8068-8074.
- Varzakas, T.ve Tzia, C. 2014. Food engineering handbook: food process engineering. CRC Press s.
- Vural, H., Ozboy-Ozbas, O.ve Javidipour, I. 2004. Utilization of sugarbeet fiber in low-fat Turkish-type salami. *Zuckerindustrie*, 129 (4): 249-253.
- Vurdu, H.ve Çiçek, F. 1992. Biyolojik zenginliklerimiz: Çiğdem (*Crocus* spp.) Fidan. *Sayı*, 57 2-5.
- Wang, Y., Han, T., Zhu, Y., Zheng, C.-J., Ming, Q.-L., Rahman, K.ve Qin, L.-P. 2010. Antidepressant properties of bioactive fractions from the extract of *Crocus sativus* L. *Journal of natural medicines*, 64 (1): 24.
- Wang, Y., Sun, J., Liu, C.ve Fang, C. 2014. Protective effects of crocetin pretreatment on myocardial injury in an ischemia/reperfusion rat model. *European journal of pharmacology*, 741 290-296.
- Warburg, E.F. 1957. Crocuses. *Endeavour*, 16 (64): 209-216.

- Xi, L., Qian, Z., Xu, G., Zheng, S., Sun, S., Wen, N., Sheng, L., Shi, Y.ve Zhang, Y. 2007. Beneficial impact of crocetin, a carotenoid from saffron, on insulin sensitivity in fructose-fed rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 18 (1): 64-72.
- Yıldız, E.ve Çabuk, H. 2018. Miniaturized matrix solid-phase dispersion coupled with supramolecular solvent-based microextraction for the determination of paraben preservatives in cream samples. *Journal of separation science*, 41 (13): 2750-2758.



7. EKLER

EK-1

	0 Gün	35 Gün-5°C	35 Gün-25°C	35 Gün-45°C
A				
B				
C				
D				
E				
F				
G				
H				

ÖZGEÇMİŞ

Negin Azarabadi

negin.azarabadi@yahoo.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2012-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2009-2011	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans 2003-2008	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

ESERLER

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Azarabadi N., Özdemir F. (2018). Determination of crocin content and volatile components in different qualities of Iranian saffron. Gıda The Journal of Food, 43(3), 476-489. Doi: 10.15237/gida.GD18018.

2- Özdemir K.S., Azarabadi N., Topuz A. (2018). Microencapsulation of bergamot peel essential oil with gum arabic and maltodextrin blends: stability and release characteristics of the essential oil compounds. Gıda The Journal of Food, 43(6), 957-970. Doi: 10.15237/gida.GD18093.

3- Salman S., Azarabadi N., Özdemir F. (2019). Siyah çay harmanında partikül boyutu ve demleme süresinin dem özellikleri üzerine etkisi. Gıda The Journal of Food, 44(3), 442-452. Doi: 10.15237/gida.GD19041.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Salman S., Felek R., Azarabadi N., Haznedar A., Turna T., Özdemir F. (2018). Antioxidant and antimicrobial activity of green, black and different degrees of fermented oolong teas. 3rd International Congress on Food Technology. (Poster Sunumu)
- 2- Azarabadi N., Özdemir F. (2018). Optimization of crocin extraction from saffron. 3rd International Congress on Food Technology. (Poster Sunumu)
- 3- Salman S., Azarabadi N., Özdemir F. (2018). Effect of particle size and brewing time on the amount of bioactive compounds in black tea infusion. 3rd International Congress on Food Technology. (Poster Sunumu)
- 4- Azarabadi N., Özdemir F. (2016). Comparative study on volatile compounds of saffron depending on quality category. 1. Food Chemistry Conf. (Poster Sunumu)
- 5- Azarabadi N., Salman S., Özdemir F. (2016). Production of instant linden tea (*Tilia cordata*) by spray drying technology and determination of product properties. 1. Food Chemistry Conf. (Poster Sunumu)
- 6- Salman S., Azarabadi N., Özdemir F. (2016). Türk çay filizlerinin bazı fiziksel özellikleri. 12. Türkiye Gıda Kong. (Poster Sunumu)
- 7- Azarabadi N., Özdemir F. (2016). Comparative study on quality characteristics of saffron depending on quality category. 2. Food Structure Design, Conf. (Poster Sunumu)
- 8- Azarabadi N., Salman S., Özdemir F. (2016). İran safranı (*Crocus sativus* L.) ve çiçek atıklarının değerlendirilmesi. 12. Türkiye Gıda Kong. (Poster Sunumu)
- 9- Azarabadi N., Özdemir F. (2011). Some quality properties of different commercial Iranian saffrons. NAFI International Food Cong (Poster Sunumu)
- 10- Topuz A., Özdemir K.S., Azarabadi N. (2010). Essential oil composition of lemon Peel oil extracted by hydrodistillation. 1. International Cong on Food Technology (Poster Sunumu)
- 11- Azarabadi N., Özdemir K.S., Özdemir F. (2010). İran Mutfağında Safranın Yeri ve Önemi. Traditional Foods From Adriatic to Caucasus (Poster Sunumu)