

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KETEN TOHUMU YAĞI KULLANILARAK ÇOK
TABAKALI YAĞ/SU EMÜLSİYON OLUŞUMU,
KARAKTERİZASYONU VE STABİLİTESİ**

Canan KARTAL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ

İkinci Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa Kemal ÜNAL

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 614.01.00.

Sunuş Tarihi:13.02.2014

Bornova-İZMİR

2014

..... tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “.....”
başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen
Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca
tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve tarihinde
yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

ÖZET

KETEN TOHUMU YAĞI KULLANILARAK ÇOK TABAKALI YAĞ/SU EMÜLSİYON OLUŞUMU, KARAKTERİZASYONU VE STABİLİTESİ

KARTAL, Canan

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ

İkinci Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa Kemal ÜNAL

Şubat 2014, 113 sayfa

Keten tohumu yağı, sahip olduğu yüksek α -linolenik asit miktarı ile omega-3 yağ asitleri açısından en zengin kaynaklardan biridir ve fonksiyonel gıda alanında önemli fitokimyasal kaynaklardan biri olarak değerlendirilmektedir. Keten tohumu yağı kullanılarak hazırlanan mevcut çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır. Bunlardan ilki, hazırlandığı koşullarda stabilitesini koruyan geleneksel emülsiyon yapısı (tek tabakalı) ile çok tabakalı emülsiyon yapılarının oluşturulmasıdır. Çalışmanın ikinci amacı ise, geleneksel emülsiyon sistemi ile çok tabakalı emülsiyon yapısının, yağ fazının oksidatif stabilitesine karşı ve çevresel stres faktörlerinden biri olan pH değişimine karşı gösterdikleri direncin belirlenmesidir. Bu amaçlar doğrultusunda gerçekleştirilen çalışma iki kısım olarak planlanmıştır.

Çalışmanın birinci kısmında, tek tabakalı emülsiyon yapısı, keten tohum yağı ve değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat (Na-kazeinat) kullanılarak hazırlanmıştır. Emülsiyon sisteminin karakterizasyonu için partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, bulanıklık değeri, kremalaşma indeksi, görsel değerlendirme ve optik mikroskop ile görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan analiz sonuçlarına göre, % 0.7 ağırlık/ağırlık (a/a) Na-kazeinat konsantrasyonuna sahip örneklerin emülsiyon stabilitesinin bozulmadığı görülmüştür. pH 3 ortamında hazırlanan ve değişen konsantrasyonlarında pektin içeren çok tabakalı emülsiyon yapısının karakterizasyonu için partikül boyut

dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, bulanıklık değeri, kremalaşma indeksi, görsel değerlendirme ve optik mikroskop görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır. %1.5 a/a pektin konsantrasyonuna sahip örnekte homojen partikül dağılımı ve stabil bir yapı belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, elde edilen tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon örneklerinin oksidatif stabiliteleri ve pH hassasiyetleri değerlendirilmiştir. Oksidatif stabilite belirlenmesi için örnekler 55°C de 22 gün boyunca etüv ortamında depolanmış ve peroksit değeri ve tiyobarbitirik asit reaktif bileşen (TBARS) değerleri ölçülmüştür. 17 günlük depolama sonucunda hidroperoksit değerinin ve 10 günlük depolama sonucunda TBARS değerlerinin pektin ile oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapısında, tek tabakalı (Na-kazeinat) emülsiyona kıyasla daha düşük bir değer aldığı belirlenmiştir. Emülsiyonların ortamın pH değişimine karşı gösterdikleri hassasiyet ise ortam asitliği 3-7 arasında değiştirilerek gözlemlenmiştir. pH değişimine karşı emülsiyon stabilitesinin belirlenmesinde, partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, kremalaşma indeksi, görsel değerlendirme ve optik mikroskop ile görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır. Pektin içeren çok tabakalı emülsiyon yapılarının tek tabakalı yapının stabilitesini koruyamadığı pH 3-5 aralığında stabil kaldığı belirlenmiştir. pH değerleri 6-7 aralığında ise fiziksel stabilitelerini kaybetmiş, emülsiyon yapısında yüksek düzeyde flokülasyon ve koalesans olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Keten tohumu yağı, çok tabakalı emülsiyon, sodyum kazeinat, pektin, karakterizasyon, emülsiyon stabilitesi.

ABSTRACT**FORMATION, CHARACTERIZATION AND STABILITY OF
MULTILAYER OIL / WATER EMULSION BY USING FLAXSEED
OIL**

KARTAL, Canan

MSc in Food Engineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Semih OTLES

Co-supervisor: Prof. Dr. Mustafa Kemal UNAL

February 2014, pages 113

Flax seed oil, which has a high amount of α -linolenic acid, is one of the richest sources of omega-3 fatty acids and is regarded as an important source of phytochemicals in the area of functional foods. The present study using flaxseed oil contains two main objectives. The first one, was formed conventional emulsion (single layer) and multilayer emulsion structures that protect their stabilities under prepared conditions. The second aim of the study, was to determine the resistance of conventional emulsion and multilayer emulsion structures against oxidative stability of the oil phase and pH change which is one of environmental stress factors. In accordance with this purpose, this study was planned in two parts.

In the first part of the study, a single-layer emulsion was prepared using with flaxseed oil and varying concentrations sodium caseinate (Na-caseinate). For characterization of the emulsion structure, particle size distribution, zeta-potential measurement, turbidity value, creaming index, visual evaluation and optical microscopy imaging techniques were used. According to the results of the analysis, no alteration was observed in the emulsion stability of 0.7 % weight / weight (w / w) Na-caseinate concentration. For the characterization multilayer emulsion structure, which was prepared in pH 3 and with varying concentrations of pectin, particle size distribution, zeta-potential measurements, turbidity value, the creaming index, visual assessment and optical microscopy imaging techniques

are used. A stable structure and uniform particle size distribution was determined in pectin samples having a concentration of 1.5% w/w.

In the second part of the study, the obtained single-layer and multilayer emulsion samples were evaluated for oxidative stability and the pH sensitivity. Samples stored in oven at 55 ° C, for 22 days for determination of oxidative stability and peroxide values and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values were measured. As a result of 17 days of storage for of hydrogen peroxide value and 10 days of storage for TBARS values, it was determined that multilayer emulsion formed by pectin had a value lower than single layer (Na-caseinate) emulsion. Also, sensitivity of emulsions to changes of pH was observed by amending of the medium acidity between 3-7. For determination of emulsion stability against changes in pH, particle size distribution, zeta-potential measurement, creaming index, visual evaluation and imaging by optical microscopy were used. Emulsions containing pectin multilayer structures can protect their stability at pH 3-5 range, which the monolayer structure remains unstable were observed. But pH values in the range of 6-7, multilayer emulsions lost physical stability and high level flocculation and coalescenc has been found to ocur in the emulsion structure.

Keywords: Flaxseed oil, multilayer emulsion, sodium caseinate, pectin, characterization, emulsion stability

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince değerli görüş ve deneyimlerini benimle paylaşan, verdikleri emek ve gösterdikleri hoş görüleri ile bana her zaman destek olan danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ ve Sayın Prof. Dr. Mustafa Kemal ÜNAL'a,

Tez çalışması için kullanılan Nanosizer cihazını sağlayan İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kimya bölümü hocalarından Sayın Doç. Dr. Mustafa M. DEMİR ve cihazın kullanımı esnasında desteğini esirgemeyen Ar. Gör. Özge TÜNCEL'e, Mastersizer cihazını sağlayan Sayın Prof. Dr. Hürriyet POLAT'a,

Tez çalışmasında kullanılan optik mikroskop cihazını sağlayan İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, BİYOMER birimine,

Hayatım boyunca daima yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hep hissettiğim canım aileme,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Emülsiyonlar	4
2.2. Emülsiyonların Özellikleri.....	6
2.2.1. Damlacık karakteristiği.....	6
2.3. Emülsiyon Stabilitesi	18
2.3.1. Yer çekimi etkisi ile ayrışma	19
2.3.2. Flokülasyon	23
2.3.3. Koalesans	26
2.3.4. Ostwald damlacık büyümesi	27
2.4. Çok Tabakalı Emülsiyonlar	27
2.4.1. Çok tabakalı emülsiyonların stabilitesine etki eden faktörler	34
2.5. Emülsiyonların Oksidatif Stabilitesi	42
3. MATERYAL VE YÖNTEM	44
3.1. Materyal	44

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.1.1. Hammaddeler	44
3.1.2. Kimyasal maddeler	44
3.2. Yöntem	45
3.2.1. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon oluşumu ve karakterizasyonu	47
3.2.2. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapılarının oksidatif stabilite ve pH stabilitesi	51
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	58
4.1. Tek Tabakalı ve Stabil Bir Yağ/Su Emülsiyonu Oluşturulması İçin Optimum Sodyum Kazeinat Miktarının Belirlenmesi	58
4.1.1. Partikül çap ölçümü	58
4.1.2. Zeta-potansiyel ölçümü	60
4.1.3. Bulanıklık değeri	61
4.1.4. Kremalaşma stabilite ölçümü.....	63
4.1.5. Optik mikroskop ile görüntüleme	65
4.2. Çok Tabakalı ve Stabil Bir Yağ/Su Emülsiyonu Oluşturulması İçin Gerekli Optimum Pektin Miktarının Belirlenmesi	69
4.2.1. Partikül çap ölçümü	69
4.2.2. Zeta-potansiyel ölçümü.....	72
4.2.3. Bulanıklık Değeri.....	77
4.2.4. Kremalaşma stabilite ölçümü.....	77
4.2.5. Optik mikroskop ile görüntüleme	80

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.3. Tek Tabakalı (Birincil) ve Çok Tabakalı (İkincil) Emülsiyonların	
Oksidasyon Stabilitelerinin Belirlenmesi	83
4.4. Tek Tabakalı (Birincil) ve Çok Tabakalı (İkincil) Emülsiyonların	
pH Stabilitelerinin Belirlenmesi	88
5. SONUÇ	100
KAYNAKLAR DİZİNİ	103
ÖZGEÇMİŞ	113

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Yağ globüllerinin karakteristik özellikleri değiştirilerek, değişik fonksiyonel yapıların oluşturulması	7
2.2. Partikül çaplarına karşılık yüzde miktar gösteren partikül boyut dağılımı	8
2.3. Eşit sayıda 5 nm ve 50 nm tanecik boyutlarına sahip bir emülsiyonun sayısal, hacimsel ve yoğunluksal partikül boyut dağılımları	9
2.4. Alan-hacim ortalama çap değeri ve hacim-moment ortalama çap değeri	11
2.5. İki faz arasındaki elektriksel tabakalar ve iyon dağılımı	13
2.6. Emülsiyon yapılarında gözlemlenen başlıca stabilite sorunları	19
2.7. Polidispers bir yağ/su emülsiyonunda kremalaşma olayının şematik adımları	20
2.8. Kremalaşmaya karşı kararlı olmayan bir yağ/su emülsiyonun dikey düzlemde yağ globüllerinin dağılışının şematik gösterimi	21
2.9. Protein-stabilize emülsiyonların flokülasyonunu etkilen faktörlerin şematik gösterimi	24
2.10. Emülsiyonlarda koalesans oluşumunun şematik gösterimi	26
2.11. Ostwald damlacık büyümesi şematik gösterimi	27
2.12. Çok tabakalı emülsiyon yapısı	31
2.13. Birbirleriyle zıt elektriksel yüke sahip kolloidal partiküllerin ve biyopolimerin ortama eklenmesi ile gerçekleşen olayların şematik gösterimi	37

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.14. Çok tabakalı emülsiyonlarda karakterizasyon yöntemleri	38
4.1. Farklı konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren birinci yağ/su emülsiyonunun z-ortalama çap ve çoklu dağılım indeks değişimi	58
4.2. Farklı konsantrasyonlarda Na-kazeinat içeren birincil yağ/su emülsiyonunun zeta-potansiyel değerleri	61
4.3. Farklı konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren birinci yağ/su emülsiyonunun 660 nm dalga boyunda absorbands değerleri	62
4.4. Değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının 1 haftalık depolama sonuçları	63
4.5. Değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının 1 haftalık depolama sonucu kremalaşma indeks değerleri	64
4.7. Çok tabakalı yağ/su emülsiyonunun değişen pektin konsantrasyonlarına karşı $d(4,3)$ değerleri	69
4.8. Farklı konsantrasyonlarda pektin içeren çift tabakalı yağ/su emülsiyonunun $d(3,2)$ değerleri	70
4.9. Farklı konsantrasyonlarda pektin içeren çok tabakalı yağ/su emülsiyonunun zeta-potansiyel değerleri	73
4.10. Değişen konsantrasyonlarda pektin içeren çift tabakalı yağ/su emülsiyonunun bir haftalık depolama sonucu 660nm'de ölçülen absorbands değerleri.	75

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.11. Değişen konsantrasyonlarda % a/a pektin içeren yağ/su emülsiyonlarının (%5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat, pH 3) 1 haftalık depolama sonucu	78
4.12. Değişen konsantrasyonlarda % a/a pektin içeren yağ/su emülsiyonlarının (%5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat, pH 3) 1 haftalık depolama sonucu % kremalaşma indeksleri	79
4.13. Değişen konsantrasyonlarda pektin içeren, %5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat ve pH 3 olan emülsiyonların 1 haftalık depolama süresi sonunda optik mikroskop ile çekilen fotoğrafları	81
4.14. 55°C de 22 gün boyunca depolan tek tabakalı ve çift tabakalı emülsiyon örneklerinin hidro peroksit (mM) değerlerinin zamana bağlı değişimi	83
4.15. 55°C de 22 gün boyunca depolan tek tabakalı ve çift tabakalı Emülsiyon örneklerinin TBARS (µmol/L) değerlerinin zamana bağlı değişimi	85
4.16. Birincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı Z-ortalama çap sonuçları	89
4.17. İkincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı d(3,2) ortalama çap sonuçları	90
4.18. İkincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı d(4,3) ortalama çap sonuçları	90

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.19. Birincil ve ikincil emülsiyon örneklerinin değişen pH değerlerine karşı zeta-potansiyel ölçümleri	92
4.20. Birincil ve İkincil emülsiyon örneklerinin değişen pH değerlerine karşı görsel değerlendirmesi	93
4.21. Birincil ve İkincil örneklerinin değişen pH değerlerine karşı kremalaşma indeks değerleri	94
4.22. Emülsiyon örneklerinin optik mikroskop ile çekilen görüntüleri	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ortalama çap değerleri ve hesaplama yöntemleri	10
3.1. Kümen hidroperoksit standartlarını hazırlanması	54
3.2. 1,1,3,3 tetraetoksipropan standartlarının hazırlanması	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

a/a	Ağırlık/ağırlık
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
HCl	Hidroklorik asit
FeSO ₄	Demir sülfat
BaCl ₂	Baryum klorür
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
mM	Milimolar

Kısaltmalar

Na-kazeinat	Sodyum kazeinat
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif bileşen
LBL	Kat-kat

1.GİRİŞ

Birçok sanayi kolunda emülsiyon yapıları ve emülgatörler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gıda sanayisi bu sanayi kollarının en önemlilerinden biridir. Süt, krema, mayonez, margarin, çeşitli salata sosları ve çorbalar emülsiyon teknoloji ile üretilen belli başlı ürünlere örnek olarak verilebilir.

Geleneksel bir emülsiyon sistemi, bir veya birden çok emülgatör varlığında yağ ve su fazlarının birlikte homojenizasyonu ile elde edilmektedir. Emülsiyon sistemleri için uygun emülgatör seçimi, gıda bileşenlerinin çeşit ve konsantrasyonu, emülsiyonu oluşturmada seçilen yöntem ve çevresel koşullara göre değişiklik gösterir (Guzey and McClement, 2006a). Mevcut emülgatör çeşitleri ve emülsiyon oluşumunda kullanılan geleneksel yöntemler, emülsiyonların fonksiyonel özelliklerinde (pH, tuz oranı, ısısal işlem, dehidrasyon, soğutma, dondurma vb.) bazı limitlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Aoki et al., 2005; Guzey and McClements, 2006a). Bu kısıtlamalara karşı geliştirilen stratejilerden bir tanesi, protein ve polisakkaritlerin kovalent bağlanması ile oluşturulan kompleks bileşikler sayesinde daha iyi yüzey aktivitesi ve çevresel stres faktörlerine karşı direnç elde edilmesidir. Alternatif bir diğer strateji ise, yağ globüllerinin çevresinde emülgatörlerden ve/veya polielektrolit komponentlerden oluşan çok tabakalı bir ara yüzeyin oluşturulmasıdır (Shi and Caruso, 2001; Moreau et al., 2003; Ogawa et al., 2003a; 2003b; Aoki et al., 2005). Belirli koşullar altında, çok tabakalı emülsiyon sistemleri, tek tabakalı emülsiyon sistemlerine kıyasla çevresel stres faktörlerine karşı daha kararlı bir yapı göstermektedir (Aoki et al., 2005). Ayrıca yağ fazının kimyasal stabilitesi (oksidatif stabilite vb.) çok tabakalı yüzeyler vasıtasıyla artırılabilir (McClements and Decker 2000; Klinkesorn et al., 2005; McClements et al., 2007).

Bu çalışmada yağ fazı olarak keten tohumu yağı seçilmiştir. Keten tohumu genel olarak %5 palmitik asit (16:0), %3 stearik asit (18:0), %17 oleik asit (18:1n-9), %15 linoleik asit (18:2n-6) ve %59 α -linolenik asit (ALA; 18:3n-3) içermektedir (Mazza, 1998). Sahip olduğu yüksek α -linolenik asit miktarı ve lignan değeri ile fonksiyonel gıda alanında en önemli fitokimyasal kaynaklardan biri olarak öne çıkmaktadır. Keten tohum yağının yapısında bulunan yüksek oranda ki α -linolenik asit, bu yağ türünü omega-3 yağ asitleri açısından en zengin kaynaklardan biri yapmaktadır (Bloedon et al., 2004; İşleroğlu vd., 2005). Keten tohum yağının içerdiği ALA'nın kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğuna dair klinik sonuçlar bulunmaktadır (Mantzioris et al., 1994; Mantzioris et al., 1995; Allman et al., 1995; Oomah, 2001). Ayrıca, keten tohum yağı pro-inflamatuvar araçlarına karşı inhibitör etki göstermektedir (Caughey et al., 1996; James et al., 2000; Oomah, 2001). ALA'dan meydana gelen eikosapentaenoik asit (EPA), prostaglandinleri ve lökotrienleri azaltmasıyla tümör inhibisyonunda önemli rol oynarken, dokosaheksaenoik asit (DHA), beyin gelişimi ve görsel fonksiyonlar için zorunludur (Mazza, 1998; İşleroğlu vd., 2005). Keten tohum yağının oksidatif stabilitesinin düşük olması nedeniyle stabilitesinin artırılması ve yemeklik ile salata yağları karşısında rekabet gücü kazanabilmesi için bazı modifikasyonlar ile linolenik asit içeriğinin <%3 oranına düşürülmesi, linoleik asit miktarının ise %72 civarına çıkarılması sağlanmaktadır (Oomah, 2001).

Mevcut çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, hazırlandığı koşullarda kararlılığını koruyan tek katmanlı (geleneksel) emülsiyon yapısı ile çift katmanlı (çok tabakalı) emülsiyon sistemlerinin oluşturulmasıdır. Bu amaçla çalışmanın birinci bölümünde, yağ fazı olarak keten tohumu yağı ve emülgatör olarak sodyum kazeinat kullanılmış, tek tabakalı emülsiyon sisteminin karakterizasyonu yapılarak kararlı bir yapı için gerekli protein miktarı saptanmıştır. Bunu takiben çok tabakalı emülsiyon yapısına geçilerek, yağ damlacıklarının çevresinde oluşturulacak ikinci katman için gerekli pektin miktarı, çok tabakalı emülsiyon sisteminin karakterizasyonu yapılarak belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci amacı, keten tohumu yağı kullanılarak oluşturulan geleneksel emülsiyon sistemi ile çok tabakalı emülsiyon yapısının yağ fazının oksidatif stabilitesine karşı ve çevresel stres faktörlerinden biri olan pH değişimine karşı gösterdikleri direncin karşılaştırılmasıdır. Bu amaçla çalışmanın ikinci bölümünde; oluşturulan çok tabakalı emülsiyon ile geleneksel emülsiyon yapılarının ortamın pH değeri 3-7 arasında değiştirilerek gösterdikleri emülsiyon stabilitesi ve performansları karşılaştırılmıştır. Yağ fazının oksidatif bozulmasına karşı gösterdikleri direnç ve performans ise 55°C de 22 gün boyunca depolanan emülsiyonlarda hidroperoksit değerinin ve TBARS değerlerinin ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Emülsiyonlar

Emülsiyonlar, birbiriyle karışmayan en az iki sıvıdan birinin diğeri içinde bir emülgatör yardımıyla damlacıklar halinde dağılması ile oluşan, homojen görünümlü heterojen dispers sistemlerdir (Gönül, 2000b; Friberg et al., 2004; McClements 2005a; McClements et al., 2007). Globüller halinde dağılan yani damlacıklardan oluşan faza, dispers faz ya da iç faz; içinde dağıldığı ortama da dispersiyon ortamı ya da dış faz adı verilir. Gıda bileşeni olan tipik bir emülsiyon sisteminde, damlacıkların ortalama partikül çapları 100nm ile 100µm arasında değişmektedir. Fakat bazı sistemlerde daha küçük yada daha büyük partikül çaplarına da rastlanılabilir. Bir emülsiyonun dış görünüşünü dispers fazın partikül büyüklüğü tayin etmektedir (Gönül, 2000b).

Emülsiyonlar genel olarak yağ ve su fazlarının yapı içerisinde nasıl organize olduklarına bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Eğer yağ damlacıkları, dispersiyon ortamı olan sulu fazda dağılmış ise emülsiyon, yağ/su (o/w), eğer yağ dispersiyon ortamı ise ve su damlacıkları yağ fazında dağılıyorsa emülsiyon, su/yağ (w/o) tipi emülsiyondur. Ayrıca bahsedilen basit yapıli emülsiyon türlerine ek olarak daha kompleks olan çok fazli emülsiyonlar, su/yağ/su (w/o/w) ve yağ/su/yağ (o/w/o) da oluşturulabilmektedir (Gönül, 2000b; McClements et al., 2007; McClements, 2007).

Geleneksel emülsiyonlar yağ fazının, suda çözülebilen bir emülgatör içeren sulu faz ile homojenize edilmesiyle hazırlanmaktadır. Bu işlem için birçok homojenizatör türü (basit tipteki karıştırıcılar, yüksek basınç homojenizatörler kolloid değirmenler, titreşim cihazları ve membran homojenizatör) bulunmaktadır (Walstra, 2003; McClements, 2005a; McCelement et al., 2007). Kullanılacak

homojenizatör seçimi ve operasyon koşulları, homojenize edilecek materyallerin özelliklerine (viskozite, ara yüzey gerilimi vb.) ve istenilen emülsiyon özelliklerine (damlacık konsantrasyonu, partikül büyüklüğü, viskozite vb.) göre seçilmektedir (McCelement et al., 2007).

Gıdalarda bulunan yağ/su emülsiyonlarının davranış özellikleri sistemi oluşturan 3 kısım tarafından belirlenmektedir; emülsiyon damlacıklarının iç kısmını oluşturan yağ fazı, lipid yüzey ile sulu faz arasında kalan ara yüzey ve sulu fazın kendisi. Sürekli faz içerisinde dispers halde dağılmış yağ globüllerinin konsantrasyonu, kompozisyonları, partikül boyut dağılımları ve fiziksel durumları, gıda bileşenlerinin ve hazırlama koşullarının uygun seçilmesi ile kontrol edilebilmektedir. Yağ fazı kısmen ya da tamamıyla kristallenebilir ve çeşitli kimyasal reaksiyonlara (lipoliz veya oksidasyon) maruz kalabilmektedir. Yağ ile su fazı arasında ki ara yüzey, proteinler, monogliseridler, esterler gibi küçük moleküler ağırlığa sahip yüzey aktif maddeler, fosfolipidler, polisakkaritler veya bunların bir karışımından oluşan emülgatörler ile oluşturulmaktadır. Kullanılacak emülgatör tipine, homojenizasyon sırasında oluşturabildikleri damlacık büyüklüğü, kararlı bir emülsiyon elde etmek için gerekli olan miktarları, çeşitli çevresel stres faktörlerine (pH, iyonik kuvvet, ısıtma, soğutma, kurutma, mekanik karıştırma) karşı agregasyon stabiliteleri göz önüne alınarak karar verilmektedir. Ayrıca maliyet, güvenilirlik, kullanım kolaylığı, etiket uygunluğu ve yasal durumlarına göre de gıda emülgatörleri birbirlerinden farklılık göstermektedir. Bu sebeplerden dolayı her durumda kullanılacak tek tip emülgatör bulunmamakta, kullanılacak ürün tipi, ürün bileşenlerinin türü ve konsantrasyonları, homojenizatör tipi, çevresel stres faktörleri vb. birçok etken değerlendirilerek emülgatör seçimi yapılmaktadır (Guzey and McClements, 2006b; McClements, 2010, 2012). Ara yüzeyin kalınlığı, elektriksel yükü, polarlığı, reolojisi, geçirgenliği yine emülgatör seçimiyle belirlenebilecek özelliklerdir. Emülsiyonda bulunan sulu faz ise emülsiyonun destabilizasyonuna sebep olabilecek iyonlar içerebileceği gibi polisakkaritler gibi makromoleküller de içerebilmektedir. Emülsiyonların fonksiyonel özelliklerini anlayabilmek için

emülsiyonu oluşturan bu üç kısmın da özelliklerini bilmek gerekmektedir (Dalglish, 2006; McClements, 2012).

2.2. Emülsiyonların Özellikleri

2.2.1. Damlacık karakteristiği

Emülsiyon sistemlerinin fizikokimyasal özellikleri, çoğunlukla içerdikleri dispers halde dağılan damlacıkların karakteristik özellikleri olan, konsantrasyon, damlacık çapı, net yük, ara yüzey özellikleri ve kolloidal ilişkiler tarafından belirlenmektedir (Şekil 2.1) (Friberg et al., 2004; McClements, 2005b, 2007) .

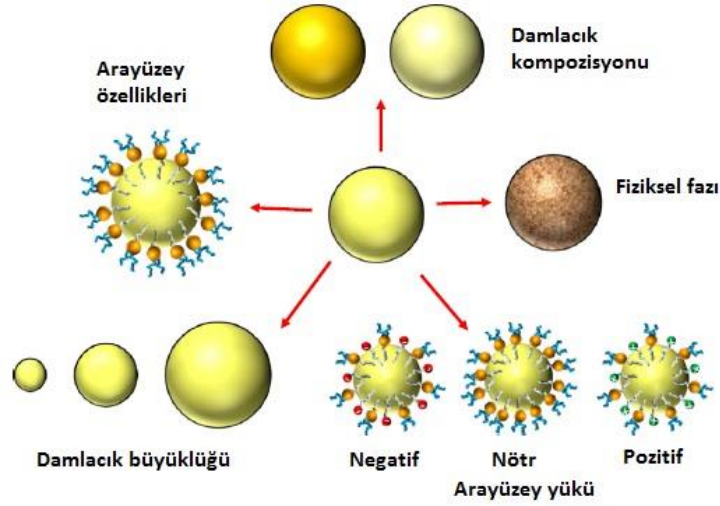
2.2.1.1. Damlacık Konsantrasyonu

Bir emülsiyonun damlacık konsantrasyonu, emülsiyonun yapısını, kararlılığını, görünüşünü, duyuşal özelliklerini ve besinsel kalitesini etkilemektedir (McClements, 2005b, 2007). Emülsiyon içerisinde ki damlacık konsantrasyonunun belirlenmesi, birbirlerine karışmayan iki fazın oranlarının ayarlanması ile gerçekleştirilebilir ve genellikle faz hacim fraksiyonu (ϕ) olarak ifade edilir. Bu değer, emülsiyon damlacıklarının hacminin, emülsiyonun toplam hacmine oranıdır (McClements et al., 2007; McClements, 2007).

2.2.1.2. Partikül büyüklüğü

Bir emülsiyonun partikül büyüklüğü, kararlılık (flokülasyon, koalesans, faz ayrışması vb.), optik özellikler (parlaklık ve renk), reolojik özellikler

(viskozite), ve duyuşal özellikleri (kremalaşma) etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (Gönül, 2000b; McClements, 2005a; McClements et al., 2007).

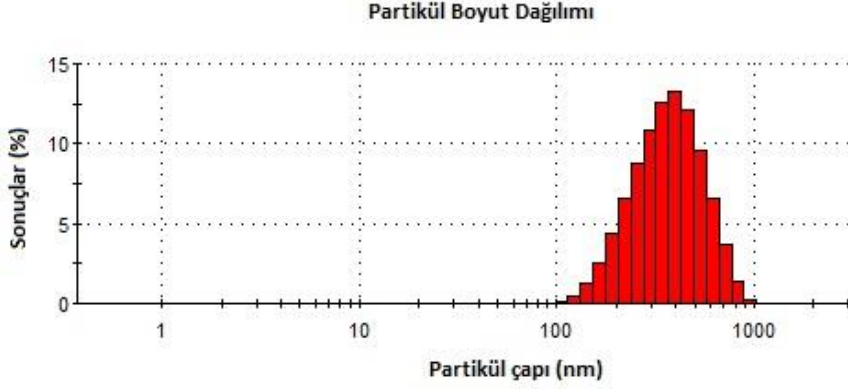


Şekil 2.1. Yağ globüllerinin karakteristik özellikleri değiştirilerek, değişik fonksiyonel yapıların oluşturulması (McClements, 2012).

Damlacık büyüklüğü, homojenizasyon basıncının, homojenizatörden geçirilme sayısının ve emülsiyon konsantrasyonunun artırılması ile azaltılabilmektedir. Ayrıca kullanılan emülgatör türü de kritik bir öneme sahiptir (McClements, 2012). Eğer emülsiyon içerisindeki bütün damlacıklar aynı büyüklükte ise monodispers, belli bir büyüklük aralığında dağılım gösteriyorlar ise bu sistemler polidispers olarak adlandırılmaktadır (McClements, 2005a). Gerçek gıda emülsiyonlarında monodispers yapı yerine çoğunlukla polidispers bir yapı gözlenmekte, bu yüzden partikül boyut dağılımı önem kazanmaktadır. Partikül boyut dağılımlarında, belirli boyut aralıklarında bulunan partikül konsantrasyonları ifade edilmektedir (Şekil 2.2).

Belirli bir boyut aralığı için gösterilen partikül konsantrasyonları üç temel hesaplama dayanağı olarak belirlenmektedir. Bunlar; hacim ağırlıklı dağılım, sayı

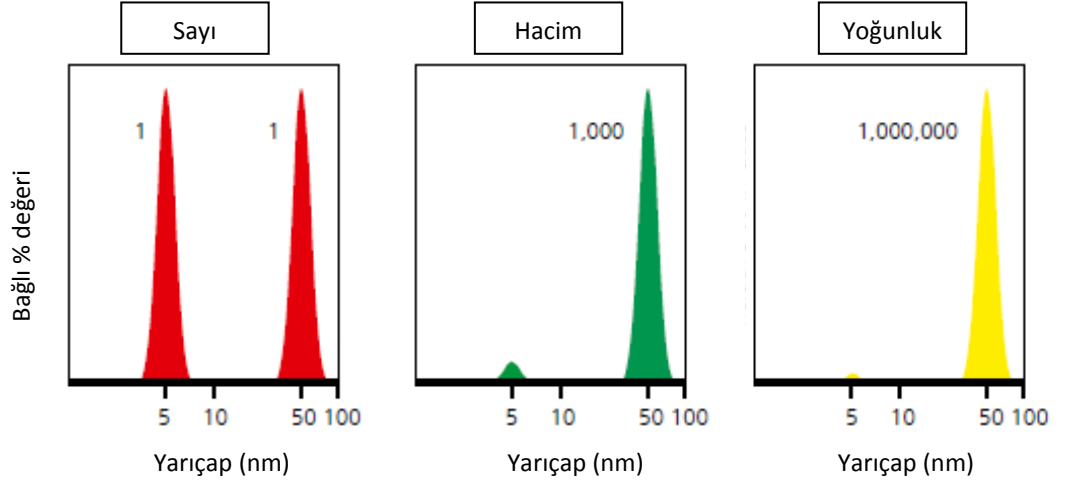
ağırlıklı dağılım ve dinamik ışık saçılım yöntemiyle hesaplanabilen yoğunluk ağırlıklı dağılımdır.



Şekil 2.2. Partikül çaplarına karşılık yüzde miktar gösteren partikül boyut dağılımı

Seçilen dağılım türüne bağlı olarak ölçülen ve raporlanan partikül boyutları birbirlerinden farklılık göstermektedir. Şekil 2.3’de eşit sayıda 5nm ve 50 nm büyüklükte partikül çapına sahip bir örneğin bu üç dağılım türü ile gösterilmesi verilmektedir. Tanecik sayısının % dağılımında, ortamdaki partiküller büyüklüklerinden bağımsız olarak sayılır ve yüzde değer olarak ifade edilir. Tanecik hacim dağılımında, her partikülün dağılıma katkısı kendi büyüklüğü ile bağlantılıdır. Yoğunluk dağılımında ise her bir partikülün dağılıma katkısı, partiküllere çarparak saçılan ışığın yoğunluğu ile orantılı olmaktadır. Elde edilen partikül boyut verileri, bir dağılım türünden diğer dağılım türüne, partiküllerin yapısı ve fiziksel özellikleri hakkında yapılan belirli kabuller ile çevrilebilmektedir (Malvern Instruments Limited, 2013).

Partikül çap dağılım verilerini basitleştirmek için bazı istatistiksel parametreler kullanılmaktadır. Hangi hesaplamanın kullanılması gerektiği, hangi verilerin kullanılacağı ve diğer hangi veriler ile karşılaştırma yapılacağına bağlıdır.



Şekil 2.3. Eşit sayıda 5 nm ve 50 nm tanecik boyutlarına sahip bir emülsiyonun sayısal, hacimsel ve yoğunluksal partikül boyut dağılımları (Malvern Instruments Limited, 2013).

Bunlardan ilki “ortalama” çap değerinin hesaplanmasıdır. Ortalama çap değeri dağılımın merkeze olan eğilimini göstermekte, standart sapma ise dağılımın genişliğinin bir ölçüsü olmaktadır. Polidispers bir emülsiyonda ortalama çap değeri birbirinden farklı yöntemlerle hesaplanarak ifade edilebilmektedir. Çizelge 2.1’de belli başlı kullanılan ortalama çap değerleri ve hesaplama yöntemleri verilmiştir.

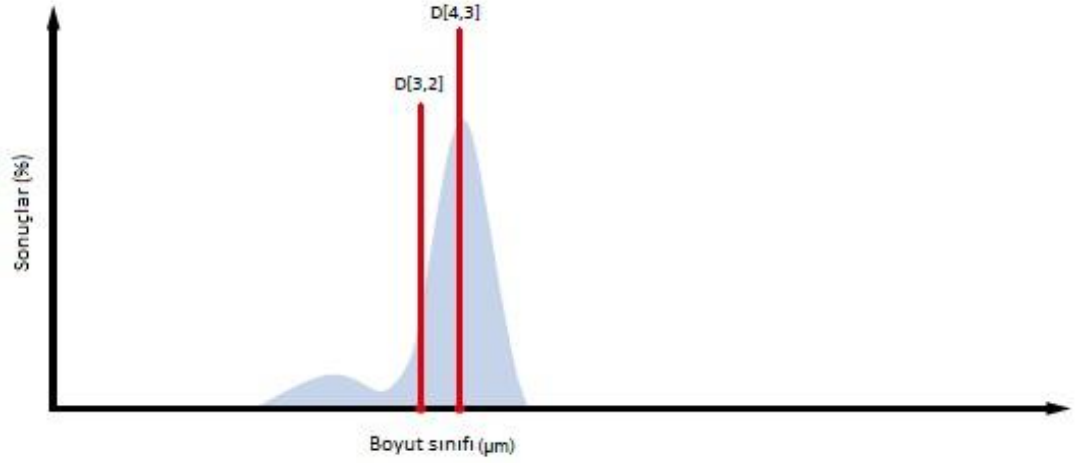
d_{10} değeri partiküllerin aritmetik olarak ortalama çap değerinin hesaplanmasıdır. Sadece toplam partikül sayısının bulunduğu durumlarda hesaplanabildiği için kullanım alanı kısıtlıdır. d_{32} değeri damlacıkların yüzey alanlarının önemli olduğu durumlarda kullanılabilmektedir. Partikül çap dağılımında genel olarak normal boyuta sahip partiküller ve yapıdaki flokülasyon ile ilgili fikir vermektedir (McClements, 2005a).

Çizelge 2.1. Ortalama çap değerleri ve hesaplama yöntemleri (McClements, 2005a)

Ortalama	Sembol	Hesaplama
Aritmetik ortalama çap değeri	d_{NL} veya d_{10}	$d_{10} = (\sum_{i=1} n_i d_i) / \sum_{i=1} n_i$
Sayı-alan ortalama çap değeri	d_{NA} veya d_{20}	$d_{20} = \sqrt{(\sum_{i=1} n_i d_i^2) / \sum_{i=1} n_i}$
Sayı-hacim ortalama çap değeri	d_{NV} veya d_{30}	$d_{30} = \sqrt[3]{(\sum_{i=1} n_i d_i^3) / \sum_{i=1} n_i}$
Alan-hacim ortalama çap değeri	d_{AV} veya d_{32}	$d_{32} = (\sum_{i=1} n_i d_i^3) / \sum_{i=1} n_i d_i^2$
Hacim-moment ortalama çap değeri	d_0 veya d_{43}	$d_{43} = (\sum_{i=1} n_i d_i^4) / \sum_{i=1} n_i d_i^3$

d_{43} değeri ise partikül çap dağılımındaki göreceli büyük partiküller hakkında bilgi sağlar. Eğer amaç emülsiyonu oluşturan damlacıklardan büyük olanlarını tespit etmek ise d_{43} , dağılıma uygun olan ve normal büyüklükte olan damlacıkları tespit etmekse d_{32} ortalama çap değerlerinin kullanılması uygun olmaktadır (Şekil 2.4) (McClements, 2005a).

Statik ışık saçılım cihazlarıyla ölçülen bu çap değerlerinin yanı sıra dinamik ışık saçılım cihazları ile yapılan partikül çap analizlerinde sonuç z-ortalama çap (birikimli ortalama çap) değeri olarak verilmektedir. Z-ortalama partikül çapı, partiküllerin hidrodinamik yarıçaplarından yola çıkılarak hesaplanan bir değerdir ve yoğunluk % dağılımına bağlıdır. Dinamik ışık saçılım cihazlarında z-ortalama çap değerinin yanı sıra çoklu dağılım indeks değeri adı verilen bir değer de hesaplanmaktadır. Bu değer, partikül çap dağılımından ortaya çıkan pikin genişliğinin bir ölçüsüdür ve pik genişliği ne kadar artarsa, bir diğer deyişle emülsiyonu oluşturan damlacıkları partikül çap dağılımı ne kadar geniş bir aralığı kapsar ise çoklu dağılım indeksi paralel olarak yükselmektedir.



Şekil 2.4. Alan-hacim ortalama çap değeri ve hacim-moment ortalama çap değeri (Malvern Instruments Limited, 2013)

Ortalama partikül çap değerleri dışında medyan ve mod olarak da çap dağılımı ifade edilebilmektedir. Partikül çap ölçümü için kullanılan birbirinden farklı karakterizasyon teknikleri yine birbirlerinden farklı birçok yöntem ile hesaplama yapmakta ve rapor oluşturmaktadır. Önemli olan polidispers bir emülsiyon yapısı için hangi ölçüm değerinin ve hangi karakterizasyon yönteminin uygun olduğunun belirlenmesidir.

2.2.1.3. Partikül Yüğü

Birçok gıda emülsiyonunda, sürekli fazda dispers halde bulunan damlacıkların sahip oldukları elektriksel yükün işareti ve şiddeti, emülsiyonun fizikokimyasal ve organoleptik özelliklerini belirlemektedir. Bu elektriksel yük normal şartlarda, iyonize olmuş ya da iyonize olabilen emülgatörlerin adsorpsiyonundan kaynaklanmaktadır. Emülgatör olarak kullanılan yüzey aktif maddeler, içerdikleri hidrofilik gruplar ile, nötral, pozitif veya negatif yüklenebilmektedir. Proteinler, izoelektrik noktalarına ve ortamın pH değerine bağlı olarak aynı şekilde nötr, pozitif veya negatif değerler taşıyabilir. Yüzey aktif

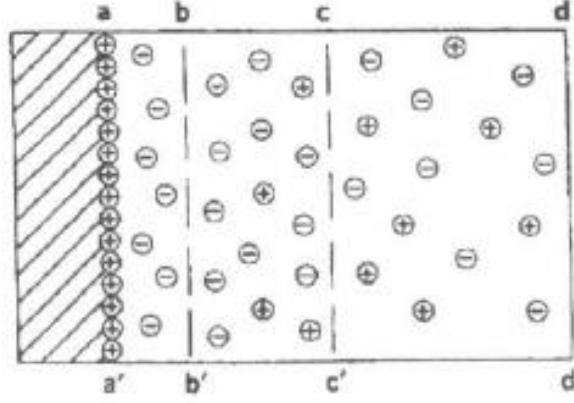
polisakkaritler ise yapılarında bulundurdıkları fonksiyonel gruplara bağlı olarak elektriksel yüke sahip olabilmektedir (McClements, 2005a; McClements et al., 2007).

Damlacıkların yüzeyinde oluşan elektriksel yük, birçok yöntem ile karakterize edilebilmektedir. Bu yöntemler, yüzey yük yoğunluğu, elektriksel yüzey potansiyeli ve zeta-potansiyel değerleridir.

Şekil 2.5’de iki faz arasında gerçekleşen iyon dağılımı ve elektriksel çift tabaka yapısı gösterilmektedir (Gönül, 2000b). Aa’ bölgesi pozitif yüklü damlacık yüzeyi iken, bb’ bölgesi pozitif yüke doğru çekilen anyonlar tarafından oluşturulan tabakadır ve aa’ ile bb’ bölgeleri birbirlerine sıkıca bağlıdır. Bb’ yüzeyinde yük hala pozitifdir çünkü yüzeye adsorplanmış katyon sayısı, yüzeye sıkıca bağlanmış anyon sayısından fazladır. Bu tabaka sayesinde doyumluğa oluşan damlacık yüzeyine daha fazla pozitif yük bağlanamamaktadır. Bu katmandan sonra yüzeyden belirli bir mesafede anyon ve katyon konsantrasyonları eşit olur ve elektriksel olarak nötraldir. Anyon ve katyonların bazı bölgelerde eşit olarak dağılmamasına rağmen sistemin bütünü nötral formdadır. Zeta-potansiyel değeri emülsiyonun elektrikçe nötral bölgesi ile yüzeye sıkıca bağlı tabakanın (bb’) kayma yüzeyi arasındaki potansiyel farktır ve “ ζ ” sembolü ile gösterilmektedir (Gönül, 2000b).

Bir emülsiyonda bulunan damlacıkların hepsi, eğer emülgatör iyonlaşmış ise, genellikle aynı tür emülgatör ile kaplanmışlardır ve aynı elektrik yüküne sahiptir. Bu yük yeterli büyüklükte olduğu zaman aralarında oluşan elektrostatik itme kuvveti ile damlacıkların agregasyonu önlenmektedir (McClements, 2005a). Bir emülsiyondaki damlacıkların elektriksel özellikleri seçilen emülgatör yardımıyla belirlenebilmektedir. Eğer emülgatör protein seçilirse izoelektrik noktasına bağlı olarak pozitif veya negatif yüklü damlacıklar elde edilebilir. Eğer

bir polisakkarit kullanılırsa (modifiye nişasta, pektin vb.), damlacık yükü negatif olmaya meyillidir (McClements et al. 2007).



Şekil 2.5. İki faz arasındaki elektriksel tabakalar ve iyon dağılımı (sistem bütün halinde elektrikçe nötraldir) (Gönül, 2000b).

İyonik bir emülgatör ile stabilitesi sağlanmış emülsiyon sistemi, ortamın pH değişimine ve sulu fazdaki iyonik kuvvete karşı hassastır. Eğer sürekli fazın pH değeri değiştirilir ise emülgatör sahip olduğu yükü kaybedebilir ya da ortama tuz eklenmesi ile damlacıklar arası elektrostatik kuvvetler maskelenebilir. Böylece ortamdaki itme kuvveti azalarak damlacıkların agregasyon oluşmakta ve sistemde bir krema fazının ayrışması hızlanmaktadır (McClements, 2005a).

2.2.1.4. Ara yüzey özellikleri

Damlacıkların sahip olduğu ara yüzey, her bir emülsiyon damlacığının çevresini saran dar bir alanda, yağ, su ve yüzey aktif madde karışımından oluşmaktadır (McClements, 2005a). Damlacık ara yüzeyinin özellikleri, homojenizasyon öncesinde, homojenizasyon sırasında ve sonrasında oluşan olaylarda (kompleks yapı oluşumu, rekabetçi adsorpsiyon, çok tabakalı yapı) ortamda bulunan yüzey-aktif maddenin etkileşimi, konsantrasyonu ve çeşidine

bağlı olarak değişmektedir (Dickinson, 2003; McClements et al., 2007). Ara yüzeyin kalınlığı ve reolojisi, flokülasyon, koalesans, faz ayrımı vb. emülsiyon kararlılığına etki eden önemli faktörlerden biridir. Ayrıca emülsiyonun reolojisini, iç fazın dışarı doğru gerçekleşen kütle transfer hızını da (Ostwald damlacık büyümesi) etkilemektedir (McClements, 2005a). Bazı durumlarda damlacık ara yüzeyinin özellikleri, yüzey gerilimi, net elektriksel yükü, kalınlığı, geçirgenliği, reolojisi ve çevresel faktörlere verdiği tepkiler, sistem kompozisyonunun (spesifik bir emülgatör seçimi vb.) ve proses şartlarının değiştirilmesi ile belirlenebilmektedir (McClements et al., 2007). Örnek olarak düşük molekül ağırlığına sahip yüzey aktif maddeler ince bir katman oluştururken esnek biyopolimerler (kazeinat vb.) göreceli olarak daha kalın, globüler proteinler (peyniraltı suyu proteini veya soya proteini) ise ince ve elastik bir yapı oluşturmaktadır (McClements and Rao, 2011).

2.2.1.5. Kolloidal etkileşimler

Emülsiyon içerisinde dispers halde bulunan damlacıkların birbirlerine karşı gösterdikleri itici ve çekici kuvvetler, emülsiyonun sahip olduğu birçok fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri etkilemektedir. Gıda emülsiyonlarında çeşitli kolloidal etkileşimler oluşmaktadır. Bunlar; van der Waals, elektrostatik, sterik, deplesyon ve hidrofobik etkileşimlerdir. Bu etkileşimler sahip oldukları yükün işareti, kuvveti ve süresi bakımından birbirlerinden farklılık göstermektedir. Genel olarak damlalar arasındaki çekici kuvvetler baskın olduğunda yağ fazının agregasyona eğimli olduğu, itici kuvvetler baskın olduğunda ise damlacıkların birbirilerinden bağımsız olarak emülsiyon içinde askıda kaldıkları belirtilmektedir (McClements, 2005a).

- Van der Waals kuvvetleri, bütün molekül çeşitleri (iyonik, polar veya apolar) için geçerli olan çekme kuvvetleridir. Moleküllerin polarize olma özellikleri ve dipol moment kuvvetleri arttıkça, van der

Waals çekim kuvveti de artmaktadır. Sürekli fazın dielektrik sabitinin artması bu çekim kuvvetini azaltmakta, etkin olma süresi ise moleküller arası uzaklık arttıkça azalmaktadır. Elektrostatik kuvvetlerden daha zayıf olması özellikle apolar molekülle arasında etkin olmasını sağlamaktadır (Gönül, 2000a; McClements, 2005a; McClements et al., 2009).

İki yağ damlacığı (veya su) arasında her zaman van der Waals çekim kuvveti vardır. Damlacık boyutunun artması bu çekim kuvvetini de artırır. Van der Waals kuvvetinin büyüklüğü adsorplanan emülgatörün yapısı ve oluşturduğu ara yüzeyin kalınlığına göre değişmektedir. Eğer ortamda başka herhangi bir etkileşim yoksa yağ damlacıkları van der Waals kuvveti ile bir araya gelmeye eğilimlidir fakat ortamda bulunan itici kuvvetler bu çekme kuvvetini yenerek gıda emülsiyonlarının agregasyona karşı stabil kalmasını sağlamaktadır (Gönül, 2000a; McClements, 2005a; McClements et al., 2009).

- Elektrostatik kuvvetler, işareti ve şiddeti emülsiyonun stabilitesini sağlayan emülgör cinsi, ara yüzeydeki konsantrasyonu ve çevresel şartlar (pH, sıcaklık, iyonik kuvvet) tarafından belirlenmektedir. Her gıda emülsiyonundaki yağ damlacıkları önemli derecede elektrik yüküne sahiptir. Bir çok gıda bileşeni zayıf asit (-COOH) ya da baz (-NH₂) grubu içerir ve iyonize olan bu grupların pK_a noktalarına göre ortamın pH'ı değiştikçe elektrikselsel yük ile yüklenirler. Elektrostatik etkileşimler yüke sahip gruba bağlı olarak çekme veya itme kuvveti olabilmektedir (McClements, 2005a; McClements et al., 2009).

Emülsiyon ortamında bulunan damlacıkların yüzey yük yoğunlukları, sürekli fazda ya da dispers fazda bulunana iyonik bileşiklerin (iyonik yüzey aktif maddeler (fosfolipid, yağ asitleri), mineral iyonlar (Ca⁺²,

Cu^{+2} , Fe^{+3}), yüklü biyopolimerler (protein ve polisakkaritler) adsorpsiyonu ile değişmektedir. İyonik bileşiğin yapısına bağlı olarak elektriksel yük yoğunluğu artmakta, azalmakta veya bazı durumlarda olduğu gibi tersine dönmektedir (McClements, 2005a).

Gerçek emülsiyon sistemlerinde, elektriksel yükün bütün damlacık yüzeyine eşit dağılmadığı, bazı kısımların pozitif, bazı kısımların negatif, bazı kısımların ise nötral yüklendiği bilinmektedir. Damlacık yüzeyinde heterojen bir yük dağılması, net yükü sıfır olan iki damlacığın arasında çekim kuvvetinin oluşmasına veya belirli bir net yüke sahip damlacığın yüzeyine yine aynı net yüke sahip bir polimerin adsorplanmasına sebep olabilmektedir (McClements, 2005a).

Emülsiyon ortamında bulunana polivalent iyonlar (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Al^{+3}) ya da yüksek molekül ağırlığına sahip biyopolimerler (polisakkarit ya da protein), kendisi ile zıt yüklü yağ damlacıklarından birden fazlasına elektrostatik olarak arada bir köprü oluşturabilmektedir. Böylece damlacıklar bir arada durarak köprü flokülasyona sebep olmaktadır (McClements, 2005a; McClements et al., 2009).

Özellikle protein kullanılarak stabilitesi sağlanmış emülsiyon yapılarında elektrostatik etkileşimler oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bazı belirli koşullar altında van der Waals çekim kuvvetini yenerek, sistemin agregasyona karşı dayanıklılık kazanmasını sağlayabilmektedir (McClements, 2005a; Dickinson, 2010).

- Sterik etkileşim, iki damlacık arasındaki mesafe yeterli düzeyde azaldığında, emülgatör tarafından oluşturulan ara yüzeylerin

birbirleriyle etkileşime geçmesi ile oluşmaktadır. Ara yüzeyler birbirlerine karışabilir ve/veya birbirleri üzerinde baskı oluşturabilir. Oluşan sterik etki damlacıklar arası mesafe az ise kuvvetli itme yönünde, belli bir mesafe de ise ortamın kalitesine göre itme veya çekme yönünde olabilmektedir. Damlacık yüzeyine adsorplanan emülgatör tabakasının kalınlığı ve damlacık büyüklüğündeki artış sterik kuvvetin artmasına sebep olmaktadır (McClements, 2005a).

- Deplesyon etkileşimi, birçok emülsiyonda sürekli fazda bulunan küçük kollodial partiküller tarafından oluşturulmaktadır. Eğer ortama damlacık yüzeyine adsorplanan yüzey aktif maddenin gerekli olan miktarından daha fazlası konulursa, damlacık yüzeyine adsorplanmayan ve sürekli fazda kalan moleküller, damlacıklar arasında çekim kuvveti oluşturabilmektedir. Bu moleküller osmatik basınç farkından dolayı, damlacıklar arasında kalan alandan, çevredeki sürekli faza doğru hareket eder ve çekim kuvveti oluştururlar. Emülsiyon yapısında oluşan agregasyon, damlacık çevresindeki deplesyon bölgesini küçülterek, deplesyon etkileşimi olarak damlacıklar arası çekim kuvveti yaratmaktadır. Partikül büyüklüğünün ve sürekli fazda adsorplanmadan kalan kollodial partikül konsantrasyonunun artması, deplesyon kuvvetini arttıran başlıca nedenlerdir (McClements, 2005a).
- Hidrofobik etkileşim, damlacık yüzeyi apolar karakter taşıdığından, emülgatör tarafından tam olarak kaplanmadığı durumlarda veya emülgatör yapısında bazı hidrofobik gruplar içerdiği zaman önemli olmaktadır. Hidrofobik etkileşim, ortam sıcaklığının artırılması ve sulu fazın dielektrik sabitinin düşürülmesi (ortama alkol eklenmesi vb.) ile arttırılmaktadır (McClements et al., 2009).

Belirli bir sistem içerisinde sözü edilen bu etkileşimlerin önem derecesi, ortamda bulunan gıda bileşenlerinin türüne (moleküler ağırlık, net yük, pH profili, hidrofobik özellik), çözeltinin kompozisyonuna (pH, iyonik kuvvet ve dielektrik sabit) ve çevresel koşullara (sıcaklık vb.) bağlı olarak değişmektedir (McClements et al., 2009).

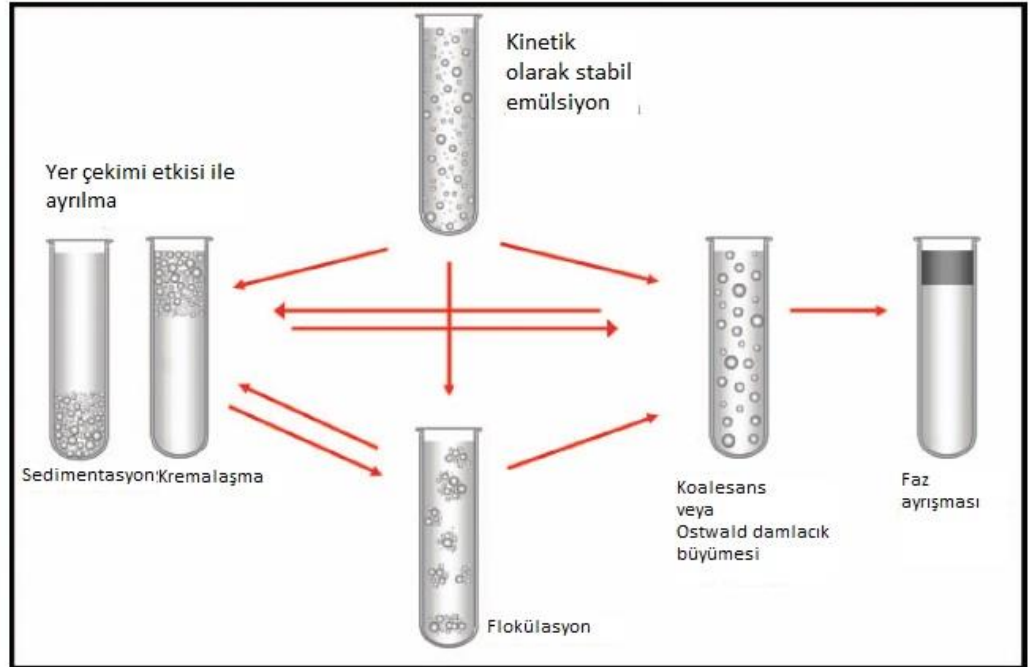
2.3. Emülsiyon Stabilitesi

Emülsiyon stabilitesi, bir emülsiyonun zamana bağlı olarak yapısındaki gerçekleşen değişimlere gösterdiği direnç olarak tanımlanabilmektedir. Emülsiyonların kararlılığını bozabilen etkenler fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki grupta toplanabilir. Kimyasal etkenler ile ortamda bulunana moleküllerin türü değişirken, fiziksel etkenler ortamda bulunana moleküllerin yapısal organizasyonunu ve dağılımını değiştirmektedir. Kremalaşma, flokülasyon, koalesans, faz ayrımı, Ostwald damlacık büyümesi, emülsiyonlarda gerçekleşen en önemli fiziksel stabilite sorunlarıdır. Oksidasyon ve hidroliz olayları ise kimyasal stabilite sorunlarına örnek olarak verilebilir (Dickinson, 2003; McClements, 2005a).

Bir emülsiyonun stabilitesinden bahsederken “termodinamik stabilite” ve “kinetik stabilite” arasındaki ayrım iyi yapılmalıdır (McClements, 2005a). Emülsiyon sistemleri termodinamik olarak stabil kalamayan sistemlerdir ve eğer yeterli süre geçerse, emülsiyonun homojen yapısı kırılmaktadır (Gönül, 2000b; McClements, 2005a; McClements et al., 2007; McClements and Rao, 2011). Bu sebepten dolayı, emülsiyonların fizikokimyasal ve duyusal özelliklerinde meydana gelen değişimlerden büyük ölçüde kinetik stabiliteyi sorumludur. Emülsiyon yapıları termodinamik olarak kararlı kalamasa da birçoğu aylarca veya yıllarca kinetik olarak stabil kalabilmektedir. Emülsiyonların kinetik kararlılıkları ise büyük ölçüde emülsiyon içerisinde dispers halde bulunan damlacıkların

dinamikleri ve aralarındaki etkileşim kuvvetlerince belirlenmektedir (McClements, 2005a).

Emülsiyon yapılarında karşılaşılan başlıca fizikokimyasal stabilite mekanizmaları; yerçekimi etkisi ile ayrışma (kremalaşma ve sedimentasyon), flokülasyon, koalesans, Ostwald damlacık büyümesi ve faz değişimidir (Şekil 2.6) (McClements, 2005a; McClements et al., 2007).

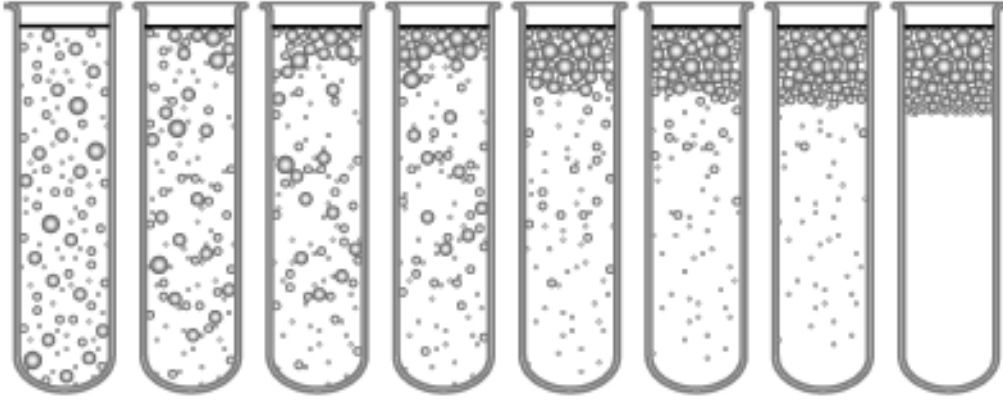


Şekil 2.6. Emülsiyon yapılarında gözlemlenen başlıca stabilite sorunları

2.3.1. Yer çekimi etkisi ile ayrışma

Bir emülsiyonda dispers halde dağılmış partiküller yani damlacıklar, yer çekiminin etkisi altında ve iç ile dış faz arasındaki yoğunluk farkına bağlı olarak dibe çökme ya da üstte toplanma eğilimi gösterirler (Gönül, 2000b). Eğer

damlacıklar çevrelerini saran sıvı fazdan daha düşük yoğunluğa sahip ise yukarı doğru (kremalaşma), eğer damlacık yoğunluğu sıvı fazdan daha fazla ise aşağı doğru (sedimentasyon) hareket etmektedir. Birçok yemeklik yağın yoğunluğu yağ/su emülsiyonu içerisinde çevresini saran sulu fazdan daha düşüktür. Bu yüzden yağ/su emülsiyonları kremalaşmaya yatkın iken su/yağ emülsiyonları sedimentasyona yatkın olmaktadır (Şekil 2.7) (McClements, 2005a, 2007).



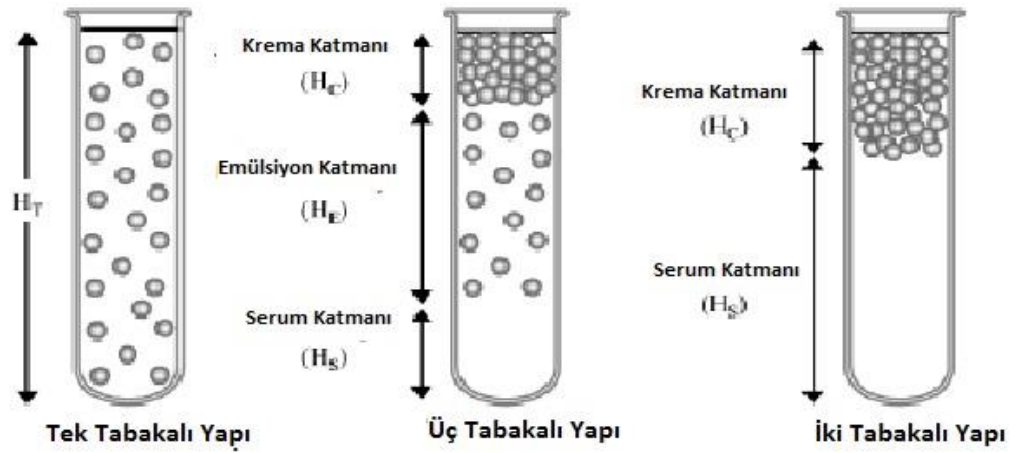
Şekil 2.7. Polidispers bir yağ/su emülsiyonunda kremalaşma olayının şematik adımları (McClements, 2007)

Bir emülsiyonun kremalaşması, Stokes yasası ile açıklanabilmektedir. Bu denklemdeki faktörler değiştirilmek suretiyle, bir emülsiyonun kremalaşma hızı düşürülebilir;

$$v = 2gr^2(\rho_2 - \rho_1) / 9\eta_1$$

Bu denklem içerisinde v , kremalaşma hızı, r , partiküllerin yarıçapı, g , yerçekimi ivmesi, ρ , yoğunluk, η , viskozite, 1 ve 2 numaralı ise sırasıyla sürekli faz ve dispers fazı ifade etmektedir (Gönül, 2000b; McClements, 2005a, 2007). İki fazın yoğunluk farkı ve yağ globülleri ne kadar büyük ise, dış faz ne kadar az viskoz ise kremalaşma o kadar hızlıdır.

Kremalaşma olayında yağ globülleri yukarı doğru hareket ettikçe, emülsiyonun alt kısmında globülce fakir olan “serum” tabakası, yukarısında ise globülce zengin “krema” tabakası oluşmaktadır. Serum ve krema tabakalarını birbirinden ayıran orta kısım ise orijinal emülsiyona benzer bir yapıda olduğu için “emülsiyon tabakası” olarak adlandırılır (Şekil 2.8) (McClements, 2007).



Şekil 2.8. Kremalaşmaya karşı kararlı olmayan bir yağ/su emülsiyonunun dikey düzlemde yağ globüllerinin dağılışının şematik gösterimi (McClements, 2007).

Yer çekimine bağlı stabilite sorunlarının karakterizasyonu için birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki, Stoke kanunu kullanılarak, emülsiyonun uzun dönemli stabilitesinin matematiksel olarak tahmin edilmesidir. Fakat matematik modellerin birçok gıda emülsiyonunun sahip olduğu sofistike yapıyı tam olarak yansıtamaması, depolama sırasında damlacıkların büyüklüğünde, flokülasyon, koalesens ve Ostwald damlacık büyümesi vb. faktörler ile oluşan değişim ve kremalaşma hızının artması bu yöntemi kısıtlayan faktörlerdir.

Yer çekimine bağlı ayrışmanın tespit edilmesi için kullanılan en basit ve ucuz yöntem görsel gözlem yöntemidir (Guzey and McClements, 2006; McClements et al., 2007). Transparan test tüplerine belli miktarda koyulan örnekler, belirli bir süre bekletilerek, emülsiyon yapısında oluşan katmanlar gözlemlenir. Bazı sistemler krema, serum ve emülsiyon olmak üzere üç faza ayrılırken kimi sistemler, krema ve serum olmak üzere iki faza ayrılır. Oluşan katmanların yükseklikleri ölçülerek aşağıdaki formül yardımı ile kremalaşma indeksi hesaplanır.

$$CI= 100 \times (H_S / H_T)$$

Bu formüldeki H_S serum katmanının yüksekliği, H_T ise emülsiyonun toplam yüksekliğidir. Kremalaşma indeksi genellikle bir emülsiyon sistemi için sıfırdan başlar ve zamana bağlı olarak belirli bir CI değerine kadar artarak devam eder. Bu yöntemde, bazı durumlar için emülsiyon katmanlarının birbirinden ayırmanın zorluğu ve damlacık konsantrasyon profili hakkında bilgi vermemesi başlıca karşılaşılan kısıtlamalardır (McClements et al., 2007).

Sistemin kremalaşma derecesi daha sofistike bir yöntem olan ışık saçılım yöntemi ile de ölçülebilmektedir (Davis 1996; McClements'den, 2005a). Bu yöntemde herhangi bir yükseklikteki yağ globüllerinin büyüklüğü ve konsantrasyonu tespit edilebilmektedir. Fakat bazı konsantre emülsiyonlarda ölçüm yapma zorluğu ve yüksekliğe bağlı damlacık konsantrasyon profilinin doğru yapılmasında karşılaşılan güçlükler bu yöntemin temel kısıtlamalarıdır (McClements, 2005a).

Son dönemlerde konsantre emülsiyonlarda yer çekimine bağlı ayrışmayı gözlemleyebilecek, nükleer manyetik rezonans, ultrasound, elektriksel iletkenlik gibi yeni yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır. Bu metotlar herhangi bir

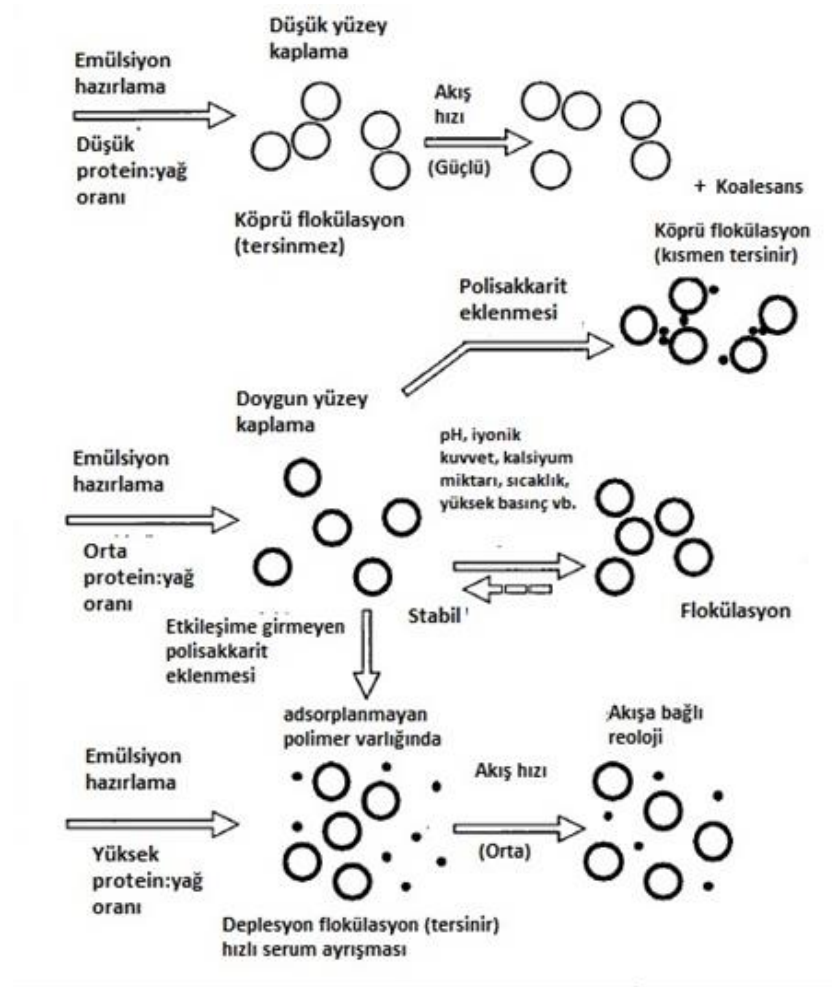
seyreltme yapılmadan damlacık konsantrasyonunun üç boyutlu görüntülerini sağlayabilmektedir. Fakat yöntem olarak pahalı olmaları ve eğitimli personel gerektirmeleri bu metotların kullanımını kısıtlayan ana faktörlerdir (McClements, 2005a).

2.3.2. Flokülasyon

Flokülasyon, iç faz damlacıklarının üç boyutlu kümeler halinde tersinir olarak ve kendi bireysel sınırlarını kaybetmeden bir araya gelmesidir. Ara yüzeyde mekanik koruyucu bir bariyerin bulunmaması halinde globüllerin agregasyonu ve hızlı koalesans oluşur (Gönül, 2000b). Flokülasyon, damlacıklar arasında oluşan çekim kuvvetlerinin, kısa dönemli olmasa da uzun dönemli itme kuvvetlerine karşı baskın olduğu durumlarda oluşmaktadır. Damlacıklar birbirlerine çok yakın dursa da koalesans oluşumuna sebep olacak şekilde birbirlerine karışmamaktadır. Emülsiyon içerisinde damlacık konsantrasyonunda ve damlacık büyüklüğündeki azalma, sürekli fazın viskozitesindeki azalma, partikül çap dağılımında gözlenen geniş dağılım, emülsiyona uygulanan karıştırma ve damlacıklar arası gerçekleşen etkileşim kuvvetleri flokülasyon oluşumuna etki eden başlıca faktörlerdir (McClements, 2007).

Damlacık büyüklüğü sub-mikron değerinde olan emülsiyon sistemlerinde flokülasyon oluşumu sterik kuvvetler vasıtasıyla engellenmektedir (Anton et al., 2008). Partikül boyut dağılımı geniş bir alanı kapsayan emülsiyonlarda göreceli büyük damlacıklar, küçüklere kıyasla daha hızlı hareket etmekte ve yukarı veya aşağı (kremalaşma veya sedimentasyon) hareket ederken diğer globüllere çarparak flokülasyon oluşumunu hızlandırmaktadır. Emülsiyon içerisinde bulunan kolloidal etkileşimlerden itme kuvvetlerinin çekme kuvvetlerinden daha büyük olduğu bir sistemde, flokülasyon oluşumu önlenmektedir (McClements, 2005a). Birçok gıda emülsiyonunda elektriksel yüke sahip emülgatörler kullanılarak (protein, polisakkarit veya iyonik yüzey aktif madde) damlacıklar arasında elektrostatik

itme kuvveti yaratılmakta ve flokülasyona karşı stabilite sağlanmaktadır. Proteinlerin emülgatör olarak kullanıldığı emülsiyonlarda düşük pH değerlerinde pozitif, izoelektrik noktaya doğru nötral ve yüksek pH değerlerinde negatif yüklenen damlacıklar ile flokülasyona karşı emülsiyona kararlılık kazandırılabilir.



Şekil 2.9. Protein-stabilize emülsiyonların flokülasyonunu etkilen faktörlerin şematik gösterimi (Dickinson, 1998).

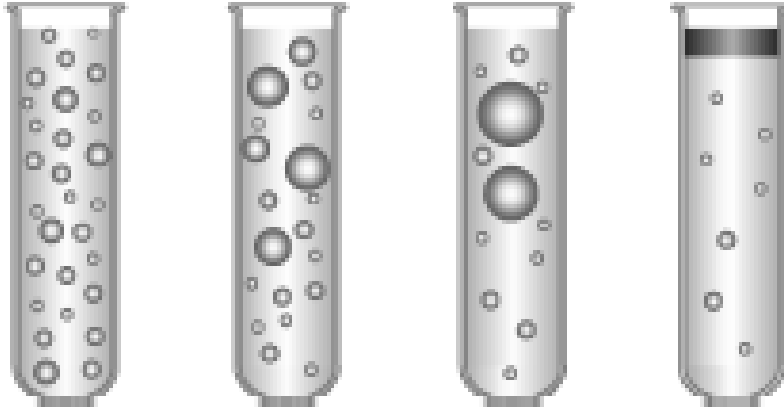
Fakat protein/yağ oranı düşük olan sistemlerde homojenizasyon sırasında ortamda yeterli protein bulunmaması ve yağ/su ara yüzeyinin protein ile doyurulamaması, adsorplanan proteinlerin birden çok yağ globülü tarafından paylaşılmasına sebep olmaktadır. Böylece emülsiyon sisteminde köprü

flokülasyon gözlenmektedir (Şekil 2.9) (Dickinson, 1998, 2010; McClements, 2005a, 2007). Tersine bir durum olan, emülsiyon yapısında adsorplanmayan koloidal partiküllerin bulunması (biyopolimer, yüzey aktif madde, protein) sürekli fazda oluşan osmotik kuvvet sebebiyle damlacıklar arası çekme kuvvetinde artmaya sebep olmaktadır. Koloidal partiküllerin konsantrasyonu arttıkça bu çekim kuvveti ortamdaki itme kuvvetlerini yenerek deplesyon flokülasyonuna sebep olmaktadır (Şekil 2.9) (McClements, 2005a; Dickinson 2010).

Emülsiyon yapısında oluşan flokülasyonu ve miktarını değerlendirmek için üç temel deneysel teknik kullanılmaktadır. Bunlar; mikroskobik görüntüleme, reoloji ve ışık saçılım yöntemiyle ölçülen partikül boyut dağılımıdır (Dickinson, 2010). Ortalama partikül çap ölçümü ve dağılımı, deneysel araştırmalarda uygulanan standart bir uygulamadır fakat flokülasyonun gerçekleştiği ve bimodal bir partikül dağılımına sahip emülsiyonların yapısının gözlenmesi, monodispers stabil emülsiyonlar kadar kolay olmamaktadır. Öncelikle ışık saçılım teknolojilerinden elde edilen veriler flokülün tek tip küreler olduğunu varsaymaktadır ve bu varsayım örnek alımını problematik bir hale getirmektedir. Analiz sırasında sistemin kremalaşmaya ve/veya faz ayrımına karşı meyilli olması alınan örneğin bütün emülsiyon yapısını temsil edilecek şekilde seçilmesini önemli kılmaktadır. Ayrıca ışık saçılım teknolojilerinde analizi yapılacak örneklerin seyreltilmesi, özellikle deplesyon flokülasyonu oluşan yapılarda, flokülasyona tersinir bir yapı kazanmaktadır. Işık mikroskobu ile görüntüleme, flokülasyon yapılarının belirlenmesinde kullanılan en direk yöntemlerden biridir. Ayrıca flokülasyon yapılarının koalesans ve Ostwald damlacık büyümesi gibi süreçlerden ayrılmasında kullanılabilecek güvenilir bir yöntemdir. Emülsiyon reoloji ise konsantre emülsiyonlarda oluşan flokülasyon yapılarının doğasını ve miktarını belirleyebilmek için kullanılan güçlü indirek yöntemlerden birisidir. Akış gerilimine ve akış hızına bağlı olarak sürekli ölçülen viskozite değeri, floküle olmuş damlacıklar arasındaki çekim kuvvetleri hakkında bilgi vermektedir (Dickinson, 2010).

2.3.3. Koalesans

Koalesans, emülsiyon damlacıklarının büyük damlacıklar oluşturacak şekilde birleşmesi, büyümesidir (Gönül, 2000b). Damlacık büyüklüğünün koalesans ile artmasıyla sistemde krema veya sediment oluşumu hızlanmaktadır. Yağ/su emülsiyonlarında koalesans oluşumu, emülsiyonun yüzey kısmında bir yağ tabakasının oluşmasına sebep olabilmektedir (Şekil 2.10). Emülsiyon sistemlerinde iki veya daha çok sayıda yağ globülünün uzun süre birbirleriyle yakın temasta kalması (flokülasyon, kremalaşma vb.) ya da yağ globüllerinin birbirleriyle çarpışması sonucu aralarındaki itme kuvvetlerinin yetersiz kalması koalesans oluşumunun başlıca nedenleridir (McClements, 2007). Koalesans oluşumuna karşı emülsiyon yapısının stabilitesi, flokülasyonun önlenmesi, krema tabakasının önlenmesi, damlacık konsantrasyonunun azaltılması ve ara yüzeyin özelliklerinin değiştirilmesi ile sağlanabilmektedir (McClements, 2005a).



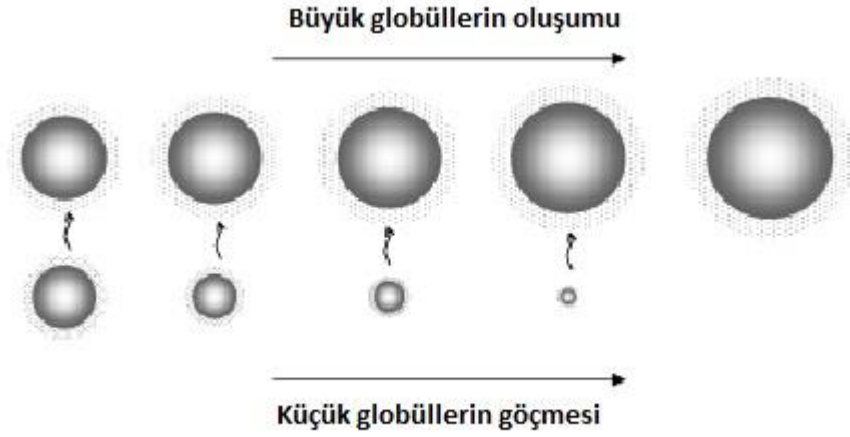
Şekil 2.10. Emülsiyonlarda koalesans oluşumunun şematik gösterimi

Koalesans oluşumunun karakterizasyonu için birçoğu flokülasyon yapısının zamana bağlı izlenmesine dayanan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu amaçla optik mikroskop, lazer veya elektron mikroskopları kullanılmaktadır. Bir diğer yöntem ise zamana bağlı olarak partikül çap dağılımının, ışık saçılımı,

ultrasonik spektrometre veya NMR teknolojileri ile ölçülmesidir (McClements, 2007).

2.3.4. Ostwald damlacık büyümesi

Ostwald damlacık büyümesi, bir damlacıktan diğer bir damlacığa aralarındaki sürekli fazın vasıtasıyla gerçekleşen kütle transferi ile küçük damlacıklardan daha büyük damlacıklar oluşmasıdır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Ostwald damlacık büyümesi şematik gösterimi

2.4. Çok Tabakalı Emülsiyonlar

Geleneksel emülsiyon sistemleri birçok avantaja sahip olmasına rağmen günümüzde daha sofistike yapılara ihtiyaç duyulmasına sebep olan bazı kısıtlamalar sahiptir. Geleneksel emülsiyonlar çeşitli çevresel stres faktörleri olan ısıtma, soğutma, pH değişimi, kurutma, dondurma, yüksek mineral konsantrasyonu vb. durumlar karşısında fiziksel kararlılıklarını kaybetmeye

eğilimlidir. İç fazının veya iç fazında bulunana fonksiyonel bileşiklerin korunmasında ve kontrollü salınımında, göreceli küçük olan partikül çapı (μm) ve oluşturulan ara yüzeyin inceliği (nm), iç fazın dışarıya doğru moleküler difüzyon süresini kısaltmaktadır. Ayrıca sınırlı sayıdaki emülgatör varlığı, fonksiyonel bileşenler için, emülsiyonlar ile oluşturulacak çeşitli taşıma sistemlerinin geliştirilmesini kısıtlamaktadır (Aoki et al., 2005; Guzey and McClements, 2006a; McClement et al., 2007; McClements et al., 2009).

Günümüzde geleneksel yağ/su emülsiyonlarının stabilite ve fonksiyonel özellikleri, yağ damlacıklarının etrafını kaplayan ve kat-kat (layer-by-layer) elektrostatik depolama yöntemiyle oluşturulan ara yüzeyler ile iyileştirilmektedir (Ogawa et al., 2003b; McClements, 2005a; Gu et al., 2005; Guzey and McClements, 2006b; McClements et al., 2009, Hu et al., 2011, Perrechil and Cunha, 2013). Kat-kat (LBL) elektrostatik depolama yöntemi, ara yüzeylerin karakteristik özellikleri olan kimyasal kompozisyon, kalınlık, elektriksel yük, reoloji, geçirgenlik, çevresel faktörlere verdikleri tepki vb. birçok özelliğin manipüle edilmesinde kullanılan güçlü bir yöntemdir (McClements, 2005b).

Gu et al. (2005), β -laktoglobülin, karragenan ve jelatin kullanarak LBL yöntemi ile oluşturdukları tek, çift ve üç tabakalı emülsiyon yapılarının çeşitli çevresel koşullar (pH, NaCl, CaCl_2 ve sıcaklık) altındaki yapısal özelliklerini ve stabiliteilerini araştırmıştır. Mevcut koşullar altında, tek tabakalı emülsiyon yapısına göre çok tabakalı emülsiyonların daha iyi bir stabilite gösterdikleri ve bazı koşullar altında (yüksek tuz ve sıcaklık), biyopolimer katmanların desorplanarak yağ fazın kontrollü salınımının gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir.

Guzey and McClements (2004), β -laktoglobülin ve pektin kullanarak LBL yöntemi ile oluşturdukları çift tabakalı emülsiyonun 100 mM NaCl varlığında ve düşük pH ortamında (3-4) tek tabakalı yapıya kıyasla daha stabil kaldığını

belirlemiştir. Ara yüzey mühendisliği ile hazırlanan çok tabakalı emülsiyon yapılarının, genellikle proteinlerin fonksiyonlarını yitirdikleri orta düzey pH koşullarında stabil emülsiyonların hazırlanmasını sağladığı gözlemlenmiştir.

Guzey and McClements (2006b), LBL yöntemiyle β -Laktoglobülin, pektin ve kitosan kullanarak hazırladıkları çok tabakalı emülsiyon yapılarının pH (3-7), NaCl (0-500 mM) ve ısısal işlem (30-90°C de 30 dk.) faktörlerine karşı gösterdikleri stabiliteyi araştırmıştır. Protein ile oluşturulan tek tabakalı yapının bütün stres faktörleri karşısında stabilitesini koruyamadığı belirlenmiştir. Buna karşın pektin ile oluşturulan çift tabakalı yapı 30–90°C arasında, ≤ 100 mM NaCl varlığında, ve pH 3–5 arasında stabil kaldığı, kitosan ile oluşturulan üç tabakalı emülsiyonun ise 30–60°C arasında, ≤ 100 mM NaCl varlığında ve pH 3–6 arasında stabil kaldığı belirlenmiştir. Böylece kullanılan biyopolimerlerin yağ/su emülsiyonun fiziksel stabilitesini arttırdığı gösterilmiştir.

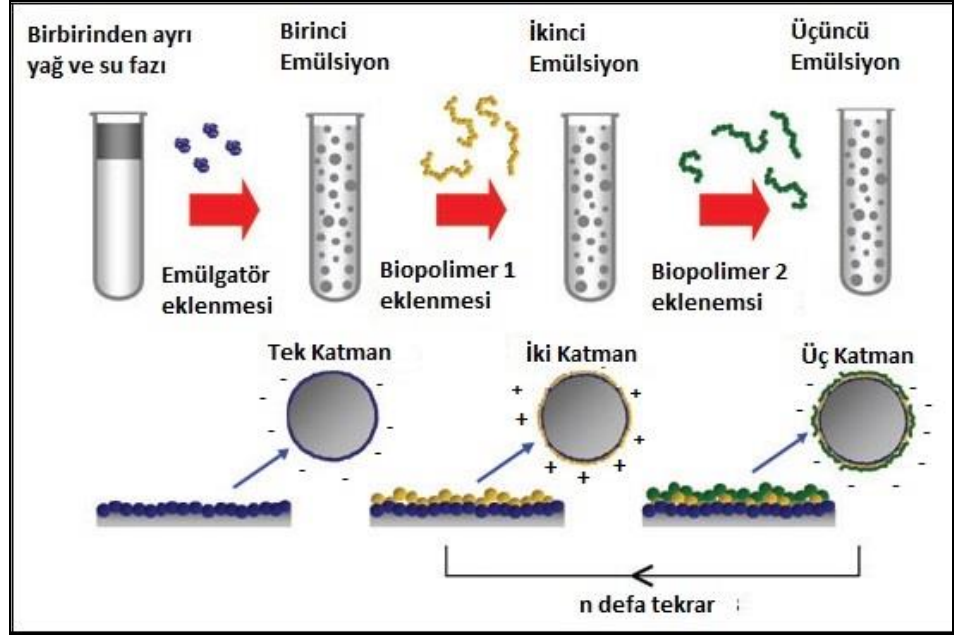
Ogawa et al. (2003b), LBL yöntemini kullanarak lesitin ve kitosan ile çok tabakalı emülsiyon oluşturdukları çalışmalarında; birincil (tek tabakalı) ve ikincil (çok tabakalı) emülsiyonların, ısısal işlem, dondurma, yüksek kalsiyum klorür konsantrasyonu ve lipid oksidasyonu açısından gösterdikleri stabiliteyi karşılaştırmıştır. İkincil emülsiyonun ısısal işlem altında (30-90 °C, 30dk), dondurma işleminde (-10 °C, 22saat - 30 °C, 2saat) ve yüksek tuz konsantrasyonunda (≤ 500 mM CaCl_2) gözlemlenen stabilitesinin birincil emülsiyona göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca birincil emülsiyona kıyasla daha az peroksit oluşumu gözlemlenerek daha iyi oksidatif stabilite sağladığı belirtilmiştir.

LBL yönteminde, emülsiyon mevcut emülgatör tabakasına adsorplanabilecek bir bileşik ile karıştırılmaktadır. Eğer damlacıklar elektriksel yüke sahip bir emülgatör ile kaplanmış ise ortama zıt yüklü bir polielektrolitin eklenmesi, aralarında güçlü bir çekim kuvveti oluşmasına sebep olur ve böylece

polielektrolit damlacık yüzeyine adsorplanmaktadır (McClements and Rao, 2011). Zıt yüke sahip polielektrolitin yeterli konsantrasyonunda, yüzeye adsorplanma sonucu ara yüzeydeki net yük değişerek ters işaret almaktadır (net yük pozitiften negatife veya tam tersi) (Weiss et al., 2006; Guzey and McClements, 2006a, 2006b; McClements, 2005b, McClements et al., 2009). Damlacık yüzeyinde gerçekleşen yük değişiminin iki önemli sonucu bulunmaktadır. Bunlardan ilki, adsorplanan polielektrolitin emülgatör üzerinde ikinci bir tabaka oluşturması ve yüzey doygun hale geldiğinde, yüzeyin polielektrolit ile aynı yükü taşıması, aralarında bir itme kuvveti oluşturarak daha fazla polielektrolitin yüzeye adsorplanmasına engel olmaktadır. İkinci olarak, oluşturulan bu ikinci tabaka üzerine ortama zıt yüklü başka bir polielektrolit eklenerek üçüncü, dördüncü vb. birçok katman elde edilebilmektedir. En üst tabaka da bulunan polielektrolit yükü, bütün yüzeyin net yükünü oluşturmaktadır (Şekil 2.12) (Guzey and McClements, 2006a).

Belli bir elektriksel yüke sahip emülgatör homojenizasyon sırasında yağ globüllerinin etrafına hızlı bir şekilde adsorplanmaktadır ve böylece birincil emülsiyon yapısı oluşturulur. Daha sonra ortama eklenen zıt yüklü polielektrolit, emülgatör yüzeyi tarafından çekilerek yağ globülleri etrafına adsorplanır ve ikinci tabakayı oluşturarak ikincil emülsiyon yapısını meydana getirir. LBL yöntemiyle çok tabakalı emülsiyon oluşturmak için birden fazla yöntem kullanılmaktadır.

- Doyurma yöntemi: Çok katmanlı emülsiyon için içerisine bütün yağ globüllerinin etrafını sarmaya yeterli tam miktarda polielektrolitin eklenmesi ile oluşturulan sistemlerdir. Polielektrolit miktarının tam olarak belirlenmesi için zeta-potansiyel vb. empirik ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır.



Şekil 2.12. Çok tabakalı emülsiyon yapısı (McClements, 2010).

- Santrifüj Yöntemi: Emülsiyon ortamına sistemdeki bütün yağ globüllerinin sarmaya yeterli polielektrolit miktarından daha fazla konsantrasyonlarda polielektrolit eklenerek, biyopolimerin fazlasının santrifüj ile sistemden uzaklaştırılması prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemdeki ana problem santrifüj ile sisteme uygulanan kuvvetin emülsiyonda agregasyona yol açabilmesidir.
- Filtrasyon yöntemi: Emülsiyon sistemine eklenen fazla miktardaki polielektrolitin membran filtrasyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırılmasıdır.
- pH Değişimi: Bu yöntem, yukarıdaki metotlardan farklı olarak iki basamakta gerçekleştirilmektedir. Öncelikle, kolloidal partiküller ile ortama eklenen polielektrolitin aynı işaretli yüke sahip olduğu bir pH değeri seçilerek, emülsiyon içerisine yeterli miktar polielektrolit eklenir. Daha sonra pH değeri ayarlanarak hem polielektrolitin hem de

kolloidal partiküllerin birbirleriyle zıt yüklendikleri bir pH değerine getirilir ve partikül yüzeyine adsorplanma gerçekleştirilir. Bu yöntem kolloidal partiküllerin ve kullanılan polielektrolitin elektriksel yükleri pH'a bağlı değişen sistemlerde uygulanabilmektedir. İki basamakta gerçekleştirilen bu metottun en büyük avantajları, polielektrolitin adsorplanmadan önce emülsiyon sistemine iyice yayılması ve pH değişimiyle beraber hızlı bir şekilde agregasyona fırsat bırakmadan damlacık yüzeyine adsorplanmasıdır. Ayrıca, diğer tek basamaklı yöntemlere göre protein ve bir anyonik biyopolimer (pektin, karragenan, aljinat) ile hazırlanan çok tabakalı emülsiyon yapıların için daha stabil bir emülsiyon sistemi elde edilmektedir (Guzey et al., 2004; Guzey and McClements, 2006b; McClements et al., 2007; McClements, 2012).

Çok tabakalı emülsiyon sistemlerinin yapısını ve fonksiyonelliğini kontrol etmek için birçok yol bulunmaktadır. Emülgatör türünün değiştirilmesi, kullanılan polielektrolitin değiştirilmesi, katman sayısının değiştirilmesi, katmanları oluşturan biyopolimerlerin sırasının değiştirilmesi, sulu çözelti ortamının özelliklerinin (pH, iyonik kuvvet) değiştirilmesi ve katmanlar arasında fiziksel, kimyasal veya enzimatik yöntem ile çapraz bağların oluşturulması sayılabilecek başlıca yöntemlerdir (McClements, 2012).

Belli koşullar altında çok tabakalı ara yüzeye sahip emülsiyon yapılarının çevresel stres faktörleri olan pH değişimi, yüksek iyonik kuvvet, ısısal işlem, dehidrasyon ve donma gibi faktörlere karşı daha stabil ve koruyucu bir yapı sağladıkları görülmektedir (Ogawa et al., 2003b; Gu et al., 2004; Aoki et al., 2005; Klinkesorn et al., 2005; Surh et al., 2005; Guzey and McClements, 2006b; McClements, 2010). Enkapsülasyon yöntemi olarak çok tabakalı emülsiyon yapılarının kullanılması ile enkapsüle edilen komponentin kimyasal stabilitesi artırılabilir. Literatürdeki bazı çalışmalarda yağ fazı ile geçiş metal iyonlarının emülsiyon içerisindeki etkileşimleri, ara yüzey yükünün ve

kalınlığının kontrol edilmesi ile azaltılmış ve böylece ω -3 yağ asitlerinin oksidatif stabilitelerinde iyileşme sağlanmıştır (McClements and Decker, 2000; Klinkesorn et al., 2005; McClements et al., 2007). Çok tabakalı emülsiyon üretiminde kullanılan ara yüzey mühendisliği sadece gıda sınıfına giren komponentlerden (yüzey aktif madde, protein, polisakkarit ve fosfolipid) yararlanmakta ve kullanılan proses yöntemleri ise halihazırda gıda sanayinde kullanılmaktadır (McClements et al., 2007).

Proteinler ve anyonik polisakkaritler arasında gerçekleşen elektrostatik kompleksler, proteinlerin çözünürlüğünü artırarak izoelektrik noktalarında yaşanan çökmeyi engellemektedir. Ayrıca anyonik polisakkaritler koruyucu hidrokolloidler gibi davranarak yüklü protein partiküllerinin agregasyonunu ve çökmesini engeller. Bu koruyucu etki yağ/su emülsiyonlarında stabilitenin korunmasına da yardımcı olmaktadır (Ye, 2008).

Çok tabakalı emülsiyon sistemleri kararlılık ve performans bakımından geleneksel emülsiyon sistemleri kıyasla umut verici iyileşmeler içerse de, sistemin köprü ve deplesyon flokülasyonu vasıtasıyla oluşan agregasyona ve diğer etkilere karşı stabilitesinin sağlanması için kullanılan emülgatör ve biyopolimer kombinasyonunun uygun seçilmesi ve hazırlama koşullarının (damlacık konsantrasyonu, biyopolimer konsantrasyonu, pH, iyonik kuvvet, polimer sırası, karıştırma hızı, sıcaklık vb.) optimum olarak belirlenmesi gerekmektedir.

2.4.1. Çok tabakalı emülsiyonların stabilitesine etki eden faktörler

2.4.1.1. Polielektrolit karakteristiği

Çok tabakalı emülsiyon sistemlerinin oluşumu, stabilitesi ve özellikleri yüklü kollodial partiküllerin yüzeyine adsorplanan polielektrolitlerin yapısına bağlı olmaktadır. Zincir uzunluğu, yük yoğunluğu ve dağılımı, dallı yapısı vb. özellikler biyopolimerin yüzeye adsorplanmasını ve yüzey kalınlığı, yapısı, porozite gibi yüzey özelliklerini etkilemektedir (McClements, 2012).

Emülsiyon damlacıklarını veya dispers partiküllerin kararlılığını sağlayan biyopolimerlerin dört temel özelliği bulunmalıdır. Bunlar; partikül yüzeyine güçlü adsorplanma, partikül yüzeyine tamamen kaplayarak sarma, kalın, sterik ve stabil bir katman oluşturma ve oluşturdukları ara yüzeyde belli bir elektriksel yük değerine sahip olma yetenekleridir (Dickinson, 2003).

Polielektrolit tarafından oluşturulan ara yüzeyin kalınlığı, polielektrolitin taşıdığı yük yoğunluğuna bağlıdır. Düşük tuz konsantrasyonunda fazla miktarda yüklü polielektrolitler damlacık yüzeyine adsorplanırken ara yüzey ile aralarındaki güçlü elektrostatik etkileşim sonucu göreceli ince bir tabaka oluşturmaktadır (Schönhoff, 2003; Guzey and McClements, 2006a). Ayrıca polielektrolitin emülsiyon içerisindeki konformasyonu ara yüzeyde oluşturulacak tabakanın kalınlığını belirlemektedir.

Yağ globülleri etrafına adsorplanan polielektrolit miktarı ve oluşturduğu katmanın kalınlığı, yapısı ve porozitesi polielektrolitin çevreye karşı gösterdiği hassasiyete bağlıdır. İyonik kuvvet, pH ve sıcaklık ile değişik hassasiyete sahip

polielektrolit kullanılarak, istenilen doğrultuda çok tabakalı ara yüzeylerin oluşturulması mümkündür (Guzey and McClements, 2006a).

LBL yöntemiyle oluşturulan çok tabakalı emülsiyonların flokülasyona karşı meyilli olmaları en büyük problemlerden biridir. Bazı durumlarda oluşan flokülasyonların kırılması için sisteme ek mekanik işlemler (sonikasyon, homojenizasyon, karıştırma) uygulanabilmektedir. Alternatif olarak polimer ve kolloidal partikül karakteristikleri, çözücü özellikleri, hazırlama yöntemi vb. koşullar kontrol edilerek flokülasyon oluşumu önlenabilmektedir (McClements 2005b).

Çok tabakalı emülsiyonlarda flokülasyon oluşumuna sebep olan iki ana mekanizma bulunmaktadır;

-Köprü flokülasyonu, ortamda yağ/su ara yüzeyini tamamen kaplayacak miktarda polielektrolit bulunmadığı durumlarda ve kolloidal partiküller arası çarpışma, polimerin yüzeye adsorplanmasından daha hızlı gerçekleştiği koşullarda meydana gelmektedir.

-Deplesyon flokülasyonu, emülsiyon içerisinde yağ/su ara yüzeyini tamamen kaplayabilecek polielektrolit konsantrasyonundan daha fazla polimer bulunması durumunda oluşmaktadır.

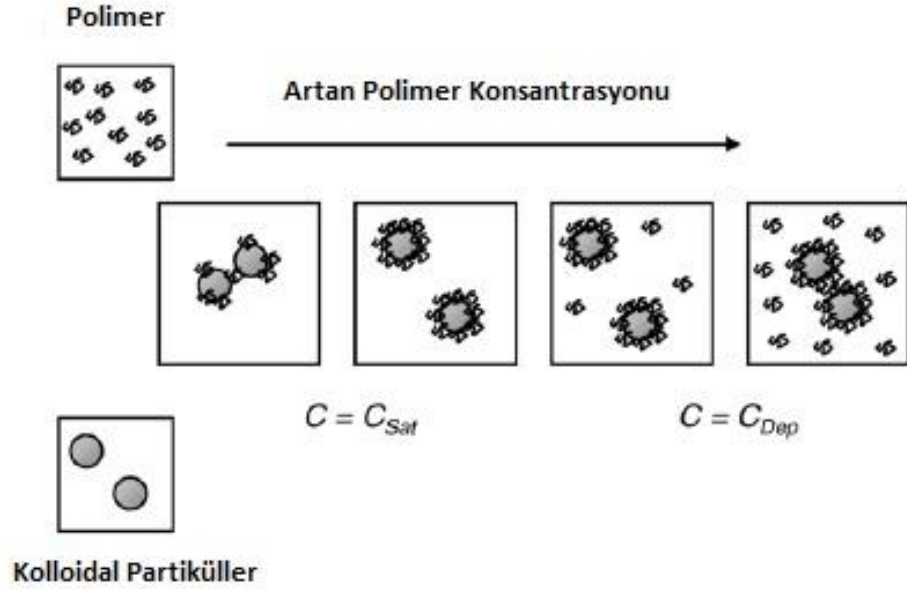
Yeterli biyopolimer konsantrasyonunda, protein ile sarılmış yağ globülleri ile biyopolimer arasında güçlü bir çekim kuvveti oluşmakta ve globüllerin etrafında sterik olarak sistemi stabilize eden ikinci bir katman oluşmaktadır. Sisteme eklenen polimer miktarı kritik bir seviyeye ulaştığında, adsorplanmayan ve sürekli fazda bulunan polimerler, artan partikül hacim fraksiyonu ve polimerin

moleküler kütlesi ile sistemde deplesyon flokülasyonunun oluşmasına sebep olmaktadır. Aşırı miktarda eklenen biyopolimer konsantrasyonlarında ise sistemde jel oluşumu gözlenebilmektedir. Buna karşın gerekli biyopolimer konsantrasyonundan daha az miktarlarda ise sistemde köprü flokülasyonu gözlenmektedir (Dickinson 2003).

Emülsiyon içerisindeki kollodial partiküllerin flokülasyon/agregasyona karşı stabilitesi polielektrolit konsantrasyonuna (C) bağlı olarak değişmektedir (Şekil 2.13). Uygun konsantrasyonun elde edilmesi için matematiksel modelleme ve bazı denklemler kullanılmaktadır;

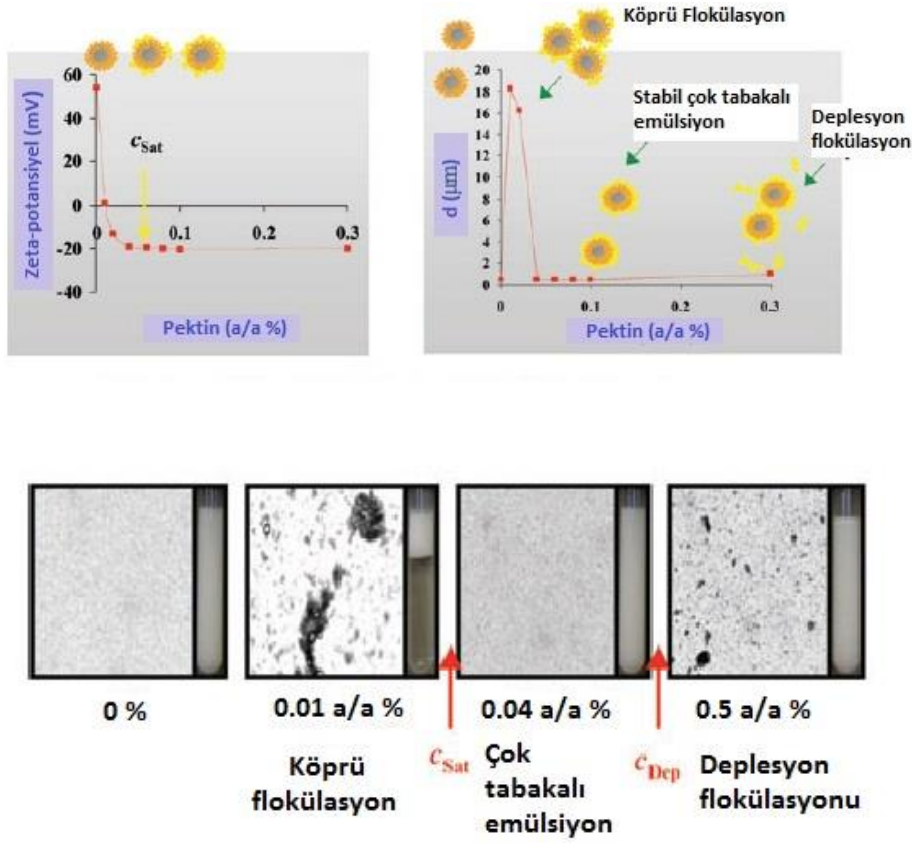
- $C=0$ durumunda partiküller arası emülgatör katmanı tarafından oluşturulan kuvvetli bir itme kuvveti bulunmaktadır ve sistem agregasyona karşı dayanıklıdır.
- $0 < C < C_{sat}$. Polielektrolit konsantrasyonu yağ globüllerinin hepsini kaplayacak yeterli konsantrasyondan (C_{sat}) düşük ise polielektrolit birden fazla damlacık tarafından adsorplanır ve sistemde köprü flokülasyonu oluşmaktadır.
- $C_{sat} < C < C_{dep}$. Ortamda yağ/su ara yüzeylerini kaplayacak yeteri kadar polielektrolitin olması fakat deplesyon flokülasyonun sebep olacak konsantrasyona daha erişmemesi ile stabil bir emülsiyon sistemi elde edilebilmektedir. Kararlı emülsiyon şartlarında kollodial partiküllerin birbirleriyle çarpışma hızları, polielektrolitin damlacık yüzeyine adsorplanma hızından daha yavaş olmalıdır ve dengenin elde edildiği polielektrolit konsantrasyonu C_{ads} olarak tanımlanmaktadır.

- $C > C_{dep}$. Emülsiyon ortamında adsorplanmadan kalan polielektrolit miktarı belli bir konsantrasyonu aştığında ortamda deplesyon flokülasyonu görülmektedir (McClements, 2005b).



Şekil 2.13. Birbirleriyle zıt elektriksel yüke sahip kolloidal partiküllerin ve biyopolimerin ortama eklenmesi ile gerçekleşen olayların şematik gösterimi (McClements, 2005b).

Flokülasyona karşı kararlı çok tabakalı emülsiyonların yapısında polielektrolit konsantrasyonu C_{sat} konsantrasyonunu geçse bile sistemde hala köprü flokülasyonu oluşabilmektedir. Stabil bir emülsiyon yapısı için, ortamda yağ/su ara yüzeyini tamamen kaplayabilecek konsantrasyonda polimer bulunmasının yanı sıra polimerin yağ globüllerinin yüzeyine adsorplanma hızının, kolloidlerin birbirleriyle çarpışma hızından fazla olması gerekmektedir. Bu sebepten dolayı stabil bir sistem için ortamdaki polielektrolit konsantrasyonunun $C_{ads} < C < C_{dep}$ aralığında olmasına dikkat edilmelidir. Mevcut konsantrasyon limitlerinin hesaplanması için günümüzde matematiksel modelleme ve denklemler kullanılmakta ve emülsiyonlar için stabilite haritaları oluşturulabilmektedir (McClements, 2005b, Guzey and McClements, 2006a).



Şekil 2.14. Çok tabakalı emülsiyonlarda karakterizasyon yöntemleri (pH 3.5’da hazırlanan mısır yağı ve β -laktoglobülin ile oluşturulan birincil emülsiyon sistemine pektin eklenmesi) (Cho and McClements, 2009; McClements, 2010).

Matematiksel modelleme ve stabilite haritaları dışında, biyopolimerlerin damlacık yüzeyine adsorplanma durumları zeta-potansiyel ölçümü ile takip edilebilir. Ayrıca emülsiyonun flokülasyona karşı stabilitesi ise ışık saçılımı, mikroskopik görüntüleme ve kremalaşma stabilitelerinin ölçülmesi ile takip edilebilmektedir (Şekil 2.14) (McClements, 2010).

2.4.1.2. Emülgatör karakteristiği

Çok tabakalı emülsiyon sistemlerinde ilk katmanın özellikleri kullanılan emülgatör tarafından belirlenmektedir. Her bir emülgatör çok tabakalı yapının

oluşmasına ve özelliklerine etki eden elektriksel karakteristikler taşımaktadır (Guzey and McClements, 2006a).

Birincil emülsiyonun hazırlanması için kullanılabilecek birçok anyonik, gıda sınıfına giren yüzey aktif madde ve fosfolipid bulunmaktadır. Lesitin, yağ asit tuzları, monogliseridlerin diasetil tartarik asit esterleri (DATEM) vb. emülgatörler ile negatif yüklü emülsiyon damlacıkları oluşturulabilmektedir (McClements, 2005a; Guzey and McClements, 2006a). Pozitif yüklü katyonik yüzey aktif maddelerden ise gıda sınıfına girebilen sadece birkaç tane bulunması çok tabakalı emülsiyonlarda yüzey aktif maddeler ile katyonik bir yapı oluşturmasını kısıtlamaktadır (Guzey and McClements, 2006a).

Ortamın pH değerine bağlı olarak işareti ve elektriksel yükü değişen proteinlerin emülgatör olarak kullanılması ile çok tabakalı yapılarda birinci katmanın fonksiyonel özellikleri kolayca ayarlanabilmektedir. Ayrıca yine emülsiyon pH değeri ayarlanarak emülgatör ve polielektrolit arasındaki elektrostatik etkileşim isteğe bağlı olarak değiştirilebilmektedir (McClements, 2005a).

Gıda endüstrisinde emülgatör olarak yaygın kullanım alanına sahip başlıca iki polisakkarit bulunmaktadır. Bunlar akasya gamı ve modifiye nişastadır. Bu emülgatörler göreceli kalın bir ara yüz oluşturarak çevresel stres faktörlerine dayanıklı emülsiyon yapıları oluşturabilmektedir.

Çok tabakalı yapılarda ilk katmanın özelliklerinin belirlenmesinde sadece elektriksel karakteristikler önem taşımamaktadır. Oluşturulan ara yüzeyin kalınlığı, yapısı, emülgatörün çevresel faktörlere karşı taşıdığı hassasiyette önemli parametreler arasındadır (Guzey and McClements, 2006a).

2.4.1.3. pH

Çok tabakalı emülsiyonlarda oluşan yağ/su ara yüzeyinin oluşumunu ve özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerden biri ortamın pH değeridir. LBL tekniğinde ortamın pH değeri seçilirken partikül yüzeyi ile polielektrolitin zıt yüklere sahip olacağı ve iki taraf içinde sahip oldukları bu zıt yük değerlerinin yeterince yüksek olduğu bir değer seçilmektedir. Emülsiyon ortamının pH değeri değiştirilerek kolloidal partiküllerin yüzeyine ne derecede polielektrolit adsorplanacağı belirlenebilmektedir. Ayrıca bazı durumlarda bir polielektrolit kendisiyle aynı yükü taşıyan bir yüzeye de adsorplanabilmektedir. Böyle bir durum, yüzeyde heterojen yük dağılımının olması sonucu polielektrolit ile zıt yüke sahip olan bölgelerin oluşması ile gerçekleşebilir (Gu et al., 2005; Guzey and McClements, 2006a).

Gu et al. (2004), β -laktoglobülinin emülgatör olarak kullanılmasıyla elde edilen birincil emülsiyona, değişen konsantrasyonda karragenan ekleyerek sistemin pH değerlerini 3-8 arasında değiştirdiği çalışmasında, pH 3 değerinde emülgatör ile polimer arasında sülfat gruplarının sebep olduğu zayıf elektrostatik bağın oluştuğu belirlenmiştir. pH 4-5 aralığında zeta-potansiyel değerinin pozitif alandan negatif alana kayması ile β -laktoglobülin ile karregenana arasında güçlü bir çekim kuvveti gerçekleşmiş ve damlacıklar çevresinde ikinci tabakanın oluştuğu gözlenmiştir. Ortamın pH değerinin 6 olması ile çok tabakalı emülsiyon yapısının bir haftalık depolama süreci boyunca stabil kaldığı belirlenmiştir. pH değeri 7-8 arasında ise zeta-potansiyel değerinde bir değişim gözlemlenememiş ve karregenanın damlacık ara yüzeyine adsorplanmadığı belirtilmiştir.

Hong and McClements (2007), mısır yağı ile β -laktoglobülin ve pektin kullanarak pH 3 ortamında hazırladıkları çok tabakalı emülsiyon yapısında, protein ile polimer arasında pH 4.5 ile 7.5 arasında kuvvetli bir elektrostatik çekim oluştuğunu göstermiştir. Ayrıca β -laktoglobülinin izoelektrik noktasına

yakın pH değerlerinde (4.5-5.5), çift tabakalı emülsiyon yapısının flkoölasyona karşı yüksek stabilite gösterdiği belirtilmiştir.

2.4.1.4. Tuz

Bir emülsiyon sisteminin sahip olduğu iyonik kuvvet, moleküller içi ve moleküller arası elektrostatik etkileşimlerin kuvvetini ve süresini belirleyerek çok tabakalı yapının oluşmasını, yapısal özelliklerini ve kalınlığını etkilemektedir. Yağ damlacıkları ve polielektrolit arasındaki elektrostatik etkileşim ortamın iyonik kuvveti arttıkça azalmaktadır. Elektrostatik perdeleme olarak da adlandırılan olay yüzey çevresinde karşıt yüklü iyonların birikmesi ile gerçekleşmektedir.

Ortamda tuz bulunmadığı durumlarda polielektrolitler yüzey çevresinde daha ince ve düz bir katman oluşturmaya meyillidir. Polielektrolit ile yüzey arasındaki elektrostatik etkileşim maksimum seviyesindedir ve adsorpsiyon sonrası moleküllerin yüzey üzerinde tekrar düzenlenmesi sınırlı bir düzeydedir. Tuz bulunduğu durumlarda ise polielektrolitler daha sıkı bir konformasyon alarak, partiküller etrafında kalın bir ara yüzey oluştururlar. Polielektrolit ile yüzey arasındaki etkileşim düşük düzeydedir ve adsorpsiyon sonrası yüzeydeki moleküllerin tekrar düzenlenmesi gerçekleşebilmektedir (Guzey and McClements, 2006a). Ayrıca çok tabakalı emülsiyon yapılarında ortamdaki tuz miktarı arttıkça katmanlar arasında azalan elektrostatik etkileşim sonucu katmanların geçirgenliği artmaktadır.

2.4.1.5. Cözücü kalitesi

Çözücü maddenin dielektrik sabitinin değiştirilmesi, emülsiyon içerisindeki elektrostatik etkileşimleri etkilemektedir. Literatürdeki bazı çalışmalarda ortama etanol eklenmesinin ara yüzey kalınlığını ve adsorplanan materyal miktarını arttırdığı, zincir içi elektrostatik itme kuvvetini ise azalttığı belirtilmektedir (Poptoshev et al., 2004; Guzey and McClements, 2006a).

2.5. Emülsiyonların Oksidatif Stabilitesi

Emülsiyon yapılarında artan yüzey alanı sayesinde yağ fazının ve suda çözünen prooksidan bileşiklerin birbirleriyle etkileşimlerinin artması, yağ/su emülsiyonlarında lipid oksidasyonunun hızlı bir şekilde gerçekleşmesine sebep olmaktadır.

Yağ/su emülsiyonlarında gerçekleşen oksidasyonun hızına etki eden birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; yağ asidi kompozisyonu, sürekli fazın pH değeri ve iyon kompozisyonu, prooksidan ve antioksidan konsantrasyonları, oksijen konsantrasyonu, yağ damlacıklarının özellikleri (damlacık boyutu, konsantrasyonu ve fiziksel durumu), yağ/su ara yüzey özellikleri (ara yüzey kalınlığı, yükü, reolojisi ve geçirgenliği) olarak sıralanabilmektedir (Coupland and McClements, 1996; Waraho et al., 2011).

Emülsiyon yapılarında dispers halde bulunan yağ damlacıkları sayesinde yağ fazının yüzey alanında ciddi bir artış bulunmaktadır. Fakat bu konuda yapılan bir çok çalışma damlacık boyutundan kaynaklanan yüzey alanı artışının tek başına oksidasyon hızına minimal etkisi olduğunu belirtmektedir (Osborn and Akoh,

2004; Dimakou et al., 2007; Kiokias et al., 2007; Sun and Gunasekaran, 2009; Waraho et al., 2011).

Lipit oksidasyon hızı sürekli fazda bulunan prooksidanlar (metal iyonları) ile lipid fazda bulunan oksidasyona yatkın substratların (hidroperoksitler) arasındaki etkileşimden etkilenmektedir. Bu sebepten dolayı damlacıkların yüzey özellikleri önem taşımaktadır. Damlacık yüzey yükü katyonik metaller ile aralarında oluşan itme veya çekme kuvvetlerini belirleyen en önemli faktörlerden biridir (Mei et al., 1998a, 1998b; Mancuso et al., 1999; Waraho et al., 2011). Kullanılan emülgatör veya emülsiyon ortamının pH değeri damlacık net yükünü belirlemektedir (Hu et al., 2002; Klinkesorn et al., 2005; Waraho et al., 2011).

Emülsiyon yapılarında yağ ve su fazları arasındaki ara yüzeyin kalınlığı kullanılan emülgatörün konformasyonu ve moleküler ağırlığına veya ortamda bulunan biyopolimerlerin damlacık çevresinde oluşturabildikleri katmanların özelliklerine göre değişmektedir. Genel olarak yüksek molekül ağırlığına sahip emülgatörler lipid faz ile sürekli fazda bulunan prooksidanların etkileşimlerini engelleyebilecek kalınlıkta ara yüzey oluşturmaktadır (Silvestre et al., 2000; Waraho et al., 2011). Çok tabakalı emülsiyon teknolojisi, lipidlerin etrafını saran ara yüzeyin kalınlığını ve elektriksel net yükünü değiştirerek oksidasyona karşı sahip oldukları stabiliteyi artıran güçlü araçlardan biridir (Guzey and McClements, 2006a). Polisakkaritlerin serbest radikalleri süpürücü etkileri, geçiş metallerini bağlayabilmeleri ve sistemin viskozitesini arttırmaları, yağ/su emülsiyonlarında gerçekleşen lipid oksidasyonunu engellemelerini sağlamaktadır. Ksantan Gam, düşük/yüksek metoksilli pektin, α -karregen ve sodyum aljinatın metaller ile şelat oluşturma özellikleri, yağ/su emülsiyonlarında oksidatif stabiliteyi arttırmaktadır (Shimada et al., 1994; Chen et al., 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hammaddeler

Çalışmada kullanılan sodyum kazeinat, Tandem Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. BBA Lactalis Ingredients ürünü olarak; pektin, Biokim Özsezen Kimya Sanayi ve Ticaret A.Ş. den; yüksek metoksilli pektin APC 102 ürünü olarak ve keten tohum yağı, Mecitefendi markalı soğuk pres ile üretilmiş ürünü İzmir'deki bir aktardan temin edilmiştir.

3.1.2. Kimyasal maddeler

Monosodyumdihidrojenfosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich, 04269), Disodyum monohidrojenfosfat dodekahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) (Carlo Erba reagenti, 480137), sodyum hidroksit (Riedel-de Haen, 06203), hidroklorik asit (Merck, 100317.2501), trikloroasetik asit (Carlo Erba reagenti, 411527), tiyobarbitürik asit (Merck, 550480), izooktan (Merck, 104717), 2-propanol (Merck, 109634), demirsülfat heptahidrat (Riedel-de Haen, 12354), baryumklorür dihidrat (Merck, 101719), amonyum tiyosiyanat (Merck, 101213), 1-butanol (Riedel-de Haen, 24124), 1,1,3,3 Tetraetoksipropan, (Merck, 820756), kümen hidroperoksit (Merck, 820502).

3.1.3. Kullanılan alet ve ekipmanlar

- Blender (Waring Commercial blender, 7011S)
- Yüksek basınç homojenizatörü (Microfluidizer, M-110L, microfluidics)
- pH metre (Hanna Instruments, HI221)
- Etüv (Nüve, ES500)
- Cary 50 Scan UV-Vis spektrometre (Varian)
- Mikro Santrifüj (Nüve NF 048)
- Su banyosu (Clifton)
- Malvern Zetasizer Nano-ZS
- Malvern Mastersizer 2000
- OLYMPUS-CX31 optik mikroskop
- Manyetik karıştırıcı (Stuart CC162)
- Yellowline TT3 Dijital model vorteks karıştırıcı

3.2. Yöntem

Mevcut çalışma iki ana bölümden oluşmaktadır. Çalışmanın birinci bölümünde, bulunduğu ortamda kararlılığını sürdüren tek tabakalı (geleneksel emülsiyon) yapısı ile çok tabakalı emülsiyon yapılarının oluşturulması ve bu yapıların karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda, keten tohum yağı kullanılarak oluşturulan ve fiziksel stabilitesini koruyan yağ/su emülsiyonu için gerekli sodyum kazeinat miktarı; partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, bulanıklılık değeri, kremalaşma indeksi ve optik mikroskop

görüntüleme yöntemleri ile tespit edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda ortama eklenmesi gereken emülgatör miktarı saptandıktan sonra çok tabakalı emülsiyon yapısına geçilmiştir.

Çok tabakalı emülsiyon oluşumunda kat-kat (layer-by-layer) elektrostatik depolama yöntemi kullanılmıştır. Biyopolimer olarak pektin, ortam pH değeri olarak da ön denemeler sonucunda belirlenen pH 3 değeri seçilmiştir. Yağ/su emülsiyonu içerisinde dispers halde bulunan damlacıkların etrafına oluşturulacak ikinci katman için gerekli pektin miktarı; partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, bulanıklılık değeri, kremalaşma indeksi ve optik mikroskop görüntüleme yöntemi ile tespit edilmiştir. Böylece yağ/su ara yüzeyini tamamen kaplamaya yeterli olacak pektin konsantrasyonu belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, elde edilen tek tabakalı birincil emülsiyon ile çok tabakalı ikincil emülsiyonun çevresel stres faktörlerinden pH değişimine olan hassasiyetleri ve oksidatif stabilite değerleri karşılaştırılmıştır. pH değeri 3-7 arasında değişen ortamlarda birincil ve ikincil emülsiyon yapılarının stabiliteleri; partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, kremalaşma indeksi ve optik mikroskop görüntüleme yöntemi ile tespit edilmiştir. Oksidatif stabiliteleri ise 55°C etüv ortamında 22 gün bekletilerek ölçülen hidroperoksit değeri ve TBARS (tiyobarbutirik asit reaktif maddeleri) ölçümleri ile belirlenmiştir. Yapılan analizler 2 tekrar, 2 paralel şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon oluşumu ve karakterizasyonu

3.2.1.1. Tek tabakalı emülsiyon oluşumu

10 mM, pH 6.8, sodyum fosfat tampon çözeltisi hazırlanması: 0.78 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ alınarak bir miktar distile su içerisinde çözünmüştür. Üzerine 1.79g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ eklenerek son hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

Na-kazeinat çözeltisinin hazırlanması: Bir miktar Na-kazeinat toz ürünü % 2.0 (a/a) konsantrasyonunda olacak şekilde 10 mM sodyum fosfat tampon çözeltisi içerisinde 7 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Kullanım zamanına kadar $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Na-kazeinat çözeltisi kullanılarak tek tabakalı yağ/su emülsiyonunun oluşturulması: % 2.0 (a/a) konsantrasyona sahip Na-kazeinat çözeltisi sırasıyla son konsantrasyonlar %0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a olacak şekilde 10 mM tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Elde edilen Na-kazeinat çözeltileri 1 M NaOH ile pH değeri 6.8 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu çözeltilerin içerisine son konsantrasyon % 10 a/a olacak şekilde keten tohum yağı eklenmiştir. Değişen konsantrasyonlarda Na-kazeinat, % 10 keten tohum yağı içeren çözeltiye, 3 dakika boyunca 22000 rpm (devir/dk) hızla Waring marka laboratuvar blenderi kullanılarak ön homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen emülsiyonlar 10000 psi basınç altında 5 döngü olacak şekilde mikrofluidizerden geçirilerek son emülsiyon yapısı elde edilmiştir (Moreau et al., 2003).

3.2.1.2. Tek tabakalı emülsiyon yapısının karakterizasyonu

Partikül boyut dağılımı: Değişen konsantrasyonlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) Na-kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının, 24 saat sonra Malvern Nanosizer cihazı ile partikül boyut dağılımları ölçülmüştür. Dinamik ışık saçılım prensibine göre hesaplanan Z-ortalama çap değerleri ve çoklu dağılım indeks değerleri belirlenmiştir. Sürekli fazın refraktif indeks değeri 1,333, yağ fazının ise 1,48 alınmıştır. Örnekler 1:100 oranında 10 mM, pH 6.8 fosfat tampon çözeltisiyle seyreltilerek cihazda okuma yapılmıştır (Anal et al., 2008).

Zeta-potansiyel ölçümü: Değişen konsantrasyonlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) Na-kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının, 24 saat bekletildikten sonra Malvern Nanosizer cihazı ile zeta-potansiyel değerleri ölçülmüştür. Örnekler 1:100 oranında 10 mM, pH 6.8 fosfat tampon çözeltisiyle seyreltilerek cihazda okuma yapılmıştır.

Bulanıklık Ölçümü: Değişen konsantrasyonlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) Na-kazeinat içeren yağ/su emülsiyonları, 7 gün boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra 1:500 seyreltilerek (10 mM, pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi) 660 nm dalga boyundaki absorban değerleri ölçülmüştür.

Kremalaşma indeksi: Değişen konsantrasyonlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) Na-kazeinat içeren yağ/su emülsiyonları, toplam yükseklik 10 cm olacak şekilde cam tüplere alınarak, ağızları sıkıca kapatılmış ve 7 gün boyunca oda sıcaklığında depolanmıştır. Oluşan krema ve serum tabakası bir cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Kremalaşma indeks hesaplamasında aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır (Surh et al., 2006).

$$CI= 100 \times (HS / HT)$$

HS= Serum katmanının yüksekliği,

HT= Emülsiyonun toplam yüksekliği.

Optik mikroskop ile görüntüleme: Değişen konsantrasyonlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4, %0.5, %0.6, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) Na-kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının yapısı, 7 günlük oda sıcaklığında depolama sonunda ışık mikroskobu (OLYMPUS-CX31) yardımıyla görüntülenmiştir.

3.2.1.3. Çok tabakalı emülsiyon oluşumu

Na-kazeinat çözeltisinin hazırlanması: Bir miktar Na-kazeinat toz ürünü son konsantrasyon % 1.0 (a/a) olacak şekilde 10 mM, pH 6.8 sodyum fosfat tampon çözeltisi içerisinde 7 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Kullanım zamanına kadar +4°C’ de saklanmıştır.

Pektin çözeltisinin hazırlanması: Bir miktar pektin alınarak son konsantrasyon % 3.0 (a/a) olacak şekilde 10 mM, pH 6.8 sodyum fosfat tampon çözeltisi içerisinde 7 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Çözeltinin pH değeri tekrar 1 M NaOH kullanılarak, 6.8 olarak ayarlanmış ve kullanım zamanına kadar +4°C’de saklanmıştır.

Na-kazeinat çözeltisi kullanılarak birincil yağ/su emülsiyonunun oluşturulması: Son konsantrasyon % 0.7 Na-kazeinat olacak şekilde % 1.0’lik

stok kazeinat çözeltisinden alınarak tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Çözeltinin pH değeri 1 M NaOH ile 6.8 değerine ayarlanmıştır. Son konsantrasyon % 10 olacak şekilde içerisine keten tohum yağı eklenen çözeltiye 3 dakika 22000 rpm (devir/dk) hızla Wering marka laboratuvar blenderi ile ön homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen emülsiyonlar 10000 psi basınç altında 5 döngü olacak şekilde mikrofluidizerden geçirilerek son emülsiyon yapısı elde edilmiştir.

Pektin ile çok tabakalı emülsiyon yapısının oluşturulması: Çok tabakalı emülsiyon yapısında, son konsantrasyon değerleri %0.05, %0.1, %0.15, %0.2, %0.3, %0.5, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a olacak şekilde %3.0 (a/a) konsantrasyonlu pektin stok çözeltisinden uygun miktarda alınarak 10 mM, pH 6.8 tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Alınan pektin çözeltisi üzerine, manyetik karıştırıcıda karıştırılarak eşit ağırlıkta birincil emülsiyon yavaşça eklenmiştir (pH 6.8). Karıştırma işlemi devam ederken 1 M HCl asit ile ortamın pH değeri 3 olarak ayarlanmıştır. Her bir örnek bu pH değerinde 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Böylece kompozisyonları; % 5 keten tohum yağı, % 0.35 Na-kazeinat ve değişen konsantrasyonlarda (%0.05, %0.1, %0.15, %0.2, %0.3, %0.5, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) pektin içeren çift tabakalı emülsiyon yapısı elde edilmiştir.

3.2.1.4. Çok tabakalı emülsiyon yapısının karakterizasyonu

Partikül boyut dağılımı: Değişen konsantrasyonlarda (%0.05, %0.1, %0.15, %0.2, %0.3, %0.5, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) pektin içeren çift tabakalı emülsiyon yapısı 24 saat oda sıcaklığında bekledikten sonra Malvern Mastersizer cihazı ile partikül boyut dağılım analizi yapılmıştır. Statik ışık saçılım prensibine dayanan ölçüm yönteminde ortalama partikül çap değerleri d_{32} (Sauter ortalama çap) ve d_{43} (De Brouckere ortalama çap) olarak ifade edilmiştir. Cihaz içerisindeki seyreltme için pH değeri 3'e ayarlanmış distile su kullanılmıştır.

Zeta-potansiyel ölçümü: Değişen konsantrasyonlarda (%0, %0.05, %0.1, %0.15, %0.2, %0.3, %0.5, %0.7, %1.0 ve %1.5 a/a) pektin içeren çift tabakalı emülsiyonlar, 24 saat bekletildikten sonra Malvern Nanosizer cihazı ile zeta-potansiyel değerleri ölçülmüştür. Örnekler 1:100 oranında tampon çözelti (10mM, pH 6.8 fosfat tampon çözeltisinin pH değeri 1 M HCl ile 3'e ayarlanmış) ile seyreltilerek cihazda okuma yapılmıştır.

Bulanıklık değeri: Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı üzere ölçüm yapılmıştır. Pektin içeren çok tabakalı emülsiyon örneklerinde 1:500 oranında yapılan seyreltme kullanılan tampon çözelti 10 mM, pH 6.8 fosfat tampon çözeltisinin pH değeri 1 M HCl ile 3 ayarlanarak hazırlanmıştır.

Kremalaşma indeksi: Bölüm 3.2.1.2'de anlatıldığı üzere ölçüm yapılmıştır.

Optik mikroskop ile görüntüleme: Bölüm 3.2.1.2'de anlatıldığı üzere ölçüm yapılmıştır.

3.2.2. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapılarının oksidatif stabilite ve pH stabilitesi

3.2.2.1. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapılarında peroksit tayini

İzooktan / 2-propanol (3:1 h/h) hazırlanması: 75 ml izooktan üzerine 25 ml 2-propanol eklenmiştir.

0.144 M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin hazırlanması: 0.4 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 10 ml distile suda çözünmüştür.

0,132 M $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin hazırlanması: 0.323 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 10 ml 0.4M HCl asit içerisinde çözünmüştür.

3.94 M amonyum tiyosiyanat çözeltisinin hazırlanması: 30 g amonyum tiyosiyanat tartılarak bir miktar suda çözünmüş ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Metanol/1-butanol (2:1 h/h) hazırlanması: 100 ml metanol üzerine 50 ml 1-butanol eklenmiştir.

Fe^{+2} çözeltisinin hazırlanması: 1ml 0.144 M FeSO_4 çözeltisi üzerine 1 ml 0,132 M BaCl_2 yavaşça eklenerek karıştırılmıştır. 2ml çözelti 5000 rpm (devir/dk) hızla 5 dakika süreyle santrifüjlenmiş ve süpernatant faz ayrılmıştır. Fe^{+2} çözeltisi her analiz öncesi taze olarak hazırlanmıştır.

30 μl Fe^{+2} çözeltisi + amonyum tiyosiyanat çözeltisi hazırlanması: Bir behere Fe^{+2} çözeltisinin süpernatant fazından 1 ml alınarak üzerine 1 ml 3.94 M amonyum tiyosiyanat çözeltisi eklenmiştir.

Metot

55°C deki etüv içerisinde 22 gün depolanan birincil (tek tabakalı) ve ikincil (çok tabakalı) emülsiyon örneklerinde oluşan oksidasyon seviyesinin tespiti için peroksit tayini aşağıdaki adımlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Shanta and Decker, 1994).

- Bir tüpe 1,5 mL izooktan/2-propanol (3:1 h/h) alınmıştır.
- Üzerine 0.3 mL emülsiyon örneği yavaşça eklenmiştir. Tüpler 10 saniye 3 kez tüp vortekslenir.
- Örnekler 5000 rpm (devir/dk) de 5 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.
- Santrifüjlenen örneklerin üst fazından 0.2 mL alınmıştır.
- 2.8 ml methanol/1-butanol (2:1h/h) konulan tüplere 0.2 mL alınan örnek yavaşça eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir.
- Vortekslenen örnek tüplerine 30µl Fe^{+2} çözeltisi + amonyum tiyosiyanat eklenmiştir.
- Örnekler karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir.
- 510 nm dalga boyunda şahit örnekle sıfırlanan spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır.

Kümen hidroperoksit standart grafiğinin çizilmesi:

Standart grafik çizimi için kullanılan standartlar aşağıdaki çizelgeye göre hazırlanmıştır;

Çizelge 3.1. Kümen hidroperoksit standartlarını hazırlanması

Konsantrasyon (mM)	Kümen hidro peroksit (μl)	Fe ⁺² çözeltisi + amonyum tiyosiyanat (μl)	Methanol / 1-butanol (μl)
10	5.6	30	2994.4
20	11.2	30	2988.8
30	16.8	30	2983.2
40	22.4	30	2977.6
50	28	30	2972

Konsantrasyonlara karşı gelen absorbanans değerleri kullanılarak standart eğri grafiği çizilmiş, örneklere ait hidroperoksit değerleri lineer regresyon denklemi ($y=ax+b$) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.2.2. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapılarında TBARS tayini

TBA (tiyobarbitürik asit) çözeltisinin hazırlanması: 82.9 ml distile su içerisine 1.76 ml 12 N HCl eklenmiştir. 15g trikloroasetik asit ve 0.375g tiyobarbitürik asit tartılarak bu çözelti içerisinde çözülmüştür. TBA çözeltisi her örnek analizi öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

Metot

55°C deki etüv içerisinde 22 gün depolanan birincil (tek tabakalı) ve ikincil (çok tabakalı) emülsiyon örneklerinde TBARS tayini aşağıdaki adımlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir (McDonald and Hultin, 1987).

- Örnek tüplere birincil (tek katmanlı) ve ikincil (çok katmanlı) emülsiyon örneklerinden 0.3 ml alınarak 0.7 ml distile su ve 2.0 ml TBA çözeltisi ile karıştırılarak vortekslenmiştir.
- Tüpler 15 dakika boyunca kaynayan su banyosunda tutulmuştur.
- 10 dakika oda sıcaklığında soğuması beklenmiştir.
- Hazırlanan örnekler santrifüj tüplerine alınarak 12500 rpm hızında 15 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.
- Santrifüjlenen örnekler süzülerek şahit örnek karşısında sıfırlanan spektrofometrede 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

1,1,3,3 tetraetoksipropan standart grafiğinin çizilmesi

Standart grafik çizimi için kullanılan standartlar aşağıdaki tabloya göre hazırlanmıştır. Konsantasyonlara karşı gelen absorbans değerleri kullanılarak standart eğri grafiği çizilmiş, örneklere ait değerler standart eğri grafiğinden elde edilen lineer regresyon denklemi ($y=ax+b$) kullanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2. 1,1,3,3 tetraetoksipropan standartlarının hazırlanması

Konsantrasyon ($\mu\text{mol/L}$)	1,1,3,3 Tetraetoksipropan (μl)	TBA çözeltisi (μl)	Distile su (μl)
15	9	2000	991
25	15	2000	985
35	21	2000	979
45	27	2000	973
55	33	2000	967

3.2.2.3. Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyonların ortamın pH değişime karşı stabilitelerinin belirlenmesi

Tek tabakalı emülsiyon (% 10 keten tohum yağı, % 0.7 Na-kazeinat) ve çok tabakalı emülsiyon (% 5 keten tohum yağı, % 0.35 Na-kazeinat, % 1.5 pektin) yapılarından oluşan örneklerin pH değerleri 1 M NaOH ve 1 M HCl asit kullanılarak 3 ile 7 arasında ayarlanmıştır. Hazırlanan örneklerin değişen pH koşulları karşısındaki stabilitelerinin karşılaştırılmasında, partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, kremalaşma indeksi ve optik mikroskop ile görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır (Surh et al., 2006).

Partikül boyut dağılımı: Değişen pH değerlerinde (3-7) tek tabakalı emülsiyon (% 10 keten tohum yağı, % 0.7 Na-kazeinat) ve çok tabakalı emülsiyon (% 5 keten tohum yağı, % 0.35 Na-kazeinat, % 1.5 pektin) örneklerine hazırlandıktan 24 saat sonra partikül boyut dağılım analizi yapılmıştır. Tek tabakalı emülsiyon örneklerinin damlacık boyutları $1\mu\text{m}$ altında olmasından dolayı, bu örneklerin ortalama partikül çap değerleri Malvern Nanosizer cihazı ile yapılmıştır. 3-7 pH aralığında z-ortalama çap değerleri ve çoklu dağılım indeksleri belirlenen örnekler 1:100 oranında, aynı pH değerlerindeki tampon çözeltiler ile

seyreltilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Sürekli fazın refraktif indeks değeri 1,333, yağ fazının ise 1,48 alınmıştır.

Çok tabakalı emülsiyon örneklerinin damlacık boyutları 1µm üstünde olmasından dolayı, bu örneklerin ortalama partikül çap değerleri Malvern Mastersizer cihazı ile yapılmıştır. Statik ışık saçılımı prensibine dayanan ölçüm yönteminde ortalama partikül çap değerleri d_{32} (Sauter ortalama çap) ve d_{43} (De Brouckere ortalama çap) olarak ifade edilmiştir. Cihaz içerisindeki seyreltme için 1 M NaOH ve HCl asit kullanılarak pH 3-7 arasında distile su hazırlanmış ve analizde kullanılmıştır.

Zeta-potansiyel ölçümü: Değişen pH değerlerinde (3-7) hazırlanan birincil ve ikincil emülsiyonların zeta-potansiyel değerleri 24 saat sonra Malvern Nanosizer cihazı ile ölçülmüştür. Örnekler 1:100 oranında aynı pH değerlerinde hazırlanan tampon çözeltiler ile seyreltilerek analiz gerçekleştirilmiştir.

Kremalaşma indeksi: Bölüm 3.2.1.2’de anlatıldığı üzere ölçüm yapılmıştır.

Optik mikroskop ile görüntüleme: Bölüm 3.2.1.2’de anlatıldığı üzere ölçüm yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

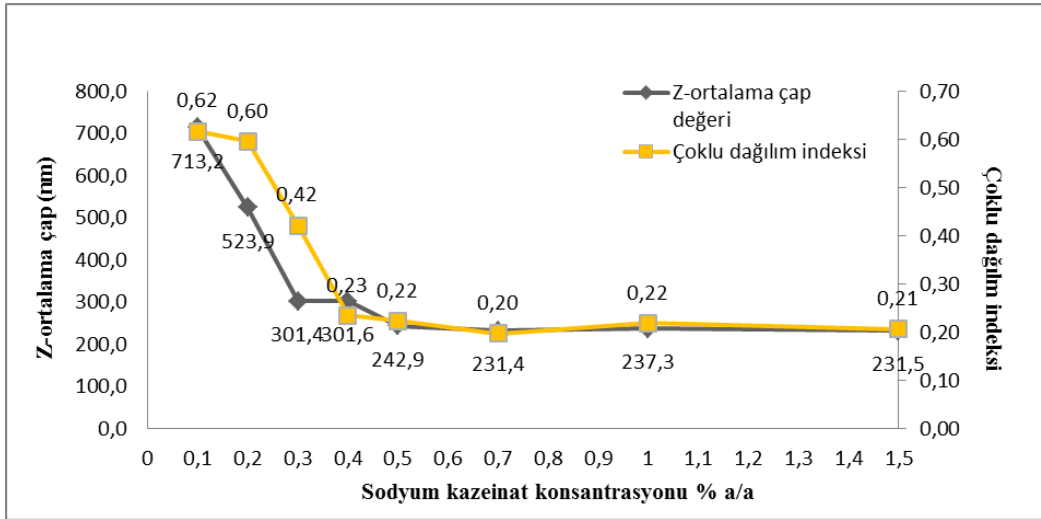
Analizler iki tekrar, iki paralel şekilde gerçekleştirilmiştir. ANOVA, Duncan ve t-testi istatistiksel analizler için kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Tek Tabakalı ve Stabil Bir Yağ/Su Emülsiyonu Oluşturulması İçin Optimum Sodyum Kazeinat Miktarının Belirlenmesi

4.1.1. Partikül çap ölçümü

Değişen yüzde a/a konsantrasyonlarda (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5) Na-kazeinat ve % 10 a/a keten tohum yağı içeren, pH değeri 6.8 olan örneklerin bir günlük bekleme süresinden sonra Malvern Nanosizer cihazı ile Z-ortalama çap ölçümü ve çoklu dağılım indeksi ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren birincil yağ/su emülsiyonunun z-ortalama çap ve çoklu dağılım indeksi değişimi

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan testine göre ($p < 0.05$), Na-kazeinat konsantrasyonuna bağlı Z-ortalama çap büyüklükleri arasında anlamlı bir

fark bulunmaktadır. Buna göre, Na-kazeinat oranı %0.1 a/a oranından %0.3 a/a oranına doğru artırıldığında, Z-ortalama çap değerinin $0,713 \pm 0,27 \mu\text{m}$ den $0,301 \pm 0,053 \mu\text{m}$ değerine ve çoklu dağılım indeksinin ise $0,62 \pm 0,15$ değerinden $0,42 \pm 0,12$ değerine doğru bir düşüş yaptığı gözlenmiştir. Na-kazeinat konsantrasyonları %0.3-1.5 a/a arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Na-kazeinat miktarının artırılması, homojenizasyon sırasında oluşan yağ/su ara yüzeylerini kaplayabilecek yeterli emülgatörün ortamda bulunmasını sağlamakta ve partiküllerin ortalama çap büyüklüğünde azalmaya sebep olmaktadır. Belli bir Na-kazeinat oranına kadar düşüş gösteren ortalama partikül çapındaki değişim, bu değerden sonra yavaşlayarak göreceli olarak sabitlenmektedir. Na-kazeinat oranı 0.3 % a/a düzeyine ulaştığında emülsiyon içerisindeki yağ/su ara yüzeyinin protein tarafından doyurulmaya başlandığı grafikte yer alan sonuçlardan tespit edilmiştir. Düşük protein konsantrasyonlarında, emülsiyon içerisindeki yağ damlacıklarının boyutu, ortamdaki protein tarafından belirlenirken, yağ/su ara yüzeyinin protein ile kaplanmasından sonra, partiküller arası kolloidal etkileşim kuvvetleri önem kazanmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda gerçekleşen partikül çapındaki artış köprü flokülasyonu ve koalesans oluşumu ile açıklanabilmektedir (McClements, 2012).

Hu et al. (2003), mısır yağı kullanarak oluşturulan yağ/su emülsiyonunun sodyum kazeinat, izole peynir altı suyu proteini ve izole soya proteini ile stabilizasyonu konusunda yaptığı çalışmada, sodyum kazeinat miktarının % 0.5 a/a oranına kadar partikül çapında keskin bir düşüşe yol açtığını belirlemiştir. Monomodal partikül çap dağılımı ise % 1.5 a/a Na-kazeinat oranında sağlanmıştır.

Day et al. (2007), balık yağı ve değişik konsantrasyonlarda Na-kazeinat kullanılarak stabil bir emülsiyon yapısı elde ettiği çalışmasında, %1.0 kazeinat

miktarının yağ damlacıklarının deplesyon flokülasyonuna ve agregasyona sebep olduğu, % 0.1 oranındaki az miktardaki Na-kazeinatın ise yağ damlacıkları arasında köprü flokülasyona sebep olduğunu belirtmiştir.

Rasnani et al. (2011) ; Surh et al. (2006), çok tabakalı emülsiyon oluşumu üzerine yaptıkları çalışmalarında Na-kazeinat ile oluşturdukları birincil emülsiyonda sırasıyla % 0.5 a/a ve % 1.0 a/a oranlarında sodyum kazeinat kullanmışlardır.

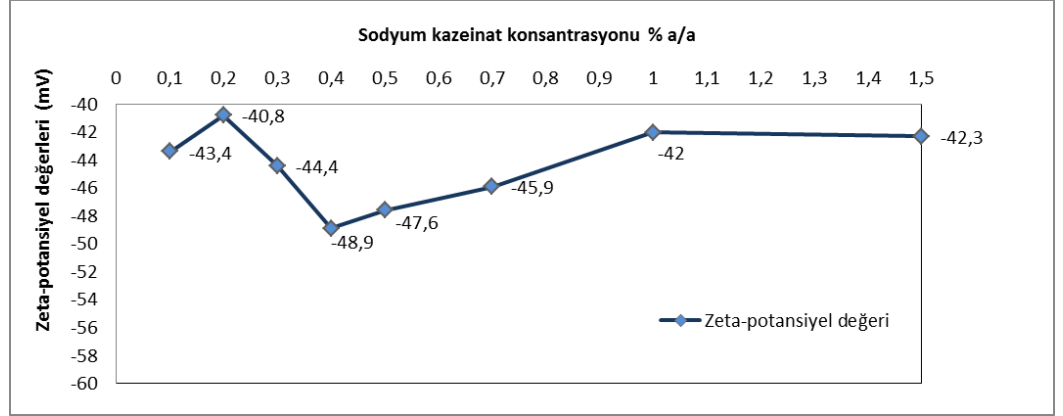
Dickinson et al. (1997), %35 veya %45 yağ içeren ve ortam pH değeri 6.8 olan emülsiyon yapılarında, stabilite için gerekli Na-kazeinat miktarını araştırmıştır. Düşük protein miktarında (%1.0 a/a) köprü flokülasyon, yüksek protein konsantrasyonunda (%2.0 a/a) ise koalesans ve flokülasyona karşı birkaç hafta kararlı kalabilen emülsiyon sistemleri elde etmişlerdir. Protein konsantrasyonunun daha da artırılması ile ($\geq$ %3.0 a/a) deplesyon flokülasyonu oluşarak serum ayrışması gözlemlenmiştir.

4.1.2. Zeta-potansiyel ölçümü

Değişen yüzde a/a konsantrasyonlarda (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5) Na-kazeinat, % 10 a/a keten tohum yağı içeren ve pH değeri 6.8 olan örneklerin, bir günlük bekleme süresinden sonra Malvern Nanosizer cihazı ile zeta-potansiyel ölçümleri Şekil 4.2’de verilmiştir.

Sodyum kazeinatın izoelektrik noktası (pI) pH 4.6 civarındadır ve izoelektrik noktası üzerindeki pH değerlerinde negatif yüklenmektedir. pH değeri 6.8 olan örneklerden Na-kazeinat oranı % 0.1 a/a dan % 0.5 a/a doğru gidildikçe zeta-potansiyel değer -43,4 mV değerinden -47,6 mV değerine yükselmiştir. Zeta-

potansiyel sonuçlarında gözlemlenen bu yükselme yağ/su emülsiyonunda bulunan yağ partiküllerinin çevrelerinin sodyum kazeinat ile giderek kaplandığının bir göstergesidir. Belirli bir konsantrasyondan sonra tamamıyla kaplanan yağ/su ara yüzeyinde zeta-potansiyel değerinin artışı durmakta ve sabit kalmaktadır (McClements, 2005b).



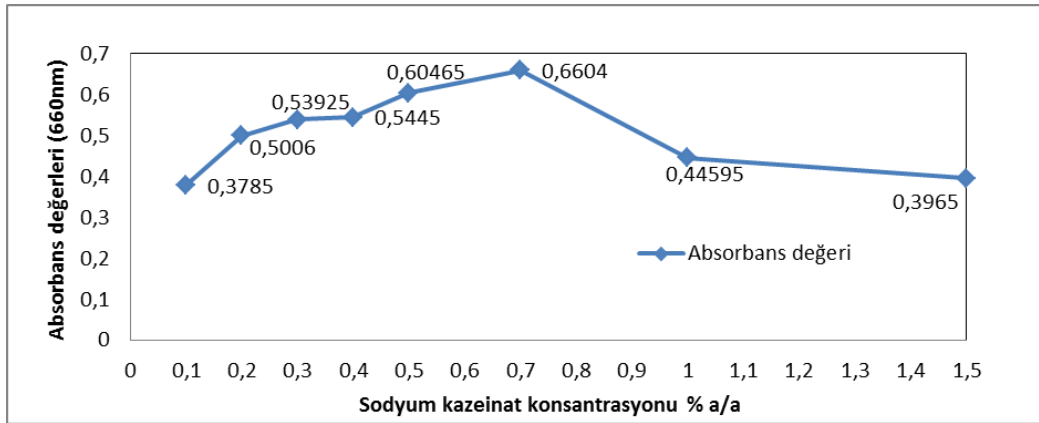
Şekil 4.2.Farklı konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren birincil yağ/su emülsiyonunun zeta-potansiyel değerleri

4.1.3. Bulanıklık değeri

Stabil bir yağ/su emülsiyonunun hazırlanması amacıyla uygun emülgatör miktarının belirlenmesi için değişen yüzdelerde a/a Na-kazeinat (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5), % 10 a/a keten tohum yağı içeren ve pH değeri 6.8 olan emülsiyonlar, 1 hafta boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 660 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerlerinin, sodyum kazeinat konsantrasyonuna karşı çizilen grafiği Şekil 4.3’de verilmiştir.

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan testine göre ($p < 0.05$) Na-kazeinat konsantrasyonuna bağlı absorbans değerleri arasında anlamlı bir fark

bulunmaktadır. Bir haftalık depolama süresi sonunda Na-kazeinat miktarı % 0.1 a/a iken $0,38 \pm 0,004$ olan absorbens değeri konsantrasyon % 0.7 a/a oranına doğru artırıldığında $0,66 \pm 0,001$ maksimum değerine ulaşmıştır. Sadece %0.3 a/a ile %0.4 a/a konsantrasyonları arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Na-kazeinat miktarının daha yüksek konsantrasyonlarında ise absorbens değerleri negatif yönde etkilenecek bu değerde düşüş gözlenmiştir.

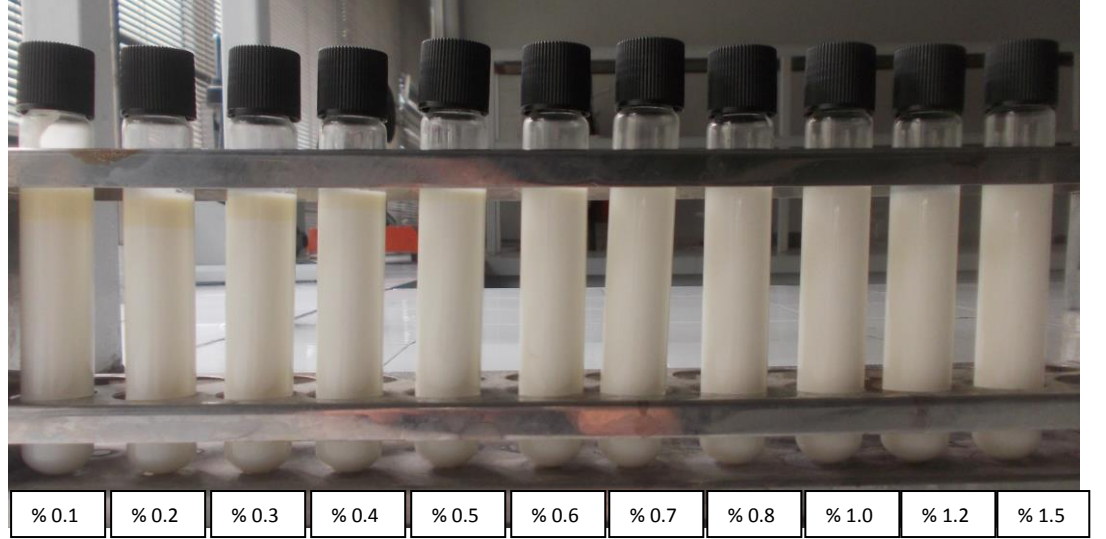


Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren birinci yağ/su emülsiyonunun 660 nm dalga boyunda absorbens değerleri

Emülsiyon örneklerinde artan absorbens sonuçları yüksek düzeyde bulanıklık ile ilişkilidir. Emülsiyon yapılarındaki gözlenen bulanıklık ise yağ partiküllerinin çapı ve konsantrasyonun bir fonksiyonudur. Böylece, bulanıklılık değerinin giderek artması ortamda daha az koagülasyon ve koalasans oluşumunun bir göstergesi ve stabilite artışının sonucu olmaktadır (Rasnani et al., 2011).

4.1.4. Kremalaşma stabilite ölçümü

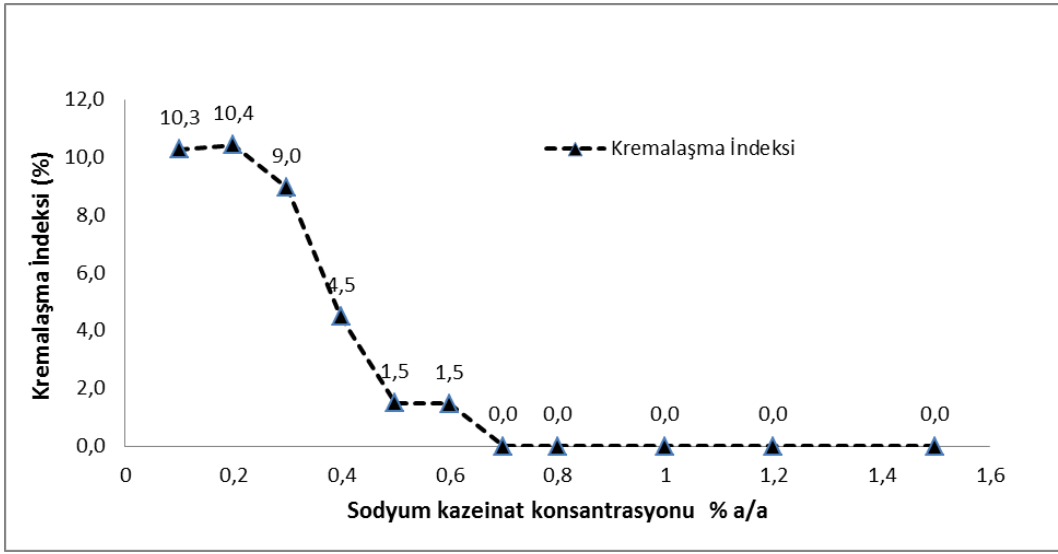
Stabil bir yağ/su emülsiyonunun hazırlanması amacıyla uygun emülgatör miktarının belirlenmesi için değişen yüzdelerde a/a sodyum kazeinat, % 10 a/a keten tohum yağı içeren ve pH değeri 6.8 olan emülsiyonlar, 1 hafta boyunca oda sıcaklığında cam tüplerde depolandıktan sonra görsel değerlendirmeleri ve kremalaşma indeks ölçümleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’ de verilmiştir.



Şekil 4.4.Değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının 1 haftalık depolama sonuçları

Sodyum kazeinat konsantrasyonu % 0.7 a/a değerine kadar olan örneklerde 1 haftalık depolama sonucunda koalesans oluşumu ve bunun bir sonucu olarak yağ fazının ayrımı görsel olarak belirlenmiştir. Yağ fazının ayrıldığı bu örneklerde, ortamda bulunan sodyum kazeinat miktarının emülsiyonun stabilitesi sağlamak için yetersiz kaldığı düşünülmektedir.

Bir hafta boyunca depolanan örneklerin %0.7 a/a Na-kazeinat konsantrasyonuna kadar stabilitelerini koruyamadıkları, emülsiyonların üst kısımda bir krema fazının, aşağı kısımda ise bir serum fazının oluştuğu belirlenmiştir. Örneklerin kremalaşma indeks değerlerine bakıldığında ise (Şekil 4.4) % 0.7 a/a konsantrasyonuna kadar sıfır değerine ulaşmadığı, bu konsantrasyondan sonra ise sıfır değerine düşerek bu değerde devam ettiği gözlenmiştir.



Şekil 4.5.Değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat içeren yağ/su emülsiyonlarının 1 haftalık depolama sonucu kremalaşma indeks değerleri

Srinivasan et al. (2001), sodyum kazeinat ve kalsiyum kazeinatın değişen konsantrasyonlarda kullanılmasının emülsiyonun kremalaşma stabilitesine olan etkisini araştırdığı çalışmada, sodyum kazeinat ile hazırlanan emülsiyonlarda düşük konsantrasyona (% 0.5 ve % 1.0 a/a) sahip örneklerin homojen bir yapıya sahip olduğu ve flokülasyon oluşumunun gerçekleşmediği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise kremalaşma stabilitesinde düşüş gözlemlendiğini belirtilmiştir.

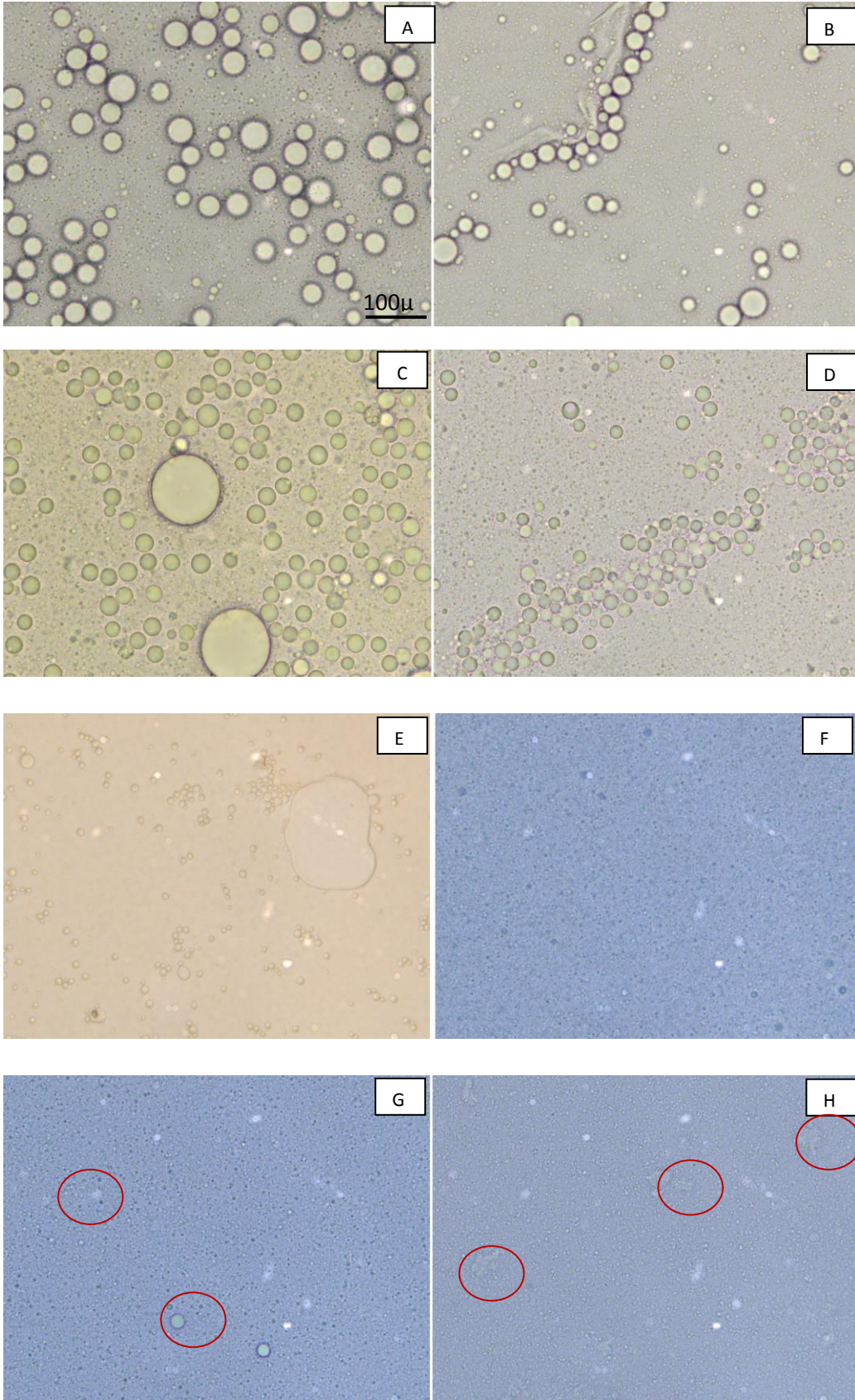
4.1.5. Optik mikroskop ile görüntüleme

Değişen konsantrasyonlarda sodyum kazeinat, % 10 a/a keten tohum yağı içeren ve pH değeri 6.8 olan emülsiyonların oda sıcaklığında bir haftalık depolanması sonucu optik mikroskop ile elde edilen fotoğrafları Şekil 4.5’de gösterilmektedir.

Optik mikroskop ile çekilen fotoğraflar incelendiğinde, Na-kazeinat oranı % 0.1 - % 0.5 a/a arasında olan örneklerde ortamda ki protein konsantrasyonunun yetersiz olması sonucu, köprü flokülasyon ve koalesans oluşumları tespit edilmiştir. Na-kazeinat oranı % 0.7 a/a olan emülsiyon örneğinde ise yağ partiküllerinin homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür. % 1.0 ve % 1.5 a/a oranlarında ise ortamda fazla miktarda bulan protein, yağ partikülleri arasında deplesyon kuvveti yaratarak deplesyon flokülasyonuna ve yağ partiküllerinin birleşerek koalesans oluşumuna yol açmıştır.

Day et al. (2007), balık yağı ile yaptığı çalışmasında optik görüntüleme sonuçlarına yer vermiş, düşük konsantrasyonda (% 0.1 a/a) veya yüksek konsantrasyonda (% 1.0 a/a) Na-kazeinat varlığının emülsiyonun agregasyonuna yol açtığını, orta düzeyde ki protein varlığının ise (% 0.25 a/a) daha stabil bir emülsiyon oluşturduğunu belirtmiştir.

Partikül çap ölçümü sırasında seyreltilen örneklerde yüksek Na-kazeinat oranlarında (% 1.0 ile % 1.5 a/a) deplesyon flokülasyonu görülememektedir. Bunun bir nedeni; yüksek protein konsantrasyonlarında yağ/su ara yüzeyi protein ile kaplandıktan sonra sürekli fazda arta kalan fazla protein deplesyon flokülasyonuna yol açmakta fakat örneklerin partikül çap ölçümü için 1:100 oranında seyreltilmesinin, sürekli fazda bulunan protein miktarını azaltarak bu flokülasyonunu kırdığı düşünülmektedir (Day et al., 2007).



Şekil 4.6. Değişen konsantrasyonlarda Na-kazeinat içeren (A; %0.1 a/a, B; %0.2 a/a, C; %0.3 a/a, D; %0.4 a/a, E; %0.5 a/a, F; %0.7 a/a, G; %1.0 a/a, E; %1.5 a/a) emülsiyonların 1 haftalık depolama süresi sonunda optik mikroskop ile çekilen fotoğrafları.

Sodyum kazeinat kullanılarak oluşturulan yağ/su emülsiyonlarında, yağ fazı çevresinde tek katlı doymuş bir tabaka oluşturmaya gerekli olan protein miktarından daha az olan konsantrasyonlarda, zamana bağlı olarak, köprü flokülasyonu ve koalesans oluşumu ortaya çıkmaktadır. Ortamda yağ/su ara yüzeyini doyuracak miktarda protein bulunması durumunda ise sistem flokülasyona uğramamakta, kremalaşma ve koalesans oluşumuna karşı fiziksel stabilitesini korumaktadır. Yüksek protein miktarlarında ise yağ/su ara yüzeyi tarafından adsorplanmamış ve sürekli fazda bulunan fazla protein, emülsiyon sisteminin kremalaşmaya olan direncini deplezyon flokülasyon ile önemli ölçüde azaltmaktadır (Huck-Iriart et al., 2011).

Değişen % a/a oranlarında Na-kazeinat içeren emülsiyonlar için;

Hazırlanan örneklerde, sodyum kazeinat konsantrasyonu % 0.1 a/a oranından % 0.3 a/a çıkarıldığında, partikül çap ölçümü sonuçlarının ve çoklu dağılım katsayısının önemli ölçüde azaldığı, zeta potansiyel değerinin ise % 0.4 a/a konsantrasyonunda maksimum değerine ulaştığı gözlenmektedir. Fakat bir haftalık depolama süreci sonunda yapılan bulanıklık, görsel stabilite ve kremalaşma indeks değerlerine göre $\leq$ % 0.5 a/a konsantrasyona sahip emülsiyonların stabilitesinin bozulduğu, yağ fazının ayrıldığı ve bulanıklık değerlerinin ise düşük olduğu belirlenmiştir. Partikül çap ölçümü ve zeta potansiyel ölçümlerinde örneklerin 1:100 oranında seyreltilmesi ile ortamdaki daha sonradan koalesans oluşumu ve takiben faz ayrışmasına sebep olabilecek flokülasyonun kırıldığı düşünülmektedir. Bu yüzden optik mikroskop fotoğrafları ile depolama sonucunda elde edilen veriler desteklenmiştir. Bu fotoğraflarda $\leq$ % 0.5 a/a Na-kazeinat konsantresine sahip örneklerde köprü flokülasyonu ve koalesans oluşumu gözlenmektedir.

Na-kazeinat oranının daha yüksek konsantrasyonlarında (% 1.0 ve %1.5 a/a) partikül çap değerleri ve zeta-potansiyel değerlerinin kısmen sabit kaldığı, bir

haftalık depolama süreci sonunda ise görsel stabilite testinde bu konsantrasyonlarda herhangi bir faz ayrımı gözlenmediği, kremalaşma indeks değerinin ise sıfır olarak hesaplandığı görülmektedir. Fakat bu örneklerin optik mikroskop fotoğraflarına bakıldığında, depolama süreci sonunda deplesyon flokülasyonun yer yer oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca bulanıklık değerinin maksimum değer olan $0,66 \pm 0,001$ değerinden $0,44 \pm 0,001$ ve $0,39 \pm 0,002$ değerlerine düşmesi ile emülsiyonun yapısında deplesyon flokülasyonun gerçekleştiği düşünülmektedir.

Depolama öncesi ve sonrası yapılan analizlere toplu olarak bakıldığında % 0.7 a/a Na-kazeinat konsantrasyonun ortalama partikül çapı ve zeta-potansiyel ölçümlerinde uygun sonuçlar verdiği, 1 haftalık süreç sonunda stabilitesinin bozulmadığı, maksimum bulanıklık değerine ise bu konsantrasyonda erişildiği görülmektedir. Ayrıca optik fotoğraflarda % 0.7 a/a Na-kazeinat konsantrasyonuna sahip örneğin homojen bir partikül dağılımına sahip olduğu belirlenmiştir.

Na-kazeinatın emülgatör olarak kullanıldığı emülsiyonlarda emülsiyon stabilitesine sadece kullanılan proteinin yapısı ve damlacık büyüklüğü etki etmemekte, bu faktörlerin yanı sıra kullanılan yağın türü ve yağ-protein oranı da önemli bir etkiye sahip olmaktadır (Fang and Dalgleish, 1993; Dickinson et al., 1997; Day et al., 2007). Mevcut çalışmada bulunan optimum Na-kazeinat miktarı yapılan birçok araştırma ile paralel yöndedir (Srinivasan et al., 2001; Hu et al., 2003; Surh et al., 2006; Day et al., 2007; Rasnani et al., 2011). Fakat kullanılan yağ çeşitlerinin farklı olması, emülsiyonların farklı yüzde oranlarında yağ içermesi, homojenizasyonda kullanılan yöntem farklılığı vb. noktalarda çalışmalar birbirlerinden farklılık göstermektedir.

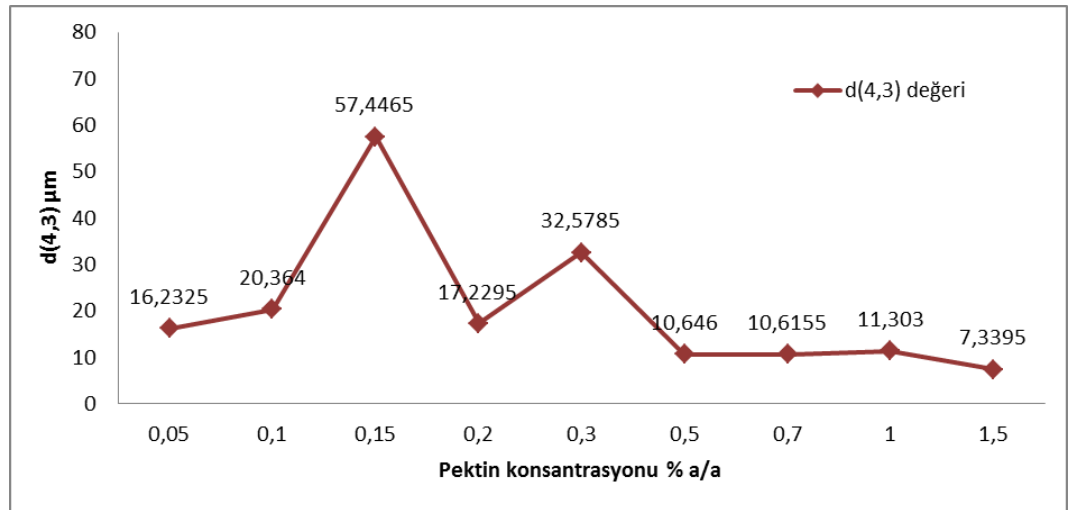
Elde edilen veriler ışında, keten tohum yağı ve sodyum kazeinat kullanılarak oluşturulan stabil ve homojen bir emülsiyon için gerekli olan sodyum

kazeinat konsantrasyonu % 0.7 a/a oranı olarak belirlenmiştir. Çalışmanın bundan sonra ki bölümünde hazırlanan tek katmanlı emülsiyon için bu değer kullanılmıştır.

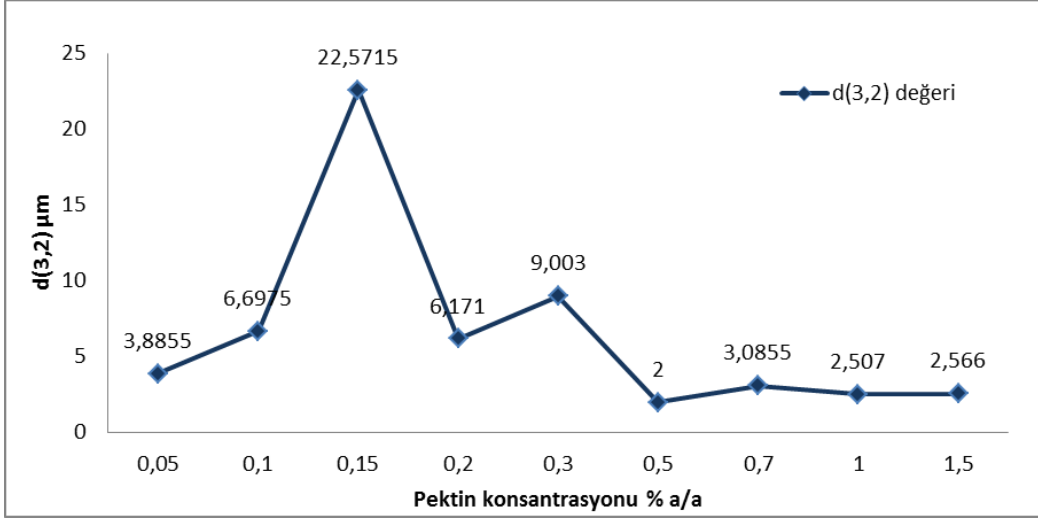
4.2. Çok Tabakalı ve Stabil Bir Yağ/Su Emülsiyonu Oluşturulması İçin Gerekli Optimum Pektin Miktarının Belirlenmesi

4.2.1. Partikül çap ölçümü

Değişen yüzde a/a konsantrasyonlarda (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5) pektin, % 5 a/a keten tohum yağı, % 0.35 sodyum kazeinat içeren ve pH değeri 3.0 olan örneklerin, bir günlük bekleme süresinden sonra Malvern Mastersizer cihazı ile hacim-moment ortalama çap değerlerini (De Brouckere ortalama çap) ifade eden $d(4,3)$ ölçümleri ve yüzey alanı ortalama çap değerini (Sauter ortalama çap) ifade eden $d(3,2)$ ölçümleri şekil 4.7 ve şekil 4.8’de gösterilmektedir.



Şekil 4.7. Çok tabakalı yağ/su emülsiyonunun değişen pektin konsantrasyonlarına karşı $d(4,3)$ değerleri



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda pektin içeren çift tabakalı yağ/su emülsiyonunun d(3,2) değerleri

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi Duncan testine göre ($p < 0.05$) pektin konsantrasyonunda ki değişim ile d(4,3) ve d(3,2) değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır. Pektin konsantrasyonunun % 0,05 a/a değerinden % 0,15 a/a değerine artırılması ile d(4,3) değerlerinde $16,23 \pm 0,9 \mu\text{m}$ den $57,44 \pm 1,89 \mu\text{m}$ ye doğru bir artış gözlenmektedir. Pektin konsantrasyonundaki yükselme devam ettikçe d(4,3) değerinin % 0.2 a/a için $17,23 \pm 0,22 \mu\text{m}$ değerine düştüğü tespit edilmiştir. Konsantrasyon değerleri $\geq$ % 0.5 a/a için ise partikül ortalama çap değerleri arasında önemli bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Aynı eğilim d(3,2) değerleri içinde geçerli olmuştur. Pektin konsantrasyonu %0 .05 a/a değerinden % 1,5 a/a değerine doğru arttırıldıkça $3,89 \pm 0,62 \mu\text{m}$ olan ortalama çap değeri önce $22,57 \pm 1,24 \mu\text{m}$ değerine yükselmiş, daha sonra azalarak % 0.5 a/a pektin konsantarsyonunda $9.0 \pm 0,47 \mu\text{m}$ değerine düşmüştür. Konsantrasyon değerleri $\geq$ % 0.5 a/a için ise partikül ortalama çap değerleri arasında önemli bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Düşük konsantrasyonlarda gözlemlenen partikül ortalama çap değerlerindeki yükselişin nedeni, sodyum kazeinat ile kaplı ve pH 3 ortamında pozitif yüklü yağ/su ara yüzeyine negatif yüklü pektin moleküllerinin elektrostatik olarak bağlanması, bu ara yüzeydeki yük değerini nötralize etmesi ve bunun sonucu olarak partiküller arası itici elektrostatik kuvvetin azalması ile köprü flokülasyonunu gerçekleşmesi olarak düşünülmektedir (Dickinson, 2003; Katsuda et al., 2008).

Katsuda et al. (2008), balık yağı kullanarak oluşturdukları çok tabakalı emülsiyon sisteminde, şeker pancarından elde edilen pektin ile turunçgil pektinini karşılaştırmıştır. Şeker pancarından elde edilen pektin ile oluşturulan çok tabakalı emülsiyonda, düşük konsantrasyonlarda artan ortalama partikül çap değerinin, pektin konsantrasyonu % 0,025-% 0.2 a/a arasında iken azaldığı görülmüş ve sistemde flokülasyon oluşumu tespit etmiştir. Pektin konsantrasyonunun > % 0.20 a/a olduğu örneklerde ise deplesyon kuvvetinden kaynaklanan flokülasyon ve d(4,3) değerinde yeniden artış olduğu belirtilmiştir. Turunçgil pektini kullanılan örneklerde ise % 0.4 a/a değerine kadar stabil bir emülsiyonun elde edildiği ve d(4,3) değerinde yükselme olmadığı görülmektedir.

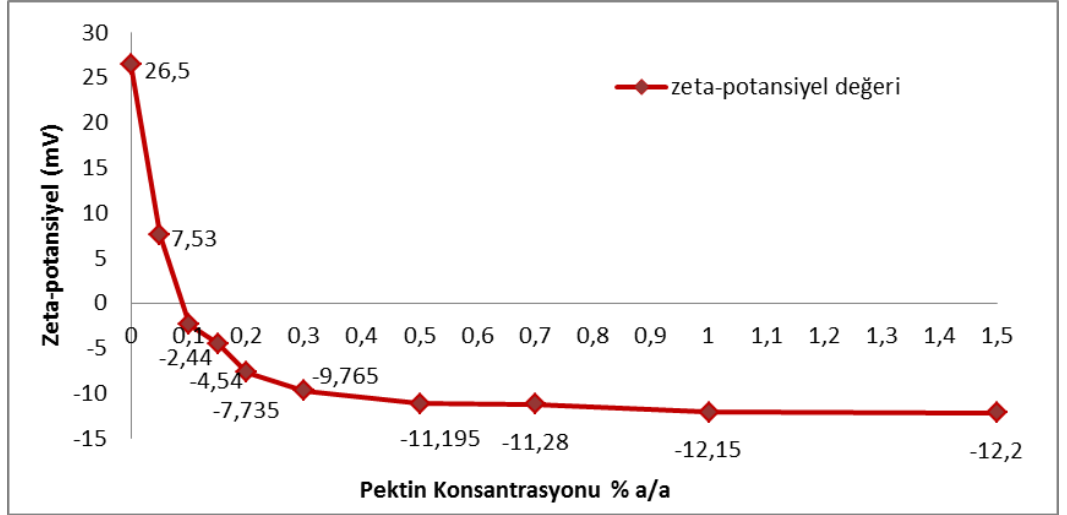
Guzey and McClements (2006), mısır yağı, β -laktoglobülin ve pektin ile oluşturulan çift tabakalı emülsiyon yapısına değişen konsantrasyonlarda kitosan ekleyerek üçüncü bir katman oluşturmuştur. Ortama eklenen kitosan miktarı % 0-0,04 a/a arasında iken negatif yüklü yüzeye, pozitif yüklü kitosan adsorpsiyonu sonucu yük nötralizasyonu oluşmuştur. Oluşan bu yük nötralizasyonu d_{43} ve d_{32} değerlerinde artışa yol açmıştır. Partikül çap değerindeki bu artış, damlacıklar arası azalan itme kuvvetinin sebep olduğu agregasyonun bir göstergesidir. Kitosan konsantrasyonun artmaya devam etmesi ile yüzey yükünün sıfırdan pozitif yöne kayması sonucu partikül çap değerlerinde düşüş gözlenmiştir.

Moreau et al. (2003), β -laktoglobülin ve pektin ile oluşturulan çok tabakalı emülsiyon sisteminin karakterizasyonunu yaptıkları çalışmalarında, % 0-0.06 a/a pektin konsantrasyonlarında, pozitif yüklü β -laktoglobülin yüzeyine negatif yüklü pektin adsorplanması sonucu yük nötralizasyonu gerçekleştiği ve bunun sonucu d_{32} değerinde küçük ama önemli bir artma gözlemlendiği belirtilmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda ise (% 0.08-0.2 a/a) sistemde bulunan fazla pektin sonucu büyük ölçüde agregasyon olduğu ve d_{32} değerinde ciddi bir artmaya sebep olduğu belirtilmiştir.

Ogawa et al. (2004), mısır yağı, lesitin, kitosan ve pektin kullanılarak oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapısının (pH 3) karakterizasyonunu yaptıkları çalışmada, çift tabakalı (lesitin-kitosan) emülsiyon içerisine üçüncü tabakanın oluşması amacıyla pektin eklemiştir. Pektin içermeyen örnekte agregasyona karşı stabil olan ortam, pektin konsantrasyonu % 0.002-0.006 a/a değerleri arasında büyük ölçüde agregasyona uğramış ve bunun sonucu olarak d_{32} değerinde ciddi bir artış görülmüştür. Hem partiküllerin yüzey yüklerinin pektin adsorpsiyonu ile azalarak nötralizasyonun gerçekleşmesi hem de ortamda bulunan pektin konsantrasyonunun yetersizliği sebebiyle oluşan köprü flokülasyonu partikül çap ölçümündeki bu artışın 2 önemli sebebi olmaktadır. % 0.02 a/a değerine doğru artırılan pektin konsantrasyonunda ise d_{32} değerinin tekrar düştüğü gözlenmiştir.

4.2.2. Zeta-potansiyel ölçümü

Değişen yüzde a/a konsantrasyonlarda (% 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5) pektin, % 5 a/a keten tohum yağı, % 0.35 sodyum kazeinat içeren ve pH değeri 3 olan örneklerin, bir günlük bekleme süresinden sonra Malvern Nanosizer cihazı ile ölçülen zeta-potansiyel değerleri Şekil 4.9'da gösterilmektedir.



Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda pektin içeren çok tabakalı yağ/su emülsiyonunun zeta-potansiyel değerleri

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan testi sonuçlarına göre ($p < 0.05$), pektin konsantrasyonuna bağlı zeta-potansiyel değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır. Pektin içermeyen ve pH 3 değerinde stabil olması beklenen tek tabakalı birinci emülsiyonun zeta-potansiyel sonucu 29.05 ± 6.6 mV dur. Emülsiyonun pH değerinin sodyum kazeinatın pI noktası olan 4.6 değerinden az olması, proteinin ve kapladığı yağ/su ara yüzeyinin pozitif yüklenmesine sebep olmaktadır ve ölçümlenen zeta-potansiyel değeri beklenen bir değerdir. Emülsiyon ortamına pektin eklenmesi ile zeta-potansiyel değerinin pozitif değerden negatif değere doğru değişmesi, pH 3 ortamında anyonik olan pektin moleküllerinin sodyum kazeinat ile kaplı olan yağ/su ara yüzeyi tarafından adsorplandığının bir göstergesidir.

% 0.05 a/a pektin konsantrasyonunda 10.68 ± 3 mV olan net yük konsantrasyon artıkça negatif değere doğru değişmektedir. Düşük konsantrasyonlarda emülsiyon içerisindeki yağ damlacıklarının elektriksel yükleri sıfıra yakındır. Yük nötralizasyonun gerçekleştiği bu konsantrasyonlarda emülsiyon içinde damlacık agregasyonu oluşması beklenmektedir. % 0.5 a/a

konsantrasyonunda -11.2 ± 1.2 mV net yüke kadar artan zeta-potansiyel değer, bu değerden sonra kısmen sabit kalmaktadır. % 0.1 a/a değerinden sonra konsantrasyonlar arasında ise önemli bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$). Bu sonuç % 0.1 a/a pektin konsantrasyonundan sonra emülsiyondaki yağ damlacık yüzeyinin doymaya başlamasının bir sonucu olarak kabul edilmiştir. Emülsiyon içerisindeki yağ damlacıklarının net yükünün maksimum olduğu konsantrasyonlarda, emülsiyon yapısının agregasyona karşı dayanıklı olacağı düşünülmektedir. Negatif yüklü pektin moleküllerinin yağ/su ara yüzeyine adsorplanması, net yükün sıfırlandığı veya negatif olduğu durumlarda bile belli bir uygunluk seviyesine kadar devam etmektedir (Moreau et al., 2003; Katsuda et al., 2008). Yüklü polielektrotların, karışık yükle yüklenmiş kolloidal partiküllerin yüzeyine adsorplanması ve yük değerini tersine çevirmesi, literatürde birçok çalışmada ortaya konmuştur (Kong and Muthukumar, 1998; Chodanowski and Stoll, 2001; Moreau et al., 2003).

Katsuda et al. (2008), sodyum kazeinat ve pektin kullanarak balık yağı ile oluşturdukları çok tabakalı emülsiyonda, turunçgil pektininde % 0.1 a/a, şekerpancarından elde edilen pektinde ise % 0.2 a/a konsantrasyonuna kadar zeta-potansiyel değerinin arttığı, fazla konsantrasyonlarda ise net elektrik yükün sabit kaldığını ve böylece bu konsantrasyonlarda yağ damlalarının yüzeyinin pektin ile doyurulduğunu belirtmektedir.

Guzey and McClements (2006), mısır yağı, β -laktoglobülin ve pektin ile oluşturulan çift tabakalı emülsiyon yapısına değişen konsantrasyonlarda kitosan ekleyerek üçüncü bir katman oluşturmuşlardır. Pektin ile kaplı ve pH 4 ortamında negatif yüklü ara yüzey, kitosan konsantrasyonunu artmasıyla negatif bölgeden önce sıfıra doğru daha sonra ise pozitif yönde yüklenmektedir. Yüzde konsantrasyon olarak 0.2 a/a değerini aşan kitosan değerlerinde ara yüzeyin doyurulduğu ve zeta-potansiyel değerinin sabitlendiği görülmüştür.

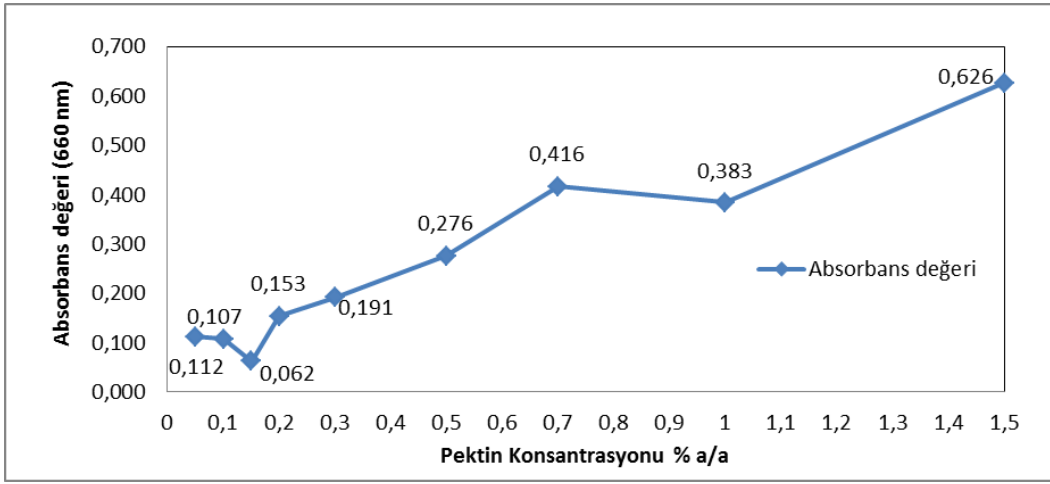
Moreau et al. (2003), β -laktoglobülin ve pektin ile oluşturulan ve pH 3 ortamında hazırlanan çok tabakalı emülsiyon sisteminin karakterizasyonunu yaptıkları çalışmalarında, zeta-potansiyel değeri ortamda pektin bulunmadığı örnekte pozitif iken, ortama pektin eklenmesi ile önce sıfıra doğru yaklaşmış daha sonra negatif yönde artmaya devam etmiştir. Pektin konsantrasyonunun % 0.1 a/a değerine ulaştıktan sonra zeta-potansiyel değerinin sabitlendiği ve yüzeyin pektin ile doyurulduğu belirtilmektedir.

Ogawa et al. (2004), mısır yağı, lesitin, kitosan ve pektin kullanılarak oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapılarının (pH 3) karakterizasyonunu yaptıkları çalışmada, üçüncü tabakayı oluşturmak için gerekli pektin konsantrasyonunun belirlenmesinde zeta-potansiyel ölçümünden yararlanmıştır. Pektin olmayan örneğin +30 mV olan zeta değeri pektin konsantrasyonu % 0.003 a/a değerine geldiğinde sıfıra yaklaşmış ve negatif yönde artmaya devam ederek % 0.01 a/a konsantrasyonundan -14 mV değerine gelerek sabit bir değere ulaşmıştır.

Li et al. (2010), lipofilik biyoaktif maddelerin emülsiyon tabanlı sistemlerle enkapsülasyonu konusunda yaptığı çalışmada çok tabakalı emülsiyon yöntemini kullanmıştır. Ph 4.5, 5.0 ve 5.5 ortamlarında β -laktoglobülin ile gerçekleştirdiği birincil emülsiyona değişen konsantrasyonlarda kitosan eklenmiştir. Bütün pH değerlerinde kitosan konsantrasyonu arttıkça zeta-potansiyel değerlerinin pozitif yönde arttığı, belli bir konsantrasyona kadar, katyonik kitosan moleküllerinin protein ile stabilize edilmiş ara yüzeye adsorplandığı ve ara yüzeyin doyurulduğu noktada zeta-potansiyel artışının durduğu gözlenmiştir. Bir kere yüzey doygunluk noktasına ulaştığında aynı elektriksel yük değeri alan yüzey ile polimer arasında güçlü bir itme kuvveti oluşmakta ve daha fazla polimerin yüzeye adsorplanmasını engellemektedir.

4.2.3. Bulanıklık Değeri

Değişen yüzde a/a konsantrasyonlarda (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5 a/a) pektin, % 5 a/a keten tohum yağı, % 0.35 sodyum kazeinat içeren ve pH değeri 3 olan örneklerin, bir haftalık depolama sonucunda ölçülen absorbans değerleri Şekil 4.10'da verilmektedir.



Şekil 4.10.Değişen konsantrasyonlarda pektin içeren çift tabakalı yağ/su emülsiyonunun bir haftalık depolama sonucu 660nm de ölçülen absorbans değerleri.

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan test sonuçlarına göre ($p < 0.05$), pektin konsantrasyonunda bağlı absorbans değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır. Pektin konsantrasyonu arttıkça emülsiyon bulanıklık değerinin arttığı görülmüştür. % 0.1 a/a pektin konsantrasyonunda $0,112 \pm 0,002$ olan bulanıklık değeri, % 0.5 a/a konsantrasyonda $0,276 \pm 0,002$, %1.0 a/a konsantrasyonda $0,383 \pm 0,001$ ve % 1.5 a/a konsantrasyonda $0,626 \pm 0,001$ değerine yükselmiştir.

Düşük absorbans değerleri geniş ölçekli agregasyon sonucu emülsiyon yapısındaki serum ayrışmasının bir göstergesidir. Kullanılan pektinin düşük konsantrasyonlarında gerçekleşen damlacık net yükündeki nötralizasyon ve ortamda yeterli miktarda bulunmayan pektinin oluşturduğu köprü flokülasyon, geniş ölçekli agregasyonun sebepleri olabilmektedir (Anal et al., 2008).

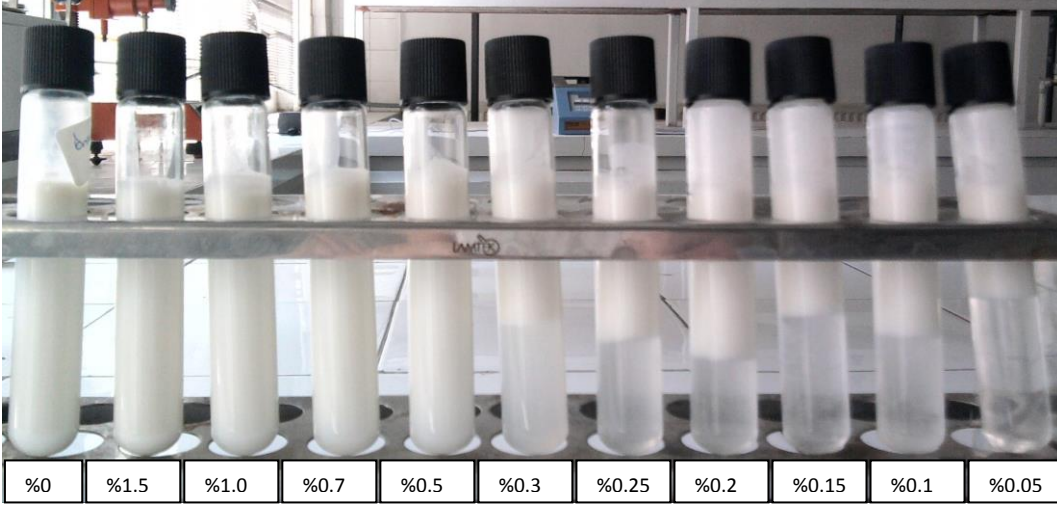
Anal et al. (2008), sodyum kazeinat ve kitosan kullanarak oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapısının karakterizasyonunu yaptıkları çalışmada, pH 5.5 ortamında ve giderek artan kitosan konsantrasyonlarında hazırlanan örneklerin 600nm dalga boyunda absorbans değerlerini ölçmüştür. Kitosan konsantrasyonu arttıkça absorbans değeri lineer bir şekilde artmaktadır. Yüksek polimer düzeylerinde ise ortamda oluşan geniş ölçekli agregasyon absorbans değerinde düşüşe yol açmıştır.

4.2.4. Kremalaşma stabilite ölçümü

Çok tabakalı yağ/su emülsiyonunun hazırlanması amacıyla uygun pektin miktarının belirlenmesi için değişen yüzdelerde a/a pektin, % 5 a/a keten tohum yağı, % 0,35 sodyum kazeinat içeren ve pH değeri 3 olan emülsiyonlar, 1 hafta boyunca oda sıcaklığında cam tüplerde depolandıktan sonra görsel değerlendirmeleri ve kremalaşma indeks ölçümleri Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.

Pektin içermeyen birincil emülsiyonda 1 haftalık depolama süresi sonunda herhangi bir serum tabakasının oluşmadığı gözlenmiştir. Emülsiyon içerisindeki yağ kürelerinin çoğunluğunun kremalaşmaya ve agregasyona dayanıklı olabilecek kadar küçük partikül çapına ve net elektiriksel yüke sahip olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, % 0.05 a/a ile % 0.3 a/a pektin

konsantrasyonları arasında yer alan emülsiyonlarda, hızlı bir şekilde, üst kısımda bir krema tabakası alt kısımda ise bir serum fazının ayrıldığı belirlenmiştir.

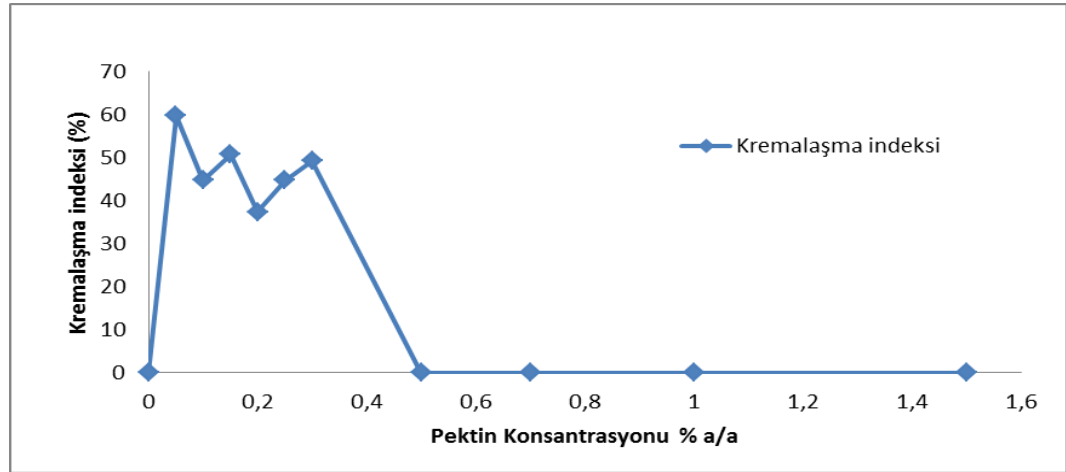


Şekil 4.11. Değişen konsantrasyonlarda % a/a pektin içeren yağ/su emülsiyonlarının (%5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat, pH 3) 1 haftalık depolama sonucu

Emülsiyon içerisindeki yağ kürelerinin agregasyona uğraması ve yerçekimi sebebiyle hızlı bir şekilde yukarı hareket etmesinin bu oluşuma sebep olduğu düşünülmektedir. Emülsiyon içerisinde agregasyona uğrayan ve kremalaşmaya karşı stabil kalamayan bir kısım olduğu gibi agregasyona uğramadan göreceli bir şekilde stabil kalan bir kısmın da olduğu görülmektedir (Surh et al., 2006). % 0.5 a/a konsantrasyonundan itibaren ise örneklerde krema fazı gözlenmemiştir.

% 0.5 a/a pektin konsantrasyonuna kadar yüksek değerler alan kremalaşma indeksinin, bu konsantrasyondan sonra sıfır değerine düştüğü görülmektedir (Şekil 4.12). Bu konsantrasyonlarda agregasyona karşı emülsiyon sisteminin direnç gösterememesinin başlıca nedeni, % 0.5 a/a konsantrasyonundan düşük pektin oranlarında zeta-potansiyel değerinin göreceli az olmasıdır. Aralarında yeterince itme kuvvetine sahip olmayan yağ globülleri bir araya gelerek krema

fazını oluşturmuştur. Pektin konsantrasyonu artırıldıkça, yüzeyi protein ile kaplı yağ küreleri negatif pektin molekülleri ile doyurulmakta ve yüzey net yükünün artmasıyla, damlacıklar arası itme kuvvetleri de artarak sisteme daha kararlı bir yapı kazandırmaktadır.



Şekil 4.12. Değişen konsantrasyonlarda % a/a pektin içeren yağ/su emülsiyonlarının (%5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat, pH 3) 1 haftalık depolama sonucu % kremalaşma indeksleri.

Katsuda et al. (2008), balık yağı, sodyum kazeinat ve çeşitli pektin türleri ile çok tabakalı emülsiyon oluşturdukları çalışmada, turunçgil pektini için % 0.1 a/a ve şeker pancarından üretilen pektin için % 0.15 a/a konsantrasyonları ve yukarıdaki değerler için emülsiyon içerisinde krema katmanının oluşmadığını belirtmektedir.

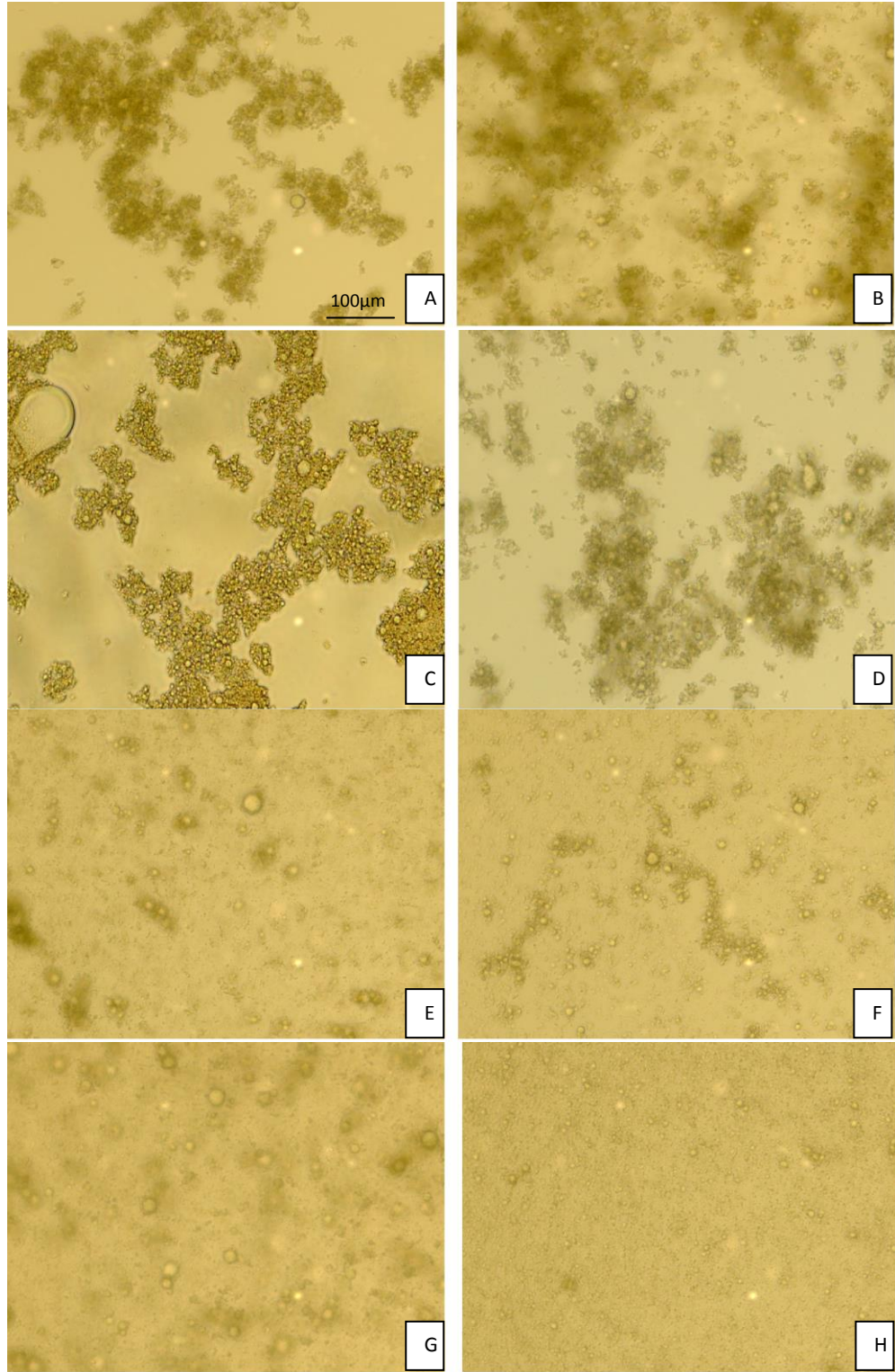
4.2.5. Optik mikroskop ile görüntüleme

Değişen yüzdelerde a/a pektin, %5 a/a keten tohum yağı, % 0.35 sodyum kazeinat içeren ve pH değeri 3 olan emülsiyonlar, 1 hafta boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra elde edilen optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.13' de verilmektedir.

Optik mikroskop fotoğrafları incelendiğine % 0.7 a/a pektin konsantrasyonuna kadar, pektin eklenmiş sistemlerde geniş ölçüde flokülasyon olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.13).

pH 3 değerinde negatif yüklü pektin molekülleri ile pozitif yüklü Na-kazeinat arasında güçlü bir elektrostatik çekim kuvveti bulunduğu ve pektin moleküllerinin yağ damlalarının yüzeyine adsorplandığı zeta potansiyel ölçüm (Bkz. Şekil 4.9) sonuçlarında görülmektedir. Düşük pektin konsantrasyonunda gerçekleşen flokülasyona iki ana fizikokimyasal mekanizma sebep olmaktadır; 1) sistemdeki yağ damlacıklarının yüzeyine adsorplanan pektin molekülleri ile zeta-potansiyel değeri belli bir pektin konsantrasyonuna kadar düşmekte ve damlacıklar arası elektrostatik itme kuvvetini azaltmaktadır 2) emülsiyon ortamında yeterli miktarda bulunmayan pektin sonucu her bir pektin molekülü birden çok yağ damlacığının yüzeyine adsorplanarak aralarında bir köprü oluşturmakta ve köprü flokülasyonuna sebep olmaktadır (Surh et al., 2006).

% 1.0 a/a pektin içeren emülsiyonda yağ küreleri arasındaki köprü flokülasyonun kısmen kırıldığı fakat damlacık çaplarının homojen dağılmadığı ve koalesans oluşumu gözlenmiştir. % 1.5 a/a pektin oranında ise flokülasyon oluşmadığı, yağ partikül çapının küçüldüğü ve homojen dağıldığı belirlenmiştir



Şekil 4.13. Değişen konsantrasyonlarda pektin içeren, %5 a/a keten tohum yağı, %0,35 sodyum kazeinat ve pH 3 olan emülsiyonların 1 haftalık depolama süresi sonunda optik mikroskop ile çekilen fotoğrafları (A; %0.05 a/a, B; %0.1 a/a, C; %0.2 a/a, D; %0.3 a/a, E; %0.5 a/a, F; %0.7 a/a, G; %1.0 a/a, H; %1.5 a/a),

Ortamin asitliği pH 3' de hazırlanan ve % 5 a/a keten tohum yağı, % 0.35 sodyum kazeinat ve değişen % a/a konsantrasyonlarında pektin içeren emülsiyon örneklerinde;

Pektin eklenmemiş ve pH 3 ortamında hazırlanmış tek tabakalı yağ/ su emülsiyonunda yağ kürelerinin yüzey yükü, pI noktası yaklaşık 4.6 olan sodyum kazeinat ile kaplıdır ve pozitif yük değerini taşımaktadır (Bkz. şekil 4.9). Ortama eklenen pektin konsantrasyonu arttıkça net partikül yükü pozitif değerden negatif değere doğru değişmekte ve bu değişim anyonik pektin moleküllerinin katyonik yzeeye adsorplandığının bir göstergesi olmuştur. Pektin konsantrasyonunun % 0.1 a/a değerini geçmesi ve zeta-potansiyel değerinin kısmen sabitlenmesi ile yağ kürelerinin yüzeyinin pektin ile doyurulmaya başlandığın düşünülmektedir. Literatürde önceden yapılan birçok çalışmada, orta asitliğe sahip ortamlarda pH (3-5) kazein ve pektin molekülleri arasında elektrostatik çekim kuvvetinin var olduğunu ve caseinin pozitif, (pH<pI), pektinin ise negatif yüklendiğini (pH≥pKa) belirtilmektedir (Surh et al., 2006).

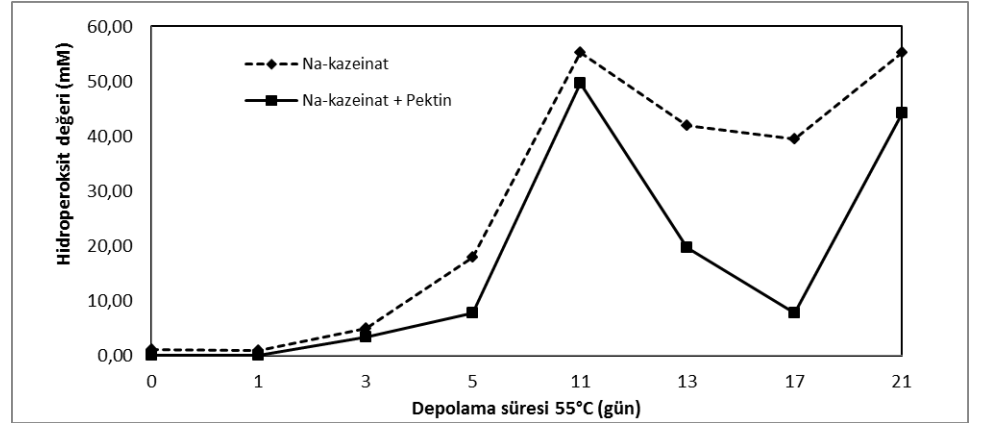
Ortalama partikül çapı d(4,3) ve d(3,2) değerleri % 0.3 a/a değerine kadar yüksek değerler almış, bu değerden sonraki konsantrasyonlarda ise azalarak göreceli olarak sabit kalmıştır. 1 haftalık depolama süresi sonunda ise optik fotoğraflarda ortamda % 1.0 a/a konsantrasyonuna kadar köprü floklsiyonun gerçekleştiği ve yer yer koalesans oluşumu gözlenmiştir.

1 haftalık depolama süresi sonunda, bulanıklık değerini % 1.5 a/a pektin konsantrasyonunda maksimum değerine ulaşırken, kremalaşma indeksi sıfır hesaplanmıştır. Ayrıca görsel değerlendirme sonucunda % 0.5 - %1.5 a/a konsantrasyon aralığında herhangi bir krema faz ayrımı gözlenmemiştir. Optik fotoğraflarda ise sadece % 1.5 pektin konsantrasyonun sahip örneklerde homojen partikül dağılımı ve stabil bir yapı belirlenmiştir. d(4,3) ve d(3,2) değerlerinin yine bu konsantrasyonda minimum değer alması, zeta-potansiyel ölçümünde ise

yağ kürelerinin maksimum net yüke yine bu konsantrasyonda ulaşmaları optik görüntülemeye sonucunu açıklar niteliktedir.

4.3. Tek Tabakalı (Birincil) ve Çok Tabakalı (İkincil) Emülsiyonların Oksidasyon Stabilitelerinin Belirlenmesi

Tek tabakalı emülsiyon (%10 keten tohum yağı, % 0.7 Na-kazeinat) ve çok tabakalı emülsiyon (% 5 keten tohum yağı, % 0.35 Na-kazeinat, % 1.5 pektin) yapılarından oluşan örnekler 55°C de 22 gün boyunca etüv ortamında depolanmıştır. Birincil ve ikincil emülsiyon yapılarının oksidasyon seviyeleri hidroperoksit tayini ve TBARS tayini ile belirlenmiştir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15).



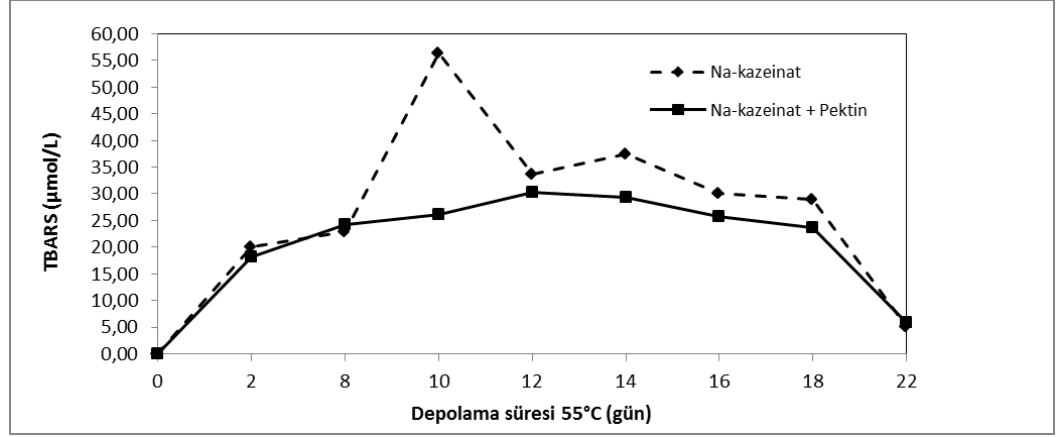
Şekil 4.14. 55°C de 22 gün boyunca depolan tek tabakalı ve çift tabakalı emülsiyon örneklerinin hidroperoksit (mM) değerlerinin zamana bağlı değişimi

Örneklerin depolama süresine bağlı değişimlerinin belirlenmesi için tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan testi ($p < 0.05$) kullanılmıştır. Emülsiyon türleri arasındaki farkın önem derecesi ise her bir depolama zamanı için ayrı ayrı bağımsız örneklem t-testi ile belirlenmiştir.

Her iki emülsiyon türünde (tek tabakalı ve çok tabakalı) zamana bağlı oluşan hidroperoksit değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Na-kazeinat içeren tek tabakalı emülsiyon örneklerinde, hidroperoksit değeri ilk 5 günün sonunda 17.15 ± 1.5 mM değerini almış ve göreceli olarak yavaş bir oluşum göstermiştir. 11.gün sonunda ise 54.5 ± 3.7 mM değerine yükselmiştir. 21.gün sonundaki hidroperoksit değeri ile 11.gün arasında önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). Pektin içeren çok tabakalı emülsiyon örneklerinde benzer şekilde ilk 5 günün sonunda 6.3 ± 5.2 mM değerini alarak göreceli yavaş ilerlemiş, hidroperoksit değeri bu noktadan sonra hızlı bir şekilde artmış ve 11.günde 51.3 ± 8.0 mM değerine ulaşmıştır. 21.gün sonundaki hidroperoksit değeri ile 11.gün arasında önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapıları arasında ilk 3 gün önemli bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Depolama süresi 5. güne geldiğinde birincil emülsiyonun hidroperoksit değeri 17.15 ± 1.7 mM olurken ikincil emülsiyon yapısında bu değer 6.3 ± 5.2 mM değerinde kalmıştır. Depolama süresinde 17. güne ulaşıldığında ise birincil emülsiyonun peroksit değeri 40.4 ± 9.1 mM iken, ikincil emülsiyonda bu değer 6.2 ± 3 mM seviyesinde kalmıştır. Böylece 17 günlük depolama süresi sonunda pektin içeren çok tabakalı emülsiyonun, Na-kazeinat ile oluşturulan tek tabakalı emülsiyona kıyasla peroksit değerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). 21.günde birincil ve ikincil emülsiyon yapıları arasında önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$).

TBARS değerlerine bakıldığında, yapılan tek yönlü ANOVA analizine göre ($p<0.05$), her iki emülsiyon türünde oluşan TBARS değeri ile depolama süresi arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır. 2.gün birincil ve ikincil emülsiyonlarda sırasıyla $20.1\pm7.1\mu\text{mol/L}$ ve $18.1\pm3.0\mu\text{mol/L}$ değerlerini alan TBARS ölçümleri, 8.gün $22.8\pm4.3\mu\text{mol/L}$ ve $24.3\pm3.4\mu\text{mol/L}$ değerlerine ulaşarak kısmen yavaş bir yükseliş göstermiştir. Hidroperoksit oluşumunda 2 ile 8.günler arasında gözlenen artış sebebiyle TBARS değerlerinde tespit edilen bu yavaşlama beklenen bir durumdur.



Şekil 4.15. 55°C de 22 gün boyunca depolan tek tabakalı ve çift tabakalı emülsiyon örneklerinin TBARS (μmol/L) değerlerinin zamana bağlı değişimi.

TBARS değerleri için tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon sistemleri arasındaki farkın önemlilik derecesi, her bir depolama zamanı için ayrı ayrı uygulanan bağımsız örneklem t-testi ($p < 0.05$) ile tespit edilmiştir. Her iki emülsiyon çeşidinde de 10 günlük depolama sonucunda TBARS değerleri sırasıyla 56.47 ± 4.2 μmol/L ve 26.2 ± 10.9 μmol/L olarak bulunmuş ve ikincil emülsiyon yapısının daha stabil kaldığı gözlenmiştir. 10. günden sonra emülsiyon türleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Yağ/su emülsiyonlarında oksidasyon hızını etkilen en önemli fiziksel etmenler, yüzey alanını belirleyen partikül boyutu, geçiş metalleri ile elektrostatik etkileşime sebep olan damlacık net yükü ve sürekli fazda bulunan geçiş metalleri ile yağ fazının etkileşimini belirleyen ara yüzey kalınlığıdır (Gudipati et al., 2010). Geçiş metalleri ve özellikle demir iyonları lipid oksidasyonunu kolaylaştıran ana faktörlerden biridir. Bu sebepten dolayı, emülsiyon literatüründe damlacık yüzeyini pozitif yükleyen emülgatörler ve polisakkaritlerin, geçiş metalleri ile aralarında oluşan itme kuvveti dolayısıyla, yağ fazı ile bu metallerin etkileşimlerini kısıtlamaları ve lipid oksidasyonunu geciktirmeleri konusunda birçok araştırma bulunmaktadır (Mei et al., 1998a, 1998b; Mancuso et al., 1999;

Hu et al., 2003; Klinkesorn et al., 2005; Gudipati et al., 2010; Kargar et al., 2011). Dış katmanı pektin olan ve negatif yüklü damlacıklar ile oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapıları ise bu konuda emülsiyon literatüründe rastlanan istisnalardır.

Katsuda et al. (2008), β -laktoglobülin ve iki çeşit pektin (turunçgil pektini ve şeker pancarından elde edilen pektin) ile oluşturduğu çok tabakalı emülsiyonun oksidatif stabilitesini incelediği çalışmasında, pH 3.5 ve 35°C’de 16 gün boyunca depolama yapmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, özellikle turunçgil pektini ile oluşturulan ikinci tabakanın, yüzey yükünün negatif olması ve prooksidatif metal iyonlarını çekmesine rağmen, protein ile oluşturulan tek tabakalı emülsiyona göre oksidatif stabiliteyi arttırdığını belirtmektedir. Hidroperoksit ve propanal seviyelerinin ölçüldüğü çalışmada, peroksit değerleri arasında özellikle turunçgil pektinin kullanıldığı örnekte birincil emülsiyona kıyasla ciddi bir fark gözlenirken, oksidasyon ikinci ürünü olan propanal açısından değerler birbirine yakın olmakla beraber yine turunçgil pektinin daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Yang et al. (2011), portakal yağı ile lesitin, kitosan ve pektin kullanarak 2 tabakalı ve üç tabakalı emülsiyon yapıları oluşturmuşlardır. Çok tabakalı emülsiyon yapılarının ışığa duyarlı lipid oksidasyon değerlerini araştırdıkları çalışmalarında, lesitin ve pektin miktarının dikkatlice ayarlanması ile portakal yağının oksidatif stabilitesinin artırılabilceği belirtilmiştir.

Chen et al. (2010), ringa balık yağı kullandıkları çalışmalarında, brij 35 sürfaktan kullanılarak oluşturulan birincil emülsiyona değişen polisakkarit çeşitleri (düşük metoksilli ve yüksek metoksilli pektin, karregen ve sodyum aljinat) eklenerek çift tabakalı emülsiyon elde etmişlerdir. Emülsiyonlar pH 7.0 ortamında ve 15°C’de 8 gün boyunca depolanmıştır. Emülsiyonun fiziksel stabilitesini bozmayan konsantrasyonlarda eklenen pektin, diğer polisakkaritlere

kıyasla daha fazla olan serbest radikal süpürücü etkileri ve metal iyonları ile şelat oluşturma etkinlikleri sayesinde oksidatif stabiliteyi arttırdığı belirlenmiştir.

Mevcut çalışmada 17 günlük depolama sonucunda hidroperoksit değeri pektin ile oluşturulan ikincil emülsiyonda Na-kazeinat ile oluşturulan birincil emülsiyona kıyasla daha düşük bir değerdir. Ayrıca 10 günlük depolama sonucunda TBARS değerleri ikincil emülsiyon örneklerinde, birincil emülsiyona kıyasla daha düşük seviyede kalmıştır. Tespit edilen sonuçlar ile emülsiyonun oksidatif stabilitesinin çok tabakalı yapı ile artırılması daha önce yapılan çalışmalar ile paralel yöndedir (Katsuda et al., 2008; Chen et al., 2010; Yang et al., 2011). Na-kazeinat ve pektin elektrostatik kompleksinin lipid oksidasyonuna olan etkisi üzerine yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması bulunan sonuçların literatür değerleri ile karşılaştırılmasını kısıtlamaktadır.

Oksidatif stabilite konusunda pektin katmanı ile elde edilen bu iyileşmenin bazı sebepleri bulunmaktadır. Öncelikle β -laktoglobülin ve pektin ile gerçekleştirilen çok tabakalı emülsiyon çalışmalarında, ara yüzey kalınlığının pektin varlığı ile artırılması ve pektinin dallı yapısı sebebiyle sterik etkinin lineer bir polimere kıyasla daha fazla gerçekleşmesi, çok tabakalı emülsiyon ile elde edilen oksidatif iyileşmenin başlıca sebepleridir (Katsuda et al., 2008; Gudipati et al., 2010). Ayrıca sürekli fazda bulunan pektin molekülleri demir iyonlarını bağlama kapasiteleri ile porooksidan metallerin yol açtığı lipid oksidasyonunu önemli ölçüde engellemektedir (Chen et al., 2010).

4.4. Tek Tabakalı (Birincil) ve Çok Tabakalı (İkincil) Emülsiyonların pH Stabilitelerinin Belirlenmesi

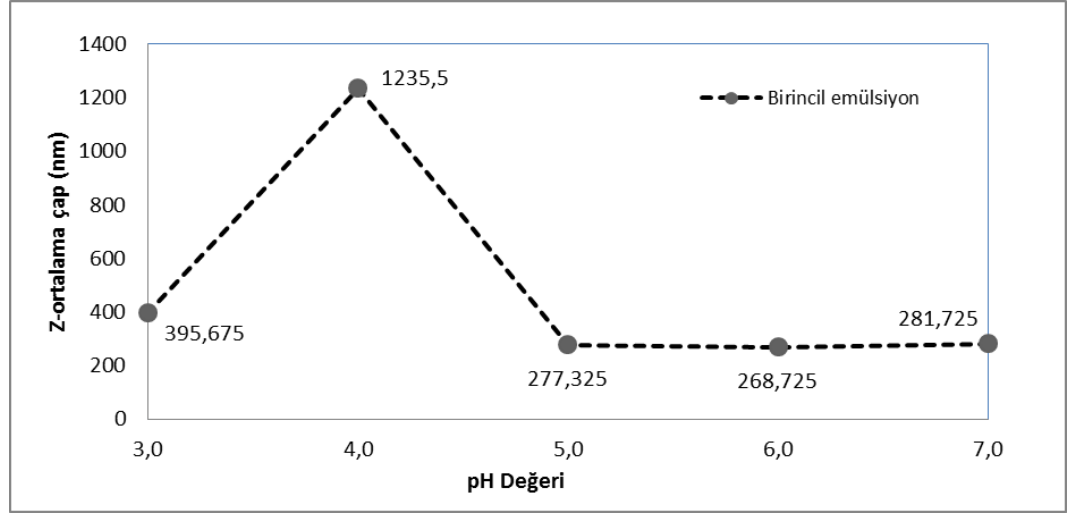
Tek tabakalı emülsiyon (% 10 keten tohum yağı, % 0.7 Na-kazeinat) ve çok tabakalı emülsiyon (% 5 keten tohum yağı, % 0.35 Na-kazeinat, % 1.5 pektin)

örneklerinin ortam pH değerleri 3-7 arasında değiştirilerek birincil ve ikincil emülsiyon yapılarının kararlılık durumları karşılaştırılmıştır. Emülsiyon stabilitesinin ölçümünde partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, kremalaşma indeksi ve optik görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır.

Şekil 4.16'da pH değişimine karşı Na-kazeinat içeren birincil emülsiyonun z-ortalama çap değerleri gösterilmiştir. Yapılan tek yönlü ANOVA analizine göre, pH'a bağlı z-ortalama çap değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). pH değerleri arasındaki fark ise Duncan testi ile tespit edilmiştir.

pH 5, 6 ve 7 ortamında z-ortalama çap değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). pH 3 ortamında 395.7 ± 11.5 nm olan partikül çap değeri, pH 4 ortamında 1235.5 ± 95.9 nm değerine yükselmiştir. Na-kazeinatın 4.6 civarı olan izoelektrik noktası göz önüne alındığında bu değere yakın ortam asitliğinde yük nötralizasyonu sebebiyle kuvvetli agregasyon oluşumu beklenmektedir. Bunun sonucu olarak ortalama çap değerlerinde artış gözlenmiştir. Düşük pH (3) ve yüksek pH (6-7) değerlerinde, damlacıkların net yüklerinin artması (Şekil 4.19) aralarında güçlü bir itme kuvveti oluşmasına sebep olmuştur. Böylece sistemde agregasyon önlenmiş ve partikül boyutunda azalma gözlemlenmiştir. Ortam asitliği pH 5 olduğunda ortalama çap boyutunda herhangi bir artış tespit edilmezken, 7 günlük depolama sonucu elde edilen kremalaşma indeks değerinde (Şekil 4.21) ve görsel değerlendirmede (Şekil 4.20) serum ayrışması gözlemlenmiştir.

Ayrıca optik mikroskop ile çekilen görüntülerde ise yapıda büyük ölçüde flokülasyon olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.22). Boyut dağılım analizinde yapılan 1:100 seyreltme işleminin sistemdeki deplesyon flokülasyonunu kırdığı ve bu yüzden partikül çap değerinde bir artış gözlemlenmediği düşünülmektedir (McClements, 2005a).

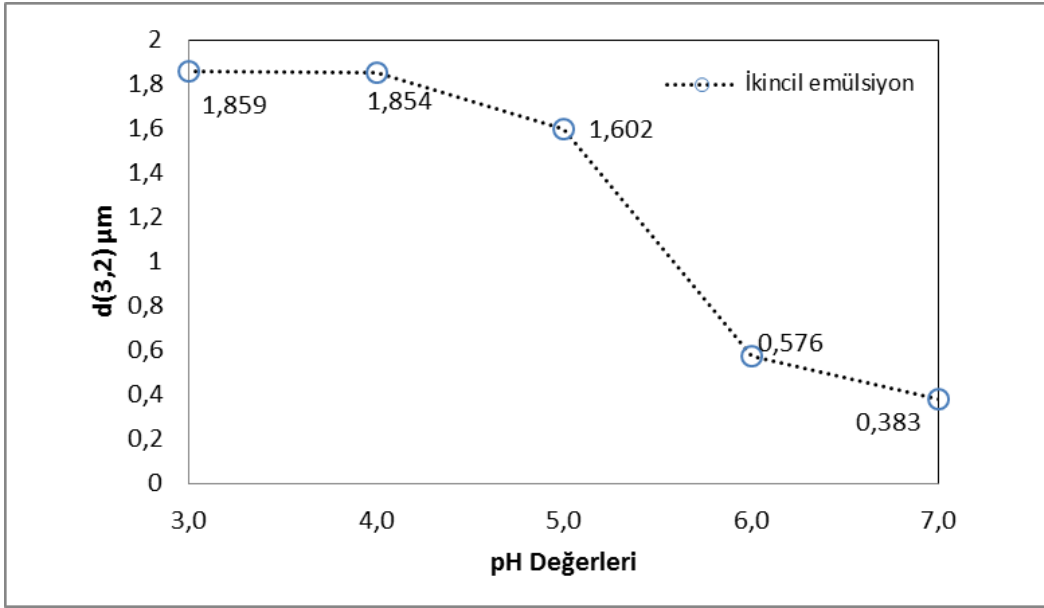


Şekil 4.16. Birincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı Z-ortalama çap sonuçları

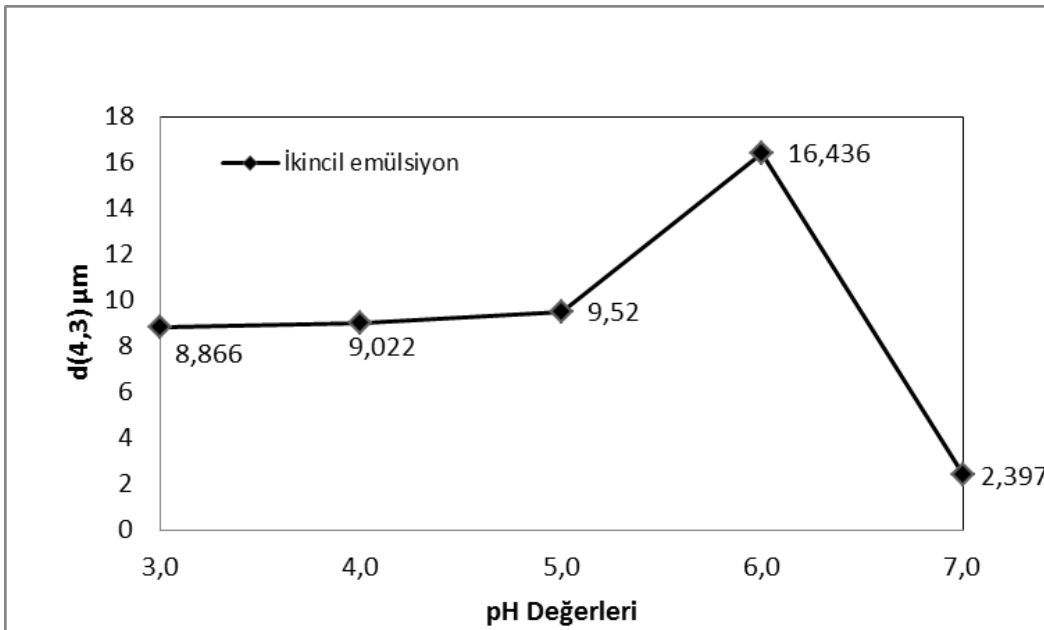
Pektin içeren ikincil emülsiyon yapılarının ortalama partikül çapları ($d(3,2)$ ve $d(4,3)$) değerlerinin pH değişimine bağlı sonuçları Şekil 4.17. ve 4.18 'de gösterilmektedir.

Yapılan tek yönlü ANOVA analizi ve Duncan test sonuçlarına göre, pH'a bağlı $d(3,2)$ değerlerinde anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.05$). Düşük (3-4) ve orta pH (5) değerlerinde göreceli stabil giden partikül çapı, yüksek pH değerlerinde keskin bir düşüş göstermektedir. Yüksek pH değerlerinde, negatif yüklenen damlacık yüzeyinden yine negatif yüklenen pektin moleküllerinin desorpsiyonunun çap büyüklüğünde azalmaya sebep olduğu düşünülmektedir. pH 3-5 ve pH 6-7 ortamlarında değerler arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Yapılan tek yönlü ANOVA analizine göre, $d(4,3)$ değerlerinin pH'a bağlı değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.05$). $D(4,3)$ değerlerinin kendi içlerindeki önem dereceleri Duncan testi ile belirlenmiştir. pH 3, 4 ve 5 değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.17. İkincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı d(3,2) ortalama çap sonuçları



Şekil 4.18. İkincil emülsiyon yapısının değişen pH değerlerine karşı d(4,3) ortalama çap sonuçları

pH 6 ortamında d(4,3) değerinde gözlemlenen artışın iki olası sebebi olduğu düşünülmektedir. Bunlardan ilki, pH değeri 3'den 7'ye doğru arttırıldığında giderek pozitiften negatife doğru artan damlacık net yükü sebebiyle

düşük pH değerlerinde yüzeye adsorplanan pektin molekülleri ile Na-kazeinat arasındaki elektrostatik çekme kuvvetinin giderek azalması ve pektin moleküllerinin yüzeyden koparak başka yağ globüllerine bağlanması ile artan köprü flokülasyonudur. İkinci sebep ise, protein ile pektin arasında gerçekleşen ve giderek artan itme kuvveti ile yüzeyden tamamen kopan pektin sürekli fazda konsantrasyon artışına sebep olarak deplesyon flokülasyonuna sebep olabilmektedir. Ayrıca optik mikroskop görüntüleri de sistemde oluşan flokülasyonu destekler yöndedir (Bkz. Şekil 4.22).

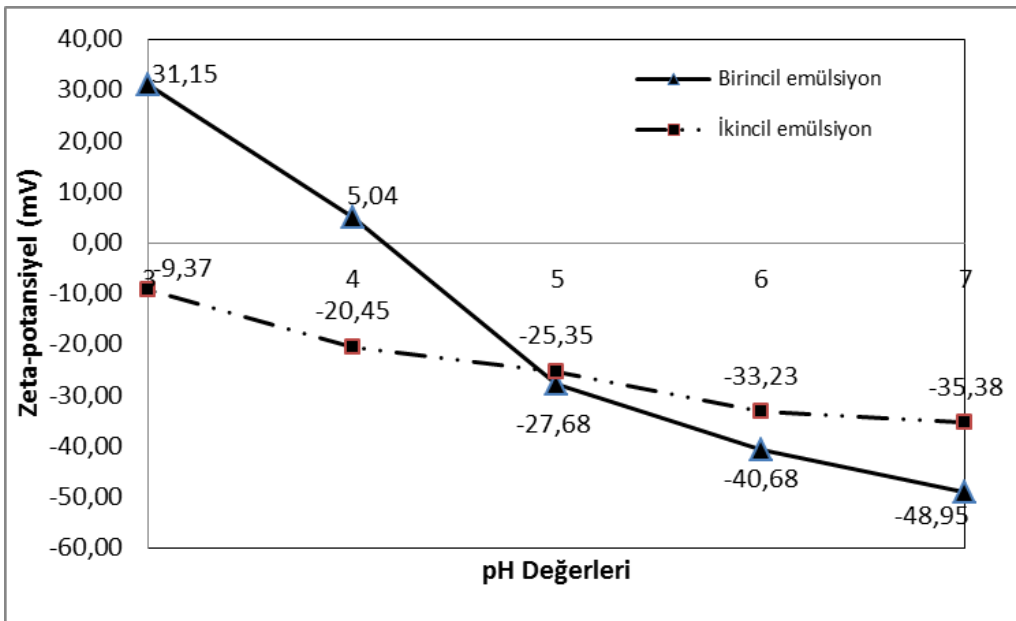
pH 7 ortamında d(4,3) değerinde tespit edilen düşüşün sebebi ise pektin moleküllerinin artık yağ/su ara yüzeyinden ayrılması ile gerçekleşen partikül çap değerinde ki düşüştür. Bu değerın Na-kazeinat emülsiyonunda gözlemlenen nm boyutundaki partikül çaplarına göre daha yüksek bir değerde olması ise sürekli fazda bulunan pektin molekülleri sebebiyle oluşan deplesyon flokülasyonu olduğu düşünülmektedir (Bkz. Şekil 4.16).

Tek tabakalı ve çift tabakalı emülsiyon örneklerinin ortamın pH değerine bağlı olarak zeta-potansiyel ölçümü Şekil 4.19'da gösterilmektedir. Örnekler için yapılan tek yönlü ANOVA analizi sonuçlarına göre, birincil ve ikincil emülsiyon örneklerinin zeta-potansiyel değerleri ile ortamın pH koşulları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.05$).

Tek tabakalı örneklerinin zeta-potansiyel değerleri pH 3'den 7'ye doğru gidildikçe 31.15 ± 1.2 mV değerinden -48.95 ± 1 mV değerine doğru bir değişim göstermiştir. Tek tabakalı emülsiyon pH 4 ile 5 arasında elektriksel olarak nötr yüklenmektedir ve zeta-potansiyel değer sıfıra yakındır. Yağ/su ara yüzeyini oluşturan sodyum kazeinatın izoelektrik noktasının 4.6 civarında olması bu sonucu desteklemektedir. Ortama pektin polimerinin eklenmesi ile birincil emülsiyonunun pH'a bağlı damlacık net yükünde önemli bir değişim belirlenmiştir. İkincil emülsiyonda yağ/su ara yüzeyini kaplayan pektin pH 3

ortamında -9.37 ± 0.6 mV değerini almaktadır. pKa noktası 3.5 civarı olan ve anyonik bir polisakkarit olan pektin ile bu değere yakın asidik ortamlarda ve üzerindeki pH değerlerinde yağ/su ara yüzeyi beklenildiği gibi negatif olarak yüklenmiştir.

pH 3 ve 4 ortamında birincil emülsiyon sırasıyla 31.15 ± 1.2 mV ve 5.03 ± 2.1 mV değerlerini alırken pektin varlığında sırasıyla -9.37 ± 0.6 mV ve -20.45 ± 0.8 mV değerlerini almıştır. Ortama pektin eklenmesiyle negatif yüklenen damlacıkların yüzeye pektin adsorplanmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

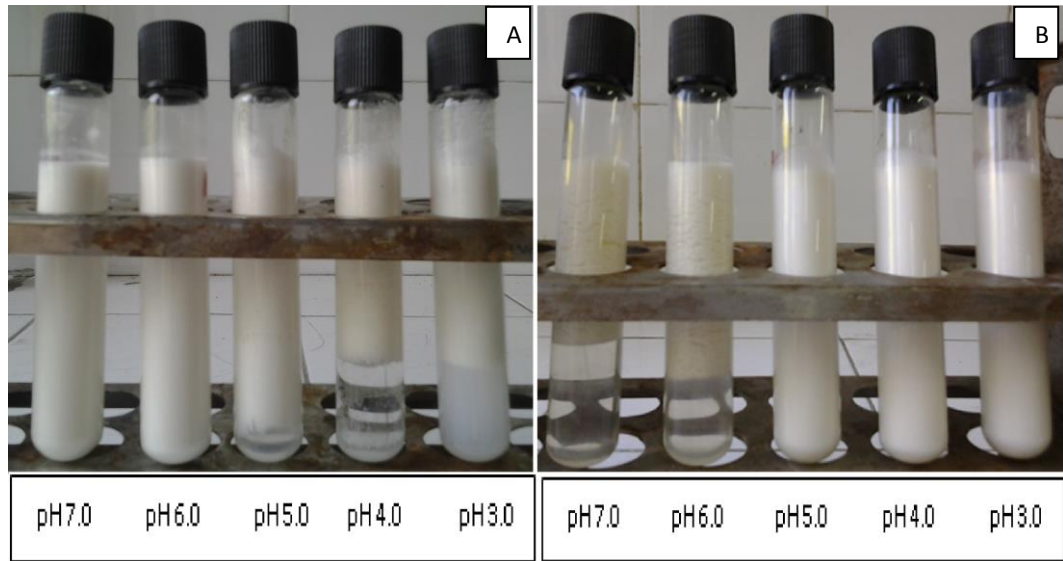


Şekil 4.19. Birincil ve ikincil emülsiyon örneklerinin değişen pH değerlerine karşı zeta-potansiyel ölçümleri

pH 6 ve 7 ortamlarında damlacık net yükü birincil emülsiyon için sırasıyla -40.67 ± 1.2 mV ve -48.95 ± 1 mV olurken, ikincil emülsiyonda -33.23 ± 1.2 mV ve -35.38 ± 1.2 mV ölçülmüştür. Negatif yüklenen Na-kazeinat yüzeyi ile negatif

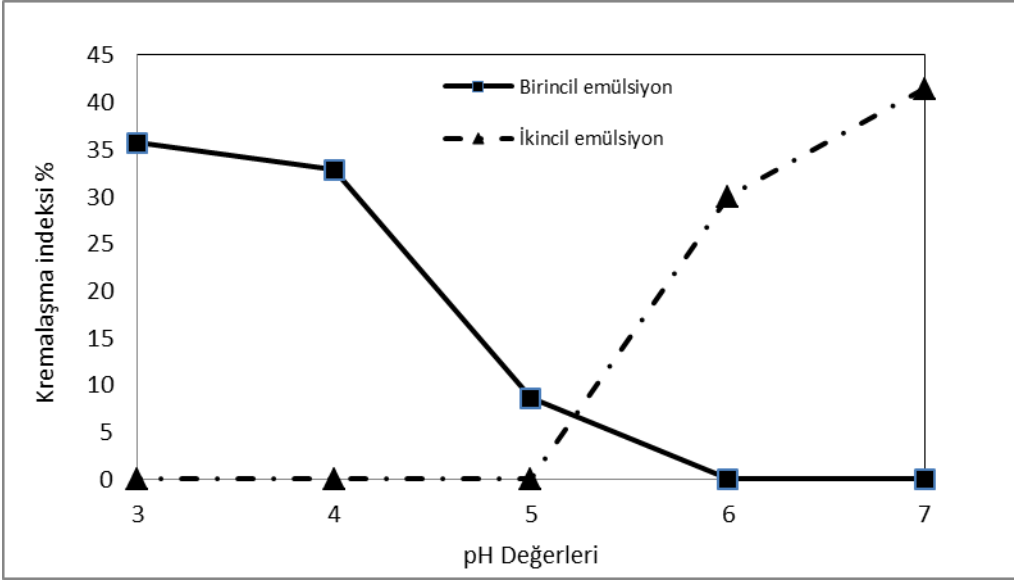
pektin molekülleri arasında güçlü bir itme kuvvetinin oluşması beklenmektedir. Böylece bu pH değerlerinde pektin moleküllerinin yağ/su ara yüzeyine adsorplanmadığı ve çok tabakalı yapıyı oluşturamadığı düşünülmektedir. Böyle bir durumda pektin molekülleri öncelikli olarak sürekli fazda dağılmış bir şekilde bulunması beklenmiştir.

Oda sıcaklığında 7 günlük depolama sonucunda elde edilen görsel veriler ve kremalaşma indeks değerleri Şekil 4.20 ve 4.21’de gösterilmiştir. Birincil emülsiyon örnekleri pH 7-6 arasında kararlılığını koruyabilirken, pH 5-3 arasında sistemde agregasyon gerçekleşerek krema ve serum fazlarının oluştuğu gözlenmiştir



Şekil 4.20. A) Birincil ve B) İkincil emülsiyon örneklerinin değişen pH değerlerine karşı görsel değerlendirmesi

Birincil emülsiyonda pH 5-4 örneklerinde berrak bir serum faz oluşurken pH 3 örneğinde krema fazı ve aşağıda kısımda bulanık bir serum fazı ayrılmıştır.



Şekil 4.21. Birincil ve İkincil örneklerinin değişen pH değerlerine karşı kremalaşma indeks değerleri

Bu oluşum emülsiyon içerisinde agregasyona uğrayan bir kısım olduğu gibi göreceli olarak kremalaşmaya dayanıklı ve agregasyona uğramayan bir kısmın da olduğunu göstermektedir (Surh et al., 2006).

İkincil emülsiyon örnekleri ise pH 3-5 arasında kararlılığını korurken pH 6-7 arasında serum fazının ayrıştığı ve sistemde agregasyon oluştuğu gözlenmiştir.

Şekil 4.22’de oda sıcaklığında 7 günlük depolama sonunda tek tabakalı ve çok tabakalı örneklerin her bir pH değerinde sahip oldukları yapısal özellikler karşılaştırılmıştır. pH 3,4 ve 5 ortamında birincil emülsiyonda koalesans oluşumunu destekleyen geniş çaplı flokülasyon tespit edilmiştir. pH 3 ortamında pektin içeren çok tabakalı emülsiyonda monodispers ve kararlı bir yapı gözlemlenirken, pH 4-5 ortamlarında bazı yerlerde sınırlı düzeyde flokülasyon oluşumları bulunmuştur. Fakat yapının bütününde kararlı emülsiyon durumu

devam etmiştir. pH 6 ve 7 olan örneklerde birincil emülsiyon giderek kararlı bir yapı kazanmakta özellikle pH 7 ortamında monodispers özellik taşımaktadır.

Çok tabakalı ikincil emülsiyon örnekleri ise pH 6 ve 7 ortamlarında içerdikleri pektin molekülleri, damlacık yüzeyleri ile aynı negatif yükü taşımaktadır ve yağ/su ara yüzeyine adsorplanmamıştır Bu sebepten dolayı, sürekli fazda yüksek konsantrasyonda bulunan pektin moleküllerinin geniş ölçekte deplesyon flokülasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca geniş ölçekte oluşan flokülasyonun yer yer büyük damlacıkların oluşmasına yani koalesans oluşumuna yol açtığı yapılan bazı çalışmalarca da desteklenmektedir (Ye et al., 2004a, 2004b; Surh et al., 2006).

Surh et al. (2006), birincil emülsiyon (%10 a/a mısır yağı, %0.9 a/a Na-kazeinat) ve ikincil emülsiyon (%5 a/a mısır yağı, %0.45 a/a Na-kazeinat, %0.25 a/a pektin (düşük metoksilli ve yüksek metoksilli)) yapılarının pH stabilitesini araştırdıkları çalışmalarında, Na-kazeinat örneklerinin $3 \leq \text{pH} \leq 5$ arasında flokülasyona ve agregasyona karşı stabiliteğini kaybettiklerini tespit etmiştir. Pektin içeren emülsiyonlar için, pH 6-7 aralığında pektin moleküllerinin yağ/su ara yüzeyi tarafından adsorplanmadığı ve deplesyon flokülasyonu sebebiyle tersinir agregasyon oluşumu gözlemlenmiştir. Buna karşın pektin içeren örneklerin pH 5 ortamında stabilitesini koruduğunu, pH 3-4 değerlerinde ise az miktarda kremalaşma gözlemlendiği belirtilmiştir.

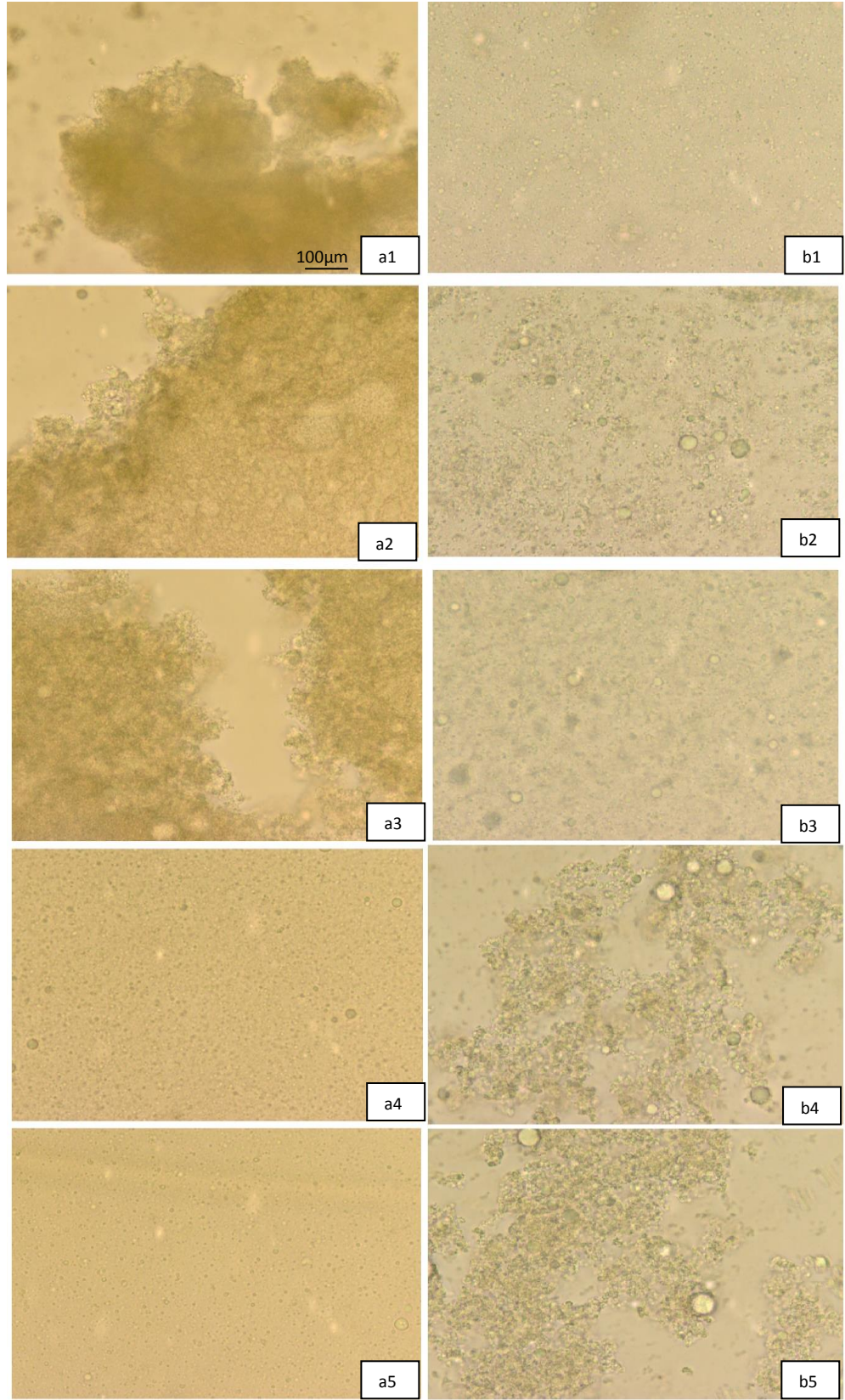
Rasnani et al. (2011), %10 a/a kanola yağı, %0.5 a/a Na-kazeinat, %1.5 a/a pektin %0.75 a/a propilen glikol ve %0.2 a/a NaCl a/a ile hazırladığı çok tabakalı emülsiyonun pH 5-7 arasında gösterdiği fiziksel stabiliteyi araştırmıştır. Çok tabakalı yapının pH 5 ortamında oluşturulduğu belirtilmiştir. Negatif yüklü damlacık yüzeyine yine negatif yüklü bir polimerin adsorplanması, protein yüzeyinde bulunan amino grupları ($-\text{NH}_2$) ile pektin molekülünde bulunan karboksil gruplarının ($-\text{COOH}$) elektrostatik etkileşime geçmesi vasıtasıyla

olduğu açıklanmaktadır. pH 7 ortamında ise negatif yüklü protein yüzeyi ile negatif yüklü pektin molekülleri arasında güçlü bir elektriksel itme kuvveti oluşması sebebiyle çok tabakalı yapının oluşmadığını belirtilmiştir.

Katsuda et al. (2008), %10 a/a balık yağı, %1.0 a/a Na-kazeinat, %0.025-0.4 a/a arasında pektin kullanarak ve pH 3 ortamında oluşturduğu emülsiyon sistemlerinin pH 3-7 arasındaki fiziksel stabilitelerini araştırmıştır. Çalışmada pH 6-7 arasında yağ globülleri ile pektin molekülleri arasında elektrostatik bir etkileşim gerçekleşmediği, pH 5.0 ortamında ise Na-kazeinat ile pektin arasında elektrostatik bir etkileşim meydana geldiği belirtilmiştir. pH 4 ve 5'te ortama turuncu pektininin eklenmesi ile herhangi bir kremalaşma gözlenmemektedir. Ayrıca pH 6 ve 7 ortamlarında birincil ve ikincil emülsiyonların her ikisinin de kremalaşmaya karşı stabil kaldığı tespit edilmiştir. Pektin moleküllerinin sahip olduğu pKa 3.5 değerinden düşük pH değerlerinde ise sistemde kuvvetli bir agregasyon belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda;

Na-kazeinat içeren tek tabakalı örneklerin pH 6-7 arasında fiziksel stabilitesini koruduğu fakat proteinin izoelektrik noktası civarında ($pI \approx 4.6$) olan pH değerlerinde (4-5) sistemde büyük ölçüde flokülasyon olduğu (Bkz. Şekil 4.22) ve kremalaşma gerçekleşerek serum fazının ayrıldığı (Bkz. Şekil 4.20) belirlenmiştir.



Şekil 4.22. Emülsiyon örneklerinin optik mikroskop ile çekilen görüntüleri a)Na-kazeinat, Ph değerleri; a1)3.0, a2)4.0, a3)5.0, a4)6.0, a5)7.0. b) Na-kazeinat+pektin pH değerleri;b1)3.0, b2)4.0, b3)5.0, b4)6.0, b5)7.0

pH 3 ortamında ise sistemde agregasyona uğrayan bir kısım olduğu gibi stabil kalan bir kısmında bulunduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 4.20). Elde edilen sonuçlar literatürde yapılan diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Dickinson et al., 1998; Surh et al., 2006; Katsuda et al., 2008; Rasnani et al., 2011).

Emülsiyon ortamına pektin eklenerek oluşturulan çok tabakalı emülsiyon örnekleri yüksek pH değerlerinde (6-7) fiziksel stabilitelerini kaybetmiş, emülsiyon yapısında yüksek düzeyde flokülasyon ve koalesans olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 4.20 ve 4.22). Na-kazeinat ile kaplı damlacık yüzeyine pektin moleküllerinin adsorpsiyonu proteinin izoelektrik noktasından ($pI \approx 4.6$) yüksek pH ortamlarında giderek azalmaktadır. Bu pH değerlerinde negatif yüklenen Na-kazeinat ile negatif yüklenen pektin molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşim itme kuvvetine dönüşmekte ve pektin moleküllerinin yüzeyden desorpsiyonu gerçekleşmektedir. Proteinlerin izoelektrik noktalarına yakın pH değerlerinde anyonik polisakkaritler ve anyonik proteinler arasında her ikisi de negatif yüklenmesine rağmen, proteinlerin amino grubu ($-NH_2$) ile polisakkaritin yapısındaki karboksil grup ($-COOH$) arasındaki elektrostatik çekme kuvveti devam edebilmektedir (Langendorff et al., 1999; Gu et al., 2004; Surh et al., 2006). Mevcut çalışmada da Na-kazeinatın pI değerine yakın pH 5 ortamında pektin içeren örneklerde herhangi bir kremalaşma tespit edilmemiş (Bkz. Şekli 4.20 ve 4.21) ve yapısında sadece az miktarda flokülasyon gözlenmiştir (Bkz. 4.22). Bulunan sonuçlar literatürde bu konuda yapılan çalışmalarla uyum içindedir (Dickinson et al., 1998; Surh et al., 2006; Katsuda et al., 2008; Rasnani et al., 2011).

Pektin içeren çok tabakalı emülsiyon örnekleri düşük pH değerlerinde (3-4) Na-kazeinatın pozitif ($pI \approx 4.6$) ve pektin moleküllerinin negatif yüklenmesi (pK_a 3-4) sonucu aralarında güçlü bir elektrostatik etkileşim oluşmuş ve pektin protein ile kaplı damlacık yüzeyine ikinci bir tabaka olarak adsorplanmıştır. Sistemde herhangi bir krema oluşumu gözlenmemiştir (Bkz. Şekil 4.20). Bulunan

sonuçlar literatürde yapılmış olan önceki çalışmalar ile farklılık göstermektedir (Dickinson et al., 1998; Surh et al., 2006; Katsuda et al., 2008; Rasnani et al., 2011). Önceki çalışmalarda pH 3 ortamında tespit edilen az miktardaki kremalaşma ve floküasyon mevcut çalışmada tespit edilmemiş ve bu pH değeriinde hazırlanan çok tabakalı emülsiyon 7 günlük depolama sonucunda stabil kalmıştır. Bunun olası nedenlerinden birinin pektinin pKa noktasının 3-4 arasında (genellikle $\approx$ 3.5) olması sebebiyle çalışmalarda kullanılan pektin türünün farklılığından kaynaklandığı düşünölmektedir.

5. SONUÇ

Keten tohum yağının yapısında bulunan yüksek orandaki α -linolenik asit, bu yağ türünü omega-3 yağ asitleri açısından en zengin kaynaklardan biri yapmaktadır (Bloedon et al., 2004; İşleroğlu vd., 2005). Fakat bu yağ türünün oksidatif stabilitesinin düşük olması, keten tohum yağının kullanım ve tüketim alanlarını sınırlayan en önemli faktörlerden biridir (Oomah, 2001). Mevcut çalışmada, keten tohum yağı ile oluşturulan çok tabakalı yağ/su emülsiyon yapısında, kat-kat (layer-by-layer) elektrostatik depolama yöntemi kullanılmıştır. Oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapısı ile geleneksel yağ/su emülsiyonunun pH stabilitesi ve oksidatif stabilitesinin arttırılması amaçlanmıştır.

Çalışmanın birinci bölümünde, hazırlandığı koşullarda fiziksel stabilitesini koruyan tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon yapıları hazırlanmıştır. Geleneksel tek tabakalı emülsiyon oluşumunda değişen konsantrasyonlarda (%0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5 a/a) Na-kazeinat emülgatör olarak kullanılmıştır. Çok tabakalı yapının oluşumunda ise yağ damlacıklarının etrafında oluşturulacak ikinci tabaka pektin biyopolimeri ile pH 3 ortamında hazırlanmıştır. Değişen konsantrasyonlarda (%0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 ve 1.5 a/a) pektin içeren örnekler, pH 7’de hazırlanan yağ/su emülsiyonuna eklenerek ortam pH değeri 3’e düşürülmüştür. Böylece emülgatör tarafından oluşturulan yağ/su ara yüzeyi pozitif yük ile yüklenirken, pektin molekülleri negatif yüklenmiş ve yağ/su ara yüzeyine elektrostatik çekim kuvveti ile adsorplanarak damlacıklar etrafında ikinci tabakayı oluşturmuştur. Emülsiyon yapılarının karakterizasyonu için partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, 7 günlük depolama süreci sonunda ise bulanıklık değeri, kremalaşma indeksi, görsel değerlendirme ve optik mikroskop yöntemi ile emülsiyon yapısının görüntülenmesi yöntemleri kullanılmıştır.

Elde edilen analiz sonuçlarına göre, tek tabakalı emülsiyon örneklerinde ≤ 0.5 a/a Na-kazeinat konsantrasyonuna sahip örneklerde köprü flokülasyonu ve koalesans oluşumu gözlenmiştir. Na-kazeinat oranının daha yüksek konsantrasyonlarında (% 1.0 ve %1.5 a/a) ise, bir haftalık depolama süreci sonunda çekilen optik mikroskop fotoğrafları yapıda yer yer deplesyon flokülasyonunun oluştuğunu göstermiştir. %0.7 a/a Na-kazeinat konsantrasyonunun ortalama partikül çapı ve zeta-potansiyel ölçümlerinde uygun sonuçlar verdiği, 1 haftalık süreç sonunda stabilitesinin bozulmadığı, maksimum bulanıklık değerine ise bu konsantrasyonda erişildiği görülmüştür. Ayrıca optik fotoğraflarda %0.7 a/a Na-kazeinat konsantrasyonuna sahip örneğin homojen bir partikül dağılımına sahip olduğu belirlenmiştir. Böylece birincil yağ/su emülsiyonunun oluşumunda emülgör miktarı olarak %0.7 a/a Na-kazeinat kullanılmasına karar verilmiştir.

Çok tabakalı ikincil emülsiyon yapısında, 1 haftalık depolama süresi sonunda çekilen optik fotoğraflarda, ortamda %1.0 a/a konsantrasyonuna kadar köprü flokülasyonun gerçekleştiği ve yer yer koalesans oluşumu gözlenmiştir. %1.5 a/a pektin konsantrasyonunda ise bulanıklık değeri maksimum değerine ulaşırken, kremalaşma indeksi sıfır hesaplanmıştır. Ayrıca, optik fotoğraf görüntülerinde sadece %1.5 pektin konsantrasyonunun sahip örnekte homojen partikül dağılımı ve stabil bir yapı belirlenmiştir. Böylece yağ damlacıklarının çevresinde oluşturulacak ikincil bir katman için gerekli pektin miktarı %1.5 a/a olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, emülsiyon yapılarının oksidatif stabilitesinin belirlenmesi için tek tabakalı emülsiyon (%10 keten tohum yağı, %0.7 Na-kazeinat) ve çok tabakalı emülsiyon (%5 keten tohum yağı, %0.35 Na-kazeinat, %1.5 pektin) yapılarından oluşan örnekler 55°C de 22 gün boyunca etüv ortamında depolanmıştır. Yapılan analiz sonuçlarına göre, 17 günlük depolama sonucunda peroksit değeri pektin ile oluşturulan ikincil emülsiyonda Na-kazeinat ile oluşturulan birincil emülsiyona kıyasla daha düşük bir değerdir. Ayrıca 10

günlük depolama sonucunda TBARS değerleri ikincil emülsiyon örneklerinde, birincil emülsiyona kıyasla daha düşük seviyede kalmıştır.

Ayrıca, tek tabakalı ve çok tabakalı emülsiyon örneklerinin ortam pH değerleri 3-7 arasında değiştirilerek pH değişimine karşı gösterdikleri kararlılık durumları karşılaştırılmıştır. Emülsiyon stabilitesinin ölçümünde partikül boyut dağılımı, zeta-potansiyel ölçümü, kremalaşma indeksi ve optik görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır. Na-kazeinat içeren tek tabakalı örneklerin pH 6-7 arasında fiziksel stabilitesini koruduğu fakat pH 4-5 ortamında sistemde büyük ölçüde flokülasyon ve kremalaşma gerçekleşerek serum fazının ayrıldığı belirlenmiştir. pH 3 ortamında ise sistemde agregasyona uğrayan bir kısım olduğu gibi stabil kalan bir kısmında bulunduğu tespit edilmiştir. Emülsiyon ortamına pektin eklenerek oluşturulan çok tabakalı emülsiyon örnekleri ise yüksek pH değerlerinde (6-7) fiziksel stabiliteyi kaybetmiş, flokülasyon ve koalesans oluşumu tespit edilmiştir. pH 5 ortamında pektin içeren örneklerde herhangi bir kremalaşma tespit edilmemiş, düşük pH değerlerinde (3-4) ise Na-kazeinatın ve pektin molekülleri arasında oluşan güçlü bir elektrostatik etkileşim ile pektin protein ile kaplı damlacık yüzeyine ikinci bir tabaka olarak adsorplanmıştır. Analiz sonuçlarına göre, pektin içeren çok tabakalı emülsiyon yapılarının tek tabakalı yapının stabilitesini koruyamadığı pH 3-5 aralığında stabil kaldığı belirlenmiştir. Fakat çok tabakalı emülsiyon yapısı pH 6-7 aralığında fiziksel stabiliteyi kaybetmiş, emülsiyon yapısında yüksek düzeyde flokülasyon ve koalesans oluştuğu tespit edilmiştir.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda, kat-kat (layer-by-layer) elektrostatik depolama yöntemi kullanılarak oluşturulan çok tabakalı emülsiyon yapısının belli koşullar altında tek tabakalı geleneksel emülsiyon yapısının oksidatif ve fiziksel stabilitesini iyileştirdiği görülmektedir. Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların bu konu hakkında yapılacak yeni çalışmalara kaynak olacağı ve literatürde bulunan eksikliği gidereceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Allman, M.A., Pena, M.M. and Pang, D.,** 1995, Supplementation with flaxseed oil versus sunflowerseed oil in healthy young men consuming a low fat diet: effects on platelet composition and function, *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(3):169-178.
- Anal, A.K., Tobiassen A., Flanagan, C. and Singh, H.,** 2008, Preparation and characterization of nanoparticles formed by chitosan–caseinate interactions, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 64:104–110.
- Anton, N., Benoit, J. and Saulnier, P.,** 2008, Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-A review, *Journal of Controlled Release*, 128:185–199.
- Aoki, T., Decker, E.A. and McClements, D.J.,** 2005, Influence of environmental stresses on stability of O/W emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique, *Food Hydrocolloids*, 19:209–220.
- Bloedon, L. T. and Szapary, O.P.,** 2004, Flaxseed and cardiovascular risk, *Nutrition Reviews*, 62:18-27.
- Caughey, G.E., Mantzioris, E., Gibson, R.A., Cleland, L.G. and James, M.J.,** 1996, The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil, *The American Society for Clinical Nutrition*, 63(1):116-122.
- Chen, B., McClements, D.J. and Decker, E.A.,** 2010, Role of continuous phase anionic polysaccharides on the oxidative stability of menhaden oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:3779–3784.
- Cho, Y.H. and McClements, D.J.,** 2009, Theoretical stability maps for guiding preparation of emulsions stabilized by protein-polysaccharide interfacial complexes, *Langmuir*, 25(12):6649–57.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chodanowski, P. and Stoll, S.**, 2001, Polyelectrolyte adsorption on charged particles: Ionic concentration and particle size effects: A Monte Carlo approach, *Journal of Chemical Physics*, 115:4951-4960.
- Coupland, J.N. and McClements, D.J.**, 1996, Lipid oxidation in food emulsions, *Trends in Food Science and Technology*, 71:83-91.
- Dalgleish, D.G.**, 2006, Food emulsions-their structures and structure forming properties, *Food Hydrocolloids*, 20:415–422.
- Davis, R.H.**, 1996, Velocities of sedimenting particles in suspensions, *Sedimentation of Small Particles in a Viscous Liquid*, Computational Mechanics Publications, Southampton, Chapter 6.
- Day, L., Xua, M., Hoobin, P., Burgar, I. and Augustin, M.A.**, 2007, Characterisation of fish oil emulsions stabilised by sodium caseinate, *Food Chemistry*, 105:469–479.
- Dickinson, E., Golding, M. and Povey, M. J. W.**, 1997, Creaming and flocculation of oil-in-water emulsions containing sodium caseinate, *Journal Of Colloid And Interface Science*, 185: 515–529.
- Dickinson, E.**, 1998, Structure, stability and rheology of flocculated emulsions, *Current Opinion in Colloid and Interface Science* , 3:633-638.
- Dickinson, E., Semenova, M.G., Antipova, A.S. and Pelan, E.G.**, 1998, Effect of high-methoxy pectin on properties of casein-stabilized emulsions, *Food Hydrocolloids*, 12:425–432.
- Dickinson, E.**, 2003, Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocolloids*, 17:25-39.
- Dickinson, E.**, 2010, Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81:130–140.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dimakou, C., Kiokias, S., Tsaprouni, I. and Oreopoulou, V.,** 2007, Effect of processing and storage parameters on the oxidative deterioration of oil-in-water emulsions. *Food Biophysics*, 2:38-45.
- Fang, Y., and Dalgleish, D.G.,** 1993, Dimensions of the adsorbed layers in oil-in-water emulsions stabilized by caseins, *Journal of Colloid and Interface Science*, 156:329–334.
- Friberg, S.E.,** 2004, Food Emulsion, Markel Dekker, New York, 640p.
- Gönül, N.,** 2000a, Çok Fazlı Sistemler I- Yüzey Kimyası ve Kolloidler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 81, Ankara, 99s.
- Gönül, N.,** 2000b, Çok Fazlı Sistemler II- Süspansiyon ve Emülsiyon Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 82, Ankara, 90s.
- Gu, Y.S., Decker, E.A. and McClements, D.J.,** 2004, Influence of pH and ι -carrageenan concentration on physicochemical properties and stability of β -lactoglobulin-stabilized oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:3626-3632.
- Gu, Y.S., Decker, E.A. and McClements, D.J.,** 2005, Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by multilayer membranes consisting of β -lactoglobulin, ι -carrageenan and gelatin, *Langmuir*, 21: 5752-5760.
- Gudipati, V., Sandra, S., McClements, D.J. and Decker, E.A.,** 2010, Oxidative stability and in vitro digestibility of fish oil-in-water emulsions containing multilayered membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:8093–8099.
- Guzey D., Kim H.J. and McClements D.J.,** 2004, Factors influencing the production of O/W emulsions stabilized by beta-lactoglobulin-pectinmembranes, *Food Hydrocolloids*, 18(6):967–75.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guzey, D. and McClements, D.J.**, 2004, Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by β -lactoglobulin-pectin membranes, *Food Hydrocolloids*, 18:967–975.
- Guzey, D. and McClements, D.J.**, 2006a, Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry, *Advances in Colloid and Interface Science* 128–130:227–248.
- Guzey, D. and McClements, D.J.**, 2006b, Influence of environmental stresses on o/w emulsions stabilized by β -lactoglobulin-pectin and β -lactoglobulin-pectin-chitosan membranes produced by the electrostatic layer-by-layer deposition technique, *Food Biophysics*, 1: 30–40.
- Hong, Y.H. and McClements, D.J.**, 2007, Modulation of pH sensitivity of surface charge and aggregation stability of protein-coated lipid droplets by chitosan addition, *Food Biophysics*, 2:46–55.
- Hu, M., McClements, D.J. and Decker, E.A.**, 2002, Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:1696-1700.
- Hu, M., McClements, D.J. and Decker, E.A.**, 2003, Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:1696-1700.
- Hu, M., Li, Y., Decker, E.A., Xiao, H. and McClements, D.J.**, 2011, Impact of layer structure on physical stability and lipase digestibility of lipid droplets coated by biopolymer nanolaminated coatings, *Food Biophysics*, 6:37–48.
- Huck-Iriart, C., Álvarez-Cerimedo, M.S., Candal, R.J. and Herrera, M.L.**, 2011, Structures and stability of lipid emulsions formulated with sodium caseinate, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 16:412–420.
- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z. Ve Yıldırım, M.**, 2005, Fonksiyonel Bir Gıda Olarak Ketten Tohumu, *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2):23-30.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- James, M.J., Gibson, R.A. and Cleland, L.G.,** 2000, Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production, *American Society for Clinical Nutrition*, 71(1): 343-348.
- Kargar, M., Spyropoulos, F. and Norton, I.T.,** 2011, The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions, *Journal of Colloid and Interface Science*, 357:527–533.
- Katsuda, M.S., Miglioranza, L.H.S., McClements, D.J. and Decker, E.A.,** 2008, Fish oil emulsion stabilized by multilayer membrane composed by casein and pectin, *International Conference of Agricultural Engineering*.
- Kiokias, S., Dimakou, C., and Oreopoulou, V.,** 2007, Effect of heat treatment and droplet size on the oxidative stability of whey protein emulsions, *Food Chemistry*, 105(1):94-100.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., McClements, D.J. and Decker, E.A.,** 2005, Increasing the oxidative stability of liquid and dried tuna oil-in-water emulsions with electrostatic layer-by-layer deposition technology, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11):4561-4566.
- Kong, K. Y. and Muthukumar, M.,** 1998, Monte Carlo study of adsorption of a polyelectrolyte onto charged spheres, *Journal of Chemical Physics*, 109:1522-1527.
- Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B., Michon, C., Parker, A. and De Kruif, C. G.,** 1999, Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: Influence of temperature, *Food Hydrocolloids*, 13:211–218.
- Li, Y., Hub, M., Xiao, H., Dua, Y., Decker, E.A. and McClements, D.J.,** 2010, Controlling the functional performance of emulsion-based delivery systems using multi-component biopolymer coatings, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76:38–47.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Liu, J., Verespej, E., Alexander, M. and Corredig, M.,** 2007, Comparison on the effect of high-methoxyl pectin or soybean-soluble polysaccharide on the stability of sodium caseinate-stabilized oil/water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:6270-6278.
- Malvern Instruments Limited.** “A basic guide to particle characterization”, http://golik.co.il/Data/ABasicGuidtoParticleCharacterization%282%29_1962085150.pdf (Erişim tarihi: 08 Aralık 2013).
- Mancuso, J., McClements, D. and Decker, E.,** 1999, The effects of surfactant type, pH, and chelators on the oxidant of salmon oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:4112-4116.
- Mantzioris E., James M.J., Gibson, R.A. and Cleland, L.G.,** 1994, Dietary substitution with an alpha-linolenic acid-rich vegetable oil increases eicosapentaenoic acid concentrations in tissues, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(6):1304-1309.
- Mantzioris E., James M.J., Gibson, R.A. and Cleland, L.G.,** 1995, Differences exist in the relationships between dietary linoleic and alpha-linolenic acids and their respective long-chain metabolites, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(2):320-324.
- Mazza, G.,** 1998, Flaxseed products for disease prevention in: functional foods, biochemical and processing aspects, Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company, 91-127.
- Mei, L., McClements, D., Wu, J. and Decker, E.,** 1998a, Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsions as affected by surfactant, pH and NaCl, *Food Chemistry*, 61:307-312.
- Mei, L., Decker, E. and McClements, D.,** 1998b, Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:5072-5077.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McClements, D.J., Decker, E.A.,** 2000, Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems, *Journal of Food Science*, 65(8):1270–82.
- McClements, D.J.,** 2005a, Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques, CRC Pres, Florida, 608p.
- McClements, D.J.,** 2005b, Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions, *Langmuir*, 21: 9777-9785.
- McClements, D.J., Decker, E.A. and Weiss, J.,** 2007, Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components, *Journal of Food Science*, 72(8):109-124.
- McClements, D.J.,** 2007, Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:611–649.
- McClements, D.J., Decker, E.A., Park, Y. and Weiss, J.,** 2009, Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49:577–606.
- McClements, D.J.,** 2010, Design of nano-laminated coatings to control bioavailability of lipophilic food components, *Journal Of Food Science*, 75(1):30-42.
- McClements, D.J. and Rao, J.,** 2011, Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:285–330.
- McClements, D.J.,** 2012, Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 17:235–245.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McDonald, R.E. and Hultin, H.O.**, 1987, Some characteristics of the enzymic lipid peroksidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle, *Journal of Food Science*, 52(1):15-20.
- Moreau, L., Kim H., Decker, E.A. and McClements, D.J.**, 2003, Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by β -lactoglobulin-pectin membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6612-6617.
- Ogawa, S., Decker, E.A. and McClements, D.J.**, 2003a, Production and characterization of o/w emulsions containing cationic droplets stabilized by lecithin-chitosan membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2806-2812.
- Ogawa, S., Decker, E.A. and McClements, D.J.**, 2003b, Influence of environmental conditions on the stability of oil in water emulsions containing droplets stabilized by lecithin-chitosan membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:5522-5527.
- Ogawa, S., Decker, E.A. and McClements, D.J.**, 2004, Production and characterization of o/w emulsions containing droplets stabilized by lecithin-chitosan-pectin multilayered membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:3595-3600.
- Oomah, B.D.**, 2001, Flaxseed as a functional food source, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:889-884.
- Osborn, H. and Akoh, C.**, 2004, Effect of emulsifier type, droplet size, and oil concentration on lipid oxidation in structured lipid-based oil-in-water emulsions, *Food Chemistry*, 84:451-456.
- Perrechil, F.A. and Cunha, R.L.**, 2013, Stabilization of multilayered emulsions by sodium caseinate and k-carrageenan, *Food Hydrocolloids*, 30:606-613.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Poptoshev, E., Schoeler, B. and Caruso, F.**, 2004, Influence of solvent quality on the growth of polyelectrolyte multilayers, *Langmuir*, 20(3):829–34.
- Rasnani, N.M., Mirhosseini, H., Sham bin Baharin, B. and Tan, C.P.**, 2011, Effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(1):129 - 135.
- Schönhoff M.**, 2003, Layered polyelectrolyte complexes: physics of formation and molecular properties, *Journal of Physics: Condensed Matter*, 15:1781–808.
- Shanta, N.C. and Decker, E.A.**, 1994, Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids, *Journal of AOAC International*, 77(2):421-424.
- Shi, X. Y. and Caruso, F.**, 2001, Release behavior of thin-walled microcapsules composed of polyelectrolyte multilayers, *Langmuir*, 17:2036–2042.
- Shimada, K., Muta, H., Nakamura, Y., Okada, H., Matsuo, K., Yoshioka, S., Matsudaira, T. and Nakamura, T.**, 1994, Iron-binding property and antioxidative activity of xanthan on the autoxidation of soybean oil in emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (8):1607–1611.
- Silvestre, M., Chaiyasit, W., Brannan, R., McClements, D.J. and Decker, E.A.**, 2000, Ability of surfactant head group size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:2057-2061.
- Srinivasan, M., Singh, H., and Munro, P.A.**, 2001, Creaming stability of oil-in-water emulsions formed with sodium and calcium caseinates, *Journal of Food Science*, 66(3):441-446.
- Sun, C. and Gunasekaran, S.**, 2009, Effect of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum, *Food Hydrocolloids*, 23(1):165-174.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Surh, J., Gu, Y. S., Decker, E. A. and McClements, D. J.,** 2005, Influence of environmental stresses on stability of o/w emulsions containing cationic droplets stabilized by SDS-fish gelatin membranes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:4236–4244.
- Surh, J., Decker, E.A. and McClements, D.C.,** 2006, Influence of pH and pectin type on properties and stability of sodium-caseinate stabilized oil-in-water emulsions, *Food Hydrocolloids*, 20:607–618.
- Walstra, P.,** 2003, Studying food colloids: Past, present and future, *Food Colloids, Biopolymers and Materials*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 425p.
- Waraho, T., McClements, D.J. and Decker, E.A.,** 2011, Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions, *Trends in Food Science and Technology*, 22:3-13.
- Weiss, J., Takhistov, P. and McClements, D.J.,** 2006, Functional materials in food nanotechnology, *Journal Of Food Science*, 71(9):107-116.
- Yang, T.S., Liu, T.T. and Hu, T.F.,** 2011, Effects of lecithin and pectin on riboflavin-photosensitized oxidation of orange oil in a multilayered oil-in-water emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59:9344–9350.
- Ye, A., Hemar, Y. and Singh, H., 2004a,** Influence of polysaccharides on the rate of coalescence in oil-in-water emulsions formed with highly hydrolyzed whey proteins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:5491–5498.
- Ye, A., Hemar, Y. and Singh, H., 2004b,** Enhancement of coalescence by xanthan addition to oil-in-water emulsions formed with extensively hydrolysed whey proteins, *Food Hydrocolloids*, 18:737–746.
- Ye, A.,** 2008, Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 43:406–415.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında İzmir’de doğan Canan KARTAL, lise eğitimini Bornova Anadolu Lisesi’nde tamamlamıştır. 2002 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde başladığı lisans eğitimini 2007 yılında tamamlamıştır. Lisans eğitiminin 5. yarıyılında Erasmus Öğrenci Değişim programı ile Università degli Studi di Napoli Federico II-Napoli (İtalya) üniversitesinde 1 dönemlik eğitim almıştır. Bir süre özel sektörde vardiya mühendisi ve Ar-Ge uzmanı pozisyonlarında görev yapmıştır. 2010 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Üretim Yönetimi ve Endüstri İşletmeciliği (Tezsiz) alanında yüksek lisans eğitimini tamamlamıştır. Aynı yıl İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlamış ve 2012 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde geçiş yaparak araştırma görevlisi görevine başlamıştır.