

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**SİYANOBAKTERİLERDEN DOĞAL RENK MADDESİ
FİKOSİYANİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE
EDİLMESİ, ENKAPSÜLASYONU, MODEL GIDA
SİSTEMLERİ İÇİNDE KULLANIMI VE STABİLİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

Işıl İLTER

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Figen ERTEKİN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 20.01.2017

Bornova-İZMİR

2017

İşıl İLTER tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Siyanobakterilerden Elde Edilen Doğal Renk Maddesi Fikosiyaninin Farklı Yöntemlerle Enkapsülasyonu, Model Gıda Sistemleri İçinde Kullanımı ve Stabilitésinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğı ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerdendirilerek savunmaya değerd bulunmuş ve 20 Ocak 2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliğı/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Figen ERTEKİN

.....

Raportör Üye

: Prof. Dr. Filiz İÇİER

.....

Üye

:Yrd. Doç. Dr. Hilal İŞLEROĞLU

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Siyanobakterilerden Doğal Renk Maddesi Fikosiyaninin Farklı Yöntemlerle Ekstrakte Edilmesi, Enkapsülasyonu, Model Gıda Sistemleri İçinde Kullanımı ve Stabilitésinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

20/01/2017

Işıl İLTER

ÖZET

SİYANOBAKTERİLERDEN DOĞAL RENK MADDESİ FİKOSİYANİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLMESİ, ENKAPSÜLASYONU, MODEL GIDA SİSTEMLERİ İÇİNDE KULLANIMI VE STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

İLTER, Işıl

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Figen ERTEKİN

Ocak 2017, 203 Sayfa

Renk gıdalarda tüketicinin dikkatini çeken, albeniyi arttıran özelliklerin başında gelmektedir. Tüketicilerin taleplerindeki değişiklikler ve ülkelerin mevzuatları doğrultusunda sentetik renklendiricilerin kullanımı her geçen gün azalmaktadır. Doğal renk maddelerinden biri olan fikosiyanın, sağlamış olduğu mavi renkten ötürü ticari açıdan oldukça önemli bir doğal renklendiricidir. Bu tez çalışmasında doğal renk maddesi üretimi için *Spirulina platensis*'den mavi renge sahip fikosiyanın üretimi (ekstraksiyon ve saflaştırma) ve bu pigmentlerin enkapsülasyon teknolojisi ile çevresel koşullara karşı stabilitelerinin arttırılması ve model gıda örnekleri içerisinde bu doğal renklendiricilerin kullanımı gerçekleştirilmiştir. Öncelikle fikosiyanın en uygun kullanım koşulları göz önünde bulundurularak, kuru, dondurulmuş ve yaş olmak üzere 3 farklı formunun ve distile su, Na-fosfat tampon pH 7 çözeltisi ve % 1,5 CaCl₂-su çözeltisi içerisinde en iyi çözücü tipinin etkisi araştırılmıştır. En yüksek (55.33 mg/g) toplam fikosiyanın miktarını veren dondurulmuş form ve % 1,5 CaCl₂-su çözeltisi seçilerek klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemlerine özgü işlem değişkenleri (biyokütle/çözgen oranı, süre, titreşim, hız, güç) maksimum fikosiyanın dikkate alınarak CCRD deneme desenine göre optimizasyon çalışması yürütülmüştür. Gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında yüksek toplam fikosiyanın konsantrasyonu ve albenisi yüksek mavi rengin elde edilmesinde, klasik ekstraksiyon yöntemiyle gerçekleştirilen ekstraksiyon seçilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemiyle optimum işlem koşulunda ekstrakte edilen toplam fikosiyanın %30-70 amonyum sülfat çöktürme ve diyaliz yöntemi ile saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur.

Saflaştırılan fikosiyaninin püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri ile enkapsüle edilerek çevresel koşullara karşı stabilitelerinin artırılması amaçlanmıştır. Her bir enkapsülasyon yöntemi için uygun kaplama materyali kombinasyonunun karışım oranlarını ve enkapsülasyon yöntemine özgü işlem parametrelerini belirlemek amacıyla birleşik D-Optimal dizayn deneme desenine göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında enkapsülasyon etkinliği yanıt olarak seçilmiştir. Design-Expert paket programı kullanılarak belirlenen optimum püskürtmeli kurutucu koşulları; kaplama materyali karışım oranı %34.4 maltodekstrin, %65.6 peyniraltı suyu protein izolatı ve hava giriş sıcaklığı 167.6°C şeklindedir. Diğer bir mikroenkapsülasyon yöntemi olan koaservasyon işleminde Design-Expert paket programı kullanılarak belirlenen optimum koşullar kaplama materyali karışım oranı %26.67 gum arabik, %73.33 jelatin ve çözelti sıcaklığı 45.68°C olarak belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmasında yanıt olarak kullanılmayan fakat mikroenkapsüle fikosiyanin örnekleri için oldukça önemli olan mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik değerleri, partikül çapı, açıklık, tekdüzelik, partikül morfolojisi, FT-IR özellikleri de incelenmiştir.

Saflaştırılmış ve enkapsüle edilmiş fikosiyaninin farklı sıcaklık, pH ve aydınlık/karanlık ortam koşullarında stabilitesi belirlenmiştir. Belirlenen en stabil pH, sıcaklık ve ışık ortamında, gıda katkı maddesine karşı stabilite çalışması gerçekleştirilen tüm örneklerde katkı maddelerinin eklenmesinin ürünlerin stabilitesine katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Tüm stabilite koşullarındaki toplam fikosiyanin miktarı bozunma kinetiği ile belirlenmiş ve yarılanma ömrü hesaplanmıştır. Enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin, iki farklı yöntemle enkapsüle edilmiş fikosiyaninin ve sentetik mavi renklendirici Brillant blue (E133)'nun renklendirici olarak; krem şanti, dondurma, krem, asitli ve gazlı içecek, jöle ve kek pişirme gibi model gıdalar içerisinde kullanımı ve stabilitesi test edilmiştir. Enkapsüle edilmiş ve edilmemiş fikosiyanin örneklerinin ürünün görünüş, doku ve tat kriterleri üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Yüksek ısı işlem etkisiyle kek pişirme sırasında fikosiyanin içeren örneklerde renk kaybı olduğu da yapılan denemelerde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fikosiyanin, mikrodalga ekstraksiyon, ultrasonik ekstraksiyon, enkapsülasyon, koaservasyon, püskürtmeli kurutma, stabilite, model gıda

ABSTRACT**EXTRACTION AND ENCAPSULATION OF NATURAL COLORANT
PHYCOCYANIN OBTAINED FROM CYANOBACTERIA WITH DIFFERENT
METHODS AND ITS STORAGE STABILITY AND USE IN MODEL FOODS**

İLTER, Işıl

MSc in Food Eng.

Supervisor: Prof. Dr. Figen ERTEKİN

Ocak 2017, 203 Pages

Color is one of the major features that attract customers and makes the foods more desirable. Due to varying demand of customer and food legislations, use of synthetic colorants is being decreased day by day. Phycocyanin is a commercially important colorant due to its blue color. For sustainable and innovative production of natural colorants, *Spirulina platensis* was used for the production (extraction, purification) of blue colored phycocyanin and encapsulation of pigments for improved stability against environmental conditions and usage of these natural colorants in model food samples are also aimed in this study.

In the first stage of the study the effect of 3 different forms of biomass which are dry, frozen, wet forms and most suitable solvent type among distilled water, Na-Phosphate pH7 suspension and 1.5 % CaCl_2 -water solution was analyzed, due to possible field of application, and the most convenient pretreatment method was investigated. According to the results, the highest total phycocyanin content (55.33 mg/g) was extracted from frozen biomass and 1.5 % CaCl_2 -water solution as a solvent. After determining the most suitable pretreatment and solvent type for phycocyanin, the process variables of classic homogenizing, ultrasonic and microwave extraction methods (solvent/biomass ratio, time, vibration, speed, power) was optimized considering the CCRD experimental design to enrich maximum phycocyanin concentration and attractive blue color. Ammonium sulphate precipitation (%30-70) and dialysis method were used for purification of total phycocyanin which was extracted via classic homogenization method at optimum condition.

Improvement of stabilization of purified food grade phycocyanin against environmental conditions is achieved by encapsulation using spray drying and coacervation methods. For determining the suitable coating material combination ratios and specific process parameters of encapsulation method, optimization will be done according to combined D-Optimal design trial patterns for each encapsulation method. Microencapsulation efficiency is chosen as the response in the optimization. Optimum spray drying condition was determined using the Design-Expert package program; The coating material combination ratios is 34.4% maltodextrin, 65.6% whey protein isolation and the air inlet temperature is 167.6 ° C. In the coacervation process, which is another microencapsulation method, optimum coating material combination ratios and inlet temperature determined by Design-Expert package program was 26.67% gum arabic, 73.33% gelatin and inlet temperature of 45.68 ° C. Microencapsulation yield, total phenolic content, Hunter L *, a * and b * color values, moisture content, water activity, solubility, particle diameter, span, uniformity, particle morphology, and FT-IR characteristics were also examined which are not used in the optimization study but are very important for microencapsulated phycocyanin samples.

The last stage of the study was defining the stability of the purified and encapsulated phycocyanin in various temperatures, pH, illumination conditions and food additives. After determining the optimum stable temperature, pH, illumination conditions, stability analyses for food additives are performed. Accordingly, it was observed that all food additives contributed to maintain the stability of the products. Total phycocyanin content at different conditions was determined by degradation kinetics. The colorant is used in model foods like whipped cream, ice cream, crème, acidic and fizzy drinks, jelly and cake for testing the storage stability of the color. It has been observed that the samples of encapsulated and non-encapsulated phycocyanin have no effect on the appearance, texture and taste criteria of the model foods. It has also been determined that a loss of color in samples containing phycocyanin is present due to the effect of high heat treatment during baking of cakes.

Keywords: Phycocyanin, microwave extraction, ultrasonication, encapsulation, coacervation, spray drying, stability, model foods

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yol gösteren saygı değer hocam, danışmanım Prof. Dr. Figen ERTEKİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan ve yılmadan her konuda desteğini esirgemeyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi öğretim üyesi Yrd. Doç Dr. Mehmet KOÇ'a çok teşekkür ederim.

Çalışma süresince yılmadan, büyük özveriyle yer alan, yardımını her zaman hissettiğim Dr. Zeliha DEMİREL'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca hem yardımlarını esirgemeyen hem de manevi destekleri ile her zaman hissettiğim başta proje arkadaşım Saniye AKYIL'a ve çok değerli çalışma arkadaşlarım Esra DEVSEREN, Dilara TOMRUK, Ulaş BAYSAN, Özgün KÖPRÜALAN ve Zeynep ATAK'a çok teşekkür ederim. Her konuda yardımını esirgemeyen, manevi desteği ve sabrıyla her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım Ceren ORAK ve Mehmet ÜSTÜNDAŞ'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan her şeyimi borçlu olduğum sevgili annem Kadriye İLTER, babam Kaya Baştuğ İLTER, abim Anıl İLTER, ablam Çiğdem İLTER ve canım yeğenim Evrim İLTER'e çok teşekkür ederim.

Tezime mali yönden destek olan TÜBİTAK TOVAG'a (Proje No: 115 O 578) ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerine (Proje No: 15-MÜH-025) ayrıca bilgi ve tecrübeleriyle projemize katkıda bulunan Prof. Dr. Meltem CONK DALAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxiii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xxx
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Siyanobakteriler ve <i>Spirulina platensis</i>	4
2.2. Fikosiyanin	6
2.2.1. Fikosiyaninin Yapısı	6
2.3. Fikosiyaninin Ekstraksiyonu	10
2.3.1. Ekstraksiyon yöntemleri	12
2.4. Fikosiyaninin Kullanım Alanları	17
2.5. Mikroenkapsülasyon.....	19
2.5.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi.....	24
2.5.2. Koaservasyon yöntemi.....	28
2.6. Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)	32

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.6.1. D-Optimal dizayn	35
2.6.2. Merkezi tümleşik tasarım (Central Composite Rotatable Design).....	38
2.6.3. Optimizasyon.....	40
3. MATERYAL ve YÖNTEM	41
3.1. Materyal	41
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Fikosiyanin ekstraksiyonu	41
3.2.2. Fikosiyaninin mikroenkapsülasyonu	44
3.2.3. İstatistiksel analiz	51
3.2.4. Fikosiyanin stabilitesinin belirlenmesi	52
3.2.5. Model gıda denemeleri	52
3.3. Analiz Yöntemleri.....	53
3.3.1. Ekstraktlarda toplam fikosiyanin miktarının belirlenmesi	53
3.3.2. Enkapsüle ürünlerde yüzeydeki fikosiyanin miktarının belirlenmesi	54
3.3.3. Enkapsüle ürünlerde toplam fikosiyanin miktarının belirlenmesi	54
3.3.4. Mikroenkapsülasyon etkinliği	54
3.3.5. Mikroenkapsülasyon verimi	55
3.3.6. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	55
3.3.7. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	56

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.3.8. Emülsiyon stabilitesi ve Mikroskopik yapı.....	57
3.3.9. Zeta potansiyeli.....	57
3.3.10. FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy) analizi.....	57
3.3.11. Çözünübilirlik analizi.....	58
3.3.12. Renk değerleri.....	58
3.3.13. Toz ürünün fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi:.....	58
3.3.14. Duyusal analiz.....	59
3.4. Kinetik modelleme.....	60
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	61
4.1. Fikosiyanin Ekstraksiyonu	61
4.1.1. Biyokütleden toplam fikosiyanin ekstraksiyonunda önışlemin belirlenmesi ve çözgen tipi seçimi.....	61
4.1.2. Biyokütleden toplam fikosiyaninin farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstraksiyonu	69
4.1.3. Toplam fikosiyanin ekstraksiyonu için en uygun yöntemin belirlenmesi	101
4.2. Fikosiyaninin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu	102
4.3. Fikosiyaninin Mikroenkapsülasyonu.....	104
4.3.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon	104

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.3.2. Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon	141
4.4. Fikosiyanin Stabilitesinin Belirlenmesi ve Kinetik modelleme	163
4.5. Model gıda denemeleri	178
5. Sonuç	181
KAYNAKLAR DİZİNİ	184
ÖZGEÇMİŞ	203
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Fikobilizomlar içinde fikobiliproteinlerin yerleşimi (MacColl, 1998)	5
Şekil 2.2. Fikosiyanobilin yapısı (MacColl, 1998).....	7
Şekil 2.3. Fikosiyaninin I ve J zincirlerinin yapısı (MacColl, 1998).....	8
Şekil 2.4. Fikosiyanin monomerinin üç boyutlu yapısı ve sematik serit gösterimi (Adir et al., 2001).....	9
Şekil 2.5. Fikosiyaninin trimer ve hegzamer yapılarının görünümü (Adir and Lerner 2003)....	9
Şekil 2.6. Ultrasonik banyonun şematik gösterimi.....	14
Şekil 2.7. Mikrodalga ekstraktörü şematik gösterimi (Büyüktuncel, 2012).....	16
Şekil 2.8. Farklı tiplerde mikrokapsül morfolojileri (Gibbs et al., 1999).....	20
Şekil 2.9. Püskürtmeli kurutucu şematik gösterimi ve işlem basamakları	24
Şekil 2.10. Kompleks koaservasyon yönteminin prensibi (Madene et al., 2006)	29
Şekil 2.11. Yanıt Yüzey Yönteminin Akış Şeması	35
Şekil 2.12. Düzensiz deneme bölgelerini gösteren örnek şematik diyagramlar (Eriksson, 2008)	36
Şekil 2.13. D-optimal deneme dizaynı şematik gösterimi (Eriksson, 2008)	37
Şekil 2.14. D-optimal deneme dizaynında proses ve karışım faktörlerinin bir arada incelenmesi (Eriksson, 2008)	37
Şekil 2.15. Örnek bir CCRD modeli.....	39
Şekil 3.1. Çift katmanlı fikosiyanin emülsiyonunun damlacık yapısı	45

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 4.1. <i>S. platensis</i> biyokütlesine 3 farklı çözügen ile işlem sonucu elde edilen mikroskop görüntüleri (A: <i>S. platensis</i> işlem görmemiş biyokütle, B: Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ile elde edilen <i>S. platensis</i> , C: Distile su ile elde edilen <i>S. platensis</i> , D: %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi ile elde edilen <i>S. platensis</i>).	68
Şekil 4.2. Toplam fikosiyanın miktarı için modelden (Eş.4.1) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler	75
Şekil 4.3. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri	76
Şekil 4.4. Toplam fikosiyanın miktarı için modelden (Eş.4.2) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler	86
Şekil 4.5. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri	86
Şekil 4.6 Toplam fikosiyanın miktarı için modelden (Eş.4.3) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler	96
Şekil 4.7. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri	97
Şekil 4.8. <i>S. platensis</i> biyokütlesine 3 farklı yöntem ile optimum koşuldaki işlem sonucu elde edilen ekstraktların görüntüleri (A: Klasik ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt, B: Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt, C: Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt.	101

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 4.9. %10 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri A ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı A ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; A ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	106
Şekil 4.10. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri B ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı; B ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; B ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	106
Şekil 4.11. %30 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri C ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı; C ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; C ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	106
Şekil 4.12. %10 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri D ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı; D ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; D ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	107
Şekil 4.13. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri E ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı; E ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; E ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	107
Şekil 4.14. %30 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri F ₁ : 10000 dev/dak karıştırma hızı; F ₂ : 12500 dev/dak karıştırma hızı; F ₃ : 15000 dev/dak karıştırma hızı	107
Şekil 4.15. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri. K ₁ :MD+WPI (1:1), K ₂ :MD+WPI (1:2), K ₃ :MD+WPI (2:1), L ₁ :Gum Arabik+WPI (1:1), L ₂ :Gum Arabik+WPI (1:2), L ₃ :Gum Arabik+ WPI (2:1), M ₁ :Gum Arabik+ Na-kazeinat (1:1), M ₂ : Gum Arabik+ Na-kazeinat (1:2), N ₁ :MD+ Na-kazeinat (1:1), N ₂ : MD+ Na-kazeinat (1:2), N ₃ : MD+ Na-kazeinat (2:1)	111

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 4.16. Mikroenkapsülasyon etkinliği için modelden (Eş.4.4) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler	119
Şekil 4.17. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda mikroenkapsülasyon etkinliği için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri.....	119
Şekil 4.18 D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerine ait SEM görüntüleri	136
Şekil 4.19 D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerine ait SEM görüntüleri (devam)	137
Şekil 4.20. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin partikül morfolojisi görüntüleri.....	141
Şekil 4.21 Farklı kaplama materyalleri ve pH değerlerinde koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş yapı oluşumu.....	143
Şekil 4.22. Mikroenkapsülasyon etkinliği için modelden (Eş.4.5) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler	149
Şekil 4.23. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda mikroenkapsülasyon etkinliği için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri.....	150
Şekil 4.24. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 3.5'te, 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi.....	164
Şekil 4.25. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 4.6'da 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi.....	164
Şekil 4.26. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi	165

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 4.27. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 3.5'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi.....	167
Şekil 4.28. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 4.6'da 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi.....	167
Şekil 4.29. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi.....	168
Şekil 4.30. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 3.5'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi	170
Şekil 4.31. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 4.6'da 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi	171
Şekil 4.32. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi	171
Şekil 4.33 Enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi	174
Şekil 4.34 Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi.....	175

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**Sayfa**

Şekil 4.35 Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi.....	175
---	-----



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Farklı mikroenkapsülasyon teknikleri ve her teknikte kullanılan işlem basamakları (Desai and Park, 2005)	22
Çizelge 2.2. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları.....	27
Çizelge 2.3. Koaservasyon yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları	31
Çizelge 3.1. Ekstraksiyon yöntemine özgü CCRD deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri.....	43
Çizelge 3.2. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonuna özgü D-optimal karışım dizaynı deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri.....	47
Çizelge 3.3. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu aşamasında izlenecek olan D-Optimal karışım dizaynı deneme planı	48
Çizelge 3.4. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonuna özgü D-optimal karışım dizaynı deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri	49
Çizelge 3.5. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu aşamasında izlenecek olan D-Optimal karışım dizaynı deneme planı.....	50
Çizelge 4.1. <i>S. platensis</i> biyokütlesine ön işlem uygulamaları sonucu elde edilen yaş, kurutulmuş ve dondurulmuş ürünlerde toplam fikosiyanin miktarı	61
Çizelge 4.2. Klasik ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş <i>S. platensis</i> biyokütlesinden 3 farklı çözen ile farklı homojenizasyon hızlarında elde edilen toplam fikosiyanin miktarları ve renk değerleri.....	62

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 4.3. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş <i>S. platensis</i> biyokütlesinden 3 farklı çözügen ile sabit amplitude değerinde farklı sürelerde elde edilen toplam fikosiyanin miktarları ve renk değerleri.....	64
Çizelge 4.4. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş <i>S. platensis</i> biyokütlesinden 3 farklı çözügen ile farklı güç ve sürelerde elde edilen toplam fikosiyanin miktarları ve renk değerleri	66
Çizelge 4.5. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri.....	70
Çizelge 4.6. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	72
Çizelge 4.7 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	73
Çizelge 4.8. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü	78
Çizelge 4.9. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları.....	78
Çizelge 4.10. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması	79
Çizelge 4.11. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri.....	81
Çizelge 4.12. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	83

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 4.13 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	84
Çizelge 4.14. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü	88
Çizelge 4.15. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları	89
Çizelge 4.16. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	89
Çizelge 4.17. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri	91
Çizelge 4.18. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	93
Çizelge 4.19 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	94
Çizelge 4.20. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü	99
Çizelge 4.21. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları	99
Çizelge 4.22. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	100
Çizelge 4.23. Emülsiyon hazırlama değişkenleri ve kremleşme dereceleri (%).	108
Çizelge 4.24. Püskürtmeli kurutucuda kurutulmak üzere hazırlanan emülsiyonların pJ ve zeta potansiyeli değerleri	109

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 4.25. Farklı kaplama materyalleri ve oranlarında püskürtmeli kurutma yöntemi ile hazırlanmış mikroenkapsüle örnekler	112
Çizelge 4.26. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin renk özellikleri.....	113
Çizelge 4.27. D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar	115
Çizelge 4.28. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı üzerine lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	116
Çizelge 4.29 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	117
Çizelge 4.30 Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı	122
Çizelge 4.31. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	123
Çizelge 4.32. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin L^* , a^* , b^* , Hue ve Chroma değerleri.....	125
Çizelge 4.33. Hunter L^* , a^* , b^* , Hue ve Chroma değeri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	126
Çizelge 4.34. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerinin ortalama nem içeriği, su aktivitesi ve çözünübilirlik değerleri.....	128
Çizelge 4.35. Nem içeriği, su aktivitesi ve çözünübilirlik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	130
Çizelge 4.36. Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin ortalama partikül büyüklüğü ($D[4,3]$), açıklık ve tekdüzelik değerleri.	132

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 4.37. Partikül büyüklüğü (D[4,3]), açıklık ve tekdüzelik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu	133
Çizelge 4.38. Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar	139
Çizelge 4.39 Optimum nokta doğrulama denemeleri mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı sonucu.....	139
Çizelge 4.40 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	140
Çizelge 4.41. Optimum nokta doğrulama denemeleri mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, nem, su aktivitesi ve çözünürlük değerleri.....	140
Çizelge 4.42. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerleri	141
Çizelge 4.43. Farklı kaplama materyalleri ve pH değerlerinde koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örnekleri	143
Çizelge 4.44. D-optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar	145
Çizelge 4.45. Her bir yanıt üzerine lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	146
Çizelge 4.46 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	147
Çizelge 4.47 Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı.....	152
Çizelge 4.48. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	153

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 4.49. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin L*, a* , b*, Hue ve Chroma değerleri.	155
Çizelge 4.50. Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değeri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	156
Çizelge 4.51. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerinin çözünübilirlik değerleri.....	157
Çizelge 4.52. Çözünübilirlik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	159
Çizelge 4.53. Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar	160
Çizelge 4.54 Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları.....	161
Çizelge 4.55 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması	161
Çizelge 4.56. Koaservasyon yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı ve çözünürlük değerleri	162
Çizelge 4.57. Koaservasyon yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin Hunter L*, a*, b*, Hue ve C hroma değerleri.....	162
Çizelge 4.58 Enkapsüle edilmemiş saf fikosiyaninin stabilite analiz koşulları ve modelleme değerleri	166
Çizelge 4.59. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin stabilite analiz koşulları ve modelleme değerleri.....	169
Çizelge 4.60. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin stabilite	173

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**Sayfa**

Çizelge 4.61. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişiminin modelleme değerleri ..176



SİMGELER ve KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
$+\alpha$	Maksimum eksenel nokta
L^*	CIE aydınlık değeri
a^*	CIE yeşil ve kırmızılık değeri
b^*	CIE mavi ve sarı değeri
LLD	Lazer ışık kırınım
FT-IR	Fourier Transform Infrared spectroscopy
d10	%10 kümülatif hacme sahip eşdeğer hacimsel çap
d50	%50 kümülatif hacme sahip eşdeğer hacimsel çap
d90	%90 kümülatif hacme sahip eşdeğer hacimsel çap
a_w	Su aktivitesi
m	Reaksiyon derecesini gösteren üs faktörü
k	Kodlanmış faktör sayısı
x_i	Bağımsız değişkenin boyutsuz sayısı
x	Kodlanmış değişken
y	Bağımlı değişken
α	İstatistiksel önemlilik seviyesi
$-\alpha$	Minimum eksenel nokta
α_i	Regresyon katsayıları

SİMGELER ve KISALTMALAR (devam)

β_i	Regresyon katsayıları
DE	Dekstroz eşdeğer ağırlığı
C.V.	Varyasyon katsayısı
F_{cal}	Deneysel verilerden hesaplanan F-değeri
F_{tab}	Tablodan okunan F-değeri
N	Deneysel veri sayısı
n_{ax}	Eksenel nokta sayısı
n_c	Merkez nokta sayısı
p	Önemlilik derecesi
Pre- R^2	Tahminlenmiş regresyon katsayısı
r	Korelasyon katsayısı
R^2	Regresyon katsayısı
R^2_{adj}	Düzeltilmiş regresyon katsayısı
A	Biyokütle/çözgen oranı bağımsız değişkeni
B	Homojenizasyon hızı bağımsız değişkeni
C	Süre bağımsız değişkeni
D	Amplitude bağımsız değişkeni
E	Güç bağımsız değişkeni
X_1	Maltodekstin bağımsız değişkeni

SİMGELER ve KISALTMALAR (devam)

X_2	Peynir altı suyu protein izolatı bağımsız değişkeni
X_3	Hava giriş sıcaklığı bağımsız değişkeni
Y_1	Gum arabik bağımsız değişkeni
Y_2	Jelatin bağımsız değişkeni
Y_3	Çözelti sıcaklığı bağımsız değişkeni

SİMGELER ve KISALTMALAR (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ANOVA	Varyans analizi
CCRD	Merkezi tümleşik tasarım
HTK	Hata kareleri toplamı
PID	Oransal-integral-türevsel denetleyici
PLC	Programlanabilir lojik kontrolör
PRESS	Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı
RSM	Response Surface Method (Yanıt Yüzey Metodu)
SD	Serbestlik derecesi
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
SH	Standart hata
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paket

1. GİRİŞ

Renk gıdalarda tüketicinin dikkatini çeken birincil özelliklerin başında gelmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan sentetik renklendiriciler ile ilgili tüm ülkeler sıkı düzenlemelere gitmekte ve kullanımına izin verilen renklendirici sayısı giderek azalmaktadır. Sentetik boyaların özellikle çocuklarda bazı alerjik reaksiyonlara neden olması, sağlık üzerine yan etkilerinin bulunması ve çevreye verdiği zararlar nedeniyle kullanımı giderek yasaklanmakta, buna bağlı olarak doğal renklendiricilerin pazardaki payı da artmaktadır. Bu nedenle doğal gıda boyalarının üretimi giderek önemli hale gelmektedir. Doğal renk maddeleri gıdalarda istenilen rengin oluşması ve gıdanın görünüşünün iyileştirilmesi için kullanılmakla birlikte, sağlık açısından da antioksidan ve antitümoral aktivite göstererek katıldıkları ürüne avantaj sağlamaktadır. Doğal renk maddelerinin en önemli dezavantajı ise stabilitelerinin düşük olmasıdır. Gıda renklendiricileri yapay olarak sentezleme veya bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilmektedirler. Son zamanlarda önemi giderek artan makro ve mikroalgler ve siyanobakteriler doğal renk maddeleri üretiminde kullanılan sürdürülebilir bir kaynaktır. Her geçen gün yetiştiriciliği yaygınlaşan mikroalgler ve siyanobakteri türlerinin besin bileşenleri incelenmekte, yetiştiriciliği yapılacak yeni türlerin arayışı giderek daha da artmaktadır. Mikroalgler ve siyanobakteriler biyoteknolojik yöntemler ile üretilmekte, bölünerek çoğalmaları nedeniyle çok hızlı biyokütle artışı göstermekte ve bu yöntemle bitkilere göre çok daha yüksek miktarda pigment elde edilebilmektedir. Doğal renk maddelerinden olan fikosiyanin pigmenti, sağlamış olduğu mavi renkten ötürü ticari açıdan oldukça önemli bir doğal renklendiricidir.

Fikosiyanin siyanobakterilerden elde edilen, suda çözünebilir, yüksek antioksidan ve güçlü floresan özelliğe sahip, toksik olmayan mavi bir pigmenttir. Bu doğal pigment, sahip olduğu mavi renginden dolayı gıda sanayisinde kullanılmaktadır. Günümüzde gıda sanayisinde özellikle içecek ve şekerleme sektöründe yapay mavi renkli boyaların kullanımı kısıtlanmakta ve doğal mavi renkli boyaların kullanımına olan ilgi giderek artmaktadır. Özellikle şeker, süt ürünleri, jöle ve meyveli içecek üretiminde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Doğal renk maddesi özelliğinin dışında fikosiyaninin bağışıklık sistemini uyardığı, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser ve kolesterol düşürücü etkiler gösterdiği öne sürülmektedir (Eriksen, 2008; Akoğlu ve Çakmak., 2011).

Literatürde fikosiyaninin enkapsülasyonu ile ilgili olarak ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı bilinmektedir (Yan et al., 2014). Fakat bu çalışma mikroenkapsüle fikosiyanini renk maddesi olarak değil fonksiyonel ürün olarak değerlendirmek üzere gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla literatürde fikosiyaninin püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle enkapsülasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmada, doğal mavi renk maddesi fikosiyaninin eldesi için bir siyanobakteri olan *Spirulina platensis* kullanılmıştır. Fikosiyanin, siyanobakterilerde (mavi-yeşil algler) yüksek oranda bulunan mavi renkli bir pigmenttir. Bazı siyanobakterilerin toksik özellik taşıma riski nedeniyle bu çalışmada kullanılmak üzere gıdalarda kullanımının güvenli olduğu bilinen ve FDA onaylı *Spirulina platensis* hedef organizma olarak seçilmiştir. Siyanobakterilerden elde edilen fikosiyanin pigmentinin, etkili ve verimli bir şekilde ekstraksiyonu büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle *S. platensis* biyokütlesi dondurulmuş, yaş ve kurutulmuş olmak üzere üç şekilde ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. *S. platensis*'den elde edilen biyokütleye uygulanan ön işlemin belirlenmesinin ardından farklı ekstraksiyon yöntemlerinin fikosiyanin konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla klasik, ultrasonik ve mikrodalga olmak üzere 3 farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Fikosiyanin ekstraksiyonunda çözgen olarak 3 farklı çözgen (distile su, Na-fosfat tampon pH 7.4 çözeltisi ve % 1.5 CaCl_2 (w/v)) kullanılmıştır. Ekstraksiyon yöntemlerine özgü işlem değişkenlerinin (süre, biyokütle/çözgen oranı, hız, titreşim, güç) toplam fikosiyanin konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Tüm ekstraksiyon yöntemlerinde maksimum toplam fikosiyanin konsantrasyonunu sağlayacak bağımsız işlem değişkenleri merkezi tümleşik tasarım (CCRD, Central Composite Rotatable Design) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Fikosiyanin ekstraksiyonu için en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde ise maksimum toplam fikosiyanin konsantrasyonu, minimum işlem süresi, minimum çözgen miktarı dikkate alınmıştır.

Fikosiyanin ekstraksiyonu için en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinin ardından klasik ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilen fikosiyaninin amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz yöntemiyle saflaştırılması ve saf haldeki fikosiyanin renk maddesinin püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemi olmak üzere 2 farklı enkapsülasyon tekniği ile mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, mikroenkapsülasyon yöntemlerinin farklılıkları göz önünde bulundurularak ve ön denemeler sonucu belirlenen en uygun kaplama materyalleri (püskürtmeli kurutma yöntemi için maltodekstrin ve peynir altı suyu protein

izolatı; koaservasyon yöntemi için gum arabic ve jelatin) seçilerek optimizasyon işlemine geçilmiştir. Mikronkapsülasyon işlemlerinde en yüksek fikosiyanin kaplama etkinliğini elde edebilmek için D-optimal karışım dizayna göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikronkapsüle örneklerde mikronkapsülasyon etkinliği ve verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik, LLD yöntemi ile partikül boyutu, partikül morfolojisi ve kaplama materyalleri ile fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için FTIR analizi uygulanmıştır. Ayrıca farklı kaplama materyali oranlarına sahip emülsiyonların kurutucuya beslenmeden önce stabilitelerini belirlemek için zeta potansiyeli analiz edilmiştir. Koaservasyon yöntemiyle elde edilen mikronkapsüle örneklerde mikronkapsülasyon etkinliği ve verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, çözünübilirlik ve kaplama materyalleri ile fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için örneklerle FTIR analizi uygulanmıştır.

Gıdaya uygun saflıkta elde edilen ve mikronkapsüle edilen fikosiyaninin gıdalarda kullanım potansiyelini belirlemek amacıyla pH, sıcaklık, ışık gibi faktörlerin fikosiyanin stabilitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Optimum koşullarda mikronkapsüle edilen ve edilmeyen fikosiyaninler için %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortamları içinde stabilite çalışması yürütülmüştür. Stabilite çalışmalarında depolama süresince tüm örneklerin, toplam fikosiyanin miktarındaki değişime bağlı olarak bozunma kinetiği incelenmiş, yarılanma süreleri hesaplanmıştır. Son olarak saf ve mikronkapsüle fikosiyaninler krem şanti, dondurma, krema, jöle, asitli ve gazlı içecek ve kek gibi farklı gıda gruplarında denenerek, depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyu özellikleri incelenmiştir. Bunun yanı sıra gıda endüstrisinde mavi rengi sağlamak amacıyla kullanılan sentetik mavi reklendirici brilant blue (E133) aynı model gıdalarda denenerek stabiliteleri fikosiyanin ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın amacı; gıdalarda kullanımının güvenli olduğu bilinen ve toksik özellik taşıma riski olmayan, doğal renk maddesi olarak *Spirulina platensis*'te bulunan, mavi renge sahip fikosiyanin pigmentinin farklı yöntemlerle ekstraksiyonu ve farklı enkapsülasyon teknolojileri ile çevresel koşullara karşı stabilitesinin artırılması, arzu edilmeyen bir tat içermeyen, yenilebilir kaplama materyalleriyle kaplanması, mikronkapsüle renk maddesinin model gıda örnekleri içerisinde kullanılmasının araştırılmasıdır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Siyanobakteriler ve *Spirulina platensis*

Siyanobakteriler olarak da isimlendirilen mavi-yeşil algler, fotosentez yapabilme özelliğine sahip, prokaryot yapıları canlılardır. Balıklar ve diğer suda yaşayan canlılar için besin maddesi olarak kullanılmalarından dolayı doğadaki besin zincirinin başlangıç noktasını oluştururlar. İlk kez fosillerde saptanan siyanobakterilerin dünyanın oluşumundan bu yana süregelen ilk canlılardan olduğu düşünülmektedir. Yaşam alanı olarak ışık ve nem içeren ortamlarda bulunurken; çamur, kaya, tahta ve bazı canlıların yüzeylerinde, tatlı ve tuzlu suların yüzeyinde de sıklıkla yaşam sürdürmektedirler. Siyanobakterilerin özellikle *Spirulina*, *Oscillatoria* ve *Anabaena* türleri pigmentler, yağ asitleri, karbonhidratlar, proteinler ve diğer birçok besin bileşiklerini üretmeleri nedeniyle güncel çalışmalarda sıkça kullanılmaktadırlar (Yamada 1994).

Spirulina platensis; hücre kültürünün iyi test edilmiş olması, yetiştiriciliğinin uygulanmasının kolay olması ve üretim fiyatının diğer türlere kıyasla daha düşük olması nedeniyle daha çok tercih edilen bir türdür (Li ve Qui 1997). *Spirulina platensis*, yüksek karbonat ve bikarbonat seviyeleri ile pH'sı 11'i bulabilen, yüksek pH ile karakterize edilen tropikal ve subtropikal su kütlelerinde yoğun popülasyon oluşturabilmektedir. Baskın olduğu ve türün başlangıç noktası olarak Çad Gölü, yarıçöl olan Sudan-Sahel Bölgesi ve Rift Vadisi'nin alkali ve tuzlu gölleri kabul edilmektedir. Ülkemiz iklim koşulları bakımından *Spirulina* kültürü için elverişli koşullara sahiptir. Türkiye'de açık hava şartlarında *Spirulina* alginin yoğun kültürü üzerine yapılan ilk deneme 1997-1998 yıllarında Ege Üniversitesi tarafından gerçekleştirilmiştir (Dalay vd., 2001).

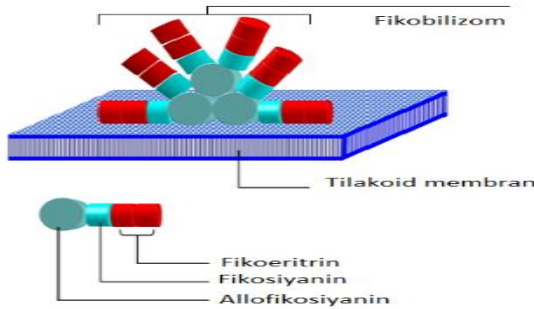
Spirulina platensis çok hücreli silindirik trikomların kendi uzunluğu boyunca heliks biçiminde diziliş gösteren, filamentli bir siyanobakteridir. Işık mikroskobu altında, tek düzlemde ikili bölünmeye uğrayan vejetatif hücrelerden oluşan mavi-yeşil filamentleri ayıran çeperler kolayca görülebilmektedir. *Spirulina platensis*, yüksek protein ve diğer besleyici elementler içeriği nedeniyle uzun zamandan beri açık havuzlarda fotoototrofik olarak yetiştiriciliği yapılabilen bir türdür. Yetiştirilen saf ve yüksek hücre yoğunluğundaki kültür, yüksek katma değerli ürünlerin başarılı ticari üretimi için gereklidir ve bu da ayırma ve saflaştırma işlemlerinin maliyetini yüksek oranda düşürmektedir. Sterilize biyoreaktör

içerisine çözünür karbon substratlarının ilavesi, bu amaca ulaşmak için uygun şartları sağlayabilir (Dalay vd., 2008).

Spirulina'nın hücre duvarının %86'sı sindirilebilir polisakkaritlerden oluşmaktadır. Bu nedenle insanlar tarafından sindirimi kolaydır, ayrıca yapısında bulunan polisakkaritler bağışıklık güçlendirici olarak kullanılabilir. Yapılan beslenme araştırmaları ve detaylı toksisite çalışmaları sonucunda *Spirulina*'nın insanlarda, farelerde, balıklarda, kanatlılarda ve istiridyelerde istenmeyen veya toksik hiçbir etkiye sebep olmadığı bulgulanmıştır. Akut/kronik toksisite veya üreme ile ilgili hiçbir negatif etkisi de bulunamamıştır (Anonim 2016a).

Spirulina yüksek ve kaliteli protein içermesinin (500-700 g/kg ham protein) yanında; demir, selenyum, magnezyum, kalsiyum gibi birçok mikro ve makro minerallerin kaynağıdır. Ayrıca doğadaki en zengin provitamin A, E vitamini, tiamin, kobalamin, biyotin, inositol kaynağıdır. Bununla birlikte son zamanlarda ön plana çıkan 2000'den fazla enzim, birçok esansiyel yağ asitleri, antioksidan pigmentler ve yüksek biyolojik değerlikli esansiyel aminoasitleri de içermektedir (Anonim 2016b).

Spirulina'nın yapısındaki klorofil ve karotenoid pigmentler "lamella" adı verilen hücre yüzeyi membranında, fikosiyanin ve fikoeritrin gibi pigmentler de fikobilisomlarda bulunur. Fikobiliproteinler ışığın absorblanmasında görevli anten pigmentleridir (Glazer 1994). Fikobiliproteinler tilakoid membranın stoplazmaya dönük kısmında yerleşik özel tilakoid yapılar olan ve çok fazla sayıda bulunan fikobilizomlar içinde çok moleküllü kompleksler şeklinde yer alırlar. Fikobiliproteinlerde ışık enerjisi, yüksek enerji düzeyinden düşük enerji düzeyine aktarılmakta ve buna bağlı olarak fikobiliproteinler enerji düzeylerine göre fikobilizomlar üzerinde sıralanmaktadır. Fikobilizom yapısı Şekil 2.1. 'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Fikobilizomlar içinde fikobiliproteinlerin yerleşimi (MacColl, 1998)

Birinci grup anten pigmentleri (klorofil a, karotenoid) absorbe edilen ışık enerjisini fotosistem I'e gönderirken, ikinci grup anten pigmentleri olan fikobiliproteinler de aynı şekilde absorbe ettikleri ışık enerjisini fotosistem II'ye transfer eder. Pigment proteinler genellikle 550-650 nm dalga uzunluğundaki ışığı tutar (Tunail, 2009). Absorbsiyon özelliklerine göre; fikoeritrinler (C-PE, mak. 540-570 nm), fikosiyaninler (C-fikosiyanin, mak. 615-640 nm) ve allofikosiyaninler (C-APC, mak. 650-655 nm) olmak üzere 3 ana sınıfa ayrılmışlardır (Bermejo et al., 2006). Fikobiliproteinlerin %75'ini fikosiyaninler, %12'sini allofikosiyaninler, %12'sini de fikoeritrinler ve pigmentsiz polipeptitler oluşturur (Tunail, 2009).

Siyanobakterilerden elde edilen fikobiliproteinler ticari açıdan büyük öneme sahiptir ve çok çeşitli kullanım alanları vardır. Başlıca kullanım alanları doğal renklendiriciler olmakla birlikte çeşitli araştırmalar nutrasötik ve farmasötik uygulamalarda kullanım potansiyelleri olduğunu göstermektedir. Renklendirici olarak kullanımlarının dışında floresan özelliklerinden dolayı klinik ve immünoassay araştırma laboratuvarlarında da geniş bir kullanım potansiyeline sahiptirler. Fikobiliproteinlerin mg fiyatı 3-25 dolar arasında değişmekte; antikor, reseptör veya başka biyolojik moleküllerle bağ yapmış şekilde işaretleyici olarak kullanılması halinde mg fiyatı 1500 dolara kadar çıkmaktadır (Spolaore et al., 2006). Bugüne kadar fikobiliproteinlerin üretimiyle ilgili 55 adet patent, ilaç, gıda ve diğer alanlardaki uygulamaları ile ilgili 30 adet patent ve floresan özellikleri kullanılarak yapılan uygulamalar ile ilgili 236 adet patent olduğu tespit edilmiştir. En az 11 şirket fikobiliproteinleri, fikobiliprotein türevlerini ve uygulamalarını üretmekte ve satmaktadır (Sekar and Chandramohan, 2008).

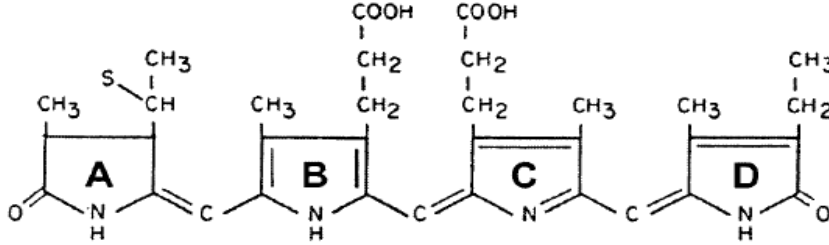
2.2. Fikosiyanin

2.2.1. Fikosiyaninin Yapısı

Siyanobakterilerde yüksek miktarda bulunan ve ekonomik anlamda en önemli fikobiliprotein çeşidi mavi renkli fikosiyanindir. Fikosiyanin, mavi renkli, 610-665 nm dalga boyunda en yüksek absorpsiyonu veren, suda çözünür, koyu renkli ve floresan etkili olan protein yapılı fikobiliproteinler (fikobilinler) olarak bilinen pigmenttir. Fikosiyanin eldesinde son zamanlarda yapılan çalışmalarda *Anabaena* sp. (Shukia et al., 2008), *Aphanizomenon flosaquae* (Benedetti et al., 2006), *Arthronema africanum* (Minkova et al., 2007), *Cyanidium*

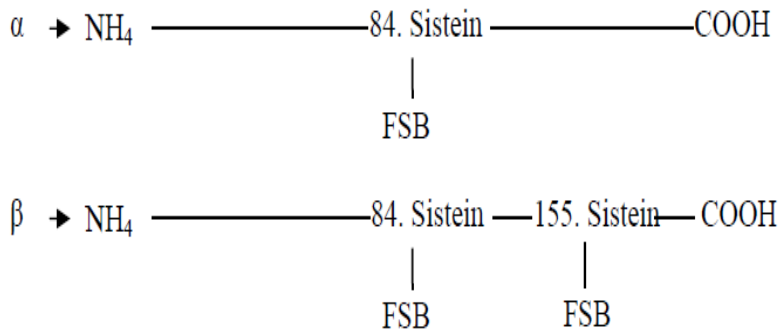
caldarium (Stec et al., 1999), *Galdieria sulphuraria* (Graverholt, 2004), *Gracilaria chilensis* (Contreras-Martel et al., 2007), *Lyngbya* sp. (Patel et al., 2005), *Mastigocladus laminosus* (Kao and Berns 1977), *Microcystis* (Wang et al., 2012), *Oscillatoria quadripunctulata* (Soni et al., 2006), *Phormidium fragile* (Soni et al., 2008), *Spirulina fusiformis* (Minkova et al. 2003), *Spirulina platensis*/*Arthrospira platensis* (Doke 2005; Niu et al., 2007; Zhang and Chen 1999), *Synechocystis* sp. (Rogner et al., 1990), *Synechococcus* sp. (Gupta and Sainis 2010) türleri kullanılmıştır.

Fikosiyanin elde edildiği canlının protoplazması içinde hücre kuru ağırlığının yaklaşık %20'sine varabilen oranlarda bulunabilir (Erdal ve Ökmen, 2013). Hücre içerisinde yeşil renkli klorofil a ile mavi renkli fikosiyanin pigmentinin baskınlığı nedeni ile hücreler karakteristik mavi-yeşil renkte görülmektedir. Fikosiyanin sahip olduğu fikosiyanobilin (FSB) kromoforundan dolayı bu ismi almıştır. Proteinin prostetik grubu olarak kabul edilen fikosiyanobilin dört pirol halkasının oluşturduğu doğrusal tetrapirel yapısı sergilemektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Fikosiyanobilin yapısı (MacColl, 1998)

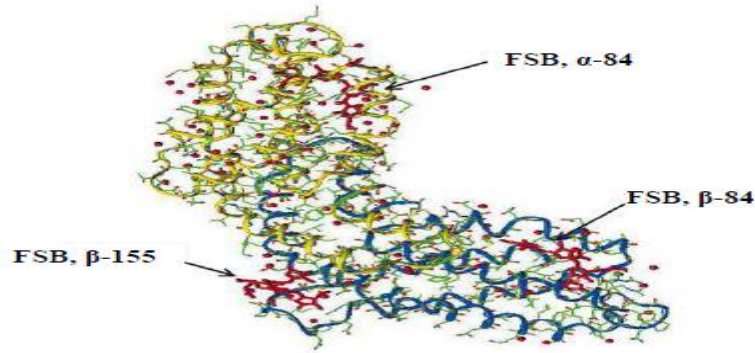
Bu yapı farklı bölgelerden sistein aminoasitine bağlanarak fikosiyanin yapısını oluşturmaktadır. Fikosiyanobilinin kimyasal yapısı bir safra pigmenti olan ve hücre içinde güçlü radikal uzaklaştırıcı etkiye sahip olan bilirubin ile benzerlik göstermektedir ve bu bulgu fikosiyanobilinlerin de bilirubin gibi radikal uzaklaştırıcı etkileri olduğunu desteklemektedir (Benedetti et al., 2006). Fikosiyanin I ve J olmak üzere birbirleriyle nispeten homolog iki alt birimden oluşmaktadır. I zincirinde, fikosiyanobilin 84. sistein aminoasitine; J zincirinde ise iki adet fikosiyanobilin 84. ve 155. sistein aminoasitlerine bağlanmıştır (Şekil 2.3) (MacColl 1998, Stec et al., 1999, Adir et al., 2001).



Şekil 2.3. Fikosiyaninin I ve J zincirlerinin yapısı (MacColl, 1998)

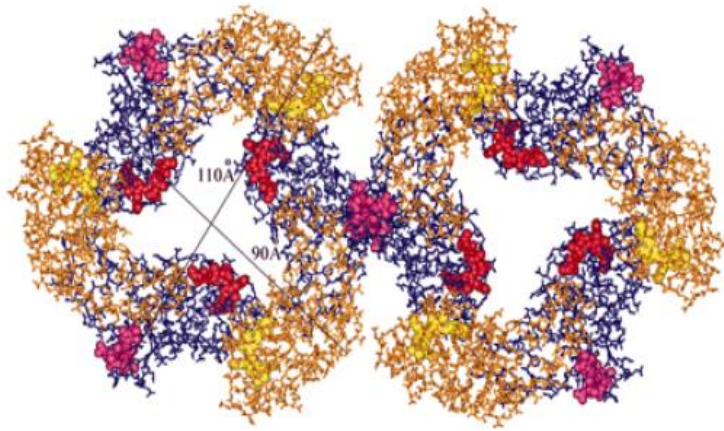
Fikosiyanin monomer yapısında olabildiği gibi, kendi içinde agregatlar yaparak trimer yapısında da olabilmekte hatta disk şeklini alan hagzamer yapısında da bulunabilmektedir (Stec et al., 1999, Contreras-Martel et al., 2007).

Şekil 2.4.'te fikosiyanin monomerinin üç boyutlu yapısı, Şekil 2.5.'te fikosiyaninin trimer ve hegzamer yapısı görülmektedir. Fikosiyaninlerde I-84 ve J-84 kromoforları trimerik disk yapısının merkezinde yer alırken, J-155 kromoforu trimerik disk yapısının uç kısmında yer almaktadır (Stec et al., 1999). Fikosiyaninin I ve J zincirleri benzer tersiyer yapıya sahiptirler ve oluşturdıkları bu yapı ile globin protein yapısına benzerlik göstermektedirler (Schirmer et al., 1985). Tüm siyanobakterilerden ve kırmızı alglerden elde edilen fikosiyanin yapısındaki aminoasit dizilimi büyük benzerlikler göstermektedir (Stec et al., 1999, Adir et al., 2001, Contreras-Martel et al., 2007). Elde edilen fikobiliprotein içeriği siyanobakteri ve mikroalg türünün kullandığı azot ve karbon kaynakları ve gelişme koşullarından etkilenmektedir (Sekar and Chandramohan 2008).



Şekil 2.4. Fikosiyanin monomerinin üç boyutlu yapısı ve sematik serit gösterimi (Adir et al., 2001)

Sarı şerit, I alt ünitesini; mavi şerit J alt ünitesini, kırmızı çubuklar, fikosiyanobilin kofaktörünü; kırmızı küreler su molekülünü simgelemektedir.



Şekil 2.5. Fikosiyaninin trimer ve hegzamer yapılarının görünümü (Adir and Lerner 2003).

Turuncu ve mavi renkler sırasıyla I ve J alt ünitelerini; sarı, kırmızı ve mor renkler sırasıyla I84, J84, ve J155 fikosiyanobilin kofaktörleri göstermektedir.

2.3. Fikosiyaninin Ekstraksiyonu

Fikosiyanin öncelikle algin hücre duvarının kırılması, hücre parçalanması, ekstraksiyon, saflaştırma, kurutma ve karakterizasyon sonucunda elde edilebilmektedir. Hücrenin doğal yapısı gereği çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak hücreden içeriğin eldesi gerçekleştirilir. Sonikasyon, kavitasyon, ozmotik parçalama ve dondurma-çözündürme en çok kullanılan fiziksel yöntemlerdendir. Kimyasal yöntemler arasında da asit, alkali, enzim ve bunların kombinasyonları ile muamele bulunmaktadır (Kuddus et al., 2013).

Fikosiyaninin fikobilizomlardan uygun şekilde ekstraksiyonu, hücre duvarının aşırı dayanıklı olması nedeniyle oldukça zordur (Stewart and Farmer 1984). Ekstraksiyon işlemini etkileyen en önemli yapı kullanılan hücrenin formudur bu sebeple fikosiyanin ekstraksiyonunda kuru veya yaş biyokütle kullanılmaktadır. Farklı sıcaklıklarda ve farklı kurutma yöntemleri ile kurutulan biyokütle, çeşitli tampon çözeltiler kullanılarak ekstrakte edilmektedir (Doke 2005, Niu et al., 2007; Oliveira et al., 2008). Biyokütlenin kurutulması aşamasında fikosiyanin kaybını aza indirmek için düşük sıcaklık uygulamaları tercih edilmektedir (Eriksen 2008). Sarada et al. (1999) kuru ve yaş biyokütlenin kullanımı ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında kurutulmuş *Spirulina sp.* 'den %50 oranında fikosiyanin kaybı olduğunu, yaş biyokütle kullanımının daha uygun olduğunu belirlemişlerdir. Islak biyokütleden C-fikosiyanin ekstraksiyonu için fiziksel ve kimyasal birçok yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden bazıları; dondurma-çözündürme (-25°C , -18°C veya sıvı azotta dondurma, 4°C veya 30°C 'de çözündürme) (Abalde et al., 1998, Zhang and Chen 1999, Minkova et al., 2003, Doke 2005, Soni et al., 2006), homojenizasyon (Boussiba and Richmond 1979, Abalde et al., 1998, Doke 2005, Schmidt et al., 2005), yüksek basınç uygulaması (Patil et al., 2006, Patil and Raghavarao 2007), sonikasyon (Abalde et al., 1998), asit uygulaması (Sarada et al., 1999), lizozim uygulaması (Boussiba and Richmond 1979) ve *Klebsiella pneumonia* ile ekstraksiyon (Zhu et al., 2007) yöntemleridir.

Tüm bu yöntemlerin dışında süper kritik karbondioksit tekniği üzerinde yapılan çalışmalarda siyanobakterilerden renk maddelerinin ekstraksiyonunda gelişmeler sağlandığı ifade edilmiştir (Valderrama et al., 2003, Herrero et al., 2006, Macías-Sánchez et al., 2007). Viskari and Colyer (2003), ise azot kavitasyon yöntemi ile etkili bir şekilde fikobiliprotein ekstraksiyonu yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Abalde et al. (1998), sonikasyon, sıvı azotta dondurma/4°C'de çözündürme ve -21°C'de dondurma/4°C'de çözündürme yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında *Synechococcus sp.*'den fikosiyanın ekstraksiyonunda -21°C'de dondurma/4°C'de çözündürme yönteminin 13.42 mg/mL fikosiyanın miktarı ile en etkili yöntem olduğunu tespit etmişlerdir. Soni et al. (2006), *Oscillatoria quadripunctulata* suşundan fikosiyanın ekstraksiyonunda sonikasyon, lizozim, sakkaroz ile osmoz ve dondurma/çözündürme yöntemlerini karşılaştırmış, osmoz ve dondurma/çözündürme yöntemlerinin benzer sonuçlar gösterdiğini ancak osmoz yöntemi ile ortama kontaminant proteinlerin karışma riskinin fazla olduğunu, sonikasyon yönteminde ise proteinde renk kaybı gözlemlendiğini ve tüm bu nedenlerden dolayı optimum ekstraksiyon yönteminin dondurma/çözündürme olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada en etkili dondurma/çözündürme sıcaklığını -25°C/4°C olarak belirlemişlerdir.

Genellikle fiziksel ve kimyasal yöntemlerin kombinasyonları kullanılarak etkin hücre parçalamasının gerçekleştirildiği görülmektedir. Hücre parçalama işleminin ardından santrifüj işlemi uygulanır ve üst fazdan fikosiyanın elde edilmiş olur. Elde edilen üst fazdan fikosiyanın ayrılması için amonyum sülfat, diyaliz ve polietilen glikol çöktürme uygulamaları gerçekleştirilir. Saflaştırma basamağında genellikle adsorbantlar, moleküler ayırma, anyon değiştirici ve bunların kombinasyonları ile kolon kromatografisi yöntemi kullanılmaktadır. Fikosiyanın pigmentinin saflaştırma işlemi sonunda kurutulmasında dondurarak kurutma yöntemi en uygun kurutma yöntemidir. Kullanılan yöntemin ve işlem basamaklarının seçimi elde edilen ürünün geri kazanımında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca elde edilen fikobiliprotein yapısındaki C-fikosiyanın karakterizasyonu pigment kompleksinin yapısının belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (Kuddus et al., 2013).

Saflaştırma işlemi sırasında fikosiyanın saflığı 620 nm'deki absorbands değerinin 280 nm'deki absorbands değerine oranı (A_{620}/A_{280}) ile tespit edilmektedir. Elde edilen bu saflık oranına göre fikosiyanın kullanım alanı belirlenmektedir. Buna göre, fikosiyanın saflık oranı 0.7 ve üstünde ise gıdaya uygun, 3.9 ise reaktif, 4 ve üzerinde ise analitik saflıkta olduğu kabul edilmektedir (Rito-Palomares et al., 2001).

Genel olarak her yöntemin kendine göre avantaj ve dezavantajları vardır ve bu nedenle ekstraksiyon sırasında harcanan süre, maliyet, elde edilen verim ve saflık gibi faktörler de dikkate alınarak çalışılan suşa ait en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi gerekmektedir. Endüstriyel açıdan düşünüldüğünde seçilen ekstraksiyon yönteminin ölçek büyütmeğe uygun ve ekonomik olması gerekmektedir.

2.3.1. Ekstraksiyon yöntemleri

2.3.1.1. Klasik ekstraksiyon

Renk maddelerinin ekstraksiyonunda en sık kullanılan yöntemlerden biri klasik ekstraksiyon yöntemidir. Fazla miktarda örnek kütlesi ekstrakte edilebilmesi, işçiliğin az olması, düşük maliyetli basit ekipman kullanılması gibi avantajlara sahipken, büyük miktarda organik çözügen kullanımı ve uzun işlem süresi gibi dezavantajları da mevcuttur. Klasik ekstraksiyon uygulamaları çözügen ekstraksiyonu, nemlendirme, maserasyon, su perküsyonu ve soxhlet ekstraksiyonu gibi farklı işlemleri kapsamaktadır.

Çözügen ekstraksiyonunda materyal direk olarak oda sıcaklığında veya ekstraksiyonu için gerekli sıcaklıkta çözügen ile muamele edilir, daha sonra organik çözücü ayırma yöntemleri kullanılarak ortamdan uzaklaştırılır veya geri kazanılır. Bu esnada molekül ağırlığı düşük uçucu bileşenlerin kaybı ve istenmeyen bileşenlerin oluşumu meydana gelebilir. Ayrıca kullanılan saf ve kaliteli çözügenler büyük miktarlarda kullanıldığında hem ekonomik hem de çevre kirliliği açısından problemleri beraberinde getirmektedir (Eskilsson and Bjorklund, 2000; Wan and Wong, 1996).

Çözügen ekstraksiyonu meyve ve sebzeler ile atıklarından karotenoidlerin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Çözügen ekstraksiyonunda karotenoidler gıdanın uygun bir çözügenle işleme tutulması ve daha sonra çözügenin ortamdan uzaklaştırılması ile elde edilmektedir. Taze örneklerde su içeriği yüksek olduğundan ekstraksiyonda su ile karışabilen çözügenler kullanılmakta, kuru örneklerde ise su ile karışmayan çözügenler tercih edilmektedir. Bu amaçla pentan, etanol, metanol, hekzan ve kloroform gibi çözügenler ile aseton:petrol eteri (50:50 v/v), n-hekzan:toluen (5:4 v/v) gibi solvent karışımları kullanılmaktadır (Yıldız ve Toprak 2009). Çözügen ekstraksiyonu uygulamalarında çözügene asit veya baz eklenerek ekstraksiyon işleminin iyileştirildiği çalışmalar da literatürde mevcuttur.

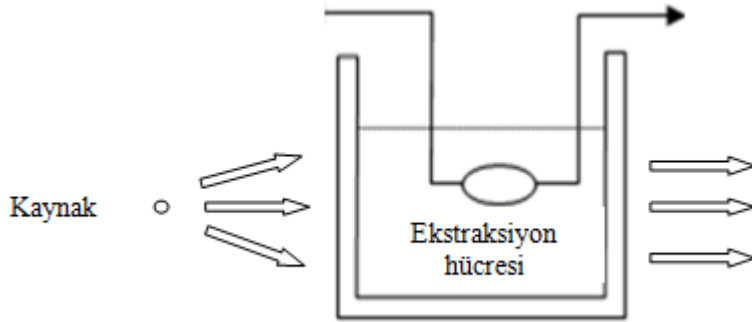
Antosiyaninlerin çözen yöntemiyle ekstraksiyonu ile ilgili yapılan araştırmalarda, kuşburnu ve üzüm suyu ya da şarap üretiminde atık olan posalardan antosiyaninlerin elde edilmesinde asit-alkol ekstraksiyonu uygulanmıştır. Bu amaçla genelde etanol-0.1 N HCl kullanılırken (Fuleki and Francis 1968), kuşburnu posasında metanol-%0.03 HCl ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir (Chiriboga and Francis 1970). Zeytin posasından boyar fenolik bileşik ekstraksiyonu ile ilgili bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada işlem değişkeni olarak çözen konsantrasyonu (NaOH/su) 0.02-0.175 mol/L; ekstraksiyon süresi (30-90 dk); örnek miktarı (2.5-5g) ve ekstraksiyon sıcaklığı (45-100°C) dikkate alınmıştır. Çalışma sonucunda uzun işlem süresinin ve yüksek sıcaklığın ekstraksiyon verimini olumsuz yönde etkilediği; örnek miktarının artmasıyla verimin arttığı belirlenmiştir (Elksibi et al., 2014).

Dere et al. (1998) yaptıkları çalışmada, *Cladophora glomerata* (L.) Kuetzing, *Ulva rigita* L., *Codium tomentosum* (Huds.) Stackh ve *Cladostephus verticillatus* alg türlerinin klorofil a, b ve toplam karotenoid içeriğini spektrofotometrik olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, çözücü olarak metanol, aseton ve dietil eter kullanılmıştır. Örnekler klasik homojenizatörde 1000 dev/dak boyunca homojenize edildikten sonra santrifüj edilerek 400-700 nm arasında UV-spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülerek klorofil a, b değerleri belirlenmiştir. Metanol kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda daha yüksek pigment içeriğinin elde edildiği fakat metanolün toksik özelliği sebebiyle kullanımının sınırlandırıldığı belirtilmektedir.

Pasquet et al. (2011) Bacillariophyceae (diatom) sınıfına ait iki farklı *C. closterium* türünde klasik ekstraksiyon yöntemleri kullanarak karotenoid ve klorofil ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Dondurularak kurutulmuş biyokütle oda sıcaklığında aseton çözeni ile işleme tabi tutulmuştur. Çözen ekstraksiyonu yöntemiyle yüksek verimlilikte klorofil a,b ve β -karoten (7.8 μ g/mg) elde edilmiştir.

2.3.1.2. Ultrasonik ekstraksiyon

Ultrason (sonikasyon); sözlük anlamı itibariyle, saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi olarak ifade edilmektedir. Genellikle, ultrason düzeneği 20 kHz'den 10 MHz'e kadar değişen frekanslar kullanmaktadır. Ultrason uygulamalarının sınıflandırılmaları için üretilen ses alanının enerji miktarı en önemli ölçüttür (Capelo and Mota 2005). Ultrasonun doğal ürünlerin ekstraksiyonunda kullanılabilir olması, enerji tasarrufu sağlaması, ekstraksiyon süresini kısaltması, verimi arttırması gibi avantajlara sahip iken, hücre duvarları hasar görerek doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin tamamen ortaya çıkması bazen dezavantaj olmaktadır (Yılmaz 2011). Ultrasonik banyonun şematik gösterimi Şekil 2.6. 'da görülmektedir. Uygulanan güç ve süre artışı sistemde bulunan su sıcaklığını arttırdığından dolayı, ultrasonik banyoya soğutmalı sirkülatör bağlanması su sıcaklığının sabit kalmasını sağlamaktadır. Böylece ekstrakte edilen maddeler sıcaklık artışından zarar görmeden ekstrakte edilebilmektedir.



Şekil 2.6. Ultrasonik banyonun şematik gösterimi

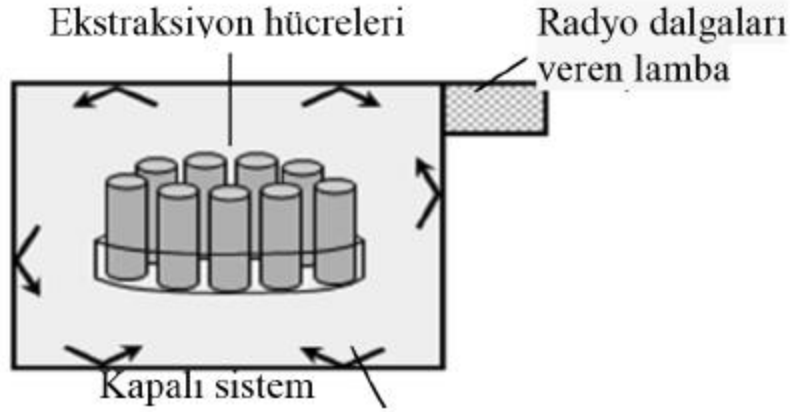
Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi alglerden yüksek değerlikli bileşiklerin eldesinde oldukça fazla kullanılan bir yöntemdir (Roselló-Soto et al., 2015). Literatürde ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle mikroalglerden yağ ekstraksiyonu ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır (Araujo et al., 2013; Bermúdez Menéndez et al., 2014; Ma et al., 2008). Cravotto et al. (2008), mikroalglerden ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanarak elde ettikleri yağ veriminin geleneksel yöntemlerden fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Yapılan bir çalışmada *Haematococcus pluvialis* mikroalginden astaksantin eldesinde, ultrasonik ekstraksiyon ile geleneksel ekstraksiyon kıyaslandığında verimin %55 arttığı bulgulanmıştır (Ruen-ngam et al., 2011).

Gu et al. (2008) Rhodobacterden karotenoidlerin aseton veya HCl ilavesiyle gerçekleştirilen ultrasonifikasyon destekli ekstraksiyonunda 10 ile 30°C arasındaki ekstraksiyonda sıcaklık artışının ekstraksiyon verimini arttırdığını, 30°C üzerinde verimin azaldığını ve 50°C'deki ekstraksiyon veriminin 10°C'dekinin altında olduğunu saptamışlardır. Day and Rathod (2013) *Spirulina platensis*'ten β -karoten eldesinde ultrasonik ekstraksiyon yöntemini kullanarak, optimum karotenoid verimi n-heptanla ve 30°C' de elde etmişlerdir. Xu and Pan (2013) kırmızı greyfurttan likopenin ekstraksiyonunda ultrasonik yöntemin klasik solvent ekstraksiyonundan daha etkin olduğunu ve optimum 30°C'de ve 30 dak'da gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Yolmeh et al. (2014) yaptıkları çalışmada annato tohumundan biksin renk maddesinin eldesinde ultrasonik ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon yöntemlerinin etkisini değerlendirmişlerdir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulamasının klasik ekstraksiyona göre işlem süresini 2 saatten 7.25 dakikaya düşürdüğü ve işlem sonunda elde edilen verimlerin sırayla %6.35 ve %3.95 olduğu bulgulanmıştır. Ayrıca işlemin bitkide bulunan karotenoidlere zarar vermeden hem nitelik hem de nicelik açısından iyi bir renk elde edildiği de belirtilmektedir.

2.3.1.3. Mikrodalga ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi çevreci ekstraksiyon yöntemlerinden birisidir. Mikrodalgalar yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalardır (300-300000 MHz). Mikrodalga enerjisi kullanılarak ısıtmanın prensibi, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) yoluyla molekül üzerine mikrodalga'nın direkt etkisi temeline dayanır. Çoğu uygulamada bu iki mekanizma eş zamanlı meydana gelir. Mikrodalga ile ekstraksiyon yöntemi hızlı bir yöntem olmakla birlikte düşük çözgen tüketimi, ekstraksiyon parametrelerinin rahatlıkla kontrolü (zaman, güç), çözgen seçiminde sınırlama getirmemesi, evaporasyon/konsantrasyon basamağı gerektirmemesi, kısa işlem süresi ve yüksek verim sistemin önemli avantajları arasında yer almaktadır. Örneğin içindeki tüm maddeleri ekstrakte etmesi ve her durumda ekstraksiyon sonrası temizleme basamağı gerektirmemesi ise sistemin en büyük dezavantajları arasındadır (Lopez-Avila, 1999). Mikrodalga ekstraktörünün şematik gösterimi Şekil 2.7.'de görülmektedir. Ekstraksiyon kapalı bir kapta gerçekleştirilir ve bu sistem sıcaklığın kontrol altına alınmasını sağlar. Kapalı kap sisteminde, her hazne eşzamanlı olarak ısınlanır. Kapalı kap sistemi uçucu bileşiklerin olması halinde avantaj sağlamaktadır.



Şekil 2.7. Mikrodalga ekstraktörü şematik gösterimi (Büyüktuncel, 2012)

Cravotto et al. (2008), yaptıkları çalışmalarında geleneksel yöntem ile mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kıyaslandığında, mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde sürenin 10 kat azaldığı, verimin de arttığını bulgulamışlardır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle mikroalglerden yağ, antioksidan ve pigment eldesinin oldukça hızlı ve etkin olduğu rapor edilmiştir (Wang et al., 2008; Pasquet et al., 2011)

Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile mor mısırdan antosiyanin ekstraksiyonunda optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Asitlendirilmiş %95'lik etanol kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada 555 W güç 19 dakika uygulanarak 185.1 mg/100 g antosiyanin elde edildiği bulgulanmıştır. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile kıyaslama yapıldığında süre ve etkinlik açısından mikrodalga destekli ekstraksiyonun daha verimli olduğu belirlenmiştir (Yang and Zhai, 2010).

Annatto bitkisinden biksin ekstraksiyonunun mikrodalga destekli yöntemle gerçekleştirildiği çalışmada örnek miktarının ve işlem süresinin artmasıyla ekstraksiyon veriminin arttığı ayrıca renk maddesini alkali ortamda kendini muhafaza ettiği bulgulanmıştır. Ekstraksiyon işleminde sabit 900W güç uygulayarak pH 8'de 90 dakika süresince 3609.24 mg/L biksin renk maddesi elde edilmiştir (Sinha et al., 2013).

2.4. Fikosiyaninin Kullanım Alanları

Özellikle gıda ve kozmetik sektörlerinde, sentetik renklendiricilerin çevreye ve tüketiciye yönelik yan etkilerinin ortaya çıkmasının ardından biyolojik kaynaklardan elde edilen doğal renklendiricilere olan talep artmaktadır. Siyanobakterilerin yapısında karotenoidler, klorofil ve fikosiyanin olmak üzere çeşitli renklendirici olarak kullanılabilinecek yapılar mevcuttur (Gantt, 1975).

Fikosiyanin gıda ve kozmetik sektöründe kullanım alanına sahip doğal renklendirici olarak sentetik renklendiricilerin yerini almaktadır. Renklendirici özelliğinin yanısıra önemli ölçüde antioksidan, antiinflamatuvar ve karaciğer koruyucu özellik de göstermektedir (Romay and Gonzalez, 2000). C-fikosiyanin içeren fikobiliproteinler, floresan özellikleri ile biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır (Glazer, 1994). Fikobiliproteinlerin immunoglobulin, protein A, biotin ve avidin gibi biyolojik özgünlüğe sahip moleküllerle birleştirilmesi sonucu floresan prob olarak kullanıldığı ve histokimya, floresan mikroskopi, akış sitometrisi, bağışıklık testleri gibi birçok alanda kullanım potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Oi et al., 1982, Glazer 1994, Sekar and Chandramohan, 2008). Omurilik tümörünün belirlenmesinde ve oksidatif stres kaynaklı hastalıkların tedavisinde C-fikosiyaninin kullanımı mevcuttur (Bhat and Madyastha, 2000). İlaç sektöründe kullanılan fikosiyanin saflığı 4 iken gıda endüstrisinde bu oran 2 olarak belirlenmiştir (Bhaskar et al., 2005).

Spirulina' dan ekstrakte edilen fikosiyanin; ışık ve sıcaklığa karşı stabilitesinin düşük olmasına rağmen doğal gıda renklendiricisi olarak sakız ve şekerleme gibi ürünlerde kullanılmaktadır (Jespersen et al., 2005; Kato, 1994; Hirata et al., 2000). Japonya'da *A. platensis*'den elde edilen C-fikosiyanin gıda ve kozmetik sektöründe kullanılmaktadır (Prasanna et al., 2007).

Yapılan çalışmalarda C-fikosiyaninin gıdalarda rengi stabilize edici ve reolojik özellikleri gibi fonksiyonel özellikleri de incelenmiştir (Jespersen et al. 2005; Mishra et al. 2008; Batista et al. 2006). C-fikosiyanin renklendirici özelliğinin yanısıra hastalık tedavi edici, bağışıklık sistemini güçlendirici, antioksidan, antikanser, antiviral ve kolesterolü düşürücü etkisi de bulunan fonksiyonel bir ürün olarak da tercih edilmektedir (Jensen et al., 2001).

Fikosiyanin dünyada çeşitli firmalar tarafından ticari olarak üretilmektedir. Japonya’da “Dainippon Ink. & Chemicals Inc.” şirketi “İna mavisı” adıyla ticari olarak fikosiyanin üretimi yapmakta ve kg fiyatını 130 dolardan satmaktadır (Herrera et al., 1989; Henrikson, 2011). *S. platensis*’den elde edilen C-fikosiyanin, Japonya’da gıda ve kozmetik alanında renklendirici olarak kullanılmasına rağmen Avrupa’da yasal kısıtlamalar nedeni ile bu tip kullanım henüz onaylanmamıştır. C-fikosiyanin, fermente süt ürünleri, dondurma, alkolsüz içkiler, tatlılar, sakızlar, buzlu şekerler, dekorasyon ürünleri gibi birçok gıda ürününde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Ancak mavi renkli gıdaların sınırlı tüketimi bu maddenin gıdalarda renklendirici olarak kullanımına olan ilgiyi azaltmaktadır. Sıcaklığa ve ışığa karşı stabilitesinin zayıf olmasına rağmen indigo ve gardenya mavisinden çok daha dayanıklı olduğu kabul edilmiştir. Kırmızı mikroalg türü olan *Phorphyridium aerugineum*’dan elde edilen fikosiyaninin renginin ışığa ve pH değişimlerine karşı stabil kaldığı ancak sıcaklığa karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir. Fikosiyaninin farklı koşullardaki stabilitesinin belirlenmesi gıda proseslerindeki kullanım olanaklarının tespiti açısından oldukça önemlidir. Isı uygulanmaksızın içeceklere (Pepsi ve Bacardi Brezzer) ilave edilmesi halinde oda sıcaklığında 1 ay boyunca renk kaybı olmadığı tespit edilmiştir. Kuru gıdalarda kullanılması durumunda renk stabilitesi çok yüksektir. Kek dekorasyonunda kullanılan şekerli çiçeklerin renklerinin bir yıl boyunca stabil kaldığı belirlenmiştir (Eriksen, 2008; Sekar and Chandramohan, 2008).

Siyanobakterilerin fonksiyonel gıda olarak tüketimi fikosiyaninin kullanım alanlarından bir diğerini oluşturmaktadır. Kurutulmuş *S. platensis*’in fonksiyonel gıda olarak tüketiminde fikosiyaninin fonksiyonunu gösteren bir dizi çalışma bulunmaktadır. Son zamanlarda ilgi fikosiyaninin fonksiyonel bileşenler içeren kurutulmuş *S. platensis* ile alınmasına doğru kaymaktadır. Besinsel değerlerinin ötesinde tüm siyanobakterilerin fikosiyanin içerikleri nedeniyle, bağışıklık sistemini uyardığı, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser ve kolesterol düşürücü etkiler gösterdiği öne sürülmüştür. Siyanobakteriler biyolojik olarak birçok aktif bileşik içerdiğinden, siyanobakterinin tüketilmesi ile oluşan bu sağlık etkilerinin yalnızca fikosiyanin içeriği ile ilişkilendirilmesi tam olarak mümkün değildir (Eriksen 2008).

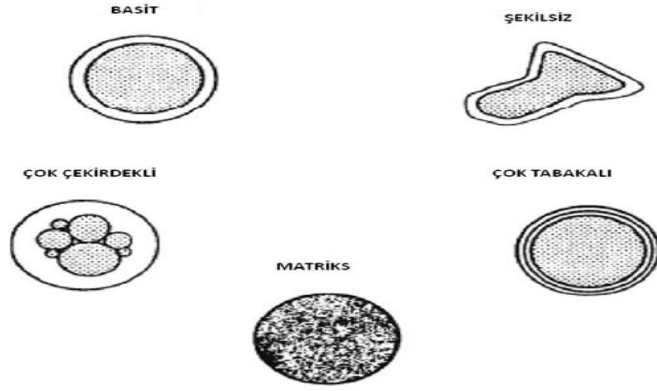
Farklı siyanobakterilerden elde edilen saf fikosiyanın antioksidan ve radikal uzaklaştırıcı aktivitesi olduğu ve bu bağlamda saflaştırılmış C-fikosiyanın'ın nutrasötik ve farmasötik olarak kullanıma potansiyeline sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Benedetti et al., 2006; Bermejo et al., 2008; Soni et al., 2008). Hidroksil radikallerinin yok olmasında fikosiyanın büyük bir kısmını oluşturan fikosiyanobilinlerin sorumlu olduğu belirlenmiştir (Zhou et al., 2005).

2.5. Mikroenkapsülasyon

Doğal renk katkı maddeleri ışık, ısı ve pH'ya karşı hassas oldukları gibi oksidasyona da dayanıklı değildirler (Freund et al., 1988). Mikroenkapsülasyon, çekirdek materyalin korunması, dayanıklılığının artması ve yavaşça açığa çıkmasını sağlamak için uygulanan teknolojik işlemlerdendir. Doğal gıda renklendiricilerinin, dayanım, çözünürlük ve elde etme problemlerinin üstesinden gelmek için uygulanan mikroenkapsülasyon işlemi için çeşitli teknolojiler ve kaplama materyallerinden yararlanılmaktadır. Enkapsülasyon işlemi ile elde edilen doğal renk maddelerinin oksidasyon ve çözünürlüğe karşı dayanımı gelişmekte böylelikle kullanımı daha kolaylaşmaktadır. Ayrıca enkapsülasyon ile pigmentlerin sudaki dağılıbilirlikleri de artmaktadır (Özkan ve Ersus, 2014).

Enkapsülasyon; bir maddenin veya karışımın başka bir madde veya sistem ile kaplanması veya hapsedilmesi olarak tanımlanmaktadır (Madene et al., 2006). Mikroenkapsülasyon ise aktif bir maddenin (çekirdek materyal) çevresinin bir veya daha fazla kaplama maddesi (duvar materyali) ile sarılıp mikrometre ile milimetre aralığında büyüklüğe sahip kapsüllerin (mikrokapsül) elde edilmesinde kullanılan bir teknolojidir. Mikrokapsüller basitçe küre şeklinde olup çevresinde homojen bir duvar yer almaktadır. Mikrokapsül içerisinde yer alan madde veya karışım, çekirdek, iç faz veya dolgu olarak ifade edilirken dış kısımda yer alan duvar ise kabuk, kaplama, duvar materyali veya membran olarak isimlendirilmektedir (Gharsallaoui et al., 2007). Kaplama maddesi çekirdeği ışık, sıcaklık, oksijen, nem ve diğer bileşenler ile etkileşim gibi çevre koşullarından korumaktadır. Ayrıca çekirdek materyalinin istenilen koşullarda kontrollü şekilde kapsülden salınımı sağlanabilmektedir (Risch, 1955; Dziezak, 1988) .

Mikrokapsüllerin görünüşleri çekirdek materyalinin fiziko-kimyasal özelliklerine, duvar materyalinin kompozisyonuna ve mikrokapsülasyon tekniğine göre değişim göstermektedir. Şekil 2.8’da farklı tiplere sahip mikrokapsüller görülmektedir.



Şekil 2.8. Farklı tiplerde mikrokapsül morfolojileri (Gibbs et al., 1999)

Mikroenkapsülasyon ürünlerinin ortaya çıkışı 1950lerde, basınca duyarlı karbonsuz kopya kağıdı üretilmesi yönünde gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda başlamıştır (Green and Scheicher, 1955).

Enkapsülasyon teknolojisi günümüzde farmokoloji, kimya, kozmetik, gıda ve boya gibi farklı birçok sektörde kullanılmaktadır (Augustin et al., 2001; Heinzen, 2002). Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanılması da oldukça eskiye dayanmaktadır. Özellikle son yıllarda fonksiyonel gıdaların öneminin giderek artması sonucunda mikroenkapsülasyon işlemi gıda sektörü için daha çok anlam kazanmıştır (Kunz et al., 2003). Mikroenkapsülasyon tekniği, gıda sektöründe genellikle, sıvı damlacıkların, katı partiküllerin veya gaz bileşenlerin gıda saflığında kaplama materyalleri ile kaplanması için kullanılmaktadır (Gharsallaoui et al., 2007). Gıda ürünleri içerisinde çoğunlukla katı ve sıvı yağlar, aroma bileşenleri, vitaminler, mineraller, renk bileşenleri ve enzimler mikrokapsüllenmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanım amaçları

- Kaplanacak maddenin dış etkenlere karşı korunması (ısı, nem, hava ve ışık gibi);
- Buharlaşarak kaybolmasının önlenmesi; fiziksel özelliklerinin daha iyi korunması;
- Maddenin kaplanmasıyla taşınmasının kolaylaştırılması;
- Doğru yerde ve doğru zamanda çalışmasının sağlanması;
- Kaplanacak maddenin tat ve kokusunun maskelenmesi;
- Başka bileşenlerle reaksiyona girmesinin önlenmesi;
- Küçük miktarlarda kullanımı istendiğinde seyreltilebilmesi ve
- Seyreltmenin homojen bir halde sağlanması şeklinde sıralanabilir (Desai and Park, 2005).

Gıda bileşenlerinin çekirdek materyal olarak kullanılıp kaplama materyalleri içerisinde enkapsülasyonu işleminde birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Mikroenkapsülasyon yönteminin seçilmesi esnasında, çekirdek ve kaplama materyallerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin ve kaplanacak olan gıda bileşeninin kullanılacağı yerin büyük önemi vardır. Çizelge 2.1. de gıdaların kaplanmasında kullanılan mikroenkapsülasyon teknikleri ve seçilen tekniğe göre temel işlem basamakları verilmektedir. Modifiye kaplama materyallerinin ve yeni teknolojilerin ortaya çıkması ile birlikte günümüzde fonksiyonelliği çok yüksek mikroenkapsüle gıdalar elde edilebilmektedir. Enkapsüle edilmiş bileşenlerin açığa çıkması pH değiştirme, mekaniksel kuvvet, sıcaklık, enzimatik aktivite, zaman, ozmotik kuvvet gibi tetikleyici faktörlerle başlamaktadır. Gıda endüstrisinde gerçekleştirilen enkapsülasyon işlemlerinde maliyet, farmakoloji veya kozmetik endüstrisine göre daha büyük önem arz etmektedir. Kullanılacak olan kaplama materyallerinin ve mikroenkapsülasyon yönteminin seçimi ayrı ayrı düşünülemez.

Çizelge 2.1 Farklı mikroenkapsülasyon teknikleri ve her teknikte kullanılan işlem basamakları (Desai and Park, 2005)

Mikroenkapsülasyon Tekniği	İşlem Basamakları
Püskürtmeli kurutma	✓ Dispersiyon hazırlama ✓ Dispersiyonun homojenizasyonu ✓ Beslenen dispersiyonun atomizasyonu ✓ Atomize parçacıkların kurutulması
Püskürtmeli dondurma	✓ Dispersiyon hazırlama ✓ Dispersiyonun homojenizasyonu ✓ Beslenen dispersiyonun atomizasyonu
Akışkan yatakta kaplama	✓ Kaplama sıvısının hazırlanması ✓ Kaplanacak olan maddenin akışkanlaştırılması ✓ Kaplanacak olan maddenin kaplanması
Ekstrüzyon	✓ Eritilmiş kaplama sıvısının hazırlanması ✓ Erimiş polimerlere kaplanacak maddenin dispersiyonu ✓ Kaplama maddesi - kaplanacak madde dispersiyonunun soğutulması veya dehidrate edici sıvı içerisinde geçirilmesi
Dondurarak kurutma	✓ Kaplanacak madde karışımının kaplama sıvısı içerisine karıştırılması ✓ Karışımın dondurularak kurutulması
Koaservasyon	✓ Birbirine karışmayan üçlü kimyasal sıvı fazının oluşturulması ✓ Kaplanmış materyalin dinlendirilmesi ✓ Kaplanmış materyalin katılaştırılması
Kokristalizasyon	✓ Süper doymuş sakkaroz sıvısının hazırlanması ✓ Kaplama materyalinin süper doymuş sıvıya eklenmesi ✓ Sıvının, sakkarozun kristalizasyon sıcaklığına ulaşması ile gerekli ısının emilimi
Lipozom tutuklama	✓ Mikro akışkanlaştırma ✓ Ultrasonikasyon ✓ Uzaklaştırılacak kısmın buharlaştırılması

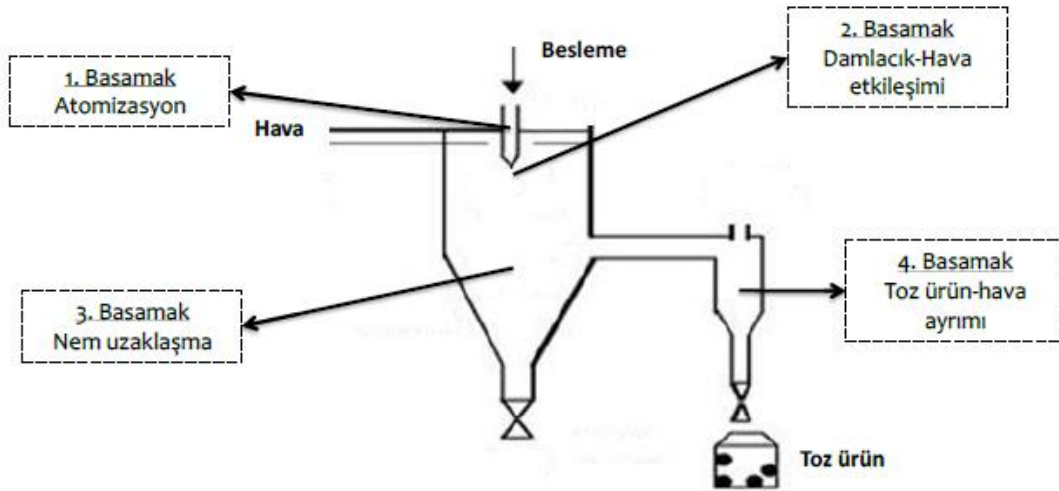
Doğal renk maddelerinin kaynaklarından ekstrakte edilmeleri ile stabilite problemi ortaya çıkmaktadır. Renk maddelerinin mikroenkapsülasyonunda, püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma, koaservasyon ve emülsiyon yöntemleri kullanılırken, gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan yöntem püskürtmeli kurutmadır.

Fikosiyaninin kararlılığının sınırlı olduğu ve yapısındaki proteinlerin ısı kararlılığının koruyucu katkı maddeleri veya düşük konsantrasyonlarda şeker eklenmesi ile arttığı, sitrik asit eklenmesiyle de kararlılığının 35°C’da 45 güne çıktığı, renkte minimum kayıp olduğu ve raf ömrünü geliştirdiği belirlenmiştir (Jespersen et al., 2005; Chaiklahan et al., 2012; Mishra et al., 2008). Çevresel koşullara karşı kararlılığının düşük olması fikosiyaninin doğal renklendirici olarak gıdalarda kullanımını sınırlamaktadır. Enkapsülasyon teknolojisi gıda bileşenlerini bozunmaya karşı korumayı amaçlayan ve gıda işlemede yaygın kullanılan bir yöntemdir. Doğal renk maddelerinin gıda ürünlerinde kullanılabilmesi için stabilitelerinin ve yavaş salınımlarının sağlanması amacı ile biyo-uyumlu ve biyo-parçalanabilir kaplama maddeleri ile kaplanması gıda endüstrisi için büyük önem taşımakta ve kullanım alanlarını yaygınlaştırmaktadır. Kaplanan renk maddelerinin katıldıkları gıda sisteminde salınımlarının kolay ve düzgün olması için kapsül parçacık boyutunun küçük (mikro), parçacık boyut dağılımının dar olması gereklidir.

Mavi fikobiliproteinlerden olan fikosiyaninin stabilitesinin artırılmasında enkapsülasyon teknolojisinin uygulanması ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Fikosiyaninin mikroenkapsülasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada alginat ve kitosan kaplama metaryalleri ile ekstrüzyon yöntemi uygulanmıştır. Öncelikle %1-3.5 (w/w) alginat çözeltileri oluşturulup çeşitli oranlarda fikosiyanin ile karıştırılmış ve %2’lik kalsiyum klorür çözeltisinde ekstrüzyon uygulanmıştır. Ürünler dondurarak kurutucuya yerleştirilerek fikosiyanin/alginat mikroenkapsülleri (PAM) elde edilmiştir. Diğer ürün grubunda ise %2’lik kitosan çözeltisinde kullanılarak fikosiyanin/alginat/kitosan mikrokapsülleri (PACM) oluşturulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda optimum koşulların %2.5 alginat, %2 kitosan, % 2.5 kalsiyum klorür olduğu ve fikosiyanin alginat oranı 3:2 olduğu belirlenmiştir. Hem PAM hem de PACM ile küresel şekilli ürünler elde edilirken, PACM ile çapı daha küçük ürünler elde edilmiştir. Depolamada sıcaklığın etkisi PACM ile azaltılabilirken, PAM’in etkisi olmamıştır. Enkapsüle ürünlerin asidik koşullara dayanıklı olduğu ve hafif alkali koşulda fikosiyaninin açığa çıktığı gözlemlenmiştir (Yan et al., 2014).

2.5.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi

Sıvı akışkan formdaki gıda maddelerinin kurutularak toz forma dönüştürülmesinde, ürün verimliliği ve düşük işletme maliyetleri açısından diğer kurutma yöntemlerine kıyasla en çok tercih edilen kurutma yöntemi püskürtmeli kurutmadır. Püskürterek kurutma işleminin temel prensibi; sıvı akışkan formdaki ürünün kurutma hücresindeki sıcak hava içerisine döner atomizör veya nozul yardımı ile çok küçük damlacıklar halinde beslenerek ürüne geniş bir yüzey alanı kazandırılması ve böylece hızlı bir evaporasyon işleminin sağlanmasıdır. Püskürtmeli kurutucu işlem basamakları; (1) beslemenin atomizasyonu ile damlacık oluşumu, (2) damlacıkların sıcak kurutma havası ile teması, (3) damlacıklardan nem uzaklaşması, (4) toz üründen havanın ayrılması şeklinde gerçekleşmektedir. Püskürtmeli kurutucu şematik gösterimi ve işlem basamaklarının sıralaması Şekil 2.9. 'da görülmektedir.



Şekil 2.9. Püskürtmeli kurutucu şematik gösterimi ve işlem basamakları

Püskürtmeli kurutucuda atomizör veya nozul tarafından oluşturulan damlacıklar sıcak hava akımı ile temas eder etmez damlacık yüzeyinde buharlaşma olayı başlar. Bu anda damlacık yüzeyindeki sıcaklık yaşı termometre sıcaklığındadır. Damlacıktan nemin uzaklaştırılması, yüzeyde oluşan kabuktan nemin difüzyon hızına bağlı olup zamanla oluşan kabuk kalınlaşarak nem difüzyonu da azalır ve kuruyan tanecik çok kısa sürede (1-10 saniye) havanın çıkış sıcaklığına ulaşmadan kurutma kabini terk eder (Foust et al., 1976; Geankoplis, 1983). Dolayısıyla ürün çıkış sıcaklığı hava çıkış sıcaklığının altında kalmaktadır. Püskürtmeli kurutma işleminde son ürünün kalitesini ve kurutma işleminin

etkinliğini doğrudan etkileyen ve sıvı akışkan ürünün kurutma ortamında küçük damlacıklar şeklinde dağılmasını sağlayan atomizasyon işleminde döner tip atomizörler veya nozullar kullanılmaktadır. Döner tip atomizörler kanallı dişli ve kanalsız disk şeklinde ikiye ayrılırken, nozul tip atomizörler ise atomizasyon işleminde uygulanan kuvvet tipine bağlı olarak basınçlı, sonik ve pnömatik olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Püskürtmeli kurutucuda kullanılacak olan döner veya nozul tipi atomizör seçerken;

- Besleme kapasitesi
- Beslemenin fiziksel özellikleri (yoğunluk, viskozite, vb.)
- Partikül boyutu
- Partikül boyut dağılımı (homojenlik)
- İşlem esnekliği
- Kurutuma odasının dizaynı dikkate alınmalıdır.

Son yüzyılda püskürtmeli kurutma teknolojisi derinlemesine incelenmiştir. Literatürde yer alan birçok çalışmada (de Vilder et al., 1976; Alexander and King, 1985; Rosenberg et al., 1988; Wallack et al., 1990; Twomey et al., 2000; Kelly et al., 2002; Schuck, 2002) da belirtildiği üzere püskürtmeli kurutucu işlem parametreleri (besleme hızı, besleme konsantrasyonu, sıcaklık, yüzey gerilimi) son ürünün fiziksel özellikleri üzerine doğrudan etkilidir. Masters (1972) sabit atomizasyon basıncında ve kurutma koşullarında besleme hızının ve konsantrasyonun yükselmesiyle elde edilen son ürünün partikül boyutunun artacağını belirtmiştir. Ayrıca beslemenin yüzey geriliminin artmasıyla da son ürünün partikül boyutu artmaktadır. Püskürtmeli kurutucuda diğer önemli bir işlem parametresi olan hava giriş sıcaklığının yükselmesi ise partikül boyutunu artırırken, yığın yoğunluğunun azalmasına neden olmaktadır. Hava hızının yükselmesinin ise yığın yoğunluğu üzerine sabit bir etkisi bulunmazken, ısı ve kütle transfer hızını artırdığı için partikül boyutunu etkilemektedir. Besleme çözeltisinin pompalama hızı ve kuru madde içeriği yükseldiği takdirde ise elde edilen toz ürünün parçacık boyutunun arttığı bilinmektedir (İlcalı ve Aslan, 1993).

Püskürtmeli kurutmanın en büyük avantajı, hem hidrofobik hem de hidrofilik polimer çözeltilerde kullanılabilir olmasıdır. Ekonomik olması ve ürünün çok kısa süre kurutucuda kalması ise diğer avantajlarıdır. Dezavantajı ise kurutma çemberinin duvarına yapışma problemi ve hassas ürünlerin yüksek sıcaklık ile temas ederek bozulmasıdır (Nesterenko et al., 2013).

Kaplama materyalinin seçimi de püskürtmeli kurutucuda gerçekleştirilen mikroenkapsülasyonun önemli basamaklarındanıdır. Gıdalar için genellikle kaplama materyali olarak karbonhidratlar (maltodekstrinler, kitosan, dekstroz, laktoz, pullulan v.b.), selülozlar (karboksimetilselüloz, metilselüloz, etilselüloz vb.), gamlar (akasya gamı, agar, sodyum aljinat), proteinler (gluten, kazein, jelatin) kullanılabilir (Koç vd., 2010). Çizelge 2.2.'de çeşitli bileşenlerin püskürtmeli kurutma yöntemiyle gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları ve işlem parametreleri gösterilmektedir.

Çizelge 2.2. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları

Çekirdek materyali	Kaplama materyali	Hava giriş sıcaklığı (°C)	Hava çıkış sıcaklığı (°C)	Enkapsülasyon gerekçesi	Referans
Etil butirat ve Etil kaprilat	Peynir altı suyu proteinleri/laktoz	160	80	Aroma korunması	Rosenberg and Sheu, 1996
Likopen	Jelatin/sakkaroz	190	52	Depolama stabilitesini artırma	Shu et al., 2006
Siyah havuç antosiyanin pigmenti	Maltodekstrin	160	107	Depolama stabilitesini artırma	Ersus ve Yurdagel, 2007
Portakal yağı	Laktoz/kazeinat	180	80	Aroma korunması	Edris and Bergnstahl, 2001
D-limonen	Gam arabik/ maltodekstrin/ modifiye nişasta	200	110	Oksidasyon önlenmesi	Soottitanta wat et al., 2005
Portakal kabuğu yağı	Mesquite gam	200	110	Oksidasyon önlenmesi	Beristain et al., 2002
Limon yağı	β -siklodekstrin	160	60	Aroma korunması	Baik et al., 2004
Ton balığı yağı	Kitosan/lesitin	180	-	Oksidasyon önlenmesi	Jimenez et al., 2004
Karabiber oleoresini	Gam arabik/modifiye nişasta	176-180	105-115	Aroma korunması	Shaikh et al., 2006
Kurkumin	Jelatin, nişasta	190	70	Suda çözünürlük kazandırılması	Wang et al., 2009
Likopen	Modifiye nişasta	180	98	Suda çözünürlük kazandırılması, stabilitesinin geliştirilmesi	Rocha et al., 2012

2.5.2. Koaservasyon yöntemi

Koaservasyon yöntemi, genel anlamda, birbirine karışmayan iki kolloid sisteminde faz ayrılması olarak tanımlanır (de Kruif et al., 2004). Koaservasyon, kaplama materyalinin sıvı fazının polimerik çözeltiden ayrılması ile birlikte kaplama fazının çekirdek materyali homojen bir tabaka halinde sarması sonucunda gerçekleşmektedir (Desai ve Park, 2005). Koaservasyon enkapsülasyon teknolojisinin orijinal yöntemi olarak da bilinmektedir (Risch, 1995). Bu yöntem enkapsülasyon işleminde çalışılan ilk yöntem olup Green and Scheicer (1955)'in basınca duyarlı karbonsuz kopya kağıdı üretimine yönelik çalışmalarında kullanılmıştır.

Koaservasyon basit ve karmaşık koaservasyon olmak üzere ikiye ayrılır. Basit koaservasyonda tek bir tip polimer kullanılırken karmaşık koaservasyon işleminde ise iki veya daha fazla polimer kullanılmaktadır. Basit koaservasyonda desolvasyon ajanı faz ayrımı için eklenmektedir. Kompleks koaservasyonda ise iki zıt yüklü polimer arasında kompleksleşme oluşmaktadır. Kompleks koaservasyon metodunda suda çözünebilen iki farklı yüke sahip duvar malzemeleri kullanılır ve bir polimerin eksi yükü ile diğerinin pozitif yükünün nötralizasyonu, polimer bakımından zengin fazın ayrılmasına neden olur. Çekirdek materyal polimer ile uyumlu olmalı ve koaservasyon ortamında çözünmemelidir. Kapsama malzemeleri bu bakımdan oldukça önemli bir role sahiptir. Seçilen kaplama malzemesinin kapsüle edilecek malzemeyle herhangi bir etkileşiminin olmamasına dikkat edilmeli ve bununla birlikte suda çözünebilir, biyouyumlu ve biyoparçalanabilir özelliklere sahip olmalıdır (Gibbs et al., 1999).

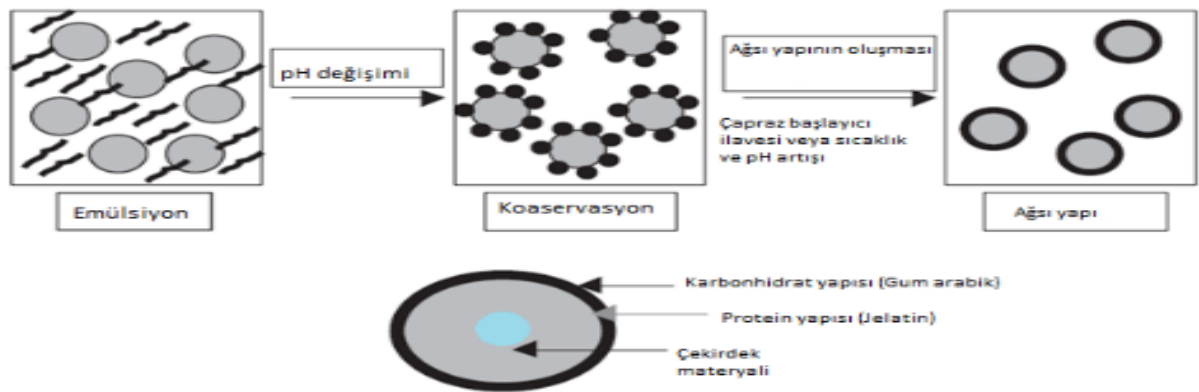
Diğer enkapsülasyon yöntemlerinden farklı olarak enkapsüle yapı kimyasal yöntemlerle oluşturulmaktadır. Yapılan enkapsülasyon çalışmalarında koaservasyon işlemi için kaplama materyali olarak gliadin, heparin/jelatin, karragenan, kitosan, soya proteini, jelatin/karboksimetil selüloz, β -laktoglobulin/gam akasya kullanılmıştır. Bunlar arasından en çok çalışılan jelatin/ gam kombinasyonlarıdır (Gouin, 2004).

Koaservasyon yönteminde jelatin materyalinin kullanılmasının yapının oluşturulması için kritik önem taşıdığı yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Özkan ve Ersus, 2014). Jelatin ve arap zamkı kompleks koaservasyon yönteminde sıklıkla kullanılan iki polimerdir. Jelatin protein yapıda olup pozitif yüke sahiptir, arap zamkı ise polisakkarid olup negatif yüke sahiptir. Jelatin ve arap zamkı tipik polielektrolitlerdendir. Jelatin izoelektrik noktasının

altındaki pH'da pozitif, arap zımkı ise negatif yüklüdür. Uygun pH, sıcaklık ve konsantrasyonda kompleks oluşturarak faz ayrışması sağlanmaktadır. Koaservasyon işlemi üzerinde pH ve sıcaklık değişkenleri önemli rol oynamaktadır. Yöntemin prensibi şekil 2.10.'da belirtilmektedir.

Koaservasyon yönteminde yapının daha sağlam olması için çapraz bağlayıcı ajanlar da kullanılabildiği gibi işlem sonrası üründeki suyun uzaklaştırılması için kurutma işlemi de gerçekleştirilmektedir (Gibbs et al.,1999). Bu sebeple literatürde yapılan çalışmalarda sıcak hava ile kurutma (Sutaphanit and Chitprasert, 2014; Quan et al., 2013), pşkrtmeli kurutma (Tapal and Tiku, 2012; Dong et al., 2011; Eratte et al., 2014; Jun-xia et al., 2011), dondururarak kurutma (Leclercq et al., 2009; Eratte et al., 2014; Santos et al., 2015) ve vakum kurutma (Dima et al., 2014; Eratte et al., 2014) yöntemleri kullanıldığı belirtilmektedir

Koaservasyon yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin kontrollü salınım ve ısıya direnç özelliklerinin iyileştiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Jun-xia et al., 2011) Jelatin ve gum arabik kombinasyonu kullanılarak karbonsuz kağıt, koku ve aroma esanslı malzemelerin üretimi gerçekleştirilmiştir (Jun-xia et al., 2011). Koaservatın yapısını iyileştirmek amacıyla bazı yüzey aktif maddeler de kullanılmaktadır, fakat bunların miktarının optimizasyonu yapının oluşturulması bakımından önem taşımaktadır (Nakagawa et al., 2004). Koaservat yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin kontrollü salınım özelliği partikülün yapısına, boyutuna, çapraz bağlama özelliğine ve salınım ortamına göre belirlenir.



şekil 2.10. Kompleks koaservasyon yönteminin prensibi (Madene et al., 2006)

Koaservasyon teknolojisi, gıda endüstrisinde sık kullanılan bir yöntem değildir. Bunun başlıca sebebi, işlemin çok karmaşık olmasının yanında maliyetinin de yüksek olmasıdır (Soper, 1995). Doğal renk pigmentlerinin koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyonunda işlem değişkeni olarak genellikle çözelti sıcaklığının koaservatif yapı oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir (Wang et al., 2014; Nakagawa and Nagao, 2012; Ireche et al., 1995; Butstraen and Salaün, 2014). Çizelge 2.3 de koaservasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları ve işlem parametreleri verilmiştir.



Çizelge 2.3. Koaservasyon yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon çalışmaları

Çekirdek materyal	Kaplama materyali	Ortam Sıcaklığı (°C)	pH	Enkapsülasyon gerekçesi	Referans
Tuna yağı (omega-3 yağ asitleri)	Jelatin, Sodyum heksametafosfat (SHMP)	50	4.7	Oksidasyonun önlenmesi	Wang et al., 2014
Lutein	Jelatin, Gum arabik,	45	4.2	Stabilitesinin geliştirilmesi	Qv et al., 2011
Ksilitol	Jelatin, Gum arabik,	50	4.0	Stabilitesinin geliştirilmesi	Santos et al., 2015
Tuna yağı (omega-3 yağ asitleri)	Peynir altı suyu protein izolatu, gum arabik	25	3.75	Oksidasyonun önlenmesi	Eratte et al., 2014
Kurkumin	Soya protein izolatu	25		Sudaki çözünürlüğünü arttırmak	Tapal and Tiku 2012
Fukoksantin	Jelatin, Gum arabik	50	4.00	Oksidasyonun önlenmesi, Sudaki çözünürlüğünü artırılması	Quan et al., 2013
Aroma bileşenleri (limonen ve mentol)	Jelatin, Gum arabik	42	4.2	Stabilitesinin geliştirilmesi	Leclercq et al., 2009
Kırmızı renk maddesi (yağda çözünür)	Kitosan, gum arabik	45	3.6	Sudaki çözünürlüğünü artırılması	Butstraen and Salaün 2014
Portakal yağı	Soya protein izolatu, Gum arabik	50	4.00	Oksidasyonun önlenmesi, aromanın korunması	Jun-xia et al., 2011
Nane yağı	Jelatin, Gum arabik	50	4.00	Stabilitesinin geliştirilmesi	Dong et al., 2011
Fesleğen esansiyel yağı	Jelatin	40	3.5-4.00	Stabilitesinin geliştirilmesi, Oksidasyonun önlenmesi,	Sutaphanit and Chitprasert, 2014
Yenibahar aromatik yağı	Kitosan- k-Karragenan	25	4.5	Fonksiyonel özellik kazanması, Stabilitesinin geliştirilmesi	Dima et al., 2014

2.6. Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)

Geleneksel optimizasyon yöntemlerinin temelini, sadece bir parametreyi zamanla değiştirirken diğerlerini sabit tutmak oluşturur. Bu yaklaşım, araştırmacıya hem maliyet hem de zaman açısından önemli dezavantajlar getirmektedir. Ayrıca, bu yaklaşımla çeşitli işlem parametreleri arasındaki etkileşimlerin belirlenmesi ve prosesin tam anlamıyla tanımlanabilmesi için yeterli veri elde etmek oldukça güçtür (Cochran and Cox, 1957). Yanıt yüzey yöntemi ise, sistemin yanıtını etkileyen çok sayıda değişkeni bir arada ve eşzamanlı olarak incelemektedir. Bu sayede, prosesin işlem parametrelerindeki değişime verdiği yanıt en az sayıda deneme yapılarak en iyi şekilde tanımlanabilmektedir.

Yanıt yüzey yöntemi, “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile 1951 yılında Box ve Wilson tarafından geliştirilmiş ve tanımlanmıştır. İlk olarak kimya endüstrisine uygulanmıştır. Son 50 yılda fiziksel bilimler ve mühendislik, sosyal bilimler, biyoteknoloji ve gıda endüstrisini de içeren çeşitli dallarda da uygulama alanı bulmuştur. Ürün ve proses tasarımı, tanımlanmasında, geliştirilmesinde ve optimizasyonunda, belirsizlik (uncertainty) analizlerinde, kalitenin iyileştirilmesinde sıkça kullanılan bir yöntemdir. Yanıt yüzey yöntemi, gıda bilimi ve teknolojisi alanında da yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Fırında pişirme, osmotik dehidrasyon, kurutma, fırında kavurma, ekstraksiyon, ekstrüzyon, pastörizasyon ve biyoteknolojik işlemler, enzim üretimi, fermantasyon, püskürtmeli kurutma, mikroenkapsülasyon gibi çeşitli alanlarda pek çok araştırmacı tarafından başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Cui et al., 1994; Sacchetti et al., 2001; Eren ve Kaymak Ertekin 2007; Mundra et al., 2007; Koç vd., 2010; Koç vd., 2011; Koç vd., 2015).

Khuri ve Cornell (1996), yanıt yüzey yöntemini, bir işletim sisteminde problemlerin analiz edilmesi ve modellenmesi için, deneysel faktörlerle bunların ölçülen yanıtları arasında bağlantılar kuran matematiksel ve istatistiksel teknikler olarak tanımlamaktadır. Myers ve Montgomery (1995) ve Montgomery (2001) ise yanıt yüzey yöntemini, proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir arada kullanıldığı bir yöntem olarak tanımlamıştır. Box ve Draper (2007) yanıt yüzey yöntemini tanımlarken; empirik model geliştirmek ve bu modeli değerlendirmek için kullanılan bir grup istatistiksel teknikleri kapsadığını belirtmişlerdir. Dikkatlice dizayn ve analiz edilmiş

denemelerle, bağımlı bir değişken veya yanıt ile bu yanıtı etkileyen bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi araştırmaktadır, ifadelerine yer vermiştir.

Yanıt yüzey yöntemi, deneysel tasarımı, empririk model geliştirmeyi ve bu modeli değerlendirmeyi içeren iteratif bir prosestir. Yanıt yüzey yönteminin ilkesini, bir dizi istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birbiri ardına uygulanması ve her bir aşamada elde edilen verilerin bir sonraki aşamada kullanılması oluşturmaktadır. Genel olarak yanıt yüzey yöntemi 3 aşamadan (eleme denemeleri, bölge araştırması ve işlemin veya ürünün optimizasyonu) oluşmaktadır. Sistemi karakterize eden performans ölçülerinin (yanıtların) ve bu yanıtlar üzerinde etkili olabilecek faktörlerin veya kontrol edilebilir değişkenlerin belirlenmesi gerekmektedir. Genellikle bu faktörler oldukça uzun bir liste oluşturmaktadır. Bu durumda, eleme (screening) denemeleri yapılarak bu faktörler arasından istatistiksel olarak en önemli olanlar seçilebilir. Eleme denemeleri, daha az sayıda ve daha verimli esas deneme yapılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca maliyet ve zaman açısından da önemli avantajlar sağlamaktadır.

İkinci aşama olan bölge araştırmasında amaç, eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin sistemin yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya yakın sonuçlar verip vermediğini belirlemektir. Optimum noktaya yaklaştıkça yanıt yüzeydeki eğrilik daha belirgin hale gelmektedir. Yanıt yüzey yönteminin bu aşamasında birinci dereceden modeller kullanılır. Birinci dereceden modeller sistemin yanıtını belirlemede yeterli ise seçilen deneme bölgesinin optimum noktadan uzakta olduğu anlaşılır ve yeni bir deneme bölgesi seçilir. Bu işlem, oluşturulan yanıt yüzeydeki eğriliğin önemli olduğu bölgeler bulununcaya kadar devam eder.

Yanıt yüzey yönteminin üçüncü aşaması, işlem optimum noktaya yaklaşıldığında başlar. Gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik göstermektedir. Bu eğriliğin tahminlenmesinde lineer olmayan modeller, genellikle ikinci dereceden polinomial modeller kullanılır. Uygun bir model elde edildikten sonra, bu model optimum noktanın araştırılmasında kullanılır.

Görüldüğü gibi, yanıt yüzey yöntemi, proses değişkenlerinin deneysel uzayını araştırmak için deneysel stratejileri, sistemin yanıtı ve üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılan empirik modelleme tekniklerini ve

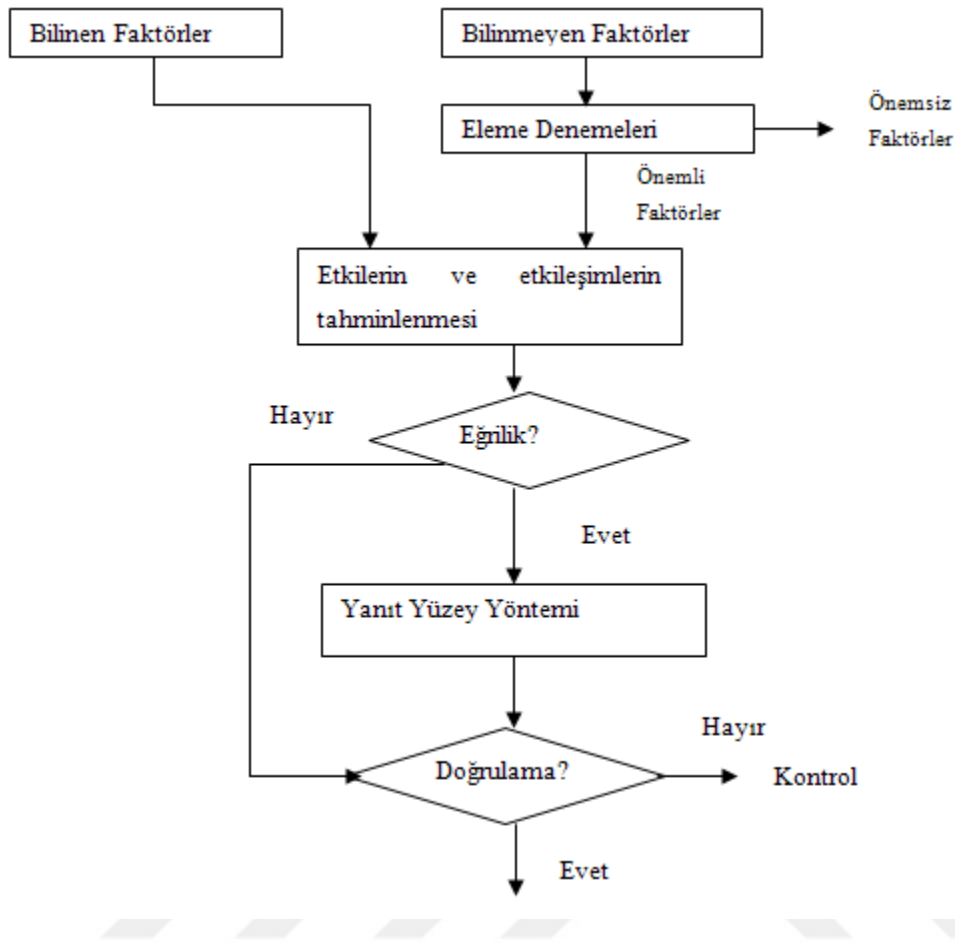
proses değişkenlerinin sistemin yanıtında arzu edilen etkiyi gösterdiği seviyelerinin bulunması için kullanılan optimizasyon tekniklerini içermektedir (Eren, 2004).

Denemelerin dizayn edilmesi, modelin seçimi ve geliştirilmesi, modelin istatistiksel olarak doğrulanması ve optimizasyon, yanıt yüzey yönteminin başlıca kısımlarını oluşturmaktadır. Yanıt yüzey yönteminin akış şeması Şekil 2.11’de gösterilmiştir.

Yanıt yüzey yönteminin bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu yöntemin avantajlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Daha az deney yaparak, daha fazla bilgi sahibi olma imkânı vermektedir.
- Bağımsız değişkenlerin etkilerinin birlikte incelenmesini mümkün kılmaktadır.
- Sistemin matematiksel bir model ile tanımlanması, dolayısıyla bağımlı değişken ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin bu model ile ifade edilmesini sağlamaktadır.

Yanıt yüzey yönteminin dezavantajı ise, elde edilen modelin doğrusal olmayan sistemlerin modellenmesinde başarılı olamamasıdır. Hiperbolik ya da çan eğrisi şeklinde simetrik olmayan fonksiyonlar, polinomiyal modeller ile modellenememektedir (Myers and Montgomery, 1995).



Şekil 2.11. Yanıt Yüzey Yönteminin Akış Şeması

2.6.1. D-Optimal dizayn

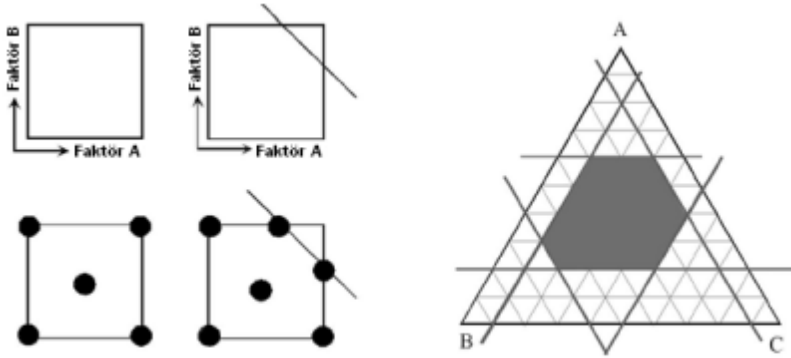
D-optimal dizayn bölge tarama ve optimizasyon çalışmalarında kullanılmakta olup, aşağıdaki durumlar için sıkça tercih edilmektedir.

- Düzensiz deneme bölgesinde tarama veya optimizasyon çalışmalarında
- Çok seviyeli nitel faktör tarama çalışmalarında
- Nitel faktörler ile optimizasyon çalışmalarında
- Deneme sayılarının klasik dizayna göre azaltılması istendiğinde
- Özel regresyon modellerinin fit edilmesi gerektiğinde
- Proses ve karışım faktörlerinin aynı dizayn içerisinde incelenmesi gerektiği durumlarda

D-optimal dizayn bilgisayar destekli türetilmiş bir dizayn olup, yanıtlar ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklamak için tahminlenen bir matematiksel model oluşturmaktadır. Klasik dizaynların aksine D-optimal dizayn oluşturulan matematiksel modeli temel alarak muhtemel yeni alt bölgeler yaratmaktadır. Oluşturulan bu alt bölgelerde de tarama işlemi gerçekleştirilir.

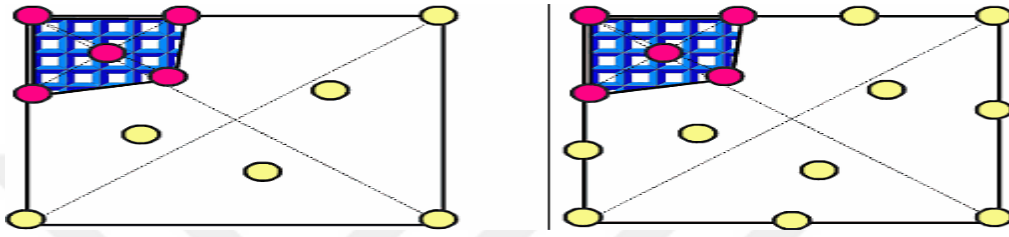
Bir çalışmada deneme bölgesi, araştırılan bağımsız değişkenlerin sınırları tarafından tanımlanır. Her bir bağımsız değişkenin tek tipi, bağımsız değişkenlerin bölgeleri ve toplam bağımsız değişken sayısı deneme bölgesinin alanını etkiler. Kübik ve kuadratik dizaynların aksine D-optimal dizaynda deneme bölgeleri hiperküplere benzemektedir (Eriksson, 2008).

Bir problemin formülasyonunda bütün alanların incelenmesi mümkün olmadığı için kısıtlamalar oluşmaktadır. Kısıtlama, deneme bölgesinin bir köşesinin deneyler için ulaşılabilir olmadığını ifade etmektedir. Şekil 2.12.'deki orta çizgi sağ üst köşedeki kısıtlama ile kuadratik dizayna örnek olarak gösterilmektedir. Bu köşe araştırılmamış ve sonuç olarak normal dizayn kabul edilebilir değildir. Bunun nedenleri denemeyi yapanın özel faktör kombinasyonlarını önlemek istemesi veya bu köşenin dış etkenlerden dolayı araştırılamamasından kaynaklanabilmektedir (Eriksson, 2008).



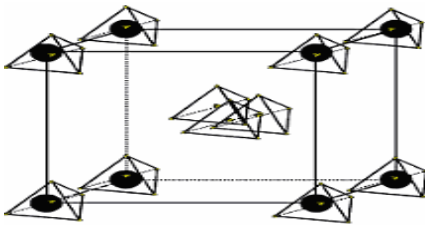
Şekil 2.12. Düzensiz deneme bölgelerini gösteren örnek şematik diyagramlar (Eriksson, 2008)

Düzensiz deneysel alanda işlem yapmak için 2 yol vardır. Birincisi deneme bölgesini tekrar bir kuadratik forma sahip olana kadar alanı küçültmektir. Ancak, bu tüm deneme dizaynını bozacağı için tavsiye edilmez. Daha etkin bir çözüm bilgisayar destekli D-Optimal dizayn kullanımıdır. Şekil 2.13'de görüldüğü gibi karenin sol üstünde, D-Optimal algoritması hariç köşeler yerine kısıtlanmış çerçevenin üzerinde 2 nokta seçer. Bu deneme sayılarını arttırmaktadır ancak kısıtlı deneme bölgesinin karmaşıklığı ile başa çıkmak için gereklidir. Ayrıca, merkez noktası manipüle edilmektedir (Eriksson, 2008).



Şekil 2.13. D-optimal deneme dizaynı şematik gösterimi (Eriksson, 2008)

Analitik süreçlerin optimizasyonunda istatistiksel teknikler sıkça kullanılmaktadır. D-optimal dizayn özellikle ürün formülasyonlarında en çok tercih edilen yöntemlerdendir. Çünkü karışım faktörleri ile proses faktörlerini bir arada değerlendirme olanağı sağlamaktadır. Şekil 2.14' de D-optimal dizayn ile karışım ve proses faktörlerinin birlikte incelenmesini anlatan Şematik gösterim görülmektedir. Küp proses faktörlerini ifade ederken, üçgen prizmalar ise karışım faktörlerini ifade etmektedir (Eriksson, 2008). D-optimal dizayn çoklu bağımsız değişkenlerin birlikte değerlendirilmesinde klasik deneme desenlerine göre az sayıda deneme yapmayı gerektirmektedir. Ayrıca klasik deneme yöntemlerinin açıklayamadığı faktör interaksiyonuna da cevap vermektedir (Borhan et al., 2014). D-optimal dizayn gıda endüstrisinde ürün bileşiminin optimize edildiği durumlarda kullanılmaktadır (Nikzade et al., 2012; Shaviklo and Rafipour, 2014; Koç vd., 2015).



Şekil 2.14. D-optimal deneme dizaynında proses ve karışım faktörlerinin bir arada incelenmesi (Eriksson, 2008)

2.6.2. Merkezi tümleşik tasarım (Central Composite Rotatable Design)

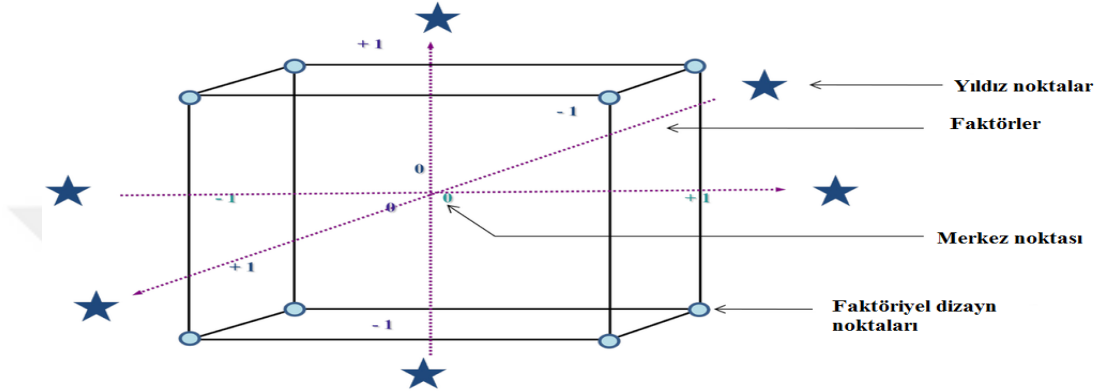
Merkezi tümleşik dizayn çoğunlukla ikinci dereceden yanıt yüzey problemlerinin tahminlenmesinde kullanılmaktadır. Merkezi tümleşik dizayn iki seviyeli tam ya da kısmi faktöriyel dizaynlar ile aksenel veya yıldız noktalarının en az bir merkez noktayı da bünyesinde barındıracak şekilde birleştirmektedir (Box et al., 2005; Montgomery, 2001; Box and Wilson, 1951). Bunun yanı sıra merkezi tümleşik dizayn lineer ve kuadratik modellerin bir arada değerlendirilmesine de olanak tanımaktadır.

Çoğunlukla, merkezi tümleşik bir dizayn k sayıda ve $x_1, \dots, x_k$ olacak şekilde kodlanan faktörler için 3 kısımdan meydana gelmektedir:

1. Bir faktöriyel veya kübik dizayn, $x_i = -1$ veya $x_i = +1$ ($i=1, \dots, k$) kordinatlarında toplamda n sayıda nokta içerir;
2. Bir aksenel veya yıldız kısmı, merkez nokta hariç bütün koordinatlarda $nax=2*k$ nokta sayısı kadar sabit bir değere sahip $+a$ veya $-a$;
3. $x_i = \dots x_k = 0$ ($i=1, \dots, k$) kordinatlarında nc deneme sayısı kadar merkez nokta denemesidir.

Merkez noktası tüm bağımsız değişkenlerin orta (0) değerini aldığı deneme noktasıdır. Bu noktada yapılan tekrar denemeleri, uygun serbestlik derecesi sağlayarak, kalıntı hatanın, saf deneysel hata ve “lack of fit” olarak ayrılmasını sağlar. Böylece bağımlı değişkenlerin üzerine bağımsız değişkenlerin etkisinin ortaya konduğu matematiksel model test edilebilir. “Lack of fit” model uygunsuzluğu olarak bilinmekte olup, modelin matematiksel formundan kaynaklanan hatayı ifade etmektedir. Aksenel veya yıldız noktaları ise bağımsız değişkenlerin en yüksek ($+a$) ve en düşük ($-a$) değerleri aldıkları noktalardır ve modeldeki eğrilerin geniş bir aralıkta tahminlenmesine olanak sağlamaktadırlar.

Merkezi tümleşik dizayn 2^2 faktöriyel bir tasarıma 4 (nc) adet merkez ve 4 ($\alpha = (2k)1/4$, $\alpha=1.414$) adet eksenel noktanın eklenmesi ile oluşmakta ve toplam 12 denemeyi içermektedir. Merkezi tümleşik dizayn 2^3 faktöriyel bir tasarım için ise 6 (nc) adet merkez ve 6 ($\alpha = (2k)1/4$, $\alpha=1.683$) adet eksenel noktanın eklenmesi sonucunda toplam 20 denemeyi kapsamaktadır. Örnek bir 3 değişkenli CCRD modelinin deneysel tasarım noktaları ile birlikte görünümü Şekil 2.15’de verilmektedir (Turan ve Altundoğan, 2011).



Şekil 2.15. Örnek bir CCRD modeli

Şekil 2.15’den de görülebileceği üzere merkezi tümleşik tasarımın en büyük avantajı, ana tasarım noktaları dışında (faktöriyel dizayn noktaları) da deneysel tasarıma olanak vermesidir. Bu model genellikle bir araştırmada matematiksel açıdan doğrusal modellerin yeterli olmadığı durumlarda, ikinci dereceden model denklemlerinin oluşturulması ve açıklanmasında kullanılmaktadır. Bu durumda, matematiksel model ikinci dereceden bir polinom formuna dönüşmektedir. Yanıt değerleri ise, doğrusal ve ikinci dereceden modeller tarafından seçilmiş olan faktörlere bağlı olarak belirlenmektedir (Turan ve Altundoğan, 2011). Yanıt değerleri aşağıda Eşitlik 2.1’de verilen şekilde hesaplanmaktadır:

$$\eta = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j^2 + \sum_i \sum_{<j=2}^k \beta_{ij} x_i x_j + e \quad (2.1)$$

Burada; η tahmini yanıt, x_i ve x_j yanıt değerleri, β_0 sabit katsayı, β_j , β_{jj} ve β_{ij} sırayla lineer, ikinci dereceden ve iki terimli etkileşim katsayıları olup, e ise hata değerleridir.

2.6.3. Optimizasyon

Optimizasyon, prosesin belirlenen hedefler (yanıtlar) doğrultusunda, bağımsız değişkenlerin birbirleriyle olan etkileşimleri ve bu bağımsız değişkenlerin hedefe (yanıta) olan etkileri de göz önünde bulundurularak bir araya getirilip uygulanması işlemidir. Optimizasyonun birçok avantajı bulunmaktadır:

- Prosesin daha kısa sürede gerçekleşmesini sağlamaktadır.
- Enerji tasarrufu sağlayarak prosesin ekonomik yükünü azaltmaktadır.
- İstenilen kalitede ürün elde edilmesini sağlamaktadır.
- Bir ekipman veya bir proses için gerekli ve doğru bilgileri elde etme imkanı sağlamaktadır.
- Yeni bir ekipman tasarımı için, girdi bilgilerinin elde edilmesini sağlayıp, proseslerde bu ekipman ile daha kısa sürede ve daha etkin çalışmayı sağlamaktadır.

Proseslerin optimizasyonunda genellikle sistemin performansını veya ürünün kalite kriterlerini belirleyen çok sayıda yanıtla eş zamanlı olarak çalıştırılır. Bu yanıtların bazılarının maksimum seviyede tutulması, bazılarının minimum seviyede tutulması, bazılarının da kabul edilebilir değerler veya hedef değer alması arzu edilebilir. Birçok durumda, yanıtlar birbirleri ile rekabet halindedir, diğer bir ifadeyle bir yanıtın geliştirilmesi diğer bir yanıt üzerinde olumsuz bir etki oluşturabilir. Bu yüzden, optimizasyon çalışmalarında sistemi karakterize eden tüm yanıtların hep birlikte ele alınması gerekmektedir. Ancak bu durumda, optimizasyon oldukça karmaşık bir hal almaktadır. Bu problemi çözmek için farklı yaklaşımlar öne sürülmüştür. Çok yanıtlı optimizasyon problemlerinin çözümünde:

- Lineer olmayan programlama,
- Yanıtların izohips eğrileri çizilerek üst üste yerleştirilmesi (superimposing),
- Desirability fonksiyonu gibi yaklaşımlar kullanılmaktadır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma kapsamında doğal mavi renk veren fikosiyanin üretimi için *Spirulina platensis* kullanılmıştır. Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonun'dan (EGEMACC-<http://www.egemacc.com/index.php>) ticari olarak kullanılan *S. platensis* EGEMACC 38, çalışmada kullanılmak üzere seçilmiş bir türdür. Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Algal Biyoteknoloji laboratuvarında *S. platensis* Zarrouk ortamında (Zarrouk, 1966) 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde ve $22\pm 2^\circ\text{C}$ de havalandırılmalı olarak yetiştirilmiştir.

Mikroenkapsülasyon çalışmalarında kullanılan saf fikosiyanin belirlenen uygun ekstraksiyon yöntemi ve optimum işlem koşullarında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Temel İşlemler Laboratuvarında üretilerek, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Algal Biyoteknoloji Laboratuvarında saflaştırılarak elde edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fikosiyanin ekstraksiyonu

3.2.1.1. Biyokütleyle uygulanacak ön işlemin belirlenmesi

S. platensis biyokütlesi dondurulmuş, yaş ve kurutulmuş olmak üzere üç şekilde ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Dondurma işlemi $-20\pm 2^\circ\text{C}$ 'taki derin dondurucuda 24 saat süresince, kurutma işlemi ise $50\pm 2^\circ\text{C}$ 'ta yaklaşık %8 nem içeriği hedef alınarak tepsili kurutucuda gerçekleştirilmiştir. Biyokütleyle uygulanacak ön işlemlerin (donma, kurutma ve yaş) etkisini belirlemek amacıyla ekstraksiyon yöntemi, çözgen tipi ve üç farklı yapıdaki biyokütlenin kuru madde miktarı sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi 7000 dev/dak ve 10 dak süresince klasik homojenizatörde soğutmalı sirkülatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çözücü ortam olarak %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi kullanılmıştır. Dondurulmuş, yaş ve kuru biyokütlelerin sabit koşullarda ekstraksiyonu sonucunda, en uygun formun seçilmesinde maksimum toplam fikosiyanin konsantrasyonu dikkate alınmıştır.

3.2.1.2. Çözgen tipinin seçilmesi

S. platensis'den elde edilen biyokütleyle uygulanan ön işlemin belirlenmesinin ardından farklı ekstraksiyon yöntemlerinin fikosiyanin konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla klasik, ultrasonik ve mikrodalga olmak üzere 3 farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Fikosiyanin ekstraksiyonunda çözgen olarak 3 farklı çözgen (distile su, Na-fosfat tampon pH 7.4 çözeltisi ve % 1.5 CaCl₂ (w/v)) kullanılmıştır.

Klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon işleminde kullanılacak olan çözgen tipinin seçiminde ekstraksiyon koşulları, *S. platensis* biyokütlesinin yapısal özellikleri göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Ekstraksiyon aşamasında klasik ve ultrasonik yöntemde; işlem sıcaklığı soğutmalı su banyosu ile 25±2°C' de sabit, mikrodalga ekstraksiyon yönteminde ise ekstraksiyon haznesindeki sıcaklık 40±2°C' yi aşmayacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Klasik ekstraksiyon yönteminde mekanik homojenizatör (Ultra Turrax, IKA, Model T25, Almanya), ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ultrasonik banyo (Daihan Wisc WUC-D06H, Kore) ve mikrodalga ekstraksiyon yönteminde ise mikrodalga ekstraksiyon cihazı (Milestone, İtalya) kullanılmıştır.

Ekstraksiyon yöntemine uygun çözgen tipi en yüksek toplam fikosiyanin konsantrasyonu dikkate alınarak seçilmiştir. Elde edilen ekstraktların santrifüj öncesi hücre yapıları mikroskop altında incelenmiş, görüntüleri kaydedilmiştir; santrifüj sonrası renk değerleri (L*, a*, b*, Hue ve Chroma) Konika Minolta CR-300 kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.1.3. Ekstraksiyon işlem koşulları optimizasyonu ve uygun ekstraksiyon yönteminin seçimi

Ekstraksiyon denemelerinin ikinci aşamasında; ekstraksiyon yöntemlerine özgü işlem değişkenlerinin (süre, biyokütle/çözgen oranı, hız, titreşim, güç) toplam fikosiyanin konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Klasik homojenizasyon yöntemi ile ekstraksiyon aşamasında maksimum toplam fikosiyanin konsantrasyonunu sağlayacak optimum hız (dev/dak), süre (dak) ve biyokütle/çözgen oranı (% w/w) (bağımsız işlem değişkenleri) merkezi tümleşik tasarım (CCRD, Central Composite Rotatable Design) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemlerinde de optimum işlem değişkenleri: ultrasonik yöntem için amplitud (%), süre (dak) ve biyokütle/çözgen oranı (%); mikrodalga için güç (W), süre (s) ve biyokütle/çözgen oranı (%)

maksimum toplam fikosiyaninin konsantrasyonunu sağlayacak şekilde CCRD yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Doğal renk maddesi olan fikosiyaninin ekstraksiyon işlemlerinde yönteme özgü olarak seçilen bağımsız değişkenlerin CCRD yöntemine göre oluşturulan sınır koşulları Çizelge 3.1.'de görülmektedir.

Her bir ekstraksiyon yöntemine özgü işlem parametreleri CCRD deneme deseni kullanılarak, desirability fonksiyon yaklaşımına göre maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve kabul edilebilir toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir. Fikosiyanin ekstraksiyonu için saflaştırma aşamasında kullanılmak üzere en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde ise yüksek toplam fikosiyanin konsantrasyonu, en düşük b değeri, kısa işlem süresi, düşük çözgen tüketimini sağlayan koşul dikkate alınmıştır.

Çizelge 3.1. Ekstraksiyon yöntemine özgü CCRD deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri

Ekstraksiyon yöntemi	Bağımsız değişkenler		Kodlanmış seviyeler				
			-1.682	-1	0	1	1.682
Klasik	Biyokütle/çözgen oranı (%)	(A)	0.32	1	2	3	3.68
	Hom. Hızı (dev/dak)	(B)	3636	5000	7000	9000	10363
	Süre (dak)	(C)	1.59	5	10	15	18.41
Ultrasonik	Biyokütle/çözgen oranı (%)	(A)	0.32	1	2	3	3.68
	Amplitude (%)	(D)	19.77	30	45	60	70.23
	Süre (dak)	(C)	4.89	10	17.5	25	30.11
Mikrodalga	Biyokütle/çözgen oranı (%)	(A)	0.32	1	2	3	3.68
	Güç (W)	(E)	65.91	100	150	200	234.09
	Süre (s)	(C)	19.09	60	120	180	220.91

3.2.2. Fikosiyaninin mikroenkapsülasyonu

Fikosiyanin ekstraksiyonu için, yüksek toplam fikosiyanin konsantrasyonu, en düşük b değeri, kısa işlem süresi, düşük çözgen tüketimini sağlayan koşul en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinin ardından elde edilen saf haldeki fikosiyanin renk maddesi püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemi olmak üzere 2 farklı mikroenkapsülasyon tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Püskürtmeli kurutma denemeleri laboratuvar ölçekli püskürtmeli kurutucuda (Büchi mini spray drier B-290 Switzerland) yürütülmüştür. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde kurutucu işlem değişkenleri olan besleme debisi, aspirasyon hızı ve hava hızı tüm denemelerde sabit tutulurken, hava giriş sıcaklığı bağımsız işlem değişkeni olarak incelenmiştir.

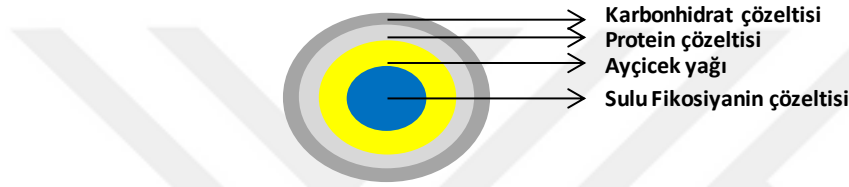
Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde ise çözelti pH'sı sabit tutulurken, işlem sıcaklığı bağımsız değişken olarak incelenmiştir. Fikosiyanin doğal renk maddesi koaservasyon işleminde çözelti sıcaklığından ve püskürtmeli kurutma işleminde kurutma ortamına beslendikleri anda karşılaşacakları havanın sıcaklığından doğrudan etkilenecektir.

3.2.2.1. Fikosiyanin emülsiyonunun hazırlanması

Saf halde elde edilen fikosiyanin kimyasal yapısından dolayı su içerisinde çözünmektedir. Fikosiyaninin su içerisinde çözünmesinden dolayı püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi öncesi emülsiyon hazırlama aşamasında çift katmanlı emülsiyon (doublelayer emulsion) olarak hazırlanmıştır. Emülsiyon hazırlama koşullarının belirlenmesinde farklı fikosiyanin/ kaplama oranları (1:50, 1:100, 1:250, 1:500), farklı son homojenizasyon hızları (10000, 12500 ve 15000 dev/dak), farklı kuru madde içeriği (%10, 20 ve 30) ve kuru maddenin farklı oranlarda yağ içeriği (%20 ve %30) göz önünde bulundurularak emülsiyonlar hazırlanmıştır. Farklı koşullarda hazırlanan bu emülsiyonların mikroskop altında görüntüleri incelenmiş ve emülsiyon stabiliteleri faz ayrımına bakılarak değerlendirilmiştir.

Püskürtmeli kurutma yöntemi için emülsiyon hazırlama işleminde öncelikle saf fikosiyanin su içerisinde çözündürüldükten (1:1) sonra %1 Tween 20 içeren ayçiçek yağı içerisine damla damla olacak şekilde ilave edilmiştir ve klasik homojenizatörde 12000

dev/dak'de 2 dakika süresince oda sıcaklığında karıştırma işlemi uygulanmıştır. Elde edilen yağlı fikosiyanin karışımı protein çözeltisi içerisine yine damla damla olacak şekilde ilave edilip, klasik homojenizatörde 10000 dev/dak'de 5 dakika süresince oda sıcaklığında karıştırma işlemi uygulanmıştır. Hazırlanan karışım son olarak karbonhidrat çözeltisi ile klasik homojenizatörde 12500 dev/dak'de 5 dakika süresince oda sıcaklığında homojenize edilerek çift katmanlı fikosiyanin emülsiyonu hazırlanmıştır. Elde edilen olan emülsiyonun kuru madde içeriği %20, ayçiçek yağı içeriği %30 (kuru temelde) ve fikosiyanin/kaplama materyali oranı 1:100 şeklindedir. Çift katmanlı emülsiyon işlemi sonucunda elde edilen damlacığın yapısı Şekil 3.1'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Çift katmanlı fikosiyanin emülsiyonunun damlacık yapısı

Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde ise fikosiyanin yukarıda belirtildiği şekilde çift katmanlı emülsiyon olarak hazırlanmıştır. Emülsiyon hazırlama koşullarının belirlenmesinde farklı fikosiyanin/ kaplama oranları (1:50, 1:100, 1:250, 1:500) denenmiştir. Koaservasyon yönteminde hazırlanan emülsiyonun kurumadde içeriği %4, kuru maddedeki ayçiçek yağı yüzdesi %20 ve fikosiyanin kaplama materyali oranı 1:100'dür.

3.2.2.2. Kaplama materyali tipinin seçilmesi

Kaplama materyallerinin tipinin belirlenmesinde püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon aşamasında karbonhidrat bazlı maltodekstrin (DE19-20) ve gam arabik; protein bazlı peynir altı suyu protein izolatu ve Na-kazeinat kombinasyonları denenmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde kaplama materyalleri olarak bir adet karbonhidrat ve bir adet protein seçileceğinden maltodekstrin+peynir altı suyu protein izolatu; maltodekstrin+Na-kazeinat; gam arabik+peynir altı suyu protein izolatu ve gam arabik+Na-kazeinat kombinasyonları denenmiştir. Her bir kaplama materyali kombinasyonu için 3 farklı emülsiyon içinde kaplama materyali oranı denemesi de gerçekleştirilmiştir (%33-66, %50-50, %66-33). Elde edilen örneklerin yüzey ve toplam fikosiyanin miktarları belirlenerek eşitlik

3.5'e göre mikroenkapsülasyon etkinliği hesaplanmış ve en yüksek fikosiyanin mikroenkapsülasyon etkinliğini ve en düşük maviliği ifade eden b değerini sağlayan karbonhidrat ve protein çifti seçilmiştir. Püskürtmeli kurutma işlemi sabit koşullarda (hava giriş sıcaklığı: $180\pm 2^{\circ}\text{C}$, besleme debisi: 10 ml/dak, aspirasyon hızı: 400 L/dak, hava hızı: 40 L/dak) gerçekleştirilerek prosesden kaynaklanabilecek farklılıklar elimine edilmiştir.

Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon aşamasında ise yöntemin farklılığından dolayı karbonhidrat bazlı kitosan ve gam arabik; protein bazlı peynir altı suyu protein izolatu ve jelatin kombinasyonları denenmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde kaplama materyalleri olarak bir adet karbonhidrat ve bir adet protein seçileceğinden %50-50 oranında, gam arabik+peynir altı suyu protein izolatu; gam arabik+jelatin; kitosan+peynir altı suyu protein izolatu ve kitosan+jelatin kombinasyonları oranlarında denenerek en yüksek fikosiyanin mikroenkapsülasyon etkinliğini sağlayan karbonhidrat ve protein çifti seçilmiştir. Koaservasyon işleminde etkili işlem parametresi olan çözelti pH'sı her bir kaplama çifti için 3 farklı pH değerinde (3.75 ± 0.02 , 4.00 ± 0.02 ve 4.25 ± 0.02) ve $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ sabit çözelti sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.3. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon

Kaplama materyallerinin tipinin belirlenmesinin ardından, en uygun kaplama materyallerinin oranlarını ve püskürtmeli kurutucu işlem değişkeni olan hava giriş sıcaklığını belirlemek amacıyla D-optimal karışım dizaynına göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. D-optimal karışım dizaynı deneme desenine göre püskürtmeli kurutucu işlem değişkenlerinin aralıkları Çizelge 3.2'de ve deneme planı ise Çizelge 3.3'de görülmektedir. Optimum kaplama materyali karışım oranı ve hava giriş sıcaklığının belirlenmesinde maksimum mikroenkapsülasyon etkinliğini sağlayacak koşul seçilmiştir. Püskürtmeli kurutucu işlem değişkenleri olan besleme debisi 10 ml/dak, aspirasyon hızı 400 L/dak ve hava hızı 40 L/dak olacak şekilde ve tüm denemelerde sabit tutulmuştur. Elde edilen mikroenkapsüle örneklerde mikroenkapsülasyon etkinliği ve verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik, LLD yöntemi ile partikül boyutu, partikül morfolojisi (SEM) ve kaplama materyalleri ve fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için FTIR analizi uygulanmıştır. Ayrıca farklı kaplama materyali oranlarına sahip emülsiyonların kurutucuya beslenmeden önce stabilitelerini belirlemek için zeta potansiyeli analiz edilmiştir.

Çizelge 3.2. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonuna özgü D-optimal karışım dizaynı deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri

Yöntem	Bağımsız	Değişken Seviyeleri				
	değişkenler					
Püskürtmeli	Karbonhidrat	0 (0)	25 (0.25)	50 (0.50)	75 (0.75)	100 (1)
Kurutma	(%)					
	Protein (%)	0 (0)	25 (0.25)	50 (0.50)	75 (0.75)	100 (1)
	Hava Giriş	150 (-1)	157.5(-0.5)	165 (0)	172.5 (0.5)	180(1)
	Sıcaklığı (°C)					

Çizelge 3.3. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu aşamasında izlenecek olan D-Optimal karışım dizaynı deneme planı

Dn. No	Karbonhidrat (%)	Protein (%)	Hava Giriş Sıcaklığı (°C)
	X ₁	X ₂	X ₃
1	100	0	150
2	100	0	180
3	0	100	150
4	0	100	180
5	75	25	157.5
6	25	75	172.5
7	100	0	157.5
8	0	100	157.5
9	75	25	150
10	75	25	180
11	75	25	172.5
12	25	75	157.5
13	100	0	172.5
14	0	100	172.5
15	25	75	150
16	25	75	180
17	50	50	165
18	100	0	165
19	0	100	165
20	75	25	165
21	25	75	165
22	100	0	150
23	0	100	150
24	100	0	180
25	0	100	180
26	75	25	150

3.2.2.4. Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon

Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi için uygun kaplama materyalleri kullanılmıştır. Emülsiyon hazırlama işlemi sonucunda elde edilen emülsiyonun pH'sı 1 N sitrik asit ile düşürülerek proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. pH azaltma işlemi esnasında emülsiyon çözeltisi belli hızda karıştırılarak su banyosunda deneme deseninde belirtilen sıcaklıklara ulaşılmıştır. İstenilen sıcaklıkta emülsiyon 15 dakika süresince bekletilip ve daha sonra sıcaklığı hızlı bir şekilde soğutmalı su banyosunda düşürülmüştür. Sıcaklığın azaltılmasıyla birlikte pH tekrar 7'e yükseltilmiştir. Böylece emülsiyon çözeltisinde istenilen mikroenkapsüle yapının oluşmasına olanak sağlanmıştır. Elde edilen yapıdaki mikroenkapsüle fikosiyanin renk maddesinin 12 saat $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ta bekletilerek sertleşmelerine izin verilmiştir. Kaplama materyali tipinin önemi kadar kaplama materyallerinin karışım kompozisyonları da önemli olduğundan, en uygun kaplama materyallerinin oranlarını ve çözelti sıcaklığını belirlemek amacıyla D-optimal karışım dizaynına göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. D-optimal karışım dizaynı deneme desenine göre koaservasyon işlem değişkenlerinin aralıkları Çizelge 3.4'de ve deneme planı ise Çizelge 3.5'de görülmektedir. Optimum kaplama materyali karışım oranı belirlenmesinde eşitlik 3.5'e göre hesaplanan en yüksek mikroenkapsülasyon etkinliğini sağlayan koşul seçilmiştir. Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde kullanılan kaplama materyaline özgü hazırlanan emülsiyonun pH'sı sert ve sıkı koaservatif yapının oluşmasını sağlayan 3.75 değeri olarak belirlenmiş ve tüm denemeler süresince sabit tutulmuştur. Ayrıca elde edilen mikroenkapsüle örneklerde mikroenkapsülasyon etkinliği ve verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, çözünübilirlik ve kaplama materyalleri ile fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için örneklere FTIR analizi uygulanmıştır.

Çizelge 3.4. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonuna özgü D-optimal karışım dizaynı deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri

Yöntem	Bağımsız değişkenler	Değişken Seviyeleri				
Koaservasyon	Karbonhidrat (%)	0 (0)	12.5 (0.25)	25 (0.50)	37.5 (0.75)	50 (1)
	Protein (%)	50 (0)	87.5 (0.25)	75 (0.50)	62.5 (0.75)	50 (1)
	Çözelti Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	40 (-1)	45 (-0.5)	50 (0)	55 (0.5)	60(1)

Çizelge 3.5. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu aşamasında izlenen D-Optimal karışım dizaynı deneme planı

Dn. No	Karbonhidrat (%)	Protein (%)	Çözelti sıcaklığı (°C)
	Y ₁	Y ₂	Y ₃
1	0	100	40
2	0	100	40
3	0	100	45
4	0	100	50
5	0	100	55
6	0	100	60
7	0	100	60
8	12,5	87,5	40
9	12,5	87,5	45
10	12,5	87,5	50
11	12,5	87,5	55
12	12,5	87,5	60
13	25	75	50
14	37,5	62,5	40
15	37,5	62,5	45
16	37,5	62,5	50
17	37,5	62,5	55
18	37,5	62,5	60
19	37,5	62,5	60
20	50	50	40
21	50	50	40
22	50	50	45
23	50	50	50
24	50	50	55
25	50	50	60
26	50	50	60

3.2.3. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tek örnek t-testi SPSS, V20, (IBM, USA) paket programı yardımıyla uygulanmış olup, regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips ve yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon Design Expert Version 7.0 (StateaseInc.) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyon denemelerinin ikinci aşamasında; ekstraksiyon yöntemlerine özgü işlem değişkenlerinin (süre, biyokütle/çözgen oranı, hız, titreşim, güç) toplam fikosiyanın konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Her bir ekstraksiyon yöntemine özgü işlem parametreleri CCRD deneme deseni kullanılarak, desirability fonksiyon yaklaşımına göre maksimum toplam fikosiyanın miktarı ve kabul edilebilir toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir. Klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon işlemleri sonrasında elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı (FM) verilerinin regresyon analizi sonucu yanıt için ikinci dereceden polinomiyal denklem (Eş. 3.1) elde edilmiştir.

$$FM = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_{ji} \quad (k = 1,2,3) \quad (3.1)$$

Kaplama materyallerinin tipinin belirlenmesinin ardından, en uygun kaplama materyallerinin oranlarını ve püskürtmeli kurutucu işlem değişkeni olan hava giriş sıcaklığını belirlemek amacıyla D-optimal karışım dizaynına göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Kaplama materyali tipinin önemi kadar kaplama materyallerinin karışım kompozisyonları da önemli olduğundan, en uygun kaplama materyallerinin oranlarını ve çözelti sıcaklığını belirlemek amacıyla D-optimal karışım dizaynına göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir..

$$ME = \beta_0 + \beta_1 C_1 + \beta_2 C_2 + \beta_3 X_1 + \beta_4 C_1 C_2 + \beta_5 C_1 X_1 + \beta_6 C_2 X_1 + \beta_7 C_1 C_2 X_1 \quad (3.2)$$

Bir matematik model oluşturulduktan sonra her bir yanıt için model çoklu lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Her bir yanıt için modeldeki önemli terimler varyans analizi (ANOVA) ile bulunarak ve polinomların maksimize ve minimize edilmesi yani optimum noktanın aranmasına geçilmiştir. Optimizasyon için grafiksel (superimposing) (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010) veya sayısal yöntemler (desirability fonksiyonu) (Derringer and

Suich, 1980) kullanılmıştır. Modele göre belirlenen optimum noktada (optimum işlem koşullarında) da en az üç deneme yapılmış ve optimum nokta deneysel olarak da doğrulanmıştır. Elde edilen her yanıt için, modelden tahminlenen ve optimum noktanın doğrulanması denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t-testi ve tek örnek ANOVA (Duncan, Post-hoc) ile belirlenmiştir ($p < 0.05$).

3.2.4. Fikosiyanin stabilitesinin belirlenmesi

Püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle mikroenkapsülasyon işlemleri sonucunda optimum koşullarda elde edilen mikroenkapsüle fikosiyaninin ve enkapsüle edilmemiş saf fikosiyaninin stabiliteleri sulu ortamda, üç farklı sıcaklık (4, 13, 40 °C) ve üç farklı pH (3.5, 4.6, 7) koşulunda 1 hafta süreyle öncelikle ilk gün 6 saatte bir daha sonra, 24 saatlik periyot aralığında test edilmiştir. Ayrıca iki farklı yöntemle mikroenkapsüle edilmiş ve mikroenkapsüle edilmemiş fikosiyanin için stabilite açısından en uygun sıcaklık ve pH koşullarında, %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortam koşulları için de stabilite çalışması yürütülmüştür. Farklı sıcaklık, pH ve gıda ortam denemeleri için ışığın etkisini de belirlemek amacıyla karanlık ve aydınlık ortam olmak üzere stabilite çalışmaları iki farklı koşulda gerçekleştirilmiştir. Stabilite denemeleri istenilen sıcaklığı sağlamak için soğutmalı su banyosunda gerçekleştirilmiş olup, istenilen pH'ya sitrik asit ve/veya sodyum hidroksit kullanılarak ulaşılmıştır. Enkapsüle edilmemiş fikosiyanin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle optimum koşulda enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin stabilitesini belirlemek için başlangıç fikosiyanin konsantrasyonları sabit olacak şekilde denemeler gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsüle örneklerde emülsiyondaki başlangıç fikosiyanin miktarı üzerinden hesaplamalar yapılarak eşit miktarda fikosiyanin içeren ürünler kullanılmıştır. Böylelikle prosesin etkisiyle meydana gelen etkiler de göz önünde bulundurulmuştur. Stabilite çalışmasında fikosiyanin konsantrasyonu (UV-vis spektrofotometre ile) ve toplam fenolik madde miktarı analiz edilmiştir. Saf fikosiyanin de benzer denemelere tabi tutulmuştur, mikroenkapsüle ürünler ile stabiliteleri karşılaştırılmıştır.

3.2.5. Model gıda denemeleri

Enkapsüle edilmemiş fikosiyanin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle optimum koşulda enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin, model gıda olarak seçilen krem

şanti (yağ ve şeker içeriği yüksek ürün), dondurma (yağ ve şeker içeriği yüksek ürün), krema (yağ içeriği yüksek ürün), asitli ve gazlı içecek (asidik ortam), jöle (şeker içeriği yüksek ürün) ve kek pişirme (ısıtıl işlem etkisi) denemeleri gerçekleştirilmiş ve ürüne özgü olarak belirlenmiş olan depolama süresince ürünlerin Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri incelenmiştir.

Enkapsüle edilmemiş fikosiyanin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle optimum koşulda enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin model gıda örneklerindeki denemelerinde duyuşal değerlendirme ve Hunter L*, a* ve b* değerlerini belirlemek için başlangıç fikosiyanin konsantrasyonları sabit olacak şekilde denemeler gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsüle örneklerde emülsiyondaki başlangıç fikosiyanin miktarı üzerinden hesaplamalar yapılarak kullanılan sentetik renklendirici ile eşit miktarda fikosiyanin içeren ürünler hazırlanmıştır. Eklenen renk maddesinin miktarının belirlenmesinde mavi renklendirici olarak kullanılan Brilliant blue için belirlenen her bir model gıda örneği için 100 mg/kg kullanım miktarı dikkate alınmıştır. Bu sayede prosesin etkisiyle meydana gelen etkiler de göz önünde bulundurulmuştur. Ürüne özgü olarak planlanan depolama süreleri krema ve krem şanti için 7 gün, jöle için 7 gün, asitli ve gazlı içecek için 60 gün, dondurma ve kek için 3 gün şeklindedir.

3.3. Analiz Yöntemleri

3.3.1. Ekstraktlarda toplam fikosiyanin miktarının belirlenmesi

Ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktlar 4000 dev/dak, 10 dakika 20°C'de soğutmalı santrifüj kullanılarak (Nüve NF400) santrifüj edilmiş, elde edilen mavi renkli süpernatantın spektrofotometrik ölçümleri yapılmış ve değerler Eşitlik 3.3'de yerine koyularak toplam fikosiyanin miktarı belirlenmiştir (Bennett and Bogorad, 1973).

$$Fikosiyanin \left(\frac{mg}{mL} \right) = \frac{A_{615} - 0.474 \times A_{652}}{5,34} \quad (3.3)$$

Kuru ağırlık üzerinden elde edilen toplam fikosiyanin miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Silveria et al., 2007). Eşitlik 3.4' den elde edilen sonuç, gram kuru ağırlık başına düşen mg fikosiyanin miktarını göstermektedir.

$$Fikosiyanin \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{Fikosiyanin \left(\frac{mg}{ml} \right) \times \text{Çözgen hacmi (ml)}}{Biyokütle ağırlığı (g) \times \text{Biyokütlenin kuru madde miktarı (\%)}} \quad (3.4)$$

Örneklerin kuru madde miktarını belirlemek amacıyla vakum etüv kullanılarak nem tayini gerçekleştirilmiştir. Vakum etüv (VacuCell 22) kullanılarak darası daha önceden alınmış petri kaplarına yaklaşık 2 gram biyokütle tartılarak 60°C'de, 0.22 bar basınçta sabit tartıma gelene kadar işlem sürdürülmüştür.

3.3.2. Enkapsüle ürünlerde yüzeydeki fikosiyanin miktarının belirlenmesi

Kaplanmamış fikosiyanin miktarı ise Robert et al. (2010)'a göre bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirilmiştir. 100 mg mikroenkapsüle örnek 4 ml etanol ve su (1:1) karışımı içerisinde ilave edilerek 1 dakika süre ile karıştırılmış ve 0.45 µm'lik filtreden süzölmüştür. Filtrasyon sonrasında elde edilen fazın yukarıda belirtildiği şekilde fikosiyanin konsantrasyonu spektrofotometrede belirlenmiştir.

3.3.3. Enkapsüle ürünlerde toplam fikosiyanin miktarının belirlenmesi

Mikroenkapsüle örneklerdeki toplam fikosiyanin miktarı 100 mg mikroenkapsüle örnek 4 ml saf su içerisine ilave edilerek ultrasonik banyoda 5 dakika süre boyunca %100 Amp. güce tabi tutulmuştur. Ultrasonikasyon sonrasında karışım 13500 dev/dak hızda 5 dakika süresince santrifüj edilip ve üst faz alınarak, yukarıda belirtildiği şekilde fikosiyanin konsantrasyonu spektrofotometrede belirlenmiştir.

3.3.4. Mikroenkapsülasyon etkinliği

Mikroenkapsülasyon etkinliği (ME), mikrokapsüllerin kaplama kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılmakta olup, mikroenkapsüle örnekteki kaplanmış fikosiyanin miktarının, mikroenkapsüle örnekteki toplam fikosiyanin miktarına oranlanması ile Eşitlik 3.5'e göre hesaplanmıştır.

$$ME(\%) = \frac{\text{Toplam fikosiyanin miktarı} - \text{Yüzeydeki fikosiyanin miktarı}}{\text{Toplam fikosiyanin miktarı}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.3.5. Mikroenkapsülasyon verimi

Mikroenkapsülasyon verimi (MV), mikroenkapsülasyon işlemi sonucunda elde edilen kapsüllerdeki çekirdek materyali miktarının, hazırlanan emülsiyondaki çekirdek materyali miktarına oranı olarak tanımlanmış (Quan et al., 2013) ve Eşitlik 3.6' ya göre hesaplanmıştır.

$$MV (\%) = \frac{\text{Mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin gerçek miktarı}}{\text{Mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin teorik miktarı}} \times 100 \quad (3.6)$$

3.3.6. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Antioksidan aktivite tayini fark ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen fikosiyanin ekstraktlarına Re et al. (1999) tarafından önerilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, ABTS+ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonikası) radikal katyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının, sentetik birantioksidan olan Troloks'un (suda çözünen E vitamini analogu) standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağıl ölçümünü sağlamaktadır. Ölçümler, mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS radikalinin kayboluşunun spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle yapılmaktadır. Mavi/yeşil ABTS+ kromoforu oluşturmak için ABTS ve potasyumpersülfat arasında gerçekleşen reaksiyondan yararlanılmıştır. Bu amaç doğrultusunda 2.45 mM potasyum persulfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmış ve bu çözelti karanlıkta oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilerek stok ABTS+ radikal çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. Analize başlamadan önce ABTS+ çalışma çözeltisi elde etmek amacıyla stok radikal çözeltisinden 1 mL alınarak, 734 nm'de absorbans değeri 0.700 ± 0.02 olacak şekilde yaklaşık 90-100 mL PBS (tuzlu fosfat tamponu) ile seyreltilmiştir. Daha sonra 10 mL ekstrakt 990 mL ABTS+ çalışma çözeltisi ile reaksiyona sokulmuş ve 6 dakika sonunda 734 nm de absorbansları belirlenmiştir. 6.dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) Eşitlik 3.7' ye göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorbans değeri} - 6.\text{dakika sonunda absorbans değeri}}{\text{Başlangıç absorbans değeri}} \quad (3.7)$$

10 µL örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, yine küvet içeriği 1 mL olacak şekilde 20 ve 30 µL örnek hacimlerine karşı, sırasıyla 980 ve 970 µL radikal çözeltisi

eklenerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20 ve 30 μ L) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Analize başlamadan önce örneklerle uygulanan spektrofotometrik uygulamalar farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloks standartlarına da uygulanmış, ortalama inhibisyon değerleri hesaplanarak troloks konsantrasyonuna karşı grafiğe işlenmiştir. Elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanmak suretiyle, troloks standart eğrisine ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır (Ek Şekil 1). Örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanmasıyla örneğin antioksidan aktivitesi belirlenmiş ve TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity–troloks eşdeğer antioksidan aktivite) olarak ifade edilmiştir (Kırca ve Özkan 2007).

3.3.7. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Farklı yöntemler kullanılarak elde edilen fikosiyanin ekstraktların ve mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, Folin-Ciocalteu ayracı kullanılarak spektrofotometrik (VARIAN Cary 50 Bio, UV/VIS Spectrophotometer) yöntem ile belirlenmiştir. Sıvı ekstaktların toplam fenolik madde miktarı belirlenirken 100 mL’lik balonjojeye 75 mL saf su koyulmuş üzerine 1 mL örnek ekstraktı eklenmiş; 5 ml folin ayracı eklendikten sonra 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 10 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip saf su ile balon joje 100 mL çizgisine kadar tamamlandıktan sonra iyice karıştırılıp 60 dakika bekletilmiştir (Cemeroğlu, 2010). Bekleme süresi sonunda 720 nm’de spektrofotometrede şahit çözeltiyle sıfırlanarak örnekler okunmuştur.

Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin toplam fenolik madde miktarını belirlemek için 125 μ l sulu çözeltiye 0.5 ml su ilave edilmiş, üzerine 125 μ l folin ayracı eklenmiştir. Daha sonra 1.25 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilip toplam hacim 3 ml’ye tamamlanmıştır. 90 dakika karanlıkta bekletilen çözeltilerin absorbans değerleri 760 nm değerinde okunmuştur (Heimler et al., 2005). Kaydedilen absorbans değerleri gallik asit kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisinde elde edilen denklemde yerine koyularak hesaplanmıştır (Ek Şekil 2).

3.3.8. Emülsiyon stabilitesi ve Mikroskobik yapı

Test tüplerine belirli bir yükseklikte doldurulan emülsiyon örnekleri oda sıcaklığında 5 gün boyunca depolanmıştır. 5 gün sonundaki faz ayrımı değerlendirilmiş ve sonuçlar kremleşme derecesi olarak ifade edilmiştir (Klinkesorn et al., 2005). Eşitlik 3.8'e göre hesaplanmıştır.

$$Kremleşme Derecesi = 100 \times \frac{Serum fazın yüksekliği}{Toplam emülsiyon yüksekliği} \quad (3.8)$$

Emülsiyonların damlacık yapısını belirlemek amacıyla Trinoküler mikroskop (Olympus CX31) ve dijital fotoğraf makinesi (Olympus Digital SLR-E330) kullanılmıştır. Örnekler mikroskop altında 100 kat büyütülerek çekilmiştir.

3.3.9. Zeta potansiyeli

Püskürtmeli kurutucuya beslenen farklı kaplama materyali oranlarına sahip emülsiyonların stabilitesi zeta potansiyeli değeri ile de ifade edilebilmektedir. Zeta potansiyeli ölçümü 25°C laser doppler mikroeletroforez tekniği ile Malvern Zeta Sizer cihazı kullanılarak, Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.10. FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy) analizi

Mikroenkapsülasyon işlemlerinde kullanılan her bir kaplama materyallerinin, mikroenkapsüle edilmemiş fikosiyaninin ve mikroenkapsüle örneklerin 4000 ile 650 cm⁻¹ dalga boyu aralığında FT-IR spektrumları analizi Perkin Elmer Spectrum 100 cihazı kullanılarak Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.11. Çözünübilirlik analizi

Çözünübilirlik analizi için; 1 g toz örnek 25 ml saf su ile seyreltildikten sonra 3000 dev/dak 5 dakika boyunca mekanik bir karıştırıcı ile karıştırılmış, elde edilen çözelti 5 dk boyunca 3000 dev/dak ile santrifüjlenerek, üst faz sıvı metal petri kaplarına aktarılmış ve etüvde 105°C'ta 4 saat süreyle kurutulmuştur. % çözünübilirlik, toz kütlesi/ çözelti hacmi olarak hesaplanmıştır (Cano-Chauca et al., 2005).

3.3.12. Renk değerleri

Ekstraksiyon sonucu elde edilen örneklerin ve mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin L*, a*, b* renk değerleri Konika Minolta CR-300 cihazı kullanılarak belirlenmiş; Hue ve chroma değerleri Eş. 3.9 ve Eş. 3.10 'a göre hesaplanmıştır.

$$Hue = \arctan b/a \quad (3.9)$$

$$Chroma = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3.10)$$

3.3.13. Toz ürünün fiziksel özelliklerinin değerlendirilmesi:

Nem Tayini: Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin; nem tayini vakum etüv yöntemi ile 0.99'luk korelasyonun sağlandığı halojen kurutmalı nem tayin cihazında (Ohaus MB45, Switzerland) belirlenmiştir.

Su aktivitesi, örnek kabı tepe boşluğunda su buharı kısmi basıncı ölçümüne dayalı çalışan, ± 0.001 hassasiyete sahip dijital göstergeli su aktivitesi ölçüm probu (Testo- AG 400) kullanılmıştır.

SEM: Toz örneklerin partikül morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (FEI, QUANTA 250 FEG, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. SEM çalışmaları İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Malzeme Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

LLD: Toz örneklerin partikül boyut dağılımı $D[4,3]$ (μm), açıklık ve tekdüzellik değerleri LLD (Laser Light Diffraction) cihazı kullanılarak (Malvern Mastersizer, 2000, İngiltere), Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Çözgen olarak 2-propanol kullanılmıştır. Toz ürünün partikül boyutu ortalama hacimsel alan boyutu ($D[4,3]$) olarak ifade edilmiş ve Eş. 3.11 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$D_{[4,3]} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (3.11)$$

n_i ; d_i çapına sahip partikül sayısını ifade etmektedir.

Açıklık yığın içindeki partiküllerin dağılımını ifade etmekte olup Eş. 3.12'ye göre hesaplanmıştır.

$$Açıklık = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (3.12)$$

d_{90} , d_{10} ve d_{50} sırasıyla %90, %10 ve %50 kümülatif hacme sahip eşdeğer hacimsel çapları ifade etmektedir.

3.3.14. Duyusal analiz

Model gıda örneklerinin duyusal analizi, enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanınin, ayrıca brillant blue (E133) sentetik renklendiricinin model gıdalar (krema, krem şanti, jöle, asitli ve gazlı içecek ve kek) içerisine katılarak 5 puan üzerinden 10 yarı eğitilmiş kişi tarafından değerlendirilmesine dayanmaktadır. Değerlendirme kriterleri olarak görünüş (renk), doku ve lezzet (tat ve koku) özellikleri dikkate alınmıştır (Chauhan and Sharma, 2003; Bennion and Bamford, 1973). Hazırlanan model gıda örneklerindeki fikosiyanın miktarı Brillant blue için belirlenen 100 mg/kg kullanım miktarında tüm ürünlerde eşit olacak şekilde hesaplanmıştır. Duyusal değerlendirme formu Ek 2'de verilmiştir.

3.4. Kinetik modelleme

Fikosiyenin konsantrasyonunun değişim kinetiğinin matematiksel olarak belirlenmesi amacıyla 2 adet mikroenkapsüle fikosiyaninin ve saf fikosiyaninin farklı pH ve sıcaklık koşullarında ve farklı gıda katkı maddeleri içinde stabilite çalışması sonucunda elde edilen veriler kinetik modellemeye tabi tutulmuş, reaksiyon derecesi ve ilgili katsayılar eşitlik 3.13'e göre SPSS 16.0 paket programı kullanılarak regresyon analizi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda fikosiyenin yarılanma ömrü de Eşitlik 3.16'ya göre hesaplanmıştır.

$$\frac{dC}{dt} = -kC^m \quad (3.13)$$

m=0 için,

$$\int_{C_0}^C dC = k \int_0^t dt \quad (3.14)$$

$$C_0 - C = kt \quad (3.15)$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{C_0}{2k} \quad (3.16)$$

Denklemlerdeki katsayılardan; m reaksiyon derecesi, C_0 başlangıç fikosiyenin konsantrasyonu (mg/g), C herhangi bir andaki fikosiyenin konsantrasyonu (mg/g), k reaksiyon hız sabiti (mg /g.h), t depolama süresini (h) ifade etmektedir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Fikosiyanin Ekstraksiyonu

4.1.1. Biyokütleden toplam fikosiyanin ekstraksiyonunda önışlemin belirlenmesi ve çözgen tipi seçimi

S. platensis biyokütlesine ön işlem uygulamaları sonucu elde edilen yaş, kurutulmuş ve dondurulmuş ürünlerde nem analizi gerçekleştirilmiştir. Nem analizi sonucunda yaş (%8.8 KM), kuru (%91.68 KM) ve dondurulmuş (%8.06 KM) biyokütle %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi, sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ve distile su kullanılarak 3 farklı ekstraksiyon yöntemiyle muamele edilmiştir.

İlk olarak yaş temelde %1 (w/w) biyokütle/çözgen oranında, klasik ekstraksiyon yöntemiyle 10 ml hacimde sabit hız ve sürede (7000 dev/dak; 10 dakika) 3 farklı çözgenin 3 farklı biyokütle formuna etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere dondurulmuş biyokütle %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ile ekstrakte edildiğinde, diğer çözgen tipleri ve önışlem formlarından istatistiksel olarak daha yüksek düzeyde toplam fikosiyanin miktarı elde edilmiştir (55.33±3.23 mg/g) (p<0.05). Ön işlem formunun belirlenmesinin ardından sonraki aşamalarda dondurulmuş biyokütle ile kuru temel üzerinden hesaplanmış ve 100 ml’lik hacimde çalışılmıştır.

Çizelge 4.1. *S. platensis* biyokütlesine ön işlem uygulamaları sonucu elde edilen yaş, kurutulmuş ve dondurulmuş ürünlerde toplam fikosiyanin miktarı

Çözgen	Yaş Biyokütle (Toplam Fikosiyanin (mg/g))	Kurutulmuş Biyokütle (Toplam Fikosiyanin (mg/g))	Dondurulmuş Biyokütle (Toplam Fikosiyanin (mg/g))
%1.5 CaCl ₂ (w/v) çözeltisi	11.22 ^a ±0.72	41.87 ^a ±0.78	55.33 ^a ±3.23
Sodyum Fosfat Tampon Çözeltisi pH:7.4	7.46 ^b ±0.35	3.00 ^c ±0.06	10.64 ^c ±0.62
Distile Su	3.34 ^c ±0.28	12.04 ^b ±0.11	24.67 ^b ±2.26

^{a,b,c} Farklı üst simgeler aynı sütundaki değerler arasındaki istatistiksel olarak önemli farklı göstermektedir (p<0.05).

Klasik ekstraksiyon yönteminde dondurulmuş *S. platensis* biyokütlesi kullanılarak; 3 farklı çözgenin, sabit sıcaklık (25°C) ve sürede (10 dakika) farklı homojenizasyon hızlarının toplam fikosiyanın miktarı ve Hunter L*, b* ve a* değerlerine etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ve distile su ile 7000 dev/dak'da istatistiksel olarak en yüksek toplam fikosiyanın miktarı elde edilirken, sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ile 10000 dev/dak'da en yüksek toplam fikosiyanın miktarı belirlenmiştir (p<0.05). Distile su ile elde edilen toplam fikosiyanın miktarı daha yüksek miktarda olmasına rağmen, %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ile elde edilen renk daha parlak ve koyu mavidir.

Çizelge 4.2. Klasik ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş *S. platensis* biyokütlesinden 3 farklı çözgen ile farklı homojenizasyon hızlarında elde edilen toplam fikosiyanın miktarları ve renk değerleri

Çözgen	Hom. hızı (dev/dak)	Toplam Fikosiyanın (mg/g)	L*	a*	b*	C	Hue
%1.5 CaCl ₂ (w/v)	5000	58.89 ^b ±1.64	26.71 ^a ±2.86	2.24 ^a ±0.39	-2.98 ^a ±2.26	3.81 ^a	311.0 ^c
	7000	84.68 ^b ±0.01	24.70 ^b ±0.29	2.48 ^a ±0.24	-1.39 ^a ±0.40	2.85 ^a	330.5 ^c
	10000	72.46 ^b ±1.56	22.50 ^a ±0.92	3.22 ^a ±0.36	-1.78 ^a ±0.54	3.70 ^a	330.5 ^c
Sodyum Fosfat	5000	17.53 ^c ±1.16	24.94 ^b ±0.38	0.30 ^b ±0.05	-0.29 ^a ±0.18	0.43 ^c	318.0 ^{a,b}
Tampon Çözeltisi	7000	28.32 ^c ±1.42	25.12 ^a ±0.00	0.52 ^c ±0.31	-1.30 ^a ±0.21	1.41 ^b	290.5 ^{a,b}
pH:7.4	10000	29.15 ^c ±2.02	22.87 ^a ±0.30	0.70 ^c ±0.15	-0.8 ^a ±0.05	1.07 ^b	309.5 ^{a,b}
Distile su	5000	82.53 ^a ±0.87	24.83 ^b ±0.09	1.69 ^a ±0.05	-0.23 ^a ±0.13	1.71 ^b	352.0 ^a
	7000	94.13 ^a ±0.78	25.03 ^a ±0.23	1.70 ^b ±0.01	-0.92 ^a ±0.03	1.94 ^b	331.0 ^a
	10000	89.31 ^a ±0.85	22.78 ^a ±0.06	1.55 ^b ±0.06	0.2 ^a ±0.04	1.56 ^b	368.0 ^a

^{a,b,c} Farklı üst simgeler aynı sütundaki değerler arasındaki istatistiksel olarak önemli farklı göstermektedir (p<0.05).

Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 3 farklı çözügen ile ekstrakte edilen biyokütlede sabit sıcaklık (25°C) ve amplitude (%50) uygulanarak sürenin etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.3' de görüldüğü üzere %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ile 25. dakikada en yüksek toplam fikosiyanın miktarı elde edilirken, sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ve distile su sırasıyla 20. ve 15. dakikada istatistiksel olarak en yüksek toplam fikosiyanın miktarı belirlenmiştir (p<0.05). Bu sürelerden sonra hücre bozunmaya uğradığından dolayı elde edilen toplam fikosiyanın miktarı azalmaya başlamıştır. Bu yöntemde en yüksek toplam fikosiyanın miktarı %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ile elde edilmiştir (p<0.05). Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi, hücre çeperlerini tahrip ettiği için biyokütlede bulunan bileşenler kolaylıkla açığa çıkmaktadır. Bunun sonucunda ekstraktlarda, mavi renk baskılanıp yeşil renk gözlemlenmektedir. Yeşil rengin artışı klorofil miktarını arttırdığından dolayı saflaştırma basamağını güçleştireceği düşünülmektedir. Elde edilen ekstraktın renk değerleri incelendiğinde %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisinin 25. dakikada vermiş olduğu en yüksek toplam fikosiyanın miktarına paralel olarak en koyu mavi rengi de verdiği bulgulanmıştır. -b değeri mavi rengi temsil ettiğinden dolayı en yüksek değer %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisinde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş *S. platensis* biyokütlesinden 3 farklı çözgen ile sabit amplitude değerinde farklı sürelerde elde edilen toplam fikosiyanin miktarları ve renk değerleri

Çözgen	Süre (dak)	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	L*	a*	b*	C	Hue
%1.5 CaCl ₂ (w/v)	5	78.34 ^a ±1.15	24.56 ^b ±0.11	2.91 ^a ±0.04	-1.35 ^b ±0.05	3.21 ^a	335.02 ^b
	10	79.36 ^a ±0.46	24.46 ^b ±0.09	3.62 ^a ±0.03	-1.53 ^b ±0.05	3.93 ^a	337.05 ^b
	15	88.33 ^c ±0.37	24.46 ^b ±0.07	3.44 ^a ±0.06	-0.80 ^b ±1.26	3.54 ^a	346.89 ^b
	20	89.19 ^b ±0.09	24.45 ^b ±0.09	3.91 ^a ±0.03	-1.54 ^b ±0.05	4.20 ^a	338.55 ^b
	25	100.68 ^a ±1.18	25.56 ^a ±0.33	3.26 ^a ±0.05	-2.42 ^c ±0.06	4.06 ^a	323.38 ^b
	30	86.90 ^a ±0.44	24.35 ^b ±1.34	2.73 ^a ±0.02	-1.68 ^a ±0.02	3.58 ^a	332.04 ^a
Sodyum Fosfat Tampon Çözeltisi pH:7.4	5	36.63 ^c ±0.22	27.58 ^a ±0.39	1.38 ^c ±0.09	-1.64 ^c ±0.17	2.14 ^b	310.04 ^c
	10	46.63 ^c ±0.03	27.20 ^a ±0.41	1.62 ^b ±0.04	-2.07 ^c ±0.28	2.63 ^b	308.08 ^c
	15	89.66 ^b ±0.30	26.58 ^a ±0.20	3.15 ^b ±0.05	-1.86 ^c ±0.08	3.66 ^a	329.44 ^c
	20	91.00 ^a ±0.28	26.56 ^a ±0.18	3.15 ^b ±0.05	-1.97 ^c ±0.15	3.71 ^b	327.92 ^c
	25	72.56 ^c ±0.26	26.14 ^a ±0.42	2.12 ^b ±0.10	-1.60 ^b ±0.11	2.66 ^b	323.08 ^b
	30	64.15 ^c ±0.16	26.38 ^a ±0.25	2.17 ^b ±0.06	-1.47 ^a ±0.06	2.62 ^b	325.82 ^a
Distile su	5	58.21 ^b ±0.04	22.54 ^c ±0.01	1.67 ^b ±0.03	-0.19 ^a ±0.01	1.68 ^c	353.49 ^a
	10	75.04 ^b ±0.15	22.65 ^c ±0.22	1.59 ^b ±0.09	0.11 ^a ±0.11	1.59 ^c	364.04 ^a
	15	92.48 ^a ±0.35	22.92 ^c ±0.01	1.49 ^c ±0.03	0.02 ^a ±0.02	1.49 ^b	360.92 ^a
	20	82.33 ^c ±0.13	23.03 ^c ±0.01	1.26 ^c ±0.05	0.10 ^a ±0.04	1.26 ^c	364.73 ^a
	25	84.12 ^b ±0.51	22.90 ^b ±0.01	1.07 ^c ±0.05	0.14 ^a ±0.02	1.08 ^c	367.44 ^a
	30	75.47 ^b ±0.30	24.29 ^c ±0.77	0.15 ^c ±0.07	-1.21 ^a ±0.06	1.22 ^c	277.27 ^a

^{a,b,c} Farklı üst simgeler aynı sütundaki değerler arasındaki istatistiksel olarak önemli farklı göstermektedir (p<0.05).

Mikrodalga ile ekstraksiyon yönteminde 3 farklı çözgen ile muamele edilen biyokütlenin sıcaklığı 40°C'yi aşmayacak şekilde süreler ve güçler belirlenip, her iki koşulun da etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.4'de gösterilen sonuçlara göre %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi ile yapılan ekstraksiyon incelendiğinde sabit güçte süre artışı, toplam fikosiyanin miktarının artmasına yol açmıştır. Mikrodalga ile ekstraksiyon yönteminde 150 W uygulandığında elde edilen toplam fikosiyanin miktarlarının diğer güçlerle kıyaslandığında en yüksek sonucu verdiği istatistiksel olarak belirtilmiştir (p<0.05). Gücün artması ısınmaya yol açtığından

dolayı 250 W uygulanan sistemdeki toplam fikosiyanin miktarları 150 W uygulanan sistemdeki toplam fikosiyanin miktarlarından daha düşük bulunmuştur.

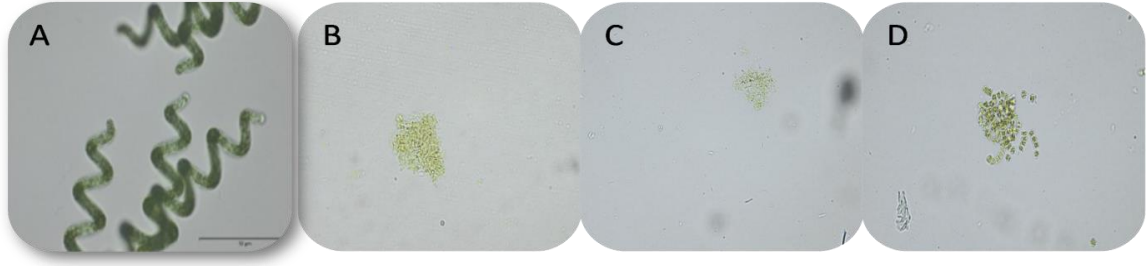
Renk değerleri incelendiğinde 150 W uygulanan örneklerdeki $-b$ değerleri diğer örneklerin değerlerine göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. En yoğun mavi renk 150 W örneklerinde gözlemlenmiştir ($p<0.05$) Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ile yapılan ekstraksiyon işleminde 50 W ve 150 W güç altında, uygulanan süre artışıyla toplam fikosiyanin miktarı artmıştır. 250 W güç altında ise uygulanan sürenin artması işlem sıcaklığını hızlı arttırdığından dolayı, 3. dakikadan sonra süre artışı toplam fikosiyanin miktarını düşürmüştür. %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisinde olduğu gibi sodyum fosfat tampon çözeltisinde (pH:7.4) de 150 W uygulaması toplam fikosiyanin miktarlarını ve renk değerlerini olumlu etkilemiştir.

Çizelge 4.4. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle dondurulmuş *S. platensis* biyokütlesinden 3 farklı çözügen ile farklı güç ve sürelerde elde edilen toplam fikosiyanın miktarları ve renk değerleri

Çözügen	Güç (W)	Süre (sn)	Toplam Fikosiyanın (mg/g)	L*	a*	b*	C	Hue
%1.5 CaCl ₂ (w/v)	50	10	24.69 ^b ±0.98	24.99 ^b ±0.10	0.20 ^b ±0.04	-1.77 ^b ±0.02	1.78 ^b	276.53 ^b
		30	24.38 ^b ±0.22	25.03 ^b ±0.46	0.18 ^b ±0.10	-1.49 ^a ±0.14	1.50 ^c	276.80 ^b
		60	31.71 ^b ±0.33	22.90 ^c ±1.72	1.03 ^b ±0.60	-2.14 ^c ±0.13	2.37 ^a	295.70 ^b
		180	32.91 ^b ±0.04	21.32 ^c ±1.83	1.30 ^b ±0.58	-2.74 ^b ±0.17	3.03 ^a	295.42 ^a
		300	50.48 ^b ±0.10	25.31 ^b ±0.20	0.82 ^b ±0.04	-3.21 ^c ±0.07	3.31 ^a	284.28 ^b
		600	42.38 ^b ±0.22	24.97 ^b ±0.29	0.78 ^b ±0.04	-3.23 ^c ±0.07	3.33 ^a	283.60 ^b
	150	10	92.60 ^a ±0.44	24.04 ^b ±0.54	3.05 ^a ±0.06	-4.04 ^c ±0.15	5.06 ^a	307.03 ^a
		30	95.63 ^a ±0.09	26.58 ^a ±0.49	3.04 ^a ±0.11	-4.13 ^c ±0.37	5.13 ^a	306.35 ^a
		60	95.22 ^a ±0.05	24.67 ^b ±0.35	3.51 ^a ±0.05	-4.30 ^c ±0.12	5.55 ^a	309.24 ^b
		180	96.65 ^a ±0.15	23.64 ^b ±0.06	2.66 ^a ±0.03	-4.26 ^c ±0.04	4.42 ^a	301.97 ^b
		300	98.78 ^a ±0.31	23.81 ^b ±0.05	2.48 ^b ±0.04	-4.33 ^c ±0.03	6.35 ^a	318.55 ^b
		600	110.21 ^a ±0.1	24.46 ^a ±0.21	4.64 ^a ±0.06	-4.06 ^c ±0.14	6.16 ^a	318.85 ^c
	250	10	12.37 ^b ±0.10	27.14 ^a ±0.16	0.33 ^b ±0.04	-2.44 ^c ±0.10	2.46 ^b	277.80 ^c
		30	13.21 ^b ±0.04	25.95 ^a ±0.33	0.38 ^b ±0.03	-2.62 ^c ±0.11	2.65 ^b	278.33 ^c
		60	29.17 ^b ±0.23	24.84 ^a ±0.25	1.24 ^c ±0.06	-3.64 ^c ±0.06	3.84 ^a	288.80 ^c
		180	36.21 ^c ±0.04	24.85 ^a ±0.06	0.62 ^c ±0.03	-3.27 ^c ±0.05	3.33 ^a	280.67 ^c
		300	68.87 ^b ±0.26	24.00 ^a ±0.26	4.87 ^a ±0.05	-4.56 ^c ±0.27	6.67 ^a	316.86 ^c
		600	44.46 ^b ±0.53	24.22 ^a ±1.63	2.30 ^b ±0.46	-3.46 ^c ±0.26	4.16 ^a	303.66 ^b
Sodyum Fosfat Tampon Çözeltisi pH:7.4	50	10	15.31 ^c ±1.11	25.04 ^b ±0.06	0.04 ^c ±0.02	-1.46 ^a ±0.02	1.46 ^c	271.41 ^c
		30	12.11 ^c ±0.04	25.16 ^b ±0.06	0.11 ^b ±0.06	-1.83 ^b ±0.02	1.83 ^b	273.44 ^b
		60	12.80 ^c ±0.17	24.93 ^b ±0.05	0.13 ^c ±0.04	-1.81 ^b ±0.02	1.81 ^b	274.05 ^c
		180	14.61 ^c ±0.84	24.94 ^b ±0.07	0.08 ^c ±0.06	-1.01 ^a ±1.53	1.01 ^c	274.76 ^a
		300	21.75 ^c ±0.24	24.15 ^c ±0.71	0.26 ^c ±0.13	-1.43 ^a ±0.33	1.45 ^c	280.26 ^c
		600	22.07 ^c ±0.49	23.85 ^c ±0.09	0.05 ^c ±0.04	-2.10 ^b ±2.18	2.10 ^b	271.31 ^c
	150	10	24.97 ^b ±0.20	23.17 ^c ±0.05	0.70 ^b ±0.04	-2.33 ^b ±0.05	2.43 ^b	286.71 ^b
		30	39.74 ^b ±0.04	23.05 ^b ±0.02	1.28 ^b ±0.03	-2.28 ^b ±0.04	2.61 ^b	299.41 ^b
		60	43.25 ^c ±0.15	23.07 ^c ±0.04	1.35 ^c ±0.06	-2.32 ^b ±0.03	2.69 ^b	300.21 ^c

Distile Su		180	56.23 ^c ±0.14	22.84 ^c ±0.05	1.95 ^b ±0.08	-1.91 ^b ±0.02	2.73 ^b	315.68 ^a
		300	67.21 ^c ±0.10	22.67 ^c ±0.07	2.38 ^b ±0.03	-1.58 ^b ±0.05	2.86 ^b	326.53 ^a
		600	78.79 ^c ±0.24	22.73 ^c ±0.08	2.64 ^b ±0.04	-1.35 ^c ±0.04	2.97 ^b	332.87 ^a
	250	10	66.02 ^a ±0.22	22.78 ^c ±0.16	2.30 ^a ±0.13	-1.48 ^a ±0.06	2.73 ^a	327.12 ^a
		30	71.86 ^a ±0.39	22.70 ^c ±0.08	2.39 ^a ±0.08	-1.70 ^b ±0.13	2.93 ^a	324.47 ^a
		60	72.50 ^a ±0.01	22.89 ^c ±0.03	2.22 ^a ±0.07	-1.83 ^b ±0.02	2.88 ^b	320.44 ^a
		180	38.79 ^b ±0.12	23.06 ^b ±0.04	1.07 ^a ±0.05	-1.60 ^b ±0.05	1.92 ^b	303.76 ^b
		300	57.04 ^c ±0.19	23.21 ^b ±0.03	3.39 ^b ±0.03	-2.25 ^b ±0.08	4.07 ^b	326.37 ^b
		600	53.17 ^b ±0.09	22.96 ^b ±0.05	2.82 ^a ±0.05	-1.73 ^b ±0.06	3.31 ^b	328.38 ^b
	50	10	62.09 ^a ±2.47	26.92 ^a ±0.05	1.99 ^a ±0.08	-1.43 ^a ±0.05	2.45 ^a	324.40 ^a
		30	61.88 ^a ±0.03	27.36 ^a ±0.09	1.75 ^a ±0.32	-1.71 ^b ±0.08	2.45 ^a	315.70 ^a
		60	74.65 ^a ±0.06	27.11 ^a ±0.03	1.91 ^a ±0.02	-1.59 ^a ±0.02	2.49 ^a	320.18 ^a
		180	70.75 ^a ±0.11	27.07 ^a ±0.01	2.00 ^a ±0.04	-1.43 ^a ±0.02	2.46 ^b	324.33 ^a
		300	82.05 ^a ±0.11	26.59 ^a ±0.09	1.81 ^a ±0.04	-1.76 ^b ±0.14	2.52 ^b	315.80 ^a
		600	77.50 ^a ±0.19	26.25 ^a ±0.12	1.77 ^a ±0.04	-1.55 ^a ±0.01	2.35 ^b	318.75 ^a
	150	10	22.86 ^c ±0.45	26.01 ^a ±0.05	0.31 ^c ±0.03	-1.85 ^c ±0.02	1.88 ^c	279.43 ^c
		30	21.70 ^c ±0.91	26.25 ^a ±0.19	0.13 ^c ±0.03	-1.72 ^c ±0.05	1.73 ^c	274.25 ^c
		60	70.89 ^b ±0.03	25.59 ^a ±0.02	1.52 ^b ±0.05	-1.44 ^c ±0.04	2.09 ^c	316.51 ^a
		180	80.90 ^a ±0.04	25.99 ^a ±0.02	0.09 ^c ±0.02	-1.18 ^c ±0.02	1.19 ^c	274.26 ^c
		300	81.59 ^b ±0.35	24.92 ^a ±0.41	1.66 ^c ±0.05	-1.86 ^b ±0.11	2.49 ^b	311.75 ^c
		600	89.59 ^b ±0.06	24.67 ^b ±0.07	1.80 ^c ±0.04	-1.48 ^b ±0.06	2.33 ^c	320.60 ^b
	250	10	12.59 ^b ±0.43	24.67 ^b ±0.06	0.16 ^c ±0.09	-1.87 ^b ±0.10	1.88 ^c	274.89 ^c
		30	10.41 ^c ±0.04	24.06 ^b ±0.09	0.46 ^b ±0.04	-0.51 ^a ±0.05	0.69 ^c	311.58 ^b
		60	14.94 ^c ±0.13	23.39 ^b ±0.51	0.25 ^c ±0.04	-0.53 ^a ±0.04	0.58 ^c	295.42 ^b
		180	45.49 ^a ±0.39	22.98 ^a ±0.37	0.83 ^b ±0.04	-0.58 ^a ±0.28	1.01 ^c	324.99 ^a
		300	81.16 ^a ±0.35	23.67 ^b ±0.33	2.26 ^c ±0.06	-0.43 ^a ±0.09	2.30 ^c	349.29 ^a
		600	60.29 ^a ±0.03	22.58 ^a ±0.22	0.28 ^c ±0.07	-0.17 ^a ±0.19	0.28 ^c	345.72 ^a

^{a,b,c} Farklı üst simgeler aynı sütundaki değerler arasındaki istatistiksel olarak önemli farklı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.1. *S. platensis* biyokütlesine 3 farklı çözgen ile işlem sonucu elde edilen mikroskop görüntüleri (A: *S. platensis* işlem görmemiş biyokütle, B: Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) ile elde edilen *S. platensis*, C: Distile su ile elde edilen *S. platensis*, D: %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi ile elde edilen *S. platensis*).

Klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemleriyle %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda mavi rengin diğer çözgenlere göre baskın olduğu gözlemlenmiştir. Denemeler sırasında 3 farklı çözgen kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde *S. platensis*'in hücre yapısına ait mikroskop görüntüleri Şekil 4.1' de görülmektedir. %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi *S. platensis*'in hücre yapısına zarar vermeden fikosiyanın elde edilmesini sağlamıştır. Bazı ortamda yetişen hücre, distile suyun yol açtığı nötr ortamda tamamen patlamaktadır. %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi hücreyi parçalamadan, sadece sodyum-kalsiyum kanallarını bozarak tilakoid membranlarında bulunan fikobiliproteinleri hücre zarında açılan deliklerden ortama çıkarmaktadır. Hücrenin içerisindeki fikosiyanın dışındaki diğer bileşenler açığa çıkamadığı için mavi-kırmızı renk elde edilmiştir. Distile su, bazı büyüyen hücreyi tamamen parçaladığından dolayı klorofilleri açığa çıkararak koyu yeşil renge sebep olmaktadır. Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4)'nde ise elde edilen toplam fikosiyanın miktarı diğer iki çözügene oranla oldukça düşük olup, rengi de açık yeşildir. Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.4) iyon yoğunluğundan dolayı distile suya oranla hücrenin korunmasını sağlamasına rağmen mavi renk elde edilememiştir. %1.5 CaCl_2 (w/v) çözeltisi kullanılarak ekstrakte edilen biyokütlenin renk değerleri incelendiğinde mavi rengin ortaya çıktığı görülmektedir. %1.5 CaCl_2 ile elde edilen fikobiliproteinlerde fikosiyanın ve fikoeritrin (mavi-kırmızı renk) olması nedeniyle, Hue açısının 300-360° aralığı mavi-mor bölgeyi temsil etmektedir.

4.1.2. Biyokütleden toplam fikosiyaninin farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstraksiyonu

Fikosiyaninin klasik, ultrasonik ve mikrodalga yöntemleriyle ekstraksiyonunda Çizelge 3.1'de belirtilen CCRD (Merkezi Tümlşik Dizayn) ile hazırlanan deneme desenine göre denemeler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlarda toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi analizi gerçekleştirilmiştir.

4.1.2.1. Klasik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak biyokütleden toplam fikosiyanin ekstraksiyonu

Klasik ekstraksiyon yönteminde bağımsız değişkenler olan biyokütle/çözgen oranı (% w/w), homojenizasyon hızı (dev/dak) ve sürenin (dak) etkisi incelenmiştir. Klasik ekstraksiyon yönteminin bağımsız işlem değişkenleri olan biyokütle/çözgen oranı %0.32-3.68 (w/w), homojenizasyon hızı 3636-10363 dev/dak ve süre 1.59-18.41 dak arasında değişmektedir. Bağımsız değişkenlerin aralıkları ön deneme çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Fikosiyaninin klasik ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, bu bağımsız değişkenlerin, toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına göre elde edilen deneysel yanıtlar toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri

Dn. No	Biyokütle/ Çözgen oranı (%) (A)	Hom.Hızı (dev/dak) (B)	Süre (dak) (C)	Toplam Fikosiyanın (mg/g)	Toplam	TEAC
					Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	(mM trolox/ml ekstrakt)
1	1.00	5000.00	10.00	39.97±0.70	117.76±1.35	26.54±0.09
2	3.00	5000.00	10.00	39.97±0.28	209.95±1.64	30.20±0.97
3	1.00	9000.00	10.00	52.16±1.23	97.56±2.35	33.86±0.13
4	3.00	9000.00	10.00	38.43±0.39	226.40±7.35	41.71±0.38
5	1.00	5000.00	25.00	61.30±1.06	124.83±1.31	31.43±0.00
6	3.00	5000.00	25.00	58.83±1.73	204.20±2.73	40.09±0.66
7	1.00	9000.00	25.00	63.49±0.83	117.08±0.67	30.37±0.15
8	3.00	9000.00	25.00	42.67±0.33	218.52±4.81	43.01±0.19
9	0.32	7000.00	17.50	43.54±1.16	47.15±0.98	23.96±0.25
10	3.68	7000.00	17.50	25.83±0.82	201.26±1.74	42.94±0.52
11	2.00	3636.41	17.50	48.66±0.49	145.03±1.61	29.97±0.00
12	2.00	10363.59	17.50	53.09±0.14	197.47±2.74	42.96±0.13
13	2.00	7000.00	4.89	53.46±1.14	158.55±2.35	28.37±0.06
14	2.00	7000.00	30.11	74.74±0.63	176.62±3.94	40.28±1.18
15	2.00	7000.00	17.50	55.47±0.86	145.84±8.71	40.70±0.25
16	2.00	7000.00	17.50	54.81±1.19	179.04±3.19	39.53±0.00
17	2.00	7000.00	17.50	52.77±0.40	154.26±8.37	36.23±0.45
18	2.00	7000.00	17.50	65.67±0.81	186.86±0.95	39.88±0.31
19	2.00	7000.00	17.50	58.70±1.18	199.68±5.13	39.26±1.41
20	2.00	7000.00	17.50	59.29±0.60	198.31±1.57	39.99±0.68

Modelin oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Her bir yanıt için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 3(a)'da verilmiştir

Ek Çizelge 3(a)'da verilen sonuçlara göre, üç yanıt (toplam fikosiyanın miktarının (mg/g), fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Bu yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Klasik ekstraksiyon işlem değişkenlerinin fikosiyanın eldesinde toplam fikosiyanın miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerinde % 95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	Toplam Fikosiyanin (mg/g)			Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)		TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	
	SD	HKT	p-değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	9	2243.81	<0.000*	37288.61	0.000*	671.16	<0.000*
A	1	326.63	<0.000*	31995.32	<0.000*	307.08	<0.000*
B	1	1.24	0.663	606.80	0.240	132.52	<0.000*
C	1	613.58	<0.000*	137.60	0.565	77.93	0.001*
AB	1	128.59	0.001*	430.76	0.316	8.34	0.171
AC	1	11.44	0.202	202.17	0.488	11.97	0.108
BC	1	75.74	0.006*	13.31	0.857	35.99	0.012*
A ²	1	884.82	<0.000*	3846.26	0.010*	58.70	0.003*
B ²	1	64.29	0.009*	1.25	0.956	13.07	0.095
C ²	1	94.68	0.003*	14.49	0.851	42.02	0.008*
Kalıntı	10	61.26		3893.14		38.41	
Model uygunsuzluğu testi	5	15.40	0.8718	2557.28	0.7534	26.18	0.2115
Saf Hata	5	45.86		2557.28		12.23	
Toplam	19	2305.07		41181.75		709.57	

* %95'lik düzeyde önemli A: Biyokütle/çözgen oranı (%), B: Homojenizasyon Hızı (dev/dak), C: Süre (dak)

Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer, interaksiyon ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.7' de gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği F ve p-değerlerinden bulunmuştur. p-değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca, bu çizelgede kalıntı hata,

deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır.

Çizelge 4.7 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)
R²	0.9734	0.9055	0.9459
R²_{adj}	0.9495	0.8204	0.8972
C.V. %	4.77	11.94	5.43
PRESS	187.22	13848.27	216.50
Yeterli Tahminleme	27.946	12.438	14.787

Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modelde varyasyon ($R^2 > 0.90$) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.7).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi ile bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers ve Montgomery, 1995). Tüm yanıtlar için R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Yanıtlar için varyasyon katsayısı değeri toplam fikosiyanin miktarı için 4.77, toplam fenolik madde miktarı için 11.94 ve TEAC antioksidan aktivitesi için 5.43 olarak bulunmuştur.

Myers and Montgomery (1995) yeterli tahminleme (adequate precision) ve PRESS istatistiklerinin daha sonra yapılacak gözlemlerin tahminlenmesi için kullanılabileceğini ve yeterli tahminleme (adequate precision) değerinin 4'ten büyük olması gerektiğini

belirtmişlerdir. Tüm modeller için yeterli tahminleme (adequate precision) değeri 4'ten büyük bulunmuştur (Çizelge 4.7).

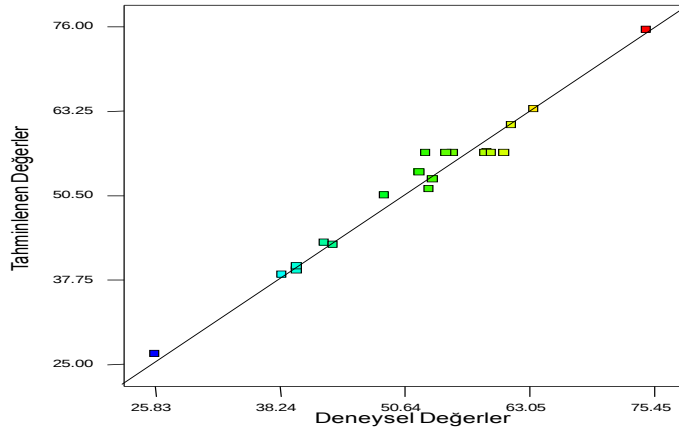
Model parametreleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak, bu parametrelerin ve modelin önemliliğinin test edilmesi ise varyans analizi kullanılarak yapılmıştır. Kalıntılar, rastgele hata teriminin davranışını yansıttığı için bu varsayımların test edilmesinde ve modelin uygunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalıntı analizi; kalıntıların normal olasılık grafiği, kalıntıların model tahminlerine karşı çizildiği grafik, kalıntıların deneme sırasına karşı çizildiği grafik gibi grafiksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fikosiyanin miktarı yanıtı için, Ek 4'de bulunan Ek Şekil 4(a)'da normal olasılık grafiği, kalıntıya karşı model tahminleri grafiği ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerden bu varsayımların karşılandığı görülmektedir.

Toplam fikosiyanin miktarının modelin yanıtı olarak incelenmesi

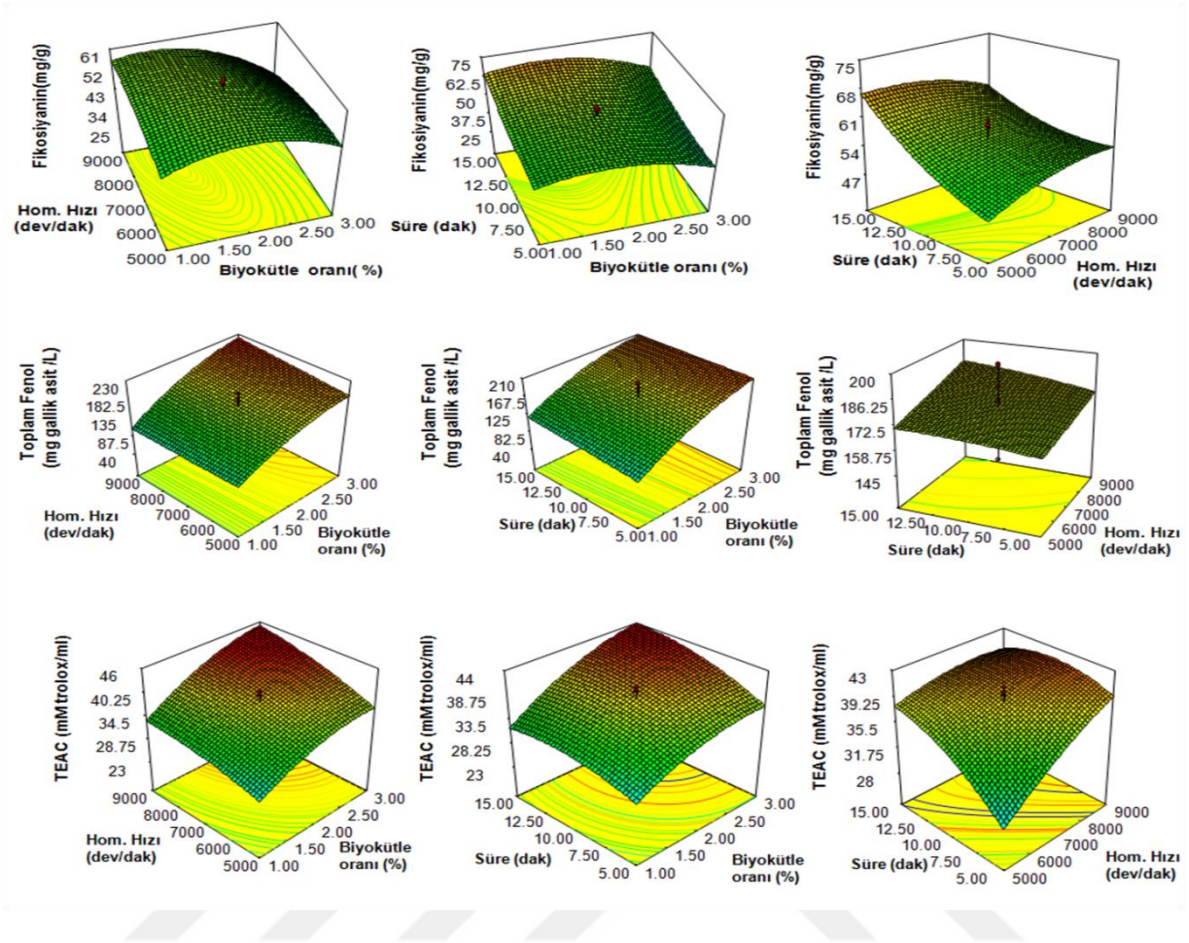
Fikosiyaninin klasik ekstraksiyon yöntemiyle ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerin toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) yanıtı için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden polinomial model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.1'de verilmiştir. Eşitlik 4.1'den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Fikosiyanin ekstraktlarındaki toplam fikosiyanin miktarı değerleri (FM_{Klasik}) için model tahminlerinin deneysel verilerle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır. Denklem sabitlerinde, A biyokütle/çözgen oranı (%); B homojenizasyon hızı (dev/dak), C süre (dak) değişkenlerini ifade etmektedir.

$$FM_{Klasik} = 56.93 - 4.89A + 6.7C - 4.01AB - 3.08BC - 7.84A^2 - 2.11B^2 + 2.56 \quad (4.1)$$



Şekil 4.2. Toplam fikosiyanin miktarı için modelden (Eş.4.1) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler

İşlem değişkenlerinin toplam fikosiyanin eldesinde; toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen quadratik model kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri oluşturulmuş olup, Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Şekil 4.3'den de görülebileceği üzere klasik ekstraksiyon yöntemi ile fikosiyanin eldesinde biyokütle/çözgen oranının artmasıyla fikosiyanin miktarının arttığı ve bununla birlikte işlem süresinin artmasının da fikosiyanin miktarının artmasına sebep olan bir diğer önemli faktör olduğu görülmektedir. Homojenizasyon hızının artmasıyla birlikte ise fikosiyanin miktarında bir miktar artış olduğu da görülmektedir.

Toplam fenolik madde miktarı üzerinde biyokütle/çözgen oranının en etkili bağımsız değişken olduğu, biyokütlenin artışıyla birlikte ekstraktların toplam fenolik madde miktarının arttığı bulgulanmıştır.

Şekil 4.3'den açıkça görülebileceği gibi TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerinde ise kullanılan biyokütlenin oranının yanısıra homojenizasyon hızının ve süresinin artmasının da etkili olduğu bulgulanmıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile toplam fikosiyanin eldesinde optimum işlem koşullarının belirlenmesi

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile farklı işlem koşullarında fikosiyanin eldesi gerçekleştirilmiş olup optimum işlem koşulları CCRD (Merkezi Tümlşik Dizayn, Central Composite Rotatable Design) deneme dizaynına göre saptanmıştır. Yapılan literatür taramasında biyokütle/çözgen oranı (% w/w), homojenizasyon hızı (dev/dak) ve sürenin (dak) toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi üzerine önemli etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu sebeple, bu üç faktör bağımsız değişkenler olarak; toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) , toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) ise bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir. Yanıtlar ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki bilinmediğinden ikinci dereceden polinomiyal bir modelle gerçek yanıt fonksiyonuna yaklaşılabacağı varsayılmıştır. Oluşturulan modellerin deneysel verilerle ne derece örtüştüğü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. %95 güven düzeyindeki Fischer (F-testi) testi uygulanarak her bir faktörün lineer, quadratik ve interaksiyon etkilerinin yanıtlar üzerindeki istatistiksel önemlilikleri bulunmuş ve her bir etki için hesaplanan F_{cal} ile F_{tab} değerleri karşılaştırılarak istatistiksel olarak önemli olmayan etkiler modelden çıkarılmıştır. Bir modelin sistemin gerçek yanıtına uygun bir yaklaşım olup olmadığına, “lack of fit”den kaynaklanan hatanın önemsiz ve regresyondan kaynaklanan varyasyonun %95 güven seviyesinde önemli olması koşuluyla karar verilmiştir. Bunun yanı sıra, modelin uygunluğu regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı ($Adj-R^2$), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (PRESS) ve tahminlenmiş çoklu belirleme katsayısı ($Pre-R^2$) kullanılarak belirlenmiştir.

Yapılan bu değerlendirmeler sonunda elde edilen modeller kullanılarak çalışılan deneysel bölge içerisinde maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve değer aralığında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını sağlayan optimum işlem koşulları “desirability fonksiyonu” metodu kullanılarak belirlenmiştir. Optimum noktanın belirlenmesi aşamasında her bir yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanıldığında optimum nokta için Çizelge 4.8’de verilen çözüm elde edilmiştir. Optimum nokta için oranı %1.71 (w/w), homojenizasyon hızı 6237.66 dev/dak ve süre 15 dak olarak bulunmuştur. Desirability fonksiyonu metodu ile modele göre

belirlenmiş olan optimum noktada (optimum işlem koşullarında) en az beş deneme yapılmış ve optimum nokta deneysel olarak da doğrulanmıştır. Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahmin edilen değerler Çizelge 4.9’da görülmektedir.

Çizelge 4.8. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü

Çözüm sayısı	Biyokütle/ çözgen oranı(%)	Hom. Hız (dev/dak)	Süre (dak)	Toplam Fikosiyan in (mg/g)	Toplam Fenolik Madde	TEAC	Desirability
					Miktarı (mg gallik asit /L)	(mM trolox/ml ekstrakt)	
1	1.71	6237.66	15.00	67.6094	162.933	37.6248	0.854
2	1.69	6232.47	15.00	67.6047	161.737	37.4642	0.854
3	1.69	6368.96	15.00	67.6026	162.522	37.6112	0.854

Çizelge 4.9. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Dn.No	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)
1	67.07	167.02	36.23
2	69.72	169.03	37.23
3	66.68	168.83	35.91
4	69.15	170.07	37.34
5	67.98	168.80	38.73
Ortalama	68.12	168.75	37.09
Modelden Tahminlenen	67.61	162.93	37.62

Elde edilen her yanıt için, modelden tahminlenen ve optimum noktanın doğrulanması denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t-testi ile belirlenmiştir. Tek örnek t-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı yardımıyla uygulanmış olup, regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips ve yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon Design ExpertVersion 7.0 (StateaseInc.) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek t-testi sonuçları Çizelge 4.10'da görülmektedir.

Çizelge 4.10. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer ^a	SH ^b	Fark	% Hata ^c	p-değeri
Toplam						
Fikosiyanin (mg/g)	67.61	68.12±1.31	0.583	0.551	0.808	0.432
Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	162.93	168.75±1.10	0.491	5.789	3.43	0.000
TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	37.64	37.09±1.11	0.495	0.551	1.48	0.327

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir, b Ortalama standart hata, c % Hata = $(|y_{den} - y_{tah}| / y_{den}) * 100$

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen fikosiyanin analiz sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarı hariç diğer tüm yanıtlar ile modelden tahminlenen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). Toplam fenolik madde miktarında optimum noktada üretilen örneklerde daha yüksek değerler edilmiş olup, pozitif yönde bir değer artışı görülmektedir.

4.1.2.2. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak biyokütleden toplam fikosiyanin ekstraksiyonu

Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde bağımsız değişkenler olan biyokütle/çözgen oranı (% w/w), amplitude (%) ve sürenin (dak) etkisi incelenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminin bağımsız işlem değişkenleri olan biyokütle/çözgen oranı % 0.32-3.68 (w/w), amplitude %19.7-70.23 ve süre 4.89-30.11 dak arasında değişmektedir. Bağımsız değişkenlerin aralıkları ön deneme çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Fikosiyaninin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, bu bağımsız değişkenlerin, toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına göre elde edilen deneysel yanıtlar toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri

Dn.No	Biyokütle/ Çözgen oranı(%) (A)	Amplitude (%) (D)	Süre (dak) (C)	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg galik asit /L)	TEAC (mM trolox/mL ekstrakt)
1	1.00	30.00	10.00	86.11±0.27	156.70±0.86	19.07±1.82
2	3.00	30.00	10.00	86.65±0.04	329.86±1.60	25.88±0.39
3	1.00	60.00	10.00	95.04±1.17	150.93±0.98	26.88±0.77
4	3.00	60.00	10.00	60.44±0.75	333.63±0.52	32.10±0.68
5	1.00	30.00	25.00	85.38±0.97	139.52±0.17	30.01±0.06
6	3.00	30.00	25.00	102.98±1.14	308.92±0.26	37.06±1.09
7	1.00	60.00	25.00	91.59±0.03	202.49±1.63	31.98±0.45
8	3.00	60.00	25.00	83.37±0.70	368.24±0.49	38.34±1.95
9	0.32	45.00	17.50	93.77±1.03	54.73±1.41	20.07±0.55
10	3.68	45.00	17.50	93.68±1.60	347.23±0.39	35.76±0.97
11	2.00	19.77	17.50	99.75±1.22	268.20±1.84	30.38±0.75
12	2.00	70.23	17.50	92.86±0.14	292.36±1.17	36.86±0.32
13	2.00	45.00	4.89	70.46±1.25	221.35±0.13	21.73±0.17
14	2.00	45.00	30.11	77.51±0.46	278.89±2.97	38.43±0.24
15	2.00	45.00	17.50	91.86±0.43	250.94±2.86	35.43±0.25
16	2.00	45.00	17.50	83.26±1.60	232.85±0.83	36.52±1.03
17	2.00	45.00	17.50	88.12±1.67	240.76±2.15	33.34±0.64
18	2.00	45.00	17.50	91.34±1.15	244.06±0.15	31.51±0.30
19	2.00	45.00	17.50	84.66±1.49	244.19±1.83	37.20±0.12
20	2.00	45.00	17.50	87.49±0.16	251.59±1.03	36.00±8.35

Modelin oluşturulması

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Her bir yanıt için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 3(b)'de verilmiştir

Ek Çizelge 3(b)'de verilen sonuçlara göre, üç yanıt (toplam fikosiyanin miktarının (mg/g), fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Bu yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon işlem değişkenlerinin fikosiyanin eldesinde toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerinde % 95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Toplam Fikosiyanin (mg/g)				Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)		TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	
Varyasyon Kaynağı	SD	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	9	1612.70	<0.000*	1.14E+05	0.000*	672.96	<0.000*
A	1	32.85	0.122	1.03E+05	<0.000*	196.74	<0.000*
D	1	110.90	0.011*	1896.30	0.001*	58.18	0.002*
C	1	138.92	0.006*	1535.80	0.003*	277.16	<0.000*
AD	1	479.37	<0.000*	4.34	0.835	0.65	0.667
AC	1	246.59	0.000*	53.65	0.471	0.24	0.794
DC	1	2.96	0.624	1930.96	0.001*	14.51	0.062
A ²	1	44.86	0.077	2895.43	0.000*	92.08	0.000*
D ²	1	101.00	0.014*	2769.17	0.000*	3.75	0.311
C ²	1	396.40	0.000*	147.47	0.243	44.69	0.004*
Kalıntı	10	115.45		956.45		32.89	
Model uygunsuzluğu testi	5	55.69	0.530	715.85	0.128	9.65	0.822
Saf Hata	5	55.76		240.60		23.24	
Toplam	19	1728.15		1.15E+05		705.85	

* %95'lik düzeyde önemli A: Biyokütle/çözgen oranı(%), D: Amplitude (%), C: Süre (dak)

Çizelge 4.12' de görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği F ve *p*-değerlerinden bulunmuştur. *p*-değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca, bu çizelgede kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır.

Çizelge 4.13 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)
R²	0.9332	0.9917	0.9534
R²_{adj}	0.8731	0.9842	0.9115
C.V. %	3.89	3.98	5.72
PRESS	515.59	5814.58	106.89
Yeterli Tahminleme	16.092	45.022	16.165

Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modelde varyasyon ($R^2 > 0.93$) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.13).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers ve Montgomery, 1995). Tüm yanıtlar için R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Yanıtlar için varyasyon katsayısı değeri toplam fikosiyanin miktarı için 3.89, toplam fenolik madde miktarı için 3.98 ve TEAC antioksidan aktivitesi için 5.72 olarak bulunmuştur.

Myers and Montgomery (1995) yeterli tahminleme (adequate precision) ve PRESS istatistiklerinin daha sonra yapılacak gözlemlerin tahminlenmesi için kullanılabileceğini ve yeterli tahminleme (adequate precision) değerinin 4'ten büyük olması gerektiğini belirtmişlerdir. Tüm modeller için yeterli tahminleme (adequate precision) değeri 4'ten büyük bulunmuştur (Çizelge 4.13).

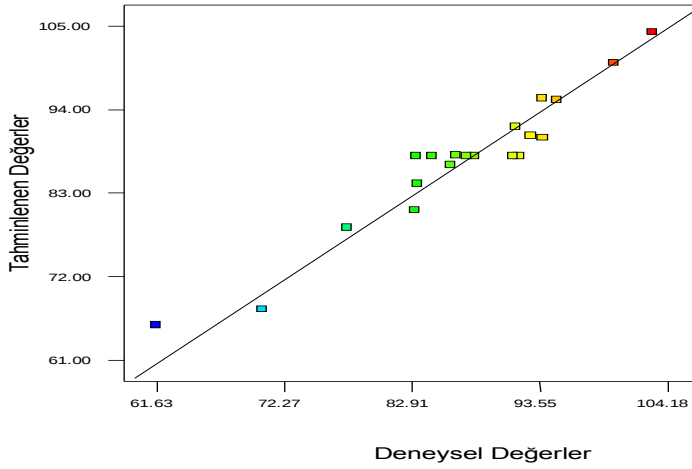
Model parametreleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak, bu parametrelerin ve modelin önemliliğinin test edilmesi ise varyans analizi kullanılarak yapılmıştır. Kalıntılar, rastgele hata teriminin davranışını yansıttığı için bu varsayımların test edilmesinde ve modelin uygunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalıntı analizi; kalıntıların normal olasılık grafiği, kalıntıların model tahminlerine karşı çizildiği grafik, kalıntıların deneme sırasına karşı çizildiği grafik gibi grafiksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fikosiyanin miktarı yanıtı için, Ek 4'de bulunan Ek Şekil 4(b)'de normal olasılık grafiği, kalıntıya karşı model tahminleri grafiği ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerden bu varsayımların karşılandığı görülmektedir.

Toplam fikosiyanin miktarının modelin yanıtı olarak incelenmesi

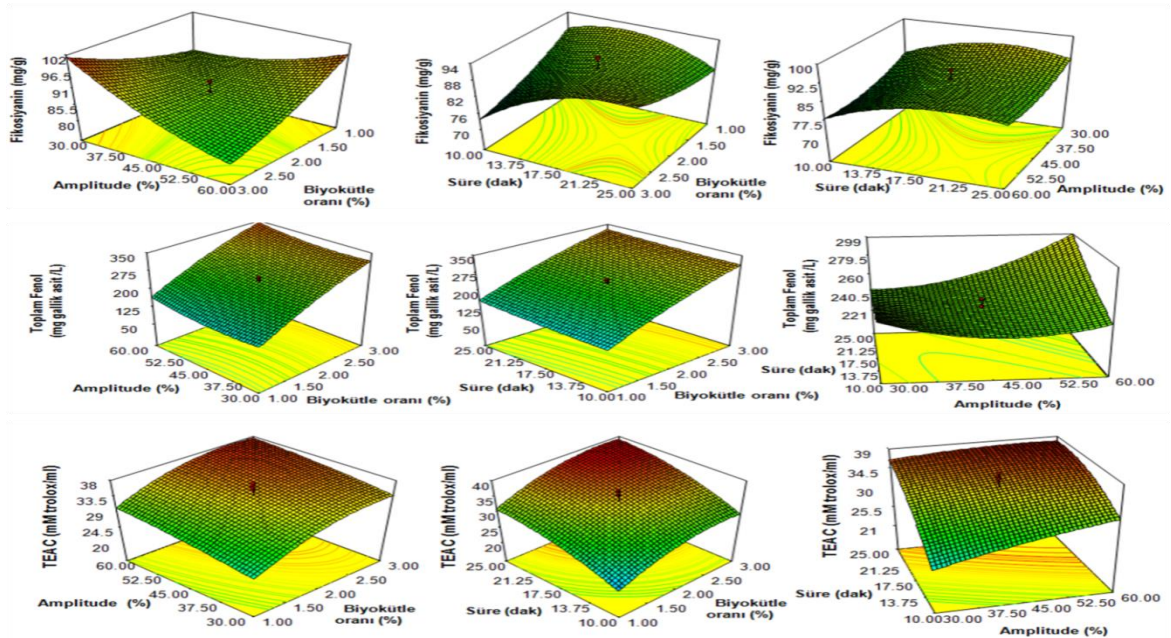
Fikosiyaninin ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerin toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) yanıtı için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden polinomiyal model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.2'de verilmiştir. Eşitlik 4.2'den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Fikosiyanin ekstraktlarındaki toplam fikosiyanin miktarı değerleri ($FM_{ultrasonik}$) için model tahminlerinin deneysel verilerle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır. Denklem sabitlerinde, A biyokütle/çözgen oranı (%); D amplitud (%), C süre (dak) değişkenlerini ifade etmektedir.

$$FM_{Ultrasonik} = 87.84 - 2.85D + 3.19C - 7.74AD + 5.55AC + 2.65D^2 - 5.24C^2 \quad (4.2)$$



Şekil 4.4. Toplam fikosiyanın miktarı için modelden (Eş.4.2) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler

İşlem değişkenlerinin fikosiyanın eldesinde; toplam fikosiyanın miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen quadratik model kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri oluşturulmuş olup, Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Şekil 4.5’den görülebileceği üzere ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile toplam fikosiyanin eldesinde uygulanan amplitude değerinin artmasıyla toplam fikosiyanin miktarının arttığı ve bununla birlikte işlem süresinin artmasının da toplam fikosiyanin miktarının artmasına sebep olan bir diğer önemli faktör olduğu görülmektedir.

Fikosiyanin eldesinde antioksidan aktivite değerleri üzerinde biyokütle/çözgen oranının en etkili bağımsız değişken olduğu, biyokütlenin artışıyla birlikte ekstraktların antioksidan aktivitesinin arttığı bulgulanmıştır (Şekil 4.5).

Şekil 4.5’den açıkça görülebileceği gibi toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerinde ise kullanılan biyokütlenin oranının yanısıra uygulanan amplitude ve işlem süresinin artmasının da etkili olduğu bulgulanmıştır.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile fikosiyanin eldesinde optimum işlem koşullarının belirlenmesi

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile farklı işlem koşullarında fikosiyanin eldesi gerçekleştirilmiş olup optimum işlem koşulları CCRD (Merkezi Tümlleşik Dizayn, Central Composite Rotatable Design) deneme dizaynına göre saptanmıştır. Yapılan literatür taramasında biyokütle/çözgen oranı (% w/w), amplitude değeri (%) ve sürenin (dak); toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) ve antioksidan aktivite (toplam fenolik madde miktarı ve TEAC) üzerine önemli etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu sebeple, bu üç faktör bağımsız değişkenler olarak; toplam fikosiyanin miktarı ve antioksidan aktivite (toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)) bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir. Yanıtlar ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki bilinmediğinden ikinci dereceden polinomiyal bir modelle gerçek yanıt fonksiyonuna yaklaşılabacağı varsayılmıştır. Klasik ekstraksiyon yönteminde olduğu gibi gerekli istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır. Yapılan bu değerlendirmeler sonunda elde edilen model kullanılarak çalışılan deneysel bölge içerisinde maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve değer aralığında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını sağlayan optimum işlem koşulları “desirability fonksiyonu” metodu kullanılarak belirlenmiştir.

Optimum noktanın belirlenmesi aşamasında her bir yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanıldığında optimum nokta için Çizelge 4.14’de verilen çözüm elde edilmiştir. Elde edilen çözümlerden biyokütle/çözgen oranı %2.98 (w/w), amplitude değeri %30.29, süre 20.32 dak ve desirability değeri 1 olan çözüm ile denemeler gerçekleştirilmiş fakat tahminlenen sonuç değerinin altında toplam fikosiyanın miktarı (98.12 ± 1.52 mg/g) belirlenmiştir. Bu sebeple biyokütle/çözgen oranı %1.00 (w/w), amplitude değeri %60 ve süre 16.23 dak olan çözüm denenmiştir ve daha az miktarda biyokütle kullanılarak istenilen toplam fikosiyanın miktarının elde edildiği görülmüştür. Bu nedenle optimum nokta için biyokütle/çözgen oranı %1.00 (w/w), amplitude değeri %60 ve süre 16.23 dak olarak seçilmiştir. Desirability fonksiyonu metodu ile modele göre belirlenmiş olan optimum noktada (optimum işlem koşullarında) en az beş deneme yapılmış ve optimum nokta deneysel olarak da doğrulanmıştır. Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahmin edilen değerler Çizelge 4.15’de görülmektedir.

Çizelge 4.14. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü

Çözüm sayısı	Çözgen/Biyokütle oranı(%)	Amplitude (%)	Süre (dak)	Toplam Fikosiyani n (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	Desirability
1	2.98	30.29	20.32	103.06	313.88	36.06	1
2	3.00	31.06	23.64	103.32	313.384	37.85	1
3	<u>1.00</u>	<u>60.00</u>	<u>16.23</u>	<u>98.84</u>	<u>163.241</u>	<u>29.96</u>	<u>0.9</u>

Çizelge 4.15. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Dn.No	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)
1	99.74	246.16	31.98
2	99.23	243.67	33.58
3	97.93	244.12	32.91
4	97.57	246.53	34.59
5	96.37	246.49	32.78
Ortalama	98.17	245.39	33.17
Modelden Tahminlenen	98.84	163.241	29.96

Elde edilen her yanıt için, modelden tahminlenen ve optimum noktanın doğrulanması denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t–testi ile belirlenmiştir.

Tek örnek t–testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı yardımıyla uygulanmış olup, regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips ve yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon Design Expert Version 7.0 (StateaseInc.) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek t–testi sonuçları Çizelge 4.16’da görülmektedir.

Çizelge 4.16. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer ^a	SH ^b	Fark	% Hata	p-değeri
Toplam Fikosiyanin (mg/g)	98.84	98.17±1.34	0.602	0.672	0.684	0.327
Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	163.241	245.39±1.38	0.619	81.68	33.35	0.000
TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	29.96	33.17±0.97	0.437	3.21	9.67	0.002

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir, b Ortalama standart hata, c % Hata = (| yden - ytah | / yden) * 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen fikosiyanin analiz sonuçlarına göre toplam fikosiyanin miktarı hariç diğer tüm yanıtlar ile modelden tahminlenen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Antioksidan aktivitesi analizleri sonucu toplam fenolik madde miktarı ve TEAC içeriğinde optimum noktada üretilen örneklerde daha yüksek değerler elde edilmiş olup, pozitif yönde bir değer artışı görülmektedir.

4.1.2.3. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi kullanılarak biyokütleden toplam fikosiyanin ekstraksiyonu

Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde bağımsız değişkenler olan biyokütle/çözgen oranı (% w/w), güç (W) ve sürenin (s) etkisi incelenmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon yönteminin bağımsız işlem değişkenleri olan biyokütle/çözgen oranı %0.32-3.68 (w/w), güç 65.91-234.09 W ve süre 0.32-3.68 s arasında değişmektedir. Bağımsız değişkenlerin aralıkları ön deneme çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Fikosiyaninin mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, bu bağımsız değişkenlerin, toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına göre elde edilen deneysel yanıtlar toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile CCRD deneme desenine göre elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri

Dn.No	Biyokütle/ çözgen oranı (%) (A)	Güç (W) (E)	Süre (s) (C)	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/mL ekstrakt)
1	1.00	100.00	60.00	14.69±0.22	78.78±1.20	22.46±0.34
2	3.00	100.00	60.00	19.66±0.20	182.76±1.20	28.54±0.09
3	1.00	200.00	60.00	14.43±2.67	74.71±3.75	23.13±0.01
4	3.00	200.00	60.00	19.68±4.76	147.76±1.92	30.92±0.50
5	1.00	100.00	180.00	18.60±1.62	94.32±0.53	25.08±0.08
6	3.00	100.00	180.00	25.28±1.18	183.12±1.75	29.07±0.48
7	1.00	200.00	180.00	18.25±0.03	87.32±0.18	24.78±0.02
8	3.00	200.00	180.00	22.73±0.36	183.36±3.30	30.36±0.01
9	0.32	150.00	120.00	9.34±0.08	32.81±2.05	23.31±1.32
10	3.68	150.00	120.00	19.85±0.00	189.61±0.84	33.43±1.27
11	2.00	65.91	120.00	23.25±0.30	141.55±0.20	23.93±0.13
12	2.00	234.09	120.00	18.69±0.04	138.74±0.96	25.72±0.09
13	2.00	150.00	19.09	18.16±0.12	116.98±2.05	28.33±0.09
14	2.00	150.00	220.91	28.54±0.37	156.74±0.44	29.34±0.01
15	2.00	150.00	120.00	28.82±1.10	135.26±0.46	28.43±0.09
16	2.00	150.00	120.00	27.44±0.54	147.56±1.20	27.61±0.03
17	2.00	150.00	120.00	27.06±0.71	126.50±2.82	28.00±1.18
18	2.00	150.00	120.00	28.22±0.17	133.64±1.17	29.89±0.62
19	2.00	150.00	120.00	24.88±3.48	126.05±0.98	30.25±1.29
20	2.00	150.00	120.00	26.63±0.53	152.23±0.28	28.75±0.01

Modelin Oluşturulması

Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Her bir yanıt için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 3(c)'de verilmiştir

Ek Çizelge 3(c)'de verilen sonuçlara göre, üç yanıt (toplam fikosiyanin miktarının (mg/g), fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Bu yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon işlem değişkenlerinin fikosiyanin eldesinde toplam fikosiyanin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/ml ekstrakt) değerleri üzerinde % 95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	Toplam Fikosiyanin (mg/g)		Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)		TEAC (mM trolox/mL ekstrakt)	
		HKT	P- değeri	HKT	P- değeri	HKT	p- değeri
Model	9	544.53	<0.000*	31560.18	<0.000*	163.31	<0.000*
A	1	111.73	<0.000*	28655.73	<0.000*	119.84	<0.000*
E	1	8.55	0.051*	187.25	0.180	3.64	0.038*
C	1	83.98	<0.000*	1256.48	0.004*	2.59	0.071
AE	1	0.46	0.620	70.06	0.399	1.36	0.174
AC	1	0.11	0.805	7.63	0.777	2.30	0.086
EC	1	0.88	0.494	130.41	0.257	0.53	0.381
A ²	1	285.63	<0.000*	1182.65	0.005*	0.95	0.249
E ²	1	69.53	<0.000*	19.73	0.650	32.81	<0.000*
C ²	1	26.50	0.003*	9.7E-04	0.997	0.13	0.666
Kalıntı	10	17.51		903.41		6.35	
Model uygunsuzluğu testi	5	8.09	0.564	315.70	0.744	0.87	0.968
Saf Hata	5	9.42		587.71		5.48	
Toplam	19	562.04		32463.59		169.66	

* %95'lik düzeyde önemli, A: Biyokütle/çözgen oranı(%), E: Güç (W), C: Süre (s)

Çizelge 4.18'de görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer, interaksiyon ve quadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.19'da gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği F ve *p*-değerlerinden bulunmuştur. *p*-değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca, bu çizelgede kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır.

Çizelge 4.19 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	Toplam Fikosiyenin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)
R²	0.9689	0.9722	0.9626
R²_{adj}	0.9408	0.9471	0.9289
C.V. %	6.09	7.23	2.89
PRESS	76.22	3530.28	14.47
Yeterli Tahminleme	18.960	22.925	18.473

Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modelde varyasyon ($R^2 > 0.96$) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.19).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers ve Montgomery, 1995). Tüm yanıtlar için R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Yanıtlar için varyasyon katsayısı değeri toplam

fikosiyanin miktarı için 6.09, toplam fenolik madde miktarı için 7.23 ve TEAC antioksidan aktivitesi için 2.89 olarak bulunmuştur.

Myers and Montgomery (1995) yeterli tahminleme (adequate precision) ve PRESS istatistiklerinin daha sonra yapılacak gözlemlerin tahminlenmesi için kullanılabileceğini ve yeterli tahminleme (adequate precision) değerinin 4'ten büyük olması gerektiğini belirtmişlerdir. Tüm modeller için yeterli tahminleme (adequate precision) değeri 4'ten büyük bulunmuştur (Çizelge 4.19).

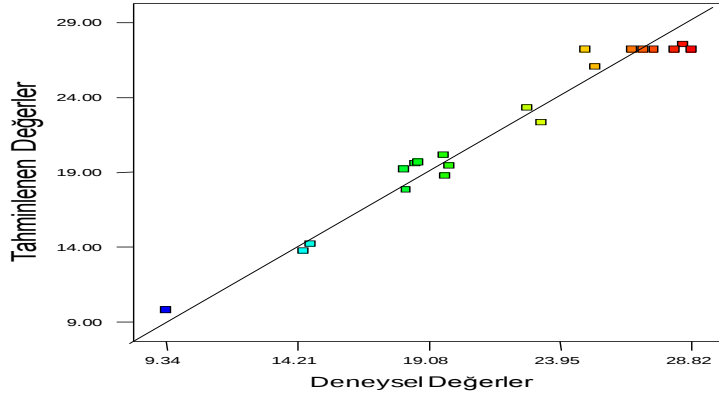
Model parametreleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak, bu parametrelerin ve modelin önemliliğinin test edilmesi ise varyans analizi kullanılarak yapılmıştır. Kalıntılar, rastgele hata teriminin davranışını yansıttığı için bu varsayımların test edilmesinde ve modelin uygunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalıntı analizi; kalıntıların normal olasılık grafiği, kalıntıların model tahminlerine karşı çizildiği grafik, kalıntıların deneme sırasına karşı çizildiği grafik gibi grafiksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fikosiyanin miktarı yanıtı için, Ek 4'de bulunan Ek Şekil 4(c)'de normal olasılık grafiği, kalıntıya karşı model tahminleri grafiği ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerden bu varsayımların karşılandığı görülmektedir.

Toplam fikosiyanin miktarının modelin yanıtı olarak incelenmesi

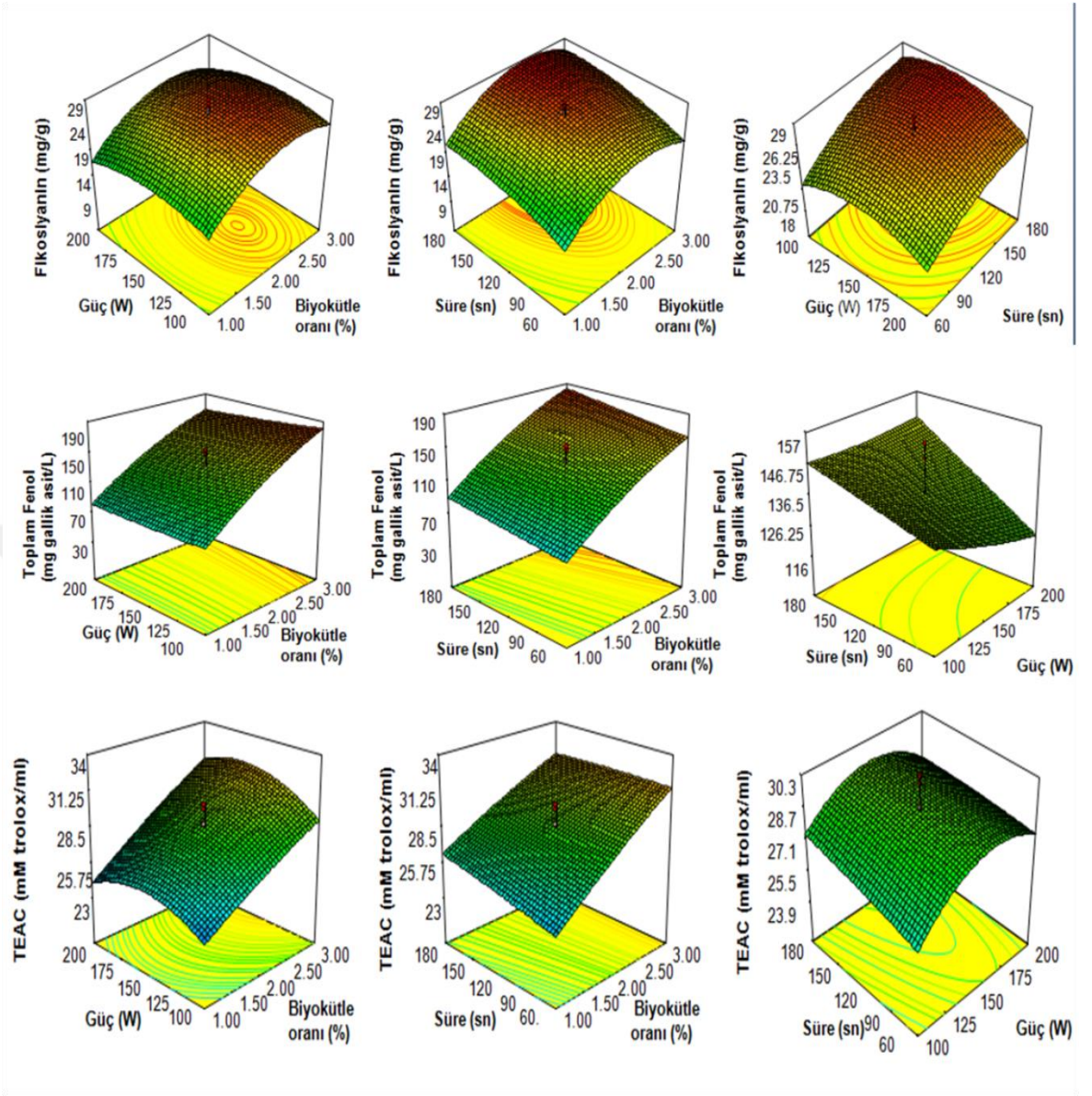
Fikosiyaninin mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle ekstaksiyonu ile elde edilen örneklerin toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) yanıtı için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden polinomial model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 4.3'de verilmiştir. Eşitlik 4.3'den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Fikosiyanin ekstraktlarındaki toplam fikosiyanin miktarı değerleri ($FM_{Mikrodalda}$) için model tahminlerinin deneysel verilerle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır. Denklem sabitlerinde, A biyokütle/çözgen oranı (%); E güç (W), C süre (sn) değişkenlerini ifade etmektedir.

$$FM_{Mikrodalda} = 27.18 + 2.86A - 0.79E + 2.48C - 4.45A^2 - 2.20E^2 - 1.36C^2 \quad (4.3)$$



Şekil 4.6 Toplam fikosiyenin miktarı için modelden (Eş.4.3) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler

İşlem değişkenlerinin fikosiyenin eldesinde; toplam fikosiyenin miktarı (mg/g), toplam fenolik madde miktarı (mg galik asit/L) ve TEAC antioksidan aktivitesi (mM trolox/mL ekstrakt) değerleri üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen quadratik model kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri oluşturulmuş olup, Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Şekil 4.7’ den görülebileceği üzere mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile fikosiyanin eldesinde biyokütle/çözgen oranı ve işlem sürenin artmasıyla toplam fikosiyanin miktarının arttığı ve bununla birlikte uygulanan gücün artmasının da fikosiyanin miktarının artmasına sebep olan bir diğer önemli faktör olduğu görülmektedir.

Fikosiyanin eldesinde antioksidan aktivite değerleri üzerinde biyokütle/çözgen oranının etkili bağımsız değişken olduğu, biyokütlenin artışıyla birlikte ekstraktların antioksidan aktivitesinin arttığı bulgulanmıştır (Şekil 4.7).

Şekil 4.7’den açıkça görülebileceği gibi toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesi değerleri üzerinde ise kullanılan biyokütlenin oranının yanısıra uygulanan gücün ve işlem süresinin artmasının da etkili olduğu bulgulanmıştır.

Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile fikosiyanin eldesinde optimum işlem koşullarının belirlenmesi

Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile farklı işlem koşullarında fikosiyanin eldesi gerçekleştirilmiş olup optimum işlem koşulları CCRD (Merkezi Tümlleşik Dizayn, Central Composite Rotatable Design) deneme dizaynına göre saptanmıştır. Yapılan literatür taramasında biyokütle/çözgen oranı (% w/w), güç (W) ve sürenin (s); toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) ve antioksidan aktivite (toplam fenolik madde miktarı ve TEAC) üzerine önemli etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu sebeple, bu üç faktör bağımsız değişkenler olarak; toplam fikosiyanin miktarı (mg/g) ve antioksidan aktivite (toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/L) ve TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)) bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir.

Yanıtlar ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki bilinmediğinden ikinci dereceden polinomiyal bir modelle gerçek yanıt fonksiyonuna yaklaşılabacağı varsayılmıştır. Klasik ve ultrasonik estraksiyon yöntemlerinin işlem parametrelerini değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel işlemler mikrodalga ekstraksiyonu için de gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu değerlendirmeler sonunda elde edilen modeller kullanılarak çalışılan deneysel bölge içerisinde maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve değer aralığında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını sağlayan optimum işlem koşulları “desirability fonksiyonu” metodu kullanılarak belirlenmiştir.

Optimum noktanın belirlenmesi aşamasında her bir yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanıldığında optimum nokta için Çizelge 4.20’de verilen çözümler elde edilmiştir. Optimum nokta için biyokütle/çözgen oranı %2.34 (w/w), güç 133.29 W ve süre 165.96 s olarak bulunmuştur. Desirability fonksiyonu metodu ile modele göre belirlenmiş olan optimum noktada (optimum işlem koşullarında) en az beş deneme yapılmış ve optimum nokta deneysel olarak da doğrulanmıştır. Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahmin edilen değerler Çizelge 4.21’de görülmektedir.

Çizelge 4.20. Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak elde edilen optimum nokta çözümü

Çözüm sayısı	Biyokütle/ çözgen oranı(%)	Güç (W)	Süre (sn)	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	TFMM (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/ml ekstrakt)	Desirability
1	2.34	133.29	165.96	28.90	159.57	29.65	1
2	2.22	137.18	169.86	28.87	155.06	29.50	1
3	2.50	138.38	178.66	28.84	167.48	30.13	1

Çizelge 4.21. Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Dn.No	Toplam Fikosiyanin (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit /L)	TEAC (mM trolox/mL ekstrakt)
1	28.98	156.10	29.75
2	30.81	157.60	28.33
3	29.20	158.37	29.34
4	28.84	157.25	28.43
5	27.88	154.54	27.61
Ortalama	29.14	156.77	29.75
Modelden Tahminlenen	28.90	159.57	29.65

Elde edilen her yanıt için, modelden tahminlenen ve optimum noktanın doğrulanması denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t–testi ile belirlenmiştir. Tek örnek t–testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı yardımıyla uygulanmış olup, regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips ve yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon Design ExpertVersion 7.0 (StateaseInc.) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek t – testi sonuçları Çizelge 4.22’de görülmektedir.

Çizelge 4.22. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

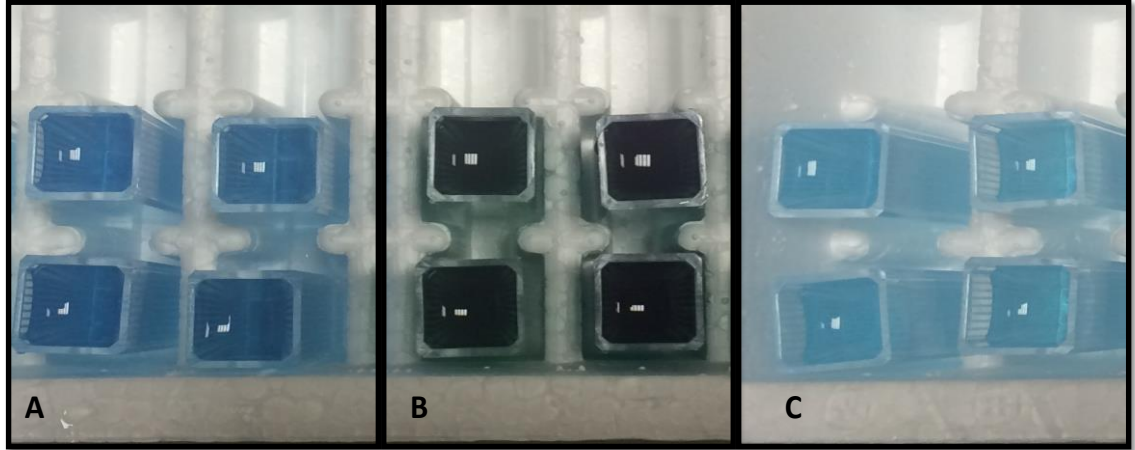
Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer ^a	SH ^b	Fark	% Hata	<i>p</i> - değeri
Toplam						
Fikosiyanin (mg/g)	28.90	29.14±1.06	0.474	0.241	0.826	0.637
Toplam Fenolik						
Madde Miktarı (mg	159.57	156.77±1.49	0.667	2.897	1.784	0.014
gallik asit /L)						
TEAC (mM	29.65	29.75±0.85	0.381	0.958	3.339	0.066
trolox/ml ekstrakt)						

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir b Ortalama standart hata c % Hata = (| yden - ytah | / yden) * 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen fikosiyanin analiz sonuçlarına göre Toplam fenolik madde miktarı hariç diğer tüm yanıtlar ile modelden tahminlenen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

4.1.3. Toplam fikosiyanin ekstraksiyonu için en uygun yöntemin belirlenmesi

Spirulina platensis'den fikosiyanin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Her bir ekstraksiyon yöntemine özgü işlem parametreleri CCRD deneme deseni kullanılarak, desirability fonksiyon yaklaşımına göre maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve kabul edilebilir toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ekstrakte edilen en yüksek toplam fikosiyanin miktarının sırası ile ultrasonik, klasik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edildiği belirlenmiştir. Fakat ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda diğerlerine kıyasla daha yüksek toplam fikosiyanin miktarı elde edilmiş olsa bile, işlem sırasında uygulanan yüksek kavitasyon nedeniyle hücre tamamıyla parçalanmakta ve hücre içerisinde yer alan bileşenler de ekstrakta geçmektedir. Bu nedenle elde edilen renk koyu yeşile dönmektedir. Bu durum yüksek fikosiyanin miktarını sağlarken, albenisi yüksek mavi rengin eldesine ters düşmektedir. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminden sonra en yüksek toplam fikosiyaninin ekstrakte edildiği klasik ekstraksiyon işleminde ise böyle bir durum söz konusu değildir. Nitekim Şekil 4.8' de de görüldüğü üzere ultrasonik ekstraksiyonda renk koyu yeşil iken klasik ekstraksiyonda koyu mavi renk gözlemlenmiştir.



Şekil 4.8. *S. platensis* biyokütlesine 3 farklı yöntem ile optimum koşuldaki işlem sonucu elde edilen ekstraktların görüntüleri (A: Klasik ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt, B: Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt, C: Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilen ekstrakt.

Bu sonuçlar doğrultusunda *Spirulina platensis*'den fikosiyanin ekstraksiyonu için en uygun yöntemin klasik ekstraksiyon olduğuna karar verilmiştir. Bu aşama sonrasında mikrokapsülasyon işlemlerinde kullanılmak üzere gerekli olan fikosiyanin için gerçekleştirilecek bütün ekstraksiyon işlemleri klasik ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

4.2. Fikosiyaninin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen fikosiyanin ekstraktlarının mikrokapsülasyon, stabilite ve model gıda analizlerinde kullanılmak üzere kısmi olarak saflaştırılması için amonyum sülfatla çöktürme ve diyaliz yöntemleri uygulanmıştır. Elde edilen örnekler dondurarak kurutucuda kurutularak toz forma getirilerek kullanılmıştır. Fikosiyaninin saflaştırma ve karakterizasyon işlemleri Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Algal biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Fikosiyaninin saflaştırılması aşamasında farklı renk tonları elde etmek amacıyla farklı işlem basamaklarından elde edilen ürünlerin fikosiyanin miktarı ve model gıda denemeleri gerçekleştirilmiştir. Fikosiyaninin kısmi saflaştırılması için öncelikle tek kademeli ve çift kademeli amonyum sülfat çöktürme işlemleri uygulanmıştır (Song et al., 2013 Boussiba and Richmond 1979; Abalde et al., 1998; Zhang and Chen 1999). Öncelikle literatür çalışmalarına dayanarak seçilen tek kademeli %35 ve %70 amonyum sülfat konsantrasyonlarında denemeler gerçekleştirilmiş ve elde edilen saflaştırılmış fikosiyaninlerin renklerinin açık mavi olduğu ve model gıda örneklerinde tüketicinin istediği albeniyi sağlayamadığı belirlenmiştir. Ayrıca %35 ve %70 amonyum sülfat kullanılarak hazırlanan örneklerde konsantrasyonun artmasının fikosiyanin miktarında, renk değerlerinde ve model gıdalardaki duyuşal sonuçlarda fazla bir etkiye sebep olmadığı bulgulanmıştır. İki aşamalı amonyum sülfat çöktürme işleminde %20-%50 ve %30-%70 oranları denenmiştir. İki aşamalı işlemde belirlenen oranlardaki amonyum sülfatla çözelti iki kere muamele edilmektedir. Sonrasında elde edilen sıvı ürün diyaliz torbasında pH:7 Sodyum-fosfat Tampon çözeltisinde 1 gün süreyle bekletilerek, dondurarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen ürünlerden %30-70 amonyum sülfat ile çöktürme sağlanan örneğin tüm denemeler arasında en koyu mavi renkte olduğu, yüksek toplam fikosiyanin içeriğine sahip olduğu ve model gıda denemelerinde en yüksek duyuşal skoru aldığı belirlenmiştir. %20-50 oranlarında amonyum sülfat ile

çöktürülen örnekte amonyum sülfat miktarının tam saflaşmanın gerçekleşmesi için yeterli olmadığı bu yüzden elde edilen üründe yeşil rengin tam ayrılamadığı belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen model gıda denemelerinde kremşanti toz karışımı, yağlı hazır krema, şekerli gazlı içecek kullanılmıştır. Saflaştırılmış fikosiyaninin suda çözünür yapısından dolayı kremşanti ürününe kolaylıkla karıştırılabildiği ve elde edilen üründe herhangi bir heterojen yapının oluşmadığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra eklenen saflaştırılmış fikosiyaninin ürünün tadında, kokusunda ve yapısında bir değişikliğe sebep olmadığı duyu analizler sonucunda belirlenmiştir.

Yağlı hazır krema üründe ise yağ fazında homojen bir yapı oluşturamayan saflaştırılmış fikosiyaninin bekleme sonrası üst fazda biriktiği gözlemlenmiştir. Eklenen fikosiyaninin ürünün tadında ve kokusunda bir değişikliğe sebep olmadığı duyu analizler sonucunda belirlenmiştir. Şekerli gazlı içecek denemesinde eklenen saflaştırılmış fikosiyanin örneğinin tüketicinin arzu ettiği rengi sağladığı ancak bazı ürünlerde kokunun gözlemlendiği belirlenmiştir. Bunun haricinde sıvı ürünlerde bir süre sonra dipte çökme olduğu, eklenen saflaştırılmış fikosiyaninin üründe tam olarak çözünmediği de belirlenmiştir.

Model gıda denemelerinde eklenecek olan miktarın belirlenmesinde gıda endüstrisinde mavi rengi sağlamada kullanılan Brilliant Blue gıda katkı maddesiyle ilgili yasal düzenlemelerde belirlenen 100 mg/kg maksimum değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Yasal koşullarda eklenerek elde edilen sentetik renklendiricinin sağladığı renk ile aynı oranda eklenen saflaştırılmış fikosiyaninin sağladığı renk kıyaslanmıştır.

4.3. Fikosiyaninin Mikroenkapsülasyonu

4.3.1. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon

4.3.1.1. Fikosiyanin emülsiyonunun hazırlanması

Fikosiyaninin su içerisinde çözünmesinden dolayı püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemi öncesi saf fikosiyanin emülsiyon hazırlama aşamasında belirtilen koşullarda çift katmanlı emülsiyon (doublelayer emulsion) olarak hazırlanmıştır. Emülsiyon hazırlama koşullarının belirlenmesinde farklı fikosiyanin/ kaplama oranları (1:50, 1:100, 1:250, 1:500) denemeleri gerçekleştirilerek emülsiyonda istenilen rengin elde edilmesi ve kullanılan fikosiyaninin miktarı dikkate alınmıştır. Emülsiyon hazırlamada kullanılan saf toz fikosiyanin yağ ile homojenizasyon aşamasında bir miktar suda çözündürülmektedir; yığın yoğunluğu düşük olan fikosiyanin tozlarını çözündürmek için kullanılan su, yağ ile emülsiyon oluşumunda fazla olduğu takdirde sorun yaratmaktadır. Bu sebeple en yoğun rengi veren ve kullanılan yağın %10' undan az su kullanılarak çözündürülebilen fikosiyanin miktarı dikkate alınmıştır. 1:100 oranı ile elde edilen emülsiyonda koyu mavi renk elde edilmiştir ve yağın %10'undan az su kullanılarak çözündürülüp emülsiyonlarda kullanılabilmektedir.

Farklı son homojenizasyon hızları (10000, 12500 ve 15000 dev/dak), farklı kuru madde içeriği (%10, 20 ve 30) ve kuru maddenin farklı oranlarda yağ içeriği (%20 ve %30) göz önünde bulundurularak emülsiyonlar hazırlanmıştır (Çizelge 4.23). Farklı koşullarda hazırlanan bu emülsiyonların mikroskop altında görüntüleri incelenmiş ve emülsiyon stabiliteyi faz ayırımına bakılarak değerlendirilmiştir. Tüm emülsiyon hazırlama denemelerinde kaplama materyali olarak maltodekstrin ve peynir altı suyu protein izolatu %50+50 oranında kullanılmıştır. Fikosiyanin: kaplama oranı 1:100 olarak sabit tutulmuştur.

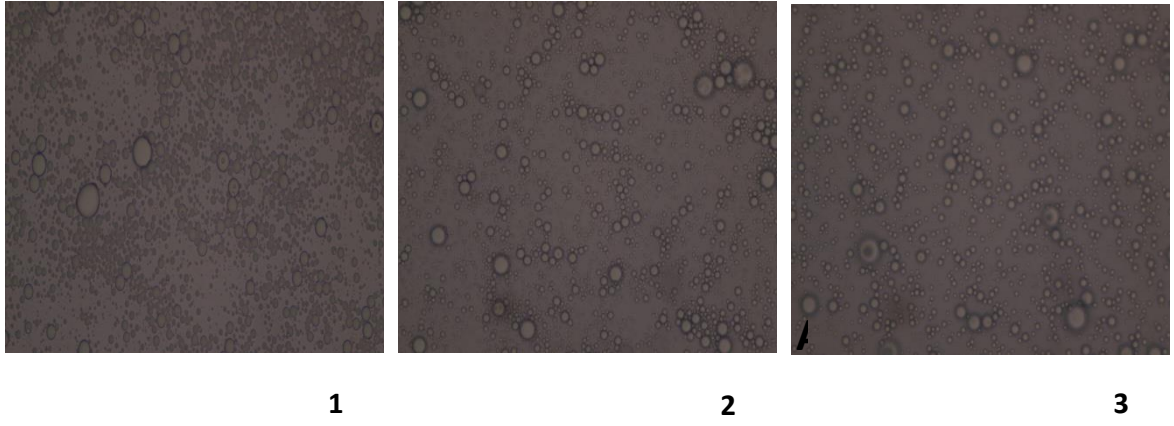
Emülsiyon hazırlama kısmının en önemli basamağı olan kuru madde yüzdesi seçiminde %10-30 oranlarında kuru madde içeren emülsiyonlar hazırlanmıştır. %30 üzerinde hazırlanacak emülsiyonlar yoğun viskoziteye sahip olacağı için; %10 değerinin altında ise az miktarda ürün elde edileceği ve verimi düşük bir çalışma olacağı için denemelerde dikkate alınmamıştır.

Homojenizasyon hızının etkisinin belirlenmesinde mikroskop görüntülerinde yağ damlacıklarının homojen olması ve damlacık boyutları dikkate alınmıştır. Emülsiyonların damlacık yapısını belirlemek amacıyla Trinoküler mikroskop (Olympus CX31) ve dijital fotoğraf makinesi (Olympus Digital SLR-E330) kullanılmıştır. Örnekler mikroskop altında 100 kat büyütülerek çekilmiştir. Emülsiyon örneklerinin mikroskop altında çekilen görüntüleri ise Şekil 4.9 ile 4.14 arasında verilmiştir.

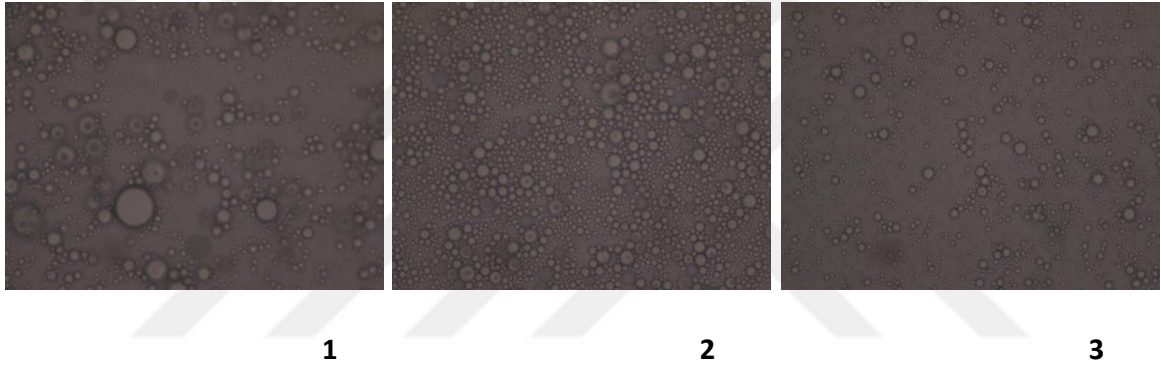
Düşük homojenizasyon hızında yağ damlacıkları büyük ve dağınık şekilde gözlemlenirken; 15000 dev/dak değerinde fazla küçük ve kararsız, dağınık yağ damlacık yapıları gözlemlenmiştir (Şekil 4.9-4.11). Bu sebeple 12500 dev/dak hızı en iyi son homojenizasyon hızı olarak seçilmiştir.

Farklı kuru madde miktarında hazırlanan emülsiyonlarda 3. gün sonunda kuru maddesi %10 olan emülsiyonlarda emülsiyon stabilitesi gözlemlenmiş, kremleşme dereceleri hesaplanmıştır Çizelge 4.23'de hazırlanan emülsiyonlarda kuru madde miktarının artmasıyla emülsiyon stabilitesini arttığı; %20-30 kuru madde içeren emülsiyonlarda 4 güne kadar faz ayırımının olmadığı görülmektedir. %30 kuru madde içeren emülsiyonlar yoğun yapısında dolayı püskürtmeli kurutma işlemine uygun olmadığı için emülsiyon stabilitesi özelliği açısından %20 kuru madde içeren emülsiyonların uygun olduğu belirlenmiştir.

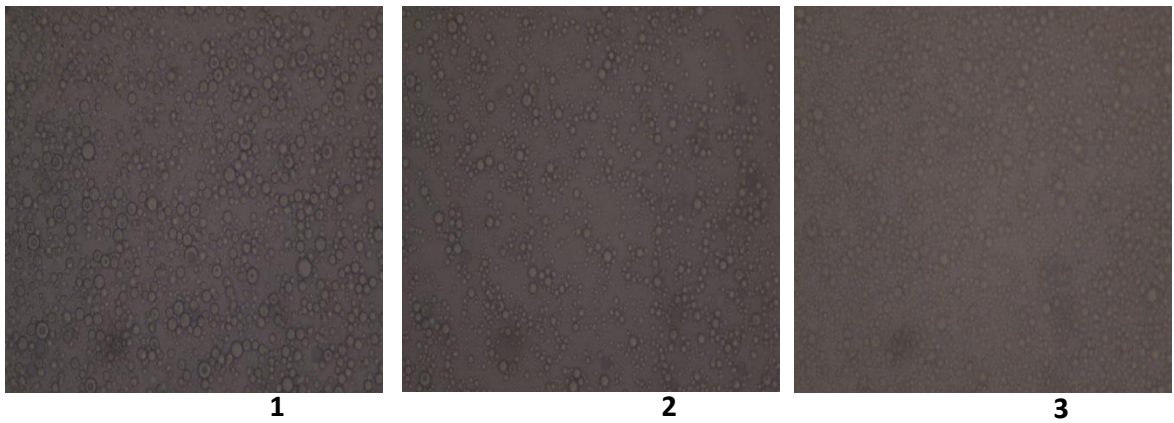
Yağ miktarının değişmesiyle emülsiyonda fikosiyaninin daha iyi kaplandığı mikroskop görüntüleri sonucunda belirlenmiştir. Bu sebeple %30 yağ içeren emülsiyonların hazırlanmasına karar verilmiştir.



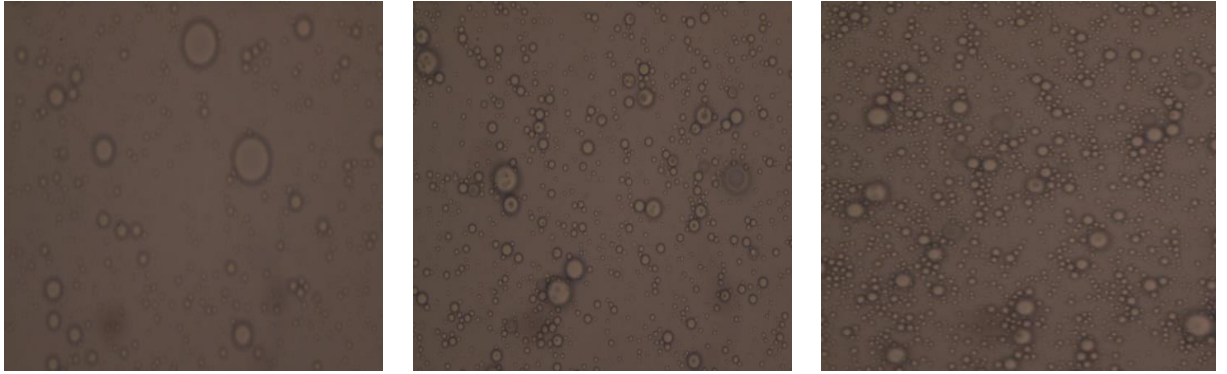
Şekil 4.9. %10 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri A₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı A₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; A₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı



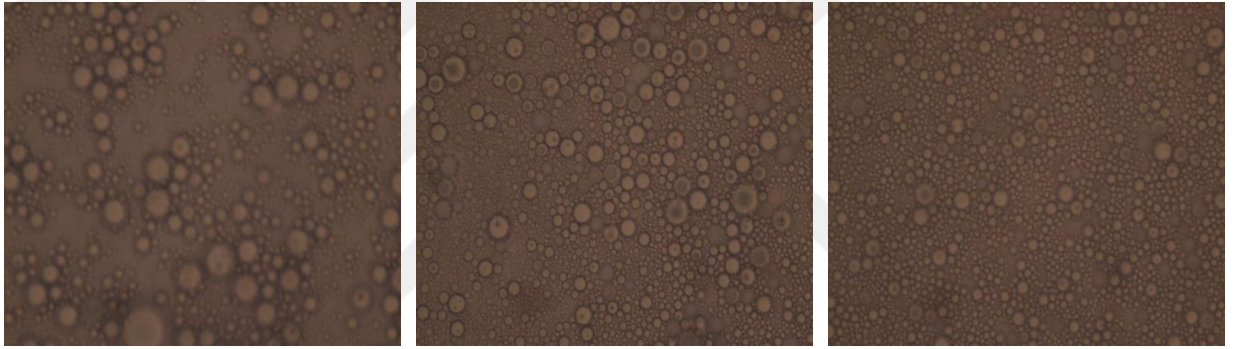
Şekil 4.10. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri B₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı; B₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; B₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı



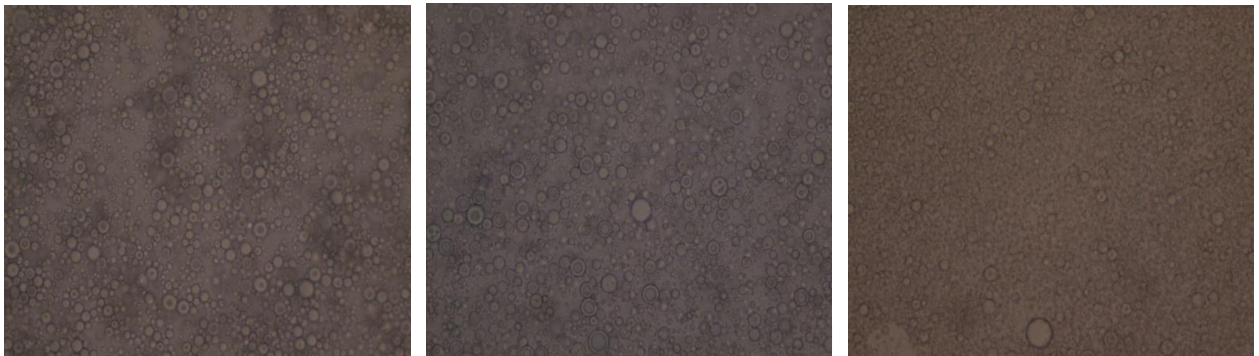
Şekil 4.11. %30 kuru madde ve bu kuru maddede %20 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri C₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı; C₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; C₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı

**1****2****3**

Şekil 4.12. %10 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri D₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı; D₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; D₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı

**1****2****3**

Şekil 4.13. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri E₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı; E₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; E₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı

**1****2****3**

Şekil 4.14. %30 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri F₁: 10000 dev/dak karıştırma hızı; F₂: 12500 dev/dak karıştırma hızı; F₃: 15000 dev/dak karıştırma hızı

Çizelge 4.23. Emülsiyon hazırlama değişkenleri ve kremleşme dereceleri (%).

Kaplama Materyali Çeşidi ve Oranı	Kuru madde miktarı (%)	Kuru madde içinde Yağ oranı (%)	Homojenizasyon Hızı (dev/dak)	Kremleşme Derecesi (%)
Maltodekstrin:Peynir altı suyu protein izolatu (50:50)	10	20	10000	59.05
	10	20	12500	55.56
	10	20	15000	72.38
	20	20	10000	31.75
	20	20	12500	0
	20	20	15000	0
	30	20	10000	0
	30	20	12500	0
	30	20	15000	0
	10	30	10000	73.33
	10	30	12500	78.41
	10	30	15000	74.60
	20	30	10000	33.33
	20	30	12500	0
	20	30	15000	0
	30	30	10000	0
	30	30	12500	20.63
	30	30	15000	26.03

Püskürtmeli kurutucuya beslenmeden önce farklı kaplama materyali oranlarına sahip emülsiyonların stabilitelerini belirlemek için zeta potansiyeli analiz edilmiştir. Zeta potansiyel, bir taneciğin bir dispersiyonda kazandığı net yük olarak ifade edilmektedir (Berg, 1992).

Zeta potansiyelin büyüklüğü, kolloidal sistemin kararlılığının bir göstergesidir. Tüm tanecikler çok büyük negatif ya da pozitif zeta potansiyele sahipse, tanecikler birbirini iterler ve dispersiyon kararlı olur. Tanecikler düşük zeta potansiyele sahipse taneciklerin bir araya toplanmasını engelleyecek kuvvet bulunmadığından dispersiyon kararsızlığı (topaklanma ve çökme) oluşur. Zeta potansiyelini etkileyen en önemli etmenlerden biri de pH değeridir.

Emülsiyonlarda zeta potansiyeli değeri düşük pH da pozitif ve yüksek pH da negatif değerler kazanır.

Çizelge 4.24 'de püskürtmeli kurutma işlemi için hazırlanan, farklı oranlarda kaplama materyali içeren emülsiyonların pH ve zeta potansiyeli değerleri verilmiştir. Emülsiyonların zeta potansiyeli değerlerinin birbirine yakın ve -7.47 ve -18.50 mV değerleri arasında değişim gösterdiği; pH değerlerinin de 6.82 ve 7.00 değer aralığında olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar arasında fark olup olmadığı test edilmiş ve tabloda gösterilmiştir.

Çizelge 4.24. Püskürtmeli kurutucuda kurutulmak üzere hazırlanan emülsiyonların pH ve zeta potansiyeli değerleri

Kaplama Materyali Çeşidi	Kaplama Materyali Oranı	pH	Zeta Potansiyeli (mV)
Maltodekstrin+Peynir altı suyu protein izolatı	100:0	6.82	-12.62 ^b ±0.47
	75:25	7.00	-18.50 ^c ±2.95
	50:50	6.95	-7.47 ^a ±0.75
	25:75	6.95	-12.07 ^b ±0.77
	0:100	6.94	-11.48 ^b ±1.65

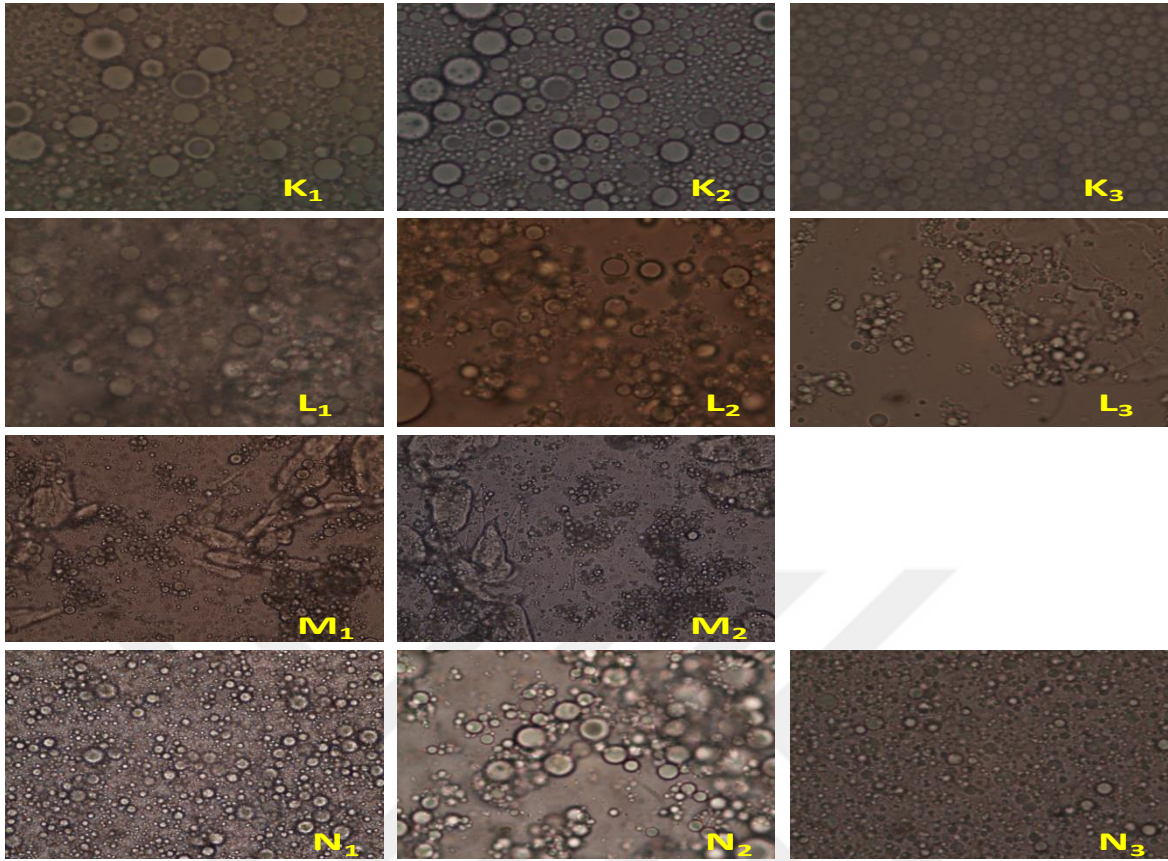
^{a,b,c} Farklı üst simgeler aynı sütundaki değerler arasındaki istatistiksel olarak önemli farklı göstermektedir (p<0.05).

Emülsiyonlarda +30 mV'dan daha pozitif ya da -30 mV'dan daha negatif zeta potansiyeli değerine sahip emülsiyonların yapısı kararsız olarak değerlendirilir. Yapılan çalışmalarda emülsiyonların içerdiği yüksek polimer konsantrasyonlarının çökelmeye sebep olduğu belirtilmektedir (Chun et al., 2014; Zhang, 2003). Bunun yanısıra uygulanan homojenizasyon hızının da emülsiyonun stabilitesi üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir. Kahve çekirdeklerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle farklı kaplama materyalleri kullanılarak mikroenkapsüle edildiği çalışmada, hazırlanan emülsiyonların zeta potansiyeli değerlerinin -13.3 ile -26.0 değerleri arasında olduğu belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutma işlemi hızlı ve sürekli bir kurutma yöntemi olduğu için emülsiyon stabitesinin bu kısa periyotta etkisinin belirlenen değer aralığında ihmal edilebilir düzeyde olduğu bulgulanmıştır (Silva et al., 2014).

4.3.1.2. Kaplama materyali tipinin seçilmesi

Kaplama materyallerinin tipinin belirlenmesinde püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon aşamasında karbonhidrat bazlı maltodekstrin (DE19-20) ve gam arabik; protein bazlı peynir altı suyu protein izolatu ve Na-kazeinat kombinasyonları denenmiştir. Püskürtmeli kurutma işlemi sabit koşullarda (hava giriş sıcaklığı: $180\pm 2^{\circ}\text{C}$, besleme debisi: 10 ml/dak, aspirasyon hızı: 400 L/dak, hava hızı: 40 L/dak) gerçekleştirilerek prosesden kaynaklanabilecek farklılıklar elimine edilmiştir.

Kaplama materyali seçimi ve kaplama materyalinin farklı oranlarının (1:1-1:2-2:1) incelenmesinde mikroskop görüntülerinde yağ damlacıkları ve damlacık boyutları gözlemlenmiştir. Emülsiyonların damlacık yapısını belirlemek amacıyla Trinoküler mikroskop (Olympus CX31) ve dijital fotoğraf makinesi (Olympus Digital SLR-E330) kullanılmıştır. Örnekler mikroskop altında 100 kat büyütülerek çekilmiştir. Yağ damlacıklarının etrafının kaplama materyali ile kaplanmış olması ve damlacık boyutlarının homojen olması istenilen enkapsüle yapının oluştuğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.15' de görüldüğü üzere Na-kazeinat kullanılarak hazırlanan emülsiyonların görüntüleri incelendiğinde floküle yapının oluştuğu gözlenmektedir.



Şekil 4.15. %20 kuru madde ve bu kuru maddede %30 yağ içeren emülsiyonların damlacık görüntüleri. K₁:MD+WPI (1:1), K₂:MD+WPI (1:2), K₃:MD+WPI (2:1), L₁:Gum Arabik+WPI (1:1), L₂:Gum Arabik+WPI (1:2), L₃:Gum Arabik+ WPI (2:1), M₁:Gum Arabik+ Na-kazeinat (1:1), M₂: Gum Arabik+ Na-kazeinat (1:2), N₁:MD+ Na-kazeinat (1:1), N₂: MD+ Na-kazeinat (1:2), N₃: MD+ Na-kazeinat (2:1)

Na-kazeinat kullanılarak hazırlanan emülsiyonların viskozitesinin yüksek olduğu gözlemlenmiş ve gum arabik kullanılarak hazırlanan örneklerin kurutma işleminde yapışma ve yanma sorununa sebep olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.25'de görüldüğü üzere Na-kazeinat+Maltodekstrin kullanılarak hazırlanan emülsiyonlarda mikroenkapsülasyon etkinliği düşük bulunmuş ve etkin kaplama sağlanamamıştır.

Çizelge 4.25'de peynir altı suyu protein izolatu ile hazırlanan emülsiyonlarda mikroenkapsülasyon etkinliğinin maltodekstrin ile hazırlanan örneklerde gum arabığe göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ölçülen L*, a* ve b* değerleri kullanılarak renk tonları belirlenmiştir (Anonim 2016c). Sonuçlara göre peynir altı suyu protein izolatu ile maltodekstrin ve gum arabik kullanılarak hazırlanan örneklerin renginin grimsi camgöbeği rengi tonunda olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.26). Ancak peynir altı suyu protein izolatu

ve gum arabik birleşmesi ile gum arabığın sarı rengi nedeniyle mikroenkapsüle ürünlerde yeşile dönük bir renk gözlemlenmiştir.

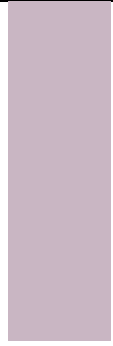
Renk maddesi eldesini amaçlayan fikosiyanın mikroenkapsülasyonu çalışmasında uygun kaplama materyali seçiminde krem şanti, krema ve şeker şurubu ile duyuusal değerlendirme de gerçekleştirilmiştir.

Tüm bu sonuçlara göre; örneklerin (peynir altı suyu protein izolatu+maltodekstrin ve peynir altı suyu protein izolatu+gum arabik) rengi görsel olarak değerlendirildiğinde daha iyi mavi rengi sağlayan, iyi bir kaplama oluşturan ve diğer fiziksel özellikleri de yeterli olan "maltodekstrin+peynir altı suyu protein izolatu" kaplama materyalleri optimizasyon denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Çizelge 4.25. Farklı kaplama materyalleri ve oranlarında püskürtmeli kurutma yöntemi ile hazırlanmış mikroenkapsüle örnekler

Kaplama Materyali Çeşidi	Kaplama Materyali Oranı	Nem Miktarı (%)	Su Aktivitesi (aw)	Çözünübilirlik (%)	Mikroenkapsülasyon etkinliği (%)
Maltodekstrin	1:1	2.99±0.15	0.24±0.04	79.52±2.53	74.30
+Peynir altı suyu protein izolatu	2:1	2.82±0.49	0.24±0.00	76.28±1.14	72.92
	1:2	2.81±0.31	0.27±0.03	72.42±3.56	74.26
Gum+Peynir altı suyu protein izolatu	1:1	3.28±0.15	0.25±0.00	67.92±0.96	87.24
	2:1	3.07±0.29	0.24±0.00	71.08±2.43	86.44
	1:2	3.20±0.11	0.27±0.01	72.18±3.40	91.50
Gum+Na-Kazeinat	1:1	3.81±0.41	0.31±0.01	62.66±2.62	71.93
	2:1	2.61±0.32	0.24±0.01	75.64±2.62	76.56
Maltodekstrin	1:1	3.96±0.03	0.38±0.01	75.42±3.61	30.81
+Na-Kazeinat	2:1	2.80±0.11	0.27±0.01	75.46±0.94	49.72
	1:2	3.55±0.16	0.34±0.02	62.11±1.49	65.94

Çizelge 4.26. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin renk özellikleri

Renk özellikleri	Maltodekstrin: Peynir altı suyu protein izolatu			Gum arabik: Peynir altı suyu protein izolatu			Gum arabik: Na-Kazeinat		Maltodekstrin: Na-Kazeinat		
	1:1	2:1	1:2	1:1	2:1	1:2	1:1	2:1	1:1	2:1	1:2
L	81.56±0.59	76.01±0.42	81.52±0.51	80.94±0.32	78.82±0.35	81.69±0.19	60.17±0.38	64.17±1.72	82.62±0.35	80.39±0.09	83.80±0.32
a	-5.22±0.13	-4.85±0.17	-5.14±0.09	-7.65±0.18	-7.93±0.14	-7.26±0.12	-5.46±0.49	-6.37±0.36	-4.67±0.10	-4.85±0.09	-4.88±0.05
b	-4.59±0.08	-6.42±0.30	-4.82±0.10	-1.39±0.07	-2.19±0.08	-0.78±0.35	0.03±1.09	0.32±0.81	-5.80±0.13	-4.93±0.15	-3.59±0.11
Renk ifadesi	Grimsi camgöbeği	Grimsi Pembe	Grimsi camgöbeği	Grimsi camgöbeği	Grimsi camgöbeği	Grimsi camgöbeği	Koyu grimsi camgöbeği	Koyu grimsi camgöbeği	Grimsi mavi	Grimsi mavi	Grimsi camgöbeği
											

4.3.1.3. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum işlem koşullarının belirlenmesi

Püskürtmeli kurutucuya beslenecek olan besleme karışımının içeriği ön denemeler sonucu belirlenmiş olup besleme karışımının kuru madde içeriği %20, ayçiçek yağı içeriği %30 (kuru temelde) ve fikosiyanin/kaplama materyali oranı 1:100 olacak şekilde belirlenmiştir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin (MD), peyniraltı suyu protein izolatu (WPI) kullanılmasına karar verilmiştir.

Besleme karışımının içeriğinin belirlenmesinin ardından D-optimal karışım dizaynı deneme desenine (Çizelge 3.3) göre fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonunda etkili bağımsız değişkenler olan kaplama materyali karışım oranları (maltodekstrin (MD, %), peyniraltı suyu protein izolatu (WPI, %)) ve hava giriş sıcaklığı (Ti, °C) etkisi incelenmiştir. Püskürtmeli kurutucu bağımsız işlem değişkenleri olan maltodekstrin oranı 0-100%, peyniraltı suyu protein izolatu oranı 0-100 %, hava giriş sıcaklığı 150-180°C arasında değişmektedir. Bağımsız değişkenlerin aralıkları ön deneme çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, bu bağımsız değişkenlerin, mikroenkapsülasyon etkinliği üzerine etkileri incelenmiştir. Farklı işlem koşullarında elde edilen örneklerde mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik değeri, partikül boyutu, partikül morfolojisi ve kaplama materyalleri ve fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için FTIR analizi uygulanmıştır.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına göre elde edilen deneysel yanıt mikroenkapsülasyon etkinliği (ME) (%) Çizelge 4.27'de verilmiştir.

Çizelge 4.27. D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Dn.No	MD (%)	WPI (%)	Hava Giriş	ME (%)
	X ₁	X ₂	Sıcaklığı (°C) X ₃	
1	100	0	150	82.00
2	100	0	180	76.83
3	0	100	150	81.29
4	0	100	180	81.87
5	75	25	157.5	86.74
6	25	75	172.5	86.11
7	100	0	157.5	84.99
8	0	100	157.5	85.74
9	75	25	150	83.26
10	75	25	180	82.86
11	75	25	172.5	85.03
12	25	75	157.5	85.10
13	100	0	172.5	81.80
14	0	100	172.5	85.16
15	25	75	150	81.39
16	25	75	180	84.37
17	50	50	165	87.93
18	100	0	165	84.38
19	0	100	165	86.51
20	75	25	165	85.13
21	25	75	165	86.16
22	100	0	150	82.22
23	0	100	150	82.48
24	100	0	180	76.67
25	0	100	180	80.31
26	75	25	150	84.30

Modelin oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için varyans analizi tablosu Ek 5'de verilmiştir (Ek Çizelge 5 (a)).

Ek Çizelge 5(a)'da verilen sonuçlara göre mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Bu yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Püskürtmeli kurutma işlem değişkenlerinin mikroenkapsülasyon etkinliği değeri üzerinde % 95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.28. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı üzerine lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

		ME (%)	
Varyasyon Kaynağı	SD	HKT	p- değeri
Model	8	183.29	<0.000*
Linear Mixture	1	11.90	0.000*
X ₁ X ₂	1	2.57	0.063
X ₁ X ₃	1	39.97	<0.000*
X ₂ X ₃	1	0.37	0.460
X ₁ X ₂ X ₃	1	11.55	0.001*
X ₁ X ₃ ²	1	33.39	<0.000*
X ₂ X ₃ ²	1	35.30	<0.000*
X ₁ X ₂ X ₃ ²	1	4.13	0.022*
Kalıntı	17	11.00	
Model uygunsuzluğu testi	12	8.50	0.369
Saf Hata	5	2.50	
Toplam	25	194.28	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, X₁ Maltodekstrin (%); X₂ Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (%); X₃ Hava giriş sıcaklığı (°C).

Çizelge 4.28'de görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer, interaksiyon ve quadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.29'da gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği F ve *p*-değerlerinden bulunmuştur. *p*-değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca, bu çizelgede kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır.

Çizelge 4.29 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	ME (%)
R²	0.9434
R²_{adj}	0.9168
C.V. %	0.96
PRESS	25.40
Yeterli Tahminleme	21.454

Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modelde varyasyon ($R^2 > 0.94$) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.29).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers ve Montgomery, 1995). Mikroenkapsülasyon etkinliği için R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Yanıtlar için varyasyon katsayısı değeri mikroenkapsülasyon etkinliği için 0.96 olarak bulunmuştur.

Myers and Montgomery (1995) yeterli tahminleme (adequate precision) ve PRESS istatistiklerinin daha sonra yapılacak gözlemlerin tahminlenmesi için kullanılabileceğini ve yeterli tahminleme (adequate precision) değerinin 4'ten büyük olması gerektiğini belirtmişlerdir. Tüm modeller için yeterli tahminleme (adequate precision) değeri 4'ten büyük bulunmuştur (Çizelge 4.29).

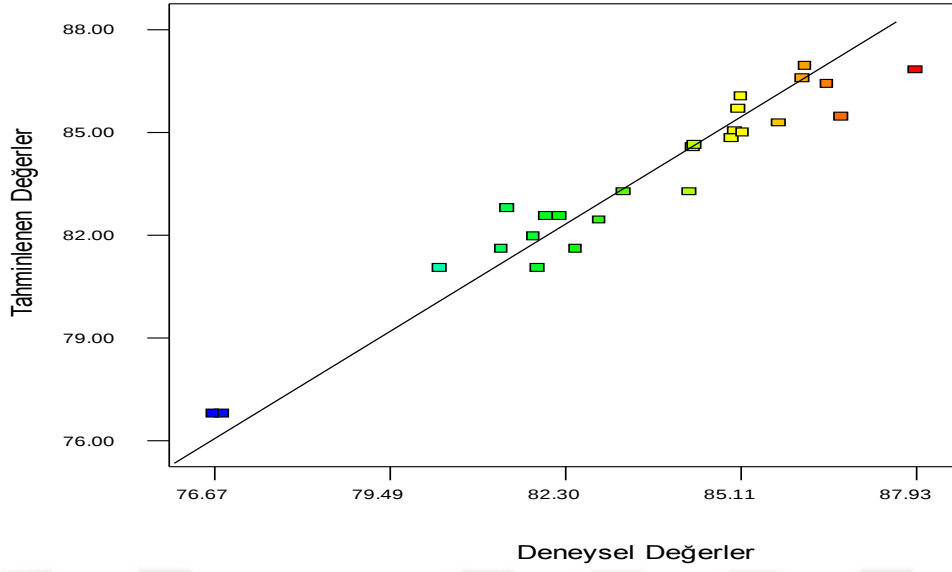
Model parametreleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak, bu parametrelerin ve modelin önemliliğinin test edilmesi ise varyans analizi kullanılarak yapılmıştır. Kalıntılar, rastgele hata teriminin davranışını yansıttığı için bu varsayımların test edilmesinde ve modelin uygunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalıntı analizi; kalıntıların normal olasılık grafiği, kalıntıların model tahminlerine karşı çizildiği grafik, kalıntıların deneme sırasına karşı çizildiği grafik gibi grafiksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için, Ek 6'da bulunan Ek Şekil 6 (a)'da normal olasılık grafiği, kalıntıya karşı model tahminleri grafiği ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerden bu varsayımların karşılandığı görülmektedir.

Mikroenkapsülasyon etkinliğinin modelin yanıtı olarak incelenmesi

Mikroenkapsülasyon etkinliği, kaplanan fikosiyanin ve serbest fikosiyanin miktarının da bir göstergesi olduğu için mikroenkapsülasyon işleminin başarısını gösteren en önemli parametredir. Mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri üzerine en etkili bağımsız değişkenlerin kaplama materyali oranları ve püskürtmeli kurutucuya giriş sıcaklığı olduğu bulgulanmıştır.

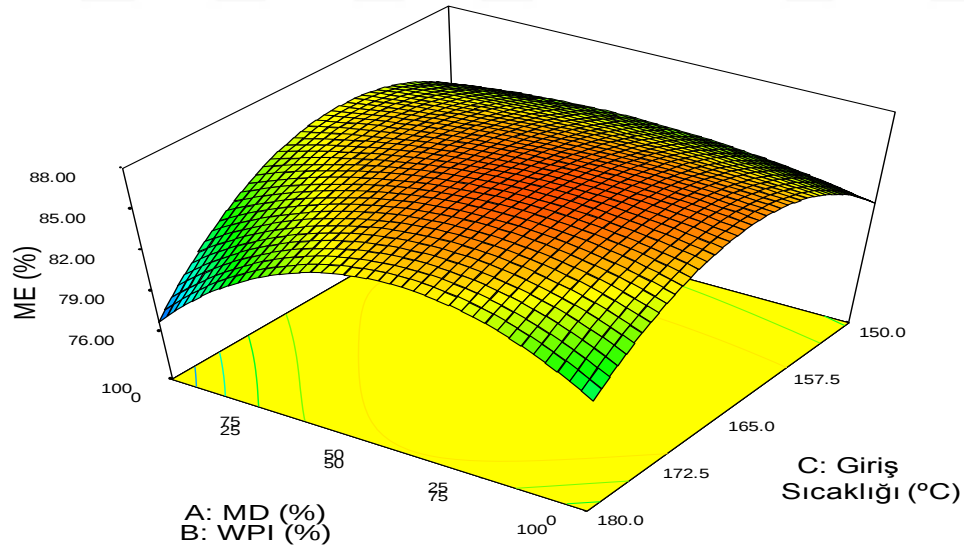
Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu ile elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri (ME) için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden polinomial model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik (4.4)'de verilmiştir. Eşitlik (4.4)'den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Mikroenkapsüle fikosiyaninin mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri (ME) için model tahminlerinin deneysel verilerle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır. Denklem sabitlerinde, X_1 maltodekstrin (%); X_2 peyniraltı suyu protein izolatu (%); X_3 hava giriş sıcaklığı (°C) değişkenlerini ifade etmektedir.

$$ME = 84.62X_1 + 86.41X_2 - 2.88X_1X_3 + 9.67X_1X_2X_3 - 4.96X_1X_3^2 - 5.10X_2X_3^2 + 9.57X_1X_2X_3^2 \quad (4.4)$$



Şekil 4.16. Mikroenkapsülasyon etkinliği için modelden (Eş.4.4) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler

Fikosiyanınin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda işlem değişkenlerinin mikroenkapsülasyon etkinliği üzerindeki etkisinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model (Eş. 4.4) kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri oluşturulmuş olup, Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Fikosiyanınin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda mikroenkapsülasyon etkinliği için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Şekil 4.17'den görülebileceği üzere fikosiyanınin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali oranının ve giriş sıcaklığının

mikroenkapsülasyon verimini etkilediği görülmektedir. Giriş sıcaklığının artmasıyla mikroenkapsülasyon veriminde artış gözlenmesine rağmen, en yüksek sıcaklık değerinde etkinlik değerinde azalma olduğu görülmektedir. Kullanılan kaplama materyallerinin mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtına etkisinde ise protein bazlı kaplama materyalinin etkinliğe olan etkisinin karbonhidrat bazlıdan daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra bu iki farklı materyalin birlikte ve hemen hemen eşit oranda kullanılmasının mikroenkapsülasyon etkinliğini arttırdığı da modelden açıkça görülmektedir.

Farklı işlem koşullarında üretilerek elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon etkinliğinin yanı sıra mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik değeri, partikül boyutu değerleri de Design-Expert paket programı kullanılarak, bağımsız değişkenlerin (maltodekstrin (MD, %), peyniraltı suyu protein izolatu (WPI, %) ve hava giriş sıcaklığı (Ti, °C)) etkilerini belirlemek amacıyla varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur.

4.3.1.4. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı

D-Optimal karışım dizayn deneme planı izlenerek elde edilen örneklerin başlangıç fikosiyanin ve mikroenkapsüle yapıdaki toplam fikosiyanin miktarları ile hesaplanan mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı Çizelge 4.30'da görülmektedir. Tüm denemelerden elde edilen ürünlerin mikroenkapsülasyon verimlerinin yüksek olduğu (>%76.36) görülmektedir.

Mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(a)'da verilmiştir. Ek Çizelge 5(a)'da verilen sonuçlara göre, mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Her bir yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir.

Püskürtmeli kurutucu işlem değişkenlerinin mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerin mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı değerlerinin üzerine işlem değişkenlerinin %95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.31'de verilmiştir. ANOVA analizine göre giriş sıcaklığının mikroenkapsülasyon verimi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu da açıkça görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarının karışım oranından, protein oranı ve sıcaklıktan ayrıca protein oranı ve sıcaklığın karesinden etkilendiği görülmektedir. Protein içeriğinin artmasıyla fenolik madde miktarının arttığı modelden görülmektedir.



Çizelge 4.30 Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı

Dn.No	MD (%) X₁	WPI (%) X₂	Hava Giriş Sıcaklığı (°C) X₃	Mikroenkapsülasyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit / g)
1	100	0	150	88.87	2.81
2	100	0	180	80.81	1.93
3	0	100	150	76.36	10.73
4	0	100	180	78.63	11.55
5	75	25	157.5	94.57	7.80
6	25	75	172.5	91.03	11.80
7	100	0	157.5	91.68	3.00
8	0	100	157.5	92.26	10.21
9	75	25	150	94.76	7.32
10	75	25	180	89.09	7.68
11	75	25	172.5	91.33	7.34
12	25	75	157.5	90.32	11.20
13	100	0	172.5	90.37	4.10
14	0	100	172.5	92.11	11.43
15	25	75	150	98.15	9.67
16	25	75	180	94.51	12.78
17	50	50	165	92.37	11.20
18	100	0	165	93.93	3.10
19	0	100	165	94.50	10.21
20	75	25	165	93.92	6.89
21	25	75	165	95.62	11.32
22	100	0	150	87.22	1.97
23	0	100	150	92.32	10.90
24	100	0	180	80.36	2.24
25	0	100	180	91.46	11.99
26	75	25	150	96.80	7.12

Çizelge 4.31. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

		Mikroenkapsülasyon Verimi (%)		Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit / g)	
Varyasyon Kaynağı	SD	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	8	538.58	0.005*	332.21	<0.000*
Linear Mixture	1	1.08	0.792	277.72	<0.000*
X ₁ X ₂	1	4.28	0.600	18.77	<0.000*
X ₁ X ₃	1	57.04	0.068	0.11	0.573
X ₂ X ₃	1	0.35	0.879	2.38	0.017*
X ₁ X ₂ X ₃	1	1.12	0.788	0.48	0.253
X ₁ X ₃ ²	1	136.82	0.008*	1.27	0.072
X ₂ X ₃ ²	1	113.57	0.014*	0.62	0.196
X ₁ X ₂ X ₃ ²	1	144.68	0.006*	1.396E-05	0.995
Kalıntı	17	254.75		5.85	
Model uygunsuzluğu testi	12	41.62	0.999	5.32	0.063
Saf Hata	5	213.13		0.53	
Toplam	25	783.34		338.06	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, X₁ Maltodekstrin (%); X₂ Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (%); X₃ Hava giriş sıcaklığı (°C).

4.3.1.5. Renk değerleri

Çizelge 3.3' de görülen D-optimal karışım dizayn deneme planı izlenerek elde edilen örneklerin Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerlerinin değişim aralıkları Çizelge 4.32'de görülmektedir.

Hunter L*, a* ve b* değerleri değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Hunter L*, a* ve b* değerleri yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(a)'da verilmiştir. Ek Çizelge 5(a)'da verilen sonuçlara göre, Hunter L*, a* ve b* değerleri için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Her bir yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir.

Püskürtmeli kurutucu işlem değişkenlerinin Hunter L*, a* ve b* değerleri üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. Toz örneklerin Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerlerinin üzerine işlem değişkenlerinin %95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.33'de verilmiştir. ANOVA analizine göre Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerleri üzerine püskürtmeli kurutma işlem koşullarının etkisi seçilen modele uyum göstermektedir ($p < 0.05$). Hunter -b değerinin değişimi seçilen quadratik model ile anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde açıklanabilmektedir. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen ürünlerde renk değerleri içerisinde dikkat edilmesi gereken kriter de mavilik indeksini gösteren Hunter -b değeridir. Örneklerin mavilik indeksi karışım oranından ve hava giriş sıcaklığından önemli seviyede ($p < 0.05$) etkilenmektedir. Özellikle karışımındaki maltodekstrin oranının artmasıyla Hunter -b değeri doğrusal bir azalış göstermekte mavi renk belirginleşmektedir.

Çizelge 4.32. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin L*, a* , b*, Hue ve Chroma değerleri.

Dn.No	L*	a*	b*	Hue	Chroma
1	70.28±0.41	-5.53±0.03	-18.00±0.20	359.35	18.00
2	73.11±0.43	-5.74±0.05	-15.26±0.16	359.41	15.26
3	79.27±0.36	-5.93±0.09	-5.61±0.07	359.29	5.61
4	82.38±0.14	-4.82±0.03	-3.22±0.04	359.29	3.22
5	77.10±0.20	-5.95±0.04	-11.27±0.14	359.31	11.27
6	81.38±0.38	-6.23±0.06	-3.46±0.05	359.13	3.46
7	74.95±0.18	-4.60±0.05	-15.69±0.08	359.70	15.69
8	81.43±0.72	-4.97±0.10	-4.26±0.10	358.62	4.26
9	77.19±0.33	-5.78±0.04	-12.28±0.11	359.50	12.28
10	77.82±0.61	-5.76±0.08	-6.81±0.20	358.35	6.82
11	77.65±0.13	-6.42±0.04	-9.23±0.15	359.09	9.23
12	79.14±0.30	-6.32±0.10	-6.58±0.14	358.75	6.58
13	72.97±0.54	-4.55±0.11	-14.49±0.22	359.14	14.49
14	79.99±0.20	-4.66±0.04	-4.29±0.11	358.50	4.29
15	81.34±0.70	-5.89±0.13	-5.95±0.20	358.08	5.95
16	82.63±0.69	-5.36±0.15	-2.14±0.12	356.77	2.14
17	79.21±0.18	-5.44±0.10	-5.79±0.12	358.79	5.79
18	71.51±0.42	-4.64±0.09	-14.79±0.25	359.02	14.79
19	81.26±0.58	-4.94±0.06	-2.45±0.22	354.93	2.46
20	76.01±0.51	-5.51±0.03	-10.35±0.15	359.18	10.35
21	81.63±0.29	-6.05±0.03	-5.04±0.09	358.93	5.04
22	73.88±0.34	-4.54±0.07	-15.18±0.08	359.70	15.18
23	82.99±0.15	-5.13±0.03	-3.05±0.04	359.34	3.05
24	73.57±0.58	-3.98±0.05	-13.37±0.17	359.27	13.37
25	84.40±0.60	-4.28±0.06	-2.08±0.06	358.26	2.08
26	76.14±0.35	-4.81±0.04	-12.08±0.06	359.73	12.08

Çizelge 4.33. Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değeri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	L*		a*		b*		Hue		Chroma	
		HKT	p-değeri	HKT	p-değeri	HKT	p-değeri	HKT	p-değeri	HKT	p-değeri
Model	8	347.77	<0.000*	6.97	0.022*	632.47	<0.000*	7.00	0.009*	632.34	<0.000*
Linear	1	314.66	<0.000*	0.15	0.463	561.67	<0.000*	2.58	0.003*	561.56	<0.000*
Mixture											
X ₁ X ₂	1	8.81	0.042*	3.37	0.003*	9.07	0.005*	0.27	0.287	9.09	0.005*
X ₁ X ₃	1	0.50	0.606	6.688E-03	0.878	6.57	0.015*	0.17	0.393	6.56	0.015*
X ₂ X ₃	1	3.60	0.178	1.29	0.045*	2.51	0.113	0.22	0.339	2.51	0.113
X ₁ X ₂ X ₃	1	0.10	0.817	0.38	0.253	6.86	0.013*	0.55	0.138	6.85	0.013*
X ₁ X ₃ ²	1	0.027	0.904	0.16	0.452	0.37	0.530	0.27	0.292	0.37	0.531
X ₂ X ₃ ²	1	2.93	0.222	0.015	0.816	0.011	0.914	0.43	0.184	0.012	0.909
X ₁ X ₂ X ₃ ²	1	0.094	0.823	0.26	0.343	0.92	0.326	1.86	0.010*	0.91	0.328
Kalıntı	17	31.01		4.67		15.28		3.83		15.26	
Model	12	14.90	0.918	1.69	0.981	5.60	0.980	3.19	0.215	5.58	0.980
uygunsuzluğu testi											
Saf Hata	5	16.10		2.98		9.68		0.64		9.69	
Toplam	25	378.78		11.64		647.75		10.83		647.60	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, X₁ Maltodekstrin (%); X₂ Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (%); ,X₃ Hava giriş sıcaklığı (°C).

4.3.1.6. Nem içeriği, su aktivitesi ve çözünebilirlik değeri

D-Optimal karışım dizaynı deneme planına (Çizelge 3.3) göre gerçekleştirilen 26 üretim sonucunda elde edilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin nem içerikleri (% yaş temel), su aktivite değeri (a_w) ve çözünebilirlik (%) değeri Çizelge 4.34'te görölmektedir.

Nem içerikleri (% yaş temel), su aktivite değeri (a_w) ve çözünebilirlik (%) değeri değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değeri analiz edilmiştir. Nem içerikleri (% yaş temel), su aktivite değeri (a_w) ve çözünebilirlik (%) değeri yanıt için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(a)'da verilmiştir. Ek Çizelge 5(a)'da verilen sonuçlara göre, nem içerikleri (% yaş temel) için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Nem içerikleri yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir.

Püskürtmeli kurutucuda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin ortalama nem içerikleri yaklaşık olarak %1.83 ile %3.18, su aktivitesi değeri 0.15 ile 0.24 ve çözünebilirlik değeri ise %65.7 ile 79.4 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.34. Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerinin ortalama nem içeriği, su aktivitesi ve çözünübilirlik değerleri

Dn.No	MD (%) X ₁	WPI (%) X ₂	Hava Giriş Sıcaklığı (°C) X ₃	Nem (%) yaş temel)	Su aktivitesi (aw)	Çözünübilirlik (%)
1	100	0	150	2.20±0.17	0.20±0.01	70.56±0.64
2	100	0	180	1.95±0.12	0.18±0.00	65.74±1.90
3	0	100	150	2.69±0.12	0.20±0.01	71.77±4.00
4	0	100	180	2.59±0.04	0.15±0.05	75.87±1.05
5	75	25	157.5	2.56±0.09	0.21±0.01	71.25±0.74
6	25	75	172.5	2.76±0.15	0.21±0.01	71.27±0.30
7	100	0	157.5	2.62±0.22	0.19±0.00	71.35±1.15
8	0	100	157.5	3.18±0.19	0.22±0.00	78.49±1.71
9	75	25	150	2.28±0.11	0.19±0.00	72.42±2.88
10	75	25	180	2.44±0.09	0.22±0.00	76.33±1.67
11	75	25	172.5	2.40±0.01	0.18±0.00	76.95±4.35
12	25	75	157.5	2.64±0.06	0.19±0.00	74.54±3.99
13	100	0	172.5	2.35±0.06	0.20±0.01	72.92±2.43
14	0	100	172.5	2.20±0.14	0.17±0.01	76.07±0.75
15	25	75	150	3.10±0.23	0.24±0.00	73.83±1.80
16	25	75	180	2.81±0.13	0.22±0.02	72.53±0.51
17	50	50	165	2.60±0.14	0.23±0.02	73.75±2.75
18	100	0	165	2.10±0.29	0.18±0.01	69.95±4.36
19	0	100	165	2.48±0.21	0.19±0.02	79.37±3.76
20	75	25	165	1.83±0.08	0.17±0.01	77.62±4.52
21	25	75	165	2.80±0.09	0.22±0.01	75.71±2.12
22	100	0	150	1.94±0.03	0.17±0.00	70.12±1.51
23	0	100	150	2.82±0.16	0.20±0.01	72.97±5.55
24	100	0	180	1.80±0.12	0.17±0.01	74.08±1.99
25	0	100	180	2.62±0.19	0.18±0.01	72.15±1.48
26	75	25	150	2.21±0.09	0.16±0.01	77.08±0.11

Fikosiyanın püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin nem içeriğinin püskürtmeli kurutma işlem koşullarından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için Design-Expert paket programı kullanılarak gerçekleştirilen ANOVA analizine (Çizelge 4.35) göre model uyumu görülmekte ve karışım oranından etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$). Örneklerinin su aktivitesi ve çözünübilirlik değerleri ise model uyumu göstermemektedir. Peyniraltı suyu protein izolatu ve giriş sıcaklığından su aktivitesinin etkilendiği, sıcaklığın artmasıyla su aktivitesinin azaldığı görülmektedir.

Su birçok gıda maddesinin ana komponentidir ve birçok kalite karakteristiği üzerinde önemli etkiye sahiptir. Gıda materyallerindeki bozunma reaksiyonlarında önemli rol oynayan suyun etki mekanizması, genellikle gıdanın su içeriği ile değil, su aktivitesi (a_w) ile karakterize edilir. Gıdanın yapısında meydana gelen enzimatik reaksiyonlar, enzimatik olmayan esmerleşme ve mikrobiyal aktivite ürünün su aktivitesi ile ilişkilidir (Labuza, 1985). Gıdaların su aktivitesi içeriğinin 0.2'den büyük olmasıyla enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları hızlanmaktadır. Toz gıdalarda nem içeriği ürünün akabilirliğini de önemli derecede etkilediğinden (Sims, 1989) dolayı oldukça önemlidir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fikosiyanın örneklerinin nem içeriği ve su aktivitesi değerleri toz ürün olarak kullanıma uygundur ve buna bağlı bozulmalara dayanıklı olduğu su aktivitesi değerlerine göre değerlendirilebilir.

Çizelge 4.35. Nem içeriği, su aktivitesi ve çözünübilirlik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

		Nem (%)		Su Aktivitesi (aw)		Çözünübilirlik (%)	
Varyasyon Kaynağı	SD	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	8	2.09	0.0116*	5.849E-03	0.1927	98.83	0.2412
Linear	1	1.52	0.0002*	4.868E-04	0.3141	43.16	0.0371*
Mixture							
X ₁ X ₂	1	1.134E-04	0.9686	1.793E-04	0.5373	1.10	0.7219
X ₁ X ₃	1	0.044	0.4433	5.283E-06	0.9152	0.50	0.8107
X ₂ X ₃	1	0.19	0.1244	2.495E-03	0.0312*	0.072	0.9272
X ₁ X ₂ X ₃	1	0.084	0.2925	1.543E-03	0.0823	0.060	0.9339
X ₁ X ₃ ²	1	0.15	0.1706	1.088E-04	0.6301	4.62	0.4693
X ₂ X ₃ ²	1	3.91E-03	0.8176	2.209E-04	0.4941	37.95	0.0489*
X ₁ X ₂ X ₃ ²	1	0.097	0.2598	3.975E-04	0.3617	13.92	0.2161
Kalıntı	17	1.21		7.691E-03		143.37	
Model uygunsuzluğu testi	12	1.15	0.0143	5.970E-03	0.3607	90.03	0.7151
Saf Hata	5	0.057		1.721E-03		53.35	
Toplam	25	3.30		0.014		242.20	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, X₁ Maltodekstrin (%); X₂ Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (%); ,X₃ Hava giriş sıcaklığı (°C).

4.3.1.7. Partikül boyut dağılımı

D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin partikül boyut dağılım $D[4,3]$ (μm), açıklık ve tekdüzelik değerleri LLD (Laser Light Diffraction) cihazında, çözgen olarak 2-propanol kullanılarak (Malvern Mastersizer Model 2000) ölçülmüştür. Örneklerin partikül boyutu, $D[4,3]$ (μm) değeri 8.78-19.44 μm arasında değişmektedir (Çizelge 4.36).

Partikül boyut dağılım $D[4,3]$ (μm), açıklık ve tekdüzelik değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Partikül boyut dağılım $D[4,3]$ (μm), açıklık ve tekdüzelik değerleri yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(a)'da verilmiştir. Ek Çizelge 5(a)'da verilen sonuçlara göre, partikül boyut dağılım $D[4,3]$ (μm), açıklık ve tekdüzelik değerleri için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Her bir yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir.

Çizelge 4.36. Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin ortalama partikül büyüklüğü (D[4,3]), açıklık ve tekdüzellik değerleri.

Dn.No	MD (%) X ₁	WPI (%) X ₂	Hava Giriş Sıcaklığı (°C) X ₃	D[4,3], (µm)	Açıklık	Tekdüzelik
1	100	0	150	19.44±1.08	4.82±0.84	1.91±0.12
2	100	0	180	8.88±0.51	2.19±0.02	0.80±0.08
3	0	100	150	10.89±0.05	2.35±0.02	0.77±0.07
4	0	100	180	11.49±0.17	2.15±0.03	0.75±0.10
5	75	25	157.5	13.94±0.10	2.09±0.02	1.03±0.01
6	25	75	172.5	10.78±0.09	1.93±0.12	0.60±0.01
7	100	0	157.5	18.92±0.13	6.05±0.09	1.78±0.07
8	0	100	157.5	11.65±0.51	2.27±0.09	0.90±0.07
9	75	25	150	14.40±0.40	2.23±0.15	0.93±0.01
10	75	25	180	10.51±1.70	2.13±0.02	0.71±0.01
11	75	25	172.5	13.98±1.48	2.79±0.03	1.06±0.01
12	25	75	157.5	17.49±0.05	2.37±0.01	1.00±0.01
13	100	0	172.5	17.46±0.02	4.77±0.03	1.49±0.06
14	0	100	172.5	10.69±0.06	2.29±0.09	0.76±0.05
15	25	75	150	13.75±0.06	2.04±0.06	0.81±0.04
16	25	75	180	12.88±0.35	1.87±0.15	0.67±0.01
17	50	50	165	13.08±0.32	2.05±0.04	0.85±0.00
18	100	0	165	17.23±0.59	5.30±0.03	1.68±0.02
19	0	100	165	11.42±0.40	2.40±0.02	0.90±0.01
20	75	25	165	10.79±0.98	2.18±0.03	0.83±0.04
21	25	75	165	11.87±0.89	1.95±0.02	0.70±0.04
22	100	0	150	16.79±0.89	4.88±0.06	1.59±0.10
23	0	100	150	11.75±0.39	2.45±0.01	0.92±0.09
24	100	0	180	13.82±1.31	3.13±0.04	1.15±0.09
25	0	100	180	11.27±1.18	2.26±0.08	0.79±0.04
26	75	25	150	11.73±0.84	2.24±0.02	0.94±0.14

Püskürtmeli kurutucu işlem değişkenlerinin mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin D[4,3] (μm), açıklık, tekdüzellik ve partikül yoğunluğu değerleri üzerine etkisi Design-Expert paket programında varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. Toz örneklerin partikül boyut özellikleri ve partikül yoğunluğu üzerine püskürtmeli kurutma işlem değişkenlerinin %95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.37'da görülmektedir.

Çizelge 4.37. Partikül büyüklüğü (D[4,3]), açıklık ve tekdüzellik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	D[4,3], (μm)		Açıklık		Tekdüzellik	
		HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	8	120.12	0.0303*	32.92	<0.0001*	2.94	<0.0001*
Linear	1	57.34	0.0039*	14.01	<0.0001*	1.47	<0.0001*
Mixture							
$X_1 X_2$	1	6.68	0.2704	7.31	<0.0001*	0.39	0.0007*
$X_1 X_3$	1	38.38	0.0143*	4.92	0.0003*	0.58	0.0001*
$X_2 X_3$	1	0.89	0.6824	0.18	0.3962	0.031	0.2581
$X_1 X_2 X_3$	1	1.25	0.6286	1.39	0.0272*	0.055	0.1405
$X_1 X_3^2$	1	13.00	0.1305	3.61	0.0012*	0.14	0.0252
$X_2 X_3^2$	1	0.088	0.8976	0.065	0.6084	6.40E-03	0.6039
$X_1 X_2 X_3^2$	1	1.03	0.6603	0.48	0.1737	4.56E-03	0.6610
Kalıntı	17	87.54		3.60		0.39	
Model	12	67.84	0.3640	0.45	0.0969	0.26	0.6070
uygunsuzluğu testi							
Saf Hata	5	19.70		36.98		0.13	
Toplam	25	207.66				3.33	

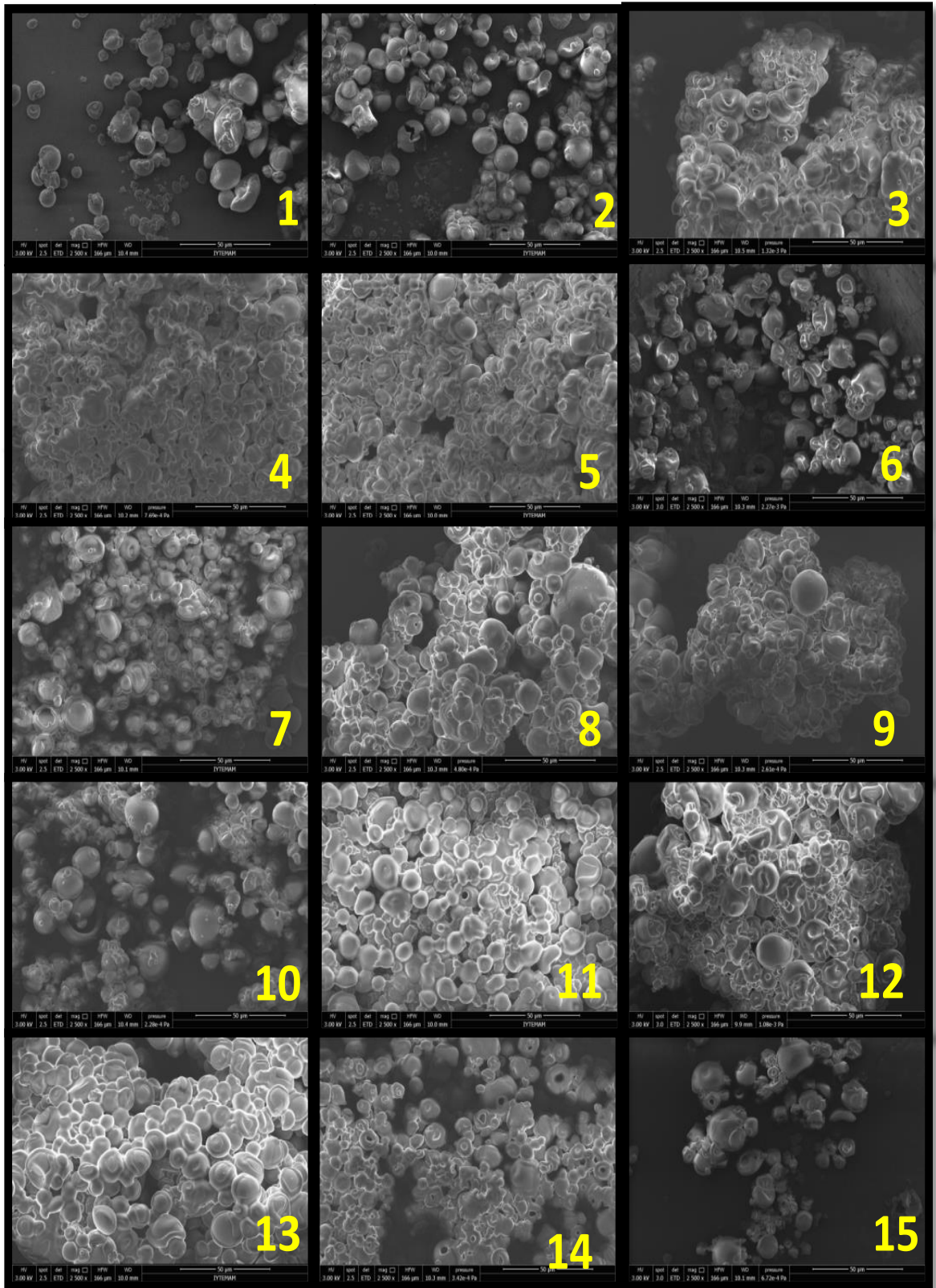
*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, X_1 Maltodekstrin (%); X_2 Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (%); X_3 Hava giriş sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$).

Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin D[4,3], açıklık ve tekdüzelik değerlerinin değişimi quadratik modele istatistiksel olarak uyum ($p<0.05$) göstermektedir. Örneklerin D[4,3], açıklık ve tekdüzelik değerleri karışım oranından, karbonhidrat miktarı ve hava giriş sıcaklığının birlikte etkisinden önemli derecede ($p<0.05$) etkilenmektedir. Açıklık değeri bunun yanısıra tüm bağımsız değişkenlerin değişimden de önemli ölçüde etkilenmektedir. Hava giriş sıcaklığının yükselmesiyle partiküllerin yüzeyi hızlıca sertleşmekte ve oluşan kabuk nedeniyle nem istenilen düzeyde uzaklaşamamaktadır. Kurutma işlemi sonrasında yapıdaki nem yüzeye transfer olarak partiküllerin birbirlerine yapışmasına ve partikül boyutunun D[4,3] yükselmesine neden olmaktadır. Chegini and Ghobadian (2005) portakal suyunun püskürtmeli kurutma yöntemi ile toz forma dönüştürülmesi esnasında hava giriş sıcaklığının yükselmesinin örneklerin partikül boyutunu yükselttiğini bildirmişlerdir.

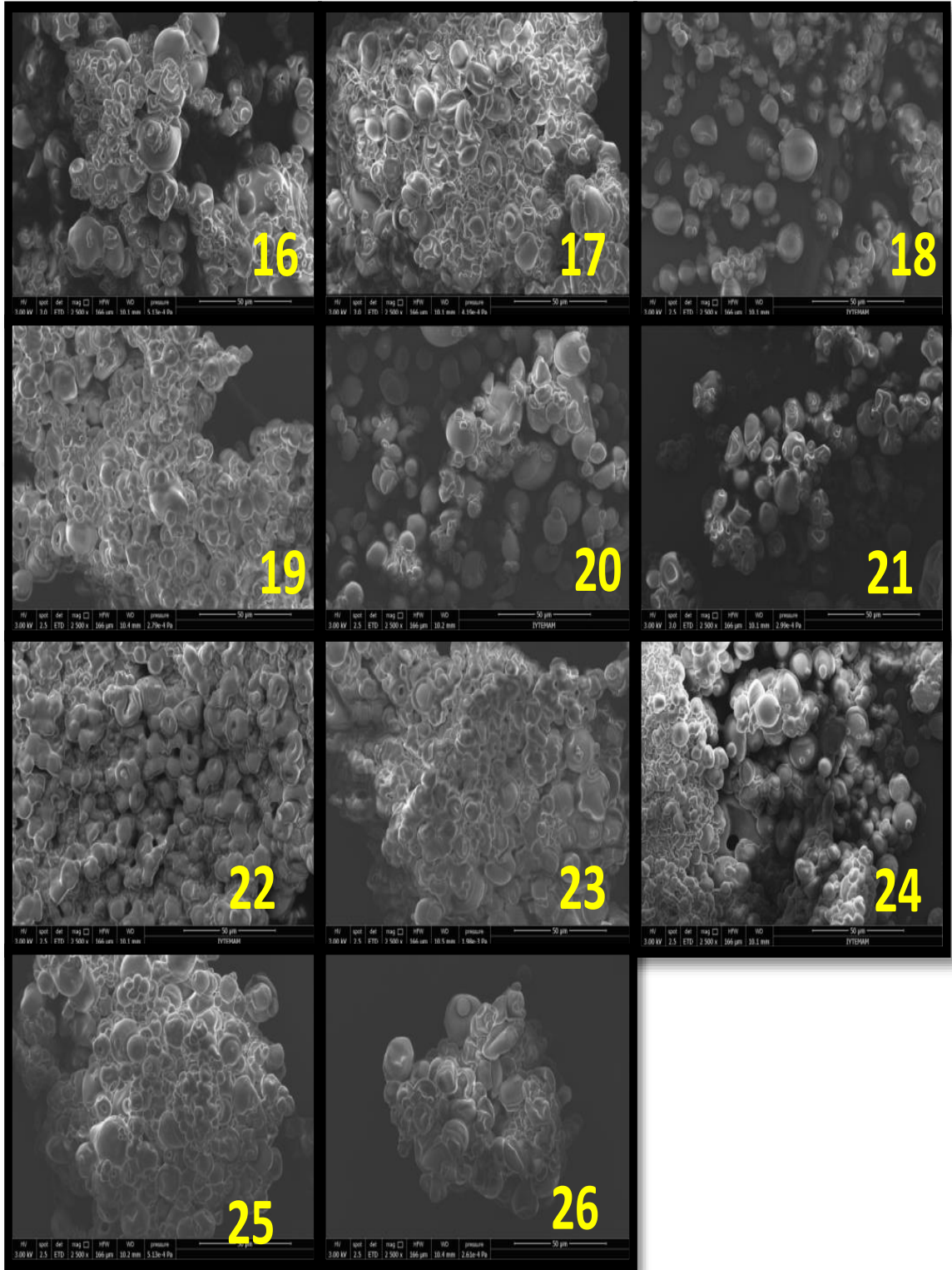
4.3.1.8. Partikül morfolojisi

D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.18 ve 4.19'da gösterilmektedir. Partiküllerin yapısı ve gözenekliliği, kurutma hızı, kurutucu hava giriş sıcaklığı ve hava çıkış sıcaklığı (Anker and Reineccius, 1988) ve atomizasyon basıncı gibi kurutma sırasında su tutma kapasitesini belirleyen parametrelerden biridir (Kneifel and Seiler, 1993). Ayrıca elde edilen toz ürünün akabilirlik ve ıslanabilirlik değerleri toz partiküllerin yüzey yapısından etkilenmektedir (Peleg and Mannheim, 1973; Rosenberg and Young, 1993).

Farklı püskürtmeli kurutma işlem koşullarında üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin SEM görüntüleri incelendiğinde pürüzsüz, küresel, yüzey girinti ve çıkıntısız ve boyutun heterojen olduğu görülmektedir. Püskürtülerek kurutulmuş partiküllerin bombeli yüzey yapısı kurutma sırasında partiküllerin büzüşmesinden kaynaklanmaktadır (Rosenberg et al., 1990). Maltodekstrin ile kaplanan ürünlerin (1, 2, 7, 13, 18, 21, 24) SEM görüntüleri incelendiğinde pürüzsüz küresel yapılar, daha az bombeli yüzey ve boyutun heterojen olduğu görülmektedir. Lokuşan (2007), β -karoteni maltodekstrin ile kapladığı çalışmada SEM görüntülerinde elde ettiği pürüzsüz yapının düşük molekül ağırlıklı şeker içeriğinin fazla olmasından kaynaklandığını belirtmiştir. Bu düşük molekül ağırlıklı şekerlerin kurutma sırasında yüzeyin büzüşmesini önleyen plastikleştirici olarak hareket ettiğini belirtmiştir.



Şekil 4.18 D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerine ait SEM görüntüleri



Şekil 4.19 D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerine ait SEM görüntüleri (devam)

4.3.1.9. FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy) analizi

FT-IR spektroskopisi analizinde D-Optimal karışım dizaynı deneme planında kullanılan farklı oranlardaki kaplama materyallerinin ve sıcaklığın etkisi incelenmiştir. Ek 7'de bulunan Ek Şekil 7(a)'da D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin, mikroenkapsülasyon işleminde kullanılan maltodekstrin, peyniraltı suyu protein izolatu, yağ ve saflaştırılmış fikosiyaninin FT-IR spektroskopi grafiği verilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işleminin asıl hedeflerinden olan çekirdek materyalinin kaplama materyalleriyle olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde çekirdek materyali olan saflaştırılmış fikosiyaninin karakteristik spektrumu Ek Şekil 7(a)'da verilmiştir. Fikosiyanine ait 1600 cm^{-1} dalga boyunda pik gözlemlenmiştir. Bu belirgin yapıya enkapsülasyon işlemi sonucunda elde edilen ürünlerde rastlanmamış olması kaplama materyallerinin istenilen kaplamayı sağladığını ifade etmektedir.

Kaplama materyalinin FT-IR spekturumunu etkilediği de sonuçlardan açıkça görülmektedir. Miktarı daha fazla olan kaplama materyaline ait belirgin bağların enkapsüle üründe de olduğu belirlenmiştir. Toz ürünler için önemli olan nem içeriği 3600 cm^{-1} dalga boyundaki pikin büyüklüğü ile de ifade edilmektedir bu bağ O-H bağına temsil etmektedir.

Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulanması

Fikosiyaninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda işlem koşulları olarak seçilen kaplama materyali karışım oranı ve hava giriş sıcaklığı maksimum mikroenkapsülasyon etkinliğini sağlayacak şekilde desirability fonksiyonu yaklaşımı ve izohips eğrilerinin üst üste yerleştirilmesi (superimposing) yöntemleri kullanılarak optimize edilmiştir. D-optimal karışım dizaynı deneme desenine göre üretilen örneklerin diğer özellikleri ise optimizasyon çalışmasına katılmamıştır.

Optimizasyon çalışmasında püskürtmeli kurutucu işlem değişkenleri olan kaplama materyali karışım oranında maltodekstrin (MD) %0-100 peyniraltı suyu protein izolatu (WPI) % 0-100) ve hava giriş sıcaklığının $150-180^{\circ}\text{C}$ aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmıştır. Çizelge 4.38'de desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum

nokta için tek çözüm görülmektedir. Optimum nokta %34.4 maltodekstrin (MD), %65.6 peyniraltı suyu protein izolatu (WPI) ve 167.6 °C olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.38. Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

Çözüm sayısı	Maltodekstrin (MD) (%)	Peyniraltı Suyu Protein İzolatı (WPI) (%)	Giriş sıcaklığı (°C)	Mikroenkapsülasyon Etkinliği (ME) (%)	Desirability
<u>1</u>	<u>34.4</u>	<u>65.6</u>	<u>167.6</u>	<u>87.05</u>	<u>0.922</u>

Optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, %34.4 maltodekstrin (MD), %65.6 peyniraltı suyu protein izolatu (WPI) karışım oranı ve 167.6°C hava giriş sıcaklığı belirlenen matematiksel optimum noktada gerçekleştirilmiştir. Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahmin edilen değerler Çizelge 4.39'da görülmektedir.

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t* - testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t* – testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t* – testi sonuçları Çizelge 4.40'da görülmektedir.

Çizelge 4.39 Optimum nokta doğrulama denemeleri mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı sonucu

Dn.No	Mikroenkapsülasyon Etkinliği (%)
1	85.72
2	86.16
3	88.99
4	87.55
5	87.11
Ortalama	87.11
Modelden Tahminlenen	87.05

Çizelge 4.40 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer ^a	SH ^b	Fark	% Hata ^c	p-değeri
Mikroenkapsülasyon Etkinliği (%)	87.05	87.11	0.572	0.058	0.066	0.929

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir, b Ortalama standart hata, c % Hata = $(|y_{den} - y_{tah}| / y_{den}) * 100$

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen örneklerin analiz sonuçlarına göre mikroenkapsülasyon etkinliği değeri ile modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ($p>0.05$).

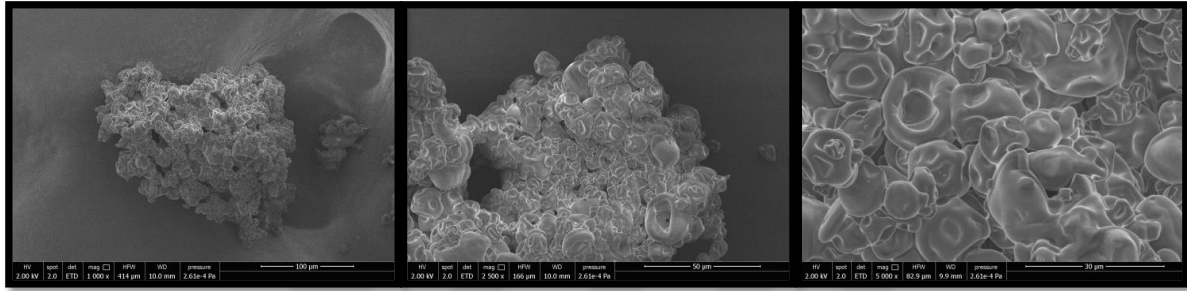
Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin optimizasyonu yanıtı haricindeki mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük değerleri ve renk değerleri sonuçların ortalaması Çizelge 4.41-4.42'de görülmektedir. Örneklerin parikül morfolojisine ait görüntüler Şekil 4.20'de, kaplama materyali ile mikroenkapsüle ürün arasındaki ilişkiyi gösteren FT-IR spektrumu da Ek 7'de bulunan Ek Şekil 7(b)'de verilmiştir.

Çizelge 4.41. Optimum nokta doğrulama denemeleri mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, nem, su aktivitesi ve çözünürlük değerleri

Dn.No	Mikroenkapsülasyon Verimi (%)	Toplam Madde (mg gallik asit/ g)	Fenolik Miktarı	Nem (%)	Su aktivitesi (aw)	Çözünürlük (%)
1	82.01	12.30		2.43	0.18	73.90
2	73.22	10.36		2.57	0.18	75.07
3	95.25	12.38		2.43	0.18	76.59
4	90.08	12.85		2.22	0.17	78.04
5	82.12	12.81		2.10	0.18	77.52
Ortalama	84.54	12.14		2.35	0.18	76.22

Çizelge 4.42. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerleri

Dn.No	L*	a*	b*	Hue	Chroma
1	79.64	-6.53	-5.11	358.82	5.11
2	80.02	-6.50	-5.11	359.04	5.11
3	79.45	-6.42	-5.03	359.78	5.03
4	78.35	-7.52	-6.13	352.81	6.18
5	79.39	-6.48	-5.09	341.40	5.37
Ortalama	79.37	-6.69	-5.29	354.37	5.36



Şekil 4.20. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin partikül morfolojisi görüntüleri

4.3.2. Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon

4.3.2.1. Fikosiyanin emülsiyonunun hazırlanması

Fikosiyaninin su içerisinde çözünmesinden dolayı koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde saf fikosiyanin emülsiyon hazırlama aşamasında belirtilen koşullarda çift katmanlı emülsiyon (doublelayer emulsion) olarak hazırlanmıştır. Emülsiyon hazırlama koşullarının belirlenmesinde farklı fikosiyanin/ kaplama oranları (1:50, 1:100, 1:250, 1:500) denemeleri gerçekleştirilerek emülsiyonda istenilen rengin elde edilmesi ve kullanılan fikosiyaninin miktarı dikkate alınmıştır. Emülsiyon hazırlamada kullanılan toz fikosiyanin yağ ile homojenizasyon aşamasında bir miktar suda çözündürülmektedir; yığın yoğunluğu düşük olan fikosiyanin tozlarını çözündürmek için kullanılan su, yağ ile emülsiyon oluşumunda fazla olduğu taktirde sorun yaratmaktadır. Bu sebeple en yoğun rengi veren ve kullanılan yağın %10 undan az su kullanılarak çözündürülebilen fikosiyanin miktarı dikkate alınmıştır. 1:100 oranı ile elde edilen emülsiyonda koyu mavi renk elde edilmiştir ve yağın %10'undan az su kullanılarak çözündürülüp emülsiyonlarda kullanılabilir.

Hazırlanan emülsiyonlar literatür çalışmaları ve ön denemelere göre %4 kuru madde içeren, kuru maddenin %20'si ayçiçek yağı ve yağın %1'i Tween 20 olacak şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca yapıda kullanılan fikosiyanın: kaplama materyali oranı 1:100' dür

Koaservasyon yönteminde en önemli nokta izoelektrik noktanın belirlenerek koaservatif yapının oluşmasını sağlamaktır. Farklı kaplama materyalleri denenerek gerçekleştirilen çalışmada öncelikle her karbonhidrat ve protein kombinasyonu için 3.75, 4.00 ve 4.25 pH değerlerinde koaservatif yapının oluşturulması ön denemesi gerçekleştirilmiştir. Seçilen pH değerleri literatür çalışmaları dikkate alınarak seçilmiştir.

4.3.2.2. Kaplama materyali tipinin seçilmesi

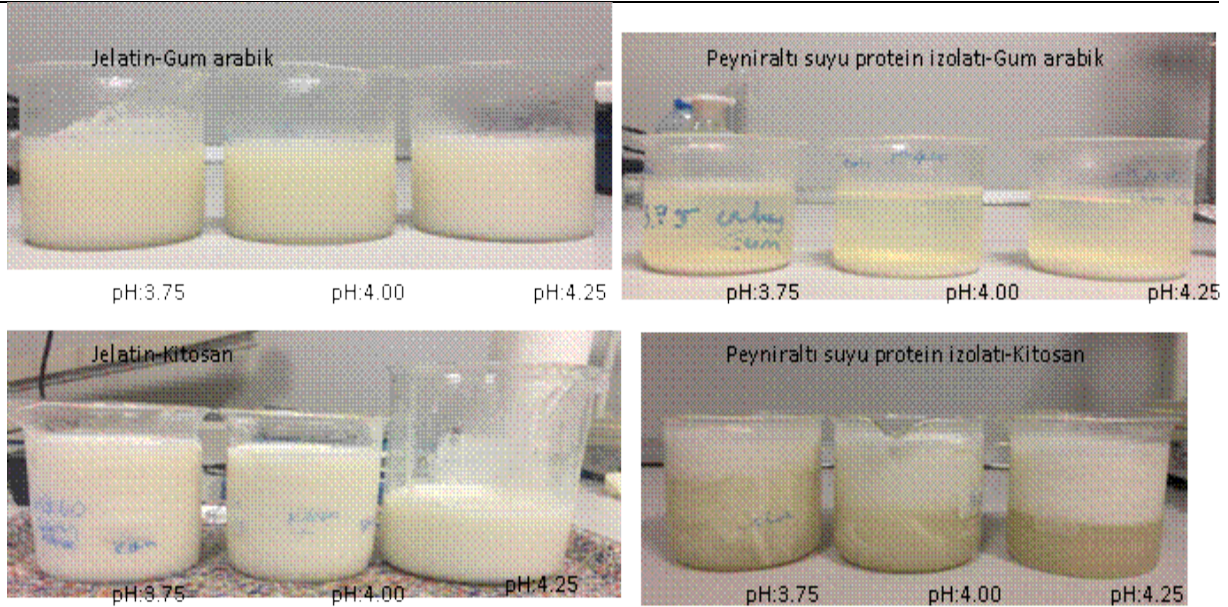
Çizelge 4.43'de görüldüğü üzere kaplama materyallerinin tipinin belirlenmesinde koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon aşamasında karbonhidrat bazlı kitosan ve gum arabik; protein bazlı peynir altı suyu protein izolatu ve jelatin kombinasyonları denenmiştir. Koaservasyon işleminde etkili işlem parametresi olan çözelti pH'sı her bir kaplama çifti için 3 farklı pH değerinde (3.75 ± 0.02 , 4.00 ± 0.02 ve 4.25 ± 0.02) ve $50 \pm 2^\circ\text{C}$ sabit çözelti sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Koaservasyon yöntemi için uygun kaplama materyali seçiminde; kitosan kaplama materyalinin çözünürlüğü %1'lik asetik asit çözeltisi ile sağlanmaktadır ayrıca, kitosanın kendisine has yoğun kokusu mevcuttur ve hazırlanan koaservatlarda baskın bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Jelatin ile beraber kullanıldığında viskoz yapısı koaservatif yapının oluşmasına katkı sağlamasına rağmen sebep olduğu koku renk maddesi olarak gıdalarda kullanımını sınırlamaktadır. Peynir altı suyu protein izolatu kullanılarak hazırlanan koaservatlarda faz ayrımı olmasına rağmen elde edilen yapıda su fazının ayrılmadığı, sulu gevşek yapının olduğu belirlenmiştir.

Literatür çalışmalarına ve ön deneme çalışmalarına göre de koaservasyon yöntemi için en uygun kaplama materyalinin Gum arabik+Jelatin olduğu açıkça görülmektedir. Hazırlanan emülsiyon oranlarında en uygun pH değerinin 3.75 olduğu da belirlenmiştir. Çizelge 4.43'deki koaservat yapıları Şekil 4.21' de görülmektedir.

Çizelge 4.43. Farklı kaplama materyalleri ve pH değerlerinde koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örnekleri

Kaplama Çeşidi	Materyali	pH	Sonuç
Kitosan+Peynir altı suyu protein izolatu		3.75	Yapısı akışkandır
		4.00	Yapısı akışkandır
		4.25	Yapısı akışkandır
Gum+Peynir altı suyu protein izolatu		3.75	Faz ayrımı oluşmuştur, yapısı akışkandır.
		4.00	Faz ayrımı oluşmuştur, yapısı akışkandır.
		4.25	Faz ayrımı oluşmuştur, yapısı akışkandır
Gum+Jelatin		3.75	Koaservatif yapı tam oluşmuştur, yapı serttir .
		4.00	Koaservatif yapı tam oluşmamıştır, yapı yarı akışkandır.
		4.25	Koaservatif yapı tam oluşmamıştır, yapı akışkandır .
Kitosan+Jelatin		3.75	Koaservatif yapı tam oluşmamıştır, yapı akışkandır.
		4.00	Koaservatif yapı tam oluşmamıştır, yapı yarı akışkandır.
		4.25	Koaservatif yapı tam oluşmuştur, yapı serttir.



Şekil 4.21 Farklı kaplama materyalleri ve pH değerlerinde koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş yapı oluşumu

4.3.2.3. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum işlem koşullarının belirlenmesi

Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemini gerçekleştirmek üzere hazırlanan karışımın içeriği ön denemeler sonucu belirlenmiş olup, besleme karışımının kuru madde içeriği %4, ayçiçek yağı içeriği %20 (kuru temelde) ve fikosiyanin/kaplama materyali oranı 1:100 olacak şekilde belirlenmiştir.

Besleme karışımının içeriğinin belirlenmesinin ardından D-optimal karışım dizaynı deneme desenine (Çizelge 3.4) göre fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonunda etkili bağımsız değişkenler olan kaplama materyali karışım oranları (gum arabik (%), jelatin (%)) ve çözelti sıcaklığı (°C) etkisi incelenmiştir. Koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminde bağımsız işlem değişkenleri olan gum arabik oranı 0-50%, jelatin oranı 50-100 %, çözelti sıcaklığı 40-60°C arasında değişmektedir. Bağımsız değişkenlerin aralıkları ön deneme çalışmaları ve literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, bu bağımsız değişkenlerin, mikroenkapsülasyon etkinliği üzerine etkileri incelenmiştir. Farklı işlem koşullarında elde edilen örneklerde mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, çözünürlük ve kaplama materyalleri ile fikosiyanin arasındaki ilişkiyi anlamak için FTIR analizi uygulanmıştır.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına göre elde edilen deneysel yanıt mikroenkapsülasyon etkinliği (ME) (%) Çizelge 4.44'de verilmiştir.

Çizelge 4.44. D-optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Dn.No	Gum Arabik (%)	Jelatin (%)	Çözelti sıcaklığı (°C)	ME (%)
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	
1	0	100	40	39.24
2	0	100	40	39.88
3	0	100	45	44.05
4	0	100	50	42.46
5	0	100	55	49.83
6	0	100	60	51.04
7	0	100	60	47.02
8	12.5	87.5	40	61.60
9	12.5	87.5	45	61.61
10	12.5	87.5	50	66.07
11	12.5	87.5	55	61.83
12	12.5	87.5	60	60.81
13	25	75	50	64.19
14	37.5	62.5	40	61.74
15	37.5	62.5	45	61.06
16	37.5	62.5	50	62.04
17	37.5	62.5	55	54.64
18	37.5	62.5	60	53.37
19	37.5	62.5	60	54.27
20	50	50	40	45.27
21	50	50	40	46.31
22	50	50	45	37.09
23	50	50	50	39.38
24	50	50	55	42.82
25	50	50	60	44.78
26	50	50	60	45.15

Modelin oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için varyans analizi tablosu Ek 5'de verilmiştir (Ek Çizelge 5 (b)).

Çizelge 4.44'de verilen sonuçlar incelendiğinde mikroenkapsülasyon etkinliği için quadratik terimlerin eklenmesinin modelleri önemli ölçüde geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu yanıt için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Deneysel verilerin ikinci dereceden polinomiyal modele fit ettirilmesine ait varyans analizi Çizelge 4.45'te verilmiştir.

Çizelge 4.45. Her bir yanıt üzerine lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	ME (%)	
		HKT	p- değeri
Model	8	2028.93	<0.000*
Linear Mixture	1	25.94	0.048*
Y ₁ Y ₂	1	949.75	<0.000*
Y ₁ Y ₃	1	1.841E-03	0.986
Y ₂ Y ₃	1	127.67	0.000*
Y ₁ Y ₂ Y ₃	1	93.99	0.001*
Y ₁ Y ₃ ²	1	49.26	0.009*
Y ₂ Y ₃ ²	1	0.65	0.739
Y ₁ Y ₂ Y ₃ ²	1	27.61	0.042*
Kalıntı	17	97.06	
Model uygunsuzluğu testi	12	87.77	0.070
Saf Hata	5	9.28	
Toplam	25	2125.99	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, Y₁ Gum arabik (%); Y₂ Jelatin (%); Y₃ Çözelti sıcaklığı (°C).

Çizelge 4.45'te görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer, interaksiyon ve quadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.46'da gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği F ve p-değerlerinden

bulunmuştur. p -değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca, bu çizelgede kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır.

İdeal olarak bir modelin, matematiksel formunun uygunsuzluğu (lack of fit) için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir. Mikroenkapsülasyon etkinliği için ikinci dereceden polinomiyal model, %95 güven seviyesinde önemli ve model uygunsuzluğu (lack of fit) %95 güven seviyesinde önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.45).

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı R^2 , düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} ve varyasyon katsayısı (C.V.) hesaplanarak belirlenmiştir. Ayrıca bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemler için bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için ise yeterli tahminleme (adequate precision), PRESS ve Pred- R^2 istatistikleri kullanılmıştır. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri Çizelge 4.46'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.46 Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	ME (%)
R^2	0.9543
R^2_{adj}	0.9329
C.V. %	4.64
PRESS	222.73
Yeterli Tahminleme	20.237

Regresyon katsayısı R^2 , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modelde varyasyon ($R^2 > 0.95$) model tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.46).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da R^2 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı R^2_{adj} değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers ve

Montgomery, 1995). Mikroenkapsülasyon etkinliği için R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Yanıtlar için varyasyon katsayısı değeri mikroenkapsülasyon etkinliği için 4.64 olarak bulunmuştur.

Myers and Montgomery (1995) yeterli tahminleme (adequate precision) değerinin 4'ten büyük olması gerektiğini belirtmiştir. Model için yeterli tahminleme (adequate precision) değeri 4'ten büyük bulunmuştur.

Model parametreleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak, bu parametrelerin ve modelin önemliliğinin test edilmesi ise varyans analizi kullanılarak yapılmıştır. Kalıntılar, rastgele hata teriminin davranışını yansıttığı için bu varsayımların test edilmesinde ve modelin uygunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalıntı analizi; kalıntıların normal olasılık grafiği, kalıntıların model tahminlerine karşı çizildiği grafik, kalıntıların deneme sırasına karşı çizildiği grafik gibi grafiksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için, Ek 6'da bulunan Ek Şekil 6 (b)'de normal olasılık grafiği, kalıntıya karşı model tahminleri grafiği ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerden bu varsayımların karşılandığı görülmektedir.

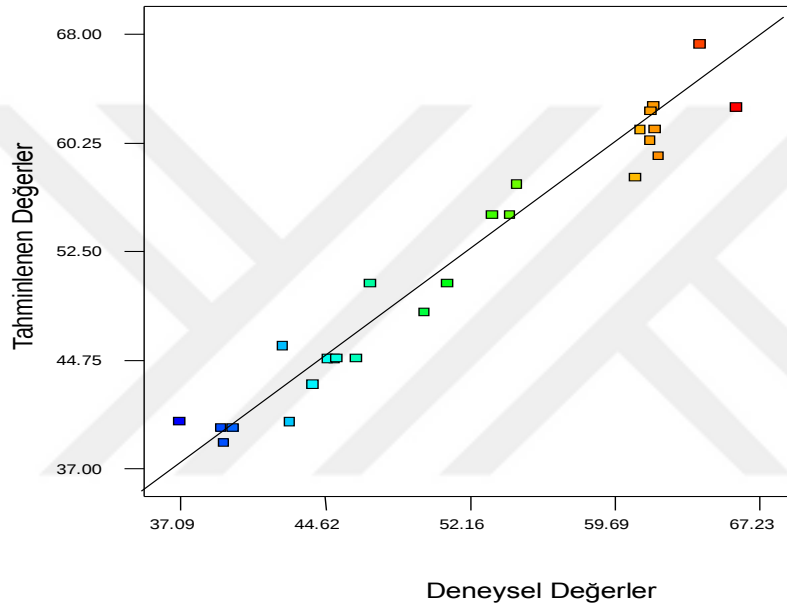
Mikroenkapsülasyon etkinliğinin modelin yanıtı olarak incelenmesi

Mikroenkapsülasyon etkinliği, kaplanan fikosiyanin ve serbest fikosiyanin miktarında bir göstergesi olduğu için mikroenkapsülasyon işleminin başarısını gösteren en önemli parametredir. Mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri üzerine en etkili bağımsız değişkenlerin kaplama materyali oranları ve koaservasyon işleminin gerçekleştirildiği çözelti sıcaklığı olduğu bulgulanmıştır.

Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonu ile elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri (ME) için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden polinomiyal model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik (4.5)'de verilmiştir. Eşitlik (4.5)'den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil

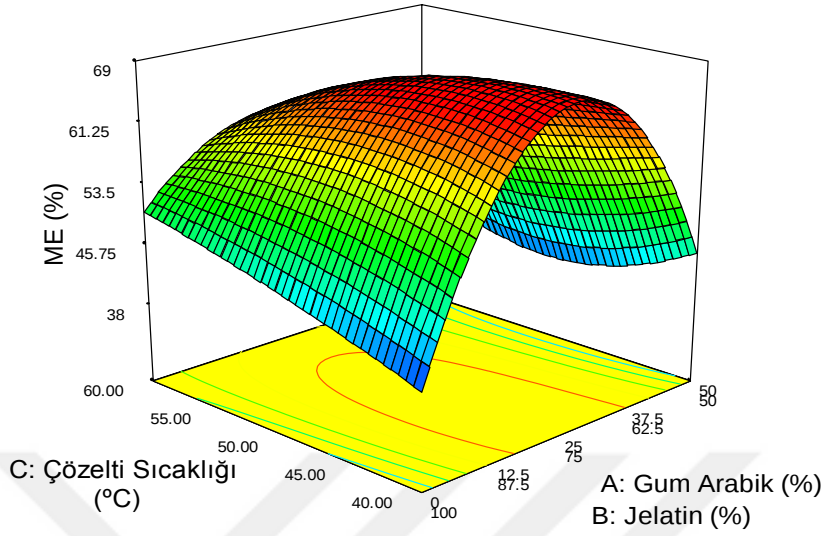
4.22’de gösterilmiştir. Mikroenkapsüle fikosiyaninin mikroenkapsülasyon etkinliği değerleri (ME) için model tahminlerinin deneysel verilerle uyum içerisinde olduğu saptanmıştır. Denklem sabitlerinde, Y_1 gum arabik (%); Y_2 jelatin (%); Y_3 çözelti sıcaklığı (°C) değişkenlerini ifade etmektedir.

$$ME = 38.78Y_1 + 45.7Y_2 + 99.96Y_1Y_2 + 5.14Y_2Y_3 - 27.57Y_1Y_2Y_3 + 6.03Y_1Y_3^2 - 24.74Y_1Y_2Y_3^2 \quad (4.5)$$



Şekil 4.22. Mikroenkapsülasyon etkinliği için modelden (Eş.4.5) tahminlenen değerlere karşı deneysel veriler

Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda işlem değişkenlerinin mikroenkapsülasyon etkinliğinin üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model (Eş. 4.5) kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri oluşturulmuş olup, Şekil 4.23’de verilmiştir.



Şekil 4.23. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda mikroenkapsülasyon etkinliği için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Şekil 4.23'den görülebileceği üzere fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali oranının ve çözelti sıcaklığının mikroenkapsülasyon verimini etkilediği görülmektedir. Çözelti sıcaklığının artmasıyla mikroenkapsülasyon veriminde artış gözlenmesine rağmen, en yüksek sıcaklık değerinde etkinlik değerinde azalma olduğu görülmektedir. Kaplama materyallerinin mikroenkapsülasyon etkinliğine etkisi incelendiğinde koaservasyon işleminin temel basamağı olan jelatinin model üzerinde de etkili olduğu görülmektedir. Fakat gum arabik ile jelatinin beraber kullanılmasıyla da mikroenkapsülasyon etkinliğinin arttığı belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmasının asıl hedefi olan etkin kaplama sağlanması ve koaservasyon yapının oluşumu optimizasyon çalışmasında seçilen değişkenler ve mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı ile amacına ulaştığı sonuçlardan görülmektedir.

Farklı işlem koşullarında elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon etkinliğinin yanısıra mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, çözünübilirlik değerleri de Design-Expert paket programı kullanılarak, bağımsız değişkenlerin (gum arabik (%), jelatin (%) ve çözelti sıcaklığı (°C)) etkilerini belirlemek amacıyla varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur.

4.3.2.4. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı

D-Optimal karışım dizayn deneme planı izlenerek elde edilen örneklerin başlangıç fikosiyanin ve mikroenkapsüle yapıdaki toplam fikosiyanin miktarları ile hesaplanan mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı Çizelge 4.47’de görülmektedir. Tüm denemelerden elde edilen ürünlerin mikroenkapsülasyon verimlerinin %7.60 ile 16.82 aralığında olduğu görülmektedir. Bu değer işlem sırasında fikosiyanin kaybı olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarı değerleri de 1.64 ile 6.37 mg gallik asit/g örnek arasında değişim göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarının karışım oranından etkilendiği görülmektedir.

Mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(b)'de verilmiştir. Ek Çizelge 5(b)'de verilen sonuçlara göre, toplam fenolik madde miktarı için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Deneysel verilerin ikinci dereceden polinomiyal modele fit ettirilmesine ait varyans analizi Çizelge 4.48'de verilmiştir.

Çizelge 4.47 Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı

Dn. No	Gum Arabik (%) Y ₁	Jelatin (%) Y ₂	Çözeltili sıcaklığı (°C)Y ₃	Mikroenkapsülasyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit / g)
1	0	100	40	39.24	4.03
2	0	100	40	39.88	4.59
3	0	100	45	44.05	4.20
4	0	100	50	42.46	4.63
5	0	100	55	49.83	4.48
6	0	100	60	51.04	4.01
7	0	100	60	47.02	4.63
8	12.5	87.5	40	61.60	3.10
9	12.5	87.5	45	61.61	5.22
10	12.5	87.5	50	66.07	4.82
11	12.5	87.5	55	61.83	9.60
12	12.5	87.5	60	60.81	5.66
13	25	75	50	64.19	5.31
14	37.5	62.5	40	61.74	1.92
15	37.5	62.5	45	61.06	2.36
16	37.5	62.5	50	62.04	2.69
17	37.5	62.5	55	54.64	2.28
18	37.5	62.5	60	53.37	3.24
19	37.5	62.5	60	54.27	3.22
20	50	50	40	45.27	1.93
21	50	50	40	46.31	1.65
22	50	50	45	37.09	2.58
23	50	50	50	39.38	4.25
24	50	50	55	42.82	5.39
25	50	50	60	44.78	3.61
26	50	50	60	45.15	3.85

Fikosiyaninin koaservasyon yönteminde mikroenkapsülasyonunda sıcaklık ve pH uygulamalarının bozunmaya sebep olması nedeniyle başlangıç toplam fikosiyanin miktarı ve

mikroenkapsülasyon işlemi sonrası toplam fikosiyanin miktarı arasında fark oluşmaktadır. Bu fark koaservasyon yönteminin fikosiyaninin mikroenkapsülasyonunda verimi düşük bir yöntem olduğunu ifade etmektedir. Son üründe az miktarda kalan fikosiyanin de toplam fenolik madde miktarına doğrudan etki etmektedir. Çizelge 4.47'de görüldüğü üzere çözelti sıcaklığının artmasıyla mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı azalmaktadır.

Çizelge 4.48. Mikroenkapsülasyon verimi ve toplam fenolik madde miktarı üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	Mikroenkapsülasyon Verimi (%)		Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit / g)	
		HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	8	67.16	0.767	23.23	0.034*
Linear Mixture	1	2.05	0.707	11.60	0.004*
Y ₁ Y ₂	1	20.11	0.248	8.019E-04	0.978
Y ₁ Y ₃	1	1.34	0.761	4.71	0.047*
Y ₂ Y ₃	1	5.16	0.552	0.25	0.631
Y ₁ Y ₂ Y ₃	1	0.50	0.852	0.087	0.775
Y ₁ Y ₃ ²	1	0.17	0.914	1.41	0.257
Y ₂ Y ₃ ²	1	1.75	0.729	0.41	0.537
Y ₁ Y ₂ Y ₃ ²	1	0.093	0.936	0.071	0.796
Kalıntı	17	238.51		17.48	
Model uygunsuzluğu testi	12	237.35	<0.000	17.06	0.003
Saf Hata	5	1.16		0.42	
Toplam	25	305.67		40.70	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, Y₁ Gum arabik (%); Y₂ Jelatin (%); Y₃ Çözelti sıcaklığı (°C).

4.3.2.5. Renk değerleri

Çizelge 3.3'de görülen D-optimal karışım dizayn deneme planı izlenerek elde edilen örneklerin Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerlerinin değişim aralıkları Çizelge 4.49'da görülmektedir. Koaservasyon yöntemi işlem değişkenlerinin Hunter L*, a* ve b* değerleri üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. Toz örneklerin Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerlerinin üzerine işlem değişkenlerinin %95 güven seviyesinde etkilerini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.50'de verilmiştir. ANOVA analizine göre Hunter a*, b* ve Chroma değerleri üzerine püskürtmeli kurutma işlem koşullarının etkisi seçilen modele uyum göstermektedir ($p < 0.05$). Hunter -b değerinin değişimi seçilen quadratik model ile anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde açıklanabilmektedir. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen ürünlerde renk değerleri içerisinde dikkat edilmesi gereken kriter de mavilik indeksini gösteren Hunter -b değeridir. Örneklerin mavilik indeksi karışım oranından önemli seviyede ($p < 0.05$) etkilenmektedir.

Hunter L*, a*, b* değişkenlerinin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra quadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Mikroenkapsülasyon verimi değerleri ve toplam fenolik madde miktarı yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(b)'de verilmiştir. Ek Çizelge 5(b)'de verilen sonuçlara göre, Hunter a* ve b* için quadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Hunter a* ve b* yanıtları için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Çizelge 4.50'de görüldüğü üzere elde edilen regresyon modelinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.49. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin L*, a* , b*, Hue ve Chroma değerleri.

Dn. No	L*	a*	b*	Hue	Chroma
1	56.65±0.20	-2.38±0.01	-10.57±0.12	359.36	10.57
2	50.45±0.17	-2.11±0.04	-9.61±0.09	359.46	9.61
3	57.15±0.65	-2.44±0.09	-9.99±0.13	359.28	9.99
4	61.43±0.23	-2.75±0.03	-7.64±0.28	357.93	7.64
5	58.95±0.44	-2.74±0.04	-9.03±0.12	359.24	9.03
6	56.03±4.09	-3.69±0.28	-6.57±0.55	355.20	6.60
7	54.22±0.68	-3.02±0.08	-8.48±0.19	358.73	8.48
8	50.54±0.84	-2.83±0.11	-12.71±0.16	359.28	12.71
9	53.50±0.94	-2.88±0.13	-10.06±0.23	358.67	10.07
10	44.66±1.81	-2.43±0.41	-14.28±0.19	359.25	14.28
11	48.44±0.27	-2.64±0.04	-15.12±0.17	359.36	15.12
12	52.28±0.35	-3.33±0.10	-6.81±0.14	358.85	6.82
13	51.56±0.13	-3.01±0.09	-12.31±0.25	358.84	12.32
14	47.52±0.12	-2.11±0.05	-16.21±0.07	359.76	16.21
15	50.30±0.39	-2.95±0.09	-13.57±0.26	358.90	13.57
16	54.60±0.19	-3.37±0.08	-8.80±0.29	358.09	8.80
17	46.75±2.93	-2.59±0.34	-8.75±0.78	354.89	8.79
18	53.33±1.07	-3.24±0.27	-8.39±0.41	357.22	8.40
19	53.52±1.49	-3.05±0.71	-8.20±0.84	354.13	8.24
20	50.36±3.82	-2.73±0.13	-6.96±0.39	356.78	6.97
21	50.55±3.70	-2.53±0.46	-6.76±0.67	354.33	6.80
22	42.59±1.01	-0.60±0.34	-6.33±0.22	357.98	6.33
23	43.18±0.59	-0.49±0.18	-6.36±0.11	358.98	6.36
24	50.54±0.35	-2.28±0.05	-8.68±0.06	359.61	8.68
25	50.15±2.39	-2.79±0.68	-6.37±0.17	358.51	6.37
26	50.35±2.33	-2.59±0.84	-6.17±0.51	355.27	6.19

Çizelge 4.50. Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değeri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	L*		a*		b*		Hue		Chroma	
		HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri	HKT	p- değeri
Model	8	261.65	0.082	8.46	0.007*	145.94	0.005*	35.23	0.157	145.49	0.005*
Linear	1	178.17	0.003*	1.40	0.032*	16.25	0.063	10.04	0.062	16.10	0.064
Mixture											
Y ₁ Y ₂	1	11.17	0.399	3.05	0.003*	36.87	0.008*	0.90	0.557	36.96	0.008*
Y ₁ Y ₃	1	6.18	0.528	0.33	0.271	0.82	0.661	0.53	0.652	0.83	0.659
Y ₂ Y ₃	1	1.52	0.754	1.11	0.052	3.39	0.376	2.02	0.382	3.37	0.377
Y ₁ Y ₂ Y ₃	1	0.14	0.924	0.036	0.713	15.34	0.070	5.29	0.165	15.20	0.071
Y ₁ Y ₃ ²	1	23.75	0.224	3.34	0.002*	0.33	0.781	9.96	0.063	0.35	0.773
Y ₂ Y ₃ ²	1	18.81	0.277	0.32	0.282	1.15	0.603	0.91	0.556	1.14	0.604
Y ₁ Y ₂ Y ₃ ²	1	1.10	0.789	1.10	0.054	0.14	0.856	2.59	0.324	0.14	0.853
Kalıntı	17	253.30		4.35		69.72		42.66		69.49	
Model uygunsuzluğu testi	12	232.36	0.051	4.03	0.039	67.38	0.006	23.42	0.844	67.21	0.006
Saf Hata	5	20.94		0.32		2.33		19.25		2.28	
Toplam	25	514.95		12.82		215.65		77.90		214.98	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, Y₁ Gum arabik (%); Y₂ Jelatin (%); Y₃ Çözelti sıcaklığı (°C).

4.3.2.6. Çözünübilirlik

D-Optimal karışım dizaynı deneme planına (Çizelge 3.3) göre gerçekleştirilen 26 üretim sonucunda elde edilen koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin çözünübilirlik (%) değerleri Çizelge 4.51'de görülmektedir. Koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin ortalama çözünübilirlik değeri %12.45 ile 34.71 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.51. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerinin çözünübilirlik değerleri

Dn. No	Gum Arabik (%) Y ₁	Jelatin (%) Y ₂	Çözelti sıcaklığı (°C) Y ₃	Çözünübilirlik (%)
1	0	100	40	14.90±0.38
2	0	100	40	14.38±1.00
3	0	100	45	12.45±1.22
4	0	100	50	20.29±1.73
5	0	100	55	19.97±0.46
6	0	100	60	29.89±1.95
7	0	100	60	28.54±3.03
8	12.5	87.5	40	34.71±1.15
9	12.5	87.5	45	30.86±4.76
10	12.5	87.5	50	27.60±1.48
11	12.5	87.5	55	27.12±1.19
12	12.5	87.5	60	22.52±1.79
13	25	75	50	30.11±1.75
14	37.5	62.5	40	25.79±2.42
15	37.5	62.5	45	28.72±2.57
16	37.5	62.5	50	23.29±1.98
17	37.5	62.5	55	22.82±1.53
18	37.5	62.5	60	21.52±1.31
19	37.5	62.5	60	20.06±1.57
20	50	50	40	21.65±2.74
21	50	50	40	22.97±2.93
22	50	50	45	18.43±0.34
23	50	50	50	22.16±0.47
24	50	50	55	22.90±2.41
25	50	50	60	24.60±2.54
26	50	50	60	20.77±0.24

Çözünürlük değişkeninin modellerde öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra kuadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Çözünürlük yanıtı için varyans analizi tablosu Ek Çizelge 5(b)'de verilmiştir. Ek Çizelge 5(b)'de verilen sonuçlara göre, Çözünürlük için kuadratik terimlerin eklenmesinin modeli önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Çözünürlük yanıtı için en uygun model tipinin ikinci dereceden polinomial modeller olduğu varsayımı böylelikle ispat edilmiştir. Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda elde edilen örneklerin çözünürlük değerlerinin koaservasyon yöntemi işlem koşullarından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için Design-Expert paket programı kullanılarak gerçekleştirilen ANOVA analizine (Çizelge 4.52) göre model uyumu görülmekte ve karışım oranından etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$).

Koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin çözünürlük değerleri % 34'ün altında belirlenmiştir. Elde edilen yapı jelimsi bir özelliğe sahiptir ve sıcaklık etkisiyle çözünürlüğü artmaktadır. Kullanılan kaplama materyallerinin oranlarının ve çözelti sıcaklığının koaservasyon yapısının oluşmasında önemli bir etkiye sahip olduğu Çizelge 4.52'den de anlaşılmaktadır. Elde edilen mikroenkapsüle yapılan sıkı jel yapıda oluşması nedeniyle çözünürlük değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Koaservasyon işlemi sonrasında bu sebeple püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma gibi kurutma yöntemleri kullanılarak ürünün kullanım alanı genişletilmektedir.

Çizelge 4.52. Çözünübilirlik değerleri üzerine seçilen bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	Çözünübilirlik (%)	
		HKT	p- değeri
Model	8	559.03	0.000*
Linear Mixture	1	0.067	0.932
Y ₁ Y ₂	1	164.96	0.000*
Y ₁ Y ₃	1	9.24	0.324
Y ₂ Y ₃	1	209.84	0.000*
Y ₁ Y ₂ Y ₃	1	243.59	<0.000*
Y ₁ Y ₃ ²	1	5.16	0.458
Y ₂ Y ₃ ²	1	21.75	0.138
Y ₁ Y ₂ Y ₃ ²	1	17.07	0.185
Kalıntı	17	152.28	
Model uygunsuzluğu testi	12	141.96	0.033
Saf Hata	5	10.32	
Toplam	25	1711.31	

*p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli, Y₁ Gum arabik (%); Y₂ Jelatin (%); Y₃ Çözelti sıcaklığı (°C).

4.3.2.7. FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy) analizi

FT-IR spektroskopisi analizinde D-Optimal karışım dizaynı deneme planında kullanılan farklı oranlardaki kaplama materyallerinin etkisi incelenmiştir. Ek 7'de bulunan Ek Şekil 7(c)'de D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek elde edilen koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin, mikroenkapsülasyon işleminde kullanılan gum arabik, jelatin, yağ ve saflaştırılmış fikosiyaninin FT-IR spektroskopisi grafiği verilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işleminin asıl hedeflerinden olan çekirdek materyalinin kaplama materyalleriyle olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde çekirdek materyali olan saflaştırılmış fikosiyaninin karakteristik spektrumu Ek Şekil 7 (c)' de verilmiştir. Fikosiyanine ait 1600 cm⁻¹ dalga boyunda pik gözlemlenmiştir. Koaservatların kuru madde içerikleri %4 olduğu için elde edilen spektrumlarda karakteristik alanda net pikler elde edilememiştir. Yapıdaki su molekülleri Ek Şekil 7(c)' de 3600 cm⁻¹ dalga boyundaki pikte görülmektedir. Mikroenkapsülasyon işleminin asıl hedeflerinden olan çekirdek

materyalinin kaplama materyalleriyle olan ilişkisi değerlendirilmiş fakat koaservasyon yöntemiyle elde edilen ürünlerin yüksek su içeriği nedeniyle spektrumda karakteristik yapılar görülememiştir

Optimizasyon sonuçlarının deneysel doğrulanması

Fikosiyaninin koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda işlem koşulları olarak seçilen kaplama materyali karışım oranı ve çözelti sıcaklığının belirlenmesinde maksimum mikroenkapsülasyon etkinliğini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı ve izohips eğrilerinin üst üste yerleştirilmesi (superimposing) yöntemleri kullanılarak optimize edilmiştir. D-optimal karışım dizaynı deneme desenine göre üretilen örneklerin diğer özellikleri ise optimizasyon çalışmasına katılmamıştır.

Optimizasyon çalışmasında koaservasyon yöntemi işlem değişkenleri olan kaplama materyali karışım oranında gum arabik %0-50, jelatin % 50-100 ve çözelti sıcaklığı 40-60°C aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal model kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın çözümler bulunmuştur. Çizelge 4.53'de optimum noktayı veren 3 çözüm görülmektedir.

Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, %26.67 gum arabik, %73.33 jelatin ve çözelti sıcaklığı 45.68°C olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.53. Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

Çözüm sayısı	Gum Arabik (%)	Jelatin (%)	Çözelti	Mikroenkapsülasyon	
			Sıcaklığı (°C)	Etkinliği (ME) (%)	Desirability
1	26.67	73.33	45.68	68.22	1.00
2	26.74	73.25	42.22	68.37	1.00
3	27.44	72.55	49.75	66.76	1.00

Optimum nokta sonuçlarının doğrulanması %26.67 gum arabik, %73.33 jelatin ve çözelti sıcaklığı 45.68°C olarak belirlenen matematiksel optimum noktada

gerçekleştirilmiştir. Optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesinin sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahmin edilen değerler Çizelge 4.54'de görülmektedir.

Belirlenen yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t* - testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t* – testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için tek örnek *t* – testi sonuçları Çizelge 4.55'de görülmektedir.

Çizelge 4.54 Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Dn. No	Mikroenkapsülasyon Etkinliği (%)
1	69.08
2	71.63
3	69.48
4	63.07
5	68.79
Ortalama	68.41
Modelden Tahminlenen	68.22

Çizelge 4.55 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer^a	SH^b	Fark	% Hata^c	p-değeri
Mikroenkapsülasyon Etkinliği (%)	68.22	68.41	1.4242	0.19	0.277	0.900

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir, b Ortalama standart hata, c % Hata = $(|y_{den} - y_{tah}| / y_{den}) * 100$

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen örneklerin analiz sonuçlarına göre mikroenkapsülasyon etkinliği değeri ile modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ($p > 0.05$).

Koaservasyon yöntemiyle fikosiyanin mikrokapsülasyonunda optimum noktada yapılan 5 doğrulama denemesine ait mikrokapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, çözünürlük değeri, Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerleri sonuçları, sonuçların ortalaması değerler Çizelge 4.56 ve Çizelge 4.57'de görülmektedir.

Çizelge 4.56. Koaservasyon yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikrokapsüle fikosiyanin örneklerinin mikrokapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı ve çözünürlük değerleri

Dn. No	Mikrokapsülasyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg gallik asit/g)	Çözünürlük (%)
1	15.59	4.00	73.90
2	11.17	4.12	75.07
3	8.62	4.25	76.59
4	10.40	3.89	78.04
5	13.53	4.24	77.52
Ortalama	11.86	4.10	76.22

Çizelge 4.57. Koaservasyon yöntemiyle optimum noktada 5 farklı denemede üretilen mikrokapsüle fikosiyanin örneklerinin Hunter L*, a*, b*, Hue ve Chroma değerleri

Dn. No	L*	a*	b*	Hue	Chroma
1	56.36	-3.02	-11.21	359.09	11.21
2	53.01	-2.90	-14.02	356.79	14.04
3	51.92	-2.91	-14.01	358.33	14.01
4	63.02	-3.06	-8.76	356.84	8.77
5	64.06	-2.02	-7.72	349.17	7.86
Ortalama	57.67	-2.78	-11.14	356.04	11.18

D-Optimal karışım dizaynı deneme planı izlenerek optimum koşulda elde edilen koaservasyon yöntemiyle elde edilen mikrokapsüle fikosiyanin örneklerin, mikrokapsülasyon işleminde kullanılan gum arabik, jelatin, yağ ve saflaştırılmış fikosiyaninin FT-IR spektroskopi grafiği Ek 7'de bulunan Ek Şekil 7(c)'de verilmiştir.

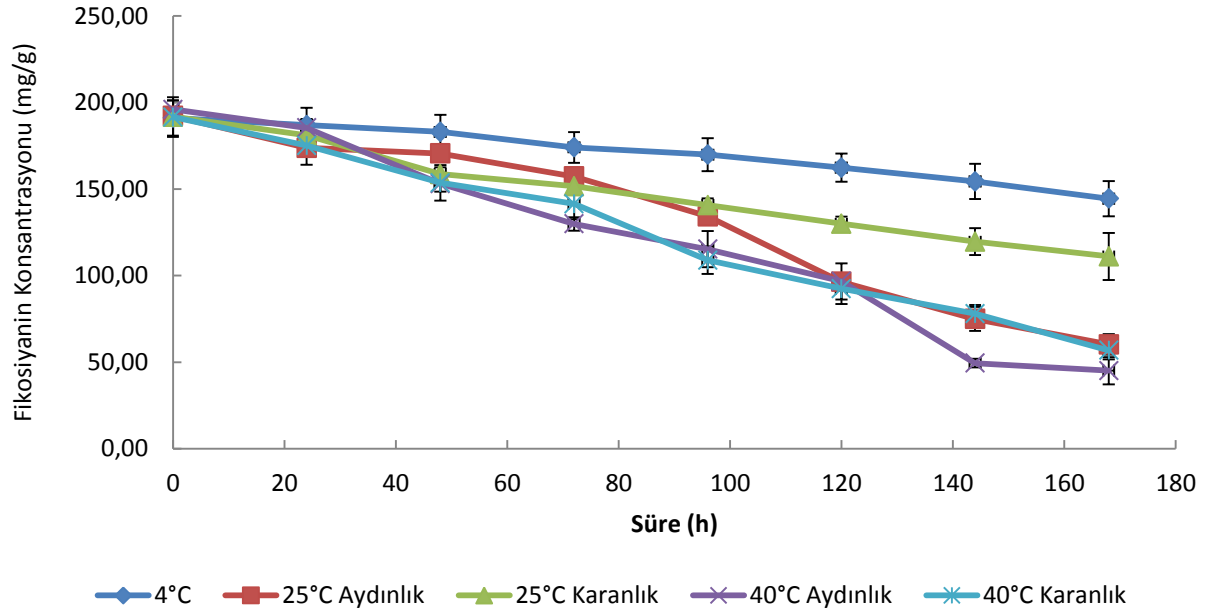
4.4. Fikosiyenin Stabilitesinin Belirlenmesi ve Kinetik modelleme

Stabilite çalışmaları için enkapsüle edilmemiş saf fikosiyenin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle elde edilen mikroenkapsüle fikosiyenin örnekleri sulu ortamda, üç farklı sıcaklık (4, 13, 40 °C) ve üç farklı pH (3.5, 4.6, 7) koşulunda aydınlık/ karanlık ortamlarda 1 hafta süreyle bekletilmiş 24 saatlik periyot aralığında toplam fikosiyenin miktarı analiz edilmiştir. Ayrıca iki farklı yöntemle mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş fikosiyenin için stabilite açısından en uygun sıcaklık ve pH koşullarında, %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortam koşulları için de stabilite çalışması yürütülmüştür.

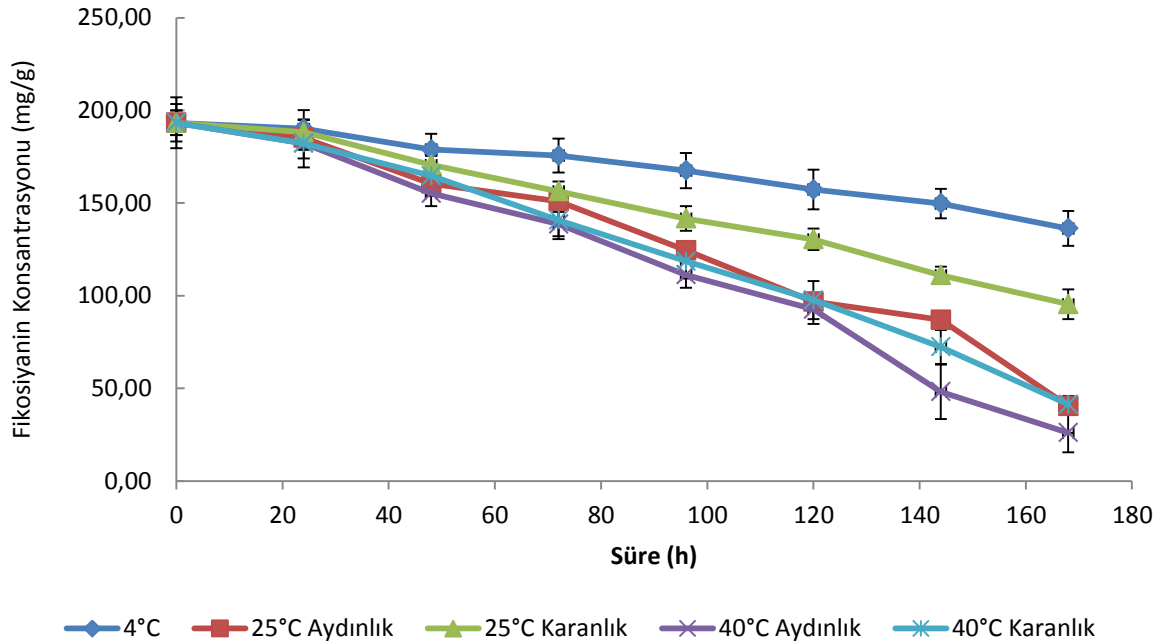
Püskürtmeli kurutma yönteminde mikroenkapsüle fikosiyenin %20 kuru madde içeriği ve kuru maddenin %30'u ayçiçek yağı, 1:100 oranında fikosiyenin: kaplama materyali olacak şekilde belirlenen emülsiyon D-Optimal karışım dizayn deneme desenine göre tespit edilen ~% 34.4 MD ve ~% 65.6 WPI kaplama oranları ve 167°C hava giriş sıcaklığı optimum püskürtmeli kurutucu işlem koşullarında üretilmiştir. Koaservasyon yöntemi için ise mikroenkapsüle fikosiyenin %4 kuru madde içeriği ve kuru maddenin %20'si ayçiçek yağı, 1:100 oranında fikosiyenin: kaplama materyali olacak şekilde belirlenen emülsiyon D-Optimal karışım dizayn deneme desenine göre tespit edilen ~%26.67 gum arabik ve ~% 73.3 jelatin kaplama oranları ve 45.7±2°C çözelti sıcaklığı optimum koaservasyon işlem koşullarında üretilmiştir.

Püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleriyle elde edilen mikroenkapsüle fikosiyenin örnekleri ve saf fikosiyenin stabilite çalışmalarının yürütülmesinde sulu ortamda çözündürülen örneklerin içerdiği fikosiyenin miktarı sabit tutulmuştur. Örnek miktarlarının belirlenmesinde mikroenkapsüle ürünlerin başlangıç toplam fikosiyenin miktarı dikkate alınmıştır. Böylelikle hem mikroenkapsülasyon işlemlerinin, hem de farklı sıcaklık, pH ve ortamların toplam fikosiyenin miktarına etkisi incelenmiştir.

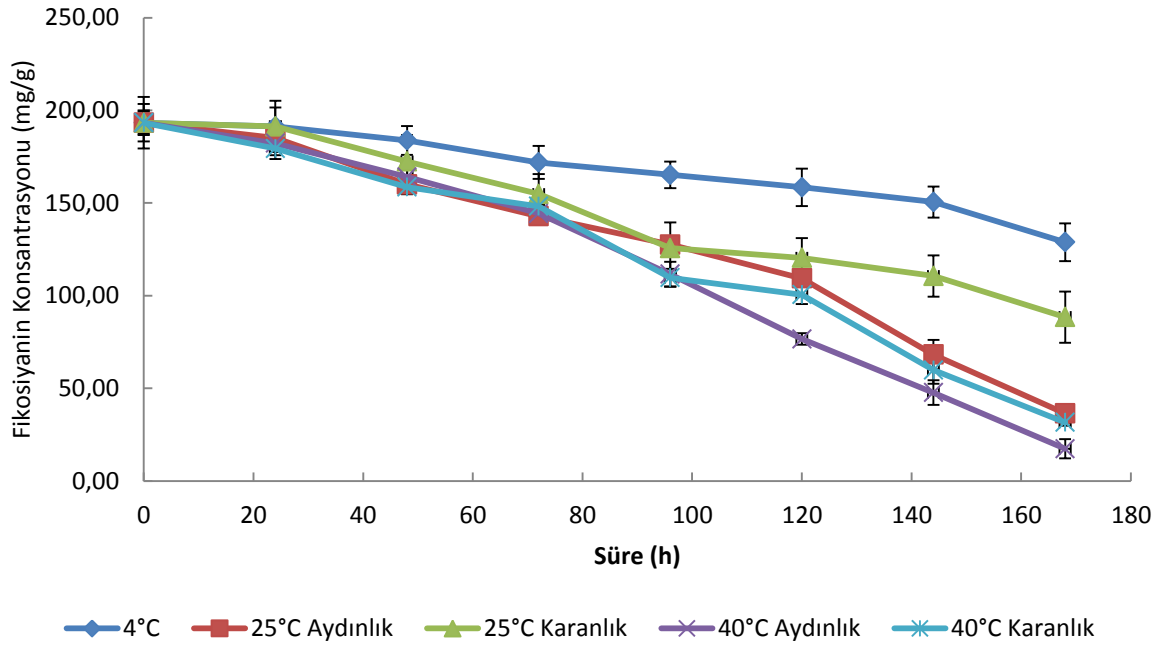
Enkapsüle edilmemiş saf fikosiyenin üç farklı sıcaklık, üç farklı pH ve aydınlık/karanlık ortamlarda stabilite analizi periyodu boyunca toplam fikosiyenin miktarı değişimini gösteren grafikler Şekil 4.24-26'da görülmektedir. Şekillere ait veriler ise Ek 8'de bulunan Ek Çizelge 8(a)'da bulunmaktadır. Ayrıca toplam fikosiyenin sıfırıncı dereceden bozunma kinetik değerleri de Çizelge 4.58'de verilmiştir.



Şekil 4.24. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 3.5'te, 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi



Şekil 4.25. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 4.6'da 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi



Şekil 4.26. Saflaştırılmış fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

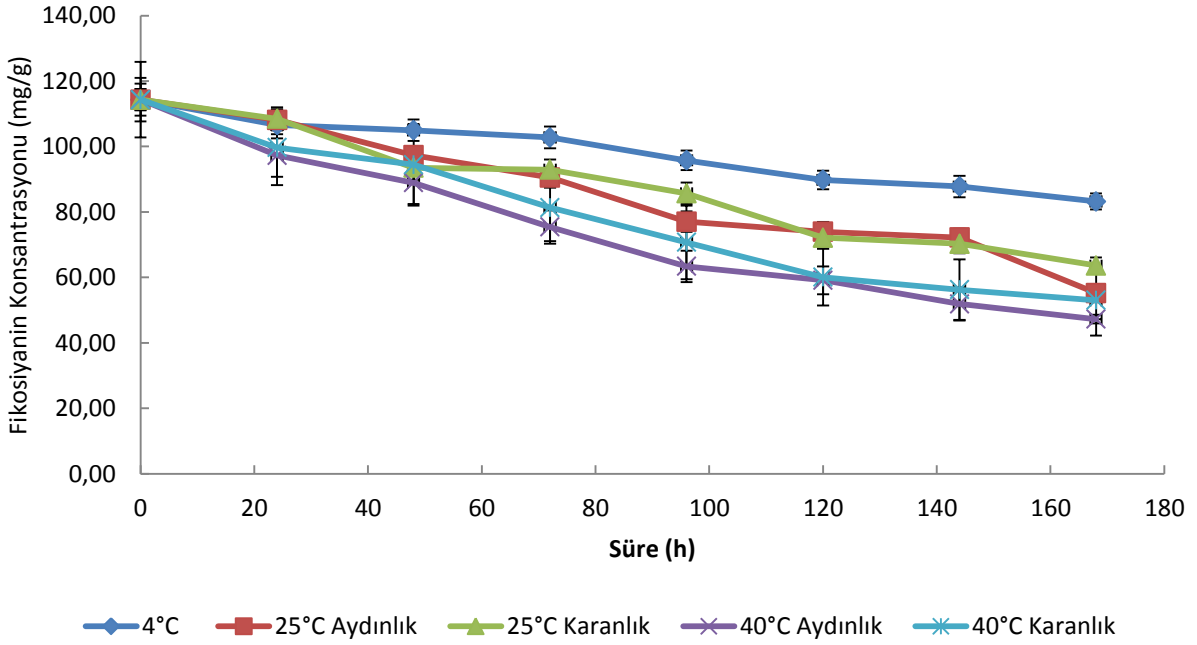
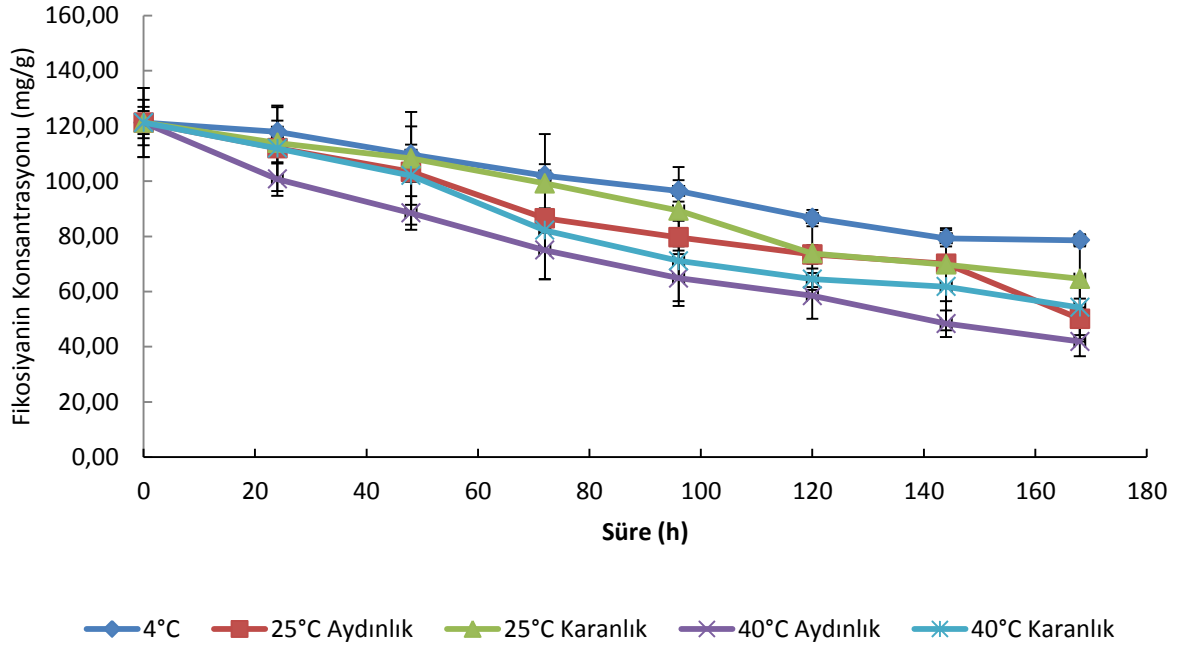
Gerçekleştirilen stabilite çalışmasında enkapsüle edilmemiş saf fikosiyaninin 1 hafta süresince 4°C'deki stabilitesinin 25°C ve 40°C'deki stabilitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.58'de görüldüğü üzere 4°C'de pH 3.5, 4.6 ve 7' de k değerleri 6.621, 8.021 ve 8.785 mg/g.gün ve yarılanma süreleri 14.73, 12.16 ve 11.10 gün olarak belirlenmiştir. 40°C'de aydınlık ortamda en yüksek bozunmanın gözlemlendiği örneklerin pH 3.5, 4.6 ve 7'de k değerleri 22.96, 24.47 ve 26.18 mg/g.gün ve yarılanma süreleri 4.25, 3.98 ve 3.72 gün olarak hesaplanmıştır.

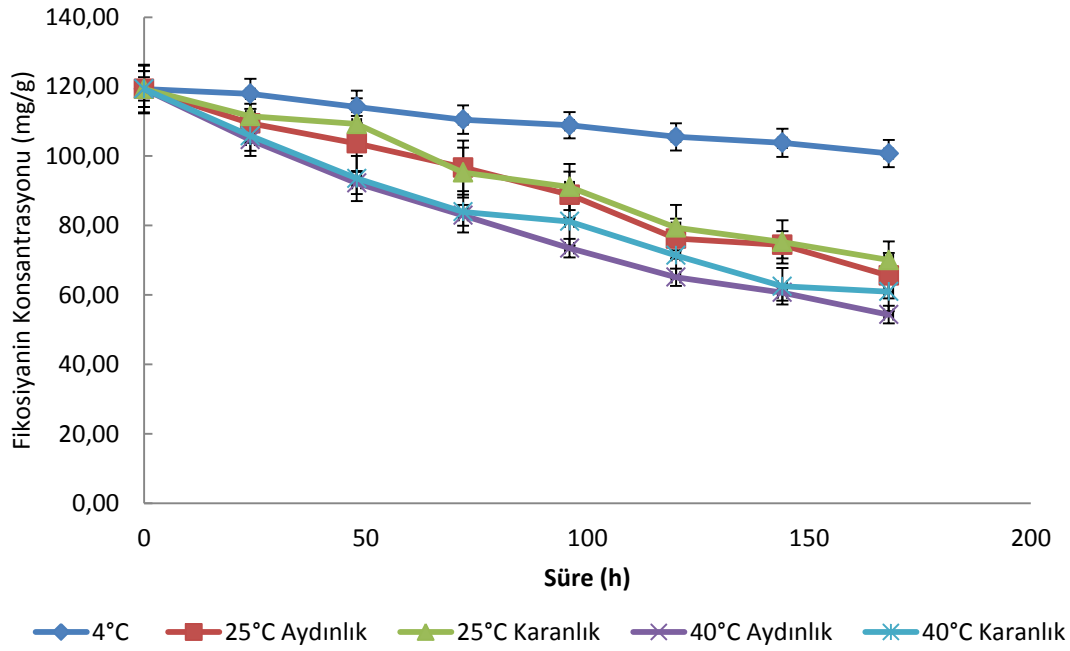
Enkapsüle edilmemiş saf fikosiyanin örneklerine aydınlık ve karanlık ortamın etkisinin olduğu da Şekil 4.24-4.26'da verilen grafiklerden görülmektedir. Aynı sıcaklık ve pH değerlerinde ışığın etkisiyle fikosiyanin miktarında azalma olduğu belirlenmiştir. 25°C'de pH 3.5, 4.6 ve 7 değerinde karanlık ortamda k değerleri 11.21, 14.36 ve 15.75 mg/g.gün iken aynı koşulda aydınlık ortamda 19.77, 21.17 ve 22.02 mg/g.gün olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.58 Enkapüle edilmemiş saf fikosiyaninin stabilite analiz koşulları ve modelleme değerleri

Ürün	Ortam pH	Ortam Koşulu	Ortam Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Derecesi			
				0. derece			
				k (mg/g.gün)	Co (mg/g)	R ²	t _{1/2} (gün)
Saf Fikosiyanin	3.5	Karanlık	4	6.621	196.0	0.984	14.73
		Aydınlık	25	19.77	202.7	0.960	4.93
		Karanlık	25	11.21	189.3	0.976	8.70
		Aydınlık	40	22.96	198.6	0.986	4.25
		Karanlık	40	19.61	194.9	0.993	4.97
	4.6	Karanlık	4	8.021	196.6	0.980	12.16
		Aydınlık	25	21.17	203.9	0.969	4.61
		Karanlık	25	14.36	198.6	0.992	6.79
		Aydınlık	40	24.47	204.1	0.982	3.98
		Karanlık	40	21.86	202.8	0.988	4.46
	7	Karanlık	4	8.785	198.6	0.957	11.10
		Aydınlık	25	22.02	204.9	0.966	4.43
		Karanlık	25	15.75	199.7	0.974	6.19
		Aydınlık	40	26.18	208.7	0.978	3.72
		Karanlık	40	23.12	203.5	0.974	4.22

Püskürtmeli kurutucu optimum işlem koşullarında üretilmiş mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin üç farklı sıcaklık, üç farklı pH ve aydınlık/karanlık ortamlarda stabilite analizi periyodu boyunca toplam fikosiyanin miktarı değişimini gösteren grafikler Şekil 4.27-29'da görülmektedir. Şekillere ait veriler ise Ek 8'de bulunan Ek Çizelge 8(b)'de bulunmaktadır. Ayrıca toplam fikosiyaninin sıfıncı dereceden bozunma kinetik değerleri de Çizelge 4.59'da verilmiştir.





Şekil 4.29. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

Çizelge 4.59' daki sonuçlara göre optimum koşulda püskürtmeli kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş örneklerin 1 hafta süresince 4°C'deki stabilitesinin 25°C ve 40°C'deki stabilitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 4°C'de pH 3.5, 4.6 ve 7'de k değerleri 6.737, 4.913 ve 2.875 mg/g.gün ve yarılanma süreleri 8.91, 12.21 ve 20.87 gün olduğu yani ortam pH'sının artmasıyla örneklerdeki fikosiyaninin daha yavaş azaldığı belirlenmiştir. 40°C'de aydınlık ortamda en yüksek bozunmanın gözlemlendiği örneklerin pH 3.5, 4.6 ve 7'de k değerleri 10.92, 10.07 ve 9.271 mg/g.gün ve yarılanma süreleri 5.49, 5.96 ve 6.47 gün olarak hesaplanmıştır.

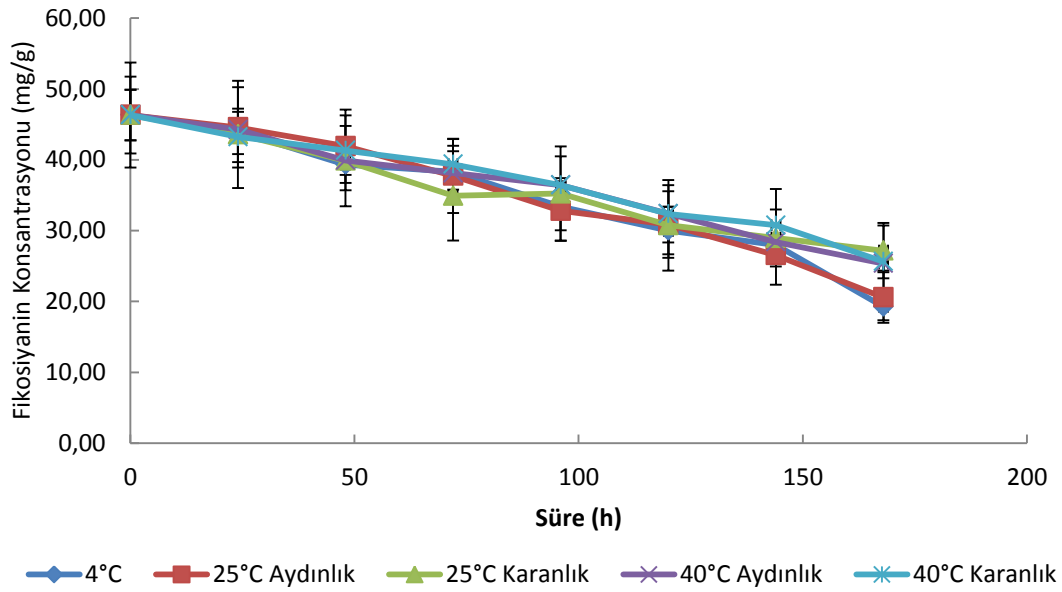
Aydınlık ve karanlık ortamın püskürtmeli kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerine de etkisinin olduğu da Şekil 4.27-4.29'da verilen grafiklerden görülmektedir. Aynı sıcaklık ve pH değerlerinde ışığın etkisiyle fikosiyanin miktarında azalma olduğu belirlenmiştir. 25°C'de pH 3.5, 4.6 ve 7 değerinde karanlık ortamda k değerleri 8.688, 7.925 ve 7.535 mg/g.gün iken aynı koşulda aydınlık ortamda 9.572, 8.635 ve 7.791 mg/g.gün olarak sıfıncı derece bozunma denkleminde faydalanılarak belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinde depolama süresi boyunca, toplam fikosiyanin konsantrasyonun değişiminin

sıfırıncı dereceden modelde incelenmesi sonucu elde edilen tüm R^2 değerleri 0.943'den büyüktür ve model uyumu göstermektedir.

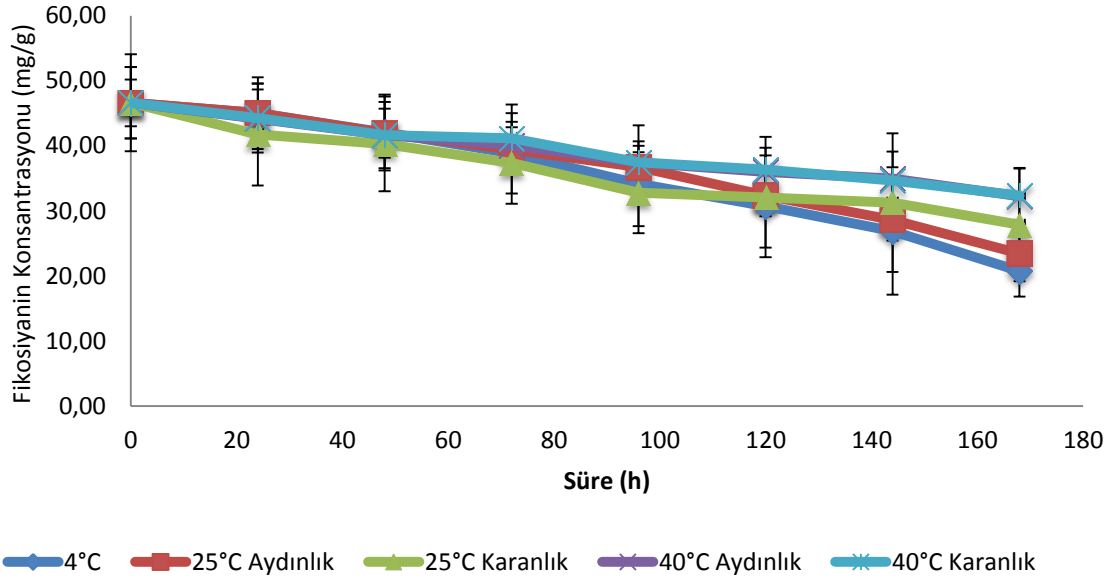
Çizelge 4.59. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin stabilite analiz koşulları ve modelleme değerleri

Ürün	Ortam pH	Ortam Koşulu	Ortam Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Derecesi			
				0. derece			
				k (mg/g. gün)	Co (mg/g)	R^2	$t_{1/2}$ (gün)
Püskürtmeli kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	3.5	Karanlık	4	6.737	122.5	0.984	8.91
		Aydınlık	25	9.572	120.5	0.974	6.27
		Karanlık	25	8.688	122.9	0.982	6.91
		Aydınlık	40	10.92	113	0.958	5.49
		Karanlık	40	10.03	118	0.958	5.98
	4.6	Karanlık	4	4.913	116.2	0.945	12.21
		Aydınlık	25	8.635	117.1	0.967	6.95
		Karanlık	25	7.925	116.2	0.962	7.57
		Aydınlık	40	10.07	110.8	0.943	5.96
		Karanlık	40	9.624	113.2	0.955	6.23
	7	Karanlık	4	2.875	120.4	0.989	20.87
		Aydınlık	25	7.791	119.2	0.988	7.70
		Karanlık	25	7.535	120.5	0.982	7.96
		Aydınlık	40	9.271	114.2	0.966	6.47
		Karanlık	40	8.424	114.5	0.960	7.12

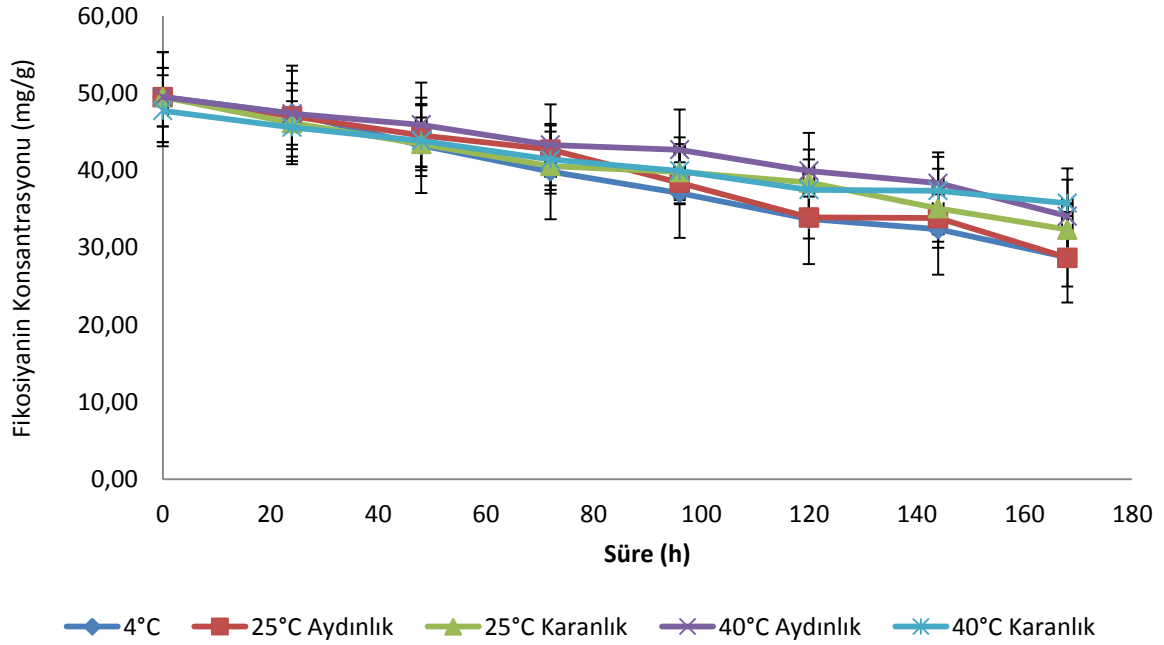
Optimum koaservasyon işlem koşullarında üretilmiş mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin üç farklı sıcaklık, üç farklı pH ve aydınlık/karanlık ortamlarda depolama periyodu boyunca toplam fikosiyanin miktarı değişimini gösteren grafikler Şekil 4.30-32'de görülmektedir. Şekillere ait veriler ise Ek 8'de bulunan Ek Çizelge 8(c)'de bulunmaktadır. Ayrıca toplam fikosiyaninin sıfırcı dereceden bozunma kinetik değerleri de Çizelge 4.60'da verilmiştir.



Şekil 4.30. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 3.5'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi



Şekil 4.31. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 4.6'da 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi



Şekil 4.32. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH 7'de 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

Optimum koşulda koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş örneklerin 1 hafta süresince 40°C'deki stabilitesinin 4°C ve 25°C'deki stabilitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.60' da belirtildiği üzere 40°C'de karanlık ortamda pH 3.5, 4.6 ve 7'de k değerleri 2.821, 1.971 ve 1.613 mg/g.gün ve yarılanma süreleri 7.09, 10.15 ve 12.40 gün olduğu yani ortam pH'sının artmasıyla örneklerdeki fikosiyaninin daha yavaş azaldığı belirlenmiştir. 4°C'de diğer ortamlara kıyasla en yüksek bozunma gözlenmiştir fakat model sabiti olan k değerlerinin ve yarılanma sürelerinin arasında belirgin bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Aydınlık ve karanlık ortamın koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerine de etkisinin olduğu da Şekil 4.30-4.32'da verilen grafiklerden görülmektedir. Aynı sıcaklık ve pH değerlerinde ışığın etkisiyle fikosiyanin miktarında azalma olduğu belirlenmiştir. 25°C'de pH 3.5, 4.6 ve 7 değerinde karanlık ortamda k değerleri 2.788, 2.511 ve 2.012 mg/g.gün iken aynı koşulda aydınlık ortamda 3.673, 3.26 ve 2.568 mg/g.gün olarak sıfırıncı derece bozunma denkleminde faydalanarak belirlenmiştir. Optimum koşulda koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinde depolama süresi boyunca, toplam fikosiyanin konsantrasyonunun değişiminin sıfırıncı dereceden modelde incelenmesi sonucu elde edilen tüm R^2 değerleri 0.912'den büyüktür ve model uyumu göstermektedir.

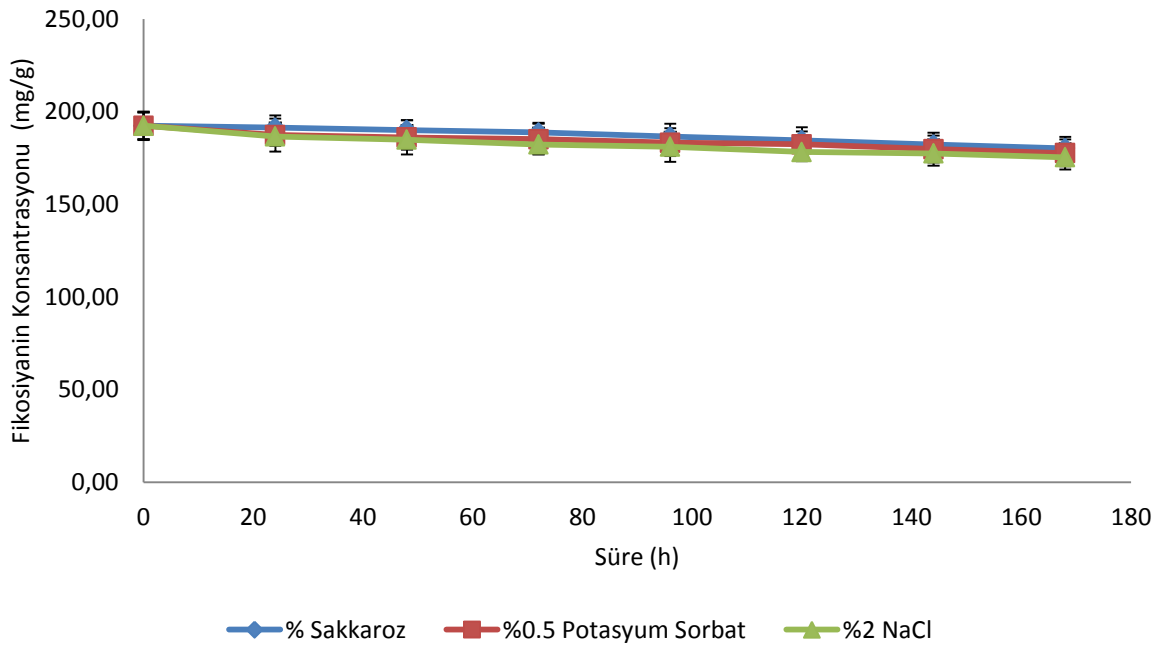
Çizelge 4.60. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin stabilite analiz koşulları ve modelleme değerleri

Ürün	Ortam pH	Ortam Koşulu	Ortam Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon Derecesi			
				0. dereceden			
				k (mg/g .gün)	Co (mg/g)	R ²	t _{1/2} (gün)
Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	3.5	Karanlık	4	3.601	47.43	0.966	5.55
		Aydınlık	25	3.673	48.02	0.982	5.45
		Karanlık	25	2.788	45.61	0.972	7.17
		Aydınlık	40	2.981	46.83	0.987	6.71
		Karanlık	40	2.821	46.8	0.983	7.09
	4.6	Karanlık	4	3.669	48.44	0.978	5.45
		Aydınlık	25	3.26	48.15	0.975	6.13
		Karanlık	25	2.511	45.01	0.966	7.96
		Aydınlık	40	1.952	45.95	0.991	10.25
		Karanlık	40	1.971	46.16	0.988	10.15
	7	Karanlık	4	2.61	47.45	0.987	7.66
		Aydınlık	25	2.568	48.15	0.943	7.79
		Karanlık	25	2.012	47.29	0.973	9.94
		Aydınlık	40	1.692	47.96	0.912	11.82
		Karanlık	40	1.613	46.6	0.979	12.40

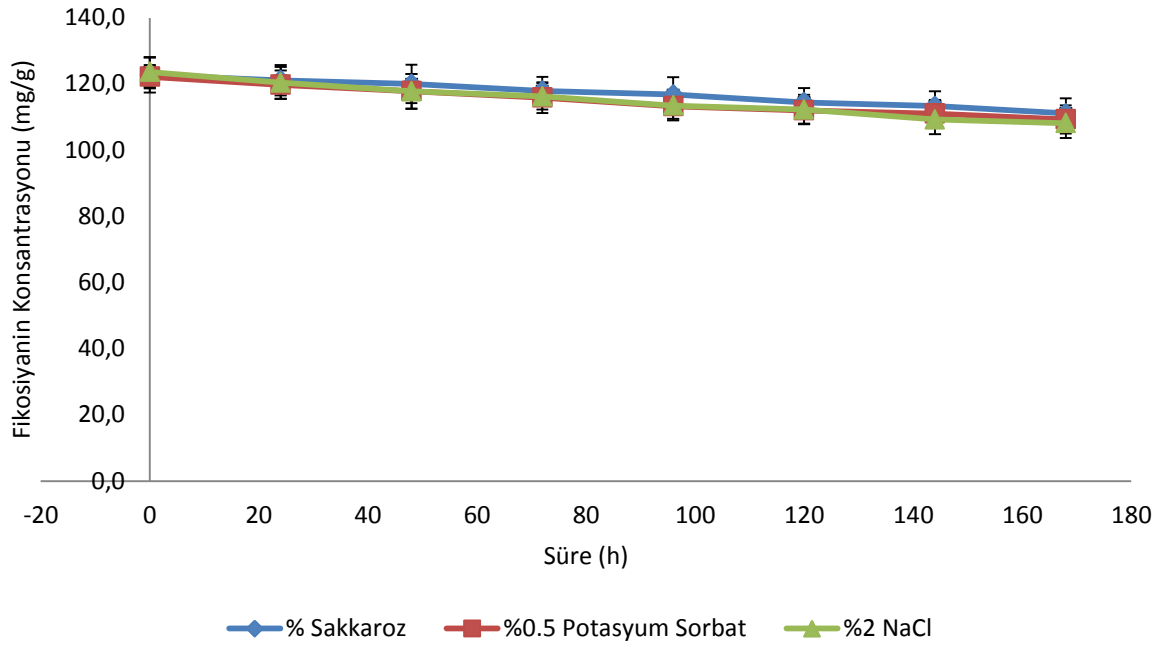
Tüm sonuçlar doğrultusunda enkapsüle edilmemiş saf fikosiyanin 4°C’de, pH 3.5 değerinde karanlık ortamda, püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin 4°C’de, pH 7 değerinde karanlık ortamda ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin ise 40°C’de, pH: 7 değerinde karanlık ortamda stabilitesini diğer durumlara göre daha iyi koruduğu sonucuna varılmıştır.

Elde edilen sonuçlar stabilite açısından en uygun sıcaklık ve pH koşullarında, %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortam koşulları için de stabilite çalışması yürütülmüştür.

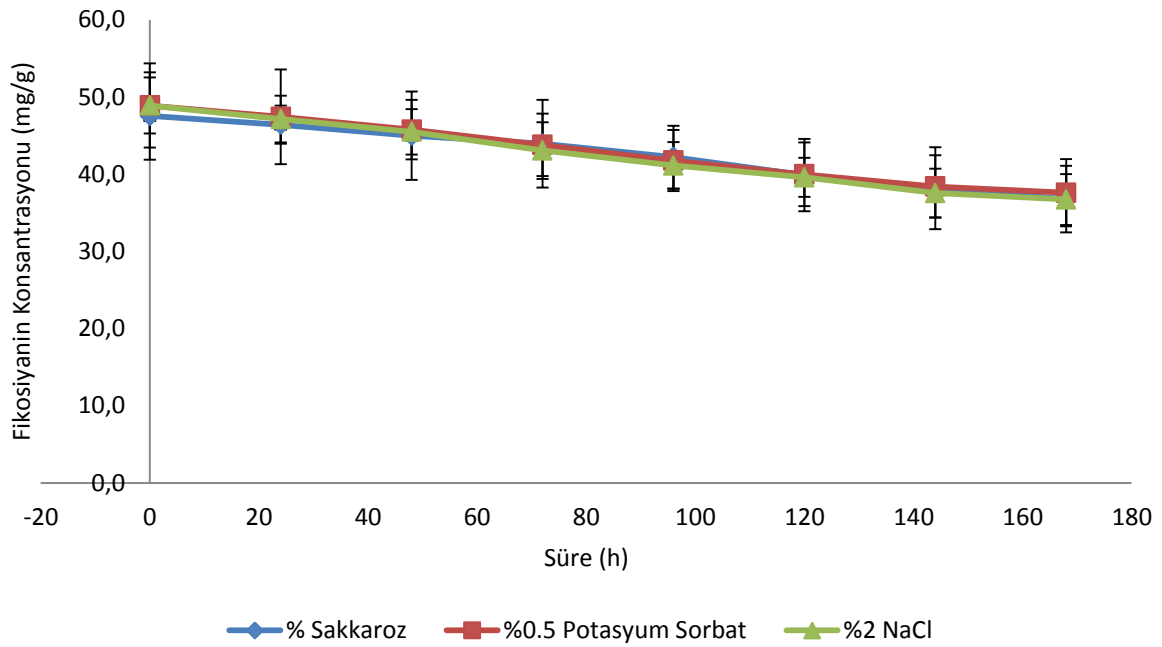
Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimini gösteren grafikler Şekil 4.33-4.35’de görülmektedir. Şekillere ait veriler ise Ek 8’de bulunan Ek Çizelge 8(d)’ de bulunmaktadır. Ayrıca toplam fikosiyaninin sıfırcı dereceden bozunma kinetik değerleri de Çizelge 4.61’de verilmiştir.



Şekil 4.33 Enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi



Şekil 4.34 Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosyanin miktarı değişimi



Şekil 4.35 Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosyanin miktarı değişimi

Çizelge 4.61. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikrokapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişiminin modelleme değerleri

Ürün	Katkı Maddesi	Reaksiyon Derecesi			
		0. derece			
		k (mg/g.gün)	Co (mg/g)	R ²	t _{1/2} (gün)
Saf Fikosiyanin	%5 Sakkaroz	1.783	193.2	0.983	53.28
	%0.5 Potasyum-sorbat	1.834	190.6	0.954	51.80
	%2 NaCl	2.212	189.9	0.951	42.95
Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	%5 Sakkaroz	1.643	122.9	0.994	36.52
	%0.5 Potasyum-sorbat	1.826	121.5	0.986	32.86
	%2 NaCl	2.182	122.7	0.988	27.50
Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	%5 Sakkaroz	1.590	48.04	0.989	14.15
	%0.5 Potasyum-sorbat	1.708	48.91	0.992	13.17
	%2 NaCl	1.818	48.79	0.993	12.38

Çizelge 4.61' deki sonuçlara göre enkapsüle edilmemiş saf fikosiyanin 4°C'de, pH: 3.5 değerinde karanlık ortamda, 1 hafta süresince %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortam koşullarında bozunma kinetiği incelendiğinde elde edilen k değerleri sırayla 1.783, 1.834 ve 2.212 mg/g.gün dir. Şekil 4.33' de verilen grafik incelendiğinde toplam fikosiyanin miktarının %5 Sakkaroz içeren ortamda daha stabil kaldığı görülmektedir. Enkapsüle edilmemiş saf fikosiyanin örneklerinin gıda katkı maddelerine eklenmeden önceki yarılanma süresi 14.73 gün olarak belirlenmişken analiz sonrasında sırayla 53.28, 51.80 ve 42.95 gün olarak hesaplanmıştır.

Optimum koşulda püskürtmeli kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin 4°C'de, pH: 7 değerinde karanlık ortamda, 1 hafta süresince %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren farklı gıda ortam koşullarında bozunma kinetiği incelenmiştir. Çizelge 4.61' de toplam fikosiyanin konsantrasyonu değişiminin sıfırıncı dereceden modelde incelenmesi sonucu elde edilen k değerleri sırayla 1.643, 1.826 ve 2.182 mg/g.gün' dir. Şekil 4.34' de verilen grafik incelendiğinde toplam fikosiyanin miktarının %5 Sakkaroz içeren ortamda daha stabil kaldığı görülmektedir. Gıda katkı maddelerine

eklenmeden önceki yarılanma süresi 20.87 gün olarak belirlenen örneğin analiz sonrasında sırayla 36.52, 32.86 ve 27.50 gün olarak hesaplanmıştır.

Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH:7'de 40°C sıcaklıkta ve karanlık ortamda 1 hafta süresince %5 Sakkaroz, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi de Şekil 4.35 ' de görülmektedir. Şekil 4.34' de verilen grafik incelendiğinde toplam fikosiyanin miktarının %5 Sakkaroz içeren ortamda daha stabil kaldığı fakat, %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren ortamlarda da stabil olduğu görülmektedir. Çizelge 4.61' de toplam fikosiyanin konsantrasyonu değişiminin sıfırcı dereceden modelde incelenmesi sonucu elde edilen k değerleri sırayla 1.590, 1.708 ve 1.818 mg/g.gün' dür. Gıda katkı maddelerine eklenmeden önceki yarılanma süresi 12.70 gün olarak belirlenen örneğin analiz sonrasında sırayla 14.15, 13.17 ve 12.38 gün olarak hesaplanmıştır.

Toplam fikosiyanin konsantrasyonu değişiminin sıfırcı dereceden modelde incelenmesi sonucu elde edilen tüm R^2 değerleri 0.95'den büyüktür ve model uyumu göstermektedir. Kullanılan tüm gıda katkı maddelerinin toplam fikosiyanin değişimini olumlu yönde etkilediği de görülmektedir. Stabilité çalışması gerçekleştirilen tüm örneklerin %5 Sakkaroz içeren ortamda daha stabil kaldığı fakat %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren ortamlarda da stabil olduğu belirlenmiştir. Katkı maddelerinin eklenmesinin ürünlerin stabilitesine katkı sağladığı sonucuna varılmıştır.

Stabilité analizleri renk maddesi içeren ürünlerin üretim, paketlenme ve depolama koşullarını belirleyebilmek için ürün hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olunması için gereklidir. Fikosiyanin ışık ve yüksek sıcaklığa karşı düşük stabilite göstermesine rağmen, diğer mavi renkli boya maddelerine göre daha parlak bir renge sahip olması onu daha cazip kılmaktadır. İndigo mavisi birçok ülkede yasal sınırlamalar nedeni ile gıda boyası olarak kabul edilmemekte ve pratik uygulamalarda düşük stabilite göstermektedir. Gardenya mavisi ise oldukça yüksek stabilite göstermekte ve sıvı ürünlerde renklendirici olarak kullanılmakta ancak katı ürünlerde renk kaybı olmakta ve yeşil-mavi bir renge dönüşmektedir. Bu gibi olumsuzluklar göz önüne alındığında fikosiyaninin mavi renkli diğer renklendiricilere göre daha kullanışlı olduğu ve bir takım ambalaj materyalleri ile stabilite sorununun önüne geçilebileceği düşünülmektedir (Jespersen et al., 2005).

Gerçekleştirilen stabilite çalışmalarında tüm örnekler bir haftalık analiz süresince fikosiyanin stabilitesini hemen hemen korurken, ışık altındaki bu düşüş, ışığın stabilite üzerindeki olumsuz etkisini göstermektedir. Jespersen et al. (2005), gardenya mavisinin ışığa karşı dirençli olduğunu ancak fikosiyaninin belirgin şekilde denatüre olduğunu ifade etmiştir. Organizma içerisindeki fikosiyanin gelen ışığı fotosisteme aktararak kendini sürekli yenilemektedir, ancak saf fikosiyaninde bu durum söz konusu olmadığından yenilenme mümkün olmamakta ve denatürasyon gerçekleşmektedir.

Püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri ile enkapsüle edilerek, fikosiyaninin ışığa olan bu hassasiyetinin önüne geçilmeye çalışılmış ve elde edilen sonuçlara göre ışığın etkisi gözlenmiş fakat bozunma reaksiyonun daha yavaş gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.58-4.60)

Jespersen et al. (2005) sıcaklığın etkisiyle meydana gelen denatürasyonun pH 7’de pH 5’e göre daha yüksek olduğunu göstermiş ve bunun nedeninin proteinin yapısındaki agregasyonların farklılığından kaynaklandığını, düşük agregasyonlarda sıcaklığa karşı daha az stabil kaldığını belirtmiştir. pH 5’te hegzamer yapısının baskın olduğunu ve bu yapının fikosiyanine dayanıklılık kazandırdığını ifade etmiştir. Bir kırmızı alg türü olan *Porphyridium aerugineum*’dan elde edilen fikosiyaninin pH’daki değişimlerden etkilenmediği, ışık altında stabilitesini koruduğu, ancak sıcaklığa karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir. pH 4-5 aralığında 60°C’de 40 dakika boyunca stabil kaldığı elde edilen bulgular arasındadır ve siyanobakterilerden elde edilen fikosiyaninlerde böyle güçlü bir stabiliteye rastlanmamıştır. *Porphyridium aerugineum*’dan elde edilen fikosiyaninin bu özelliği sayesinde gıdalarda kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Elde edilen mavi renk ısı uygulanmaksızın Pepsi ve Bacardi Breezer ürünlerine ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 ay boyunca depolanmış ve depolama sonrasında renk kaybının oluşmadığı bildirilmiştir (Dufosse et al., 2005).

4.5. Model gıda denemeleri

Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin doğal renk maddesinin renklendirici olarak gıda ürünlerinde kullanımının değerlendirilmesinde; model gıda olarak seçilen krem şanti (yağ ve şeker içeriği yüksek ürün), dondurma (yağ ve şeker içeriği yüksek ürün), krema (yağ içeriği yüksek ürün), asitli ve gazlı içecek (asidik ortam), jöle (şeker içeriği yüksek ürün) ve kek pişirme (ısıtıl işlem etkisi) denemeleri gerçekleştirilmiştir. Model gıda ürünlerine özgü

olarak belirlenen depolama süresince ürünlerin Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyusal özellikleri Ek 9' da verilmiştir. Ek Şekil 10' da tüm model gıda denemelerine ait duyusal örnekler verilmiştir.

Sentetik mavi renklendirici olarak kullanılan brilliant blue'nun (E133) kullanımına dair yasal sınırlandırmalarda belirlenmiş olan günlük alım miktarı 100 mg/kg göz önünde bulundurularak model gıda denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Ek Çizelge 9(a)-9(b)-9(c)-9(d)' de kremşanti, dondurma, krema ve jölenin 7 gün depolanması süresince belirlenen Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyusal değerlendirme ile belirlenen özellikleri verilmiştir. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin ve brilliant blue sentetik renklendirici kullanılarak hazırlanmış kremşantiye ait maviliği ifade eden -b değerleri sırayla -10.18, -6.51, -0.27 ve -16.84 olarak başlangıçta ölçülmüştür. 1 haftanın sonunda ürünlerde bozulmanın meydana geldiği fakat renk kaybının duyusal değerlendirmeyi etkilemediği belirlenmiştir (Ek Çizelge 9 (a)).

Model gıda denemelerinde dondurma ürünüde enkapsüle edilmemiş fikosiyanin ile hazırlanan örnekler ve püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda üretilen örneklerde genel beğeni yaklaşık 4 değerindedir. Ek Çizelge 9 (b)'de dondurmaların görünüş, doku ve tat kriterlerine eklenen fikosiyanin örneklerinin belirgin bir etkisinin olmadığı duyusal değerlendirme sonucu belirlenmiştir. Maviliği ifade eden -b değeri ise enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin ve brilliant blue kullanılarak hazırlanmış ürünlerde sırasıyla -7.39, -15.15, 1.90 ve -22.37 olarak belirlenmiştir. Depolama süresince duyusal değerlendirmede renk değeri ve Hunter L*, a* ve b* renk değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir.

Yağ içeriği en yüksek olan hazır krema ürününe ait değerlendirmeler Ek Çizelge 9(c)' de verilmektedir. Hunter L*, a* ve b* renk ölçümlerinde diğer ürünlere kıyasla daha düşük -b değerleri belirlenmiştir. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin ve brilliant blue kullanılarak hazırlanmış ürünlerin yağlı ortamda da homojen karışım oluşturduğu fakat depolama süresince mavi rengin yüzeyde toplandığı ve -b değerlerinin artış gösterdiği belirlenmiştir.

Ek Çizelge 9(d)'de enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin ve brillant blue kullanılarak hazırlanmış jöle örneklerinin Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyusal değerlendirmesi bulunmaktadır. Örneklerin başlangıç -b değerleri sırasıyla -10.35, -11.79, -6.92 ve -12.18 olarak belirlenmiş ve parlak mavi renk gözlemlenmiştir. Duyusal değerlendirmelerde sentetik renklendiriciye kıyasla yakın değerler almış ve ürünün görünüş, doku, tat gibi kriterlerini etkilemediği de belirlenmiştir.

Asitli-gazlı içecek model gıda denemesinde enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin tam olarak çözünmediği, zamanla dipte çöktüğü gözlemlenmiştir. Püskürtmeli kurutma optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin ise sıvı ortamda iyi çözündüğü ve duyusal değerlendirmede renk kriteri açısından yeterli olduğu belirlenmiştir (Ek Çizelge 9 (e)). Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin jelimsi yapısı nedeniyle sulu ortamda çözünmediği ve istenilen rengi ve görünüşü sağlayamadığı belirlenmiştir. Koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilen fikosiyaninin işlem sırasında fikosiyanin kaybına uğramasından elde edilen ürünleri renklendirmede yetersiz kaldığı gözlemlenmiştir.

Pişırmenin etkisini belirlemek için gerçekleştirilen kek model gıda denemesinde enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin örneklerinin pişirme sırasında kayba uğradığı yüksek sıcaklığa dayanmadığı belirlenmiştir. Bunun yanısıra eklenen enkapsüle edilmiş ve edilmemiş fikosiyanin örneklerinin ürünün görünüş, doku ve tat kriterleri üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Ek Çizelge 9 (f)).

5. SONUÇ

Bu tez çalışması kapsamında doğal renk maddesi olarak *Spirulina platensis*'den mavi renge sahip fikosiyanin pigmentlerinin ekstraksiyonu, bu pigmentlerin enkapsülasyon teknolojisi ile çevresel koşullara karşı stabilitelerinin artırılması, enkapsüle renk maddelerinin model gıda örnekleri içerisinde kullanılması ve stabilitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Fikosiyanin, siyanobakterilerde (mavi-yeşil algler) yüksek oranda bulunan mavi renkli bir pigmenttir. Bazı siyanobakterilerin toksik özellik taşıma riski nedeniyle bu çalışmada kullanılmak üzere gıdalarda kullanımının güvenli olduğu bilinen ve FDA onaylı *Spirulina platensis* hedef organizma olarak seçilmiştir.

Ekstraksiyon aşamasında kullanılan *Spirulina platensis* biyokütlenin olası endüstriyel kullanım koşulları göz önünde bulundurularak, kuru, dondurulmuş ve yaş olmak üzere 3 farklı formunun pigment üretimi üzerine etkisi değerlendirilmiş ve en uygun ön işlemin maksimum fikosiyanin miktarını sağlayan dondurulmuş form olduğuna karar verilmiştir. Fikosiyanin ekstraksiyonunda uygun çözücü tipi seçilerek, seçilen çözücü ortamda klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemlerine özgü işlem değişkenleri (biyokütle/çözgen oranı, süre, hız, titreşim, güç) ve toplam fikosiyanin miktarı dikkate alınarak, CCRD deneme desenine göre optimize edilmiş ve pigmente özgü en uygun ekstraksiyon yöntemi belirlenmiştir. Klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemleriyle %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda mavi rengin diğer çözgenlere göre baskın olduğu gözlemlenmiştir. %1.5 CaCl₂ (w/v) çözeltisi *S. platensis*'in hücre yapısına zarar vermeden fikosiyaninin elde edilmesini sağlamıştır.

Spirulina platensis'den fikosiyanin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla klasik, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Her bir ekstraksiyon yöntemine özgü işlem parametreleri CCRD deneme deseni kullanılarak, Desirability fonksiyon yaklaşımına göre maksimum toplam fikosiyanin miktarı ve kabul edilebilir toplam fenolik madde miktarı ve TEAC antioksidan aktivitesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ekstrakte edilen en yüksek fikosiyanin miktarının sırası ile ultrasonik, klasik ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edildiği belirlenmiştir. Fakat ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda diğerlerine

kıyasla daha yüksek toplam fikosiyanin miktarı elde edilmişse de, işlem sırasında uygulanan yüksek kavitasyon nedeniyle hücre tamamiyle parçalanmakta ve hücre içerisinde yer alan bileşenler de ekstrakta geçmektedir. Bu nedenle elde edilen renk koyu yeşile dönmektedir. Bu durum her ne kadar toplam fikosiyanin miktarı yüksek ürün eldesini sağlasa da albenisi yüksek mavi rengin eldesini sağlayamamaktadır. Üç farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında yüksek toplam fikosiyanin konsantrasyonu ve albenisi yüksek mavi rengin elde edilmesinde, klasik ekstraksiyon yöntemiyle %1.71 (w/w) biyokütle/çözgen oranında, 6237.66 dev/dak homojenizasyon hızında 15 dakika süresince gerçekleştirilen ekstraksiyonda elde edilen 67.60 mg/g toplam fikoyanın miktarı seçilmiştir. Bu aşama sonrasında mikroenkapsülasyon işlemlerinde kullanılmak üzere gerekli olan fikosiyanin için gerçekleştirilecek bütün ekstraksiyon işlemleri klasik ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle optimum işlem koşulunda ekstrakte edilen fikosiyanin %70-30 amonyum sülfat çöktürme ve diyaliz yöntemi ile saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Gıdalarda kullanılabilecek düzeyde saflaştırılan fikosiyanin püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri ile enkapsüle edilerek çevresel koşullara karşı stabilitelerinin arttırmak amaçlanmıştır. Her bir enkapsülasyon yöntemi için uygun kaplama materyali kombinasyonunun karışım oranlarını ve enkapsülasyon yöntemine özgü işlem parametrelerini belirlemek amacıyla birleşik D-Optimal dizayn deneme desenine göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Optimizasyonda maksimum enkapsülasyon etkinliği yanıt olarak seçilmiştir. Design-Expert paket programı kullanılarak belirlenen optimum püskürtmeli kurutucu koşulları; kaplama materyali karışım oranı %34.4 maltodekstrin, %65.6 peyniraltı suyu protein izolatu ve hava giriş sıcaklığı 167.6°C şeklindedir. Optimizasyon çalışmasında yanıt olarak kullanılmayan fakat mikroenkapsüle fikosiyanin örnekleri için oldukça önemli olan mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünübilirlik değerleri, partikül çapı, açıklık, tekdüzellik, partikül morfolojisi, FT-IR özellikleri de incelenmiştir. Diğer bir mikroenkapsülasyon yöntemi olan koaservasyon işleminde Design-Expert paket programı kullanılarak belirlenen optimum koşullar kaplama materyali karışım oranı %26.67 gum arabik, %73.33 jelatin ve çözelti sıcaklığı 45.68°C olarak belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmasında yanıt olarak kullanılmayan fakat mikroenkapsüle fikosiyanin örnekleri için oldukça önemli olan

mikroenkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı, Hunter L*, a* ve b* renk değerleri, çözünübilirlik değerleri ve FT-IR özellikleri de incelenmiştir.

Saflaştırılmış, optimum noktada püskürtmeli kurutma ve optimum noktada koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örneklerinin stabiliteleri farklı sıcaklık, pH, gıda katkı maddeleri, aydınlık/karanlık ortam koşullarında belirlenmiştir. Enkapsüle edilememiş saf fikosiyaninin ve püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda üretilen fikosiyaninin sonuçlarına göre örneklerin 1 hafta süresince 4°C'deki stabilitesinin 25°C ve 40°C'deki stabilitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda üretilen fikosiyaninin sonuçlarında ise 40°C'de daha stabil yapının oluştuğu ve koaservasyon yöntemi ile elde edilen ürünlerin başlangıçta fikosiyanin kaybına neden olmasına rağmen stabilite işlemi süresince yavaş bozunmayı sağladığı belirlenmiştir. Belirlenen en stabil pH, sıcaklık ve ışık ortamında, gıda katkı maddesine karşı stabilite çalışması gerçekleştirilen tüm örneklerin %5 Sakkaroz içeren ortamda daha stabil kaldığı fakat %0.5 Potasyum-sorbat ve %2 NaCl içeren ortamlarda da stabil olduğu belirlenmiştir. Katkı maddelerinin eklenmesinin ürünlerin stabilitesine katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Stabilite çalışmasında toplam fikosiyanin miktarının zamana bağlı değişimi sıfırcı dereceden bozunma kineği dikkate alınarak bozunma hızları ve yarılanma süreleri belirlenmiştir.

Ayrıca bu örnekler renklendirici olarak krem şanti, dondurma, krema, asitli ve gazlı içecek, jöle ve kek gibi model gıdalar içerisinde kullanılmış ve stabiliteleri test edilmiştir. Bunun yanısıra gıda endüstrisinde mavi rengi sağlamak amacıyla kullanılan sentetik mavi renklendirici Brilant blue (E133) de aynı model gıdalarda denenerek stabiliteleri mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanin örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Koaservasyon yöntemiyle mikroenkapsüle edilen fikosiyaninin işlem sırasında fikosiyanin kaybına uğramasından elde edilen ürünleri renklendirmede yetersiz kaldığı gözlemlenmiştir. Bunun yanısıra eklenen enkapsüle edilmiş ve edilmemiş fikosiyanin örneklerinin ürünün görünüş, doku ve tat kriterleri üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Yüksek ısı işlem etkisiyle kek pişirme sırasında fikosiyanin içeren örneklerde renk kaybı olduğu da yapılan denemelerde belirlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abalde, J., Betancourt, L., Torres, E., Cid, A. and Barwell, C.** 1998. Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. *Plant Science*, 136:109-120 pp.
- Adir, N. and Lerner, N.** 2003. The crystal structure of a novel unmethylated form of C-phycocyanin, a possible connector between cores and rods in phycobilisomes. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 25926-25932 pp.
- Adir, N., Dobrovetsky, Y. and Lerner, N.** 2001, Structure of C-phycocyanin from thermophilic cyanobacterium *Synechococcus vulcanus* at 2.5 Å: structural implications for thermal stability in phycobilisome assembly. *Journal of Molecular Biology*, 313: 71-81 pp.
- Akoğlu, A. ve Çakmak, L.M.** 2011. “Siyanobakterilerden Elde Edilen Fikosiyaninin Kullanım Alanları”, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 28(4), 137-141s.
- Alexander, K. and King, C.J.,** 1985, Factors governing surface morphology of spray-dried amorphous substances, *Drying Technology*, 3(3):321-348 pp.
- Anker, M.H. and Reineccius, G.A.,** 1988, Encapsulated orange oil: influence of spray-dryer air temperatures on retention and shelf life, Flavor Encapsulation, Risch, S.J. and Reineccius, G.A. (Eds), *American Chemical Society*, Washington, DC. Chapter 9, 78–86 pp.
- Anonim** 2016a. *Spirulina* Bilimsel Klinik Araştırma Referansları. www.algbiotek.com
- Anonim** 2016b. *Spirulina* ile Yapılmış Bilimsel Araştırmalar. www.algbiotek.com
- Anonim** 2016c "Colorhexa: color encyclopedia: information and conversion" www.colorhexa.com, 17.11.2016.
- Araujo, G.S., Matos, L.J., Fernandes, J.O., Cartaxo, S.J., Gonçalves, L.R., Fernandes, F.A., Farias, W.R.,** 2013. Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: prospection of the optimal extraction method. *Ultrasonic Sonochemistry* 20, 95–98 pp.
- Augustin, M.A., Sanguansri, L., Margetts, C. and Young, B.,** 2001, Microencapsulation of food ingredients. *Food Australia*, 53: 220–223pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Baik, M.Y., Suhendro, E.L., Nawar, W.W., McClements, D.J., Decker, E.A. and Chinachoti, P.** 2004, Effects of antioxidant and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81: 355-360 pp.
- Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I. and Empis, J.** 2006, Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocolloids*, 20:44–52 pp.
- Benedetti, S., Rinalducci, S., Benvenuti, F., Francogli, S., Pagliarani, S., Giorgi, L., Micheloni, M., D'Amici, G.M., Zolla, L. and Canestrari, F.** 2006, Purification and characterization of phycocyanin from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. *Journal of Chromatographic B*, 833:12-18 pp.
- Bennett, A. and Bogarad, L.** 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*, 58:419-435 pp.
- Bennion, E.B., and Bamford, G.S.T.,** 1973. "The Technology of Cake Making", 5th ed., *International Textbook Company*, Lmt.
- Berg, J. L.** 1992. 'Topics planned for future issues', *Computer Standards & Interfaces*, 14(4). 273 pp.
- Beristain, C. I., Azuara, E., and Vernon-Carter, E. J.,** 2002, Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis Juliflora*) as wall material. *Food Engineering and Physical Properties*, 67: 206-211pp.
- Bermejo, P., Piñero, E. and Villar, Á.M.** 2008. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 110: 436-445 pp.
- Bermejo, R., Felipe, M.A., Talavera, E.M. and Alvarez-Pez, J.M.,** 2006, Expanded bed adsorption chromatography for recovery of phycocyanins from the microalga *Spirulina platensis*, *Chromatographia*, 63:59-66 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bermúdez Menéndez, J.M., Arenillas, A., Menéndez Díaz, J.A., Boffa, L., Mantegna, S., Binello, A. and Cravotto, G.,** 2014, "Optimization of microalgae oil extraction under ultrasound and microwave irradiation", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 89, 1779–1784 pp.
- Bhaskar, S.U., Gopalaswamy, G. and Raghu, R.** 2005, A simple method for efficient extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* Geitler,” *Indian Journal of Experimental Biology*, 43(3): 277–279 pp.
- Bhat, V.B. and Madyastha, K.M.** 2000, C-phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger *in vivo* and *in vitro*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275(1): 20–25 pp.
- Borhan, F.P., Abd Gani, S.S. and Shamsuddin, R.,** 2014, The use of D-Optimal mixture design in optimising okara soap formulation for stratum corneum application. *The Scientific World Journal*, 1-8 pp.
- Boussiba, S. and Richmand, A.E.** 1979. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives Microbiology*, 120: 155-159 pp.
- Box, G.E. and Wilson, K.B.,** 1951, On the experimental attainment of optimum conditions, *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*, 13(1):1-45 pp.
- Box, G.E., Hunter, J.S. and Hunter, W.G.,** 2005, *Statistics for Experimenters: Design, Innovation, and Discovery*, John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.
- Box, G.E.P. and Draper, N.R.,** 2007, *Empirical Model Building and Response Surfaces*, John Wiley and Sons, New York.
- Butstraen, C. and Salaün, F.** 2014, ‘Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan’, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 99, 608–616 pp.
- Büyüktuncel, E.** 2012. “Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I.”, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 209-242 ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M. and Cal-Vidal, J.**, 2005, Effect of the carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6,:420-428 pp.
- Capelo, J.L. and Mota, A.M.** 2005, Ultrasonication for analytical chemistry, *Current Analytical Chemistry*, 1(2), 193 pp.
- Cemeroğlu, B.**, 2010, Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34, 2. Baskı, Ankara, s. 185-190, 351-362 ss.
- Chaiklahan, R., Chirasuwana, N. and Bunnag, B.** 2012, Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry*, 47:659–64 pp.
- Chauhan, V. S., Sharma, A.** 2003, Studies on organoleptic properties of food products from fresh egg and egg powder through principal component analysis, *Food/Nahrung*, 47(2): 102-105 pp.
- Chegini, G.R. and Ghobadian, B.**, 2005, Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder, *Drying Technology*, 23:657-668 pp.
- Chiriboga, C. and Francis, F.J.**, 1970. "An anthocyanin recovery system from cranberry pomace". *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 9: 223-236 pp.
- Chun, J. Y., Hong, G. P., Surassmo, S., Weiss, J., Min, S. G. and Choi, M. J.** 2014. 'Study of the phase separation behaviour of native or preheated WPI with polysaccharides', *Polymer (United Kingdom)*. Elsevier Ltd, 55(16), pp. 4379–4384 pp
- Cochran, W.G. and Cox, G.M.**, 1957, Experimental Designs. John Wiley and Sons, New York.
- Contreras-Martel, C., Matamala, A., Bruna C., Poo-Caamaño, G., Almonacid, D., Figueroa, M., Martínez-Oyanedel, J. and Bunster, M.** 2007, "The structure at 2 °A resolution of Phycocyanin from *Gracilaria chilensis* and the energy transfer network in a PC-PC complex," *Biophysical Chemistry*, 125(2-3): 388–396 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cravotto G, Boffa L, Mantegna S, Perego P, Avogadro M. and Cintas P.** 2008, "Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves", *Ultrasonic Sonochemistry*, 15:898–902 pp.
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M. and Cintas, P.,** 2008, "Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves" *Ultrason. Sonochem.* 15, 898–902 pp.
- Cui, W., Mazza, G., Oormah, B.D. and Biliaderis, C.G.,** 1994, Optimization of an aqueous extraction process for flaxseed gum by response surface methodology, *LWT-Food Science and Technology*, 27:363-369 pp.
- Delay, M.C., Cirik, S. ve Kuru, E.,** 2001, Türkiye Ege Bölgesi İklim Koşullarında Açık Hava Kùltürleri İçin Uygun *Spirulina platensis* (Stiz.) Geitl, 1930 Suşunun Tespiti. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 18(3-4): 523-528 ss.
- Delay, M.C., İmamoğlu, E. ve Öncel, S.,** 2008, Mikroalgal Biyokütle Üretimi için Düşük Maliyetli Fotobiyoreaktör Tasarımı, TÜBİTAK MAG Proje 104M354, 2008: 1-102 ss.
- Day, S. and Rathod, V.K.** 2013, Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1):271-276 pp.
- de Kruif, C. G., Weinbreck, F., and de Vries, R.,** 2004, Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5):340-349 pp.
- Dere, Ş., Güneş, T. ve Sivaci, R.,** 1998, Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents, *Turkish Journal of Botany*, 22, 13–16 pp.
- Derringer, G. and Suich, R.,** 1980, Simultaneous Optimization of Several Response Variables, *Journal of Quality Technology*, 12(4):214-219 pp.
- Desai, K.G.H., and Park, H.J.,** 2005, Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23: 1361–1394 pp.
- deVilder, J., Martens, R. and Naudts, M.,** 1976, Influence of process variables on some whole milk powder characteristics, *Milchwissenschaft*, 31(7):396-401 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dima, C., Cotârlet, M., Alexe, P. and Dima, S.** 2014, Reprint of Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier Ltd, 25(C), 97–105 pp.
- Doke, J. H.** 2005, An improved and efficient method for the extraction of phycocyanin from *Spirulina* sp, *International Journal of Food Engineering*, 1(5): 2 pp.
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S. and Zhang, X.,** 2011, Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation, *Journal of Food Engineering*. Elsevier Ltd, 104(3), 455–460 pp.
- Dufossé, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S. M., Blanc, P., Murthy, K. N. C. and Ravishankar, G. a** ,2005, Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: A scientific oddity or an industrial reality?, *Trends in Food Science and Technology*, 16(9), 389–406 pp.
- Dziezak, J.D.,** 1988, Microencapsulation and encapsulation ingredients, *Food Technology*, 42:136–151pp.
- Edris, A. and Bergnstahl, B.,** 2001, Encapsulation of orange oil in a spray drier double emulsion. *Nahrung/Food*, 45, 133-137 pp.
- Elksibi, I.,Haddar, W.,Ticha, M.B., Gharbi R. and Mhenni, M.F.,** 2014, Development and optimisation of a non conventional extraction process of natural dye from olive solid waste using response surface methodology (RSM), *Food Chemistry*, 161 345–352 pp.
- Eratte, D., Wang, B., Dowling, K., Barrow, C. J. and Adhikari, B. P.,** 2014, Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil, *Food & function*, 5(11), 2743–50 pp.
- Erdal, P. ve Ökmen, G.** 2013. Gıdalarda Kullanılan Mikrobiyal Kaynaklı Pigmentler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2), 58-72 ss.
- Eren, İ.,** 2004, Patateslerin osmotik dehidrasyonunun “response surface” metodu kullanılarak optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Eren, İ.ve Kaymak-Ertekin, F.**, 2007, Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology, *Journal of Food Engineering*, 79:344-352 pp.
- Eriksen, N.T.** 2008. Production of phycocyanin – a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80:1-14 pp.
- Eriksson, L.**, 2008, Design of experiments: principles and applications, MKS Umetrics AB, 217-223 pp,
- Ersus, S., ve Yurdagel, U.**, 2007, Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80: 805-812 pp.
- Eskilsson, C.S. and Bjorklund, E.**, 2000, "Analytical-scale microwave-assisted extraction", *Journal of Chromatography A*, 902(1):227 pp.
- Foust, A.S., Wenzel, L.A., Clump, C.W., Maus, L. and Anderson, L.B.**, 1976, Principles of Unit Operations, John Willey and Sons, New York.
- Freund, P. R., Washam, C. J., and Maggion, M.** 1988. Natural color for use in foods. *Cereal Food World* 33: 553-559 pp.
- Fuleki, T., and Francis, F. J.**, 1968, Quantitative methods for anthocyanins. 3. Purification of cranberry anthocyanin. *Journal of Food Science*, 33, 266–274 pp
- Gantt, E.** 1975, Phycobilisomes: light harvesting pigment complexes, *BioScience*, 25(12): 781–788 pp.
- Geankoplis, C.J.**, 1983, Transport Processes and Unit Operations, Allyn and Bacon Series in Engineering, USA.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R.**, 2007, Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Research International*, 40:1107–1121 pp.
- Gibbs, B.F., Kermasha, S., Alli, I., and Mulligan, C.N.**, 1999, Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50: 213–224 pp.
- Glazer, A.N.**, 1994, Phycobiliproteins-a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*, 6: 105-112 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gouin, S.** 2004. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science Technology*. 15: 330–347 pp.
- Graverholt, O.S.** 2004, Production and characterization of phycocyanin in different isolates of *Galdieria sulphuraria* [M.S. thesis], Aalborg University, Aalborg, Denmark.
- Green, B.K., and Scheicher, L.,** 1955, Pressure Sensitive Record Materials. US Patent, Ncr C, no. 2:217, 507 pp.
- Gu, Z., Chen, D., Han, Y., Chen, Z. and Gu, F.,** 2008. "Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*". *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1082– 1088 pp.
- Gupta A. and Sainis, J.K.** 2010, Isolation of C-phycocyanin from *Synechococcus* sp., (*Anacystis nidulans* BD1), *Journal of Applied Phycology*, 22(3):231–233 pp.
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G. and Romani, A.** 2005, ‘Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans.’, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53(8), pp.
- Heinzen, C.,** 2002, Microencapsulation solve time dependent problems for foodmakers. *European Food and Drink Review*, 3: 27–30 pp.
- Henrikson, R.** 2011. Development of a Spirulina Industry-Marketing. <http://www.algaeindustrymagazine.com/special-report-spirulina-part-6/>, Erisim tarihi: 28.01.2012.
- Herrera, A., Boussiba, S., Napoleone, V. and Hohlberg, A.** 1989, Recovery of Cphycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina maxima*. *Journal of Applied Phycology*, 1: 325-331 pp.
- Herrero, M., Cifuentes, C. and Ibanez, E.** 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-byproducts, algae and microalgae. *Food Chemistry*, 98:136-148 pp.
- Hirata, T., Tanaka, M., Ooike, M., Tsunomura, T. and Sakaguchi, M.** 2000, Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*, *Journal of Applied Phycology*, 12(3–5): 435–439 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ilrache, M.J., Bergougnoux, L., Ezpeleta, I., Gueguen, J. ve Orecchioni, A.M.,** 1995, Optimization and in vitro stability of legumun nanoparticles obtained by a coacervation method, *International Journal of Pharmaceutics*, 126,103-109 pp.
- Ilıcalı, C. ve Aslan, A.,** 1993, alfa-amilaz ve Peynir Mayasının (Rennet) Püskürtmeli Kurutucuda Optimum Kurutma Koşullarının Saptanması, *Doğa-Tr. Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 17:139-144 ss.
- Jensen, G.S., Ginsberg, D.I. and Drapeau, C.** 2001, Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. *Journal of the American Nutraceutical Association*, 3:24–30 pp
- Jespersen, L., Strømdahl, L.D., Olsen, K., Skibsted, L.H.** 2005. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *Euro Food Research Technology*, 220: 261-266 pp.
- Jimenez, M., Garcia, H.S., and Beristain, C.I.,** 2004, Spray-drying microencapsulation and oxidative stability of conjugated linoleic acid. *European Food Research and Technology*, 219: 588-592 pp.
- Jun-xia, X., Hai-yan, Y. and Jian, Y.** 2011, Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic, *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 125(4), 1267–1272 pp.
- Kao O.H.W. and Berns, D.S.** 1977, “Similar C-phycocyanins from two strains of thermotolerant cyanophyte *Mastigocladus laminosus*,” *Canadian Journal of Microbiology*, 23(5): 510–517 pp.
- Kato, T.** 1994, Blue pigment from *Spirulina*,” *New Food Industry*, 29:17–21pp.
- Kelly, J., Kelly, P.M. and Harrington, D.,** 2002, Influence of processing variables on the physicochemical properties of spray-dried fat-based milk powders, *Lait*, 82:401-412 pp.
- Khuri, A.I. and Cornell, J.A.,** 1996, Response Surfaces: Designs and Analyses, Marcel Dekker Inc, New York..
- Kırca, A. ve Özkan, M.** 2007. "Değişik amaçlı bazı test ve analiz yöntemleri. In: Gıda analizleri. Cemeroglu, B. (ed.), *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 535 ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., McClements, D. and Decker E.A.,** 2005, Stability of spray-dried tuna oil emulsion encapsulated with two-layered interfacial membranes, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53: 8365-8371pp.
- Kneifel, W. and Seiler, A.,** 1993, Water-holding properties of milk protein productsa review, *Food Structure*, 12:297-308 pp.
- Koc, B. ve Kaymak-Ertekin, F.,** 2010, Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda Gıçleme Uygulamaları, *Gıda*, 35(1):63-70 ss.
- Koc, B., Yilmazer, M.S., Balkır, P. and Ertekin, F.K.,** 2010, Spray drying of yogurt: Optimization of process conditions for improving viability and other quality attributes, *Drying Technology*, 28(4):495-507 pp.
- Koç M., Sakin M. ve Kaymak-Ertekin F.,** 2010, Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1):79-90 ss.
- Koç, M., Güngör, Ö., Zungur, A., Yalçın, B., Selek, İ., Ertekin, F.K. and Ötles, S.,** 2015, Microencapsulation of extra virgin olive oil by spray drying: effect of wall materials composition, process conditions, and emulsification method, *Food and Bioprocess Technology*, 8(2):301-318 pp.
- Koç, M., Koç, B., Sakin-Yilmazer, M., Kaymak-Ertekin, F., Susyal, G. and Bağdatlıoğlu, N.,** 2011, Physicochemical Characterization of Whole Egg Powder Microencapsulated by Spray Drying, *Drying Technology*, 29:780-788 pp.
- Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. and Al-Hazimi, A.** 2013, Recent developments in production and biotechnological applications of c-phycoyanin, *BioMed Research International*, 2013:9 pp.
- Kunz, B., Krückeberg, S., and Weissbrodt, J.,** 2003, Chancen und grenzen der mikroverkapselung in der modernen lebensmittelverarbeitung. *Chemie Ingenieur Technik*, 75: 1733-1740 pp.
- Labuza, T.P.,** 1985, Water binding of humectants, *Properties of Water in Foods*, Springer, Netherlands, 421-445 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lazić, Ž.R.**, 2004, Design of Experiments in Chemical Engineering. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Leclercq, S., Harlander, K. R. and Reineccius, G. A.**, 2009, Formation and characterization of microcapsules by complex coacervation with liquid or solid aroma cores, *Flavour and Fragrance Journal*, 24(1), 17–24 pp.
- Li, D.M. and Qi, Y.Z.**, 1997, *Spirulina* Industry in Chine: Present status and future prospects, *Journal of Applied Phycology*, 9:25-28 pp.
- Loksuwan, J.**, 2007, Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin, *Food Hydrocolloids*, 21:928-935 pp.
- Lopez-Avila, V.** 1999, Sample preparation for environmental analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 29(3), 195 pp.
- Ma, Y., Ye, X., Hao, Y., Xu, G., Xu, G. and Liu, D.** 2008, Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15 (3): 227–232 pp.
- Maccoll, R.**, 1998, Cyanobacterial phycobilisomes, *Journal of Structural Biology*, 124:311-334 pp.
- Macías-Sánchez, M.D, Mantell, C., Rodríguez, M., Ossa, E.M., Lubián, L.M. and Montero, O.** 2007. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Synechococcus sp.* *The Journal of Supercritical Fluids*, 39(3): 323-329 pp.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S.**, 2006, Flavour encapsulation and controlled release – a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 41:1–21 pp.
- Masters, K.**, 1972, Spray Drying, Leonard Hill Books, London, England.
- Minkova, K. M., Tchernov, A.A., Tchorbadjieva, M. I., Fournadjieva, S.T., Antova, R.E. and Busheva, M.C.** 2003, Purification of C-phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*, *Journal of Biotechnology*, 102 (1):55–59 pp.
- Minkova, K., Tchorbadjieva, M., Tchernov, A., Stojanova, M., Gigova, L. and Busheva, M.** 2007, Improved procedure for separation and purification of *Arthronema africanum* phycobiliproteins, *Biotechnology Letters*, 29(4): 647–651 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mishra, S.K., Shrivastav, A. and Mishra, S.** 2008, Effects of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry*, 43:339-345 pp.
- Montgomery, D.C.**, 2001, Design and Analysis of Experiments, John Wiley and Sons, New York.
- Mundra, P., Desai, K. and Lele, S.S.**, 2007, Application of response surface methodology to cell immobilization for the production of palatinose, *Bioresource Technology*, 98:2892–2896 pp.
- Myers, R.H. and Montgomery, D.C.**, 1995, Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments, John Wiley and Sons, New York.
- Nakagawa, K. and Nagao, H.** 2012, Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin–acacia complex coacervation, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 411, 129-139 pp.
- Nakagawa, K., Iwamoto, S., Nakajima, M., Shono, A., and Satoh, K.** 2004, Microchannel emulsification using gelatin and surfactant-free coacervate microencapsulation, *Journal of Colloid and Interface Science*, 278(1), 198-205 pp.
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F. and Durrieu, V.**, 2013, Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42:469-479 pp.
- Nikzade, V., Tehrani, M.M. and Saadatmand-Tarzjan, M.**, 2012, Optimization of low-cholesterol-low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach, *Food Hydrocolloids*, 28(2):344-352 pp.
- Niu, J.F., Wang, G.C., Lin, X.Z. and Zhou, B.C.** 2007, Largescale recovery of C-phyococyanin from *Spirulina platensis* using expanded bed adsorption chromatography, *Journal of Chromatography B*, 850(1-2): 267–276 pp.
- Oi, V.T., Glazer, A.N. and Stryer, L.** 1982, Fluorescent phycobiliprotein conjugates for analyses of cells and molecules, *Journal of Cell Biology*, 93: 981–986 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes, M.A. and Pinto, L.A.A.** 2008, Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. *Journal of Food Process Engineering*, 31:34-50 pp.
- Özkan G. ve Ersus Bilek S.,** 2014. Microencapsulation of natural food colourants. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(3): 145-156 ss.
- Pasquet , V., Chérouvriera, JR., Farhata, F., Thiérya, V., Piota, J.M., Bérardb, J., Kaasb, R., Seriveb, B., Patricec, T., Cadoretb, JP. & Picota,L.** 2011. Study on the microalgal pigments extraction process: Performance of microwave assisted extraction. *Process Biochemistry*, 46 (1):59-67 pp.
- Patel, A., Mishra, S., Pawar, R. and Ghosh, P.K.** 2005, "Purification and characterization of C-phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat," *Protein Expression and Purification*, 40(2): 248–255 pp.
- Patil, G. and Raghavarao, K.S.M.S.** 2007. Aqueous two phase extraction for purification of C-phycocyanin. *Biochemical Engineering Journal*, 34:156-164 pp.
- Patil, G., Chethana, S., Sridevi, A.S. and Raghavarao, K.S.M.S.** 2006, Method to obtain C-phycocyanin of high purity. *Journal of Chromatographic A*, 1127, 76-81pp.
- Peleg, M. and Mannheim, C.H.,** 1973, Effect of conditioners on the flow properties of powdered sucrose, *Powder Technology*, 35:2352-2357 pp.
- Prasanna, R. Sood, A. Suresh, A. Nayak, S. and Kaushik, B. D.** 2007, Potentials and applications of algal pigments in biology and industry, *Acta Botanica Hungarica,,* 49(1-2) 131–156 pp.
- Quan, J., Kim, S. M., Pan, C. H. and Chung, D.** 2013, Characterization of fucoxanthin-loaded microspheres composed of cetyl palmitate-based solid lipid core and fish gelatin-gum arabic coacervate shell, *Food Research International*. Elsevier Ltd, 50(1): 31–37 pp.
- Qv, X., Zeng, Z., Jiang, J.,** 2011. "Preparation of luteinmicroencapsulation by complex coacervation method and itsphysicochemical properties and stability". *Food Hydrocolloid*.25, 1596–1603 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C.** 1999, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237 pp.
- Risch, S.J.**, 1995, Encapsulation: overview of uses and techniques. In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredient (edited by S.J. Rish & G.A. Reineccius).. *Washington, DC: American Chemical Society*, 2–7 pp.
- Rito-Palomares, M., Nuñez, L. and Amador, D.** 2001. Practical application of aqueous two-phase systems for the development of a prototype process for C-phycocyanin recovery from *Spirulina maxima*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76:1273-1280 pp.
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. and Saenz, C.**, 2010, Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying, *International Journal of Food Science and Technology*, 45(7): 1386–1394 pp.
- Rocha, G.A., Fávoro-Trindade, C.S., Raimundo, C., Grosso, F.**, 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food Bioprod. Process.* 90, 37–42 pp.
- Rogner, M., Nixon, P.J. and Diner, B.A.** 1990, Purification and characterization of photosystem I and photosystem II core complexes from wild-type and phycocyanin-deficient strains of the *Cyanobacterium synechocystis* PCC 6803, *Journal of Biological Chemistry*, 265(11): 6189–6196 pp.
- Romay, C. and Gonzalez, R.**, 2000, Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxyl radicals, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(4): 367– 368 pp.
- Roselló-Soto, Elena, Charis M. Galanakis, Mladen Brnčić, Vibeke Orlén, Francisco J. Trujillo, Raymond Mawson, Kai Knoerzer, Brijesh K. Tiwari, and Francisco J. Barba.** 2015, Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, byproducts and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions, *Trends in Food Science & Technology*, 42:2, 134–149 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rosenberg, M. and Young S.L.,** 1993, Whey proteins as microencapsulating agents. Microencapsulation of anhydrous milk fat-structure evaluation, *Food Structure*, 12:31-41 pp.
- Rosenberg, M., and Sheu, T.Y.,** 1996, Microencapsulation of volatiles by spray drying in whey protein based wall systems. *International Dairy Journal*, 6: 273–284 pp.
- Rosenberg, M., Kopelman, I.J. and Talmon, Y.,** 1990, Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(5):1288–1294 pp.
- Rosenberg, M., Talmon, Y. and Kopelman, I.J.,** 1988, The microstructure of spray-dried microcapsules, *Food Microstructure*, 7:15-23 pp
- Ruen-ngam, D., Shotpruk, A. and Pavasant, P.** 2011."Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*" *Separation. Science and Technology*, 46: 64–70 pp.
- Sacchetti, G., Gianotti, A. and Dalla Rosa, M.,** 2001, Sucrose-salt combined effects on mass transfer kinetics and product acceptability. Study on apple osmotic treatment, *Journal of Food Engineering*, 49:163-173 pp.
- Santos, M. G., Bozza, F. T., Thomazini, M. and Favaro-Trindade, C. S.,** 2015, Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation, *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 171, 32–39 pp.
- Sarada, R., Pillai, M.G. and Ravishankar, A.** 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin, *Process Biochemistry*, 24: 795-801 pp.
- Schirmer, T., Bode, W., Huber, R., Sidler, W. and Zuber, H.** 1985, X-ray crystallographic structure of the light-harvesting biliprotein C-phycocyanin from the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* and its resemblance to globin structures. *Journal of Molecular Biology*, 184: 257-277 pp.
- Schmidt, R.A., Wiebe, M.G. and Eriksen, N.T.** 2005. Heterotrophic high cell density fed-batch cultures of the phycocyanin producing red alga *Galdieria sulphuraria*. *Biotechnology and Bioengineering*, 90: 77-84 pp.
- Schuck, P.,** 2002, Spray drying of dairy products: state of the art, *Lait*, 82:375-382 pp .

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sekar, S. and Chandramohan, M.** 2008. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization, *Journal of Applied Phycology*, 20: 113-136 pp.
- Shaikh, J., Bhosale, R., and Singhal, R.,** 2006, Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chemistry*, 94: 105–110 pp.
- Shaviklo, A.R. and Rafipour, F.,** 2014, Consumer based development and optimization of fish strudel using D Optimal mixture design, *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3):845-855 pp.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., and Liu, X.,** 2006, Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76: 664–669 pp.
- Shukia, S.P., Singh, J.S., Kashyap, S., Giri, D.D., and Kashyap, A.K.** 2008, “Antarctic cyanobacteria as a source of phycocyanin: an assessment,” *Indian Journal of Marine Sciences*, 37(4), 446–449 pp.
- Silva, V. M., Vieira, G. S. and Hubinger, M. D.** 2014. ‘Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying’, *Food Research International*. Elsevier Ltd, 61, 132–143 pp.
- Silveira, S.T., Burkert, J.F.M., Costa, J.A.V., Burkert, C.A.V. and Kalil, S.J.** 2007. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresource Technology*, 98:1629-1634 pp.
- Sims, R.J.,** 1989, Spray dried emulsion, *Develop Food Science*, 19:495-509 pp.
- Sinha, K., Chowdhury, S., Saha, P. D., and Datta, S.,** 2013, Modeling of microwaveassisted extraction of natural dye from seeds of *Bixa orellana* (Annatto) using response surface methodology (RSM) and artificial neural Network (ANN), *Industrial Crops and Products*, 41, 165–171 pp.
- Song, W., Zhao, C. ve Wang, S.** 2013. A Large-Scale Preparation Method of High Purity C-Phycocyanin, *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 3(4), 293-297 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Soni, B., Kalavadia, B., Trivedi, U. and Madamwar, D.** 2006 Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*-isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India, *Process Biochemistry*, 41(9): 2017–2023 pp.
- Soni, B., Trivedi, U. and Madamwar, D.** 2008, A novel method of single step hydrophobic interaction chromatography for the purification of phycocyanin from *Phormidium fragile* and its characterization for antioxidant property, *Bioresource Technology*, 99(1):188–194 pp.
- Soottitantawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., and Linko, P.,** 2005, Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 107–114 pp.
- Soper, J.C.** 1995. Utilization of Coacervated Flavors.. ACS Symposium Series 590. Washington, DC: *American Chemical Society*, 104–112 pp.
- Spolaore, P., Cassan, C.J., Duran, E. and Isanbert, A.** 2006, Commercial application of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2): 87- 96pp.
- Stec, B., Troxler, R.F. and Teeter, M.M.** 1999, Crystal structure of C-phycocyanin from *Cyanidium caldarium* provides a new perspective on phycobilisome assembly, *Biophysical Journal*, 76(6): 2912–2921 pp.
- Steward, D.E. and Farmer, F.H.** 1984. Extraction, identification and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton, *Limnology and Oceanography*, 29(2): 392-397 pp.
- Sutaphanit, P. and Chitprasert, P.** 2014, Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology, *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, . 150: 313–320 pp.
- Tapal, A. and Tikku, P. K.** 2012, Complexation of curcumin with soy protein isolate and its implications on solubility and stability of curcumin, *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 130(4): 960–965pp.
- Tunail, N.,** 2009, Mikrobiyoloji. Pelin ofset, Ankara, 448ss.
- Turan, D.M. ve Altundoğan, H.S.,** 2011, Hidrometalürjik Araştırmalarda Yanıt Yüzey Yöntemlerinin (YYY) Kullanımı, *Madencilik*, 50 (3): 11-23ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Twomey, M., Keogh, M.K., O’Kennedy, B.T., Auty, M. and Mulvihill, D.M.** 2000, Effect of milk composition on selected properties of spray-dried high-fat and skim milk powders, *Irish Journal Agricultural and Food Research*, 39:79-94 pp.
- Valderrama, J.O., Perrut, M. and Majewski, W.** 2003. Extraction of astaxantine and phycocyanine from microalgae with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Engineering*, 48:827-830pp.
- Viskari, P.J.V. and Colyer, C.L.** 2003. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. *Analytical Biochemistry*, 319(2): 263-271 pp.
- Wallack, D.A., El-Sayed, T.M. and King, C.J.** 1990, Changes in particle morphology during drying of drops of carbohydrate solutions and food liquids. 2. Effects on drying rate. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 29: 2354-2357 pp.
- Wan, H.B. and Wong, M.K.,** 1996, Minimization of solvent consumption in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 754(1-2), 43pp.
- Wang J-X, Xiao X-H. and Li G-K.,** 2008, Study of vacuum microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds and pigment from Chinese herbs. *J Chromatogr A* 1198–1199:45–53 pp.
- Wang, B., Adhikari, B. and Barrow, C.J.** 2014. Optimization of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation, *Food Chemistry*, 158, 358-365 pp.
- Wang, C.Y., Wang, X. and Wang Y.** 2012, Photosensitization of phycocyanin extracted from *Microcystis* in human hepatocellular carcinoma cells: implication of mitochondria-dependent apoptosis, *The Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 117: 70–79 pp.
- Wang, Y., Lu, Z., Lv, F. and Bie X,** 2009, Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. *Eur Food Res Technol* 229 (3):391–396 pp
- Xu, Y. and Pan, S.** 2013, Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.), *Ultrasonics Sonochemistry*, 20:1026-1032 pp.
- Yamada, T.,** 1994, *Cyanobacteria and Algae/Recombinant Microbes for Industrial and Agricultural Applications*, Marcel Dekker. Inc, 701-712 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yan, M., Liu, B., Jiao, X. and Qin, S.** 2014, Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties, *Food and Bioproducts Processing*. Institution of Chemical Engineers, 92(1), 89–97 pp.
- Yang, Z. and Zhai, W.,** 2010, Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier B.V., 11(3). 470–476 pp.
- Yıldız, H. ve Toprak, E.,** 2009, Meyve ve Sebzelerden Doğal Renk Maddelerinin Ekstraksiyonu, *Akademik Gıda*, 7, 28-34 ss.
- Yılmaz, T.,** 2011, Domates İşleme Atıklarından Ultrason Destekli Likopen Ekstraksiyonu İşleminin Optimizasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 128 ss.
- Yolmeh, M., Habibi Najafi, M.B. and Farhoosh, R.** 2014, Optimisation of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology (RSM), *Food Chemistry*. 155, 319–324 pp.
- Zarrouk, C.,** 1966, Contribution a l'étude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler. PhD thesis, University of Paris, France.
- Zhang G,** 2003. Foegeding EA. *Food Hydrocolloid*;17(6):785-792 pp.
- Zhang Y.M. and Chen, F.** 1999, A simple method for efficient separation and purification of C-phycocyanin and allophycocyanin from *Spirulina platensis*, *Biotechnology Techniques*, 13(9): 601–603 pp.
- Zhou, Z.P., Liu, L.N., Chen, X.L., Wang, J.X., Chen, M., Zhang, Y.Z. and Zhou, B.C.** 2005. Factors that effect antioxidant activity of C-phycocyanins from *Spirulina platensis*. *Journal of Food Biochemistry*, 29:313-322 pp.
- Zhu, Y., Chen, X.B., Wang, K.B., Li, Y.X., Bai, K.Z., Kuang, T.Y. and Ji, H.B.** 2007. A simple method for extracting C-phycocyanin from *Spirulina platensis* using *Klebsiella pneumonia*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74: 244-248pp.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Afyonkarahisar’da doğmuştur. Lise eğitimini 2009 yılında Bodrum Anadolu Lisesi’nde tamamlayıp, 2013 yılında lisans eğitimini Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde tamamlamıştır. Aynı yıl içerisinde Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.



EKLER

Ek 1 Toplam Fenolik Madde miktarının ve TEAC antioksidan aktivitenin belirlenmesinde kullanılan standart grafikleri

Ek 2 Brilliant blue renklendiricisi, enkapsüle edilmemiş fikosiyanin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilmiş fikosiyanin kullanılarak hazırlanan farklı model gıda örneklerinin duyuusal değerlendirme formu

Ek 3 Fikosiyanin ekstraksiyonunda klasik, ultrasonik ve mikrodalga yöntemleri için işlem koşullarının optimizasyonunda yanıtlara ait varyans analizi tabloları

Ek 4 Fikosiyanin ekstraksiyonunda klasik, ultrasonik ve mikrodalga yöntemleri için işlem koşullarının belirlenmesinde yanıtı ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

Ek 5 Fikosiyanin mikroenkapsülasyonunda püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri için işlem koşullarının optimizasyonunda yanıtlara ait varyans analizi tabloları

Ek 6 Fikosiyanin mikroenkapsülasyonunda püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri için işlem koşullarının belirlenmesinde yanıtı ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

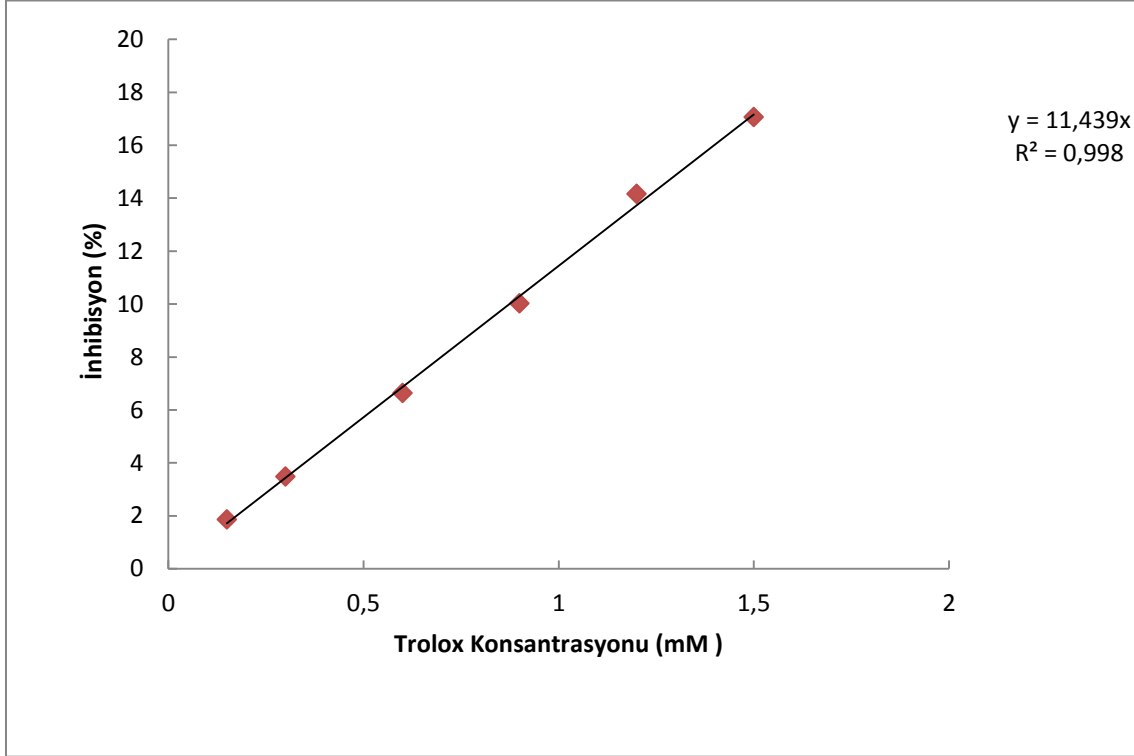
Ek 7 Mikroenkapsüle fikosiyanin örneklerinin FT-IR spektrumları

Ek 8 Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin örneklerinin stabilite analizi sonuçları

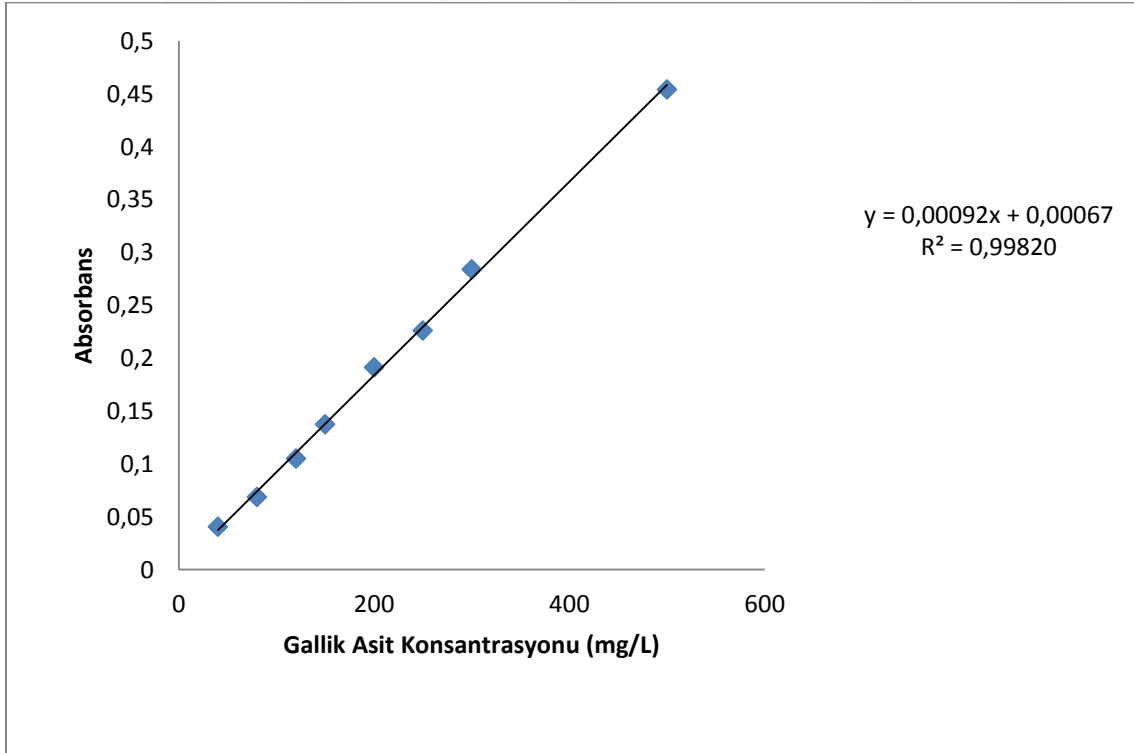
Ek 9 Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin model gıda deneme renk ve duyuusal değerleri

Ek 10 Model gıda deneleri duyuusal değerlendirme tabağı (A: Kremşanti, B: Dondurma, C: Krema, D: Jöle, E: Asitli ve gazlı içecek, F: Kek

Ek 1. TEAC antioksidan aktivitenin ve toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafikler



Ek.Şekil 1. TEAC antioksidan analizi yöntemine göre troloks standardı eğrisi



Ek.Şekil 2. Toplam fenolik madde miktarı analizi yöntemine göre gallik asit standardı eğrisi

Ek 2. Brillant blue renklendiricisi, enkapsüle edilmemiş fikosiyanin, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda elde edilmiş fikosiyanin kullanılarak hazırlanan farklı model gıda örneklerinin duyuşal değerlendirme formu

Panelistin Adı Soyadı:

Tarih:

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Kremşanti** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Dondurma** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Krema** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Şekerli - Gazlı İçecek** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Jöle** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen 4 farklı **Kek** örneklerini ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.

Örnek kodu	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel kabul edilebilirlik

Ek 3 Fikosiyanin ekstraksiyonunda klasik, ultrasonik ve mikrodalga yöntemleri için işlem koşullarının optimizasyonunda yanıtlara ait varyans analizi tabloları

Ek Çizelge 3(a) Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı, TEAC antioksidan aktivitesi yanıtları için varyans analizi tabloları

Ek Çizelge 3(a) 1 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	53844.57	1	53844.57		
Lineer	941.45	3	313.82	3.68	0.0344
2FI	215.78	3	71.93	0.81	0.5084
Quadratik	1086.58	3	362.19	59.12	<0.0001
Kübik	15.33	4	3.83	0.50	0.7378
Kalıntı	45.93	6	7.65		
Toplam	56149.64	20	2807.48		

Ek Çizelge 3(a) 2 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	1317.76	11	119.80	13.06	0.0054
2FI	1101.98	8	137.75	15.02	0.0042
Quadratik	15.40	5	3.08	0.34	0.8718
Kübik	0.068	1	0.068	7.462E-03	0.9345
Saf Hata	45.86	5	9.17		

Ek Çizelge 3(a) 3 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	9.23	0.4084	0.2975	-0.0185	2347.63
2FI	9.40	0.5020	0.2722	0.0268	2243.19
Quadratik	2.48	0.9734	0.9495	0.9188	187.22
Kübik	2.77	0.9801	0.9369	0.9648	81.08

Ek Çizelge 3(a) 4 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	5.46 E+05	1	5.46 E+05		
Lineer	32739.72	3	10913.24	20.68	<0.0001
2FI	646.24	3	215.41	0.36	0.7834
Quadratik	3902.64	3	1300.88	3.34	0.0641
Kübik	907.22	4	226.80	0.46	0.7666
Kalıntı	2985.92	6	497.65		
Toplam	5.87 E+05	20	29389.16		

Ek Çizelge 3(a) 5 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	5884.75	11	534.98	1.05	0.5160
2FI	5238.50	8	654.81	1.28	0.4096
Quadratik	1335.86	5	267.17	0.52	0.7534
Kübik	428.64	1	428.64	0.84	0.4019
Saf Hata	2557.28	5	511.46		

Ek Çizelge 3(a) 6 Klasik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	22.97	0.7950	0.7566	0.6855	12952.45
2FI	24.49	0.8107	0.7233	0.6567	14136.21
Quadratik	19.73	0.9055	0.8204	0.6637	13848.27
Kübik	22.31	0.9275	0.7704	-1.3838	98167.62

Ek Çizelge 3(a) 7 Klasik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	26012.15	1	26012.15		
Lineer	517.53	3	172.51	14.37	<0.0001
2FI	56.30	3	18.77	1.80	0.1973
Quadratik	97.33	3	32.44	8.45	0.0043
Kübik	26.08	4	6.52	3.17	0.1004
Kalıntı	12.33	6	2.05		
Toplam	26721.72	20	1336.09		

Ek Çizelge 3(a) 8 Klasik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	179.81	11	16.35	6.65	0.0241
2FI	123.51	8	15.44	6.31	0.0288
Quadratik	26.18	5	5.24	2.14	0.2115
Kübik	0.10	1	0.10	0.041	0.8470
Saf Hata	12.23	5	2.45		

Ek Çizelge 3(a) 9 Klasik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	3.46	0.7294	0.6786	0.5753	301.32
2FI	3.23	0.8087	0.7204	0.4960	357.62
Quadratik	1.96	0.9459	0.8972	0.6949	216.50
Kübik	1.43	0.9826	0.9450	0.9438	39.85

Ek Çizelge 3(b) Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Varyans Analizi Tablosu

Ek Çizelge 3(b) 1 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	1.523E+05	1	1.523E+05		
Lineer	282.66	3	94.22		
2FI	728.92	3	242.97	1.04	0.4004
Quadratik	601.12	3	200.37	4.41	0.0240
Kübik	46.17	4	11.54	17.36	0.0003
Kalıntı	69.28	6	11.55	1.00	0.4754
Toplam	1.541E+05	20	7703.55		

Ek Çizelge 3(b) 2 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	1385.73	11	125.98	10.54	0.0088
2FI	656.81	8	82.10	6.87	0.0241
Quadratik	55.69	5	11.14	0.93	0.5299
Kübik	9.52	1	9.52	0.80	0.4130
Saf Hata	59.76	5	11.95		

Ek Çizelge 3(b) 3 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	9.50	0.1636	0.0067	-0.5182	2623.63
2FI	7.42	0.5854	0.3940	0.1711	1432.38
Quadratik	3.40	0.9332	0.8731	0.7017	515.59
Kübik	3.40	0.9599	0.8731	-0.2644	2185.00

Ek Çizelge 3(b) 4 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	1.21E+06	1	1.21E+06		
Lineer	1.06E+05	3	35298	60.16	<0.0001
2FI	1988.95	3	662.98	1.16	0.3606
Quadratik	6441.75	3	2147.25	22.45	<0.0001
Kübik	635.65	4	158.91	2.97	0.1130
Kalıntı	320.80	6	53.47		
Toplam	1.32E+06	20	66217.03		

Ek Çizelge 3(b) 5 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	9146.55	11	831.50	17.28	0.0028
2FI	7157.60	8	894.70	18.59	0.0026
Quadratik	715.85	5	143.17	2.98	0.1283
Kübik	80.19	1	80.19	1.67	0.2532
Saf Hata	240.60	5	48.12		

Ek Çizelge 3(b) 6 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	24.22	0.9186	0.9033	0.8528	16972.59
2FI	23.86	0.9358	0.9062	0.8671	15323.59
Quadratik	9.78	0.9917	0.9842	0.9496	5814.58
Kübik	7.31	0.9972	0.9912	0.8437	18023.65

Ek Çizelge 3(b) 7 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	20132.40	1	20132.40		
Lineer	532.08	3	177.36	16.33	<0.0001
2FI	15.39	3	5.13	0.42	0.7410
Quadratik	125.49	3	41.83	12.72	0.0010
Kübik	9.62	4	2.40	0.62	0.6651
Kalıntı	23.27	6	3.88		
Toplam	20838.25	20	1041.91		

Ek Çizelge 3(b) 8 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	150.53	11	13.68	2.94	0.1216
2FI	135.14	8	16.89	3.63	0.0857
Quadratik	9.65	5	1.93	0.42	0.8216
Kübik	0.032	1	0.032	6.91E-03	0.9370
Saf Hata	23.34	5	4.65		

Ek Çizelge 3(a) 9 Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R ²	Adj - R ²	Pred - R ²	PRESS
Lineer	3.30	0.7538	0.7077	0.6378	255.69
2FI	3.49	0.7756	0.6721	0.4768	369.29
Quadratik	1.81	0.9534	0.9115	0.8486	106.89
Kübik	1.97	0.9670	0.8956	0.9426	40.52

Ek Çizelge 3(c) Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Varyans Analizi Tablosu

Ek Çizelge 3(c) 1 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	9425.79	1	9425.79		
Lineer	204.26	3	68.09	3.04	0.0592
2FI	1.45	3	0.48	0.018	0.9966
Quadratik	338.82	3	112.94	64.52	<0.0001
Kübik	8.09	4	2.02	1.29	0.3716
Kalıntı	9.42	6	1.57		
Toplam	9987.83	20	499.39		

Ek Çizelge 3(c) 2 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	348.35	11	31.67	16.81	0.0030
2FI	346.90	8	43.36	23.02	0.0015
Quadratik	8.09	5	1.62	0.86	0.5643
Kübik	7.756E-04	1	7.756E-04	4.118E-04	0.9846
Saf Hata	9.42	5	1.88		

Ek Çizelge 3(c) 3 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fikosiyanin miktarı için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R^2	Adj - R^2	Pred - R^2	PRESS
Lineer	4.73	0.3634	0.2441	0.0765	519.07
2FI	5.24	0.3660	0.0734	-0.5170	852.60
Quadratik	1.32	0.9689	0.9408	0.8644	76.22
Kübik	1.25	0.9832	0.9469	0.9756	13.72

Ek Çizelge 3(c) 4 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	3.45E+05	1	3.45E+05		
Lineer	30099.47	3	10033.16	67.90	<0.0001
2FI	208.09	3	69.36	0.42	0.7429
Quadratik	1252.62	3	417.54	4.62	0.0282
Kübik	315.69	4	78.92	0.81	0.5640
Kalıntı	587.73	6	97.95		
Toplam	3.78E+05	20	18912.95		

Ek Çizelge 3(c) 5 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	1776.41	11	161.49	1.37	0.3830
2FI	1568.32	8	196.04	1.67	0.2971
Quadratik	315.70	5	63.14	0.54	0.7442
Kübik	0.013	1	0.013	1.129E-04	0.9919
Saf Hata	587.71	5	117.54		

Ek Çizelge 3(c) 6 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R^2	Adj - R^2	Pred - R^2	PRESS
Lineer	12.16	0.9272	0.9135	0.8836	3778.67
2FI	12.88	0.9336	0.9029	0.8423	5119.56
Quadratik	9.50	0.9722	0.9471	0.8913	3530.28
Kübik	9.90	0.9819	0.9427	0.9739	848.57

Ek Çizelge 3(c) 7 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Ardışık Model Kareler Toplamı

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Ortalama	15199.51	1	15199.51		
Lineer	126.08	3	42.03	15.43	<0.0001
2FI	4.19	3	1.40	0.46	0.7140
Quadratik	33.04	3	11.01	17.34	0.0003
Kübik	0.20	4	0.049	0.048	0.9944
Kalıntı	6.15	6	1.03		
Toplam	15369.17	20	768.46		

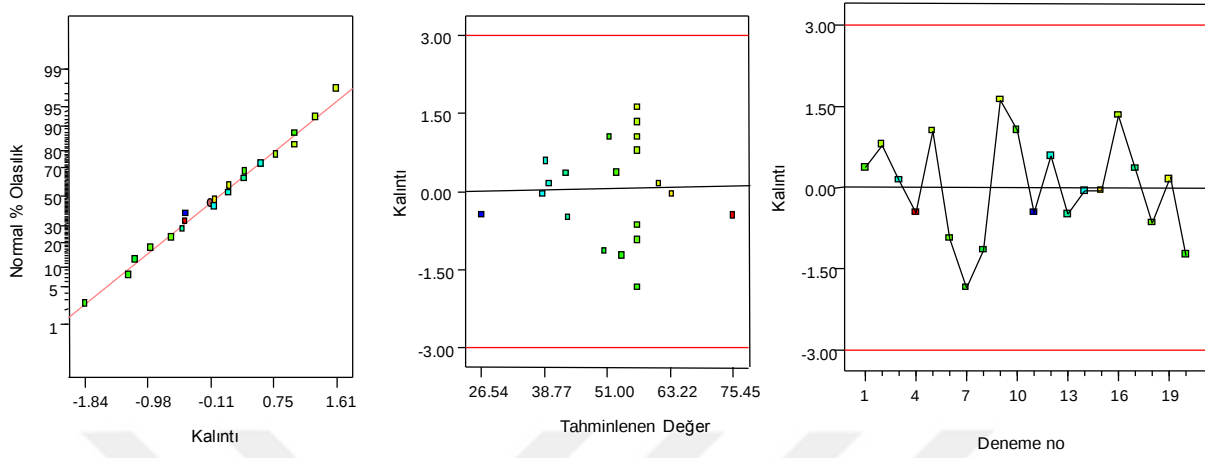
Ek Çizelge 3(c) 8 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model Uygunsuzluğu Testi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	<i>p - Değeri</i>
Lineer	38.11	11	3.46	3.16	0.1072
2FI	33.91	8	4.24	3.87	0.0765
Quadratik	0.87	5	0.17	0.16	0.9677
Kübik	0.67	1	0.67	0.61	0.4691
Saf Hata	5.48	5	1.10		

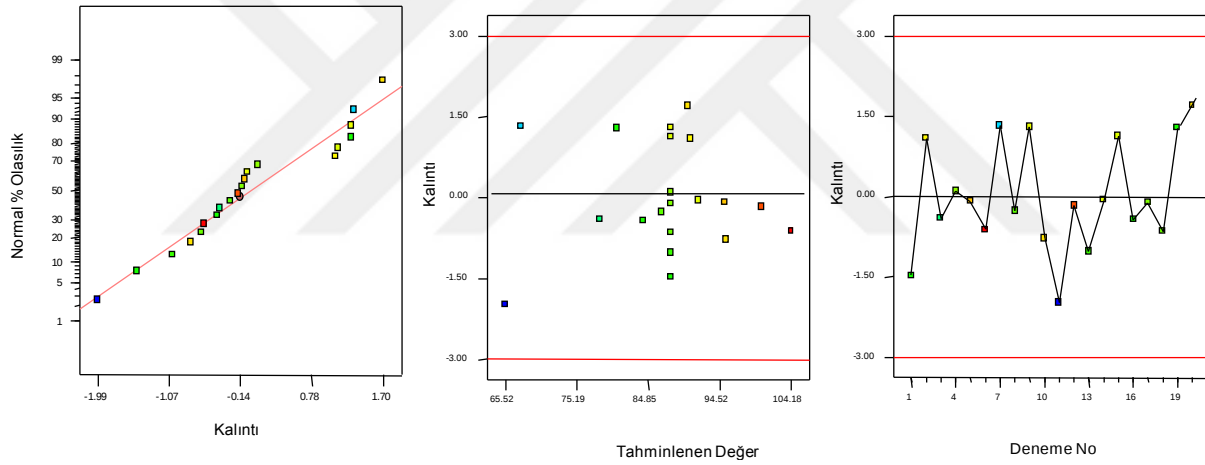
Ek Çizelge 3(c) 9 Mikrodalga ekstraksiyon yönteminde TEAC antioksidan aktivitesi için Model İstatistikleri

Varyasyon Kaynağı	Standart Hata	R^2	Adj - R^2	Pred - R^2	PRESS
Lineer	1.65	0.7431	0.6949	0.5931	69.04
2FI	1.74	0.7678	0.6606	0.4662	90.56
Quadratik	0.80	0.9626	0.9289	0.9147	14.47
Kübik	1.01	0.9637	0.8851	0.0801	156.08

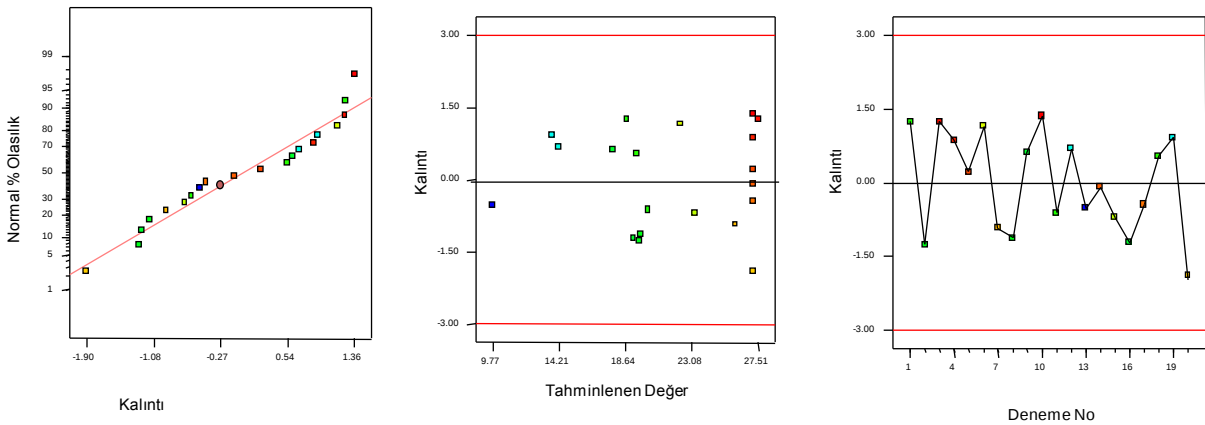
Ek 4 Fikosiyanin ekstraksiyonunda klasik, ultrasonik ve mikrodalga yöntemleri için işlem koşullarının belirlenmesinde yanıtı ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri



Ek Şekil 4 (a) Klasik ekstraksiyon yöntemi işlem koşullarının belirlenmesinde toplam fikosiyanin yanıtına ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri



Ek Şekil 4 (b) Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi işlem koşullarının belirlenmesinde toplam fikosiyanin yanıtına ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri



Ek Şekil 4 (c) Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi işlem koşullarının belirlenmesinde toplam fikosiyanin yanıtına ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

Ek 5 Fikosiyanin mikroenkapsülasyonunda püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri için işlem koşullarının optimizasyonunda tüm yanıtlara ait varyans analizi tabloları

Ek Çizelge 5(a) 1 Püskürtmeli kurutma yönteminde mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.2436	0.0020	0.0169	-0.1255
Ortalama	Quadratik		< 0.0001	0.0138	0.5665	0.4660
Ortalama	Kübik		0.9167	0.0122	0.5471	0.4333
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.2228		0.0020	0.0222	-0.1144
Lineer	Lineer	0.1532	0.1626	0.0024	0.0956	-0.2065
Lineer	Quadratik	0.0200	< 0.0001	0.0284	0.6918	0.5678
Lineer	Kübik	0.0574	0.9733	0.0214	0.6586	0.5104
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0087		0.0038	0.2486	0.0992
Quadratik	Lineer	0.0077	0.0691	0.0058	0.3888	0.1435
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	< 0.0001	0.3694	0.9168	0.8693
Quadratik	Kübik	0.0001	0.8350	0.2788	0.9048	0.8409
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.5785		0.0034	0.2257	0.0592
Kübik	Lineer	0.8170	0.1519	0.0045	0.3360	-0.1014
Kübik	Quadratik	0.0626	< 0.0001	0.5709	0.9390	0.8823
Kübik	Kübik	0.1674	0.8090	0.3918	0.9263	0.7373

Ek Çizelge 5(a) 2 Püskürtmeli kurutma yönteminde mikroenkapsülasyon verimi yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.1548	0.7924	0.0443	-0.1252
Ortalama	Quadratik		0.0285	0.8857	0.1942	-0.0001
Ortalama	Kübik		0.7177	0.8682	0.1627	-0.0234
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.8573		0.7390	-0.0402	-0.2013
Lineer	Lineer	0.4969	0.1957	0.7787	0.0216	-0.4550
Lineer	Quadratik	0.6216	0.0944	0.8631	0.1500	-0.3884
Lineer	Kübik	0.7953	0.9304	0.8090	0.0631	-0.4836
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0104		0.8826	0.1889	0.0231
Quadratik	Lineer	0.0417	0.3111	0.9032	0.2167	-0.2357
Quadratik	Quadratik	0.0049	0.0095	0.9998	0.5217	0.0322
Quadratik	Kübik	0.0265	0.9881	0.9980	0.4244	-0.0975
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.9672		0.8618	0.1521	-0.0247
Kübik	Lineer	0.9803	0.5010	0.8548	0.1316	-0.4095
Kübik	Quadratik	0.8764	0.0335	0.9993	0.4461	-0.1694
Kübik	Kübik	0.9561	0.9933	0.9834	0.2414	-3.5458

Ek Çizelge 5(a) 3 Püskürtmeli kurutma yönteminde toplam fenolik madde miktarı yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.6374	< 0.0001	-0.0319	-0.1833
Ortalama	Quadratik		0.5900	< 0.0001	-0.0629	-0.2752
Ortalama	Kübik		0.9445	< 0.0001	-0.1110	-0.3748
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	< 0.0001		0.0007	0.8141	0.7927
Lineer	Lineer	< 0.0001	0.4757	0.0006	0.8104	0.7668
Lineer	Quadratik	< 0.0001	0.4198	0.0006	0.8088	0.7434
Lineer	Kübik	< 0.0001	0.9523	0.0004	0.7887	0.6882
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	< 0.0001		0.0240	0.9583	0.9509
Quadratik	Lineer	< 0.0001	0.0190	0.0491	0.9705	0.9591
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	0.1439	0.0631	0.9746	0.9602
Quadratik	Kübik	< 0.0001	0.2919	0.0654	0.9761	0.9546
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.8174		0.0214	0.9565	0.9457
Kübik	Lineer	0.2355	0.0160	0.0531	0.9721	0.9615
Kübik	Quadratik	0.0770	0.0544	0.1039	0.9808	0.9533
Kübik	Kübik	0.0845	0.2095	0.1267	0.9843	0.9534

Ek Çizelge 5(a) 4 Püskürtmeli kurutma yönteminde Hunter L* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.4944	0.0303	-0.0212	-0.1716
Ortalama	Quadratik		0.9341	0.0271	-0.0653	-0.2823
Ortalama	Kübik		0.7512	0.0244	-0.1085	-0.3539
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	< 0.0001		0.6846	0.8237	0.7982
Lineer	Lineer	< 0.0001	0.3465	0.6900	0.8253	0.7732
Lineer	Quadratik	< 0.0001	0.6922	0.6472	0.8148	0.7258
Lineer	Kübik	< 0.0001	0.8078	0.5851	0.7990	0.6747
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0024		0.8989	0.8777	0.8537
Quadratik	Lineer	0.0078	0.3146	0.9179	0.8817	0.8228
Quadratik	Quadratik	0.0157	0.4697	0.9182	0.8796	0.7848
Quadratik	Kübik	0.0172	0.3290	0.9496	0.8847	0.7487
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.8636		0.8803	0.8723	0.8444
Kübik	Lineer	0.9501	0.4985	0.8756	0.8693	0.7897
Kübik	Quadratik	0.9986	0.7153	0.8195	0.8541	0.6979
Kübik	Kübik	0.9945	0.5933	0.7748	0.8418	-0.0287

Ek Çizelge 5(a) 5 Püskürtmeli kurutma yönteminde Hunter a* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.3805	0.7186	-0.0081	-0.1364
Ortalama	Quadratik		0.4741	0.7050	-0.0283	-0.1981
Ortalama	Kübik		0.7157	0.6782	-0.0684	-0.3484
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.5751		0.7056	-0.0278	-0.1628
Lineer	Lineer	0.4741	0.3833	0.7051	-0.0277	-0.2949
Lineer	Quadratik	0.6892	0.7659	0.6557	-0.1007	-0.5346
Lineer	Kübik	0.8471	0.9361	0.5818	-0.2140	-1.0928
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0002		0.9693	0.4092	0.2990
Quadratik	Lineer	0.0005	0.1751	0.9893	0.4666	0.1759
Quadratik	Quadratik	0.0033	0.7802	0.9809	0.4102	-0.0488
Quadratik	Kübik	0.0195	0.9909	0.9396	0.2892	-0.2662
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.6448		0.9629	0.3884	0.2547
Kübik	Lineer	0.7059	0.2741	0.9841	0.4298	0.0351
Kübik	Quadratik	0.9191	0.9293	0.9504	0.3081	-0.4537
Kübik	Kübik	0.9818	0.9985	0.7675	0.0413	-10.200

Ek Çizelge 5(a) 6 Püskürtmeli kurutma yönteminde Hunter b* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.2330	0.0029	0.0195	-0.1193
Ortalama	Quadratik		0.7806	0.0026	-0.0196	-0.2154
Ortalama	Kübik		0.9986	0.0023	-0.0660	-0.3142
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	< 0.0001		0.2144	0.8616	0.8462
Lineer	Lineer	< 0.0001	0.0088	0.3767	0.9018	0.8717
Lineer	Quadratik	< 0.0001	0.8301	0.3284	0.8940	0.8493
Lineer	Kübik	< 0.0001	0.9843	0.2693	0.8824	0.8071
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0021		0.3984	0.9050	0.8901
Quadratik	Lineer	< 0.0001	< 0.0001	0.9861	0.9679	0.9496
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	0.6894	0.9798	0.9653	0.9323
Quadratik	Kübik	0.0007	0.9766	0.9399	0.9585	0.9145
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.9081		0.3704	0.9007	0.8768
Kübik	Lineer	0.6901	< 0.0001	0.9800	0.9658	0.9417
Kübik	Quadratik	0.9182	0.8847	0.9482	0.9593	0.9077
Kübik	Kübik	0.9007	0.9337	0.8235	0.9472	0.7791

Ek Çizelge 5(a) 7 Püskürtmeli kurutma yönteminde % nem yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.3997	0.0038	-0.0107	-0.1511
Ortalama	Quadratik		0.7094	0.0034	-0.0482	-0.2522
Ortalama	Kübik		0.3439	0.0034	-0.0511	-0.2758
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0001		0.0152	0.4385	0.3601
Lineer	Lineer	0.0006	0.3833	0.0147	0.4385	0.3239
Lineer	Quadratik	0.0017	0.4818	0.0134	0.4259	0.2444
Lineer	Kübik	0.0039	0.3577	0.0130	0.4310	0.1354
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.1561		0.0167	0.4641	0.3668
Quadratik	Lineer	0.2350	0.4038	0.0159	0.4657	0.3281
Quadratik	Quadratik	0.2687	0.4437	0.0143	0.4607	0.2308
Quadratik	Kübik	0.2054	0.2477	0.0156	0.5077	-0.0370
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.1209		0.0191	0.4990	0.3911
Kübik	Lineer	0.2840	0.5190	0.0163	0.4838	0.3025
Kübik	Quadratik	0.3462	0.4602	0.0137	0.4790	0.1059
Kübik	Kübik	0.2078	0.1646	0.0183	0.5982	-4.5119

Ek Çizelge 5(a) 8 Püskürtmeli kurutma yönteminde su aktivitesi yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.5248	0.2738	-0.0239	-0.1771
Ortalama	Quadratik		0.4629	0.2633	-0.0431	-0.2612
Ortalama	Kübik		0.6830	0.2448	-0.0821	-0.3166
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.3535		0.2830	-0.0042	-0.1191
Lineer	Lineer	0.2156	0.2669	0.2949	0.0284	-0.2163
Lineer	Quadratik	0.4127	0.7837	0.2561	-0.0430	-0.3933
Lineer	Kübik	0.6167	0.9308	0.2090	-0.1497	-0.5902
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0553		0.3427	0.1098	-0.0369
Quadratik	Lineer	0.0291	0.0951	0.4371	0.2498	-0.0176
Quadratik	Quadratik	0.0814	0.8103	0.3607	0.1647	-0.2653
Quadratik	Kübik	0.1922	0.9282	0.2579	0.0172	-0.8356
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0568		0.4126	0.2138	0.0329
Kübik	Lineer	0.1533	0.1560	0.5002	0.3232	-0.1108
Kübik	Quadratik	0.3142	0.8484	0.3757	0.2063	-1.5122
Kübik	Kübik	0.1064	0.2577	0.4404	0.3164	-8.5652

Ek Çizelge 5(a) 9 Püskürtmeli kurutma yönteminde çözünürlük yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.8482	0.5951	-0.0400	-0.1730
Ortalama	Quadratik		0.1207	0.6389	0.0248	-0.1590
Ortalama	Kübik		0.8855	0.6074	-0.0185	-0.2523
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0317		0.7282	0.1440	0.0312
Lineer	Lineer	0.1162	0.9890	0.6689	0.0671	-0.2181
Lineer	Quadratik	0.1369	0.1632	0.7276	0.1439	-0.2214
Lineer	Kübik	0.1328	0.3938	0.7260	0.1424	-0.2602
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.1915		0.7499	0.1720	0.0273
Quadratik	Lineer	0.4594	0.9960	0.6548	0.0506	-0.3357
Quadratik	Quadratik	0.4667	0.2255	0.7151	0.1295	-0.4502
Quadratik	Kübik	0.6349	0.6014	0.6628	0.0705	-0.7137
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0290		0.8562	0.3063	0.1560
Kübik	Lineer	0.0678	0.8219	0.7890	0.2178	-0.1603
Kübik	Quadratik	0.0837	0.1899	0.8977	0.3327	-0.4961
Kübik	Kübik	0.1822	0.6218	0.8730	0.2654	-3.1009

Ek Çizelge 5(a) 10 Püskürtmeli kurutma yönteminde D[4,3] yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.0565	0.2084	0.1077	0.0012
Ortalama	Quadratik		0.4745	0.1992	0.0898	-0.0545
Ortalama	Kübik		0.6529	0.1848	0.0573	-0.1658
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0058		0.2802	0.2460	0.1471
Lineer	Lineer	0.0049	0.0310	0.3993	0.4001	0.2806
Lineer	Quadratik	0.0084	0.3294	0.4037	0.4095	0.2463
Lineer	Kübik	0.0135	0.3976	0.3956	0.4078	0.0932
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.4162		0.2720	0.2359	0.1009
Quadratik	Lineer	0.4785	0.0609	0.3812	0.3870	0.1854
Quadratik	Quadratik	0.5743	0.4500	0.3640	0.3801	0.1054
Quadratik	Kübik	0.5750	0.4502	0.3411	0.3728	-0.2775
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0536		0.3345	0.3282	0.1745
Kübik	Lineer	0.0254	0.0238	0.5781	0.5472	0.2581
Kübik	Quadratik	0.0573	0.4173	0.5744	0.5520	-0.9292
Kübik	Kübik	0.0766	0.3094	0.6446	0.5956	-2.8195

Ek Çizelge 5(a) 11 Püskürtmeli kurutma yönteminde Açıklık yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.2993	0.0017	0.0050	-0.0956
Ortalama	Quadratik		0.5900	0.0016	-0.0250	-0.1712
Ortalama	Kübik		0.9148	0.0014	-0.0710	-0.3227
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0008		0.0048	0.3530	0.2617
Lineer	Lineer	0.0023	0.2576	0.0051	0.3761	0.2691
Lineer	Quadratik	0.0035	0.2907	0.0052	0.3935	0.2264
Lineer	Kübik	0.0135	0.9925	0.0038	0.3266	-0.1060
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0003		0.0170	0.6244	0.5479
Quadratik	Lineer	< 0.0001	0.0192	0.0352	0.7341	0.6444
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	0.0090	0.0969	0.8388	0.7834
Quadratik	Kübik	0.0002	0.9902	0.0589	0.8057	0.5571
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0925		0.0204	0.6557	0.5870
Kübik	Lineer	0.0376	0.0088	0.0595	0.7948	0.7020
Kübik	Quadratik	0.0006	0.0002	0.5671	0.9418	0.8340
Kübik	Kübik	0.0027	0.5265	0.5028	0.9391	0.8385

Ek Çizelge 5(a) 12 Püskürtmeli kurutma yönteminde Tekdüzelik yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.0886	0.0289	0.0792	-0.0307
Ortalama	Quadratik		0.6497	0.0265	0.0479	-0.1080
Ortalama	Kübik		0.8878	0.0236	0.0056	-0.2153
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0002		0.0786	0.4189	0.3366
Lineer	Lineer	0.0002	0.0348	0.1198	0.5329	0.4375
Lineer	Quadratik	0.0007	0.4709	0.1118	0.5235	0.3604
Lineer	Kübik	0.0027	0.7806	0.0917	0.4849	0.2100
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0016		0.1716	0.6094	0.5320
Quadratik	Lineer	0.0002	0.0016	0.4625	0.7867	0.7015
Quadratik	Quadratik	0.0001	0.0855	0.6070	0.8281	0.7323
Quadratik	Kübik	0.0008	0.6151	0.5449	0.8156	0.6511
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.2700		0.1738	0.6141	0.5330
Kübik	Lineer	0.0588	0.0008	0.6043	0.8270	0.7144
Kübik	Quadratik	0.0806	0.0952	0.8085	0.8690	0.5531
Kübik	Kübik	0.1538	0.5645	0.7745	0.8601	0.2404

Ek Çizelge 5(b) 1 Koaservasyon yönteminde mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.7107	0.0001	-0.0356	-0.149
Ortalama	Quadratik		0.3854	0.0001	-0.0450	-0.2228
Ortalama	Kübik		0.9613	0.0001	-0.0924	-0.3377
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.5912		0.0001	-0.0290	-0.1544
Lineer	Lineer	0.6340	0.6804	0.0001	-0.0839	-0.2947
Lineer	Quadratik	0.7407	0.5879	< 0.0001	-0.1306	-0.5145
Lineer	Kübik	0.8828	0.9930	< 0.0001	-0.2552	-1.0007
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	< 0.0001		0.0095	0.8277	0.7968
Quadratik	Lineer	< 0.0001	0.0014	0.0371	0.9072	0.8764
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	0.0368	0.0702	0.9329	0.8952
Quadratik	Kübik	< 0.0001	0.5230	0.0582	0.9302	0.8734
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.1603		0.0105	0.8356	0.8003
Kübik	Lineer	0.2215	0.0033	0.0407	0.9128	0.8841
Kübik	Quadratik	0.3166	0.0780	0.0707	0.9361	0.8953
Kübik	Kübik	0.3654	0.5021	0.0503	0.9341	0.6797

Ek Çizelge 5(b) 2 Koaservasyon yönteminde mikroenkapsülasyon verimi yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.9824	< 0.0001	-0.0416	-0.1604
Ortalama	Quadratik		0.9405	< 0.0001	-0.0867	-0.2637
Ortalama	Kübik		0.5864	< 0.0001	-0.1205	-0.3822
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.6911		< 0.0001	-0.0347	-0.1384
Lineer	Lineer	0.6966	0.7499	< 0.0001	-0.0996	-0.2497
Lineer	Quadratik	0.8600	0.9582	< 0.0001	-0.2044	-0.4564
Lineer	Kübik	0.8209	0.5951	< 0.0001	-0.2632	-0.8026
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0342		0.0001	0.1153	-0.0168
Quadratik	Lineer	0.1313	0.8928	< 0.0001	0.0127	-0.2310
Quadratik	Quadratik	0.2973	0.9755	< 0.0001	-0.1475	-0.6972
Quadratik	Kübik	0.4578	0.7288	< 0.0001	-0.2736	-1.5196
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	< 0.0001		0.0061	0.8203	0.7812
Kübik	Lineer	< 0.0001	0.6569	0.0046	0.8068	0.7578
Kübik	Quadratik	< 0.0001	0.8644	0.0026	0.7720	0.6295
Kübik	Kübik	< 0.0001	0.0833	0.0051	0.8501	0.1059

Ek Çizelge 5(b) 3 Koaservasyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.0594	0.0015	0.1044	-0.0027
Ortalama	Quadratik		0.1066	0.0017	0.1676	0.0346
Ortalama	Kübik		0.6175	0.0015	0.1398	-0.0860
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0050		0.0023	0.2553	0.1700
Lineer	Lineer	0.0047	0.0361	0.0037	0.3994	0.3299
Lineer	Quadratik	0.0089	0.1413	0.0045	0.4568	0.3690
Lineer	Kübik	0.0256	0.7575	0.0035	0.4148	0.1606
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.8075		0.0020	0.2250	0.0923
Quadratik	Lineer	0.9869	0.1042	0.0028	0.3402	0.1978
Quadratik	Quadratik	0.9759	0.3070	0.0028	0.3685	0.1932
Quadratik	Kübik	0.9326	0.7798	0.0019	0.2888	-0.4116
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0065		0.0041	0.4256	0.2887
Kübik	Lineer	0.0007	0.0057	0.0142	0.6750	0.4538
Kübik	Quadratik	0.0003	0.0397	0.0324	0.7870	0.6746
Kübik	Kübik	0.0012	0.2878	0.0317	0.8113	-0.9958

Ek Çizelge 5(b) 4 Koaservasyon yönteminde Hunter L* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.4753	0.0275	-0.0193	-0.0990
Ortalama	Quadratik		0.6442	0.0251	-0.0536	-0.2005
Ortalama	Kübik		0.8618	0.0224	-0.1000	-0.3351
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0016		0.0664	0.3187	0.2321
Lineer	Lineer	0.0072	0.6073	0.0591	0.2898	0.1818
Lineer	Quadratik	0.0057	0.1733	0.0678	0.3443	0.1715
Lineer	Kübik	0.0153	0.7179	0.0561	0.2978	0.0157
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.3007		0.0662	0.3222	0.2069
Quadratik	Lineer	0.5607	0.7675	0.0526	0.2627	0.1249
Quadratik	Quadratik	0.7714	0.3653	0.0512	0.2766	0.0163
Quadratik	Kübik	0.3304	0.2547	0.0557	0.3366	0.1413
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0333		0.0924	0.4259	0.2945
Kübik	Lineer	0.1257	0.8388	0.0661	0.3493	0.1163
Kübik	Quadratik	0.0310	0.0771	0.1139	0.5244	-0.1835
Kübik	Kübik	0.0372	0.1590	0.1609	0.6363	-5.7918

Ek Çizelge 5(b) 5 Koaservasyon yönteminde Hunter a* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.0625	0.0120	0.1013	0.0304
Ortalama	Quadratik		0.1731	0.0129	0.1364	0.0168
Ortalama	Kübik		0.9706	0.0114	0.0972	-0.0844
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.0996		0.0111	0.0718	-0.0676
Lineer	Lineer	0.1815	0.1273	0.0135	0.1605	0.0178
Lineer	Quadratik	0.1177	0.1172	0.0171	0.2547	0.0346
Lineer	Kübik	0.1392	0.4900	0.0153	0.2350	-0.1584
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0545		0.0145	0.1781	0.0156
Quadratik	Lineer	0.1567	0.2336	0.0160	0.2327	0.0010
Quadratik	Quadratik	0.0201	0.0159	0.0393	0.5005	0.2476
Quadratik	Kübik	0.0110	0.1282	0.0548	0.5905	0.3563
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.3293		0.0142	0.1779	0.0076
Kübik	Lineer	0.5593	0.3622	0.0138	0.2008	-0.1126
Kübik	Quadratik	0.0332	0.0021	0.0866	0.6682	0.3075
Kübik	Kübik	0.0039	0.0105	0.4176	0.8620	-0.1967

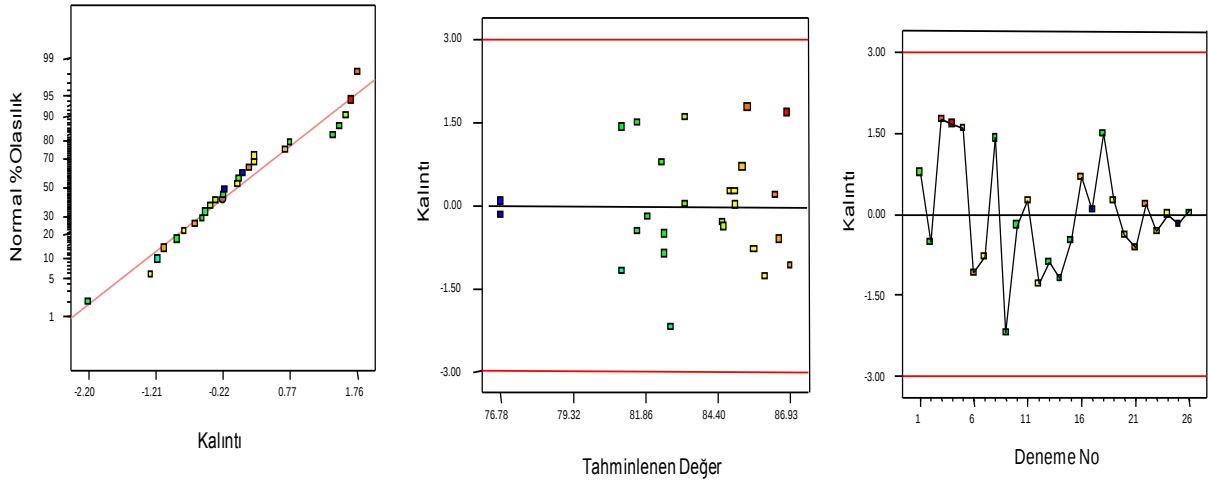
Ek Çizelge 5(b) 6 Koaservasyon yönteminde Hunter b* renk değeri yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.0712	0.0016	0.0930	-0.0166
Ortalama	Quadratik		0.3063	0.0016	0.0966	-0.0636
Ortalama	Kübik		0.3558	0.0015	0.0922	-0.1256
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.1747		0.0014	0.0368	-0.0583
Lineer	Lineer	0.3860	0.1994	0.0015	0.0926	-0.0793
Lineer	Quadratik	0.5663	0.5541	0.0014	0.0590	-0.2281
Lineer	Kübik	0.7190	0.6328	0.0011	0.0063	-0.4636
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0007		0.0042	0.3967	0.3171
Quadratik	Lineer	0.0002	0.0153	0.0095	0.5831	0.4814
Quadratik	Quadratik	0.0020	0.9086	0.0064	0.5246	0.3095
Quadratik	Kübik	0.0050	0.4019	0.0057	0.5286	-0.0717
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.9350		0.0037	0.3695	0.2028
Kübik	Lineer	0.1983	0.0111	0.0107	0.6130	0.2348
Kübik	Quadratik	0.0308	0.1382	0.0152	0.6878	-1.1671
Kübik	Kübik	0.0004	0.0030	0.1508	0.9002	-0.0479

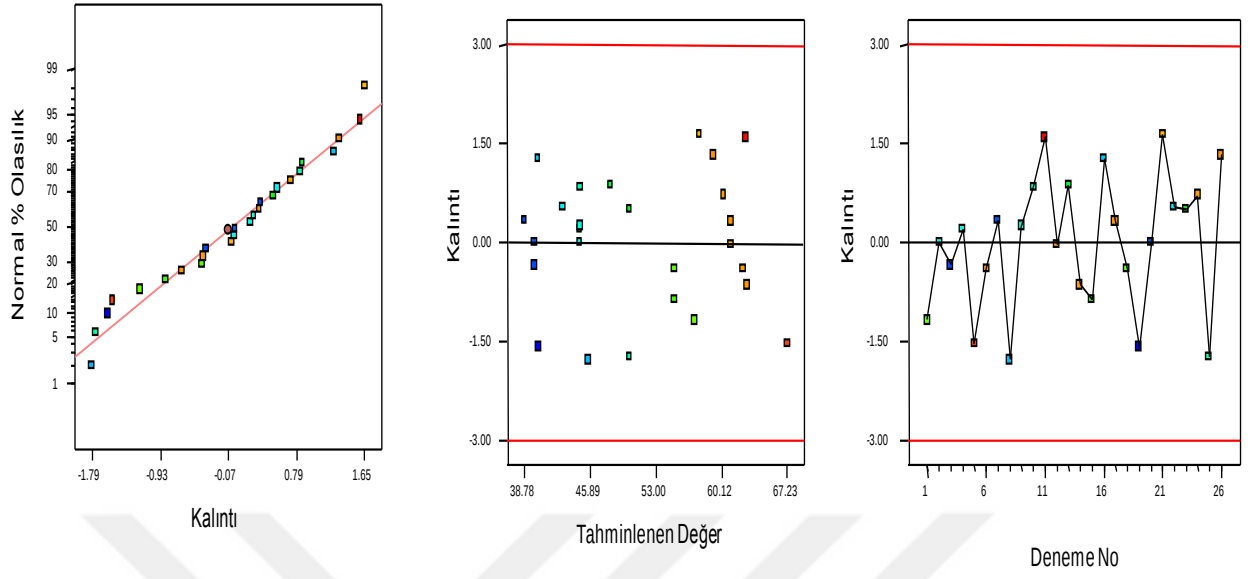
Ek Çizelge 5(b) 7 Koaservasyon yönteminde çözünübilirlik yanıtı için Varyans Analizi Tablosu

Karışım Derecesi	İşlem Derecesi	p- değeri		Model Uygunsuzluğu	Model İstatistikleri	
		Karışım	İşlem		Adj R ²	Tahminlenen R ²
Ortalama	Ortalama					
Ortalama	Lineer		0.5960	0.0024	-0.0293	-0.1768
Ortalama	Quadratik		0.7719	0.0022	-0.0700	-0.2717
Ortalama	Kübik		0.9607	0.0019	-0.1185	-0.4107
Ortalama	Ortalama					
Lineer	Ortalama	0.9625		0.0023	-0.0416	-0.1814
Lineer	Lineer	0.2748	0.2412	0.0025	0.0015	-0.2152
Lineer	Quadratik	0.4710	0.9092	0.0019	-0.0879	-0.4224
Lineer	Kübik	0.6648	0.9747	0.0014	-0.2054	-1.0172
Lineer	Ortalama					
Quadratik	Ortalama	0.0082		0.0044	0.2031	0.0584
Quadratik	Lineer	< 0.0001	< 0.0001	0.0354	0.6848	0.5359
Quadratik	Quadratik	< 0.0001	0.4139	0.0329	0.6852	0.3792
Quadratik	Kübik	0.0003	0.8982	0.0206	0.6330	0.0396
Quadratik	Ortalama					
Kübik	Ortalama	0.0620		0.0057	0.2914	0.1321
Kübik	Lineer	0.0013	< 0.0001	0.1317	0.8333	0.7520
Kübik	Quadratik	0.0018	0.1417	0.1811	0.8650	0.6542
Kübik	Kübik	0.0061	0.4631	0.1456	0.8640	0.1697

Ek 6 Fikosiyanin mikrokapsülasyonunda püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemleri için işlem koşullarının belirlenmesinde yanıtı ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

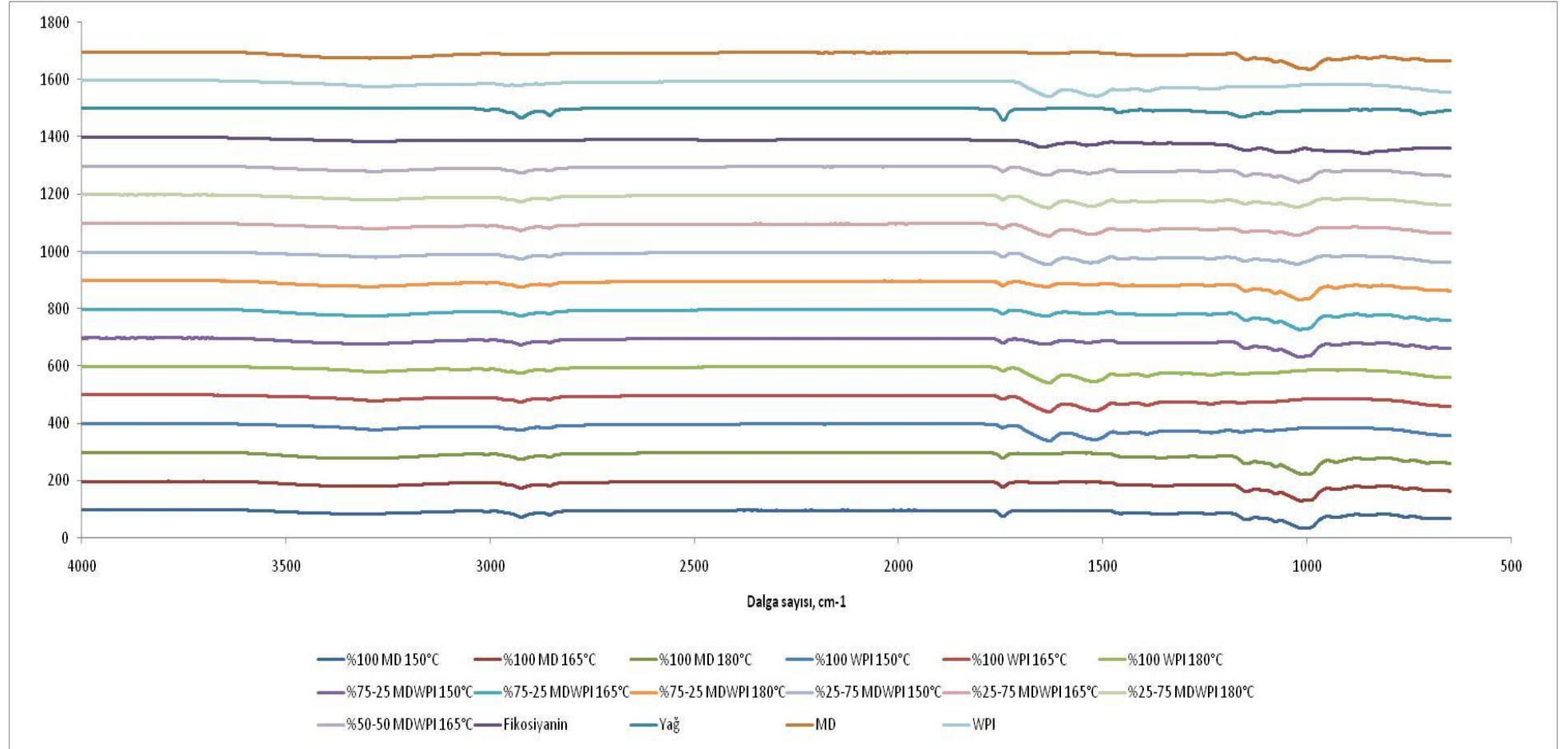


Ek Şekil 6 (a) Püskürtmeli kurutma yöntemi işlem koşullarının belirlenmesinde mikrokapsülasyon etkinliği yanıtına ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

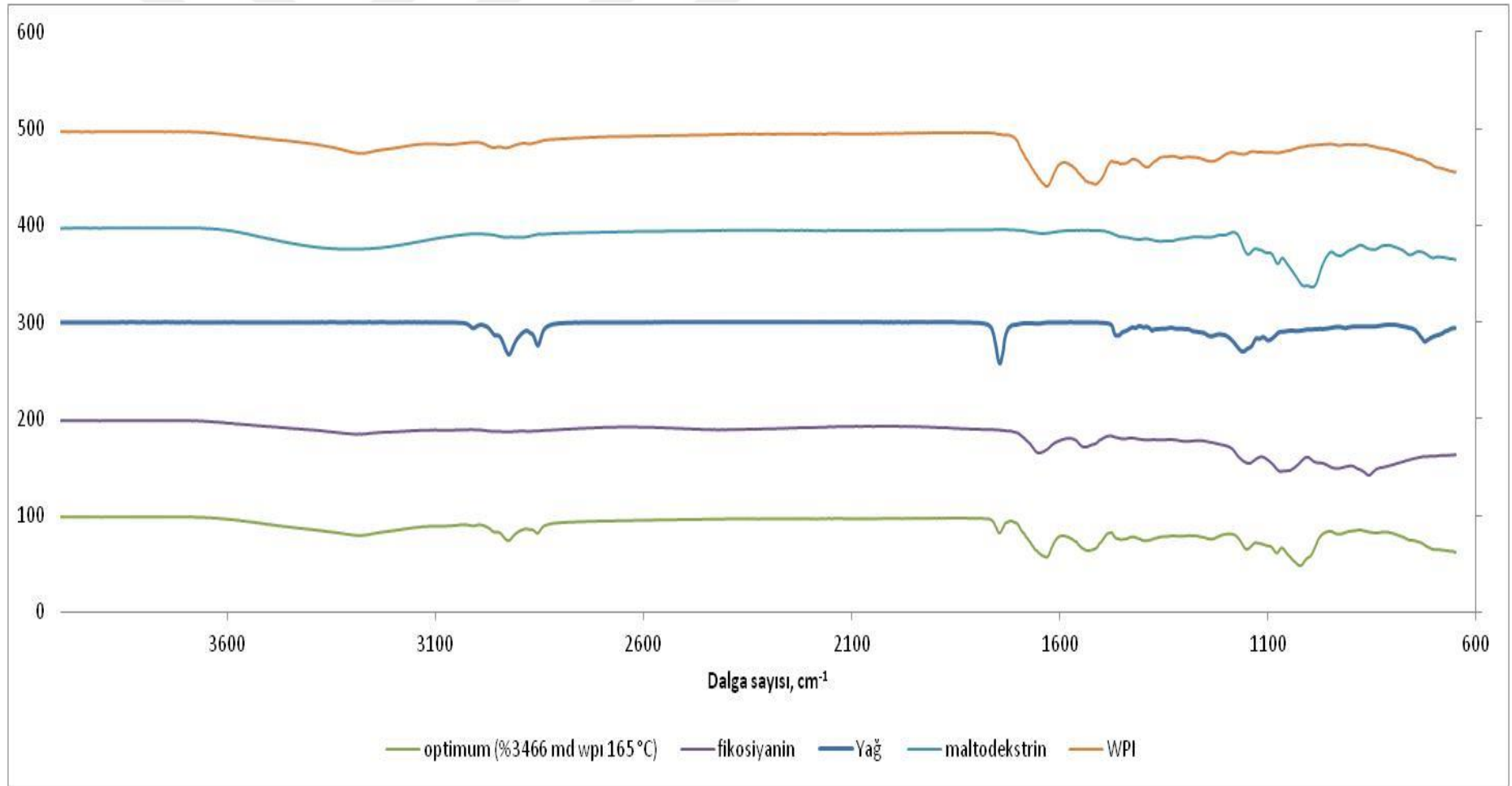


Ek Şekil 6 (b) Koaservasyon yöntemi işlem koşullarının belirlenmesinde mikroenkapsülasyon etkinliği yanıtına ait normal % olasılık, kalıntıya karşı model tahminleri ve deneme sırasına karşı kalıntı grafikleri

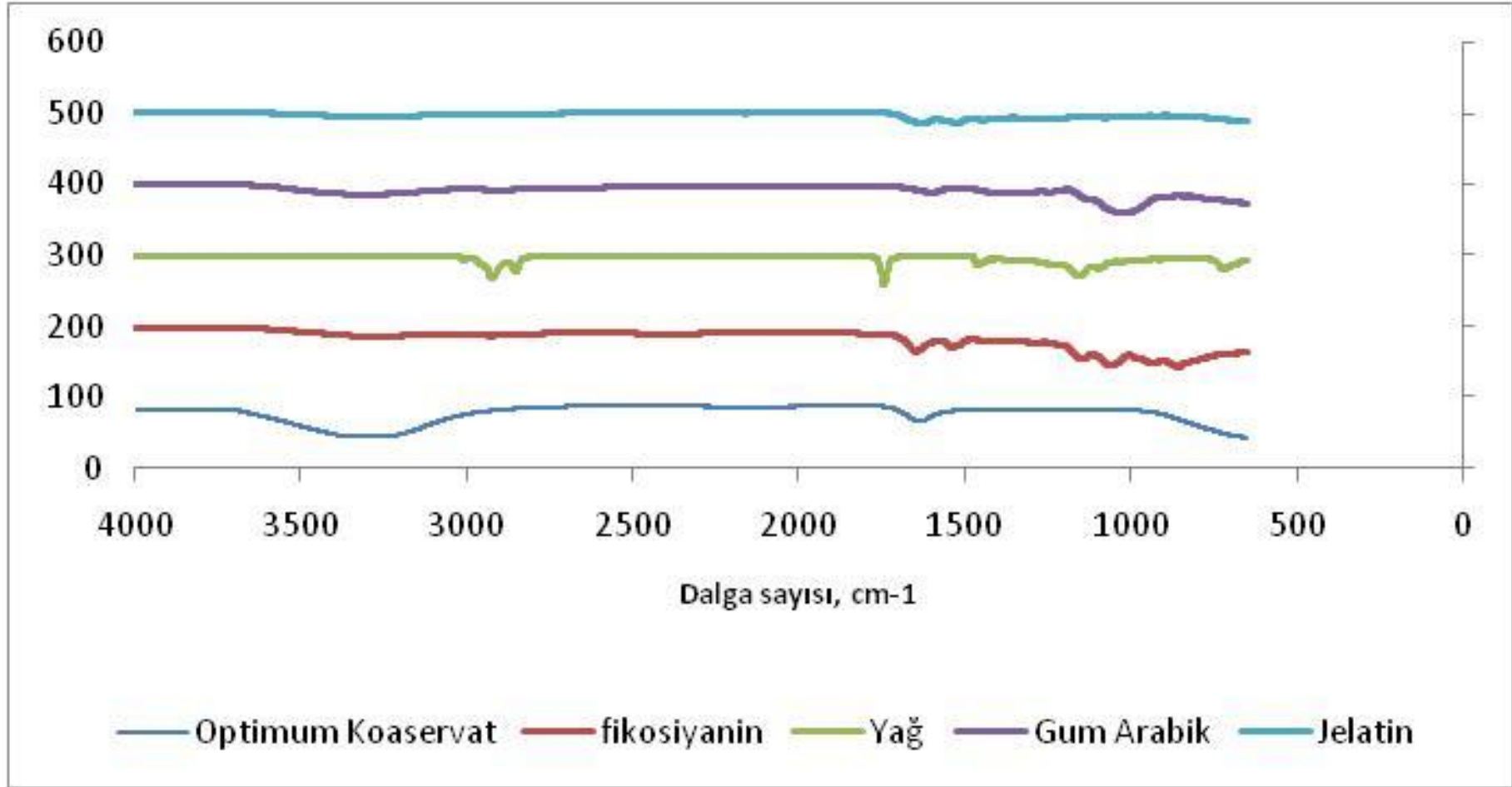
Ek 7. Mikroenkapsüle fikosiyenin örneklerinin FT-IR spektrumları



Ek Şekil 7 (a) Püskürtmeli kurutma yöntemiyle D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre üretilmiş mikroenkapsüle fikosiyenin örneklerinin, kullanılan kaplama materyallerinin, saflaştırılmış fikosiyenin ve ayçiçek yağının FT-IR spektrumları



Ek Şekil 7 (b). Püskürtmeli kurutma yöntemiyle D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre optimum koşulda üretilen mikroenkapsüle fikosiyenin örneğinin, kullanılan kaplama materyallerinin, saflaştırılmış fikosiyenin ve ayçiçek yağının FT-IR spektrumları



Ek Şekil 7 (c) Koaservasyon yöntemiyle D-Optimal karışım dizaynı deneme planına göre optimum koşulda üretilen mikroenkapsüle fikosiyenin örneğinin, kullanılan kaplama materyallerinin, saflaştırılmış fikosiyenin ve ayçiçek yağının FT-IR spektrumları

Ek 8. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin örneklerinin stabilite analizi sonuçları

Ek Çizelge 8 (a) Enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin pH:3.5, 4.6 ve 7 te, 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

Süre (gün)	pH:3.5					pH:4.6					pH:7.0				
	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C
	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)
	Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)				
0	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3	193.3
1	189.1	174.9	182.7	182.7	176.8	190.1	185.2	188.2	182.2	182.2	191.3	185.2	191.3	182.2	179.4
2	185.1	171.6	160.0	150.7	155.2	178.9	160.4	170.5	155.2	164.7	183.8	160.0	172.4	164.0	158.6
3	176.0	158.2	152.9	127.8	142.8	175.6	150.9	156.3	138.6	140.7	171.9	142.9	154.8	144.3	148.2
4	171.9	135.1	142.0	109.9	110.1	167.5	124.5	141.7	111.2	118.5	165.2	127.6	125.6	111.6	109.7
5	164.1	97.4	131.4	91.3	93.8	157.3	96.78	130.4	92.69	97.68	158.4	109.4	120.4	76.58	100.6
6	156.6	76.4	122.2	49.2	80.7	149.7	86.94	111.0	48.21	72.33	150.5	68.20	110.6	47.65	59.88
7	146.7	61.5	115.7	41.0	57.6	136.3	40.46	95.41	26.04	41.36	128.9	36.43	88.40	17.36	31.62

*A: Aydınlık, K: Karanlık

Ek Çizelge 8 (b) Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH:3.5, 4.6 ve 7 te, 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

Süre (gün)	pH:3.5					pH:4.6					pH:7.0				
	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C	4°C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C
	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)	(A)	(K)	(K)	(A)	(K)
	Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)				
0	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2	121.2
1	117.8	111.9	113.8	100.8	111.9	106.6	108.2	108.5	97.3	99.7	117.9	109.4	111.5	104.6	105.8
2	109.6	103.3	108.2	88.4	102.0	105.0	97.3	93.5	88.9	94.4	114.1	103.6	109.2	92.2	93.6
3	102.0	86.5	99.2	75.0	82.2	102.8	90.5	92.9	75.4	81.3	110.5	96.7	95.3	82.9	83.9
4	96.5	79.6	89.3	64.8	71.1	95.8	77.0	85.7	63.4	70.7	108.9	88.9	91.1	73.5	81.2
5	86.6	73.4	73.8	58.4	64.5	89.8	73.9	72.1	59.1	60.0	105.5	76.2	79.4	65.1	71.4
6	79.3	70.0	69.7	48.4	61.8	87.8	72.2	70.3	51.9	56.3	103.8	74.4	75.3	60.7	62.5
7	78.6	50.1	64.6	41.9	54.2	83.2	55.2	63.6	47.2	53.0	100.7	65.6	70.1	54.3	61.0

*A: Aydınlık, K: Karanlık

Ek Çizelge 8 (c) Koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin pH:3.5, 4.6 ve 7 te, 4, 25 ve 40°C sıcaklıklarda, aydınlık/karanlık ortamlarda fikosiyanin miktarı değişimi

Süre (gün)	pH:3.5					pH:4.6					pH:7.0				
	4°C	25 °C (A)	25 °C (K)	40 °C (A)	40 °C (K)	4°C	25 °C (A)	25 °C (K)	40 °C (A)	40 °C (K)	4°C	25 °C (A)	25 °C (K)	40 °C (A)	40 °C (K)
	Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)					Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)				
0	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32	46.32
1	44.01	44.57	43.60	44.27	43.23	45.04	45.07	41.76	44.18	44.25	45.30	45.00	46.12	45.90	45.56
2	39.33	41.92	39.86	39.91	41.32	42.05	41.96	40.30	41.66	41.67	43.23	44.53	43.41	45.88	43.82
3	38.33	37.75	34.91	38.14	39.37	38.84	39.43	37.40	40.10	41.14	39.84	42.68	40.55	43.28	41.40
4	33.41	32.79	35.23	36.43	36.44	34.19	36.74	32.81	37.44	37.45	37.07	38.39	39.77	42.66	39.93
5	30.01	30.87	30.76	32.38	32.38	30.72	32.35	32.05	36.00	36.32	33.67	33.88	38.42	39.93	37.48
6	27.96	26.55	28.96	28.39	30.76	26.92	28.62	31.29	34.98	34.66	32.35	33.81	35.07	38.33	37.36
7	19.26	20.56	27.17	25.36	25.63	20.75	23.45	27.86	32.26	32.34	28.74	28.67	32.32	34.06	35.74

*A: Aydınlık, K: Karanlık

Ek Çizelge 8 (d) Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin en stabil pH, sıcaklık ve ortamlarda farklı gıda katkı maddeleri içindeki fikosiyanin miktarı değişimi

Enkapsüle edilmemiş fikosiyaninin			Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin			Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin		
%5 Sakkaroz	%0.5 Potasyum- sorbit	%2 NaCl	%5 Sakkaroz	%0.5 Potasyum- sorbit	%2 NaCl	%5 Sakkaroz	%0.5 Potasyum- sorbit	%2 NaCl
Süre(gün)	Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)		Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)			Fikosiyanin Konsantrasyonu (mg/g)		
0	192.3	192.3	122.7	122.2	123.6	47.5	48.9	48.9
1	191.3	187.3	121.1	119.8	120.4	46.4	47.4	47.1
2	190.0	186.1	120.0	117.8	117.8	45.0	45.7	45.5
3	188.7	185.1	117.9	115.9	116.3	43.9	43.8	43.0
4	186.5	183.2	116.8	113.3	113.5	42.2	41.7	41.1
5	184.4	182.4	114.4	112.0	112.3	39.9	40.0	39.6
6	182.2	179.7	113.3	111.0	109.3	38.2	38.4	37.5
7	180.2	177.6	111.1	109.3	108.1	36.8	37.6	36.7

Ek 9. Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşuda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin model gıda deneme renk ve duyuşal değerleri

Ek Çizelge 9(a). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin renklendirici olarak kremşantide kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Krem Şanti	Enkapsüle edilmemiş Fikosiyanin	1	76.55±1.51	-2.78±0.01	-10.18±0.01	3.95±1.15	3.68±1.15	3.68±1.38	4.18±0.98	3.86±1.19
		2	77.54±1.01	-2.7±0.05	-10.2±0.12	3.70±0.90	3.43±0.90	3.43±1.13	3.93±0.73	3.61±0.94
		3	76.23±1.23	-2.51±0.03	-10.59±0.65	3.45±0.65	3.18±0.65	3.18±0.88	3.68±0.48	3.36±0.69
		4	78.42±1.18	-2.07±0.02	-10.93±0.91	3.20±0.40	2.93±0.40	2.93±0.63	3.43±0.23	3.11±0.44
		5	78.54±1.78	-2.45±0.07	-10.96±0.01	2.95±0.15	2.68±0.15	2.68±0.38	3.18±0.58	2.86±0.19
		6	76.44±1.01	-2.63±0.01	-12.30±0.61	2.70±0.35	2.43±0.35	2.43±0.58	2.93±0.78	2.61±0.39
		7	76.21±2.01	-2.64±0.11	-12.42±0.01	2.45±0.55	2.18±0.55	2.18±0.78	2.68±0.98	2.36±0.59
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	76.70±1.01	-3.46±0.24	-6.51±0.01	3.50±0.92	3.86±0.84	4.55±0.52	4.36±0.67	3.95±0.72
		2	79.74±1.21	-3.38±0.51	-6.40±0.51	3.25±0.67	3.61±0.59	4.30±0.27	4.11±0.42	3.70±0.47
		3	77.54±1.16	-3.33±0.71	-7.20±0.91	3.00±0.42	3.36±0.34	4.05±0.02	3.86±0.17	3.45±0.22
		4	76.14±1.18	-3.27±0.21	-6.85±0.51	2.75±0.17	3.11±0.09	3.80±0.27	3.61±0.42	3.20±0.47
		5	76.84±1.01	-3.10±0.35	-6.32±0.91	2.50±0.42	2.86±0.34	3.55±0.02	3.36±0.77	2.95±0.22
		6	74.87±1.08	-2.85±0.45	-6.32±0.87	2.25±0.62	2.61±0.54	3.30±0.22	3.11±0.97	2.70±0.42
		7	74.25±1.01	-2.81±0.47	-6.06±0.71	2.00±0.82	2.36±0.74	3.05±0.42	2.86±1.17	2.45±0.62
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	85.22±1.51	-1.83±0.21	-0.27±0.01	2.68±1.55	2.86±1.31	3.45±1.29	3.45±1.29	2.95±1.31
		2	79.99±1.01	-1.38±0.36	-0.45±0.01	2.43±1.00	2.61±0.76	3.20±0.74	3.20±0.74	2.70±0.76
		3	79.81±1.41	-1.34±0.11	-0.33±0.01	2.18±0.45	2.36±0.21	2.95±0.19	2.95±0.19	2.45±0.21
		4	78.93±1.81	-1.58±0.71	0.05±0.01	1.93±0.50	2.11±0.26	2.70±0.24	2.70±0.24	2.20±0.26
		5	78.25±2.01	-1.25±0.21	0.07±0.01	1.68±0.55	1.86±0.31	2.45±0.29	2.45±0.29	1.95±0.31
		6	77.36±1.17	-1.13±0.31	0.07±0.01	1.43±0.60	1.61±0.36	2.20±0.34	2.20±0.34	1.70±0.36
		7	76.89±1.01	-1.08±0.85	0.09±0.01	1.18±0.65	1.36±0.41	1.95±0.39	1.95±0.39	1.45±0.41
	Brillant Blue	1	74.03±1.00	-16.83±0.11	-16.84±1.01	4.82±0.65	4.59±0.98	4.32±0.98	4.55±0.42	4.64±0.47
		2	71.81±1.85	-16.21±0.91	-17.18±0.71	4.57±0.42	4.34±0.42	4.07±0.84	4.30±0.65	4.39±0.65
		3	73.21±1.01	-16.21±0.99	-17.09±0.91	4.32±0.42	4.09±0.65	3.82±0.42	4.05±0.97	4.14±0.98
		4	72.08±1.51	-16.62±1.01	-16.88±0.65	4.07±0.98	3.84±0.84	3.57±0.65	3.80±0.42	3.89±0.42
		5	72.45±1.61	-16.35±1.41	-16.56±0.81	3.82±0.84	3.59±0.42	3.32±0.47	3.55±0.97	3.64±0.65
		6	72.12±1.01	-16.28±1.01	-16.44±0.75	3.57±0.84	3.34±0.65	3.07±1.31	3.30±0.65	3.39±1.31
		7	71.58±2.01	-16.21±1.72	-16.37±0.31	3.32±0.65	3.09±0.98	2.82±0.31	3.05±0.42	3.14±0.65

Ek Çizelge 9(b). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin renklendirici olarak dondurmada kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşsal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Dondurma	Saf Fikosiyanin	1	70.97±0.57	-6.18±0.43	-7.39±0.18	4.36±0.45	4.41±0.66	4.64±0.45	4.59±0.49	4.64±0.45
		2	72.12±2.01	-3.97±0.37	-5.40±0.27	4.11±0.50	4.16±0.71	4.39±0.50	4.34±0.54	4.39±0.50
		3	70.26±2.35	-4.43±0.33	-5.82±0.21	3.86±0.55	3.91±0.76	4.14±0.55	4.09±0.59	4.14±0.55
		4	70.59±2.32	-4.48±1.20	-5.94±1.99	3.61±0.60	3.66±0.81	3.89±0.60	3.84±0.64	3.89±0.60
		5	70.46±1.99	-4.38±1.75	-5.87±2.13	3.36±0.65	3.41±0.86	3.64±0.65	3.59±0.69	3.64±0.65
		6	70.45±0.41	-4.32±1.30	-5.69±0.53	3.11±0.70	3.16±0.91	3.39±0.70	3.34±0.74	3.39±0.70
		7	70.32±2.61	-4.15±3.64	-5.55±1.18	2.86±0.75	2.91±0.96	3.14±0.75	3.09±0.79	3.14±0.75
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	69.92±3.07	-5.19±3.36	-15.15±1.30	3.77±0.75	4.18±0.56	4.36±0.50	3.95±0.79	3.95±0.47
		2	69.99±2.97	-4.89±1.56	-15.01±3.30	3.74±0.80	4.05±0.61	4.23±0.55	3.82±0.84	3.82±0.52
		3	70.12±2.61	-3.58±3.09	-14.56±3.39	3.71±0.85	3.92±0.66	4.10±0.60	3.69±0.89	3.69±0.57
		4	68.54±0.12	-3.02±2.15	-13.15±0.12	3.68±0.90	3.79±0.71	3.97±0.65	3.56±0.94	3.56±0.62
		5	70.90±0.32	-2.45±1.60	-12.17±0.08	3.65±0.95	3.66±0.76	3.84±0.70	3.43±0.99	3.43±0.67
		6	66.01±1.46	-2.27±1.88	-12.09±0.09	3.62±1.00	3.53±0.81	3.71±0.75	3.30±1.04	3.30±0.72
		7	69.44±1.96	-2.56±3.85	-13.75±9.47	3.59±1.05	3.40±0.86	3.58±0.80	3.17±1.09	3.17±0.77
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	83.17±1.90	-3.05±3.83	1.90±0.48	2.23±1.54	3.09±1.58	4.00±1.34	3.91±1.14	2.82±1.33
		2	82.15±1.93	-3.01±2.14	2.05±0.14	2.20±0.99	2.96±1.03	3.87±0.79	3.78±0.59	2.69±0.78
		3	81.54±1.00	-2.95±1.65	2.14±0.30	2.17±0.48	2.83±0.48	3.74±0.24	3.65±0.04	2.56±0.83
		4	80.24±3.09	-2.87±0.84	3.15±0.26	2.14±0.48	2.70±0.53	3.61±0.29	3.52±0.09	2.43±0.88
		5	79.38±3.68	-2.79±2.56	3.47±0.12	2.11±0.54	2.57±0.58	3.48±0.34	3.39±0.14	2.30±0.93
		6	78.57±3.19	-3.31±2.64	3.88±0.20	2.08±0.59	2.44±0.19	3.35±0.63	3.26±0.39	2.17±0.98
		7	78.40±2.67	-3.12±0.20	3.93±0.18	2.05±0.64	2.31±0.60	3.22±0.68	3.13±0.44	2.04±0.41
	Brillant Blue	1	65.68±0.11	-23.43±0.24	-22.37±3.20	4.82±0.60	4.59±0.68	4.50±0.24	4.77±0.64	4.64±0.64
		2	66.52±7.34	-23.15±0.22	-21.38±3.25	4.79±0.65	4.46±0.71	4.37±0.72	4.64±0.46	4.51±0.69
		3	66.87±9.05	-22.58±1.20	-21.16±0.18	4.76±0.70	4.33±0.76	4.24±0.77	4.51±0.51	4.38±0.74
		4	67.04±9.07	-22.01±2.39	-20.45±0.17	4.73±0.56	4.20±0.82	4.11±0.81	4.38±0.75	4.25±0.84
		5	67.08±7.44	-21.68±2.68	-19.78±0.31	4.70±0.61	4.07±0.81	3.98±0.87	4.25±0.86	4.12±0.80
		6	67.37±0.33	-23.28±1.98	-20.80±3.74	4.67±0.85	3.94±0.91	3.85±0.92	4.12±0.66	3.99±0.89
		7	68.44±5.15	-22.90±5.85	-20.42±3.87	4.64±0.90	3.81±0.96	3.72±0.97	3.99±0.71	3.86±0.94

Ek Çizelge 9(c). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin renklendirici olarak kremada kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Krema	Saf Fikosiyanin	1	61.00±1.34	-1.33±0.13	-2.54±0.57	4.23±0.45	4.09±0.66	4.77±0.45	3.82±0.49	4.32±0.45
		2	63.58±2.02	-1.68±0.34	-2.69±2.01	3.98±0.50	3.84±0.71	4.52±0.50	3.57±0.54	4.07±0.50
		3	69.48±1.74	-2.56±0.40	-2.78±2.35	3.73±0.55	3.59±0.76	4.27±0.55	3.32±0.59	3.82±0.55
		4	77.48±1.92	-2.89±0.36	-2.82±2.32	3.48±0.60	3.34±0.81	4.02±0.60	3.07±0.64	3.57±0.60
		5	85.11±2.12	-3.81±0.31	-2.96±1.99	3.23±0.65	3.09±0.86	3.77±0.65	2.82±0.69	3.32±0.65
		6	84.18±2.08	-4.03±0.07	-2.95±0.41	2.98±0.70	2.84±0.91	3.52±0.70	2.57±0.74	3.07±0.70
		7	84.38±3.12	-3.86±0.72	-2.32±2.61	2.73±0.75	2.59±0.96	3.27±0.75	2.32±0.79	2.82±0.75
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	70.39±4.47	-4.22±0.88	-3.33±3.07	4.00±0.75	3.73±0.56	3.68±0.50	3.55±0.79	3.82±0.47
		2	72.58±4.58	-4.24±0.84	-3.45±2.97	3.97±0.80	3.60±0.61	3.55±0.55	3.42±0.84	3.69±0.52
		3	73.75±3.95	-4.26±0.74	-3.52±2.61	3.94±0.85	3.47±0.66	3.42±0.60	3.29±0.89	3.56±0.57
		4	77.58±2.08	-4.28±0.20	-3.68±0.12	3.91±0.90	3.34±0.71	3.29±0.65	3.16±0.94	3.43±0.62
		5	79.50±4.58	-4.29±0.77	-3.79±0.32	3.88±0.95	3.21±0.76	3.16±0.70	3.03±0.99	3.30±0.67
		6	79.37±5.32	-4.38±2.37	-3.74±1.46	3.85±1.00	3.08±0.81	3.03±0.75	2.90±1.04	3.17±0.72
		7	77.10±5.10	-4.39±1.44	-3.72±1.96	3.82±1.05	2.95±0.86	2.90±0.80	2.77±1.09	3.04±0.77
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	83.39±5.48	-1.89±1.72	4.87±1.90	2.36±1.54	2.68±1.58	3.32±1.34	3.55±1.14	2.64±1.33
		2	85.68±2.21	-1.96±0.54	4.99±1.93	2.33±0.99	2.55±1.03	3.19±0.79	3.42±0.59	2.51±0.78
		3	87.56±2.50	-2.05±4.75	5.02±1.00	2.30±0.44	2.42±0.48	3.06±0.24	3.29±0.04	2.38±0.83
		4	89.69±2.01	-2.17±5.76	5.58±0.32	2.27±0.49	2.29±0.53	2.93±0.29	3.16±0.09	2.25±0.88
		5	91.47±1.05	-2.26±5.57	5.98±1.46	2.24±0.54	2.16±0.58	2.80±0.34	3.03±0.14	2.12±0.93
		6	90.34±1.28	-2.50±4.37	6.67±1.96	2.21±0.59	2.03±0.63	2.67±0.39	2.90±0.19	1.99±0.98
		7	90.34±1.40	-2.58±0.06	6.98±1.90	2.18±0.64	1.90±0.68	2.54±0.44	2.77±0.24	1.86±1.03
	Brillant Blue	1	82.78±1.47	-8.03±0.55	-0.65±1.93	4.00±0.60	3.95±0.66	3.82±0.67	3.77±0.41	3.82±0.64
		2	83.68±1.51	-8.58±0.61	-0.25±1.00	3.97±0.65	3.82±0.71	3.69±0.72	3.64±0.46	3.69±0.69
		3	85.45±1.51	-8.99±0.60	-0.02±0.32	3.94±0.70	3.69±0.76	3.56±0.77	3.51±0.51	3.56±0.74
		4	87.68±0.33	-9.58±0.47	0.01±1.46	3.91±0.75	3.56±0.81	3.43±0.82	3.38±0.56	3.43±0.79
		5	88.13±0.37	-10.19±0.17	0.01±1.96	3.88±0.80	3.43±0.86	3.30±0.87	3.25±0.61	3.30±0.84
		6	87.57±5.92	-10.61±0.97	0.08±1.90	3.85±0.85	3.30±0.91	3.17±0.92	3.12±0.66	3.17±0.89
		7	87.08±7.24	-10.76±1.22	0.37±1.93	3.82±0.90	3.17±0.96	3.04±0.97	2.99±0.71	3.04±0.94

Ek Çizelge 9(d). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin renklendirici olarak jölede kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Jöle	Saf Fikosiyanin	1	34.54±0.32	2.90±0.12	-10.35±0.12	4.41±0.92	4.32±0.64	4.00±1.00	4.64±0.50	4.41±0.58
		2	35.0±3.23	2.94±0.26	-9.58±0.20	4.16±0.97	4.07±0.69	3.75±1.05	4.39±0.55	4.16±0.63
		3	33.78±3.32	3.00±0.22	-9.52±0.18	3.91±0.72	3.82±0.74	3.50±1.10	4.14±0.60	3.91±0.68
		4	33.62±3.34	3.06±0.46	-8.77±3.20	3.66±0.77	3.57±0.79	3.25±1.15	3.89±0.65	3.66±0.73
		5	31.83±3.68	3.09±0.39	-8.50±3.25	3.41±0.82	3.32±0.84	3.00±1.20	3.64±0.70	3.41±0.78
		6	31.66±3.30	3.31±0.18	-8.23±0.18	3.16±0.87	3.07±0.89	2.75±1.25	3.39±0.75	3.16±0.83
		7	30.86±2.90	3.32±0.18	-6.96±0.17	2.91±0.92	2.82±0.94	2.50±1.30	3.14±0.80	2.91±0.88
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	43.66±3.60	-0.80±0.17	-11.79±0.31	3.64±0.92	3.73±0.90	4.14±1.05	4.36±0.67	3.86±0.84
		2	42.14±1.19	-0.66±0.82	-11.24±3.74	3.61±0.97	3.60±0.95	4.01±1.10	4.23±0.72	3.73±0.89
		3	41.87±2.32	-0.55±0.69	-11.07±3.87	3.58±1.02	3.47±1.00	3.88±1.15	4.10±0.77	3.60±0.94
		4	41.59±2.09	-0.38±0.22	-10.60±0.08	3.55±0.87	3.34±1.05	3.75±1.20	3.97±0.82	3.47±0.99
		5	38.76±3.60	0.00±0.22	-10.53±0.20	3.52±0.92	3.21±1.10	3.62±1.25	3.84±0.87	3.34±1.04
		6	38.32±1.64	0.09±0.18	-10.52±0.20	3.49±0.97	3.08±1.15	3.49±1.30	3.71±0.92	3.21±1.09
		7	37.92±4.36	0.33±0.55	-10.41±0.54	3.46±1.02	2.95±1.20	3.36±1.35	3.58±0.97	3.08±1.14
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	36.95±2.78	-0.04±0.53	-6.92±0.55	2.64±1.36	2.95±1.19	3.64±1.03	3.64±1.29	3.09±1.04
		2	36.00±2.11	0.01±0.41	-6.86±0.53	2.61±0.81	2.82±0.64	3.51±0.48	3.51±0.74	2.96±0.49
		3	35.64±2.44	0.06±0.50	-6.35±1.21	2.58±0.26	2.69±0.09	3.38±-0.07	3.38±0.19	2.83±0.54
		4	35.58±2.31	0.23±0.12	-6.17±1.20	2.55±0.31	2.56±0.14	3.25±-0.02	3.25±0.24	2.70±0.59
		5	35.22±2.46	0.39±0.10	-6.55±0.20	2.52±0.36	2.43±0.19	3.12±0.03	3.12±0.29	2.57±0.64
		6	34.29±2.04	0.44±0.08	-5.91±0.35	2.49±0.41	2.30±0.24	2.99±0.08	2.99±0.34	2.44±0.69
		7	33.42±0.19	0.57±0.24	-5.55±0.30	2.46±0.46	2.17±0.29	2.86±0.13	2.86±0.39	2.31±0.74
	Brillant Blue	1	34.09±0.98	-1.25±1.32	-12.18±4.60	4.82±0.40	4.73±0.47	4.05±1.06	4.45±0.52	4.59±0.66
		2	33.81±2.14	-0.74±1.43	-11.55±4.59	4.79±0.45	4.60±0.52	3.92±1.11	4.32±0.57	4.46±0.71
		3	31.20±3.21	-0.70±0.13	-11.10±0.94	4.76±0.50	4.47±0.57	3.79±1.16	4.19±0.62	4.33±0.76
		4	30.51±3.60	-0.24±0.23	-10.55±0.85	4.73±0.55	4.34±0.62	3.66±1.21	4.06±0.67	4.20±0.81
		5	30.17±4.29	-0.14±0.53	-10.33±0.77	4.70±0.60	4.21±0.67	3.53±1.26	3.93±0.72	4.07±0.86
		6	28.65±7.21	-0.12±0.73	-9.24±0.94	4.67±0.65	4.08±0.72	3.40±1.31	3.80±0.77	3.94±0.91
		7	28.36±8.45	0.51±0.23	-7.74±0.85	4.64±0.70	3.95±0.77	3.27±1.36	3.67±0.82	3.81±0.96

Ek Çizelge 9(e). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyaninin renklendirici olarak asitli-gazlı içecekte kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Asitli-Gazlı İçecek	Saf Fikosiyanin	1	34.26±0.45	1.44±0.12	-7.00±0.12	4.32±0.78	4.23±0.88	4.30±0.67	3.67±1.66	4.09±0.97
		2	31.62±1.27	1.43±0.20	-6.19±0.26	4.07±0.83	3.98±0.93	4.05±0.72	3.42±1.71	3.84±1.02
		3	29.36±1.54	1.32±0.18	-5.75±0.22	3.82±0.58	3.73±0.98	3.80±0.77	3.17±1.76	3.59±1.07
		4	27.88±1.70	1.27±1.20	-5.40±0.46	3.57±0.63	3.48±1.03	3.55±0.82	2.92±1.81	3.34±1.12
		5	27.27±1.70	1.19±0.25	-5.20±0.39	3.32±0.68	3.23±1.08	3.30±0.87	2.67±1.86	3.09±1.17
		6	27.09±1.79	1.18±0.18	-5.02±0.18	3.07±0.73	2.98±1.13	3.05±0.92	2.42±1.91	2.84±1.22
		7	25.13±3.27	1.14±0.17	-4.95±0.18	2.82±0.78	2.73±1.18	2.80±0.97	2.17±1.96	2.59±1.27
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	53.57±3.75	-3.27±0.31	-12.49±0.17	3.41±1.07	3.23±1.13	3.40±0.84	3.61±0.78	3.32±0.84
		2	52.16±4.28	-3.59±0.74	-12.37±0.82	3.38±1.12	3.10±1.18	3.27±0.89	3.48±0.83	3.19±0.89
		3	51.41±4.63	-2.75±1.87	-12.22±0.69	3.35±0.97	2.97±0.83	3.14±0.94	3.35±0.88	3.06±0.94
		4	50.49±4.73	-3.13±0.08	-12.07±0.22	3.32±0.82	2.84±0.88	3.01±0.99	3.22±0.93	2.93±0.99
		5	50.30±4.37	-2.03±0.20	-11.90±0.22	3.29±0.87	2.71±0.93	2.88±1.04	3.09±0.98	2.80±1.04
		6	50.29±4.40	-2.49±0.20	-11.25±0.18	3.26±0.92	2.58±0.98	2.75±1.09	2.96±1.03	2.67±1.09
		7	49.07±1.95	-2.64±0.54	-11.14±0.55	3.23±0.97	2.45±1.03	2.62±1.14	2.83±1.08	2.54±1.14
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanin	1	39.43±2.81	-0.34±0.55	-7.26±0.53	1.55±1.36	1.30±0.19	1.67±1.03	1.81±1.29	1.45±1.04
		2	36.78±2.34	0.01±0.53	-6.53±0.41	1.52±0.81	1.37±0.64	1.54±0.48	1.68±0.74	1.32±0.49
		3	34.73±2.55	0.01±6.21	-6.32±0.50	1.49±0.26	1.34±0.09	1.41±0.07	1.55±0.19	1.19±0.54
		4	33.54±2.08	0.03±6.20	-6.03±0.12	1.46±0.31	1.31±0.14	1.28±0.02	1.42±0.24	1.06±0.59
		5	32.70±0.53	0.14±0.20	-5.89±0.10	1.43±0.36	1.38±0.19	1.15±0.03	1.29±0.29	1.93±0.64
		6	32.52±0.63	0.20±0.35	-5.81±0.08	1.40±0.41	1.35±0.24	1.32±0.08	1.16±0.34	1.80±0.69
		7	31.53±0.77	0.22±0.30	-5.63±0.24	1.37±0.46	1.32±0.09	1.39±0.13	1.33±0.39	1.67±0.74
	Brillant Blue	1	33.95±1.29	0.85±0.60	-7.13±1.32	4.45±0.82	4.59±0.66	4.60±0.70	4.28±0.91	4.55±0.82
		2	30.76±1.30	0.83±0.59	-6.82±1.43	4.42±0.87	4.46±0.71	4.47±0.75	4.15±0.96	4.42±0.87
		3	30.16±1.63	0.75±0.94	-6.65±0.13	4.39±0.92	4.33±0.76	4.34±0.80	4.02±1.01	4.29±0.92
		4	28.57±1.51	0.68±0.85	-5.76±0.23	4.36±0.87	4.20±0.81	4.21±0.85	3.89±0.66	4.16±0.97
		5	27.33±1.48	0.66±0.77	-5.61±0.53	4.33±0.92	4.07±0.86	4.08±0.90	3.76±0.61	4.03±1.02
		6	26.35±3.97	0.56±0.94	-5.52±0.73	4.30±0.97	3.94±0.91	3.95±0.95	3.63±0.66	3.90±1.07
		7	26.14±5.00	0.52±0.85	-5.43±0.23	4.27±1.02	3.81±0.96	3.82±1.00	3.50±0.71	3.77±1.12

Ek Çizelge 9(f). Enkapsüle edilmemiş, püskürtmeli kurutma ve koaservasyon yöntemiyle optimum koşulda mikroenkapsüle edilmiş fikosiyanın renklendirici olarak kekta kullanımının depolama süresince Hunter L*, a* ve b* renk değerleri ve duyuşal özellikleri

Model Gıda Ürünü	Kullanılan ürün	Gün	L*	a*	b*	Renk	Görünüş	Doku	Tat	Genel Beğeni
Kek	Saf Fikosiyanın	1	66.25±1.51	-0.76±0.01	20.22±0.81	2.63±1.15	4.29±1.05	4.13±1.00	4.67±0.49	4.04±0.78
		2	67.86±1.50	-0.66±0.11	21.01±0.61	2.50±1.05	4.01±0.05	3.73±0.10	3.02±0.91	3.08±0.80
		3	65.96±1.41	-0.70±0.31	22.09±0.78	2.52±1.07	3.25±0.53	2.88±0.20	2.61±0.63	3.04±0.28
	Püskürtmeli Kurutma yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanın	1	68.13±1.20	-0.87±0.12	21.02±0.65	2.17±0.72	3.67±0.78	3.63±0.98	4.33±0.78	3.71±0.86
		2	68.86±1.03	-0.66±0.01	21.08±0.98	2.02±0.62	3.05±0.81	3.32±0.84	3.67±0.75	3.61±0.66
		3	68.44±1.11	-0.60±0.02	22.30±0.71	2.09±0.54	2.75±0.36	2.53±0.80	2.58±0.72	2.96±0.81
	Koaservasyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş fikosiyanın	1	66.32±0.51	-0.39±0.01	22.35±0.99	1.79±0.72	3.50±0.67	4.00±0.74	4.33±0.65	3.58±1.08
		2	67.08±0.91	-0.41±0.01	22.76±0.96	1.74±0.75	3.36±1.15	3.75±0.77	3.13±0.75	3.15±1.18
		3	66.06±0.65	-0.52±0.02	22.78±0.91	1.72±0.72	3.20±0.67	3.50±0.49	3.30±0.45	2.84±1.08
	Brillant Blue	1	58.58±1.50	-18.62±0.73	7.07±0.61	4.46±0.78	4.54±0.66	4.38±0.83	4.50±0.67	4.46±0.66
		2	62.08±1.25	-18.60±0.81	7.53±0.51	4.36±0.74	4.24±0.55	3.73±0.73	4.08±0.65	4.06±0.67
		3	60.81±1.91	-18.64±0.91	7.91±0.51	4.10±0.83	4.01±0.76	3.58±0.89	4.00±0.67	4.02±0.62

Ek Şekil 10. Model gıda deneleri duyuşal değeriendirme tabağı (A: Kremşanti, B: Dondurma, C: Krema, D: Jöle, E: Asitli ve gazlı içecek, F: Kek)

