

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FINDIK YAĞI NANOEMÜLSİYONU OLUŞUMU VE FİZİKSEL
KARARLILIĞI**

Selvi Seçil ŞAHİN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2021**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FINDIK YAĞI NANOEMÜLSİYONU OLUŞUMU VE FİZİKSEL KARARLILIĞI

Selvi Seçil ŞAHİN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin GÜMÜŞ

Tez çalışmasının temel amacı, Türkiye'nin en önemli üreticilerinden olduğu fındık yağının nanoemülsiyon teknolojisine uyarlanması, nanoemülsiyonların kararlılıklarının incelenmesi ve *in vitro* sindirim sistemindeki ilerleyişlerinin belirlenmesidir. Bu amaçla Tween 80 ve peynir altı suyu proteini (PASP) emülgatörleri kullanılmıştır. Analizler sonunda en kararlı nanoemülsiyon oluşumunu sağlayan damlacık boyutları $d_{32}=283-306$ nm olarak bulunmuştur. Bu boyutlara mikro akışkanlaştırıcıda 14 ve 12 kpsi basınçlarda, 5 çevrim sayısı ile ulaşılmıştır. %2 PASP varlığı ile 296 nm; %2 Tween 80 konsantrasyonunda ise 216 nm damlacık boyutları elde edilmiştir. PASP nanoemülsiyonlarının pH değişimlerinden, Tween 80 ile stabilize edilen emülsiyonlara göre çok daha fazla etkilendiği gözlenmiştir. PASP emülsiyonlarında emülgatörün izoelektrik noktası olan pH 5 civarında maksimum damlacık boyutuna ($d_{32}=6,621$ µm) ulaşıldığı ve jelleşme oluştuğu; ancak Tween 80 ile stabilize edilen emülsiyonlarda örneklerin oldukça stabil kaldığı belirlenmiştir. Benzer etkileşim zeta potansiyel değişimlerinde de gözlenmiştir. PASP nanoemülsiyonlarında 70 °C ile üzeri sıcaklık ve 150 mM NaCl maruziyetlerinde damlacık boyutunun büyümesi stabiliteye etkinin olumsuzluğu olarak yorumlanmıştır. 90°C'de emülsiyonda topaklanmalar oluşmuştur. Tween 80 emülsiyonları ise tuz ve sıcaklıktan etkilenmemiştir. 500 mM'a ulaşan NaCl konsantrasyonlarında, PASP emülsiyonlarında kararsızlık ve damlacık büyümesi gözlenmiş, Tween 80 emülsiyonlarında stabilite korunmuştur. Tüm analizler sonucunda Tween 80 emülgatörünün PASP'a göre daha kararlı ve ideal damlacık boyutlarında nanoemülsiyonlar oluşturduğu kararlaştırılmıştır. *In vitro* sindirim çalışmaları, başlangıç fazına göre damlacık boyutlarının mide fazında artış sergilediğini göstermiştir. Bu fazda PASP emülsiyonları en yüksek damlacık boyutuna ulaşmış ($d_{32}=5,500$ µm), Tween 80 emülsiyonları ise daha düşük damlacık çapı sergilemiştir ($d_{32}=1,069$ µm). Serbest yağ asidi salınımı ise her iki emülgatör için de paralel olarak yüksek salınım değerlerinde ölçülmüştür.

Temmuz 2021, 57 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fındık yağı, Nanoemülsiyon, Emülsiyon, *In Vitro* Sindirim, Damlacık Boyutu

ABSTARCT

Master Thesis

FORMATION AND PHYSICAL STABILITY OF HAZELNUT OIL NANOEMULSIONS

Selvi Seçil ŞAHİN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Cansu Ekin GÜMÜŞ

The aim of the dissertation is adapting hazelnut oil, one of Turkey's most substantial products, to nanotechnology; examining the stability of hazelnut oil nanoemulsions and evaluating their fate during *in vitro* digestion. Tween 80 and whey protein isolate (WPI) were used as emulsifiers. The particle diameter ($d_{32}=283-306$ nm) providing the most stable nanoemulsion, was obtained with the use of 14-12 kpsi pressures and 5 passes by microfluidizer. The ideal particle size was reached at 2% WPI and Tween 80 concentrations as 296 nm and 216 nm, respectively. WPI nanoemulsions were observed to be affected more by pH changes than Tween 80 nanoemulsions. In emulsions stabilized with WPI, the maximum droplet size ($d_{32}=6,621$ μm) was achieved around pH 5, which is the isoelectric point of the emulsifier. Whereas, the emulsions stabilized with Tween 80 remained stable. There was an increase in droplet size of WPI nanoemulsions at temperatures above 70 °C and 150 mM NaCl. Tween 80 emulsions were not affected by salt and heat treatment. At 500 mM NaCl concentrations, WPI emulsions showed instability and droplet growth, but Tween 80 emulsions remained stable. Tween 80 stabilized nanoemulsions were found to be more stable than WPI emulsions, generally. *In vitro* digestion studies were showed that droplet sizes increase in gastric phase. WPI nanoemulsions achieved the maximal droplet size ($d_{32}=5,500$ μm) at this phase, however Tween 80 emulsions displayed smaller droplet size ($d_{32}=1,069$ μm). Free fatty acid release was sufficiently high in the small intestine phase in both emulsions.

July 2021, 57 pages

Key Words: Hazelnut Oil, Nanoemulsion, Emulsion, *In Vitro* Digestion, Droplet Size

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında değerli tecrübe ve bilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, her daim göstermiş olduğu hem akademik hem bireysel yakınlığı ve yardımlarıyla yolumu aydınlatan, ikinci ailem olarak gördüğüm danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin GÜMÜŞ' e,

Engin bilgilerini her zaman sunan ve çalışmalarım boyunca büyük yardımlarda bulunan çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Aziz TEKİN 'e (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü),

Sağlamış olduğu tüm ekipman ve cihaz desteği, aynı zamanda yardımları sayesinde tezimin değerli sonuçlara ulaşmasını sağlayan sayın Prof. Dr. Behiç MERT 'e (ODTÜ Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü),

Bulduğum konuma gelmemi sağlayan çalışmaları, destekleri, değerli bilgileri için tüm Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Hocalarıma,

Varlığıyla bana en değerli dost ve laboratuvar arkadaşı olan ve bu çalışmada yüksek katkıları bulunan Ayşe Nur AKPINAR 'a,

Her daim yanımda olan ve bana varlıklarıyla güç veren değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması 119O805 nolu TÜBİTAK (3501 Kariyer Geliştirme) ve 21H0443003 nolu Ankara Üniversitesi BAP (Hızlandırılmış Destek) projeleri kapsamlarında desteklenmiştir.

Selvi Seçil ŞAHİN
Ankara, Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1.Fındık ve Fındık Yağı	3
2.2 Nanoemülsiyon Yapıları	6
2.3 Gıdalarda Nanoemülsiyon Uygulama Alanları.....	13
2.4 Nanoemülsiyonlarda Stabilitate.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Materyal	21
3.2 Yöntem	21
3.2.1 Emülsiyon hazırlama	21
3.2.2 pH'nın nanoemülsiyon stabilitesine etkisi	22
3.2.3 Sıcaklığın nanoemülsiyon stabilitesine etkisi.....	23
3.2.4 Tuz içeriğinin nanoemülsiyon stabilitesine etkisi.....	23
3.2.5 <i>In vitro</i> sindirim uygulaması	23
3.2.6 Serbest yağ asidi salınımı hesaplama	25
3.2.7 Damlacık boyut ölçümleri	25
3.2.8 Zeta potansiyel ölçümleri	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	26
4.1 Mikro-Akışkanlaştırma Koşullarının Etkisi	26
4.2 Emülgatör Seçiminin Etkisi	31
4.3 Çevresel Koşulların Nanoemülsiyon Stabilitésine Etkisi.....	32
4.3.1 pH etkisi	32
4.3.2 Sıcaklık etkisi.....	34
4.3.3 Tuz varlığında sıcaklığın etkisi	36

4.3.4 Tuz içeriğinin etkisi.....	38
4.3.5 <i>İn vitro</i> sindirim uygulaması	40
5.SONUÇ.....	48
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ.....	57



SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat
%	Yüzde
β	Beta
d_{32}	Sauter ortalama çapı
r	Partikül yarıçapı

Kısaltmalar

μm	Mikrometre
EPI	Emülsiyon faz inversiyon
kg	Kilogram
mL	Mililitre
MPa	Megapascal
mV	Milivolt
nm	Nanometre
OO	Oswald olgunlaşması
PASP	Peynir altı suyu proteini
pI	İzoelektrik nokta
rpm	Dakikadaki devir sayısı
S/Y	Yağ içinde su
S/Y/S	Su içinde yağ içinde su
SE	Spontan emülsifikasyon
SYO	Süpfaktan :Yağ oranı
vd.	ve diğerleri
Y/S	Su içinde yağ
Y/S/Y	Yağ içinde su içinde yağ
YBVH	Yüksek basınçlı valf homojenizatör
YTTÇ	Yapay tükürük test çözeltisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dört farklı emülsiyon sisteminin gösterimi (S/Y, Y/S, S/Y/S, Y/S/Y).....	8
Şekil 2.2 Nanoüretimin ‘Yukarıdan-Aşağı’ ve ‘Aşağıdan-Yukarı’ sentezi.....	9
Şekil 2.3 % 10 Tween 20 ile 3 dakika boyunca 11,000 rpm’de yüksek hızlı karıştırıcı, 120 MPa ve 3 döngüde mikrokışkanlarıcı ile hazırlanan β -karoten nanoemülsiyonların parçacık boyutu dağılımı.....	11
Şekil 2.4 Hazırlama yönteminin çeşitli SYO’larda ayçiçeği fosfolipitlerinin partikül büyüklüğü üzerine etkisi.....	12
Şekil 2.5 Ağırlıkça% 3 Tween 20 ve 150 MPa çalışma basıncı uygulanan silikon yağı emülsiyonlarında mikro akışkanlaştırıcı ve YBVH uygulamaları sonucu damlacık boyutu dağılımı.....	13
Şekil 2.6 (a) İki ayrı faz; yağ ve su; (b) su fazında çözünür ve ara yüz üzerinde adsorbe olan bir yüzey aktif madde; (c) yağ damlacıkları oluşturmak için kesme kuvveti uygulaması; (d) emülsiyon oluşumu.....	17
Şekil 4.1 Mikro-akışkanlaştırma basıncının ve geçiş sayısının, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi.....	27
Şekil 4.2 Mikro-akışkanlaştırma basıncının 6 geçiş sonrası, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi.....	28
Şekil 4.3 Geçiş sayısının, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık boyut dağılımına etkisi (14 kpsi basınçta).....	29
Şekil 4.4 Damlacık çapına karşı, farklı protein konsantrasyonu verilerinden Tween 80 emülagötörü yüzey yükünü belirlemek için kullanılan yöntem örneği.....	30
Şekil 4.5 Emülgatör tipi ve konsantrasyonunun, 14 kpsi basınç altında 5 geçiş uygulanan su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerindeki etkisi.....	31
Şekil 4.6 pH’nın, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	34
Şekil 4.7 Sıcaklığın, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	36

Şekil 4.8 Sıcaklıkla beraber 150 mM NaCl konsantrasyonunun, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	38
Şekil 4.9 Farklı konsantrasyonlarda tuzun, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	40
Şekil 4.10 Simüle edilmiş gastrointestinal modelin, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi.....	43
Şekil 4.11 Simüle edilmiş gastrointestinal modelin, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların zeta potansiyel değerleri üzerine etkisi.....	45
Şekil 4.12 Simüle edilmiş ince bağırsak koşullarına maruz kalan, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi 5 geçiş ile elde edilen nanoemülsiyonlardan serbest yağ asidi (SYA) salınımı.....	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Dünya fındık üretimi (ton).....	4
Çizelge 2.2 Su, yağ ve emülgatör ile hazırlanan farklı tip emülsiyonların özelliklerinin karşılaştırması.....	7



1. GİRİŞ

Türkiye'nin önemli üreticilerinden ve ihracatçılarından olduğu fındık yağı, fındık ağacı meyvelerinden (*Corylus avellana* L.) elde edilen, yağ asitlerinin yaklaşık %90'ını doymamış yağ asitlerinin oluşturduğu bir bitkisel yağdır. Sağlamış olduğu antioksidan bileşen takviyesi sayesinde kardiyovasküler destekleri kanıtlanan fındık yağı gün geçtikçe tercih edilen ve tüketilen bir gıda maddesi olmayı sürdürmektedir.

Teknolojik gelişmelerden en başta etkilenen pazarlardan olan gıda endüstrisinde temel hedef vücuda alınan üründen en üst düzeyde yararlanmak olmaya başlamıştır. İnsan beslenmesinde temel besinlerden olan yağlar, kazandırılan fonksiyonel özellikleri sayesinde sağlıklı beslenme amaçlı hazırlanan diyet listelerinde önemli bir yer edinmiştir. Temel hedefin maksimum biyoyararlanım olduğu bu tür diyetlerde geliştirilen ürünler bu talebe karşılık vermeye başlamıştır. Bu bağlamda gıda endüstrisinde koloidal sistemler göze çarpmaya başlamıştır. Kısaca birbiri ile karışmayan en az iki sıvının birbirleri içerisinde küçük damlacıklar halinde dağıldığı heterojen sistemler olan emülsiyonlar, bu alanda oldukça fazla kullanılmaya başlanmıştır.

Emülsiyonların nanoemülsiyon olarak adlandırılan ve yaklaşık 20-200 nm arasında damlacık boyutlarına sahip olan türleri, özellikle gelişen nanoteknoloji çalışmalarında önemli sonuçlar ortaya koymaktadır. Temel amacın gıdanın stabilitesini sağlamakla beraber vücutta istenilen bölgeye salınımının en etkin şekilde yapılmak olduğu bu alanda nanoemülsiyonlar oldukça destekçi yardımcılarıdır. Bu kapsamda nanoteknolojinin yağ gibi emülsiyon oluşumunda çok kullanılan ve oldukça sık tüketilen bir gıda maddesine uyarlanması kaçınılmaz olmuştur. Ancak, dikkat edilmesi ve üzerine çalışması gereken oldukça önemli bir konu söz konusudur ki o da stabilitedir. Elde edilecek olan ürünün raf ömrüne kadar etkide bulunan nanoemülsiyon stabilitesi her daim kararlı tutulmaya çalışılmalı ve oluşacak bir kararsızlığın bileşenin biyoyararlanımını etkilememesi hedeflenmelidir.

Bir emülsiyon, yağ ve su fazları arasındaki yüzey alanını arttırmak için gereken pozitif serbest enerji nedeniyle termodinamik olarak dengesiz bir sistemdir. Zaman içerisinde emülsiyonlar, daha yüksek yoğunluklu olan bir su tabakası üzerinde, daha düşük yoğunluklu yağ tabakasından oluşan sisteme ayrılma eğilimine girerler (Coupland vd. 1996). Oluşabilecek tüm bu kararsızlık mekanizmaları birçok faktöre bağlı olabilmektedir. Sıcaklık, tuz varlığı, pH, emülgatör konsantrasyonu, emülgatör türü, emülsiyon eldesinde uygulanan yöntem, basınç gibi etkenler oluşturulan nanaoemülsiyonların stabil formlarını negatif veya pozitif yönde etkileyebilmektedirler.

Çalışılan tezin amacı, ülkemiz için oldukça değerli bir ürün olan fındık yağının hem tüketimini hem ihracatını daha yükseklerle taşıyabilmek hedefiyle bu değerli ürünün en üst etkinlikte kullanılır forma dönüştürmektir. Bu bağlamda fındık yağından elde edilen nanoemülsiyonların insan vücudunda emiliminin en hızlı ve en etkili nasıl gerçekleştirilebileceği araştırılmış ve yeni yollar sunulmuştur. Fındık yağı nanoemülsiyonlarına tüm bu fonksiyonel özellikler kazandırılırken oluşturulan nanoemülsiyonların stabil formda olmaları da göz önünde bulundurularak emülsiyon kararlılığına etkide bulunan faktörleri ve sonuçlarını göz önüne sermek amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Fındık ve Fındık Yağı

Acı, Cavcava, Çakıldak, Foşa, İncekara, Kalinkara, Kan, Karafındık, Kargalak, Kuş, Mincane, Palaz, Sivri, Tombul, Uzunmusa, Yassı Badem ve Yuvarlak Badem gibi yaklaşık 17 çeşit fındık türü Türkiye’de yetişmektedir (Köksal vd. 2006). Dikim alanları incelendiğinde Türkiye’nin %76’lık oranla ilk sırada yer aldığı ve onu İtalya (%8), Azerbaycan (%3), İran (%2), ABD (%2) ve Gürcistan (%2) takip ettiği gözlenmektedir (**Çizelge 2.1**). Yine son yıllarda Gürcistan, Azerbaycan ve ABD’nin üretim bazında hız kazandığı belirlenmiştir (Anonim 2019).

Ülkemizde eskiden beri süregelen başlıca fındık üretim bölgesi Doğu Karadeniz’dir. Eski bölge olarak bilinen Doğu Karadeniz bölgesinde Ordu, Giresun, Trabzon, Rize, Artvin gibi iller önemli fındık üreticisi iken; yeni bölge olarak ün kazanan Orta ve Batı Karadeniz’de ise Samsun, Zonguldak, Kocaeli gibi illerde üretim artış göstermektedir (Ozturk ve İslam 2019). Türkiye’de fındık üretim ve ihracat hacmi bu denli yüksek iken tüketim çoğunlukla çerezlik yapılmakta olup fındık yağı, fındıklı çikolata gibi ürünlerin tüketimi hedeflenen seviyenin altında kalmıştır. Ürün fonksiyonelliği ve kalitesi, depolama, AR-GE, reklamcılık gibi etki ve faaliyetlerin geliştirilerek ürün çeşitliliği ve tüketiminin artması hedeflenmektedir (Anonim 2019). Bitkisel ürün ihracatı açısından da önemli bir pay sahibi olan fındık, bakliyat, hububat, yağlı tohumlar ve mamulleri ile yaş sebze ve meyve grubundan sonra yaklaşık %12’lik payla üçüncü sırada yer almaktadır (Öztürk ve İslam 2019).

Çizelge 2.1 Dünya fındık üretimi (ton) (www.fao.org, 2020)

Ülkeler	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Türkiye	450.000	646.000	420.000	675.000	5.000	776.046
İtalya	75.456	101.643	120.572	131.281	132.700	98.530
Azerbaycan	30.039	32.260	34.271	45.530	52.067	53.793
ABD	32.659	28.123	39.916	29.030	46.270	39.920
Dünya	710.543	936.110	748.791	1.008.496	881.061	1.125.178

Fındık (*Corylus avellana* L.) Betulaceae familyasına ait olan ve dünya çapında popüler olmuş, hala da bu popüleritesini sürdüren bir ağaç yemişidir (Alasalvar vd. 2006). Çok özel besin değerleri nedeniyle insan beslenmesinde ve sağlığında büyük rol oynamaktadır. Yüz gramı 600–650 kcal sağlayan fındığın, selüloz ve pektin içeriği %1-3 değerlerine kadar ulaşabilmekte; protein içeriği ise %10-24 arasında değişiklik göstermektedir (Köksal vd. 2006). Fındığın başlıca yan ürünleri olan sert kabuklarından elde edilen kateşin, epikateşin, epikateşin gallat ve gallik asit gibi fenolik bileşikler bulunmaktadır. Doğal veya kavrulmuş olarak tüketilebilen bu yemiş; kavrulma koşulları, zaman ve sıcaklığa bağlı olarak değişik doku, tat ve renge sahip olabilir (Wani vd. 2020). Özellikle çekirdeğinin %60'ını oluşturan değerli yağlar barındırması, aynı zamanda içerdiği oleik ve linoleik asitlerin yanı sıra E vitamini (α, γ -tokoferol) ve sterollerini içeren yağ asidi bileşimiyle yağlık meyve olarak çok değerli bir üründür (Parcerisa vd. 1995; Alasalvar vd. 2003). Fraser vd. (1992) yapmış oldukları çalışmada haftada beş veya daha fazla fındık tüketen kişilerin, hiç fındık tüketmeyenlere göre %50 oranında daha az koroner kalp hastalığı riski taşıdıklarını belirtmiştir. Bu değerli kuruyemişin, Pala vd. (1996)'nin incelemeleri sonucunda insan diyetindeki günlük protein ihtiyacının % 22'sini günde 100 gr tüketilerek karşılayabileceği belirlenmiştir.

Son zamanlarda birçok kuruyemiş özellikle antioksidanlar açısından zengin olarak tanımlanmıştır ki fındık da bu kuruyemişler arasında üst sıralarda yer almaktadır. Bu nedenle fındık gibi kuruyemişler mevcut beslenme açısından en uygun gıda türlerinden olmuştur. Özellikle kabuklarıyla saklanması oldukça uzun bir raf ömrü ve besleyicilik sağladığı için kış ayları boyunca da rahatlıkla tüketilebilmektedir. Blomhoff vd.

(2006)'nin araştırmasına göre, kardiyovasküler ve koroner kalp hastalıklarına atfedilen ölümler, artan fındık ve fındık ürünleri tüketimi ile güçlü ve tutarlı bir düşüş sağlamaktadır.

Fındıktan elde edilen ürünlerin en başında gelenlerden biri fındık yağıdır ve Türkiye'de fındık yağı popülaritesi gün geçtikçe artmaktadır. TMO 2018 verilerine göre fındık, çikolata sanayinde dilimlenmiş, kıyılmış ve öğütülmüş şekilde %80 oranında; pastacılık, bisküvi, unlu mamuller sektöründe %10-12 oranında çerez sektöründe % 3-4 oranında ve kalan %4-5'lik oran ise yağ sanayinde kullanılmaktadır.

Fındık yağı Türkiye'de zamanla gözde ürünlerden olmaya başlamıştır. Bunun temel nedeni ise sahip olduğu besleyici kompozisyon ve insan sağlığı için iyi yönde etkilerde bulunan bileşenleridir. Pişirilen yemeklerde, kızartmalarda, salatalarda hem lezzet verici hem besleyici hem de dayanıklı olması nedeniyle tercih edilmektedir (Alasalvar vd. 2006).

Ham halde olan fındık yağı, fındık meyvesinin fiziksel işlemler ve ekstraksiyon aşamalarına tabi tutulmasıyla elde edilen, kimyasal herhangi bir işlem görmeyen yağdır. İçermiş olduğu yüksek düzeydeki oleik asit nedeniyle vücutta parçalanması ve sindirimi kolaydır. Aynı zamanda düşük bir erime noktasına sahiptir. Rafine fındık yağı ise, ham yağda bulunun tat, aroma, renk gibi özellikleri olumsuz etkileyen maddelerin yağdan uzaklaştırılması ile elde edilmektedir. Rafinasyon aşamasında özellikle deoderizasyon işlemi esnasında yüksek sıcaklık uygulaması ile uçucu olan ketonlar, yağ alkoller, aldehitler ve sülfür bileşikler uzaklaşmaktadır. Bu sayede tüketici talebine uygun kusursuz yağ elde edilebilmektedir (Kesen vd. 2016).

Fındık yağı, içeriğinin %90'dan fazlası doymamış yağ asitlerinden oluşan (özellikle oleik ve linoleik asitler) besin değeri yüksek bir üründür (Özkal vd. 2005). Bileşiminin %80'ini oleik asit oluştururken bunu sırasıyla linoleik (%12), palmitik, stearik ve linolenik yağ asitleri izlemektedir (Amaral vd. 2006). Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), minor lipit bileşenleri ve tokoferoller insan beslenmesinde faydalı bileşiklerdir ki fındık yağı da yüksek oleik asit (C18:1) ve

tokoferol içeriği sayesinde çok gl bir kaynaktır. Fındık yağının MUFA açısından da oldukça zengin olması aynı zamanda, insanda kan basıncı ve toplam kan kolesterol düzeyinin düşürülmesinde yüksek bir etkiye sahiptir (Karabulut vd. 2005; Altuntaş vd. 2018).

Fındık yağında oleik asidin yüksek düzeyde bulunması yağa oldukça iyi bir dayanıklılık kazandırır ve özellikle zenginleştirilmiş diyetlerde kolesterol seviyesini düşürücü etkide bulunur. Yapılan araştırmalara göre, yağa bulunan bu oleik asit kanda kolesterolün yükselmesini önleyici etkide bulunmakta ve kalp damar rahatsızlıklarına karşı da koruyucu etkiler oluştırmaktadır (Kesen vd. 2016). Yine klinik araştırmalar yağa bulunan fitosterollerin diyet takviyesi olarak alımında, normal ve hafif hipokolesteremik deneklerde serum kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir (Hetherington ve Steck 1999).

Fındık yağının stabilite değeri de beslenme faktörü açısından oldukça önemli bir faktördür. Tokoferoller ve polifenoller yağın içerdiği diğer maddelerle birlikte yağın stabilizasyonuna katkıda bulunur ve bulunma düzeyleri yağın oksidatif durumunu yansıtabilir. Yağların oksidatif stabiliteleri evre şartlarına oldukça bağlıdır ve oksidasyon hızı farklılıkları oluşmaktadır. Lipit oksidasyonu gıdanın lezzet, koku, renk ve besin değerlerinde olumsuz değişimler gerçekleştirir ve bu da işlenmiş gıdalarda fındık yağı kullanımının sınırlanmasına neden olabilir. Bundan dolayı, işleme ve saklama koşullarından etkilenen fındık yağının oksidatif kararlılığını değerlendirmek çok önemlidir (Alasalvar vd. 2003).

2.2 Nanoemülsiyon Yapıları

Fonksiyonel gıda endüstrisindeki önemli amaçlardan biri gıda bileşeninin vücudun hedeflenen bölgesine ulaşımı ve burada salınımını sağlayarak biyoyararlılığı arttırmaktır. Bunu yaparken de eklenen besin ögesinin ya da biyoaktifin ürünün duyuşal niteliklerini olumsuz etkilememesi başarılmalıdır. Fitosteroller, karotenoidler ve antioksidanlar gibi bazı fonksiyonel bileşenleri nanoemlsiyonlara enkapsüle ederek meyve sularında veya suda çözünmeleri ve yine, alınan besinin bağırsaktan absrobsiyon

oranı olarak tanımlanan biyoyararlılıklarının artması sağlanabilmektedir (İlyasoğlu vd. 2010; Rowland vd. 2003).

Farklı emülsiyon türlerini tanımlamak için yaygın olarak bir dizi terim kullanılır ve bu terimlerin ne anlama geldiğinin açıklığa kavuşturmak önemlidir (McClements 2010). Emülsiyon bazlı dağıtım sistemleri, parçacık yarıçaplarındaki farklılığa bağlı olarak, nanoemülsiyonlar ($r < 100$ nm) ve geleneksel emülsiyonlar ($r > 100$ nm) şeklinde sınıflandırılabilirler (**Çizelge 2.2**). Nanoemülsiyonların damlacık boyutları genel olarak, 10-100 nm arasında bir dağılım göstermektedir.

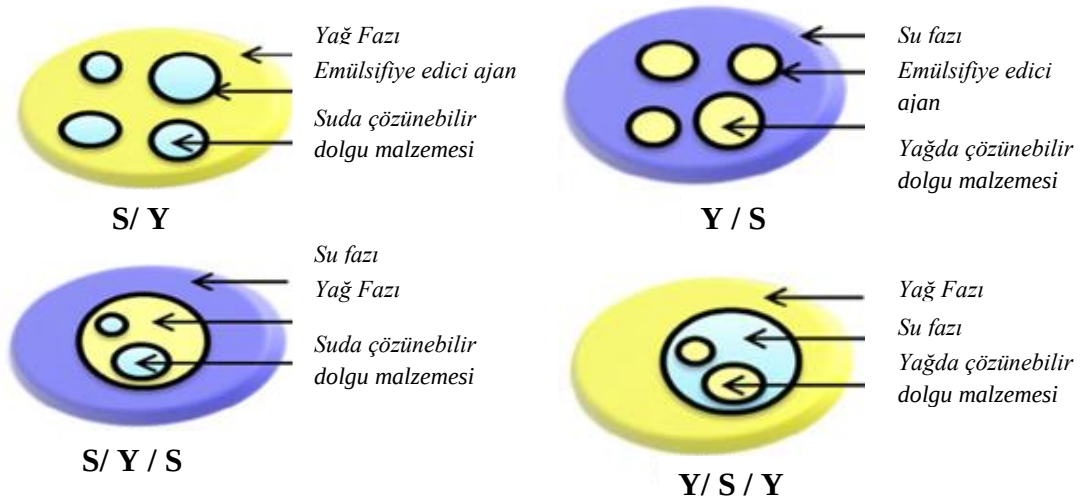
Çizelge 2.2 Su, yağ ve emülgatör ile hazırlanan farklı tip emülsiyonların özelliklerinin karşılaştırması (McClements, 2010)

Emülsiyon Tipi	Damlacık Çapı	Stabilite	Yüzey Alanı / Kütle Oranı (m^2/g^1)	Görünüm
Emülsiyon	100 μm -100 nm	Kararlı Değil	0.07-70	Bulanık/ Opak
Nanoemülsiyon	10 -100 nm	Kararlı Değil	70-330	Şeffaf/ Bulanık
Mikroemülsiyon	2-50 nm	Kararlı	130-1300	Şeffaf

Nanoemülsiyonlar, diğer emülsiyonlardan farklı birçok fiziksel özelliğe sahiptir. Genel olarak görünür spektrumun optik dalga boylarından daha küçük olan (yaklaşık 400 nm'den daha küçük) ortalama damlacık boyutları nedeniyle, yüksek damlacık hacimli fraksiyonlarda bile şeffaf ve yarı saydam görünür. Bu yapılar birçok endüstri denemesinde ve uygulamasında büyük bir kullanım potansiyeline sahiptir. Özellikle gıda, içecek ve ilaç endüstrisinde kullanımlarına ilgi gittikçe artmaktadır çünkü nanoemülsiyonlar, belirli uygulamalar için geleneksel emülsiyonlara göre bir dizi potansiyel avantaja sahiptir. İçlerinde enkapsüle edilmiş yüksek düzeyde lipofilik maddelerin biyoyararlanımını yüksek ölçüde artırma kabiliyetlerine sahip olmaları bu avantajlardan biridir (Quintero vd. 2013; McClements 2010).

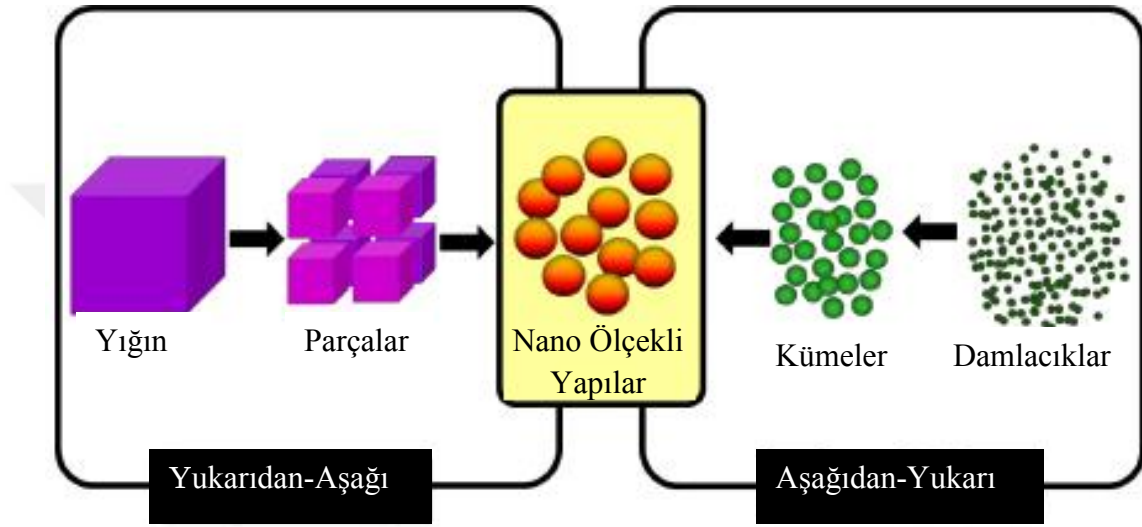
Nanoemülsiyon üretiminin de dâhil olduğu gözde alanlardan biri olan nanobilimde temel prensip, yalnızca gıdanın stabilitesini geliştirmek değil, aynı zamanda hassas olan biyoaktifleri depolama, işleme ve çevre kaynaklı oluşacak istenmeyen etkileşimlerden korumaktır. Yine, gıda kalitesini korumak ve sindirimin ardından vücut içerisinde bileşenin hedef bölgeye salınımını sağlayan bir enkapsülasyon sistemini uygulamak da gıda nanoteknolojilerinin amacı içerisinde yer almaktadır (Augustin ve Sanguansri 2006).

Şekil 2.1' de görüleceği gibi, nanoemülsiyonlar, sürekli faz olarak su ve dağınık faz olarak yağın bulunduğu su içerisinde yağ (Y/S) ; sürekli faz olarak yağ bulunduran, yağ içerisinde su (S/Y) gibi klasik formlarda oluşabilirler. Çoklu formlarda da oluşturulabilen nanoemülsiyonların en yaygın örnekleri, yağ içinde su içinde yağ emülsiyonu (Y/S/Y) ve su içinde yağ içinde su emülsiyonu olan (S/Y/S) şekilleridir. Nano yapıları S/Y/S emülsiyonları, sürekli fazda dağılmış şekilde büyük yağ damlacıklarının içerisinde bulunan nano boyuttaki su damlacıklarından oluşmaktadır. Fonksiyonel gıda bileşenleri; içte bulunan su fazın, yağ fazın ya da dışta bulunan su fazın içerisine enkapsüle edilebilir ve bu sayede çoklu fonksiyonel bileşenler içeren tek bir salınım sistemi geliştirilebilir (McClements vd. 2006).



Şekil 2.1 Dört farklı emülsiyon sisteminin gösterimi (S/Y, Y/S, S/Y/S, Y/S/Y) (Bakry vd. 2016)

Nanopartikül yapılarının oluşturulmasında iki temel yaklaşım vardır; bir tanesi, ‘yukarıdan-aşağıya’ yaklaşımıdır, bu yöntemde çeşitli boyut küçültme prosesleri ile küçük parçacıklar oluşturulabilmektedir (mekanik süreç) (**Şekil 2.2**). Bir diğer yaklaşım ise ‘aşağıdan-yukarıya’ yaklaşımıdır, bu yaklaşımda ise protein ve lipitler gibi küçük moleküllerin kendiliğinden bir araya gelmesi ile nanopartiküller elde edilmektedir (kimyasal süreç) (Acosta2009).



Şekil 2.2 Nanoüretimin ‘Yukarıdan-Aşağı’ ve ‘Aşağıdan-Yukarı’ sentezi (Rawat 2015)

Nanoemülsiyonlar genel anlamda düşük enerji ve yüksek enerjili yöntemler kullanılarak hazırlanmaktadır. Belirli bir sürfaktan, yağ ve su sistemlerinin faz davranışına bağlı olarak kendiliğinden emülsiyon oluşumuna dayanan düşük enerjili yöntemler, ekonomik faydaları sayesinde tercih edilirler (Komaiko ve McClements 2014b). Düşük maliyet ve uygulanabilirliği nedeniyle çeşitli düşük enerji yaklaşımlarının geliştirilmesi ve uygulanması konusunda artış gösteren araştırma ve çalışmalar mevcuttur. Düşük enerji yaklaşımları özel bir donanım gerektirmez ve yalnızca karıştırma prosedürleri ve sıcaklık gibi sistem koşullarının değiştirilmesi ile kendiliğinden nanoemülsiyon oluşturmak için yüzey aktif madde, yağ ve su formlarının özelliklerini kullanır (Komaiko ve McClements 2015). Bu sistemlerde emülgatör, emülsiyon damlacıklarının kendiliğinden oluşmasına yardımcı olur ve ayrıca oluşumdan sonra damlacıkların uzun süreli stabilitesini sağlar. Düşük enerji yöntemleri genel olarak iki sınıfa ayrılırlar.

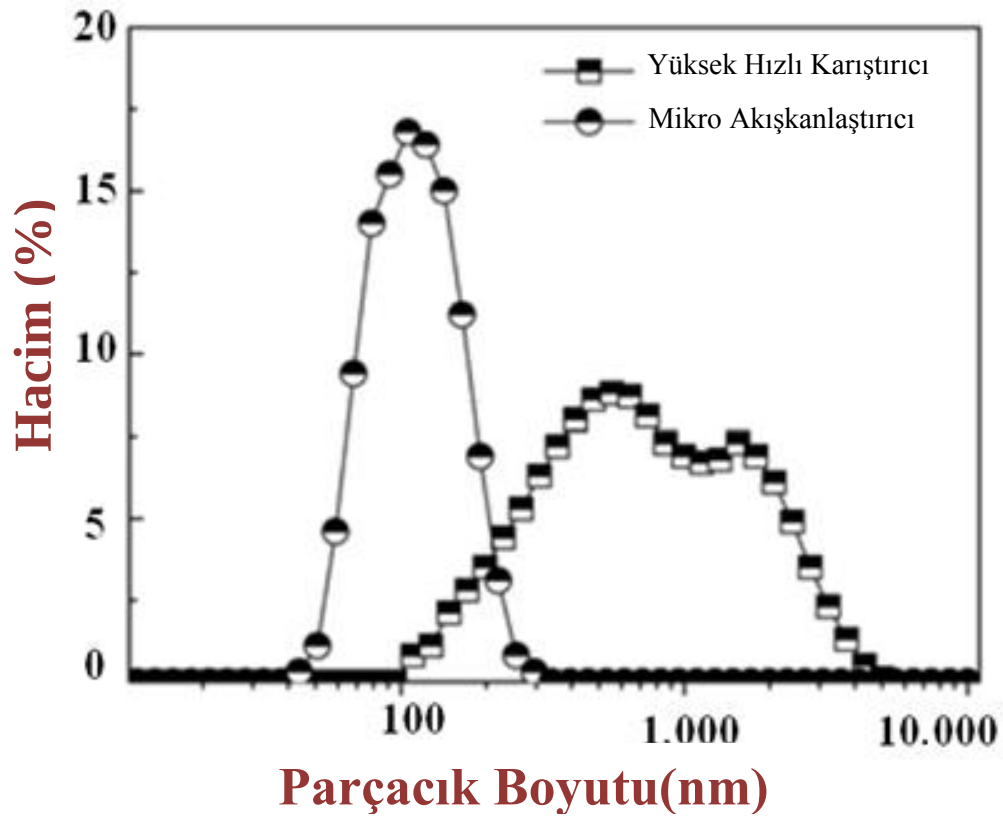
Bunlar; sıcaklıktaki bir değişime dayanan termal yöntemler ve sistem bileşimindeki bir değişikliğe dayanan izotermal yöntemlerdir (Komaiko vd. 2015). Spontan emülsifikasyon (SE) ve emülsiyon faz inversiyonu (EPI) gibi izotermal yöntemler, nanoemülsiyonları oluşturmak için herhangi bir sıcaklık değişikliği gerektirmez. Bunun yerine, temas ettirildiklerinde spesifik bileşimin organik ve sulu fazı arasındaki ara yüzeyde kendiliğinden ultra küçük damlacıkların oluşumuna dayanırlar (Komaiko ve McClements 2015).

Yüksek enerji yöntemlerinde, yağ ve su fazlarının bozulmasına neden olan; bu fazların birbirine karışmasını sağlayan yoğun mekanik kuvvetler üretebilen özel ekipmanlar yani homojenizatörler kullanılır. Bu yöntemler kullanılarak nanoemülsiyonların karakteristik özelliklerini etkileyen ana değişkenler; enerji yoğunluğu ve süresi, yüzey aktif madde tipi ve konsantrasyonu ile yağ ve su fazlarının fizikokimyasal özellikleridir (Komaiko ve McClements 2014b). Kullanılan kolloid değirmenleri, yüksek basınçlı homojenizatörler, sonikatörler ve mikro akışkanlaştırıcılar gibi özel ekipmanlar sayesinde karışımda küçük damlacıklar oluşturulur. Yüksek enerjili yöntemler gıda endüstrisinde önemli fabrikalarca şu anda en yaygın yöntem olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni, zaten iyi kurulmuş, büyük ölçekli üretim kapasitesine sahip olmaları ve çok çeşitli bileşenlerden emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar üretebiliyor olmalarıdır (Komaiko vd. 2015).

Yüksek enerji yöntemlerinden olan mikro akışkanlaştırıcı tekniği çok sık kullanılan bir yöntemdir. Mikro akışkanlaştırıcılar ince emülsiyon üretmek için en verimli sistemlerden biri olarak kabul edilmekte ve bu nedenle gıda endüstrisinde giderek artan bir uygulama alanı kazanmaktadır. Bir mikro akışkanlaştırıcının içinde, bir emülsiyon iki kanala ayrılır ve daha sonra iki kanal bir etkileşim odasında birbirine doğru yönlendirilir. Sonuç olarak, etkileşim bölmesinde yüksek verimli damlacık parçalanmasına yol açan yoğun yıkıcı kuvvetler üretilir (Komaiko vd. 2015). Mikro akışkanlaştırıcı, akış kanalını mikro kanallardan çarpma alanına doğru yönlendirmek için yüksek bir basınç kullanır, bu da olağanüstü derecede ince bir emülsiyon sağlayan çok yüksek bir kesme hareketi oluşturur. Bir mikro akışkanlaştırıcı tarafından üretilen

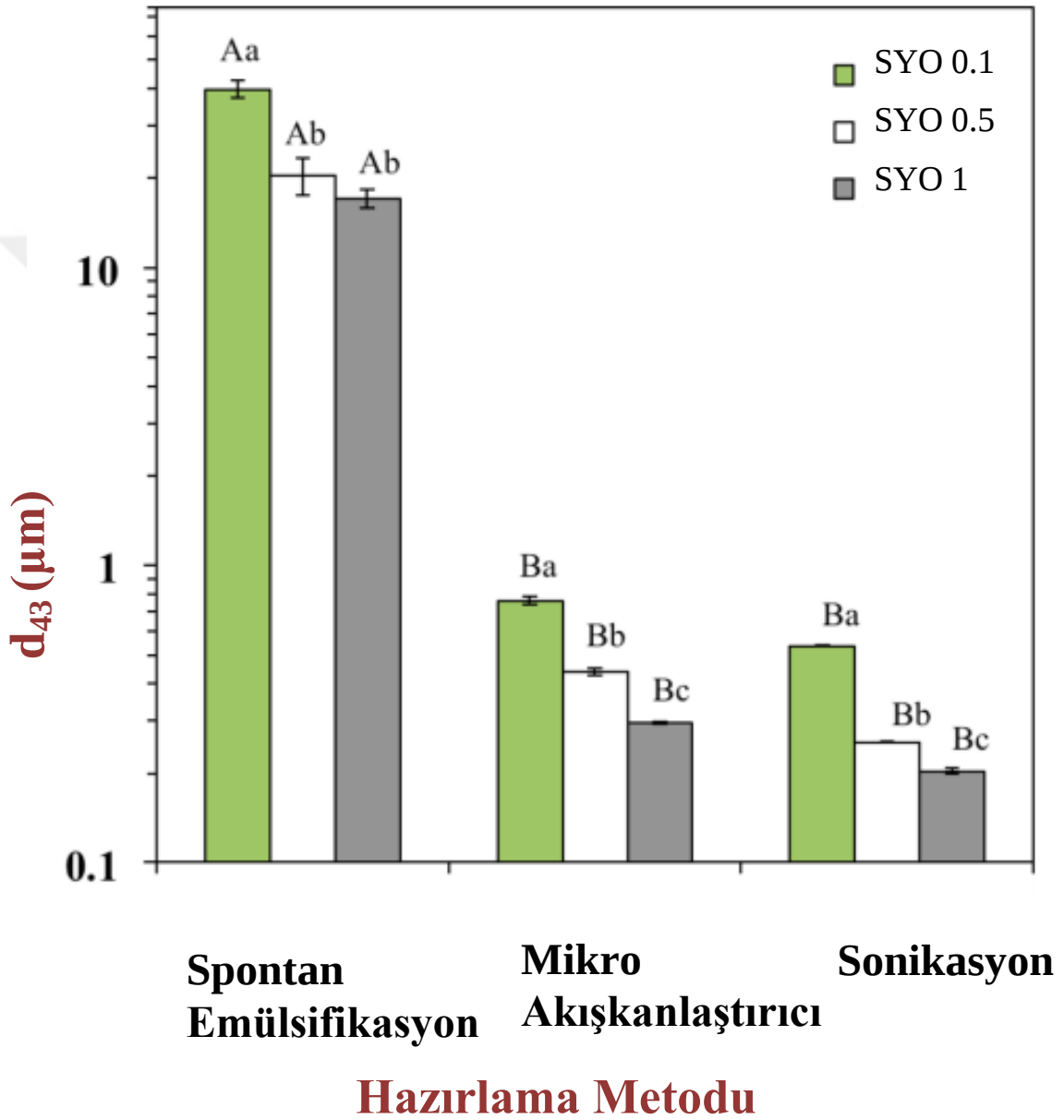
parçacık boyutlarının dağılımları, geleneksel homojenizasyon ürünlerinden daha dar ve daha küçük görünmektedir (Jafari vd. 2006).

Mikro akışkanlaştırıcı basıncı ve çevrim sayısı, mikro akışkanlaştırma sırasında üretilen basınca bağlı olan kesme kuvvetlerinin ve türbülansın yüksek yoğunluğu parçacık boyutunu ve boyut dağılımını etkileyebileceğinden emülsiyonların fiziksel özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. Yapılan bir çalışma gösteriyor ki, yüksek hızlı bir karıştırıcı, daha büyük boyut dağılımı ve bimodal şekle sahip daha büyük damlacıklar ($r > 1 \mu m$) üretebiliyorken; mikro akışkanlaştırıcı, daha verimli damlacık bozulması (kesme ve atalet kuvvetleri ile birlikte kavitasyon) ve daha yüksek enerji yoğunluğu nedeniyle daha küçük damlacıklar ve daha dar bir dağılım vermektedir (Şekil 2.3) (Jo ve Kwon 2014).



Şekil 2.3 % 10 Tween 20 ile 3 dakika boyunca 11,000 rpm'de yüksek hızlı karıştırıcı, 120 MPa ve 3 döngüde mikroakışkanlarıcı ile hazırlanan β -karoten nanoemülsiyonların parçacık boyutu dağılımı (Jo ve Kwon 2014).

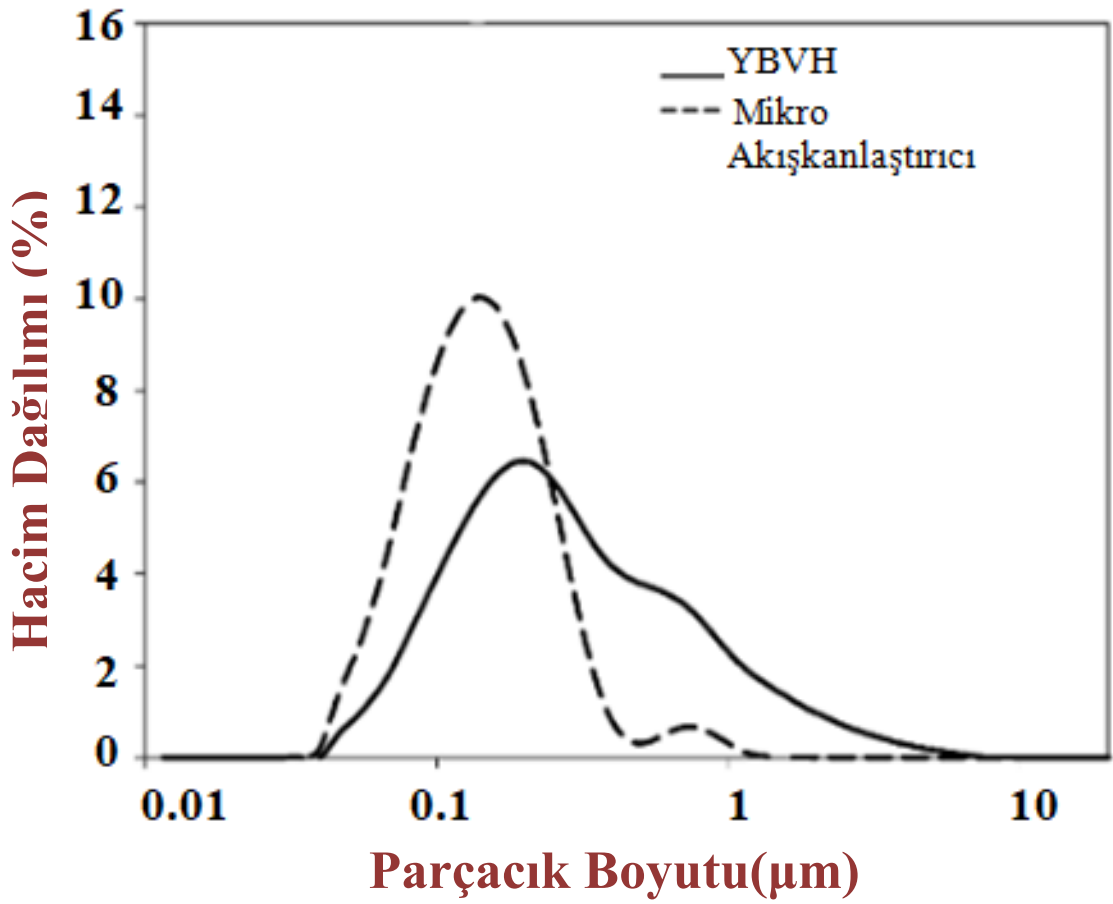
Komaiko vd. (2015)' nin yapmış oldukları sonikasyon, mikro akışkanlaştırıcı ve spontan emülsifikasyonun karşılaştırıldığı çalışmada iki yüksek enerjili yöntemin spontan emülsifikasyon yönteminden önemli ölçüde daha küçük damlacıklar ürettiği ve test edilen tüm sürfaktan: yağ oranlarında (SYO) homojenizasyon ve sonikasyon arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Hazırlama yönteminin çeşitli SYO'larda ayçiçeği fosfolipitlerinin partikül büyüklüğü üzerine etkisi

Farklı büyük harfler (A, B, C), belirli bir yüzey aktif madde/yağ oranının (yani, hazırlama yönteminin etkisi) partikül çapındaki istatistiksel farklılıkları gösterir. Farklı küçük harfler (a, b, c) belirli bir hazırlama yönteminin partikül çapındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (yani SYO etkisi) (Komaiko vd. 2015)

Lee ve Norton (2013)'un yapmış oldukları mikro akışkanlaştırıcı ve yüksek basınçlı valf homojenizatörlerinin karşılaştırılması gösteriyor ki mikro akışkanlaştırıcılar damlacık boyutunu küçültmede yüksek basınçlı valf homojenizatörlerine (YBVH) göre daha başarılıdır (Şekil 2.5). Bunun nedeniyse mikro akışkanlaştırıcılarda kesme kuvvetinin dar bir şekilde dağılmasına, YBVH'nin ise çok daha geniş bir kuvvet dağılımı üretmesine bağlanmıştır.



Şekil 2.5 Ağırlıkça% 3 Tween 20 ve 150 MPa çalışma basıncı uygulanan silikon yağı emülsiyonlarında mikroakışkanlaştırıcı ve YBVH uygulamaları sonucu damlacık boyutu dağılımı (Lee ve Norton 2013)

2.3 Gıdalarda Nanoemülsiyon Uygulama Alanları

Gıdalarda nanoteknoloji uygulamaların odaklandığı temel nokta, nano yapıda bulunan gıda bileşenleri ile gıda takviyelerinin ve besin öğelerinin salınım sistemini geliştirmektir (İlyasoğlu vd. 2010). Bu bağlamdan geçmişten günümüze değin gıda

alanında birçok nanoteknoloji örneği gözlenmiştir. Nanoemülsiyonlar, antimikrobiyeller, aromalar, renkler, koruyucular, vitaminler, nutrasötikler ve ilaçlar gibi çeşitli lipofilik aktif bileşenler için; gıda, farmasötik ve kişisel bakım uygulamalarında çalışma sistemleri olarak kullanılırlar. Bu küçük partikül boyutları yüksek optik berraklık, iyi kinetik kararlılık ve yüksek oral biyoyararlanım ile dağıtım sistemleri oluşturmak gibi katkılar sağlamaktadır (Komaiko ve McClements 2014a).

Nanoemülsiyonlar, farklı gıda türlerinde yağ asitleri, polifenoller, vitaminler, doğal renklendiriciler, antimikrobiyaller, bazı mikro besinler ve aromalar gibi işlevsel ajanları taşımak için giderek daha önemli bir ortam haline gelmektedir. Örneğin içecek endüstrisinde nanoemülsiyonlar; renk, aroma, antioksidanlar ve yağda çözünen vitaminler ve diğer biyoaktif bileşenler için dağıtım sistemleri olarak kullanılır. Nanoemülsiyonların berrak özellik göstermeleri dağıtım sistemleri olarak şeffaf içeceklerde daha uygulanabilir olmalarını sağlamaktadır. Aynı zamanda nanoemülsiyonların aromayı kaplayabileceği ve gıdayı sıcaklıktan, oksidasyondan enzimatik reaksiyonlardan ve hidrolizden koruyabileceği gözlenmiştir (Chen ve McClements 2010). Ayrıca damlacık topaklanmasına karşı iyi bir stabiliteye sahiptirler çünkü damlacıklar arasında etkili olan çekici kuvvetlerin aralığı azalan partikül boyutu ile azalırken itme aralığı partikül boyutuna daha az bağlıdır. Nanoemülsiyonlar, küçük parçacık boyutu ve yüksek yüzey-hacim oranı sayesinde kapsüllenmiş bileşenin biyoyararlanımını da artırabilmektedir (Acosta 2009).

Yağda çözünür ancak, suda çözünmeyen formda oldukları için karotenoidler çiğ sebzeler ile alındıklarında biyoyararlanımları % 10'un altındadır. Karotenoidlerin sindirim sistemindeki biyoyararlanımlarını artırmak ve sulu sistemlerde çözünürlüğünü geliştirmek için Ribeiro vd. (2008) 'nin yapmış olduğu çalışmada β -karoten içeren nanodispersiyonlar hazırlanmıştır. Kullanılan polimerlerin nanodispersiyon fazın kimyasal stabilitesini koruduğu ve kolloidleri koruma özelliğini sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.

Başka bir çalışmada kurkumin stabilitesinin nanoemülsiyon teknolojisiyle kombinasyonu incelenmiştir. Doğal bir fitokimyasal olan kurkumin, zerdeçalın toz

haline getirilen köksaplarından elde edilir; polifenolik yapıdadır ve zerdeçalın renginden sorumlu renk pigmenti olarak da bilinir (Kharat vd. 2018). Wang vd. (2008) yapmış oldukları araştırmada kurkuminin anti-enflamasyon etkisini geliştirmek için değişik boyutlarda su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonları hazırlamış ve enkapsüle etmişlerdir. Çalışma sonucunda kurkuminin suda çözünmemesine rağmen, suda yağ emülsiyonlarının kurkumini taşıma kapasitesi yüksek bulunmuştur.

Vitamin yapıları da nanoemülsiyonlar aracılığı ile stabil tutulmak ve biyoyararlılığı artırılmak istenen gruptandır. E vitamini nanopartikülleri, içecek sanayinde yeni ve gelişmiş ürünlerin yaratılmasına olanak sağlamaktadır. E vitamini nanopartikülleri yüksek basınç homojenizatörü ile hazırlanmaktadır ve nişasta ile enkapsüle edilmektedir. E vitamininin, amaçlanan konsantrasyonlarda berrak meyve sularına katılabilecek şekilde nanoemülsiyon şeklinde formüle edilmesi mümkündür (Chen ve Wagner 2004).

Gıdaların sindirilebilirliği konusunda nanoemülsiyonlardan yararlanmak günümüzde oldukça ilgi görmektedir. Sindirilebilirlik ne kadar gıda bileşeninin gastro-intestinal kanallar aracılığı ile kan dolaşımından adsorbe edilebildiğinin bir ölçüsüdür. Nanoemülsiyon yapıları besinlere ve doğal ekstraktlara daha kolay adsorbe edilme özelliği kazandırabildiği için sindirilebilirliği artırmaktadır. Örneğin, kırmızı-turuncu pigment olarak bilinen ve havuç gibi renkli sebzelerde oldukça yüksek düzeyde bulunan β -karoten, yüksek provitamin A aktivitesine sahiptir ve vücutta nanoemülsiyon yapıları sayesinde alındığında sindirebilirliğinin arttığı sonucuna ulaşılmıştır (Milani 2019).

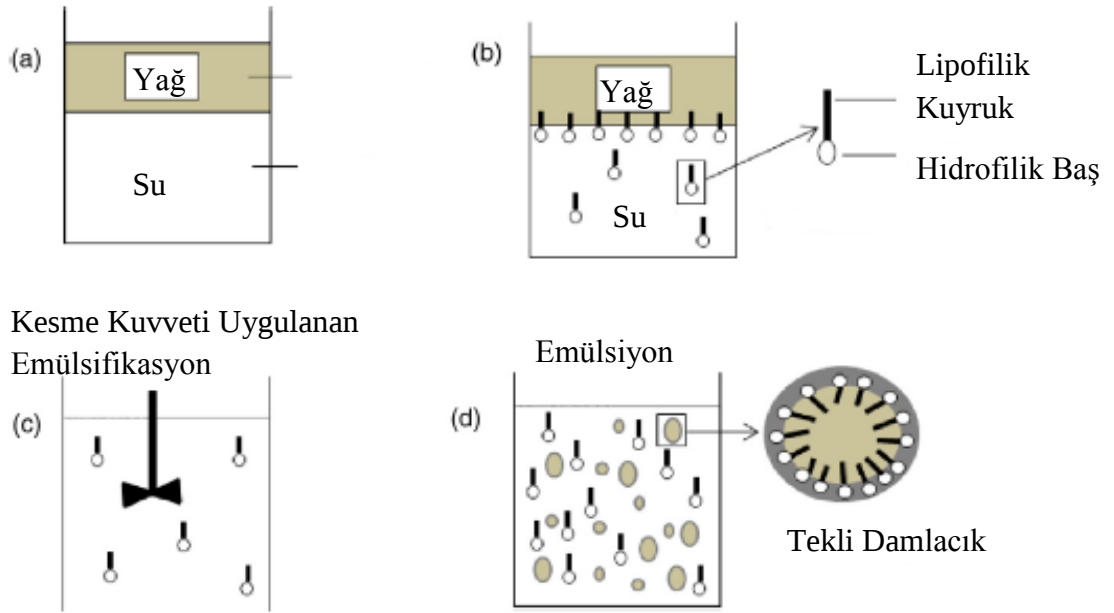
Özellikle sporcu besinleri ve spesifik bir diyetle ihtiyaç duyan bireyler için geliştirilen fonksiyonel ürünler de birçok besin ögesi ile beraber zenginleştirilip satışa sunulabilmektedir. Biyoaktiflerin kontrollü salınımı için nanoemülsiyon teknolojisinden yararlanarak üretilen mineraller, vitaminler veya diğer fonksiyonel gıda bileşenleri ile zenginleştirilmiş sütler veya aromalı sular da yine bu alanda verilebilecek örneklerdendir (Augustin ve Sangsri 2006).

Nanoemülsiyon yapıları, kanda kolesterol düzeyini düşürdüğü bilinen ve böylece koroner kalp rahatsızlıkları riskini minimuma indirebilen fitosterol yapılarının çözünürlüğünü de artırmaktadır. Özellikle birçok sebze ve meyve içeriğinde bulunan fitosterol türü olan β -sitosterollerin nanoyapılar sayesinde vücuttaki çözünürlüğünün arttığı gözlenmiştir. Yine, domates gibi kırmızı renkli sebze ve meyvelerde bolca yer alan bir karotenoid cinsi olan likopenin de vücut sindirilebilirliği nanoemülsiyonlar sayesinde artırılmaktadır. Likopenin prostat kanseri ve kardiyovasküler hastalıklara olan potansiyel etkisi bilindiğinden bu gelişmeler hem gıda endüstrisi hem de sağlık sektöründe oldukça değerlidir (Milani 2019).

2.4 Nanoemülsiyonlarda Stabilité

Emülsiyonlar yiyeceklerin genel formülasyonlarında yer alan, bu nedenle de uzun süreler boyunca stabil kalacak şekilde hazırlanması gereken önemli bileşenlerdir. Sütler, bebek mamaları, mayonezler, kahve kremaları gibi çok sık tüketilen gıda ürünlerinde emülsiyon damlacıklarının ürünün raf ömrü boyunca stabil olması gereklidir. Agregasyon ya da flokülasyon gibi kremalaşma ya da damlacık birleşmesine yatkın olan emülsiyon yapılarından endüstriyel açıdan uzak durmak en uygunudur. Bununla birlikte işleme esnasında ısıtma, yüksek düzeyli karıştırma vb. koşullar nedeniyle stabilitede bozulmalar meydana gelebilir bu nedenle ideal olarak bu oluşumları ortadan kaldırmak gereklidir (Dalglish 1997).

Emülsiyon yapılarının stabilitesinde en etkili madde emülgatörlerdir. Emülgatör, emülsiyon içerisinde, yağ ve su arasındaki ara yüzde konumlanmaktadır. Bir emülgatör, su seven bir hidrofilik baş ve yağ seven bir hidrofobik kutup kısmı içerir. Hidrofilik kafa, sulu faza ve hidrofobik kuyruk yağ fazına doğru pozisyon alır (**Şekil 2.6**). Bu aşamada emülgatörün etkinliği stabil bir emülsiyon oluşması için çok önemlidir (Saifullah vd. 2016).



Şekil 2.6 (a) İki ayrı faz; yağ ve su; (b) su fazında çözünür ve ara yüz üzerinde adsorbe olan bir yüzey aktif madde; (c) yağ damlacıkları oluşturmak için kesme kuvveti uygulaması; (d) emülsiyon oluşumu (Saifullah vd. 2016)

Tuz, sıcaklık, basınç ya da diğer katkı maddelerinin ilavesi nanoemülsiyonların kararlılığını etkileyebilmektedir. Parçacık yüzey yükü (zeta potansiyeli), yüzey aktif maddenin moleküler yapısı, hidrofilik bileşenlerin hidrofobik bileşenlere oranı, yağın moleküler yapısı da nanoemülsiyon stabilitesini belirlemede büyük role sahiptir (Amani vd. 2009).

Nanoemülsiyonlar genellikle yüksek kinetik stabilite ile sedimantasyon veya kremalaşmaya karşı karardır, çünkü hareket ve difüzyon hızları yerçekiminin neden olduğu sedimantasyon ve kremalaşma oranlarından daha yüksektir. Ancak, genelde denge içermeyen ve bu nedenle termodinamik olarak kararsız olan nanoemülsiyonlar, başlangıç fazlarına ayrılma eğilimi gösterirler (Quintero vd. 2013).

Yerçekimsel ayrışmada nispi yoğunluğa göre iki fazın ayrılması söz konusudur. Bu ayrışma, emülsiyon kararsızlığının en yaygın şeklidir denilebilir. Dağınık ve sürekli fazlar nispi yoğunluklarına bağlı olarak kremalaşma veya sedimantasyon formlarında ayrışır (Saifullah vd. 2016). Yerçekimsel ayrışmaya engel olmak için sulu fazın

viskozitesi yükseltilebilir, jelleştirici veya kıvam artırıcı ajanlar yapıya ilave edilebilir (Piorkowski ve McClements 2014).

Damlacık toplanması olarak bilinen stabilite bozukluğu, benzer şekilde yerçekimsel ayrılmaya ve emülsiyonun görünümünün değişip bulanık ve heterojen bir görünüme sahip olmasına neden olur. Küçük damlacık boyutuna sahip nanoemülsiyonlar damlacık boyutunun kolloidal etkileşimler üzerindeki etkisi sayesinde, geleneksel emülsiyonlara göre damlacık toplanmasına karşı daha yüksek stabilite gösterebilmektedirler (Tadros vd. 2004).

Oswald olgunlaşması (OO) ise nanoemülsiyon kararsızlıklarının ana mekanizmasını oluşturur. OO, bir emülsiyondaki yağ moleküllerinin küçük damlalardan büyük damlalara difüzyonu nedeniyle, emülsiyon yapısındaki ortalama damlacık boyutunun zamanla artması olarak bilinmektedir (Kabalnov ve Shchukin 1992). Sürekli fazda dağılmış fazın yüksek çözünürlük oranı sergilemesi, daha hızlı Oswald olgunlaşması gerçekleştirir. Bu nedenle sulu faz içerisindeki yağ çözünürlüğünü azaltmak su içerisinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonlarında Oswald olgunlaşmasını geciktirmek veya önlemek için en etkili yöntemdir (Saifullah vd. 2016).

Hem lipofilik hem de hidrofilik grupları içeren amfifilik maddelerde, bu iki grubun dengesi hidrofilik lipofilik denge (HLB) ile ifade edilir. Griffin yöntemine göre bu değer, molekülün hidrofilik kısmının yüzde olarak ağırlığının beşe bölünmesi ile hesaplanabilir. Kararlı emülsiyonlar elde edebilmek için yağ fazının HLB değeri, emülgatör HLB değerine yakın veya eşit olmalıdır (Hong vd. 2018).

Nanoemülsiyon stabilitesi üzerine birçok etki mevcuttur. Yapılan çalışmalarda da stabilite ve ideal damlacık boyutu için pH, sıcaklık, emülgatör tipi ve konsantrasyonu incelenmiştir (Ozturk vd. 2015a). Damlacık boyutu, emülsiyon esaslı uygulama sistemlerinin; topaklanma, yerçekimsel ayrılma ve birleşme karşısındaki kararlılığının belirlenmesinde önemli bir rol oynar (Saber vd. 2013). Emülsiyon stabilitesi, raf ömrü için gereklidir ve yüksek fiziksel stabilite, emülsiyonun uzun raf ömrü üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Kararlı gıda emülsiyonları elde etmek için emülsiyon bileşimi ve

işlem koşulları önemli faktörlerdir (Baysan vd. 2018). E vitamini stabilitesi üzerine emülgatör tipi etkisini incelendiği bir çalışmada emülgatör olarak peynir altı suyu proteini ve arap zıncı karşılaştırılması yapılmıştır. Peynir altı suyu proteininin, daha küçük ve ideal damlacıklar içeren emülsiyonların oluşturulmasında çok daha etkili bir emülgatör olduğu ve bu işlem için çok daha az miktar emülgatör kullanıldığı sonucuna ulaşılmıştır. Bunun yanında arap zıncı ise çevresel stres koşulları altında stabilizasyonda daha başarılı olmuştur ve bu yaklaşım iki biyopolimerin stabilize etme mekanizmalarındaki farklılıklara atfedilmiştir (Ozturk vd. 2015a).

Emülsiyon stabiliteleri fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenebilmektedir. Molekül türlerindeki değişimlerde kimyasal faktörler etkili olurken, molekül yapısı ve dağılımındaki değişimlerde fiziksel faktörler etkili olmaktadır. Fiziksel stabilite sorunları flokülasyon, birleşme, faz ayrılması, Ostwald olgunlaşması gibi; kimyasal stabilite problemleri ise oksidasyon ve hidroliz reaksiyonlarıdır (Dickinson 2003). Charoen vd. (2011) , suda pirinç kepeği yağı emülsiyonu oluşumunda emülgatör türünün emülsiyon üzerine stabilitesini incelemek adına; peynir altı suyu proteini, arap zıncı ve modifiye nişasta biyopolimerlerini kullanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre düşük emülsiyon konsantrasyonu varlığında, peynir altı suyu proteininin homojenizasyon boyunca, arap zıncı ve modifiye nişastaya göre çok daha küçük parçacık boyutuna ulaştığı belirlenmiştir. Diğer yandan daha yüksek emülsiyon konsantrasyonlarında ise küçük damlacık boyutuna ulaştırma başarısını modifiye nişasta göstermiştir. Polisakkarit emülgatörleri olan modifiye nişasta ve arap zıncının, protein yapılı emülsiyon olan peynir altı suyu proteinine oranla çevresel stres koşullarında daha iyi stabilite sağladıkları belirlenmiştir.

E vitamini içeren nanoemülsiyon oluşumunda, emülsiyon türü olarak quillaja saponin ve lesitin kullanıldığı araştırmaya göre, düşük düzeylerde quillaja saponin kullanımında lesitine göre daha küçük boyutta parçacıklar elde edilebilmiştir. Lesitin nanoemülsiyonlarının, düşük pH değerlerinde ve orta iyonik kuvvetlerde damlacık toplanması ve faz ayrılması için oldukça kararsız olduğu gözlenmiştir. Nanoemülsiyonların çevresel streslere karşı stabilitesinin büyük ölçüde yüzey aktif madde tipine bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Ozturk vd. 2014).

Genel emülsiyon stabilitesi için oksidasyon stabilitesi ve seviyesinin de belirlenmesi gerekir. Baysan vd. (2018)'nin ceviz yağı stabilitesi üzerin etkilerin araştırıldığı çalışmalarına göre; emülsiyon formunun su içinde yağ (Y/S) şeklinde olması, yağın oksidatif stabilitesini önemli ölçüde korumaktadır.

Damlacık boyutu, görünür ışığın dalga boyundan önemli ölçüde daha küçük olduğundan, nanoemülsiyonlar genellikle şeffaf görünüşlüdür. Nanoemülsiyon damlacık boyutu kontrol edilerek görünüşü şeffaftan süt beyaza kadar ayarlanabilir. Yine aynı şekilde aylar veya yıllar arasında değişen raf ömrü ile sağlam bir stabiliteye sahip olacak düzeye de getirilebilir. Özellikle mikron boyutlardaki geleneksel emülsiyonlara göre seyreltme, sıcaklık ve pH değişikliklerine karşı nispeten daha az duyarlı olmaları, nanoemülsiyonların gıda ve kozmetik alanlarında daha sık kullanılmasını sağlayan bir avantajdır (Gupta vd. 2016). Damlacık boyutu ve damlacık boyut dağılımını ölçmek için mikroskobik yöntem, ışık saçılımı, damlacık dinamiklerini ölçme ve tek tek damlacık sayımı gibi birçok yöntem mevcuttur. Işık saçılım tekniğinde ışığın emülsiyondan geçmesine izin verilir ve kırılma indisi değerinden damlacık boyut dağılımı ölçülür. Bu ölçüm bir parçacığın gelen ışık kırma şeklinin damlacığın boyutuna bağlı olmasından ileri gelmektedir (Saifullah vd. 2016).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışma boyunca kullanılan fındık yağı, Karadeniz Bölgesi, Ordu ilinde hasat edilen fındıklardan fındık yağı üretimi yapan Çotanak Yağ firmasından temin edilmiştir. Fındık yağları analiz aşamasına kadar -18 °C’ de, analiz süresince de +4°C’ de muhafaza edilmiştir.

Analizlerde kullanılan monobazik sodyum fosfat, Tween 80, pepsin, domuz gastrik musin tip 2, safra tuzu, lipaz Sigma-Aldrich; dibazik sodyum fosfat Riedel-de Haen; peynir altı suyu izolatu Hard Line Nutrition firmasından satın alınmıştır.

Kaba emülsiyon oluşturmak adına IKA T18 Basic ultra-turrax cihazı; ince emülsiyon oluşumu için ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarında bulunan mikro akışkanlaştırma sistemi; nanoemülsiyonların damlacık boyutu ölçümü içinse Malvern Master Sizer 3000 cihazından yararlanılmıştır. Zeta potansiyeli ölçümleri ODTÜ Merkez Laboratuvar (MERLAB) ’da hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Emülsiyon hazırlama

Su içinde yağ (Y/S) emülsiyonları, %10 yağ fazı (fındık yağı) ve %90 su fazı (tampon çözelti + emülgatör) olacak şekilde karıştırılmıştır. Çalışmada doğal bir emülgatör olarak peynir altı suyu proteini ve sentetik bir emülgatör olarak ise gıda endüstrisinde kullanılan Tween 80 kullanılmıştır. Su fazı çalışmanın tamamında kullanılacak olan Tween 80 veya peynir altı suyu proteini içeriği %2 olacak şekilde, pH ’sı 7’ ye ayarlanmış, 10 mM tampon çözelti içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Peynir altı suyu proteini analizden bir önceki gün tampon çözelti içerisinde yaklaşık 2 saat karıştırılmış, 24 boyunca +4°C ’de buzdolabında bekletilerek tam olarak hidrate olması sağlanmış ve ertesi gün analize başlamadan önce yine 2 saat karıştırılarak oda

sıcaklığına getirildikten sonra kullanmıştır. Her bir analiz için emülsiyonlar taze olarak üretilmiş, bekleme aşamalarında +4°C 'de muhafaza edilmiştir. Emülgatör konsantrasyonunun etkisinin incelendiği aşama için peynir altı suyu proteini ve Tween 80 konsantrasyonları %0,50, %1, %2, %4 ve %8 olacak şekilde su fazları hazırlanmıştır.

Karışımlar hazırlandıktan sonra her biri ultra-turrax cihazında 2 dakika boyunca homojenleştirilerek kaba emülsiyonlar hazırlanmıştır. Elde edilen kaba emülsiyonlar bir sonraki aşamada boyut küçültme işlemine tabi tutulmuştur. Bunun için mikro akışkanlaştırma cihazından yararlanılmıştır. Farklı basınç düzeylerinin ve geçiş sayılarının emülsiyon oluşumu üzerine etkisinin araştırıldığı aşama için 4 kpsi, 6 kpsi, 8 kpsi, 10 kpsi, 12 kpsi ve 14 kpsi basınçları kullanılmış ve bunun yanında 1-2-3-4-5-6-7 olmak üzere farklı çevrim sayısı uygulanmıştır. Her bir basınçtaki 7 farklı geçiş sayısı sonrası emülsiyon damlacık boyutları ve zeta potansiyelleri ölçülmüştür.

Emülsiyonların her biri üçer tekerrür olarak hazırlanmıştır. Boyut ölçümleri ise iki defa tekrarlanmıştır.

3.2.2 pH'nın nanoemülsiyon stabilitesine etkisi

Emülsiyonlar %10 yağ fazı (findık yağı) ve %90 su fazı (pH 'sı 7, 10 mM tampon çözelti içerisinde %2 peynir altı suyu proteini veya Tween 80) olacak şekilde taze olarak üretilmiştir. 50 mL 'lik santrifüj tüplerine 10'ar mL olacak şekilde emülsiyonlardan eklenmiştir. Her bir tüpte bulunan emülsiyonların pH değerleri 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 olacak şekilde NaOH ve HCl kullanılarak pH metre ile ayarlanmıştır. Karıştırma ve ayarlama kolaylığı sağlayan tüplerden sonra pH değerleri ayarlı olan emülsiyonlar cam tüplere ilave edilmiş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saatin ardından emülsiyonların boyut ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Sıcaklığın nanoemülsiyon stabilitesine etkisi

%10 fındık yağı, %2 peynir altı suyu veya Tween 80 içeren taze emülsiyonlar hazırlanmıştır. Yalnızca sıcaklık etkisi için emülsiyonlar cam tüplere 10'ar mL olarak ilave edilmiştir. Aynı zamanda, tuz varlığında sıcaklığın etkisini de araştırmak amacıyla 150 mM NaCl içerecek şekilde emülsiyonlar sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Bunun için 1,5 M NaCl stok çözeltisinden 1 mL, emülsiyonlardan 9 mL olacak şekilde cam tüplere ekleme yapılmıştır. Tüm tüpler 30-40-50-60-70-80-90°C olacak şekilde hazırlanmış sıcak su banyosunda 30'ar dakika bekletilmiştir. Su banyosundan alınan emülsiyonlar oda sıcaklığına kadar soğutulmuş, daha sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sürenin sonunda boyut ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Tuz içeriğinin nanoemülsiyon stabilitesine etkisi

Analiz öncesinde taze olarak hazırlanan %10 fındık yağı, %2 emülgatör içeren ince emülsiyonlar, 0, 100, 200, 300, 400 ve 500 mM NaCl derişimine sahip olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda NaCl stok çözeltileri kullanarak hazırlanmıştır. Cam tüplerde bu konsantrasyon hazırlaması gerçekleşen emülsiyonlar yaklaşık 15 saniye boyuna vortekslenmiş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında beklemeye bırakılmıştır. Devamında boyut ölçümleri yapılmıştır.

3.2.5 *In Vitro* sindirim uygulaması

Tween 80 ve peynir altı suyu proteini emülgatörleri kullanılarak %2 emülgatör içeren bir su fazı ve %10 fındık yağı içeren yağ fazından oluşan emülsiyonlar taze olarak hazırlanmıştır. Hazırlanma aşamasında 12 kpsi basınç uygulanmış ve 5 geçiş sonrası emülsiyonlar toplanmıştır.

In vitro sindirim amacıyla, INFOGEST sindirim yöntemi uygulanmıştır (Brodkorb vd. 2019) . Ağız fazı için öncelikle analizin 24 saat öncesinde yapay tükürük test çözeltisi (YTTÇ), 0,75 g domuz gastrik müsin tip 2 üzerine 25 mL yapay tükürük stok çözeltisi

eklenerek hazırlanmıştır. Karışım gece boyunca karıştırılmıştır. Sindirim aşamasında örneğin yağ konsantrasyonunun %2 olması gerektiği için öncelikle emülsiyonlar seyreltilmiştir. Seyreltilen örnekten 20 mL alınmış bir behere konulmuş yine YTTÇ 'den de 20 mL alınıp ikinci bir behere konularak her iki beher de 37 °C su banyosunda 15 dakika boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda YTTÇ ve örnek birleştirilmiştir. pH değeri 6,8'e ayarlanmış ve inkübatör karıştırıcıda 100 rpm 'de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Sürenin sonunda ağız fazından boyutu ölçümü için gerekli örnek ayrılmıştır.

Mide fazı için mide test çözeltisi 0,08 g pepsinin tartılıp üzerine 25 mL mide stok çözeltisinin ilave edilmesiyle hazırlanmıştır. Bu karışım kullanılmadan önce 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmış, ardından 37 °C su banyosunda 15 dakika boyunca bekletilmiştir. 10 dakika karıştırılmış olan ağız fazı çözeltisinden 20 mL alınmış ve pH değeri 2,5 'e ayarlanmıştır. Üzerine su banyosundan çıkarılan mide test çözeltisinden 20 mL ilave edilmiştir ve yeniden pH 2,5 'e ayarlanmıştır. Elde edilen karışım çalkalamalı inkübatörde 100 rpm 'de 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım alınarak mide fazı boyut ölçümü için gereken örnek miktarı ayrıldıktan sonra ince bağırsak fazına geçiş yapılmıştır.

İnce bağırsak fazında sindirim pH stat cihazında simüle edilerek yapılmıştır. Bu faz için 24 saat önceden safra tuzları hazırlanmıştır. Bunun için 0,2 g safra tuzu çözeltisi tartılmış, üzerine pH 7 'de fosfat tamponundan 3,73 mL ilave edilmiştir. Çözünme sağlanana kadar karıştırılmış devamında gece boyu buzdolabı sıcaklığında bekletilmiştir. İnce bağırsak aşamasından 45 dakika önce lipaz enzimi; 0,07 g lipazın tartılması, üzerine 2,92 mL fosfat tamponu eklenmesi şekliyle hazırlanmış ve 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. pH stat cihazında ince bağırsak sindirimine başlamadan 15 dakika önce 3,5 mL safra, 2,5 mL lipaz, 1,5 mL ince bağırsak stok çözeltisi cam tüplere konularak 37 °C su banyosunda 15 dakika boyunca bekletilmiştir. 2 saat süre sonunda mide kimüsünden 30 mL alınmış, pH değeri 6,95-6,99 arası olacak şekilde ayarlanmış ve 'Metrohm 916 Ti-Touch' pH stat cihazında sindirim için yerleştirilmiş, enzimler ilave edilmiş ve 2 saat boyunca sindirime

bırakılmıştır. Sindirim sonunda elde edilen faz 4000 rpm’de 45 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve üstte kalan misel fazı boyut ölçümü için ayrılmıştır.

3.2.6 Serbest yağ asidi salınımı hesaplama

Emülsiyon içeriğindeki yağ fazının sindirimi, ince bağırsak aşaması esnasında harcanan NaOH üzerinden, salınan serbest yağ asidi salınım düzeyinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Bunun için kullanılan sayısal formül aşağıdaki gibidir;

$$\% SYA = \frac{100 \times V(NaOH) \times m(NaOH) \times MW (Lipit)}{W (Lipit) \times 2}$$

V: Harcanan NaOH hacmi (L)

m: NaOH molaritesi (M)

MW: Yağın molekül ağırlığı (g/mol)

W: Sindirim sistemindeki yağın ağırlığı (g)

3.2.7 Damlacık boyut ölçümleri

Çalışmada yararlanılan Malvern Master Sizer 3000 cihazı, hammadde olan fındık yağı için refraktif indeks ve yoğunluk gibi değerlerin cihazın programına işlenmesiyle, statik ışık dağılımı ve Mie teorisi ilkelerine dayalı olarak ölçüm yapmıştır. Her bir emülsiyon örneği için boyut ölçümü 2 kez olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.8 Zeta potansiyel ölçümleri

Örnekler uygun formda hazırlandıktan sonra ODTÜ MERLAB laboratuvarlarında ölçümler yaptırılmıştır. Bunun için örnekler önceden, 0,5 mL hazırlanan emülsiyon ve 2 mL tampon çözelti olacak şekilde seyreltilerek ölçüme gönderilmiştir. Mide fazı için pH 2,5 değerinde, diğer fazlar içinse pH 7 değerinde tampon çözeltiler kullanılmıştır.

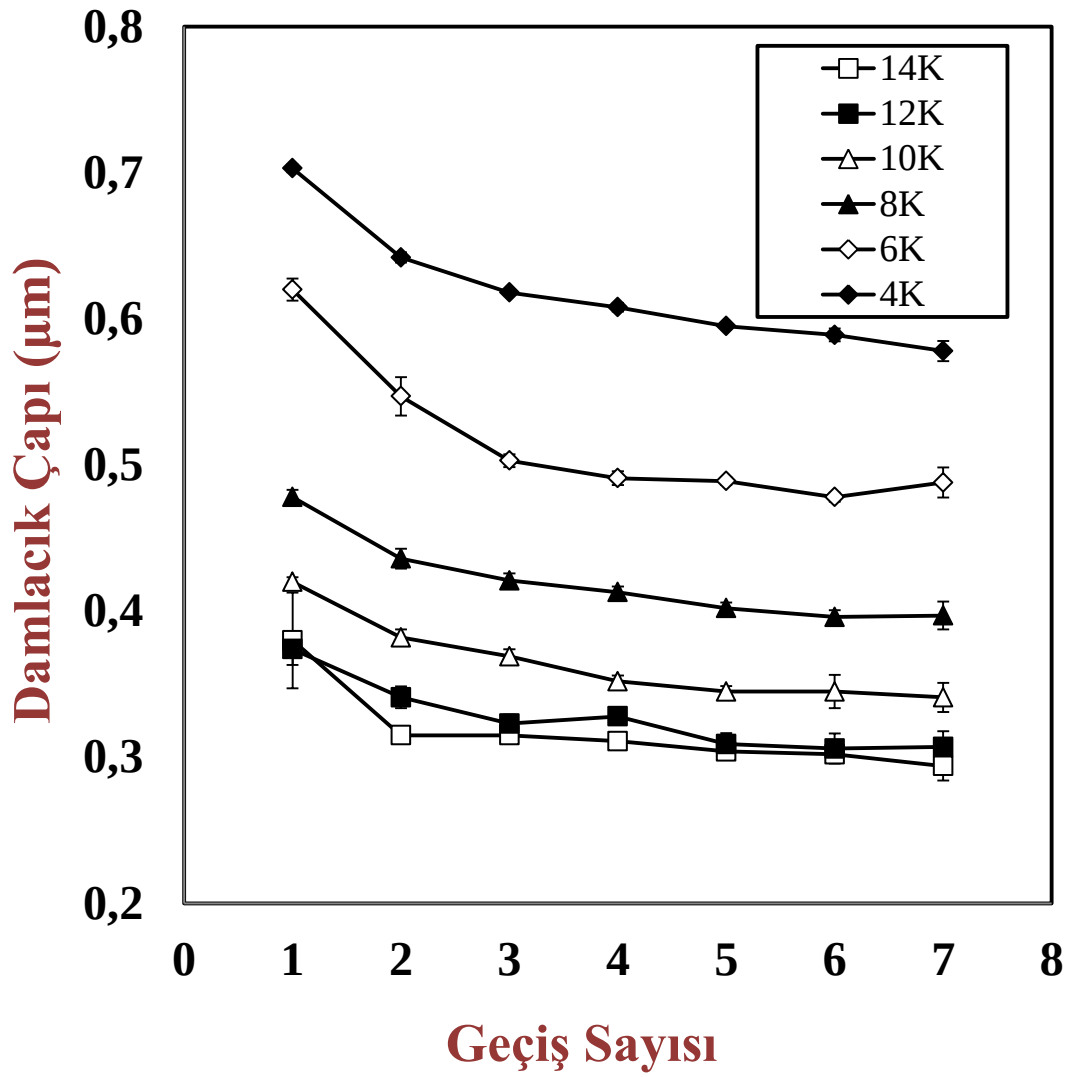
İstatistiksel değerlendirme için IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılarak, ANOVA testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışma kapsamında nanoemülsiyon oluşturma tekniği olan mikro akışkanlaştırma sisteminin basınç ve devir sayısının, emülgatör tipi ve konsantrasyonunun ve çevresel koşulların (pH, sıcaklık ve iyonik etki) fındık yağı nanoemülsiyonlarının fiziksel kararlılığına olan etkileri incelenmiş aynı zamanda farklı emülgatör içeriğinin vücutta lipit sindirimi üzerine tesiri araştırılmış ve sonuçlar elde edilmiştir.

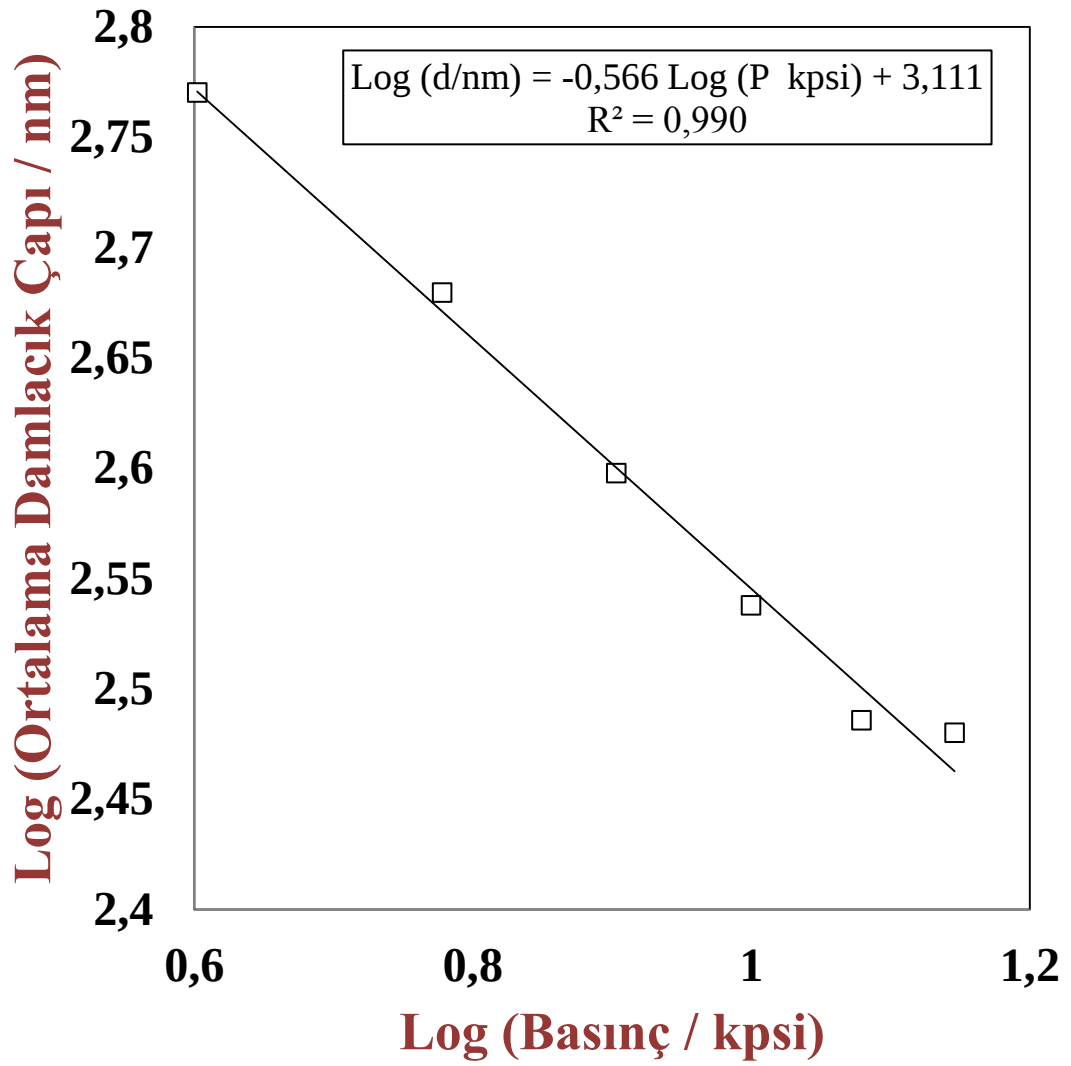
4.1 Mikro-Akışkanlaştırma Koşullarının Etkisi

Taze olarak hazırlanan kaba emülsiyonlar ultra-turrax cihazıyla homojen forma getirildikten sonra 4 kpsi, 6 kpsi, 8 kpsi, 10 kpsi, 12 kpsi ve 14 kpsi basınçlar, her bir basınç için 1-2-3-4-5-6-7 geçiş olacak şekilde uygulanmıştır. Buna bağlı olarak hangi basıncın ve kaçınıcı geçiş sayısının ideal ve mümkün olan en küçük damlacık boyutunu verdiği gözlenmiştir. Emülsiyonların ölçülen damlacık boyutları **Şekil 4.1** 'de ifade edilmiştir. **Şekil 4.1**'deki veriler incelendiğinde, en küçük damlacık boyutuna 14 kpsi ve 12 kpsi basınçta ve 5., 6. ve 7. geçişlerde ulaşıldığı görülmektedir. Buradan hareketle uygulanan basınç ve geçiş sayısının damlacık boyutunda küçülme sağladığı sonucuna ulaşılabilmektedir. Benzer bir çalışma olarak Chen ve McClements (2010)'in suda mısır yağı emülsiyonlarının damlacık boyutları üzerine yüksek basınç homojenizasyonunun ve sodyum kazeinat, Tween 20, β -lactoglobulin emülgatörlerinin etkisi incelenmiş, sonuçta 14 kpsi'da en küçük damlacık boyutu elde edilmiştir. Yapılan tez çalışmasında ise 14 kpsi ve 12 kpsi çok benzer, yer yer aynı sonuçlar vermiştir. 14 kpsi ve 12 kpsi basınçta ve 5., 6. ile 7. geçişlerde birbirine çok yakın damlacık boyutları elde edildiği için bundan sonraki aşamalarda 14 kpsi ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş olacak şekilde çalışılmaya karar verilmiştir.



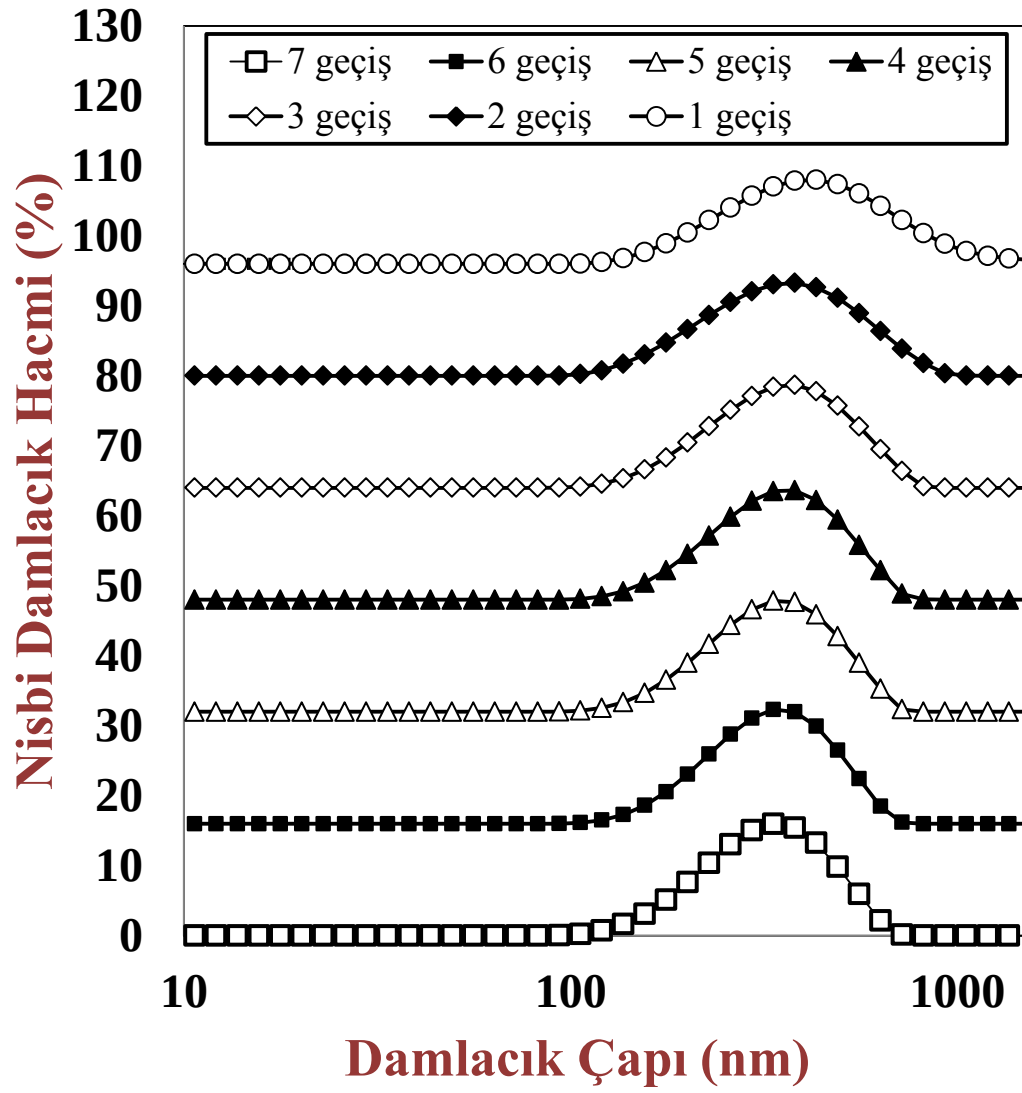
Şekil 4.1 Mikro-akışkanlaştırma basıncının ve geçiş sayısının, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi

Verilerin Log çapına karşı Log basıncın çizilmesi ile yeterli emülgatör varlığında bu ikili arasında doğrusal bir ilişki olacağı belirlenmiştir (**Şekil 4.2**). Yaklaşık 0,57'lik bir eğim ile artan Log (P/kpsi) değerine karşılık Log (d/nm) değerinde doğrusal bir azalma gözlenmiştir. Bu da, literatür verilerinde olduğu gibi (Hakansson vd. 2009), Log (d/nm) ile Log (P/kpsi) arasındaki eğimin yaklaşık 0,6 olması gerekliliğini desteklemektedir.

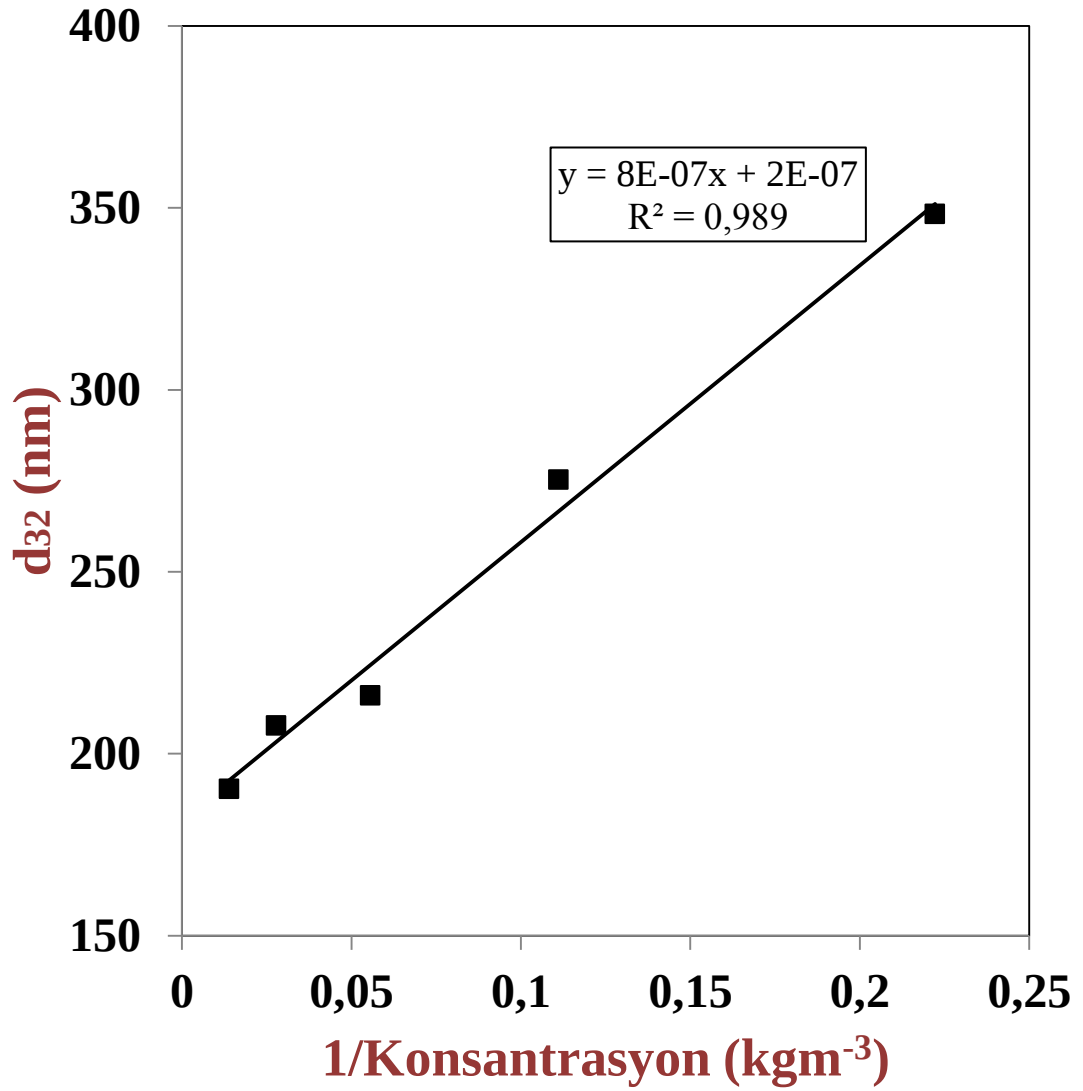


Şekil 4.2 Mikro-akışkanlaştırma basıncının 6 geçiş sonrası, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi

Sabit basınç (14 kpsi) altında mikro-akışkanlaştırıcıdan geçiş sayısının damlacık boyutuna etkisi **Şekil 4.3'** te gösterilmiştir. Buna göre parçacık boyutu dağılımının genişliği, artan geçiş sayısı ile önemli ölçüde azalmaktadır. Dar bir parçacık boyut dağılımı elde etmek için yüksek basınç altında fazla sayıda geçişin daha avantajlı olacağı sonucuna varılmıştır. Dar bir parçacık boyut dağılımı sistemdeki parçacıkların çaplarının birbirine yakın olduğunun bir göstergesidir. Chen ve McClements (2010)'in çalışmasında da partikül boyut dağılımı genişliğinin, artan geçiş sayısı ile azaldığı belirlenmiş ve tez çalışmasını destekleyici sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.3 Geçiş sayısının, %2 peynir altı suyu proteini içeren su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık boyut dağılımına etkisi (14 kpsi basınçta)

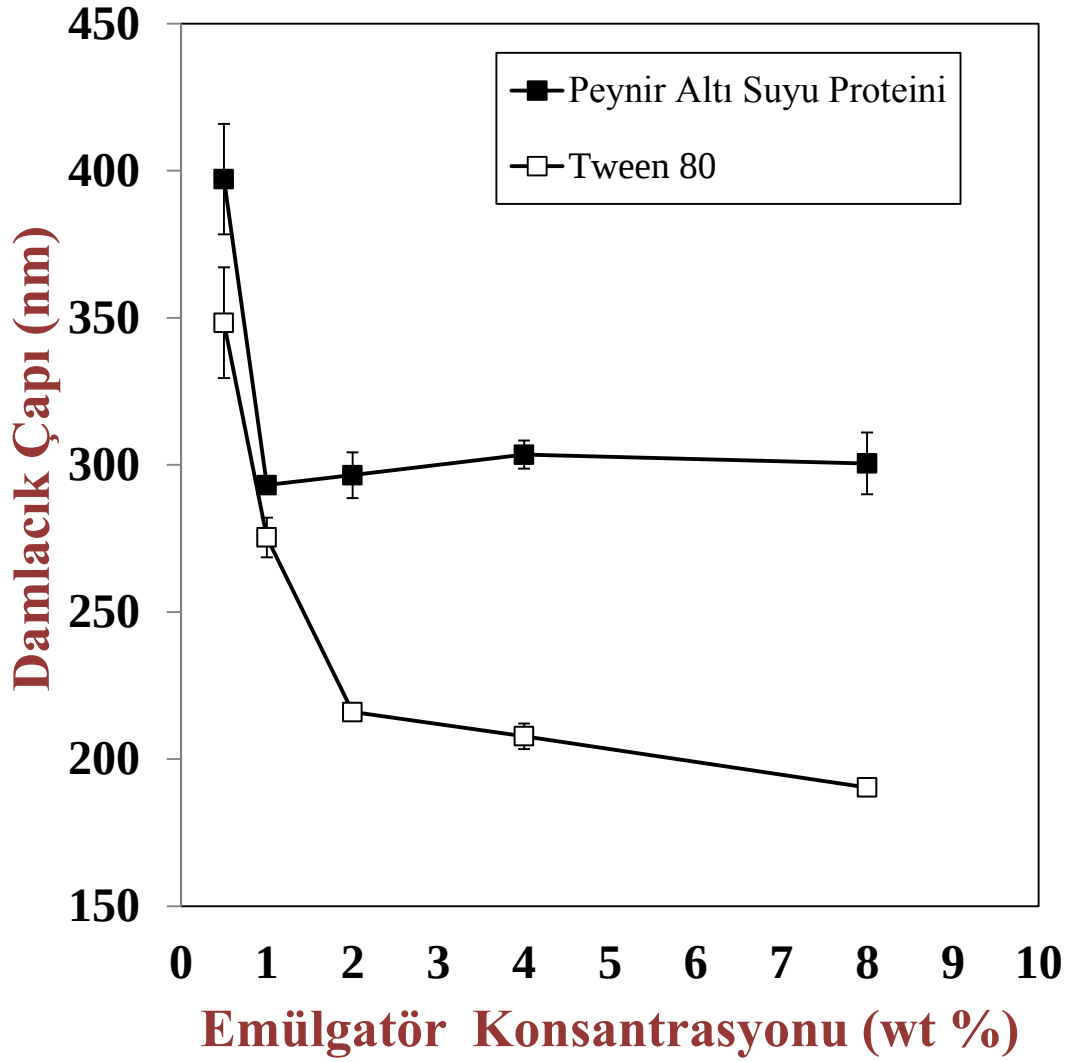


Şekil 4.4 Damlacık çapına karşı, farklı protein konsantrasyonu verilerinden Tween 80 emülgatörü yüzey yükünü belirlemek için kullanılan yöntem örneği

Emülgatör yüzey yükü belirlemek amacıyla Tween 80 emülgatörüne uygulanan yöntem aracılığıyla çizilen grafik eğimi kullanılarak yüzey yüzü hesaplanmıştır (Şekil 4.4). Tween 80 emülgatörüne yüzey yükü değeri $1,2345 \text{ mg/m}^2$ olarak belirlenmiştir. Bu değer Kharat vd (2018)'nin kurkumin yüklü suda yağ emülsiyonlarında emülgatör tipi ve konsantrasyonunun etkisini inceledikleri çalışmaları ile benzer değerler göstermiş, Tween 80 yüzey yükü sonuçları tez çalışması ile paralellik sergilemiştir.

4.2 Emülgatör Seçiminin Etkisi

Çalışmanın bu kısmında tüm emülsiyonların oluşumunda 14 kpsi basınç ve 5 geçiş sayısı sabit tutulmuştur. Her bir emülgatör çözeltisi %0,5, %1, %2, %4 ve %8 konsantrasyonlarında hazırlanmış ve kaba emülsiyonlar elde etmek amacıyla ultraturax cihazı ile 2 dakika boyunca homojenleştirilmiştir.



Şekil 4.5 Emülgatör tipi ve konsantrasyonunun, 14 kpsi basınç altında 5 geçiş uygulanan su içinde ağırlıkça %10 fındık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerindeki etkisi

Yapılan çalışma sonunda elde edilen bulgular **Şekil 4.5** 'te verilmiştir. Sonuçlar, emülgatör tipi ve konsantrasyonunun damlacık boyutu üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Buna göre peynir altı suyu proteini için %1'den yüksek konsantrasyonlarda birbirine yakın damlacık boyutları elde edilmiştir. Tween 80'in %2'ye kadar kullanımında ise damlacık boyutlarının önemli düzeyde azaldığı ve peynir altı suyu proteinine göre daha düşük parçacık boyutları oluşturabileceği, buna karşın daha yüksek Tween 80 konsantrasyonunun damlacık boyutuna etkisinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ozturk vd. (2015a)'nin E vitamini-asetat ilaveli suda portakal yağı emülsiyonlarının stabiliteyi üzerine peynir altı suyu proteini ve arap zımkı emülgatörlerinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, peynir altı suyu proteini ile hazırlanan emülsiyonların damlacık boyut eğilimleri tez çalışmasını destekler nitelikte olmuştur. Bu çalışmada da özellikle %1 emülgatör konsantrasyonu ile damlacık boyutu ani bir azalmaya uğramış ve artan emülgatör konsantrasyonu ile de azalma devam etmiştir. Benzer şekilde, Kharat vd. (2018) kurkumin ilaveli, suda orta zincirli trigliserid yağı emülsiyonunun stabilitesi üzerine farklı emülgatör konsantrasyonlarının etkisi incelemiştir. Arap zımkı, saponin, Tween 80 ve kazeinat emülgatör olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak damlacık boyutu üzerine Tween 80 emülgatörü için tez çalışması ile paralel sonuçlar elde edilmiştir. Aynı şekilde %1 ve %2 konsantrasyonlarda damlacık boyutlarında ani azalmalar gözlenmiş, devamında ise ihmal edilebilecek düzeyde boyut azalmalarına rastlanmıştır. Bu sonuçlar da tez çalışmasını destekler nitelikte olmuştur.

4.3 Çevresel Koşulların Nanoemülsiyon Stabilitesine Etkisi

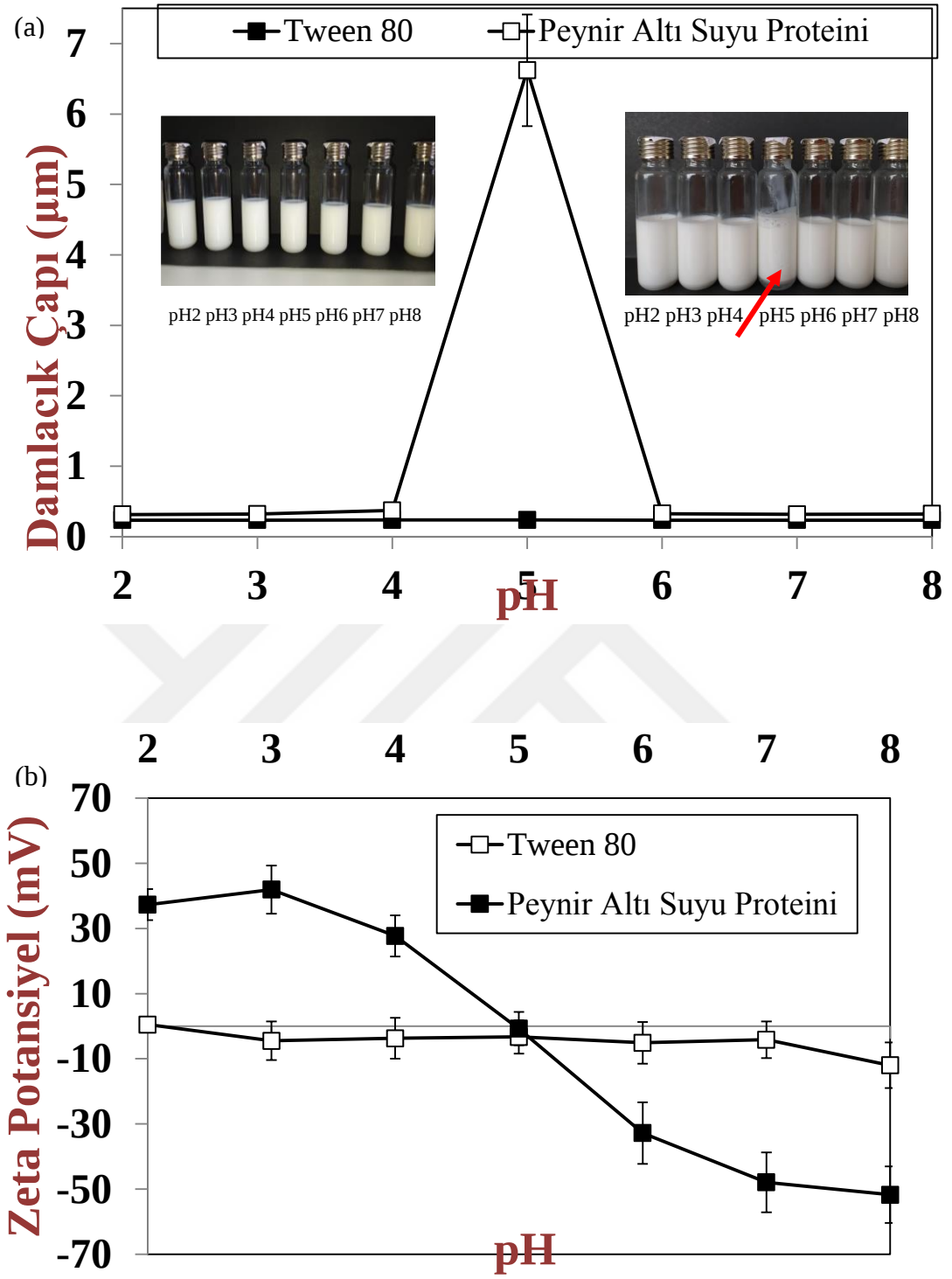
4.3.1 pH etkisi

Hazırlanan emülsiyonlar farklı pH değerlerine ayarlandıktan ve deney şişelerinde 24 saat bekletildikten sonra fotoğraflanmış ve boyut ölçümleri yapılmıştır. **Şekil 4.6** 'da görüleceği üzere damlacık boyutu pH 2, 3, 4, 6, 7 ve 8 değerlerinde benzer iken, pH 5 değerinde artış göstermiştir. Emülsiyonda ise jel yapıda bir oluşumun meydana geldiği gözlenmiştir. Bu farklılık aminoasitlerin karakteristik birer özelliği olan izoelektrik nokta tanımından ileri gelmektedir. Bu noktada aminoasitlerin asidik ve bazik

özelliklerinin yaklaşık denk olması nedeniyle nötral aminoasitlerin gelişimi söz konusudur. Peynir altı suyu proteini için izoelektrik nokta olan pH 5 değerinde damlacıklarda kremalaşma yatkınlığı, dolayısıyla damlacık boyutunda büyüme gözlenmiştir ($d=6,6 \mu m$). Charoen vd. (2011) de yapmış oldukları çalışmada suda pirinç kepeği yağı emülsiyonları oluşturarak bu emülsiyonların stabiliteleri üzerine arap zamkı, peynir altı suyu proteini ve modifiye nişasta emülgatörlerinin etkisinin incelemişler ve benzer sonuçlar elde ederek pH 5 dışındaki değerlerde damlacıkların iyi stabilitede olduklarını ifade etmiştir. Bu kararlılık, proteinlerin izoelektrik noktadan uzakta bir pH değerine sahip olmalarına dolayısıyla yüksek elektrik yükleri nedeniyle nispeten güçlü elektrostatik itmeye atfedilmiştir.

Tween 80 ile stabilize edilen emülsiyonlarda ise herhangi bir damlacık topaklanması gözlenmemiş, tüm pH aralığında kremalaşmaya karşı bir stabilite belirlenmiştir. Buna bağlı olarak izoelektrik noktanın aminoasit bileşenlerince karakteristik bir özellik olduğu doğrulanmıştır.

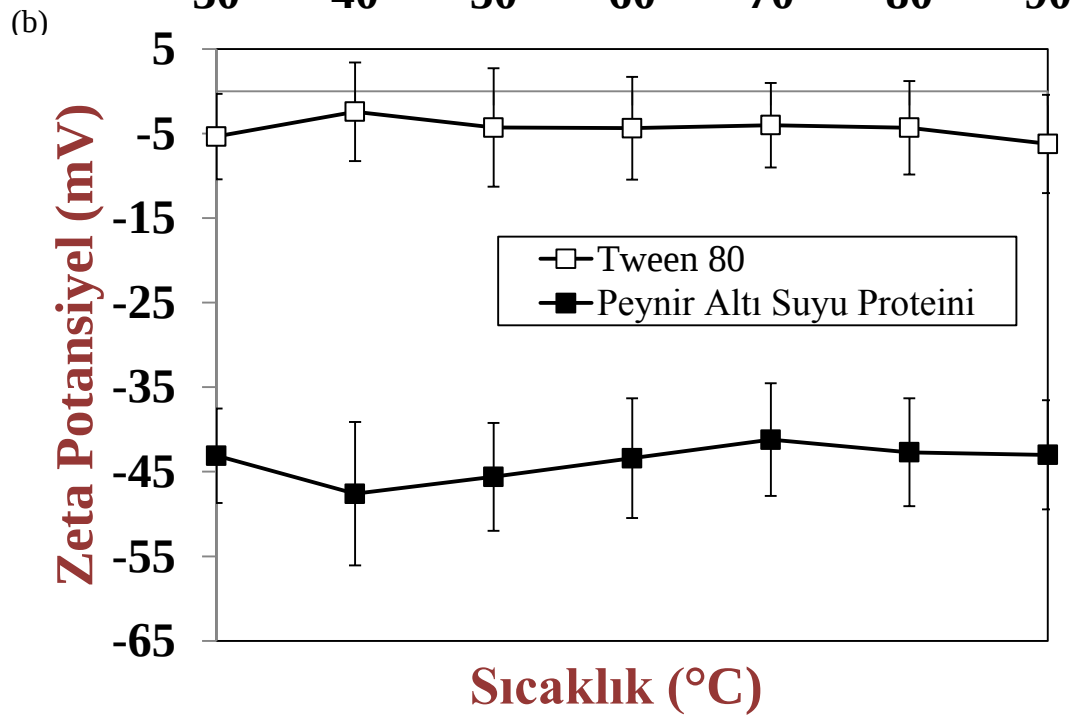
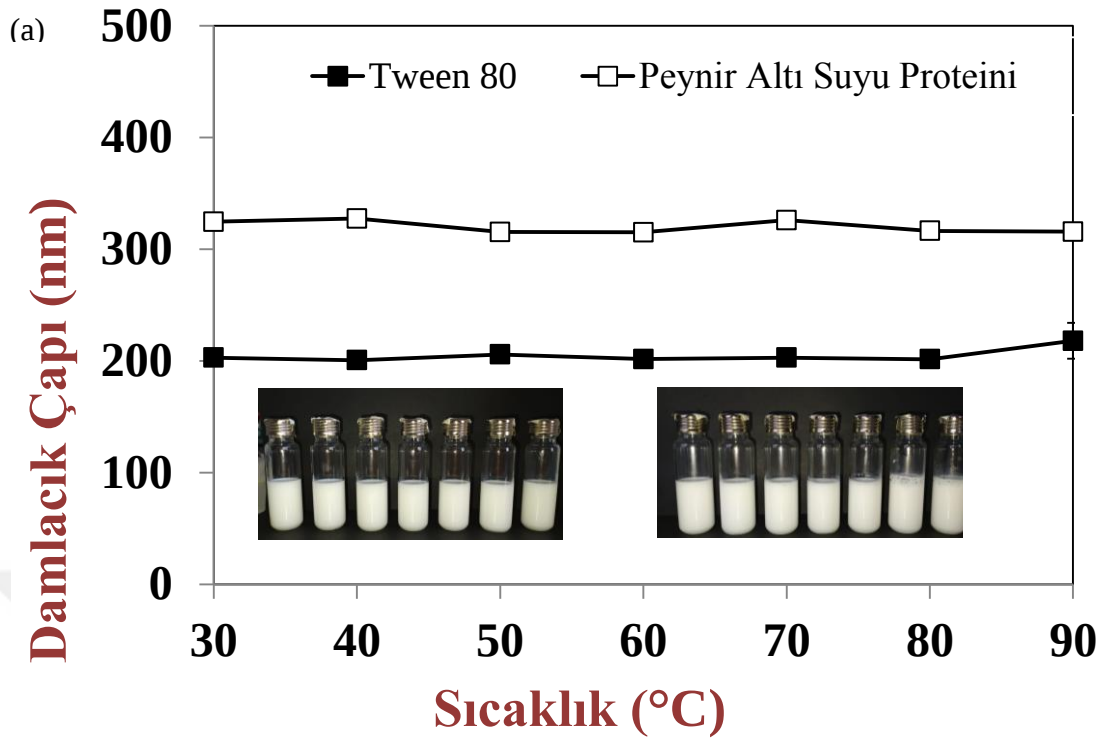
Şekil 4.6' ya göre zeta potansiyel sonuçları incelendiğinde emülgatör olarak peynir altı suyu proteini kullanılan emülsiyonlarda elektrik yükünün, izoelektrik noktanın ($pI=5$) altında oldukça pozitif; üzerinde ise oldukça negatif değerler verdiği gözlenmiştir. Bu noktada söylenebilir ki peynir altı suyu proteini, oluşturduğu ince ara yüzey tabakaları nedeniyle pH 5 değerinde iken ortamda elektrostatik itme gücü yerine Van der Waals kuvvetleri hâkim olmakta ve bu da damlacık topaklanmasına sebebiyet vermektedir (Ozturk vd. 2015a). Tween 80 ise, damlacık etrafında kalın hidrofilik tabaka oluşturabilme kabiliyeti sayesinde emülsiyonları temelde sterik itme gücü ile stabil etmiştir. Zeta potansiyel değişimleri, damlacık boyutunda olduğu gibi Tween 80 için yüksek düzeylerde olmamıştır.



Şekil 4.6 pH'nın,%2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi.

4.3.2 Sıcaklık etkisi

Taze olarak hazırlanan emülsiyonlar gerekli sıcaklıklarda (30-90°C) 30'ar dakika boyunca bekletilmiş daha sonra oda sıcaklığına soğutulup 24 saat bu sıcaklıkta bırakılmıştır. Uygulanan sürenin sonunda Tween 80 ve peynir altı suyu proteini için farklı damlacık boyutları gözlenmiştir ancak, sıcaklığa bağlı bir boyut değişimi her iki emülgatörde de belirlenmemiştir (**Şekil 4.7**). Yine benzer şekilde hiçbir jelleşme veya kremalaşma etkisi de gözlenmemiştir. Yine zeta potansiyel sonuçları da **Şekil 4.7** 'de gözlendiği üzere sıcaklığa bağlı olarak bir değişime uğramamıştır. Bu sonuçlar Ozturk vd. (2015a)'nin e vitamini-asetat ilaveli suda portakal yağı emülsiyonlarının stabiliteleri üzerine peynir altı suyu proteini ve arap zıkkını emülgatörlerinin etkisini inceledikleri çalışmalarında sıcaklık uygulamasına oldukça benzer olarak elde edilmiştir.

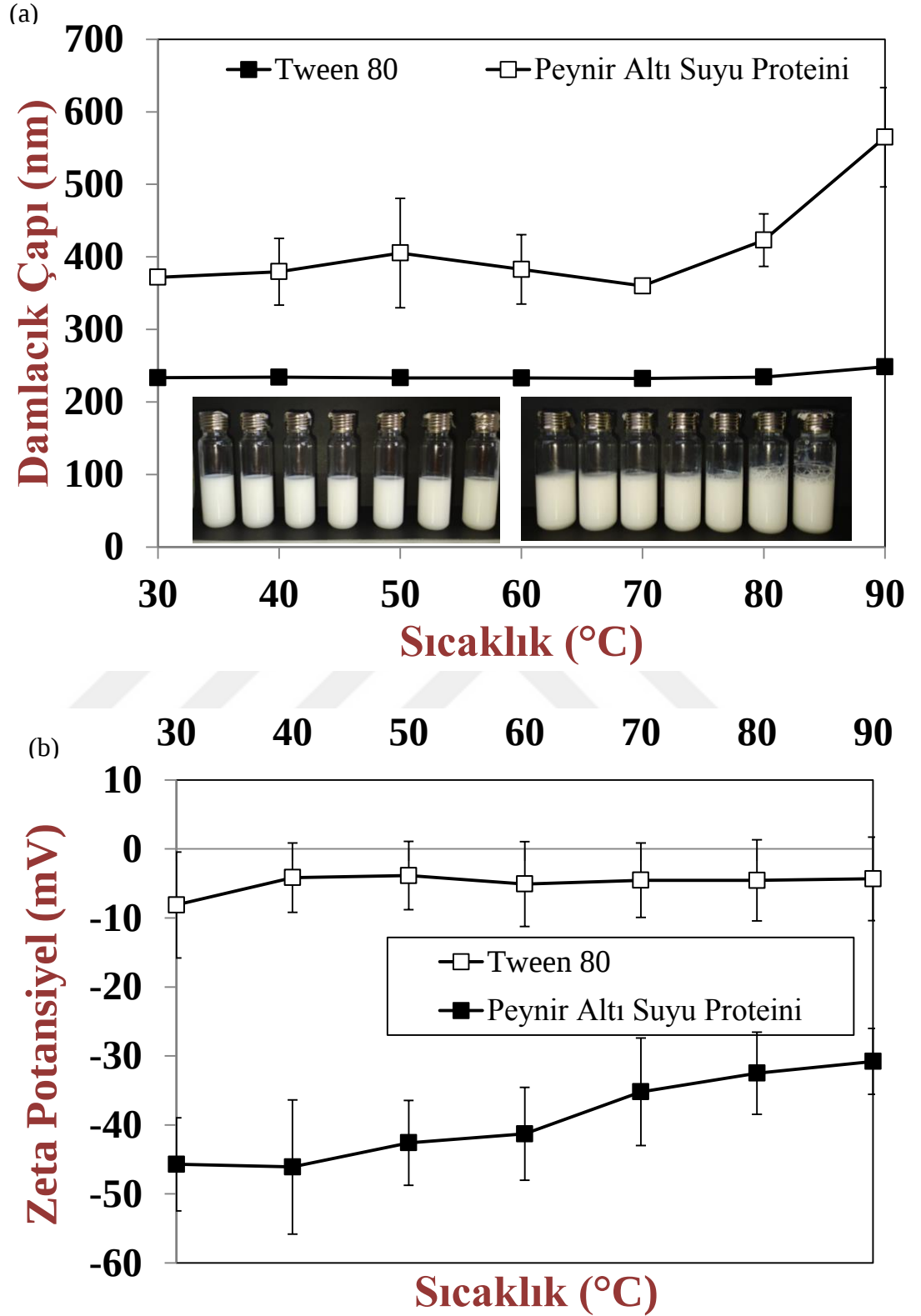


Şekil 4.7 Sıcaklığın, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi

4.3.3 Tuz Varlığında Sıcaklığın Etkisi

Taze olarak hazırlanan emülsiyonlar 150 mM NaCl konsantrasyonuna sahip olacak şekilde ayarlandıktan sonra gerekli sıcaklıklarda (30-90°C) 30'ar dakika boyunca bekletilmiş daha sonra oda sıcaklığına soğutulup 24 saat bu sıcaklıkta bırakılmıştır. Bu uygulama sonunda peynir altı suyu proteini içeren emülsiyon için damlacık boyutu büyüklüğü, 70 °C ve üzerinde artış göstermeye başlamış, yine bu sıcaklıkla beraber zeta potansiyel sonuçları da değişim göstermiştir (**Şekil 4.8**). Özellikle 80 °C ve 90°C sıcaklıklarda emülsiyon üst yüzeyinde köpüklenmeler oluşmuştur. Peynir altı suyu proteini içeren emülsiyon örneği 90°C sıcaklık uygulamasının ardından düz bir zemine döküldüğünde emülsiyon yapısında parça parça topaklanmalar gözlenmiştir. Chanamai ve McClements (2002) çalışmalarında, peynir altı suyu proteini, arap zıkkı ve modifiye nişasta emülgatörleri kullanılarak hazırlanmış suda soya fasülyesi yağı emülsiyonları üzerine pH, CaCl₂ ve sıcaklık etkilerini incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre 70 °C ve üzerinde protein yapısında meydana gelen açılmayla beraber emülsiyon damlacığının yüzeyindeki hidrofobik etkinin arttığı ve bunun da yapıda pıhtılaşma görülmesine neden olduğu ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu sebebe atfedilerek çalışma ile paralelliği belirlenmiştir. Ozturk vd. (2015a)'nin yaptıkları benzer bir çalışmada da oluşan bu damlacık büyümesi peynir altı suyu proteini içeren sistemlerin yağ damlacıklarının yüzeyinde tuz varlığında, termal denatürasyon gerçekleşmesine atfedilmiştir. Ancak, Ozturk vd. (2015a)'nin elde ettiği sonuçlara göre 60 °C' den itibaren emülsiyon damlacık büyümesi çok yüksek düzeylere çıkmışken; tez çalışması sonuçlarında bu kadar yüksek damlacık boyutları elde edilmemiştir.

Diğer taraftan Tween 80 emülsiyonlarının hiçbir sıcaklık aşamasında yüksek farklılıkta damlacık boyutları elde edilmemiş, zeta potansiyel değerlerinde belirgin farklılık gözlenmemiştir (**Şekil 4.8**). Yine bu emülsiyonlarda kremalaşma veya topaklanma oluşmamıştır. Tween 80 emülgatörü, tuz ve sıcaklık gibi çevresel etmenlere karşı oldukça stabil emülsiyonlar oluşturabildiği söylenebilir. Bu sonuçlar Tween 80 ile elde edilen emülsiyonların damlacıkları arasındaki yüksek sterik itme gücüne atfedilebilmektedir. Wu vd. (2017) çalışmalarında benzer şekilde, peynir altı suyu proteini, Tween 80, arap zıkkı ve lesitin emülgatörleri ile hazırlanan, kurkumin ilave edilmiş suda orta zincirli trigliserid yağ emülsiyonları üzerine çevresel koşulların etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Tween 80 stabil bir damlacık boyutu sergileyerek, tez çalışmasını desteklemiştir.

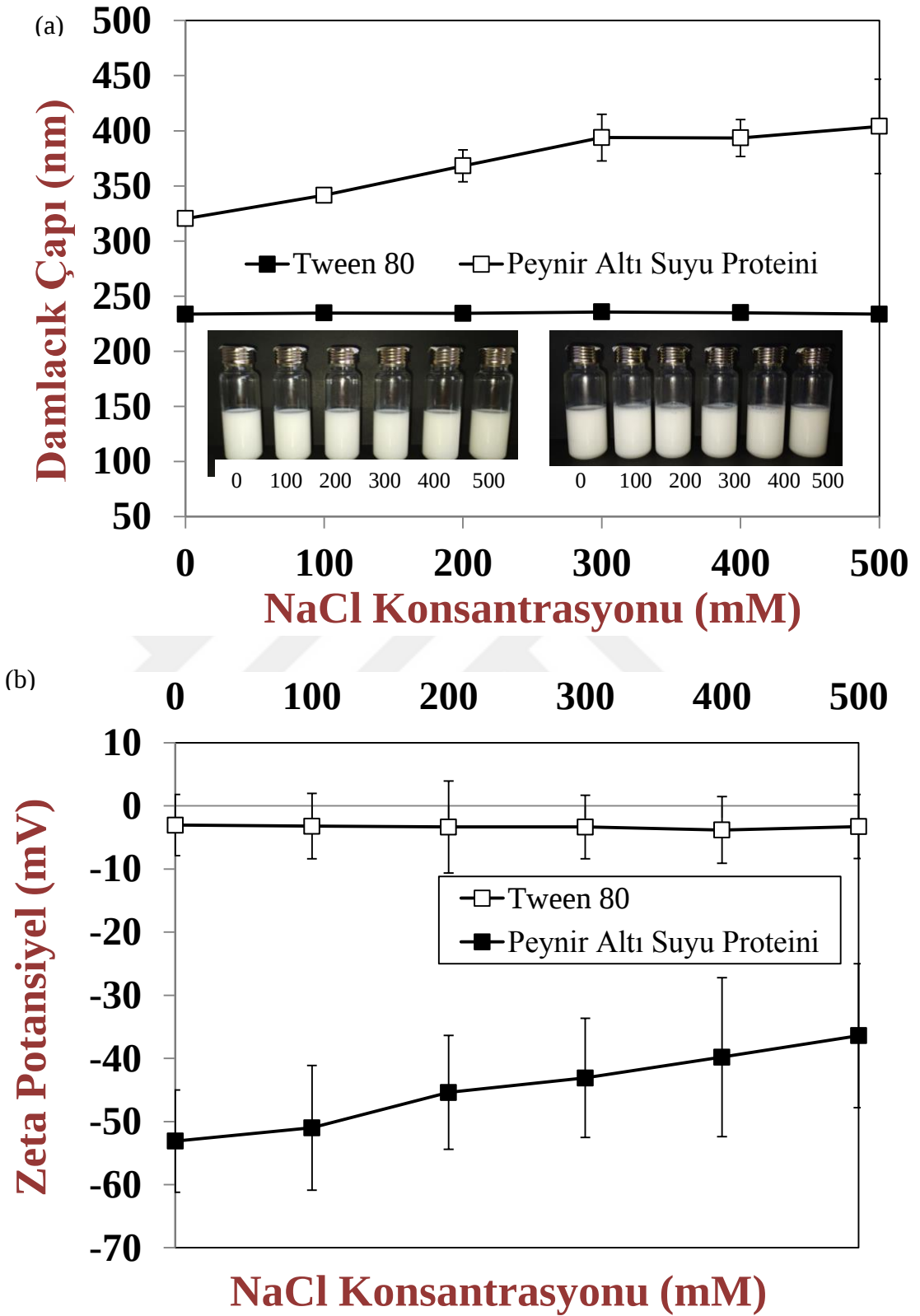


Şekil 4.8 Sıcaklıkla beraber 150 mM NaCl konsantrasyonunun, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi

4.3.4 Tuz İçeriğinin Etkisi

Oluşturulan emülsiyonlar 0-500 mM konsantrasyonlarda NaCl içerecek şekilde hazırlanmış ve 24 saat boyunca bekletilmiştir. Elde edilen damlacık boyutu sonuçları **Şekil 4.9**'da gözlenmektedir. Peynir altı suyu proteini ile oluşturulan emülsiyon örneklerinde artan NaCl konsantrasyonu ile damlacık boyutunda da az düzeylerde de olsa (0 mM için ~ 300 nm iken; 500 mM için ~ 400 nm) artış gözlenmiştir. Buna bağlı olarak zeta potansiyel verileri incelendiğinde, tuz ilavesiyle beraber peynir altı suyu proteini kaplı olan damlacıkların negatif yük değerlerinde bir miktar azalma gözlenmiştir. Chanamai ve McClements (2002)'ın yapmış oldukları çalışmada da peynir altı suyu proteini için benzer sonuçlar elde edilmiş ve zeta potansiyelde meydana gelen bu azalma elektrostatik perdeleme ve iyon bağlama olmak üzere iki etkiye atfedilmiştir. Aynı zamanda zeta potansiyel üzerindeki bu gelişimin bazı proteinlerin çözünürlüğünün, artan tuz içeriği ile artmasına; dolayısıyla protein molekülleri arasındaki çekici etkileşimlerin azalmasına neden olan 'tuzla çözünme' etkisinden ileri gelebileceği de belirlenmiştir (Aluko ve Yada 1995). Damlacık boyutlarında meydana gelen hafif büyüme ise tuz ilavesinin peynir altı suyu proteini ilaveli emülsiyonlarda kremalaşmaya yatkınlığı artırdığı ancak, damlacık boyut ölçümü sırasında uygulanan karıştırma ile de bir miktar boyutları azalttığı bu sayede boyut değerlerinin birbirine yakın olduğuna atfedilmiştir. (Ozturk vd. 2015a). Emülsiyonların fiziksel olarak görünüşlerinde gözle görülür bir farklılık veya topaklanma belirlenmemiştir.

Tween 80 ile oluşturulan emülsiyonlar ise artan tuz konsantrasyonlarına karşı oldukça stabil kalarak boyut değişimi oluşurmamıştır. Bu da Tween 80'in damlacık yüzeylerinde daha kalıcı tabakalar oluşturduğu ve bu sayede herhangi bir denatürasyona sebebiyet vermediğinin ortaya koymuştur. Benzer şekilde emülsiyonların hiçbirinde görsel bir farklılık belirlenmemiştir. Wu vd. (2017) de yapmış oldukları çalışmada paralel sonuçlar elde etmiş, hem peynir altı suyu proteini hem de Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonlar için değişen tuz konsantrasyonu ile ihmal edilebilir düzeylerde damlacık boyutu farklılıkları gözlenmiştir. Bu sonuçlar da tez çalışmasını destekler nitelikte olmuştur.



Şekil 4.9 Farklı konsantrasyonlarda tuzun, %2 emülgatör, %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların (a) ortalama damlacık boyu (d_{32}) ve (b) zeta potansiyeli üzerine etkisi

4.3.5 *In Vitro* sindirim uygulaması

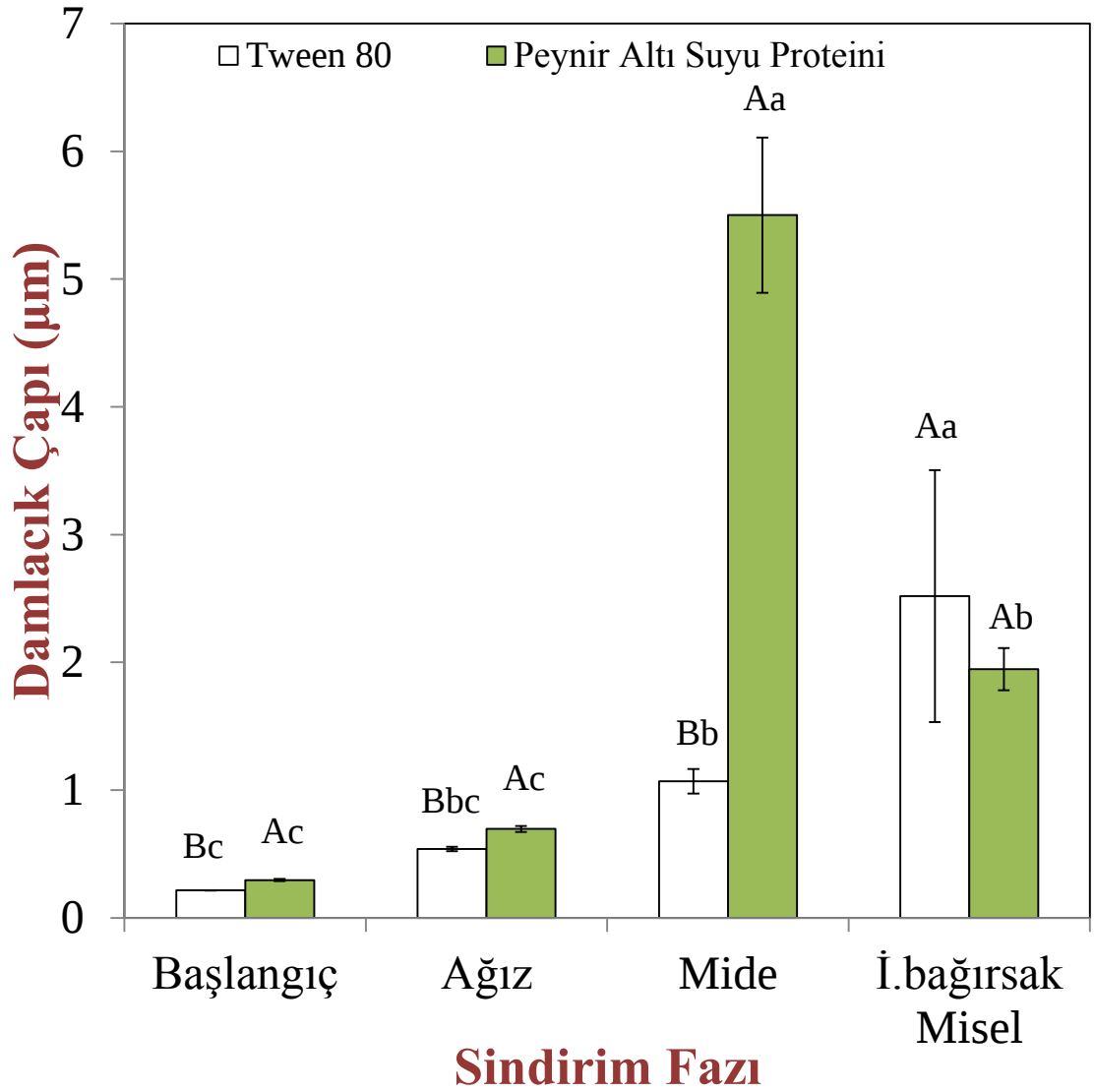
Hazırlanan ince emülsiyonlar *in vitro* sindirime maruz bırakılarak her bir faz sonrası (başlangıç, ağız fazı, mide fazı, ince bağırsak sonrası misel fazı) damlacık boyutları ölçülmüştür. Başlangıçta **Şekil 4.10**'da görüleceği üzere Tween 80 emülgatörü ile hazırlanan emülsiyonlar peynir altı suyu proteini ile hazırlanan emülsiyonlara göre daha küçük damlacık çapları sergilemiştir ($p < 0,05$). İlk olarak ağız fazında gözlenen hafif artış özellikle peynir altı suyu proteini ile stabilize edilmiş emülsiyonlar için damlacık kümelenmesini ifade etmektedir. Damlacık kümelenmesinin daha önce yapılan sindirim modellerinde de kümelenmelere sebebiyet veren simüle edilmiş tükürükteki münin varlığına bağılı olarak meydana gelmiş olabileceğı düşünölmektedir (Sarkar vd. 2009a). Meydana gelen damlacık boyutu büyümesine sebep olan bir diğier neden ise, kısmen elektrostatik perdeleme etkilerinden ileri gelmiştir. Yani negatif yüklü yağ damlacığı yüzeyleri etrafında pozitif yüklü iyonların birikmesinin bir sonucu olduğuna atfedilmiştir (Dickinson 2010; Ozturk vd. 2015).

Peynir altı suyu proteini için elde edilen sindirim sonrası damlacık boyutları benzer bir çalışma olan Gumus vd. (2017)'nin araştırmalarına göre paralel olarak elde edilmiştir. Çalışmaya göre peynir altı suyu proteini ile hazırlanan emülsiyonlar başlangıç fazı sonrası yukarıda atfedilen sebeplere bağılı olarak ağız fazında damlacık büyümesine maruz kalmıştır. Mide fazında daha da yüksek değerlere çıkan damlacık boyutları ince bağırsak aşamasında düşme eğilimi göstermiştir.

Mide fazı sonrasında yapılan ölçümlerde Tween 80'e göre peynir altı suyu proteinin stabilitede daha az etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonlarda da farklı sebeplerle gözlenen bir artış mevcutken ($d_{32} \sim 1,06 \mu m$) bu artış peynir altı suyu proteini için çok yüksek değerlerde olmuştur ($d_{32} \sim 5,55 \mu m$). Mide fazında gözlenen damlacık boyut artışları bir seri nedene bağlanabilmektedir. Bu noktada ilk destekleyici neden mide sıvısında bulunan pepsin enziminin damlacıklar etrafındaki protein kaplamasını kısmen hidrolize uğratması olmuştur. Bu sebeple ara yüzey tabakasının kalınlığında ve yükünde meydana gelen bir değişim söz konusu olmuştur. Bu değişime bağılı olarak damlacıklar arası sterik ve elektrostatik itme

azalmıştır (Gumus vd. 2017). Bir diğer nedense simüle edilen tükürük sıvısında bulunan anyonik müsin moleküllerinin asidik mide sıvılarında katyonik protein kaplı damlacıkların köprülenme flokülasyonuna sebebiyet vermesidir (Sarkar vd. 2009b).

İnce bağırsak aşamasında sindirim sonrası elde edilen boyutlarda ise her iki emülgatör ile hazırlanan emülsiyonlarda da damlacık boyutu mide fazına göre düşmüş ancak, başlangıç fazına oranla büyüme sergilemiştir. Bu noktada Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonların ince bağırsak fazı sonrası misel aşamasında sahip olduğu boyut ($d_{32} \sim 2,51 \mu m$), peynir altı suyu proteini ile hazırlananlara göre daha yüksek ($d_{32} \sim 1,94 \mu m$) olmuştur ancak istatistiksel olarak bir fark söz konusu değildir ($p > 0,05$). Bu aşamada gözlenen boyut değişimi mineral iyonları, safra tuzları veya proteinler gibi ince bağırsak sıvıları içindeki diğer bileşenlerle damlacık etkileşimlerine bağlı olarak toplanmaya olan teşvike atfedilmiştir. Diğer yandan lipit sindirimi sırasında oluşabilecek bir uzun zincirli yağ asidinin de çözünmez kalsiyum sabunlarının oluşmasına sebebiyet verebileceği belirtilmiştir (Ozturk vd. 2015b). Benzer sonuçlar Sislioglu vd. (2020)'nin suda mısır yağı emülsiyonlarının *in vitro* sindirimi üzerine Candelilla bitkisinden elde edilen mumun etkisinin incelendiği çalışmada da elde edilmiştir. İnce bağırsak fazında nispeten büyük gelen damlacık boyutları, sindirimin ardından numunelerde sindirilmeden kümelenmiş lipit nanopartikülleri veya kalsiyum sabunları gibi çeşitli kolloidal türlerin varlığına atfedilmiştir.



Şekil 4.10 Simüle edilmiş gastrointestinal modelin, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların ortalama damlacık çapı (d_{32}) üzerine etkisi

Farklı küçük harfler (a, b, c) aynı emülgatörlerle hazırlanan emülsiyonların farklı fazlarını ($p < 0,05$); farklı büyük harfler (A, B) ise aynı fazlarda farklı emülgatörlerle hazırlanan emülsiyonları ($p < 0,05$) temsil eder

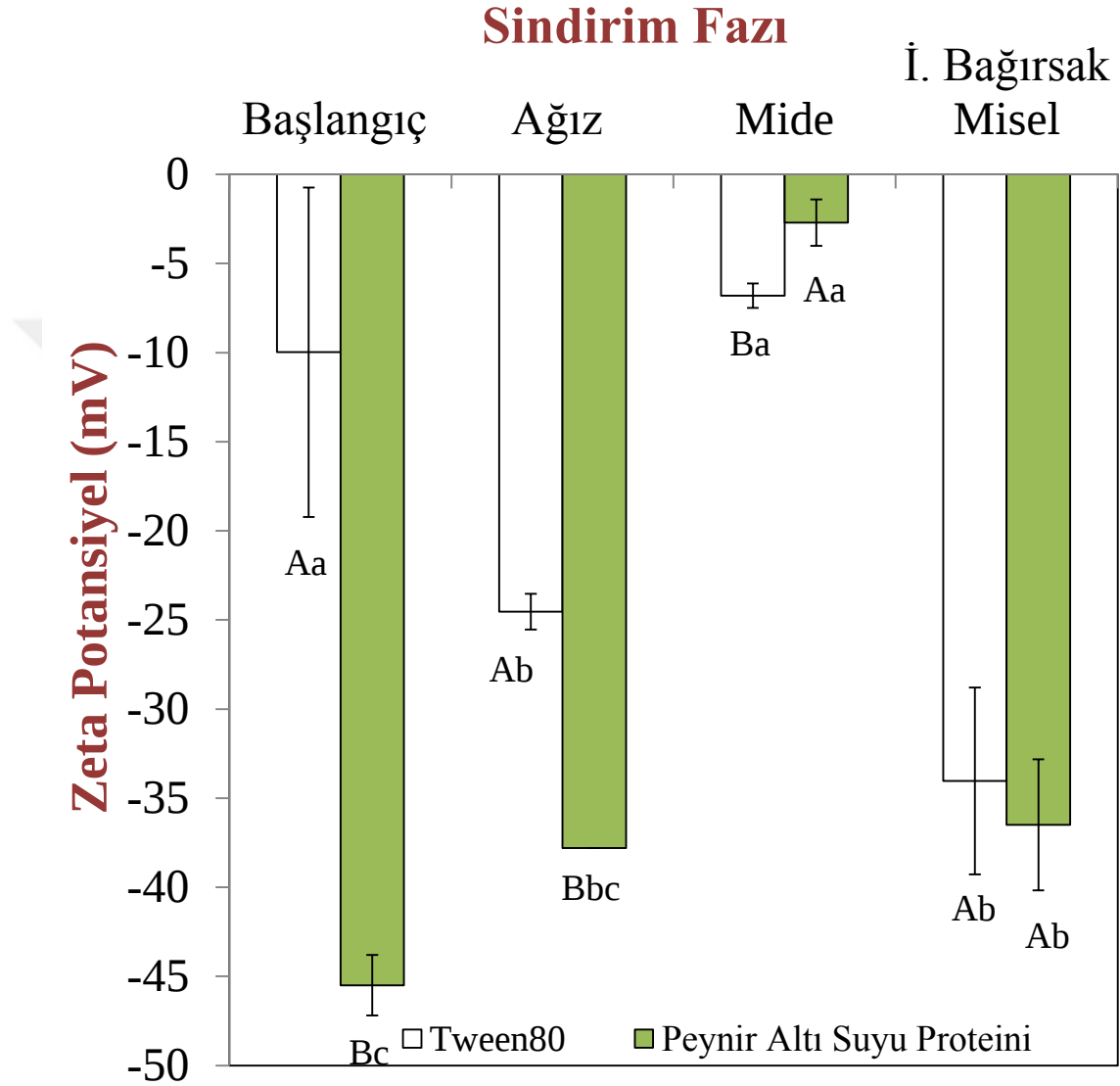
Şekil 4.11’de görüldüğü üzere tüm fazlarda negatif yüzey potansiyeli gözlenmekteyken bu durum mide fazında pozitif doğru bir artış göstermektedir. İlk olarak başlangıç fazı ele alınacak olursa bu noktada peynir altı suyu proteini ile stabilize edilen örnekler ~ 45 mV ile yüksek negatif yüzey yüküne sahip ancak, iyonik olmayan bir emülgatör olan Tween 80 ile stabilize edilen örnekler ~ 10 mV gibi daha az negatif bir değer sergilemektedir. Başlangıç aşamasının ardından peynir altı suyu proteini ile hazırlanan

emülsiyonlarda damlacık boyutunda meydana gelen azalma simüle edilmiş tükürükteki tuzların neden olduğu elektrostatik perdeleme veya müsin moleküllerinin damlacıkların arayüzüne emilimine atfedilmiştir (Ozturk vd. 2015b). Bu olayın Tween 80 için tersi eğilimde olması Tween 80 emülgatörünün sağladığı ara yüzey kararlılığı olarak belirlenmiştir.

Mide fazında her iki emülgatörle hazırlanan emülsiyonlarda büyük oranda negatif yüzey yükü azalması gözlenmiştir. Burada peynir altı suyu proteini ile hazırlanan emülsiyonlarda $\sim -2,71$ mV zeta potansiyel ölçülmüşken; Tween 80 ile hazırlanmış emülsiyonlarda $\sim -6,80$ mV ölçüm gerçekleştirilmiştir. Mide yapısının sahip olduğu düşük pH aralığı (pH 2,5) oldukça asidik özellik taşımaktadır. Bu düşük pH aralığı kullanılan protein yapılı emülgatörlerin izoelektrik noktalarının çok altında kaldığı için damlacıklar negatif yüklerini kaybetme eğilimine geçmektedir (Chang vd. 2015). Gerçekten de, mide fazında peynir altı suyu proteini ile stabilize edilen örnekler sıfıra yakın hafif negatif yüke sahiptir. Yapılan ön denemelerde yalnızca peynir altı suyu proteini çözeltisinin *in vitro* analiz sonuçlarında da mide fazının zeta potansiyel değeri benzer şekilde, yani hafif negatif yüke sahip şekilde elde edilmiştir. Sarkar vd. (2017), peynir altı suyu proteini ve selüloz nanokristal tozu kullanarak su içinde yağ emülsiyonları hazırlamış ve emülsiyonların *in vitro* sindirim modellemesinin gerçekleştirmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen zeta potansiyel verileri, tez çalışması ile paralel olarak hafif negatif veriler sergilemiştir. Mide fazında zeta potansiyelde gözlenen bu değişim, yağ moleküllerinin daha düşük molekül ağırlıklı olan peptidlere sindirilmesinden sonra yağ-su arayüzeyindeki viskoelastik protein tabakasının zayıflamasına atfedilmiştir. Bir diğer neden ise, mide fazında yüksek asidik ortamın bazı anyonik grupların protonasyonuna yol açması olarak yorumlanmıştır (Sislioglu vd. 2020).

İnce bağırsak misel fazında negatif yük düzeyinin yeniden artışa geçmesi ise farklı sebeplere bağlanabilmektedir. İlk olarak, pH'nın yeniden artışı (pH 6-7,5) moleküllerin yeniden negatif yükle yüklenmesini sağlamıştır. Diğer yandan trigliseritlerin lipid sindirimi esnasında anyonik serbest yağ asitlerini oluşturması yüzey yükünün negatif yönde artışına katkıda bulunabilmektedir. Benzer şekilde negatif yönde artış gösteren bu

gelişim, anyonik fosfolipitler, safra tuzları ve serbest yağ asitleri içeren partiküllerden oluşan ince bağırsak misel fazının güçlü bir negatif yüke sahip olmasına atfedilmiştir (Chen vd. 2012; Yang ve McClements 2013).

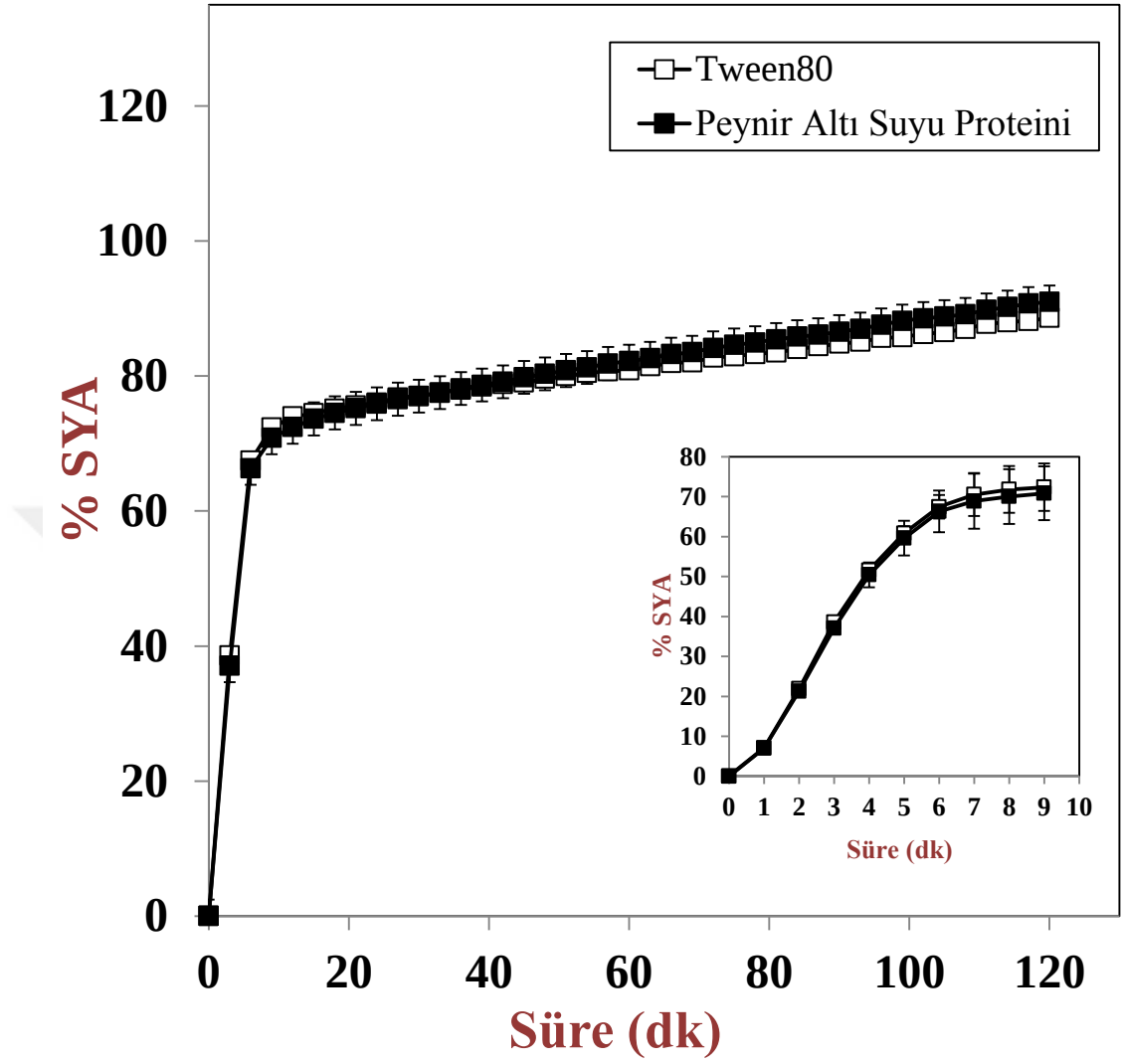


Şekil 4.11 Simüle edilmiş gastrointestinal modelin, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi basınçta 5 geçiş ile hazırlanan nanoemülsiyonların zeta potansiyel değerleri üzerine etkisi

Farklı küçük harfler (a, b, c) aynı emülgatörlerle hazırlanan emülsiyonların farklı fazlarını ($p < 0,05$); farklı büyük harfler (A, B) ise aynı fazlarda farklı emülgatörlerle hazırlanan emülsiyonları ($p < 0,05$) temsil eder

Gıda emülsiyonlarının vücutta biyosalınımının en etkin düzeyde olması için lipit sindirimi hızlarının bilinmesi gerekli görülmektedir. Bu amaçla taze olarak hazırlanan emülsiyonların pH stat kullanımıyla simüle *in vitro* sindirimin ince bağırsak fazı sonunda serbest yağ asidi salınım hızları ve düzeyleri belirlenmiştir. **Şekil 4.12**'de de gözleneceği üzere ince bağırsak sindirim fazının ilk 8-9 dakikası boyunca çok hızlı gerçekleşen sindirim ile beraber lipit sindirimi yaklaşık %85 oranında gerçekleştirilmiştir. Bu süreç devamında sindirim düzeyi daha yavaş şekilde artmış ve mevcut lipit sindirimi Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonlar için ortalama %88; peynir altı suyu tozu ile hazırlanan emülsiyonlar içinse ortalama %90,5 olarak son bulmuştur. Suda balık yağı emülsiyonlarının *in vitro* sindiriminde, farklı emülgatör (Tween 80, peynir altı suyu tozu, lesitin ve kazeinat) kullanımının etkisinin incelendiği çalışmaya göre, hem peynir altı suyu hem de Tween 80 emülgatörü ile stabilize edilen emülsiyonların serbest yağ asidi salınımı tez çalışmasıyla paralel olarak elde edilmiştir (Chang ve McClement 2016).

Sonuçta farklı emülgatör türleri ile stabilize edilen fındık yağı nanoemülsiyonlarının sindirilebilirliğinde önemli bir farklılık gözlenmemekte, aksine oldukça yüksek paralellik sergilenmektedir. Lipazlara maruz kalınan lipit fazının yüzey alanının artmasından dolayı emülsiyonlardaki lipit sindirim oranının damlacık boyutunun küçülmesiyle arttığı bilinmektedir (Golding ve Wooster 2010; Salvia-Trujillo vd. 2013). Başlangıçta da yakın damlacık çaplarına sahip olan Tween 80 ve peynir altı suyu proteini ile stabilize edilen örneklerin serbest yağ asidi (SYA) salınım hızlarının bu denli paralel olması bu açıklamaya atfedilebilmektedir. Lipazın sistemlerdeki triaçilgliserol molekülleri ile temas etme yeteneği her iki sistem için de benzerdir.



Şekil 4.12 Simüle edilmiş ince bağırsak koşullarına maruz kalan, %2 emülgatör (Tween 80 ve peynir altı suyu proteini), %10 fındık yağı içeren ve 12 kpsi 5 geçiş ile elde edilen nanoemülsiyonlardan serbest yağ asidi (SYA) salınımı

5. SONUÇ

Geniş çaplı araştırmalara henüz konu olamamış olan fındık yağı nanoemülsiyonları ve bu nanoemülsiyonların kararlılığı ile *in vitro* sindirim sisteminde gösterdiği serbest yağ asidi dağılımının incelenmesi, tez çalışmasının temel hedefi olmuştur. Türkiye'nin yıllık olarak en yüksek üretim hacmine sahip olduğu fındık ve ondan üretilen fındık yağı üzerine kapsamlı bir çalışma yaparak bunu kaynaklara katmak amaçlanmıştır. Bu kapsamda yağ emülsiyonları mikro akışkanlaştırma tekniği ile elde edilmiş ve Tween 80 ile peynir alt suyu proteini olmak üzere iki farklı emülgatör madde ile stabilize edilmiştir.

İlk olarak emülsiyon eldesinde kullanılan mikro akışkanlaştırıcı basıncı ve geçiş sayısının damlacık boyutu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu analizde doğal olması nedeniyle tercih sebebi olan peynir altı suyu proteini emülgatörü kullanılarak emülsiyonlar hazırlanmıştır. Yapılan çalışmaya göre, nanoemülsiyon stabilitesi için en ideal sonuç olan küçük damlacık boyutlarına 12 ve 14 kpsi basınçlarda ve 5, 6, 7. geçişlerde ulaşılmaktadır. 14 kpsi ve 5 geçiş sonucu oluşan $d_{32}=302$ nm damlacık boyutu nanoemülsiyon stabilitesi için ideal bir boyut olarak kabul edilmiştir. Verilerin Log çapına karşı Log basıncın grafiği, yeterli emülgatör varlığında bu ikili arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göz önüne sermiştir.

Kullanılan emülgatör tipi ve bu emülgatörün konsantrasyonunun oluşan nanoemülsiyon stabilitesine etkisi için Tween 80 ve peynir altı suyu proteini, %0,5, %1, %2, %4 ve %8 konsantrasyonlarında kullanılmış, emülsiyonlar 14 kpsi ve 5 geçişte hazırlanmıştır. Sonuçlara göre, peynir altı suyu proteini ile stabilize edilen emülsiyonlar %1 konsantrasyonda en düşük boyutu ($d_{32}=293$ nm) vermiş, bundan sonra doyum noktasına ulaşan emülsiyonda damlacık boyutunda azalma olmamıştır. Tween 80 ile stabilize edilen emülsiyonlarda ise %2 konsantrasyona kadar hızlı bir boyut düşüşü gözlenirken artan konsantrasyonla damlacık boyutu düşmeye devam etmiş ancak, bu düşüş daha yavaş gerçekleşmiştir.

Nanoemülsiyonların kararlılığında büyük etkileri olduğu bilinen çevresel faktörlerin stabiliteye etkilerini gözlemek amacıyla ilk olarak emülsiyonlar farklı pH değerlerine ayarlanmış ve değişimler kaydedilmiştir. Bu noktada peynir altı suyu proteini emülsiyonları, Tween 80 emülsiyonlarına göre daha az stabil olarak özellikle izoelektrik nokta civarı olan pH 5 değerinde ani bir boyut artışı ($d_{32}=6,621 \mu\text{m}$) ve emülsiyonda yoğun jelleşme gözlenmiştir. İzoelektrik noktaya kadar pozitif yüzey yükü sergileyen peynir altı suyu proteini emülsiyonları, pH 5'ten sonra negatif yüzey yükü sergilemeye başlamıştır. Tween 80 emülsiyonları ise değişen pH değerlerine karşı kararlılığını korumuş, stabil ama düşük negatif yüzey yükü göstermiştir.

Farklı sıcaklık uygulamalarının nanoemülsiyon stabilitesine etkisi için 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90°C'lerde bekletilen emülsiyon sonuçlarında hem Tween 80 hem peynir altı suyu proteini ile stabilize edilmiş fındık yağı emülsiyonları kararlılıklarını korumuş, zeta potansiyel değerleri de stabil olarak gözlenmiştir. Tüm emülsiyonlarda fiziksel bir değişim söz konusu olmamıştır. Ancak, aynı zamanda 150 mM tuzun da etkisinin incelendiği analizde ise başlangıçta $d_{32}=371 \text{ nm}$ olan peynir altı suyu proteini emülsiyonunun damlacık boyutları 70°C ile beraber artışa geçmiş, kararlılık bozulmuştur. Son olarak 90°C ve tuz uygulamasında peynir altı suyu proteini emülsiyonlarında $d_{32}=565 \text{ nm}$ damlacık boyutu elde edilmiştir. Özellikle 80 ve 90°C'lerde peynir altı suyu proteini emülsiyonlarında yüzeyde köpüklenme oluşmuş, 90°C'de gözle görülür topaklanmalar meydana gelmiştir. Başlangıçta -45 mV yüzey yüküne sahip olan peynir altı suyu proteini emülsiyonlarının zeta potansiyel yoğunluğu sıcaklık artışıyla azalmaya başlamış ve 90°C'de -30,8 mV olarak ölçülmüştür. Sıcaklıkla beraber tuz ilavesi Tween 80 emülsiyonlarında herhangi bir boyut değişimine neden olmamıştır. Yine benzer şekilde yüzey yük değeri stabil olarak her uygulamada yaklaşık -4,94 mV ölçülmüştür.

0, 100, 200, 300, 400, 500 mM NaCl konsantrasyonlarının emülsiyon stabilitesine etkisinin incelenmesiyle beraber peynir altı suyu proteini nanoemülsiyonlarında artan tuz konsantrasyonu ile az miktarda damlacık boyutu yükselmesi gözlenmiştir. 0 mM NaCl konsantrasyonunda $d_{32}=320 \text{ nm}$ olan damlacık çapı, 500 mM NaCl konsantrasyonu sonucunda $d_{32}=404 \text{ nm}$ olarak ölçülmüştür ve veriler arasında

istatistiksel olarak önemli ölçüde bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Zeta potansiyeli 0 mM'da -53,2 mV olarak ölçülen peynir altı suyu proteini emülsiyonlarının yüzey yükü 500 mM NaCl'de -36,4 mV'a ulaşmıştır. Tween 80 nanoemülsiyonları ise ortalama $d_{32}=233$ nm olan damlacık boyutunu korumuş, istatistiksel bir fark söz konusu olmamıştır ($p>0,05$).

Yapılan tüm nanoemülsiyon kararlılığı analizleri sonucunda Tween 80'in peynir altı suyu proteinine göre daha stabil sonuçlar doğuran nanoemülsiyonları oluşturduğu belirlenmiştir. İzoelektrik nokta varlığından ve tuz ile beraber sıcaklık uygulamalarında da Tween 80 emülgatörü daha kararlı sonuçlar ortaya koymuştur. Peynir altı suyu proteininin ise izoelektrik nokta dışında, daha düşük sıcaklıklarda, az tuz konsantrasyonlarında daha stabil emülsiyonlar oluşturduğu kararlaştırılmıştır.

Tüketilen su içerisinde yağ nanoemülsiyonunun insan vücudunda sindirimini incelemek amacıyla yapılan *in vitro* sindirimler, her iki emülgatör ile hazırlanan emülsiyonlarda da başlangıca göre mide fazında damlacık boyutlarının oldukça fazla arttığını göstermiştir ($p<0,05$). Peynir altı suyu proteini emülsiyonlarında başlangıçta 296 nm, ağız fazında 696 nm, mide fazında 5,500 μm ve ince bağırsak misel fazında 1,947 μm damlacık çapı ölçülmüştür. Tween 80 emülsiyonlarında ise, başlangıçta 216 nm, ağız fazında 539 nm, mide fazında 1,069 μm ve ince bağırsak misel fazında 2,518 μm damlacık çapı belirlenmiştir. Özellikle başlangıç fazına göre mide fazında oluşan artış midenin asidik ortamından etkilenen damlacık yüzeylerinin pepsin enzimi ile kısmen parçalandığı kararlaştırılmıştır. Yine tüm fazlarda negatif değer gösteren zeta potansiyel verileri mide fazında sıfıra yakın, çok düşük negatif değer göstermiştir. Serbest yağ asidi salınımı için elde edilen veriler ince bağırsak sindiriminin özellikle ilk 10 dakikasında çok hızlı gerçekleştiği kalan süreçte daha yavaş ilerlediğini göstermiştir. 120 dakika sonunda lipit fazının %88-90 oranında sindirilmiş olması, damlacıkların kolaylıkla sindirildiğini ve bu tarz fındık yağı nanoemülsiyonlarının gıda endüstrisinde yağda çözünür biyoaktif bileşenler için iyi birer taşıyıcı sistem olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Acosta, E. 2009. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(1), 3-15.
- Alasalvar, C., Amaral, J. S., Shahidi, F., Qhshima, T., Wanasundara, U., Yurttaş, H. C., Liyanapathirana, C. M. ve Rodrigues, F. B. 2003. Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 2. Lipid characteristics and oxidative stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13), 3797-3805.
- Alasalvar, C., Amaral, J. S. ve Shahidi, F. 2006. Functional lipid characteristics of Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10177-10183.
- Altuntaş, A. H., Ketenoğlu, O., Çetinbaş, S., Erdoğan, F. ve Tekin, A. 2018. Deacidification of crude hazelnut oil using molecular distillation – multiobjective optimization for free fatty acids and tocopherol. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(4), 1700369.
- Aluko, R. E. ve Yada, R. Y. 1995. Structure-function relationships of cowpea (*vigna unguiculata*) globulin isolate: Influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, 53(3), 259–265.
- Amani, A., York, P., Chrystyn, H. ve Clark, B. J. 2009. Factors affecting the stability of nanoemulsions-use of artificial neural networks. *Pharmaceutical Research*, 27(1), 37-45.
- Amaral, J. S., Casal, S., Citova, I., Santos, A., Seabra, R. M. ve Oliveira, B. P. P. 2006. Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition. *European Food Research and Technology*, 222(3), 274-280.
- Anonim. 2019. Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, 2019 Yılı Fındık Sektör Raporu.
- Augustin, M. A. ve Sanguansri, P. 2006. Nanoscale materials development - a food industry perspective. *Trends in Food Science and Technolgy*, 17(10), 547-556.
- Bakry, M. A., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A. ve Liang, L. 2016. Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143–182.
- Baysan, U., Yıldırım, A., Takma, D. K. ve Koç, M. 2018. Physical and chemical stability of sweet walnut oil emulsion: influence of homogenization conditions and stabilizer ratio. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6), e12945.
- Blomhoff, R., Carlsen, M. H., Andersen, L. F. ve Jacobs Jr, D. R. 2006. Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96(2), 52–60.

- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., R. Mackie, A., Martins, C., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C. N., Souchon, I., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W. ve Recio, I. 2019. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014.
- Chanamai, R. ve McClements, D. J. 2002. Comparison of gum arabic, modified starch, and whey protein isolate as emulsifiers: Influence of pH, CaCl_2 and temperature. *Journal of Food Science*, 67(1), 120–125.
- Chang, C., Tu, S., Ghosh, S. ve Nickerson, M. T. 2015. Effect of pH on the inter-relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates. *Food Research International*, 77(3), 360-367.
- Chang, Y. ve McClement, D. J. 2016. Influence of emulsifier type on the *in vitro* digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin or Tween 80. *Food Hydrocolloids*, 61(4), 92-101.
- Charoen, R. , Jangchud, A., Jangchud, K., Harnsilawat, T., Naivikul, O. ve McClement, D. J. 2011. Influence of biopolymer emulsifier type on formation and stability of rice bran oil-in-water emulsions: Whey protein, gum arabic, and modified starch. *Journal of Food Science*, 76(1), e165-72.
- Chen, C. C. ve Wagner, G. 2004. Vitamin E nanoparticle for beverage applications. *Chemical Engineering Research and Design*, 82(11), 1432- 1437.
- Chen, Q. ve McClements, D. J. 2010. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1000-1008.
- Chen, Q., Decker, E. A., Xiao, H. ve McClements, D. J. 2012. Nanoemulsion delivery systems: Influence of carrier oil on beta-carotene bioaccessibility. *Food Chemistry*, 135(3), 1440–1447.
- Coupland, J. N. ve McClements, D. J. 1996. Lipid oxidation in food emulsion. *Trends in Food Science & Technology*, 7(3), 83-91.
- Dalgleish, D. G. 1997. Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 8(1), 1-6.
- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39.
- Dickinson, E. 2010. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 130-140.

FAO. 2020. Web sitesi <https://www.fao.org>. Erişim Tarihi: 30.12.2020.

Fraser, G. E., Sabate', J., Beeson, W. L. ve Strahan, T. M. 1992. A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. The adventist health study. Archives of Internal Medicine, 152(7), 1416–1424.

Golding, M. ve Wooster, T. J. 2010. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. Journal of Colloid and Interface Science, 15(1–2), 90-101.

Gumus, C. E., Decker, A. E. ve McClements, D. J. 2017. Gastrointestinal fate of emulsion-based u-3 oil delivery systems stabilized by plant proteins: Lentil, pea, and faba bean proteins. Journal of Food Engineering, 207, 90-98.

Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A. ve Doyle, P. S. 2016. Nanoemulsions: Formation, properties and applications. The Royal Society of Chemistry, 12(11), 2826-2841.

Hakansson, A., Tragardh, C. ve Bergenstahl, B. 2009. Dynamic simulation of emulsion formation in a high pressure homogenizer. Chemical Engineering Science, 64(12), 2915-2925.

Hetherington, M. ve Steck, W. 1999. Phytosterols from Canadian plants: Uses and sources. Canadian Chemical News, 51(5), 81-94.

Hong, I. K., Kim, S. I., Lee, S. B. 2018. Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 67, 123-131.

İlyasoğlu, H. ve El, S. N. 2010. Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, yapıları ve kolloidal salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. Gıda Dergisi, 35(2), 143-150.

Jafari, S. M., He, Y. ve Bhandari, B. 2006. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization- a comparison. International Journal of Food Properties, 9(3), 475- 485.

Jo, Y. J. ve Kwon Y. J. 2014. Characterization of β -carotene nanoemulsions prepared by microfluidization technique. Food Science and Biotechnology, 23(1), 107-113.

Kabalnov, A. S. ve Shchukin, E. D. 1992. Oswald ripening theory: Applications to fluorocarbon emulsion stability. Advances in Colloid and Interface Science, 38, 69–97.

Karabulut, İ., Topçu, A., Yorulmaz, A., Tekin, A. ve Özay, D. S. 2005. Effects of the industrial refining process on some properties of hazelnut oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 107(7-8), 476–480.

Kesen, S., Sönmezdağ, A. S., Kelebek, H. ve Selli, S. 2016. Ham ve rafine fındık yağlarının yağ asitleri bileşimi. Çukurova Journal of Agricultural and Food Sciences, 31, 79-84.

- Kharat, M., Zhang, G. ve McClements, J. D. 2018. Stability of curcumin in oil-in-water emulsions: Impact of emulsifier type and concentration on chemical degradation. *Food Research International*, 111(29), 178-186.
- Komaiko, J. ve McClements, D. J. 2014a. Food-grade nanoemulsion filled hydrogels formed by spontaneous emulsification and gelation: Optical properties, rheology, and stability. *Journal of Food Hydrocolloids*, 46, 67-75.
- Komaiko, J. ve McClements, D. J. 2014b. Optimization of isothermal low-energy nanoemulsion formation: Hydrocarbon oil, non-ionic surfactant, and water systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 425, 59-66.
- Komaiko, J. ve McClements, D. J. 2015. Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: Factors influencing particle size. *Journal of Food Engineering*, 146, 122-128.
- Komaiko, J., Sastrosubroto, A. ve McClements J. D. 2015. Formation of oil-in-water emulsions from natural emulsifiers using spontaneous emulsification: Sunflower phospholipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45), 10078-10088.
- Köksal, A. I., Artık, N., Simşek, A. ve Güneş, N. 2006. Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry* 99(3), 509-515
- Lee, L. ve Norton, I. T. 2013. Comparing droplet breakup for a high-pressure valve homogeniser and a microfluidizer for the potential production of food-grade nanoemulsions. *Journal of Food Engineering*, 114(2), 158-163.
- McClements, D. J., Takhistov, P. ve Weiss, J. 2006. Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), 107-116.
- McClements, D. J. 2010. Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. *The Royal Society of Chemistry, Soft Matter*, 7(6), 2297-2316.
- Milani, J. 2019. Some new aspects of colloidal systems in foods. *IntechOpen*, 5, İran.
- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M. ve McClements, D. J. 2014. Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin e delivery systems using natural surfactants: Quillaja saponin and lecithin. *Journal of Food Engineering*, 142, 57-63.
- Ozturk, B., Argin, S., Özilgen, M. ve McClements, D. J. 2015a. Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin e delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic. *Food Chemistry*, 188, 256-263.

- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M. ve McClements, D. J. 2015b. Nanoemulsion delivery systems for oil-soluble vitamins: Influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D3 bioaccessibility. *Food Chemistry*, 187, 499–506.
- Ozturk, D. ve İslam, A. 2019. Türkiye’de eski ve yeni üretim bölgelerinde fındık yetiştiriciliği yapan işletmelerin tarımsal üretim açısından karşılaştırmalı analizi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(Özel Sayı), 99-106.
- Özkal, S. G., Salgın, U. ve Yener, M. E. 2005. Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. *Journal of Food Engineering*, 69(2), 217–223.
- Pala, M., Açkurt, F., Löker, M., Yıldız, M. ve Ömeroğlu, S. 1996. Fındık çeşitlerinin bileşimi ve beslenme fizyolojisi açısından değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 20, 43-48.
- Parcerisa, J., Boatella, J., Codony, R., Rafecas, M., Catellote, A. I., Garcia, J., Lopez, A. ve Romero, A. 1995. Comparison of fatty acid and triacylglycerol compositions of different hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) cultivated in catalonia (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 13-16.
- Piorkowski, D. T. ve McClements, D. J. 2014. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloid*, 42, 5-41.
- Quintero, L., Clark, D. E. ve McKeller, A. J. 2013. Nanoemulsions. United States Patent.
- Rawat, R. S. 2015. Dense plasma focus – from alternative fusion source to versatile high energy density plasma source for plasma nanotechnology. *Journal of Physics: Conference Series*, 591(1), 012021.
- Ribeiro, H. S, Chu, B. S, Ichikawa, S. ve Nakajima, M. 2008. Preparation of nanodispersions containing β -carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 12-17.
- Rowland, I., Faughnan, M. , Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G. ve Cassidy, A. 2003. Bioavailability of phyto-oestrogens. *British Journal of Nutrition*, 89(1), 45-58.
- Saberi, A. H., Fang, Y. ve McClements, D. J. 2013. Fabrication of vitamin E- enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science*, 391(1), 95–102.
- Saifullah, M., Ahsan, A., Rezaul, M. ve Shishir, I. 2016. Production, stability and application of micro-and nanoemulsion in food production and the food processing industry, In: *Emulsions, Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. Grumezescu, A.M. (ed), Academic press, Elsevier Inc., 405-442, London.

- Salvia-Trujillo, L., Chen, Q., Martin-Belloso, O. ve McClements, D. J. 2013. Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions. *Food Chemistry*, 141 (2), 1472-1480.
- Sarkar, A., Goh, K. K. T. ve Singh, H. 2009a. Colloidal stability and interactions of milk- protein- stabilized emulsions in an artificial. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1270-1278.
- Sarkar, A., Goh, K. K. T., Singh, P. ve Singh, H. 2009b. Behaviour of an oil-in-water emulsion stabilized by β -lactoglobulin in an *in vitro* gastric model. *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1563-1569.
- Sarkar, A., Zhang, S., Murray, B., Russel, J. A. ve Boxal, S. 2017. Modulating *in vitro* gastric digestion of emulsions using composite whey protein-cellulose nanocrystal interfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158, 137–146.
- Sislioglu, K., Gumus, C. E., Koo, C. K. W., Karabulut, I. ve McClements, D. J. *In vitro* digestion of edible nanostructured lipid carriers: Impact of a candelilla wax gelator on performance. *Food Research International*, 140(1), 110060.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. ve Solans, C. 2004. Formation and stability of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 303–318.
- TMO. 2018. Web sitesi <https://www.tmo.gov.tr> . Erişim Tarihi: 15.12.2020.
- Wang, X., Jiang, Y., Wang, Y. W., Huang, M. T., Ho, C. T. ve Huang, Q. 2008. Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. *Food Chemistry*, 108(2), 419-424.
- Wani, I. A., Ayoub, A., Bhat, N. A., Dar, A. H. ve Gull, A. 2020. Hazelnut, In: *Antioxidants in Vegetables and Nuts - Properties and Health Benefits*. Nayik, G. A. ve Gull, A. (eds), Springer, 559-572, Singapore.
- Wu, M. H., Yan, H. H., Chen, Z. Q. ve He, M. 2017. Effects of emulsifier type and environmental stress on the stability of curcumin emulsion. *Journal Of Dispersion Science And Technology*, 38(10), 1375–1380.
- Yang, Y. ve McClements, D. J. 2013. Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified alpha-tocopherol acetate. *Food Chemistry*, 141(1), 473–481.