

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**OMEGA-3 NANOEMÜLSİYONU İLAVESİNİN KEFİRİN OKSİDATİF
STABİLİTESİNE ETKİSİ**

Gizem ERPEK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OMEGA-3 NANOEMÜLSİYONU İLAVESİNİN KEFİRİN OKSİDATİF STABİLİTESİNE ETKİSİ

Gizem ERPEK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin BONACINA

Bu tez çalışmasında, içerdiği omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri sebebiyle oksidasyona duyarlı olan balık yağının, nanoemülsiyon içerisinde kefire katılmasıyla birlikte istenmeyen balık aromasını baskılamak ve omega-3 nanoemülsiyonu ilavesinin kefirin oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisini ölçmek amaçlanmıştır. Materyal olarak, kefir ve balık yağı; nanoemülsiyon üretiminde emülgatör olarak peynir altı suyu proteini; aromanın tüketici beğenisine etkisini araştırmak amacıyla çilek aroması kullanılmıştır. Yağ-su fazı yüksek hızlı bir karıştırıcı yardımıyla karıştırılmış, oluşan kaba emülsiyonlar, parçacıkların nano boyuta getirilmesi için çift kanallı yüksek basınçlı bir mikroadakışkanlaştırıcıdan geçirilmiştir. Balık yağı nanoemülsiyonu içeren kefir örneklerinin beraberinde, serbest formda balık yağı içeren kefir örnekleri de hem +4°C buzdolabında hem de 60°C etüvde yaklaşık 1 ay boyunca depolanmıştır. Kefir örnekleri üzerinde başlangıçta duyusal analizler gerçekleştirilmiştir. Depolama sırasında oksidatif ve fizikokimyasal değişimler incelenmiştir. Oksidatif stabilite için peroksit ve p-anisidin analizleri; fizikokimyasal değişimler için ise renk, viskozite, pH, parçacık boyutu değişimi (d_{32}), parçacık boyut dağılımındaki değişimler, elektriksel yük değişimleri (ζ -potansiyel) ölçülmüştür. Bunların sonucunda, omega-3 yağ asitlerince zengin balık yağının nanoemülsiyon yardımıyla zenginleştirildiği kefir örnekleri, serbest formda doğrudan katılan balık yağı içeren kefir örneklerine kıyasla nispeten daha güçlü bir oksidatif stabilite göstermiştir. Duyusal analizlerde, balık yağı nanoemülsiyonuyla zenginleştirilmiş ve aroma içeren kefir, panelistler tarafından en yüksek beğeniye sahip olmuştur. Sonuç olarak balık yağı nanoemülsiyonu ile zenginleştirilen kefirin tercih edilebilirliğinin hem duyusal açıdan hem de oksidatif analizler açısından yüksek olduğu kanıtlanmıştır. Yüksek tüketici beğenisi ışığında, sağlık yararı artırılan ve balık aromasının baskılandığı yeni bir fonksiyonel ürün elde edilmiştir.

Mayıs 2022, 111 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nanoemülsiyon, omega-3, kefir, gıda zenginleştirme, fonksiyonel gıda

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF OMEGA-3 NANOEMULSION INCORPORATION ON THE OXIDATIVE STABILITY OF KEFIR

Gizem ERPEK

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

Supervisor: Asst. Prof. Cansu Ekin BONACINA

In this thesis, it was aimed to suppress the unwanted fish flavor by adding fish oil, which is sensitive to oxidation due to the omega-3 polyunsaturated fatty acids it contains, to kefir in the nanoemulsion, and to measure the effect of the addition of omega-3 nanoemulsion on the oxidative stability of kefir. As material, kefir, fish oil, whey protein (as emulsifier in nanoemulsion production) and strawberry flavor (to investigate the effect of aroma) were used. The oil-water phase was mixed with a high-speed mixer, and the resulting coarse emulsions were passed through a dual-channel high-pressure microfluidizer to bring the particles to nano size. Kefir samples containing fish oil nanoemulsion, as well as kefir samples containing bulk fish oil, were both stored in a +4°C refrigerator and a 60° C oven for approximately 1 month. Initially, sensory analyzes were performed on kefir samples. Oxidative and physicochemical changes were investigated during storage. Peroxide and p-anisidine analyzes were performed for oxidative stability tests. For physicochemical changes, color, viscosity, pH, particle size change (d_{32}), changes in particle size distribution, electrical charge changes (ζ -potential) were measured. As a result, kefir samples enriched with fish oil rich in omega-3 fatty acids with the help of nanoemulsion showed relatively stronger oxidative stability compared to kefir samples containing fish oil added directly in free form. In sensory analyses, kefir enriched with fish oil nanoemulsion and containing flavor was highly appreciated by the panelists. As a result, it has been proven that the preferability of kefir enriched with fish oil nanoemulsion is high in terms of both sensory and oxidative analyses. In the light of high consumer appreciation, a new functional product has been obtained with increased health benefits and suppressed fish flavor.

May 2022, 111 pages

Key Words: Nanoemulsion, omega-3, kefir, food fortification, functional food

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca sahip olduğu değerli bilgi birikimi ve tecrübeleriyle yol gösterici bir rehber olarak yoluma ışık tutan ve bu süreçte bana her zaman destek olan, tez konumu seçerken ilgi alanımı göz önünde bulundurup bana yardımcı olan çok kıymetli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin BONACINA'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Hem lisans hem de yüksek lisans eğitim sürecim boyunca sadece akademik anlamda değil, hayata dair sergilediği duruş ve biz öğrencilerine gösterdiği özen ile her zaman örnek aldığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aziz TEKİN'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı); yüksek lisans tez çalışmalarım için ODTÜ Gıda Mühendisliği bölümünde yer alan cihazları kullanmam konusunda yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Behiç MERT'e (ODTÜ, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı); yüksek lisans tez çalışmalarım için laboratuvarlarında bulunan mikroakışkanlaştırıcı cihazını kullanmamda bana yardımcı ve destek olan sevgili hocalarım Prof. Dr. Berrin ÖZKAYA ve Arş. Gör. İrem SAKA'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı); laboratuvarlarında bulunan cihazları kullanmam için imkan sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Yakup Sedat VELİOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) ve destekleri için doktora öğrencisi Bahar Demircan'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezim üzerine yaptığım araştırma ve çalışmalarımı yürütmem için bana bir iş yerinden çok aile ortamı sağlayarak motivasyonumu üst seviyede tutmamı sağlayan sevgili Zeynel Çilli (Bugün Gıda) ailesine; hayatım boyunca desteklerini esirgemeyeceğine inandığım bütün arkadaşlarıma; son olarak benim bugünlere gelmemde en çok emeği geçen canım aileme ve yüksek lisans yapmam için beni cesaretlendiren rahmetli dedem Dr. Nedim UÇAR'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Gizem ERPEK

Ankara, Mayıs 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Kefir.....	3
2.2 Omega-3 Çoklu Doymamış Yağ Asitleri.....	11
2.2.1 Omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin lipit oksidasyonu	15
2.3 Emülsiyon Teknolojisi	16
2.3.1 Emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	27
3.1 Materyal	27
3.2 Yöntem	28
3.2.1 Emülsiyon üretimi.....	28
3.2.2 Oksidasyon analizleri.....	29
3.2.2.1 Peroksit analizi	30
3.2.2.2 P- anisidin analizi	31
3.2.3 Renk analizi	31
3.2.4 Viskozite analizi.....	33
3.2.5 pH analizi	33
3.2.6 Parçacık boyut analizi	34
3.2.7 Zeta potansiyeli analizi	34
3.2.8 Duyusal analiz	35
3.2.9 İstatistiksel analiz	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	37
4.1 Oksidatif Stabilité	37
4.1.1 Birincil lipit oksidasyon ürünleri oluşumu	37
4.1.2 İkincil lipit oksidasyon ürünleri oluşumu	44
4.2 Renk Analizi	50
4.3 Viskozite Analizi.....	58
4.4 pH Analiz Sonuçları.....	61
4.5 Parçacık Boyutu (d ₃₂) Değişimi.....	63
4.6 Parçacık Boyut Dağılımındaki Değişimler	69
4.7 Elektriksel Yük Değişimleri	74
4.8 Kefir Örneklerinin Duyusal Olarak Kabul Edilebilirliği.....	78
5. SONUÇ.....	89
KAYNAKLAR	95
EKLER.....	108
EK-1 DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRME FORMU	109
EK-2 ETİK KURUL ONAYI.....	110
ÖZGEÇMİŞ.....	111

SİMGELER DİZİNİ

BaCl ₂	Baryum Klorür
FeSO ₄	Demir Sülfat
HCl	Hidroklorikasit
M	Molarite
N	Normalite

Kısaltmalar

AOCS	American Oil Chemists' Society
ALA	Linolenikasit
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asitleri
DHA	Dokosaheksaenoikasit
DPA	Dokosapentaenoikasit
DPPH	2-2 difenil-1-pikrilhidrazil
EPA	Eikosapentaenoikasit
EYA	Esansiyel yağ asitleri
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
g	Gram
KKH	Koroner kalp hastalığı
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
mL	Mililitre
μm	Mikrometre
NHMRC	Avustralya ve Yeni Zelanda Ulusal Sağlık ve Tıbbi Araştırma Konseyi
nm	Nanometre
PASP	Peynir altı suyu proteini
p-AV	P-anisidin değeri
PDI	Polidispersite indeksi
pI	İzoelektrik nokta
PV	Peroksit değeri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
S/Y	Yağ içinde su
S/Y/S	Su içinde yağ içinde su
SDA	Stearidonikasit
TE	Trolox Eşdeğeri
Vb.	Ve benzeri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Y/S	Su içinde yağ
Y/S/Y	Yağ içinde su içinde yağ
ζ	Zeta

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Kefir danesi.....	5
Şekil 2.2	Geleneksel kefir üretimi akış şeması	7
Şekil 2.3	Endüstriyel kefir üretimi akış şeması	8
Şekil 2.4	Kefirin kendine has özelliklerinin oluşumunda rol oynayan faktörler	9
Şekil 2.5	Nanoemülsiyon	16
Şekil 2.6	Nanoemülsiyonların yağ ve su fazlarının nispi konumuna bağlı olarak sergilediği yapılar	17
Şekil 2.7	Ostwald olgunlaşması	18
Şekil 2.8	Emülgatörün yapısı	21
Şekil 3.1	Tez çalışmasında kullanılan mikroakışkanlaştırıcı cihazı	28
Şekil 3.2	Hunter <i>Lab</i> renk ölçüm cihazı	32
Şekil 3.3	Viskozimetrede kefir örneklerinin ölçümünde kullanılan spindle	33
Şekil 3.4	Panelistler için hazırlanan duyusal analiz düzeneği	36
Şekil 4.1	4°C buzdolabında depolama süresi boyunca örneklerin peroksit değerleri ...	40
Şekil 4.2	60°C etüvde depolama süresi boyunca örneklerin peroksit değerleri	41
Şekil 4.3	4°C buzdolabında 21 günlük depolama süresi boyunca ölçülen p-Anisidin değeri.....	46
Şekil 4.4	60°C etüvde 21 günlük depolama süresi boyunca ölçülen p-Anisidin değeri..	47
Şekil 4.5	4°C buzdolabında depolanan örneklerin L* renk değerleri	51
Şekil 4.6	4°C buzdolabında depolanan örneklerin a* renk değerleri	54
Şekil 4.7	4°C buzdolabında depolanan örneklerin b* renk değerleri	56
Şekil 4.8	°C buzdolabında depolanan örneklerin viskozite değerleri	59
Şekil 4.9	4°C buzdolabında depolanan örneklerin pH değerleri	61
Şekil 4.10	4°C buzdolabında depolanan örneklerin parçacık boyutu (d ₃₂) ölçümleri...	64
Şekil 4.11	60°C etüvde depolanan örneklerin parçacık boyutu (d ₃₂) ölçümleri.....	65
Şekil 4.12	4°C'de 21 günlük depolama süresi boyunca örneklerin parçacık boyut dağılımları	69
Şekil 4.13	60°C'de 30 günlük depolama süresi boyunca örneklerin parçacık boyut dağılımları	70
Şekil 4.14	4°C buzdolabında depolanan örneklerin elektriksel yük değişimleri Zeta (ζ) Potansiyel ölçümleri	74
Şekil 4.15	Kefir örneklerinin duyusal analiz sonuçları	79
Şekil 4.16	Kefir örneklerinin duyusal analiz görünüş ve renk puanları	80
Şekil 4.17	Kefir örneklerinin duyusal analiz koku puanları	82
Şekil 4.18	Kefir örneklerinin duyusal analiz lezzet puanları	83
Şekil 4.19	Kefir örneklerinin duyusal analiz tekstür puanları	85
Şekil 4.20	Kefir örneklerinin duyusal analiz genel beğeni puanları	87

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kefirin kimyasal bileşimi ve besin öğeleri tablosu	4
Çizelge 2.2 Sağlık kuruluşlarından önerilen haftalık balık veya günlük omega-3 ÇDYA alımı	12
Çizelge 2.3 ÇDYA içeren diyet lipidlerinin biyolojik kaynakları	13
Çizelge 2.4 Omega-3 ÇDYA'nın sağlık yararları	14
Çizelge 2.5 Peynir altı suyu bileşenlerinin fonksiyonları ve gıdalarda kullanımı.....	23



1. GİRİŞ

Günümüzde, temel beslenme özelliklerinin ötesinde sağlık yararları yüksek olan ürünlere olan ilgi, her geçen gün bilinçli tüketici sayısının artışıyla birlikte artmaktadır. Beslenme uzmanlarının sağlıklı bir diyetin önemini vurgulamalarıyla, tüketicilerin değişen yaşam tarzlarıyla, yaşlanmanın önüne geçme isteğiyle, hastalıkların artışıyla, sağlık bakım maliyetlerinin yükselişiyle ilişkili olarak sağlıklı beslenme üzerine eğilimi artırmıştır.

Tüketicilerin birçoğu sağlıklı ve kaliteli bir yaşam için hastalıklardan korunmaya yönelik ilaç gibi tıbbi etkisi olan ürünlere nazaran sağlığı koruyucu ve iyileştirici etkiye sahip daha doğal ve zenginleştirilmiş ürünlere önem vermeye başlamıştır. Bu eğilim sonucunda son yıllarda popüler bir kavram olan fonksiyonel gıdalar ortaya çıkmıştır. Fonksiyonel gıdalar basitçe, varolan bir besinin eksiklik arz eden farklı içeriklerle zenginleştirilmesine dayanmaktadır. Süt ürünleri fonksiyonel gıdalar pazarında önemli bir yer tutar ve süt bazlı fonksiyonel içecekler bu sektörün büyüyen bir bölümüdür. Fonksiyonel gıda grupları arasından, günlük diyetle sıklıkla tüketilen süt ve süt ürünlerini, daha az sıklıkta tükettiğimiz omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ile zenginleştirmek son derece faydalı olacaktır. Bu çalışmada zenginleştirilmek adına süt ürünleri içerisinde fermente bir içecek olan kefir seçilmiştir. Çünkü kefir günlük diyetle sıklıkla tüketilebilir ve kolay ulaşılabilir durumdadır; omega-3 ÇDYA'nın en fakir kaynakları arasındadır; omega-3 ÇDYA'nın lipit oksidasyonuna ve sıcaklığa olan aşırı hassasiyetinden kaynaklı olarak, istenmeyen aromaların oluşumuna engel olabilmek için soğukta depolanabilen bir üründür. Bunun beraberinde kefir, Dünya'nın birçok yerinde kanser, gastrointestinal rahatsızlıklar, metabolik bozukluklar vb. hastalıklara karşı destek ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca, süte ait tüm besin maddelerini içermektedir ve bununla kalmayıp mikroorganizmaların katkısıyla birlikte meydana gelen bileşikler sonucunda besleyici özelliğinin artması ve vücutta emiliminin yüksek olması, kefiri sağlık yönünden ön planda tutulması gereken bir içecek haline getirmektedir.

Dünya nüfusunun büyük bir kısmında deniz ürünleri tüketiminin düşük olduğu düşünüldüğünde, gıdayı buna göre takviye etmek veya deniz kaynaklarından omega-3 ÇDYA'lar ile diyet takviyeleri üretmek için çeşitli girişimlerde bulunulmuştur ve omega-3 ÇDYA'larla zenginleştirilmiş gıdaların DHA ve EPA miktarının arttığı kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, omega-3 ÇDYA içeren gıdaları deniz kaynaklarından takviye etmek zor olabilir çünkü depolama sürecinde hoş olmayan güçlü bir koku ve tada sahip olabilirler. Bu nedenle, hem sağlık yararları hem de tatmin edici bir lezzet elde etmek amacıyla takviye için doğru miktarda omega-3 ÇDYA bulmak güçtür. Ayrıca, omega-3 yağ asitlerince zengin gıda kaynakları olan yağlı balıklarda aynı zamanda ağır metal birikimi de tüketicileri bu tarz gıdaların tüketimi konusunda endişelendirmektedir. Bu sebeple çeşitli gıda ürünlerini zenginleştirmek için birtakım metotlar geliştirilmiştir. Bunlar; serbest zenginleştirme metodu ile yağların doğrudan takviye edilmesi; kapsüllenmiş parçacıklar ve emülsiyonlar ile zenginleştirme; ruminantların diyetini değiştirerek zenginleştirme vb. yöntemlerdir. Omega-3 ÇDYA'ların yiyecek ve içecekleri zenginleştirmesi, düşük suda çözünürlükleri, zayıf oksidatif stabiliteleri ve değişken biyoyararlanımları gibi potansiyel problemlerden dolayı zorluk çıkarmaktadır. Omega-3 ÇDYA ile zenginleştirilmiş yiyecek ve içecekleri elde etmenin oldukça uygulanabilir bir yolu olan emülsiyon sistemleri, gıda matrislerine eklendiği zaman onları termo-oksidasyon süreçlerine karşı da korumuş olur. Nanoemülsiyonlar, gıdaları omega-3 ÇDYA ile zenginleştirmenin birçok zorluğunun üstesinden gelebilecek, küçük yağ damlacıkları ($r < 200\text{nm}$) içeren kolloidal dispersiyonlardır (McClements ve Jafari 2018). Nanoemülsiyonların bileşimleri ve üretim metotları, içerdiği yağ damlacıklarının fizikokimyasal stabilitesini artırmakla birlikte omega-3 ÇDYA'ların vücutta biyoyararlanımını arttırmak için de sıklıkla yeni formülasyonlarla tasarlanmaktadır.

Bu çalışmada mikroakışkanlaştırıcı cihazı ve peynir altı suyu proteini (PASP) kullanarak omega-3 ÇDYA kaynaklarından biri olan balık yağından nanoemülsiyon oluşturup kefirin zenginleştirilmesiyle birlikte, oksidatif stabilite ve fizikokimyasal değişimlerinin yanı sıra, duyu kalitesi de değerlendirilerek, sağlık yararı artırılmış bir fonksiyonel ürün elde edilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kefir

Kefir, tarihi Avrupa'nın Kafkasya bölgesine dayandığına inanılan (Alpkent ve Demir 2004), Türkiye, Fransa, Tayvan, Portekiz, Arjantin, İskandinav ülkeleri, Bulgaristan, Macaristan, Slovakya, Çek Cumhuriyeti, Polonya'ya kadar Dünya genelinde birçok yerde sevilen geleneksel bir fermente süt ürünüdür (Farnworth 2005). Türkçe "keif" kelimesinden yani "güzel hissettiren" anlamından türeyerek kefir adını almıştır. Farklı ülkelerde "kephir", "kiaphur", "kefer", "kanphon", "kep" ve "kippi" olarak da anılmaktadır (Rattray ve O'Connell 2011).

Duyusal özellikleri yönünden kefir beyaz ya da sarımsı renkli, tadı asidik ancak ferahlatma etkili ve hoş, tekstürü yoğun ve elastik kıvama sahip olarak nitelendirilebilir (Wang 2009). Köpürme özelliğini içerdiği CO₂'den almaktadır (Karagözlü 2003). Lezzetini, homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterileri, diasetil ve asetaldehitten almaktadır (Hutkins 2006). Kefir danelerinden ve ana kültüründen elde edilen ve bir fermentasyon ürünü olan kefirde, fermentasyon sırasında laktik asit bakterilerinin laktik aside ek olarak orik asit, hipürik asit gibi organik asitleri üretmelerinin yanı sıra, asetoin, asetaldehit, pürivat gibi aroma bileşenleri üretilmektedir ve L (+) laktik asit bakteri sayısı da artmaktadır. Alkol üretimi ise kefirin içerdiği mayalar sayesinde gerçekleşmektedir (Güzel- Seydim vd. 2000). Fermentasyon süreci kefire ait eşsiz bir lezzetin oluşma sebebi ve kefir süt ve yoğurttan ayıran temel sebepler olarak sıralanabilmektedir. Bunun beraberinde kefir içerisinde bulunan B₁, B₁₂ ve K vitaminleri, kalsiyum, folik asit, biotin ve manganez bakımından da oldukça zengin bir gıda ürünüdür (Otlés ve Çağındı 2003). Kefirin kimyasal bileşimi ve besin öğeleri tablosu **Çizelge 2.1**'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 Kefirin kimyasal bileşimi ve besin öğeleri tablosu
(Renner ve Renz-Schaven 1986; Hallé vd. 1994)

Bileşen	Miktar (100 gramda)	Bileşen	Miktar (100 gramda)
Su (%)	87.5	Vitaminler (mg)	
Protein (%)	3.3	A	0.06
Yağ (%)	3.5	B1	0.04
Laktoz (%)	4.0	B2	0.17
Enerji (kcal)	65	B6	0.05
Süt Asidi (g)	0.8	B12	0.5
Etil alkol (g)	0.9	Karoten	0.02
Laktik asit (g)	1	Niasin	0.09
Kolesterol (mg)	13	C	1
Esansiyel Aminoasitler (g)		D	0.08
Triptofan	0.05	E	0.11
Fenilalanin + Tirozin	0.35	Mineraller (g)	
Lösin	0.34	Kalsiyum	0.12
İsolösin		Fosfor	0.10
Treonin	0.21	Magnezyum	12
Metionin + Sistin	0.17	Potasyum	0.15
Lisin	0.12	Sodyum	0.05
Valin	0.27	Klorid	0.10
İz Elementler	0.22	Molibden (µg)	5.5
Demir (mg)	0.05	Manganez (µg)	5
Bakır (µg)	12		
Çinko (mg)	0.36		

Kefire ait duyusal özellikler, içerdiği laktik asit, okzalik asit, uçucu yağ asitlerinin birçoğu, düşük orandaki CO₂ ile laktik asit bakterileri ve mayalar tarafından üretilen bazı aromatik bileşenler ile ön plana çıkmaktadır (Güzel-Seydim vd. 2000a). Güzel-Seydim vd. (2000a) tarafından yapılan bir çalışmada, kefire ait lezzet profilinin fermentasyon boyunca üretilen çok sayıda aroma bileşeninden kaynaklandığı, iyi bir kefirin akıcı bir tekstürde, homojen dağılmış ve parlak bir görünüşte olması gerektiği, kusurlu görünüşün topaklanmış bir görünüşten ortaya çıktığı ve hafif ekşi bir aromaya sahip olup, fermente lezzetin de var olması gerektiği belirtilmiştir.

Kefirin ana unsuru olan kefir danelerinin, sütü fermentasyona uğratmasıyla beraber kefir içeceği meydana gelmektedir. Kefir danesi 1-2 mm ile 3-6 mm arasında değişen çaplarda, görünüş olarak karnabahar veya patlamış mısırı andıran (**Şekil 2.1**), yuvarlak uçlu, düzensiz şekilli, sarımtırak beyazımsı renkli, sert ve yapışkan bir yapıya sahiptir (Karagözlü 2003, Farnworth 2005, Tomar vd. 2017).



Şekil 2.1 Kefir danesi

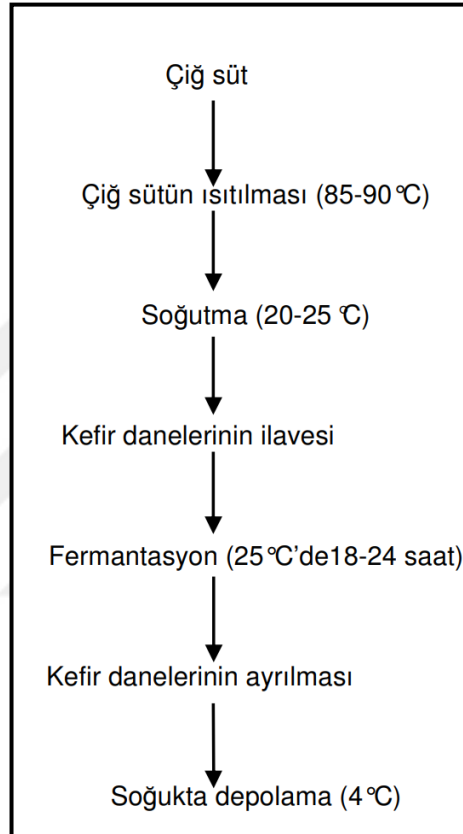
Kefir danelerinin mikroflorasının yaklaşık %83-90 kadarı laktik asit bakterilerinden, %10-17 kadarı mayalardan, asetik asit bakterilerinden ve düşük miktarda da küflerden oluştuğu tespit edilmiştir (Wszolek 2007). Ayrıca kefir daneleri, kazein ve polisakkaritlerden oluşan kompleks şekerleri de içeren bir yapıya sahiptir. Kefire ait karakteristik tat ve aromanın oluşumunda en önemli rol, karbondioksit üreten mayalara

aittir (Wouters vd. 2002). Danenin iç kısmında mayalar bulunmaktadır ve bu mayalar laktozu fermente edemez. Danenin yüzeye yakın dış kısmında ise laktozu fermente edebilen bakteriler bulunmaktadır. Kefir danesi çok zengin bir mikrofloraya sahiptir ve içerisinde bulunan mikroorganizmalar simbiyotik bir ilişkinin sürmesi açısından önemli bir yere sahiptir. Bu mikroorganizmalar laktik asit bakterileri (*Lb. brevis*, *Lb. kefir*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. caucasicus*, *Lb. bulgaricus*); Lökonostoklar (*L. dextranicum*); Asetik asit bakterileri (*A. aceti*, *A. rasens*); mayalar (*Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisia*); Streptokoklar (*S. lactis*, *S. durans*, *S. cremoris*, *S. citrovorum*, *S. diacetylactis*); kazein ve polisakkaritler ile beraber matriks içine gömülü olarak bulunmaktadırlar (Karagözlü 2003). Son yıllarda *Lb. kefiranofaciens*'ın danenin dış kısmını ürettiği bulunmuştur. Kefir danesinin içinde bulunan bakteri ve mayalar jel kıvamdaki ve polisakkarit yapıda matriks içine gömülü olarak yer almaktadır ve bu yapı kefiran olarak adlandırılmaktadır. Kefiran, danenin en az %25'ini oluşturmaktadır ve glukoz ile galaktozu eşit oranlarda yapısında bulundurmakla birlikte son ürünün reolojisine de sıvı fazda çözülmüş olarak katkı sağlamaktadır (Frenova vd. 2002, AlpKent ve Demir 2004, Rimada ve Abraham 2006).

Kefir üretimini geleneksel ve endüstriyel üretim olarak iki gruba ayırmak gerekir. Geleneksel kefir üretiminde uygulanan basamakları, endüstriyel üretime uyarlamak için günümüzde birçok çalışma gerçekleştirilmektedir. Kefir eldesi için inek sütü, manda sütü, koyun sütü, keçi sütü, pirinç sütü, hindistan cevizi sütü, soya, pirinç, fındık gibi çeşitli hammaddeler kullanılmaktadır. Aynı zamanda pastörize edilmiş ya da edilmemiş, yüksek yağ oranı olan ya da düşük yağ oranına sahip hatta yağsız süttten bile elde edilebilmektedir (Otlar ve Çağındı 2003, Generoso vd. 2005, Buran 2021).

Geleneksel kefir üretiminde kefir daneleri direkt olarak belirli bir oranda süte eklenir ve bu oran yaklaşık %2-10 arasında değişiklik göstermektedir. Kullanılacak olan çiğ süt yaklaşık 90°C'ye kadar ısıtılır ve pastörize edilir, ardından 20-25°C olan inokülasyon sıcaklığına soğutulur. Kefir daneleri bu aşamada pastörize edilmiş süte eklenir ve 18-24 saat boyunca 25°C'de fermentasyona bırakılır. Fermentasyon basamağının temel amacı, mikroorganizmaların hareketini ve süt bileşiminde meydana gelen metabolik değişiklikleri hızlandırmaktır. Kefir daneleri bu işlemin sonunda filtrasyon yoluyla

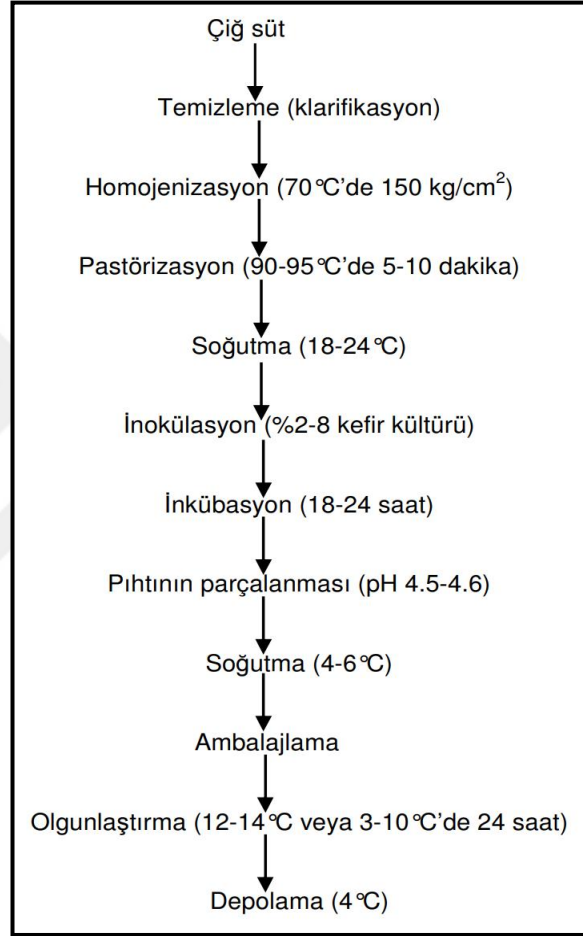
ayrılır ve tekrar kullanılmak üzere önce oda sıcaklığında, sonra +4°C’de muhafaza edilir ve bu haliyle 8-10 gün boyunca kullanılabilir. Daha sonra kullanılacaksa daneler 36-48 saat boyunca kurumaya bırakılır ve 12-18 ay boyunca aktivitelerini sürdürebilir. Danelerin ayrıldığı fermente olmuş kefir ise +4°C’ye buzdolabında soğutulup tüketime hazır hale gelmiş olur (Karagözlü ve Kavas 2000, Ürkek vd. 2011).



Şekil 2.2 Geleneksel kefir üretimi akış şeması (Ürkek vd. 2011)

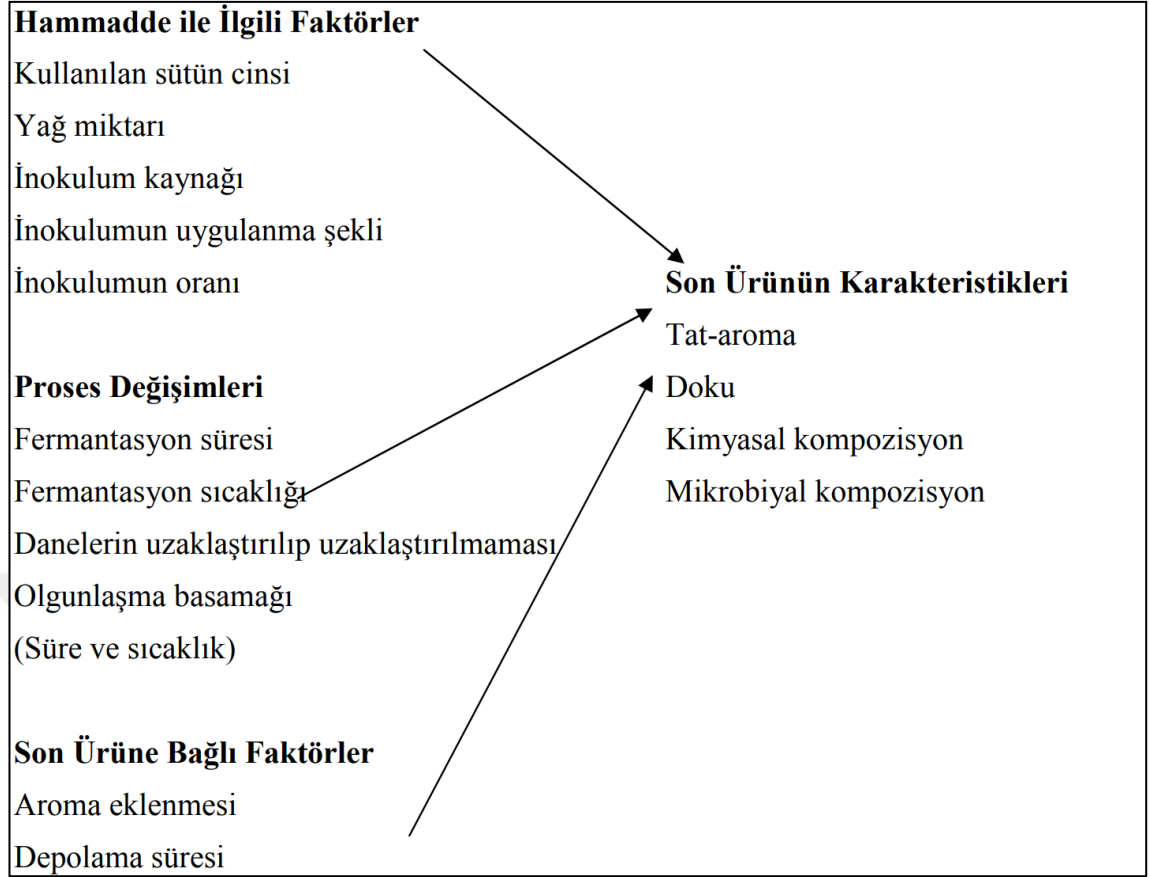
Endüstriyel kefir üretiminde ise geleneksel üretim prensiplerine bağlı kalınıp teknolojiden faydalanarak daha yüksek kapasiteli ve daha korunaklı alternatif üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Öncelikle çiğ süt işlemenin ilk basamağı olan klarifikasyon işlemi yapılarak süt süzgeçten geçirilir ve görünür kirlere arındırılır. %8 kuru madde içeren süt 70°C’de 150 kg/cm² basınç altında homojenize edilir. Homojenizasyonun ardından yaklaşık 5-10 dakika boyunca 90-95°C’de pastörizasyon işlemi gerçekleşir ve sonra 18-24°C’ye soğutulur. Hemen sonrasında pastörize edilmiş sütün içerisine, kefir daneleri %2-8 oranında inoküle edilir ve 25°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılır ve

fermente edilir. Bu aşamada pıhtının pH'sı 4,5- 4,6 civarında olduğunda pıhtıda parçalanmalar meydana gelir. Parçalanmayı engellemek için pıhtı yaklaşık 4°C'ye soğutulur ve pH'nın düşüşü engellenmiş olur. Meydana gelen pıhtı şişelenir. Kefir 24 saat boyunca 12-14°C veya 3-10°C'de olgunlaştırılır ve +4°C'de depolamaya bırakılır (Ürkek vd. 2011).



Şekil 2.3 Endüstriyel kefir üretimi akış şeması (Ürkek vd. 2011)

Kefirin kendine has fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin oluşumunda hammadde girdisi, proses değişimleri ve son ürüne bağlı birtakım faktörler rol oynamaktadır (Farnworth 2008).



Şekil 2.4 Kefirin kendine has özelliklerinin oluşumunda rol oynayan faktörler (Farnworth 2008)

Probiyotik, “for life” yani yaşam için kelimesinden türemiş olup Yunanca kökenli bir sözcük olarak dilimize taşınmıştır. Türk Gıda Kodeksi’ne göre probiyotik bakteri “besinlerle alınan ve belirli miktarda alındığında bağırsak florasını dengeleyip konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanır. Türk Gıda Kodeksi’ne göre probiyotik gıda ise “İçerisinde raf ömrü sonuna kadar yeterli miktarda canlı probiyotik mikroorganizma (1.0×10^6 kob/g) bulunduran ve bu canlılığı muhafaza eden ürün” olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2006).

Kefir doğal bir probiyotik olarak, fermente edilmiş fonksiyonel gıdalar arasında yer almakta ve günümüzde popülaritesi oldukça artan, biyoaktif potansiyele sahip bir gıda ürünü olarak talep görmektedir. Kefir, antikanser, antimikrobiyal, anti- inflamatuvar, hipoglisemik, yara iyileştirici, antioksidan, gastrointestinal yardımcı özellikleri içeren çok sayıda biyoaktif özelliğe sahiptir (Hsu vd. 2018).

Kefirin kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite, kanser, bağışıklık sistemi hastalıkları, osteoporoz vb. üzerinde birçok faydası olduğu bilinmektedir. Bu hastalıklara karşı koruma, kefirin mikroflorasında büyük bir yer tutan laktik asit bakterileri sayesinde gerçekleşmektedir. Laktik asit bakterileri çeşitli probiyotik özelliklere sahip olduğu için birçok yönden sağlık açısından koruma sağlar (Kesenkaş vd. 2017).

Probiyotiklerin, sağlık üzerinde olumlu etkileri mevcuttur ve bu sebeple probiyotikler terapötik etki sağlamaktadırlar. Terapötik etki sağlamak için sadece süt yeterli değildir ve kefirin üretiminde yer alan fermentasyon aşamasında süte bu etki eklenmiş olur. Kefir üretiminde, kefirin muhafazasında ve tüketicilerin kefir tükettiği andan sonra mide sistemlerinde canlı olarak yaşayabilen ve bağırsak sistemine yerleşebilen kültürlerin katılmasıyla terapötik özellikler süte kazandırılmış olur (Mistry 2004).

Parvez vd. (2006) süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin gerçekleştirdiği çeşitli faydalardan aşağıdaki şekilde bahsetmiştir:

- Ürettikleri laktik asit ve olası antimikrobiyal bileşikler ile sütün koruması,
- Lezzet bileşikleri (örneğin yoğurt ve peynirdeki asetaldehit) ve diğer metabolitler (örneğin ekzopolisakkaritler) sayesinde tüketiciler tarafından organoleptik özellikleri bakımından istenen özelliklerde bir ürün sağlaması,
- Gıdanın besleyici değerini geliştirilmesi,
- Terapötik ve koruyucu özellikler sağlamasıdır.

2.2 Omega-3 Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

Vücut tarafından üretilemeyen ve muhakkak dışarıdan, besinler aracılığıyla alınması gereken yağ asitlerine esansiyel yağ asitleri (EYA) denilmektedir. EYA insanlar ve memeli hayvanlar için elzem olan çoklu doymamış yağ asitleridir (ÇDYA) (Simopoulos vd. 2000). Delta-12 ve delta-15 desatüraz enzimlerinin eksikliğinden kaynaklı olarak insanlar tarafından sentezlenemezler ve bu yüzden mutlaka dışarıdan diyetle alınmaları gerekmektedir (Nguyen vd. 2019).

Yaygın olarak kullanılan omega-3 ÇDYA; a- linolenikasit (ALA, 18:3n-3), stearidonikasit (SDA, 18:4n-3), eikosapentaenoikasit (EPA, 20:5n-3), dokosaheksaenoikasit (DHA, 22:6n-3) ve dokosapentaenoikasit (DPA, 22:5n-3)'dir (Nguyen vd. 2019). ALA, vücutta üretilmediği için esansiyel bir yağ asididir; EPA ve DHA ise vücutta ALA'dan sentezlenebilir ancak bu durum stres, oksidasyon vb. birçok sebeple oldukça kısıtlı olduğu için diyetle ek olarak EPA ve DHA alınması tavsiye edilmektedir (Gerster 1998). ALA ve SDA daha çok yağlı tohum ve bitkisel yağlarda bulunur ve kısa zincirli ÇDYA'dır. EPA, DHA ve DPA ise çoğunlukla deniz ürünleri ve daha çok balık kaynaklıdır ve uzun zincirli ÇDYA'dır (Punia vd. 2019). ALA'nın da içinde bulunduğu bazı yağ asitleri kolaylıkla EPA ve DHA'ya dönüşebilir.

Sağlıklı yetişkin bir bireyin; haftada en az 2-3 defa yağlı balık tüketimiyle, yani günde yaklaşık olarak 250-500 mg EPA+DHA alımıyla kardiyovasküler hastalıklardan korunması mümkündür (Kris-Etherton ve Innis 2007, EFSA 2010, NHFA 2015, Nichols vd. 2010). Günlük alınması önerilen miktarlar bireylerin yaşına, cinsiyetine, hastalık durumuna ve birçok etmene göre değişiklik gösterebilmektedir. Bunun dışında bazı kabul görmüş organizasyonlar tarafından belirlenen çeşitli odak gruplarına yönelik değerler de belirlenmiş ve **Çizelge 2.2**'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2 Sağlık kuruluşlarından önerilen haftalık balık veya günlük omega-3 ÇDYA alımı (Nguyen vd. 2018)

Organizasyonlar	Odak	Öneri	Kaynak
		Haftalık balık öğünü (112g/porsiyon)	Günlük Omega-3 ÇDYA (mg/gün)
Amerikan kalp derneği	Koroner kalp hastalığı (KKH) hastaları	2 porsiyon	1000
FAO / WHO Uzman Danışmanlığı	KKH'ninsekonder önlenmesi için	-	250-2000 EPA + DHA
Amerikan Diyabet Derneği	KKH'nin birincil önlenmesi için	en az 2 porsiyon	-
Japonya Sağlık, Çalışma ve Refah Bakanlığı (JMHLW)	2 yaş üstü bireyler	-	> 1000
Amerikan Diyetisyenler Derneği ve Kanada Diyetisyenleri	KKH'nin birincil önlenmesi için	2 porsiyon	500 EPA + DHA
Beslenme ve Diyetetik Akademisi	Tüm yetişkinler	-	500 EPA + DHA
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)	Tüm yetişkinler	1-2 porsiyon	250 EPA + DHA
Fransız Gıda Güvenliği Ajansı (FSSA)	10 yaş üstü bireyler	2 porsiyon	500 EPA + DHA
Avustralya Ulusal Kalp Vakfı (NHFA)	KKH hastaları	2-3 porsiyon	250-500 EPA + DHA

FAO / WHO: Gıda ve Tarım Örgütü / Dünya Sağlık Örgütü

NHMRC: Avustralya ve Yeni Zelanda Ulusal Sağlık ve Tıbbi Araştırma Konseyi

Deniz kaynaklı ürünler farklı miktarlarda esansiyel yağ asitleri içerir ve yaygın olarak balık yağında EPA ve DHA, toplam yağ asitlerinin %30'unu oluşturur. Bir dizi farklı tohum ve yağları da kayda değer miktarda ALA içerir (Shahidi ve Ambigaipalan 2018). Bunlar Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3 ÇDYA içeren diyet lipidlerinin biyolojik kaynakları (Ganesan vd. 2013)

Kaynak	Miktar (Toplam Yağın Kütlece Yüzdesi)			
	Linoleik asit	ALA	EPA	DHA
Bitki kaynakları				
Hintyağı	4	-	-	-
Hindistancevizi yağı	1.4	-	-	-
Mısır yağı	52	1	-	-
Pamuk yağı	50.5	-	-	-
Keten tohumu yağı	14.2	59.8	-	-
Zeytin yağı	18.9	0.8	-	-
Palmiye yağı	11	0.4	-	-
Fıstık yağı	41,1	0.3	-	-
Ayçiçek yağı	68.5	0.1	-	-
Karasal hayvan kaynakları				
İnsan sütü yağı	7	1	0.1	0.2
İnek sütü yağı	2	1	-	-
Domuz yağı	11.4	1	-	-
Sığır eti	3.7	0.18	-	-
Koyun	1.6	0.2	-	-
Kuzu	8.1	1.6	-	-
Hindi	21.3	1.2	-	-
Domuz eti	9.7	0.7	-	-
Tavuk yumurtaları	11.1	0.3	-	-
Deniz hayvanı kaynakları				
Morina karaciğeri yağı	22.6	-	7	7
Sardalya yağı	1	-	17	13
Morina	1	-	11	3.5
Sardalya	1.3	0.9	16.9	12.9
Ringa	2.9	1.1	8.8	10.8
Hamsi	1	-	18	11
Kum Yılan Balığı	<2	<2	10.6	8.2
Krill	3.3	1.1	17.4	12.4
Midye	-	-	10.2	13.4
Istiridye	2	3.3	11.2	9.7
Karides	1.6	0.8	14.9	12.8
Tarak kabuğu	0.1	1.2	26	24.1
Kral Yengeç	3.2	3.3	21,5	10.2
Deniz tarağı	-	-	10	15
Kalamar	0.7	0.1	14.6	30.4
Levrek	5.5	0.2	5.6	8.1
Tropikal halibut	-	-	2.5	32.3
Köpekbalığı karaciğer yağı	4.1	-	4.3	30
Alg kaynakları				
<i>Chlorellaofficinale</i>		2.5	32	
<i>Gonyauloxcaterella</i>	-	1.3	11.2	34

Keten tohumu, kanola yağı, sert kabuklu meyveler ve yağlı balıklar diyetteki ALA'nın ana kaynaklarıdır (Shahidi ve Ambigaipalan 2018). İnsan vücudunda omega-3 ÇDYA, uzama ve desatürasyon ile daha biyoaktif olan daha doymamış ve uzun zincirli ÇDYA'ya dönüştürülebilir. İnsan vücudunda omega-3 ÇDYA'nın oluşması için ilk adım ALA'nın delta-6 desaturaz enzimi aracılığıyla SDA'ya dönüşmesidir. Diyetle alınan ALA'nın vücutta omega-3 ÇDYA'ya dönüşümü genellikle insan diyetinde omega-3 ÇDYA'nın güvenilir bir kaynağı olarak kabul edilmez. Sağlıklı yetişkinlerde, diyet ALA'nın EPA ve DHA'ya dönüşüm oranları sırasıyla %6 ve % 3,8'dir (Gerster 1998). Bu nedenle, omega-3 ÇDYA'nın ALA yerine önceden oluşturulmuş EPA, DPA ve DHA olarak günlük gıdalardan doğrudan tüketilmesi daha faydalı ve pratiktir. Omega-3 ÇDYA'nın sağlığa olan yararlarından bazıları, yağ asidi ve model organizma açısından sınıflandırılıp **Çizelge 2.4**'te belirtilmiştir.

Çizelge 2.4 Omega-3 ÇDYA'nın sağlık yararları (Ganesan vd. 2013)

Yarar	İncelenen yağ asidi	Model organizma
İnsülin direncini azaltır	ALA	İnsan
Sinir ve beyin gelişimine yardımcı olur	ALA, DHA	İnsan, kemirgenler, diğer primatlar
Anti-tümör	DHA	İnsan, sıçan
Enflamasyonu önler	ALA	Fare, sıçan
Kemik yoğunluğunu artırır	DHA	İnsan
Kistikfibrozdaki iltihabı hafifletir	DHA, EPA	İnsan
Oksidatif stresle mücadele eder	DHA	Kedi, köpek, insan
Sinir, görme ve beyin fonksiyonlarını artırır	DHA, EPA	İnsan
Kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklanan ölüm riskini azaltır	DHA, EPA	İnsan

2.2.1 Omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin lipit oksidasyonu

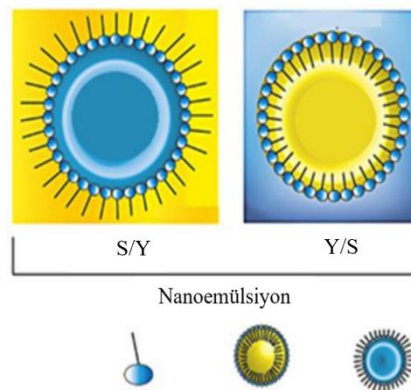
Lipit oksidasyonu terimi, doymamış lipitler ile oksijen atomları arasında gerçekleşen, ardından aldehitler ve ketonlar, alkoller ve hidrokarbonlar gibi karmaşık reaksiyon ürünleri karışımının oluşumuna sebep olan bir dizi kimyasal reaksiyon olarak tanımlanabilir. Lipit içeren gıdalar için özellikle kimyasal açıdan kararlılığın düşük olmasının en yaygın sebeplerinden birisi lipit oksidasyonudur (McClements 2015). Öte yandan ÇDYA bazlı lipit ürünleri için kalite kaybına yol açan ve bozulmayı hızlandırıp raf ömrünün düşmesine en büyük sebep yine lipit oksidasyonudur (Coupland ve McClements 1996). Gıda endüstrisinde lipit oksidasyonunun etkileri en çok gıdanın görünümü, kokusu, tekstürü, besin değerleri, raf ömrü, kısacası fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri açısından büyük bir sorun oluşturmaktadır (McClements 2015). Bu sebeple son yıllarda lipit oksidasyonunun engellenmesi ya da en azından reaksiyon oluşum hızının düşürülmesi yönünde yeni teknolojiler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Lipit oksidasyonuyla meydana gelen birincil oksidasyon ürünleri, lipit hidroperoksitleridir. Gıdalarda lipit oksidasyonunun gerçekleştiği, çoğu zaman ilk önce kötü tat ve koku oluşumuyla anlaşılmaktadır, ancak bu kötü tat ve kokunun oluşumundan birincil oksidasyon ürünleri sorumlu değildir. Kararsız bir yapıya sahip olan lipit hidroperoksitler, kolaylıkla ikincil lipit oksidasyon ürünlerine parçalanabilirler ve sonucunda aldehitler, ketonlar, alkoller, hidrokarbonlar gibi oldukça çeşitli uçucu ve uçucu olmayan düşük moleküler ağırlıklı ve daha kararlı bileşikler oluştururlar. Asıl kötü tat ve kokudan sorumlu olan bileşikler, birincil lipit oksidasyonlarından sonra meydana gelen ikincil lipit oksidasyon ürünleridir (Kargar 2014). Lipit oksidasyonlarını tetikleyen ve hızlandıran faktörlerin başında ışık, sıcaklık, oksijen oranı gibi dış etmenler yer almaktadır ve bu etmenler sebebiyle yapıları zarar gören lipitlerin korunması gerekmektedir (McClements 2015). Omega-3 ÇDYA'nın, gıdaları zenginleştirmede kullanılması için bu lipit oksidasyon mekanizmaları üzerinde uygulanabilir ve güvenilir formülasyonlar üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Emülsiyon teknolojisi sayesinde bu tip zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdalar geliştirilmekte ve üzerine çalışmalar yapılarak teknolojik yenilikler tasarlanmaktadır (Kargar 2014).

2.3 Emülsiyon Teknolojisi

2.3.1 Emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar

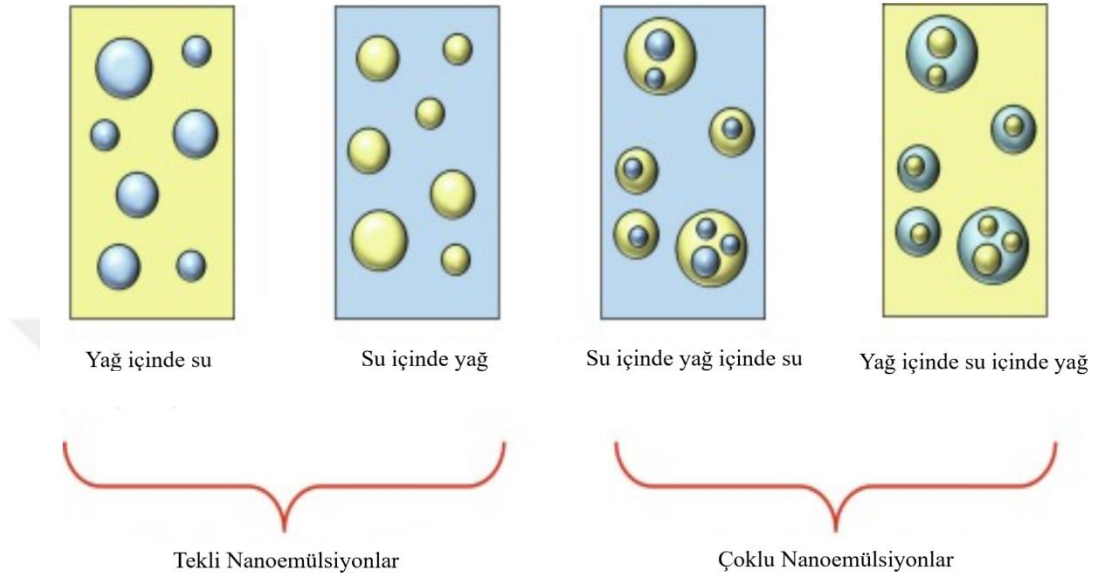
Emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar yağ- su arayüzeyinde adsorbe edilen yüzey aktif maddelerin de varlığıyla belirli bir süre kinetik olarak stabil kalabilen, birbirine karışmayan iki sulu fazdan (sıvı ve yağ) oluşan, termodinamik açıdan kararlı olmayan sistemlerdir (McClements 2015, Oca-Ávalos vd. 2017). Aynı zamanda nanoemülsiyonlar için, birbirine karışmayan bir sıvının *küçük* damlacıklarının başka bir karışmayan sıvının içerisinde dağılması tanımı da yapılmaktadır (McClements ve Rao 2011).

Endüstriyel uygulamalarda çoğunlukla birbirine karışmayan iki sıvıdan birisi yağ, bir diğeri sudur ve nanoemülsiyonlar tipik olarak ya su içinde yağ (Y/S) ya da yağ içinde su (S/Y) şeklinde bulunur. Y/S nanoemülsiyonları sulu, S/Y nanoemülsiyonları ise yağlı ortamda dağılmış parçacıklardan oluşmakta ve Y/S nanoemülsiyonlarıyla daha sıklıkla karşılaşmaktadır. Y/S nanoemülsiyonlarındaki parçacıklar tipik olarak hidrofilik bir emülgatör ile kaplanmaktadır. S/Y nanoemülsiyonlarındaki parçacıklar ise lipofilik emülgatörler ile kaplanmaktadır (Jafari vd. 2017).



Şekil 2.5 Nanoemülsiyon (Akhavan vd. 2018)

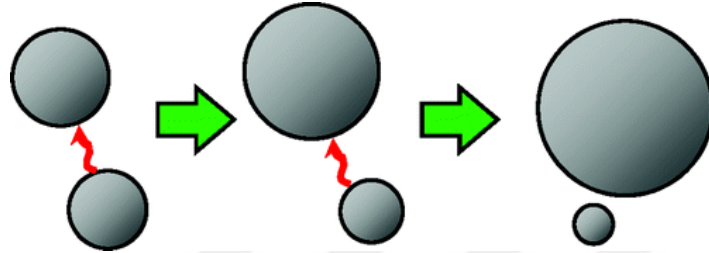
Diğer yapı türleri ise su içinde yağ içinde su (S/Y/S) ya da yağ içinde su içinde yağ (Y/S/Y) çoklu nanoemülsiyonları iki aşamalı bir süreç kullanılarak üretilmektedir (Şekil 2.5) (McClements 2012).



Şekil 2.6 Nanoemülsiyonların yağ ve su fazlarının nispi konumuna bağlı olarak sergilediği yapılar

İçerik olarak aynı bileşenlerle hazırlanan emülsiyonlar ile nanoemülsiyonlar arasındaki temel fark, fiziksel stabilitelerini etkileyen damlacık boyutudur. Çoğu zaman büyük damlacık boyutuna sahip olan emülsiyonlar, yerçekimsel ayrılma, kremleşme, birleşme, flokülasyon ve/veya Ostwald olgunlaşması yoluyla fiziksel ayrılmaya karşı küçük damlacık boyutlu emülsiyonlara karşı daha kararsız bir duruş sergilerler (McClements 2018). Bu yüzden, emülsiyonlar, genellikle yüzey aktif maddeler tarafından sağlanan sterik etkinin yetersiz olması nedeniyle nanoemülsiyonlardan daha kararsızdır. Nanoemülsiyonlar kremleşme, çökelme, flokülasyon ve birleşme gibi faz ayrılmalarına karşı emülsiyonlara göre daha yüksek stabiliteye sahiptir, ancak Ostwald olgunlaşmasına karşı yüksek stabilite gösteremeyebilirler (Li vd. 2009). Ostwald olgunlaşmasının temelinde büyük damlacıkların daha da büyümesi, küçük damlacıkların ise zaman içerisinde daha da küçülmesi prensibi (Şekil 2.7) yer almaktadır (Göksel-Saraç 2018). Tüm bu mekanizmalar aynı anda olabileceği gibi, tek bir mekanizmanın

hakimiyet kurarak parçacık boyutunu etkileyebileceği durumlar söz konusudur ve bu ise emülsiyonların cinsine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (McClements 2005, McClements ve Rao 2011, McClements 2018). Bu mekanizmalar ayrıca parçacık boyutunun yanı sıra parçacık boyut dağılımı, emülgatörün tipi ve miktarı, iki faz arasındaki çözünübilirlik ve etkileşime bağlı olarak değişmektedir (Tadros 2005).



Şekil 1.7 Ostwald olgunlaşması (Li vd. 2009)

Nanoemülsiyonların üretilmesi için düşük ve yüksek yoğunluklu (veya enerjili) yöntemler kullanılarak çok sayıda yeni üretim teknikleri geliştirilmiştir (Jafari vd. 2015, Gupta vd. 2016). Yüksek enerji yöntemler, günümüzde endüstriyel uygulamalarda nanoemülsiyon üretimi için daha çok tercih edilmektedir. Bu yüksek yoğunluklu yöntemlerin temeli piston pompa etkisi altında bulunan kaba emülsiyonların çok küçük deliklerden geçmeye zorlanmasıyla, türbülent ve laminar akış oluşturarak yağ ve su fazlarını parçalama işlemi sonucunda birbirini içerisinde karışmasına ve küçük parçacıklar oluşturmaya dayanmaktadır. Nanoemülsiyon oluşturmak adına, birden fazla döngü ve yüksek bir basınç uygulanması gerekmektedir (McClements ve Rao 2011). Mikroakışkanlaştırıcıda, mikrokanallara yüksek basınç ile uygulanan kaba emülsiyon, meydana gelen kayma kuvveti etkisiyle nanoemülsiyon boyutuna düşürülebilmektedir. Yüksek yoğunluklu yöntemler için en sık kullanılanlar yüksek basınçlı homojenizasyon, mikroakışkanlaştırıcı ve ultrasonikasyon olup temel amaç mekanik enerji kullanarak dağılmış fazın parçacık boyutunu küçültmektir (McClements ve Rao 2011, Tadros vd. 2014). Düşük enerji yöntemleri, karışımın içerdiği bileşikler veya çevresel koşullar (sıcaklık vb.) değiştiği zaman belirli emülgatör, yağ ve su karışımlarında küçük damlacıkların kendiliğinden oluşumuna dayanmaktadır. Düşük enerjili yöntemlerde faz değişimi, kendiliğinden emülsifikasyon ve emülsiyon dönüşüm noktası yöntemleridir (Komaiko ve McClements 2016a).

Yüksek yoğunluklu yöntemler ile düşük yoğunluklu üretim yöntemleri arasında belirli farklılıklar mevcuttur. Uzun zincirli yağ asitleri içeren trigliseritlerin yer aldığı bir nanoemülsiyon üretimi, düşük yoğunluklu tekniklerle gerçekleştirilemez. Buna ek olarak yüksek yoğunluklu üretim yöntemlerinde kullanılan emülgatör miktarı, düşük yoğunlukluya kıyasla daha düşüktür ve bu sebeple düşük yoğunluklu yöntemlerde genellikle Tween ve Span gibi sentetik emülgatörler tercih edilmektedir. Bu durum ise üretilen nanoemülsiyonlarda istenen aromanın elde edilememesi, gıda güvenliği riski ve artan maliyetleri doğurmaktadır (Komaiko ve McClements 2016a). Doğal emülgatörler olan protein ve polisakkaritler sadece yüksek yoğunluklu teknikler için uygundur ve oluşan parçacığın boyutu oldukça büyük bir aralıkta dağılmaktadır (Jafari vd. 2017).

Laboratuvarlarda gerçekleştirilen çalışmalarda çoğunlukla daha yüksek verim ve daha uygun emülsiyon üretimi için emülsiyon hazırlığı iki aşamada art arda gerçekleştirilmektedir. İlk aşamada iki fazın birleşmesi için yüksek hızlı bir karıştırıcı kullanılır ve kaba emülsiyon elde edilir; ikinci aşamada ise yüksek basınçlı sistemler kullanılarak parçacık boyutu istenen boyutlara göre küçültülür (Jafari vd. 2008).

Yüksek yoğunluklu teknikler kullanılırken parçacık boyutu ile emülsiyon kompozisyonu kontrol edilebilmekte ve yeniden birleşme gibi durumlar yaşanmadığı durumlarda uygulanan enerjinin artışıyla birlikte parçacığın boyutunda azalış meydana gelmektedir (McClements ve Rao 2011). Fakat her zaman enerji artışıyla parçacık boyutları sorunsuz bir şekilde azalmayabilir ve hassas bileşenler içeren karışımlarda degradasyon oluşabilmektedir. Bunun beraberinde yüksek enerjinin bir bölümü parçacıkların boyutunu azaltırken bir bölümü de var olan emülsiyonun ısını artırmakta ve parçacık oluşumu sırasında fizikokimyasal değişikliklere yol açabilmektedir (Jafari vd. 2017). Tadros vd. (2004) yüksek basınçlı homojenizatörlerde var olan yüksek enerjinin, harcanan enerjinin yalnızca %0,1'inin parçacık boyutunun düşürülmesi için kullanıldığını belirtmiştir.

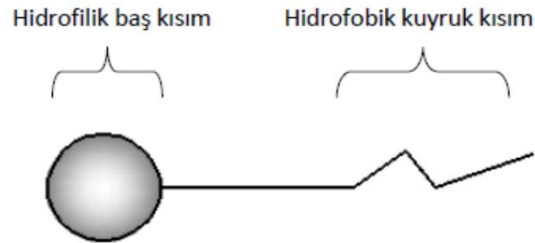
Daha önce bahsedildiği gibi yüksek basınçlı homojenizatörler en sık kullanılan nanoemülsiyon cihazlarıdır. Bu cihazlardaki temel prensip kaba emülsiyonun içerdiği parçacıkların dar gözenek çaplarından bir pistonun meydana getirdiği basınç altında zorlanması ve bu anda hız ile ilişkili kayma kuvvetinin sayesinde kaba emülsiyonun nano boyuta getirilmesidir. Uygulanan basınç ve döngü sayısı bu cihazlar için oldukça önemlidir. Basınç ve döngü sayısının azalışıyla elde edilen parçacıkların boyutu artabilir; basınç ile döngü sayısının artışıyla ise parçacıklar daha küçük boyutlara getirilebilir fakat gereğinden fazla verilen enerji, daha önce bahsedildiği gibi yeniden birleşmeye sebep olabilir. Bu nedenle nanoemülsiyon üretimi için emülgatör miktarının, arayüzey geriliminin ve viskozitenin elverişli olması sağlanmalıdır. Ayrıca, işlem sırasında yükselen sıcaklık için eş zamanlı olarak soğutma işlemi yapılarak, sıcaklığa hassas bileşiklerin degregasyonuna engel olmak gerekmektedir (Jafari vd. 2017).

Tipik olarak nanoemülsiyonlar, çeşitli parçacık boyutları içermektedir ve bu sebeple parçacık boyutları, parçacık boyutu dağılımı olarak karakterize edilmektedir. Genellikle parçacık boyutları ortalama parçacık çapı ve polidispersite indeksi (PDI) cinsinden bildirilmektedir. Sayıya dayalı ortalama çap (d_N ya da d_{10}), yüzey alanı başına ortalama hacim (d_S ya da d_{32}) ve hacme dayalı ortalama çap (d_V ya da d_{43}) gibi değerler olmak üzere çeşitli şekillerde tanımlanabilmektedir. Zaman zaman ise dinamik ışık saçılımı ile ölçülebilen ağırlıklı ortalama çap cinsinden de belirtilebilmektedir.

Nanoemülsiyonlar, 200 nm'den küçük parçacık çapına sahip emülsiyon sistemleridir ve daha büyük boyutlara sahip sistemler emülsiyon olarak kabul edilmektedir (McClements ve Jafari 2018). Emülsiyonlar ile nanoemülsiyonlar arasındaki fizikokimyasal açıdan belirli farklılıklardan mevcuttur:

- Emülsiyonlar, büyük damlacıklar tarafından güçlü ışık saçılımı sebebiyle optik olarak opak olurken; nanoemülsiyonlar, küçük damlacıklar tarafından zayıf ışık saçılımı sebebiyle optik olarak hafif bulanık veya berrak olabilmektedir.
- Emülsiyonlar, zayıf fiziksel stabilite gösterebilmekteyken; nanoemülsiyonlar, zayıf yerçekimi kuvvetleri ve Brownian hareket etkileri sebebiyle yerçekimsel ayırma karşı son derece kararlı olabilmektedir.

- Biyoyararlanım açısından nanoemülsiyonlar, emülsiyonlara kıyasla daha etkili olabilmektedir.
- Nanoemülsiyonlar daha küçük parçacıklara sahip olduğu için, emülsiyonlara kıyasla daha yüksek kimyasal reaktiviteye sahiptir.



Şekil 2.8 Emülgatörün yapısı (Akgün 2010)

Emülsiyonları, birleşmeye karşı stabil duruma getirebilmek için, çeşitli emülgatörler kullanılır çünkü bunlar Gibbs serbest enerjisi sayesinde arayüzey gerilimi oluşturur, sterik ya da elektrostatik itme sağlar, arayüzey elastikiyetini artırır (Friberg ve Larsson 2004). Emülgatörler çoğunlukla hidrofilik ve hidrofobik gruplardan oluşur, bu da kendiliğinden bir yağ-su arayüzeyi adsorbsiyonuna sebep olur. Bir emülgatör, homojenizasyon sırasında yağ-su arayüzüne adsorbe olan, arayüzey gerilimini düşürerek parçacık bozulmasını kolaylaştıran ve koruyucu bir arayüzey tabakası oluşturarak parçacık agregasyonunu engelleyen yüzey aktif bir moleküldür (McClements ve Gümüş 2016). Gıdalarda sıklıkla kullanılan emülgatörler doğal olarak (proteinler, fosfolipitler, lesitin vb.) ya da sentetik olarak (mono ve digliseritler ve türevleri, polisorbatlar, sakaroz esterler vb.) üretilir ve çoğu saf bileşenlerden oluşmaz (Hasenhuettl ve Hartel 2008). Bir nanoemülsiyon üretimi için emülgatörün seçimi son derece önemlidir. Kullanılan emülgatörün doğası, oluşturduğu tabakanın kalınlığı, elektriksel yükü, hidrofobikliği ve kimyasal reaktivitesi gibi etkiler, emülgatörün işlevini büyük ölçüde etkiler (McClements 2015).

Endüstride içeceklerin, dondurulmuş tatlıların, dondurmaların, sporcu besinlerinin, bebek mamalarının, salata soslarının ve daha birçok gıda ürününün içerisinde peynir altı suyu proteinleri (PASP), emülgatör olarak kullanılmaktadır (Swaisgood 1996).

Homojenizasyon işlemi sırasında küçük boyutlu yağ parçacıkları oluşması için proteinler, arayüzey gerilimini minimum düzeye indirerek parçacık stabilitesini artırır (Kim vd. 2002). Peynir altı suyu proteinleri toplam protein konsantrasyonuna göre izole (>%90) ya da konsantre (%25-80) protein olarak sınıflandırılmaktadır. Genel itibariyle doğada peynir altı suyu en fazla β -lactoglobulin (~%55), α -lactalbumin (~%24), serum albümin (~%5) ve immünoglobulinler (~%15) olmak üzere farklı proteinlerin belirli olmayan miktarlardan oluşan bir karışımını içermektedir (Swaigood 1996). Bu sebeple PASP'ın bileşenlerinin fonksiyonel özellikleri, üretim yöntemine ve protein içeriğine bağlıdır, çünkü küresel proteinler pH, iyonik kuvvet veya sıcaklık gibi parametrelerin değişimiyle birlikte denatürasyona uğrarlar ve yapılarında birtakım değişimler olur (McClements 2004). Ayrıca, peynir altı suyu proteinleri fosfolipitler, lipitler, mineraller ve şekerler gibi protein haricinde bileşenleri de içermektedir ve bu sebeple emülsiyonlardaki peynir altı proteinlerinin işlevselliği üzerindeki etkisini anlamak önemli bir yer tutmaktadır.

Genel itibariyle proteinlerin sahip olduğu çeşitli yapılar ve sınıflandırmalar sonucunda belirli fonksiyonel özellikler (fiziksel, kimyasal ve duyuşal) ortaya çıkmaktadır. Peynir altı suyu proteinleri beslenmenin yanında birtakım fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bunların yaygın olanları emülsiyon oluşturabilmeleri, kıvam artırıcı özelliği, jel oluşumunu güçlendirmesi, su tutma ve serum ayrılmasını engelleme gibi sayılabilmektedir. Bu fonksiyonel nitelikler sayesinde peynir altı suyu proteinleri gıda sanayinde birçok gıda ürünüde tekstürel ve duyuşal açıdan ürünlerin zenginleştirilmesi, dayanıklılığının artırılması açısından sıklıkla kullanılmaktadır (Herceg ve Lelas 2005). **Çizelge 2.5**'te PASP bileşenlerinin çeşitli fonksiyonları ve hangi gıdalarda kullanıldığına dair çeşitli örneklere değinilmiştir. Süt ürünleri üzerinde PASP genellikle protein içeriği bakımından zenginleştirmek, emülsifiye etmek ve stabilize sağlamak amaçlı kullanılmıştır.

Çizelge 2.5 Peynir altı suyu bileşenlerinin fonksiyonları ve gıdalarda kullanımı (Barth ve Behnke, 1997; Demirci ve ark., 2000)

Peynir Altı Suyu Bileşenlerinin Fonksiyonel Etkileri	Kullanıldıkları Gıdalar
Proteince zenginleştirme	Diyet gıdalar, Sürülebilir gıdalar, Fırın ürünleri, Süt ürünleri, Gazlı içecekler, Sporcu gıdaları
Aminoasit içeriğini arttırma	Bebek mamalarının hazırlanması
Çözünürlüğü arttırma	Gazlı içecekler
Su absorpsiyonu sağlama	Sosis ve salam, Ekmek ve kek üretimi
Viskoziteyi geliştirme	Hazır çorbalar, Salça
Elastikiyet sağlama	Et ürünleri, Unlu mamüller
Emülsifite etme	Dondurma, Hazır çorba, Salça, Et ürünleri, Mayonez üretimi
Şekil oluşturma ve geliştirme	Fırın ürünleri, Tatlılar
Jel oluşturma	Fırın ürünleri, Tatlılar, Et ürünleri, Süt ürünleri, Cheddar ve Ricotta peynirleri
Stabilizasyonu sağlama	Hazır çorba, Süt ürünleri, Mayonez benzeri ürünler

Dünya nüfusunun büyük bir kısmında deniz ürünleri tüketiminin düşük olduğu düşünüldüğünde, gıdayı buna göre takviye etmek veya deniz kaynaklarından omega-3 ÇDYA ile diyet takviyeleri üretmek için çeşitli girişimlerde bulunulmuştur. Omega-3 ÇDYA ile zenginleştirilmiş gıdaların DHA ve EPA miktarının arttığı kanıtlanmıştır (McCowen vd. 2010). Bununla birlikte, omega-3 ÇDYA içeren gıdaları deniz kaynaklarından takviye etmek zor olabilir, çünkü depolama sürecinde hoş olmayan güçlü bir koku ve tada sahip olabilirler. Bu nedenle, hem sağlık yararları hem de tatmin edici bir lezzet elde etmek için takviye için doğru miktarda omega-3 çoklu doymamış yağ asidi bulmak güçtür (Kastelein vd. 2014).

Bu sebeple süt ürünü bazlı gıdaların zenginleştirilmesi adına bazı metotlar geliştirilmiştir. Başlıcaları şunlardır:

1. Serbest zenginleştirme metodu ile yağların doğrudan takviyesi (Bello vd. 2015);
2. Kapsüllenmiş parçacıklar ve/veya emülsiyon eklenmesiyle zenginleştirme (Hinriksdottir vd. 2014);
3. Ruminantların diyeti değiştirilerek sağlanan zenginleştirme;
4. Genetik manipülasyon (Nguyen vd. 2019).

Süt ürünlerine doğrudan omega-3 kaynaklarının katılmasıyla sağlanan zenginleştirme metodunda bitkisel kaynaklı (keten tohumu, chia tohumu vb.) ALA açısından yoğun olan bileşenler katılabileceği gibi, omega-3 çoklu doymamış yağ asidi açısından (balık yağı, kabuklu deniz hayvanları vb.) zengin olan bileşenler de katılabilmektedir.

Kolanowski ve Weişbrodt (2007) balık yağı ile zenginleştirilmiş süt ürünlerinin kalitesini gözlemlemek adına yaptıkları çalışmada; çeşitli yoğurtları, taze, yumuşak ve işlenmiş peynirleri, tereyağını ve kremayı farklı omega-3 yağ asidi seviyelerinde zenginleştirmişlerdir. Dört haftalık depolama süresince duyusal kalitede bir değişiklik gözlemlenmeyen ürün grupları olarak bol aromalı, katı ve yüksek yağlı süt ürünlerini saptamışlardır. Balık yağının istenmeyen aromasının maskelenmesi için lezzet verici (sarımsak aroması gibi) maddelerin varlığı, duyusal açıdan olumlu sonuçlar vermiştir. Çalışmada olası sağlık etkileri de incelenmiştir ve omega-3 ÇDYA düzeyinde önemli bir artış gözlemlenmiştir.

Yoğurtlara yapılan omega-3 takviyelerinden bir örnek ele alınacak olursa, yapılan bir çalışmada yoğurt, guar gam kullanılarak ceviz yağı ve keten tohumu yağıyla zenginleştirilmiştir. Zenginleştirilen bu yoğurtlarda yüksek antioksidan aktivitesi ve yüksek omega-3 çoklu doymamış yağ asidi içeriği gözlemlenmiştir. Yağlar ve guar gam ilavesiyle mikrobiyolojik değişiklikler sağlanmış olup laktobasiller ve streptokoklar önemli ölçüde etkilenmişlerdir ancak tüm yoğurt numunelerinde probiyotik açıdan bir korunum söz konusu olmuştur. Duyusal ve reolojik açıdan yoğurda keten tohumu yağı yerine ceviz yağı ilavesi daha iyi sonuçlar vermiştir. Aynı zamanda omega-3 çoklu

doymamış yağ asidi içeriğini artırması yönünden ceviz yağı daha faydalı olmuştur. Bu sebeple ceviz yağı, yoğurtların takviye edilmesi için keten tohumu yağından daha iyi bir seçenek olarak kanıtlanmıştır (Baba vd. 2018).

Kefir üzerinde yapılan çalışmaların sayısı oldukça az olmakla birlikte yapılan bir çalışmada kapsüllenmiş orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin probiyotik kefire eklenmesi sonucunda bazı sonuçlara ulaşılmıştır. Lipitler jelatin ve arap zatkından kompleks koaservatlar ile yapılandırılarak kapsül içine alınmıştır. Amaç fonksiyonel bir kefir ürünü elde etmektir. Kefirin *in vitro* sindirim simülasyonu sırasında yağ salınımı üzerinde hiçbir olumsuz etki göstermediği vurgulanmıştır. 10 güne kadar soğuk depolamada renk değerlerinde değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Yüksel-Bilsel ve Şahin-Yeşilçubuk 2019).

Başka bir yoğurt ürünü örneğinde nanolipozomlarda balık yağının nanokapsüllenmesi yoluyla zenginleştirilmesi incelendiğinde, üretilen yoğurt ürününün +4 °C'de 3 hafta depolanmasıyla pH, asitlik, yağ asidi bileşimi, peroksit değeri (PV) ve duyu özellikleri üzerinde durulmuş ve bazı sonuçlarda varılmıştır. Nanolipozom kapsüllenmiş yoğurtta PV değeri, direkt eklenmiş balık yağı içeren yoğurda göre daha düşük çıkmıştır. Aynı zamanda nanokapsüllenmiş balık yağı eklenen yoğurt için EPA ve DHA içeriği, serbest zenginleştirmedekine oranla daha yüksek orandadır ve duyu özellikleri açısından kontrol numunesine daha yakın olduğu belirtilmiştir (Ghorbanzade vd. 2017). Buradan çıkarılan sonuç, nano kapsüller halinde bulunan balık yağlarının, serbest halde bulunanlara göre daha faydalı olduğu yönündedir.

Aynı yaklaşımla bir başka çalışmada (Rasti vd. 2017) mikrokapsüllenmiş balık yağı ile nanokapsüllenmiş balık yağı örnekleri kıyaslanmıştır. Hazırlık süreçlerinde nanokapsüllemeye yağlar havayla daha az temas eden bir su çözeltisinde iken, mikrokapsüllemeye yağlar havayla daha çok temas halindedir. Bu sebeple nanokapsüllerin mikrokapsüllerden daha stabil kaldığı ve daha az okside olduğu sonucuna varılmıştır (Rasti vd. 2017). Sonuç olarak nanokapsüller mikrokapsüllerden, mikrokapsüller ise serbest formdan daha başarılı olmuştur.

Omega-3 yağ asitleri dahil edilmiş nanoemülsiyonların stabilitesi üzerine emülgatörler etki etmektedir. Tween-40, sodyum kazeinat ve soya lesitini ile üretilmiş DHA nanoemülsiyonlarının 28°C ve 40°C’de depolanmaları sonucunda Tween-40 daha yüksek fizikokimyasal stabilite sağlamıştır ve nanokapsüllenmiş DHA, serbest DHA’dan 1.7 ve 2.3 kat daha serbest yağ asidi salımı göstermiştir (Karthik ve Anandharamakrishnan 2016). Bu da süt ürünlerinin zenginleştirme aşamasında kullanılan emülgatörün önemini vurgulamaktadır.

Başka bir çalışmada yoğurt bazlı bir içeceğin omega-3 kaynağı olarak vejetaryenler için tüketilmeye uygun olması adına mikro alg yağları içeren nanoemülsiyonlar geliştirilmiştir. Nanoemülsiyonlar kullanılarak gıdaların zenginleştirmesinde, artan damlacık yüzeyinden kaynaklı olarak kötü tat ve kokunun baskılanması ve gıdanın tüketici açısından kabul edilebilirliğini artması da kanıtlanmıştır (Lane vd. 2013).

Kefirin biyoaktif bileşikler açısından zengin bir diyetle beslenen keçilerden elde edilen süttten yapıldığı bir çalışmada kefir kalitesi değerlendirilmiştir. Keçilere keten tohumu keki ilave edilen bir diyet uygulaması sonucunda çiğ sütün yağ asidi profili incelenmiş ve omega-3 ÇDYA miktarında büyük bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış, kefir üretiminden ve depolamadan sonra da incelenmiş olup, kontrol grubundaki keçilerin sütlerinden alınan sonuçtan duysal olarak fark göstermemiştir. Keçi sütündeki diyet kaynaklı biyoaktif bileşenlerin artışıyla birlikte, üretilen kefirin asitliğinde, dokusunda, renginde, aromasında ve tekstüründe hiçbir değişiklik gözlemlenmemiştir. Kefirin sağlık açısından kalitesi artırılmıştır (Cais-Sokolińska vd. 2015).

Schram vd. (2007), aynı miktarda balık yağının fitness barlarına, yoğurt içeceğine, ekmek ve tereyağı ve yağ emülsiyonlarına dahil edildiğini, balık yağı takviyeli gıda ürünleri için balık yağının emülsiyon şeklinde uygulanmasına kıyasla farklı emilim oranlarında belirli değişiklikler olduğu fark edilmiştir. Bu çalışmada, yoğurt içeceğinin tüketilmesi, lipidlerin, özellikle de omega-3 ÇDYA’nın daha hızlı emilmesine yol açmıştır (Schram vd. 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Tez çalışmasında omega-3 ÇDYA bakımından zengin balık yağı ve kefir kullanılmıştır. Nanoemülsiyon üretiminde peynir altı suyu proteini emülgatör olarak kullanılmıştır. Gıda aroması olarak çilek aroması kullanılmış ve bu sayede aromanın, tüketicinin tercihi üzerindeki etkisi de gözlemlenmiştir. Omega-3 ÇDYA bakımından zengin DSM 1812 balık yağı, ATS (Advanced Technology Supplies) A.Ş. tarafından tez çalışması için numune olarak gönderilmiştir. Söz konusu DSM balık yağı (EPA+DHA) toplamda 300 mg/g omega-3 içermektedir. Balık yağı, kullanıma kadar azot gazı altında -20°C’de muhafaza edilmiştir. Kefirler piyasadan son tüketim tarihlerine dikkat edilerek (%2,5 yağ içeren İçim Marka Sade Kefir) satın alınmış ve soğuk zincir kırılmadan laboratuvara getirilmiştir. Kullanıma kadar +4°C’de saklanmıştır. Gıda aroması sıvı formda, renksiz-sarımsı görünüşte, karakteristik çilek koku ve tadında Aromsa marka kullanılmış, Çağdaş Kimya firması tarafından tez çalışması için numune olarak gönderilmiştir. Peynir altı suyu proteini (PASP) izolatu Hard Line Nutrition firmasından satın alınmıştır.

Analizlerde kullanılan baryum klorür ($BaCl_2$), hidroklorikasit (HCl), demir sülfat ($FeSO_4$), izo-oktan, 2-propanol, metanol, bütanol, p-anisidin ve asetik asit analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich; Sodiumazide, Amonyum tiyosiyanat, Merck firmasından satın alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Emülsiyon üretimi

Başlangıçta, PASP izolatının suda dağılıp tamamen çözülebilmesi için %1 oranında saf su içerisinde hazırlanan ve 2-3 saat oda sıcaklığında karışan çözelti, gece boyunca +4°C’de bekletilmiştir. Ertesi gün oda sıcaklığında 1-2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Ardından filtre kağıdından süzülen PASP çözeltisi, kullanıma hazır hale getirilmiştir. %90 su fazı (PASP çözeltisi), %10 yağ fazı (balık yağı) (a/a) 2 dakika süreyle yüksek hızlı bir karıştırıcı yardımıyla (Ultraturrax T18, IKA, Almanya) 12000 rpm’de karıştırılarak kaba emülsiyon elde edilmiştir.

Kaba emülsiyonlar hemen sonra ince emülsiyonlar veya nanoemülsiyonlar üretmek için bir çift kanallı yüksek basınçlı mikroakışkanlaştırıcı (M-110P, Microfluidics, Newton, MA) cihazdan 12000 psi basınçta ve 3 defa geçirilmiştir. Tüm bu süreç boyunca, cihazın su haznesine buzlu su konularak, elde edilen ürünün ısınması da engellenmiştir. Elde edilen nanoemülsiyon örnekleri amber renkli, ışık geçirmeyen bir şişeye aktarılarak aynı gün içerisinde kullanılabilecek kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir. Elde edilen emülsiyon için EPA+DHA içeriği; 30 mg EPA+DHA/gram emülsiyon’dur.



Şekil 3.1 Tez çalışmasında kullanılan mikroakışkanlaştırıcı cihazı

3.2.2 Oksidasyon analizleri

Oksidasyon analizlerinde 6 örnek test edilmiştir.

Örnekler:

1. Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu (K+S)
2. Kefir+ Emülsiyon (K+E)
3. Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma (K+SA)
4. Kefir+ Emülsiyon+ Aroma (K+EA)
5. Sade Kefir (Kefir)
6. Emülsiyon (Emülsiyon)

Balık yağı içeren kefir örneklerinin hepsi 250 mL kefir içinde, 250 mg EPA+DHA içeriğine sahiptir. Aroma içeren kefir örneklerine % 0,1 (a/a) oranında çilek aroması eklenmiştir. Antimikrobiyal ajan olarak saf su içerisinde %1'lik (a/a) Sodiumazide stok çözeltisi hazırlanmış, tüm örnekler stok çözeltiden %0,04- 0,1 (a/h) katılmıştır. Bütün örnekler amber renkli cam şişelerde 4°C'deki buzdolabında ve 60°C'deki etüvde 30 gün boyunca depolanmıştır. Buzdolabında depolanan örnekler 0, 7, 14 ve 21. günlerde; etüvde depolanan örnekler 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 ve 30. günlerde test edilmiştir. Bütün çalışmalar 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1 Peroksit analizi

Lipit oksidasyonu sırasında oluşan birincil oksidasyon ürünleri hidroperoksitlerdir. Peroksit analizi sayesinde, lipit oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitlerin miktarını saptamak mümkündür. Bu analiz, Shanta ve Decker'e (1994) göre yapılmıştır. İlgili ölçüm için U-2800 model spektrofotometre (Hitachi, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır.

Bu analizde önceden ve günlük hazırlanması gereken preparatlar mevcuttur. Tiyosiyanat stok çözeltisi, 7,5 g amonyum tiyosiyanatın saf su içerisinde 25 mL'ye tamamlanmasıyla (3.94 M) hazırlanmıştır ve 30 günlük deney süresince 4 °C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir. Baryum klorür (BaCl_2) stok çözeltisi, 1,61 g BaCl_2 'ün 50 mL 0.4N HCl (0.132 M) içinde çözerek hazırlanmıştır (A) ve 30 günlük deney süresi boyunca buzdolabında muhafaza edilmiştir. Günlük hazırlanması gereken FeSO_4 çözeltisi, 0,1 g FeSO_4 'ün 2,5 mL saf su içinde çözülüp vortekslenmesiyle elde edilmiştir (B). Fe (II) çözeltisi, 1 mL (0,132 M) BaCl_2 (A) ile 1 mL (0,144 M) FeSO_4 'ün (B) 1 dakika vortekslenmesinin ardından 3 dakika 2500 rpm'de santrifüjlenmesiyle elde edilmiştir.

İlk olarak 0,3 mL örnek, 1,5 mL izo-oktan/ 2-propanol reaktifi (3:1 h/h) ile karıştırılmıştır. 3 defa 10 saniye boyunca vortekslenmiştir ve ardından 1000 g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir (Universal 320 Cenrifuge, Hettich, North America). Daha sonra 0,2 mL üst organik faz, 2,8 mL metanol:bütanol çözeltisi (2:1 h/h) ile karıştırılarak vortekslenmiştir. Reaktif B hazırlanmış ve vortekslenmiştir. Hızlı bir şekilde daha önceden hazırlanan 1 mL A reaktifiyle, 1 mL B reaktifi karıştırılmıştır ve bulanıklaşan çözelti 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Bu karışım 2500 rpm hızında 3 dakika santrifüjlenmiştir. 1 mL 3,94 M amonyum tiyosiyanat ile 1 mL berrak demir çözeltisi (A+B) eklendiğinde çözelti kırmızıya dönmüştür. Her test tüpüne 30 µl kırmızı demir içeren reaktif eklenerek, vortekslenmekten sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 20 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örneklerin 510 nm'de verdiği absorbans değerleri U-2800 model spektrofotometrede (Hitachi, Tokyo, Japonya)

okunmuştur. Hidroperoksitlerin konsantrasyonu, standart bir kümen hidroperoksit (0-0,5 mM) eğrisi temel alınarak hesaplanmıştır ($R^2 = 0,981$).

3.2.2.2 P- anisidin analizi

P- anisidin değeri (p- AV) ile ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarı 350 nm dalga boyunda okunarak saptanır. Bu analiz için AOCS Resmi Metot Cd-1890 (AOCS 1998) baz alınmıştır. Öncelikle, 1 mL örnek, 25 mL izooktan içeren test tüpüne aktarılmıştır. Ardından tüplerin kapakları kapatılarak 4000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. O sırada p- anisidin çözeltisi (0,25 g p- anisidin/ 100 mL asetik asit) hazırlanmıştır. Spektrofotometrede absorbans okuma kısmı iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamak için santrifüjden çıkan tüplerin berrak üst (organik) tabakasından U-2800 model spektrofotometrede (Hitachi, Tokyo, Japonya) direk okuma yapılmıştır (A_1). İkinci basamak için berrak üst tabakadan 5 mL alınmış ve üzerine 1 mL p- anisidin çözeltisi eklenerek 10 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edilmiştir. İkinci aşamada kör çözelti olarak 5 mL izooktanın üzerine 1 mL p- anisidin çözeltisi eklenmiştir ve onun da örneklerle birlikte 10 dakika karanlık ortamda inkübasyonu ile hazırlanmıştır. Süre dolduktan sonra kör ile sıfırlama yapılmış, numunelerin absorbans değeri 350 nm dalga boyunda (A_2) okunmuştur. P- AV aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanır:

$$\text{p- Anisidin Sayısı (p- AV)} = 25 \times (1.2A_2 - A_1)$$

A_1 = Örneğin absorbans değeri

A_2 = Örneğin p-anisidin ile reaksiyona girdikten sonraki absorbans değeri

3.2.3 Renk analizi

Kefir örneklerinin renk analizi, Hunter *Lab* renk ölçüm cihazı (Konica- Minolta, Model CR 400, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Her analiz öncesi, beyaz karo (Minolta kalibrasyon plakası) üzerinde kalibrasyon yapılmıştır. +4°C'de depolanan kefir örneklerinden yaklaşık 5 mL alınarak, renk ölçüm cihazının siyah ölçüm haznesine

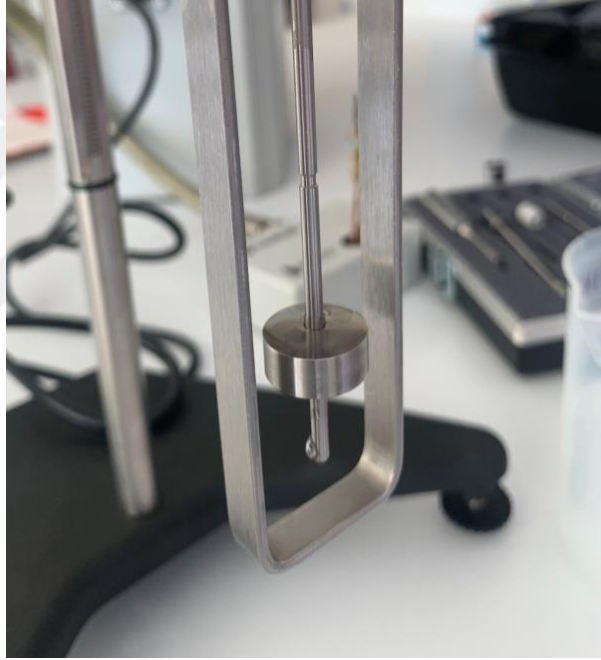
damlatıldıktan sonra 3 defa renk ölçümü yapılarak ortalama değerlerden faydalanılmıştır. Ölçülen parametreler L^* , a^* ve b^* , sırasıyla açıklığı (0'a yakın sonuçlar siyahı, 100'e yakın sonuçlar beyazı belirtir), kırmızılığı (pozitif sonuçlar kırmızıyı, negatif sonuçlar yeşili belirtir) ve sarılığı (pozitif sonuçlar sarıyı, negatif sonuçlar maviyi belirtir) temsil etmektedir. Ölçümler 0, 7, 14 ve 21. günlerde tekrarlanmıştır.



Şekil 3.2 Hunter *Lab* renk ölçüm cihazı

3.2.4 Viskozite analizi

Kefir örneklerinin viskozitesi tek milli viskozimetre ile (Brookfield Viscometer LVDV-I Prime, Brookfield Engineering Labs. Inc., Stoughton, Middleborough, MA, USA) ölçülmüştür. Kefirler depolamanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde +4°C buzdolabından çıkar çıkmaz, 150 mL'lik beherlerde 100 rpm hızda dönen mil ile viskoz direncin ortadan kalkması için gerekli dönme kuvvetinin ölçülmesiyle (Spindle no: 62) test edilmiştir. Ölçümler en az 3 defa tekrarlanmıştır. Aynı zamanda bu viskozimetre ile kefirin, zamana bağlı akış karakteri gösterip göstermediği de saptanabilmektedir.



Şekil 3.3 Viskozimetrede kefir örneklerinin ölçümünde kullanılan spindle

3.2.5 pH analizi

Kefir örneklerinin pH değerleri, depolamanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde +4 °C buzdolabından çıkar çıkmaz pH metre (913 pHMeter, Metrohm, Switzerland) probunun tüplere daldırılması ile ölçülmüştür. pH metre, her ölçüm gününde analiz öncesinde pH 4 ve pH 7 tampon çözeltiler ile kalibre edilmiştir.

3.2.6 Parçacık boyut analizi

Ortalama parçacık boyutu (d_{32}) ve parçacık boyut dağılımları; ışığın yoğunluğundan faydalanarak lazer kırınımı prensibiyle saçılan Master Sizer 3000 HydroEV (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

Emülsiyon hazırlığının ilk gününde ve depolama süresince 2 farklı depolama ortamından (4 ve 60°C) alınan örneklerin periyodik olarak analizi yapılmıştır. Yaklaşık 600 mL hacimli beherin içerisine pH 4'e ayarlı saf su (örneklerin pH'sı yaklaşık 4 olduğu için) konulduktan sonra, örnek ilave edilmiş ve analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Ölçümlerde cihaza balık yağının kırılma indisi daha önce refraktometre (Rx-9000a, Refractometer, ATAGO, Japan) cihazında ölçülen 1.48 değeri girilmiştir.

3.2.7 Zeta potansiyeli analizi

Oluşturulan kefir örnekleri ODTÜ Merkez Laboratuvarında yer alan Zetasizer cihazı (Malvern Nano ZS90, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) kullanılarak ölçülmüştür. Kefir örneklerinin hepsi, birden fazla saçılma etkisinden kaçınmak için ölçüm öncesi 1:5 oranında pH değeri 4 olan tampon çözelti ile seyreltilmiştir. +4 °C'de depolanan örneklerin, 0. ve 21. günlerinde ζ-potansiteli ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.8 Duyusal analiz

Balık yağlarıyla zenginleştirilmiş yiyeceklerde lezzet, en önemli kalite parametrelerinden birisidir (Kolanowski, Jaworska ve Weissbrodt 2007). Bu sebeple örneklerin duyusal analizi gerçekleştirilmiştir. Panelde kullanılan örnekler şu şekilde kodlanmıştır:

1. Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu (K+S)
2. Kefir+ Emülsiyon (K+E)
3. Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma (K+SA)
4. Kefir+ Emülsiyon+ Aroma (K+EA)
5. Sade Kefir (Kefir)
6. Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu (K+ P)
7. Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma (K+ PA)

Duyusal değerlendirmeler, duyusal analiz konusunda eğitim almış ve çoğu sigara içmeyen (18- 60 yaş aralığında) 22 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Balık yağı emülsiyonu içeren kefirler, hazırlandıktan hemen sonra duyusal değerlendirmeye alınmıştır. Bu çalışmada hedonik test duyusal analiz metodu uygulanarak; görünüş, renk, koku, lezzet, yapı (tekstür) ve genel beğeni skalalarında 1 ile 9 arası puanlama yapılmıştır. Duyusal analizde kullanılan değerlendirme formu Ek 1’de, etik onay formu Ek 2’de verilmiştir. Bu analiz metodu ile örnekler arası kabul edilebilirliğin derecesini ölçmek amaçlanmıştır (Ghorbanzade vd. 2017). Kefirler, kodlu ve 50 mL kapasiteli karton bardaklarda iki ağız dolusu tadım yapılabilecek eşit miktarda örnek konularak rastgele sırayla değerlendirilmiştir. Duyusal analiz, Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne ait ışık, koku ve sesin ayarlanabildiği duyusal analiz laboratuvarında, beyaz bir zemin üzerinde 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasında panelistlerin ağız çalkalayabilmesi için kraker ve su, koku nötrleyebilmesi için kahve, olası rahatsız bir tat hissetme durumuna önlem amaçlı bir adet boş bardak ve peçete kabinlere yerleştirilmiştir.



Şekil 3.4 Panelistler için hazırlanan duyuşsal analiz düzeneği

3.2.9 İstatistiksel analiz

Tüm deneyler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır ve çalışmaların sonucunda elde edilen sonuçlar SPSS paket programında (IBM SPSS Statistics 23) Varyans analizi teknikleri (ANOVA) kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Oksidatif Stabilit 

Emülsiyonlardaki lipit oksidasyonu, ÇDYA ile serbest radikallerin birbirleriyle olan etkileşimi sonuncunda yağ-su ara yüzeyinde gerçekleşir. Demir gibi geçiş metalleri, varlığıyla lipit oksidasyonunu hızlandırır      çoğu zaman hidroperoksitleri serbest radikallere parçalayan bir katalizör görevindedir. Dolayısıyla lipit oksidasyon derecesi hidroperoksitler gibi pro-oksidanların, geçiş metallerinin ve ÇDYA'nın emülsiyon sistemindeki varlığıyla ilişkilidir (McClements ve Decker 2005).

Kefirler, içerisinde balık yağının serbest formuyla ve nanoemülsifiye olarak, aromalı ve aromasız şekilde hem 4 C buzdolabında (21 gün) hem de 60 C etüvde (28 gün) depolanmıştır. Depolama sırasında düzenli aralıklarla oksidasyon analizleri (peroksit ve p-anisidin) gerçekleştirilmiştir. Bunun beraberinde sade kefir örneğinin ve balık yağı içeren nanoemülsiyonun da oksidasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Birincil oksidasyon ürünlerinin derecesini ölçmek için peroksit analizi, ikincil oksidasyon ürünlerinin derecesini ölçmek için p-anisidin analizi gerçekleştirilmiştir.

4.1.1 Birincil lipit oksidasyon ürünleri oluşumu

Peroksit değeri, yağlarda oksidasyon sonucu üretilen birincil oksidasyon ürünü olan lipit hidroperoksitlerinin ölümünde kullanılır. Omega-3 ÇDYA bakımından zenginleştirilmiş ürünlerin raf ömrü testlerinde yağların oksidasyon derecesi büyük önem taşımaktadır,      depolama süresince istenmeyen tat ve koku oluşturan bileşiklerin meydana gelmesinin yanı sıra besin değerinde düşüş de gözlemlenmektedir (Jimenez-Martin vd. 2015). Yağların oksidasyonu sırasında oluşan aldehytler, proteinlerle ve nükleik asitlerle çapraz bağlar oluşturarak toksik etki gösterebilmektedir. Bu sebeple raf ömrü, tüketicilerin ürünü kabul edebilirliği ve ürünün kalitesinin

beraberinde gıda güvenliği açısından uygunluğu gibi parametreler, oksidasyon derecesiyle son derece ilişkilidir (Pak vd. 2005).

4°C buzdolabında 21 gün boyunca muhafaza edilen örneklerle ait sonuçlar **şekil 4.1**'de; 60°C etüvde 28 gün boyunca muhafaza edilen örneklerle ait **şekil 4.2**'de görülmektedir. Deney sonuçları incelendiği zaman emülsiyona ait peroksit değeri sonuçlarının, kefir örneklerine göre oldukça yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Buna göre, balık yağının nanoemülsifiye olarak bir gıda ürününe eklenmesi, eklenen gıda ürünün içerisinde daha az oksijen ile temas edeceğinden dolayı, daha yavaş oksidasyona uğramakta ve beslenmeye uygun değerlerde olacağı tahmin edilmektedir.

Kefir, süt, yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinin antioksidatif özellikleri hakkında birçok çalışma mevcuttur (Songisepp vd. 2004, Liu vd. 2005, Aloğlu ve Öner 2011). Liu vd.'nin (2005) kefirin antioksidan aktiviteleri üzerine yaptığı bir çalışmada, kefirin antioksidan aktivitesi; 2-2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivite, lipid hidroperoksidasyon inhibisyon aktivitesi, demir iyonu şelatlama kabiliyeti, indirgeme gücü ve antioksidatif enzim aktivitesi ele alınarak incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda kefirlerin yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve insan diyetinde de doğal bir antioksidan takviyesi olduğu kanıtlanmıştır.

Bazı laktik asit bakterileri, bulunduğu ortamdaki reaktif oksijen türlerinin birikme riskini azaltma özelliğine sahip olduğu için, potansiyel olarak oksidatif stres azaltıcı probiyotik gıda takviyeleri olarak kullanılmaktadırlar (Kullisaar vd. 2002). Kefirin, içerdiği bu laktik asit bakterileri sayesinde, tez çalışmasında da öne sürüldüğü üzere, nanoemülsifiye balık yağını ve serbest balık yağını kendi bünyesinde oksidatif reaksiyonlardan koruma kabiliyetine sahip olduğu görülmektedir (**Şekil 4.1 – 4.2**).

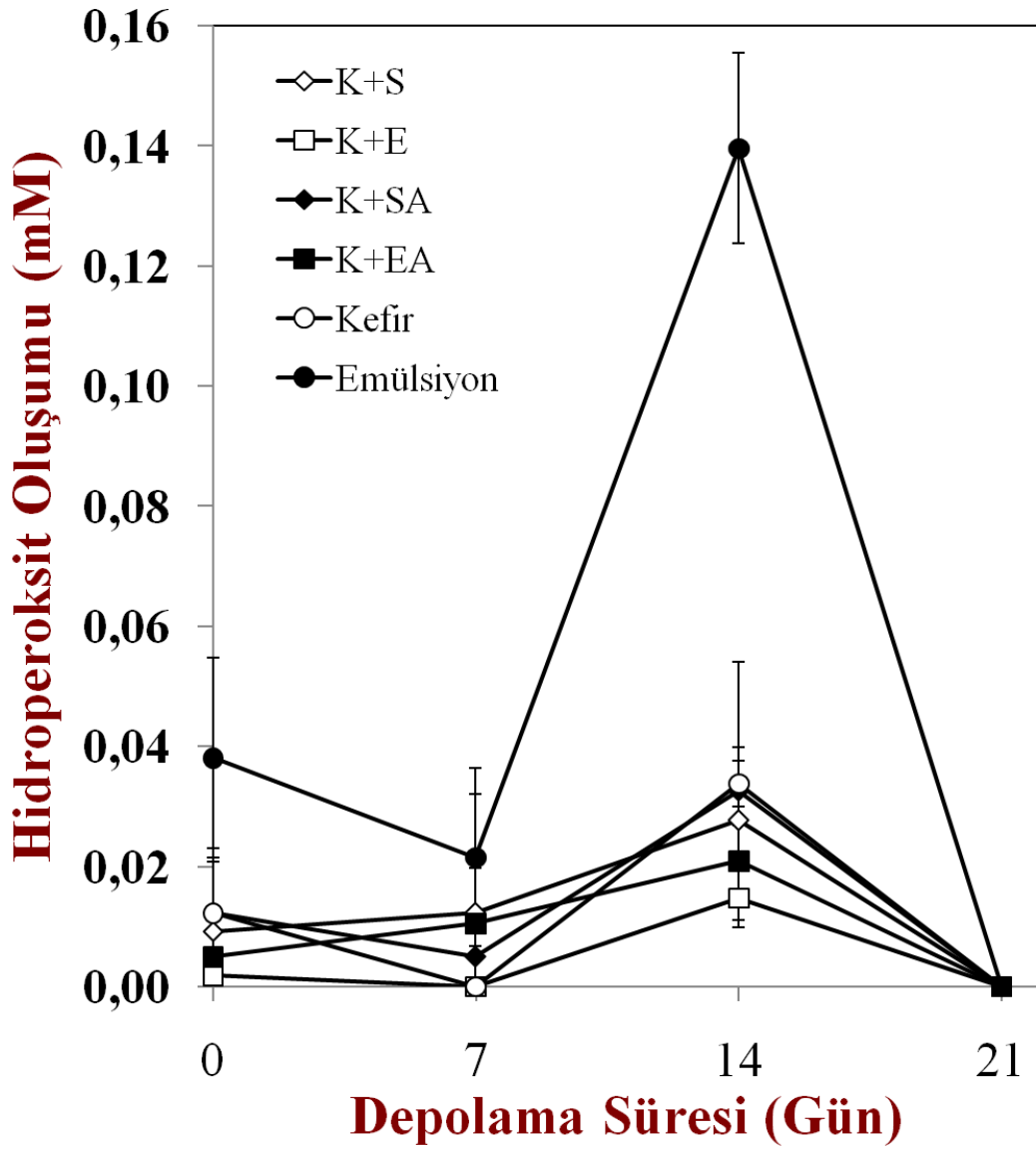
Yapılan başka bir çalışmada inek sütünden elde edilen kefir örnekleri 21 gün boyunca buzdolabında saklanmış ve antioksidan kapasite için DPPH [100 mL başına mg Trolox Eşdeğeri (TE) cinsinden] radikal süpürme aktivitesi ölçülmüştür. Kefir taneleri kullanılarak yapılan inek sütü kefir örneğinde DPPH (mg TE/100mL) depolamanın 7.

gününde maksimum düzeye ulaşmış olup, 14. gün düşüşe geçmiş ve 21. gün tekrar 7. güne ait değer kadar olmasa da artış göstermiştir (Yılmaz-Ersan vd. 2018). Buna göre, DPPH değerinin maksimum düzeydeyken kefirin antioksidan özelliğinin de maksimum düzeyde olacağı, yani açığa çıkan oksidasyon ürünleri için minimum değerler gözlemleneceği varsayılabilir. Tez çalışmasında **şekil 4.1**'de gözlemlenen 7. güne ait kefir örneklerinin hepsinin peroksit değerindeki düşüş, ardından 14. gündeki artış ve 21. güne ait düşüşün sebebi, kefirin içerdiği antioksidan kapasite ile ilişkili olarak paralel sonuçlar vermiştir.

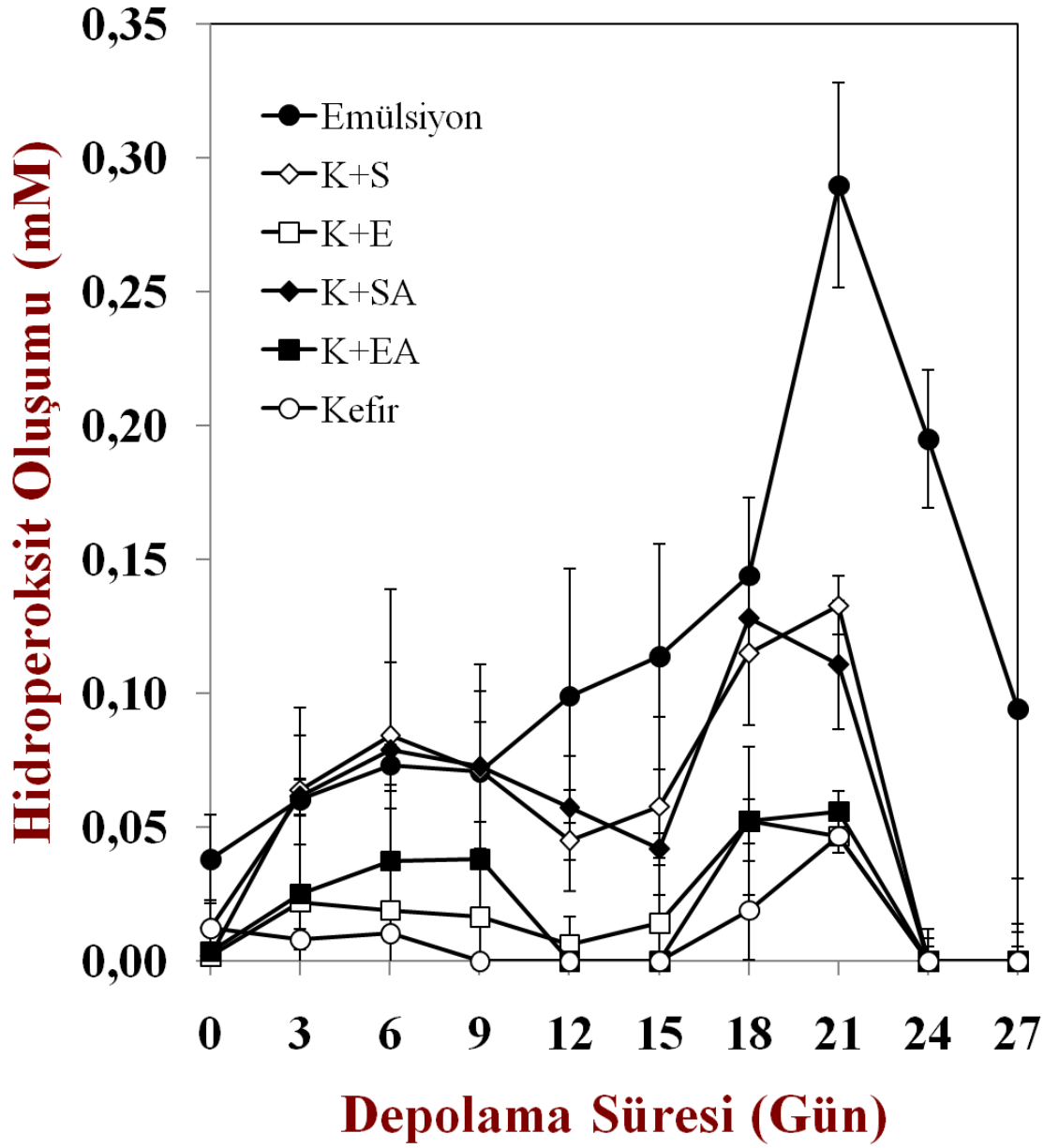
Kefirin esas bileşeni süttür ve sütün içermiş olduğu antioksidan bileşenler arasında lipofilik fazda antioksidan özellik gösteren E vitamini, kefirin içerisinde bulunan ve antioksidan aktiviteye katkıda bulunan önemli bir bileşendir ve kefirde yaklaşık 0,008 ile 0,121mg/100g miktarında yer almaktadır (Yılmaz-Ersan vd. 2018). E vitamini, ÇDYA'yı peroksidasyona karşı koruyan önemli bir lipofilik zincir kırıcı antioksidandır (Buettner 1993). Yılmaz-Ersan vd.'nin (2018) yaptığı çalışmada kefir taneleri kullanılarak yapılan inek sütü kefirinin E vitamini değerleri (mg/100g) ölçülmüş olup; 1. günde maksimum seviyede iken 7. günde düşüşe geçmiş, 14. günde minimum düzeye ulaşmış ve 21. günde tekrar yükselmiştir. Bu sonuçlar tez çalışmasında gözlemlenen peroksit değerleri ile bağlantılı bulunmuştur, çünkü E vitamini seviyesinin yüksek olduğu günlerde PV düşük sonuç vermiştir ve bunun temel sebebi E vitamininin, oksidasyonu engelleyebilen yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olmasıdır.

Peynir altı suyunda bulunan α -laktalbümin, β -laktoglobülin ve laktoferrin gibi proteinler de antioksidan aktivite göstermektedir. Bu proteinlerin antioksidan mekanizmaları, geçiş metallerinin laktoferrin ve PASP albümini tarafından temizlenmesini ve serbest radikallerin tirozin ve sistein gibi aminoasitler tarafından temizlenmesini içerir (Ostdal vd. 1996). Tez çalışmasında kullanılan emülgatörün PASP olmasının beraberinde, kefirin ana maddesinin de süt olması sebebiyle, balık yağıyla zenginleştirilmiş kefir örneklerinin yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir.

Yağların peroksit değerleri, o yağın geçmişi hakkında yorum yapabilmek için önemli parametrelerdir. Otoksidasyon sırasında yağların peroksit değerleri depolama süresince zaman içerisinde maksimum noktaya ulaşır ve ardından bir azalış olur. Maksimum değer, yani pik noktası, oksidasyonun erken aşamalarında meydana gelir çünkü balık yağı gibi ÇDYA içeren yağlarda hidroperoksitlerin ayrışması oldukça kolaydır (Frankel 2005).



Şekil 4.1 4°C buzdolabında depolama süresi boyunca örneklerin peroksit değerleri (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)



Şekil 4.2 60°C etüvde depolama süresi boyunca örneklerin peroksit değerleri (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Şekil 4.1'de test edilen bütün örneklerin 21 günlük depolama süresi boyunca, 14. güne ait bir pik oluşturduğu görülmektedir. Sırasıyla balık yağının serbest formda konulduğu aromasız K+S ve aromalı K+SA kefir örneklerinin 14. güne ait peroksit oluşum değerleri $0,028 \pm 0,012$ mM ve $0,33 \pm 0,005$ mM olarak ölçülmüştür. Balık yağının nanoemülsifiye olarak katıldığı aromasız K+E ve aromalı K+EA kefir örneklerine ait peroksit oluşum değerleri ise 14. gün sırasıyla $0,015 \pm 0,005$ mM ve $0,021 \pm 0,006$ olarak ölçülmüştür. Burada fark edilmesi gereken önemli nokta, balık yağı içeren kefir örneklerinin pik yaptığı 14. güne ait değerlerde balık yağının serbest formda katıldığı örneklerin oksidasyona uğrama seviyesi, nanoemülsifiye olarak katılan örneklere nazaran daha yüksek olmuştur. Bunun temel sebebi, nanoemülsifiye halde katılan balık yağının PASP izolatu ile stabilize edilmesinden kaynaklı olarak, oksijen ile temasının minimuma indirilmiş olması; serbest formda katılan balık yağının ise oksidatif reaksiyonlara daha açık olmasıdır. PASP izolatinin bulunmasıyla birlikte ortamda bulunabilecek prooksidanlara karşı demir iyonları vb. iyonlar fiziksel bir bariyer sağlar. Ayrıca pI'sı 5 olan PASP, pH 4'teki kefirde pozitif yüklü olduğundan yine pozitif yüklü prooksidan iyonları elektrostatik itme sağlamaktadır (Gümüş vd. 2017b).

Pekşen'in (2018) tez çalışmasında keten tohumu yağı dondurarak kurutma tekniği kullanılarak mikroenkapsüle edilmiştir ve bunlar yoğurt zenginleştirmede kullanarak, oksidatif stabiliteleri farklı sıcaklıklarda 10 hafta boyunca ölçülmüştür. 3 ayrı yoğurt örneğini 21 gün boyunca 4°C'de bir depolamaya tabi tutmuştur. Enkapsüle edilmemiş yağ ve duvar malzemelerini içeren 'yağ' örneğinin PV'sindeki yükselişin kapsüllenmiş yağ içeren yoğurt örneğine göre daha çok olduğu görülmüştür. Bunun sebebi, yağın, oksidasyona daha açık olmasından kaynaklanmaktadır.

Tez çalışmasına benzer bir şekilde, Goyal'ın (2014) yine keten tohumlarını mikroenkapsüle ederek zenginleştirdiği hint yoğurdu örnekleri üzerine buzdolabı sıcaklığında (4-7°C'de) yaptığı bir oksidatif çalışmada gözlemlediği üzere, peroksit değerlerinde ilk 9 gün önemsiz bir değişiklik olmakla birlikte, 9. günden sonra kapsüllenmiş keten tohumu yağı içeren yoğurt örneklerinde PV önemli derecede artış göstermiştir. Bu olayı, ilk 9 günlük depolama süresinde kapsüllerin korunduğu, 9 gün sonrasında da kapsüllerin bozulma evresine başlamasıyla açıklamıştır. Tez çalışmasında

da yine **şekil 4.1’de** ve **şekil 4.2’de** görüldüğü gibi balık yağı serbest formda ya da emülsiyon formunda eklendiği zaman yalnızca oksidasyonun derecesini değiştirmek; ancak her iki grup için de PV’ye ait artışı, 7- 14 gün arasında gözlemlenmektedir.

Zou ve Akoh (2015), balık yağı ve lipit bazlı emülsiyon içeren bebek mamalarını çeşitli antioksidanlar ile zenginleştirerek oksidasyon testleri gerçekleştirmişlerdir. Peroksit ölçümlerini oda sıcaklığında 28 günlük bir depolamaya tabi tutmuşlar ve emülsiyon örneklerinin, yaklaşık 14. günde yükseldiğini; öncesindeki ve sonrasındaki ölçümlerinin 14. güne nazaran düşük oksidasyon sonuçları gösterdiğini, bir takım dalgalanmalar olduğunu belirtmişlerdir. Zou ve Akoh’un (2015) çalışmasından da yola çıkarak, tez çalışmasının başında 21 günlük bir depolama süreci hedeflense de, emülsiyona ait azalıştan emin olmak adına 28. güne kadar peroksit ölçümlerine devam edilmiştir ve 28. güne doğru peroksit değerlerinde gerçekten bir azalış söz konusu olmuştur (**Şekil 4.1 – 4.2**).

Abacı’nın (2020) yapmış olduğu omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş kayısı nektarının fiziksel ve oksidatif stabilitesinin belirlenmesini amaçlayan tez çalışmasında balık yağı içeren emülsiyonlar 4°C ve 37°C’de depolanmış olup birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumları incelenmiştir. Farklı emülgatörler kullanarak hazırladıkları suda balık yağı içeren emülsiyonlarda 4°C’de ölçülen peroksit sayısı 75 günlük depolama süresi boyunca, tez çalışmasında ölçüldüğü gibi 1mM’in altında olmuştur. 37°C’de depolanan emülsiyon örneklerinde de peroksit sayısı 1. günden itibaren artış göstermiş ve ortalama 7. günde maksimum peroksit değerlerine ulaşmıştır.

Balık yağı emülsiyonunu PASP izolatu: ksantan: keçiyoynuzu gamı ve kompleksleriyle stabilize ederek, emülsiyonların oksidatif stabilitesi üzerine pH’nın etkisi ile ilgili Owens vd.’nin (2018) yaptıkları çalışma incelenmiştir. Çalışmada PASP izolatu kompleksleri içeren ve pH 7’de olan emülsiyonlara ait değerler, tez çalışmasıyla kıyaslanmıştır. Çünkü tez çalışmasındaki emülsiyonun pH değeri yaklaşık 7 olarak ölçülmüş ve emülgatör olarak PASP izolatu kullanılmıştır. Owens vd.’nin (2018)

çalışmasında pH 3'te, pH 5'te ve pH 7'de hidroperoksit konsantrasyonlarının çoğu 4. haftada ani bir artış yaşayana kadar benzer bir artış eğilimi izlemiş ve ardından azalarak devam etmiştir. Oksidatif stabilite, pH 3'te daha yüksek olmuştur çünkü bu pH'da emülsiyonlar metal iyonlarının emülsiyon damlacıklarının pozitif yüzey yükünden elektriksel olarak itilmesi yoluyla lipid oksidasyon oranlarını azaltır (Hu vd. 2003).

Owens vd.'nin (2018) çalışmasında örnekler 8 haftalık, oda sıcaklığında bir depolama süreci geçirmişler ve ilk olarak 1. haftada yükselişe geçmiş; asıl yükseliş ise yukarıda da bahsedildiği gibi 4. haftasında gerçekleşmiştir. Benzer olarak tez çalışmasında da **şekil 4.2**'de emülsiyona ait PV'nin ilk yükselişi 1. haftada; asıl piki ise 21. günde yani 3. haftada görülmüştür. Owens vd.'nin (2018) çalışması oda sıcaklığında gerçekleştirilen bir depolamadır. Depolama sıcaklıklarının göstermiş olduğu etkiden kaynaklı olarak, tez çalışmasındaki nispeten yüksek sıcaklığın etkisiyle PV'nin maksimum değere daha erken ulaştığı, aynı zamanda pH 7'de tez çalışmasıyla benzer sonuçlara sahip olabildiği gözlemlenmiştir.

4.1.2 İkincil lipid oksidasyon ürünleri oluşumu

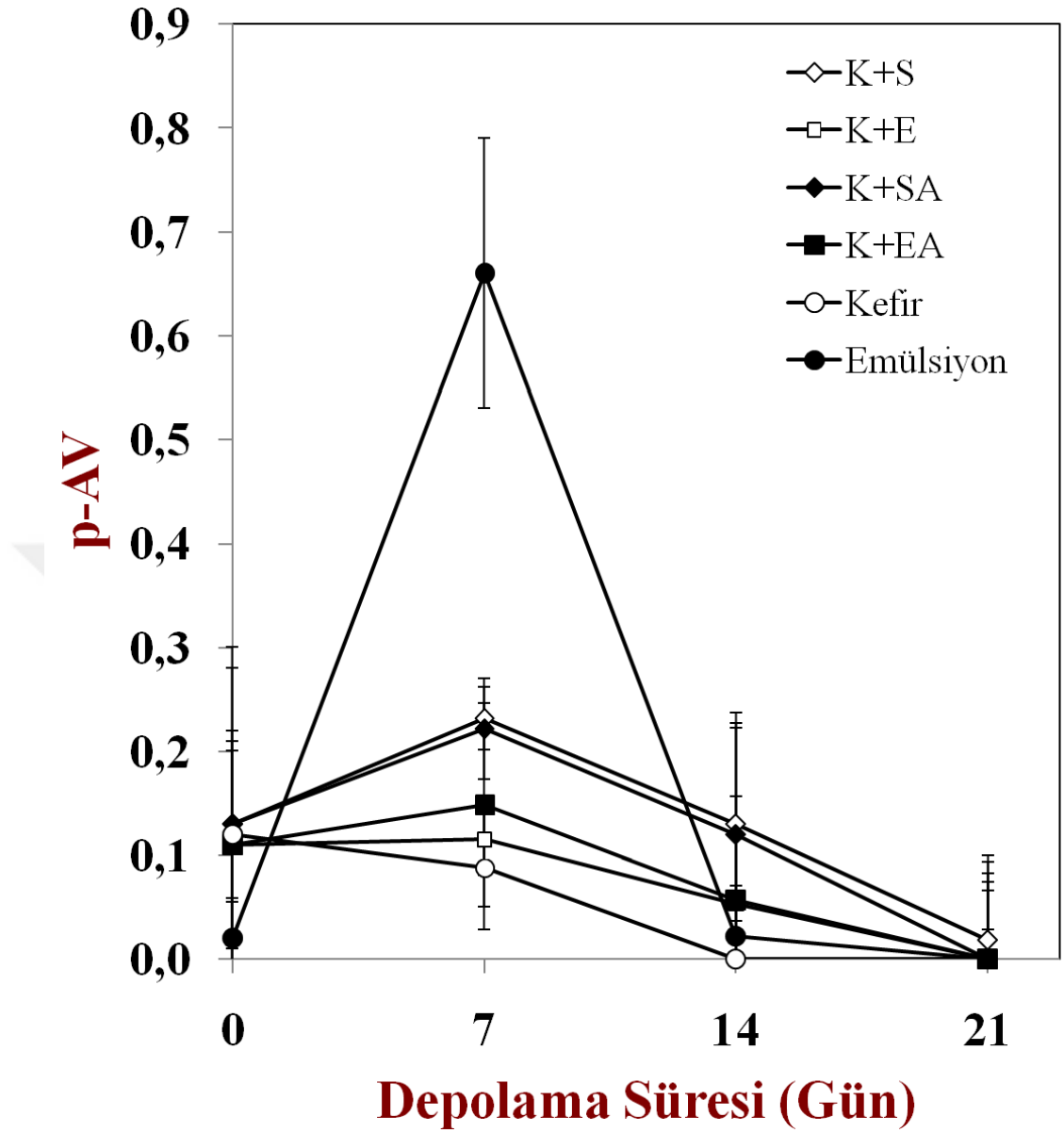
Peroksit değeri (PV) başlangıçta yağlar oksitlendikçe artış gösterirken, sonrasında azalışa geçebilir çünkü peroksitler daha sonraki oksidatif reaksiyonlarda ikincil oksidasyon ürünlerine parçalanabilmektedirler. Bu sebeple düşük PV'ler, her zaman kalitesi yüksek yağlar olduğu sonucuna varmak için yeterli değildir, ayrıca ikincil oksidasyon ölçümleri de kalite kriterleri arasında olması gereken bir aşamadır (İsmail 2016).

Hidroperoksitler birincil oksidasyon ürünleri olmasına rağmen, gıda ürünlerinde kötü tat ve kokunun oluşumunda rol oynayan ana sebep değildir. Hidroperoksitler kararsız yapıdadır ve ikincil oksidasyon ürünlerine kolaylıkla ayrışabilirler. Bu ayrışma sonucunda daha küçük moleküler yapıya sahip malonaldehit (MDA) ve 4-hidroksi-nonenal aldehitler dahil ketonlar, asitler, alkoller ve hidrokarbon bileşikler gibi çok çeşitli uçucu ve uçucu olmayan düşük moleküler ağırlıklı bileşikler yani ikincil

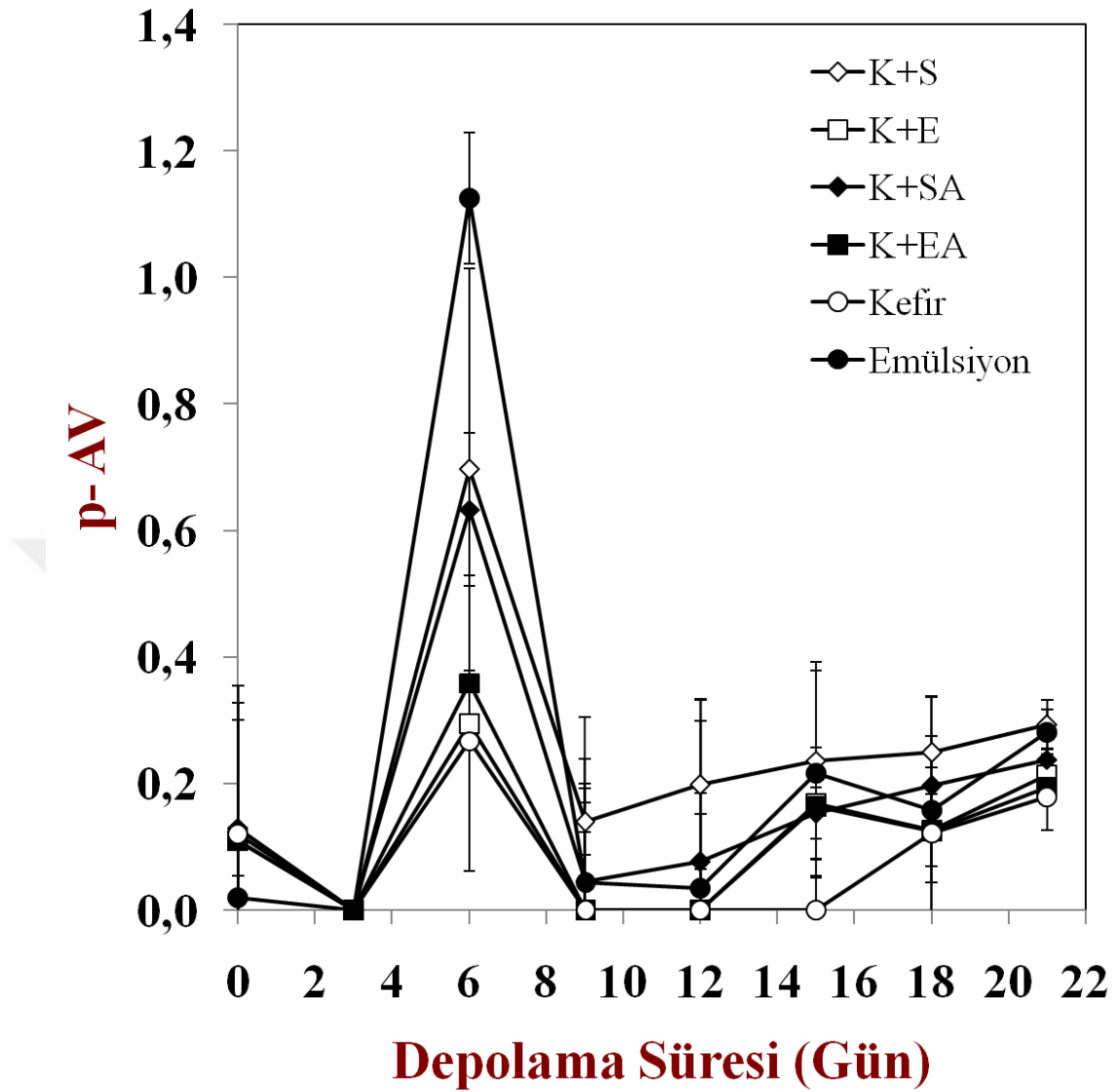
oksidasyon ürünleri ortaya çıkar (Rasarma 2014). Bu ikincil oksidasyon ürünleri, hidroperoksitlerden daha kararlı yapıdadır ve gıdalarda asıl kötü tat ve kokunun oluşumundan onlar sorumludur (Kargar 2014).

P-anisidin analizi, doymuş ve doymamış yüksek moleküler ağırlıklı triaçilgliserollerdeki karbonil bileşikleri ölçer (Frankel 2005). Bu analiz, yağ acılığının gelişimine katkıda bulunan 2-alkenaller ve 2,4-alkadienler gibi ikincil oksidasyon metabolitlerinin miktarını değerlendirmek için kullanılan yaygın bir ölçüm metodudur (İsmail vd. 2016).

Uzun zincirli omega-3 çoklu doymamış yağ asidi içeren balık yağları, kullanım sırasında oksidatif bozulmaya karşı son derece hassastırlar ve nispeten yüksek başlangıç p-anisidin değerlerine sahip olma eğilimindedirler. P-anisidin analizi sayesinde yağların işlenmesi sırasında oluşan uçucu olmayan karbonil bileşikler hakkında faydalı bilgiler edinilebilmektedir.



Şekil 4.3 4°C buzdolabında 21 günlük depolama süresi boyunca ölçülen p-Anisidin değeri (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)



Şekil 4.4 60°C etüvde 21 günlük depolama süresi boyunca ölçülen p-Anisidin değeri (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Şekil 4.4’de görüldüğü üzere, örneklerin başlangıç p-anisidin değerleri 0 değildir. İlk olarak emülsiyon örneği üzerinden ilerlemek gerekirse, emülsiyon yüksek basınçlı homojenizatör ve mikroakışkanlaştırıcı gibi çeşitli proseslerden geçmiş olup bu süreç içerisinde emülsiyonun içerdiği yağın bir miktar oksidasyona uğradığı sonucu çıkartılabilir. Benzer şekilde 0. gün balık yağının serbest olarak eklendiği K+S ve

K+SA örneklerinin p-anisidin değerleri ($0,13 \pm 0,23$), balık yağının nanoemülsiyon formunda eklendiği K+E ve K+EA örneklerinden ($0,11 \pm 0,19$) daha yüksek başlangıç oksidasyon değerine sahiptir. 0. güne ait K+S, K+E, K+SA, K+EA, kefir ve emülsiyon örneklerinin p-anisidin değerleri, örnekler hazırlanır hazırlanmaz ölçülmüştür ve sırasıyla şu değerlere sahiptir: $0,13 \pm 0,23$; $0,11 \pm 0,19$; $0,13 \pm 0,23$; $0,11 \pm 0,19$; $0,12 \pm 0,21$; $0,02 \pm 0,03$.

21 gün boyunca depolanan örneklerden emülsiyon örneği (%10 balık yağı) başlangıçta $0,02 \pm 0,03$ p-AV değerine sahipken 4°C 'de depolamada 7. gününde maksimum oksidasyon seviyesine ulaşarak $0,66 \pm 0,13$ olarak bulunmuştur. Ardından 14. gün $0,02 \pm 0,21$ p-AV değerine ulaşarak başlangıç seviyesine dönmüş; 21. gün $0,00 \pm 0,09$ olarak hesaplanmıştır. Benzer bir çalışmada, Zou ve Akoh (2015) çalışmalarında balık yağını (%5) kullanarak oluşturdukları emülsiyonu kontrol örneği olarak seçmiştir ve 37°C 'de depolama ile peroksit ile p-anisidin oksidasyon analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında bu emülsiyon örneğinin başlangıç p-AV değeri $\sim 0,4$ olarak ölçülmüş; 28 günlük depolama süresince de dalgalanarak ~ 1 p-AV değerine kadar yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçları yaklaşık olarak destekler niteliktedir. Ayrıca, Özçelik ve Başaran'ın (2016) keten tohumu yağı, ayçiçeği yağı ve zeytinyağının otooksidasyonunu inceledikleri bir tez çalışmasında, 56 gün boyunca karanlık bir odada örnekleri muhafaza edilmiştir. Peroksit değeri inkübasyon boyunca bütün örneklerde düşük seviyede gözlenmiş ancak ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu belirten p-AV değeri depolama süresi boyunca dalgalı bir dağılım göstermiştir.

Şekil 4.3 ve **şekil 4.4**'de görüldüğü gibi, 21 günlük depolama süresi boyunca hem 4°C hem de 60°C 'de muhafaza edilen örneklerin p-anisidin değerlerinde kısa sürede önemli bir artış görülmüştür. Buna göre, birincil oksidasyon ürünlerinin hızla ikincil oksidasyon ürünlerine parçalandığı söylenebilir. Değerler 6. günde maksimum noktaya ulaştıktan hemen sonra azalmıştır ve 4°C 'de depolanan örnekler 21 günün sonunda minimum düzeye ulaşırken; 60°C 'de depolanan örneklerde 9. gündeki azalıştan sonra küçük miktarda da olsa tekrar bir artış gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek sıcaklıkta nispeten birbirine daha çok çarpan moleküllerin açığa çıkardığı uçucu olmayan bileşiklerin miktarının artışı ile açıklanabilir. Yani yüksek depolama sıcaklığının,

depolanan örneklerin üzerinde uçucu olmayan karbonil bileşiklerin oluşumuna ortam sağladığı tahmin edilmektedir.

Benzer şekilde, Abacı'nın (2020) yapmış olduğu omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş kayısı nektarının fiziksel ve oksidatif stabilitesinin belirlenmesini amaçlayan tez çalışmasında balık yağı içeren emülsiyonlar 4°C ve 37°C'de depolanmış olup birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumları incelenmiştir. Farklı emülgatörler kullanarak hazırladıkları balık yağı/su emülsiyonlarında, 4°C'de elde ettikleri ikincil oksidasyon ürünleri 30. gün itibariyle artış göstermeye başlamıştır. 37°C'de meydana gelen ikincil oksidasyon ürünleri ise yaklaşık 5. günden itibaren artış göstermeye başlamıştır. Bu da, oksidatif stabilitenin üzerinde, depolama sıcaklığının etkisinin büyük olduğunun bir kanıtıdır.

Walker vd.'nin (2015) bir çalışmasında yüksek enerjili bir emülsiyon oluşturma tekniği olan mikroakışkanlaştırma yöntemi ile düşük enerjili spontan emülsiyon oluşumu arasındaki farklar incelenmiştir. Oluşturulan balık yağı emülsiyonlarına ait oksidasyon derecelerini ölçmek adına örnekler 14 gün boyunca 55°C'de depolanmıştır. İkincil oksidasyon ürünlerinin derecesini saptamak için tiyobarbiturat reaktif maddeler (TBARS) değeri ölçülmüştür. Tez çalışmasıyla kıyaslanmak üzere seçilen mikroakışkanlaştırıcıdan elde edilen balık yağı emülsiyonu ele alınmıştır ve çalışmada depolamanın 6. günü itibariyle TBARS (μM) değerlerinde hızlı bir artışla birlikte 14 gün boyunca artış devam etmiştir. Tez çalışmasında da ikincil oksidasyon ürünlerini ölçmek adına p-anisidin değerleri ölçülmüş ancak her iki çalışmada da benzer olarak 6. günden sonra ciddi bir artış gözlemlenmiştir. Walker vd.'nin (2015) çalışmasında depolama sıcaklığının 55°C olması, emülgatörlerin farklılığı, emülgatör miktarlarının farklılığı gibi birbirinin aynısı koşullar altında olmasa da emülsiyonun pik noktasından sonra iniş çıkışları gibi dalgalanmalar gibi benzer durumlar söz konusudur.

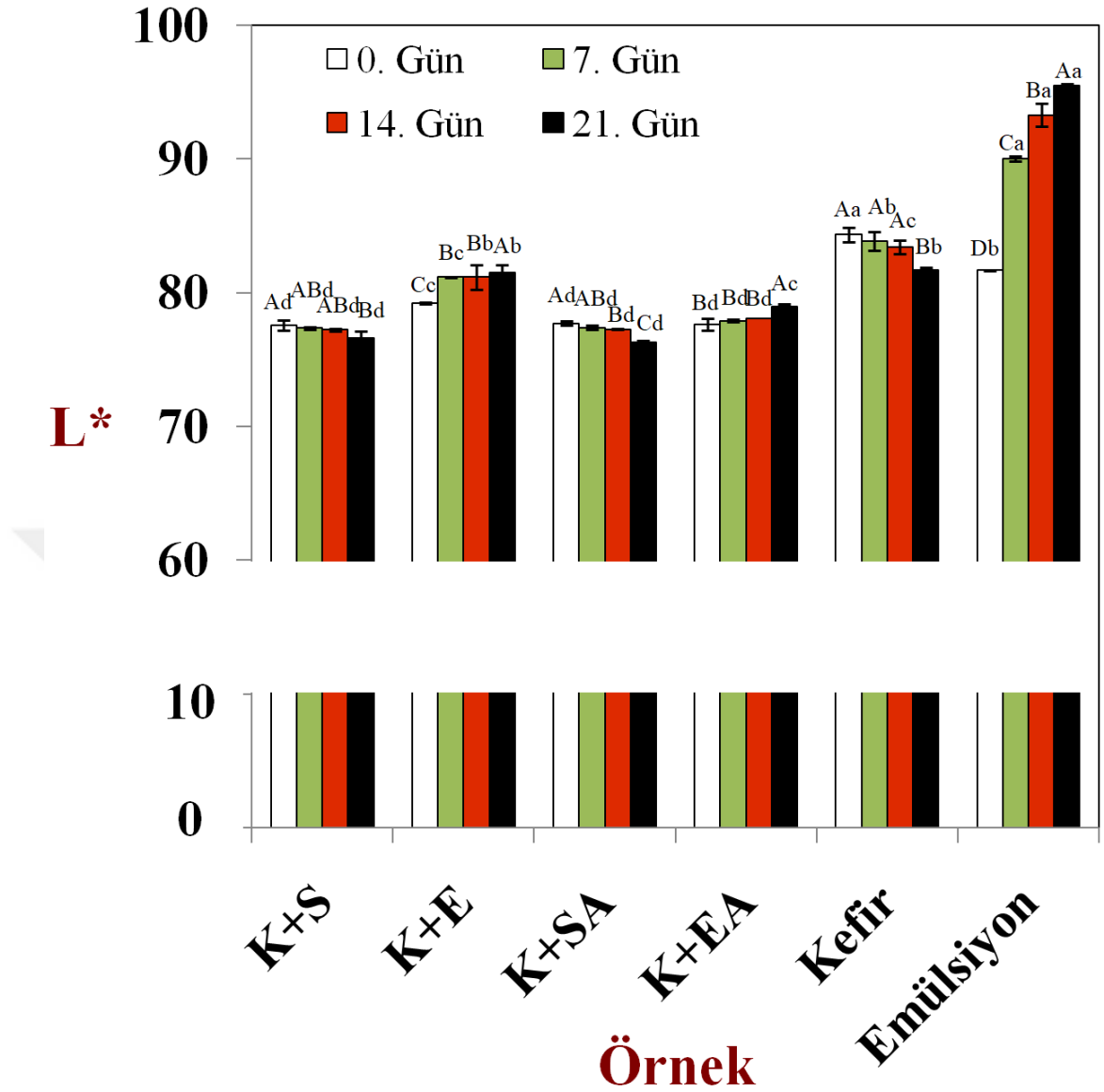
Pekşen'in (2018) tez çalışmasında keten tohumu yağı, dondurarak kurutma tekniği kullanılarak mikroenkapsüle edilmiştir ve bunlar yoğurt zenginleştirmede kullanılarak, oksidatif stabiliteleri farklı sıcaklıklarda ölçülmüştür. P-anisidin üzerine 4°C'de 21

günlük bir çalışma yapılmıştır. P-anisidin değerleri incelendiği zaman, mikroenkapsüle edilmeyen yağ içeren yoğurt örneği için sürekli bir artış gözlemlenmiş; mikroenkapsüle edilmiş yağ içeren yoğurt örneğinde ise 14. günden sonra istatistiksel açıdan kayda değer bir artış olduğu belirtilmiştir. Bu, mikroenkapsüle olmayan yağların oksidasyona daha açık olmasına bağlanmaktadır. Tez çalışması ile Pekşen'in (2018) çalışması kıyaslandığı zaman formülasyon olarak farklar olsa da, kefir ürünü ile yoğurt ürününün arasındaki benzerliğin beraberinde keten tohumunun ve balık yağının omega-3 ÇDYA sınıfında yer almasından kaynaklı olarak nanoemülsifiye edilmiş omega-3 ÇDYA'nın ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının, serbest olarak ürünlere eklendiği zamanki ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarından daha düşük olması konusunda benzer sonuçlar elde edilmiştir.

4.2 Renk Analizi

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, +4°C'de 21 günlük depolama süresi boyunca renk değişimleri izlenmiştir.

Kefire serbest formda eklenmiş balık yağı içeren örneğin (K+S), kefire aroma ile serbest formda eklenmiş balık yağı içeren örneğin (K+SA) ve sade kefir örneğinin L* değerleri 0. günden 21. güne kadar düzenli bir azalış göstermiştir. Kefire balık yağının emülsiyon formunda katıldığı örneğin (K+E), kefire aroma ile balık yağının emülsiyon formunda katıldığı örneğin (K+EA) ve emülsiyon örneğinin ise 0. günden 21. güne kadar genel itibariyle artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, emülsiyon eklenmiş kefir örneklerindeki bu hafif artışın emülsiyon eklenmesinden kaynakladığı düşünülmektedir.



Şekil 4.5 4°C buzdolabında depolanan örneklerin L* renk değerleri A,B, C, D: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$) a, b, c, d: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$) (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

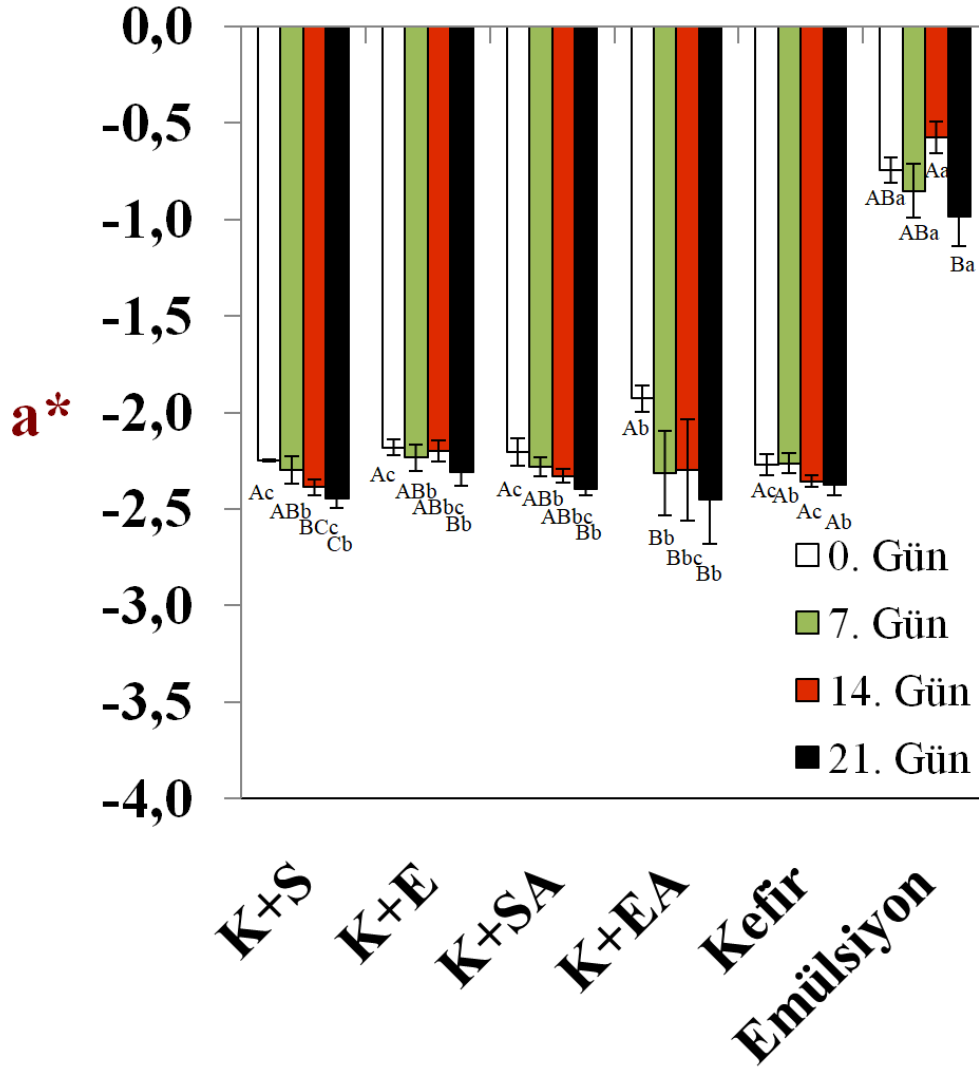
Elde edilen sonuçlar +4°C’de 21 gün boyunca depolanan serbest formda balık yağı içeren kefirlerin ve sade kefirin, L* değeri olarak bilinen parlaklık- açıklık düzeylerinin gün geçtikçe azaldığını göstermektedir. Kefire serbest formda balık yağının eklendiği

örneklerin (K+S ve K+SA) L* değerleri, sade kefir örneğine göre daha düşük olduğu ve aralarında istatistiki açıdan önemli bir fark olduğu saptanmıştır ($p>0,05$). Bu farklılık, balık yağının beraberinde PASP izolatının da kefir örneğine eklenmesiyle birlikte, kefirin kendine has beyaz renginde meydana gelen seyrelmeden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tam aksine, emülsiyon örneğinin L* renk değeri, 0. gün sade kefir örneğinden düşük miktarda az olsa da, depolamanın 7., 14. ve 21. günlerinde bütün kefir örneklerinden istatistiki olarak daha yüksek L* değerlerine sahip olmuştur. Depolama boyunca emülsiyon örneğinde gerçekleşen bu L* değerindeki hızlı artışın bir sonucu olarak, emülsiyon içeren K+E ve K+EA örneklerinde depolama boyunca artış yaşanması kaçınılmaz olmuştur.

Tez çalışmasında sade kefir örneğinin L* değerlerinin depolama süresince ortalaması $83,30\pm0,48$ dir. Yapılan bir çalışmada $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanan sade kefir örneğinin L* değerleri 1., 7. ve 14. günlerde sırasıyla $83,76\pm1,00$, $83,84\pm0,87$ ve $83,88\pm0,77$ olarak bulunmuştur (Kök Taş vd. 2014). Köktaş vd.'nin (2014) yapmış olduğu çalışmada sade kefir için elde ettiği değerler ile yakın sonuçlara ulaşılmıştır. Yaptıkları çalışmada L* değerinin depolama süresince değişiminin istatistiki açıdan önemli bir düzeyde olmadığı belirtilmiştir. Tez çalışmasında da 0., 7. ve 14. günlerde sade kefir örneğinde istatistiki açıdan herhangi bir fark bulunmamaktadır. Ancak 21. günde istatistiki olarak önemli bir azalış söz konusu olmuştur ($p<0,05$).

Tomar (2015) tarafından yapılan bir çalışmada %3 yağlı inek sütü ve starter kültür ile elde edilen kefir örneğinin $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün boyunca depolanmasıyla L* değerlerinde önemli bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir. 1., 7., 14. ve 21. günler için sırasıyla 88,17; 88,21; 88,29 ve 88,26 değerlerine ulaşılmıştır. Tomar'ın (2015) yaptığı çalışmadaki kefirde L* parlaklık- açıklık değeriyle ilgili bu azalış, yapılan tez çalışmasıyla da uyumlu sonuçlar vermiştir, çünkü Tomar'ın (2015) çalışmasında da 14. güne kadar istatistiki açıdan önemli bir değişiklik gözlemlenmemiş ($p>0,05$), 21. gün istatistiki açıdan önemli bir düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiği zaman, kefire ait L^* değerlerinin, kefirin içeriğine ve elde ediliş metoduna göre değişiklik göstermekle birlikte çoğunlukla 70-100 aralığında sonuçlara sahip ve tez çalışmasıyla uyumlu olduğu saptanmıştır. Sarıca vd.'nin (2021) çalışmasında kefir örneğinin L^* değeri depolamanın 1. gününde $84,65 \pm 0,04$ iken, 28. gününde $85,13 \pm 0,05$ olarak ölçülmüştür. İki ölçüm arasındaki fark istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur. Setyawardani vd. (2020) tarafından %100 süttten oluşan bir kefirin L^* değeri $68,95 \pm 5,14$ bulunmuştur. Başka bir çalışmada (Gürel vd. 2021) inek sütünden elde edilen kefirin $94,95 \pm 0,15$ L^* değerine sahip olduğu bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada (Gül vd. 2018) inek sütünden elde edilen kefir örneklerinin L^* değerleri starter kültür kullanıldığında $91,80 \pm 0,12$; kefir danesi kullanıldığında $91,93 \pm 0,14$ olarak bulunmuş, aralarında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır. Esen ve Güzeler'in (2019) yaptığı bir çalışmada farklı oranlarda demineralize peynir altı suyu tozu ve yağsız süt tozu kullanılarak kefir yoğurtları üretilmiştir. L^* değerleri 94,78 ve 96,16 arasında değişiklik göstermiş, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolamanın genelinde artış gözlenirse de dalgalanmalar söz konusu olmuştur. Örneklerin çoğunda depolama süresi boyunca yaşanan değişiklikler istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Örnek

Şekil 4.6 4°C buzdolabında depolanan örneklerin a* renk değerleri

A, B, C: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

a, b, c: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

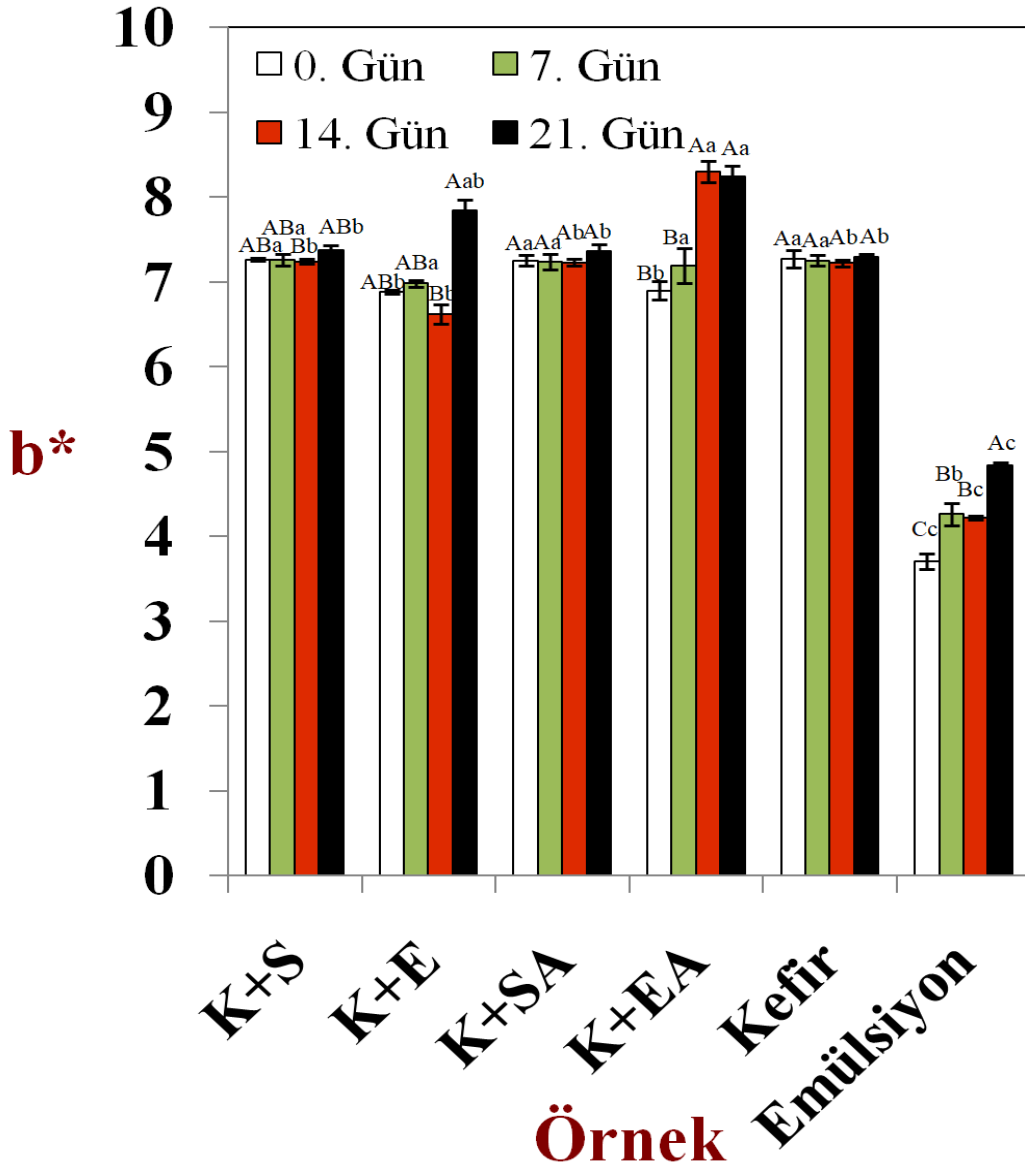
(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Balık yağının kefire serbest formda eklendiği aroma içermeyen (K+S) ve aroma eklenmiş (K+SA) örnekler, balık yağının emülsiyon halinde eklendiği aroma içermeyen (K+E) ve aroma içeren (K+EA) örnekler, sade kefir örneği ve emülsiyon örneği olmak üzere tüm örnekler 0. günden 21. güne dek, +4°C’de depolama boyunca giderek azalmıştır. Kefir örneklerinin a* değerleri -2,45 ile -1,93 arasında değişiklik göstermiştir ve ortalama olarak -2,29 civarında seyretmiştir. Renk ölçümlerinde a* değeri eğer negatif (-) yönde artış gösteriyor ise yeşil, pozitif (+) yönde artış gösteriyor ise kırmızıyı temsil etmektedir. Sonuçlar incelendiği zaman bütün kefir örneklerinin negatif değerlerde olduğu, bu sebeple yeşillik değerinin kırmızılığa göre daha baskın olduğu fark edilmektedir. Hatta depolama süresinin sonuna dek kefir örneklerinin genelinde yeşilliğin düzenli bir şekilde arttığı görülmektedir.

Erik ilaveli ve pekmez ilaveli kefir örneklerini inceleyen bir çalışmada, kontrol örneği olarak sade kefir seçilmiştir (Kök Taş vd. 2014). Kefir örnekleri +4°C’de 14 gün boyunca depolanmıştır. Sade kefir örneğinin sahip olduğu a* değerleri sırasıyla 0., 7. ve 14. günlerde -1,81±0,62; -2,19±0,29; -2,35±0,03 olarak bulunmuştur. Tez çalışmasında görüldüğü gibi, Kök Taş vd.’nin (2014) çalışmasında da sade kefire ait a* değerleri depolama boyunca azalmıştır. Tomar (2015) tarafından, farklı yağ oranlarına sahip inek ve manda sütleri kullanılarak iki ayrı üretim methodology ile üretilen kefir örneklerinin depolama süresince bazı kalite karakteristiklerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmada kefire ait renk değerleri ölçülmüştür. %3 yağlı inek sütü ve kefir danesiyle elde edilen kefir örneğinin +4°C’de 21 gün boyunca depolanmasıyla a* değerlerinde negatif yönde önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. 1., 7., 14. ve 21. günler için sırasıyla -3,03; -3,21; -3,44; -3,78 değerleri elde edilmiştir. Bu sonuçlar, tez çalışmasıyla kıyaslandığı zaman negatif yönde bir artış olması açısından benzerlik göstermektedir ve sayısal değerler olarak birbirine yakın sonuçlar vermiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda rastlanan sonuçlar ile tez çalışmasında bulunan sonuçlar uyum içindedir. Kefirlere ait a* değerleri negatif yönde 0,8 ile 3,5 aralığında sonuçlar vermektedir. Setyawardani vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada %100 süttten oluşan bir kefirin a* değeri -2,20±0,367 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Gürsoy vd.’nin çalışmasında (2020) kefir örneklerinin sahip olduğu a* değerleri -2,27

ile -2,40 aralığında bulunmuştur. Gül vd.'nin (2018) çalışmasında inek sütünden elde edilen kefire, kefir danesi ilavesiyle elde edilen örnek için a^* değeri $-1,01 \pm 0,14$ olarak belirtilmiştir.



Şekil 4.7 4°C buzdolabında depolanan örneklerin b^* renk değerleri

A, B, C: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0,05$)

a, b, c: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Yapılan deneyler sonucunda bütün örnekler için b^* değeri pozitif sonuçlara sahip olmuştur ve sarıya daha yatkın, beklenen bir renk ile karşılaşmıştır. Bütün örnekler için 0. günden 21. güne düzensiz hafif dalgalanmalar meydana gelmiştir, ancak tüm örneklerin sarılık değeri, ilk güne oranla artış göstermiştir. Tüm kefir örnekleri en az 6,62; en çok 8,30 değerlerine sahip olmuştur ve ortalaması 7,31 olarak bulunmuştur. 0. güne ait sonuçlar incelendiği zaman, kefir örnekleri birbirine yakın sonuçlar vermiştir ve balık yağının serbest formda eklendiği aroma içeren örnek (K+SA) için b^* değeri, sade kefir örneğinden istatistiki olarak farksız bulunmuştur. Depolamanın son gününde ise (21. gün) K+S ve K+SA ile sade kefir örneği istatistiki olarak birbirinden farksız bulunmuştur. Emülsiyon içeren örneklerde ise daha yüksek b^* değerleri bulunmuştur. Buna göre, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 21 günlük depolama sonucunda, serbest formdaki balık yağı, kefirin rengini etkilememektedir ancak emülsiyon içeren kefir örneklerinde sarılık değerinin yükseldiği fark edilmiştir. Ancak, önceki günler için hemen hemen sade kefirle aynı sonuçları göstermekte, bu fark 21. gün istatistiki açıdan farklı görülmektedir ($p<0,05$).

Gürsoy vd.'nin (2020) 6 farklı markaya ait kefir örneği üzerine yaptığı renk analizleri sonucunda b^* değerleri $4,80\pm0,10$ ile $6,03\pm0,39$ arasında çıkmıştır. Sarıca vd. (2021) tarafından keçiyoynuzu ilavesiyle elde edilen kefirlerin test edildiği çalışmada sade kefirin b^* değeri depolamanın ilk gününde $6,27\pm0,02$; 28. gününde ise $6,42\pm0,08$ olarak bulunmuştur. Burada gözlenen hafif artış, tez çalışması ile uyumludur.

Pekşen'in (2018) depolama süresinin mikroenkapsüle edilmiş keten tohumu yağı ile zenginleştirilmiş yoğurtların üzerindeki etkilerini incelediği çalışmada dondurularak kurutma işlemiyle mikroenkapsüle edilmiş omega-3 kaynağı ele alınmıştır. $30-40^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün boyunca depolanan örneklerin renk değerleri ölçülmüştür. a^* değeri, kontrol örneği olan sade yoğurtta ve kapsüllenmemiş serbest yağ içeren yoğurt örneğinde azalış gösterirken, enkapsüle edilmiş yağ içeren yoğurt örneğinde artış göstermiştir ancak bu artış, istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Tez çalışmasına paralel olarak, sade kefir örneğinde ve serbest formda balık yağı içeren örneklerde (K+S ve K+SA) depolama süresince bir azalış yaşanmış olup, emülsiyon örneği ve emülsiyon içeren

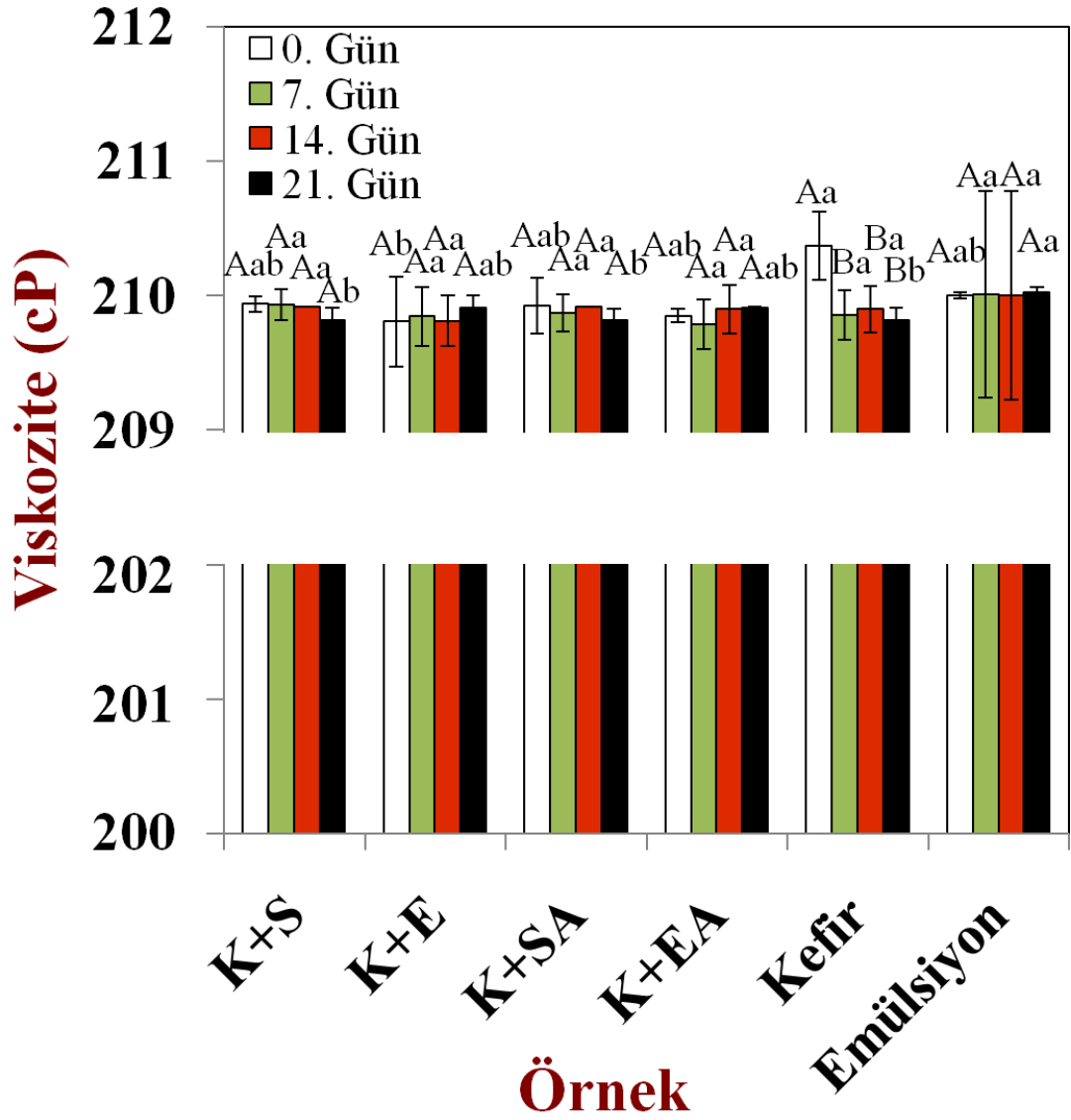
kefir örneklerinde (K+E ve K+EA) dalgalanmalar, düzensiz artış ve azalışlar söz konusu olmuştur.

Flokülasyonun, emülsiyonların optik özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, suda yağ emülsiyonunun renk değerlerinde a^* 'nın negatif, b^* 'nin pozitif yani yeşillik ve sarılık değerlerinin varlığı kanıtlanmıştır (Chantrapornchai vd. 2001). McClements vd. (2020) tarafından, emülsiyonun parçacık boyutunun artışının, L^* değerini artırma yönünde doğrudan etkilediği ve boyut artışıyla birlikte L^* değerinin yükseldiği bildirilmektedir. Tez çalışmasında yer alan emülsiyon örneğine ait değerler incelendiği zaman, depolama süresince artan parçacık boyutuyla ilişkili olarak artan L^* değerleri; a^* değerinin sarımsı, b^* değerinin yeşilimsi renk değerlerine sahip olduğu görülmüş ve tez çalışması yukarıdaki sonuçlarla doğrulanmıştır.

4.3 Viskozite Analizi

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 21 günlük depolama süresi boyunca viskozite değişimleri izlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucu tüm örneklerin viskozitelerinde depolama süresi boyunca meydana gelen hafif değişimlerin istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). 0. güne ait sonuçlarda sade kefir örneğinin viskozitesinin diğer örneklerle kıyasla daha yüksek değerde olduğu görülmektedir. Bunun sebebi hazırlanan örneklerin homojen bir dağılım olması adına ilk gün elle mekanik çalkalamaya tabi tutulmuş, ancak sade kefir örneği için buna ihtiyaç duyulmamış olmasıyla açıklanabilir. Bu sebeple sade kefir örneğinin kıvamı ekstra bir çalkalama işleminden geçmediği için ilk gün daha yüksek viskoziteye sahip olup ilerleyen günlerde diğer örnekler ile arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.8 °C buzdolabında depolanan örneklerin viskozite değerleri

A, B: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0,05$)

a, b: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Elde edilen sonuçlar, Garrote vd.'nin (2001) kefir danelerinin boyutu üzerine yapmış olduğu bir çalışmada kefir örneklerinde ölçtüğü viskozite değerlerinin aralığında çıkmıştır. Garrote vd.'nin (2001) çalışmasında 81-238 cP aralığında saptanan viskozite değerleri, tez çalışmasındaki yaklaşık 210 cP olarak bulunan değerleri kapsamaktadır.

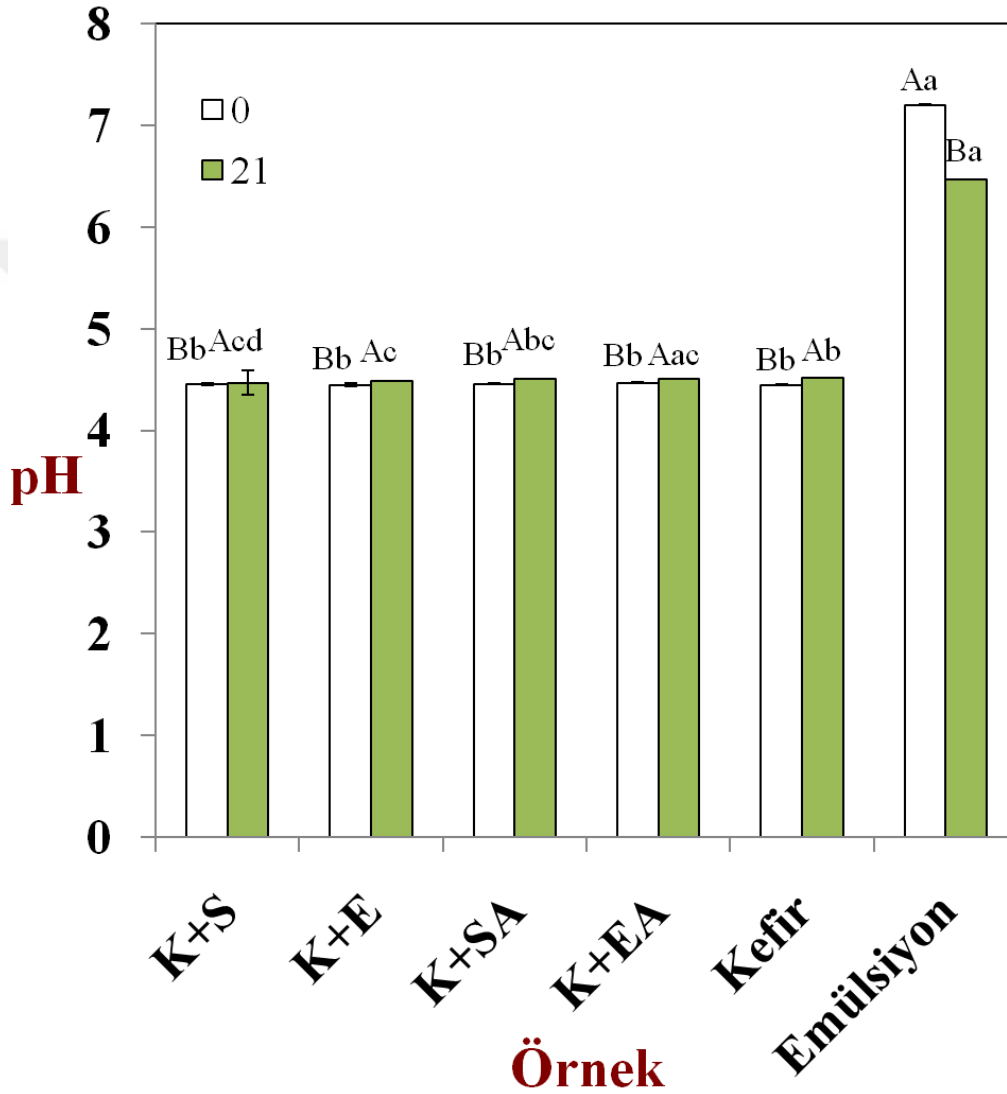
Benzer şekilde Iriyogen vd. (2005) kefir üzerine yaptığı bir çalışmada 179-501 cP aralığında değerlere ulaşmış ve bu sonuçlar da yine tez çalışmasındaki viskozite değerlerini kapsar nitelikte bulunmuştur.

Yine yapılan başka bir çalışmada, pH'nın etkisiyle ayranın görünür viskozitesindeki değişimler net bir şekilde gözlemlenmiş, 20 günlük depolama süresince pH 4,6; pH 4,4; ve pH 4,2'nin sırasıyla görünür viskozite değerleri ortalama 100 cP; 200 cP ve 250 cP civarında seyretmiştir. Kefir ile ayran arasındaki uyuma bağlı olarak bu sonuçlar pH 4,4 civarında seyrederken yaklaşık 200 cP viskozite değerinde olması sebebiyle, tez çalışmasını destekler nitelikte olmuştur (Akbulut Çakır ve Bozkurt 2020).

Depolamanın 0. ve 14. gün aralığında, serbest balık yağı içeren K+S ve K+SA örnekleri, emülsiyon olarak balık yağı içeren K+E ve K+EA örneklerinden daha yüksek viskozite değerlerine sahip olmuştur. 21. gün istatistiksel olarak büyük bir fark olmasa da, tam tersi bir durum gözlemlenmiştir (**Şekil 4.8**). Bu durumu destekleyen, yoğurdun saf balık yağı veya ön emülsifiye balık yağı ile zenginleştirildiği bir çalışmada, saf balık yağı ve PASP izolatı ile stabilize edilmiş balık yağı içeren bir suda yağ emülsiyonunun yoğurda eklenmesiyle örnekler 30 gün boyunca soğuk bir ortamda muhafaza edilmiş ve viskozite değerleri ölçülmüştür. İlk günler saf balık yağı ile zenginleştirilen yoğurdun viskozitesi, emülsiyon ile zenginleştirilen yoğurdunkinden daha yüksek bulunmuştur; bu, emülsiyon ilavesinin sebep olduğu incelleme etkisine atfedilmiştir (Let vd. 2007).

4.4 pH Analiz Sonuçları

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, +4°C’de 21 günlük depolama süresi boyunca pH değişimleri izlenmiştir.



Şekil 4.9 4°C buzdolabında depolanan örneklerin pH değerleri

A, B: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)

a, b, c: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K: Sade Kefir; E: Emülsiyon)

Kefir örnekleri ve emülsiyon örneğine yapılan pH deneylerinde 0. ve 21. güne ait sonuçlar incelendiğinde, başlangıçta kefir örneklerinde ölçülen pH değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). 21 günlük depolama sonrasında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde 0. günden itibaren bütün kefir örneklerinde küçük bir oranda artış gözlemlenmiştir.

Kefirin antosiyanin değeri yüksek meyve suları ile zenginleştirildiği bir çalışmada, sade kefir örneğinin 12 günlük depolanması sonucunda 0. gün $4,31 \pm 0,01$ pH değerinde; 12. gün $4,38 \pm 0,01$ pH değerinde olduğu saptanmıştır (Alagöz Kabalcı vd. 2020). Yapılan tez çalışmasında da pH değerleri 21 günlük depolamada 0. gün $4,45 \pm 0,01$; 21. gün $4,56 \pm 0,01$ değerinde ölçülmüş olup Alagöz Kabalcı vd.'nin (2020) çalışmasında ölçtüğü sade kefir örneğindeki pH değerlerindeki artışlar ile örtüşmektedir.

Omega-3 balık yağı ile zenginleştirilmiş kefir örneklerinin 21. güne ait pH değeri, kontrol örneği olan sade kefirde biraz daha düşük olarak bulunmuştur. Bunun sebebi içeriğindeki yağ asitlerinden kaynaklanıyor olabilir. Benzer şekilde Beheshtipour vd.'nin (2012) yoğurt örneklerini ÇDYA bakımından zengin olan mikroalgler ile zenginleştirerek yaptığı çalışmanın sonucu olarak; zenginleştirilmiş yoğurt örneklerinin pH değerlerinin, kontrol örneğinden daha düşük olduğu belirtilmiştir.

Kök Taş vd.'nin (2014) yapmış olduğu bir çalışmada sade kefirin 1., 7. ve 14. günlerde ölçülen pH değerleri sırasıyla $4,39 \pm 0,14$; $4,26 \pm 0,00$; $4,22 \pm 0,04$ bulunmuştur. pH değerindeki düşüş mikrofloradan kaynaklı olarak yorumlanmıştır.

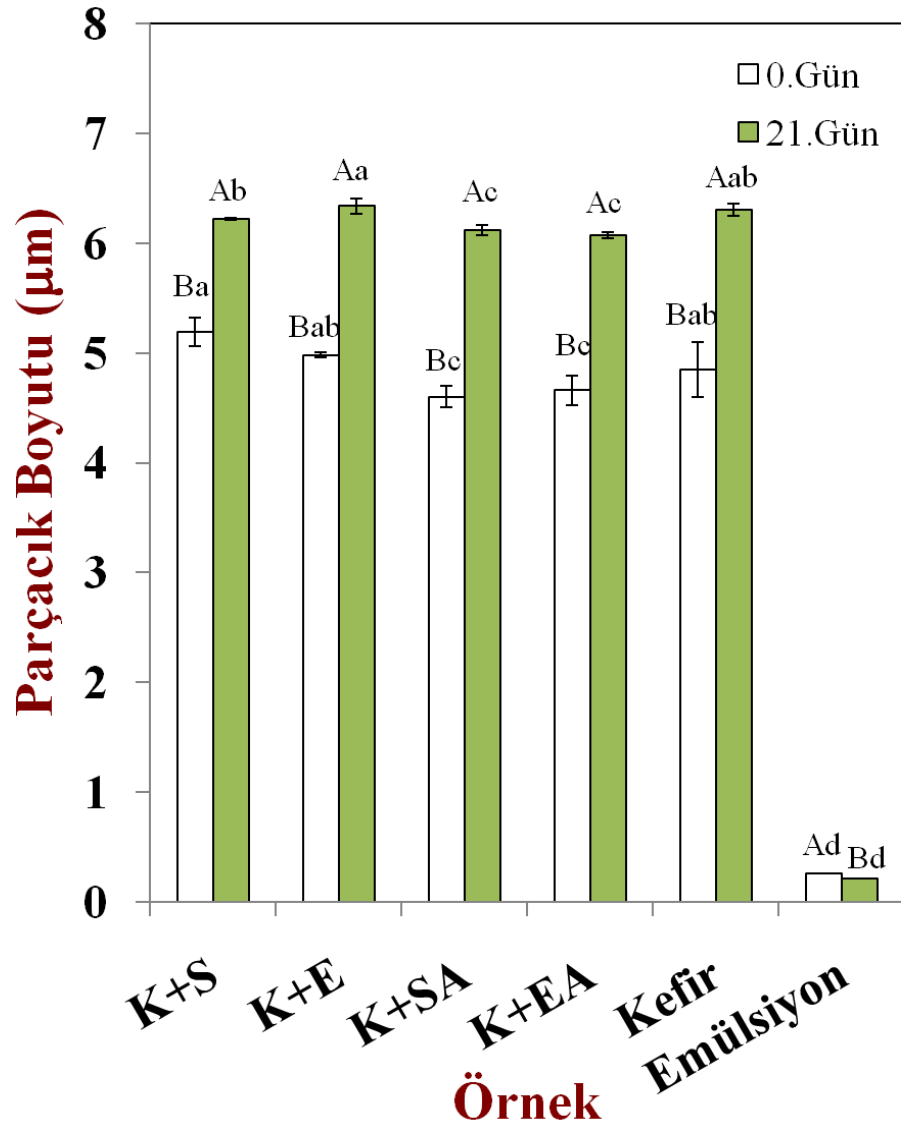
Iriyogen vd.'nin (2005) çalışmasında da depolama süresince kefirde pH önemli derecede değişmemiştir. Bunun sebebini, laktik asit bakteri popülasyonunun zamanla azalmasına bağlamıştır. Bu durum, mayaların varlığından kaynaklanabilir, çünkü Yaka (1996), laktik asit bakterilerinin mayalarla karışık yer aldığı zaman, saf kültüre oranla daha yavaş çoğaldığını ve laktik asit ile asetik asit ürettiklerini belirtmiştir.

Yapılan tez çalışmasında emülsiyon örneğinin 21 günlük depolama boyunca pH değeri düşmüştür. Bu değişim istatistiksel olarak önemli sayılmaktadır ($p<0,05$). Santos vd.'nin (2021) su içinde balık yağı emülsiyonunda koloidal stabilite üzerine yaptığı bir çalışmada, 4°C'de 180 günlük depolama sürecine maruz kalan balık yağı nanoemülsiyonlarının pH değerindeki azalış, tez çalışması ile eşdeğer sonuçlar göstermiştir (Santos vd. 2021).

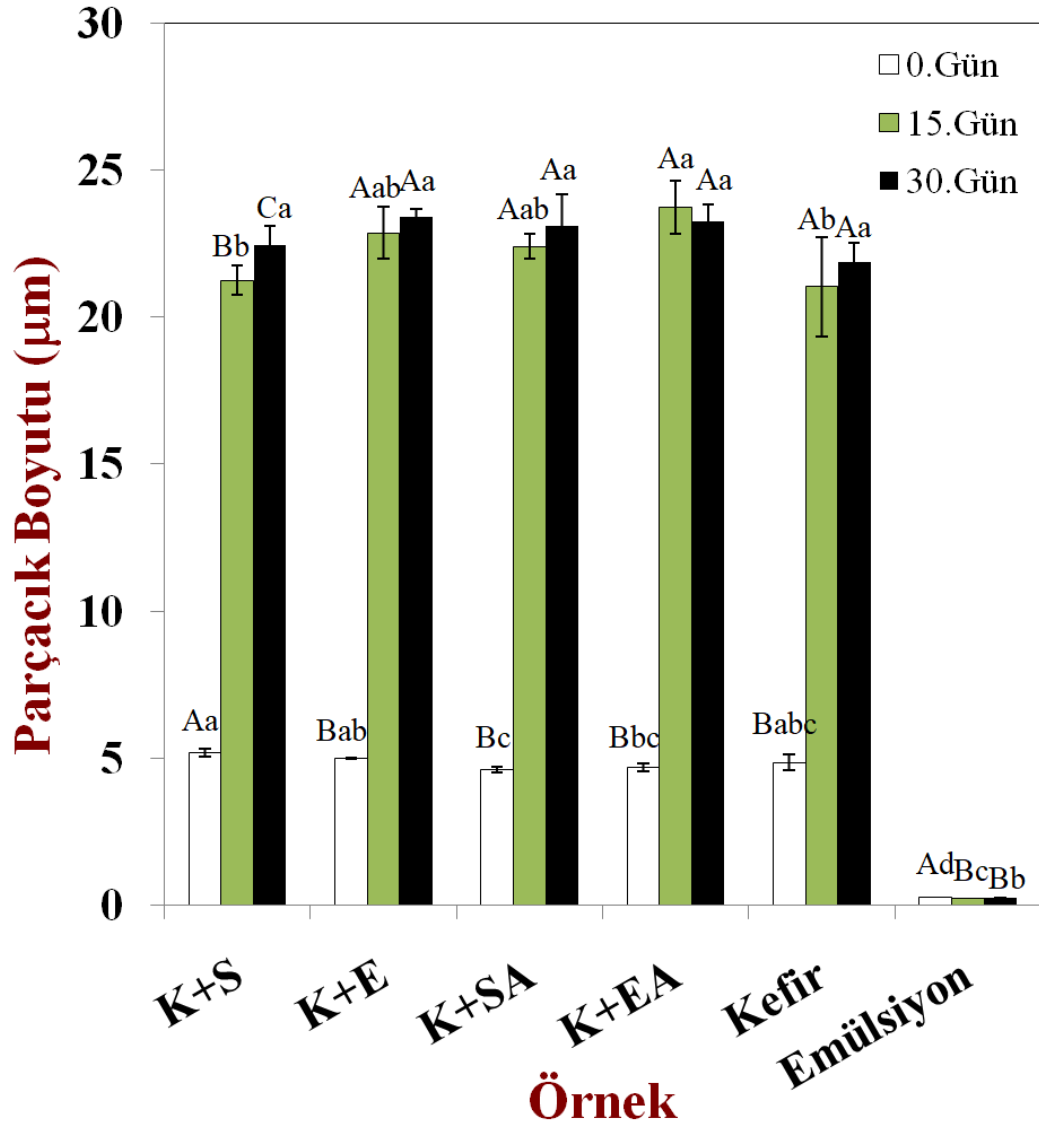
4.5 Parçacık Boyutu (d_{32}) Değişimi

İçecek emülsiyonlarına ait uygulanabilirliği ve kaliteyi etkileyen en önemli faktörlerden birisi, üretimden sonra raf ömrü boyunca fiziksel ve kimyasal niteliklerindeki değişimlere karşı gösterdikleri stabilitedir. Fiziksel stabilitede parçacık boyutu (d_{32}), emülsiyonlar için büyük önem taşır. Homojenizasyon ve mikroakışkanlaştırıcı cihazlarından geçirildikten sonra omega-3 balık yağı ile PASP izolatu içeren aromalı ve aromasız 4 farklı kefir örneği; sade kefir örneği ve emülsiyon örneğinin 21 günlük depolama süresince 4°C'de parçacık boyutu (d_{32}) değerleri ölçülmüştür. Bütün kefir örneklerinde gözlemlendiği üzere, 0. günden 21. güne doğru parçacık boyutlarında bir artış olmuştur. Emülsiyon örneğinin boyutu değerlendirildiğinde ise depolama süresince küçük bir azalış gözlemlenmiştir ve emülsiyon yüksek bir fiziksel stabilite sergilemiştir.

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, +4°C'de 21 günlük ve 60°C'de 30 günlük depolama süresi boyunca parçacık boyutu (d_{32}) değişimleri izlenmiştir.



Şekil 4.10 4°C buzdolabında depolanan örneklerin parçacık boyutu (d_{32}) ölçümleri
A, B: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)
a, b, c: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)
(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)



Şekil 4.11 60°C etüvde depolanan örneklerin parçacık boyutu (d_{32}) ölçümleri
A, B, C: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)
a, b, c: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0,05$)
(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)

Beirami- Serizkani vd. (2021) çalışmalarında 4°C’de 30 günlük depolamaya tabi tutulan sade kefir örneğinin parçacık boyutunun sürekli olarak arttığı gözlemlenmiştir. 1. gün $285,00 \pm 5,00$; 10. gün $310,66 \pm 2,51$; 20. gün $315,00 \pm 7,21$; 30. gün $376,66 \pm 25,14$ μm olarak ölçülmüştür. Bu değerler tez çalışmasında ölçülen değerlerin çok üzerinde olsa da, depolama boyunca gözlemlenen artışlar, iki çalışmanın paralel sonuç veren kısmı olmuştur.

Tez çalışmasında **şekil 4.10**’da da görüldüğü üzere, çalışma başında üretilen balık yağı emülsiyonunun (%10 balık yağı) 4°C’de 21 günlük depolama süresi içerisinde 0. ve 21. gün için parçacık boyutları sırasıyla 258 nm ve 215 nm olarak ölçülmüştür. Omega- 3 ÇDYA ile zenginleştirilmiş emülsiyonların 0,5 μm ’nin altında bir ortalama parçacık boyutuna sahip olması, emülsiyonun iyi bir fiziksel stabiliteye sahip olduğunun göstergesidir (Gümüş vd. 2017a).

Tez çalışmasına benzer olarak %10 balık yağı içeren, PASP hidrolizatı ile oluşturulmuş nanoemülsiyonun fiziksel stabilitesini destekleyen çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bir tanesi Padial-Dominguez vd.’nin (2020) omega-3 emülsiyonlarının stabilizasyonu için antioksidan aktiviteye sahip protein kaynaklı emülgatörler üzerine yaptığı çalışmadır. Parçacık boyutu (d_{32}) değeri yaklaşık olarak 144 ± 2 nm olarak ölçülmüş ve 10 günlük depolama sürecinin sonuna kadar fiziksel stabilitesi bozulmamıştır. Benzer içerikler ile ağırlıkça % 2,5 balık yağı, % 0,25 PASP içeren emülsiyonların hazırlandığı, örneklerin karanlık ortamda 25°C’de 7 gün süreyle depolandığı bir çalışmada emülsiyonların parçacık boyutu (d_{32}) değeri ölçülmüştür. pH 7’de ölçülen sonuçlar 0. gün ve 7. gün 160 ± 10 nm olarak stabil kalmıştır (Oiu vd. 2015). Benzer şekilde Santos vd. (2021) balık yağı içeren bir nanoemülsiyon oluşturmuş ve fiziksel stabilitesini değerlendirmiştir. 4 °C ve 25 °C sıcaklıkta parçacık boyutu oldukça az bir düzeyde düşüş gösterse de (200 nm’nin altında) stabil kalmaya devam etmiş ve önemli bir değişiklik kaydedilmemiştir ($p \leq 0,05$).

Tez çalışmasındaki sonuçlar ile Walker vd.'nin (2015) balık yağı emülsiyonlarını spontan emülsifikasyon ile üreterek fiziksel ve oksidatif stabilite üzerine yaptığı çalışmadaki sonuçlar da birbirini destekler niteliktedir. 5, 20 ve 37°C'de 14 gün boyunca depolama sırasında nanoemülsiyonlar fiziksel olarak stabil kalmıştır. Parçacık çapı, depolama süresinden ve değişen depolama sıcaklıklarından etkilenmemiştir. Bu sonuçlar, flokülasyon, birleşme ve Ostwald olgunlaşmasından kaynaklanan parçacık büyümesine karşı nanoemülsiyonların stabil olduklarını göstermektedir (McClements ve Rao 2011). Parçacık boyutu arttıkça, parçacıkların birbirine çarpışma sıklığı azalır ve birleşme yönelimi artar (Capek 2004).

Kefir örneklerinin çoğunda depolama süresi ilerledikçe, parçacık boyutunda artış görülmüştür. 60°C'de 0. günden 15. güne çok yüksek bir artış miktarı olmuş, 30. gün bu artış miktarı düşmüş ancak devam etmiştir (**Şekil 4.11**). Emülsiyonlar ve nanoemülsiyonlar, sıcaklık karşısında stabil kalabilme yeteneğine sahip değildir. Bu sebeple sade kefir örneğine kıyasla, emülsiyon içeren K+E ve K+EA örneklerinin depolamanın 15. gününde ulaştığı parçacık boyutları istatistiki yönden farklı olup, daha yüksek sonuçlar vermiştir. K+EA örneğinin 15. günden 30. güne olan depolama süresince parçacık boyutundaki hafif düşüş istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). K+S örneği dışındaki bütün kefir örnekleri için 15. ve 30. gün arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark yoktur ($p>0,05$). Emülsiyon örneği için benzer şekilde 0- 15 gün arası istatistiksel yönden önemli bir azalış gözlemlenmiş olup 15- 30 gün arası azalış istatistiksel yönden önemsiz bulunmuştur.

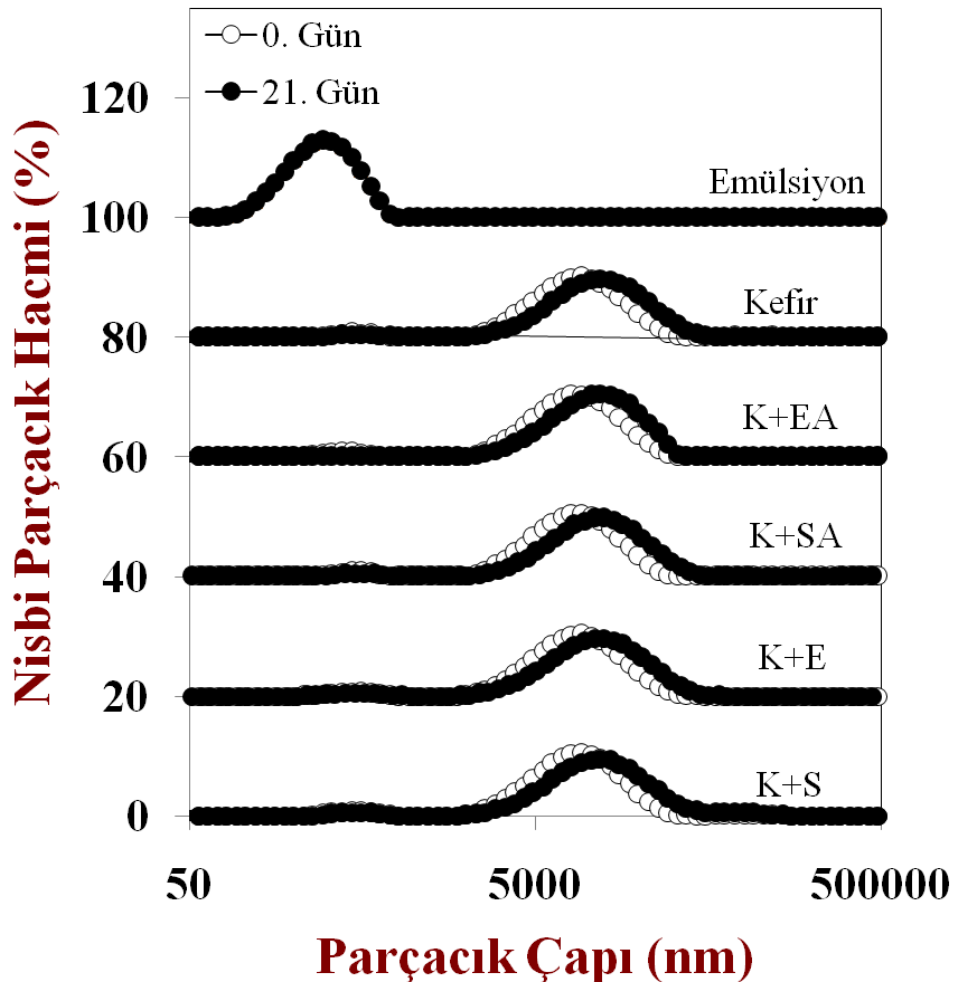
Elde edilen sonuçlara göre 60 °C etüvde 30 günlük depolama süresi boyunca kefirlerin parçacık boyutu artmakta, ancak 15. günden sonra gerçekleşen artışlar, istatistiksel açıdan önemsiz boyutta olmaktadır. Ancak, sıcakta depolama testleri, kefir örneklerinin gerçek saklama koşulları değildir ve sadece hızlandırılmış oksidasyon testi için tercih edilmektedir. Bu nedenle fiziksel stabilite testlerinde buzdolabında saklama koşulları gerçeği daha çok yansıtan testlerdir.

Tez çalışmasında **şekil 4.10** incelendiği zaman, kefir örneklerinin hepsinin $\sim 5\mu\text{m}$ başlangıç parçacık boyutuna sahip olduğu ve 21. gün sonunda $\sim 6,5\mu\text{m}$ boyutuna artış gösterdiği gözlemlenmektedir. Bu sonuçlara benzer şekilde, Let vd.'nin (2007) süt, yoğurt ve salata sos ürünlerini saf balık yağı ve emülsifiye balık yağı ile zenginleştirmeleri üzerine yaptığı çalışmada, kefir örneğine en yakın verilerin toplanabilmesi adına yoğurt ürününün zenginleştirilmesi üzerine yapılan kısım incelenmiştir. Çalışmada 29 gün boyunca soğuk ortamda (5°C) muhafaza edilen örneklerin parçacık boyut (d_{32}) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bir yoğurt örneğine saf balık yağı eklenmiş, diğer yoğurt örneğine ise emülsiyon halinde balık yağı eklenmiştir. Her iki yoğurtta da depolama süresince parçacık boyutunda (d_{32}) önemli derecede bir miktar artış gözlemlenmiştir. Serbest yağ ve emülsiyon içeren örnekler için sırasıyla parçacık boyutları 1. günden 29. güne $5,0\mu\text{m}$ 'den $6,1\pm 0,2\mu\text{m}$ 'ye ve $3,2$ 'den $3,7\pm 0,1\mu\text{m}$ 'ye yükselmiştir.

Tez çalışması kapsamında, emülsiyon içeren kefir örneklerinin, serbest olarak katılmış balık yağı içeren kefir örneklerinden daha küçük parçacık boyutlarına sahip olması beklenmekteydi; ancak, depolama süresince böyle bir sonuca ulaşamadı. Kefir içeceğine balık yağının emülsiyon halinde katılmasıyla, balık yağının serbest formda katılması arasında net bir boyut farkı gözlenmemiştir. Bu sonuçlar hem 4°C 'deki buzdolabında depolanan örnekler, hem de 60°C etüvde depolanan örnekler için geçerlidir.

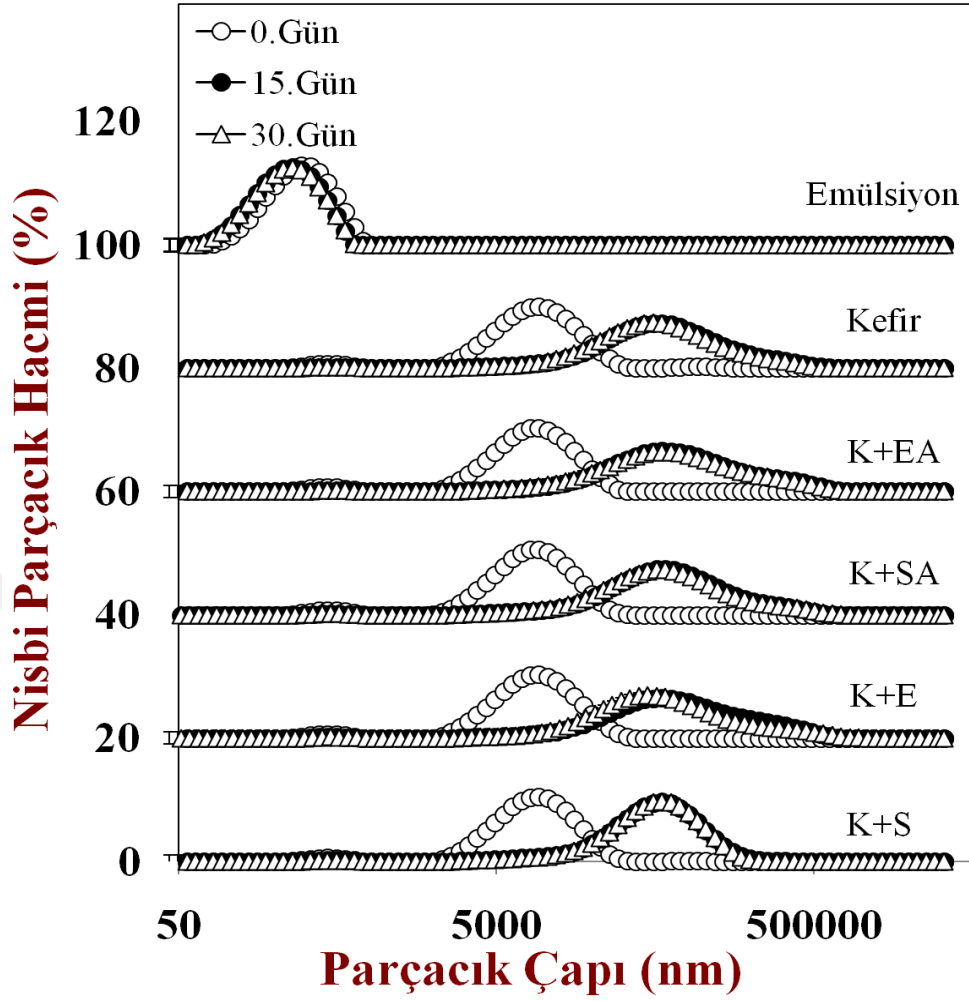
4.6 Parçacık Boyut Dağılımındaki Değişimler

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, +4°C’de 21 günlük ve 60°C’de 30 günlük depolama süresi boyunca parçacık boyutu dağılımındaki değişimler izlenmiştir.



Şekil 4.12 4°C’de 21 günlük depolama süresi boyunca örneklerin parçacık boyut dağılımları

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; Kefir: Sade Kefir; Emülsiyon: Emülsiyon)



Şekil 4.13 60°C'de 30 günlük depolama süresi boyunca örneklerin parçacık boyut dağılımları

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K: Sade Kefir; E: Emülsiyon)

+4°C'de 21 gün boyunca depolanan örneklere ait parçacık boyut dağılımları görülmektedir (Şekil 4.12). Açık renkli yuvarlak simge 0. günü, koyu renkli yuvarlak simge ise 21. günü temsil etmektedir. Depolamanın ilk gününden son gününe kadar bütün kefir örneklerinde ve emülsiyon örneğinde tek pikli bir dağılım söz konusu olmuştur. Kefir örneklerinin hepsinde, depolamanın 21. gününde daha büyük parçacık boyutlarında yoğunlaşma olduğu ve zaten Şekil 4.12'de de kefir örneklerindeki ortalama parçacık boyutunun depolamanın 21. gününde düşüşe geçtiği net bir şekilde görülmektedir. Emülsiyon örneğinde ise sahip olduğu parçacık boyutu dağılımında 0. günden 21. güne herhangi bir değişim olmadığı fark edilmiştir.

60°C’de 30 günlük depolama süresi boyunca örneklerin parçacık boyut dağılımları ise **Şekil 4.13**’te görüldüğü gibidir. Açık renkli yuvarlak simge 0. günü, koyu renkli yuvarlak simge 15. günü, açık renkli üçgen simge ise 30. günü temsil etmektedir. Görüldüğü üzere, bütün örneklerde depolamanın ilk gününden son gününe dek tek pikli bir dağılım söz konusu olmuştur. Bütün kefir örneklerinde benzer bir parçacık boyutu dağılımı görülmektedir. Kefir örnekleri 0. günden 15. güne doğru daha geniş ve daha büyük boyutlarda bir dağılım sergilemiştir. 15. günden 30. güne doğru ise çok büyük bir değişim yaşanmamıştır; yani kefir örneklerinin 0 ila 15. gün arasında stabilitesinde bozulmalar görülmüş ancak 15. günden sonra 30. güne dek belirli bir değişim gözlenmemiştir. Emülsiyon örneğinde ise 0. günden 30. güne doğru az miktarda da olsa düşük parçacık boyutunda yoğunlaşma olduğu fark edilmiştir. Bu sonuçlar **Şekil 4.13**’teki 60°C etüvde depolanan örneklerin parçacık boyutu (d_{32}) ölçümleri ile paralel sonuçlar vermiştir. Çünkü kefir örneklerinde 0. günden 15. güne ciddi bir boyut artışı olmuş, ancak 15. günden 30. güne daha az miktarda bir artış gözlemlenmiştir. Emülsiyon örneği için de gittikçe azalan bir parçacık boyutu olmuş ve parçacık boyut dağılımındaki sonuçları destekleyebilecek niteliktedir.

Her iki sıcaklık için de ölçülen bu değerler, serbest formda balık yağı içeren kefir örnekleriyle, nanoemülsiyon içerisinde balık yağı içeren kefir örnekleri arasında fiziksel stabilite açısından bakıldığında çok büyük bir fark olmadığını; nanoemülsiyonun kararlı bir duruş sergileyebilme yeteneği olmasına rağmen baskın ortamın kefir olmasından kaynaklı kefir örneklerinin içerisindeyken hangi formda katıldığının çok büyük bir önemi olmadığını göstermiştir. Ayrıca, depolama sıcaklığının, kefir üzerinde ciddi bir etkisinin olduğu, fiziksel stabilitesinde bozulmalar gözlemlendiği ve parçacıkların boyut dağılımındaki bu artışın sıcaklığa bağlı olduğu net bir şekilde görülmüştür. Aynı zamanda emülsiyon örneği için de, +4°C’de depolandığı zaman daha stabil kalabildiği ancak 60°C’de depolandığı zaman stabilitesinde belirli değişiklikler yaşanabileceği ön görülmektedir. Bu sebeple süt bazlı bu örneklerin hepsi için ideal saklama koşulları +4°C olarak belirlenmelidir.

Costa M. vd.’nin (2020) parçacık boyutunun su içinde balık ve zeytinyağı emülsiyonlarında ve nanoemülsiyonlarında antioksidanların arayüzey konsantrasyonları

ve oksidatif stabiliteleri üzerindeki etkileri hakkında yapmış olduğu çalışmada mümkün olan en küçük parçacık boyutlarına sahip nanoemülsiyonlar hazırlamak için, kaba emülsiyonların mikroakışkanlaştırıcıdan geçirilmesi gereken döngü sayısının, parçacık boyutu dağılımı üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Kaba emülsiyonların parçacık boyutu dağılımları, mikroakışkanlaştırıcı cihazından geçmeden önce iki pikli bir dağılım gösterirken; cihazdan geçtikten sonra tek pikli bir dağılım göstermiştir. Yani parçacık boyutları belirgin bir şekilde azalırken, parçacık boyut dağılımları da monomodal (tek pikli) bir forma geçmiştir. Balık yağı için de, zeytinyağı için de sonuçlar 3. geçirme döngüsünden sonra sabit kalmıştır. Bu sebeple 3 geçişli bir protokol uygun bulunmuştur. Yapılan tez çalışmasında da 3 geçiş kullanılmış olup, küçük parçacık boyutlarına sahip, tek pikli dağılımda nanoemülsiyonlar elde edilmiştir.

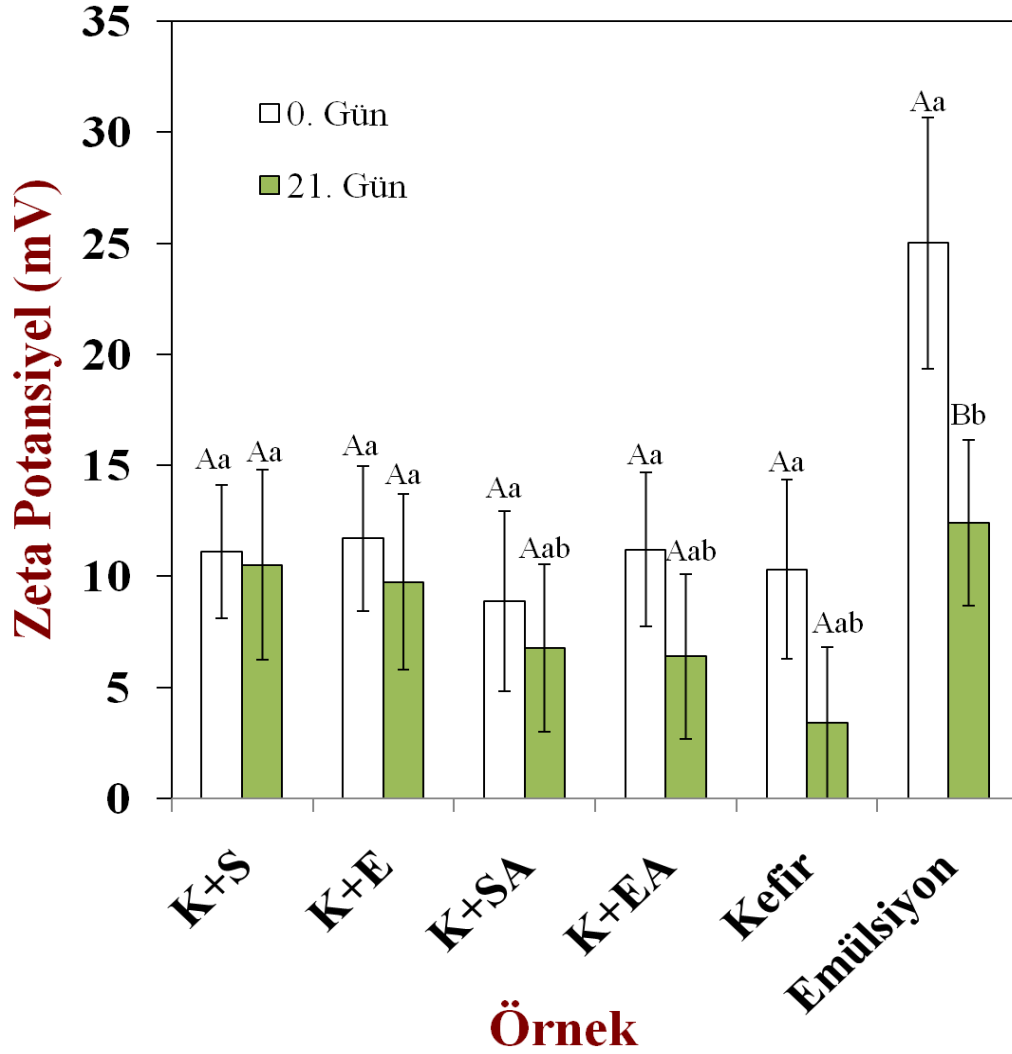
Santos vd.'nin (2021) balık yağı nanoemülsiyonlarının fiziksel stabilitesi üzerine yaptığı bir çalışmada, +4°C ve 25°C'de depolama süresinde örneklerin parçacık boyutlarıyla birlikte parçacık boyut dağılımları da değerlendirilmiştir. +4°C'de depolanan balık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama parçacık boyutu $155,44 \pm 6,46$ nm ve 25°C'de depolanan balık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama parçacık boyutu ise $163,04 \pm 9,97$ nm olarak ölçülmüştür. Deney sonuçları incelendiği zaman parçacık boyut dağılımları her iki sıcaklıkta da düşük parçacık boyutunda yoğunlaşan bir dağılım göstermiş ve stabil parçacık sistemleri davranışı sergilenmiştir. Nanoemülsiyonlar 338 gün boyunca depolanmıştır. Her iki sıcaklık için de parçacık boyut dağılımlarında hafif miktarda da olsa bir sola kayma (daha düşük parçacık boyutunda yoğunlaşma) ve tek pikli bir dağılım gözlemlenmiştir. Parçacık boyutu dağılımlarında 1. gün +4°C'de depolanan örnek daha küçük parçacık boyutlarında yoğunlaşan bir dağılım göstermiş, 7. ve 15. günlerde ise 25°C'ye göre daha büyük parçacık boyutlarında yoğunlaşan bir dağılım ölçülmüştür. 30. gün tekrar küçük boyutlarda dağılım gösterdikten sonra 60, 180 ve 338. günlerde +4°C'de depolanan örneklerin parçacık boyut dağılımı 25°C'ye göre daha büyük olmuştur. Sıcaklığın parçacık hareketi üzerinde doğrudan bir etkisi olduğu düşünülmektedir ve bu nedenle, 25°C'de depolamada daha büyük boyutlarda damlacık boyut dağılımlarıyla karşılaşmıştır.

Walker vd. (2017) suda balık yağı nanoemülsiyonları oluştururken farklı taşıyıcı yağlar kullanarak (orta zincirli trigliseritler, limon yağı ve kekik yağı) nanoemülsiyonun stabilitesi üzerine etkilerini araştırmıştır. 42 gün boyunca hem 20°C hem de 45°C’de depolamaya tabi tutulan örneklerin termal stabiliteleri parçacık boyutu (d_{32}), parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli açısından değerlendirilmiştir. 20°C’de depolanan limon ve kekik yağı ile kombine edilmiş balık yağı örneklerinin boyutları (0. günden 42. güne) incelendiğinde kararlı bir yapı sergilendiği gözlemlenmiş ve değişiklikler istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). 45°C’de örneklerin parçacık boyutları ve parçacık boyut dağılımları incelendiği zaman orta zincirli trigliserit ve limon yağı içeren balık yağı nanoemülsiyonları depolama süresince parçacık büyümesine karşı kararlı bulunmuştur, ancak kekik yağı içeren balık yağı nanoemülsiyonlarında parçacık boyutunda ve parçacık boyut dağılımında ciddi bir artış meydana gelmiştir. Bu artışın yağ parçacıklarının birleşmesi veya Ostwald olgunlaşması sebebiyle gerçekleştiği tahmin edilmiştir. Aynı zamanda kekik yağının yüksek bir suda çözünürlüğe sahip olmasından kaynaklı olarak hızlı bir parçacık büyümesine yol açtığı saptanmıştır. Bu çalışma bazı nanoemülsiyonların, yüksek sıcaklıklarda daha kararsız bir yapı sergilediklerini ve fiziksel olarak stabilite sorunu yaşayabildiklerini göstermiştir.

Gümüş vd. (2017b) farklı protein türleri ile stabilize edilen (bakla, bezelye, mercimek proteinleri ve PASP) ve 37°C’de muhafaza edilen balık yağı nanoemülsiyonlarının ortalama parçacık çapı ve parçacık boyutu dağılımlarını incelemiştir. Bitki proteinleri tarafından stabilize edilen emülsiyonların d_{32} parçacık boyutlarında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamış olup 376 ila 409 nm civarında sonuçlar vermiştir ancak PASP izolatu kullanılarak üretilen emülsiyonların ortalama parçacık çapı, bitkisel bazlı olanlara göre çok daha düşük (130 nm) bulunmuştur. PASP kullanılarak üretilen nanoemülsiyonun parçacık boyut dağılımı, diğer bitkisel bazlı proteinler kullanılarak üretilen nanoemülsiyonların parçacık boyutu dağılımlarından daha düşük parçacık boyutlarında yoğunlaşmıştır. Tüm emülsiyonlar tek pikli bir parçacık boyut dağılımına sahip olmuştur ve 21 günün sonunda oluşan küçük bir büyük parçacık popülasyonu olduğu belirtilmiştir.

4.7 Elektriksel Yük Değişimleri

Tez çalışmasında oksidasyon analizlerinde kullanılan altı örneğin, +4°C’de 21 günlük depolama süresi boyunca elektriksel yük değişimleri izlenmiştir.



Şekil 4.14 4°C buzdolabında depolanan örneklerin elektriksel yük değişimleri Zeta (Ç) Potansiyel ölçümleri

A, B: Aynı örneğin günler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

a, b: Aynı gün içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K: Sade Kefir; E: Emülsiyon)

Emülsiyonların içerdiği lipit parçacıklarının agregasyon stabilitesinin değişme sebebi, yüzey potansiyellerindeki (yani elektriksel yüklerindeki) değişimdir. Bir diğer adıyla ζ -potansiyelidir. ζ -potansiyelinin azalışı, parçacıklar arasındaki elektrostatik itme gücünün zayıflaması nedeniyle emülsiyonların fiziksel stabilitesinin de azaldığını gösterir (Yi vd. 2020).

Nanoemülsiyonların farklı pH değerlerinde yüzey potansiyeli değerleri de değişiklik göstermektedir. Eğer pH değeri artarsa, yüzey potansiyelinin mutlak değerinde önemli bir artış gözlemlenir. PASP izolatının sıfır yük noktası olarak geçen izoelektrik noktası (pI) yaklaşık 4,6-5,6 civarında bulunmuştur (Kulmyrzaev vd. 2000, Taherian vd. 2011). PASP gibi proteinler ile kaplı parçacıkların yüzey yükü, onu çevreleyen sulu fazın pH değerine bağlı olarak protein moleküllerinin amino gruplarının ($-\text{NH}_2$) ve karboksil gruplarının ($-\text{COOH}$) iyonizasyon derecesi tarafından yönetilir. İzoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde, ζ -potansiyel sıfıra yakın olur, bu da katyonik yüklü grupların sayısının anyonik yüklü grupların sayısına eşit olduğunu ve bu sebeple parçacıkların net yüzey yükünün nötr olduğunu gösterir (Surh vd. 2006). Bir protein molekülü, izoelektrik noktanın altındaki pH değerlerinde pozitif; izoelektrik noktanın üzerindeki değerlerde negatif yüklenir. pI'nın altındaki değerlerde pozitif yüklenmesinin temel sebebi pozitif yüklü amino gruplarının varlığıdır. pI'da pozitif ve negatif yüklü grupların sayısı eşittir ve bu sebeple proteinin net yükü sıfırdır. Eğer proteinin yük yoğunluğu düşük ise (pI'ya yakın pH değerlerinde), dağılmış parçacıkların agregasyona karşı stabilitesinin de oldukça düştüğüne dair çalışmalar mevcuttur (Lee vd. 2010).

Komaiko vd. (2016) doğal emülgatörlerden üretilen nanoemülsiyon bazlı taşıyıcı sistemlerde omega-3 yağ asitlerinin kapsülasyonu üzerine bir çalışma yapmış ve doğal emülgatör olarak ayçiçeği fosfolipitlerini seçmişlerdir. Nanoemülsiyon üretmek için mikroakışkanlaştırıcıdan 12000 psi basınç ve 3 döngü halinde geçirme kısımları tez çalışmasıyla aynıdır. Elde ettikleri nanoemülsiyonlardan bazıları (Sunlipon75 ve Sunlipon90) pozitif yüklü ζ -potansiyel sonuçları göstermiş, sırasıyla 2 ve 1 mV değerinde ölçülmüşlerdir. 0'a yakın sonuçlar, fiziksel stabiliteilerinin düşük olduğunu ve flokülasyona karşı direncinin düşük olduğunu göstermektedir, çünkü elektrostatik itme gücü çok düşük seviyededir. Ayrıca, fiziksel görünüşleri optik olarak opak süt beyazı

renkte olup, bu görünüşleri yağ parçacıklarının, ışığın dalga boyuna benzer boyutlara sahip parçacıklar içermelerinden kaynaklanmakta olduğunu belirtmişlerdir.

ζ -potansiyel ölçümü, süt bazlı içeceklerin stabilizasyon mekanizması hakkında bilgi sahibi olmak için kullanılan bir parametredir. Ürün stabilitesi sıcaklık, ürünün içerdiği bileşenler, viskozite gibi faktörlerden etkilenmektedir (Teimouri vd. 2018). Tez çalışmasında nanoemülsiyon örneğinin ζ -potansiyeli, başlangıçta (0. gün) $+25 \pm 5,65$ mV, 21. günde $+12,4 \pm 3,74$ mV değerinde ölçülmüştür. $+4^\circ\text{C}$ 'de depolanan bu emülsiyon örneğinin stabilitesinin, 0. günden 21. güne doğru düştüğü, daha az mutlak yüke sahip olduğundan dolayı parçacıklar arasında daha az elektrostatik itme gücü ve az kararlı yapı sergilediği ζ -potansiyel ölçümü sonucuna bakılarak gözlemlenmiştir. Ancak, sadece ζ -potansiyel ölçümü sonucuna bakarak bu yorumu yapmak yeterli olmayacaktır. Emülsiyonun (**Şekil 4.14**) 0. günde sahip olduğu pH değeri $7,20 \pm 0,01$ ve 21. günde sahip olduğu pH değeri 6,47 dir. pH değerleri ele alındığı zaman, düşen pH ile paralel olarak ζ -potansiyel ölçümü sonuçlarında da azalış gözlemlenmiştir. Bunun temeli, PASP izolatının izoelektrik noktası olan 4,6-5-6 değerine yaklaşan pH değerlerine dayanmaktadır. 21. güne doğru gerçekleşen bu pH düşüşü, ζ -potansiyeli yüzey yükünü etkileyen ve stabilizeyi düşüren bir durum olarak pH ile ζ -potansiyeli arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.

Başka bir çalışmada PASP ile kombine edilmiş balık yağı içeren bir nanoemülsiyonun, ultrasonikasyon yöntemiyle elde edilmesi üzerine deneyler yapılmış; pH değerinin nanoemülsiyonlar üzerine etkisi incelenmiştir (Nejadmansouri vd. 2016). Çalışmada pH değerinin 4'e ayarlanması sonucunda ζ -potansiyelinin $4,3 \pm 0,2$ mV olarak pozitif değere sahip olduğu gösterilmiştir. Tez çalışmasıyla kıyaslandığı zaman ortada balık yağı içeren emülsiyonu elde etme yöntemi konusunda farklılık gösteren iki çalışma vardır. Nejadmansouri vd.'nin (2016) kullandığı ultrasonikasyon yöntemi ile elde ettiği nanoemülsiyonun ζ -potansiyeli, tez çalışmasında kullanılan mikroakışkanlaştırıcı ile elde edilen nanoemülsiyonun ζ -potansiyelinden daha düşüktür. Bu da tez çalışmasına nispeten Nejdasmansouri vd.'nin (2016) çalışmasındaki emülsiyonda parçacıklar arasındaki elektrostatik itmenin daha düşük oranda etki gösterdiği ve parçacık agregasyonunun flokülasyona yatkınlığının daha fazla olduğunu göstermektedir.

Nejadmansouri vd.'nin (2016) çalışmasının, tez çalışmasında emülsiyonun sahip olduğu parçacık boyutundan daha büyük boyutta olan emülsiyon parçacık boyutuna sahip olmasıyla desteklenmektedir.

Beirami-Serizkani vd. (2021) çalışmalarında geleneksel kefir örneğini kontrol örneği olarak kullanmış ve ζ -potansiyeli ölçümlerini gerçekleştirmiş, tez çalışmasıyla paralel olarak, azalan sonuçlar elde etmişlerdir. 30 günlük depolama boyunca ζ -potansiyelleri 1. gün $6,62 \pm 0,40$; 10. gün $5,33 \pm 0,57$; 20. gün $4,35 \pm 1,51$; 30. gün $3,66 \pm 1,26$ mV olarak ölçülmüştür. Tez çalışmasında da kefire serbest formda direk olarak eklenmiş balık yağı (K+S) örneğinde 0. gün $+11,1 \pm 3,01$ mV, 21. gün $+10,5 \pm 4,28$ mV; kefire balık yağının emülsiyon olarak eklendiği (K+E) örneğinde 0. gün $+11,7 \pm 3,26$ mV, 21. gün $+9,74 \pm 3,95$ mV; kefire direk olarak eklenmiş balık yağının aromalı olduğu (K+SA) örneğinde 0. gün $+8,87 \pm 4,06$ mV, 21. gün $+6,76 \pm 3,78$ mV; kefire balık yağının emülsiyon olarak eklendiği aromalı (K+EA) örneğinde 0. gün $+11,2 \pm 3,48$ mV, 21. gün $+6,39 \pm 3,71$ mV; sade kefir örneğinde ise 0. gün $+10,3 \pm 4,03$ mV, 21. gün $+3,39 \pm 3,43$ mV olarak ölçülmüştür. Kefir örneklerinin tümünde 21 günlük depolama sonucunda ζ -potansiyelinin düşüşte olduğu gözlemlenmiştir. Bunun beraberinde kefir örneklerinin sahip olduğu pH değerleri incelendiği zaman 0. günden (pH ortalama 4,45) 21. güne (pH ortalama 4,50) istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bir artış gerçekleşmiştir. ζ -potansiyeli sonuçları da pH ile bağlantılı olarak azalmıştır fakat bu azalış tüm kefir örnekleri için istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak, kefir örneklerinin sahip olduğu pH değerleri yaklaşık olarak 4,4'tür (**Şekil 4.14**) ve bu değer PASP'ın literatürde tanımlanmış pI değerine (4,6-5,6) yakın bir değerde olduğu için, ζ -potansiyeli yüzey yükü nötre yakın sonuçlar vermiştir. Buna rağmen, örnekler ciddi boyutlarda fiziksel karasızlıklar göstermemiştir. Bu da, parçacıkların elektrostatik itme ve fiziksel bariyer etkisinin agregasyonu engelleyecek düzeyde olduğunun göstergesidir. Tez çalışmasında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün boyunca depolanan kefir örneklerinin parçacık boyutları incelendiği zaman, 0. günden 21. güne doğru bir artış olduğu fark edilmiştir ve bunun paralelinde gerçekleşen ζ -potansiyel değerlerinde yaşanan azalış sebebiyle, parçacık boyutu ile ζ -potansiyelinin birbiriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aynı durum Beirami-Serizkani vd.'nin (2021) çalışmasında da görülmektedir.

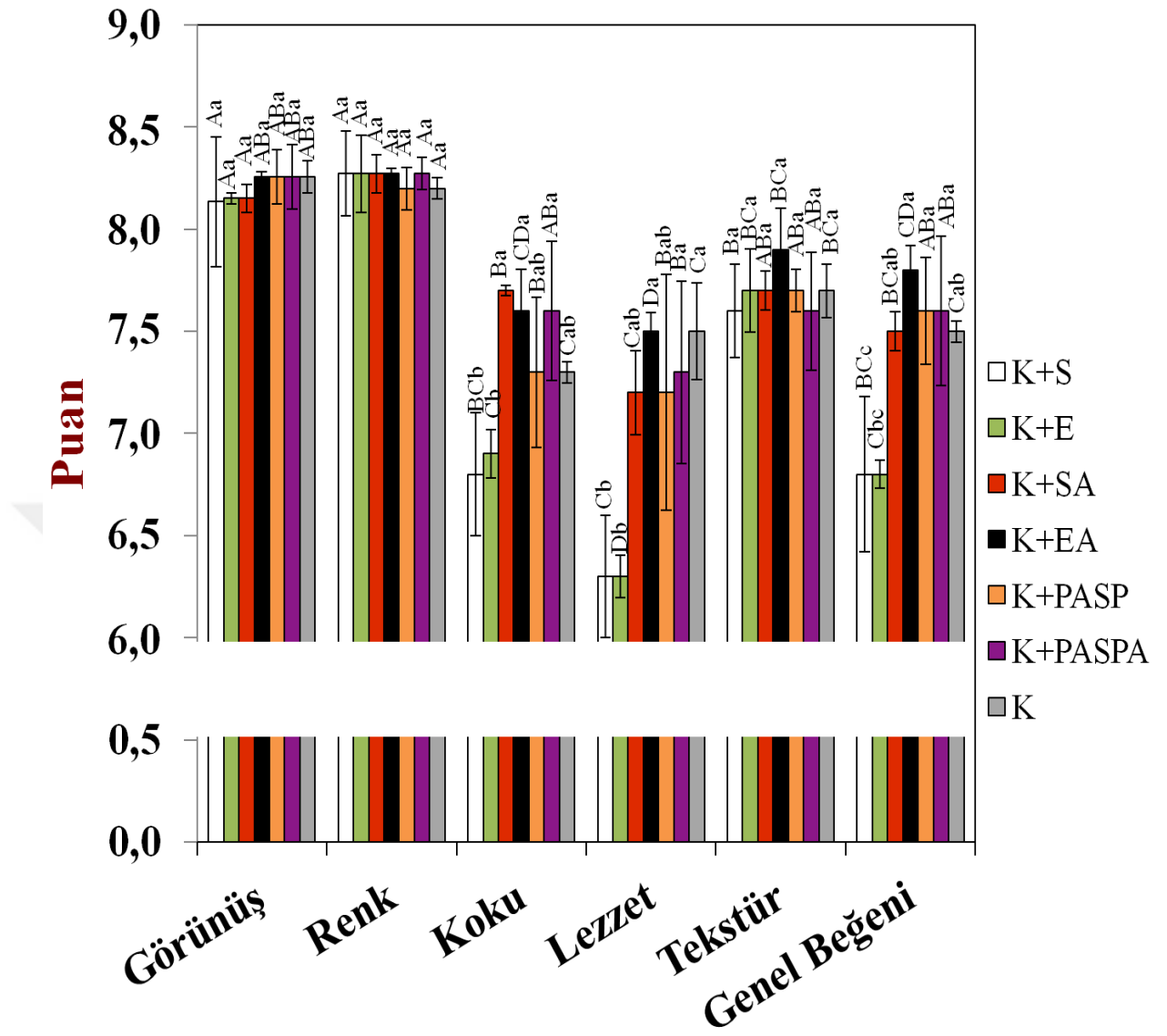
Taherian vd. (2011) tarafından PASP ve su içinde balık yağı içeren içecek emülsiyonunda fiziksel ayrılma ve lipit oksidasyonunun incelendiği çalışmada pH 3,4 değerinden 6,8'e yükselirken, balık yağı parçacıklarının yüzeyinde adsorbe edilen proteinin net elektrik yükü pozitiften negatife doğru değişmiştir. Düşük pH'daki elektrik yükü, PASP izoelektrik noktasının altındadır (pI 4,6-5,6), bu da H⁺ ve OH⁻ iyonlarının ζ -potansiyel ile ilgili belirleyici iyonlar olduğunun kanıtı olmuştur.

4.8 Kefir Örneklerinin Duyusal Olarak Kabul Edilebilirliği

Kefir örneklerine balık yağının emülsiyon içerisinde veya doğrudan (serbest olarak katılmış) ve aromalı veya aromasız eklenmesinin kefirin duyusal özellikleri üzerindeki etkisinin belirlenebilmesi amacıyla aynı 22 kişiyle 3 tekerrürlü olarak duyusal analiz yapılmıştır.

Duyusal analizde 7 adet kefir örneği, 6 farklı duyusal karakteristik (görünüş, renk, koku, lezzet, tekstür ve genel beğeni) ele alınarak değerlendirilmiştir (**Şekil 4.15**).

Örneklerin duyusal olarak kabul edilebilirlik derecesi panelistler tarafından 0'dan 9'a kadar puanlandırılmıştır. Görünüş açısından en yüksek puanı K+EA (8,26); en düşük puanı K+PASP (7,98) almıştır. Renk açısından değerlendirildiğinde en yüksek puanı yine K+EA (8,35); en düşük puanı yine K+PASP (8,20) almıştır. Panelistler tarafından görünüş ve renk kriterleri ele alındığı zaman istatistiksel açıdan önemsiz bir fark ($p>0,05$) görülmektedir, ancak puan açısından en çok, balık yağının emülsiyon içerisinde katıldığı aromalı kefirin beğenilmiştir.



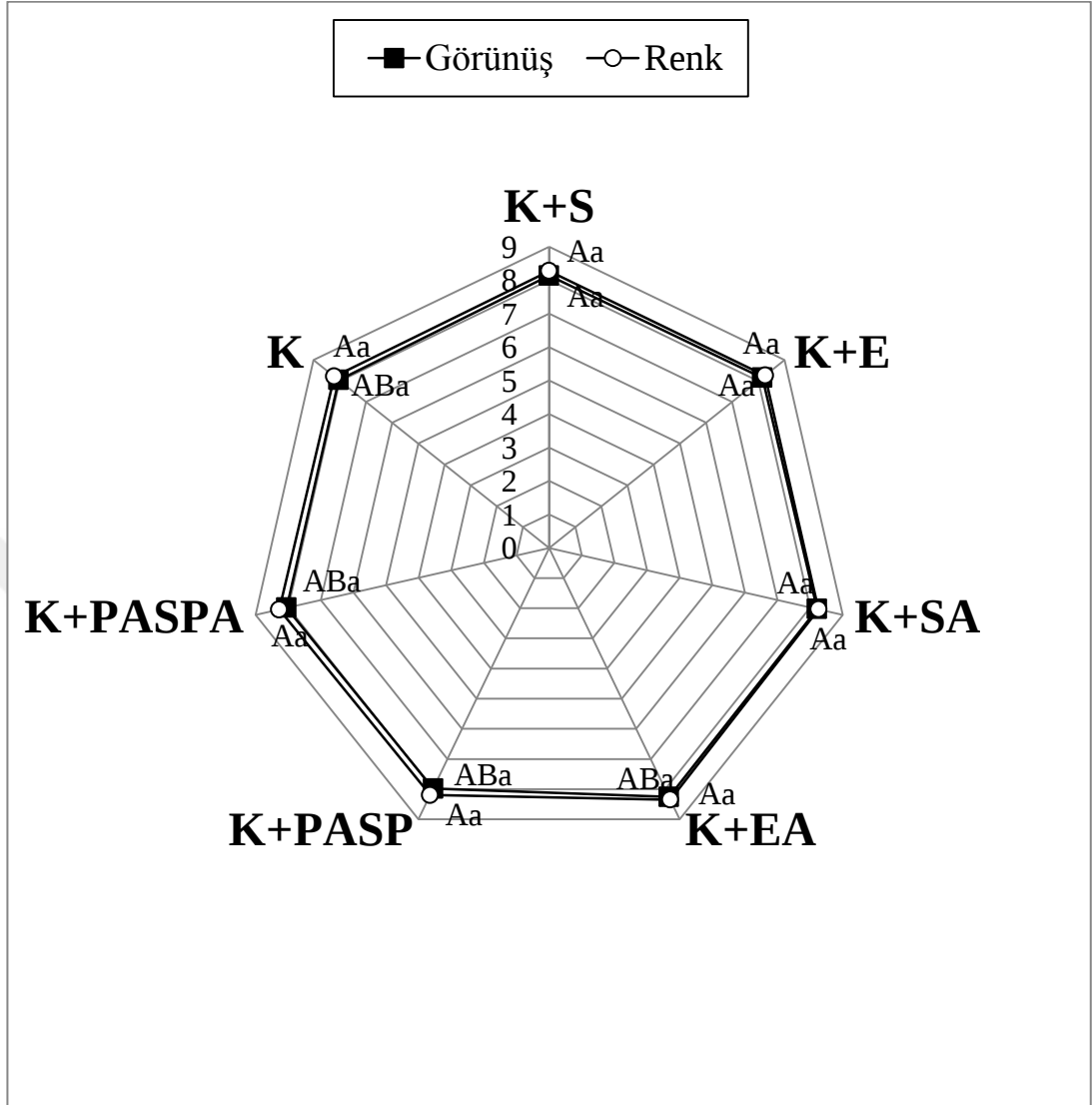
Duyusal Karakteristik

Şekil 4.15 Kefir örneklerinin duyusal analiz sonuçları

A, B, C, D: Aynı örneğin duyusal karakteristik özellikler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

a, b, c: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K: Sade Kefir)



Şekil 4.16 Kefir örneklerinin duyusal analiz görünüş ve renk puanları

A, B: Aynı örneğin duyusal karakteristik özellikler arasındaki farklılıklarını göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

a: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

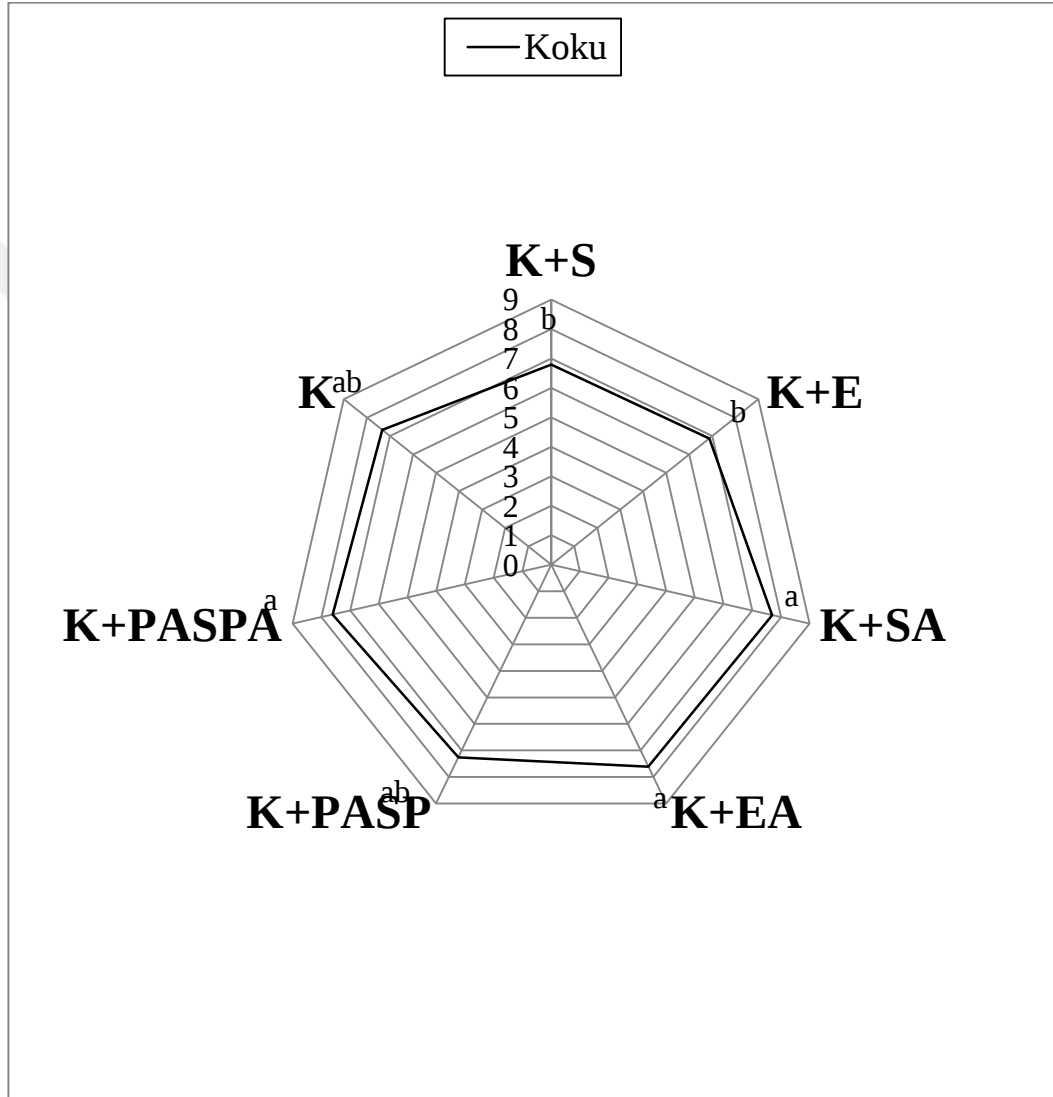
(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K: Sade Kefir)

K+S ve K+E kendi aralarında değerlendirildiğinde, balık yağının doğrudan veya emülsiyon içerisinde eklenmesi ile kefir örneklerinde görünüş ve renk açısından farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir ($p>0,05$). Benzer şekilde K+SA, K+EA ve K+PASPA aroma katılmış örnekler olup yüksek görünüş ve renk puanlarına sahiptir. Bu tezde kullanılan çilek aromasının, kefir örneklerinin renk ve görünüşünde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı sonucuna varılmıştır. Piyasada kullanılan çoğu aromalı kefirin içerisine gıda boyası da eklenmektedir ancak kefirin içerdiği renkli görüntü sebebiyle duyu analize katılan panelistler, kendileri için yapay içecek algısı oluşturduğunu; tez çalışmasındaki aromalı olsa bile beyaz renkli kefir içmenin görünüş açısından daha önemli olduğunu belirtmişlerdir. **Şekil 4.15**'te yer aldığı gibi hem görünüş hem de renk kriterleri değerlendirildiğinde bütün kefir örnekleri ele alındığı zaman birbirlerinin arasında istatistiki açıdan hiçbir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Yapılan duyu analizde kefir örneklerinin koku yönünden değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlarda en yüksek puana K+SA (7,70); en düşük puana K+S (6,79) sahiptir. Örneklerin koku açısından çoktan aza sıralaması K+SA (7,70); K+EA (7,61); K+PASPA (7,61); Kefir (7,33); K+PASP (7,26); K+E (6,86); K+S (6,79) şeklinde olmuştur. Bu sonuçlara göre, çilek aromasının, koku parametresi üzerine büyük bir etkisi olmuş ve kontrol örneği olan sade kefir örneğinden ve aromasız diğer örneklerden daha yüksek puanlar alan K+SA, K+EA ve K+PASPA'nın beğenisi daha yüksek sonuçlanmıştır. K+SA, K+EA ve K+PASPA örneklerinin koku beğenileri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Bunun beraberinde, en düşük sonucu doğrudan balık yağı içeren kefir örneği (K+S) almıştır ve bu aslında beklenen bir sonuçtur. Sade kefirin sahip olduğu doğal kokunun ardında, çok az düzeyde de olsa balık kokusu aldığını belirten panelistler olmuştur. Balık yağının emülsiyon içerisinde katıldığı kefir örneklerinde, hedeflendiği gibi balık yağına dair tanımlayıcı bir kelime kullanılmamıştır.

Alagöz-Kabakcı vd.'nin (2020) antosiyanin bakımından zengin meyve suları ile zenginleştirilmiş kefir kalitesindeki değişiklikleri incelediği bir çalışmada kefire siyah havuç, karadut, nar ve çilek suları eklenmiştir. Panelistler tarafından genel beğenide en

çok tercih edilen örnek çilek suyu ile zenginleştirilmiş kefir örneği olmuştur. Aynı şekilde koku özelliği yönüyle de çilek en çok tercih edilen meyve suyu olmuş olup, tez çalışmasında da sade kefire kıyasla çilek aromalı kefir örneklerinin daha çok beğenilmesi, çoğu tüketicinin çilek kokusunu sevdiğini vurgulayan bir gösterge olmuştur.

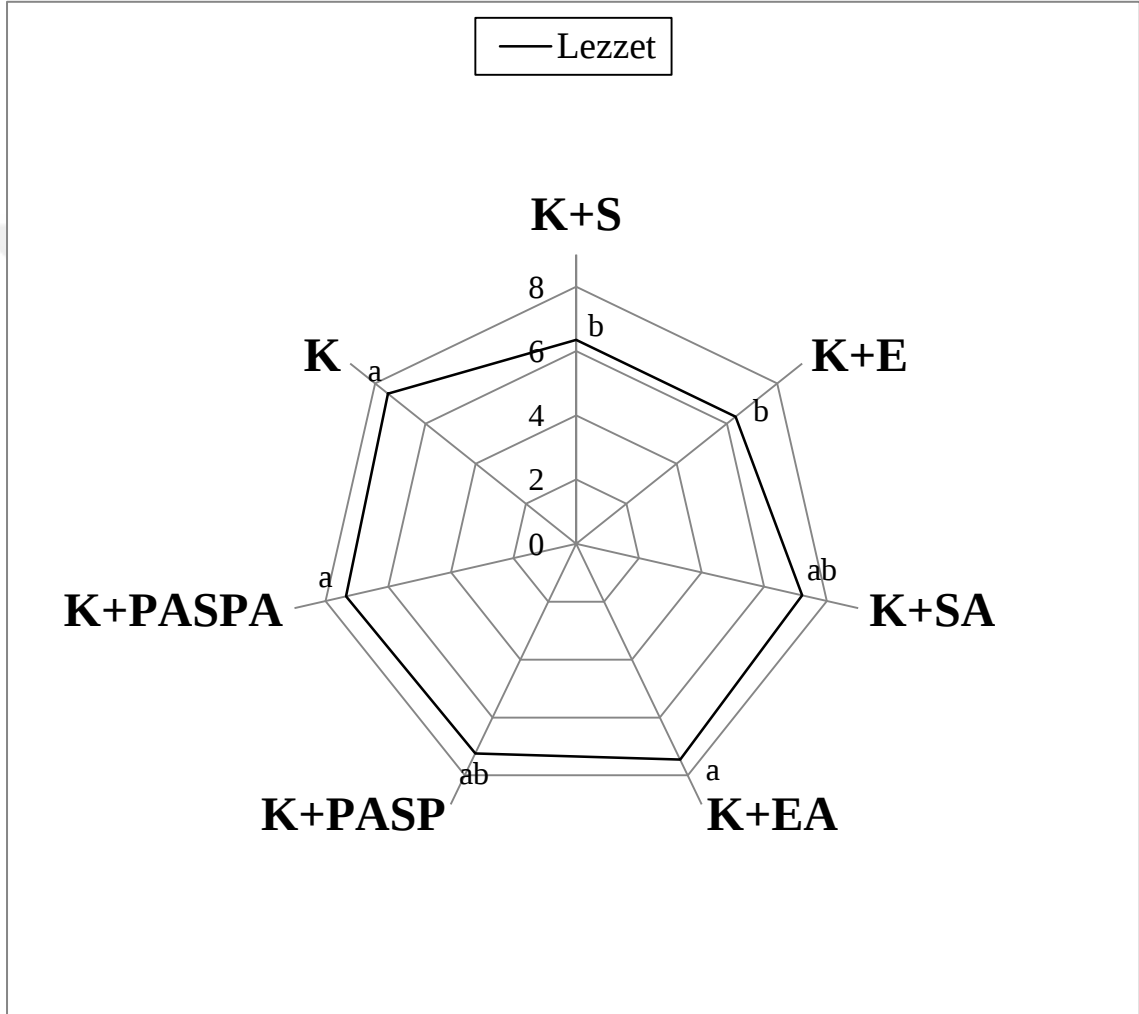


Şekil 4.17 Kefir örneklerinin duyusal analiz koku puanları

a, b: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K: Sade Kefir)

Kefir örneklerinin lezzet profili açısından değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar **şekil 4.18**'te gösterilmiştir. En lezzetli bulunan kefir örneği sade kefirde sonra K+EA (7,45); en az lezzetli bulunanlar ise K+S (6,35) ve K+E (6,35) olmuştur. Örneklerin lezzet özelliği açısından çoktan aza sıralaması K (7,50); K+EA (7,45); K+PASPA (7,35); K+PASP (7,24); K+SA (7,21); K+E (6,35) ve K+S (6,35) şeklinde olmuştur.



Şekil 4.18 Kefir örneklerinin duyusal analiz lezzet puanları

a, b: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

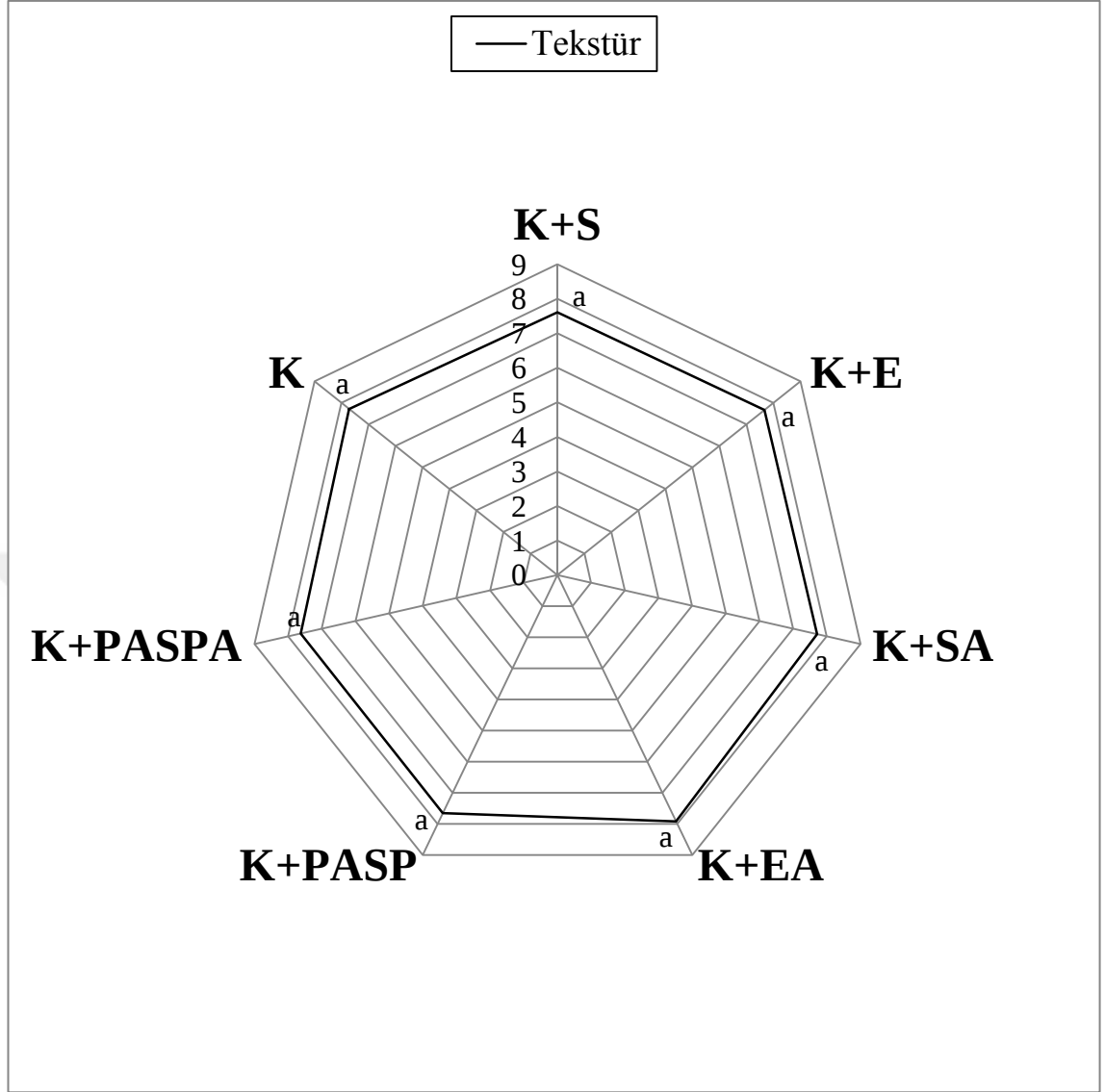
(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K: Sade Kefir)

Kefir örneklerinin lezzet puanları sıralamasında dikkat çeken bir durum olarak kefire emülsiyon içerisinde balık yağının katılması (K+E) ile kefire doğrudan katılan balık yağının (K+S) arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamasıdır ($p>0,05$). Ancak, panelistlerin kefire emülsiyon içerisinde balık yağının katıldığı örnekten (K+E) algıladığı herhangi bir balık tadı gibi tanımlayıcı bir kelime kullanmazken, doğrudan balık yağı katılan kefirde (K+S) balık tadının hissedilir boyutlarda olduğuna dair geri dönüşlere rastlanmıştır.

Yoğurt örneklerinin, nanoemülsifiye edilmiş balık yağıyla ve doğrudan balık yağıyla zenginleştirildiği bir çalışmada örnekler duyu analize tabi tutulmuş ve lezzet yönüyle, panelistlerden düşük puan alan örnek, yoğurda doğrudan katılan balık yağı örneği olmuştur. Kontrol örneği (sade yoğurt) ile nanoemülsifiye edilmiş olarak eklenen balık yağı içeren yoğurt örneğinin aldığı puanda istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) ve panelistler tarafından yüksek beğeni almıştır (Ghorbanzade 2017).

Balık yağının doğrudan katıldığı K+S örneğinden daha yüksek lezzet puanı alan aromalı çeşidi K+SA arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p<0,05$). Benzer şekilde balık yağının emülsiyon halinde katıldığı K+E örneği ile aromalı çeşidi K+EA arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Aynı zamanda aroma ilave edilmiş kefir örnekleri arasında balık yağı içermeyen PASP izolatının kefire katılmış şekli (K+PASP), aromalı olarak balık yağı içermeyen PASP izolatının kefire katılmış şeklinden (K+PASPA) daha lezzetli bulunmuştur (**Şekil 4.18**). Bu sonuçlar aromanın lezzet profili üzerine olumlu bir etkisi bulunduğunu açıkça göstermektedir.

Aroma içeren örneklerin arasında balık yağı nanoemülsiyonuyla zenginleştirilmiş kefir örneği (K+EA), panelistler tarafından verilen en yüksek lezzet puanına sahip olmuştur. Kefir örneklerinin duyu analizi sonucunda tekstür (kıvam) özelliği değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlar **Şekil 4.19**'da verilmiştir. Bu değerlendirmede en yüksek puanı alan kefir örneği K+EA (7,92); en düşük puanı alan kefir örneği K+S (7,61) olmuştur. Çoktan aza örneklerin tekstürel sıralaması K+EA (7,92); K (7,71) ve K+SA (7,71); K+E (7,67); K+PASP (7,65); K+PASPA (7,62); K+S (7,61) şeklindedir.



Şekil 4.19 Kefir örneklerinin duyusal analiz tekstür puanları

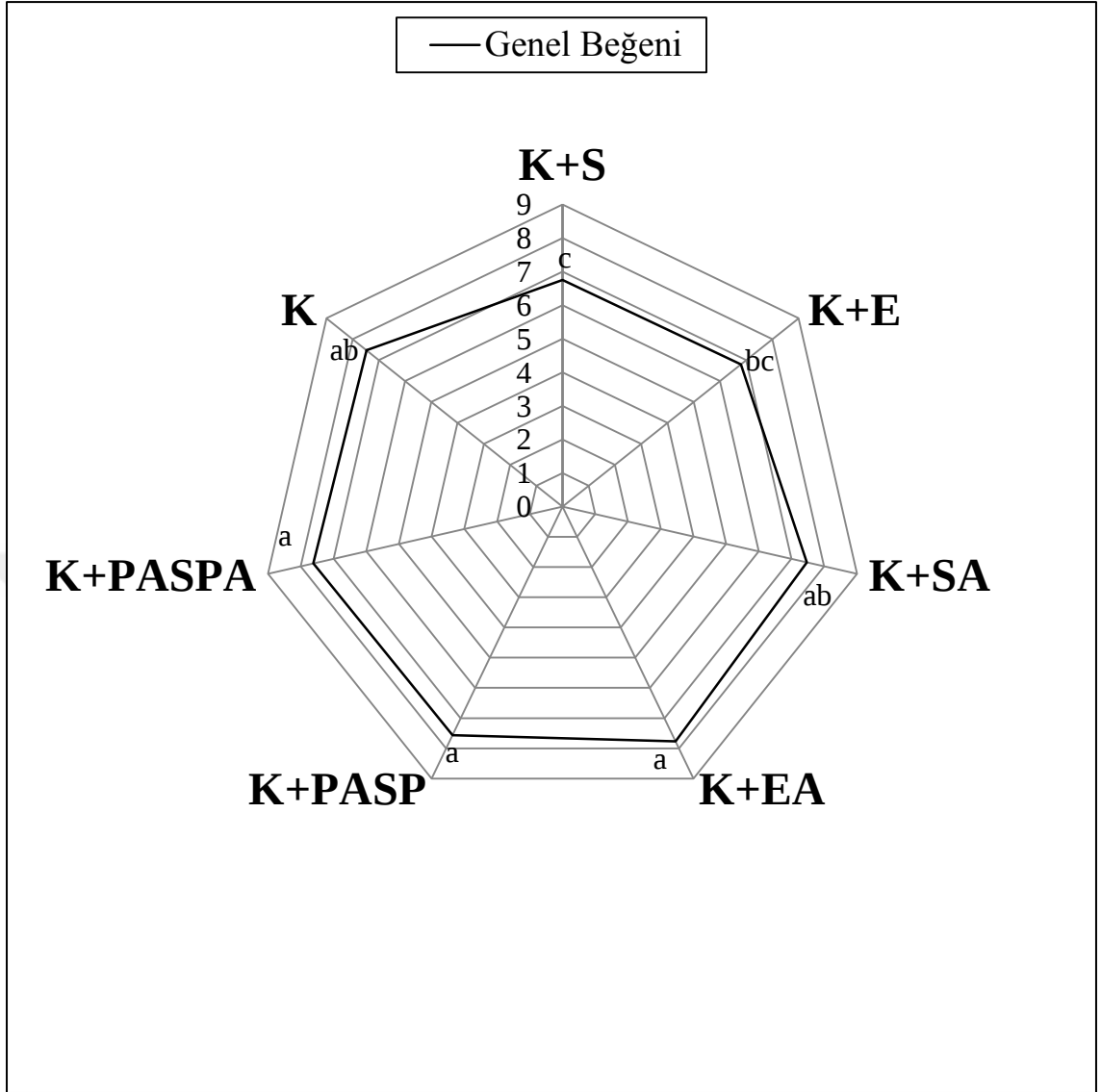
a, b, c: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K: Sade Kefir)

Duyusal analiz sırasında tekstür açısından değerlendirmeye ilgili sorular alınmış, bunun sonucunda tekstürün kapsadığı belirleyici kelimeler ile açıklama yapılmış ve tekstür bu kapsam içinde değerlendirilmiştir. Bunlar homojen yapı, ağız kaplama özelliği, akışkanlık, viskozite gibi kavramlar olmuştur. Bu kapsam içerisinde balık yağı emülsiyonu içeren aromalı kefirin, kontrol örneği olan sade kefirde daha yüksek puan almış olması Phillips vd.'nin (1995) süt ürünlerinde yağın artmasıyla birlikte ağız kaplama özelliği ve viskozitenin de doğrusal olarak arttığından kaynaklandığı açıklamasıyla bağdaştırılabilir.

Tekstürel özellik bakımından kefir örnekleri değerlendirildiği zaman aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p<0,05$). Puansal sıralamaya dikkat edilirse, en düşük puana sahip olan K+S örneğinin az beğeni aldığı görülmüştür. Bunun sebebi doğrudan eklenen balık yağının, kefir içerisinde homojen dağılmamış olma ve ortamda kefir yapısıyla iç içe geçemeyecek kadar büyük balık yağı parçacıklarına sahip olma (**Şekil 4.10**) ihtimalinden kaynaklı olarak panelistler tarafından ağızda hissedilen balık tadı ile ilişkilendirilmiş olmasıyla, diğer örneklerden düşük puan alması olabilir.

Kefir örnekleri genel beğenide 1 ile 9 arasında tanımlanan puan skalasında sırasıyla K+EA (7,77); K+PASPA (7,62); K+PASP (7,56); K+SA (7,47); K (7,47); K+E (6,80); K+S (6,76) puanlarını almıştır (**Şekil 4.20**). Genel beğeni puanları incelendiğinde en çok, aroma içeren kefir örneklerinin öne çıktığı görülmektedir. Aroma içeren bütün kefir örnekleri, kontrol örneği olan sade kefirde de yüksek beğeni almıştır. Bunun beraberinde, çoğu skalada da en yüksek puanı alan balık yağı nanoemülsiyonu içeren aromalı kefir içeceği (K+EA), genel beğenide de en yüksek puanı almıştır. Beklenen bir sonuç olarak en düşük puana, balık yağının kefire doğrudan eklendiği (K+S) örnek sahip olmuştur.



Şekil 4.20 Kefir örneklerinin duyusal analiz genel beğeni puanları

a, b, c: Aynı duyusal karakteristik özellik içerisinde değerlendirilen örnekler arası farklılıkları göstermektedir. Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

(K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatu+ Aroma; K: Sade Kefir)

Uslu (2010), Ankara piyasasında satılan kefirlerin duyusal açıdan değerlendirilmesi üzerine bir araştırma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada sade, meyveli ve diyet kefir örnekleri panelistlere sunulmuştur. Panelistler tarafından genel beğenide en yüksek puanı meyveli kefir örnekleri almıştır. Aynı çalışmada panelistlerin, yüksek viskoziteli

kefirleri daha çok tercih ettiği ve buna bağlı olarak meyveli kefirleri kıvam açısından daha fazla beğendiği görülmektedir. Başka bir çalışmada pekmez ve erik kullanılarak kefir üretiminin kalite kriterleri üzerine etkisi incelenmiştir (Kök Taş vd. 2014). Tat ve koku değerlendirmelerinde, kontrol rneği olan sade kefire kıyasla pekmez ve erik kullanılarak üretilen kefir örneklerinin beğeni oranları daha yüksek olmuştur. Kefire ait fonksiyonel özellikler artırılarak, erik ve pekmez ilavesiyle birlikte endüstriye kullanıma hazır, sağlıklı bir alternatif ürün ortaya çıkartılmıştır.

Yoğurt zerine sade yoğurt, balık yağıyla doğrudan zenginleştirilmiş yoğurt ve nanoemülsifiye edilmiş balık yağıyla zenginleştirilmiş yoğurt örnekleriyle yapılan bir çalışmada tat- aroma, renk, doku ve genel kabul duyusal kalite kriterleri belirlenmiş, panelistler tarafından puanlandırılmıştır. Puanlar incelendiği zaman bütün kategoriler için çoktan aza sıralama sade yoğurt, nanoemülsifiye balık yağıyla zenginleştirilmiş yoğurt, balık yağıyla doğrudan zenginleştirilmiş yoğurt şeklinedir (Ghorbanzade 2017). Kefir örneklerine ahududu, böğürtlen ve ilek aroması ilave edilen ve duyusal analizleri gerçekleştirilen bir çalışmada, genel beğeni açısından verilen puanlarda en yüksek beğeniye alan kefir rneği ilek aroması eklenen çeşit olmuştur. Panelistlerin genel olarak kefir içerisinde en çok beğendiği aroma çeşidinin ilek olduğu belirtilmiştir (Yılmaz vd. 2006).

Kefire ait duyusal özellikler, içerdiği laktik asit, okzalik asit, uçucu yağ asitlerinin birçoğu, düşük orandaki CO₂ ile laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar tarafından üretilen bazı aromatik bileşenler ile ön plana çıkmaktadır (Güzel-Seydim vd. 2000a). Güzel-Seydim vd. (2000a) tarafından yapılan bir çalışmada, kefire ait lezzet profilinin fermentasyon boyunca üretilen çok sayıda aroma bileşeninden kaynaklandığı, iyi bir kefirin akıcı bir tekstürde, homojen dağılmış ve parlak bir görünüşte olması gerektiği, kusurlu görünüşün topaklanmış bir görünüşten ortaya çıktığı ve hafif ekşi bir aromaya sahip olup, fermente lezzetin de var olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalardaki bulgular ile tez çalışmasındaki sonuçlar birbirine uyumlu çıkmış olup, tüketicilerin meyve aromalı kefirleri tketerken genel beğenide daha yüksek puanlar verdiği sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ

Son yıllarda artan bilinçli tüketici sayısı ile beraber, zenginleştirilmiş fonksiyonel ürünlere olan ilgi gittikçe artmıştır. Bu artışla birlikte beklentileri karşılayacak şekilde sağlığa faydası olan ürünlerin sağlık değerini daha da yükseltmek temel amaç haline gelmiştir. Günlük hayatta sıklıkla tüketilen süt ve süt ürünlerinin zenginleştirilmesi üzerine çalışmaların artışının belirli sebepleri vardır. Bunlardan bazıları, süt ürünlerinin ulaşılabilirliğinin yüksek olması, besleyici özelliğinin fazla olması, muhafaza koşulları olarak +4 °C’de saklanması sayesinde içerisine katılacak olan ürünlerin stabilitesinin korunacak olması ve süt ürünlerinin omega-3 ÇDYA’lar tarafından en fakir kaynaklar arasında olması şeklinde sıralanabilir.

Omega-3 ÇDYA’lar beslenme açısından insan sağlığına faydalıdır. Deniz kaynaklı ürünler taşıma ve depolama sürecinde hasar görebilir ve kötü koku, tat yayabilir; balıklarda civa gibi ağır metallerin varlığı hakkında endişeler vardır; maliyeti yüksektir; ulaşılabilirliği düşüktür. Sağlıklı yetişkin bir bireyin; haftada yaklaşık 2 defa balık tüketimi ve günde yaklaşık olarak 250 mg EPA+DHA alımını sağlaması gerekmektedir (EFSA 2010). Ancak balığın kendine has koku ve tadının beğenilmemesi öncelikli olmak üzere, yukarıda bahsedilen potansiyel problemler ışığında emülsiyon teknolojisi kullanılarak omega-3 ile zenginleştirilmiş gıda ürünleri üzerine etkili çözümler sunulmaya başlamıştır.

Süt ürünlerini zenginleştirmede kullanılan temel metotlar omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin gıdaya doğrudan katılması veya emülsiyonlar yardımıyla katılmasıdır. Emülsiyon teknolojisi, özellikle balık yağının hoş olmayan koku ve tadını maskeleyerek, taşıma ve depolamada oksidasyonu önleyerek stabiliteyi artırmak ve vücutta biyoyararlanımı artırmak adına geliştirilebilir bir alandır.

Bu kapsamda bu tezin amacı, omega-3 yağ asitlerinin nanoemülsiyon içerisinde istenmeyen aromasının baskılanarak kefirin omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmesidir. Tezde materyal olarak, kefir ve omega-3 yağ asitlerince zengin

balık yağı kullanılmıştır. Nanoemülsiyon üretiminde emülgatör olarak peynir altı suyu proteini kullanılmıştır. Aromanın beğeniye etkisini araştırmak amacıyla gıda aroması olarak çilek aroması kullanılmıştır.

Balık yağı ve balık yağı nanoemülsiyonu ile zenginleştirilmiş kefir örnekleri ve sade kefir örneği (aroma eklenerek ve eklenmeden) hazırlandıktan hemen sonra duyuusal değerlendirmeye alınmış olup 22 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Omega-3 balık yağı ile zenginleştirilmiş kefir örnekleri ve nanoemülsiyon örneği, +4°C buzdolabında ve 60°C etüvde depolanmıştır. +4°C buzdolabında muhafaza edilen örneklere 0., 7., 14. ve 21. günlerde oksidatif stabilite, renk, viskozite, pH, parçacık boyutu, parçacık boyutu dağılımı ve elektriksel yük analizleri yapılmıştır. 60°C etüvde depolanan örneklere ise 0., 3., 6., 9., 12., 15., 18., 21., 24., 27. ve 30. günlerde oksidatif stabilite, parçacık boyutu ve parçacık boyutu dağılımı analizleri yapılmıştır.

Oksidatif stabilitenin ölçümü peroksit ve p-anisidin değerleri üzerinden gerçekleşmiştir. Her ikisi de ortamda oksidasyon sonucunda oluşan birincil ve ikincil metabolitlerin ölçümüne dayalı olup, oksidasyon derecesiyle ilişkili sonuçlar vermektedir. Buna göre elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

-PV başlangıçta yağlar oksitlendikçe artış göstermiş, sonrasında azalışa geçmiştir çünkü peroksitler daha sonraki oksidatif reaksiyonlarda ikincil oksidasyon ürünlerine parçalanmaktadırlar.

-+4 °C'de depolanan, balık yağı içeren kefir örneklerinin pik yaptığı 14. güne ait değerlerde balık yağının serbest formda katıldığı örneklerin oksidasyona uğrama seviyesi, nanoemülsifiye olarak katılan örneklere nazaran daha yüksek olmuştur. Bunun temel sebebi, beklendiği gibi nanoemülsifiye halde katılan balık yağının PASP izolatu ile stabilize edilmesinden kaynaklı olarak, oksijen ile temasının minimuma indirilmiş olması; serbest formda katılan balık yağının ise oksidatif reaksiyonlara daha açık olmasıdır.

Renk analizi için elde edilen sonuçlar;

-Depolama süresince artan parçacık boyutuyla orantılı olarak artan L^* değerleri görülmüştür.

- a^* değerinin negatif yönde yeşil renge doğru arttığı gözlemlenmiştir.

- b^* değerinin depolamanın sonuna doğru sarılık yönünde artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

- L^* değerinin 70-100 aralığında, a^* değerinin sarımsı negatif, b^* değerinin yeşilimsi pozitif renk değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

Viskozite analizi için elde edilen sonuçlar;

-0. güne ait sonuçlarda sade kefir örneğinin viskozitesinin diğer örneklerle kıyasla daha yüksek değerde olduğu görülmüştür. Bunun sebebi hazırlanan örneklerin homojen bir dağılım olması adına ilk gün elle mekanik çalkalamaya tabi tutulmuş olması, ancak sade kefir örneği için buna ihtiyaç duyulmamış olmasıyla açıklanmaktadır.

-Depolamanın 0. ve 14. gün aralığında, serbest balık yağı içeren K+S ve K+SA örnekleri, emülsiyon olarak balık yağı içeren K+E ve K+EA örneklerinden daha yüksek viskozite değerlerine sahip olmuştur.

pH analiz sonuçları;

-Kefir örnekleri ve emülsiyon örneğine yapılan pH deneylerinde 0. ve 21. güne ait sonuçlar incelendiğinde, 0. günde kefir örneklerinde ölçülen pH değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Parçacık boyutu (d_{32}) değişimi sonuçları;

-Bütün kefir örneklerinde, 0. günden 21. güne doğru parçacık boyutlarında artış olmuştur.

-Emülsiyon örneğinin boyutunda ise depolama süresince küçük bir azalış gözlemlenmiştir.

-Kefir içeceğine balık yağının emülsiyon halinde katılmasıyla, balık yağının serbest formda katılması arasında net bir boyut farkı gözlenmemiştir.

Parçacık boyut dağılımındaki değişimler;

-Depolamanın ilk gününden son gününe kadar bütün kefir örneklerinde ve emülsiyon örneğinde tek pikli bir dağılım söz konusu olmuştur.

-Depolama sıcaklığının, kefir üzerinde önemli bir etkisinin olduğu, fiziksel stabilitesinde bozulmalar ve parçacıkların boyut dağılımındaki artışın sıcaklığa bağlılığıyla net bir şekilde görülmüştür.

Elektriksel Yük Değişimleri;

-Kefir örneklerinin tümünde 21 günlük depolama sonucunda ζ -potansiyelinin düşüşte olduğu gözlemlenmiştir.

-Kefir örneklerinin sahip olduğu pH değerlerinde 0. günden (pH ortalama 4,45) 21. güne (pH ortalama 4,50) istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bir artış gerçekleşmiştir ve ζ -potansiyeli sonuçları da pH ile bağlantılı olarak azalmıştır fakat bu azalış tüm kefir örnekleri için istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$).

-Kefir örneklerinin sahip olduğu pH değerleri yaklaşık olarak 4,4'tür ve bu değer PASP için literatürde tanımlanmış pI değerine (4,6-5,6) yakın bir değerde olduğundan, ζ -potansiyeli yüzey yükü beklendiği gibi nötre yakın sonuçlar vermiştir.

-Tez çalışmasında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün boyunca depolanan kefir örneklerinin parçacık boyutları incelendiği zaman, 0. günden 21. güne doğru bir artış olduğu fark edilmiştir ve bunun paralelinde gerçekleşen ζ -potansiyel değerlerinde yaşanan azalış sebebiyle, parçacık boyutu ile ζ -potansiyelinin birbiriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Kefirlerin duyuşsal olarak kabul edilebilirliğinin analiz edildiği bu kısımda hedonik test duyuşsal analiz metodu uygulanmıştır. 7 adet kefir örneği (K+S: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+E: Kefir+ Emülsiyon; K+SA: Kefir+ Serbest balık yağı+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K+EA: Kefir+ Emülsiyon+ Aroma; K+PASP: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatı; K+PASPA: Kefir+ Peynir altı suyu proteini izolatı+ Aroma; K: Sade kefir), 6 duyuşsal karakteristik (görünüş, renk, koku, lezzet, tekstür ve genel beğeni) ele alınarak değerlendirilmiştir.

Bu doğrultuda duyuusal analiz sonuçlarında;

-Görünüş ve renk açısından en yüksek puanı K+EA; en düşük puanı K+PASP almıştır.

-Panelistler tarafından tüm örnekler görünüş ve renk kriterleri ele alındığı zaman istatistiksel açıdan önemsiz bir fark ($p>0,05$) görülmektedir ancak puan açısından en çok, balık yağının emülsiyon içerisinde katıldığı aromalı kefirin beğenildiği saptanmıştır.

-Renk açısından değerlendirilen örneklerin 0. güne ait renk ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde; L^* (beyazlık- açıklık) değerinin kabul edilebilir 70-100 değerlerinin arasında olduğu, a^* (yeşillik) değerinin beklendiği gibi negatif yönde olduğu ve K+S, K+E, K+SA örneklerinin sade kefir örneğinden istatistiksel olarak da farklı olmadığı, b^* (sarılık) değerinin ise emülsiyon içeren kefir (K+E ve K+EA) örneklerinde istatistiki olarak diğer kefir örneklerinden farklı olduğu, sarımtırak rengin panelistlerin beğenisi açısından iyi bir kriter olabileceği sonuçlarına varılmıştır.

-Koku yönüyle değerlendirildiğinde panelistlerin aroma içeren (balık yağının serbest formda katıldığı ve emülsiyon formunda katıldığı) bütün örnekleri nispeten beğendiği fark edilmiştir.

-Lezzet profili açısından sade kefirde hemen sonra K+EA örneği en yüksek; K+S örneği beklendiği gibi en düşük puanları almıştır. İki örnek arasında (K+E ve K+S) istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır fakat panelistlerin kefire emülsiyon içerisinde balık yağının katıldığı örnekten (K+E) algıladığı herhangi bir balık tadı gibi tanımlayıcı bir kelime kullanmadığı, ancak doğrudan balık yağı katılan kefirde (K+S) balık tadının hissedilir boyutlarda olduğuna dair geri dönüşlerine rastlanmıştır.

-Tekstürel açıdan en yüksek puanı alan kefir örneği K+EA; en düşük puanı alan kefir örneği K+S olmuştur. Tekstürel özellik bakımından kefir örnekleri değerlendirildiği zaman aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca viskozimetre ile ölçülen viskozite değerlerinin 0. güne ait sonuçları incelendiği zaman K+EA örneğinin, K+S örneğinden istatistiki olarak farklı olmadığı ancak K+EA örneğinin daha viskoz bir yapıya sahip olduğu ve panelistlerin daha kıvamlı yapıya sahip kefire daha yüksek puan vermiş olduğu sonucuna varılmıştır.

-Genel beğeni ise sırasıyla K+EA; K+PASPA; K+PASP; K+SA; K; K+E; K+S şeklinde olmuştur. Genel beğeni puanları incelendiğinde en çok, aroma içeren kefir örneklerinin öne çıktığı görülmektedir. Aroma içeren bütün kefir örnekleri, kontrol

örneği olan sade kefirde de yüksek beğeni almıştır. Bunun beraberinde, çođu skalada da en yüksek puanı alan balık yağı nanoemülsiyonu içeren aromalı kefir içeceği (K+EA), genel beğenide de en yüksek puanı almıştır. Duyusal analizde en dűřük puana, balık yağının kefire doğrudan eklendiği (K+S) örnek sahip olmuştur.

Genel itibariyle balık yağı nanoemülsiyonu ile zenginleştirilen kefirin tercih edilebilirliğinin hem duyusal hem oksidatif hem de fizikokimyasal analiz sonuçları açısından yüksek olduğu kanıtlanmıştır.



KAYNAKLAR

- Abacı, Z. M. 2020. Omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş kayısı nektarının fiziksel ve oksidatif stabilitesinin belirlenmesi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Akbulut Çakır, Ç., Bozkurt, A. 2020. Impact of pH on the salty taste perception of the yogurt drink, ayran. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(3), 301- 309.
- Akgün, Ü., 2010. Farklı HLB değerlerinin vinil asetat-ko-butilakrilat emülsiyon polimerizasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, İstanbul.
- Akhavan, S., Assadpour, E., Katouzian, I., Jafari, S. M. 2018. Lipid nano scale cargos for the protection and delivery of food bioactive ingredients and nutraceuticals. *Trend Food Science Technology*, 74, 132-146.
- Alagöz Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., Özkan M. 2020. Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. *Food Chemistry*, 326, 126977.
- Alpkent, Z., Demir, M., 2004. Kefir ve Kefirin Sağlık Üzerine Etkileri. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*. 23-24 Eylül 2004, (257-262), Van.
- Angula, L., Lopez, E., Lema, C. 1993. Microflorapresent in kefir grains of the Galician Region (North-West of Spain). *Journal Dairy Research*, 60, 263-267.
- Anonim. 2006. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme Ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliği. Tebliğ No: 2006/34.
- AOCS. 1998. p-Anisidine value, in: *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists*. Method cd 18-90 AOCS Press, Champaign, IL.
- Arab-Tehrany, E., Jacquot, M., Gaiani, C., Imran, M., Desobry, S., Linder, M. 2012. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Trends in Food Science and Technology*, 25, 24- 33.
- Baba, W. N., Ocak, K., Punoo, H. A., Wani, T. A., Dar, M. M., Masoodi, F. A. 2018. Techno-functional properties of yoghurts fortified with walnut and flaxseed oil emulsions in guar gum, *LWT*, 92, 242-249.
- Bantle, J. P.,Wylie-Rosett, J., Albright, A. L., Apovian, C. M., Clark, N. G., Franz. M. J. 2008. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 31, 61-7.
- Barth, C.A., Behnke. U. 1997. Nutritional significance of whey and whey compenents. *Nahrung*, 41(1), 2-12.

- Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Haratian, P., Darani, K.K. 2012. Effects of *Chlorellavulgaris* and *Arthrospiraplatensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235(4), 719-728.
- Beirami-Serizkani, F., Hojjati, M., Jooyandeh, H. 2021. The effect of microbial transglutaminase enzyme and Persian gum on the characteristics of traditional kefir drink. *International Dairy Journal*, 112, 104843.
- Bello, B. D., Torri, L., Piochi, M., Zeppa, G. 2015. Healthy yogurt fortified with n-3 fatty acids from vegetable sources. *Journal of Dairy Science*, 98, 8375–8385.
- Buettner, G.R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 300, 535-543.
- Buran, İ., Akal, C., Öztürkoğlu- Budak, Ş., Yetişemeyen, A. 2021. Rheological, sensorial and volatile profiles of synbiotic kefirs produced from cow and goat milk containing varied probiotics in combination with fructooligosaccharide. *LWT*, 148, 111591.
- Cais-Sokolińska, D., Pikul, J., Wójtowski, J., Danków, R., Teichert, J., Czyżak-Runowska, G., Bagnicka, E. 2015. Evaluation of quality of kefir from milk obtained from goats supplemented with a diet rich in bioactive compounds. *Journal of the science of food agriculture*, 95(6), 1343-1349.
- Capek, I. 2004. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 107, (2-3), 125, 155.
- Chantrapornchai, W., Clydesdale, F. M., McClements, D. J. 2001. Influence of Flocculation on Optical Properties of Emulsions. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*, 66(3), 464-469.
- Comunian, T. A., Chaves, I. E., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Ferro-Furtado, R., Castro, I. A. C., Favaro-Trindade, C. S. 2017. Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. *Food Chemistry*, 237, 948-956.
- Costa, M., Freiria-Gandara, J., Losada-Barreiro, S., Paiva-Martins, F., Bravo-Diaz, C. 2020. Effects of droplet size on the interfacial concentrations of antioxidants in fish and olive oil-in-water emulsions and nanoemulsions and on their oxidative stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 562, 352-362.
- Coupland, J.N., McClements, D. J. 1996. Lipid oxidation in food emulsions. *Trends in Food Science and Technology*, 7(3), 83-91.
- Demirci, M., Şimşek, O., Kurultay, Ş. 2000. Sütçülük yan ürünleri ve gıda sanayinde kullanımları. Süt mikrobiyolojisi ve katkı maddeleri, VI. Süt ve süt ürünleri sempozyumu tebliğler kitabı, 219-226, Tekirdağ.

- Dimitreli, G., Petridis, D., Kapagerisids, N., Mixiou, M. 2019. Effect of pomegranate juice and firhoney addition on the rheological and sensory properties of kefir-type products differing in their fat content. *Food Science and Technology*, 111, 799-808.
- Doğan, M. 2011. Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal für Verbraucher schutz und Lebens mitt elsicherheit*, 6, 327–332.
- Esen, M., K., Güzeler, N. 2019. Peyniraltı Suyu Tozu Kullanılarak Üretilen Kefir Yoğurdunun Depolama Süresince Bazı Özellikleri. *Çukurova Tarım Gıda Bilimi Dergisi*, 34(1), 1-16.
- FAO/WHO. 2008. Inter im summary of conclusions and dietary recommendations on total fat&fatty acids. *From the joint FAO/WHO expert consultation on fats and fatty acids in human nutrition*, Geneva, Switzerland. Web Sitesi: <https://www.anses.fr/en/system/files/NUT2006sa0359EN.pdf>. Erişim Tarihi: 09.01.2022.
- Farag, M. A., Jomaa, S. A., El- Wahed, A. A., El- Seedi, H. R. 2020. The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. *Nutrients*, 12(2), 346.
- Farnworth, E. R., 2005. Kefir- a complexprobiotic. *Food Science and Techonology Bulletin: Funtional Foods* 2(1), 1-17.
- Farnworth, E.R. 2008. *Handbook of Fermented Functional Foods*, 2, 89-118.
- FFSA`Opinion of the French Food Safety Agency on the update of French population reference intakes (ANCs) for fatty acids'. Web Sitesi: <https://www.anses.fr/en/system/files/NUT2006sa0359EN.pdf>. Erişim Tarihi: 09.01.2022.
- Frankel, E. N. 2005. *Lipid Oxidation*. Wood head Publishing in Food Science, Technology and Nutrition, 18(2), 105-107.
- Frengova, G.I., Simova, E. D., Beshkova, D. M., Simov, Z.I. 2002. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains. *Zeit schrift für Natur for schung*, 57(9-10), 805-810.
- Friberg, S., Larsson, K. 2004. *Food emulsions*. Food Science and Technology. CRC Press, 665, New York: Dekker.
- Ganesan, B., Brothersen, C., McMahon, D.J. 2013 Fortification of Foods with Omega-3 Polyun saturated Fatty Acids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(1), 98-114.
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L. 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68(4), 639-652.

- Generoso, M., Wolf, M., Dondi, C. A., Vecchio, C., De Rosa, M. 2005. Kefir: a border line probiotic between innovation and tradition. 3rd Probiotics and Prebiotics New Food.
- Gerster, H. 1998. Can adults adequately convert α -linolenic acid (18: 3n-3) to eicosapentaenoic acid (20: 5n-3) and docosahexaenoic acid (22: 6n-3). International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 68, 159-173.
- Ghorbanzade, T., Jafari, S.M., Akhavan, S., Hadavi, R. 2017. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt, Food Chemistry, 216, 146-152.
- Goncu, B., Çelikel, A., Güler-Akın, M. B., Akın, M. S. 2017. Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. Mljekarstvo : časopis za unapređenje proizvodnje i prerade mlijeka, 67(3), 208-216.
- Goyal, A. 2014. Microencapsulation of Flaxseed Oil for the Fortification of Omega-3 Fatty acids in Dairy Products. Doctoral dissertation, NDRI, Karnal.
- Göksel-Saraç, M. 2018. Rendering Artık Yağlarından Emülgatör Üretimi Ve Model Gıdalarda Arayüzey (Interfacial) Reolojik Uygulamaları. Doktora Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.
- Gul, O., Atalar, I., Mortas, M., Dervisoglu, M. 2018. Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A comparison with cows' milk kefir. International Journal of Dairy Technology, 71, 73-80.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., Doyle, P. S. 2016. Nanoemulsions: formation, properties and applications. Soft Matter, 12, 2826-2841.
- Gümüş, C. E., Decker, E. A., McClements, D. J. 2017a. Formation and Stability of ω -3 Oil Emulsion-Based Delivery Systems Using Plant Proteins as Emulsifiers: Lentil, Pea, and Faba Bean Proteins. Food Biophys. 12, 186-197.
- Gümüş, C. E., Decker, E. A., McClements, D. J. 2017b. Impact of legume protein type and location on lipid oxidation in fish oil-in-water emulsions: Lentil, pea, and faba bean proteins. Food Research International, 100, 175-185.
- Gürel, D., Ildız, M., Sabancı, S., Koca, N., Çağındı, Ö., İçier, F. 2021. Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, 9(1), 7-14.
- Gürsoy, O., Kocatürk, K., Güler Dal, H. Ö., Yakalı, H. N., Yılmaz, Y. 2020. Ticari Kefirlerin Fizikokimyasal ve Reolojik Özellikleri. Akademik Gıda 18(4), 375-381
- Güzel-Seydim, Z. B., Seydim, A. C., Greene, A. K. 2000a. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. Journal of Dairy Science, 83, 275-277.

- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Grenee, A.K., Bodine, A.B. 2000b. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 35–43.
- Hallé, C., Leroi, F., Dousset, X., Pidoux, M. 1994. Les kéfirs : des associations bactéries lactiqueslevures. In Roissart, De H., Luquet, F.M. *Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques*, France, Lorica. 169-182.
- Hanmoungjai, P., Pyle, D. L., Niranjana, K. 2002. Enzyme-assisted water extraction of oil and protein from rice bran. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77(7), 771-776.
- Hasenhuettl, G. L. G., Hartel, R. R. W. 2008. *Food emulsifiers and their applications*, New York: Springer-Verlag.
- Herceg, Z. ve V. Lelas. 2005. The influence of temperature and solid matter content on the viscosity of whey protein concentrates and skim milk powder before and after tribomechanical treatment. *Journal of Food Engineering*, 66(4), 433-438.
- Hinriksdottir, H. H., Jonsdottir, V.L., Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Ramel, A. 2014. Bioavailability of long chain n-3 fatty acids from enriched mussels and from microencapsulated powder. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69, 344-348.
- Hsu, Y., Huang, W., Lin, J., Chen, Y., Huang, C., Tung, Y. 2018. Kefir supplementation modifies gut microbiota composition, reduces physical fatigue, and improves exercise performance in mice. *Nutrients*, 10, 862.
- Hu, M., McClements, D. J., Decker, E. A. 2003. Impact of whey protein emulsifiers on the oxidative stability of salmon oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1435-1439.
- Hutkins, R.W., 2006. Cultured dairy products. In: Hutkins, R.W. (ed.) *Microbiology and Technology of Fermented Foods*, IFT Press, 140-144.
- Iriyogen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C. 2005. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613-620.
- İsmail, A., Bannenberg, G., Pirin, H.B., Schutt, E., Mackay, D. 2016. Oxidation in EPA and DHA rich oils: an overview. *Lipid Technology*, 28(3-4), 55-59.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids* 22, 1191-1202.
- Jafari, S. M., Fathi, M., Mandala, I. 2015. *Emerging product formation. Food Waste Recovery: Processing Technologies and Industrial Techniques*, Elsevier Inc, San Diego, CA.

- Jiménez-Martín, E., Gharsallaoui, A., Pérez-Palacios, T., Carrascal, J.R., Rojas, T.A. 2015. Volatile compounds and physicochemical characteristics during storage of microcapsules from different fish oil emulsions. *Food and Bio products Processing*, 96, 52- 64.
- Kabakcı-Alagöz, S., Türkyılmaz, M., Özkan, M. 2020. Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. *Food Chemistry*, 326, 126977.
- Karagözlü, C. 1990. Farklı ısıtma işlemi uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve kefir danesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Karagözlü, C., 2003. Kefir–probiotic fermented milk product. 50 th Anniversary of The University of Food Technology HIFFI 15 – 17 Kasım 2003.
- Kargar, M. 2014. Emulsion design for protection of chemically sensitive bioactive ingredients. Doktora Tezi, Birmingham Üniversitesi, School of Chemical Engineering, Birmingham, United Kingdom.
- Karthik, P., Anandharamakrishnan, C. 2016. Enhancing omega-3 fatty acids nanoemulsion stability and in-vitro digestibility through emulsifiers. *Journal of Food Engineering*.187, 92-105.
- Kastelein, J. J., Maki, K. C., Susekov, A., Ezhov, M., Nordestgaard, B. G., Machielse, B. N., Kling, D., Davidson, M. H. 2014. Omega-3 free fatty acids for the treatment of severe hypertriglyceridemia: the Epano Vaf or Lowering Very high triglycerid Es (EVOLVE) trial. *J Clin Lipidol*, 8,94–106.
- Kaur, P., Satyanarayana, T. 2004. Probiotics. A beneficial health option. *Everyman's Science*, 4, 224-229.
- Kesenkaş, H., Gürsoy, O., Özbaş, H. 2017. Fermented foods in health and disease prevention, Academic Press, 339-361.
- Kim, H. J., Decker, E. A., McClements, D. J. 2002. Role of post adsorption conformation changes of beta-lactoglobulin on its ability to stabilize oil droplets against flocculation during heating at neutral pH. *Langmuir*, 18, 7577-7583.
- Koh, W. Y., Utra, U., Rosma, A., Effarizah, M. E., Rosli, W.I.W., Park Y.H. 2018. Development of a novel fermented pumpkin-based beverage inoculated with water kefir grains: A response surface methodology approach. *Food Science and Biotechnology*, 27 (2), 525-535.
- Kolanowski, W., Weissbrodt J. 2017. Sensory quality of dairy products fortified with fish oil, *International Dairy Journal*, 17, 1248-1253.
- Komaiko, J. S., McClements. D. J. 2016a. Formation of food-grade nanoemulsions using low-energy preparation methods: a review of available methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 331-352.

- Komaiko, J., Sastrosubroto, A., McClements, D.J. 2016b. Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. *Food Chemistry*, 203, 331-339.
- Kök Taş, T., İlay, E., Öker, A. 2014. Determination of some quality criteria of the Kefir Produced with Molasses and Plum. *Turkish Journal Of Agriculture, Food Science And Technology*, 2(2), 86-91.
- Kris-Etherton, P. M., Innis, S. 2007. Position of the american dietetic association and dietitians of Canada: Dietary fatty acids. *Journal of the American Dietetic Association*, 107, 1599-1611.
- Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., Kilk A. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 215-224.
- Kulmyrzaev, R., Chanamai, R., McClements, D. J. 2000. Influence of pH and CaCl_2 on the stability of dilute whey protein stabilized emulsions. *Food Research International*, 33, 15-20
- Lane, K.E., Derbyshire, E.J., Smith, C.J., Mahadevan, K. 2013. Sensory evaluation of a yogurt drink containing an omega-3 nanoemulsion with enhanced bioavailability. *Proceedings of the Nutrition Society*, 72.
- Lee, J. M., Lee, H.; Kang, S.; Park, W.J. 2016. Fatty acidde saturases, polyunsaturated fatty acid regulation, and biotechnological advances. *Nutrients*, 8, 23.
- Lee, S. J., Choi, S. J., Li, Y., Decker, E.A., McClements, D.J. 2010. Protein- stabilized nanoemulsions and emulsions: Comparison of physicochemical stability, lipid oxidation, and lipase digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 415-427.
- Let, M. B., Jacobsen, C., Meyer, A. S. 2007. Lipid Oxidation in Milk, Yoghurt, and Salad Dressing Enriched with Neat Fish Oil or Pre-Emulsified Fish Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19), 7802-7809.
- Li, Y., Le Maux, S., Xiao, H., McClements, D. J. 2009. Emulsion-based delivery systems for tributyrin, a potential colon cancer preventative agent. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57, 9243-9249
- Linke, A., Hinrichs, J., Kohlus, R. 2020. Impact of the powder particle size on the oxidative stability of microencapsulated oil. *Powder Technology*, 364, 115-122.
- Linke, A., Weiss, J., Kohlus, R. 2021. Impact of the oil load on the oxidation of microencapsulated oil powders. *Food Chemistry*, 341(1), 128-153.
- Liu, J.R., Lin, Y.Y., Chen, M.J., Chen, L.J., Lin, C.W. 2005. Antioxidative Activities of Kefir. *Journal of Animal Science*, 18, 567-573.
- Lv, J., Wang, L., 2009. Bioactive components in kefir and koumiss. In: Park, Y.W. (ed.) *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*, 251-262, Wiley-Blackwell Publication.

- McClements D.J., Rao, J. 2011. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285-330.
- McClements, D. J. 2004. Food emulsions: principles, practice and techniques. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- McClements, D. J. 2012. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17, 235-245.
- McClements, D. J. 2015. Food emulsions: Principles, practices, and techniques, (3).
- McClements, D. J. 2018. Enhanced delivery of lipophilic bioactives using emulsions: a review of major factors affecting vitamin, nutraceutical and lipid bioaccessibility. *Food Function*, 9 (1), 22-41.
- McClements, D. J., Gümüş C. E. 2016. Natural emulsifiers—biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science | Journal*, 234, 3-26.
- McClements, D. J., Jafari, S. M. 2018. Nanoemulsions. Formulation, Applications, and Characterization. Academic Press, (1), 3-20.
- McClements, D. J., Weiss, J., Corradini, M. G. Lipid Emulsions. 2020. University of Massachusetts, Amherst, MA, USA. University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- McCowan, K. C., Ling, P. R., Decker, E., Djordjevic, D., Roberts, R. F., Coupland, J. N. 2010. A simple method of supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acids: use of fortified yogurt in healthy volunteers. *Nutritional Clinician Practices*, 25, 641–645.
- Meshref, A. 2008. Effect of heating treatments, processing methods and refrigerated storage of milk and some dairy products on lipids oxidation. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1), 118-125.
- Miller, M., Stone, N. J., Ballantyne, C., Bittner, V., Criqui, M. H., Ginsberg, H. N. 2011. Triglycerides and cardiovascular disease: A scientific statement from the American Heart Association *Circulation*, 123, 2292-2333.
- Milovanovic, B., Tomovic, V., Djekic, I., Miocinovic, J., Solowiej, B.G., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Tomasevic, I. 2021. Colour assessment of milk and milk products using computer vision system and colorimeter. *International Dairy Journal*, 120, 105084.
- Mistry, V. V. 2004. Fermented liquid milk products. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, 833-847.

- Nejadmansouri, M., Hosseini, S. M. H., Niakosari, M., Yousefi, G.H., Golmakani, M.T. 2016. Physicochemical properties and storage stability of ultrasound-mediated WPI-stabilized fish oil nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 61, 801-811.
- Nguyen, Q.V., Malau- Aduli, B.S, Cavaliere, J., Nichols,P.D., Malau- Aduli,A.E.O. 2019. Enhancing Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Content of Dairy Derived Foods for Human Consumption, *Nutrients*, 743.
- NHFA`Fish and sea food position statement.' 2015. Web Sites:
https://www.heartfoundation.org.au/getmedia/0678aaa5-5828-4cf0-ac35-e34d02bec705/190729_Nutrition_Position_Statement_-_Fish_and_Seafood.pdf
Erişim Tarihi: 09.01.2022.
- Nichols, P. D., Petrie, J., Singh, S. 2010. Long-chain omega-3 oils–an update on sustainable sources. *Nutrients*, 2, 572-585.
- Oca-Ávalos, J. M., Candal, R. J., Herrera, M. R. 2017. Nanoemulsions: stability and physical properties. *Current Opinion In Food Science*, 16, 1-6.
- Ostdal, H., Andersen, H. J. 2000. Antioxidative activity of urate in bovine milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 5588–5592.
- Otles, S., Çağındı, O. 2003. Kefir: a probiotic dairy– composition, nutritional and the rapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(2), 54–59.
- Owens, C., Griffin, K., Khouryieh, H., Williams, K. 2018. Creaming and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized by whey protein-xanthan-locust bean complexes: Impact of pH. *Food Chemistry*, 239, 314- 322.
- Özçelik, B., Başaran, S.H. 2016. Keten Tohumu Yağı , Ayçiçeğı Yağı Ve Zeytinyağının Otooksidasyonu Sırasında Epoksi Yağ Sasitleri Oluşumunun İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliğı Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
- Padial- Dominguez, M., Espejo- Carpio, F. J., Perez- Galvez, R., Guadix, A., Guadix, E. M. 2020. Optimization of the Emulsifying Properties of Food Protein Hydrolysates for the Production of Fish Oil-in-Water Emulsions. Department of Chemical Engineering, University of Granada, 18010 Granada, Spain. *Foods*, 9(5), 636.
- Pak, C.S., ve Province, K. 2005. Stability and quality of fish oil during typical domestic application. *Fisheries Training Programme*. 4-27.
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., Kim, H.Y., 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* 100, 1171-1185.

- Pekşen, S. 2018. Depolama Süresinin Mikroenkapsüle Edilmiş Keten Tohumu Yağı İle Zenginleştirilmiş Yoğurtlarda Oksidatif stabilite Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.
- Phillips, L.G., McGiff M.L., Barbano, D.M., Lawles, H.T. 1995. The Influence of Fat on the Sensory Properties, Viscosity, and Color of Low fat Milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 1258-1266.
- Punia, S., Sandhu, K.S., Siroha, A.K., Dhull, S.B. 2019. Omega 3-metabolism, absorption, bioavailability and health benefits–A review. *Pharma Nutrition*, 10(8), 100162.
- Renner, E., Renz-Schaven. 1986. *Nährwerttabellen für milch und milch produkte*. Verlag B. Renner. Köhner K. G. Gießen, Germany.
- Qian, C., McClements, D.J. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25, 1000-1008.
- Qiu, C., Zhao, M., Decker, E. A., McClements, D. J. 2015. Influence of protein type on oxidation and digestibility of fish oil-in-water emulsions: Gliadin, caseinate, and whey protein. *Food Chemistry*. 175, 249-257.
- Rasti, B., Erfanian, A., Selamat, J. 2017. Novel nanoliposomal encapsulated omega-3 fatty acids and their applications in food. *Food Chemistry*, 230, 690–696.
- Rattray, F. P., O’Connell, M. J. 2011. Fermented Milks | Kefir. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Academic Press, 2, 518-524
- Relkin, P., Shukat, R., Bourgaux, F., Meneau, F. 2011. Nanostructures and polymorphisms in protein stabilised lipid nanoparticles, as food bioactive carriers: Contribution of particle size and adsorbed materials. *Procedia Food Science*. 1, 246-250.
- Rimada, P.S., Abraham, A.G. 2006. Kefiran improves rheological properties of glucono- δ -lactone induced skim milk gels. *International Dairy Journal*, 16(1), 33-39.
- Santos, D.S., Morais, J.A.V., Vanderlei, I.A.C., Santos, A.S., Azevedo, R.B., Muehlmann, Luis.A., Junior, O.R.P., Mortari, M.R., da Silva, J.R., da Silva, S.W., Longo, J.P.F. 2021. Oral delivery of fish oil in oil-in-water nanoemulsion: development, colloidal stability and modulatory effect on *in vivo* inflammatory induction in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 133, 110980.
- Sanz, T., Salvador, A., Jimenez, A., Fiszma, S. M. 2008. Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *European Food Research and Technology*, 227(5), 1515-1521.

- Sarıca, E., Filizkiran, G., Canbek, D. Ertürk B., Coşkun, M., Mustuloğlu Ş. 2021. Keçiyoynuzu Gaminın Keçi Sütünden Üretilen Kefirin Fizikokimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. Akademik Gıda, 19(1), 28-37.
- Schram, L. B., Nielsen, C. J., Porsgaard, T., Nielsen, N. S., Holm, R., Mu, H. 2007. Food matrices affect the bioavailability of (n-3) polyunsaturated fatty acids in a single meal study in humans. Food Research International, 40, 1062-1068.
- Setyawardani, T., Sumarmono, J., Widayaka, K. 2020. Physical and Microstructural Characteristics of Kefir Made of Milk and Colostrum. Buletin Peternakan, 44(1), 43-49.
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. 2018. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. Annual Review of Food Science and Technology, 9, 345–381.
- Simopoulos, A.P., Leaf, A., Salem, Jr N. 2000. Statement on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 63, 119-21.
- Songsigepp, E., Kullisaar, T., Hutt, S., Elias, S., Brilene, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M. 2004. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. Journal of Dairy Science, 87, 2017-2023.
- Sri, J., Seethadevi, A., Prabha, K.S., Muthuprasanna, P.; Pavitra, P. 2012. Microencapsulation: A Review. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 3(1), 509-531.
- Surh, J., Ward, L. S., McClements, D. J. 2006. Ability of conventional and nutritionally-modified whey protein concentra testo stabilize oil-in-water emulsions. Food Research International, 39(7), 761-771.
- Swaigood, H. E. 1996. Characteristics of milk. O. R. Fennema (Ed.), Food chemistry, Marcel Dekker, New York, 841-878.
- Tadros, T. 2005. Applied surfactants: Principles and Applications, Wiley, 44(37), 5922-5922.
- Tadros, T., Izquierdo, R., Esquena, J., Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. Advances in Colloid and Interface Science, 108, 303-318
- Taherian, A. R., Britten, M., Sabik, H., Fustier, P. 2011. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. Food Hyrocolloids, 25(5), 868-878.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A., Shahedi, M. 2012. Physico chemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. Food Science and Technology International, 18(4), 381-390.

- Tomar, O. 2015. Farklı Yağ Oranlarına Sahip İnek Ve Manda Sütleri Kullanılarak İki Ayrı Üretim Metoduyla Üretilen Kefir Örneklerinin Depolama Süresince Bazı Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Tomar, O., Çağlar, A., Akarca, G. 2017. Kefir ve sağlık açısından önemi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17, 834-853.
- Tur, J., Bibiloni, M., Sureda, A., Pons, A., 2012. Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. British Journal of Nutrition, 107, 23-52.
- Uçar, Y. 2019. Narenciye kabuğu esansiyel yağları kullanılarak hazırlanan mikroenkapsüle balık yağı tozlarında depolama süresince meydana gelen duyu ve renk değişimleri. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi, 23(2), 515-526.
- Uslu, G. 2010. Ankara piyasasında satılan kefirlerin mikrobiyolojik, fiziksel ve duyu özellikleri üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, 56, Ankara, Türkiye.
- Ürkek, B., Erkaya, T., Şengül, M. 2011. Kefir: Bileşimi, Üretimi, Probiyotik ve Terapötik Özellikleri. Akademik Gıda, 9(5), 60- 66.
- Vannice, G., Rasmussen, H. 2014. Position of the academy of nutrition and dietetics: Dietary fatty acids for healthy adults. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 114, 136-153.
- Walker, R. M., Decker, E. A., McClements, D. J. 2015. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. Journal of Food Engineering, 164, 10-20.
- Walker, R. M., Gümüş, C. E., Decker, E. A., McClements, D. J. 2017. Improvements in the formation and stability of fish oil-in-water nanoemulsions using carrier oils: MCT, thyme oil, & lemon oil. Journal of Food Engineering, 211, 60-68.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H. E., Hugenholtz, J., Smit, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. International Dairy Journal, 12, 91-109.
- Wszolek, M., Kupiec-Teahan, B., SkovGuldager, H., Tamime, A. Y. 2007. Production of kefir, koumiss and other related products. Fermented Milks, 8, 174-216.
- Yaka, C. 1996. Review: Biochemical and technological assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in bread making applications. Food Science and Technology International, 2(6), 349-367.
- Yılmaz, L., Yılsay, T. O., Bayazıt, A. A. 2006. The sensory characteristics of berry flavoured kefir. Czech. Journal of Food Science, 24(1), 26-32.
- Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Akpınar-Bayazıt, A., Şahin, S. 2018. Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. Journal of Dairy Science, 101(5), 3788-3798.

- Yi, J., Qiu, M., Liu, N., Tian, L., Zhu, X., Decker, EA., McClements, DJ. 2020. Inhibition of lipid and protein oxidation in whey protein- stabilized emulsions using a natural antioxidant: Black rice anthocyanins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68(37), 10149-10156.
- Yüksekdağ, Z. N., Beyatlı, Y. 2003. Kefir Mikroflorası ile Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Genetik Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 46-69.
- Yüksel- Bilsel, A., Şahin- Yeşilçubuk, N. 2019. Production of probiotic kefir fortified with encapsulated structured lipids and investigation of matrix effects by means of oxidation and in vitro digestion studies. *Food Chemistry*, 296, 17-22.
- Zhu, H. ve S. Damodaran. 1994. Heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (4), 846- 855.
- Zou, L., Akoh, C.C. 2015. Antioxidant activities of an natto and palm to cotrienol-rich fractions in fish oil and structured lipid-based infant Formula emulsion. *Food Chemistry*, 168, 504-551.

EKLER

EK-1 Duyusal Analiz Değerlendirme Formu

EK-2 Etik Kurul Onayı

EK-1 DUYUSAL ANALİZ DEĞERLENDİRME FORMU

Panelistin adı soyadı:

Tarih:

Tadıma başlamadan önce ve tadım esnasında örnekler arasında bir önceki örnekten ağzınızda kalan tadı su ve kraker ile gideriniz. Her bir örnek ve duyuşsal karakteristik için belirtilen skaladan bir numara kodlamayı unutmayınız.

Örnek kodu	Görünüş	Renk	Koku	Lezzet	Yapı (Tekstür)	Genel Beğeni
568						
248						
369						
785						
149						
272						
658						
705						
357						
194						

Değerlendirme skalası

- (9) Fevkalade beğendim
- (8) Oldukça çok beğendim
- (7) Az Beğendim
- (6) Orta derecede beğendim
- (5) Ne beğendim ne beğenmedim
- (4) Hafif beğenmedim
- (3) Orta derecede beğenmedim
- (2) Beğenmedim
- (1) Hiç beğenmedim

Katılımınız için teşekkür ederim.

EK-2 ETİK KURUL ONAYI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ALT ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

Karar Tarihi :30/11/2020

Toplantı Sayısı :17

Karar Sayısı :266

266-Üniversitemiz Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans öğrencilerinden **Gizem Erpek**'in "Omega-3 nanoemülsiyonu ilavesinin kefirin oksidatifstabilitesine etkisi" başlıklı tezi ile ilgili 27/10/2020 tarihli "İnsan Üzerinde Yapılan Klinik Dışı Araştırmalar Başvuru Formu" Etik Kurulumuzca incelenmiştir.

Yapılan görüşmeler ve incelemeler sonucunda öğrencisi **Gizem Erpek**'in "Omega-3 nanoemülsiyonu ilavesinin kefirin oksidatifstabilitesine etkisi" başlıklı tezi ile ilgili COVID-19 salgını nedeniyle; çalışma takviminiz de dahil araştırmanızda oluşabilecek tüm değişikliklerin Etik Kurulumuza yazılı olarak bildirilmesi, araştırma protokolüne uyulması ve etik onay tarihinden itibaren geçerli olması koşuluyla uygulanmasının etik açıdan uygun olduğuna oybirliği ile karar verildi.