

**KAKTÜS MEYVESİNDEN (*Opuntia ficus-indica* L.)  
BETALAINLERİN YENİ YÖNTEMLERLE  
EKSTRAKSİYONU, NİYOZOMAL ENKAPSÜLASYONU  
VE GIDA UYGULAMASI**

**EXTRACTION OF BETALAINS FROM CACTUS PEAR  
(*Opuntia ficus-indica* L.) BY NOVEL METHODS,  
NIOSOMAL ENCAPSULATION AND FOOD  
APPLICATION**

**BÜŞRA AKDENİZ OKTAY**

**DOÇ. DR. ELİF YOLAÇANER**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

*Canım oğlum Mete'ye,*

## ÖZET

# KAKTÜS MEYVESİNDEN (*Opuntia ficus-indica* L.) BETALAINLERİN YENİ YÖNTEMLERLE EKSTRAKSİYONU, NİYOZOMAL ENKAPSÜLASYONU VE GIDA UYGULAMASI

**Büşra AKDENİZ OKTAY**

**Doktora, Gıda Mühendisliği Bölümü**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Elif YOLAÇANER**

**Eş Danışman: Prof. Dr. S. Aykut AYTAÇ**

**Temmuz 2025, 260 sayfa**

Kaktüs meyvesi (*Opuntia ficus-indica* L.), kurak ve yarı-kurak bölgelerde yaygın olarak yetişebilen, betalain pigmentleri ve bazı fenolik bileşikler bakımından zengin bir meyvedir. Son yıllarda hem görsel hem de fonksiyonel özellikleriyle öne çıkan betalainler, özellikle sentetik renklendiricilere karşı oluşan tüketici hassasiyetinin artmasıyla birlikte doğal bir alternatif olarak dikkat çekmektedir. Ancak, doğal kökenli bu bileşiklerin ışık, sıcaklık ve pH gibi çevresel faktörlere karşı sınırlı stabilite göstermesi, kullanım alanlarını kısıtlayabilmektedir. Bu nedenle, kaktüs meyvesi gibi betalain içeriği yüksek kaynakların değerlendirilmesi ve bu bileşiklerin gıdalarda daha kararlı formlarda kullanılmasına yönelik araştırmalar önem kazanmaktadır.

Betalain gibi doğal renk pigmentlerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmesinde, ekstraksiyon işleminin uzun sürmesi, yüksek miktarda çözücü kullanımı ve düşük ekstraksiyon verimi başlıca olumsuzluklar olarak görülmektedir. Bu nedenle son

yıllarda mikrodalga, ultrason gibi yeşil ekstraksiyon teknolojilerine ilgi artmakta ve kısa sürede, çevre dostu koşullarda ve yüksek verimle çalışan alternatifler öne çıkmaktadır. Bu yöntemlerle elde edilen fonksiyonel renk bileşikleri ve diğer biyoaktiflerin stabilitesinin artırılması amacıyla çeşitli enkapsülasyon teknikleri geliştirilmektedir. Bu amaçla özellikle kozmetik ve ilaç endüstrilerinde uzun süredir kullanılan, ancak gıda uygulamaları açısından yeni sayılan niyozomal enkapsülasyon doğal biyoaktif bileşiklerin taşınması ve kontrollü salınımı açısından dikkat çekmektedir.

Betalainler ve fenolik bileşikler gibi antioksidan özellikteki biyoaktifler, yalnızca fonksiyonel özellikleriyle değil, aynı zamanda bazı patojen mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal etkilerle de öne çıkmaktadır. Ayrıca, niyozomal enkapsülasyon ile stabilitesi artırılmış bu biyoaktiflerin gıda uygulamaları ise hem katma değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesine hem de bileşiklerin sindirim sırasında biyoerişilebilirliğinin artışının sağlanmasına olanak sağlamaktadır. Bu sebeple, elde edilen biyoaktif içeren ekstraktların, niyozomal enkapsülasyon uygulanmış biyoaktiflerin ve niyozomların uygulandığı gıdaların *in-vitro* sindirim çalışmalarının yapılması oldukça önemlidir.

Yapılan literatür araştırması sonucu bilgilerimiz dahilinde, aynı çalışma içinde kaktüs meyvesinden elde edilen betalain ve fenolik bileşiklerin hem ultrason destekli hem de vakum mikrodalga destekli yeşil ekstraksiyon yöntemleriyle elde edildiği, bu yöntemlerin konvansiyonel yöntemle karşılaştırıldığı ve ekstraksiyon koşullarının optimize edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, elde edilen ekstraktlara niyozomal enkapsülasyon uygulanması, enkapsülasyon koşullarının optimize edilmesi, niyozom karakterizasyonunun yapılması ve yoğurt gibi bir gıda matrisine uygulanmasına yönelik kapsamlı bir çalışmaya da ulaşamamıştır. Bu tez kapsamında, öncelikle konvansiyonel, ultrason destekli ve vakum mikrodalga destekli yöntemlerle ekstraktlar hazırlanmış, ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş ve yöntemler karşılaştırılmıştır. Vakum mikrodalga destekli yöntem en iyi sonuçları verdiği için, niyozomal enkapsülasyon uygulamasında bu yönteme ait optimum ekstrakt kullanılmıştır. Enkapsülasyon sürecinde koşullar optimize edilmiş, elde edilen niyozom formülasyonu karakterize edilmiş ve yoğurt ürününe uygulanmıştır. Son olarak, ekstrakt örneği ve ekstrakt yüklü niyozomların yoğurt örneklerindeki etkileri analiz edilmiş; bileşiklerin biyoerişilebilirliğini değerlendirmek amacıyla *in-vitro* sindirim çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasının ilk kısmında, kaktüs meyvesinden betalainler ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu amacıyla konvansiyonel ekstraksiyon (KE), ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE) yöntemleri kullanılmıştır. Her bir yöntem için ekstraksiyon koşulları, dört bağımsız değişkenin üç seviyede değerlendirildiği 29 deney içeren Box-Behnken tasarımı ile optimize edilmiştir. KE ve UDE yöntemlerinde; ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) sırasıyla 1–3 saat ve 30–90 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı ( $X_2$ ) 30–50 °C, çözücüdeki etanol yüzdesi ( $X_3$ ) %40–80 ve örnek: çözücü oranı ( $X_4$ ) 1:10–1:30 (g: mL) olarak belirlenmiştir. VMDE yönteminde ise bağımsız değişkenler; vakum basıncı ( $X_1$ ) 100–400 mmHg, ekstraksiyon süresi ( $X_2$ ) 2–8 dakika, çözücüdeki etanol yüzdesi ( $X_3$ ) %20–60 ve örnek: çözücü oranı ( $X_4$ ) 1:10–1:30 (g:mL) şeklinde tanımlanmıştır. Deneyler sonucunda bağımlı değişkenler (yanıtlar) olarak toplam fenolik madde (TFM), toplam antioksidan kapasitesi (DPPH ve CUPRAC yöntemleriyle,  $TAK_{DPPH}$  ve  $TAK_{CUPRAC}$ ) ve toplam betalain miktarı (TBM) ölçülmüştür. Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak çoklu regresyon ile her yanıt için ikinci dereceden model denklemler ve varyans analizleri elde edilmiştir. Son aşamada, her yöntem için ekstraksiyon şartları için optimizasyon uygulanmıştır. Buna göre, KE için optimum ekstraksiyon koşulları, 2.05 saatlik ekstraksiyon süresi, 50°C sıcaklık, %80 etanol yüzdesi ve 1:22.60 g katı örnek/mL çözücü oranı olarak bulunmuştur. UDE için optimum ekstraksiyon koşulları 30 dk ekstraksiyon süresi, 50°C sıcaklık, %40 etanol yüzdesi ve 1:30 g katı örnek/mL çözücü oranıdır. VMDE için optimum çalışma koşulları ise, 108.82 mmHg vakum değeri ve 2.47 dakika ekstraksiyon süresinde, %20 etanol yüzdesi ile 1:29.42 g katı örnek /mL çözücü olarak belirlenmiştir. KE, UDE ve VMDE yöntemleri için optimum ekstraksiyon koşullarında yapılan deneyler sonucunda TFM değerleri sırasıyla 6.13, 6.38 ve 7.79 mg GAE/g kuru ağırlık,  $TAK_{DPPH}$  değerleri sırasıyla 13.96, 13.53 ve 13.74 mmol TE/kg kuru ağırlık,  $TAK_{CUPRAC}$  değerleri sırasıyla 34.87, 49.38 ve 47.06 mmol TE/kg kuru ağırlık, TBM değerleri ise sırasıyla 418.83, 471.82 ve 715.50 mg betalain/ kg kuru ağırlık olarak bulunmuştur.

Ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu sonrasında, her yöntemden elde edilen optimum örneklerde betalain kompozisyonu analizi için Q-TOF LC/MS uygulanmış ve farklı tipteki betalain miktarları, betanin standardı eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Optimum ekstraktların *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), ve *Listeria monocytogenes* üzerindeki

antimikrobiyal etkileri kuyucuk difüzyon ve tüp dilüsyon metotları ile incelenmiştir. Kuyucuk difüzyon metodunda her üç yöntemden elde edilen optimum ekstrakt *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922) üzerinde sadece VMDE yönteminin optimum ekstrakt örneği antimikrobiyal etki göstermiştir. Ayrıca, optimum ekstraktların hiçbiri, kuyucuk difüzyon metodunda *Listeria monocytogenes* üzerinde bir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Tüp dilüsyon metodunda, optimum ekstraktlar için MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) seyrelti yapılmayan tüplerde sadece *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için elde edilmiştir.

Tez çalışmasının niyozomal enkapsülasyon aşamasına, ekstraksiyon yöntemlerinden en iyi sonuçları veren ve öne çıkan VMDE yönteminden elde edilen optimum ekstrakt örneği kullanılarak devam edilmiştir. Enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu amacıyla yanıt yüzey yönteminde 3 seviyeye sahip 4 bağımsız değişken; sürfektanların molar oranları ( $X_1$ ) (Span 60: Tween 80) 1:1-3:1 (M:M), ekstrakt miktarı ( $X_2$ ) 5-15 mg ekstrakt/100 mg sürfektan, kolesterol miktarı ( $X_3$ ) 0.1-0.3 mg kolesterol/100 mg sürfektan ve uygulanan sonikasyon süresidir ( $X_4$ ) 0-90 sn. Deneyle sonuçunda bağımlı değişkenler (yanıtlar) olarak, enkapsülasyon verimi (%), toplam fenolik madde miktarı (TFM), CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (TAK), renk analizinde ölçülen  $b^*$  değeri ve toplam betalain miktarı (TBM) ölçülmüştür. Optimum enkapsülasyon koşulları; Span 60: Tween 80 molar oranının 1.161, kullanılan ekstrakt miktarı ile kolesterol miktarının sırasıyla 14.440 mg ekstrakt/100 mg sürfektan ile 0.1 mg kolesterol/100 mg sürfektan olduğu 89.99 sn'lik sonikasyon uygulanan deney koşulları olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen yanıtlar ise; enkapsülasyon verimi, % 96.06; TFM, 3.06 mg GAE/ g kuru ağırlık; TAK, 24.41 mmol TE/kg kuru ağırlık;  $b^*$  değeri, 2.81 ve TBM, 687.30 mg betalain/kg kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır. Optimum niyozom örneğinde, 30 günlük depolama süresince betalain degradasyon sabitinin belirlenmesi, ısı kararlılığın değerlendirilmesi, FT-IR ve TEM analizleri ile zeta potansiyeli ile parçacık boyutu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Isıl kararlılık analizlerine göre, KE, UDE ve VMDE yöntemlerinde elde edilen optimum ekstraktlarda sırasıyla %55.501, %60.752 ve %66.808 olarak bulunan ısı kararlılık değerleri, niyozomal enkapsülasyon sonrasında optimum örnekte %92.91'e kadar yükselmiştir.

Tez çalışmasının bir sonraki aşamasında, gıda uygulaması amacıyla yoğurt üretimi gerçekleştirilmiş ve VMDE yöntemiyle elde edilen optimum ekstrakt ile optimum niyozom örnekleri farklı oranlarda (%2-4-6) sade yoğurda eklenmiştir. Tüm yoğurt örnekleri, 14 gün boyunca +4°C sıcaklıkta depolanmıştır. Depolama süresince yoğurtlardaki bazı fizikokimyasal (pH, su tutma kapasitesi, renk, kuru madde miktarı ve su aktivitesi), tekstürel, reolojik, mikrobiyolojik (laktik asit bakterilerinin sayısı) ve fonksiyonel özelliklerin (TFM, TAK ve TBM) değişimleri analiz edilmiş ve sonuçlar katkı ilavesi yapılmayan sade yoğurt örneği ile karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda sade yoğurda göre biyoaktif özelliklerin artırılarak fonksiyonel özellikte bir ürün eldesi sağlandığı ve yoğurt formülasyonu için %4 oranında konsantrasyona kadar yoğurt özelliklerinin fizikokimyasal, tekstürel ve reolojik anlamda büyük ölçüde korunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca niyozom içeren örneklerde, sadece ekstrakt eklenen örneklere göre depolama süresince biyoaktif bileşikler ile betalainlerin daha iyi korunduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında sindirim sırasında betalainler ve fenolik bileşiklerin, ekstrakt örnekleri, ekstrakt yüklü niyozom örnekleri ve elde edilen yoğurtlarda biyoerişilebilirliğinin nasıl değiştiğinin anlaşılması amacıyla *in-vitro* sindirim simülasyonu gerçekleştirilmiştir. *In-vitro* sindirim aşamaları sonrasında, TFM, TAK ve TBM değerleri ölçülerek sonuçlar sindirim öncesindeki başlangıç değerleri ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, mide fazı sonrasında azalma seyirinde olan biyoaktif bileşikler ile betalainlerin bağırsak fazı sonrasında artış gösterdiği bulunmuştur.

Bu tez çalışması kapsamında, kaktüs meyvesinden ekstrakte edilen betalainler ve biyoaktif bileşiklerin doğal gıda renklendiricisi ve fonksiyonel katkı maddesi olarak değerlendirilme potansiyeli araştırılmıştır. Ekstraksiyonda kullanılan yeni teknolojilerden, vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE) yönteminin, diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha verimli ve çevre dostu bir alternatif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, VMDE ile ekstrakte edilen betalainler ile hassas biyoaktif bileşiklerin stabilitesinin korunmasında niyozomal enkapsülasyonun etkili bir yöntem olduğu tespit edilmiştir. VMDE yöntemiyle elde edilen doğal renk bileşenlerinin hem doğrudan hem de niyozomal enkapsülasyonu yapılarak sade yoğurda uygulanması, fonksiyonel özelliklere sahip yenilikçi bir ürün geliştirilmesi açısından umut verici sonuçlar vermiştir. Son aşamada gerçekleştirilen *in-vitro* sindirim deneyleriyle, optimum

koşullarda elde edilen ekstrakt ve ekstrakt yüklü niyozomal veziküller ile geliştirilmiş fonksiyonel yoğurt örneklerinin biyoyararlanımı değerlendirilmiş; biyoaktif bileşikler ile betalainlerin sindirim süreçlerindeki davranışları detaylı biçimde analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, doğal renklendiricilerden biri olan betalainlerin gıda endüstrisine uygulanabilirliğini ortaya koymakta ve bu alanda yenilikçi teknolojilerin gıda entegrasyonuna katkı sağlamaktadır. Bu doğrultuda, ilerleyen çalışmalarda VDME ile ekstrakte edilen betalainlerin ve biyoaktif bileşiklerin niyozomal enkapsülasyon kullanılarak farklı gıdalara uygulanabilirliği test edilerek fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ürün çeşitliliğinin artırılması hedeflenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kaktüs meyvesi, betalain, doğal renklendirici, yeşil ekstraksiyon teknolojileri, niyozomal enkapsülasyon, *in-vitro* sindirim

## **ABSTRACT**

### **EXTRACTION OF BETALAINS FROM CACTUS PEAR (*Opuntia ficus-indica* L.) BY NOVEL METHODS, NIOSOMAL ENCAPSULATION AND FOOD APPLICATION**

**Büşra AKDENİZ OKTAY**

**Doctor of Philosophy, Department of Food Engineering**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif YOLAÇANER**

**Co- Supervisor: Prof. Dr. S. Aykut AYTAÇ**

**July 2025, 260 pages**

Prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) is a fruit commonly cultivated in arid and semi-arid regions and is noteworthy rich in betalain pigments and various phenolic compounds. In recent years, betalains have grown in interest due to their visual and functional properties. Particularly, betalains are accepted as a natural alternative with rising consumer sensitivity to the synthetic colorants. However, the limited stability of these naturally derived compounds against environmental factors such as light, temperature, and pH could restrict their applicability. Therefore, the utilization of betalain-rich sources like cactus fruit and strategies to enhance the stability of these compounds in food systems has gained significance.

In traditional extraction of natural pigments like betalains, the extended processing times, high solvent usage, and low extraction yield, are major limitations. Accordingly, there has been increasing interest in green extraction technologies, microwave and ultrasound-assisted methods, providing environmentally friendly, rapid, and high-yield alternatives. Furthermore, various encapsulation techniques have developed to enhance the stability of the extracted functional color pigments and other bioactives. For this purpose, niosomal encapsulation, a technology utilized for a long time in the pharmaceutical and cosmetic industries but relatively novel in food applications, has drawn attention as a promising carrier system for the delivery and controlled release of natural bioactives.

Bioactive compounds such as betalains and phenolics not only have functional properties but also exhibit antimicrobial activity against certain pathogenic microorganisms. In addition, the application of these niosomal encapsulated bioactives to food systems contributes to both value-added product development and enhancement of bioaccessibility during digestion. Consequently, it is crucial to perform *in-vitro* digestion studies on extracts, niosomal capsules containing bioactive compounds, and niosome-incorporated food matrices.

To the best of our knowledge, there has been no investigation in the literature consisting of the extraction of betalains and phenolics from prickly pear using both ultrasound-assisted and vacuum microwave-assisted extraction methods in comparison with conventional method, also optimizing extraction conditions. Similarly, niosomal encapsulation of extracts, the optimization of encapsulation parameters, characterization of the niosomes, and application in a food matrix have not been previously reported. In this study, firstly extracts were prepared using conventional, ultrasound assisted, and vacuum microwave assisted extraction techniques, the extraction parameters were optimized, and extraction methods were compared. Since the promising results were obtained in vacuum microwave assisted extraction, the extract obtained in optimal extraction conditions was used in niosomal encapsulation process. During encapsulation, process parameters were optimized, the resulting niosomal formulation was characterized, and incorporated into a yogurt product. Finally, the effects of both the extract and the extract-loaded niosomes on the yogurt samples were analyzed, and *in-vitro* digestion studies were performed to evaluate the bioaccessibility of the bioactive compounds.

In the beginning of the thesis, conventional extraction (CE), ultrasound assisted extraction (UAE), and vacuum microwave assisted extraction (VMAE) methods were used to extract betalains and phenolic compounds from prickly pear. Extraction conditions were optimized using a Box–Behnken design with 29 runs and four independent variables at three levels. For CE and UAE, variables were determined as extraction time ( $X_1$ ) 1–3 hours and 30–90 min, extraction temperature ( $X_2$ ) 30–50 °C, ethanol concentration in solvent ( $X_3$ ) 40–80%, and sample-to-solvent ratio ( $X_4$ ) 1:10–1:30 (g/mL). For VMDE, variables were vacuum pressure ( $X_1$ ) 100–400 mmHg, extraction time ( $X_2$ ) 2–8 min, ethanol concentration in solvent ( $X_3$ ) 20–60%, and sample-to-solvent ratio ( $X_4$ ) 1:10–1:30 g/mL. Total phenolic content (TPC), total antioxidant capacity (DPPH and CUPRAC methods), and total betalain content (TBC) were the responses. Second-order polynomial equations and variance analysis were obtained for each response using Response Surface Methodology. The optimization of extraction parameters was carried out for each extraction method. For CE, the optimum extraction conditions were an extraction time of 2.05 h, extraction temperature of 50 °C, 80% ethanol, sample-to-solvent ratio of 1:22.6 g/mL. For UAE the optimum extraction conditions were an extraction time of 30 min, extraction temperature of 50 °C, 40% ethanol, sample-to-solvent ratio of 1:30 g/mL. For VMDE the optimum extraction conditions were the vacuum value of 108.82 mmHg, extraction time of 2.47 min, 20% ethanol, sample-to-solvent ratio of 1:29.42 g/mL. Under optimal conditions, TPC values were 6.13, 6.38, and 7.79 mg GAE/g DW;  $TAC_{DPPH}$  were 13.96, 13.53, and 13.74 mmol TE/kg DW;  $TAC_{CUPRAC}$  were 34.87, 49.38, and 47.06 mmol TE/kg DW; and TBC values were 418.83, 471.82, and 715.50 mg betalain/kg DW for CE, UAE, and VMDE respectively.

After optimization of the extraction methods, Q-TOF LC/MS analysis was performed to analyze betalain composition in extracts obtained in optimum conditions. The amounts of different types of betalains were calculated in terms of betanin standard equivalents. Antimicrobial activities of the extracts were investigated against *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), and *Listeria monocytogenes* via well diffusion and broth macrodilution methods. Extract obtained via VMDE exhibited activity against *E. coli* O157:H7 (ATCC 25922), while all extracts showed antimicrobial activity against *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076). No inhibitory effect was detected against *Listeria monocytogenes* among extraction methods in well diffusion method. In broth

macrodilution method, the minimum inhibitory concentration (MIC) of extracts obtained in optimum extraction conditions was found only for *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076) in undiluted tubes.

Since VMAE was founded as the best extraction method among other methods, niosomal encapsulation was performed using the extract obtained in optimum conditions of VMAE. Encapsulation conditions were optimized by response surface methodology with four independent variables at three levels: molar ratio of Span 60:Tween 80 molar ( $X_1$ ) 1:1–3:1), the amount of the extract ( $X_2$ ) 5–15 mg/100 mg surfactant, the amount of the cholesterol ( $X_3$ ) 0.1–0.3 mg/100 mg surfactant, and sonication time ( $X_4$ ) 0–90 s. Responses were chosen as encapsulation efficiency (%), total phenolic content (TPC), total antioxidant capacity (TAC),  $b^*$  value in color analysis, and total betalain content (TBC). Optimum encapsulation conditions were determined as molar ratio of Span 60:Tween 80 1.161, 14.44 mg extract/100 mg surfactant, 0.1 mg cholesterol/100 mg surfactant, and 89.99 s of sonication. In optimum conditions, the encapsulation efficiency, 96.06%; TPC, 3.06 mg GAE/g DW; TAC, 24.41 mmol TE/kg DW;  $b^*$ , 2.81 and TBM, 687.30 mg betalain/kg DW. In niosomal capsule obtained in optimum encapsulation conditions, the betalain degradation kinetics over 30 days, evaluation of thermal stability, FT-IR, TEM, zeta potential, and particle size analyses were performed. In CE, UAE, and VMDE the thermal stability values of 55.5%, 60.8%, and 66.8% respectively increased to 92.91% after niosomal encapsulation.

In the next stage of the thesis, for food application, yogurt was produced and optimal VMDE extract and optimum niosomal capsules were supplemented to yogurt at different concentrations (2-6%). Yogurts were stored at 4°C for 14 days, and the changes in physicochemical (pH, water holding capacity, dry matter, color, water activity), textural, rheological, microbiological (lactic acid bacteria count), and functional parameters (TPC, TAC and TBC) were analyzed, and results were compared with plain yogurt sample without any additives. Results indicated that bioactive properties were increased compared to plain yogurt leading to the development of a product with functional properties. Up to 4% concentration, yogurt quality maintained considerably in terms of physicochemical, textural and rheological characteristics. Niosome-added samples demonstrated better stability of bioactive compounds and betalains compared to extract-added samples during storage.

In the final stage of the study, the simulation of *in-vitro* digestion was performed to evaluate the bioaccessibility of betalains and phenolic compounds in extract, extract loaded niosomes, and yogurt samples. After *in-vitro* digestion stages, TPC, TAC, and TBC were measured and compared with the results before digestion. Results showed that betalains and phenolic compounds declined in the gastric phase followed by an increase in the intestinal phase.

In conclusion, in this study the potential of betalains and bioactive compounds extracted from prickly pear was investigated in terms of usage of natural food colorants and functional additives. Among the novel extraction technologies, vacuum microwave-assisted extraction (VMAE) was found to be the most efficient and environmentally friendly alternative compared to other extraction methods. Furthermore, it was determined that niosomal encapsulation is an effective technique for stabilization of betalains and sensitive bioactive compounds extracted via VMAE. The direct and encapsulated application of natural colorant components into plain yogurt yielded promising results in the development of an innovative product with functional properties. Finally, the bioavailability of the extract obtained under VMDE optimal conditions, extract-loaded niosomal vesicles, and functional yogurt samples were evaluated by *in-vitro* digestion experiments. The behavior of bioactive compounds and betalains during digestion processes was analyzed in detail. These findings demonstrated the applicability of betalains in the food industry and contributed to the food integration of innovative technologies. Accordingly, in further studies, the applicability of niosomal encapsulation of betalains and bioactive compounds extracted via VMAE to various food could be tested, thereby increasing the diversity of functional products.

**Keywords:** Prickly pear, betalain, natural colorant, green extraction Technologies, niosomal encapsulation, *in-vitro* digestion

## TEŞEKKÜR

Doktora süreci boyunca ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle hep yanımda olan ve bana yol gösterici olmakla birlikte yakın bir arkadaş da olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Elif YOLAÇANER'e,

Tez süresince deneyimlerini benimle paylaşan Prof. Dr. S. Aykut AYTAÇ'a,

Deneyler esnasında ve her başım sıkıştığı anda her zaman bana yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi araştırma laboratuvarları çalışanlarına, ayrıca sabırlarından ve desteklerinden ötürü Öğr. Gör. Meltem YILDIRIM'a, Öğr. Gör. Selin HEYBELİ'ye ve Öğr. Gör. Yelda ZENCİR'e,

En yoğun anında bile sabırla beni teşvik eden olan ve desteğini hiç esirgemeyen moral kaynağım sevgili oda arkadaşım Meltem LAÇİN'e,

Bu yolda birlikte yürüdüğüm ve bana motivasyon sağlayan araştırma görevlisi arkadaşım Özlem ŞAHİN'e,

Laboratuvarda birlikte çalışmaktan ve birlikte keşfetmekten çok keyif aldığım sevgili Nur Sena AKDENİZ'e,

Yüksek lisans sürecimin başından beri her anımı paylaştığım ve bana destek olan Aslı Deniz PEHLİVAN BOZDEMİR'e,

2009 yılında lisans eğitimine ilk başladığım süreçten itibaren hep yanımda olan sevgili meslektaşım ve yol arkadaşım Eda YILDIZ'a,

Doğduğum ilk günden bu yana koşulsuz desteği ile beni cesaretlendiren, sevgiyi ve azmi bana en güzel şekilde öğreten, emeklerinin hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili annem Meliha AKDENİZ ve canım babam Kutlay AKDENİZ'e, en zor anımı en güzel şekilde geçirmemde her zaman desteği olan diğer yarım canım kardeşim Beren AKDENİZ'e,

Doktora süresince hep yanımda bana destek olan ve benimle bu yükü paylaşan sevgili eşim, hayat arkadaşım Berkin OKTAY'a, hayatıma geldiği andan itibaren her yeri güzelleştiren ve bana motivasyon kaynağı olan canım oğlum Mete OKTAY'a,

Bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde büyük katkısı olan 2220444 nolu projenin hayata geçirilmesi için destek veren TÜBİTAK'a çok teşekkür ediyorum.

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	xii
İÇİNDEKİLER .....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxiii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xxxı
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	6
2.1. Gıda Endüstrisinde Renklendiriciler.....	6
2.1.1. Yapay Gıda Renklendiricileri .....	7
2.1.2. Doğal Gıda Renklendiricileri.....	8
2.2. Fenolik Bileşikler.....	12
2.3. Antioksidanlar.....	14
2.4. Kaktüs Meyvesi ( <i>Opuntia ficus indica</i> L.).....	14
2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri .....	16
2.5.1. Konvansiyonel Ekstraksiyon (KE) .....	16
2.5.2. Yeni ekstraksiyon Yöntemleri .....	17
2.6. Enkapsülasyon .....	23
2.6.1. Niyozomlar ve Lipozomlar .....	25
2.7. Betalainlerin Gıda Uygulamaları .....	30
2.7.1. Yoğurt ve Beslenmedeki Önemi.....	32
2.8. <i>In-vitro</i> Sindirim (Biyoerişilebilirlik) .....	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1. Materyal ve Kimyasallar.....	38
3.2. Kaktüs Meyvesinin Fizikokimyasal Özellikleri .....	38
3.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM).....	39
3.2.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK).....	40

3.2.3. Toplam Betalain Miktarı (TBM).....	42
3.3. Kaktüs Meyvesinden Betalain ve Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve İşlem Şartlarının Optimizasyonu.....	42
3.3.1. Konvansiyonel Yöntemle Ekstraksiyon (KE).....	43
3.3.2. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE).....	46
3.3.3. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (VMDE).....	48
3.4. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarının Analizleri.....	50
3.4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM).....	50
3.4.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK).....	50
3.4.3. Toplam Betalain Miktarı (TBM).....	51
3.5. KE, UDE ve VMDE Yöntemlerinde Yanıtların Modellenmesi ve Ekstraksiyon Şartlarının Optimizasyonu.....	51
3.6. Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Analizleri.....	52
3.6.1. Renk Analizi.....	52
3.6.2. Q-TOF LC/MS ile Betalain Kompozisyon Analizi.....	52
3.6.3. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi.....	53
3.6.4. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarında Isıl Kararlılık.....	54
3.7. Niyozomal Enkapsülasyon.....	55
3.7.1. Niyozomal Veziküllerin Analizi ve Optimizasyon.....	58
3.8. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomlarda Gerçekleştirilen Analizler.....	59
3.8.1. Enkapsülasyon Stabilitesi Hesaplanması.....	59
3.8.2. Isıl Kararlılığın Hesaplanması.....	60
3.8.3. Betalain Degradasyon Sabitinin Ölçülmesi.....	60
3.8.4. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomların Karakterizasyonu.....	61
3.9. Ekstrakt ve Niyozomların Yoğurda Uygulanması.....	62
3.9.1. Yoğurt Üretimi.....	62
3.9.2. Yoğurt Örneklerinde Fizikokimyasal Analizler.....	63
3.9.3. Yoğurt Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler.....	65
3.9.4. Yoğurt Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri.....	65
3.10. <i>In-vitro</i> Sindirim.....	65
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	68
4.1. Kaktüs Meyvesinin Fizikokimyasal Özellikleri.....	68

4.2. Kaktüs Meyvesinden Betalainler ve Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu .....	69
4.2.1. Konvansiyonel Ekstraksiyondan (KE) Elde Edilen Yanıtlar.....	69
4.2.2. Konvansiyonel Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi .....	72
4.2.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyondan (UDE) Elde Edilen Yanıtlar.....	84
4.2.4. Ultrason Destekli Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi.....	86
4.2.5. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyondan (VMDE) Elde Edilen Yanıtlar	
96	
4.2.6. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi.....	98
4.2.7. KE, UDE ve VMDE Yöntemlerinde İşlem Koşullarının Optimizasyonu ..	109
4.2.8. Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Analizleri .....	112
4.3. Niyozomal Enkapsülasyon .....	120
4.3.1. Niyozomal Enkapsülasyonda Yanıtların Hesaplanması .....	120
4.3.2. Niyozomal Enkapsülasyonda Yanıtların Modellenmesi.....	123
4.3.3. Niyozomal Enkapsülasyonda İşlem Koşullarının Optimizasyonu .....	137
4.4. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomların Analizleri.....	138
4.4.1. Enkapsülasyon Stabilitesi .....	138
4.4.2. Isıl Kararlılık.....	139
4.4.3. Depolama Sırasında Betalain Degradasyonu.....	140
4.4.5. Niyozomların Karakterizasyonu .....	141
4.5. Ekstrakt Yüklü Niyozomların Yoğurda Uygulanması.....	146
4.5.1. Yoğurt Örneklerinde Fizikokimyasal Özellikler .....	146
4.5.2. Yoğurtların Reolojik Karakterizasyonu.....	160
4.5.3. Yoğurt Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler.....	178
4.5.4. Yoğurt Örneklerinde Biyoaktif Bileşiklerin Analizi .....	181
4.6. <i>In-vitro</i> Sindirim Uygulaması.....	185
4.6.1 Ekstrakt Örneği ve Niyozomal Veziküllerde <i>in-vitro</i> Sindirim.....	185
4.6.2 Yoğurt Örneklerinde <i>in-vitro</i> Sindirim .....	187
5. YORUM.....	192
6. KAYNAKLAR .....	196
EKLER.....	225
EK A – TFM ve TAK Ölçümleri İçin Kullanılan Kalibrasyon Eğrileri.....	225
EK B- Optimizasyon Deneylerinde Elde Edilen Yanıtlar .....	234

EK C – Anova Çizelgeleri .....	238
EK D- KE, UDE ve VMDE Yöntemleri İçin Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Kuyucuk Difüzyon Metodu ile Bulunan Antimikrobiyal Etkilerinin Sonuçları.....	255
EK E- Farklı Konsantrasyonlarda Katkı Maddesi Eklenen ve Hiçbir Ekleme Yapılmayan Yoğurt Örnekleri.....	256
EK F- Tezden Türetilmiş Yayınlar.....	257
EK G- Tezden Türetilmiş Bildiriler .....	258
EK H- Tez Çalışması Orjinallik Raporu .....	259
ÖZGEÇMİŞ .....	260

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. (a) Betalainlerin temel yapıtaşı olan betalamik asit; (b)betalamik asidin siklo-DOPA türevleri ile kondensasyonu sonucu oluşan betasiyaninler; (c) betalamik asidin aminoasit ve türevleri ile kondensasyonu ile oluşan betaksantinler .....	10
Şekil 2.2. (a) Betasiyaninlerin genel moleküler yapısı, (b) Betaksantinlerin genel moleküler yapısı.....	12
Şekil 2.3. Kaktüs meyvesi ( <i>Opuntia ficus-indica</i> L.) .....	15
Şekil 2.4. (a) Prob tipi ultrasonik sistem; (b) Banyo tipi ultrasonik sistem.....	19
Şekil 2.5. KE ve MDE’de ısı ve kütle transferi mekanizmaları .....	21
Şekil 2.5. Lipozom yapısı ve oluşumu .....	25
Şekil 2.6. Niyozom ve lipozom yapıları .....	26
Şekil 3.1. Niyozomal enkapsülasyon sırasında oluşturulan ince film tabakası (balon jojenin dibinde gözlenen beyaz kısım) .....	57
Şekil 4.1. KE’de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) TFM, (b) $TAK_{DPPH}$ , (c) $TAK_{CUPRAC}$ , (d) TBM .....	75
Şekil 4.2. KE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri.....	77
Şekil 4.3. KE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{DPPH}$ ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	79
Şekil 4.4. KE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{CUPRAC}$ ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	81
Şekil 4.5. KE’de bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	83
Şekil 4.6. UDE’de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) TFM, (b) $TAK_{DPPH}$ , (c) $TAK_{CUPRAC}$ , (d) TBM .....	87
Şekil 4.7. UDE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	89
Şekil 4.8. UDE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{DPPH}$ ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	91
Şekil 4.9. UDE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{CUPRAC}$ ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	93

<b>Şekil 4.10.</b> UDE’de bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	95
<b>Şekil 4.11.</b> VMDE’de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) TFM, (b) $TAK_{DPPH}$ , (c) $TAK_{CUPRAC}$ , (d) TBM .....	100
<b>Şekil 4.12.</b> VMDE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	102
<b>Şekil 4.13.</b> VMDE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{DPPH}$ ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	104
<b>Şekil 4.14.</b> VMDE’de bağımsız değişkenlerin $TAK_{CUPRAC}$ ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	106
<b>Şekil 4.15.</b> VMDE’de bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	108
<b>Şekil 4.16.</b> Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) Enkapsülasyon verimi, (b) TFM, (c) $TAK_{CUPRAC}$ , (d) renk analizinde ölçülen b değeri, (d) TBM.....	126
<b>Şekil 4.17.</b> Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri.....	128
<b>Şekil 4.18.</b> Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	130
<b>Şekil 4.19.</b> Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin $TAK_{CUPRAC}$ ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	132
<b>Şekil 4.20.</b> Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin $b^*$ değeri ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	134
<b>Şekil 4.21.</b> Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_5$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri .....	136
<b>Şekil 4.22.</b> Betalain degradasyon sabitinin hesaplanması için kullanılan birinci dereceden denklem ve grafik.....	140
<b>Şekil 4.23.</b> FTIR spektrumları: (a) ekstrakt eklenmiş niyozom, (b) ekstrakt, (c) boş niyozom, (d) ekstraktta kullanılan solvent .....	142
<b>Şekil 4.24.</b> Optimum koşullarda elde edilen niyozomda transmisyon elektron mikrogram sonuçları: (a) ve (b) 1. Gün için sırasıyla 23,000 x ve 49, 000 x büyütme; (c) 30.gün için 49,000 x büyütme.....	144

- Şekil 4.25.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom..... 162
- Şekil 4.26.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom..... 162
- Şekil 4.27.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom..... 163
- Şekil 4.28.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri \*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )..... 164
- Şekil 4.29.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri \*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )..... 165
- Şekil 4.30.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri \*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )..... 166
- Şekil 4.31.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt;  $G''$  değerleri: Δ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt ..... 170
- Şekil 4.32.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom;  $G''$  değerleri: Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom ..... 170

- Şekil 4.33.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom .....171
- Şekil 4.34.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt;  $G''$  değerleri: Δ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt .....172
- Şekil 4.35.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom;  $G''$  değerleri: Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom.....172
- Şekil 4.36.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom .....173
- Şekil 4.37.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt;  $G''$  değerleri: Δ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt .....174
- Şekil 4.38.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom;  $G''$  değerleri: Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom.....174
- Şekil 4.39.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom .....175
- Şekil A1.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi.....225
- Şekil A2.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi .....225

<b>Şekil A3.</b> TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	226
<b>Şekil A4.</b> TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	226
<b>Şekil A5.</b> TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	227
<b>Şekil A6.</b> TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %70 metanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi .....	227
<b>Şekil A7.</b> $TAK_{DPPH}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	228
<b>Şekil A8.</b> $TAK_{DPPH}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	228
<b>Şekil A9.</b> $TAK_{DPPH}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	229
<b>Şekil A10.</b> $TAK_{DPPH}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	229
<b>Şekil A11.</b> $TAK_{DPPH}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	230
<b>Şekil A12.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	230
<b>Şekil A13.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	231
<b>Şekil A14.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	231
<b>Şekil A15.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	232
<b>Şekil A16.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	232
<b>Şekil A17.</b> $TAK_{CUPRAC}$ hesaplamalarında kullanılmak üzere %70 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi.....	233
<b>Şekil A18.</b> Ticari betanin örneğinin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan standart eğri .....	233

<b>Şekil D1.</b> (a) KE ve UDE, (b) VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstraktların seyreltme uygulanmamış hallerinde kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak <i>Salmonella enteridis</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis'e karşı oluşan zonlar .....	255
<b>Şekil D2.</b> VMDE yöntemin optimum koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstraktların seyreltme uygulanmamış hallerinde kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak <i>E. coli</i> O157:H7 için oluşan zonlar .....	255
<b>Şekil E.</b> Farklı konsantrasyonlarda (a) ekstrakt eklenen, (b) niyozomal kapsül eklenen ve (c) hiçbir ekleme yapılmayan kontrol yoğurdu örnekleri.....	256

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Bazı yapay gıda renklendiricilerinin sağlık üzerindeki etkileri ile kullanıldığı gıda örnekleri .....	8
<b>Çizelge 3.1.</b> Konvansiyonel ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri .....	44
<b>Çizelge 3.2.</b> Konvansiyonel ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı ( $X_1$ : süre (saat), $X_2$ : sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ ), $X_3$ : etanol yüzdesi (%) ve $X_4$ : örnek: çözücü oranı (g:mL)).....	45
<b>Çizelge 3.3.</b> Ultrason destekli ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri .....	46
<b>Çizelge 3.4.</b> Ultrason destekli ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı ( $X_1$ : süre (dakika), $X_2$ : sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ ), $X_3$ : etanol yüzdesi (%) ve $X_4$ : örnek: çözücü oranı (g:mL)).....	47
<b>Çizelge 3.5.</b> Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri .....	48
<b>Çizelge 3.6.</b> Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı ( $X_1$ : vakum değeri (mmHg), $X_2$ : süre (dakika), $X_3$ : etanol yüzdesi (%) ve $X_4$ : örnek: çözücü oranı (g:mL)).....	49
<b>Çizelge 3.7.</b> Niyozom yöntemiyle enkapsülasyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri .....	55
<b>Çizelge 3.8.</b> Box-Behnken deney tasarımına göre niyozom yöntemi ile enkapsülasyonda gerçekleştirilen deneyler ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80 (M/M), $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan), $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan), $X_4$ : Sonikasyon süresi (saniye)) .....	56
<b>Çizelge 3.9.</b> Gastrointestinal ortamı simüle eden sıvıların hazırlanması .....	66
<b>Çizelge 4.1.</b> İşlem görmemiş kaktüs meyvesinin fizikokimyasal özellikleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g kuru ağırlık), $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$ : DPPH yöntemiyle ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık), $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$ : CUPRAC yöntemiyle ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık), TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) .....	69

- Çizelge 4.2.** KE' de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)).....73
- Çizelge 4.3.** UDE' de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) .....86
- Çizelge 4.4.** VMDE'de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) .....99
- Çizelge 4.5.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için belirlenen optimum deney koşulları .....109
- Çizelge 4.6.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için belirlenen optimum deney koşullarında gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen deneysel değerler ( $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık);  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) .....111
- Çizelge 4.7.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için program çıktısı tarafından öngörülen yanıtlar ( $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık);  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)).....111
- Çizelge 4.8.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların renk analizi sonuçları .....112
- Çizelge 4.9.** KE, UDE ve VMDE'nin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların betanin kompozisyonları .....114

- Çizelge 4.10.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar kullanılarak kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için elde edilen zon çapları (ND\*: Ekstraktların dilüsyon yapılmamış halleri) ..... 116
- Çizelge 4.11.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar kullanılarak kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan *Escherichia coli* O157:H7 için elde edilen zon çapları (ND\*: Ekstraktların dilüsyon yapılmamış halleri)..... 117
- Çizelge 4.12.** Niyozomal enkapsülasyonda yapılan optimizasyon çalışmasında her bir yanıt için türetilen ikinci dereceden model denklemler ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye);  $Y_1$ : Enkapsülasyon verimi;  $Y_2$ : Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık);  $Y_3$ : CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ) (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_4$ : renk analizinde ölçülen b değeri;  $Y_5$ : Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık)) ..... 124
- Çizelge 4.13.** Niyozom yöntemi ile gerçekleştirilen enkapsülasyonda belirlenen optimum deney koşullarında gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen deneysel ve teorik değerler ( $Y_1$ : Enkapsülasyon verimi,  $Y_2$ : Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_3$ : CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAC_{CUPRAC}$ ) (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : renk analizinde ölçülen b değeri,  $Y_5$ : Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık)) ..... 137
- Çizelge 4.14.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °de depolama süresince değişen pH değerleri ..... 147
- Çizelge 4.15.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen  $L^*$  değerleri ..... 148
- Çizelge 4.16.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen  $a^*$  değerleri ..... 149

<b>Çizelge 4.17.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen b* değerleri .....	150
<b>Çizelge 4.18.</b> Farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen ΔE değerleri .....	151
<b>Çizelge 4.19.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C°de depolama süresince değişen su aktivitesi değerleri .....	153
<b>Çizelge 4.20.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen sertlik değerleri .....	154
<b>Çizelge 4.21.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen konsistens değerleri.....	155
<b>Çizelge 4.22.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen kohesivlik değerleri.....	156
<b>Çizelge 4.23.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen μ indeksi değerleri.....	157
<b>Çizelge 4.24.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen su tutma kapasitesi değerleri.....	159
<b>Çizelge 4.25.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen kuru madde miktarı değerleri.....	160
<b>Çizelge 4.26.</b> Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince Power law modeli için elde edilen kıvam katsayısı, akış davranış indeksi ve r <sup>2</sup> değerleri.....	168

- Çizelge 4.27.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince elastik modülüs (G') viskoz modülüs (G'') ve tanδ değerleri..... 177
- Çizelge 4.28.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince mikrobiyolojik analiz sonuçları ..... 180
- Çizelge 4.29.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen TFM değerleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/ g yoğurt)) ..... 182
- Çizelge 4.30.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen TAK değerleri (TAK: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg yoğurt))..... 183
- Çizelge 4.31.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen TBM değerleri (TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/kg yoğurt)) ..... 185
- Çizelge 4.32.** Kaktüs meyvesi için optimum koşullarda elde edilen ekstrakt ve niyozomlardaki *in-vitro* sindirim sonrasında biyoaktif bileşenlerinin değişimi (TFM: Toplam fenolik madde (mg GAE/g kuru ağırlık), TAK: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık), TBM: Toplam betalain miktarı mg betalain/kg kuru ağırlık))..... 187
- Çizelge 4.33.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TFM değerleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/ g yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi) ..... 188
- Çizelge 4.34.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TAK değerleri (TAK: Toplam antioksidan madde miktarı (mmol TE/ kg yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi) ..... 190

- Çizelge 4.35.** Farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TBM değerleri (TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/kg yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi) ..... 191
- Çizelge B1.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde KE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) ..... 234
- Çizelge B2.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde UDE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) ..... 235
- Çizelge B3.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde VMDE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık)) ..... 236
- Çizelge B4.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: Enkapsülasyon verimi, Y<sub>2</sub>: Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (TAK<sub>CUPRAC</sub>) (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: Renk analizinde ölçülen b değeri, Y<sub>5</sub>: Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık)) ..... 237
- Çizelge C.1.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TFM (Y<sub>1</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (saat), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)) ..... 238
- Çizelge C.2.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TAK<sub>DPPH</sub> (Y<sub>2</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (saat), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)) ..... 239
- Çizelge C.3.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TAK<sub>CUPRAC</sub> (Y<sub>3</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (saat), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)) ..... 240

- Çizelge C.4.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 241
- Çizelge C5.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 242
- Çizelge C6.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 243
- Çizelge C7.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  ( $Y_3$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 244
- Çizelge C8.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 245
- Çizelge C9.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)) ..... 246
- Çizelge C10.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)) ..... 247
- Çizelge C11.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  ( $Y_3$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))..... 248

- Çizelge C12.** VMDE'de bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent)).....249
- Çizelge C13.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye)) .....250
- Çizelge C14.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye)) .....251
- Çizelge C15.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye)) .....252
- Çizelge C16.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin renk analizinde ölçülen b değeri ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye)) .....253
- Çizelge C17.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_5$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye)) .....254

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
h/h	Hacim/hacim
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
mmHg	Milimetre civa
mL	Mililitre
N	Normalite
ppm	Miligram çözünen/L çözelti
sa	Saat

### Kısaltmalar

BAE	Basınçlı akışkan ekstraksiyon
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
CTEM	Cryo-Transmisyon elektron mikroskobu
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
HLB	Hidrofilik-lipofilik balans
KE	Konvansiyonel ekstraksiyon
MDE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
MRS	deMan Rogosa Sharpe agar
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
RSM	Response surface methodology
SAE	Süperkritik akışkan ekstraksiyon

SBS	Simüle bağırsak sıvısı
SMS	Simüle mide sıvısı
TAK	Toplam antioksidan kapasitesi
TBM	Toplam betalain miktarı
TFM	Toplam fenolik madde miktarı
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TSB	Tryptic soy broth
Q-TOF LC/MS	Quadrupole-Time of Flight-Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi
UDE	Ultrason destekli ekstraksiyon
VMDE	Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon
VEADE	Vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyon

# 1. GİRİŞ

Tüketiciler tarafından bir gıdanın kabul edilebilirliğinin en önemli ölçütlerinin başında gıdanın fiziksel özellikleri gelmektedir. Bu özelliklerden en öne çıkanı gıdadaki renk pigmentleridir. Renk pigmentleri gıdayı görsel anlamda geliştirirken aynı zamanda gıdanın kalite ve güvenliği açısından bilgi de vermektedir (Dey ve Nagababu, 2022). Gıdalardaki renk pigmentleri hem doğal kaynaklardan elde edilen hem de yapay (sentetik) olarak sentezlenen bileşenler olabilmektedir.

Sentetik yapılu gıda renklendiricileri daha ucuz maliyetlerle üretilmeleri ve dış etmenlere karşı (pH, sıcaklık, ışık vb.) stabilitelerinin doğal renklendiricilere kıyasla daha fazla olması dolayısıyla gıdalarda farklı kullanım alanları bulmaktadır. Fakat sentetik renklendiricilerin uzun vadeli kullanımlarında sağlık üzerinde potansiyel olumsuz etkiler göstermekte, çeşitli alerjik reaksiyonlar ve çocuklarda hiperaktivite ile ilişkilendirilmektedirler (Sigurdson ve ark., 2017). Bu nedenle tüketicilerin daha çok doğal renklendiricilere yönelmeye başladığı ifade edilmiştir. Doğal kaynaklardan elde edilen renklendiricilerin aynı zamanda antioksidan ve fenolik gibi fonksiyonel özellikleri de olduğundan sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Fakat doğal renklendiricilerde dış etmenlere karşı yaşanan stabilite sorunları, doğal renk bileşenleri ile yapılan çalışmalarda bu bileşenlerin ekstraksiyonu amacıyla kullanılan yöntemlerin geliştirilmesi ile stabilitelerinin artırılması yönünde ilerlemektedir (Coultate ve Blackburn, 2018).

Çeşitli bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal renk pigmentleri arasında yeşil renkli klorofiller, turuncu-sarı renkli karotenoidler, mor renkli antosiyaninler ve sarı-turuncu ile kırmızı-mor renkli betalainler örnek verilebilir (Luzardo-Ocampo ve ark., 2021). Literatürde çalışmalar özellikle geniş bir grup olan antosiyaninler üzerinde yoğunlaşsa da betalainler son yıllarda sıklıkla çalışılan doğal renklendiriciler arasına girmiştir. Azotlu aromatik yapıda betalamik asit birimlerinden oluşan betalainler, geniş pH aralığında (pH 3-7) stabil kalmaları ve suda çözünürlüklerinin antosiyaninlere kıyasla daha fazla olması ile doğal kaynaklı gıda renklendiricisi olarak tercih edildikleri ifade edilmektedir. Ayrıca betalainler konjuge çift bağ içermeleri nedeniyle antioksidan özellikte olmaları dışında,

antinflammatuvar, antikanser ve antidiyabetik etkilerinin de olduğu belirtilmiştir (Leal-Alcazar ve ark., 2025).

Betalainlerin doğal sebze ve meyve kaynaklarından elde edilmesi için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler geleneksel yöntemler ile yeni ekstraksiyon teknolojileri olarak ikiye ayrılmaktadır. Uzun süren ve yüksek hacimlerde solvent kullanımı ile gerçekleştirilen geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen yeni ekstraksiyon yöntemleri (ultrason destekli, mikrodalga destekli, vurgulu elektrik alan destekli vb.) son yıllarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca ekstraksiyon sonrasında elde edilen fonksiyonel özellikteki betalainlerin çevresel koşullara karşı stabilite kazanması amacıyla enkapsülasyon çalışmalarının da yapılması literatür kaynaklarında çalışılan diğer bir önemli gereksinimdir (Molina ve ark., 2023)

Bu tez çalışması kapsamında öncelikle Türkiye’de Akdeniz ve Ege bölgelerinde Ağustos-Eylül aylarında olgunlaşan kaktüs meyvesi (*Opuntia ficus indica* L.) betalain kaynağı olarak incelenmiştir. Meyveden betalainlerin ekstraksiyonu amacıyla üç farklı ekstraksiyon yöntemi denenmiş ve deney koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Konvansiyonel ekstraksiyon (KE), ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE) yöntemleri kullanılarak kaktüs meyvesinden betalain ekstraksiyonu yapılmıştır. Her üç ekstraksiyon yöntemi için de 4 farklı bağımsız değişkenin 4 bağımlı değişken (yanıt) üzerindeki etkisi incelenmiştir. KE ve UDE için belirlenen bağımsız değişkenler ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ve örnek: ekstraksiyon solventi oranı olarak belirlenirken, VMDE için bağımsız değişkenler vakum değeri, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ve örnek: ekstraksiyon solventi oranı olarak belirlenmiştir. Her üç yöntem için de Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak toplamda 5’i merkez nokta olmak üzere 29’ar deney gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonucunda analiz edilen yanıtlar ise, toplam fenolik madde miktarı (TFM), iki farklı yöntemle belirlenen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{DPPH}$  ve  $TAK_{CUPRAC}$ ) ve toplam betalain miktarıdır (TBM). Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve farklı ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılmıştır. Her üç yöntem için de optimum ekstraksiyon koşulu belirlenerek en verimli sonucun elde edildiği VMDE ile elde edilen örnek ile enkapsülasyon deneylerine devam edilmiştir.

Enkapsülasyon aşaması öncesinde her ekstraksiyon yöntemi için elde edilen ekstraktların antimikrobiyel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kuyucuk difüzyon ve tüp dilüsyon metotları ile ekstraktların bazı patojenler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ayrıca her üç ekstraksiyon yönteminin de optimum koşulunda elde edilen ekstraktın betalain profili Q-TOF LC/MS yöntemi ile karşılaştırılmış ve betanin standardı cinsinden betalain profilleri belirlenmiştir.

Enkapsülasyon prosesi, biyoaktif bileşenler ile renk maddeleri gibi hassas bileşenlerin uygun bir kaplama materyali kullanılarak farklı tekniklerle etrafında bir bariyer oluşturarak nano veya mikro boyutta kaplanmasını ifade etmektedir. Böylece hassas bileşenin biyoaktivitesi korunarak biyoyararlılığı artmakta ve kontrolü salınım sağlanarak bileşenlerin stabilitesi arttırılmaktadır (Rezagholizade-Shirvan ve ark., 2024). Enkapsülasyon metotlarından iyonik olmayan sürfektanlar ile oluşturulan niyozom vezikülleri hem hidrofobik hem de hidrofilik özellikteki bileşenleri kapsülleme yetenekleri ile özellikle eczacılık ve kimya alanlarında öne çıkan bir enkapsülasyon metodu olarak ifade edilmiştir (Mawazi ve ark., 2025). Tez çalışmasında VMDE ile optimum koşullarda elde edilen betalaince zengin ekstrakt ince film hidrasyon yöntemi kullanılarak niyozom vezikülleri içerisinde enkapsüle edilmiştir. Enkapsülasyon esnasında deney koşullarının optimizasyonu, ekstraksiyon yöntemlerine benzer olarak Box-Behnken deney tasarımına göre 5 tanesi merkez noktada olmak üzere 29 deney yapılarak gerçekleştirilmiştir. Deney tasarımında belirlenen 4 bağımsız değişken: sürfektan maddelerin molar oranları (Span 60: Tween 80), kaplanacak ekstrakt miktarı, kolesterol miktarı ve enkapsülasyon sonrasında uygulanan ultrason süresi olarak belirlenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda enkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde (TFM), CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ), renk analizinde ölçülen b değeri ve toplam betalain miktarı (TBM) yanıtları değerlendirilerek enkapsülasyon için optimum koşullar belirlenmiştir. Optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen kapsülde ise 30 günlük depolama süresince betalain degradasyon sabitinin ölçülmesi, ısıl kararlılığın değerlendirilmesi, FT-IR ve TEM analizleri ile zeta potansiyeli ve parçacık boyutu ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Fonksiyonel özelliği bulunan ya da doğal renklendirici özellikteki bileşenlerin bir gıdaya uygulanması literatürde sıklıkla araştırılan konular arasında yer almaktadır. Bu hassas bileşenlerin enkapsülasyonu yapılarak gıda uygulamasının yapılması halinde, bileşenler daha stabil kalarak gıdaların fiziksel özelliklerini iyileştirmekle birlikte fonksiyonel özelliklerini de arttırdığı ifade edilmektedir (Rezagholizade-Shirvan ve ark., 2024). Tez çalışmasında VMDE optimum koşullarda elde edilen ekstrakt ve bu ekstraktın optimum enkapsülasyon koşullarında niyozom yöntemi ile kaplanmış hali farklı konsantrasyonlarda (%2, %4 ve %6) sade yoğurt örneğine eklenerek 14 gün boyunca +4°C’de depolanmıştır. Depolama süresince yoğurtlardaki bazı fizikokimyasal (pH, tekstür, reoloji, su tutma kapasitesi, renk, kuru madde miktarı ve su aktivitesi), mikrobiyolojik (laktik asit bakterilerinin sayımı) ve biyoaktif bileşen (TFM, TAK<sub>CUPRAC</sub> ve TBM) değişimleri analiz edilmiş ve sonuçlar hiçbir katkı eklenmesi yapılmayan yoğurt örneği ile karşılaştırılmıştır.

Günümüzde araştırmalar, biyoaktif bileşenlerin nasıl metabolize olduklarına dair mekanizmalara ve insan vücudundaki biyoyararlılıklarına ışık tutmak amacıyla yapılmaktadır. Biyoyararlılık terimi hem biyoaktiviteyi hem de biyoerişilebilirliği içeren geniş bir kavramdır (Adeyanju, 2024). Vücuda alınan biyoaktif bileşenlerin sindirim sisteminden geçtikten sonra ne kadarının yararlanılabilir olduğu biyoerişilebilirliğin bir göstergesi olarak ifade edilmektedir. Bu amaçla yapılan *in-vivo* ve *in-vitro* çalışmalar ile çeşitli gıda maddelerinden ekstrakte edilen biyoaktif bileşenlerin biyoerişilebilirliği test edilmektedir. *In-vitro* sindirim uygulamaları ile vücutta gerçekleşen sindirim döngüsüne benzer simüle sistemler oluşturularak biyoaktif bileşenlerin sindirim öncesinde ve sonrasındaki miktarları laboratuvar ortamında ölçülerek biyoerişilebilirlik değerlendirilmektedir (Gonçalves Santana ve ark., 2024). Tez çalışmasının son aşamasında ise, optimum koşullarda VMDE ile elde edilen kaktüs meyvesi ekstraktının, optimum koşullarda elde edilen kapsülün ve farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve kapsül eklenen yoğurt örneklerinin biyoerişilebilirliğinin test edilmesi için *in-vitro* sindirim uygulaması gerçekleştirilmiştir. Uygulama sonucunda örneklerde TFM, TAK<sub>CUPRAC</sub> ile TBM ölçülerek sonuçlar sindirim öncesindeki değerleri ile karşılaştırılmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında Türkiye’de Akdeniz bölgesinde yetiştirilen zengin betalain kaynağı, mevsimlik bir meyve olan kaktüs meyvesinin değerlendirilmesi amacıyla öncelikle üç farklı ekstraksiyon yöntemi (KE, UDE ve VMDE) denenerek hem

biyoaktif bileşenlerin hem de betalainlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Betalain içeriği en yüksek olan VMDE ile elde edilen ekstrakt sonrasında daha önce denenmemiş bir enkapsülasyon yöntemi olan niyozom ile kapsüllenenek optimum koşulda elde edilen kapsülün karakterizasyonu da gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasının devamında ise, VMDE ile optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstrakt ile optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen kapsüller doğal renklendirici olarak farklı konsantrasyonlarda yoğurda uygulanmış ve örneklerin gıda maddesine uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Son olarak optimum koşullarda VMDE ile elde edilen kaktüs meyvesi ekstraktı, optimum koşullarda elde edilen kapsül ve farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve kapsül eklenen yoğurt örneklerinin biyoerişilebilirliğinin test edilmesi için *in-vitro* sindirim uygulaması gerçekleştirilmiştir. Böylece kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin biyoaktif bileşenlerin bir gıdaya katkı maddesi olarak eklenebileceği doğrulanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde tez çalışmasındaki konularla ilgili güncel literatür bilgisi verilmiştir. Bu amaçla, kaktüs meyvesinden üç farklı ekstraksiyon yöntemi (konvansiyonel, ultrason-destekli ve vakum mikrodalga-destekli) kullanılarak betalaince zengin ekstraktların elde edilmesinde ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey metodu kullanılarak optimizasyonunun yapılması ve her ekstraksiyon yöntemi için bulunan optimum çalışma koşullarından elde edilmiş ekstrakt örneklerinin antimikrobiyel etkilerinin araştırılması gerçekleştirilmiştir. Sonrasında, vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon ile optimum çalışma koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstraktın stabilizasyonunun artırılması amacıyla niyozom yöntemi ile enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu için yine yanıt yüzey metodu kullanılmıştır. Optimum koşullarda elde edilmiş olan niyozom örneğinin FT-IR, TEM, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü ile karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca hem betalaince zengin ekstrakt örnekleri hem de ekstrakt yüklü niyozom örnekleri model gıda örneği olarak yoğurda uygulanmış ve fizikokimyasal, mikrobiyolojik deneyler ile biyoaktif bileşen analizleri gerçekleştirilmiştir. Son olarak, betalaince zengin ekstrakt örneği, ekstrakt yüklü niyozomlar ve tüm yoğurt örneklerinde biyoerişilebilirliğin belirlenmesi amacıyla *in-vitro* sindirim analizleri tamamlanmıştır.

### 2.1. Gıda Endüstrisinde Renklendiriciler

Gıda ürünlerinde renk, ürün üzerine gelen ışığın spektral dağılımı sonucu oluşan ve gıdanın tüketici tarafından kabulü, organoleptik karakteri ve kalite algısına doğrudan etkisi olan en önemli göstergelerden biri olarak kabul edilmektedir (Çakmak Sancar ve ark., 2023). Gıdalarda üretim ve depolama esnasında dış etmenlerle (ışık, oksijen, ısı, pH değişimi vb.) gerçekleşen renk kayıpları dolayısıyla üreticilerin, gıda endüstrisinde renklendirici katkı maddelerini gıda formülasyonlarına koyduğu ifade edilmektedir. Kullanılan bu renklendirici katkı maddeleri doğal gıda kaynaklarından elde edilen doğal renklendiriciler olabildiği gibi, yapay olarak sentezlenen yapay renklendiriciler de olabilmektedir (Novais ve ark., 2022).

### 2.1.1. Yapay Gıda Renklendiricileri

Yapay gıda renklendiricileri, düşük maliyetle sentetik olarak üretilen, doğal renklendiricilere göre renk yoğunluğu ve homojenliği daha fazla olan dış etmenlere karşı stabil olarak kalabilen renk pigmentleri olarak tanımlanmaktadır (Malabadi ve ark., 2022). Yapay gıda renklendiricileri, gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmakla birlikte, uzun süreli tüketimdeki toksisitesi ile sağlık üzerindeki olumsuz etkilerinden ötürü yapay renklendirici koyulan ürünlere tüketici talebinin giderek azaldığı da ifade edilmektedir (Çizelge 2.1) (Dey ve Nagababu, 2022). Maruz kalınan miktar ve süreye bağlı olmakla birlikte, yapay gıda renklendiricilerinin tüketimi ile alerjik reaksiyonların artış gösterdiği, hücrelerde mutasyonlar oluşarak kanser oluşumunun tetiklendiği ve özellikle çocuklarda hiperaktivitenin arttığı rapor edilmiştir (Vega ve ark., 2023). Yapılan bir hayvan deneyinde, sıçanlar 12 hafta süreyle, belirli bir konsantrasyonda yapay bir renklendirici olan Sunset sarısı (E110) renklendiricisine maruz bırakılmış ve süre sonunda sıçanlarda ölçülen hemoglobin seviyesi ile kırmızı ve beyaz kan hücresi sayılarının düştüğü ifade edilmiştir (Elbanna ve ark., 2017). Eritrozin (E127) olarak bilinen ve şekerleme endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir yapay renklendirici olan kırmızı renkli maddenin ise, çok düşük konsantrasyonlarda bile DNA üzerinde genotoksik etkisinin olabileceği belirtilmiştir (Merinas-Amo ve ark., 2019). Yapılan diğer bir çalışmada ise, Azorubin (E122) yapay renklendiricisi içeren gıdaların tüketiminin özellikle çocuklarda alerjik reaksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (Amchova ve ark., 2024).

**Çizelge 2.1.** Bazı yapay gıda renklendiricilerinin sağlık üzerindeki etkileri ile kullanıldığı gıda örnekleri

Kodu ve ismi	Sağlık etkisi	Kullanılan gıdalar	Kaynak
E110 (Sunset sarısı)	Astım Deri döküntüsü Hiperaktivite	İçecek tozları Jöle karışımları Bisküvi kremaları	(Sarıcan ve ark., 2024)
E102 (Tartrazin)	Lökositlerde DNA hasarı	Bazı içecekler Cipsler Reçeller	(Atalay ve Celep, 2024)
E129 (Allura kırmızısı)	Alerjik reaksiyonlar Hiperaktivite	Şekerlemeler Gazlı içecekler	(Amchova ve ark., 2024)
E100 (Kurkumin)	Karaciğer hasarı	Margarin Et ürünleri Fırın tatlıları	(Sarıcan ve ark., 2024)
E122 (Karmozin)	Alerjik reaksiyonlar Dikkat eksikliği ve hiperkativite	Soslar Fırıncılık ürünleri Şekerlemeler	(Kara ve ark., 2025)

### 2.1.2. Doğal Gıda Renklendiricileri

Gıda endüstrisinde kullanılan doğal kaynaklı renk maddeleri bitkilerden, hayvanlardan ya da mikroorganizmalardan elde edilebilmektedir. Bu nedenle doğal gıda renklendiricileri biyo-renklendirici olarak da adlandırılmaktadır (Çakmak Sancar ve ark., 2023) ve elde edildikleri kaynağa, yağda ya da suda çözünürlüklerine ve en yaygın olarak da kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Antosiyaninler, karotenoidler, klorofiller ve betalainler gıda endüstrilerinde en sık kullanılan doğal renklendirici maddelerdir (Rodriguez-Amaya, 2016).

Bahsedilen bu doğal renklendiriciler çoğunlukla bitkilerden elde edilmekle birlikte, mevsimlik özellikte olmalarından ötürü süreklilik açısından dezavantaja sahiptirler. Ayrıca, bitki kaynaklı renk pigmentleri çeşitli dış etmenlere (pH değişimi, ısı, ışık vb.) karşı stabilitesini de bir miktar kaybettiğinden ötürü mikrobiyal renklendiriciler de doğal gıda renklendiricisi olarak ön plana çıkmaktadır (Singh ve ark., 2023). Mikrobiyal renk pigmentleri çok sayıda bakteri, maya, küf ve protozoa tarafından fermentasyon yoluyla sentezlenmekte olup, doğal renklendirici özelliklerinin yanı sıra antioksidan,

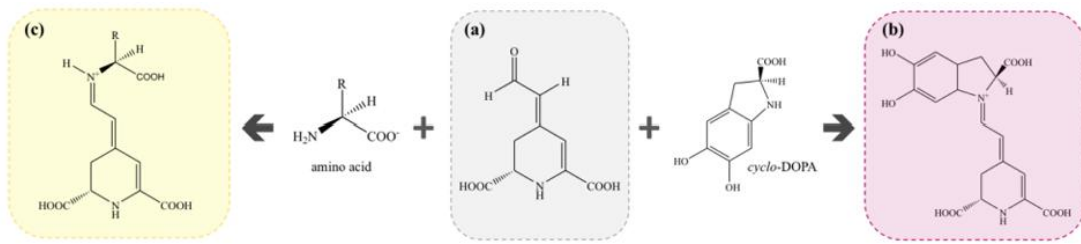
antienflamatuvar ve antikanser etkilerinin de olduğu ifade edilmektedir. Mikrobiyal yolla üretilen doğal renklendiricilere örnek olarak riboflavin, beta karoten, likopen, zeaksantin, piyosiyenin örnekleri verilebilir (Aman Mohammadi ve ark., 2022).

Hayvansal kaynaklı olan doğal gıda renklendiricileri ise, kurutulmuş böceklerin ve yumuşakçaların gövde kısımlarından üretilmekte olup, karminik asit sıklıkla ne çıkan kırmızı renkli bir doğal renk pigmentidir (Singh ve ark., 2023). Karminik asitten kalsiyum ile şelatlanma yoluyla elde edilen karminin, özellikle et ve süt ürünlerinde, içecekler ile şekerleme formülasyonlarında kullanıldığı ifade edilmektedir (Bowers ve Sobeck, 2016). Bitkilerin kök, gövde ve meyve gibi kısımlarından elde edilen doğal renk pigmentlerinden biri olan antosiyaninler, polifenollerin flavonoid sınıfına ait suda çözünebilir glikozitlerdir. pH değişimlerinden büyük lde etkilenen antosiyaninler, buldukları pH değerine göre turuncu ve kırmızıdan, mavi ve mora kadar değişen skalada renk verme özelliğine sahiptir (Wang ve ark., 2024a). pH dışında, oksijen, ışık, sıcaklık gibi faktörlerden de etkilenen antosiyaninlerin stabilizasyonu için gıda endüstrisinde genellikle enkapsülasyon metotlarının kullanıldığı ifade edilmektedir (Cheng ve ark., 2023).

Yağda znen yapıdaki karotenoidler ise, sadece hidrokarbon yapıda olan karotenler ve yapısında oksijen de içeren ksantofiller olarak sınıflandırılmaktadır. Karotenoidlerin uzun hidrokarbon zincir yapısındaki konjuge çift bağlar sayesinde, görünür ışık spektrumu bölgesinde sarıdan kırmızıya kadar farklı renklerde renk pigmenti oluşturduğu ifade edilmektedir (Ashokkumar ve ark., 2023). Endüstriyel olarak üretilen karotenoidler, doğal sebze ve meyve kaynaklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilmekle birlikte, mikroorganizmalar tarafından biyoteknolojik yöntemle de üretilmektedir. Antosiyaninlere benzer olarak fonksiyonel özellikleri ile de bilinen karotenoidlerin, literatürde farklı enkapsülasyon teknikleri ile kaplanarak hem biyoerişilebilirliklerinin hem de suda çözünürlüklerinin arttırılması hedeflenmiştir (Gonzlez-Peņa ve ark., 2023). Bitkilerde fotosentezde ışığı absorbe edip elektron transferinde önemli bir rolü olan klorofiller ise, halkaların her birinde magnezyum iyonunun merkezde olacağı şekilde yapılandırılmış dört karbon ve bir azot molekülünden oluşan dört adet pirol halkasından oluşmaktadır (Echegaray ve ark., 2023). Pirol halkası hidrofobik özellikte olup klorofiller yağda çözünebilir renk pigmentleridir. Farklı türleri olmakla birlikte, klorofil-a (mavi-yeşil renkli) ve klorofil-b (sarı-yeşil renkli) en yaygın klorofillerdir (Ghosh ve ark., 2021).

### 2.1.2.1. Betalainler

Betalamik asidin amonyum türevleri (4-(2-oksoetiliden)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-2,6-dikarboksilik asit) olan betalainler, suda çözünebilen ve çekirdek yapısında azot içeren L-tirozin aminoasidinden meydana gelen doğal renk pigmentleridir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022; Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021). Yapısında bulunan konjuge çift bağlar sayesinde betalamik asit tüm betalainlerin temel kromoforudur. Betalainler, sarı-turuncu renkli betaksantinler ve kırmızı-mor renkli betasiyaninler olarak ikiye ayrılmaktadır. Betaksantinler, betalamik asit molekülünün amin yada türevleri ile kondensasyonu ile meydana gelirken; betasiyaninler, betalamik asidin siklo-DOPA (siklo-L-3,4-dihidroksifenilalanin) veya onun glikozil türevleri ile kondensasyonu sonucu meydana gelmektedir (Şekil 2.1) (Calva-Estrada ve ark., 2022).



**Şekil 2.1.** (a) Betalainlerin temel yapıtaşı olan betalamik asit; (b) betalamik asidin siklo-DOPA türevleri ile kondensasyonu sonucu oluşan betasiyaninler; (c) betalamik asidin aminoasit ve türevleri ile kondensasyonu ile oluşan betaksantinler

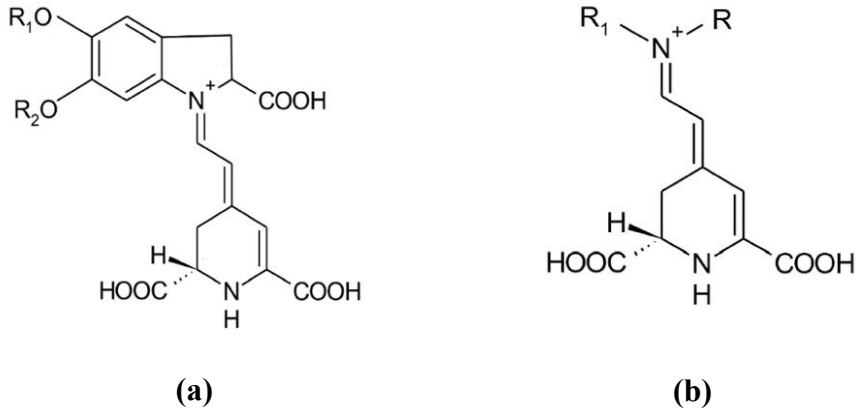
Betalainler, doğada en fazla *Caryophyllales* takımına ait bitkilerin meyve, kök, yaprak ve çiçeklerinde bulunmaktadır (Castro-Enríquez ve ark., 2020). Yapılarındaki betalamik asit nedeniyle elektron donorü olma özelliğinde olduğundan fenolik ve antioksidan özellikte olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca antioksidan özelliğin yapıdaki hidroksil ve amin gruplarının sayısı ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği de belirlenmiştir (Hadipour ve ark., 2020). Literatürde ayrıca betalainlerin doğal renklendirici özellikte olmalarına ek olarak antimikrobiyal, antienflamatuvar, antikanser ve antidiyabetik etkilerinin de olduğu farklı çalışmalarla doğrulanmıştır (Montiel-Sánchez ve ark., 2021; Sabir ve ark., 2025).

Betalainler, pH, su aktivitesi, sıcaklık, ışık, O<sub>2</sub>, metal iyonları (Cu<sup>2+</sup>, Cu<sup>+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Sn<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>) ve enzimatik aktiviteler gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Betalainlerin en stabil oldukları pH aralığı 3-7'dir. Geniş pH aralığındaki stabilitelerinden dolayı yapay

renklendiricilere alternatif olarak kullanıldıkları bilinmektedir (Thirugnanasambandham ve Sivakumar, 2017). Betalainlerin stabilitesini etkileyen en önemli faktörlerin sıcaklık ve oksijen olduğu bilinmektedir. Özellikle 50°C üzeri sıcaklıklarda betalain degradasyonun başladığı ve renk bileşenlerinin özelliklerinin giderek azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca oksidasyon hızının azaltılabilmesi için ortamdaki ışığın en az düzeyde tutulması ve pH değerinin 4-5 aralığında olması gerektiği ifade edilmiştir (Özcan ve Bilek, 2018; Sabir ve ark., 2025). Stabilizasyon için diğer önemli bir faktör olan pH değerinin 3'ün altında olduğu durumda betalainler anyonik formdan katyonik forma dönüşerek renk pigmentinin kırmızıdan maviye dönmeye başladığı belirlenmiştir. pH değerinin 7'den yüksek olduğu durumda ise, betalainlerdeki aldimin bağları hidrolize olarak amin grubu içeren ferulik asit molekülü meydana geldiği ve rengin sarı-kahverengiye dönmeye başladığı ifade edilmiştir (Calva-Estrada ve ark., 2022).

Betalainler, yaygın olarak *Amaranthaceae*, *Basellaceae*, *Cactaceae*, *Portulacaceae*, *Nyctaginaceae* gibi *Caryophyllales* takımının ailelerinde dağılım gösterdiği belirlenmiş; ayrıca *Hygrocybe*, *Hygrophorus* ve *Amanita muscaria* gibi bazı mantar türlerinde de bulunduğu rapor edilmiştir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022). Betalaince zengin kaynaklar arasında, sarı ve kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*), farklı amarant çiçeği türleri (*Amaranthus* sp.), kaktüs meyveleri (*Opuntia* spp.), begonvil çiçeği türleri (*Bougainvillea* spp.) ve ejder meyvesi türleri (*Hylocereus* spp.) sayılabilmektedir (Sabir ve ark., 2025).

Betalain ailesinin sarı-turuncu renk pigmenti kaynağını oluşturan betaksantinler, 457-485 nm aralığında maksimum absorpsiyon gösterirken; kırmızı-mor renkli betasiyaninler ise, 532-550 nm aralığında maksimum absorpsiyon göstermektedir (Khan, 2016). Şekil 2.2'de gösterilen moleküler yapılarına göre betasiyaninler ve betaksantinler, içerdikleri radikal grubun özelliğine göre sınıflandırılmaktadır (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022).



**Şekil 2.2.** (a) Betasiyaninlerin genel moleküler yapısı, (b) Betaksantinlerin genel moleküler yapısı

Betalamik asidin amin ve türevleri ile tepkimeye girmesiyle meydana gelen betaksantinlerin yapısındaki betalamik asit molekülü azaldığından betaksantinlerin daha kararlı bir forma dönüştüğü ifade edilmiştir. Bu nedenle, betasiyaninler çevresel koşullara karşı betaksantinler kadar stabil olmayıp, stabiliteyi sıcaklık, pH ve O<sub>2</sub> varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Coy-Barrera, 2020). Doğada en yaygın bulunan betasiyaninlere örnek olarak kırmızı pancarda bulunan betanin ve betanidin grupları ile, *Amaranthus* sp.'de bulunan Amaranthin grubu verilebilir (Kumorkiewicz-Jamro ve ark., 2021). Doğada sıklıkla bulunan betaksantin gruplarına örnek olarak ise, *Bougainvillea* spp. ve *Opuntia* spp.'de yoğun olarak bulunan indikaksantin ve vulgaksantin grupları örnek gösterilebilir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022).

## 2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşenler, bitkilerin gelişim ve büyümesinde herhangi bir işlevi olmayan, bitkiye karakteristik rengini veren maddeler içeren ve bitkileri olumsuz çevre koşullara karşı koruyan savunma mekanizmasında görev yapan sekonder metabolitler olarak tanımlanmaktadır (Alara ve ark., 2021). Ayrıca fenolik bileşikler, sebzeler, meyveler, baharatlar, baklagiller ve kuruyemişler gibi çeşitli gıdaların yapısında yoğun olarak bulunan ve gıdaların organoleptik özellikleri üzerinde önemli etkiye sahip olan bileşenler olarak da ifade edilirler (Zhang ve ark., 2022). Bu bileşenler, yapılarında bulunan tekli ya da çoklu hidroksil gruplara göre; flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar, taninler,

stilbenler olarak farklı gruplara ayrılırlar (Albuquerque ve ark., 2021). Flavonoidler, difenilpropan iskeleti üzerinde (C6-C3-C6), merkezi üç karbon köprüsü ile birbirine bağlanan 2 aromatik halkadan oluşan bir dizi bileşiktir. Flavonoidler bitkilerdeki renk bileşenlerinin oluşumu ile yakından bağlantılı olan en çeşitli fenolik bileşen grubudur. Doğada bulunan en yaygın flavonoidler antosiyaninler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar ve flavanonoller olarak belirlenmiştir (Saini ve ark., 2024). Fenolik bileşenlerin yaygın diğer bir grubu olan fenolik asitler, aromatik halka (C6) ve karboksil grup kombinasyonlarından oluşmaktadır. Fenolik asitler 3 alt gruba ayrılır: hidroksibenzoik asit (C6-C1), hidroksisinnamik asit (C6-C1) ve fenilasetik asit (C6-C1). Hidroksibenzoik asitler bol miktarda yağlı tohumlarda, kahvede, tahıllarda, ahudududa, kabak kabuklarında ve çekirdeklerinde ve böğürtlende, hidroksisinnamik asitler çoğunlukla kahve, tahıllar, şeftali, kiraz, erik gibi meyveler ile ıspanak, domates ve patates gibi sebzelerde ve fenilasetik asitler ise kekik ve biberiyede yoğun olarak bulunurlar (Tavan ve ark., 2024). Lignanlar, 2 fenil-propanoid ünitelerinin oksidatif dimerizasyonundan oluşan bir fenolik madde grubu olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar ve antiviral özelliklere sahip olan lignanların, keten tohumunda en yoğun olarak bulunmakla birlikte, diğer yağlı tohumlarda, zeytinyağında, şarapta, birada ve çayda da bulunduğu ifade edilmiştir (Berenshtein ve ark., 2024). Kimyasal yapılarına göre taninler, hidrolize edilebilir taninler (tannik asit) ve yoğunlaştırılmış taninler (proantosiyanidin) olarak 2'ye ayrılmakta olup, sağlık üzerinde önemli biyolojik aktivitelere sahip oldukları rapor edilmiştir (Amarowicz ve Pegg, 2024). Son fenolik bileşen grubu olan stilbenlerin temel yapısı ise 1,2-difeniletildir. Son zamanlarda, stilbenler, antiinflamatuvar, antikarsinojen ve antidiyabet gibi aktiviteleri ile sağlık açısından yararlı etkileri nedeniyle yoğun ilgi ve dikkat çekmektedir. En yaygın bulunan stilbenlerden biri olan resveratrolün, kardiyovasküler sistem üzerinde antioksidan etkiler gösterdiği yapılan çalışmalar ile doğrulanmıştır (Lee ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2022). Fenolik bileşen gruplarının, reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan özellikte olmaları, bazı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyel etki göstermeleri, antikanser ve antiinflamatuvar bileşenler içermeleri dolayısıyla biyoaktif özellikte olduklarından birçok endüstride kullanım alanı buldukları ifade edilmiştir (Chen ve ark., 2024; Durazzo ve ark., 2019).

### 2.3. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde oksidatif stres, vücuttaki reaktif oksijen türleri veya serbest radikallerin üretiminin antioksidan savunma mekanizmaları ile dengelenememesi sonucu hücrel yapılar da hasara neden olan bir durum olarak tanımlanmaktadır (Santos-Sánchez ve ark., 2019). Antioksidan bileşikler çeşitli kimyasal mekanizmalar aracılığı ile etki ederler. Bunlar: oksidasyon sürecine yardımcı olan geçiş metallerini şelatlama yeteneği, hidroksil radikalini oluşturan O<sub>2</sub>'yi etkisiz hale getirmek, serbest radikalleri temizlemek, otooksidasyon reaksiyonlarını durdurmak şeklinde sıralanabilir (Deshmukh ve Gaikwad, 2024).

Bitkilerde bulunan fenolik bileşenler de oksidatif stresin yol açtığı etkilerin önlenmesinde antioksidan etkiye sahip olduğundan serbest radikal temizleyici etkiye sahiptirler. Fenolik bileşenlerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için mekanizmaları birbirinden farklılık gösteren metotlar mevcuttur. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde daha çok kolay ve ucuz metotlar olarak bilinen spektrofotometrik metotlar (klorometrik ve florometrik) kullanılmaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021). Klorometrik metotlardan sıklıkla kullanılan DPPH, FRAP, ABTS metotlarında hidrojen atomu yada elektron transferi yoluyla serbest radikalleri nötralize etme etkisi ölçülürken, CUPRAC metodunda antioksidan bileşiğin Cu<sup>2+</sup> iyonlarının Cu<sup>+</sup>'ya indirgenmesi analiz edilir (Christodoulou ve ark., 2022). Sözü geçen metotlardan FRAP hidrofilik, DPPH hidrofobik antioksidanları ölçerken, ABTS ve CUPRAC metotları hem hidrofilik hem de lipofilik yapıdaki antioksidanları ölçebildiği ifade edilmiştir. Her bir yöntemin kendine has zayıf ve güçlü yönleri olduğu göz önüne alınırsa, klorometrik antioksidan ölçme metotları için en az iki metodun birlikte kullanılması önerilmektedir (Munteanu ve Apetrei, 2021).

### 2.4. Kaktüs Meyvesi (*Opuntia ficus indica* L.)

Kaktüs, *Cactaceae* familyasına ait daha çok Afrika, Güney Amerika ve Akdeniz iklimi gibi kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yetişen bir bitkidir (Şekil 2.3) (Aragona ve ark., 2018). Bu bitkinin, meyve, kladod, çiçek ve çekirdeklerinin sağlık üzerinde terapötik etkileri olduğu bilinmektedir. Kaktüs meyvesi (*Opuntia ficus-indica* L.) içeriğinde, çeşitli vitamin ve mineraller, bazı esansiyel amino asitler, karotenoidler, fenolik ve antioksidan maddeler bulunduğu ifade edilmiştir (Barba ve ark., 2020). Meyvenin rengi kaktüsün

türüne göre mor, sarı, kırmızı veya turuncu olabilmektedir. Meyvedeki yüksek antioksidan aktivite, içerikte bulunan askorbik asit, betalain, karotenoid ve flavonoid bileşenlerin varlığındandır. Bu bileşenlerin ayrıca meyvenin rengi üzerine de etkili olduğu ifade edilmiştir (Dhar, 2021).



**Şekil 2.3.** Kaktüs meyvesi (*Opuntia ficus-indica* L.)

Kaktüs meyvesinde yoğun olarak bulunan fenolik bileşen gruplarından biri olan flavonoidlerden, kaempferol, kuercetin, isorhamnetin bulunurken, renk maddesi olan betalain gruplarından betanidin, portulaksantin, vulgaksantin ve indikaksantinlerin baskın olarak bulunduğu rapor edilmiştir (Aragona ve ark., 2018; Aruwa ve ark., 2018). Literatürde, kaktüs meyvesi içeriğindeki betalainlerin sağlık üzerinde kardiyoprotektif, antiinflamatuvar, nöroprotektif, antidiyabetik ve hepatoprotektif etkilerinin gözlendiği çalışmalar da mevcuttur (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022; Rahimi ve ark., 2019). Farklı literatür kaynaklarında ayrıca, kaktüs meyvesi içeriğindeki betalain ve diğer fenolik maddelerin belirlenmesi ve ekstrakte edilmesi üzerine çalışmalar da görülmektedir. Farklı türdeki kaktüs meyvelerinde fenolik madde ve betalain karakterizasyonunun yapıldığı başka bir çalışmada, ultrasonik banyo ile ultrason destekli ekstraksiyon gerçekleştirilmiş, sonrasında elde edilen ekstraktlardaki fenolik madde ve betalain profilleri HPLC kullanılarak belirlenmiştir (García-Cayuela ve ark., 2019). Kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin biyoaktif bileşenlerin bir model gıdaya uygulandığı güncel bir çalışmada ise, betalaince zengin ekstrakt önce enkapsüle edilmiş sonrasında bir şekerleme formülasyonuna ilave edilmiştir. Elde edilen ürün sonrasında ilave şeker içeren şekerleme

formülasyonları ile kıyaslanarak tip II diyabet hastaları için fonksiyonel özellikte bir ürün elde edilebileceği doğrulanmıştır (Mehta ve ark., 2025).

## **2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri**

Ekstraksiyon, karmaşık yapılı gıda matrislerinden, değerli işlevleri bulunan maddelerin elde edilmesi ve saflaştırılması için kullanılan bir ayırma prosedürü olarak ifade edilmektedir (Shi ve ark., 2022a). Ekstraksiyon yöntemleri genel olarak konvansiyonel (geleneksel) ve yeni (ileri teknoloji) ekstraksiyon yöntemleri olarak iki başlık altında toplanmaktadır. Kullanılacak olan ekstraksiyon yönteminin seçimi, ekstraksiyonda kullanılacak olan parametrelere, gıda matrisinin yapısına ve elde edilmek istenen bileşenin yapısına göre seçildiğinde ekstraksiyon verimliliğinin önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir (Alara ve ark., 2021).

### **2.5.1. Konvansiyonel Ekstraksiyon (KE)**

Konvansiyonel yöntemle yapılan ekstraksiyonda, biyoaktif bileşen içeren materyalin Soxhlet yöntemi ile ekstraksiyon veya çözücü sıvıda maserasyonu sağlanır. Bu yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyonda, örnek uygun bir çözücü ile muamele edilerek belirlenen sabit bir sıcaklıkta ve çalkalama hızında bir süre tutulduktan sonra, ekstrakta uygulanan filtrasyon, berraklaştırma gibi işlemlerle elde edilir (Khan ve ark., 2025). Konvansiyonel yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyondaki dezavantajlar, büyük hacimli solventlerin kullanılması, uzun zamanda ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi, yüksek enerji tüketimi yapılması ve sürdürülebilirliğinin zayıf olması şeklinde sıralanabilir (Picot-Allain ve ark., 2021).

Betalainlerin çeşitli gıda kaynaklarından ekstrakte edilmesi için konvansiyonel yöntemler kullanıldığında doğru solvent seçimi ile birlikte ekstraksiyon parametrelerinin (sıcaklık, pH, vb.) de optimizasyonu yapılırsa daha verimli bir ekstraksiyonun gerçekleştirilebileceği bildirilmiştir (Zin ve ark., 2021). Literatürde betalainlerin konvansiyonel yöntemle ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Kaktüs meyvesindeki betalainlerin maserasyon ile ekstraksiyonu için etanol çözeltisinin kullanıldığı bir çalışmada ise, maserasyon sonrasında elde edilen fenolikçe zengin çözeltinin döner evaporatör kullanılarak konsantre edildiği ve konsantre

ekstraktın sprey ve püskürtmeli kurutma ile enkapsüle edildiği rapor edilmiştir (Morales ve ark., 2021). Ejder meyvesi kabuklarından konvansiyonel yöntemle betalain ekstraksiyonu gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise, ekstraksiyon solventi olarak su ile sitrik asit ve etanolün farklı konsantrasyonları denenerek toplam betalain miktarı ile toplam antioksidan kapasitesi ölçülmüş ve toplam betalain miktarı en yüksek olan solventin su olduğu tespit edilmiştir. Sözü edilen çalışmada elde edilen betalaince zengin ekstrakt sonrasında belirli bir konsantrasyonda şekerleme formülasyonuna katılarak duyu analizi de gerçekleştirilmiş ve ejder meyvesi kabuklarından yapay renklendiricilere alternatif olabilecek önemli bir renk bileşeni elde edilebileceği ifade edilmiştir (Putthawan ve ark., 2021).

### **2.5.2. Yeni ekstraksiyon Yöntemleri**

Yeni ekstraksiyon yöntemleri konvansiyonel ekstraksiyona alternatif olarak geliştirilen yeni teknolojilerden oluşmaktadır. Bu yeni ekstraksiyon teknolojilerinde yüksek sıcaklıklara çıkmadan, az miktarda solvent kullanımı ile ısı ve kütle transferi artırılarak kısa sürede verimli ekstraksiyon yapılabildiğinden bu yöntemlerin konvansiyonel yöntemlere göre avantajlı olduğunu ifade edilmektedir (Caldas ve ark., 2018; da Rosa ve ark., 2019). Yeni ekstraksiyon yöntemlerine, ultrason destekli (UDE), mikrodalga destekli (MDE), süperkritik akışkan (SAE), vurgulu elektrik alan destekli (VEADE), basınçlı akışkan ekstraksiyon (BAE) yöntemleri örnek olarak verilebilir (Zaky ve ark., 2024).

SAE yönteminde süperkritik akışkanlar kullanılmaktadır. Bu akışkanlar süperkritik basınç ve sıcaklık değerleri üzerinde hem gaz hem de sıvı özelliklerini taşıyarak daha yüksek ısı ve kütle transferi gerçekleştirerek verimli bir ekstraksiyon sağlarlar. Bu amaçla en çok kullanılan süperkritik akışkan CO<sub>2</sub>'dir (Pilařová ve ark., 2024). Literatürde SAE yöntemi ile betalain ekstraksiyonu gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı ejder meyvesi türlerinin kabuklarında SAE yöntemi ile farklı basınç ve ekstraksiyon solventi koşullarında ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen ekstraktlar toplam betalain ve toplam antioksidan kapasite miktarları açısından değerlendirilmiştir (Lacerda ve ark., 2024).

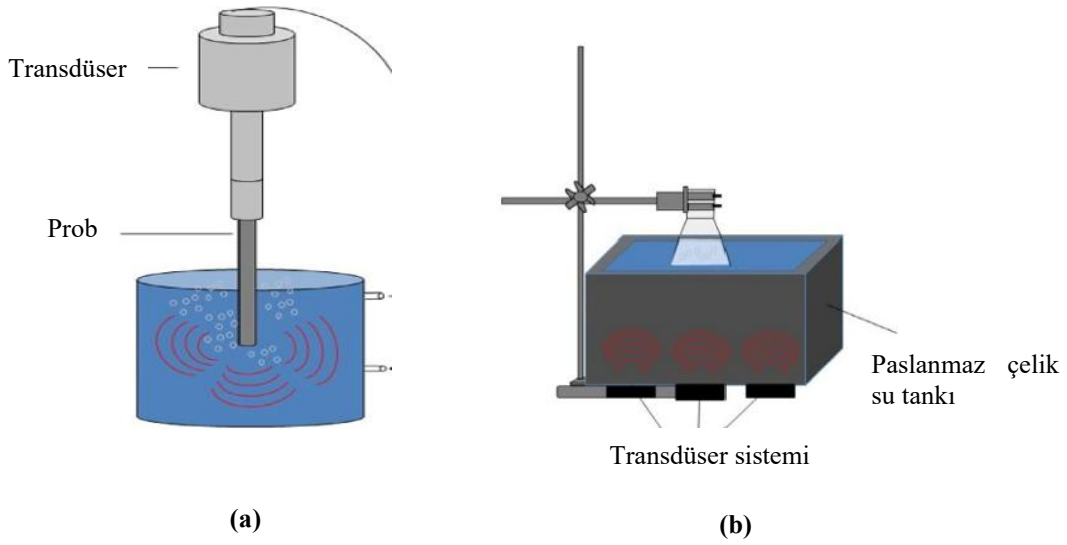
BAE, katı ve yarı-katı materyallerde, artan sıcaklık ve basınçla çözünürlüğü artan biyoaktif bileşenlerin viskozitesi düşen solvent matrisine daha iyi nüfuz etmesine dayalı bir ekstraksiyon yöntemidir (de OX Machado ve ark., 2024). Literatürde yapılan güncel bir çalışmada, yarfıstığı kabuğu atığındaki biyoaktif bileşenlerin BAE ile ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sözü edilen çalışmada ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirildiğinde özellikle yarfıstığı kabuğu atığında bulunan flavonoidlerin ekstraksiyonu için BAE metodunun kullanılabilceği doğrulanmıştır (Schumann ve ark., 2025).

VEADE'da ise, iki metal elektrot arasına yerleştirilen biyoaktif bileşen ekstraksiyonu gerçekleştirilecek örnek tekrarlayan kısa süreli ve düşük enerjili elektrik alana maruz bırakılır. Bu durum hücre zarında gözenekler oluşturarak ekstrakte edilmek istenen biyoaktif bileşenin solvante geçirgenliğini artırır. Bu duruma elektroporasyon adı verilir. Böylece, yüksek sıcaklık değerlerine çıkmadan kısa sürede verimli bir ekstraksiyon gerçekleştirilmektedir (Raso ve ark., 2016). Literatürdeki yapılan bir çalışmada, VEADE kullanılarak gerçekleştirilen betalain ekstraksiyonunda kaktüs meyvesindeki betalaince zengin biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için farklı şekilde elektroporasyon gerçekleştiren bir sistem optimize edilmiştir. Bu sayede fenolik ve antioksidan içeriği yüksek betalaince zengin bir ekstrakt eldesi sağlanabileceği ifade edilmiştir (Surano ve ark., 2022).

### **2.5.2.1. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)**

Ultrason, frekansı 20 kHz-10 MHz arasında olan mekanik bir dalgadır. Sıvı ortama uygulandığında, akustik gücün kuvvetine bağı olarak kavitasyon kabarcıklarının oluşumu, gelişimi ve çökmesine bağı olarak "akustik kavitasyon" etkisi oluşturmaktadır (Yusoff ve ark., 2022). Ultrason destekli ekstraksiyonda örneğe uygulanan ultrasonik dalganın mekanik etkisiyle oluşan kavitasyon ile, çözücünün hücrel materyal içine daha fazla nüfuz ettiği, kütle transferinin hızlandığı ve hücre duvarının hasar göerek içerikteki biyoaktif bileşenlerin serbest kaldığı ifade edilmektedir (Kumar ve ark., 2021a). UDE ekipmanları, ekstraksiyondaki temel dizayn parametrelerini (akustik enerji ve ultrason gücü, ultrason yoğunluğu, çalışma modu vb.) belirlemektedir (Tiwari, 2015). Ekstraksiyon için yaygın olarak kullanılan ultrasonik prob ve ultrasonik banyo ekipmanları mevcuttur. Prob tipi sistemlerde transdüser ile bağlantılı olan prob direk

olarak ekstraksiyon solventi içerisinde daldırıldığından ortama doğrudan ultrason dalgası yayılımı sağlanarak enerji kaybının minimuma indirildiği belirlenmiştir. Ultrasonik banyo sistemlerinde ise, sonikasyon enerjisi ultrasonik transdüser sayesinde üretilmektedir ve örnek uygun bir kap içerisinde bu banyoya yerleştirilmektedir (Şekil 2.4) (Chemat ve ark., 2017).



**Şekil 2.4.** (a) Prob tipi ultrasonik sistem; (b) Banyo tipi ultrasonik sistem

Ultrasonik sistemlerdeki tasarım parametrelerinin optimizasyonu ekstraksiyon veriminin artırılması açısından önemlidir. UDE’de anahtar sayılabilecek en önemli ekstraksiyon parametreleri: ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, ekstraksiyonda kullanılan solvent tipi, ultrason gücü, döngü sayısı, kullanılan örnek miktarı: kullanılan ekstraksiyon solventi oranı olarak bildirilmiştir (Yusoff ve ark., 2022). Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı ekstrakte edilecek olan materyale göre değişmekle birlikte literatürde sıklıkla çalışılan UDE parametreleri arasındadır. Ekstraksiyon sıcaklığının belirli bir ölçüde artırılması, hedeflenen materyalin açığa çıkmasını sağlayan bağ kırılımını ve çözünülebilirliğini artırarak materyalden solvente doğru olan kütle transferini kolaylaştırdığı ifade edilmiştir (Sharayei ve ark., 2021). Ekstraksiyonda kullanılan solvent çeşidi de UDE için diğer bir önemli parametre olup, genellikle düşük toksisitesi ve biyodegradasyonu olan etanolün farklı konsantrasyonlarının biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda kullanıldığı rapor edilmiştir (Shehata ve ark., 2021). Ayrıca UDE çalışma gücü, ultrasonik ekstraksiyon

teknolojisi için kritik bir diğer parametredir. Ultrason gücünün artırılması oluşturulan kavitasyon etkisini de arttırmakta, böylece ekstraksiyon verimini de önemli ölçüde değiştirmektedir (Yusoff ve ark., 2022).

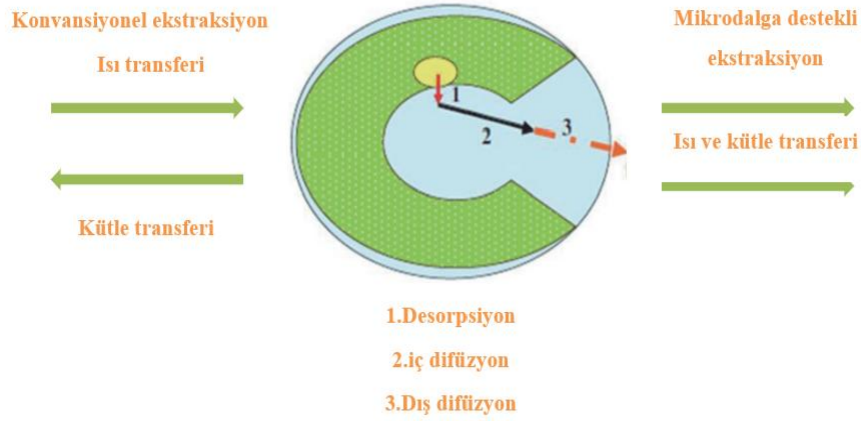
Literatürde Amarant çiçeğindeki betalainlerin ultrason desteği ile ekstrakte edildiği bir çalışmada, sonikasyon süresi ve gücü optimize edilmiş ve elde edilen ekstrakttaki betalain pigmenti bileşenleri HPLC ile doğrulanmıştır. Ayrıca bu yöntemle elde edilen ekstraktların önemli ölçüde antioksidan aktivitelerinin de olduğu ifade edilmiştir (Roriz ve ark., 2021). Farklı kaktüs meyvesi türlerindeki betalainlerin UDE ile ekstrakte edildiği farklı bir çalışmada ise, 4 farklı ekstraksiyon parametresinin (etanol yüzdesi, ekstraksiyon sıcaklığı, ultrason sıklığı ve döngü sayısı) Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak optimize edildiği rapor edilmiştir (Vázquez-Espinosa ve ark., 2022). Kırmızı pancardaki betalainlerin ekstraksiyonu için farklı ekstraksiyon yöntemlerinin (KE, UDE ve enzim destekli) karşılaştırıldığı güncel bir çalışmada ise, UDE'nin diğer yöntemlere kıyasla betalain ekstraksiyonunda öne çıktığı ölçülen toplam betalain miktarları doğrulanmıştır (Kaur ve Ghoshal, 2025).

#### **2.5.2.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)**

Mikrodalgalar, frekansları 300 MHz ile 300 GHz arasında değişen elektromanyetik dalgalardır (Wang ve ark., 2024b). Mikrodalga enerjisindeki ısı üretimi, dipol rotasyon ve iyonik iletim olarak 2 mekanizma ile gerçekleşir. Dipol rotasyon, polar yapıdaki moleküllerin uygulanan elektrik alana karşı dipol etkileşimleri sonucu oluşan moleküller arası çarpışma ve hareketlenme sonucu üretilen ısı ile meydana gelmektedir. İyonik iletimde ise, oluşturulan elektromanyetik alanın etkisiyle, iyonların elektroforetik hareketinin başlamasıyla meydana gelen ısı üretimi şeklinde sonuçlanmaktadır (Nonglait ve Gokhale, 2024).

MDE, mikrodalga enerjisinin polar moleküller üzerindeki etkisi ve elektromanyetik radyasyonu emebilen iyonik yapıdaki moleküllerin hareketi ile gerçekleşmektedir. MDE mekanizmasında, elektromanyetik dalgalar ile oluşan enerji ekstrakte edilecek materyale aktarılır. İçerikteki iyonik yapıda bileşenler ile polar moleküllerin etkisiyle bir buhar basıncı oluşur ve bu basınç substrat hücrelerini parçalayarak biyoaktif bileşenin solvante geçişini kolaylaştırır. Böylece ekstraksiyon süresince doğrudan üretilen hacimsel ısı üretimi sayesinde verimli bir ekstraksiyon gerçekleşmektedir (Churyumov, 2021).

MDE esnasında diğer ekstraksiyon yöntemlerinden farklı mekanizma ile ısı ve kütle transferi meydana gelmektedir. MDE'deki ısı ve kütle transferi oluşturulan elektromanyetik dalgalar sayesinde substratın içinden dışına doğru sinerjik olarak gerçekleşirken; KE'de, ısı transferi substratın dışından içine, kütle transferi ise substratın içinden dışına doğru gerçekleşmektedir (Şekil 2.5) (Nour ve ark., 2021). MDE'de materyalin içinden dışına doğru yayılım gösteren ısı transferi sayesinde materyal içeriğindeki buhar basıncı yükselmekte ve hücre duvarı daha kolay parçalanarak istenen bileşenin ekstraksiyonu kolaylaşmaktadır.



**Şekil 2.5.** KE ve MDE'de ısı ve kütle transferi mekanizmaları

MDE verimliliği çeşitli etmenlere bağlıdır. Bunlardan en önemli olanları: ekstraksiyonda kullanılan solvent tipi, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, mikrodalga gücü, matrisin yapısı, ekstrakte edilecek örnek: çözücü oranı, örnekteki su miktarı, karıştırma uygulanması, mikrodalga enerjisi yoğunluğu olarak sıralanabilir (Nour ve ark., 2021). Ekstrakte edilecek örnek: çözücü oranının optimize edilmesi örneğe gelen elektromanyetik enerjinin penetrasyonunu direk olarak etkilediğinden MDE'deki ekstraksiyon verimini önemli ölçüde değiştirmektedir. Ekstraksiyonda kullanılan solventin polar yapısı ile örnekteki su miktarı da mikrodalga enerjisinin ısıtma mekanizmalarından biri olan polar rotasyonun oluşturulabilmesi açısından önemlidir (Deo ve ark., 2015). Bunlarla birlikte MDE esnasında uygulanan karıştırma işlemi ile de ekstrakte edilecek materyal ile solvent arasındaki kütle transferi hızlanarak kısa sürede daha verimli bir ekstraksiyon gerçekleşmektedir. Uygulanan mikrodalga gücünün ekstrakte edilen solventin hacmine

oranı alınarak hesaplanan mikrodalga enerjisi yoğunluğu ise, her bir birim solvent başına uygulanan mikrodalga enerjisini ifade ettiğinden ekstraksiyon verimini etkileyen diğer bir önemli parametredir (Li ve ark., 2012). Ayrıca, ekstrakte edilecek materyalin ön işlemden geçirilmesi, parçacık boyutunun değiştirilmesi veya kurutulmuş olması da MDE'yi etkileyen önemli faktörler arasındadır (Nonglait ve Gokhale, 2024). MDE'de az miktarda solvent kullanımı ile konvansiyonel yöntemlere göre çok kısa sürede, daha düşük enerji tüketimi ile yüksek ekstraksiyon verimi sağlandığı da ifade edilmektedir (Şen Arslan, 2024).

2021 yılında yapılan bir çalışmada, *Amaranthus tricolour* yapraklarındaki betalainlerin ekstraksiyonu için MDE kullanılmış ve farklı proses parametreleri (mikrodalga gücü, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi) değiştirilerek ölçülen toplam betasiyanin ve betaksantin miktarları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, en yüksek ekstraksiyon veriminin gerçekleştirildiği proses koşulunun betasiyanin ve betaksantin için farklı olduğu rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2021). MDE ile avokado kabuklarından fenolik madde ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği farklı bir çalışmada ise, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, etanol konsantrasyonu ve katı:çözücü oranı yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Optimum koşullarda MDE ile elde edilen ekstraktta elde edilen toplam fenolik miktarının konvansiyonel yöntemle elde edilene göre yaklaşık olarak sekiz kat daha fazla olduğu ifade edilmiştir (Figueroa ve ark., 2021). Kestane kabuğundaki kahverengi renk pigmentlerinin MDE ile ekstrakte edildiği güncel bir çalışmada ise, ekstraksiyon parametreleri optimize edilerek, atık materyaldeki biyoaktif bileşenler ile renk pigmentlerinin geri dönüşümünün sağlanabileceği doğrulanmıştır (Kocer ve ark., 2024)

Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE), oksijene ve sıcaklığa duyarlı olan fenolik ile antioksidan bileşenler için MDE'nin geliştirilmiş şekli olarak tanımlanabilir. Vakum uygulaması ile mikrodalga destekli ekstraksiyon esnasında yüksek sıcaklıklara çıkılmadığından termal degradasyon ve oksidasyon riski en aza indirilerek hassas bileşenlerin daha iyi korunması sağlanmaktadır (López-Salazar ve ark., 2023). Normal atmosfer basıncına kıyasla vakum koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyonda ekstraksiyon çözücüsünün kaynama noktası düşürülerek ekstraksiyon daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Ayrıca ekstraksiyon sisteminden oksijenin uzaklaştırılması ile hassas bileşenlerin oksidasyonu da azaltılmış olmaktadır (López-Salazar ve ark., 2023; Wang ve ark., 2008). Polifenol ve antioksidan içeriği yüksek olan portakal posasındaki biyoaktif bileşenlerin VMDE ile ekstrakte edildiği 2021 yılında

yapılan bir çalışmada, ekstraksiyon koşullarındaki bazı parametrelerin optimize edilmesi ile katma değeri yüksek bir atığın değerlendirilebileceği rapor edilmiştir (Petrotos ve ark., 2021). Avokado kabukları ve çekirdeklerindeki biyoaktif bileşenlerin VMDE ile ekstrakte edildiği farklı bir çalışmada ise, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı, katı: çözücü oranı ile mikrodalga gücü koşulları optimize edilerek atık maddelerin farklı endüstriler için değerlendirilebileceği belirlenmiştir (Skenderidis ve ark., 2021).

## 2.6. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon prosesi, hassas özellikteki bileşiklerin uygun bir kaplama malzemesiyle kaplanarak etrafında bir bariyer oluşumunun sağlandığı veya taşıyıcılar içinde hapsedildiği bir tekniktir (Ray ve ark., 2016). Bu teknikte, biyoaktif özellikteki hassas bileşenler koruyucu bir kabuk materyali içinde olumsuz çevre koşullarına karşı korunarak stabilitesi artarken aynı zamanda, biyoyararlanım ve kontrollü salınım da desteklenerek fonksiyonel özelliklerin kalıcılığı sağlanmaktadır (Zabot ve ark., 2022). Ayrıca, enkapsüle edilen materyaldeki istenmeyen tat ve koku da maskelenirken, mevcut aroma bileşenleri de korunmaktadır (Saifullah ve ark., 2019).

Biyoaktif özellikteki bileşenlerin enkapsülasyonu için; fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal tekniklerle yapılan çalışmalar mevcuttur. Fiziksel metotlar sprey kurutma, ekstrüzyon, dondurarak kurutma ve elektro-eğirme gibi yöntemlerden oluşurken; kimyasal metotlar inklüzyon kompleksi ve emülsiyon polimerizasyonu gibi metotları kapsamaktadır. Fizikokimyasal enkapsülasyon metotlarına ise; koaservasyon ile solvent evaporasyonu yöntemleri örnek verilebilir (Zabot ve ark., 2022). Sprey kurutma yönteminde, biyoaktif bileşen içeren sıvı örnek sıcak hava yardımıyla spreyleyerek örnekteki çözücü buharlaşır ve kalan katı partiküllerde biyoaktif bileşenin kaplanması sağlanır (Somera ve ark., 2024). Ekstrüzyon metodunda, kaplama malzemesi ile kaplanacak biyoaktif bileşen eş merkezli nozullardan geçirilerek damlacıklar oluşturulur ve sonrasında gerçekleştirilen soğutma ile enkapsülasyon gerçekleştirilir (Choudhury ve ark., 2021). Dondurarak kurutma metodu ise, genellikle sıcaklığa duyarlı ya da oksidasyona karşı hassas bileşenlerin enkapsülasyonunda tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde, enkapsülasyonu yapılacak biyoaktif bileşen ile kaplama materyali karışımı dondurularak sonrasında vakum altında karışımdaki önce serbest sonra bağlı su uzaklaştırılarak süblimasyon ile buhar formunda karışımdan uzaklaşır ve kaplanacak

materyal kuru formda kaplama materyali ile enkapsüle edilmiş olur (Kandasamy ve Naveen, 2022). Elektro-eğirme yöntemi ile enkapsülasyonda ise kaplama materyali ile biyoaktif bileşen karışımı yüksek elektrik alanda püskürtülerek nanolif yapılar oluşur ve aktif bileşen bu nano yapıların içeriğine hapsolarak enkapsülasyon gerçekleşir (Coelho ve ark., 2021). Kimyasal enkapsülasyon metotlarından biri olan inklüzyon kompleksinde kaplama materyali olarak genellikle içi hidrofobik dışı hidrofilik yapıda olan siklodektrin molekülü kullanılmaktadır. Suda çözünürlüğü düşük olan aktif bileşenin enkapsülasyonunda hidrofobik, Van der Waals ve hidrojen bağlarının aktif bileşen ile kaplama materyali arasındaki etkileşimleri kullanılmaktadır (Fuenmayor ve ark., 2021). Fizikokimyasal metotların en sık kullanılanlarından olan koaservasyon, özellikle uçucu yağ, vitamin ve doğal renk bileşenlerinin kaplanması için tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde ise, kaplanacak biyoaktif bileşen ile kaplama materyali karışımına pH, sıcaklık vb. değişimler uygulanarak faz ayrımı meydana getirilir. Oluşturulan faz ayrımında polimerler çözüldükten uzaklaştırılarak kaplama materyali olarak kullanılacak koaservat oluşturulur ve aktif bileşenin enkapsülasyonu gerçekleştirilir (Muhoza ve ark., 2023).

Enkapsülasyon yöntemi kadar enkapsülasyonda kullanılacak kaplama materyali de işlemin verimliliği açısından oldukça önemlidir. Kaplama materyalleri lipid, protein ya da polisakkarit yapısında olabilmektedir. Enkapsülasyon için kullanılacak ideal bir kaplama maddesi; kaplanacak aktif bileşen için stabil bir kaplama materyali oluşturmalı, ekonomik olmalı, işleme ve depolama esnasında stabilitesini koruyabilmeli ve inert olmalıdır (Poshadri ve Aparna, 2010)

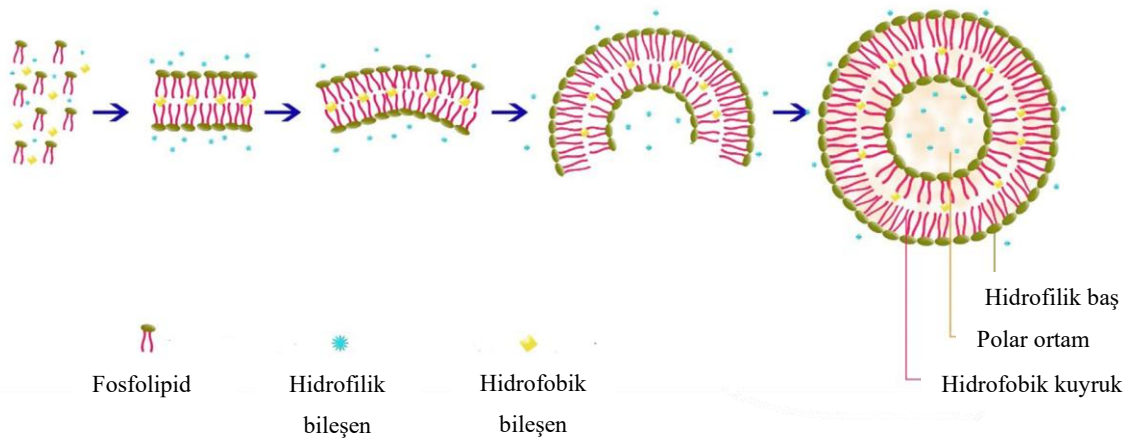
Fenolik ve antioksidan özellikteki biyoaktif maddelerin dışında doğal renk bileşenlerinin de stabilizasyonu için enkapsülasyon metotları kullanılmaktadır. Betalain, antosiyanin gibi doğal renk bileşenlerin sıcaklık, oksijen, pH ve ışık gibi çevresel faktörlerden olumsuz etkilenmeleri nedeniyle bu renk maddelerinin, literatürde farklı tekniklerle kaplandığı çalışmalar mevcuttur. Mor renkli kaktüs meyvesinden maserasyon yoluyla ekstrakte edilen betalaince zengin biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonunun yapıldığı bir çalışmada, farklı enkapsülasyon metotları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmadaki biyoaktif bileşenler, hem püskürtmeli kurutma hem de püskürtmeli kurutma-çift emülsiyon yöntemleri birlikte kullanılarak mikro düzeyde kapsüllenmiştir. Sonuç olarak ikili yöntem kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin stabilitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Toledo-Madrid ve ark., 2018). Pancardan elde edilen betalainlerin ultrason destekli dondurmalı kurutma metodu ile enkapsüle edildiği güncel bir çalışmada, farklı

kaplama materyalleri karşılaştırılmış ve guar gum ile kaplanan betalainlerin stabilitesinin ve biyoyararlanımının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kaur ve Ghoshal, 2024).

### 2.6.1. Niyozomlar ve Lipozomlar

Veziküller, amfifilik moleküllerden oluşan, böylece hem lipofilik hem de hidrofilik bileşenleri kapsüllemek amacıyla yaygın olarak kullanılan koloidal yapıda parçacıklardır (Subramanian, 2021). Özellikle farmasötik ve kozmetik alanlarda kullanılmakla birlikte gıda alanında da kullanım alanı bulmaya başlayan veziküllerin en yaygın olan türleri lipozom ve niyozomlardır (Mawazi ve ark., 2025).

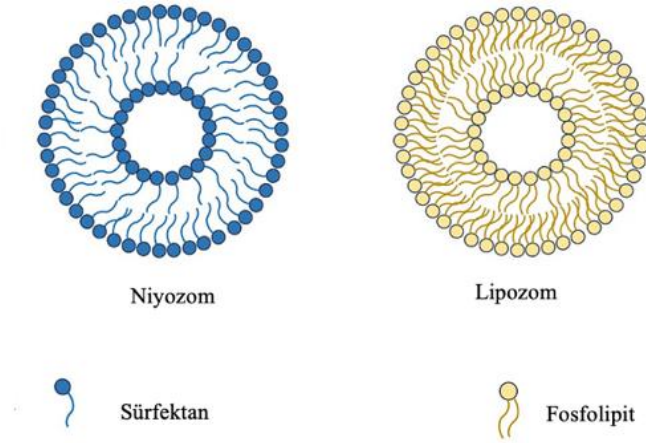
Lipozomlar, boyutları mikrometre veya nanometre arasında değişebilen fosfolipitlerden oluşan çift katmanlı yapıya sahip veziküllerdir. Fosfolipidler, polar yapılı gliserol ile nonpolar yapılı yağ asidi ünitelerinden oluşmaktadır (Şekil 2.5) (Ajeeshkumar ve ark., 2021). Böylece lipozomlar, amfifilik yapıları sayesinde hem lipofilik hem de hidrofilik yapıdaki molekülleri kapsülleme özelliğindedir. Lipozom stabilitesini arttırmak için kolesterol gibi stabilize edici ajanlar kullanılabilir (Pande, 2023)



Şekil 2.5. Lipozom yapısı ve oluşumu

Literatürde kırmızı ejder meyvesindeki betalainlerin lipozom yöntemi ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, enkapsülasyon formülasyonu optimize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen kapsülde, *in-vitro* sindirim gerçekleştirilmiş ayrıca farklı sıcaklıklarda kapsül stabilitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, lipozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonla ejder meyvesindeki betalainlerin büyük ölçüde stabil kaldığı bildirilmiştir (Lin ve ark., 2022).

Niyozomlar, lipozomlara benzer olan fakat fosfolipidler yerine iyonik olmayan surfektanların hidrasyonu ile elde edilen, kolesterol içeren ya da içermeyen amfilik veziküller olarak tanımlanmaktadır (Ge ve ark., 2019). Niyozomların yapısında da, hem hidrofobik hem de hidrofilik kısımlar olduğundan hem hidrofilik hem de lipofilik maddeleri kapsülleme yeteneğine sahiptir (Şekil 2.6) (Riccardi ve ark., 2024).



**Şekil 2.6.** Niyozom ve lipozom yapıları

Niyozomlar, toksik olmamaları, iyonik olmayan surfektanlardan oluşmaları sayesinde üretim maliyetlerinin ucuz ve basit olması ve fosfolipidlere oranla oksidasyona karşı daha stabil olmalarından dolayı lipozomlara göre üstün yanları bulunmaktadır (Riccardi ve ark., 2024). Niyozom stabilitesini etkileyen en önemli parametreler; niyozomların hazırlanma şekli ve niyozom formülasyonudur (Yeo ve ark., 2017). Niyozom formülasyonunda sıklıkla kullanılan iyonik olmayan surfektanlar, Span ve Tween çeşitleri, polisorbattlar ile stabilize ajanı olan kolesterol olarak sıralanabilir. Niyozom yöntemi ile kaplanacak materyalin özelliğine göre surfektanların seçiminde hidrofilik-lipofilik balans (HLB), kritik misel konsantrasyonu, jel sıvı geçiş sıcaklığı , kritik

paketleme parametresi önemli bileşenlerdir (Umbarkar, 2021). HLB değeri kararlı bir emülsiyon oluşturmak için emülsiyonu oluşturan maddelerin derişimini ve tipini belirlemek için kullanılan bir terimdir. Başka bir deyişle emülsiyonu oluşturan bileşenlerin içindeki suda çözünen veya yağda çözünen madde dengesini ifade eden, genellikle 0-20 arasında değişen sayısal bir değer olarak tanımlanabilir. HLB değeri 20'ye yaklaştıkça emülsiyonun hidrofilik özelliği artarken, 0'a yaklaştıkça hidrofobik özelliği artmaktadır (Gore ve ark., 2023). Niyozom formülasyonu oluşturulurken kaplama materyalinin HLB değeri arttıkça, niyozomların parçacık boyutu artarken, HLB değerinin azalması durumunda ise, düşük yüzey enerjisinden ötürü boyutu küçük niyozom partiküllerine oluşmaktadır (Mawazi ve ark., 2025). Niyozom formülasyonundaki stabilite için sürfektanların HLB değeri kadar kullanılan stabilize edici ajanların kullanılıp kullanılmadığı ve miktarı da önemlidir. Niyozom oluşumunda stabilize edici ajan olarak sıklıkla kolesterol kullanılmaktadır. Elastisite ve akışkanlık niyozom formülasyonundaki kaplama materyali için önemli olan iki reolojik özelliktir, kolesterol bu özelliklerin iyileştirilmesi için belirli özelliklere sahiptir. Kaplama materyaline kolesterol ilavesi halinde çift katmanlı vezikül yapısındaki yüzey aktif maddelerin hareketi sınırlanarak akışkanlık azalır ve kaplama materyali daha stabil olur. Ayrıca yüzey aktif sürfektan maddeler saf haldeyken kristallenme eğilimindedir, yapıya kolesterol eklenmesi halinde kristallenme eğilimi azalarak homojen ve elastik bir kaplama materyali eldesi sağlanır. Bunlarla birlikte kolesterol zar geçirgenliğini de azaltarak kaplanan materyalin dışarıya sızıntısını azaltır (Krylov ve Arslanov, 2025).

#### **2.6.1.1. Niyozom Oluşturma Metotları**

Niyozomların hazırlanmasında kullanılan yöntemler; ince film hidrasyon tekniği, eter enjeksiyon, etanol enjeksiyon, ters faz evaporasyon, transmembran pH gradyanı, çoklu membran püskürtme, dondurup-çözdürme, sonikasyon, bubble, dondurarak kurutma, mikroakışkanlaştırma olarak sıralanabilir (Amoabediny ve ark., 2018; Mawazi ve ark., 2025). Niyozomların hazırlanmasında seçilen yöntemle bağlı olarak niyozomdaki kapsül boyutu, enkapsülasyon verimi, tabaka sayısı ve kapsüllerin membran geçirgenliği değişkenlik göstermektedir (Sanket ve ark., 2023).

Eter yada etanol enjeksiyon metotlarında, yüzey aktif madde ve kolesterol karışımı eter yada etanolde çözünerek oluşan karışım su fazına yavaşça enjekte edilerek genellikle tek katmanlı vezikül oluşumu sağlanır (Thabet ve ark., 2022). Literatürde antioksidan özelliği yüksek olan kurkumin maddesinin düşük stabilitesini ve çözünürlüğünü arttırmak için niyozom formülasyonu ile kaplandığı 2023 yılında yapılan bir çalışmada, niyozom oluşturulması için eter enjeksiyon metodunun kullanıldığı ifade edilmiştir (John ve Sailaja, 2023).

Niyozom oluşumunda yüksek verim sağlayan yöntemlerden biri olan ters faz evaporasyon tekniğinde, yüzey aktif madde kolesterol karışımı organik bir çözücü karışımında çözüldükten sonra suda çözünen kaplanacak materyal üzerine eklenerek tüm fazların karışımı için ultrasonikasyon uygulanır. Sonrasında düşük basınçta organik çözücü uzaklaştırılarak tek katmanlı niyozom oluşumu sağlanır (Riccardi ve ark., 2024). Kanser tedavisinde kullanılan karboplatinin terapötik etkinliğinin artırılması için karboplatin içeren niyozomal taşıyıcı sistemin ters faz evaporasyon tekniği ile oluşturulduğu rapor edilmiştir (Abbasi ve ark., 2023).

Transmembran pH gradyanı tekniğinde ise, niyozomların içindeki ortam ile dışarıda bir pH gradyanı oluşturularak kaplanacak materyalin niyozom içerisinde daha iyi tutulması sağlanır. Sürfektanlar ve kolesterol kloroformda çözüldükten sonra çözücü düşük basınçta buharlaştırılarak ince bir film tabakası oluşturulur. Oluşan film asidik bir çözelti ile çözüldükten sonra oluşan karışımında donma-çözülme işlemleri yardımıyla niyozom oluşur. Suda çözünen kapsüllenecek materyal oluşan niyozoma eklenir ve pH fosfat tamponu ile 7.0-7.2 arasına yükseltılarak niyozomların içi ile dışı arasında pH gradyanı oluşturulur (Thabet ve ark., 2022). Limon yağının transmembran pH gradyanı tekniği ile niyozomal formülasyona katıldığı güncel bir çalışmada, oluşturulan doğal içerikli formülasyonun sivrisinek kovucu olarak kimyasal bazlı kovuculara alternatif bir larvasid olabileceği rapor edilmiştir (Muthukumar ve ark., 2025).

Mikroakışkanlaştırma metodunda, yağda çözünen ve suda çözünen iki sıvı fazın (kaplama malzemesi ve kaplanacak materyalin olduğu çözeltiler) yüksek basınç altında çok dar kanallardan geçirilerek küçük boyutlu ve homojen stabil niyozom oluşumu sağlanmaktadır (Mawazi ve ark., 2025). Literatürde DNA replikasyonuna müdahale ederek antitümör etki gösteren fakat dış etmenlerle stabilitesi etkilenen topotekan maddesinin mikroakışkanlaştırma metodu ile niyozom enkapsülasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada, suda ve yağda çözünen fazın molar akış hızları optimize

edilmiş ve elde edilen kapsülün stabilitesi *in-vitro* koşullarda değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre topotekan bileşeninin stabilitesinin niyozomal formülasyon ile arttırıldığı doğrulanmıştır (Ag Seleci ve ark., 2019).

İnce film hidrasyon tekniği ise, niyozom oluşturma metotları arasında en sıklıkla kullanılan basit bir tekniktir. Kaplama materyalini oluşturan kolesterol ve iyonik olmayan sürfektan maddeler organik bir çözücüde çözüldükten sonra döner buharlaştırıcı kullanılarak organik çözücü uzaklaştırılır ve şişe tabanında ince bir film tabakası oluşur. Sonrasında kapsüllenmek istenen örnek sulu bir çözelti içerisinde oluşturulan filme eklenerek belirli bir süre karıştırılarak çok katmanlı vezikül oluşumu sağlanır. Karıştırma esnasında sıcaklık sürfektanın geçiş sıcaklığının üzerinde tutulmalıdır (Javani ve ark., 2021; Thabet ve ark., 2022). Literatürde farklı gıda kaynaklarından (domates, havuç ve kırmızı sebze karışımları) elde edilen likopenin niyozomal yöntem ile enkapsüle edildiği 2024 yılında yapılan güncel bir çalışmada, niyozom oluşturulurken konvansiyonel ince film hidrasyon tekniği ile yeni tekniklerden mikroakışkanlaştırma metodu karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, mikroakışkanlaştırma metodu ile elde edilen kapsüllerin dış farklı etmenlere karşı stabilitesinin daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir (Kanpipit ve ark., 2024). Güçlü bir antioksidan olan yeşil çay ekstraktının ince film hidrasyon tekniği kullanılarak niyozom enkapsülasyonu yapıldığı bir çalışmada ise, kaplanan yeşil çay ekstraktı miktarının kapsülün fiziksel ve kimyasal karakterleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Chasanah ve ark., 2021). 2020 yılında yapılan başka bir çalışmada, farklı türdeki böğürtlen örneklerinden konvansiyonel yöntemle ekstrakte edilen fenolik bileşenler ince film hidrasyon tekniği kullanılarak enkapsüle edilmiş ve farklı böğürtlen türleri için oluşturulan niyozomal kapsüller kozmetik formülasyonları için değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen kapsüllerin enkapsülasyon verimlerinin ve antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu da bildirilmiştir (D'Angelo ve ark., 2020).

#### **2.6.1.2. Niyozomlarda Karakterizasyon**

Niyozom kapsüllerinde karakterizasyon yapılması amacıyla literatürde, kromatografik, mikroskopik ya da spektrofotometrik yöntemler kullanıldığı bilinmektedir. Niyozom veziküllerinin fiziksel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümleri ile geçirimli elektron mikroskobu (TEM) sıklıkla kullanılmaktadır

(Tariq ve ark., 2024). Zeta potansiyeli ölçümü ile parçacık boyutu homojenliğinin analizi, koloidal sistemlerde süspansiyon içindeki kararlılığının belirlenmesi için önemli kabul edilen bir özelliktir. Numuneden elektronlar geçirilerek atomik düzeyde görüntü elde edilebilen TEM analizi sayesinde ise, kapsüllerin iç yapısı hakkında bilgi sahibi olunurken aynı zamanda parçacık boyutu analizi doğrulaması da gerçekleştirilmektedir (Ridolfo ve ark., 2020).

Niyozomların kimyasal karakterizasyonu amacıyla kullanılan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizinde, kızılötesi ışınlar (IR) kullanılarak örnekteki moleküllerin titreşim hareketlerinin incelenmesi ile fonksiyonel gruplarının analizi gerçekleştirilmektedir. FT-IR cihazında 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki absorpsiyon pikleri analiz edilerek yapısal değişikliklerin de tespiti yapılabilmektedir (Rezaei ve ark., 2024).

Literatürde, kontrollü ilaç salınımı amacıyla gerçekleştirilen enkapsülasyonda, niyozom formülasyonu yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiş ve optimum koşullarda elde edilen kapsülde karakterizasyon amacıyla FT-IR, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümlerinin gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Rad ve ark., 2022). Böğürtlen ekstraktının niyozom yöntemi ile enkapsüle edildiği farklı bir çalışmada ise, elde edilen kapsüllerin karakterizasyonunun, parçacık boyutu, FT-IR ve TEM analizleri ile gerçekleştirildiği rapor edilmiştir (D'Angelo ve ark., 2020).

## 2.7. Betalainlerin Gıda Uygulamaları

Doğal renk bileşenlerinden biri olan betalainler geniş renk yelpazesi ile gıda endüstrisinde farklı ürünlerde kullanılmaktadır. Çeşitli meyve ve sebzelerden ekstrakte edilen betalainlerin sıvı formdaki halleri ile kurutulmuş toz formları doğal renklendirici olarak gıdalara entegre edilebilmektedir. Fakat, endüstriyel proseslerde dış etmenlere karşı stabilitesinin uzun süre korunması amacıyla betalainlerin, literatür kaynaklarında özellikle farklı enkapsülasyon teknolojileri ile kaplanarak gıdalara uygulandığı çalışmalar daha çok dikkat çekmektedir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022).

Literatürde, *Basella rubra* L. bitkisinden elde edilen betalaince zengin fenolik bileşenlerin nanoboyutlu lipozomal enkapsülasyonu ile elde edilen kapsüllerin yumuşak şeker formülasyonuna eklendiği bir çalışma rapor edilmiştir. Sözü geçen çalışmada, şekerlemeler 28 gün boyunca  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de depolandıktan sonra örneklerdeki toplam betalain, fenolik ve antioksidan miktarlarındaki değişim değerlendirilmiş ve enkapsülasyon ile

renk bileşenlerinin büyük ölçüde korunabileceği doğrulanmıştır (Kumar ve ark., 2020). Kaktüs meyvesinden elde edilen betalainlerin iyonik jelleşme metodu ile kaplanarak şekerleme formülasyonu katıldığı güncel bir çalışmada ise, kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin kapsül entegre edilmiş örnekler ile sentetik renklendiriciler kullanılarak renklendirilmiş şekerlemeler duyuşal olarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sentetik renklendirici içeren örnekler ile doğal renk bileşenlerini içeren örneğin istatistiksel olarak aynı olarak bulunduğu ifade edilmiştir (Mehta ve ark., 2024).

Şekerleme dışında literatürde doğal kaynaklardan elde edilen betalaince zengin fenolik bileşenlerin ekmek, kek gibi ürünler ile et ürünü formülasyonlarına katılarak fonksiyonel özellikte ürün eldesi sağlandığı çalışmalar da mevcuttur. 2021 yılında yapılan bir çalışmada, doğal kaynaklarla renklendirme yapmak ve lif içeriği yüksek ürün eldesi sağlanmak amacıyla kurabiye formülasyonuna farklı oranlarda (%5, %10, %15, %20) kırmızı pancar posası tozu ilave edilmiştir. Elde edilen kurabiye örneklerinde ilave edilen pancar posası tozu miktarı arttıkça renk analizinde ölçülen kırmızılık değerinin artış gösterdiği bulunmuş hem lif içeriği hem de duyuşal özellikler açısından da en uygun oranın %15 pancar posası tozu ilave edilen örnek olduğu rapor edilmiştir (Abdo ve ark., 2021). Kırmızı pancar ekstraktı ve tozunun doğal renklendirici olarak farklı oranlarda sosis formülasyonuna katıldığı farklı bir çalışmada ise, sentetik renklendirici olan karminin eklendiği örnek kontrol olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kırmızı pancar ekstraktı ve tozu içeren örneklerde antioksidan özellik kontrol örneğine göre yüksek olduğundan lipid oksidasyonunun kontrol örneğine göre önemli ölçüde azaltıldığı ifade edilmiştir. Ayrıca duyuşal olarak da pancar ile renklendirilen örneklerin karmin içeren örneklere göre daha iyi bir alternatif olabileceği doğrulanmıştır (Aykın-Dinçer ve ark., 2021).

Literatürde, süt ürünlerini renklendirmek ve fonksiyonel özelliklerini arttırmak amacıyla betalaince zengin doğal kaynakların kullanıldığı çalışmalara da rastlanmıştır. Dondurma formülasyonuna farklı oranlarda kırmızı pancar ekstraktı eklenen güncel bir çalışmada, dondurmanın hem doğal yollardan renklendirilmesinin gerçekleştirildiği hem de fenolik ve antioksidan içeriğinin arttırıldığı ifade edilmiştir (Hussain ve ark., 2025). Pancar ve kaktüs meyvesinden elde edilen ekstraktların peynir formülasyonuna ilave edilerek depolandığı farklı bir çalışmada ise, 10 günlük depolama süresince değişen betalain miktarları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin ekstraktın eklendiği örneklerde pancardan elde edilen ekstrakt eklenen

örneklere göre renginin ve betalainlerin daha iyi korunduğu bulunmuştur (López-Solórzano ve ark., 2025).

### 2.7.1. Yoğurt ve Beslenmedeki Önemi

Yoğurt, insan vücudu üzerinde kanıtlanmış fonksiyonel etkileri olan, ülkemizde geleneksel olarak üretilen ve üzerinde birçok çalışma yapılmış süt ürünlerinden biridir. Yoğurt içeriğinde laktik asit bakterileri bulunduran; vitamin, kalsiyum ve protein açısından zengin önemli bir fermente süt ürünüdür (Rashwan ve ark., 2023). Yoğurt üretiminde yaygın olarak kullanılan kültürler *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*' tur. Bu kültürler süte eklendiğinde, laktozu fermente ederek laktik asit oluşturur. Oluşan ürünler süt proteinleriyle etkileşime girerek pıhtı oluşumuna neden olur ve böylece yoğurda karakteristik jel benzeri bir görünüm kazandırır. Ayrıca fermentasyon sırasında gerçekleşen çeşitli enzimatik ve kimyasal değişimler sayesinde süt yağlarını, proteinleri ve şekerleri hedef alan çeşitli kimyasal reaksiyonlar meydana gelerek yoğurttaki karakteristik uçucu bileşenlerin oluşmasına olanak sağlanır (Ahmad ve ark., 2022). Yoğurttaki tat bileşenleri: uçucu ( bütirik ve asetik asitler) ve uçucu olmayan (laktik ve pürivik asitler) karboksilik asitler, karbonil bileşikler (asetaldehit), diketonlar (2,3-pentanedion ve diasetil (2,3-bütandion)) ve diğer organik bileşenler şeklinde sıralanabilir (Güler ve Park, 2011)

Yoğurdun endüstriyel olarak üretimi kullanılan kültürler, bu kültürlerin miktarları, kullanılan hammadde ve sıcaklık gibi faktörlere bağlı olarak değişken olabilmektedir. Bu faktörler yoğurdun renk, tekstür, asitlik gibi fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir (Farag ve ark., 2022). Yoğurt temel olarak set ve stirred tip yoğurt olarak iki gruba ayrılmakla birlikte yoğurdun sınıflandırması yoğurdun kimyasal kompozisyonuna, fiziki doğasına, aromasına ve yapılış stiline göre yapılmaktadır (Bankole ve ark., 2023).

Sade yoğurt sağlık açısından yararlı etkilere sahip olan biyoaktif bileşiklerden fenolikler, antioksidan maddeler açısından fakirdir. Fonksiyonel özellikte biyoaktif bileşenler ile doğal renk maddelerinin eklenmesi yoğurdun olumlu sağlık etkilerini teşvik etmesinin yanı sıra, tüketici algısında yoğurttaki talebin artması için önemli bir adım olacağı ifade edilmiştir (Pannerchelvan ve ark., 2024). Fonksiyonel özellikte katkı ilavesi, yoğurttaki besin değerini arttırmakla birlikte ilave olarak koyulan bileşenler antioksidan,

antidiyabetik, antimikrobiyel ve antikanser etkilerinden dolayı sağlık üzerinde olumlu etkilere de sahiptir. Ayrıca yoğurta yapısal iyileştirme, renklendirme ve tat ile aroma gelişimi ve raf ömrünün doğal yollarla uzatılabilmesi gibi etkiler de sade yoğurda eklenen fonksiyonel özellikteki maddeler ile mümkün olacaktır (Ahmad ve ark., 2022). Yoğurda eklenen fonksiyonel özellikteki bileşenler, meyveler, sebzeler, tahıllar ve diğer bileşenler (bal, esansiyel yağlar ve aloe vera vb.) olarak 4 gruba ayrılmaktadır. Özellikle sebze ve meyve kaynaklarından elde edilen fonksiyonel özellikteki doğal renk bileşenlerinin sade yoğurda ilavesi son zamanlarda dikkat çeken bileşenler arasına girmektedir (Rashwan ve ark., 2023).

Literatürde sade yoğurda fenolik ve antioksidan özellikteki fonksiyonel bileşenlerin eklendiği birçok çalışma mevcuttur. 2025 yılında yapılan güncel bir çalışmada sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda (%0.5 ve %1.0) zerdeçal tozu ilave edilmiştir. Sözü geçen çalışmada elde edilen yoğurtlarda antioksidan kapasitenin 5 kat, toplam fenolik maddenin ise 30 kata kadar arttırılabildiği rapor edilmiştir (Sıçramaz, 2025). Hem atık değerlendirilmesi hem de fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla portakal, mandalina ve limon posası tozlarının sade yoğurda eklendiği bir çalışmada ise, farklı konsantrasyonlarda (%1, %3 ve %5) posa eklenen örneklerde fizikokimyasal, mikrobiyel ve duyusal özellikler +4 °C'deki 21 gün depolama sonucunda değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre %1 ve %3 portakal posası eklenen yoğurt örneği diğer örnekler arasında hem duyusal hem de fizikokimyasal açıdan öne çıkarken, istenmeyen mikrobiyel flora gelişimini de engellediği ifade edilmiştir (Alamoudi ve ark., 2022). Du ve ark. 2022 yılında yaptığı bir çalışmada, sade yoğurda antosiyanince zengin karadut posası eklenmiş ve +4 °C'de 21 günlük soğuk depolama esnasında yoğurdun yapısındaki fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasitenin artış seyrinde olduğu bulunmuştur (Du ve ark., 2022).

Sebze ve meyvelerden elde edilen doğal renk maddelerinin sade yoğurda katkı olarak eklendiği çalışmalar da literatürde sıklıkla çalışılmaktadır. Karotenoid pigment çeşitlerinden biri olan likopence zengin kırmızı guava meyvesi pulpunun sprey kurutma metodu ile enkapsüle edildiği bir çalışmada aloe vera ve kaktüs meyvesi müsilağı kaplama malzemesi olarak kullanılmıştır. Sözü geçen çalışmada, +4 °C'de 25 günlük karanlık koşullarda depolama sonrasındaki renk değişimi sunset sarısı (E110) yapay renklendiricisi kullanılan ticari yoğurt örneği ile karşılaştırıldığında, guava meyvesinden enkapsüle edilen renk pigmentlerinin depolama süresince daha iyi korunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca kapsül eklenen yoğurt örneklerindeki fenolik ve antioksidan

kapasitenin de yapay renklendirici eklenen ticari yoğurt örneğinden fazla olduğu da bildirilmiştir (Otálora ve ark., 2022). Betalaince zengin pancar sapı ekstraktının ahududu aromalı stirred tipte yoğurtta doğal renklendirici olarak kullanıldığı farklı bir çalışmada ise, ekstrakt yoğurda farklı konsantrasyonlarda (%1, %2 ve %5) eklenmiştir. Depolama süresince değişen fizikokimyasal özellikler, laktik asit bakterilerinin canlılığındaki değişim ve betalain stabilitesi pH değerinin 4 ve 5 olduğu koşullarda değerlendirilmiştir. 14 günlük +4 °C'lik soğuk depolama süresince bahsi geçen özelliklerin pH 4 olan ortam koşullarında daha iyi korunduğu ifade edilmiştir (Abdo ve ark., 2023). 2025 yılında Ahmed ve ark. yaptığı güncel bir çalışmada ise, sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda (%4, %6, %8 ve %10) betalain ve fenolikçe zengin pancar suyu eklenmiş ve hiç ekstrakt eklenmeyen sade yoğurt örneği ile depolama süresince değişen fizikokimyasal özellikler karşılaştırılmıştır. Sade yoğurttaki fenolik ve antioksidan kapasitenin pancar suyu eklenen örneklerle göre istatistiksel olarak çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 14 günlük depolama sonunda yoğurttaki toplam betalain miktarının bir miktar düştüğü ve yoğurtlardaki pH değeri ile C vitamini miktarının arttığı da rapor edilmiştir. (Ahmed ve ark., 2025).

## **2.8. *In-vitro* Sindirim (Biyoreşilebilirlik)**

Günümüzde araştırmalar, biyoaktif bileşenlerin nasıl metabolize olduklarına dair mekanizmalara ve insan vücudundaki biyoyararlanımlarına ışık tutmak amacıyla yapılmaktadır. Literatürde sözü geçen biyoyararlanım, biyoreşilebilirlik ve biyoaktivite terimlerinin her biri farklı kavramları ifade etmektedir (Grgić ve ark., 2020).

Biyoyararlanım terimi hem biyoaktiviteyi hem de biyoreşilebilirliği kapsamaktadır. Biyoyararlanım biyoaktif bileşen madde vücuda alındıktan sonra kan dolaşımına geçme oranını ve hızını ifade etmektedir. Başka bir deyişle, vücuda alınan miktarın ne kadarlık bir kısmının vücut üzerinde etkili olabileceğini belirtmektedir (Shi ve ark., 2022b). Biyoreşilebilirlik, vücuda alınan biyoaktif bileşenin gastrointestinal sistemin epitel hücreleri tarafından emilime erişilebilir hale gelen kısmı olarak tanımlanmaktadır. Biyoreşilebilirlik değerlerine deneysel olarak *in-vitro* sindirim çalışmaları yapılarak ulaşılabilmektedir. *In-vitro* sindirim çalışmalarında gastrointestinal sistemin 4 fazını (ağız, mide, ince bağırsak ve kolon) simüle eden kimyasal ve mekanik koşulların sağlandığı simüle ortamlar oluşturularak biyoaktif bileşenin değişimi incelenmektedir

(Dima ve ark., 2020). Biyoaktivite ise, vücuda alınan bileşiğin vücutta biyolojik etki oluşturma yeteneğidir (Albuquerque ve ark., 2021).

Fenolik ve betalainler gibi antioksidan özellikteki bileşikler, karmaşık yapılarından dolayı, gıdalar içinde düzgün ve homojen şekilde dağılım göstermemektedir. Bu nedenle ekstraksiyon esnasında yalnızca çözünebilir formda olan bileşiklerin elde edilebildiği ifade edilmiştir. Ayrıca birçok faktör bu tipteki bileşiklerin biyoyararlanımlarını da etkilemektedir. Çözünebilirlik, biyoaktif bileşiklerin bu özelliğini etkileyen en önemli fizikokimyasal özelliktir. Genel olarak çözünebilirlik arttıkça biyoyararlanım da artmaktadır. Fakat esas olarak biyoyararlanımda gıda matrisindeki iç zar geçirgenliği önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle gıda matrisinin, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinde çok büyük bir etkisi bulunmaktadır (Tatipamula ve Kukavica, 2021).

Fenolik ve antioksidan özellik gösteren bileşiklerin biyoerişilebilirliği, bileşiklerin gıda matrisinden ekstraksiyon sıvısına salınması ve bu ekstraktın gastrointestinal sistemde stabil kalabilmesi ile gerçekleşmektedir. Gastrointestinal sistemin simülasyonu için farklı *in-vitro* yöntemler (dinamik, yarı-dinamik ve statik) kullanılmaktadır (Brodkorb ve ark., 2019). Statik model bu yöntemler arasında sıklıkla kullanılan, protokolünde sırasıyla ağız, mide ve ince bağırsak ortamlarının simülasyonu sabit koşullar altında gerçekleştirilen bir yöntem olarak ifade edilmektedir. Sindirim süresince gerçekleşen pH değişimi, enzim salgısı ve mikrobiyal flora gibi dinamik olayların göz önüne alınmaması statik yöntemin dezavantajlarından sayılmaktadır (Wang ve ark., 2023). Dinamik yöntemde ise *in-vitro* sindirim süreci, statik yöntemde göz önüne alınmayan koşullarla birlikte değerlendirildiğinden gerçek sindirim sürecini daha iyi simüle etmektedir fakat pahalı olması ve uzmanlık gerektirmesinden statik model daha pratik olarak kabul edilmektedir (Brodkorb ve ark., 2019). Yarı-dinamik modelde ise, statik ile dinamik modelin arasında bir modelleme olarak statik modelde eksik olan bazı olayların bir kısmı gerçekleştirilirken, karmaşık dinamik sistem koşullarından da uzak optimum sindirim simülasyonu gerçekleştirilmeye çalışılmaktadır (Mulet-Cabero ve ark., 2020).

*In-vitro* sindirim protokolünde yaygın olarak sırasıyla ağız, mide ve ince bağırsak basamakları yer almaktadır. Tüm basamaklardaki sıcaklık 37°C olarak sabitlenmiştir. Ağız fazında çiğneme koşullarının sağlanması için gıda örneği homojenize edilir. Sonrasında homojenize edilen örnek ağız fazını simüle eden elektrolit çözeltiler ile  $\alpha$ -amilaz enzimini içeren bir karışım ile karşı karşıya getirilmekte olup, bu faz genellikle

nişasta içeriği yüksek katı örnekler için tercih edilmektedir (Sensoy, 2021). Mide fazında, uygulanan protokollerde protein sindirimi için pepsin enzimi ve lipid sindirimi için lipaz enzimi kullanılmaktadır. Bu fazda uygulanan asidik ortam koşulları pepsin enziminin aktivasyonu için gerekli olup genellikle pH 1-3 aralığı tercih edilmektedir. Ayrıca peristaltik hareketlerin simülasyonu için çalkalama hızı 50-260 rpm aralığında ve inkübasyon süresi 1-2 saat aralığındadır (Miftahof, 2017). Gıda mide fazından sonra simüle ince bağırsak fazına aktarılmaktadır. Bağırsak fazındaki protokollerdeki en önemli bileşenler ise safra ve analiz edilen numuneye göre değişen pankreatik enzimlerdir (pankreatik lipaz, proteaz ve lipazlar). pH değeri 7-7.5 olan simüle bir ortamda inkübasyon süresi 30 dakika ile 2 saat aralığında değişmektedir (Brodkorb ve ark., 2019).

Literatürde, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği kadar, betalainler gibi farklı renk bileşenlerinin de sindirim sisteminde kararlı olarak kalması birçok *in-vitro* ve *ex-vivo* çalışma ile değerlendirilmektedir. Betalain içeriği yoğun olan sebze ve meyvelerden elde edilen saflaştırılmış betasiyaninlerin veya betaksantinlerin biyolojik ortamlarda fenolik ve antioksidan aktivitelerinin oldukları yapılan çalışmalar ile doğrulanmıştır (Martínez-Rodríguez ve ark., 2022). İnsan sağlığına olan birçok yararından bahsedilse de betalainlerin gerçek verimi ve biyoaktivitesi, vücuda alınan miktarın ne kadarının absorbe olduğuna ve sindirim dönüşümüne bağlı olmaktadır. Betalainlerin biyoyararlılığı açısından sindirim önemli bir süreçtir. Literatür incelendiğinde çeşitli meyve ve sebzelerden elde edilen betalain ekstraktlarının ve betalaince zengin ekstrakt içeren kapsüllerin *in-vitro* sindirimi ile ilgili bazı çalışmalara rastlanmaktadır. Wang ve ark.'nın gerçekleştirdiği bir çalışmada, kırmızı pancarın içeriğindeki toplam fenolik maddelerin, betalainlerin ve flavonoidlerin stabilitesi reçel yapımı ve *in-vitro* sindirim sırasında incelenmiştir. Sözü edilen çalışmada elde edilen sonuçlara göre, reçel yapımı esnasındaki ısıl işlemden ötürü fenolikler, betalainler ve antioksidan kapasite azalırken; toplam flavonoid miktarının arttığı belirlenmiştir. *In-vitro* sindirim sonuçlarına göre ise reçel prosesi sonrasında kalan fenoliklerin, betalainlerin ve flavonoidlerin biyoerişilebilirliğinin arttığı ifade edilmiştir (Wang ve ark., 2020b). 2025 yılında Yvonne ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, kaktüs meyvesi ekstraktına uygulanan *in-vitro* sindirim sonrasında betalainlerin stabilitesindeki değişim ekstrakt farklı içeriklerdeki matrislere entegre edildiğinde değerlendirilmiştir. Glukoz, sitrik asit, müsilaj ve pektin formülasyonlarından oluşan farklı iki matris içerisine entegre edilen betalaince zengin ekstraktın müsilaj ve pektinden oluşan matriste sindirim koşullarından etkilenmeden,

kovalent olmayan etkileşimler sayesinde büyük oranda korunduğu rapor edilmiştir (Yvonne ve ark., 2025). 2023 yılında yapılan bir çalışmada sprey kurutma metodu ile enkapsüle edilmiş kırmızı pancardan elde edilen betalaince zengin ekstrakt, simüle *in-vitro* sindirim koşullarında mineraller, biyoaktif bileşen ve betalain miktarının açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Mg mineralinin sindirim koşullarına en dayanıklı mineral olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca kapsüllerdeki betasiyaninlerin sindirim koşullarında bir miktar azaldığı ve yeni kaplama formülasyonlarının deneneceği de rapor edilmiştir (Iguar ve ark., 2023). Başka bir çalışmada, kaktüs meyvesi ekstraktı çoklu emülsiyonda (w/o/w) enkapsüle edilerek farklı oranlarda yoğurda entegre edilmiş ve bu yoğurt örneklerinin *in-vitro* sindirimi çalışılmıştır. Elde edilen deney sonuçlarına göre çoklu emülsiyon içeren yoğurtlardaki betalainlerin biyoerişilebilirlikleri daha yüksek bulunmuştur (Cenobio-Galindo ve ark., 2019).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal ve Kimyasallar

Kaktüs meyvesi (*Opuntia ficus-indica* L.) her yılın Ağustos ayı içinde alınacak şekilde yerel üreticilerden temin edilmiştir (BECOS Tarım, Aydıncık, Mersin, Türkiye). Sonrasında meyve kabuğundan ayrılmış, dilimlenmiş ve dondurucuda -20°C'de dondurulmuştur. Donmuş örnekler liyofilize (Christ, Alpha 1–4 LD plus, Osterode, Almanya) edildikten sonra laboratuvar tipi bir öğütücü yardımıyla (Fakir Aromatic, Türkiye) toz haline getirilerek analizlere kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon aşamalarında kullanılan etanol, metanol, gallik asit ve Folin-Ciocalteu kimyasalları Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir. Ayrıca sodyum karbonat, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), amonyum asetat, neokuproin, CuCl<sub>2</sub>, NaOH ve HCl kimyasalları ise Sigma-Aldrich (Darmstadt, Almanya)'den sağlanmıştır.

Enkapsülasyon işlemleri sırasında kullanılan kloroform, Span 60, Tween 80, kolesterol, sodyum fosfat dibazik ve sitrik asit kimyasalları Sigma Aldrich (St. Louis, ABD) firmasından tedarik edilmiştir.

Yoğurt uygulaması aşamalarında kullanılan ticari starter kültür Maysa (İstanbul, Türkiye) firmasından sağlanmıştır. Laktik asit bakterilerinin sayımı amacıyla kullanılan M17 ve MRS agar besiyerleri Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir.

*In-vitro* sindirim analizlerinde kullanılan KCl ve NaCl tuzları Merck (Darmstadt, Almanya)'den, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub> kimyasalları ise Sigma Aldrich (St. Louis, ABD) firmasından tedarik edilmiştir. Ayrıca sindirim enzimlerinden pepsin ve pankreatin ile safra tuzları da Sigma Aldrich marka olarak kullanılmıştır.

#### 3.2. Kaktüs Meyvesinin Fizikokimyasal Özellikleri

Herhangi bir işleme tabi tutulmamış taze kaktüs meyvesi örneklerinde suda çözünür kuru madde (<sup>0</sup>Brix) tayini, dijital bir refraktometre (Boeco, Hamburg, Almanya) kullanılarak 20°C'de belirlenmiştir.

Laboratuvar tipi karıştırıcı yardımıyla parçalanıp, homojen hale getirilen taze kaktüs meyvesi örneklerinin pH değeri, pH-metre yardımı (PL-700PV, Tiapai, Tayvan) ile ölçülmüştür.

Titrasyon asitliği tayini için, yaklaşık olarak 10-15 g kaktüs meyvesi örneği iyice parçalanıp, homojen hale getirildikten sonra üzerine 100 ml saf su eklenmiş ve kaba filtre kâğıdı kullanılarak süzdürülmüştür. Süzüntüden alınan 25 mL örneğin 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılarak pH 8'e kadar titrasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonuç, sitrik asit cinsinden aşağıda belirtilen eşitlik (3.1) ile ifade edilmiştir;

$$\text{Asitlik} = \frac{V \times N \times E \times 1000}{M} \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte; V, titrasyonda harcanan alkali (mL); N, alkalinin normalitesi; E, meyvedeki hakim organik asidin miliekivalan ağırlığı (sitrik asit) ve M, alınan örnek miktarıdır (mL).

Dondurularak kurutulmuş toz halindeki kaktüs meyvesi (1g), 2 dakika süresince ultrasonik su banyosu kullanılarak 5 mL metanol/su (50/50, h/h) ile ekstre edilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında üstte kalan ekstrakt ayrılmış ve kalan katı kısım 3 mL metanol/su (50/50, h/h) karışımı ile iki kere daha tekrar ekstre edilmiştir. Son olarak, katı kısımda meyvenin tüm rengi renksiz hale gelene kadar 3 mL metanol (%100) ile ekstre edildi. Tüm ekstraktlar toplanarak 10 dakika boyunca 12000 rpm'de santrifüj edilmiştir (García-Cayuela ve ark., 2019). Ardından ekstraktta toplam fenolik madde miktarı, CUPRAC ve DPPH metodu ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ve toplam betalain miktarı analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kaktüs meyvesine gerçekleştirilen fizikokimyasal analizler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ortalama ve standart sapma değerleri olarak verilmiştir.

### **3.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)**

Kaktüs meyvesinden metanol su (50/50, v/v) karışımı ile ekstrakte edilen örnekteki toplam fenolik madde (TFM) analizleri Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Singleton ve ark., 1999). Folin-Ciocalteu metodu gıdalardan ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin analizi için sıklıkla kullanılan spektrofotometrik bir

yöntemdir. Deney esnasında gerçekleşen reaksiyon sonucu ölçülen renk yoğunluğu fenolik bileşiklerin hidroksil grupları gibi indirgeyici bileşikler ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Metot, alkali ortamda fenolik bileşiklerden fosfotungstik veya fosfomolibdik aside elektron transferine dayanmaktadır (Gao ve ark., 2019).

TFM tayini amacıyla, 500 µL örnek 2.5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmış ve vortekslenerek karanlıkta 5 dakika bekletilmiştir. Sonrasında 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (75g/L, Sigma-Aldrich) de bu karışıma eklenerek vortekslenmiş ve 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbansları 765 nm dalga boyunda UV/VIS spektrofotometre (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis, Boston, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

TFM sonuçları, gallik asit eşdeğeri cinsinden verilmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm) gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) çözeltileri, metanol çözeltisi (50/50, h/h) ile seyreltilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Oluşturulan standart eğri Ek-Şekil A1'de verilmiştir. Oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre elde edilen sonuçlar her bir deneyde 3 tekrarın ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/ g kuru ağırlık cinsinden verilmiştir.

### **3.2.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)**

Elde edilen ekstraktlarda toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini, DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir.

#### ***DPPH yöntemi***

DPPH radikalinin süpürücü etkisi ile TAK tayininde kullanılan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ısı, ışık gibi dış faktörlerden hızlıca etkilenen oldukça hassas bir bileşendir. DPPH normalde koyu menekşe rengindedir. DPPH çözeltisi hidrojen verici bir bileşik ile karşılaştığında rengi menekşe renginden sarı rengine dönerek indirgenir (Gulcin ve Alwasel, 2023).

TAK<sub>DPPH</sub> analizi için 100 µL örnek 3.9 mL DPPH çözeltisi (25 ppm) ile karıştırılmıştır. Aynı anda, 100 µL metanol de 3.9 mL 25 ppm'lik DPPH çözeltisi ile bir araya getirilip, bu karışım kör örnek olarak kullanılmıştır. Hem örnek hem de kör çözeltiler 5 saniye vortekslendikten sonra karanlıkta 1 saat bekletilmiştir. Süre sonunda absorbans değerleri

UV/VIS spektrofotometre (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis, Boston, ABD) kullanılarak 517 nm’de kaydedilmiştir (Akdeniz ve ark., 2018). K r ve  rnek  zeltilerin absorbans değerleri sırasıyla  $A_1$  and  $A_2$  olarak okumuştur. Bu değerler troloksun farklı konsantrasyonlarında (25, 50, 75, 100, 120, 150 ppm) metanol  zeltisi (50/50, h/h) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımıyla konsantrasyon değerlerine  vrilmiştir ve sonuçlar mmol troloks eştdeğeri (TE)/ kg kuru ağırlık olarak verilmiştir.  $TAC_{DPPH}$  analizinde kullanılan standart eğri Ek-Şekil A7’de sunulmuştur.

### ***CUPRAC y ntemi***

CUPRAC y ntemiyle TAK analizinde kromojenik bir y kseltgen olan Cu(II)-neokuproin reaktifi kullanılmaktadır. Bu reaktif hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara cevap verebilen bir bileşik olup, fenolik hidroksiller ile karşılaştığında CUPRAC redoks reaksiyonu ile kinon yapılarına d n ş r ve 450 nm’de maksimum absorbans verir (Apak ve ark., 2004).

Y ntemin uygulanmasında,  $CuCl_2$   zeltisi,  $10^{-2}$  M olacak şekilde 0.085 g tartılıp saf su ile 50 mL’ye tamamlanmıştır. Neokuproin  zeltisi,  $7.5 \times 10^{-3}$  M olacak şekilde 0.078 g tartılıp etanolla 50 ml’ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Amonyum asetat tamponu ise, 1 M (pH=7) olacak şekilde 3.854 g tartım alınıp saf su ile 50 ml’ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Sonrasında, tampon  zeltinin pH değeri 7 olacak şekilde 1 N HCl ya da 1 N NaOH ile ayarlanmıştır.  $TAK_{CUPRAC}$  analizinde, cam bir t p i erisine  $CuCl_2$   zeltisi, neokuproin  zeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırasıyla 1’er mL eklenmiştir ve  zerine (x) mL  rnek ve (1.1-x) mL ekstraksiyon  zeltisinden ilave edilerek t pler  ok iyi bir şekilde vorteks ile karıştırılmıştır. Toplam hacim 4.1 mL olacak şekilde hazırlanan  zeltiler karanlıkta ve oda koşullarında ağzı kapalı olarak 1 saat boyunca bekletilmiştir. Bu s re sonunda 450 nm’de absorbans değerleri spektrofotometrik olarak  l lm şt r.  l len absorbans değerleri troloksun farklı konsantrasyonlarında ( $1.22 \times 10^{-5}$ ,  $2.44 \times 10^{-5}$ ,  $3.66 \times 10^{-5}$ ,  $4.88 \times 10^{-5}$ ,  $6.10 \times 10^{-5}$  M) metanol  zeltisi (50/50, h/h) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımıyla konsantrasyon değerine  vrilip, hesaplamada aşağıda verilmiş olan eşitlik (3.2) kullanılmıştır;

$$TAK_{CUPRAC}(\text{mmol TE/kg kuru ağırlık}) = \left(\frac{A}{\epsilon}\right) \times \left(\frac{V_t}{V_0}\right) \times \left(\frac{V_e}{m}\right) SF \times 1000 \quad (3.2)$$

Denklemdede; A, 450 nm’de ölçülen örnek absorpsansı;  $\epsilon$ , Troloks bileşğinin CUPRAC yöntemindeki molar absorpslama katsayısı;  $V_t$ , CUPRAC ölçüm çözeltilisinin toplam hacmi (4.1 mL);  $V_0$ , Örnek hacmi (mL); SF, Seyreltme faktörü;  $V_e$ , Hazırlanan ekstrenin hacmi (mL); m, Ekstraksiyon işleminde alınan örnek miktarı (g)dir.  $TAK_{CUPRAC}$  sonuçları da mmol TE/ kg kuru ağırlık olarak verilmiştir. Bu analizde kullanılan standart eğri Ek-Şekil A12’de sunulmuştur.

### 3.2.3. Toplam Betalain Miktarı (TBM)

Elde edilen ekstraktlarda toplam betalain miktarının (TBM) belirlenmesi spektrofotometrik (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis, Boston, ABD) olarak gerçekleştirilmiştir. TBM, 483 ve 535 nm dalga boylarında ölçülen betaksantin ve betasiyanin miktarları hesaplanıp birbiri ile toplanarak bulunmuştur. Hesaplama, aşağıda verilen eşitlik (3.3) kullanılmıştır (Castellanos-Santiago ve Yahia, 2008);

$$TBM \text{ (mg betalain/kg kuru örnek)} = \frac{(A \times DF \times MW \times V_d \times 1000)}{(\epsilon \times I \times W_d)} \quad (3.3)$$

Bu eşitlikte; A, 483 nm (betaksantin) ve 535 nm (betasiyanin) dalga boyunda okunan absorpsanslar; DF, Dilüsyon faktörü; MW, betaksantin (308 g/mol) ve betasiyanin (550 g/mol) molekül ağırlığı;  $V_d$ , Çözeltilinin hacmi (mL);  $W_d$ , Örnek miktarı (g);  $\epsilon$ , Molar absorptivite katsayısı, betaksantin için 48000 L/mol cm ve betasiyanin için 60000 L/mol cm; I, Küvetin çapıdır (1cm).

### 3.3. Kaktüs Meyvesinden Betalain ve Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve İşlem Şartlarının Optimizasyonu

Kaktüs meyvesinden betalaince zengin biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu konvansiyonel ekstraksiyon (KE), ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE) olarak üç farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Her üç yöntemde de bazı ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu amacıyla yanıt yüzey yöntemi (Response Surface Methodology-RSM) kullanılmıştır.

Yanıt yüzey yöntemi matematiksel ve istatistiksel yöntemler ile proses koşullarının optimize edilerek ulaşılması istenen hedefin yada hedeflerin maksimum seviyeye çıkarılması amacıyla yapılan deneysel bir modelleme yöntemi olarak tanımlanmaktadır (Baş ve Boyacı, 2007). Bu yöntemde bağımlı değişkenler (yanıtlar) ile bu bağımlı değişkenleri etkileyen bağımsız değişkenler arasındaki ilişki genellikle polinomiyal bir eşitlik ile ifade edilmektedir (Myers ve ark., 2016). Optimizasyon yazılımları yardımıyla, deney tasarımına uygun olan tasarımı bulmak için bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenler üzerindeki etkilerini gösteren farklı deneysel modeller mevcuttur. Bunlar birinci dereceden modeller ( $2^k$ , faktöriyel tasarımı, Plackett-Burman tasarımı), ikinci dereceden modeller (merkezi karma tasarımı, Box-Behnken tasarımı) olarak iki grup altında toplanmaktadır (Li ve ark., 2021).

Tez çalışmasında hem ekstraksiyon hem de enkapsülasyon aşamasında Box-Behnken deneysel tasarımı deney koşullarının optimizasyonu amacıyla kullanılmıştır. Her bir tasarımdaki deney sayısını belirlemek için ise Eşitlik (3.4) kullanılmıştır.

$$N=2k(k-1)+C_0 \quad (3.4)$$

Bu eşitlikte k bağımsız değişken sayısı ve  $C_0$  merkez noktadaki tekrarlanan deney sayısını ifade etmektedir (Szpisják-Gulyás ve ark., 2023). Her ekstraksiyon yöntemi için 4 bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki etkisi merkez noktada yapılan 5 deney ile birlikte 29 olarak hesaplanmıştır.

### 3.3.1. Konvansiyonel Yöntemle Ekstraksiyon (KE)

Kaktüs meyvesinde bulunan betalainlerin ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için öncelikle konvansiyonel yöntem denenmiştir. Bu amaçla çözücü ekstraksiyonu (maserasyon) yapmak için, çalkalamalı su banyosu (Mikrotest, msc 30, Türkiye) kullanılmıştır. Uygun oranlarda liyofilize meyve örneği ve çözücü karıştırılmış ve belirli bir sıcaklıkta su banyosunda biyoaktif bileşiklerin çözücüye geçmesi sağlanmıştır. Sonrasında elde edilen örnek 0.45 nm'lik şırınga filtreden geçirilerek analizlere hazır hale getirilmiştir. Filtreden geçirilen örnekler analize kadar  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Bu tez çalışmasında, KE için 4 bağımsız değişken belirlenmiştir. Bunlar, ekstraksiyon süresi (saat), ekstraksiyon sıcaklığı (°C), çözeltilerde suda etanol yüzdesi (%), örnek: çözücü hacmi oranıdır (g katı örnek/mL çözücü). Deney koşullarını etkileyen değişkenlerin seviyeleri literatür kaynaklarına göre belirlenmiştir (Maran ve ark., 2013; Morales ve ark., 2021; Zin ve ark., 2020). Çizelge 3.1’de konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi için değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri verilmiştir. Box-Behnken deneysel tasarımına göre belirlenmiş deneylerin sayısı toplamda 29 adettir ve merkez nokta 5 tekrar gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2’de ise, Design Expert 13 (Statease Inc., Minneapolis, ABD) programı tarafından belirlenmiş olan deneysel tasarım gösterilmektedir.

**Çizelge 3.1.** Konvansiyonel ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri

		<b>Derecelerin gerçek ve kodlanmış değerleri</b>		
<b>Bağımsız değişkenler</b>		<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Ekstraksiyon süresi (saat)	X <sub>1</sub>	1	2	3
Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	X <sub>2</sub>	30	40	50
Etanol yüzdesi (%)	X <sub>3</sub>	40	60	80
Örnek: çözücü oranı (g/mL)	X <sub>4</sub>	1:10	1:20	1:30

**Çizelge 3.2.** Konvansiyonel ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı ( $X_1$ : süre (saat),  $X_2$ : sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : etanol yüzdesi (%) ve  $X_4$ : örnek: çözücü oranı (g:mL))

Deney No.	Bağımsız değişkenler			
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$
1	0	1	0	1
2	1	-1	0	0
3	-1	0	-1	0
4	0	0	0	0
5	1	0	1	0
6	0	-1	0	-1
7	0	-1	1	0
8	-1	0	1	0
9	0	0	0	0
10	0	-1	-1	0
11	1	1	0	0
12	0	0	0	0
13	0	1	1	0
14	0	0	0	0
15	-1	-1	0	0
16	1	0	0	-1
17	-1	1	0	0
18	0	1	-1	0
19	-1	0	0	1
20	0	0	1	-1
21	1	0	0	1
22	1	0	-1	0
23	0	1	0	-1
24	-1	0	0	-1
25	0	0	-1	-1
26	0	0	-1	1
27	0	-1	0	1
28	0	0	0	0
29	0	0	1	1

### 3.3.2. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)

Kaktüs meyvesinde bulunan betalainler ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ikinci yöntem olarak ultrason-destekli ekstraksiyon denenmiştir. Bu amaçla ultrasonik su banyosu (Şimşek Labortechnik, Türkiye) kullanılmıştır. Uygun oranlarda liyofilize meyve örneği ve çözücü karıştırılarak belirli bir sıcaklıkta ultrasonik su banyosunda biyoaktif bileşiklerin çözücüye geçmesi sağlanmıştır. Sonrasında elde edilen örnek önce filtre kağıdından, ardından 0.45 µm'lik şırınga filtreden geçirilerek ve analizlere hazır hale getirilmiştir. Filtreden geçirilen örnekler analizlere kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

UDE için seçilen 4 bağımsız değişken, ekstraksiyon süresi (dk), ekstraksiyon sıcaklığı (°C), çözeltide suda etanol yüzdesi (%), örnek: çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü) olarak seçilmiştir. Deney koşullarını etkileyen değişkenlerin seviyeleri literatür kaynaklarına göre belirlenmiştir (da Silva ve ark., 2018; Espinosa-Muñoz ve ark., 2017). Çizelge 3.3'te belirtilen değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri verilmiştir. Box-Behnken deneysel tasarımına göre belirlenmiş deneylerin sayısı toplamda 29 adettir ve merkez noktada 5 tekrar gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.4'te, Design Expert 13 (Statease Inc., Minneapolis, ABD) programı tarafından belirlenmiş olan deneysel tasarım gösterilmektedir.

**Çizelge 3.3.** Ultrason destekli ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri

<b>Derecelerin gerçek ve kodlanmış değerleri</b>				
<b>Bağımsız değişkenler</b>		<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Ekstraksiyon süresi (dakika)	X <sub>1</sub>	30	60	90
Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	X <sub>2</sub>	30	40	50
Etanol yüzdesi (%)	X <sub>3</sub>	40	60	80
Örnek: çözücü oranı (g/mL)	X <sub>4</sub>	1:10	1:20	1:30

**Çizelge 3.4.** Ultrason destekli ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı (X<sub>1</sub>: süre (dakika), X<sub>2</sub>: sıcaklık (°C), X<sub>3</sub>: etanol yüzdesi (%) ve X<sub>4</sub>: örnek: çözücü oranı (g:mL))

Bağımsız değişkenler				
Deney No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
1	1	0	1	0
2	0	0	-1	1
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	1	0	0	-1
6	1	1	0	0
7	0	-1	-1	0
8	-1	-1	0	0
9	0	0	0	0
10	1	-1	0	0
11	0	-1	0	-1
12	0	0	1	1
13	-1	1	0	0
14	0	1	-1	0
15	-1	0	0	1
16	0	1	0	-1
17	-1	0	-1	0
18	0	1	0	1
19	0	0	-1	-1
20	1	0	-1	0
21	0	0	1	-1
22	1	0	0	1
23	-1	0	0	-1
24	0	0	0	0
25	0	0	0	0
26	0	1	1	0
27	0	-1	0	1
28	0	-1	1	0
29	-1	0	1	0

### 3.3.3. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (VMDE)

Kaktüs meyvesinde bulunan betalainler ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için üçüncü ve son yöntem olarak sonra vakum mikrodalga-destekli yöntem denenmiştir. Bu amaçla ayarlanabilir vakumlu mikrodalga ekstraksiyon cihazı (IFTECH, Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Uygun oranlarda liyofilize meyve örneği ve çözücü karıştırılarak vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı kullanılarak belirlenen sürelerde biyoaktif bileşiklerin çözücüye geçmesi sağlanmıştır. Sonrasında elde edilen örnek önce filtre kağıdından geçirilmiş, sonrasında 10000 rpm’de 15 dk santrifüj (Sigma 3-18K, Almanya) işlemi uygulandıktan sonra, 0.45 nm’lik şırınga filtreden geçirilerek ve analizlere hazır hale getirilmiştir. Filtreden geçirilen örnekler analiz edilene kadar -18<sup>0</sup>C’de muhafaza edilmiştir.

VMDE için seçilen 4 bağımsız değişken, vakum değeri (mmHg), ekstraksiyon süresi (dk), çözeltide suda etanol yüzdesi (%), örnek: çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü) olarak seçilmiştir. Deney koşullarını etkileyen değişkenlerin seviyeleri literatür kaynaklarına göre belirlenmiştir (Melgar ve ark., 2019; Thirugnanasambandham ve Sivakumar, 2017). Çizelge 3.5’te belirlenen değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri verilmiştir. Box-Behnken deneysel tasarımına göre belirlenmiş deneylerin sayısı toplamda 29 adettir ve merkez noktada 5 tekrar gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.6’da Design Expert 13 (Statease Inc., Minneapolis, ABD) programı tarafından belirlenmiş olan deneysel tasarım gösterilmektedir.

**Çizelge 3.5.** Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri

Derecelerin gerçek ve kodlanmış değerleri				
Bağımsız değişkenler		-1	0	1
Vakum değeri (mmHg)	X <sub>1</sub>	100	250	400
Ekstraksiyon süresi (dk)	X <sub>2</sub>	2	5	8
Etanol yüzdesi (%)	X <sub>3</sub>	20	40	60
Örnek: çözücü oranı (g/mL)	X <sub>4</sub>	1:10	1:20	1:30

**Çizelge 3.6.** Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda uygulanan Box-Behnken deney tasarımı ( $X_1$ : vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : süre (dakika),  $X_3$ : etanol yüzdesi (%) ve  $X_4$ : örnek: çözücü oranı (g:mL))

Bağımsız değişkenler				
Deney No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$
1	0	1	1	0
2	1	0	-1	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	-1	-1	0
6	0	0	0	0
7	-1	0	1	0
8	-1	0	-1	0
9	0	1	0	1
10	1	0	0	1
11	0	1	0	-1
12	0	1	-1	0
13	1	1	0	0
14	1	-1	0	0
15	0	0	-1	-1
16	0	0	-1	1
17	0	0	0	0
18	0	-1	1	0
19	0	-1	0	-1
20	1	0	0	-1
21	-1	0	0	-1
22	1	0	1	0
23	0	0	1	-1
24	0	0	1	1
25	-1	0	0	1
26	-1	-1	0	0
27	-1	1	0	0
28	0	0	0	0
29	0	-1	0	1

### **3.4. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarının Analizleri**

#### **3.4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)**

Tüm yöntemlerde elde edilen ekstrakt örneklerinde toplam fenolik madde (TFM) analizleri Bölüm 3.2.1'deki Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Singleton ve ark., 1999). Örneklerin absorbansları 765 nm dalga boyunda UV/VIS spektrofotometre (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis) kullanılarak ölçülmüştür.

TFM sonuçları, gallik asit eşdeğeri cinsinden verilmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm) gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) çözeltileri, farklı konsantrasyonlarda etanol (%20, 40, 60, 80) çözeltileri ile seyreltilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Oluşturulan standart eğriler Ek-Şekil A2-A5'te verilmiştir. Oluşturulan kalibrasyon eğrilerine göre elde edilen sonuçlar her bir deneyde 3 tekrarın ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ağırlık cinsinden verilmiştir.

#### **3.4.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)**

Elde edilen ekstraktlarda toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini, DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir.

##### ***DPPH Yöntemi***

Ekstraktlarda DPPH yöntemi ile toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini, Bölüm 3.2.2'de belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin absorbansları UV/VIS spektrofotometre (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis, Boston, ABD) kullanılarak 517 nm'de kaydedilmiştir (Akdeniz ve ark., 2018). Troloksun farklı konsantrasyonlarında (25, 50, 75, 100, 120, 150 ppm) farklı etanol yüzdeleri ile (20%, 40%, 60%, 80%) hazırlanan kalibrasyon eğrileri yardımıyla konsantrasyon değerlerine çevrilmiştir ve sonuçlar mmol troloks eşdeğeri (TE)/kg kuru ağırlık olarak verilmiştir. TAK<sub>DPPH</sub> analizinde kullanılan standart eğriler Ek-Şekil A8-A11'de sunulmuştur.

### **CUPRAC Yöntemi**

Ekstraktlarda CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini, Bölüm 3.2.2’de belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin absorbansları UV/VIS spektrofotometre (Thermoscientific, Genesys 10S UV-Vis, Boston, ABD) kullanılarak 450 nm’de kaydedilmiştir (Apak ve ark., 2004). Ölçülen absorbans değerleri troloksun farklı konsantrasyonlarında ( $1.22 \times 10^{-5}$ ,  $2.44 \times 10^{-5}$ ,  $3.66 \times 10^{-5}$ ,  $4.88 \times 10^{-5}$ ,  $6.10 \times 10^{-5}$  M) farklı etanol yüzdeleri ile (20%, 40%, 60%, 80%) hazırlanan kalibrasyon eğrileri yardımıyla konsantrasyon değerlerine çevrilmiştir ve sonuçlar mmol TE/ kg kuru ağırlık olarak verilmiştir.  $TAC_{CUPRAC}$  analizinde kullanılan standart eğriler Ek-Şekil A13-A16’da sunulmuştur.

### **3.4.3. Toplam Betalain Miktarı (TBM)**

Elde edilen ekstraktlarda toplam betalain miktarının (TBM) belirlenmesi spektrofotometrik olarak 483 ve 535 nm dalga boylarında ölçülen betaksantin ve betasiyanin miktarları hesaplanarak Bölüm 3.2.3’te belirtilen şekilde bulunmuştur (Castellanos-Santiago ve Yahia, 2008).

### **3.5. KE, UDE ve VMDE Yöntemlerinde Yanıtların Modellenmesi ve Ekstraksiyon Şartlarının Optimizasyonu**

KE, UDE ve VMDE için tasarlanan deneyler gerçekleştirildikten sonra her ekstraksiyon metodu için 4 adet bağımlı değişken için analizler gerçekleştirilmiştir. Bunlar  $Y_1$ : Toplam fenolik madde miktarı (TFM),  $Y_2$ : DPPH metodu ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{DPPH}$ ),  $Y_3$ : CUPRAC metodu ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ),  $Y_4$ : Toplam betalain miktarı (TBM) olarak belirlenmiştir. Elde edilen yanıtlar, Design Expert 13 programı kullanılarak değerlendirilmiş, ANOVA analizleri gerçekleştirilmiş ve çoklu regresyon analizi gerçekleştirilerek ikinci dereceden model eşitlikler belirlenmiştir. İkinci dereceden model denklemlerin genel formülü, eşitlik (3.5)’te belirtilmiştir.

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 + \sum \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j \quad (3.5)$$

Bu eşitlikte  $y$ , yanıtı;  $x_j$  ve  $x_i$ , bağımsız değişkenleri;  $\beta_0$ , bağımsız değişkenlerin önemsiz olduğu durumda yanıtın değerini;  $\beta_j$ ,  $\beta_{jj}$  ve  $\beta_{ij}$  değerleri ise sırasıyla, lineer, 2. dereceden ve bağımsız değişkenlerin ikili etkileşim halinde olduğu zamanki katsayılarını ifade etmektedir.

Tüm ekstraksiyon yöntemleri için gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen yanıtların, seçilen model ile ne kadar uyum gösterdiği varyans analizi (ANOVA) yapılarak belirlenmiştir. Modelin, elde edilen deneysel veriler ile uygunluğunun değerlendirilmesi amacıyla uyum eksikliği testi (lack of fit) de uygulanmıştır. Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenler (yanıtlar) üzerindeki ikili etkileşimlerini gösteren yanıt yüzey ve kontür grafikleri de Design Expert 13 programı yardımıyla oluşturulmuştur.

Her ekstraksiyon yöntemindeki yanıtlar için model eşitlikler türetildikten ve varyans analizleri gerçekleştirildikten sonra, ekstraksiyon yöntemlerinin her biri için optimum koşul kombinasyonları belirlenmiştir. Bu amaçla, Design Expert 13 programıyla istenen hedefe ulaşma fonksiyonu (desirability function) kullanılarak optimum koşul kombinasyonları belirlenmiştir. Program çıktısından elde edilen birçok optimum koşul kombinasyonu arasından istenen hedefe ulaşma fonksiyonu 1'e en yakın olan deney koşulları seçilmiş ve her ekstraksiyon yöntemi için o koşullarda deneyler gerçekleştirilmiştir. Son olarak, elde edilen yanıtlar program tarafından verilen yanıtlar ile karşılaştırılmış ve birbirlerine yakınlıkları değerlendirilmiştir.

### **3.6. Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Analizleri**

#### **3.6.1. Renk Analizi**

KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin her birinde, optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktların renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Renk analizi, renk ölçüm cihazı (Minolta, CM-3600d, Japonya) kullanılarak CIE L, a ve b renk skalası ile belirlenmiştir.

#### **3.6.2. Q-TOF LC/MS ile Betalain Kompozisyon Analizi**

Uygulanan tüm ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstrakt örneklerinin betalain kompozisyonlarının analizi Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies

6530, ABD) ile Bilkent Üniversitesi UNAM’da gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlardan elde edilen farklı betalainlerin miktarları betanin standardı (Sigma Aldrich, Darmstadt, Almanya) üzerinden mg/L birimiyle verilmiştir (Li ve ark., 2015). Hesaplamalarda betanin standardının farklı konsantrasyonlarından elde edilmiş olan standart eğri (10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 ppm) kullanılmıştır. Analizde kullanılan standart eğri Ek-Şekil A18’de verilmiştir.

İyonizasyon, Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyonu (APCI) modunda uygulanmıştır. Cihazın çalışma koşulları MMI (Seg) buharlaştırıcı sıcaklığı 245°C ile gaz sıcaklığı 345°C’dir. Ayrıca, nebülizör basıncı 35 psi iken kurutma gazı akışı 10.0 L/dk olarak ayarlanmıştır. MMI (Expt) modunda Corona+ akımı ve voltajı sırasıyla 4.0 µA ve 6.31V, VCap voltajı 3500 V, kapiler akımı 5.438 µA ve oda akımı 39.98 µA olarak belirlenmiştir. Kütle spektrometresi ayarlarında, 150 V’luk fragmentör voltajı ile, skimmer voltajı 50 V’dur. Analizler her ekstrakt için aynı koşullarda yüksek hassasiyet ile gerçekleştirilmiştir.

### **3.6.3. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi**

Uygulanan ekstraksiyon yöntemlerinde optimum koşullarda elde edilen ekstrakt örneklerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi için kuyucuk difüzyon ve tüp dilüsyon metotları kullanılmıştır.

#### **3.6.3.1. Kuyucuk Difüzyon Metodu**

Kuyucuk difüzyon deneyi Lubis ve arkadaşları ile Mir ve arkadaşlarının kullandıkları yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır (Lubis ve Wahyuni, 2020; Mir ve ark., 2020). *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922) ve *Listeria monocytogenes* kültürleri Tryptic soy broth (TSB) besiyerinde 37°C’de 18-24 saat tutularak canlandırılmıştır. Canlandırılan kültürlerden petriye dökülüp katılaştırılmış Nutrient agar (NA) besiyerine 0.1 mL aktarılarak yüzeye yayma ekim gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan petrilere bakterilerin yüzeye difüze olması için oda koşullarında 10 dakika kadar bekletilmiştir. Daha sonra petrilere steril cam tüplerin ağız kısımları ile 15 mm’lik kuyucuklar açılmıştır. Bir petriye dört kuyucuk açılmış olup, bir kuyucuk kontrol örneği olarak Nutrient broth (NB)

içermektedir. Diğer kalan 3 kuyucuğa ise 3 farklı ekstraksiyon yönteminin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların hem direk kendisinden hem de farklı seyreltmeleri (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:20, 1:30,1:40, 1:50, 1:80, 1:100) hazırlanarak 100'er µL doldurulmuştur. Petriler 37°C'de 24 ve 48 saatin sonunda incelenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan zonlar, açılan kuyucuğun dış köşesinden berrak zonun bitimine kadar olan kısım cetvelle ölçülerek kaydedilmiştir.

### 3.6.3.2. Tüp Dilüsyon Metodu

Tüp dilüsyon metodu için Akyüz ve arkadaşları ile Victor ve arkadaşlarının kullandığı metot kullanılmıştır (Akyüz ve ark., 2023; Victor ve ark., 2016). *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) subsp. *enterica* serovar Enteritidis, *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), and *Listeria monocytogenes* kültürleri TSB besiyerinde 37°C'de 18-24 saat tutularak canlandırılmıştır. Sonrasında hem kültürden hem de 3 farklı ekstraksiyon yönteminin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlardan NB besiyerine 100'er µL inokülasyon yapılmıştır. Ekstraktların hem direk kendisinden hem de farklı seyreltmeleri (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:20, 1:30,1:40, 1:50, 1:80, 1:100) hazırlanarak deney gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37°C'de 24 ve 48 saatin sonunda incelenmiştir. Üreme gözlenmeyen tüpler kaydedilmiştir.

### 3.6.4. Kaktüs Meyvesi Ekstraktlarında Isıl Kararlılık

KE, UDE ve VMDE yöntemlerinde optimum koşullarda elde edilen ekstrakt örneklerinin ısıya dayanıklılığı da analiz edilmiştir. 70°C'de 30 dakika boyunca sıcak su banyosunda bekletilmesinin ardından TBM analizi (bkz. 3.2.3.) gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların ısı kararlılığı eşitlik (3.6)'ya göre hesaplanmıştır (Elmi ve ark., 2021).

$$\text{Isıl Kararlılık (\%)} = \left( \frac{\text{TBM}_{\text{Isıl İşlem Öncesi}}}{\text{TBM}_{\text{Isıl İşlem Sonrası}}} \right) \times 100 \quad (3.6)$$

### 3.7. Niyozomal Enkapsülasyon

Tez çalışmasının bu aşamasında, optimize edilen ekstraksiyon yöntemlerinde en yüksek oranda betalain verimi göstermiş olan yöntem belirlendikten sonra o yöntemden elde edilen ekstrakt örneği niyozomal yöntemle enkapsüle edilmiştir. Enkapsülasyon için ince film hidrasyon (thin film hydration) tekniği kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılan iyonik olmayan sürfektanlar, Span 60 ve Tween 80 olup; kapsüllerden sızıntı oluşumunu engellemek ve stabilitenin artırılması için kolesterol kullanılmıştır (Elmi ve ark., 2021; Yeo ve ark., 2017). Niyozomal veziküllerin oluşturulmasında deney parametreleri yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Bunun için kullanılan parametreler (bağımsız değişkenler), sürfektan maddelerin molar oranları (molar Span 60: molar Tween 80), kaplanacak ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan), kolesterol miktarı (mg kolesterol/ 100 mg sürfektan) ve enkapsülasyon sonrasında uygulanan sonikasyonun süresi (sn) olarak belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin seviyelerine literatürdeki benzer bir çalışmadan yola çıkılarak ve yapılan ön denemeler ile karar verilmiştir (Elmi ve ark., 2021). Çizelge 3.7’de belirtilen değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri sunulmuştur. Deney koşullarının optimizasyonunda 5 tanesi merkez noktada olmak üzere toplamda 29 adet deney gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen 29 deneyin kodlanmış değerleri Çizelge 3.8’de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Niyozom yöntemiyle enkapsülasyonda kullanılan bağımsız değişkenler ile kodlanmış ve gerçek değerleri

		<b>Derecelerin gerçek ve kodlanmış değerleri</b>		
<b>Bağımsız değişkenler</b>		<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Sürfektanların molar oranı (Span 60: Tween 80 (M/M))	X <sub>1</sub>	1:1	2:1	3:1
Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan)	X <sub>2</sub>	5	10	15
Kolesterol miktarı (mg kolesterol/ 100 mg sürfektan)	X <sub>3</sub>	0.1	0.2	0.3
Sonikasyon süresi (sn)	X <sub>4</sub>	0	45	90

**Çizelge 3.8.** Box-Behnken deney tasarımına göre niyozom yöntemi ile enkapsülasyonda gerçekleştirilen deneyler (X<sub>1</sub>: Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80 (M/M)), X<sub>2</sub>: Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan), X<sub>3</sub>: Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan), X<sub>4</sub>: Sonikasyon süresi (saniye))

Deney No.	Bağımsız değişkenler			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
1	0	0	0	0
2	0	0	-1	1
3	-1	0	1	0
4	-1	0	0	-1
5	-1	1	0	0
6	-1	0	0	1
7	0	-1	0	-1
8	1	0	0	-1
9	0	0	0	0
10	0	0	0	0
11	0	1	-1	0
12	1	0	1	0
13	0	1	1	0
14	0	0	0	0
15	-1	0	-1	0
16	0	1	0	1
17	0	-1	0	1
18	0	1	0	-1
19	0	-1	1	0
20	1	0	0	1
21	1	-1	0	0
22	0	0	0	0
23	0	0	-1	-1
24	0	0	1	1
25	1	0	-1	0
26	1	1	0	0
27	-1	-1	0	0
28	0	-1	-1	0
29	0	0	1	-1

İnce film hidrasyon tekniğinin uygulanışında Elmi ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (Elmi ve ark., 2021). Deney koşullarında belirtilen miktarlarda tartılan Span 60, Tween 80 ve kolesterol, kloroform-etanol (2:1, h/h) çözeltisinde (30 mL) çözdürüldükten sonra çözeltideki çözücüler vakumlu döner evaporatör (Heidolph, USA) yardımıyla 50°C’de ve 120 rpm dönme hızında tamamen buharlaştırılmıştır. Buharlaştırma işlemi sonrasında oda sıcaklığına getirilen cam balonun alt kısmında sürfektan kolesterol karışımı ince bir film tabakası halinde gözlenmiştir (Şekil 3.1). Sonrasında deney koşullarında belirtilen miktarda VMDE yönteminde optimum koşullarında elde edilmiş olan ekstrakt örneği film tabakasının üzerine eklenmiş ve vakum olmadan yine aynı evaporatörde 50°C’de ve 120 rpm dönme hızında yarım saat boyunca film tabakası ile ekstraktın karışması sağlanmıştır. Yarım saatin sonunda elde edilen ekstrakt yüklü veziküllerin parçacık boyutunun homojen hale getirilmesi ve küçültülmesi amacıyla %70’lik güçte bir ultrasonik prob (Bandelin Sonopuls, Berlin, Almanya) kullanılarak deney koşullarında belirtilen sürelerde sonikasyon uygulaması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sıvı formdaki niyozomal vezikül örnekleri analizleri yapılmaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.



**Şekil 3.1.** Niyozomal enkapsülasyon sırasında oluşturulan ince film tabakası (balon jolenin dibinde gözlenen beyaz kısım)

### 3.7.1. Niyozomal Veziküllerin Analizi ve Optimizasyon

Belirtilen koşullarda (Çizelge 3.8) gerçekleştirilen 29 deney sonucunda 5 farklı bağımlı değişken için analizler gerçekleştirilmiştir. Bunlar  $Y_1$ , TFM;  $Y_2$ ,  $TAK_{CUPRAC}$ ;  $Y_3$ , TBM;  $Y_4$ , Enkapsülasyon verimi ve  $Y_5$ , renk analizinde elde edilen b değeri olarak belirlenmiştir. Her deney koşulu için elde edilen bu 5 yanıt Design Expert 13 programı kullanılarak değerlendirilmiş, ANOVA analizleri gerçekleştirilmiş ve yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur. Ayrıca enkapsülasyon için optimum koşul kombinasyonları belirlenmiştir. Bu optimum koşul kombinasyonlarından istenen hedefe ulaşma fonksiyonu 1'e en yakın olan deney koşulu seçildikten sonra o koşullarda deneyler gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen yanıtlar program tarafından verilen yanıtlar ile karşılaştırılmış ve birbirlerine yakınlıkları değerlendirilmiştir.

#### 3.7.1.1. TFM, TAK ve TBM Analizleri

Niyozomal enkapsülasyonda, farklı deney koşullarında elde edilen ekstrakt yüklü 29 niyozomal vezikül ve ayrıca optimum koşulda elde edilen veziküler örnek için TFM, TAK ve TBM analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örneklere, 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj uygulandıktan sonra üstte kalan süpernatant kısımlarında sırasıyla bölüm 3.2.1, 3.2.2'de belirtilen şekilde TFM ve  $TAK_{CUPRAC}$  analizleri yapılmıştır. TBM analizi için ise sitrat fosfat çözeltisi (pH=6.5) kullanılmıştır. Sitrat fosfat çözeltisini hazırlamak için 30 ml 0.1 M sitrik asit ile 70 ml 0.2 M sodyum fosfat dibazik karıştırılmış ve santrifüj sonrası elde edilen örneklerde yapılan dilüsyonlar bu çözelti ile gerçekleştirilmiştir. TBM analizi bölüm 3.2.3'te belirtilen şekilde spektrofotometrik olarak yapılmıştır (Raj ve Dash, 2020; Wong ve Siow, 2015). Niyozomal örneklerdeki biyoaktif bileşikler ile betalain miktarının hesaplanmasında, VMDE yöntemindeki optimum koşulda elde edilen TFM,  $TAK_{CUPRAC}$  ve TBM değerlerinden süpernatant kısımlarında serbest halde bulunan TFM,  $TAK_{CUPRAC}$  ve TBM değerleri çıkarılarak niyozom örneklerindeki yanıtlar hesaplanmıştır (Gorjian ve ark., 2021; Heidari ve ark., 2020; Tyagi ve ark., 2023).

### 3.7.1.2. Renk Analizi

Niyozomal enkapsülasyonda, farklı deney koşullarında elde edilen ekstrakt yüklü 29 niyozomal veziküler örnek ve ayrıca optimum koşulda elde edilen veziküler örnek için, renk analizi, renk ölçüm cihazı (Minolta, CM-3600d, Japonya) kullanılarak CIE L, a ve b renk skalası ile ölçülmüştür. Niyozomal veziküllerde deney yanıtı olarak renk analizindeki sarı rengin bir ölçüsü olan b değeri kullanılmıştır.

### 3.7.1.3. Enkapsülasyon Verimi

Enkapsülasyon veriminin (%) belirlenmesi için veziküler örnekteki serbest TBM miktarları bölüm 3.2.3'te belirtilen şekilde 535 ve 483 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Enkapsülasyon verimi için ise, VMDE yöntemindeki optimum koşulda elde edilen TBM değeri ile kapsüllerde serbest halde bulunan TBM değeri kullanılmış ve enkapsülasyon verimi aşağıdaki eşitlik (3.7) kullanılarak hesaplanmıştır (Elmi ve ark., 2021).

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{\text{TBM}_{\text{kapsül}}}{\text{TBM}_{\text{kapsül}} + \text{TBM}_{\text{serbest}}} \times 100 \quad (3.7)$$

## 3.8. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomlarda Gerçekleştirilen Analizler

### 3.8.1. Enkapsülasyon Stabilesi Hesaplanması

Niyozom yöntemi ile enkapsülasyon koşullarının optimize edilmesinden sonra optimum koşulda gerçekleştirilen kapsülde enkapsülasyon stabilesinin belirlenmesi için örnekler 30 gün boyunca +4°C'de muhafaza edilmiştir. Sonrasında 1, 15 ve 30. günlerde örneklerdeki betalain miktarları bölüm 3.2.3'te belirtilen şekilde spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Enkapsülasyon stabilesi aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır (Eş. 3.8) (Elmi ve ark., 2021; Javani ve ark., 2021).

$$\text{Enkapsülasyon stabilesi} = \frac{\text{TBM}_{\text{n.gün}}}{\text{TBM}_{\text{1.gün}}} \times 100 \quad (3.8)$$

### 3.8.2. Isıl Kararlılığın Hesaplanması

Niyozom yöntemi ile optimum koşullarda ile enkapsüle edilmiş vezikülün ısıl kararlılığının belirlenmesi için örneğe 70°C'lik su banyosunda 30 dakika boyunca ısıl işlem uygulanmıştır. Yapılan ısıl işlem öncesinde ve sonrasında ölçülen betalain miktarına göre kapsüllerin ısıl kararlılık hesaplanmıştır. Isıl işlem sonrasında kapsül içerisindeki TBM miktarının belirlenmesi için Elmi ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (Elmi ve ark., 2021). Buna göre 2 mL niyozomal süspansiyon 2 mL 1:1 (h/h) oranında %50'lik etanol çözeltisi ile karıştırılmış ve 10000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Sonrasında kapsüllerin parçalanması amacıyla altta kalan pellet kısmı kloroform ile 1:1 (h/h) oranında karıştırılmış ve üstte biriken kısımda TBM analizi bölüm 3.2.3'te belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Isıl kararlılığın hesaplanmasında Eşitlik (3.9) kullanılmıştır.

$$\text{Isıl kararlılık} = \frac{\text{TBM}_{\text{Isıl işlem sonrası}}}{\text{TBM}_{\text{Isıl işlem öncesi}}} \times 100 \quad (3.9)$$

### 3.8.3. Betalain Degradasyon Sabitinin Ölçülmesi

Optimum koşullarda hazırlanan niyozom vezikülü karanlık ortamda +4°C'de 30 gün boyunca depolandıktan sonra içerikte bulunan TBM miktarı bölüm 3.2.3'te belirtildiği gibi ölçülerek betalain degradasyonu incelenmiş ve degradasyon sabiti hesaplanmıştır. Betalain degradasyonunun 1. dereceden kinetik modele (Eş.3.10) uyduğu ifade edilmiştir (Robert ve ark., 2020).

$$\ln(C) = \ln C_0 - k(t) \quad (3.10)$$

Bu eşitlikte;  $C_0$  ilk TBM miktarı (0.gün) ve  $C$  ise  $t$  süresi sonunda ölçülen TBM miktarıdır. Degradasyon hız sabiti  $k$  ise zamana ( $t$ ) karşı betalain miktarının logaritmasının alınarak çizilmesi sonucu elde edilen eğrinin eğiminden bulunmuştur.

### **3.8.4. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomların Karakterizasyonu**

#### **3.8.4.1. Morfolojik Analiz (CTEM)**

Optimum koşullarda hazırlanan niyozomların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi CTEM (FEI Tecnai G<sup>2</sup> Spirit BioTwin) analizi ODTÜ Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla niyozomların hem 1. gününde, hem de karanlık ortamda +4°C’de 30 gün boyunca depolandıktan sonra morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Analiz öncesinde örnekler fosfotungstik asit çözeltisi ile 1 dakika boyunca boyanmıştır. Örnekler yaklaşık 5-10µL olacak şekilde bakır gridler üzerine damlatılmış ve fazlası filtre kâğıdı ile alınarak örnekler oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. CTEM analizi 120 kV hızlandırıcı voltajda gerçekleştirilmiştir (Elmi ve ark., 2021; Gutiérrez ve ark., 2016).

#### **3.8.4.2. FT-IR Analizi**

Optimum koşullarda elde edilen niyozomların karakterizasyonu için FT-IR analizi Hacettepe Üniversitesi, HÜNİTEK’te gerçekleştirilmiştir. Analizde FT-IR spektrometre cihazı (Nicolet is50, Thermo Fisher) kullanılmıştır. FT-IR analizinde hem VMDE’nun optimum koşulunda elde edilen ekstrakt ile bu ekstrakta kullanılan solvent (%30 etanol), hem de optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen ekstrakt eklenmiş niyozom vezikülü ve ekstrakt eklenmemiş boş kapsül analiz edilmiştir. Cihazda yapılan taramalar; 4000-500 cm<sup>-1</sup> dalga boyları arasında, 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte ve 32 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir (Elmi ve ark., 2021; Javani ve ark., 2021).

#### **3.8.4.3. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Ölçümü**

Optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen ekstrakt yüklü vezikül örneğin parçacık boyutu ve zeta potansiyeli değerlerinin belirlenmesi Hacettepe Üniversitesi, HÜNİTEK’te gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılan cihaz Zetasizer Nano ZSP (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) nanometre boyutunda ölçüm alabilmektedir. Örneklerin ölçümleri, analizlerde saf su dispersiyon ortamı olarak kullanılmış ve analiz 25 °C sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dağıtıcı ortamın viskozitesi 0.887 cP, kırılma indisi 1.330 ve dielektrik sabiti 78.5 olarak belirlenmiştir. Hem parçacık boyutu hem de zeta potansiyeli için alınan ölçümler örnek 1:10 oranında saf su ile seyreltikten sonra 3

tekrar şeklinde alınmış ve sonuçlar ortalama ile standart sapma değerleri olarak verilmiştir.

### **3.9. Ekstrakt ve Niyozomların Yoğurda Uygulanması**

Tez çalışmasının bu aşamasında VMDE' de optimum koşullarda elde edilen ekstrakt ve optimum koşullarda elde edilen niyozomların farklı konsantrasyonlarda sade yoğurda eklendiği örnekler ve hiçbir katkı maddesi ilave edilmeyen kontrol yoğurdu örnekleri 14 gün boyunca +4 °C'de depolanmıştır. Depolama süresince 1., 7., ve 14. günlerde bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve fonksiyonel özellik analizleri gerçekleştirilmiştir.

#### **3.9.1. Yoğurt Üretimi**

VMDE'da optimum koşullarda elde edilen ekstrakt ve optimum koşullarda elde edilen niyozom kapsülü farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde yoğurda eklenmiştir. Bu amaçla ön denemeler ve ticari meyveli yoğurt örnekleri ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda hem ekstrakt hem de kapsül için seçilen konsantrasyonlar 2, 4 ve 6 (mL/100 g yoğurt) olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstrakt yüzde 20 oranında etanol içerdiğinden hem yoğunlaştırma hem de ekstraktan etanolü uzaklaştırmak amacıyla yoğurda ekleme öncesinde ekstrakt döndürmeli buharlaştırıcıda (Heidolph, Schwabach, Almanya) 1 saat boyunca 60 mbar basınçta, 50°C'de 120 rpm dönme hızında etanolden uzaklaştırılmıştır. Yoğurda uygulanacak optimum koşullardaki kapsüller için de bu etanolden uzaklaştırılmış konsantre ekstrakt kullanılmıştır. Ayrıca hiçbir ekleme yapılmamış yoğurt örneği de kontrol örnek olarak kullanılmıştır.

Yoğurt yapımında Du ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (Du ve ark., 2021). Yoğurt yapılacak cam kavanozlar otoklavda 121°C'de 15 dakika boyunca sterilize edilmiştir. Sonrasında ticari olarak pastörize edilen tam yağlı süt örnekleri kaynama sıcaklığında 10 dakika bekletilmiş ve 43°C'ye soğutulduktan sonra içerisine *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* içeren stirred type yoğurt için starter kültür (0.125 g/1 L süt) (Maysa Gıda, İstanbul, Türkiye) eklenmiştir. pH değeri 4.6'ya düşene kadar 43°C'de inkübasyon gerçekleştirilmiş ve sonrasında konsantre kaktüs meyvesi ekstraktı ile niyozom enkapsülasyonu yapılmış konsantre kaktüs meyvesi ekstraktı yukarıda belirtilen

konsantrasyonlarda inkübasyonu gerçekleştirilen yoğurt örneklerine eklenerek karıştırma işlemi yapılmıştır. 1, 7 ve 14. gün analizleri için 4'er paralel olacak şekilde cam kavanozlara 175'er gram paylaştırılmıştır.

### 3.9.2. Yoğurt Örneklerinde Fizikokimyasal Analizler

Optimum koşullarındaki konsantre haldeki ekstrakt, optimum koşullarda elde edilen kapsülün farklı konsantrasyonları eklenerek yapılan ve hiçbir ilave yapılmamış yoğurt örnekleri +4°C'de 14 gün boyunca depolanmış ve depolamanın 1. 7. ve 14. günlerinde belirli fizikokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Depolama süresince örneklerin pH değişimi bir pH-metre (PL-700PV, Tiapei, Tayvan) yardımıyla takip edilmiştir. Yoğurt örneklerindeki renk analizi için renk ölçüm cihazı (Minolta, CM-3600d, Japonya) kullanılarak sonuçlar CIE L, a ve b renk skalası ile ifade edilmiştir. Su aktivitesi cihazı (Novasina, LabTouch, Lachen, İsviçre) kullanılarak örneklerdeki su aktivitesi belirlenmiştir.

Ayrıca yapı analizi tekstür cihazı (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Surrey, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Tekstürdeki değişim geri ekstrüzyon analizi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla uygulanan metot Du ve ark. ile Wang ve ark. Kullandığı metotlar modifiye edilerek kullanılmıştır. 45 mm çaplı sahip disk şeklindeki prob yardımıyla cam kavanoz içindeki yoğurt örneklerine baskı uygulanarak örneğin silindirik probun kenarlarından yukarı doğru çıkması sağlanmıştır. Analiz esnasında tetikleme gücü 1 g, örnekle prob arasındaki mesafe 35 mm, ön test hızı 1 mm/s, test hızı 1 mm/s ve test sonrası hızı 2 mm/s olacak şekilde ayarlanmıştır. Analiz sonrasında örneklerde sertlik (N), konsistens (Nxs), kohesivlik (N) ve viskozite indeksi (Nxs) değerleri kaydedilmiştir (Du ve ark., 2021; Wang ve ark., 2020c). Sertlik, probun örnekte gerçekleştirdiği en yüksek sıkıştırma gücünü ifade etmektedir. Konsistens değeri, probun ileri yöndeki hareketi sırasında oluşan kurvenin altına kalan pozitif alandır. Kohesivlik değeri ise, probun örnekten uzaklaşması sırasında gerçekleşen en yüksek sıkıştırma gücü olup, iç bağların bir arada tutunma kuvveti olarak tanımlanmaktadır. Viskozite indeksi probun geri dönüşü esnasında meydana gelen kurvenin altında kalan negatif alandır (Mousavi ve ark., 2019; Siddiqui ve ark., 2024).

İlave olarak, örneklerdeki su tutma kapasitesi de ölçülmüştür. Bu amaçla, 20 g yoğurt örneği 4500 g'de 15 dakika santrifüjlendikten sonra açığa çıkan whey miktarı tartılmış ve Eşitlik (3.11) ile su tutma kapasitesi hesaplanmıştır (Korkmaz ve ark., 2021).

$$\text{Su tutma kapasitesi} = \frac{\text{Tartılan örnek miktarı} - \text{Ölçülen whey miktarı}}{\text{Tartılan örnek miktarı}} \times 100 \quad (3.11)$$

Örneklerdeki kuru madde miktarı tayinini gerçekleştirmek için termobalans cihazı (Ohaus MB 200, Florham, ABD) kullanılmıştır. 5 g örnek tartıldıktan sonra cihazın gözüne yerleştirilmiş ve 105°C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur (Saeed ve ark., 2021).

Son olarak yoğurt örneklerinde depolama süresince değişen reolojik özelliklerin belirlenmesi amacıyla paralel plakalı reometre (Netzsch, Kinexus, Selb, Almanya) kullanılmış ve analizler +4°C sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Plakalar arasındaki boşluk 1 mm olarak sabitlenmiştir. Kesme hızının 0.1 ile 150 s<sup>-1</sup> aralığında lineer olarak arttığı durumda kesme geriliminin ve viskozite değerleri kaydedilmiştir. Elde edilen verilerin üs yasası (Power law) modeline uygunluğu; kıvam katsayısı (k), akış davranış indeksi (n) ve r<sup>2</sup> değerleri hesaplanarak değerlendirilmiştir değerleri hesaplanmıştır (Eş. 3.12 (Wang ve ark., 2020c).

$$\tau = k\gamma^n \quad (3.12)$$

Bu eşitlikte  $\tau$  kesme gerilimi,  $\gamma$  ise kesme hızını ifade etmektedir.

Ayrıca yoğurt örneklerinde frekans tarama testi de +4°C sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Analiz esnasında %0.5 sabit gerilme değerinde frekans değeri 0.1 ile 20 aralığında değiştirildiğinde elastik (G', storage modulus) ve viskoz modülüs (G'', loss modulus) değerlerindeki değişimler ile loss tangent ( $\tan\delta = G''/G'$ ) değerleri kaydedilmiştir (Du ve ark., 2021; Wang ve ark., 2020c).

### 3.9.3. Yoğurt Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler

Yoğurt örneklerinde ayrıca 1., 7. ve 14. günlerde laktik asit bakterisi sayımı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 1 mL yoğurt örneği alınarak 9 mL'lik serum fizyolojik çözeltilisine aktarılmış ve  $10^{-1}$  dilüsyonu elde edilmiştir. Bu şekilde devam edilerek  $10^{-8}$  dilüsyonuna kadar çıkılmıştır. *S. thermophilus* sayımı amacıyla M17 agar, Terzahgi (Merck, Almanya), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayımı için ise MRS agar kullanılmıştır. Besiyerleri üzerine dökme plak yöntemi ile inoküle edilen petrilere M17 agar olanlar aerobik olarak, MRS agar olanlar anaerobik kavanoz kullanılarak 37°C'de 48-36 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası sayım sonuçları log kob/mL şeklinde verilmiştir (Shori ve ark., 2022).

Sayılan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kolonilerinin doğrulanması amacıyla, bazı testler gerçekleştirilmiştir. Öncelikle M17 agar ve MRS agar besiyerlerinde tipik olarak gelişen kültürlerden 5'er tane Nutrient broth besiyerine geçilerek saf kültürler oluşturulmuştur. Sonrasında saf kültürlerden alınarak mikroskopik doğrulama amacıyla Gram boyama uygulaması ile hareket testi gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal doğrulama amacıyla da saf kültürlerle katalaz testi, glukoz fermantasyon testi uygulanmıştır (Gezginç ve Akyol, 2010; Yurdakul ve ark., 2024).

### 3.9.4. Yoğurt Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri

Yoğurt örneklerinde depolama esnasında değişen biyoaktif bileşenlerin analizi için, Özcan ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Yoğurt örnekleri metanol-su (%70:30, h/h) çözeltilisi ile belirli oranlarda karıştırıldıktan sonra ve 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışımlar 20 dk oda sıcaklığında bekletilerek 12000 rpm'de 4°C'de 10dk santrifüjlendikten sonra üstte kalan süpernatant ile TFM (Bkz. 3.2.1), TAK (Bkz. 3.2.2) ve TBM (Bkz. 3.2.3) analizleri spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir (Özcan ve ark., 2019). TFM ve TAK analizlerinde kullanılan standart eğriler sırasıyla Ek-Şekil A6 ve A17'de sunulmuştur.

### 3.10. In-vitro Sindirim

Optimum koşullarda ekstrakte edilen kapsüllenmemiş kaktüs meyvesi ekstraktının, optimum koşullarda elde edilen kapsülün ve yoğurt örneklerinin biyoerişilebilirliğinin

test edilmesi için *in-vitro* sindirim uygulaması yapılmıştır. Bu amaçla Brodkorb ve ark. metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (Brodkorb ve ark., 2019). Sıvı örnekler oral faza maruz bırakılmamış, sindirim uygulaması doğrudan mide fazına koyulmuştur. Gastrointestinal sistem koşullarını örneklemek için mide suyunu ve duodenum suyunu taklit eden sindirim sıvıları kullanılmıştır. Simüle mide sıvı (SMS) ve simüle duodenal sıvı (SDS), Çizelge 3.9’da belirtilen şekilde hazırlanmıştır. Solüsyonların son hacimleri, damıtılmış su ile 400 mL’ye tamamlanmış ve kullanılıncaya kadar -20°C’de dondurulmuştur.

**Çizelge 3.9.** Gastrointestinal ortamı simüle eden sıvıların hazırlanması

	SMS			SDS	
	Stok (g/L)	Hacim (mL)	SGS içindeki derişim (mmol/L)	Hacim (mL)	SDS içindeki derişim (mmol/L)
				pH=7.5	
KCl	37.3	6.9	6.9	6.8	6.8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO <sub>3</sub>	84	12.5	25	42.5	85
NaCl	117	11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	30.5	0.4	0.1	1.1	0.33

Her örnek için iki paralel olacak şekilde (1 adet mide fazı ve bir adet bağırsak fazı) deney tüpleri hazırlanmıştır. Bir örnek için hazırlanan iki deney tüpüne de 10’ar mL örnek 50 mL’lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Sonrasında üzerilerine 5’er mL pepsin çözeltisi (12.5 mg/mL 0.1M HCl) ile 10’ar mL SMS eklendikten sonra pH değerleri 3’e ayarlanmıştır. Karışımlar çalkalamalı su banyosunda 60 rpm’de 37°C’de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. 2 saatlik bekleme süresi boyunca pH değeri yarım saat aralıklarla ölçülmüş ve 3’te sabit tutulmuştur. 2 saat sonunda mide fazı sindirimini durdurmak amacıyla her örnek için hazırlanan paralellerden bir tanesi bekletilmeden buz banyosuna konulmuş ve analiz gerçekleştirilinceye kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir. Bağırsak fazı için hazırlanacak safra tuzları 10 mg/mL olacak şekilde SBS ile hazırlanmıştır. *In-*

*vitro* çalışmasının ikinci kısmında ise, örnek için hazırlanan ikinci paralelle deneye devam edilmiştir. Mide fazından çıkan karışımın üzerine 20 mL safra tuzu çözeltisi ile 5 mL pankreatin (10 mg/mL su) eklenmiş ve pH değeri 7.5'e ayarlanmıştır. Sonrasında karışım bağırsak fazını simüle etmek için yine çalkalamalı su banyosunda 60 rpm'de 37°C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Süre boyunca oluşabilecek pH değişimlerine karşı yarım saat aralıklar ile karışımın pH değeri ölçülmüştür. Süre sonunda bağırsak fazında gerçekleşen reaksiyonları durdurmak için karışım bekletilmeden buz banyosunda bekletilmiş ve analiz gerçekleştirinceye kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Mide ve bağırsak fazları sonrasında elde edilen karışımlar, +4°C'de 10000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra TFM (Bkz. 3.2.1), TAK (Bkz. 3.2.2) ve TBM (Bkz. 3.2.3) analizleri spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Biyoerişilebilirlik indeksi (%BI) biyoaktif bileşiğin bağırsak sonrası ölçülen miktarının sindirim öncesi ölçülen miktarına oranlanıp 100 ile çarpılması ile elde edilmiştir (Mehta ve ark., 2024).

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sunulan tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, beş temel başlıkta özetlenmektedir. Bu başlıklar: i) Kaktüs meyvesinin fizikokimyasal özellikleri, ii) Kaktüs meyvesinden betalainler ve fenolik bileşiklerin KE, UDE ve VMDE yöntemleriyle ekstraksiyonu ve optimizasyon, iii) Niyozomal enkapsülasyon ile VMDE yönteminden optimum koşullarda elde edilen ekstrakt örneğinin enkapsülasyonu ve deney koşullarının optimizasyonu, iv) Optimum koşullarda elde edilen ekstrakt yüklü niyozomaların gıda ürünü olarak yoğurda uygulanması ve v) *In-vitro* sindirim uygulamaları ile biyoerişilebilirlik değerlerinin eldesi olarak verilmektedir.

### 4.1. Kaktüs Meyvesinin Fizikokimyasal Özellikleri

Brix ( $^{\circ}$ Brix), meyvede bulunan toplam çözünebilir katıların bir ölçüsüdür. Bunlar esas olarak şekerlerden oluşmaktadır ancak diğer bileşikleri de içerebilmektedir. Toplam çözünebilir katılar, fruktoz, sakkaroz vb. gibi monosakkaritler, disakkaritler veya oligosakkaritler olabilmektedir. Herhangi bir işleme tabi tutulmamış kaktüs meyvesi örneğinde suda çözünür kuru madde ( $^{\circ}$ Brix) dijital bir refraktometre kullanılarak  $10.20^{\circ}\pm 0.017$  olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Literatürde kaktüs meyvesindeki  $^{\circ}$ Brix değerleri genel olarak 8.03 ile 15.4 arasında değişmekte olup, bu değerlerin meyvedeki şeker miktarı, hasat edilen mevsim, toprak yapısı ve meyvenin türüne göre değişkenlik gösterdiği ifade edilmiştir (De Wit ve ark., 2020).

Laboratuvar tipi karıştırıcı yardımıyla parçalanıp, homojen hale getirilen kaktüs meyvesi örneğinin pH değeri  $5.64\pm 0.015$  olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Olgun meyvedeki pH değerinin 4.5'den büyük olması gerektiği ve genel olarak 4.5 ile 5.9 arasında değiştiği ifade edilmiştir (Manzur-Valdespino ve ark., 2022).

Kaktüs meyvesi örneğindeki toplam titrasyon asitliği  $0.08\pm 0.059/100$  mL sitrik asit olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.1) Bu değer, türler arası ve meyvenin çeşitli kısımları arası değişkenlik göstermekle birlikte literatürde 0.001 ile 0.012 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Valero-Galván ve ark., 2021).

Kaktüs meyvesindeki toplam fenolik madde (TFM), antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$  ve  $TAK_{DPPH}$ ) ve toplam betalain miktarı (TBM) değerleri de Çizelge 4.1’de verilmiştir. Literatürde bu değerlerin, standart ekstraktın hazırlanma yöntemine, hasat zamanına ve kaktüs meyvesinin çeşidine göre değişiklik gösterdiği ifade edilmiştir (Juhaimi ve ark., 2020).

**Çizelge 4.1.** İşlem görmemiş kaktüs meyvesinin fizikokimyasal özellikleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g kuru ağırlık),  $TAK_{DPPH}$ : DPPH yöntemiyle ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $TAK_{CUPRAC}$ : CUPRAC yöntemiyle ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık), TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

<b>Fizikokimyasal özellik</b>	<b>Sonuç</b>
Suda çözünür kuru madde	10.20 $\pm$ 0.017
pH	5.64 $\pm$ 0.015
Toplam titrasyon asitliği	0.08 $\pm$ 0.059/100 mL sitrik asit
TFM	60.44 $\pm$ 2.205 mg GAE/g kuru ağırlık
$TAK_{DPPH}$	106. 07 $\pm$ 6.437 mmol TE/kg kuru ağırlık
$TAK_{CUPRAC}$	335. 60 $\pm$ 2.955 mmol TE/kg kuru ağırlık
TBM	3008.86 $\pm$ 79.767 mg betalain/kg kuru ağırlık

## 4.2. Kaktüs Meyvesinden Betalainler ve Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

### 4.2.1. Konvansiyonel Ekstraksiyondan (KE) Elde Edilen Yanıtlar

Yöntem kısmında, Çizelge 3.2’de belirtilmiş olan koşullarda gerçekleştirilen 29 deney sonrasında elde edilen yanıtlar ( $Y_1$ : Toplam fenolik madde miktarı (TFM),  $Y_2$ : DPPH metodu ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{DPPH}$ ),  $Y_3$ : CUPRAC metodu ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ),  $Y_4$ : Toplam betalain miktarı (TBM)) ortalama değerler olarak Ek-Çizelge B1’de verilmiştir.

Ek-Çizelge B1'e göre, TFM değerlerinin 3.99 ile 6.15 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen en yüksek ve en düşük TFM değerlerini veren deneylerdeki koşullar incelendiğinde (sırasıyla, deney no. 7 ve 26) ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) iki koşulda da 2 saat olmasına rağmen, diğer bağımsız deney koşullarındaki farklılık TFM değerlerini önemli ölçüde etkilemiştir. Daha düşük sıcaklıkta ( $30^{\circ}\text{C}$ )  $X_3$  ve  $X_4$  değişkenlerinin artması durumunda TFM değerinde artış gözlemlenmiştir. Sıcaklık, çözültideki etanol yüzdesi, ve örnek:çözücü oranı değişkenlerinin fenolik bileşiklerin konvansiyonel ekstraksiyonunda önemli değişkenler olduğu literatürde de belirtilmiştir (Alara ve ark., 2021). Konvansiyonel ekstraksiyonda çıkılan yüksek sıcaklıklar fenolik bileşiklerin çözünürlüğünü ve çözücü içine difüzyonunu arttırmaktadır. Fakat ekstraksiyon sıcaklığının  $60^{\circ}\text{C}$ 'nin üzerinde olması durumunda kullanılan çözücünün kayba uğradığı ve fenolik bileşiklerde termal degradasyonun da gerçekleşmeye başladığı ifade edilmiştir (Shi ve ark., 2022a). Çözültideki etanol yüzdesi konvansiyonel ekstraksiyonda ekstraksiyon verimini etkileyen diğer önemli değişkendir. Literatürde fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için çok farklı organik çözücüler ve bunların farklı konsantrasyonlardaki sulu çözeltilerinin kullanıldığı bilinmektedir. Fenolik bileşiklerin yapısında hidroksil gruplarının bulunması nedeniyle ekstraksiyonda etanolün farklı konsantrasyonlarının kullanılması fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmaktadır (Brahmi ve ark., 2022). Örnek: çözücü oranı ise, örnek ile kullanılan çözücü arasındaki etkileşimi etkileyerek verimi değiştirdiğinden konvansiyonel ekstraksiyonu etkileyen önemli bir etmendir.

DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile elde edilen TAK değerleri incelendiğinde, iki yöntemdeki en düşük ve en yüksek TAK değerlerinin farklı deney koşullarında elde edilmiş olduğu görülmektedir (Ek-Çizelge B1). Bu farklılık iki yöntemin antioksidan kapasitesi ölçme prensiplerinin farklılığından kaynaklanmaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021). CUPRAC yönteminde antioksidan özellikteki bileşikler  $\text{Cu}^{2+}$ -neokuproin kompleksini, pH 7'de  $\text{Cu}^{+}$ -neokuproine indirger. DPPH yönteminde ise analiz edilen örnekteki antioksidan bileşikler DPPH serbest radikali ile karşılaşarak indirgenmesi ile renk değişimi gözlenmektedir (Patricia ve Syaputri, 2021). En düşük (3.30 mmol TE/kg kuru ağırlık) ve en yüksek (14.87 mmol TE/kg kuru ağırlık)  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  değerlerinin bulunduğu deney koşullarına bakıldığı zaman, TFM sonuçlarına benzer olarak sürenin ( $X_1$ ) aynı olduğu, diğer değişkenlerin ise farklılık gösterdiği görülmektedir. Yüksek ekstraksiyon sıcaklığında ( $50^{\circ}\text{C}$ ) ve ekstraksiyon çözültisinde kullanılan en yüksek etanol

yüzdesinde ( $X_3$ )  $TAK_{DPPH}$  değerinin en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Ayrıca örnek:çözücü oranının ( $X_4$ ) artması durumunda  $TAK_{DPPH}$  değerinin en düşük olarak ölçüldüğü görülmüştür. Konvansiyonel ekstraksiyonla antioksidanların daha iyi ekstrakte edilebilmesi için yüksek miktarda çözücü kullanılması gerektiği literatürde de belirtilmiştir. Konvansiyonel yöntemde, uzun süren ekstraksiyon esnasında difüzyon hızı da düşük olduğu için ancak yüksek miktarda çözücü kullanımı ile hedef bileşiklerin çözücüye geçişi sağlanabilmektedir (Sridhar ve ark., 2021).

Ek-Çizelge B1 incelendiğinde  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinin 16.56 ile 39.22 mmol TE/kg kuru ağırlık arasında değiştiği görülmektedir. En düşük ve en yüksek  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerini veren deney koşulları incelendiğinde, aynı sıcaklıkta ekstraksiyon süresinin uzaması ve ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin artması durumunda  $TAK_{CUPRAC}$  değerinin en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir.  $TAK_{DPPH}$  sonuçları ile benzer olarak örnek: çözücü oranının ( $X_4$ ) azalması  $TAK_{CUPRAC}$  değerini en yüksek seviyeye getirmiştir. Konvansiyonel ekstraksiyonda diğer yeni ekstraksiyon yöntemlerine göre fazla çözücü kullanımı ile biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu konvansiyonel yöntemin bir dezavantajı olarak rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2021a).

Konvansiyonel ekstraksiyon deneylerinde ölçülmüş olan son yanıt olan TBM sonuçları incelendiğinde, en düşük ve en yüksek değerlerin sırasıyla 187.37 ve 467.18 mg betalain/kg kuru ağırlık olarak ölçüldüğü görülmektedir (Ek-Çizelge B1). TBM değerinin en düşük olduğu deney koşullarında ( $X_1=2$  sa,  $X_2=50$  °C,  $X_3=60\%$  etanol ve  $X_4=1:30$ ), en yüksek sıcaklık değerinin uygulanmasıyla, 2 saatlik ekstraksiyonda ekstraksiyon çözücüsü olarak %60 etanol kullanımı ile en düşük örnek:çözücü oranında TBM'nin en düşük olarak ölçüldüğü görülmektedir. Betalainlerin konvansiyonel yöntemle ekstraksiyonunda yüksek sıcaklıklara çıkılması renk pigmentlerinde önemli kayıplara yol açtığı literatürde kırmızı pancar kabuğu ile yapılan benzer bir çalışmada doğrulanmıştır (Zin ve ark., 2020). Betalainlerin termal degradasyonunda, konjuge bağ sistemini içeren rengi oluşturan kromofor yapı bozularak molekül kararsız bir hale geçer ve renk kaybı gerçekleşir. Ayrıca yapıdaki amino ve karboksil gruplarının ayrılması ile deaminasyon ve dekarboksilasyon gerçekleşerek renk değişimi de meydana gelmektedir. (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022). TBM'nin en yüksek olduğu deney koşulları incelendiğinde ise, düşük sıcaklıkta uzun süreli ekstraksiyonla betalainlerin konvansiyonel yöntemle daha iyi ekstrakte edilebileceği belirlenmiştir. Literatürde konvansiyonel yöntem ile betalainlerin ekstraksiyonu yeni ekstraksiyon teknolojileri ile karşılaştırıldığında,

konvansiyonel yöntemde betalainlerin hücre dışına çıkarılması için daha uzun süreye ihtiyaç duyulduğu rapor edilmiştir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022). Konvansiyonel ekstraksiyonun mekanizmasında, kullanılan çözücü örneğin hücre duvarından içeriye nüfuz ederek hedef bileşiklerin çözücüye geçişini başlatır. Bu geçiş konsantrasyon farkı nedeniyle gerçekleşmektedir. Konvansiyonel ekstraksiyonda, bu geçiş yavaş bir difüzyon ile gerçekleştiğinden zaman alıcı bir süreçtir ve betalain ekstraksiyonu için daha çok yeni ekstraksiyon yöntemleri tercih edilmektedir (Kaur ve Ghoshal, 2025).

#### **4.2.2. Konvansiyonel Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi**

KE yönteminde gerçekleştirilen deney koşullarında uygulanan bağımsız değişkenlerin ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  ve  $X_4$ ), elde edilen yanıtlar (bağımlı değişkenler) üzerindeki etkilerini gösteren model denklemlerin belirlenmesi için, Design Expert 13 programı kullanılmış ve çoklu regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için program tarafından önerilen ikinci dereceden model denklemler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

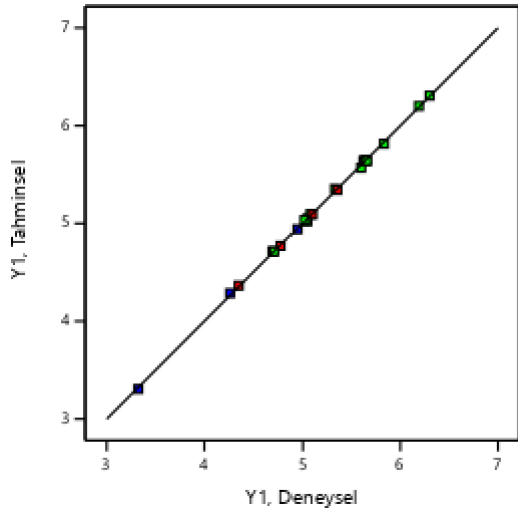
**Çizelge 4.2.** KE' de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Yanıt	Model denklem	$R^2$
$Y_1$	$Y_1 = + 5.64 + 0.10X_1 - 0.26X_2 + 0.37X_3 + 0.34X_4 - 0.13X_1X_2 - 0.06X_1X_3 - 0.30X_1X_4 + 0.21X_2X_3 + 0.14X_2X_4 - 0.78X_3X_4 - 0.49(X_1)^2 + 0.17(X_2)^2 + 0.08(X_3)^2 - 0.93(X_4)^2$	0.9986
$Y_2$	$Y_2 = + 6.84 + 0.35X_1 - 0.24X_2 + 1.36X_3 + 2.04X_4 - 0.20X_1X_2 + 1.78X_1X_3 - 0.31X_1X_4 + 3.83X_2X_3 - 0.89X_2X_4 - 3.96X_3X_4 - 0.66(X_1)^2 + 0.83(X_2)^2 + 2.24(X_3)^2 + 1.58(X_4)^2$	0.9999
$Y_3$	$Y_3 = + 25.84 - 0.28X_1 - 1.72X_2 + 1.83X_3 + 5.87X_4 - 0.48X_1X_2 - 0.28X_1X_3 - 0.52X_1X_4 + 0.43X_2X_4 + 7.22X_3X_4 + 0.92(X_1)^2 + 1.19(X_2)^2 + 2.32(X_3)^2 - 4.98(X_4)^2$	0.9996
$Y_4$	$Y_4 = + 440.96 + 25.55X_1 - 30.38X_2 + 20.11X_3 - 11.39X_4 - 3.54X_1X_2 - 17.91X_1X_3 - 7.63X_1X_4 + 27.58X_2X_3 - 14.42X_2X_4 + 35.97X_3X_4 - 31.45(X_1)^2 - 18.93(X_2)^2 - 18.76(X_3)^2 - 56.38(X_4)^2$	0.9999

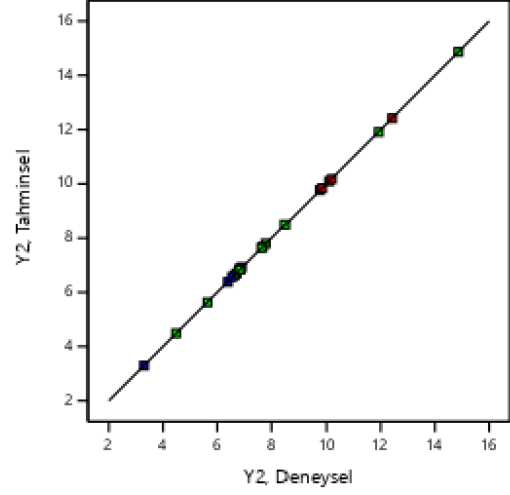
Her yanıt için gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları ise Ek-Çizelge C1-C4'te görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonucunda her bir yanıt için modelin önemli ( $p < 0.05$ ), uyum eksiliğinin önemsiz ( $p > 0.05$ ) bulunması ve modele ait  $R^2$  değerinin 0.75'ten büyük olması önemsizdir.  $Y_1$  ve  $Y_2$  yanıtı için türetilen model denklemlere göre, bağımsız değişkenlerin lineer, ikili ve karesel etkileşimlerinin TFM ve  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  üzerinde önemli bulunduğu görülmektedir. Değişkenlerin yanında elde edilen katsayıların sayısal değerlerine göre yanıtların bu bağımsız değişkenlerden etkilenme miktarı da farklılık göstermektedir (Çizelge 4.2)  $Y_3$  yanıtının model denklemi incelendiğinde ise,  $X_2X_3$  ikili etkileşiminin  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir. Literatürde pancar yan ürünlerinden betalaince zengin biyoaktif bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirilen benzer bir çalışmada da ekstraksiyon sıcaklığı ve

ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin biyoaktif bileşikler üzerinde bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir (Lazăr ve ark., 2021). TBM yanıtı (Y<sub>4</sub>) için türetilen ikinci dereceden model denkleme göre, ekstraksiyon süresinin ve ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin artması elde edilen TBM'yi olumlu yönde etkileyeceği görülmektedir. Betalainin hidrofilik doğası gereği konvansiyonel ekstraksiyonda etanol ve metanol gibi çözücülerin kullanılması betalain ekstraksiyonunu verimli hale getirmektedir (Calva-Estrada ve ark., 2022). Literatürde, konvansiyonel yöntemle betalain ekstraksiyonunda uzun sürelerde yüksek konsantrasyonda solvent kullanılarak ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi durumunda fazla enerji kullanılarak TBM'nin artabileceği ifade edilmiş, bu nedenle betalain ekstraksiyonu için yeni yöntemlerin kullanımının sıklaştığı belirtilmiştir (Eyshi ve ark., 2024b).

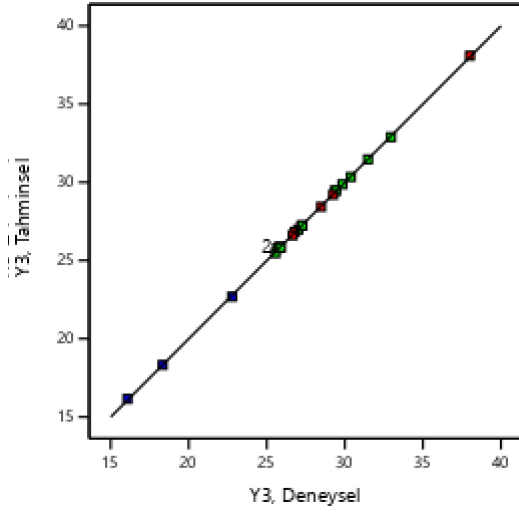
Konvansiyonel ekstraksiyon sonucunda, Çizelge 4.2'de verilen model denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini yanıtlar ile yapılan 29 deney sonucu elde edilen yanıtların karşılaştırıldığı grafikler ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Her bir yanıt için de deneysel ve tahmini değerlerin R<sup>2</sup> değerlerinin 1'e yakın olduğu bulunmuştur.



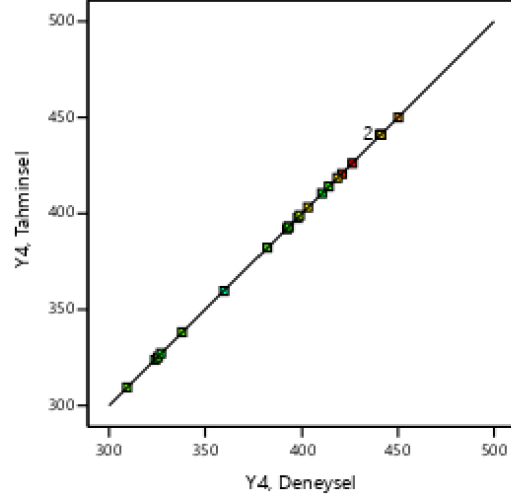
(a)



(b)



(c)

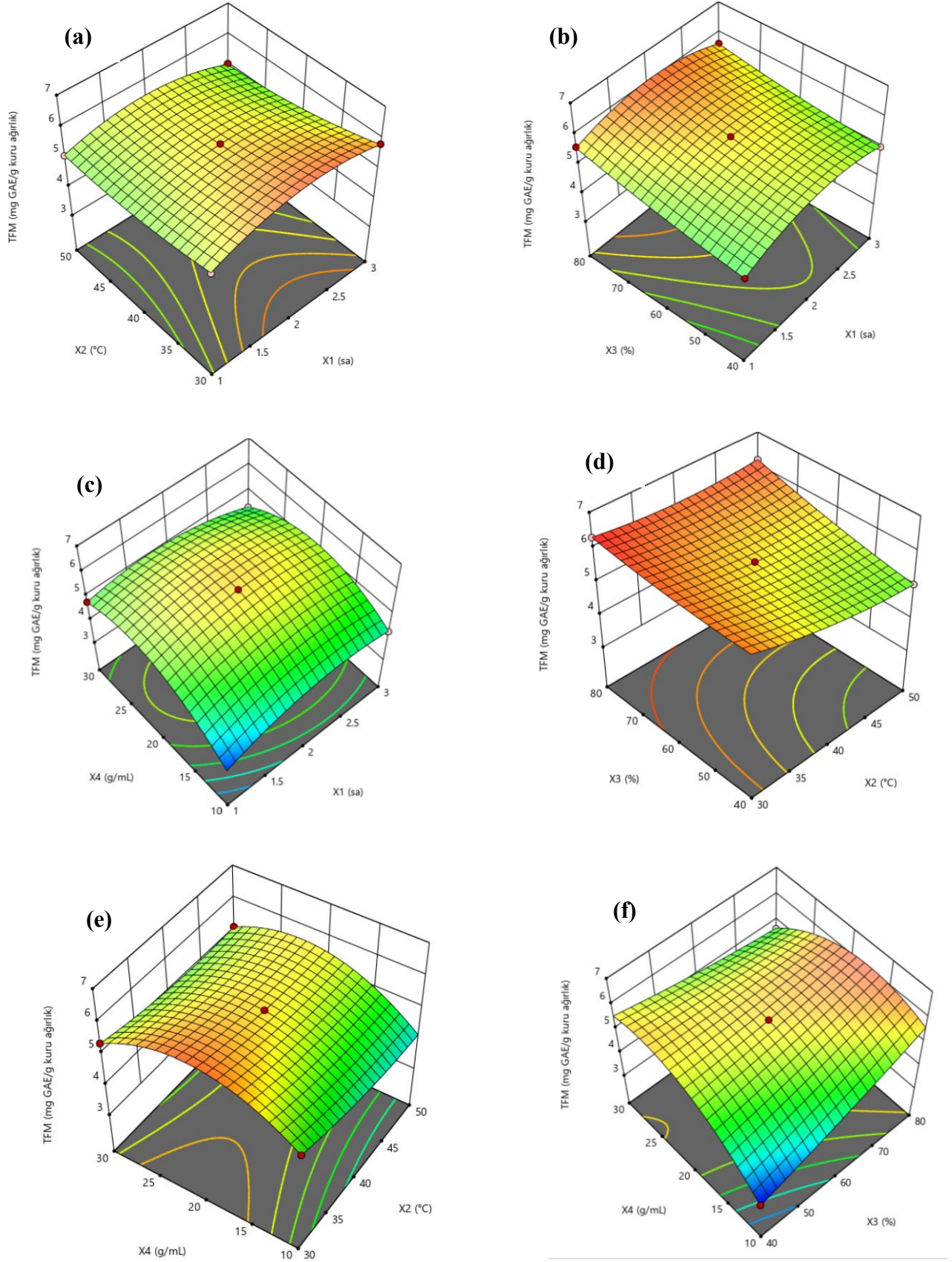


(d)

**Şekil 4.1.** KE'de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtın karşılaştırılması, (a) TFM, (b)  $TAK_{DPPH}$ , (c)  $TAK_{CUPRAC}$ , (d) TBM

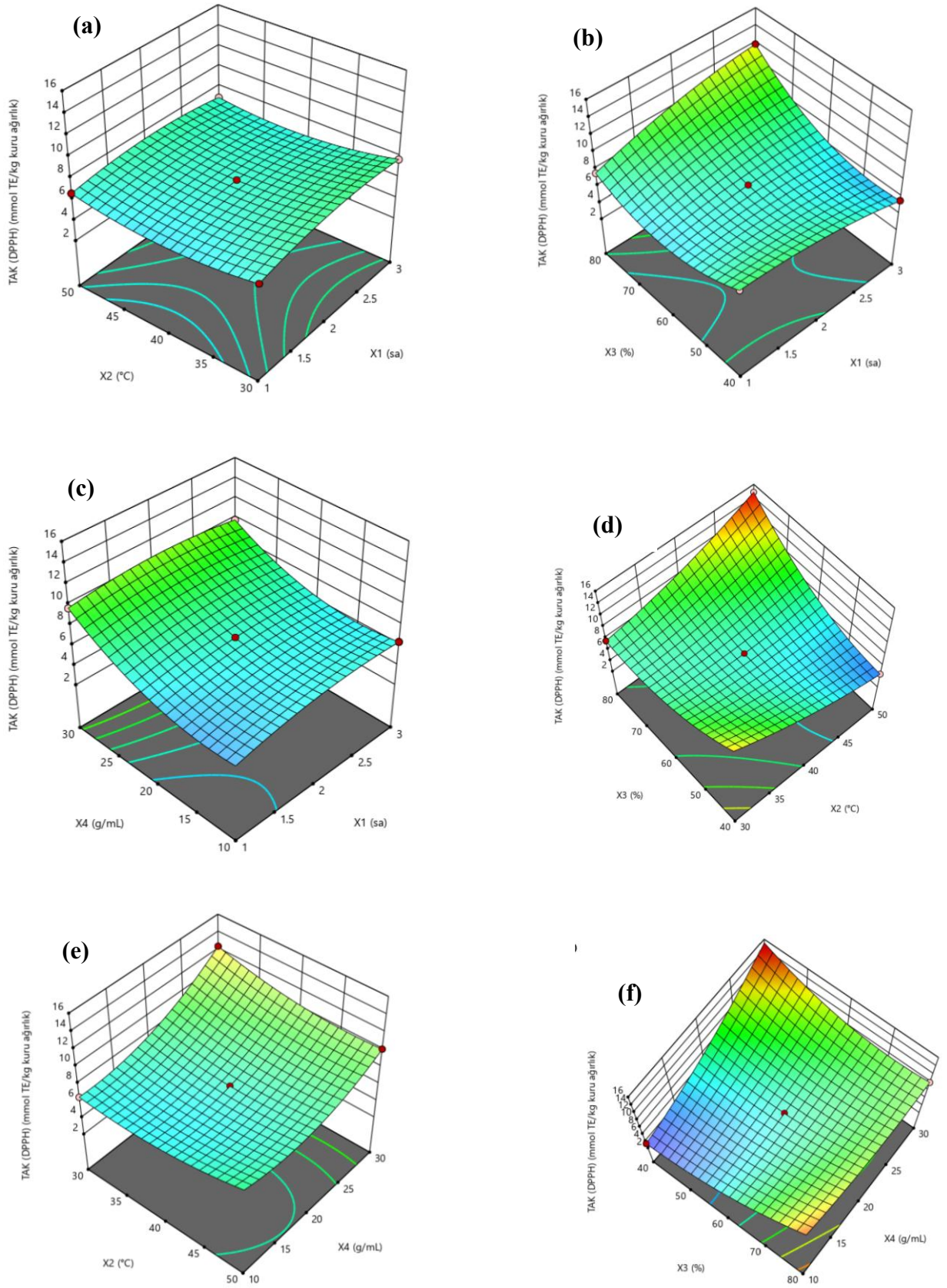
Ayrıca her yanıt için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.2-4.5'te verilmiştir. İlk yanıt olan TFM için program tarafından oluşturulan yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.2'de görülmektedir. Yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde, ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) değişkeninin merkez noktada olduğu ve ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) değişkeninin maksimum (%80) olduğu durumlarda TFM yanıtının önemli ölçüde artacağı görülmektedir (Şekil 4.2b). Konvansiyonel ekstraksiyonda ultrason destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyon

yöntemlerine göre biyoaktif bileşiklerin daha fazla çözücü kullanımı ile daha uzun sürelerde elde edilebileceği literatür çalışmaları ile doğrulanmıştır (Dobroslavić ve ark., 2021; Mikucka ve ark., 2022). Konvansiyonel ekstraksiyonda fenolik bileşiklerin çözücüye olan difüzyonu yavaş olduğundan ekstraksiyon esnasında ancak yüksek miktarda çözücü kullanımı ile hedef bileşenlerin çözücüye geçişi sağlanabilmektedir (Sridhar ve ark., 2021). Ayrıca ekstraksiyon sıcaklığı değişkeninin ( $X_2$ ) ikili etkilerinin görüldüğü grafikler incelendiğinde (Şekil 4.2a, 4.2d, 4.2e) ekstraksiyon sıcaklığının  $30^{\circ}\text{C}$ 'lerde tutulması TFM yanıtını arttıracığı da öngörülmektedir. Literatürde, kullanılan hammadde ve fenolik bileşiğin çeşidine göre değişmekle birlikte, fenolik bileşiklerin sıcaklığa duyarlı olduğu ve yüksek ekstraksiyon derecelerine çıkıldığı zaman TFM miktarının düşeceği rapor edilmiştir (Antony ve Farid, 2022). TFM yanıtı üzerinde örnek/çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkeninin ikili etkileri incelendiğinde ise, bu değişkenin artması durumunda TFM'nin de artacağı belirlenmiştir (Şekil 4.2c ve 4.2f). Çizelge 4.2'deki ikinci dereceden model denklemlerin katsayıları incelendiğinde, TFM ( $Y_1$ ) yanıtını en çok etkileyen ikili etkinin  $X_3X_4$  olduğu yanıt yüzey grafiğinden de doğrulanmıştır.



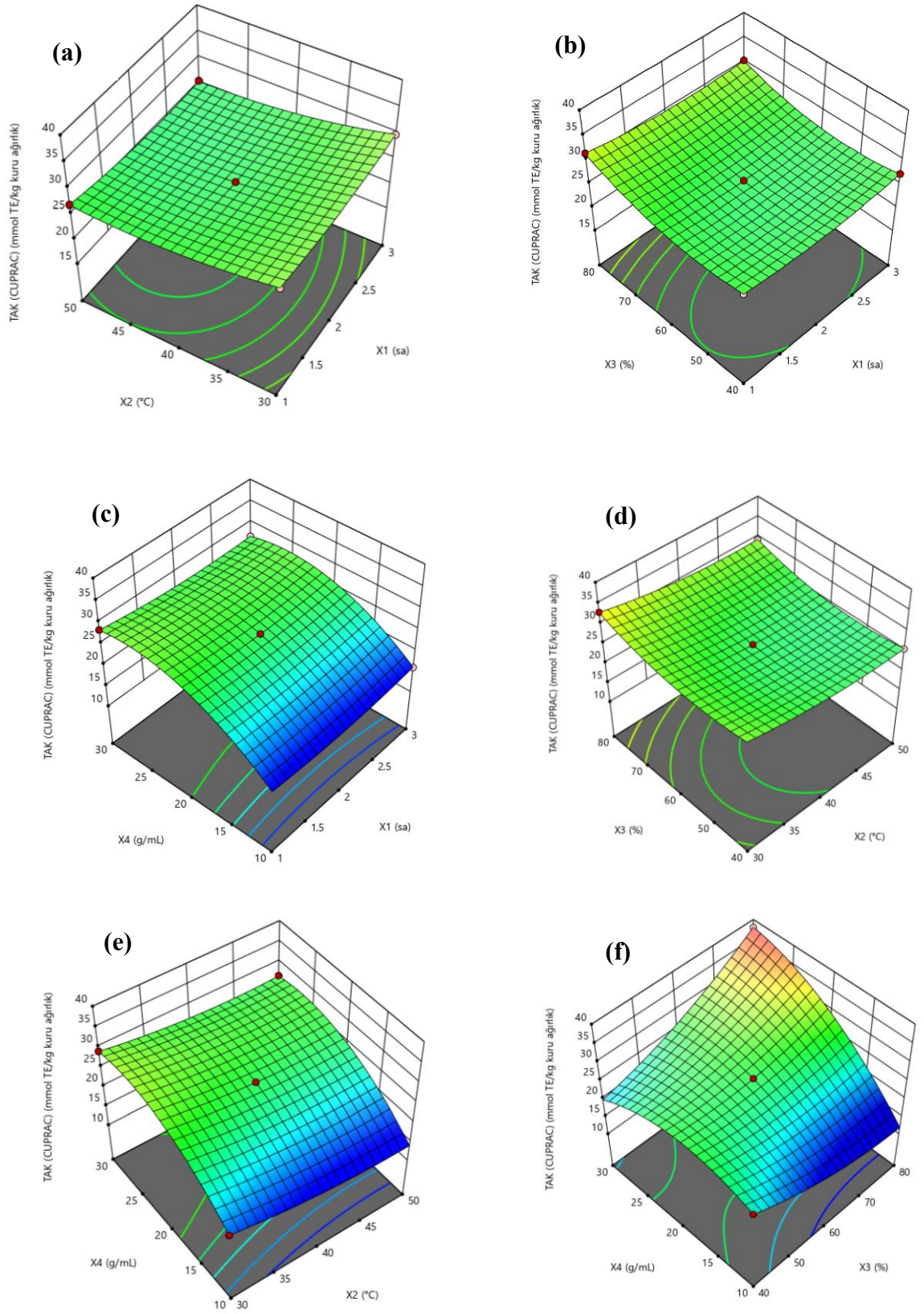
Şekil 4.2. KE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

İkinci yanıt olan  $TAK_{DPPH}$  için program tarafından oluşturulan yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.3'te görülmektedir.  $X_1X_2$ ,  $X_1X_4$  ve  $X_2X_4$  değişkenlerinin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde, bu etkilerin  $Y_2$  yanıtı üzerinde çok önemli değişikliklere neden olmayacağı görülmektedir (Şekil 4.3a, 4.3c ve 4.3e). Çizelge 4.2'de  $Y_2$  yanıtı için program çıktısı tarafından verilen model denklem incelendiğinde de bu ikili etkilerin katsayılarının diğer ikili etkilerin katsayılarına göre sayısal olarak daha düşük olduğu yanıt yüzey grafiklerini doğrulamaktadır. TFM yanıtına benzer olarak, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) değişkeninin diğer değişkenler ile ikili etkilerinin verildiği yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde, etanol yüzdesinin artması durumunda ölçülen DPPH metodu ile ölçülen antioksidan kapasitenin de artacağı öngörülmektedir. Konvansiyonel ekstraksiyonda antioksidan özellikte olan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için sadece etanol ya da sadece su kullanımı yerine etanol-su karışımlarının tercih edilmesi ekstraksiyon verimini arttırdığı literatürde belirtilmiştir. Ayrıca konvansiyonel yöntemde etanol yüzdesi yüksek olan çözücü kullanımı ile daha fazla miktarda biyoaktif bileşiğin elde edilebileceği de rapor edilmiştir (Osorio-Tobón, 2020). Üzüm kabuğundaki fenolik ve antioksidan bileşiklerin konvansiyonel ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edildiği ve yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, her iki yöntem için de ekstraksiyon koşullarının optimize edildiği belirtilmiştir. Bahsedilen çalışmada Şekil 4.3f'ye benzer olarak konvansiyonel yöntem için etanol yüzdesinin yaklaşık %50 olması ve örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) artması durumunda elde edilen antioksidan kapasitenin de artacağı ifade edilmiştir (Caldas ve ark., 2018).



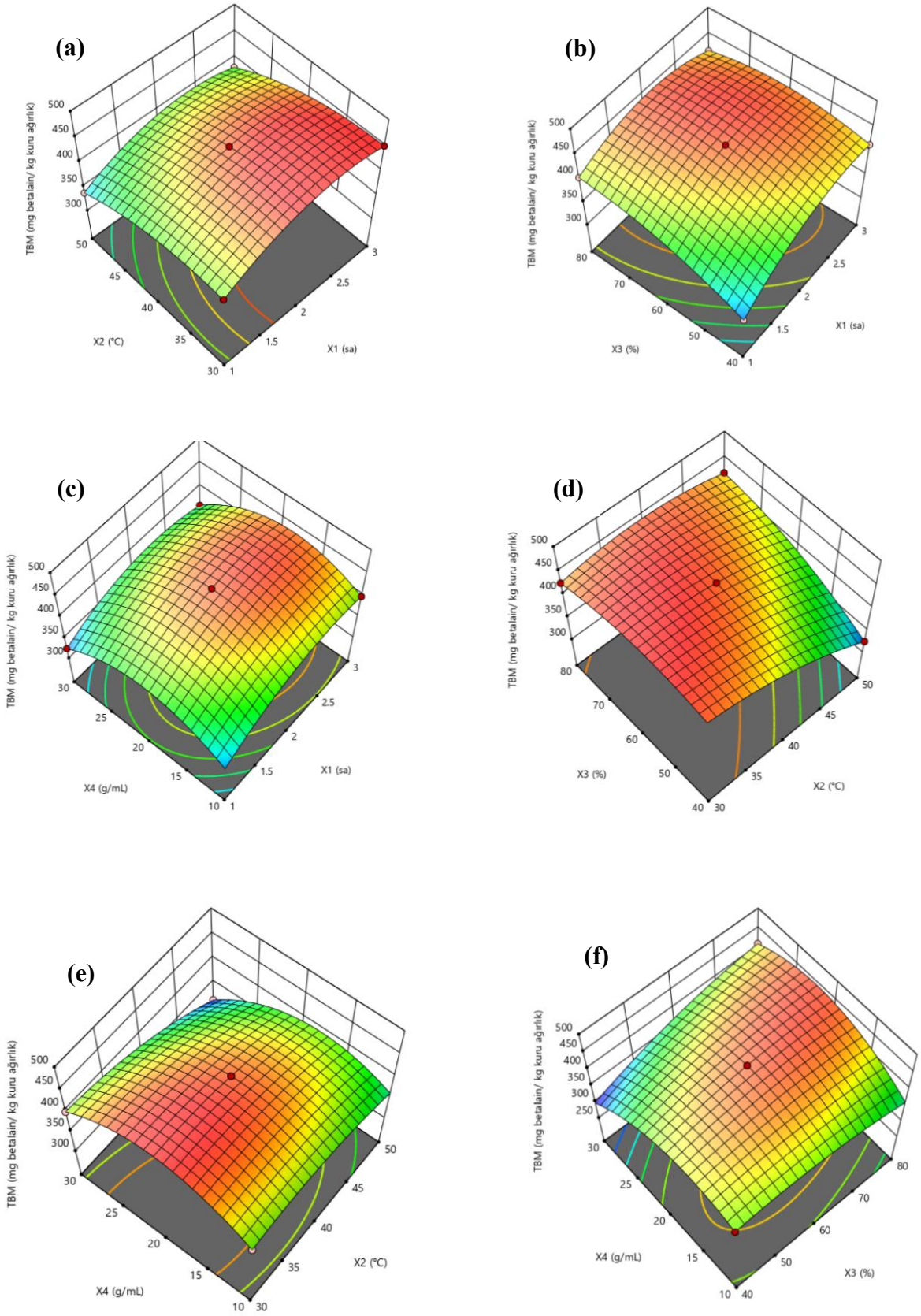
**Şekil 4.3.** KE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

TAK<sub>CUPRAC</sub> yanıtı için oluşturulan yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.4'te sunulmuştur. Bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinde TAK<sub>DPPH</sub> (Y<sub>2</sub>) yanıtı ile benzerlikler olmakla beraber CUPRAC yöntemi ile ölçülen antioksidan kapasite yanıtı için bağımsız değişkenlerin ikili etkileri iki yöntem arasında farklılıklar da göstermiştir. Bunu nedeni bu iki yöntemin antioksidan kapasite ölçüm mekanizmalarındaki farklılıktan kaynaklandığı literatürde belirtilmiştir (Patricia ve Syaputri, 2021). Antioksidan kapasite ölçme yöntemlerinden DPPH'da antioksidan bileşik ile DPPH serbest radikali arasında hidrojen atomu transferi ile gerçekleşen bir reaksiyon ile toplam antioksidan kapasite ölçülmektedir. CUPRAC metodunda ise Cu<sup>2+</sup>-neokuproin kompleksinin antioksidan bileşiğe olan elektron transferi sayesinde Cu<sup>+</sup>e indirgenmesi ile toplam antioksidan kapasite ölçülmektedir (Patricia ve Syaputri, 2021). Çizelge 4.2'de Y<sub>3</sub> yanıtı için verilen model denklemde bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin katsayıları incelendiğinde bu yanıtı en çok etkileyen ikilinin X<sub>3</sub>X<sub>4</sub> olduğu görülmektedir. Bu sonucu Şekil 4.4'te verilen yanıt yüzey grafikleri de doğrulamaktadır. Şekil 4.4 incelendiğinde X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>, X<sub>1</sub>X<sub>3</sub> ve X<sub>2</sub>X<sub>3</sub> değişkenlerinin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerinden bu ikili etkilerin Y<sub>3</sub> yanıtı üzerinde çok önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Şekil 4.4a, 4.4b ve 4.4d). X<sub>4</sub> değişkeninin diğer bağımsız değişkenler ile ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerine bakıldığında ise, ortak olarak örnek:çözücü hacmi oranının (X<sub>4</sub>) artması durumunda biyoaktif madde miktarı yüksek ve çözücü oranı daha az olan konsantre bir ekstrakt elde edildiği için ölçülen TAK<sub>CUPRAC</sub> değerlerinin de artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.4c, 4.4e ve 4.4f). Ayrıca TAK<sub>DPPH</sub> yanıtına benzer olarak ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin artması durumunda TAK<sub>CUPRAC</sub> değerlerinin de artacağı belirlenmiştir. Literatürde konvansiyonel ekstraksiyonda yüksek hacimde çözücü kullanıldığında biyoaktif bileşiklerin daha iyi ekstrakte edilebileceği ifade edilmiştir (Usman ve ark., 2022).



**Şekil 4.4.** KE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Konvansiyonel ekstraksiyon optimizasyonunda son yanıt olan TBM ( $Y_4$ ) için yanıt için program çıktısı tarafından oluşturulan yanıt yüzey grafikleri ise Şekil 4.5'te sunulmuştur.  $Y_4$  için bağımsız değişkenlerin her ikili etkisinin önemli olduğu hem yanıt yüzey grafiklerindeki değişimlerden hem de Çizelge 4.2'de bu yanıt için verilen model denklemden doğrulanmıştır. Bağımsız değişkenlerin ilki olan ekstraksiyon süresinin ( $X_1$ ) artması durumunda TBM'nin önemli ölçüde artacağı belirlenmiştir (Şekil 4.5a, 4.5b ve 4.5c). Ayrıca sıcaklığın 30°C'lerden 50°C'lere yükselmesi durumunda TBM miktarının düşeceği de ekstraksiyon sıcaklığı ( $X_2$ ) için oluşturulan yanıt yüzey grafiklerinden öngörülmektedir. Betalainler, pH, su aktivitesi, sıcaklık, ışık,  $O_2$ , metal iyonları ve enzimatik aktiviteler gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu faktörlerin en önemlilerinden biri olan sıcaklık, 50°C ve üzerine çıktığı zaman betalain degradasyonunun başladığı ve renk bileşenlerinin özelliklerinin giderek azaldığı bildirilmiştir (Carreón-Hidalgo ve ark., 2022). Şekil 4.5b, 4.5d ve 4.5f'de görülen yanıt yüzey grafiklerine göre, ekstraksiyon solventinde kullanılan etanol miktarının artması durumunda ise, ölçülen TBM'nin yüksek olacağı da belirlenmiştir. Literatürde betalain ekstraksiyonu için sadece su kullanımı yerine etanolün farklı konsantrasyonlarının kullanılması ile ekstrakte edilen TBM'nin önemli ölçüde arttırılabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca betalainlerin yapısındaki zayıf elektrostatik etkileşimlerden ötürü, farklı konsantrasyonlardaki etanol içeren çözeltilerin saf polar bir çözücü olan sudan daha verimli bir ekstraksiyon sağladığı da belirtilmiştir (Eyshi ve ark., 2024b). Kırmızı kaktüs meyvesinden konvansiyonel yöntemle betalain ekstraksiyonu yapılan bir çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak tez çalışmasına benzer %80'lik etanol kullanılmış ve elde edilen ekstrakttaki betalainler sprey kurutma yöntemi ile enkapsüle edilmiştir (Morales ve ark., 2021).  $X_2X_4$  ikili etkileşiminin görüldüğü yanıt yüzey grafiği incelendiğinde ise, her iki değişkenin de merkez nokta değerlerinde TBM'nin azalacağı görülmektedir (Şekil 4.5e)



**Şekil 4.5.** KE’de bağımsız değişkenlerin TBM (Y<sub>4</sub>) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

### 4.2.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyondan (UDE) Elde Edilen Yanıtlar

Ultrason destekli yöntemle kaktüs meyvesinden betalaince zengin biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu da gerçekleştirilmiştir. Seçilen 4 bağımsız değişken  $X_1$ : Süre (dk),  $X_2$ : Sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyon çözeltilisindeki etanol yüzdesi (%),  $X_4$ : Örnek:çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü)) olup, gerçekleştirilen 29 deney sonucunda incelenen yanıtlar konvansiyonel yöntem ile aynıdır. Deneyler sonucunda elde edilen yanıtlar Ek-Çizelge B2’de görülmektedir.

Ek-Çizelge B2’ deki TFM değerleri incelendiğinde bu yanıt için değerlerin 3.59 ile 6.14 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değiştiği görülmektedir. En düşük ve en yüksek değerlerin deney koşulları (sırasıyla, deney no. 21 ve 28) incelendiğinde  $X_1$  ve  $X_3$  değişkenlerinin aynı olduğu fakat diğer değişkenlerin farklılık gösterdiği görülmektedir. Kaktüs meyvesindeki fenolik bileşiklerin diğer başka dış faktörlerden etkilenmekle birlikte yüksek sıcaklıklara karşı hassasiyet gösterdiğinden sıcaklık değerinin  $40^{\circ}\text{C}$ ’ye çıkması ve örnek: çözücü hacmi oranı değişkenlerinin artması durumunda TFM değerlerinin azaldığı 29 deney sonucu elde edilen yanıtlardan görülmektedir (İftikhar ve ark., 2023). Ultrason destekli ekstraksiyonda oluşan akustik kaviteasyon sayesinde hücre çeperinin bütünlüğünü bozan mikrojetlerin oluşması ile ultrason destekli ekstraksiyonun konvansiyonel yöntemle kıyasla fenolik bileşik ekstraksiyonunu arttırdığı da literatürde doğrulanmıştır (Brahmi ve ark., 2022).

Ek-Çizelge B2 incelendiğinde ikinci yanıt olan  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  değerlerinin 5.66 ile 17.05 mmol TE/ kg kuru ağırlık arasında değiştiği belirlenmiştir. UDE’de bu yanıt için elde edilen sonuçların genel olarak konvansiyonel yöntemde elde edilen yanıtlara göre yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum literatürde konvansiyonel yöntemde uzun süren ekstraksiyon koşullarında antioksidan özellikteki maddelerin fenolik maddelere benzer olarak olumsuz etkilenmesi olarak açıklanmaktadır (da Rosa ve ark., 2019). Literatürde ultrason destekli ekstraksiyonda az miktarda çözücü kullanımı ile kısa sürede daha verimli ekstraksiyon gerçekleştirilmesi bu metodun prensibinden açıklanmaktadır. Ekstraksiyon ortamına ultrason enerjisinin uygulanması ile çözücüde hızlı basınç dalgalanmaları meydana gelmektedir. Bu döngüler çözücü içerisinde mikroskobik kaviteasyon baloncukları oluşmasına ve zamanla bu baloncukların büyümesine neden olmaktadır. Büyüyen baloncuklar belirli bir boyuta gelince aniden çökmekte ve biyoaktif bileşik içeren materyalin hücre duvarının parçalanıp bu bileşiklerin dışarı çıkarak çözücüye geçmesine imkân vermektedir. Kütle transferi bu şekilde hızlı

gerçekleştirdiğinden istenen biyoaktif bileşikler kısa sürede ve az miktarda çözücü kullanımı ile çözücüye geçebilmektedir (Das ve ark., 2022).

En yüksek  $TAK_{DPPH}$  değerlerinin deney koşulları incelendiğinde en yüksek TFM değerinin elde edildiği deney koşulu ile aynı olduğu görülmektedir. Tez çalışmasında UDE’de kullanılan örnek: çözücü hacmi oranı değişkeninin seviyeleri ile aynı seviyelerde (1:10, 1:20 ve 1:30) UDE gerçekleştirilen bir çalışmada ölçülen  $TAK_{DPPH}$  değerleri incelendiğinde, örnek: çözücü hacmi oranının artması durumunda  $TAK_{DPPH}$  değerlerinin tez çalışmasındaki gibi düştüğü rapor edilmiştir (Buanasari ve ark., 2021).

CUPRAC yöntemi ile ölçülen TAK değerleri incelendiğinde,  $Y_3$  yanıtının 22.29 ile 38.27 mmol TE/ kg kuru ağırlık arasında değiştiği Ek-Çizelge B2’de görülmektedir. Konvansiyonel yöntemle yapılan deneyler ile karşılaştırıldığında  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinin UDE’de daha fazla olduğu tespit edilmiştir. En düşük ve en yüksek  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinin tespit edildiği deney koşulları incelendiğinde ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) dışındaki bağımsız değişkenlerin hepsinin bu yanıt üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının ( $X_2$ ) azalması ve ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) ile örnek: çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkenlerinin artması durumunda  $TAK_{CUPRAC}$  değerinin azaldığı görülmektedir. Literatürde bir çalışmada betalaince zengin antioksidan özellikteki bileşiklerin ekstraksiyonu için çözücü olarak etanol kullanılması ile daha fazla antioksidan bileşiğin elde edilebileceği rapor edilmiştir. Ayrıca kullanılan etanol yüzdesinin değişmesi ile de ekstraksiyon veriminin büyük ölçüde etkilendiği de ifade edilmiştir (Chakraborty ve ark., 2024).

Ek-Çizelge B2’de belirtilen son yanıt olan TBM değerleri incelendiğinde ise, elde edilen en yüksek TBM değerinin 473.90 mg betalain/ kg kuru ağırlık olduğu görülmektedir. En düşük ve en yüksek TBM değerlerinin bulunduğu deney koşulları incelendiğinde (sırasıyla deney no 21 ve 19) ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi değişkeni dışındaki değişkenlerin aynı olduğu tespit edilmiştir. Literatürde, kaktüs meyvesi çiçeğinden biyoaktif bileşiklerin UDE ile ekstrakte edildiği bir çalışmada, tez çalışmasında ultrason destekli ekstraksiyonda belirlenen maksimum TBM değerinin elde edildiği deney koşullarına büyük ölçüde benzer koşullar bulunduğu rapor edilmiştir (Brahmi ve ark., 2022). Ayrıca kaktüs meyvesinden UDE betalain ekstraksiyonu yapılan başka bir çalışmada, konvansiyonel yöntemle kıyasla düşük miktarda etanol kullanımı ile daha yüksek TBM eldesi sağlanabileceği de doğrulanmıştır (Gómez-López ve ark., 2021).

#### 4.2.4. Ultrason Destekli Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi

UDE yönteminde gerçekleştirilen farklı deney koşullarında uygulanan bağımsız değişkenlerin her bir bağımlı değişken üzerindeki etkilerini gösteren model denklemlerin belirlenmesi için konvansiyonel yöntem benzer olarak, Design Expert13 programı kullanılmış ve çoklu regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Her yanıt için program tarafından önerilen ikinci dereceden model denklemler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

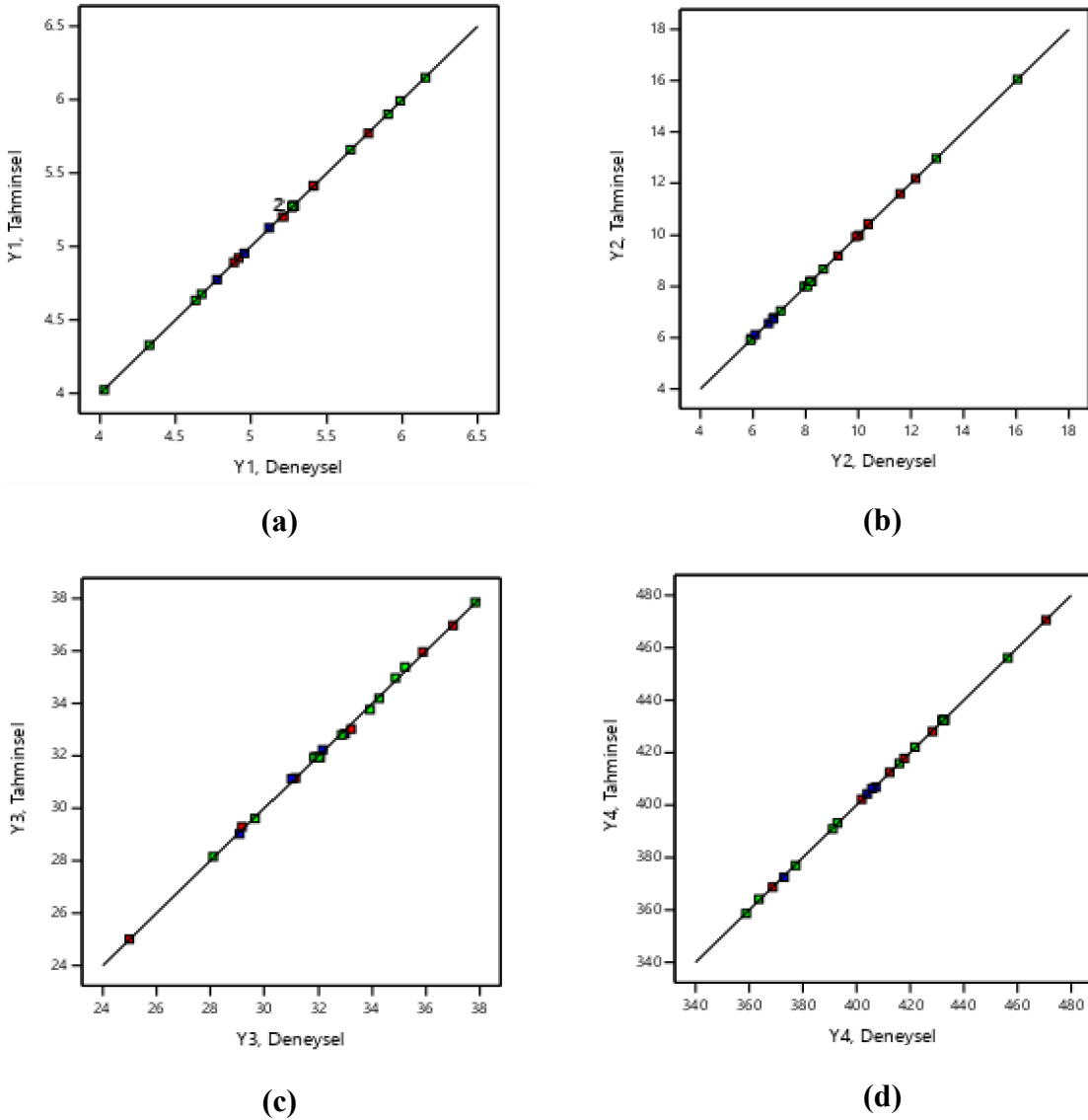
**Çizelge 4.3.** UDE' de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Yanıt	Model denklem	$R^2$
$Y_1$	$Y_1 = + 5.28 - 0.11X_1 + 0.09X_2 + 1.09X_3 + 0.15X_4 - 0.60X_1X_2 - 0.26X_1X_3 - 0.18X_1X_4 - 0.21X_2X_3 + 0.18X_2X_4 - 1.34X_3X_4 + 0.16(X_1)^2 - 0.18(X_2)^2 - 0.16(X_3)^2 - 0.09(X_4)^2$	0.9998
$Y_2$	$Y_2 = + 8.19 + 0.16X_1 - 0.16X_2 + 2.93X_3 + 1.77X_4 + 0.64X_1X_2 + 0.60X_1X_3 + 0.45X_1X_4 - 3.52X_2X_3 + 0.14X_2X_4 - 2.63X_3X_4 - 0.49(X_1)^2 - 0.33(X_2)^2 + 1.58(X_3)^2 + 0.34(X_4)^2$	0.9996
$Y_3$	$Y_3 = + 31.94 - 0.31X_1 + 1.12X_2 + 0.70X_3 + 1.25X_4 - 2.35X_1X_2 + 2.71X_1X_3 - 1.16X_1X_4 - 2.71X_2X_3 + 2.72X_2X_4 - 3.77X_3X_4 + 3.17(X_1)^2 + 1.81(X_2)^2 - 3.24(X_3)^2 - 1.87(X_4)^2$	0.9969
$Y_4$	$Y_4 = + 432.36 - 6.02X_1 - 2.07X_2 - 39.99X_3 + 8.83X_4 - 17.38X_1X_2 + 11.02X_1X_3 + 11.15X_1X_4 - 14.07X_2X_3 - 3.08X_2X_4 - 10.95X_3X_4 - 22.76(X_1)^2 - 7.13(X_2)^2 - 10.46(X_3)^2 - 11.10(X_4)^2$	0.9997

Çizelge 4.3'te verilen ikinci dereceden model denklemler incelendiğinde bağımsız değişkenlerin lineer, ikili ve karesel etkileşimlerinin her bir yanıt için önemli bulunduğu görülmektedir. Literatürde UDE kullanılarak betalain ekstraksiyonu gerçekleştirilen benzer çalışmalarda tez çalışmasında belirlenen bağımsız değişkenlerin hepsinin, elde edilen TFM, TAK ve TBM değişkenleri üzerinde etkili olduğu ifade edilmiştir (Gómez-

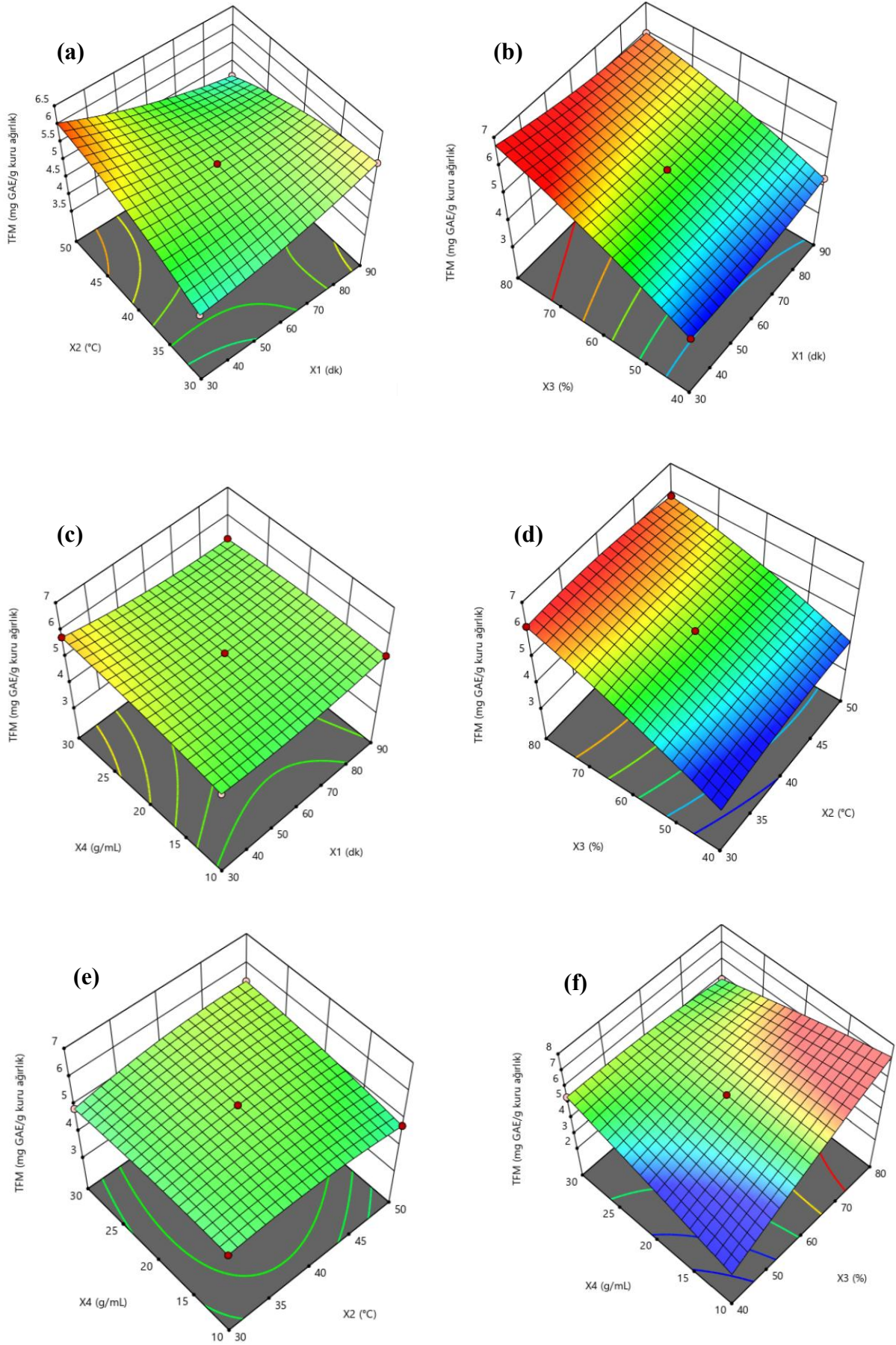
López ve ark., 2021; Vázquez-Espinosa ve ark., 2022). 4 yanıt için de gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları ise Ek-Çizelge C5-C8’de sunulmuştur. Program tarafından gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda yanıtların her biri için modelin önemli, uyum eksikliğinin ise önemsiz bulunduğu ifade edilmiştir. Ayrıca Çizelge 4.3’e göre yanıtlar için verilen  $R^2$  değerlerinin 0.75’ten yüksek bulunduğu da belirlenmiştir.

Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle gerçekleştirilen 29 deney sonucu elde edilen yanıtlar ile Çizelge 4.3’te verilen model denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini yanıtların karşılaştırıldığı grafikler ise Şekil 4.6’da gösterilmiştir. Her bir yanıt için de deneysel ve tahmini değerler yüksek  $R^2$  değerleri ile doğrulanmıştır.



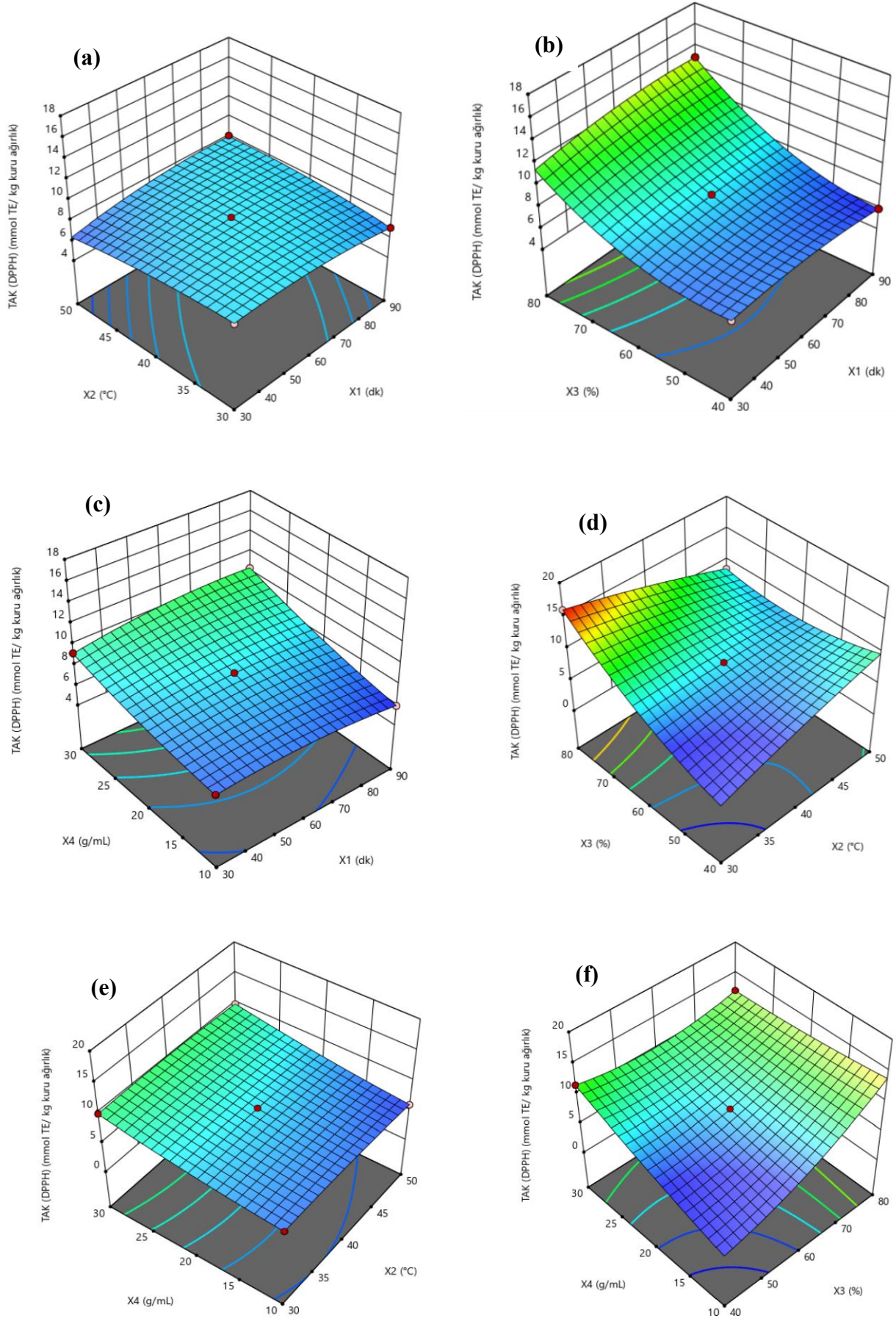
**Şekil 4.6.** UDE’de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) TFM, (b)  $TAK_{DPPH}$ , (c)  $TAK_{CUPRAC}$ , (d) TBM

UDE'deki her yanıt için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.7-Şekil 4.10'da sunulmuştur. İlk yanıt olan TFM için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde (Şekil 4.7), ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin ( $X_3$ ) diğer bağımsız değişkenler ile olan etkileşimlerinin ( $X_1X_3$ ,  $X_2X_3$ ,  $X_3X_4$ ) TFM üzerinde önemli değişikliklere neden olacağı görülmektedir. Ultrason destekli ekstraksiyonda, kullanılan etanol yüzdesinin artması durumunda TFM'nin önemli ölçüde artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.7b, 4.7d ve 4.7f). Ultrason destekli ekstraksiyonda uygulanan ultrason enerjisinin oluşturduğu akustik kavitasyon sayesinde konvansiyonel ekstraksiyona kıyasla daha az miktarda çözücü kullanılarak materyalden solvante daha fazla fenolik bileşik transferi sağlandığı rapor edilmiştir (Tarone ve ark., 2021). Ayrıca literatürde yapılan bir çalışmada betalain içeriği yüksek fenolik madde ekstraksiyonunda çözücü olarak etanolün farklı yüzdelere kullanılması durumunda, sadece su kullanılmasına göre daha fazla miktarda biyoaktif bileşik eldesi sağlandığı belirtilmiştir (Fernando ve ark., 2021). Şekil 4.7a'daki yanıt yüzey grafiği incelendiğinde, ekstraksiyon süresinin azalması ekstraksiyon sıcaklığının artması durumunda TFM'nin bir miktar artacağı da belirlenmiştir. TFM ( $Y_1$ ) yanıtı için Çizelge 4.3'teki katsayılar incelendiğinde  $X_1X_4$ ,  $X_2X_4$  etkileşimlerinin katsayılarının diğer ikili etkileşimlere göre daha düşük olması bu ikili etkilerin TFM üzerinde çok önemli değişikliklere neden olmayacağı şeklinde yorumlanmış ve Şekil 4.7c ve 4.7e'de de doğrulanmıştır.



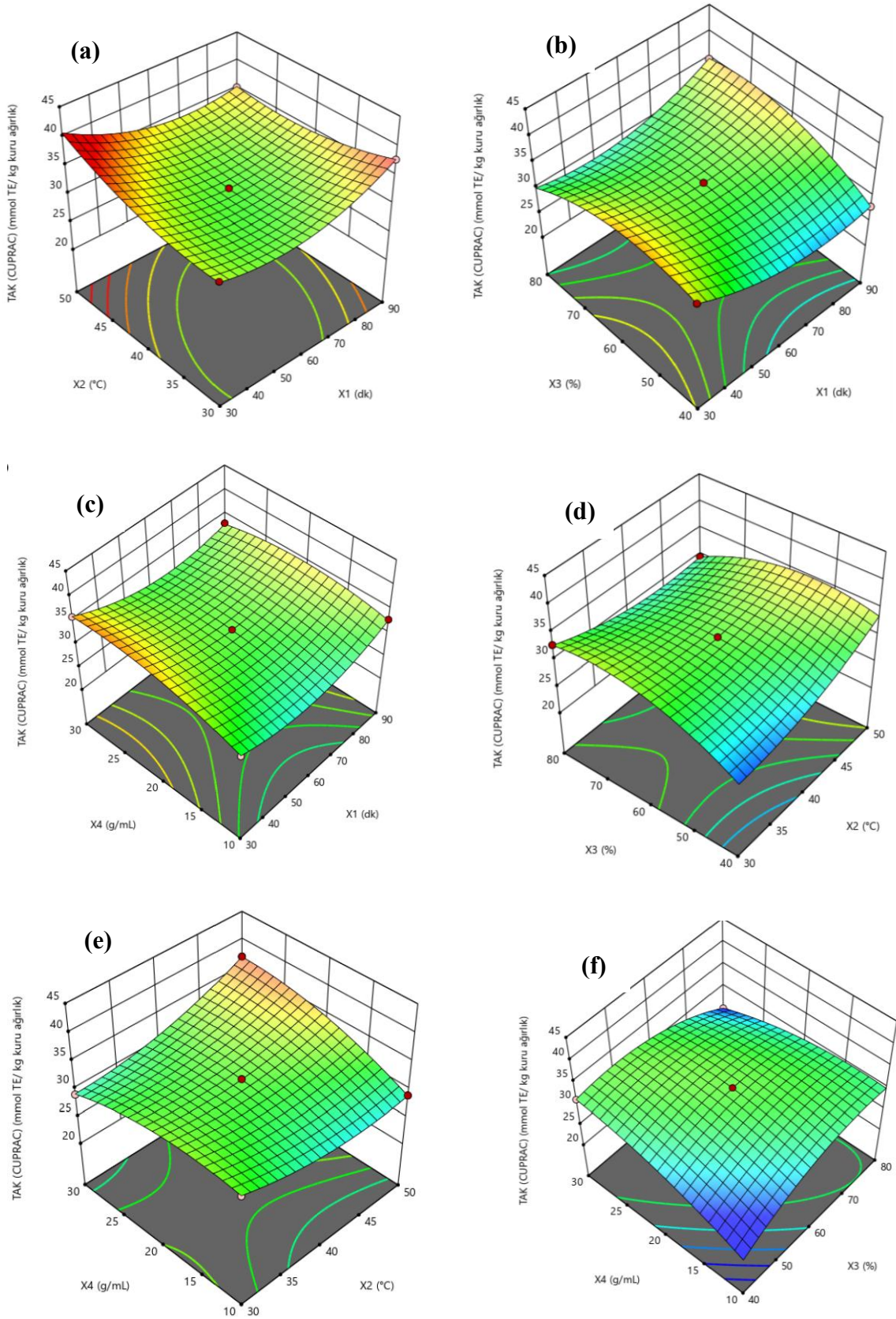
**Şekil 4.7.** UDE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

TAK<sub>DPPH</sub> yanıtı için verilen yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.8'de görülmektedir.  $X_1X_2$  ikili etkileşiminin bu yanıt üzerinde çok önemli bir değişikliğe neden olmayacağı Şekil 4.8a'dan anlaşılmaktadır. Ayrıca Çizelge 4.3'te TAK<sub>DPPH</sub> ( $Y_2$ ) için verilen ikinci dereceden model denklemlerin katsayıları incelendiğinde,  $X_1X_2$  ikili etkileşiminin katsayısının düşük olması bu durumu doğrulamaktadır. Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) değişkeninin diğer bağımsız değişkenler ile olan etkileşimleri incelendiğinde (Şekil 4.8b, 4.8d ve 4.8f) TFM ( $Y_1$ ) yanıtına aksi olarak TAK<sub>DPPH</sub> yanıtı için ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin ( $X_3$ ) artması durumunda  $Y_2$  yanıtının artacağı belirlenmiştir. Literatürde mango meyvesi atıklarından ultrason destekli ekstraksiyon ile biyoaktif bileşik eldesi yapılan bir çalışmada, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin artması durumunda tez çalışmasındakine benzer olarak TAK<sub>DPPH</sub> değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Castañeda-Valbuena ve ark., 2021).  $X_1X_4$  ile  $X_2X_4$  ikili etkileşimlerinin görüldüğü yanıt yüzey grafikleri (Şekil 4.8c ve 4.8e) göre ise, örnek/çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) artması durumunda TAK<sub>DPPH</sub> yanıtının da artacağı öngörülmektedir. Literatürde, ultrason destekli ekstraksiyon ile bir palmye türünün orta kabuk katmanından biyoaktif bileşik eldesi yapılan bir çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonda kullanılan örnek:çözücü oranının ( $X_4$ ) değişmesinin, örnekle DPPH radikalinin etkileşim kinetiği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiş ayrıca bu oranın artması durumunda DPPH radikali ile daha hızlı bir etkileşim sağlanacağı da belirlenmiştir (Lima ve ark., 2023)



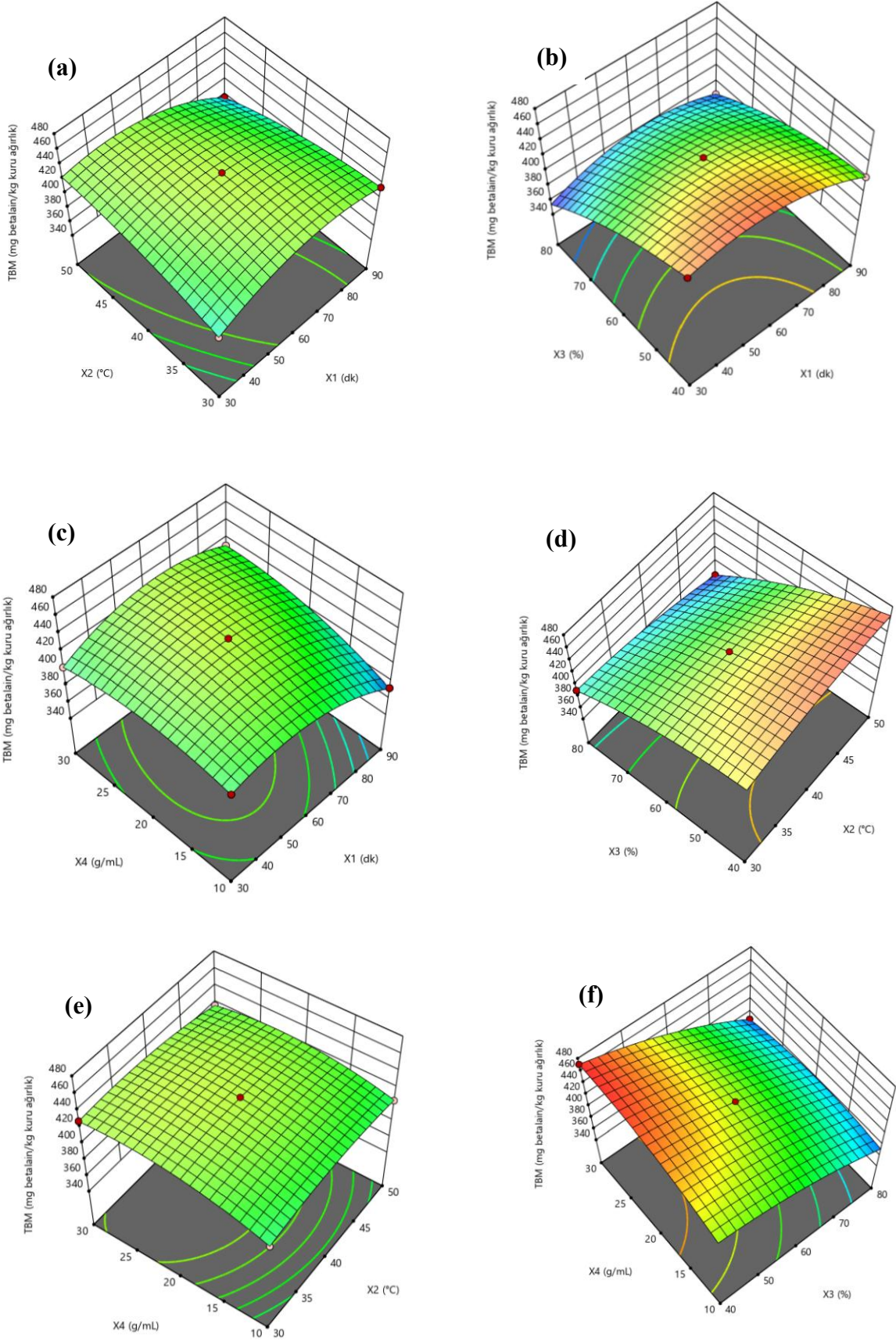
**Şekil 4.8.** UDE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

TAK<sub>CUPRAC</sub> (Y<sub>3</sub>) yanıtı için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.9'da sunulmuştur. Bağımsız değişkenlerin bu yanıt üzerindeki etkileri TAK<sub>DPPH</sub> yanıtı ile farklılık göstermektedir. Bu durumun iki antioksidan kapasite ölçme metodu arasındaki mekanizma farklılığından kaynaklandığı doğrulanmıştır (Munteanu ve Apetrei, 2021). TAK<sub>DPPH</sub> (Y<sub>3</sub>) yanıtının en fazla değişimine neden olan etkileşimlerin X<sub>1</sub>X<sub>2</sub> ile X<sub>3</sub>X<sub>4</sub> ikili etkileşimlerinin olduğu hem Şekil 4.9a ile Şekil 4.9f'de hem de Çizelge 4.3'teki ikinci dereceden model denklemin katsayılarından görülmektedir. Bu grafiklere göre, ekstraksiyon süresinin (X<sub>1</sub>) kısa, ekstraksiyon sıcaklığının (X<sub>2</sub>) yüksek olduğu deney koşullarında ve ayrıca ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin (X<sub>3</sub>) düşük (%20) ve örnek:çözücü hacmi oranının (X<sub>4</sub>) yüksek olması durumunda TAK<sub>CUPRAC</sub> değerlerinin artacağı öngörülmüştür. Bu durum literatürde kaktüs meyvesi çiçeğinden UDE ile biyoaktif bileşik eldesi yapılan tez çalışmasına benzer bir çalışmada doğrulanmıştır. Sözü edilen çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonda ses dalgalarıyla oluşan akustik kavitasyon sayesinde kısa sürede ve az solvent kullanımı ile konvansiyonel yöntemle göre daha verimli biyoaktif bileşik ekstraksiyonu yapıldığı rapor edilmiştir (Espinosa-Muñoz ve ark., 2017). X<sub>2</sub> değişkeninin X<sub>3</sub> ve X<sub>4</sub> değişkenleri ile etkileşimlerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerinde ise (Şekil 4.9d ve 4.9e) yüksek ekstraksiyon sıcaklığında X<sub>3</sub> değişkeninin artması ve X<sub>4</sub> değişkenlerinin azalması durumunda Y<sub>3</sub> yanıtının belirli bir oranda artacağı belirlenmiştir. Bununla birlikte TAK<sub>DPPH</sub> yanıtına benzer olarak, ekstraksiyon süresinin kısaltması durumunda düşük etanol yüzdesinde (X<sub>3</sub>) ve yüksek örnek:çözücü hacmi oranında (X<sub>4</sub>) TAK<sub>CUPRAC</sub> yanıtının da artacağı Şekil 4.9b ve 4.9 c'de görülmektedir.



**Şekil 4.9.** UDE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Tez çalışmasında, UDE’de ölçülen son yanıt olan TBM için ikili etkilerin sunulduğu yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.10’da görülmektedir. Ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) değişkeninin, ekstraksiyon sıcaklığı ( $X_2$ ) ve örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) değişkenleri ile etkileşimlerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerinde merkez nokta değerlerinde TBM yanıtının bir miktar artacağı belirlenmiştir (Şekil 4.10a ve 4.10c). Çizelge 4.3’te verilen model eşitliklerde  $Y_4$  yanıtı için verilen ikili etkilerin katsayıları incelendiğinde  $X_2X_4$  ikili etkileşiminin TBM üzerinde en az etkiye sahip etkileşim olduğu Şekil 4.10e’den de doğrulanmıştır. TFM ve TAK yanıtlarına benzer olarak düşük etanol yüzdesi değerlerinde, ekstraksiyon sıcaklığı ( $X_2$ ) ve örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) belirli bir oranda artması ve ekstraksiyon süresinin azalması ( $X_1$ ) durumlarında ultrason destekli betalain ekstraksiyonunun daha verimli gerçekleşeceği Şekil 4.10b, 4.10d ve 4.10f’den anlaşılmaktadır. Literatürde kırmızı pancar atığından ultrason destekli betalain ekstraksiyonu gerçekleştirilen bir çalışmada ekstraksiyonda kullanılan etanol oranının %30-50 aralığında olmasının elde edilen betalain miktarını maksimum seviyeye taşıyacağı rapor edilmiştir (Fernando ve ark., 2021). Ekstraksiyon metoduna göre değişmekle birlikte ekstraksiyon çözücüsü olarak etanolün belirli bir konsantrasyona kadar (%50) kullanılması betalainlerin ekstraksiyonunu arttırırken, belirli konsantrasyondan sonra betalainlerin kromofor yapısının bozduğundan betalain degradasyonuna neden olduğu ifade edilmektedir (Fernando ve ark., 2021). Kırmızı ejder meyvesinden ultrason destekli betalain ekstraksiyonu yapılan farklı bir çalışmada ise, ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş ve tez çalışmasına benzer olarak ekstraksiyonda kullanılan etanol konsantrasyonun düşük, ekstraksiyon süresinin ( $X_1$ ) kısa ve örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) yüksek olduğu deney koşullarında ölçülen TBM’nin arttığı ifade edilmiştir (Vieira ve ark., 2024).



**Şekil 4.10.** UDE’de bağımsız değişkenlerin TBM (Y<sub>4</sub>) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

#### 4.2.5. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyondan (VMDE) Elde Edilen Yanıtlar

Tez çalışmasının bu aşamasında kaktüs meyvesinden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için VMDE yöntemi denenmiştir. Bu yöntem için deney parametrelerinin optimizasyonu Design Expert 13 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak 3 seviyeli 4 bağımsız değişkenin (vakum değeri (mmHg), ekstraksiyon süresi (dk), etanol yüzdesi (% etanol), örnek: çözücü hacmi (g katı örnek/ mL çözücü)), bağımlı değişkenler üzerindeki etkileri ölçülmüştür. Seçilen bağımlı değişkenler konvansiyonel ve ultrason destekli yöntem ile aynı olup toplamda yapılan 29 deney sonucunda elde edilen yanıtlar Ek-Çizelge B3'te sunulmuştur.

Ek-Çizelge B3'te belirtilen ilk yanıt olan TFM için değerlerin 4.15 ile 8.32 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında değiştiği görülmektedir. KE ve UDE ile karşılaştırıldığında, elde edilen TFM değerlerinin vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Literatürde, mikrodalga destekli ekstraksiyonda oluşan elektromanyetik alan sayesinde çözücü içeriğindeki polar bileşiklerde bir basıncın oluştuğu ve bu sayede hücre içindeki basıncın da artarak hücre duvarının parçalandığı ve çözücüye olan biyoaktif bileşik geçirgenliğinin arttığı ifade edilmiştir. Böylece kısa sürede etkili bir fenolik bileşik ekstraksiyonu sağlandığı rapor edilmiştir (Khadhraoui ve ark., 2021). En düşük ve en yüksek TFM değerlerinin elde edildiği deney koşulları incelendiğinde (sırasıyla, deney no. 10 ve 16),  $X_1$  ve  $X_3$  bağımsız değişkenlerinin TFM yanıtı üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Buna göre vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon ile yüksek vakumda ve daha az çözücü kullanımı ile daha yüksek TFM eldesi sağlanabileceği yapılan 29 deney sonucunda doğrulanmıştır.

Deeneyler sonucunda bulunan  $TAK_{DPPH}$  yanıtları incelendiğinde (Ek-Çizelge B3), bu yanıt için en düşük ve en yüksek değerlerin sırasıyla 5.52 ve 12.48 mmol TE/ kg kuru ağırlık olduğu görülmektedir. TFM yanıtına benzer olarak vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon ile diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre düşük miktarda çözücü kullanımı ile daha fazla antioksidan özellik gösteren bileşik eldesi sağlanabileceği yapılan 29 deney ile doğrulanmıştır. En düşük ve en yüksek değerlerin elde edildiği deney koşullarında,  $X_1$  dışındaki tüm değişkenlerin  $Y_2$  yanıtı üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Buna göre, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin ve örnek: çözücü hacminin oranının azalması ve ekstraksiyon süresinin merkez nokta değerinde olması durumunda  $TAK_{DPPH}$  değerinin maksimum seviyeye çıktığı belirlenmiştir. Amaranth çiçeği ile mikrodalga destekli ekstraksiyon gerçekleştirilen bir çalışmada, mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve

sıcaklığı yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiş ve tez çalışmasına benzer olarak antioksidan kapasite analizi DPPH yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre, seçilen bağımsız değişkenlerin her birinin renk pigmenti betalainlerin ve fonksiyonel özellikteki antioksidan bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda önemli parametreler olduğu belirtilmiştir (Sharma ve ark., 2021). Literatürde kırmızı pancardan betalain ve biyoaktif bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, konvansiyonel ekstraksiyon öncesinde mikrodalga ön işleme uygulandığında kısa sürede ekstraksiyon verimini arttığı doğrulanmıştır. Sözü geçen çalışmada, ekstraksiyon öncesinde mikrodalga ön işleme uygulanan örneklerde DPPH yöntemi ile ölçülen antioksidan kapasite değerlerinin uygulanmayan örneklere göre neredeyse iki kat arttığı da rapor edilmiştir (Zin ve ark., 2022).

Üçüncü yanıt olan  $TAK_{CUPRAC}$  sonuçları incelendiğinde ise, diğer iki ekstraksiyon yöntemine benzer olarak CUPRAC yöntemi ile ölçülen antioksidan kapasite değerlerinin  $TAK_{DPPH}$  değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir (Ek-Çizelge B3).  $Y_3$  yanıtı için elde edilen verilere göre,  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinin 18.82 ile 56.96 mmol TE/ kg kuru ağırlık aralığında değiştiği belirlenmiştir. En düşük ve en yüksek değerlerin tespit edildiği deney koşullarında uygulanan vakum değerleri ve ekstraksiyon süresi değişkenleri aynı olup, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) ve örnek: çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkenleri farklıdır.  $TAK_{CUPRAC}$  yanıtı için,  $X_3$  değişkeninin artıp  $X_4$  değişkeninin azalması ile  $Y_3$  yanıtı maksimum olarak ölçülmüştür. Vakum mikrodalga destekli yöntem ile Amaranth çiçeğinden betalain ekstraksiyonu gerçekleştirilen güncel bir çalışmada, tez çalışmasına benzer mikrodalga parametreleri ön denemeler yapılarak optimize edilmiş ve TPC, TAK ve TBM değerleri ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre, çalışmada elde edilen maksimum  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinde belirlenen bağımsız değişkenlerin değerleri ile tez çalışmasında maksimum  $Y_3$  yanıtı için bulunan değişkenlerin benzer olduğu rapor edilmiştir (Akdeniz ve Yolaçaner, 2024).

Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonun son yanıt olan TBM değerlerinin 371.40 ile 579.81 mg betalain/ kg kuru ağırlık arasında değiştiği Ek-Çizelge B3'ten görülmektedir. Diğer iki ekstraksiyon yöntemi ile kıyaslandığında vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda TBM yanıtlarının önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. En düşük ve en yüksek TBM yanıtlarının ölçüldüğü deney koşulları incelendiğinde (sırasıyla, Deney no. 7 ve 25), aynı vakum ve ekstraksiyon süresi değerlerinde ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin ( $X_3$ ) ve katı örnek:çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkenlerinin azalması ile ölçülen TBM'nin maksimum olduğu doğrulanmıştır (Ek-Çizelge B3). Literatürde,

mikrodalga destekli doğal renk pigmenti ekstraksiyonunda kullanılan çözücünün dielektrik sabitinin yüksek olması durumunda, elektromanyetik mikrodalga enerjisinin absorbe edilmesinin arttığı rapor edilmiştir. Bu nedenle kullanılan etanol miktarının betalain ekstraksiyonun verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu da ifade edilmiştir (Nonglait ve Gokhale, 2024).

#### **4.2.6. Vakum Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonda Yanıtların Modellenmesi**

VMDE yöntemiyle gerçekleştirilen deneylerde bağımsız değişkenlerin her bir bağımlı değişken üzerindeki etkilerini gösteren model denklemlerin belirlenmesi için, Design Expert13 programı kullanılmış ve çoklu regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Her yanıt için program tarafından önerilen ikinci dereceden model denklemler ise Çizelge 4.4'te verilmiştir.

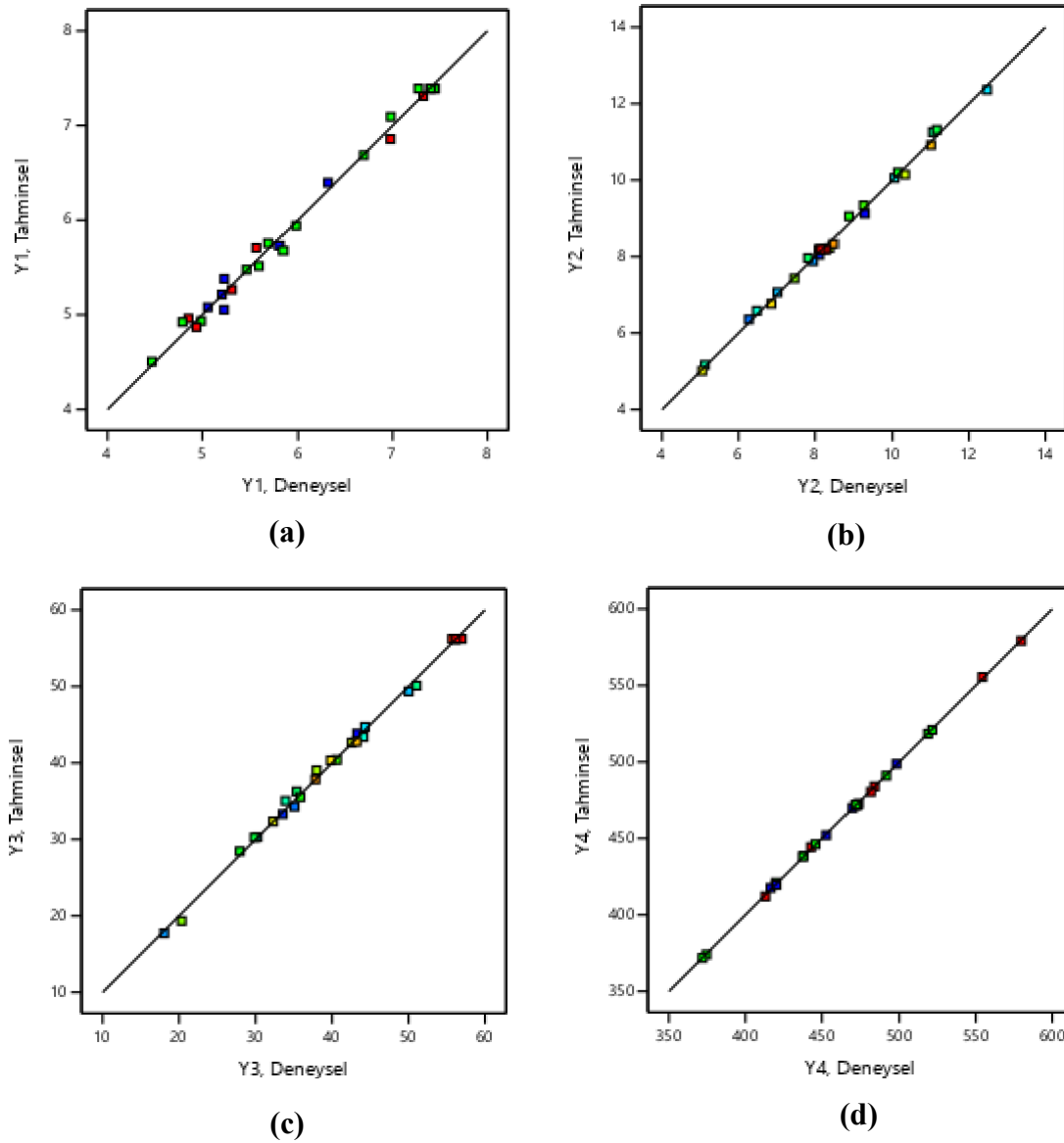
**Çizelge 4.4.** VMDE’de tüm yanıtlar için elde edilen 2. dereceden model denklemler ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : Örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü);  $Y_1$ : TFM (mg GAE/g kuru ağırlık),  $Y_2$ :  $TAK_{DPPH}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_3$ :  $TAK_{CUPRAC}$  (mmol TE/ kg kuru ağırlık),  $Y_4$ : TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Yanıt	Model denklem	$R^2$
$Y_1$	$Y_1 = + 7.39 - 0.56X_1 + 0.15X_2 - 0.94X_3 + 0.18X_4 - 0.42X_1X_2 + 1.07X_1X_3 - 0.39X_1X_4 + 0.35X_2X_3 - 0.28X_3X_4 - 0.60(X_1)^2 - 1.02(X_2)^2 - 0.42(X_3)^2 - 1.06(X_4)^2$	0.9816
$Y_2$	$Y_2 = + 8.19 - 1.18X_1 - 0.21X_2 - 0.78X_3 + 1.87X_4 - 0.64X_1X_2 + 2.14X_1X_3 - 0.47X_1X_4 + 0.35X_2X_3 - 1.09X_2X_4 - 0.37X_3X_4 + 1.69(X_3)^2 - 0.54(X_4)^2$	0.9916
$Y_3$	$Y_3 = + 56.23 - 5.55X_1 + 0.77X_2 + 4.31X_3 + 1.98X_4 + 7.35X_1X_3 - 1.37X_1X_4 + 1.67X_2X_3 - 3.23X_2X_4 - 11.51X_3X_4 - 7.00(X_1)^2 - 9.88(X_2)^2 - 12.68(X_3)^2 - 8.02(X_4)^2$	0.9934
$Y_4$	$Y_4 = + 472.00 - 21.52X_1 - 13.46X_2 - 22.66X_3 + 18.74X_4 + 4.72X_1X_2 + 96.09X_1X_3 - 62.07X_1X_4 + 26.71X_2X_3 + 11.71X_2X_4 - 32.98X_3X_4 - 3.60(X_1)^2 - 17.06(X_2)^2 + 8.52(X_4)^2$	0.9995

Belirlenen 4 yanıt için gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları ise Ek-Çizelge C9-C12’de görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonucunda diğer iki ekstraksiyon yöntemine benzer olarak her bir yanıt için modelin önemli ( $p < 0.05$ ), uyum eksiliğinin önemsiz ( $p > 0.05$ ) bulunması ve modele ait  $R^2$  değerinin 0.75’ten büyük olması önemsenmiştir.  $Y_1$  yanıtı için türetilen model denkleme göre, bağımsız değişkenlerin lineer ve karesel etkileşimlerinin TFM üzerinde önemli bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). Ayrıca ikili etkileşimlerden  $X_2X_4$  etkileşimi dışındaki ikili etkilerin bu yanıt üzerinde önemli olduğu bulunmuştur.  $Y_2$  yanıtının model denklemi incelendiğinde, değişkenlerin lineer ile ikili etkilerinin hepsinin bu yanıt üzerinde önemli olduğu, fakat karesel etkilerden  $X_1$  ve  $X_2$  değişkenlerinin  $TAK_{DPPH}$  üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir.  $TAK_{CUPRAC}$  yanıtı için program tarafından türetilen model denkleme göre (Çizelge 4.4), bağımsız değişkenlerin lineer ve karesel etkileşimlerinin her biri bu yanıt için önemli iken, ikili etkileşimlerden yalnızca  $X_1X_2$  etkileşimlerinin  $TAK_{CUPRAC}$

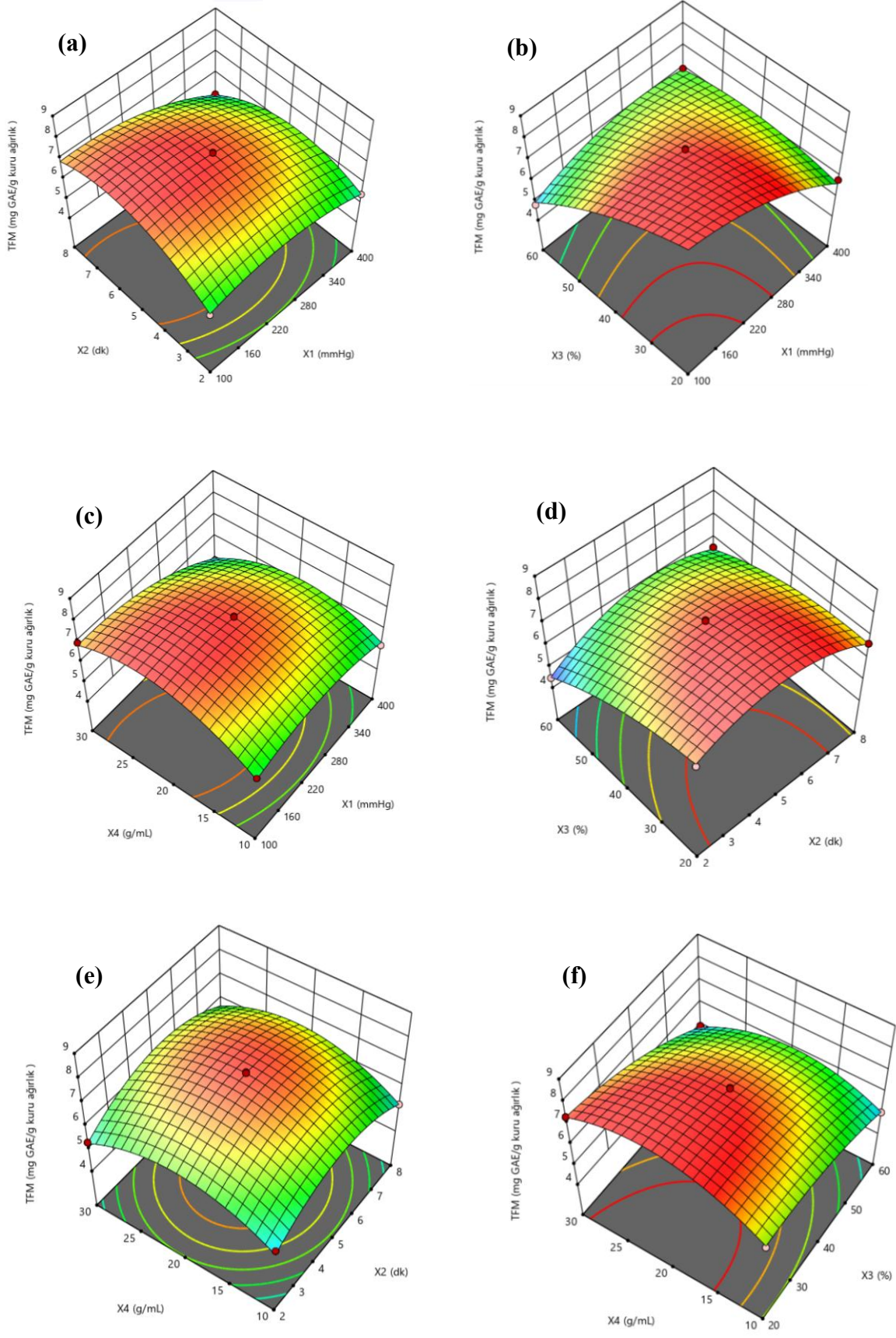
üzerinde önemsiz olduğu belirlenmiştir. Bu yanıtı en çok etkileyen ikili etkinin ise,  $X_3$ - $X_4$  etkileşimi olduğu da tespit edilmiştir. TBM yanıtı ( $Y_4$ ) için türetilen ikinci dereceden model denkleme göre, bağımsız değişkenlerin tüm lineer ve ikili etkileri bu yanıt için önemli bulunmuş olup, karesel etkilerden yalnızca ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin bu yanıt için önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda gerçekleştirilen 29 deney sonucunda elde edilen yanıtlar ile Çizelge 4.4'te verilen model denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini yanıtların karşılaştırıldığı grafikler ise Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Her bir yanıt için de deneysel ve tahmini değerlerin birbirine oldukça yakın olduğu yüksek  $R^2$  değerlerinden doğrulanmıştır.



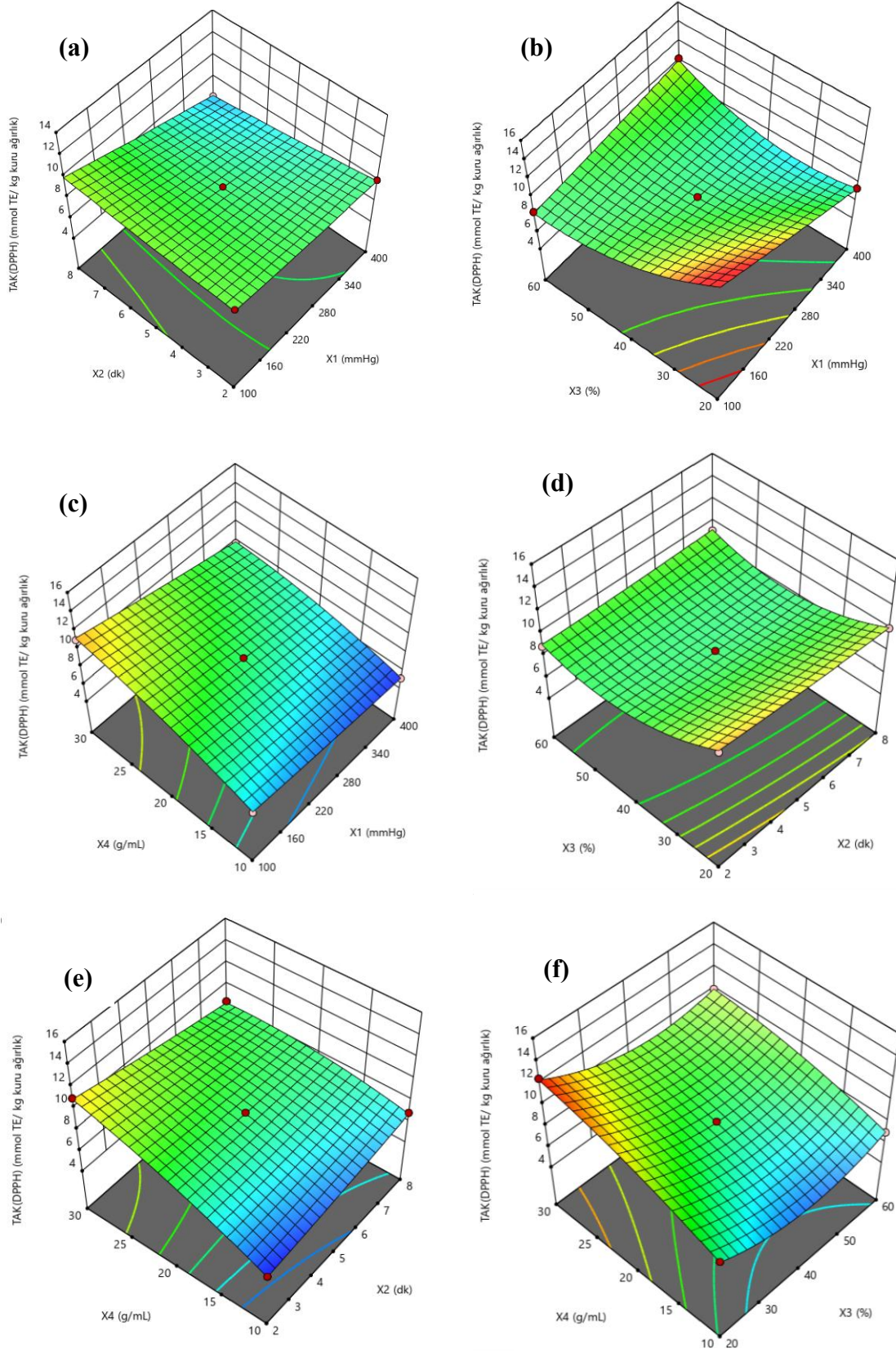
**Şekil 4.11.** VMDE'de belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtların karşılaştırılması, (a) TFM, (b) TAK<sub>DPPH</sub>, (c) TAK<sub>CUPRAC</sub>, (d) TBM

Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda her yanıt için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.12-4.15'te görülmektedir. VMDE'nin ilk yanıtı olan TFM'ye ( $Y_1$ ) ait yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde, yüksek vakum değerlerinde, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) değişkeninin azaldığı (%20) ve ekstraksiyon süresi ( $X_2$ ) ile örnek:çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkenlerinin merkez nokta değerlerinde olduğu durumlarda TFM'nin önemli ölçüde artacağı görülmektedir (Şekil 4.12a, 4.12b ve 4.12c). Vakum değerinin yüksek olması ekstraksiyon esnasında çözücünün kaynama noktasını düşürerek ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesine engel olduğundan, sıcaklığa duyarlı fenolik bileşiklerin yüksek vakum değerlerinde daha yüksek değerlere ulaşacağı literatürde doğrulanmıştır (Mella ve ark., 2022; Wang ve ark., 2024b). Avokado atıklarının vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon ile değerlendirildiği farklı bir çalışmada, mikrodalga destekli ekstraksiyonda vakum uygulanmasının fenolik ve antioksidan özellikteki maddelerin termal degradasyon ve oksidasyona uğramalarını engellediği de rapor edilmiştir (Skenderidis ve ark., 2021). Şekil 4.12d ve 4.12f'de ekstraksiyon süresi ( $X_2$ ) değişkeninin ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) ve örnek:çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkenleri ile ikili etkilerinin görüldüğü grafiklerde etanol miktarındaki düşüş ile TFM'nin yüksek değerlere ulaşacağı öngörülmektedir. Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon sayesinde geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre düşük sıcaklıkta daha az miktarda çözücü kullanımı ile TFM'nin artabileceği rapor edilmiştir (Picot-Allain ve ark., 2021).  $X_2$  ile  $X_4$  değişkenlerinin ikili etkilerinin sunulduğu Şekil 4.12e'de ise  $X_2$  değişkeninin merkez nokta değerinde TFM'nin en yüksek seviyelerde olacağı öngörülmektedir. Çizelge 4.4'te TFM ( $Y_1$ ) yanıtı için program tarafından türetilen ikinci dereceden model denklem incelendiğinde  $X_2$  ile  $X_4$  değişkenlerinin karesel etkilerinin katsayılarının diğer bağımsız değişkenlerin karesel etkilerinin katsayılarından daha yüksek olması Şekil 4.12e'de görülen merkez noktada elde edilen en yüksek değeri doğrulamaktadır.



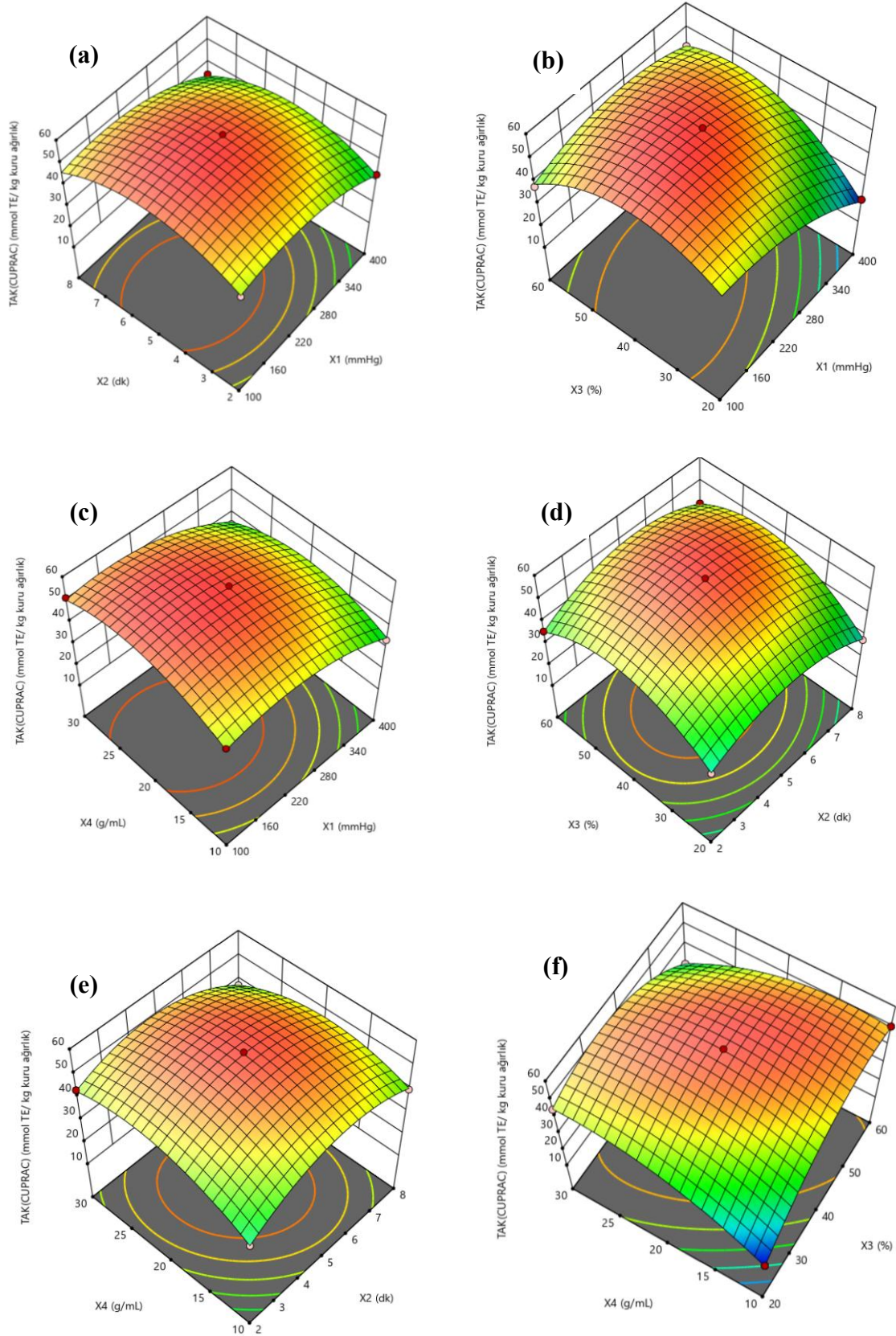
**Şekil 4.12.** VMDE’de bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

VMDE yönteminde ikinci yanıt olan  $TAK_{DPPH}$  için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.13'te sunulmuştur.  $X_1X_2$  değişkenlerinin ikili etkilerinin  $Y_2$  üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmayacağı, Şekil 4.13a'dan hem de Çizelge 4.4'te bu ikili etkinin katsayısının düşük olmasından anlaşılmaktadır. TFM yanıtına benzer olarak yüksek vakum değerlerinde, ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) değişkeninin azalması ve örnek:çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) değişkeninin artması durumunda  $TAK_{DPPH}$  değerlerinin artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.13b ve 4.13c). Elma püresine uygulanan ısı işlem esnasında yüksek vakum teknolojisinin kullanıldığı bir çalışmada, vakum uygulanan örneklerde kaynama noktası düşürülerek son örnekte fenolik bileşiklerin ve antioksidan kapasitenin vakum uygulanmayan örneklere göre daha iyi korunduğu rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2021). Yüksek vakum değerlerinde ayrıca oksijen ile temas da kesildiğinden antioksidan bileşiklerde oksidasyon ve degradasyon olasılığının da azaldığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2024b).  $X_2X_3$  değişkenlerinin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiğinde ise (Şekil 4.13d), ekstraksiyonda kullanılan etanol miktarının düşük (%20) ve ekstraksiyon süresinin kısa olduğu (2 dk) durumda  $Y_2$  yanıtının bir miktar artacağı görülmektedir. Çizelge 4.4'ten  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) yanıtı için türetilen 2. dereceden model denklem incelendiğinde,  $X_1X_2$  ve  $X_2X_3$  ikili etkileşimlerinin katsayılarının birbirine yakın olması bu ikili etkileşimlerin  $Y_2$  yanıtını benzer seyirde değiştireceğini doğrulamaktadır. Örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ), ekstraksiyon süresi ( $X_2$ ) ve çözücüdeki etanol yüzdesi ( $X_3$ ) ile ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerinde örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) yüksek olduğu durumda benzer şekilde ekstraksiyon süresinin ( $X_2$ ) kısalması ve ekstraksiyonda kullanılan çözücü miktarının ( $X_3$ ) azalması ile  $TAK_{DPPH}$  değerlerinin artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.13e ve 4.13f). Nar kabuğundaki fenolik ve antioksidan bileşiklerin vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edildiği bir çalışmada tez çalışmasına benzer olarak ekstraksiyon parametreleri (ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, mikrodalga gücü ve örnek:çözücü hacmi oranı) yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiş ve antioksidan kapasite DPPH metodu ile ölçülmüştür. Elde edilen yanıt yüzey grafikleri tez çalışması ile karşılaştırıldığında ölçülen antioksidan kapasite değerleri için Şekil 4.13e'te verilen yanıt yüzey grafiğine benzer sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir (Skenderidis ve ark., 2020).



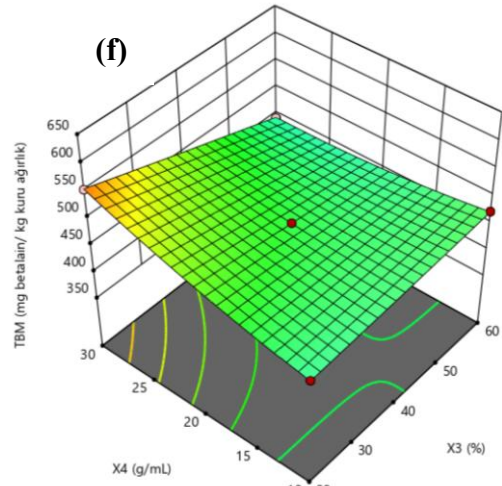
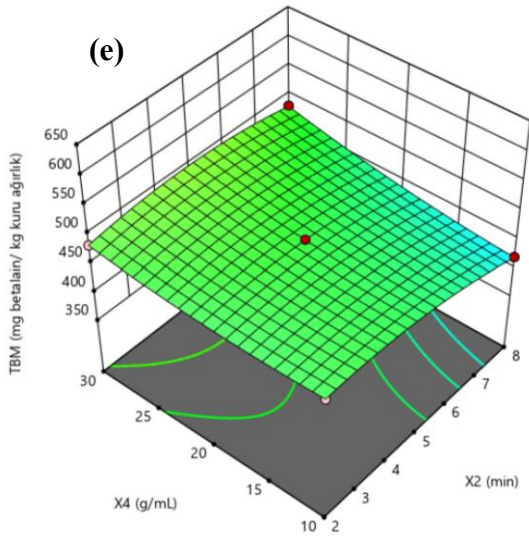
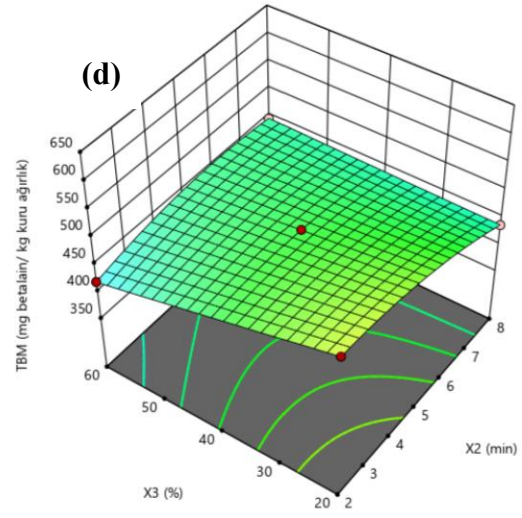
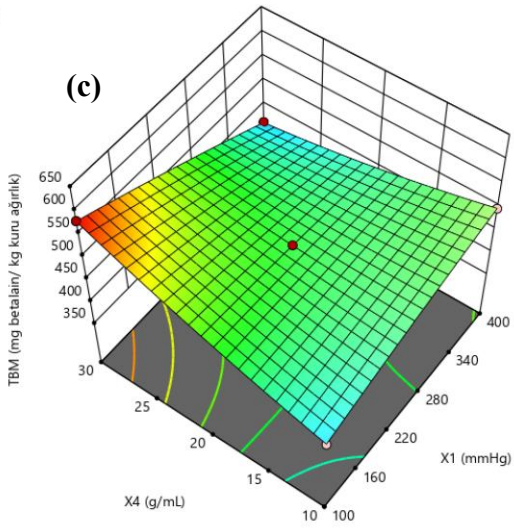
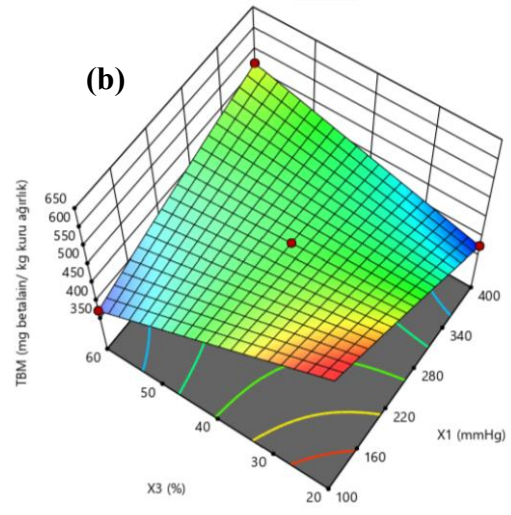
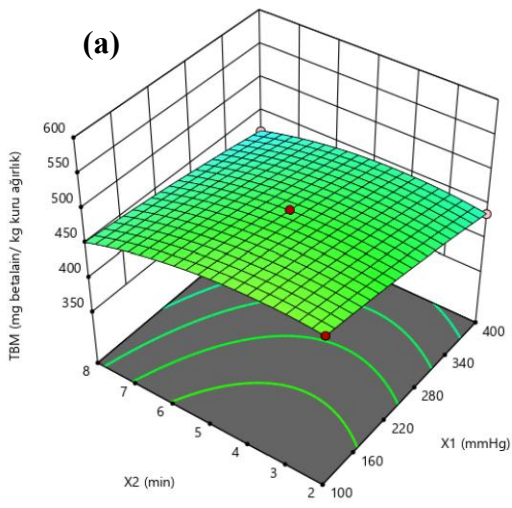
**Şekil 4.13.** VMDE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Üçüncü yanıt olan  $TAK_{CUPRAC}$  için program çıktısı tarafından verilen yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.14'te görülmektedir ve  $TAK_{DPPH}$  yanıtları için verilen yanıt yüzey grafiklerinden farklılık göstermesinin iki ölçüm metodu arasındaki mekanizma farklılığından kaynaklandığı belirtilmiştir (Munteanu ve Apetrei, 2021). Öte yandan, TFM ve  $TAK_{DPPH}$  yanıtlarına benzer olarak, yüksek vakum değerlerinde ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesinin ( $X_3$ ) ve ekstraksiyon süresinin ( $X_2$ ) merkez nokta değerlerinde olduğu deney koşullarında  $TAK_{CUPRAC}$  yanıtının artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.14a ve 4.14b).  $X_1X_4$  etkileşiminin verildiği yanıt yüzey grafiğine göre yüksek vakum değerlerinde örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) değişkeninin en düşük (1:30) ve en yüksek (1:10) olduğu durumlarda  $Y_3$  yanıtının da artacağı ifade edilmiştir (Şekil 4.14c). Ekstraksiyon süresinin ( $X_2$ ),  $X_3$  ve  $X_4$  ile ikili etkileşimlerinin sunulduğu yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde ise, bu değişkenlerin merkez nokta değerlerinde  $TAK_{CUPRAC}$  değerlerinin artacağı belirlenmiştir (Şekil 4.14d ve 4.14e).  $Y_3$  yanıtını en fazla etkileyen ikili etkinin  $X_3X_4$  ikili etkileşimi olduğu hem Şekil 4.14'den, hem de Çizelge 4.4'te bu etkileşimin katsayısının diğer ikili etkilere göre daha yüksek olmasından doğrulanmıştır. Literatürde vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon genellikle kolay okside olabilen antioksidan özellikteki bileşikler için kullanılmıştır. Tez çalışmasına benzer bir çalışmada, farklı gıda kaynaklarındaki C vitamini ve karoten bileşikleri vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiştir. Sözü edilen çalışmada örnek:çözücü oranı, ekstraksiyon süresi, uygulanan vakum miktarı ve mikrodalga gücü gibi parametrelerinin ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı rapor edilmiştir. Yüksek vakum altında mikrodalga destekli ekstraksiyon gerçekleştirilmesi ile hassas bileşiklerin oksidasyonu da azalarak verimli bir ekstraksiyon sağlandığı doğrulanmıştır (Xiao ve ark., 2012).



**Şekil 4.14.** VMDE’de bağımsız değişkenlerin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda son yanıt olan TBM için verilen yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.15'te sunulmuştur. Çizelge 4.4'te TBM ( $Y_4$ ) yanıtı için verilen ikinci dereceden model denklemin katsayıları incelendiğinde  $X_1X_2$ ,  $X_2X_3$  ve  $X_2X_4$  bağımsız değişkenlerinin ikili etkileşimlerinin diğer etkileşimlere göre katsayılarının daha düşük olması bu ikili etkilerin  $Y_4$  yanıtı üzerinde çok büyük değişikliklere neden olmayacağını ifade etmektedir (Şekil 4.15a, 4.15d ve 4.15e). Literatürde, belirli bir konsantrasyon üzerinde etanol kullanımının betalainlerin stabilitesini ve yapısını olumsuz yönde etkilediği rapor edilmiştir. Sözü geçen çalışmada, kırmızı pancardan betalain ekstraksiyonunda su, etanol ve metanol çözücülerinin farklı konsantrasyonları denenmiş ve %20 etanol içeren çözeltinin diğer çözücülere ve konsantrasyonlara oranla daha yüksek miktarda betalain eldesi sağladığı belirtilmiştir (Nhon ve Hang, 2020). Bu durum tez çalışmasının bu aşamasında yüksek vakumda az miktarda etanol kullanımı ile yüksek TBM değerlerinin elde edileceğini doğrulamaktadır (Şekil 4.15b).  $X_1X_4$  değişkenlerinin ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiğinde ise katı örnek:çözücü hacmi oranının artması durumunda yüksek vakumda TBM değerlerinin de artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.15c). Ayrıca, ekstraksiyon solventi olarak kullanılan etanol yüzdesinin ( $X_3$ ) en düşük (%20) olduğu durumda, örnek:çözücü hacmi oranının ( $X_4$ ) artması ile TBM'in bir miktar artacağı da Şekil 4.15f'de görülmektedir.



**Şekil 4.15.** VMDE’de bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

#### 4.2.7. KE, UDE ve VMDE Yöntemlerinde İşlem Koşullarının Optimizasyonu

Üç ekstraksiyon yönteminin her biri için 29 deney gerçekleştirilip, model denklemler ile yanıt yüzey grafikleri oluşturulduktan sonra her yöntem için deney koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon sırasında, yanıtlar için programda yer alan istenilen hedefe ulaşma fonksiyonu kullanılmış ve ekstraksiyon koşulları için program tarafından belirlenen optimum koşullar ve bunlara göre elde edilen öngörülen yanıt değerleri elde edilmiştir.

KE, UDE ve VMDE yöntemleri için program tarafından, sırasıyla toplamda 98, 85 ve 51 farklı çözüm oluşturmuştur. Bu çözümler arasından istenen hedefe ulaşma fonksiyonu değerleri 1'e en yakın olan ilk çözümler seçilmiş ve her yöntem için bu koşullardaki deneyler gerçekleştirilmiştir. Üç farklı ekstraksiyon yöntemi için seçilen deney koşulları ve istenen hedefe ulaşma fonksiyonu değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için belirlenen optimum deney koşulları

Bağımsız değişken	Konvansiyonel ekstraksiyon	Ultrason destekli ekstraksiyon	Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon
X <sub>1</sub>	2.05	30	108.822
X <sub>2</sub>	50	50	2.467
X <sub>3</sub>	80	40	20
1/X <sub>4</sub>	22.60	30	29.42
d*	0.841	0.943	0.936

KE için; X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (sa), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü); UDE için; X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (dakika), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü); VMDE için; X<sub>1</sub>: Vakum değeri (mmHg), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon süresi (dk), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/çözücü hacmi oranı (g katı örnek/mL çözücü); d\*: İstenen hedefe ulaşma fonksiyonu değeri

Çizelge 4.5 incelendiğinde, konvansiyonel yöntemden vakum mikrodalga destekli ekstraksiyona doğru optimum ekstraksiyon süresinin önemli ölçüde kısaldığı görülmektedir. Ayrıca vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonun optimum koşullarında diğer yöntemlere göre etanol kullanımının büyük oranda azaldığı belirlenmiştir.

Literatürde, vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda uygulanan vakum sayesinde ekstraksiyon sıcaklığı düşük sıcaklıklarda gerçekleştiği bu sayede fenolik ve antioksidan özellikteki bileşiklerin ekstraksiyonunun daha verimli gerçekleştiği ifade edilmiştir. Sözü edilen çalışmada, üzüm posasındaki biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanılmış ve tez çalışmasına benzer olarak yanıt yüzey yöntemi ile deney koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Vakum mikrodalga uygulaması ile ekstraksiyon süresinin önemli ölçüde kısaldığı rapor edilmiştir (Hameed ve ark., 2023). Her ekstraksiyon yöntemi için belirlenen optimum koşullarda gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen yanıtlar Çizelge 4.6'da, program çıktısı tarafından önerilen teorik yanıtlar ise Çizelge 4.7'de sunulmuştur. Deneysel olarak elde edilen yanıtlar incelendiğinde, vakum mikrodalga destekli ekstraksiyonda  $Y_1$  ve  $Y_4$  yanıtlarının istatistiksel olarak diğer yöntemlerden farklı olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon yöntemindeki farklılık  $Y_2$  yanıtı için istatistiksel olarak önemli bir fark yaratmazken,  $Y_3$  yanıtı için ultrason destekli yöntem ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak öne çıkmaktadır (Çizelge 4.6). Güncel bir literatür kaynağında betalain ekstraksiyonu için, konvansiyonel yöntem kullanılmasında uzun süreli yüksek sıcaklıklara çıkıldığından betalain degradasyonunun artacağı ve ekstraksiyon verimini ultrason destekli ve mikrodalga destekli yeni ekstraksiyon metotlarına göre düşüreceğini ifade etmiştir (Eyshi ve ark., 2024a). Geleneksel ekstraksiyon metotları ile yeni teknolojilerin karşılaştırıldığı farklı bir kaynaktan ise, fenolik ve antioksidan özellikteki bileşiklerin ekstraksiyonu için ultrason ve mikrodalga destekli yöntemlerin öne çıktığını rapor etmiştir. Fenolik bileşiklerin sabit dipol momente sahip olması mikrodalga enerjisinin güçlü bir şekilde absorbe edilmesine destek olarak ekstraksiyon verimini arttırmakta olduğu da ifade edilmiştir. Ayrıca sözü edilen kaynaktan ultrason destekli ekstraksiyonda ses dalgalarından oluşan kavitasyon sayesinde oluşan basınç değişimi ile matrisin hücre duvarı daha kolay bozularak kullanılan çözücüye doğru fenolik madde transferini arttırdığı da belirtilmiştir (Osorio-Tobón, 2020).

Çizelge 4.7'de program çıktısı tarafından verilen öngörülen yanıtlar incelendiğinde ise Çizelge 4.6'da deneysel olarak ölçülen yanıtlara büyük oranda benzerlik gösterdiği görülmektedir.

**Çizelge 4.6.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için belirlenen optimum deney koşullarında gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen deneysel değerler (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık); Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık); Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık); Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Bağımlı değişken	Konvansiyonel ekstraksiyon	Ultrason destekli ekstraksiyon	Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon
Y <sub>1</sub>	6.13±0.090 <sup>c</sup>	6.38±0.041 <sup>b</sup>	7.79±0.132 <sup>a</sup>
Y <sub>2</sub>	13.96±0.432 <sup>a</sup>	13.53±0.144 <sup>a</sup>	13.74±0.197 <sup>a</sup>
Y <sub>3</sub>	34.87±0.280 <sup>c</sup>	49.38±0.840 <sup>a</sup>	47.06±0.429 <sup>b</sup>
Y <sub>4</sub>	418.83±4.098 <sup>c</sup>	471.82±1.574 <sup>b</sup>	715.50±5.504 <sup>a</sup>

\* Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler, farklı ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

**Çizelge 4.7.** KE, UDE ve VMDE yöntemleri için program çıktısı tarafından öngörülen yanıtlar (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık); Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık); Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık); Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Bağımlı değişken	Konvansiyonel ekstraksiyon	Ultrason destekli ekstraksiyon	Vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon
Y <sub>1</sub>	6.05	6.49	7.80
Y <sub>2</sub>	14.34	13.60	16.81
Y <sub>3</sub>	32.59	49.21	48.05
Y <sub>4</sub>	419.45	472.88	730.27

## 4.2.8. Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Analizleri

### 4.2.8.1. Renk Analizi

KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.8’de analize ait  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri standart sapma değerleri ile verilmiştir.  $L^*$  değerlerinin artması rengin açılmasını ifade ettiğinden istatistiksel olarak diğer yöntemlere göre KE yönteminde en yüksek olarak ölçülmüştür. Literatürde ejder meyvesi kabuğundan elde edilen betasiyanin açısından zengin ekstraktların farklı pH değerlerinde renk analizlerinin gerçekleştirildiği bir çalışmada tez çalışmasına benzer olarak ölçülen betalain miktarının artması durumunda  $L^*$  değerinin azaldığı rapor edilmiştir (Permana ve ark., 2024). Çizelge 4.8’den sırasıyla kırmızılığın ve sarılığın göstergesi olan  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri incelendiğinde ise, VMDE ile elde edilen ekstrakttaki  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin diğer ekstraksiyon yöntemlerinden elde edilen değerlerden istatistiksel olarak yüksek olduğu görülmektedir. VMDE’nin optimum koşullarında elde edilen ekstraktta ölçülen TBM değerinin diğer iki ekstraksiyon yönteminin optimum koşullarında ölçülen TBM değerlerinden yüksek olması bu durumu doğrulamaktadır. Literatürde, Amaranth çiçeğindeki betalainlerin ekstraksiyon koşullarının optimize edildiği bir çalışmada, tez çalışmasına benzer olarak ölçülen TBM arttıkça renk analizindeki  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin de arttığı rapor edilmiştir (Howard ve ark., 2022).

**Çizelge 4.8.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların renk analizi sonuçları

	KE	UDE	VMDE
$L^*$	56.58 <sup>a</sup> ±0.526	54.67 <sup>ab</sup> ±1.601	53.30 <sup>b</sup> ±0.026
$a^*$	9.58 <sup>b</sup> ±1.076	10.86 <sup>ab</sup> ±1.014	12.32 <sup>a</sup> ±0.224
$b^*$	25.35 <sup>ab</sup> ±3.203	23.19 <sup>b</sup> ±1.542	27.86 <sup>a</sup> ±0.030

$L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir. Aynı satırdaki farklı küçük harfler, farklı ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )

#### 4.2.8.2. Q-TOF LC/MS ile Betalain Karakterizasyonu

Uygulanan üç ekstraksiyon yönteminin her birinde optimum koşullarda elde edilen ekstraktların Q-TOF LC/MS ile betalain kompozisyonu analizi için ticari betanin standardının (Sigma Aldrich, Darmstadt, Almanya) farklı konsantrasyonlarında (10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 ppm) oluşturulan standart eğri kullanılmıştır. Kullanılan eğri Ek-Şekil A15'te sunulmuştur.

Elde edilen betalain kompozisyonları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Bu çizelgeye göre, betalain çeşitlerinin pozitif iyon modundaki kütleleri literatürde yapılan benzer betalain çalışmalarından doğrulanmıştır (García-Cayuela ve ark., 2019; Wang ve ark., 2020a; Wybraniec ve ark., 2013). Sonuçlar betanin standardı üzerinden verildiği için her üç yöntem için de elde edilen en yüksek betalain çeşidinin betanin olduğu görülmektedir. Ayrıca Vulgaksantin I, Portulaksantin I ve Portulaksantin III ile valine betaksantin betalainlerinin her üç yöntemde de elde edilen ekstraktlarda tespit edildiği bulunmuştur. Miktar olarak ise VMDE yöntemi ile elde edilen ekstraktta hesaplanan betalainlerin diğer iki yöntemde elde edilen betalainlere göre daha yüksek miktarda olduğu da Çizelge 4.9'da görülmektedir. Sadece KE yönteminde tespit edilen 17-dekarboksi betanidin konvansiyonel ekstraksiyonda uzun sürede gerçekleşen ekstraksiyon ile betalainlerin kısmen termal degradasyona uğraması ile dekarboksi formuna dönüştüğünü doğrulamaktadır (Kumorkiewicz ve ark., 2020).

**Çizelge 4.9.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların betanin kompozisyonları

<b>KE</b>			
<b>Betalain çeşidi</b>	<b>Moleküler formül</b>	<b>(m/z) [M+H]<sup>+</sup></b>	<b>Konsantrasyon* (ppm)</b>
Betanin	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	551.47	2857.10
Vulgaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	340.11	18.04
Valine betaksantin	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	311.12	387.89
Portulaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	325.11	67.70
Portulaksantin III	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	269.11	35.79
17-dekarboksi betanidin	(C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> ) <sup>+</sup>	345.11	120.62
<b>UDE</b>			
<b>Betalain çeşidi</b>	<b>Moleküler formül</b>	<b>(m/z) [M+H]<sup>+</sup></b>	<b>Konsantrasyon* (ppm)</b>
Betanin	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	551.47	3016.91
Vulgaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	340.11	14.11
Vulgaxanthin IV	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	325.30	13.43
Proline betaksantin	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	308.11	15.38
Valine betaksantin	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	311.12	328.87
Portulaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	325.11	97.01
Portulaxanthin III	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	269.11	16.18
<b>VMDE</b>			
<b>Betalain çeşidi</b>	<b>Moleküler formül</b>	<b>(m/z) [M+H]<sup>+</sup></b>	<b>Konsantrasyon* (ppm)</b>
Betanin	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	551.47	3723.23
Vulgaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	340.11	52.48
Vulgaksantin III	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	326.27	11.75
Proline betaksantin	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	308.11	257.02
Valine betaksantin	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	311.12	307.83
Portulaksantin I	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	325.11	111.37
Portulaxanthin III	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	269.11	43.54

\*Sonaçlar betanin stardardından oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak betanin eşdeğeri üzerinden verilmiştir.

#### 4.2.8.3. Ekstraktların Antimikrobiyal etkileri

KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin araştırılması amacıyla kuyucuk difüzyon ve tüp dilüsyon metotları kullanılmıştır. Farklı mikroorganizmalar için tüp dilüsyon metodu ile ayrıca ekstraktlardaki minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) da belirlenmiştir.

##### *Kuyucuk difüzyon metodu*

Mikroorganizma inokülasyonu gerçekleştirilen petriye açılan belirli çaptaki (15 mm) kuyucuklara ekstraktlar doldurulduktan sonra inkübasyon sonucunda elde edilen zonların çapları bir uçtan diğer uca ölçülerek antimikrobiyal aktivitenin etkinliği belirlenmektedir. Ekstrakt örnekleri dilüsyon yapılmadan ve farklı oranlarda dilüsyon yapılarak, *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* mikroorganizmaları üzerinde denendikten sonra, elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10 ve 4.11’de sunulmuştur. Kuyucuk difüzyon metodunda ekstraktların *L. monocytogenes* dışındaki iki mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir (Ek-Şekil D1, D2). *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için üç ekstraksiyon yönteminde de inhibisyon zonu ölçülürken, *Escherichia coli* O157:H7 için sadece VMDE’de inhibisyon zonu ölçülmüştür. Ayrıca ekstraktlarda yapılan dilüsyon miktarı arttıkça zon çaplarının giderek azaldığı ve inhibisyon zonlarının miktarlarının ekstraksiyon metoduna göre değişkenlik gösterdiği de belirlemiştir. Bu farklılık ekstraksiyon yöntemlerindeki mekanizma farklılığı nedeniyle elde edilen farklı miktardaki betalain profilinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Picot-Allain ve ark., 2021). Ayrıca üç farklı yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyonda betalainler dışında fenolik bileşiklerin de ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin de antimikrobiyal özelliklerinin olduğu literatürde ifade edilmektedir. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etki mekanizması, bu bileşiklerin mikroorganizma hücre membranına zarar vererek bütünlüğünü bozması, hücredeki ATP üretimi, protein sentezi gibi yaşamsal faaliyetleri durdurarak hücrenin canlılığını yitirmesine neden olması olarak açıklanmıştır (Ecevit ve ark., 2022).

**Çizelge 4.10.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar kullanılarak kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için elde edilen zon çapları (ND\*: Ekstraktların dilüsyon yapılmamış halleri)

İnhibisyon zonu çap (mm)			
Dilüsyon	KE	UDE	VMDE
ND*	34.00±1.409	32.00±2.832	23.50±2.834
1:2	30.50±2.121	29.25±1.767	19.00±1.768
1:3	26.50±0.710	26.25±1.058	-
1:4	23.00±1.408	23.50±2.120	-
1:5	22.25±1.059	22.15±2.623	-
1:6	-	-	-
1:7	-	-	-
1:8	-	-	-
1:9	-	-	-
1:10	-	-	-
1:20	-	-	-
1:30	-	-	-
1:40	-	-	-
1:50	-	-	-
1:80	-	-	-
1:100	-	-	-

\*Yanıtlar iki tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

**Çizelge 4.11.** KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar kullanılarak kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan *Escherichia coli* O157:H7 için elde edilen zon çapları (ND\*: Ekstraktların dilüsyon yapılmamış halleri)

İnhibisyon zonu çap (mm)			
Dilüsyon	KE	UDE	VMDE
ND*	-	-	26.00±1.410
1:2	-	-	-
1:3	-	-	-
1:4	-	-	-
1:5	-	-	-
1:6	-	-	-
1:7	-	-	-
1:8	-	-	-
1:9	-	-	-
1:10	-	-	-
1:20	-	-	-
1:30	-	-	-
1:40	-	-	-
1:50	-	-	-
1:80	-	-	-
1:100	-	-	-

\*Yanıtlar iki tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Literatürde betalainlerin antimikrobiyal aktivite mekanizması henüz tam açıklığa kavuşmamakla birlikte, betalainlerin mikrobiyal hücre bütünlüğünü bozarak hücredeki ATP üretimini durdurması ile birlikte hücrenin canlılığını yitirmesi fikri literatür kaynaklarında öne çıkmaktadır (Wijesinghe ve Choo, 2022). Başka bir çalışmada ise, betalainlerin antimikrobiyal etkisinin hücredeki iyon dengesini bozarak pH dengesini değiştirdiğinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Yong ve ark., 2018). Betalainlerin antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı kuyucuk difüzyon metodu kullanılarak yapılan literatür çalışmalarında kırmızı pancardan ve ejder meyvesinden elde edilen betalain ekstraktlarının *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Tenore ve ark., 2012; Vulić ve ark., 2013). Literatürde, bu durum gram pozitif mikroorganizmaların hücre duvarı yapısında gram negatiflere göre daha sağlam yapıda olan peptidoglikan tabakasından dolayı olabileceği ayrıca betalainin elde edildiği kaynağa göre değişebileceği ifade edilmiştir (Kumar ve Brooks, 2018). Bir kaktüs türü olan *Opuntia matudae* meyvesinin *E.coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal etkisinin kuyucuk difüzyon metodu ile araştırıldığı farklı bir çalışmada ise, meyvenin direk olarak kendisi kullanıldığında mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinin gözlemlendiği ifade edilmiştir (Hayek ve Ibrahim, 2012). Yine kırmızı pancar ekstraktındaki betalainlerin *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 üzerinde antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, tez çalışmasında elde edilen deney sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir (Vulić ve ark., 2013).

### ***Tüp dilüsyon metodu***

Tüp dilüsyon metodu minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlemeye yönelik bir yöntemdir. Minimum inhibisyon konsantrasyonu, analiz edilen maddenin hedeflenen mikroorganizmanın üremesini engelleyeceği minimum konsantrasyon olarak tanımlanabilir (Kowalska-Krochmal ve Dudek-Wicher, 2021). Bu amaçla tüp dilüsyon metodu için, üç farklı ekstraksiyon yönteminin optimum koşullarında elde edilen ekstraktların hem kendileri hem de belirli oranlarda yapılan seyreltileri, kuyucuk difüzyon metodunda kullanılan mikroorganizmalar kullanılmıştır. Mikroorganizmalar ve ekstraktlar Nutrient broth besiyerine inoküle edilmiş ve inkübasyon sonrasında besiyerlerindeki bulanıklık değerlendirilmiştir.

Tüp dilüsyon metodunda KE, UDE ve VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar için MİK seyrelti yapılmayan tüplerde sadece *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için elde edilmiştir. Konvansiyonel, ultrason destekli ve vakum mikrodalga destekli yöntemleri için tespit edilen MİK konsantrasyonları sırasıyla, 418.83, 471.82 ve 715.50 mg betalain/kg kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* için hiçbir ekstraksiyon metodunda ve konsantrasyonunda MİK değeri elde edilememiştir. Literatürde farklı betalain kaynaklarının farklı mikroorganizmalar üzerinde MİK değerlerinin belirlendiği farklı çalışmalar mevcuttur. Kırmızı kaktüs meyvesi ekstraktının *Salmonella enterica* 'ya karşı MİK değerinin belirlendiği bir çalışmada, MİK değeri 125 µg/mL olarak rapor edilmiştir (Kharrat ve ark., 2018). Farklı 3 kaynaktan elde edilen kırmızı ejder meyvesi ekstraktlarının farklı Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde MİK değerlerinin araştırıldığı farklı bir çalışmada ise, MİK konsantrasyonlarının farklı betalain kaynaklarında çok önemli farklar göstermediği rapor edilmiştir. Ayrıca sözü edilen çalışmada kullanılan 3 farklı kaynaktan elde edilen meyveler 6 gün boyunca buzdolabı koşullarında depolanmış ve depolanan meyvelerin ekstraktlarının MİK değerleri de belirlenmiştir. Buna göre 6 günlük depolama sonrasında MİK değerlerinin ilk güne kıyasla azaldığı ve kaynaklar arasında istatistiksel olarak farklılık gösterdiği de tespit edilmiştir (Yong ve ark., 2018). Kırmızı ve sarı pancarında ve kabuklarındaki farklı betaksantinlerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 suşuna karşı MİK konsantrasyonları farklı pancar türleri ve kabukları için neredeyse aynı bulunduğu ifade edilmiştir (Spórna-Kucab ve ark., 2023). Tez çalışmasında elde edilen veriler ile literatürde elde edilen MİK değerleri arasındaki farklılığın kullanılan mikroorganizmaların suşuna, betalain elde edilen kaynağa, ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterdiği düşünülmektedir.

#### **4.2.8.4. Ekstraktların Isıl Kararlılığı**

KE, UDE ve VMDE yöntemlerinde optimum koşullarda elde edilen ekstrakt örneklerinin ısıya kararlılıkları 70°C'de 30 dakika boyunca sıcak su banyosunda bekletilerek belirlenmiştir. Isıl işlem uygulamasının ardından TBM analizi gerçekleştirilmiş ve ısıl işlem öncesindeki TBM değerleri ile oranlanarak ısıl kararlılık değerleri hesaplanmıştır.

KE, UDE ve VMDE yöntemleri için hesaplanan ısı kararlılık değerleri sırasıyla %55.501, %60.752 ve %66.808 olarak bulunmuştur. Isıl işlem sonrasında betalain miktarının düşmesi literatürde, özellikle 60°C üzeri sıcaklıklarda betalainin yapısının değişerek degradasyonunun başlaması ve renk bileşenlerinin özelliklerinin giderek azalması şeklinde açıklanmıştır (Calva-Estrada ve ark., 2022). Betalainlerin kararlılığında ısı işlem sıcaklığı kadar ısı işlem süresi de önemlidir. Konvansiyonel ekstraksiyonda optimum koşullarda elde edilen ekstraktın ısı kararlılığının diğer örneklere göre en düşük çıkması konvansiyonel ekstraksiyonda diğer iki yöntemle göre uzun süren ekstraksiyon süresi ile açıklanabilir. Tez çalışmasında 70°C'de 30 dakika olarak seçilen ısı işlem prosesi düşük sıcaklıkta uzun sürede gerçekleşen pastörizasyonu modellemek amacıyla seçilmiştir. Literatürde kırmızı pancardan elde edilen betalainlerin doğal renklendirici olarak farklı konsantrasyonlarda süte uygulandığı bir çalışmada da benzer sıcaklık ve sürede ısı kararlılık analizi gerçekleştirilmiştir (Güneşer, 2016). Isıl işlem sonrasında düşen TBM değerleri ekstraktlardaki hassas bileşiklerin enkapsülasyonunun yapılarak daha iyi korunabileceğini tez çalışmasının devamında yapılan enkapsülasyon çalışması ile doğrulanmıştır.

### **4.3. Niyozomal Enkapsülasyon**

Tez çalışmasındaki üç farklı ekstraksiyon yöntemi arasından VMDE yönteminin optimum koşullarında elde edilen ekstrakt ile niyozomal enkapsülasyon aşamasına geçilmiştir. VDME yönteminde, KE ve UDE'ye göre daha kısa sürede daha az çözücü kullanılarak yüksek miktarda betalaince zengin biyoaktif bileşik elde edildiğinden bu yöntemle elde edilen örneklerle enkapsülasyon yapılmıştır. Niyozomal enkapsülasyonda enkapsülasyonda koşulların optimizasyonu yanıt yüzey yöntemi ile yapılmış ve optimum koşullarda elde edilen elde edilen niyozomun karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### **4.3.1. Niyozomal Enkapsülasyonda Yanıtların Hesaplanması**

Niyozomal enkapsülasyonda, literatür araştırmaları ve ön denemelere göre seçilmiş olan bağımsız değişkenler kullanılarak, enkapsülasyon işlemindeki şartların optimizasyonu Design Expert 13 programı aracılığıyla yanıt yüzey metodu ile gerçekleştirilmiştir. Her biri 3 seviyeye sahip olan bağımsız değişkenler olarak, sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80)  $X_1$ , niyozomal enkapsülasyon uygulanacak ekstrakt miktarı (mg

ekstrakt/ 100 mg sürfektan)  $X_2$ , kolesterol miktarı (mg kolesterol/ 100 mg sürfektan)  $X_3$  ve uygulanan sonikasyon süresi (sn)  $X_4$  seçilmiştir ve bunların bağımlı değişkenler (yanıtlar) üzerindeki etkileri 29 deneyde elde edilen sonuçlara (Ek-Çizelge B4) göre modellenmiştir.

Ek-Çizelge B4'te görülen ilk yanıt olarak enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) değerleri incelendiğinde,  $Y_1$  değerlerinin %87.66-97.62 arasında değiştiği görülmektedir. En düşük ve en yüksek enkapsülasyon verimi değerlerinin bulunduğu deney koşulları incelendiğinde enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarı ( $X_2$ ) ve kolesterol miktarı ( $X_3$ ) değerlerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda, enkapsülasyonda kullanılan sürfektanların oranı ( $X_1$ ) ve sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) enkapsülasyon verimi ile doğrudan ilişkili olduğu görülmüştür. Literatürde kaplama materyalinin yapısında bulunan sürfektanların cinsi ve bunların birbirlerine olan oranları, niyozom vezikülünün yüzeyindeki yük dengesini etkileyerek Van der Waals ve itici kuvvetleri değiştirdiğinden enkapsülasyon verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Yeo ve ark., 2017). Ayrıca askorbik asidin niyozom metodu ile kaplandığı güncel bir çalışmada, niyozomal veziküllere uygulanan sonikasyon ile oluşturulan veziküllerin parçacık boyutu büyük oranda küçültülerek, oluşturulan askorbik asit yüklü veziküllerin stabilitesinin stabilitesinin arttığı ifade edilmiştir (Tissera ve ark., 2025).

İkinci yanıt olan TFM değerleri incelendiğinde, bu değerlerin 2.17-2.86 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değiştiği görülmektedir (Ek-Çizelge B4). Tüm deney koşullarına göre, TFM değerlerinin birbirlerine göre önemli ölçüde değişmediği gözlenmektedir. En düşük ve en yüksek değerlerin elde edildiği deney koşullarında sürfektanların molar oranı ( $X_1$ ) dışındaki diğer değişkenlerin,  $Y_2$  yanıtını etkilediği görülmektedir. Enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarının ( $X_2$ ) artışı veziküllere yüklenen fenolik madde miktarını arttırdığı için ekstrakt yüklü veziküllerde TFM miktarının artışına neden olmuştur. Ayrıca veziküllere eklenen kolesterol miktarının ( $X_3$ ) ve uygulanan sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) artışı ile kaplama materyali daha stabil ve homojen yapıda olduğundan kolesterol miktarının ve sonikasyon süresinin yüksek olduğu deney koşullarında TFM'nin de yüksek olduğu bulunmuştur.

Ek-Çizelge B4'e göre TAK değerlerinin 14.96-26.24 mmol TE/g kuru ağırlık arasında değiştiği belirlenmiştir. Enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarı ( $X_2$ ) ve uygulanan sonikasyon ( $X_4$ ) değişkenlerinin en yüksek olduğu ve enkapsülasyonda kullanılan sürfektanların oranının ( $X_1$ ) 2:1 olduğu deney koşullarında TAK değerinin yüksek olduğu

tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen 29 deney sonrasında, niyozomal enkapsülasyonla VMDE ile elde edilen ekstrakt örneğinin fenolik ve antioksidan özelliklerinin belirli ölçülerde korunduğu ve dışarıya salınımın engellendiği belirlenmiştir. Literatürdeki bir çalışmada, fenolik bir bileşik olan resveratrole niyozomal enkapsülasyon uygulandığında büyük ölçüde (%96) korunduğu rapor edilmiştir (Machado ve ark., 2021). Limon otundaki esansiyel yağların ince film hidrasyon yöntemi kullanılarak niyozomal yöntem ile kaplandığı farklı bir çalışmada ise, farklı kaplama materyalleri ve stabilize edici ajanlar kullanılmıştır. Sözü geçen çalışmada, esansiyel yağ içeren niyozomların 30 günlük depolanması sonrasında bile yapıdaki antioksidan özellikteki bileşenlerin büyük ölçüde korunduğu ifade edilmiştir (Saleh ve ark., 2022).

Dördüncü yanıt olarak, renk analizinde ölçülen  $b^*$  değerleri ( $Y_4$ ) incelendiğinde değerlerin 2.07-8.84 arasında olduğu görülmektedir. En yüksek  $b^*$  değerlerinin elde edildiği deney koşulları incelendiğinde  $X_1$  değişkeninin en yüksek ve  $X_2$  değişkeninin ise en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Ayrıca niyozomal veziküllere uygulanan sonikasyon süresinin de merkez nokta değerinde (45 sn) olduğu görülmektedir. Bu koşullarda  $b^*$  değerinin en yüksek olarak ölçülmesi, az miktardaki ekstraktın molar yoğunluğu yüksek olan bir kaplama materyali ile kaplanması sonucunda yüksek çıktığı düşünülmektedir. Hidrofilik-lipofilik balans (HLB) değeri kararlı bir emülsiyon oluşturmak için emülsiyonu oluşturan bileşenlerin tipini ve derişimini belirlemek için kullanılan bir terimdir. HLB değeri, emülsiyonu oluşturan maddelerin içindeki suda çözünen veya yağda çözünen madde dengesini ifade eder ve genellikle 0-20 arasında değişmektedir. HLB değeri 20'ye yaklaştıkça emülsiyonun hidrofilik özelliği artarken, 0'a yaklaştıkça hidrofobik özelliği artmaktadır (Gore ve ark., 2023). Optimizasyon çalışmasında kullanılan Span 60 HLB değeri 4.7 olan ve yağ fazında çözünürlüğü yüksek olan bir sürfektan iken, Tween 80 HLB değeri 15 olan su fazında daha iyi çözünen bir sürfektandır (Pandey ve ark., 2024). Enkapsülasyonda kullanılan sürfektanların oranının ( $X_1$ ) 3:1 olması, 2:1 olması durumuna göre HLB değerini bir miktar yükselterek kullanılan kolesterol ile renk bileşeninin daha iyi korunmasını sağladığı söylenebilir. Literatürde, renk analizinde ölçülen  $b^*$  değerinin örnekteki sarılık değerini gösterdiği ve kapsüldeki betaksantin miktarı ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir (Prieto-Santiago ve ark., 2020).

TBM değerleri ( $Y_3$ ) incelendiğinde ise bu yanıt için en düşük ve en yüksek değerlerin sırasıyla 627.17 ve 698.45 mg betalain/kg kuru madde olarak ölçüldüğü görülmektedir (Ek-izelge B4). En yüksek ve en düşük değerlerin ölçüldüğü deney koşulları incelendiğinde, enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) ile tutarlı sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir. Sürfektanların molar oranı ( $X_1$ ) ve sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) ikili etkilerinin TBM üzerinde önemli etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyalinin yapısı ve bileşimi enkapsülasyon için en önemli parametrelerden biridir. Ayrıca kaplama materyaline eklenen kolesterol gibi stabilize edici ajanlar da içerikteki TBM'nin korunması için bir başka önemli etki olarak belirlenmiştir (Bhardwaj ve ark., 2020). En yüksek TBM değerinin ölçüldüğü deney koşullarında veziküllere eklenen kolesterol miktarı ( $X_3$ ) 0.2 iken, en düşük TBM değerinin ölçüldüğü deney koşullarında veziküllere kolesterol eklenmemiştir. Kaplama materyali bileşiminde kolesterol kullanılması sürfektanların hidrokarbon zinciri arasına yerleşerek yapıyı daha sıkı bir hale getirerek dışarıya sızıntıyı engellemektedir. Ayrıca zar geçirgenliğini azaltarak kapsülleme verimi arttırmaktadır. Kaplama materyali daha kararlı yapıda olduğundan parçacık boyutu değişimi de engellenmekte ve betalaince zengin fenolik bileşikler daha iyi korunmaktadır (Elebyary ve ark., 2024). Literatürde kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin ekstraktın iyonik jelleşme metodu ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, kaplama materyalinde farklı kombinasyonlar kullanılarak elde edilen kapsüller şekerleme içeriğine ilave edilmiş ve model gıda sistemi 4°C'de 30 gün boyunca depolanmıştır. Sonrasında betalain miktarı analiz edilmiş ve en iyi bulunan kaplama materyali formülasyonunda betalain miktarının korunduğu rapor edilmiştir (Otlora ve ark., 2019).

#### **4.3.2. Niyozomal Enkapsülasyonda Yanıtların Modellenmesi**

Niyozomal enkapsülasyon çalışmasında, bağımsız değişkenlerin her bir bağımlı değişken (yanıt) zerindeki etkilerini temsil eden ikinci dereceden model denklemlerin belirlenmesi için ekstraksiyon yöntemlerinde uygulanan şekilde, Design Expert13 programı kullanılmış ve çoklu regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Her yanıt için program tarafından önerilen ikinci dereceden model denklemler izelge 4.12'de sunulmuştur.

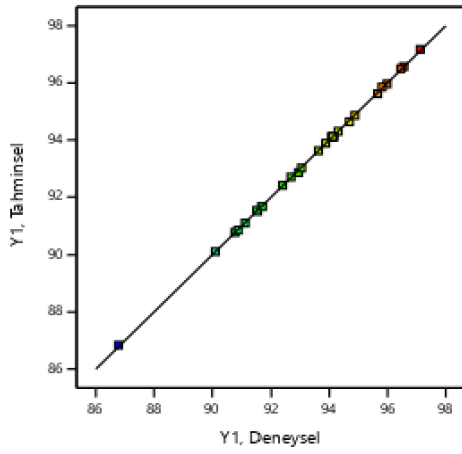
**Çizelge 4.12.** Niyozomal enkapsülasyonda yapılan optimizasyon çalışmasında her bir yanıt için türetilen ikinci dereceden model denklemler ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye);  $Y_1$ : Enkapsülasyon verimi;  $Y_2$ : Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık);  $Y_3$ : CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ) (mmol TE/ kg kuru ağırlık);  $Y_4$ : renk analizinde ölçülen b değeri;  $Y_5$ : Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık))

Yanıt	Model denklem	R <sup>2</sup>
Y <sub>1</sub>	$Y_1 = + 94.11 - 1.09X_1 + 1.92X_2 - 0.18X_3 + 1.43X_4 + 3.47X_1X_2 + 2.06X_1X_3 - 1.80X_1X_4 + 0.50X_2X_3 - 1.71X_2X_4 - 0.82X_3X_4 - 0.60(X_1)^2 - 0.19(X_2)^2 + 0.34(X_3)^2 - 1.26(X_4)^2$	0.9996
Y <sub>2</sub>	$Y_2 = + 2.29 + 0.12X_4 - 0.16X_1X_2 + 0.16X_1X_3 - 0.16X_2X_4 + 0.16(X_1)^2 + 0.12(X_2)^2 + 0.23(X_3)^2 - 0.15(X_4)^2$	0.9104
Y <sub>3</sub>	$Y_3 = + 19.85 - 1.48X_1 + 0.79X_2 - 0.50X_3 + 0.97X_4 + 0.19X_1X_2 - 1.86X_1X_3 - 2.38X_1X_4 - 0.33X_2X_3 + 2.47X_2X_4 + 2.05X_3X_4 - 1.83(X_1)^2 + 1.34(X_2)^2 + 0.64(X_3)^2 + 0.80(X_4)^2$	0.9983
Y <sub>4</sub>	$Y_4 = + 3.59 + 0.17X_1 - 1.48X_2 + 0.27X_3 - 0.92X_4 - 0.39X_1X_2 + 0.52X_1X_3 + 1.02X_1X_4 + 0.07X_2X_3 - 0.56X_2X_4 + 0.33X_3X_4 + 1.48(X_1)^2 + 1.00(X_2)^2 + 0.59(X_3)^2 + 0.42(X_4)^2$	0.9988
Y <sub>5</sub>	$Y_5 = + 673.38 - 8.96X_1 + 10.46X_2 - 2.12X_3 + 11.52X_4 + 20.89X_1X_2 + 13.11X_1X_3 - 9.88X_1X_4 - 1.04X_2X_3 - 8.71X_2X_4 - 7.93X_3X_4 - 5.06(X_1)^2 - 0.78(X_2)^2 + 2.36(X_3)^2 - 10.99(X_4)^2$	0.9994

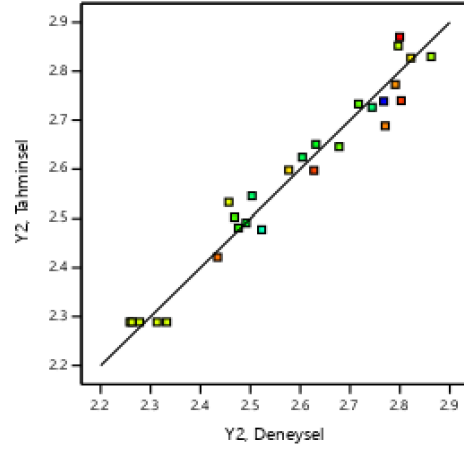
Çizelge 4.12’te verilen ikinci dereceden model denklemlere göre her bir yanıt için bağımsız değişkenlerin yanıt üzerindeki etkilerinin farklı olduğu görülmektedir. TFM ( $Y_2$ ) yanıtı haricindeki diğer yanıtlar incelendiğinde, bağımsız değişkenlerin lineer, ikili ve karesel etkileşimlerinin her bir yanıt için önemli bulunduğu belirlenmiştir.  $Y_2$  yanıtı için ise, bağımsız değişkenlerin karesel etkilerinin her biri önemli iken, lineer etkilerden yalnızca sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca  $Y_2$  yanıtı üzerinde  $X_1X_4$ ,  $X_2X_3$  ve  $X_3X_4$  ikili etkilerinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir. TFM yanıtı için

bağımsız değişkenlerden bazılarının etkili olup bazılarının olmaması, enkapsülasyon esnasında gerçekleşen hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlerden olduğu düşünülmektedir. Literatürde, farklı fenolik bileşiklerin (gallik asit, kafeik asit ve ferulik asit) niyozomal yöntemle enkapsüle edildiği bir çalışmada, enkapsülasyonda kullanılan sürfektan maddenin ve enkapsülasyon işleminin fenolik bileşikler üzerinde önemli bir etkisi olduğu ifade edilmiştir. Sözü edilen çalışmada, fenolik bileşiklerdeki hidrofilik ve hidrofobik gruplar ile kaplama materyalindeki bağları etkileyen her parametrenin niyozomdaki fenolik madde miktarını doğrudan etkilediği de rapor edilmiştir (Mazzotta ve ark., 2021). Beş yanıt için gerçekleştirilen varyans analizi sonuçları ise Ek-Çizelge C13-C17’de verilmiştir. Design Expert 13 programı tarafından gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda yanıtların her biri için modellerin önemli ( $p < 0.05$ ), uyum eksikliğinin ise önemsiz ( $p > 0.05$ ) bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca Çizelge 4.12’ye göre yanıtlar için verilen  $R^2$  değerlerinin 0.75’ten yüksek bulunduğu da görülmektedir.

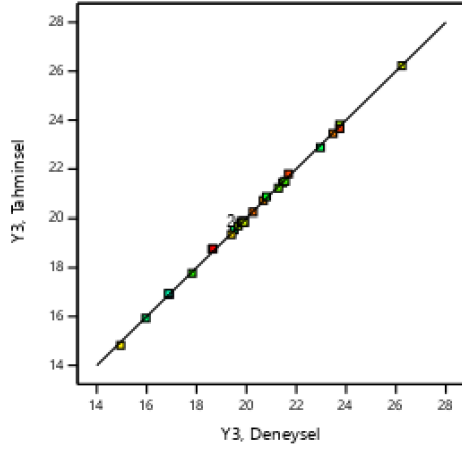
Niyozomal enkapsülasyonda belirlenen 5 yanıt için yapılan 29 deney sonucu elde edilen sayısal sonuçlar ile Çizelge 4.12’te verilen model denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini yanıtların karşılaştırıldığı grafikler ise Şekil 4.16’da gösterilmiştir. Her bir yanıt için de deneysel ve tahmini değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir.  $R^2$  değerlerinin 1 değerine yakın olması bu durumu doğrulamaktadır.



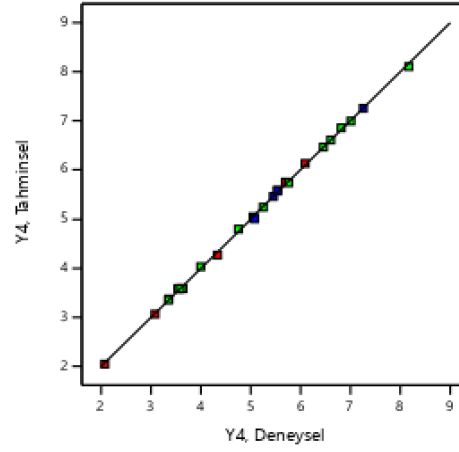
(a)



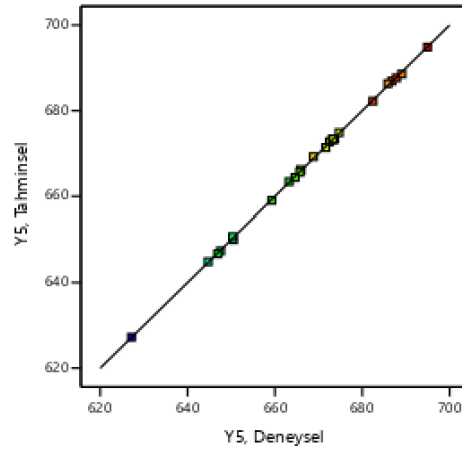
(b)



(c)



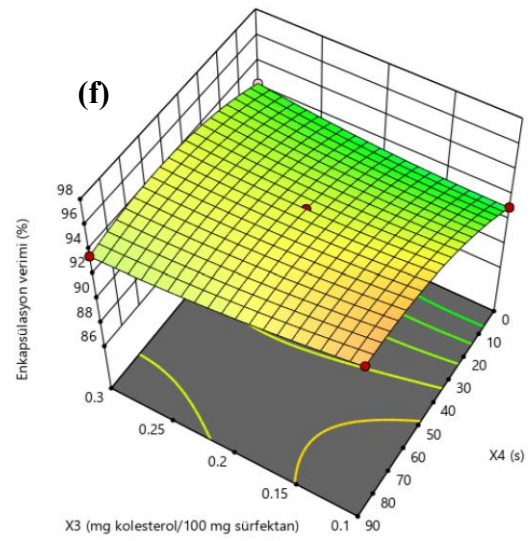
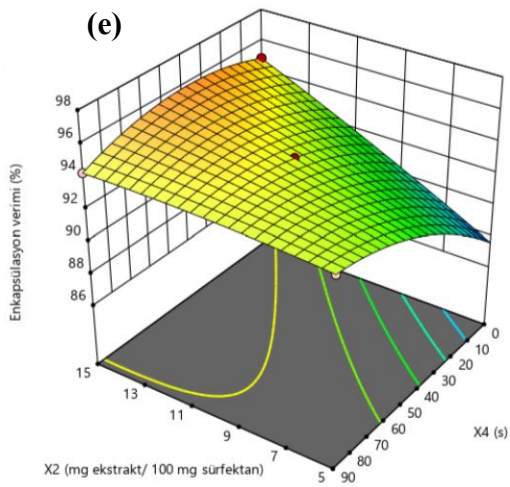
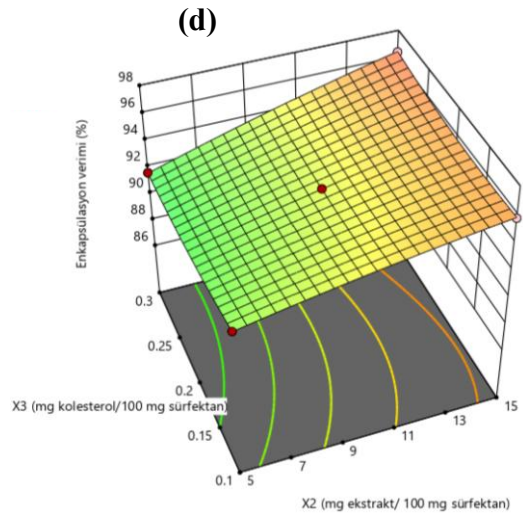
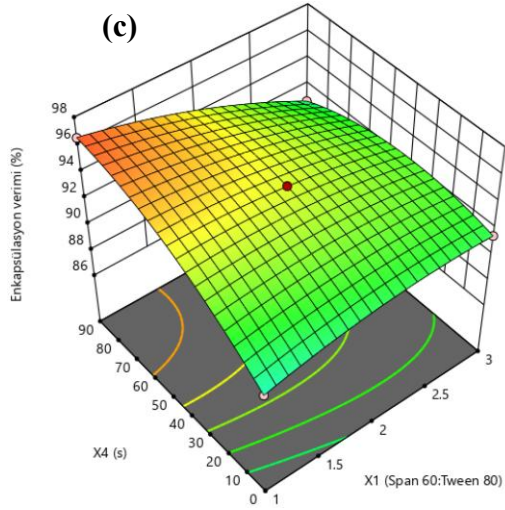
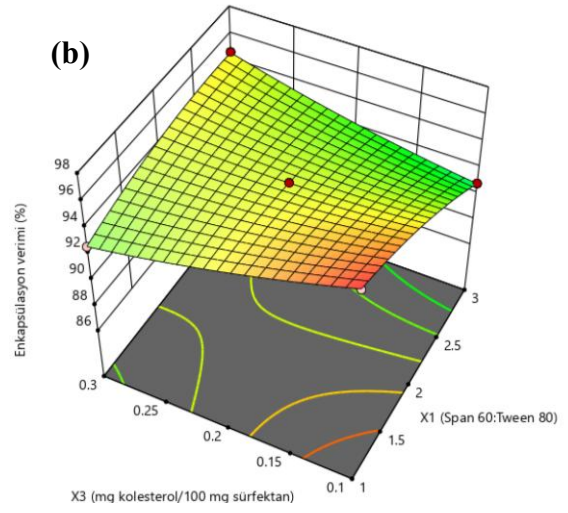
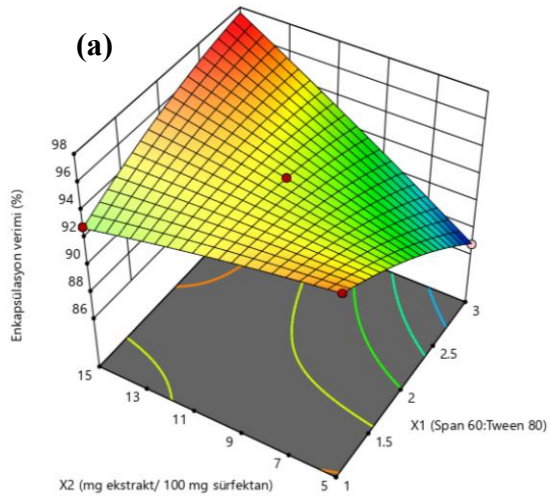
(d)



(e)

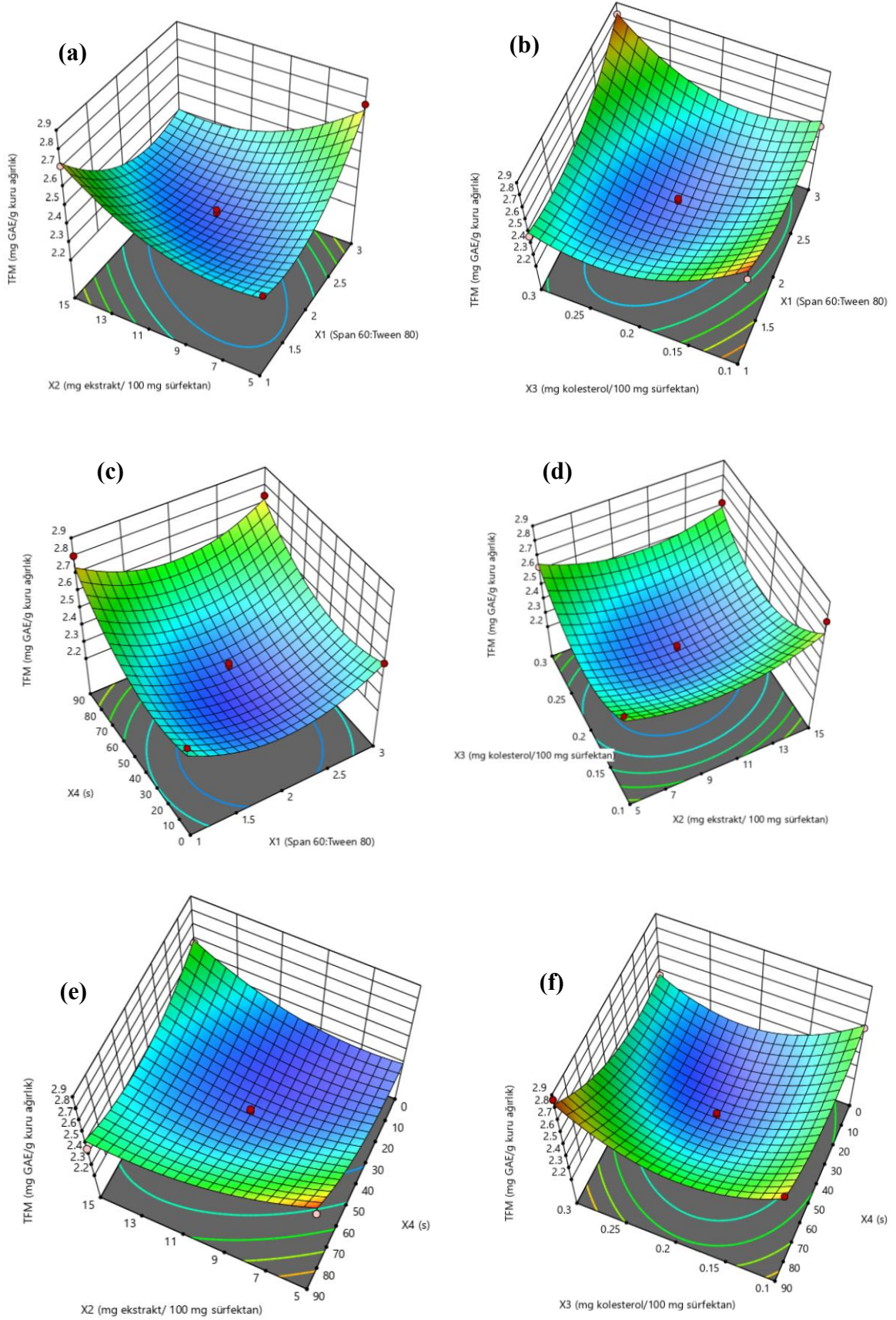
**Şekil 4.16.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda belirlenen yanıtlar için tahmini ve deneysel yanıtın karşılaştırılması, (a) Enkapsülasyon verimi, (b) TFM, (c) TAK<sub>CUPRAC</sub>, (d) renk analizinde ölçülen b değeri, (e) TBM

Niyozomal enkapsülasyonda ölçülmüş olan her yanıt için bağımsız değişkenlerin ikili etkilerinin görüldüğü üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.17-4.21’de sunulmuştur. Niyozomal enkapsülasyonun ilk yanıtı olan enkapsülasyon verimine ( $Y_1$ ) ait yanıt yüzey grafiği incelendiğinde, bu yanıtın en fazla etkilendiği değişkenlerin  $X_1X_2$  ikili etkileşimi olduğu görülmektedir (Şekil 4.17a). Bu durum Çizelge 4.12’teki katsayılar karşılaştırıldığında bu ikili etkinin katsayısından da doğrulanmaktadır. Şekil 4.17a’ya göre,  $X_1$  değerinin en yüksek ve  $X_2$  değerinin en düşük olduğu deney koşullarında  $Y_1$  yanıtının da azalacağı öngörülmektedir. Enkapsülasyon veriminin yüksek olduğu ve kimyasal olarak stabil olan niyozom formülasyonu kaplama materyalindeki hidrofilik-lipofilik denge (HLB) ile doğrudan ilişkilidir. Literatürde, HLB değerinin artması durumunda niyozomlardaki parçacık boyutunun arttığı ve kaplama materyalindeki alkil grubunun uzunluğu da arttığından enkapsülasyon veriminin doğrudan etkilendiği rapor edilmiştir (Faheem ve ark., 2024). Yapılan optimizasyon çalışmasında sürfektanların molar oranlarının ( $X_1$ ) 1:1’den 3:1’de doğru artması durumunda HLB değerinin azaldığı ve enkapsülasyon veriminin diğer değişkenlerle birlikte enkapsülasyon verimini değiştirdiği bulunmuştur. Niyozom örneklerine uygulanan sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) ve diğer değişkenleri ile ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerine (Şekil 4.17c, 4.17e ve 4.17f) göre sonikasyon süresinin artması durumunda enkapsülasyon veriminin olumlu yönde etkilendiği anlaşılmaktadır. Sonikasyon süresinin artışı ile niyozomların parçacık boyutu daha homojen hale gelerek stabilitesinin arttığı ifade edilmiştir (Owodeha-Ashaka ve ark., 2021). Ayrıca niyozom stabilitesini etkileyen önemli bir parametre olan kullanılan kolesterol miktarının ( $X_3$ ) minimum tutulması durumunda bile enkapsülasyon veriminin artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.17b ve 4.17d). Niyozomal kapsülde yapıya kolesterol eklenmesi veziküllerin kararlılığını arttırarak ve kapsülün geçirgenliğini azaltarak yapının daha stabil kalmasını kolaylaştırmaktadır (Elebyary ve ark., 2024). Literatürde, kuersetin ve resveratrol bileşenlerinin niyozom yöntemi ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, kaplama materyalinin yapısında bulunan sürfektanlar kadar kullanılan kolesterolün de enkapsülasyon verimini önemli ölçüde etkilediği rapor edilmiştir. Sözü geçen çalışmada, kaplama materyalindeki Span 60:kolesterol oranının 1:1 olması durumunda enkapsülasyon veriminin en yüksek değeri vereceği bulunmuştur (Murugesan ve ark., 2022).



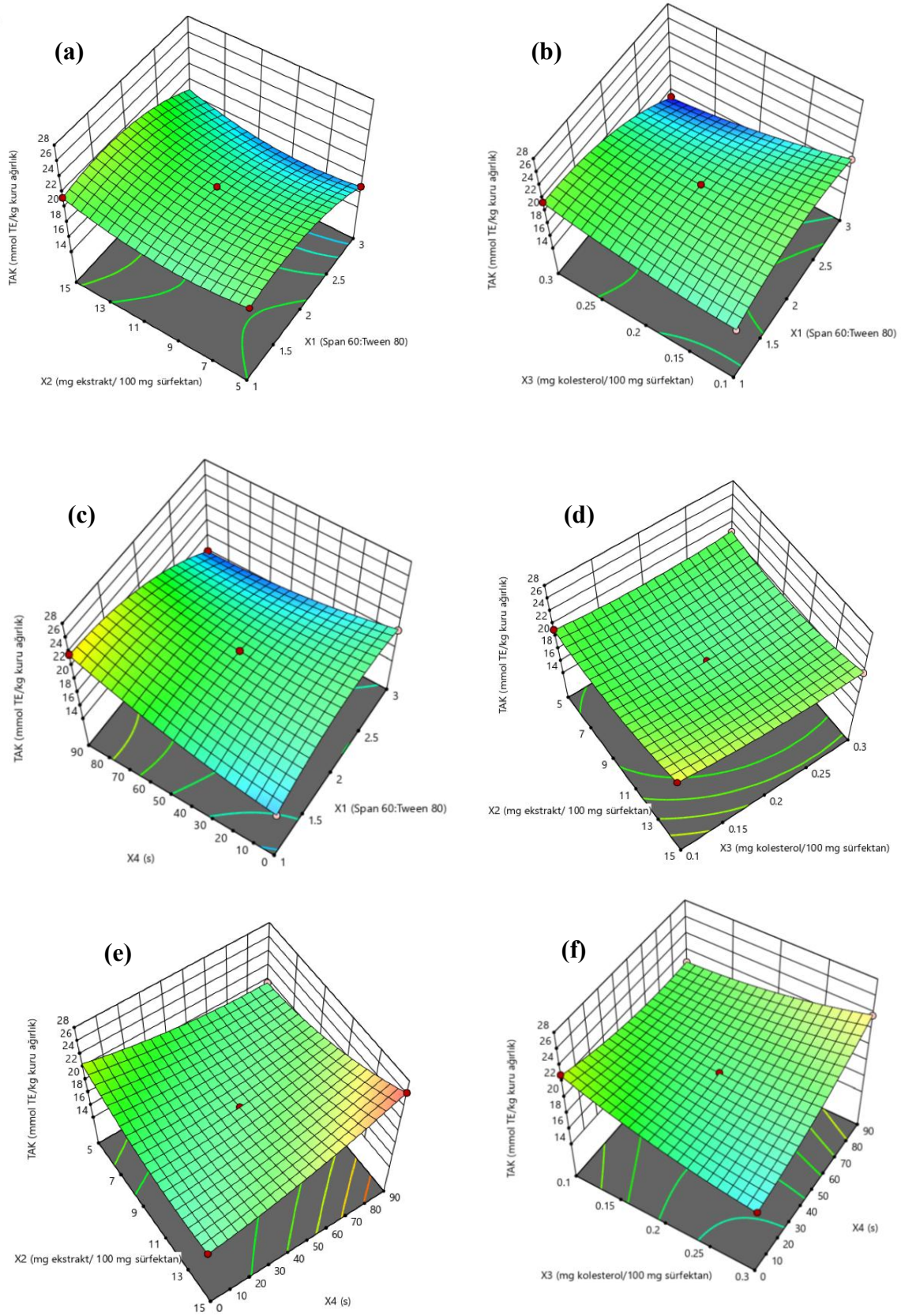
**Şekil 4.17.** Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Şekil 4.18’de enkapsülasyondaki ikinci yanıt olan TFM ( $Y_2$ ) için verilen yanıt yüzey grafikleri görülmektedir. Bu yanıt için Çizelge 4.12’de verilen ikinci dereceden model denklemlere göre TFM yanıtı için bağımsız değişkenlerin karesel etkileşimleri önemli bulunmuştur. Bu durum TFM yanıtı için bağımsız değişkenlerin doğrusal değil parabolik bir etkiye sahip olduğunun yani belirli bir aralıkta optimum (maksimum veya minimum) değer alınabileceğini göstermektedir (Weremfo ve ark., 2023). Ayrıca Çizelge 4.12’de  $Y_2$  için verilen ikinci dereceden model denkleme göre,  $X_1X_4$ ,  $X_2X_3$  ve  $X_3X_4$  ikili etkileşimlerinin TFM üzerinde önemli etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Bu ikili etkilerin yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde ise (Şekil 4.18c, 4.18d ve 4.18f), merkez nokta değerlerinde TFM yanıtının önemli sayılmayacak bir miktarda azalacağı öngörülmektedir. Çizelge 4.12’deki  $Y_2$  için verilen model denklemdaki  $X_1X_2$ ,  $X_1X_3$  ve  $X_2X_4$  ikili etkilerinin katsayılarının aynı olması ise bu etkilerin TFM yanıtını benzer şekilde etkileyeceğini ifade etmekte olup bu durum ilgili yanıt yüzey grafiklerinden de doğrulanmıştır (Şekil 4.18a, 4.18b ve 4.18e). Literatürde, niyozomal enkapsülasyonda kullanılan sürfektanların molar oranı ( $X_1$ ) ve kullanılan kolesterol miktarı ( $X_3$ ) doğrudan kaplama materyalinin stabilitesi ile ilişkili parametreler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kaplama materyalinde kolesterol ya da türevlerinin kullanılması, kaplama materyalinin daha sıkı yapıda olmasıyla stabil niyozom formülasyonlarının elde edilmesine ve içerikte bulunan fenolik yapıdaki biyoaktif bileşiklerin daha iyi korunmasına yardımcı olduğu da literatürde doğrulanmıştır (Ge ve ark., 2019). Farklı bir çalışmada ise, dış etmenlere karşı kararsız yapıda olan ve kolayca bozulabilen fenolik bileşiklerin korunması ve biyoyararlanımının artırılması için niyozomlar gibi nanotaşıyıcı yöntemlerin kullanılmasının, bu bileşiklerin kullanılabilirliğini büyük oranda arttırdığı da rapor edilmiştir. Fenolik bileşiklerin niyozomal enkapsülasyon ile kontrollü salınımının sağlanması ve hidrofilik ve lipofilik özelliklerine göre uygun bir kaplama materyali kullanılarak niyozomal yöntemle kaplanması biyoyararlanımını arttırmaktadır (Murugesan ve ark., 2022).



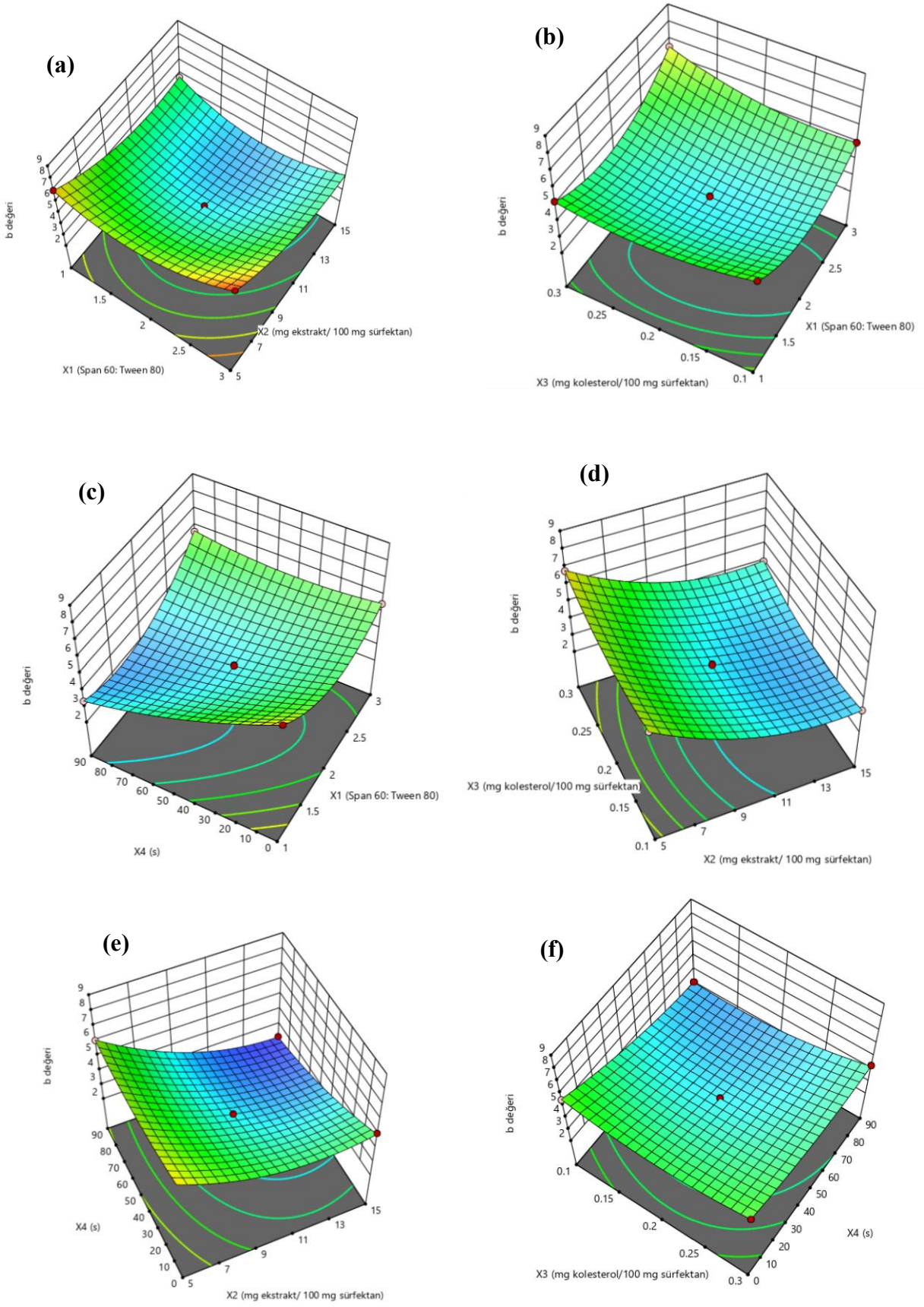
**Şekil 4.18.** Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin TFM ( $Y_2$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Niyozomal enkapsülasyonda üçüncü yanıt olan TAK ( $Y_3$ ) için program tarafından oluşturulan yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.19'da sunulmuştur. Sürfektanların molar oranının ( $X_1$ ), ekstrakt miktarı ( $X_2$ ) ve kolesterol miktarı ( $X_3$ ) ile olan ikili etkileşiminin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerine göre,  $X_1$ 'in maksimum olduğu deney koşullarında  $X_2$ 'nin azalması ve  $X_3$ 'ün artması ile, TAK yanıtının azalacağı belirlenmiştir (Şekil 4.19a ve 4.19b).  $X_2X_3$  ikili etkileşiminin ise  $Y_3$  yanıtı üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmayacağı Şekil 4.19d'de görülmektedir. Ayrıca Çizelge 4.12'de  $Y_3$  yanıtı için verilen ikinci dereceden model denklemdeki ikili etkilerin katsayıları incelendiğinde, bu yanıtı en fazla etkileyen etkilerin  $X_4$  değişkeni ile diğer bağımsız değişkenlerin ikili etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu durum yanıt yüzey grafiklerinden de doğrulanmıştır (Şekil 4.19c, 4.19e ve 4.19f).  $X_4$  değişkeninin en yüksek olduğu deney koşullarında,  $X_2$  ve  $X_3$  değişkenlerinin artması ile  $X_1$  değişkeninin azalması durumunda  $Y_3$  yanıtının artacağı belirlenmiştir. Literatürde niyozom yöntemi ile gerçekleştirilen enkapsülasyonda ultrasonikasyon işleminin uygulanması, kaplama materyalindeki sürfektan maddelerin molar oranları ve kaplama materyalini stabilize edici ajanların kullanılması enkapsülasyondaki termodinamik stabiliteyi etkileyen önemli faktörler olarak değerlendirilmektedir. Özellikle sonikasyon yapılması esnasında, kaplama materyalinde anlık oluşan açılma-kapanma döngüleri ile parçacık boyutunun stabilitesinin sağlanması ile kaplanan materyalin daha iyi korunması hedeflenmiştir (Trivedi ve Puranik, 2023).



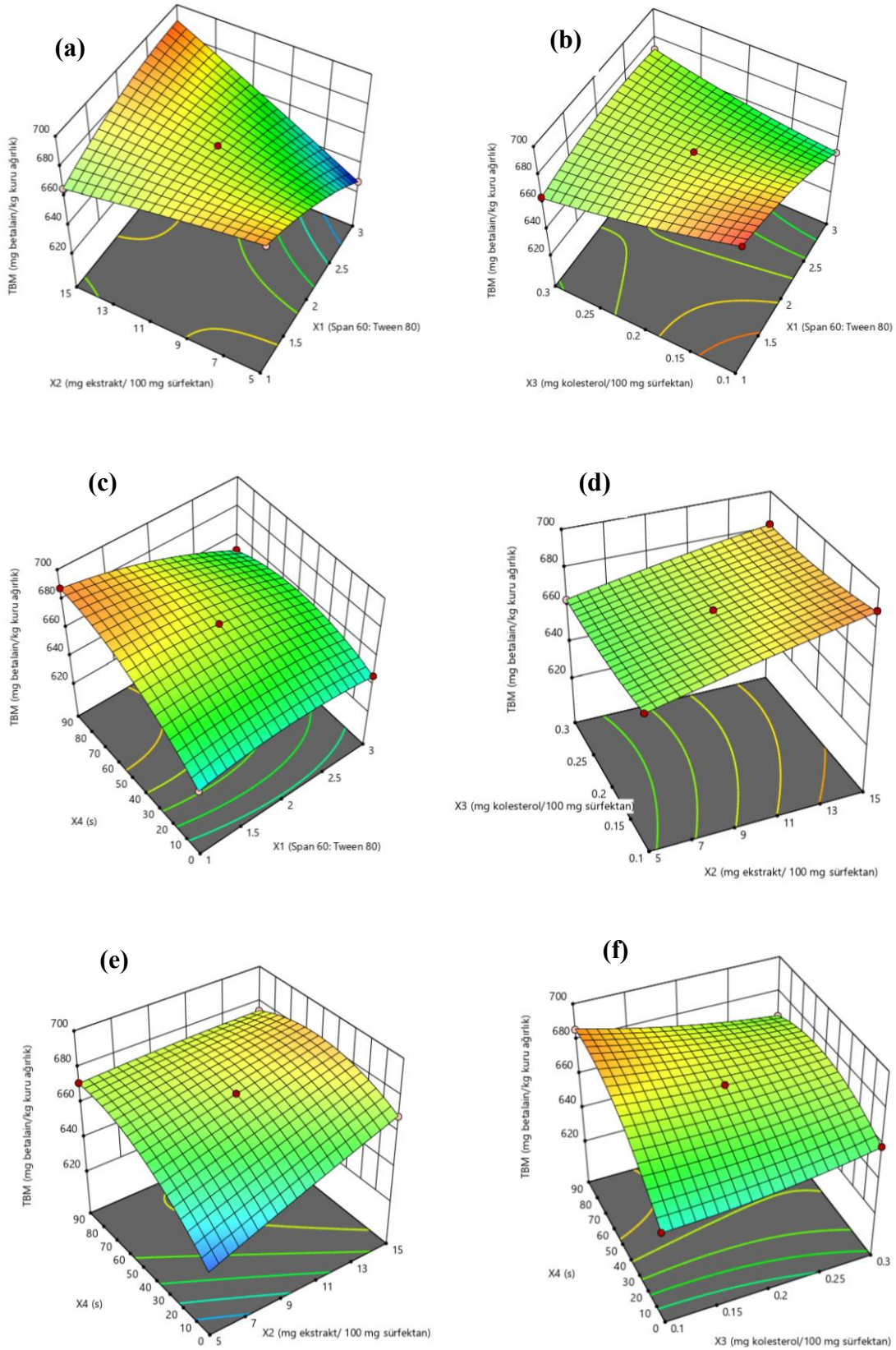
**Şekil 4.19.** Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Enkapsülasyonda dördüncü yanıt olan renk analizinde ölçülen  $b^*$  değeri yanıtı için verilen yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.20'de görülmektedir.  $X_1X_2$  ikili etkileşiminin görüldüğü yanıt yüzey grafiği incelendiğinde (Şekil 4.20a), sürfektanların molar oranının ( $X_1$ ) artması (3:1), enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarının ( $X_2$ ) ise azalması (5 mg ekstrakt/100 mg sürfektan) durumunda  $b^*$  değerinin de artacağı belirlenmiştir.  $X_1X_3$  ikili etkileşiminin ise  $b^*$  değeri üzerinde çok önemli bir değişikliğe neden olmayacağı Şekil 4.20b'de görülmektedir. Ayrıca kaplama materyalinde kullanılan kolesterol miktarının ( $X_3$ ) ve enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarının ( $X_2$ ) en az olduğu deney koşullarında da  $Y_4$  yanıtının bir miktar artacağı öngörülmektedir (Şekil 4.20d). Çizelge 4.12'de  $Y_4$  yanıtı için verilen ikinci dereceden model denklemden  $X_2X_3$  ikili etkileşiminin katsayısının düşük olması bu durumu doğrulamaktadır. Enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarının az olduğu durumlarda kaplama materyali daha konsantre haldeki betalaince zengin biyoaktif içeriği kapladığından daha yoğun bir sarı renk oluşumu gözlenmektedir. Renk analizinde ölçülen  $b^*$  değerinin niyozomlarda oluşan sarı renk yoğunluğu ile doğrudan ilişkili olduğu da literatürde doğrulanmıştır (Lombardelli ve ark., 2021). Enkapsülasyonda uygulanan sonikasyon süresinin ( $X_4$ ) diğer bağımsız değişkenler ile ikili etkilerinin görüldüğü yanıt yüzey grafiklerinde (Şekil 4.20c, 4.20e ve 4.20f) ise, bu sürenin artması durumunda  $X_1$  ve  $X_3$  değişkenlerinin azalıp,  $X_2$  değişkeninin artması ile  $Y_4$  yanıtının azalacağı da belirlenmiştir. Sonikasyon uygulaması ile azalan parçacık boyutu ile birim kütle başına düşen yüzey alanı artmaktadır. Bu artış renk bileşenlerinin oksijen, ışık gibi dış etmenlere olan temasını artırarak stabiliteyi bir miktar azaltmaktadır (Haas ve ark., 2019). Renk analizinde ölçülen parametrelerin kaplama materyali formülasyonuna göre değişkenlik göstermesi literatürde, flavonoid moleküllerce zengin siyah havuç ekstraktının kompleks koaservasyon metodu ile enkapsüle edildiği bir çalışmada da doğrulanmıştır. Bu çalışmada, kaplama materyali formülasyonu Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiş ve tez çalışmasına benzer olarak optimum enkapsülasyon koşulları bulunmuştur. Sözü edilen çalışmada kaplama materyalinin formülasyonuna göre renk analizinde ölçülen  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin tez çalışmasına benzer şekilde değiştiği rapor edilmiştir (Ayar-Sumer ve ark., 2024).



**Şekil 4.20.** Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin  $b^*$  değeri ( $Y_4$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

Tez çalışmasında yapılan enkapsülasyonun son yanıtı olan TBM için oluşturulan yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.21’de sunulmuştur. Şekil 4.21’de TBM ( $Y_5$ ) yanıtı için verilen yanıt yüzey grafikleri ile enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) yanıtı için verilen grafiklerin birbirine büyük oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum  $Y_1$  yanıtının  $Y_5$  yanıtı kullanılarak hesaplanmasından kaynaklanmaktadır. Çizelge 4.12’de  $Y_5$  yanıtı için verilen eşitlikteki ikili etkilerin katsayıları incelendiğinde, bu yanıtı en fazla etkileyen ikili etkinin  $X_1X_2$  olduğu Şekil 4.21a’dan da doğrulanmıştır. Buna göre, enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarını ( $X_2$ ) azalması ve enkapsülasyonda kullanılan sürfektanların molar oranının ( $X_1$ ) artması durumunda TBM yanıtının azalacağı öngörülmektedir.  $X_1$  değişkeninin, kolesterol miktarının ( $X_3$ ) ve uygulanan sonikasyon süresi ( $X_4$ ) ile ikili etkilerinin sunulduğu yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde kullanılan sürfektanların molar oranlarının minimum (1:1) olduğu deney koşullarında,  $X_3$  değişkeninin azalması ve  $X_4$  değişkeninin artması durumunda, TBM’nin de artacağı belirlenmiştir. (Şekil 4.21b ve 4.21c). Çizelge 4.12’te  $Y_5$  yanıtı için verilen ikinci dereceden model denklemdeki katsayılara göre, bu yanıtı en az etkileyen değişkenin  $X_2X_3$  olduğu yanıt yüzey grafiğinden de anlaşılmaktadır (Şekil 4.21d). Şekil 4.21e ve 4.21f’de verilen  $X_2X_4$  ve  $X_3X_4$  ikili etkileşimlerine göre kapsüllere uygulanan sonikasyon süresinin artması durumunda, enkapsülasyonda kullanılan ekstrakt miktarının maksimum (15 mg ekstrakt/100 mg sürfektan) olduğu ve kaplama materyalinde kullanılan kolesterol miktarının minimum (0.1 mg kolesterol/100 mg sürfektan) olduğu deney koşullarında  $Y_5$  yanıtının da artacağı belirlenmiştir. Literatürde sonikasyon uygulamasının niyozom stabilitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sonikasyon uygulama süresinin optimize edilmesi ile enkapsülasyon veriminin arttığı ve kabuk materyalinin daha iyi korunduğu rapor edilmiştir (Owodeha-Ashaka ve ark., 2021). Ejder meyvesindeki betalaince zengin ekstraktın lipozom yöntemi ile enkapsüle edildiği farklı bir çalışmada ise, tez çalışmasına benzer olarak ince film hidrasyon tekniği ile kapsül oluşturulmuş ve enkapsülasyon esnasında ilave edilen ekstrakt miktarı, kaplama materyalindeki sürfektan maddelerin molar oranı ve kaplama materyalini stabilize edici ajan miktarı optimize edilmiştir. Sözü edilen çalışmada optimize edilen parameterlerin hem enkapsülasyon verimine hem de betalain miktarına doğrudan etki ettiği rapor edilmiştir (Lin ve ark., 2022).



**Şekil 4.21.** Niyozomal enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerin TBM ( $Y_5$ ) üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafikleri

### 4.3.3. Niyozomal Enkapsülasyonda İşlem Koşullarının Optimizasyonu

Tez çalışmasının bu aşamasında niyozomal enkapsülasyon koşullarının optimizasyonu amacıyla, Design Expert 13 programı kullanılarak bir optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimizasyon çalışması yapılırken yanıtlar için, programda yer alan; istenilen hedefe ulaşma fonksiyonu kullanılmış enkapsülasyon koşulları için program tarafından belirlenen optimum koşullar ve yanıtlar için öngörülen değerler elde edilmiştir. Program tarafından, toplamda 100 farklı çözüm oluşturmuştur. Verilen çözümler arasından, istenilen hedefe ulaşma fonksiyonunun; 0.959 olduğu ilk çözüm seçilerek verilen koşullarda optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Buna göre niyozom enkapsülasyonu için optimum deney koşulları;  $X_1=1.161$ ,  $X_2= 14.440$  mg ekstrakt/100 mg sürfektan,  $X_3= 0.1$  mg kolesterol/100 mg sürfektan ve  $X_4= 89.99$  sn olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda deney gerçekleştirildiğinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'te sunulmuştur. Deneysel olarak elde edilen sonuçlar program çıktısı ile benzerlik göstermiştir.

**Çizelge 4.13.** Niyozom yöntemi ile gerçekleştirilen enkapsülasyonda belirlenen optimum deney koşullarında gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen deneysel ve teorik değerler (Y<sub>1</sub>: Enkapsülasyon verimi, Y<sub>2</sub>: Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (TAC<sub>CUPRAC</sub>) (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: renk analizinde ölçülen b değeri, Y<sub>5</sub>: Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık))

	Deneysel değer*	Teorik değer
Y <sub>1</sub>	96.06±0.014	96.36
Y <sub>2</sub>	3.06±0.059	3.13
Y <sub>3</sub>	24.41±0.263	25.20
Y <sub>4</sub>	2.81±0.070	2.75
Y <sub>5</sub>	687.30±0.010	695.85

\*Deneysel yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Literatürde, farklı kaynaklardan elde edilen betalaince zengin ekstraktların enkapsüle edildiği çeşitli literatür çalışmaları mevcuttur. Bir çalışmada, kırmızı pancar suyu konsantresindeki betalaince zengin bileşiklerin enkapsülasyonu için iyonik jelleşme metodu kullanılmış ve deney koşullarının optimizasyonu yanıt yüzey yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen kapsüllerdeki toplam betalain miktarı 295.52 mg betalain/100 g kuru ağırlık olarak rapor edilmiştir. Sözü geçen çalışmada optimum koşullarda elde edilen kapsüller altı hafta boyunca depolanmış ve depolama sonrasında toplam betalain miktarının 234.87 mg betalain/100 g kuru ağırlığa düştüğü belirlenmiştir (Tekin ve ark., 2023). Farklı bir çalışmada ise, ejder meyvesi kabuğundaki betalaince zengin biyoaktif bileşikler kaplama materyali kombinasyonları kullanılarak dondurmali kurutma metodu ile kapsüllenmiştir. Sözü edilen çalışmada, farklı kaplama malzemesi kombinasyonları ile kaplanan betalainlerin stabilitesi farklı pH, su aktivitesi ve sıcaklık koşullarında depolanarak değerlendirilmiştir. Alınan sonuçlara göre, kaplama materyalinin pektin-mikrokristalin selüloz olduğu deney koşullarında kapsüllerdeki betalain stabilitesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Tran ve ark., 2022).

#### **4.4. Optimum Koşullarda Elde Edilen Niyozomların Analizleri**

##### **4.4.1. Enkapsülasyon Stabilitesi**

Tez çalışmasında, niyozomal enkapsülasyon koşullarının optimize edilmesinden sonra bu koşullarda elde edilen niyozom örneğinde enkapsülasyon stabilitesinin belirlenmesi için örnekler 30 gün boyunca +4°C’de muhafaza edilmiş ve 1., 15. ve 30. günlerde örnekteki TBM miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Alınan sonuçlara göre, 1. 15. ve 30. günlerdeki enkapsülasyon stabiliteyi sırasıyla %100, %93.85 ve %74.98 olarak hesaplanmıştır. Literatürde, depolama süresince azalan stabilitenin doğrudan kaplama materyali ve enkapsülasyonu etkileyen diğer parametrelerden etkilendiği ifade edilmiştir. Buna göre, niyozom örneklerinin stabilitesi çift katmanlı yapıdan büyük ölçüde etkilenmektedir. Vezikül üzerindeki katmanların yapısına, depolama süresine ve sıcaklığa bağlı olarak değişmekte, ek olarak da iyonik olmayan yüzey aktif madde, faz geçiş sıcaklığı ve hidrokarbon zincirinin uzunluğunun artmasıyla azalmaktadır (Javani ve ark., 2021; Junyaprasert ve ark., 2012).

Literatürde, tez çalışmasında kullanılan kaplama materyalleri olan Span 60 ve Tween 80 ile kuersetin molekülünün niyozomal yöntemle enkapsüle edildiği bir çalışmada, kaplama materyaline stabilize edici bir ajan olarak fitosterol eklenmesinin +4°C’de bir aylık depolama sonunda eklenmeyen örneklere kıyasla enkapsülasyon stabilitesini arttırdığı ifade edilmiştir (Elmi ve ark., 2021). Tez çalışmasında niyozom yöntemi ile elde edilen örneklerde de kolesterol kullanılması enkapsülasyon stabilitesinin arttırmıştır. Ayrıca, kaplama materyalinde, hidrofobik özellikteki Span 60 sürfektanı kullanımı sayesinde membran hidrofobitesinin bir miktar arttığı ve kaplanan materyalinin polar özellikteki kısımları ile etkileşimi azaltarak membran stabilitesinin arttırdığı da rapor edilmiştir (Javani ve ark., 2021).

#### **4.4.2 Isıl Kararlılık**

Niyozomal enkapsülasyonda optimum koşullarda elde edilmiş örneğin ısıl kararlılığının belirlenmesi için örneğe 70°C’lik su banyosunda 30 dakika boyunca ısıl işlem uygulanmıştır. Yapılan ısıl işlem öncesinde ve sonrasında ölçülen TBM değerleri ölçülen veziküllerin ısıl kararlılığı % 92.91 olarak bulunmuştur. Tez çalışmasının ekstraksiyon aşamasında KE, UDE ve VMDE yöntemleri için hesaplanan ısıl kararlılık değerleri sırasıyla % 55.501, % 60.752 ve % 66.808 olarak ölçülmüştür. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen ısıl kararlılık değerlerinin, enkapsülasyon uygulanan örneğin değerinden daha düşük olması enkapsülasyon işleminin betalainlerin korunmasında etkili olduğunu göstermektedir.

Enkapsülasyon sonrasında, ısıl kararlılığın daha yüksek bulunmasının formülasyona katılmış olan kolesterol ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Literatürde kolloidal yapıdaki nanoveziküler sistemlerin yüksek sıcaklık koşullarında stabilitesini büyük ölçüde kaybettiği rapor edilmektedir. Bu nedenle niyozomal formülasyona kolesterol gibi bir stabilizatör eklenmesi kaplama materyalinin daha dirençli olmasını sağlarken, ayrıca örnekten sızıntı olmasını minimize eden önemli bir kriter olduğu da ifade edilmiştir (Nasseri, 2005). Diğer bir çalışmada steroid türevi olan kolesterolün niyozomal formülasyona eklenmesi ile veziküler stabilizasyonun arttığı, membran geçirgenliğinin iyileştirildiği ve faz geçiş sıcaklığını düşürerek veziküllere sertlik kazandırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca, kolesterol eklenmesi ile kaplama materyalinde hidrojen bağları olduğu için kapsüllerdeki mekanik stabilitenin de arttığı ifade edilmiştir (Saleh ve ark.,

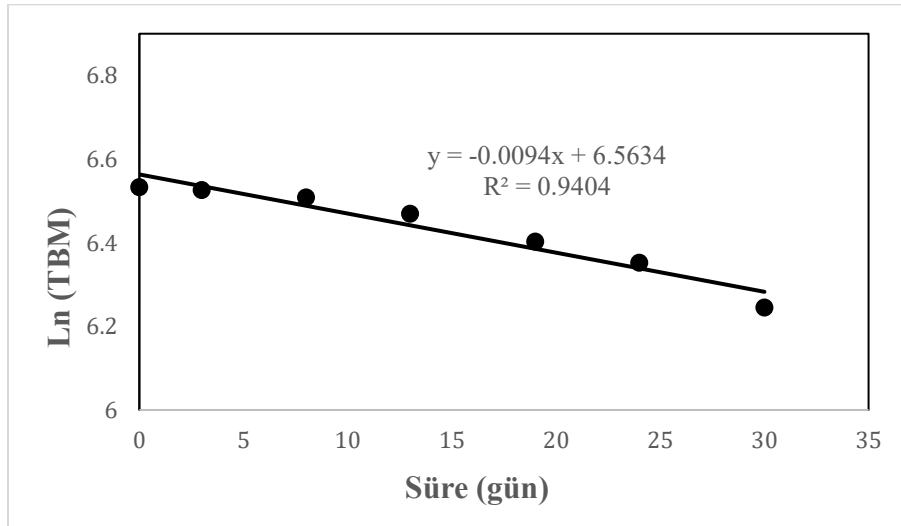
2022). Kuersetin yüklü farklı formülasyonlara sahip niyozomal veziküllerin portakal suyuna uygulandığı bir çalışmada, örneklerin ısıl stabilitesi portakal suyuna uygulanan pastörizasyon işlemi sonrasında ölçülmüştür. Çalışmadaki ısıl stabilite değerlerinin pastörizasyon sonrasında %29.21-50.35 arasında değiştiği ifade edilmiştir (Elmi ve ark., 2021).

#### 4.4.3. Depolama Sırasında Betalain Degradasyonu

Optimum koşullarda hazırlanan ekstrakt yüklü niyozomlar karanlık ortamda ve +4°C’de, 30 gün boyunca depolandıktan sonra içeriğinde bulunan TBM belirli aralıklarla ölçülerek betalain degradasyonu incelenmiş ve degradasyon sabiti hesaplanmıştır. Betalain degradasyonunun 1. dereceden kinetik modele uyduğu ifade edilmiştir. Degradasyon hız sabiti k ise zamana (t) karşı betalain miktarının logaritmasının alınarak çizilmesi sonucu Eşitlik (4.1) bulunmuştur.

$$\ln(\text{TBM}) = 9.4 \times 10^{-3} \text{gün} + 6.5634 \quad (4.1)$$

Söz konusu denklemin R<sup>2</sup> değeri ise 0.9404 olarak belirlenmiştir. Bulunan denklemin grafiği ise Şekil 4.22’de sunulmuştur.



Şekil 4.22. Betalain degradasyon sabitinin hesaplanması için kullanılan birinci dereceden denklem ve grafik

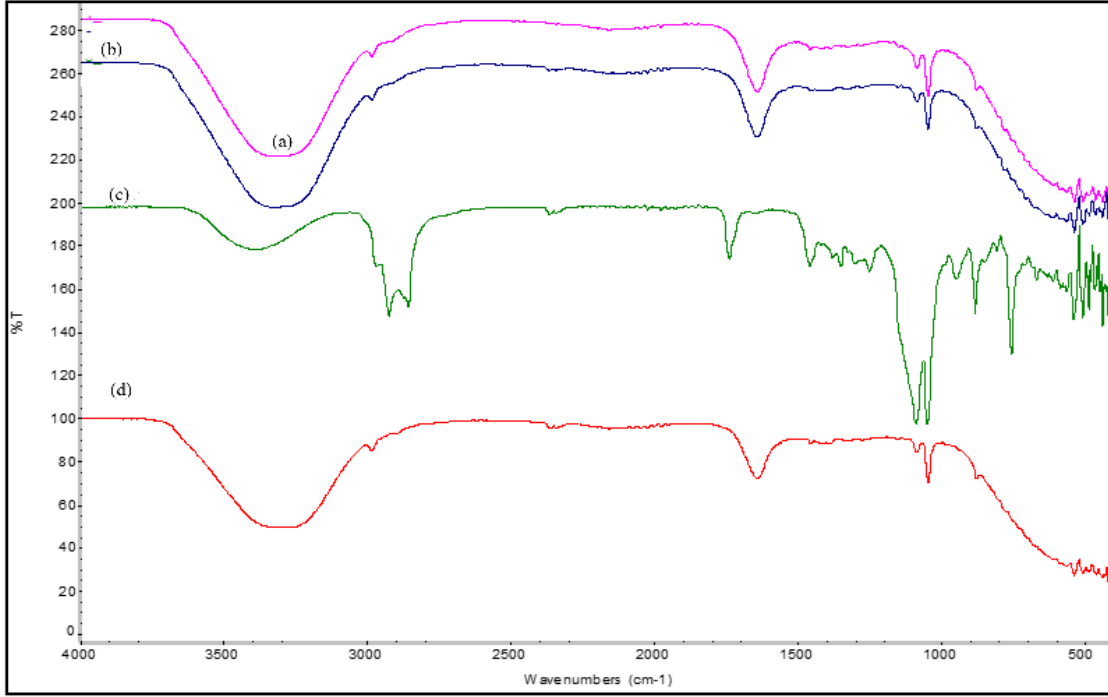
Betalain degradasyonunu etkileyen başlıca etmenler literatürde, sıcaklık, oksijen, ışık, pH, su aktivitesi, depolama koşulları ve metal iyonlarının varlığı olarak ifade edilmiştir (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021). Tez çalışmasındaki ekstrakt yüklü niyozomlar +4 °C sabit sıcaklıkta, ışık almayan ve sabit pH'da (optimum koşullarda elde edilen ekstrakt yüklü niyozomun pH değeri 6.91) bir ortamda depolanarak betalain degradasyonu incelenmiştir. Bu nedenle betalain degradasyonu oksidasyon ile ilişkilendirilmektedir. Literatürde betalain oksidasyonunun oksijen molekülünün betalain molekülünden bir elektron alarak radikal oluşturması ile başladığı ifade edilmiştir. Oluşan radikal moleküllerin polimerleşerek betalainin kromofor yapısını bozduğu ve rengin açılmasına neden olduğu belirtilmiştir (Martins ve ark., 2024).

Literatürde sütte ısıl işlem sonrasında betalain degradasyonunun incelendiği benzer bir çalışmada da ölçülen TBM değerlerine göre betalain degradasyonunun buna benzer olarak birinci dereceden kinetik modele uyduğu görülmüştür (Güneşer, 2016). Kırmızı pancar kabuğu kullanılarak betalain degradasyonu incelenen farklı bir çalışmada ise, betalain degradasyonunun birinci dereceden kinetik modele uyduğunu ifade edilmiş ayrıca, betasiyanin degradasyonunun ile betaksantin degradasyonundan daha hızlı gerçekleştiği de bulunmuştur (Zin ve Bánvölgyi, 2021). Literatürde ayrıca, betaksantinlerin betasiyaninlere göre daha kararlı bileşikler olduğu ifade edilmiş, çeşitli dış etmenlerle oluşan betasiyaninlerin degradasyonu ile kırmızı mor renkli renk bileşiklerinin turuncu sarı renkli renk bileşenlerine dönüşerek toplamda ölçülen betalain miktarının çok değişmediği rapor edilmiştir (Lombardelli ve ark., 2021).

#### **4.4.5. Niyozomların Karakterizasyonu**

##### **4.4.5.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)**

Optimum koşullarda elde edilmiş ekstrakt yüklü niyozomlar için gerçekleştirilen karakterizasyonda, ilk olarak FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.23'te VMDE'nin optimum koşullarında elde edilmiş ekstrakt, ekstraksiyonda kullanılmış olan çözücü (%20 etanol çözeltisi), optimum koşullarda elde edilmiş ekstrakt içermeyen boş niyozomal vezikül ve ekstrakt yüklü niyozomal vezikül örneklerinin FTIR spektrumu sunulmuştur.



**Şekil 4.23.** FTIR spektrumları: (a) ekstrakt eklenmiş niyozom, (b) ekstrakt, (c) boş niyozom, (d) ekstraktta kullanılan solvent

Betalainler ve fenolik bileşikleri içeren ekstrakt örneği yüklü niyozomal vezikül ve ekstraktın kendisinin FTIR spektrumları incelendiğinde (Şekil 4.23a ve 4.23b), yapısal olarak birbirine büyük oranda benzediği görülmektedir. Farklı kaktüs meyvesi çeşitlerinden elde edilen betaksantin içeren ekstraktın sprey kurutma metodu ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, bu tez çalışmasına benzer olarak FTIR analizi gerçekleştirilmiş ve elde edilen kapsül ile kapsüllenmemiş ekstraktın FTIR spektrumlarının benzer olduğu rapor edilmiştir (Delia ve ark., 2019). Şekil 4.23a ve 4.23b’de görülen  $1641.87$  ve  $1455.49$   $\text{cm}^{-1}$  pikleri, sırasıyla yapıda bulunan asimetrik ve simetrik olan C=O gruplarını ifade etmektedir (Prabhu ve ark., 2023). Ayrıca betalaince zengin ekstraktın spektrumunda bulunan  $1080.70$   $\text{cm}^{-1}$  bandının C–O–C simetrik geriliminden kaynaklandığı görülmektedir. Kırmızı kaktüs meyvesi ekstraktının pH indikatörü olarak aktif paketlemede kullanıldığı bir çalışmada, buradaki FTIR analizi sonucuna benzer sonuçlar elde edilmiştir. (Halloub ve ark., 2023). Buna göre, Şekil 4.23’te ekstrakt örneğinde betalain yapısında bulunan C–H bağının deformasyonu sonucu oluşan  $1046.26$   $\text{cm}^{-1}$  gerilimi ile C–COOH bağının  $876.08$   $\text{cm}^{-1}$  gerilimi tespit edilmiştir. Ekstrakt içermeyen boş niyozom örneğinin spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.23c), kolesterolün hidroksil grupları ile kaplama materyalinde sürfektan olarak kullanılan Span

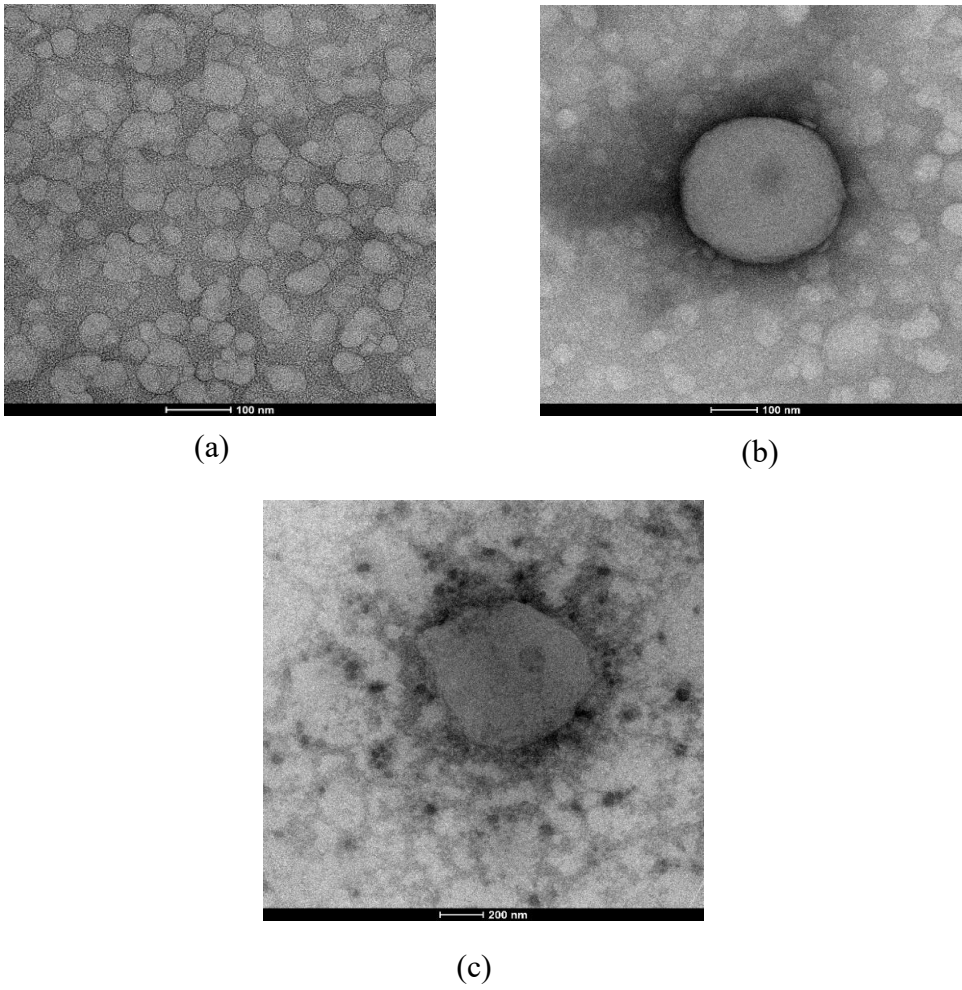
60'ın karbonil grupları arasındaki hidrojen bağları vezikülün stabilitesini arttıran önemli bir oluşum olduğu belirlenmiştir (Khan ve ark., 2019). Boş niyozomda görülen Span 60'a özgü olan 2924.25 ve 3388.18  $\text{cm}^{-1}$  pikleri hidroksil grupları ile aromatik  $\text{CH}_3$  grupları arasındaki titreşimlere özgü karakteristik pikler olarak görülmektedir. Ayrıca, sürfektanların yapısındaki ester gruplarındaki C—O gerilimi, 1739.11  $\text{cm}^{-1}$  pikinde belirlenmiştir (Temprom ve ark., 2022). Boş niyozom örneği içeriğindeki kolesterolden kaynaklanan C-H gerilimi, sırasıyla metilen ve metil gruplarının verdiği iki karakteristik pik olan 2970.85 ve 2855.37  $\text{cm}^{-1}$  piklerinde görülmektedir (Temprom ve ark., 2022). Bunlarla birlikte yapıda bulunan 1475.51  $\text{cm}^{-1}$  piki Tween 80'in yapısında bulunan yağ asitlerinin metilen gruplarını ifade ederken, 1088.80  $\text{cm}^{-1}$  piki yine Tween 80 yapısında bulunan C—O titreşimlerini ifade etmektedir (Bisht ve ark., 2022).

Şekil 4.23d incelendiğinde görülen 880.28, 1046.39 ve 2983.05  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında tespit edilen piklerin etanolün yapısındaki O-H gerilmesinden kaynaklandığı görülmektedir (Thummajitsakul ve ark., 2020). Ayrıca literatürde 3200-3500 bandında derin olarak görülen pikin etanolün yapısındaki O-H geriliminden ve hidrojen bağından kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Kainat ve ark., 2022).

#### **4.4.5.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)**

Optimum koşullarda elde edilmiş olan niyozom örneğinde, 1. günde ve +4 °C sıcaklıkta 30 gün boyunca depolama sonucunda TEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TEM analizi sonuçları Şekil 4.24'te verilmiştir. Şekil 4.24a ve 4.24b kapsüllerin 1. gün sonuçları iken; Şekil 4.24c, 30 günlük depolama sonrasındaki görüntüleri göstermektedir. Depolama öncesinde, niyozomlar daha kompakt ve küresel şekle sahipken 30 günlük depolama sonrasında niyozomların kısmen dağılmış olduğu görülmektedir. TEM analizine göre niyozomların parçacık boyutunun ise yaklaşık olarak 250 nm olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar parçacık boyutu analizi ile uyumlu bulunmuştur. 30 günlük depolama sonrasında ise, parçacık boyutunun arttığı ve örneklerdeki homojen yapının kısmen yok olduğu da görülmektedir (Şekil 4.24c). Optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen niyozom örneğinde kolesterol kullanılması depolama esnasında stabilitenin büyük ölçüde korunmasını sağlamıştır (Yeo ve ark., 2017). Niyozom örneklerinin stabilitesini arttırmak için kaplama materyalinde dedekanol kullanılan farklı bir çalışmada, stabilize edici ajanların niyozom formülasyonlarına katılması ile hem daha

stabil örnek eldesi sağlandığı hem de morfolojinin stabilizatör eklenmeyen örneğe göre daha homojen ve küresel olduğu TEM analizi mikrogramları ile doğrulanmıştır (Machado ve ark., 2021) Literatürdeki bir niyozom çalışmaları derlemesinde, karakterizasyonlar esnasında TEM analizi kullanılması, örneklerin morfolojisi ve parçacık boyutunu belirleyebilmek için kritik bir adım olduğu ifade edilmiştir. Sözü geçen çalışmada burada elde edilen TEM görüntülerine benzer özellikte niyozomlar da sunulmuştur (Ge ve ark., 2019). Sakız ağacı reçinesinden elde edilen esansiyel yağın niyozom yöntemi ile enkapsüle edildiği bir çalışmada elde edilen TEM görüntüleri de tez çalışmasına benzer özelliktedir (Fahmy ve ark., 2023).



**Şekil 4.24.** Optimum koşullarda elde edilen niyozomda transmisyon elektron mikrogram sonuçları: (a) ve (b) 1. Gün için sırasıyla 23,000 x ve 49, 000 x büyütme; (c) 30.gün için 49,000 x büyütme

#### 4.4.5.3. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli

Optimum koşullarda elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu amacıyla parçacık boyutu ve zeta potansiyeli analizleri 1. ve 30. günlerin sonunda gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen kapsüllerde depolamanın 1. gününde parçacık boyutu ve zeta potansiyeli sırasıyla  $221.70 \pm 1.778$  nm ve  $-19.30 \pm 0.520$  mV olarak bulunmuştur. Literatürde niyozomal veziküllerin, parçacık boyutlarına göre 3'e ayrıldığı ifade edilmektedir: büyük tek katmanlı misel ( $>100$  nm), çok katmanlı veziküller ( $>50$  nm) ve küçük tek katmanlı veziküller (25–50 nm) (Yeo ve ark., 2017). Bu tez çalışmasında yapılan enkapsülasyon optimizasyonu sonucu elde edilen optimum koşuldaki kapsüller parçacık boyutu analizine göre büyük tek katmanlı misel kategorisine girmektedir. Niyozomal veziküllerin parçacık boyutunun birçok faktörden (kaplama materyalinde kullanılan sürfektanların çeşidi, molar oranları, ultrason uygulaması yapılıp yapılmadığı vb.) etkilendiği rapor edilmiştir (Amoabediny ve ark., 2018).

Bir dispersiyondaki zeta potansiyelinin büyüklüğü, benzer yükü yüklenmiş parçacıklar arasındaki elektrostatik itmenin derecesini göstermektedir. Potansiyel küçükse, çekici kuvvetler itmeyi yenebilir ve kolloidal dispersiyon daha stabil yapıda kalmaktadır (Elmi ve ark., 2021). Literatürde ayrıca parçacık boyutu ve emülsiyon stabilitesinin bir göstergesi olan zeta potansiyeli değerleri kullanılan enkapsülasyonda sürfektan cinsi, sürfektanların birbirine göre molar oranları, kolesterol gibi bir stabilizatör kullanımı ya da ultrason uygulaması gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca yine literatür kaynaklarında HLB değerinin artması ile, parçacık boyutunun da artacağı ifade edilmektedir (Rad ve ark., 2022). Bu yönden incelendiğinde optimum enkapsülasyon koşullarında, span 60'ın Tween 80'e göre daha fazla oranda emülsiyona katılması hem küresel şekilli ve parçacık boyutu daha küçük kapsüller elde edilmesi açısından doğrulanmıştır. Ayrıca kapsüllere uygulanan ultrasonikasyon işlemi ile homojen dağılımlı bir parçacık boyutu profili sağlandığı da ifade edilmiştir (Amoabediny ve ark., 2018). Literatürde kuersetin ve resveratrol polifenollerinin niyozom yöntemi ile enkapsüle edildiği tez çalışmasına benzer kaplama materyallerinin kullanıldığı bir çalışmada, kapsüllerin parçacık boyutunun 194 nm ve zeta potansiyelinin -20 mV olarak bulunduğu rapor edilmiştir (Murugesan ve ark., 2022).

Depolamanın 30. gününde ölçülen parçacık boyutu ve zeta potansiyeli değerleri ise, sırasıyla  $143.17 \pm 2.376$  nm ve  $-19.93 \pm 0.981$  mV olarak bulunmuştur. Parçacık boyutu 30. günde istatistiksel açıdan bir miktar düşerken, zeta potansiyelinin istatistiksel olarak 1. gün

değeri ile aynı olduğu tespit edilmiştir. Parçacık boyutunun bir miktar azalması depolama süresince niyozom bütünlüğünün bir miktar bozulup dağılmasından kaynaklı olduğu söylenebilir. Literatürde, D<sub>3</sub> vitamininin farklı niyozom formülasyonları ile kaplandığı bir çalışmada hazırlanan nano boyutlu kapsüller, +4°C’de 40 gün boyunca depolanmıştır. Bazı formülasyonlarda 40 günlük depolama sonrasında parçacık boyutunun tez çalışmasına benzer olarak bir miktar azaldığı rapor edilmiştir (Talebi ve ark., 2021).

#### **4.5. Ekstrakt Yüklü Niyozomların Yoğurda Uygulanması**

##### **4.5.1. Yoğurt Örneklerinde Fizikokimyasal Özellikler**

Tez çalışmasının bu aşamasında, VDME’nin optimum koşullarında konsantre haldeki ekstrakt ve optimum koşullarda elde edilen kapsülün farklı konsantrasyonları (2, 4 ve 6 (mL/100 g yoğurt)) eklenerek yapılan ve hiçbir ekleme yapılmamış kontrol yoğurdu örnekleri +4°C’de 14 gün boyunca depolanmış ve depolamanın 1. 7. ve 14. günlerinde belirli fizikokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1. Günündeki yoğurt örnekleri Ekler kısmında Şekil E’de sunulmuştur.

##### **4.5.1.1. pH**

Her örnek için depolama süresince değişen pH değerleri Çizelge 4.14’te sunulmuştur. Genel olarak depolama sürecinde oluşan laktik asit oluşumuna bağlı olarak yoğurtların pH değerlerinde düşüş olduğu görülmüştür. Literatürde bu durum laktik asit bakterilerinin fermantasyon sonrasındaki depolama esnasında oluşturdukları organik asit miktarının artması şeklinde açıklanmıştır (Nakov ve ark., 2024). Ekstrakt eklenen yoğurtların ilk pH değerleri incelendiğinde ekstrakt miktarının artması ile ilk pH değerlerinin de arttığı gözlemlenmiştir. Eklenen konsantre haldeki ekstraktın pH değeri 6.60 olduğundan eklenen ekstrakt miktarının artması durumunda ilk pH’ların bu seyirde değiştiği bulunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen yoğurt örneklerinin ilk pH değerleri incelendiğinde ise 2% ve 4% niyozom eklenen yoğurtlarda istatistiksel olarak benzer sonuçlar elde edilmişken, 6% niyozom eklenen kapsülün diğer iki konsantrasyondan düşük olduğu görülmektedir. Depolamanın 7. gününde ise, 6%ekstrakt eklenen örnekteki pH değerinin kontrol yoğurdu ve diğer yoğurt örneklerinden hala en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününde

ölçülen pH değerleri ise istatistiksel olarak birbirleri ile büyük ölçüde aynı olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.14.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °'de depolama süresince değişen pH değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
pH	Kontrol	4.49 <sup>C,a</sup> ±0.011	4.22 <sup>C,b</sup> ±0.006	4.11 <sup>A,c</sup> ±0.015
	%2 ekstrakt	4.33 <sup>E,a</sup> ±0.010	4.20 <sup>C,b</sup> ±0.006	4.06 <sup>BC,c</sup> ±0.015
	%4 ekstrakt	4.44 <sup>D,a</sup> ±0.010	4.26 <sup>B,b</sup> ±0.015	4.07 <sup>BC,c</sup> ±0.021
	%6 ekstrakt	4.66 <sup>A,a</sup> ±0.006	4.32 <sup>A,b</sup> ±0.015	4.07 <sup>ABC,c</sup> ±0.015
	%2 niyozom	4.55 <sup>B,a</sup> ±0.006	4.26 <sup>B,b</sup> ±0.021	4.07 <sup>BC,c</sup> ±0.021
	%4 niyozom	4.53 <sup>B,a</sup> ±0.035	4.18 <sup>C,b</sup> ±0.015	4.05 <sup>C,c</sup> ±0.012
	%6 niyozom	4.32 <sup>E,a</sup> ±0.015	4.14 <sup>D,b</sup> ±0.006	4.11 <sup>AB,b</sup> ±0.015

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.1.2. Renk Analizi

Yoğurt örneklerinde depolama süresince ölçülen renk analizi için bulunan sonuçlar Çizelge 4.15-4.18'de verilmiştir. Renk analizinde a\* değeri kırmızı veya yeşilliği, b\* değeri sarılık veya maviliği, L\* değeri ise 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki aydınlık derecesini ifade etmektedir (Ayustaningwarno ve ark., 2021). L\* değerleri incelendiğinde kontrol örneğinde 1. günde diğer örneklerle göre daha yüksek L\* değeri, 6% niyozom içeren örnekte ise en düşük L\* değeri tespit edilmiştir. Bu durum eklenen ekstraktın ve niyozomun L\* değerini bir miktar düşürmesi ile açıklanabilir. Literatürde kırmızı pancar ekstraktı ve kaplanmış ekstraktın yoğurda eklendiği bir çalışmada da tez çalışmasına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sözü edilen çalışmada kontrol örneği için ilk günde ölçülen L\* değeri ekstrakt ve kapsüle eklenen örneklere kıyasla daha yüksek olduğu rapor

edilmiştir (Flores-Mancha ve ark., 2021). Depolama süresince kontrol örneğindeki L\* değerinin bir miktar arttığı tespit edilmiştir. Niyozom eklenen örneklerde depolama süresince L\* değerlerinde önemli bir değişim gözlenmezken, ekstraktın farklı konsantrasyonlarının eklendiği yoğurt örneklerinde ise depolama süresince istatistiksel olarak farklı olan L değerleri bulunmuştur (Çizelge 4.15).

**Çizelge 4.15.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °’de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen L\* değerleri

Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
	1	7	14
Kontrol	79.93 <sup>A,b</sup> ±0.401	81.39 <sup>A,a</sup> ±0.603	81.19 <sup>A,a</sup> ±0.433
%2 ekstrakt	78.24 <sup>B,a</sup> ±0.168	78.74 <sup>B,a</sup> ±1.354	78.03 <sup>BC,a</sup> ±0.502
%4 ekstrakt	77.41 <sup>BC,b</sup> ±0.508	78.00 <sup>BC,ab</sup> ±0.480	79.17 <sup>B,a</sup> ±0.600
L* %6 ekstrakt	77.34 <sup>BC,a</sup> ±0.075	76.38 <sup>C,a</sup> ±0.040	72.38 <sup>D,b</sup> ±0.944
%2 niyozom	77.89 <sup>B,a</sup> ±0.419	77.80 <sup>BC,a</sup> ±0.142	77.78 <sup>BC,a</sup> ±0.984
%4 niyozom	77.60 <sup>B,a</sup> ±0.384	77.86 <sup>BC,a</sup> ±0.898	77.47 <sup>BC,a</sup> ±0.029
%6 niyozom	75.93 <sup>C,a</sup> ±1.163	76.09 <sup>C,a</sup> ±0.191	76.84 <sup>C,a</sup> ±0.202

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 4.16’de ise örnekler için renk analizinde ölçülen a değerleri sunulmuştur. Ölçülen a\* değerlerine göre, depolama süresince kontrol örneğinde negatif a\* değerleri görülürken, hem ekstrakt eklenen hem de niyozom eklenen örneklerde pozitif a\* değerleri ölçüldüğü tespit edilmiştir. Literatürde, farklı oranlarda karadut ekstraktı eklenen yoğurt örneklerinde yapılan renk analizi sonucunda da benzer sonuçlar bulunduğu rapor edilmiştir (Du ve ark., 2021). Ayrıca yoğurda eklenen ekstrakt ve niyozom miktarı arttıkça 1. günde ölçülen a\* değerlerinin de arttığı istatistiksel olarak görülmektedir. 6% ekstrakt ve 6% niyozom eklenen yoğurt örneklerinde depolama süresince ölçülen a\*

değeri azalırken, diğer örneklerde depolama süresince a\* değerlerinde önemli bir değişiklik olmadığı da tespit edilmiştir. 7. ve 14. gün örneklerinde eklenen ekstrakt ve niyozom miktarının azalması ile a\* değerlerinin de istatikselsel olarak azaldığı belirlenmiştir.

**Çizelge 4.16.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °’de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen a\* değerleri

Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
	1	7	14
Kontrol	-1.70 <sup>G,a</sup> ±0.021	-1.74 <sup>G,a</sup> ±0.006	-1.73 <sup>F,a</sup> ±0.056
%2 ekstrakt	0.31 <sup>F,a</sup> ±0.010	0.32 <sup>F,a</sup> ±0.021	0.29 <sup>E,a</sup> ±0.023
%4 ekstrakt	1.03 <sup>D,a</sup> ±0.026	1.05 <sup>D,a</sup> ±0.012	1.02 <sup>C,a</sup> ±0.029
a* %6 ekstrakt	3.78 <sup>A,a</sup> ±0.064	3.84 <sup>A,a</sup> ±0.006	3.05 <sup>A,b</sup> ±0.101
%2 kapsül	0.63 <sup>E,a</sup> ±0.052	0.61 <sup>E,a</sup> ±0.029	0.56 <sup>D,a</sup> ±0.025
%4 kapsül	1.65 <sup>C,a</sup> ±0.017	1.66 <sup>C,a</sup> ±0.021	1.63 <sup>B,a</sup> ±0.010
%6 kapsül	2.12 <sup>B,a</sup> ±0.010	1.99 <sup>B,b</sup> ±0.021	1.76 <sup>B,c</sup> ±0.040

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatikselsel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatikselsel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 4.17’deki b\* değerleri incelendiğinde, 1., 7. ve 14. gün değerlerine göre kontrol yoğurt örneğinde ekstrakt ve niyozom eklenmiş örneklere göre istatikselsel olarak daha düşük b\* değeri ölçüldüğü bulunmuştur. Betalaince zengin ekstraktta sarı renk yoğunluğu fazla olduğundan 1. gün b\* değerlerinin, yoğurda eklenen ekstrakt ve niyozom miktarı arttıkça arttığı görülmektedir. 7. ve 14. gün örnekleri kendi içinde incelendiğinde ise, 1. gün değerlerine benzer olarak eklenen niyozom ve ekstrakt miktarının artması durumunda istatikselsel olarak b değerinin de arttığı belirlenmiştir. Aynı konsantrasyondaki ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde 1. günde ölçülen b\* değerleri istatikselsel olarak birbirleri ile aynı bulunmuştur. Ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 7. gününden sonra istatikselsel

olarak b değerlerinde bir miktar düşme olduğu belirlenmiştir. Niyozom eklenen örneklerde ise sadece 6% oranında niyozom eklenen örnekte bir miktar düşme olduğu tespit edilmiştir. Diğer oranlarda kapsül eklenen örneklerde ise istatistiksel olarak önemli bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Bu durum betalaince zengin ekstraktın yoğurt içeriğinde enkapsülasyon ile önemli ölçüde korunduğunu göstermektedir. Literatürde *Solanum melongena* L. bark'dan ekstrakte edilen antosiyanince zengin ekstraktın hem kendisi hem de sprey kurutma ile enkapsüle edilmiş halleri farklı konsantrasyonlarda yoğurt örneklerine uygulanmış ve enkapsüle edilmiş örneklerde depolama süresince renklerin daha korunduğu ifade edilmiştir (Barretto ve ark., 2020).

**Çizelge 4.17.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °'de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen b\* değerleri

Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
	1	7	14
Kontrol	4.01 <sup>E,a</sup> ±0.167	3.75 <sup>G,a</sup> ±0.090	3.94 <sup>F,a</sup> ±0.211
%2 ekstrakt	8.59 <sup>D,a</sup> ±0.061	8.41 <sup>F,ab</sup> ±0.147	8.25 <sup>E,b</sup> ±0.049
%4 ekstrakt	10.51 <sup>C,a</sup> ±0.067	10.48 <sup>D,a</sup> ±0.121	10.05 <sup>C,b</sup> ±0.059
%6 ekstrakt	15.07 <sup>A,a</sup> ±0.295	14.78 <sup>A,a</sup> ±0.012	11.59 <sup>A,b</sup> ±0.459
b*			
%2 niyozom	8.75 <sup>D,a</sup> ±0.104	8.95 <sup>E,a</sup> ±0.147	9.03 <sup>D,a</sup> ±0.170
%4 niyozom	11.02 <sup>C,a</sup> ±0.142	11.04 <sup>C,a</sup> ±0.030	11.18 <sup>AB,a</sup> ±0.006
%6 niyozom	12.69 <sup>B,a</sup> ±0.303	11.56 <sup>B,b</sup> ±0.125	10.76 <sup>B,c</sup> ±0.078

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 4.18'de depolama süresince her örnek için kontrol yoğurduna göre hesaplanan  $\Delta E$  değerleri sunulmuştur. Depolama süresince %2'lik ekstrakt ve niyozom eklenen örnek ile %4 niyozom eklenen örnekte  $\Delta E$  değerlerinde istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmezken, diğer örnekler için  $\Delta E$  değerlerinin bir miktar azaldığı belirlenmiştir. 1.

gün örnekleri incelendiğinde, eklenen ekstrakt ve niyozom miktarının arttığında ölçülen  $\Delta E$  değerlerinin arttığı bulunmuştur. Bunun nedeni, ölçülen renk değerlerinin (L, a\* ve b\*) yoğurda eklenen betelaince zengin katkı maddesi miktarı arttıkça kontrol grubu örneğinden uzaklaşmasıdır. Bu durumun 7. ve 14. gün örnekleri için de benzer olduğu Çizelge 4.18’den anlaşılmaktadır. Kırmızı pancar ve ejder meyvesinden elde edilen betasiyanince zengin ekstraktların aktif paketlemede renk indikatörü olarak kullanıldığı bir çalışmada, ekstraktlar paketleme materyaline farklı konsantrasyonlarda eklenmiş ve renkleri hiçbir ekleme yapılmayan kontrol grubu paketi ile karşılaştırılmıştır. Sözü geçen çalışmada elde edilen sonuçlara göre, aktif paketlerde ölçülen  $\Delta E$  değerleri pakete koyulan betasiyanince zengin ekstrakt miktarı arttıkça arttığı rapor edilmiştir (Le ve ark., 2024).

**Çizelge 4.18.** Farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C °’de depolama süresince yapılan renk analizi sonucu elde edilen  $\Delta E$  değerleri

Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
	1	7	14
%2 ekstrakt	5.28±0.102 <sup>D,a</sup>	5.11±0.094 <sup>F,a</sup>	5.07±0.143 <sup>E,a</sup>
%4 ekstrakt	7.49±0.227 <sup>C,a</sup>	7.30±0.142 <sup>D,a</sup>	6.68±0.022 <sup>C,b</sup>
%6 ekstrakt	12.61±0.301 <sup>A,a</sup>	12.62±0.015 <sup>A,a</sup>	11.73±0.296 <sup>A,b</sup>
$\Delta E$			
%2 niyozom	5.67±0.095 <sup>D,a</sup>	5.85±0.171 <sup>E,a</sup>	5.96±0.250 <sup>D,a</sup>
%4 niyozom	8.11±0.025 <sup>C,a</sup>	8.09±0.250 <sup>C,a</sup>	8.28±0.011 <sup>B,a</sup>
%6 niyozom	10.32±0.675 <sup>B,a</sup>	9.24±0.031 <sup>B,b</sup>	8.19±0.07 <sup>B,c</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.1.3. Su Aktivitesi

Yoğurt örneklerinde depolama süresince ölçülen su aktivitesi için bulunan sonuçlar Çizelge 4.19’da görülmektedir. Hem kontrol örneğinde hem de farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde depolama süresince su aktivitesi

değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Literatürde yoğurt örneğine eklenen farklı katkıları ile yapılan çalışmalarda su aktivitesi ölçümlerinde hem tez çalışmasına benzer hem de farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum kullanılan katkı maddesinin hammaddesinin yapısına göre değişkenlik göstermektedir. Stirred tipte yoğurt örneklerine farklı konsantrasyonlarda *Mentha pulegium* L. baharatı eklenen bir çalışmada, tez çalışmasına benzer olarak depolamanın 1., 7. ve 14. günlerinde su aktivitesi değerleri ölçülmüş, ve depolama süresince su aktivitesi değerlerinde istatistiksel açıdan bir miktar değişiklik olduğu ifade edilmiştir (Balpetek Külcü ve ark., 2021). Yoğurda farklı konsantrasyonlarda yaban mersini posası eklenen farklı bir çalışmada ise, depolama süresince su aktivitesi değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim olmadığı rapor edilmiştir (Şengül ve ark., 2022). Tez çalışmasında ölçülen değerlerinde depolamanın birinci günlerindeki su aktivitesi değerlerinin hem kontrol örneğinde hem de ekstrakt ile niyozom eklenen örneklerde istatistiksel açıdan farklı olmadığı bulunmuştur. 7. ve 14. gün örnekleri karşılaştırıldığında ise su aktivitesi değeri en yüksek olan örnek 6%kapsül eklenen örnek olarak tespit edilmiştir. Bu durumun eklenen katkı maddesinin miktarının artışından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

**Çizelge 4.19.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 C° de depolama süresince değişen su aktivitesi değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
aw	Kontrol	0.97±0.005 <sup>A,a</sup>	0.97±0.002 <sup>AB,a</sup>	0.97±0.003 <sup>B,a</sup>
	%2 ekstrakt	0.97±0.002 <sup>A,a</sup>	0.97±0.002 <sup>AB,a</sup>	0.97±0.004 <sup>B,a</sup>
	%4 ekstrakt	0.96±0.000 <sup>A,b</sup>	0.97±0.003 <sup>AB,a</sup>	0.97±0.000 <sup>B,a</sup>
	%6 ekstrakt	0.97±0.003 <sup>A,a</sup>	0.97±0.003 <sup>AB,a</sup>	0.97±0.003 <sup>AB,a</sup>
	%2 niyozom	0.97±0.008 <sup>A,a</sup>	0.97±0.007 <sup>B,a</sup>	0.97±0.003 <sup>AB,a</sup>
	%4 niyozom	0.97±0.005 <sup>A,a</sup>	0.97±0.006 <sup>AB,a</sup>	0.96±0.004 <sup>B,a</sup>
	%6 niyozom	0.97±0.006 <sup>A,a</sup>	0.98±0.003 <sup>A,a</sup>	0.98±0.010 <sup>A,a</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.1.4. Tekstür Profili Analizi

Tez çalışmasında yapılan yoğurt örneklerine uygulanan tekstür analizi sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.20-24'te sunulmuştur. Tekstür analizinde 4 parametreye (sertlik, konsistens, iç yapışkanlık ve  $\mu$  indeksi) bakılmıştır. Yoğurt kalitesini belirleyen pıhtı sıklığı ya da yapının deformasyonu için gerekli maksimum kuvvet olarak tanımlanan sıklık (firmness) tekstür analizinin önemli parametrelerinden biridir. Çizelge 4.20'e göre, sertlik parametresi genel olarak incelendiğinde sertlik değerinin hem kontrol örneği hem de farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolama süresince istatistiksel açıdan arttığı belirlenmiştir. Yoğurt prosesi esnasında süt matriksine meyve ve sebze bazlı ilave yapılması, su tutma kapasitesini artırarak tekstür ve sıklığı etkilemektedir (Yıldız ve Ozcan, 2019). Literatürde elma ve karadut posasının farklı konsantrasyonları eklenen yoğurt örneklerinde yapılan tekstür analizi sonuçlarında da depolama süresince sertlik değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Du ve ark., 2021; Wang ve ark., 2020c).

**Çizelge 4.20.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen sertlik değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
Sertlik (N)	Kontrol	0.73±0.039 <sup>AB,b</sup>	0.76±0.007 <sup>E,b</sup>	1.26±0.093 <sup>B,a</sup>
	%2 ekstrakt	0.48±0.017 <sup>D,c</sup>	0.65±0.009 <sup>F,b</sup>	0.70±0.025 <sup>D,a</sup>
	%4 ekstrakt	0.59±0.061 <sup>C,b</sup>	1.15±0.067 <sup>C,a</sup>	1.27±0.066 <sup>B,a</sup>
	%6 ekstrakt	0.67±0.033 <sup>ABC,c</sup>	1.33±0.036 <sup>B,b</sup>	1.61±0.047 <sup>A,a</sup>
	%2 niyozom	0.63±0.040 <sup>BC,c</sup>	1.44±0.045 <sup>A,b</sup>	1.59±0.026 <sup>A,a</sup>
	%4 niyozom	0.75±0.027 <sup>A,c</sup>	0.96±0.014 <sup>D,b</sup>	1.12±0.084 <sup>BC,a</sup>
	%6 niyozom	0.39±0.017 <sup>D,c</sup>	0.57±0.032 <sup>F,b</sup>	0.98±0.023 <sup>C,a</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Tekstür analizi grafiğinde yer alan pozitif eğrinin altındaki alanın hesaplanması ile hesaplanan konsistens değeri, yoğurt örneklerinin kıvam ve yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir. Çizelge 4.21’den konsistens değerleri incelendiğinde, sertlik değerlerine benzer olarak hem kontrol örneğinde hem de ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolama süresince konsistens değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Literatürde farklı ekstraktlar eklenen yoğurt örnekleri için yapılan tekstür analizi sonuçlarında da, hem kontrol örneği için hem de ekstrakt eklenen örneklerde depolama süresince konsistens değerlerinin artış seyri olduğu rapor edilmiştir (Bulut ve ark., 2021). Depolama süresince konsistens değerlerinin artışı literatürde ayrıca depolama süresince azalan pH değeri ile kazein hidrasyonu ve sineresisin artması şeklinde açıklanmıştır (Zhao ve Liang, 2022). Kontrol ve 4% niyozom eklenen örneklerde ilk günde ölçülen konsistens değerinin ekstrakt eklenen ve 2% ile 6% niyozom eklenen yoğurtlara göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 7. ve 14. gün örnekleri incelendiğinde ise iki günde de ortak olarak 2% niyozom eklenen örneğin istatistiksel açıdan en yüksek değere sahip olduğu bulunmuştur. Bu durum ise, 2%’lik niyozom konsantrasyonunda kaplama materyali

ekstrakt kompleksi ile yoğurdun arasında depolama süresince gerçekleşen tekstürel değişimden kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Çizelge 4.21.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen konsistens değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
Konsistens (Nxs)	Kontrol	11.64±0.898 <sup>A,b</sup>	12.62±0.418 <sup>E,b</sup>	19.85±1.116 <sup>B,a</sup>
	%2 ekstrakt	7.79±0.304 <sup>C,c</sup>	10.52±0.154 <sup>F,b</sup>	11.47±0.550 <sup>E,a</sup>
	%4 ekstrakt	10.65±0.682 <sup>AB,b</sup>	17.65±0.496 <sup>C,a</sup>	17.89±0.227 <sup>C,a</sup>
	%6 ekstrakt	10.52±0.279 <sup>AB,c</sup>	20.19±0.800 <sup>B,b</sup>	25.21±0.271 <sup>A,a</sup>
	%2 niyozom	9.53±0.532 <sup>B,c</sup>	22.92±0.136 <sup>A,b</sup>	26.33±0.953 <sup>A,a</sup>
	%4 niyozom	11.83±0.223 <sup>A,c</sup>	14.75±0.059 <sup>D,b</sup>	16.54±0.875 <sup>CD,a</sup>
	%6 niyozom	5.84±0.148 <sup>D,c</sup>	9.50±0.080 <sup>F,b</sup>	15.35±0.346 <sup>D,a</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Kohesivlik (iç yapışkanlık) analizi sonuçları ise Çizelge 4.22’de sunulmuştur. Kohesivlik değeri, gıda maddesi partiküllerinin birbiri arasındaki çekim kuvvetini ifade eden ve üründe yapısal bir bütünlüğü sağlayan parametredir. Kontrol yoğurdu örneğinde kohesivlik değeri depolama süresince değişmezken, ekstrakt ile niyozom eklenen örneklerde kohesivliğin depolama süresince istatistiksel olarak azaldığı belirlenmiştir. İç yapışkanlık değerinin katkı maddesi eklenen yoğurtlarda 1. günde en yüksek olması gıdada güçlü bir jel yapısı oluşumunun gerçekleştiğini göstermektedir. Literatürde bu durum katkı maddesi ilave edilen yoğurtlarda depolama esnasında jel yapısının kontrol yoğurda göre bozulmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Delikanli ve Ozcan, 2014). Ayrıca 1. gün örnekleri kendi içinde incelendiğinde, ekstrakt eklenen örneklerde, yoğurda ilave edilen ekstrakt miktarı arttıkça iç yapışkanlık değerleri azaldığı görülmüştür. Kapsül

eklenen örneklerde ise, 2 ve 4% niyozom eklenen örneklerde iç yapışkanlık değeri istatistiksel olarak aynı iken 6% niyozom eklenen örnekte daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hem 7. hem de 14. gün örnekleri kendi arasında incelendiğinde %6 niyozom eklenen örneğin kohesivlik değerinin istatistiksel olarak en yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.22.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen kohesivlik değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
Kohesivlik (N)	Kontrol	-0.37±0.023 <sup>C,a</sup>	-0.33±0.022 <sup>B,a</sup>	-0.41±0.046 <sup>AB,a</sup>
	%2 ekstrakt	-0.29±0.005 <sup>B,a</sup>	-0.37±0.008 <sup>B,b</sup>	-0.39±0.011 <sup>AB,b</sup>
	%4 ekstrakt	-0.36±0.053 <sup>C,a</sup>	-0.44±0.009 <sup>C,b</sup>	-0.45±0.039 <sup>AB,b</sup>
	%6 ekstrakt	-0.37±0.027 <sup>C,a</sup>	-0.56±0.025 <sup>D,b</sup>	-0.61±0.045 <sup>C,b</sup>
	%2 niyozom	-0.34±0.017 <sup>BC,a</sup>	-0.52±0.034 <sup>D,b</sup>	-0.56±0.022 <sup>C,b</sup>
	%4 niyozom	-0.34±0.013 <sup>BC,a</sup>	-0.35±0.018 <sup>B,a</sup>	-0.46±0.041 <sup>B,b</sup>
	%6 niyozom	-0.23±0.012 <sup>A,a</sup>	-0.23±0.024 <sup>A,a</sup>	-0.36±0.022 <sup>A,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütündeki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Yoğurt oluşumunda sütte bulunan süt proteinlerinin yapısal değişimi ile moleküler konformasyonları; üç boyutlu yapıları ve fermantasyon esnasında meydana gelen biyokimyasal ve fiziko-kimyasal değişimler yoğurttaki jel ve viskozite özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (Yildiz ve Ozcan, 2019). Viskosite indeksi de bu özelliklere bağlı olarak yoğurttaki tekstürel özellikleri etkilemektedir. Viskozite indeksi değerinin sunulduğu çizelge incelendiğinde, kontrol yoğurdunda depolama esnasında 7. güne kadar arttığı ve bundan sonra sabit kaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.23). Farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde ise depolama süresince konsantrasyon değişimine göre belirli bir seyirde değişmediği tespit edilmiştir. Bu durum

literatürde, yoğurt matriksinde değişen mikro yapı değişikliklerinden ve katkı maddesi ilavesi ile yoğurt jelinin parçalanması yada bütünlüğünün korunması nedeniyle oluştuğu şeklinde açıklanmıştır (Jooyandeh ve Alizadeh Behbahani, 2024). Ayrıca literatürde, tez çalışmasına benzer olarak farklı konsantrasyonlarda meyve ve sebze katkıları ilave edilen yoğurtlarda depolama süresince viskosite indeksi değerlerinin hem arttığı hem azaldığı çalışmalar mevcuttur (Jooyandeh ve Alizadeh Behbahani, 2024; Wang ve ark., 2020c). Viskosite indeksi değerinin artması ya da azalması, ilave edilen katkıdaki fenolik bileşenler, doğal renk bileşenleri gibi maddeler ile yoğurt proteinlerinin birlikte jel yapıyı nasıl etkilediğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. 1., 7. ve 14. gün örnekleri kendi içinde incelendiğinde ise, farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerdeki viskosite indeksi değerlerinin, ekstrakt eklenen örneklere göre istatistiksel olarak daha üstün olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.23.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen  $\mu$  indeksi değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
$\mu$ indeksi (Nxs)	Kontrol	-2.57±0.186 <sup>B,b</sup>	-2.20±0.085 <sup>C,a</sup>	-2.04±0.085 <sup>A,a</sup>
	%2 ekstrakt	-2.18±0.119 <sup>B,a</sup>	-3.45±0.107 <sup>F,b</sup>	-3.68±0.328 <sup>D,b</sup>
	%4 ekstrakt	-3.59±0.242 <sup>D,c</sup>	-3.08±0.130 <sup>E,b</sup>	-2.56±0.101 <sup>B,a</sup>
	%6 ekstrakt	-3.11±0.212 <sup>C,a</sup>	-3.10±0.142 <sup>E,a</sup>	-3.42±0.198 <sup>CD,a</sup>
	%2 niyozom	-2.47±0.061 <sup>B,a</sup>	-2.59±0.024 <sup>D,a</sup>	-3.18±0.144 <sup>C,b</sup>
	%4 niyozom	-2.40±0.118 <sup>B,c</sup>	-1.58±0.049 <sup>B,a</sup>	-1.88±0.064 <sup>A,b</sup>
	%6 niyozom	-1.03±0.101 <sup>A,a</sup>	-1.05±0.067 <sup>A,a</sup>	-1.81±0.071 <sup>A,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.1.5. Su Tutma Kapasitesi

Yoğurt örneklerinde yapılan su tutma kapasitesi analizleri sonucunda elde edilen sonuçlar ise Çizelge 4.24'te verilmiştir. Su tutma kapasitesi yoğurtlarda bir kalite kriteri olarak kabul edilen bir parametredir. Kontrol yoğurdunda depolama süresince su tutma kapasitesinde önemli bir değişiklik gözlenmezken; ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolama esnasında 2% kapsül eklenen örnek dışında su tutma kapasitesinin genel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Literatürde depolama esnasında su tutma kapasitesinin artması depolama esnasında artan asitliğe ve protein yapılarının daha stabil bir hale gelerek serbest suyun azalmasına bağlı olarak değişmesi ile ilişkilendirilmiştir (Mustafa, 2020; Salehi ve ark., 2021). Ayrıca farklı bir çalışmada, yoğurda farklı konsantrasyonlarda kaktüs meyvesi püresi eklenen bir çalışmada da tez çalışmasına benzer olarak depolama süresince su tutma kapasitesinin arttığı rapor edilmiştir (Amal ve ark., 2016). 1., 7. ve 14. gün örnekleri kendi arasında incelendiğinde ise, 1. ve 7. depolama günleri için %2 niyozom eklenen, 14. depolama günü için %2 ekstrakt eklenen örneklerdeki su tutma kapasitesi değerlerinin diğer örnekler arasında istatistiksel olarak en yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum %2 konsantrasyondaki ekstrakt ya da niyozom ilavesinin, diğer konsantrasyonlara ve kontrol yoğurdu örneğine göre yoğurttaki yüzeydeki su salınımını engelleyen su tutma kapasitesi açısından en uygun konsantrasyon olduğunu doğrular niteliktedir.

**Çizelge 4.24.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen su tutma kapasitesi değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
Su tutma kapasitesi	Kontrol	48.93±0.378 <sup>B,a</sup>	51.60 ±0.654 <sup>BC,a</sup>	51.78±2.892 <sup>BC,a</sup>
	%2 ekstrakt	47.05±0.606 <sup>C,b</sup>	47.33±0.362 <sup>F,b</sup>	58.62±0.690 <sup>A,a</sup>
	%4 ekstrakt	44.88±0.275 <sup>D,c</sup>	48.70±0.229 <sup>E,b</sup>	52.07±0.715 <sup>BC,a</sup>
	%6 ekstrakt	49.08±0.333 <sup>B,c</sup>	52.20±0.350 <sup>B,b</sup>	54.68±0.321 <sup>B,a</sup>
	%2 niyozom	54.60±0.676 <sup>A,a</sup>	54.00±0.391 <sup>A,a</sup>	54.80±0.180 <sup>B,a</sup>
	%4 niyozom	45.13±0.769 <sup>D,b</sup>	50.78±0.486 <sup>CD,a</sup>	52.05±0.458 <sup>BC,a</sup>
	%6 niyozom	44.72±0.161 <sup>D,b</sup>	49.82±0.236 <sup>DE,a</sup>	49.73±0.161 <sup>C, a</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.1.6. Kuru Madde Miktarı

Depolama esnasında yoğurtlarda yapılan kuru madde miktarı analizi sonuçları Çizelge 4.25’te verilmiştir. Yoğurttaki kuru madde miktarı, yoğurdun içeriğindeki su dışındaki tüm bileşenlerin toplamı olarak ifade edilir ve protein, yağ, laktoz ve mineralleri kapsar. 1. gün değerleri kendi arasında incelendiğinde, ekstrakt ve kapsül eklenen yoğurtlarda eklenen katkı maddesi miktarı arttıkça, kuru madde miktarında düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu durum eklenen betalaince zengin konsantre ekstraktının sıvı formda olmasından kaynaklanmaktadır. Kontrol örneğinde ise, 1. günde ölçülen kuru madde miktarı literatür değerleri ile uyumlu bulunmuştur (Arslaner ve ark., 2017; Lussier ve ark., 2023). 7. ve 14. gün örnekleri kendi arasında değerlendirildiğinde ise, kuru madde miktarı açısından istatistiksel olarak en yüksek olarak bulunan örnek 2% niyozom eklenen yoğurt örneğidir. Depolama süresince örneklerdeki kuru madde miktarı sonuçları değerlendirildiğinde, niyozom eklenen örneklerde eklenen niyozom konsantrasyonundan bağımsız olarak depolama esnasında kuru madde miktarında istatistiksel olarak herhangi bir

değişim olmadığı Çizelge 4.25'te görülmektedir. Kontrol örneği ile ekstrakt eklenen örneklerde ise, su tutma kapasitesinin artmasına bağlı olarak kuru madde miktarlarını depolama süresince düşme seyrinde olduğu belirlenmiştir. Süt ürünlerinde içerikte bulunan protein, polisakkarit ve yağların ekstrakt ile birleştiğinde bağ yapısını değiştirmesi ile kuru madde içeriğinin değişeceği literatürde de ifade edilmiştir (Arab ve ark., 2023).

**Çizelge 4.25.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen tekstür analizi sonucunda elde edilen kuru madde miktarı değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
Kuru madde miktarı (%)	Kontrol	14.17±1.266 <sup>B,a</sup>	12.90±0.755 <sup>BCD,ab</sup>	10.80±0.436 <sup>D,b</sup>
	%2 ekstrakt	16.77±0.379 <sup>A,a</sup>	13.97±0.208 <sup>AB,b</sup>	12.77±0.208 <sup>B,c</sup>
	%4 ekstrakt	13.80±0.300 <sup>BC,a</sup>	13.30±0.458 <sup>ABC,b</sup>	12.53±0.208 <sup>B,b</sup>
	%6 ekstrakt	13.00±0.500 <sup>BC,a</sup>	12.13±0.351 <sup>CD,ab</sup>	11.80±0.400 <sup>BC,b</sup>
	%2 niyozom	14.30±0.361 <sup>B,a</sup>	14.27±0.153 <sup>A,a</sup>	14.00±0.436 <sup>A,a</sup>
	%4 niyozom	13.13±0.833 <sup>BC,a</sup>	12.53±0.351 <sup>CD,a</sup>	12.40±0.361 <sup>BC,a</sup>
	%6 niyozom	12.23±0.214 <sup>C,a</sup>	11.80±0.600 <sup>D,a</sup>	11.53±0.351 <sup>CD,a</sup>

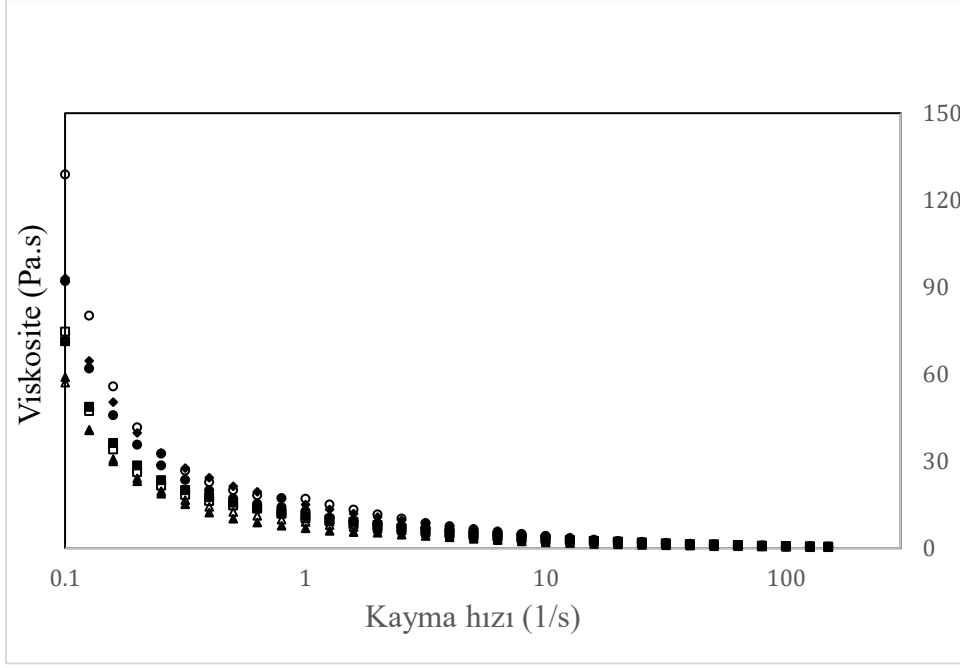
Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

## 4.5.2. Yoğurtların Reolojik Karakterizasyonu

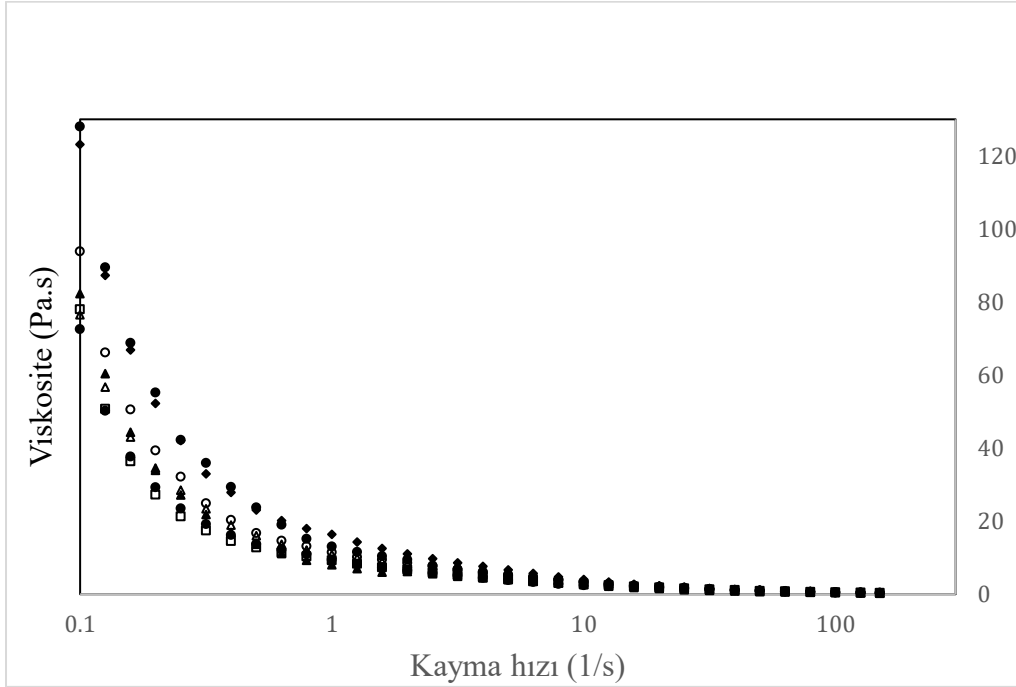
### 4.5.2.1. Sabit Kayma Hızında (Steady-shear) Akış Ölçümü

Kontrol örneği, konsantre ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örnekleri için gerçekleştirilen reolojik karakterizasyon çalışması sonucunda depolama süresince değişen viskozite değerleri 1., 7. ve 14. günler için sırasıyla Şekil 4.25, 4.26 ve 4.27'de sunulmuştur. Depolama süresince değişen viskozite değerleri incelendiğinde hem kontrol

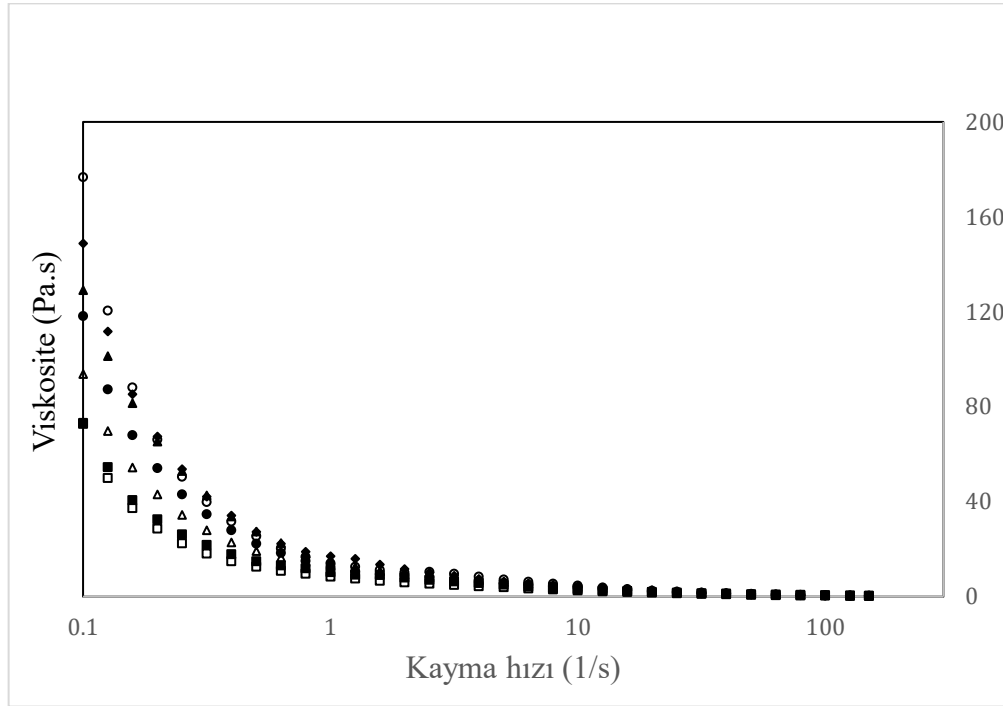
örneğin hem de farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerin kayma ile incelme davranışı (shear-thinning) olduğu görülmektedir. Literatürde sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda elma posası ve dut posaları eklenen çalışmalarda da tez çalışmasına benzer sonuçlar elde edilmiştir (Du ve ark., 2021; Wang ve ark., 2020c). Kayma ile incelme davranışındaki örneklerde kayma hızının artışı ile, protein ağ yapıları içindeki zayıf bağlar bozularak, moleküller arasındaki elektrostatik itme kuvvetleri ile hidrofobik etkileşimlerin zayıflamasına neden olmaktadır. Bu durum da artan kayma hızı ile viskozite değerlerinin giderek azalmasına sonucunu doğurmaktadır (Kumari ve ark., 2024). Şekil 4.25. incelendiğinde, kontrol yoğurduna eklenen konsantre ekstrakt ve niyozom miktarının artışı %4 konsantrasyona kadar viskozite değerlerinin artmasına neden olurken, %6'lık konsantrasyonda hem ekstrakt eklenen hem de kapsül eklenen örneklerin viskozite değerleri azalmaya başlamıştır. Benzer sonuçlar hem 7. hem de 14. gün örneklerinde de görülmektedir (Şekil 4.26-4.27). Bu durum literatürde sade yoğurda ilave edilen katkı maddesi içeriğindeki bazı maddelerin belirli bir konsantrasyona kadar kazein agregatlarını stabilize ederek onlarla kompleks oluşturması ve jel yapısını sıkılaştırarak viskozite değerini arttırması şeklinde açıklanmıştır (Bo ve ark., 2025).



**Şekil 4.25.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

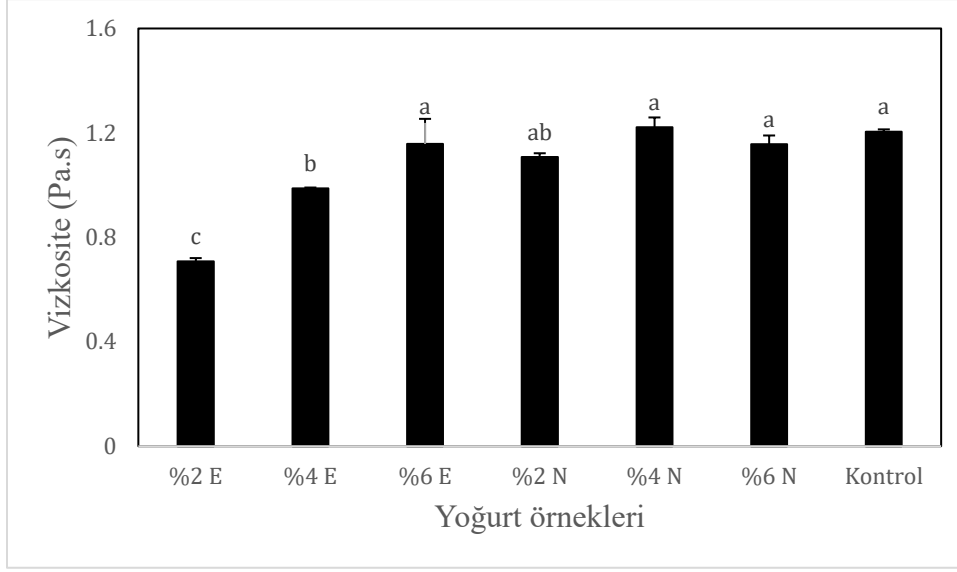


**Şekil 4.26.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom



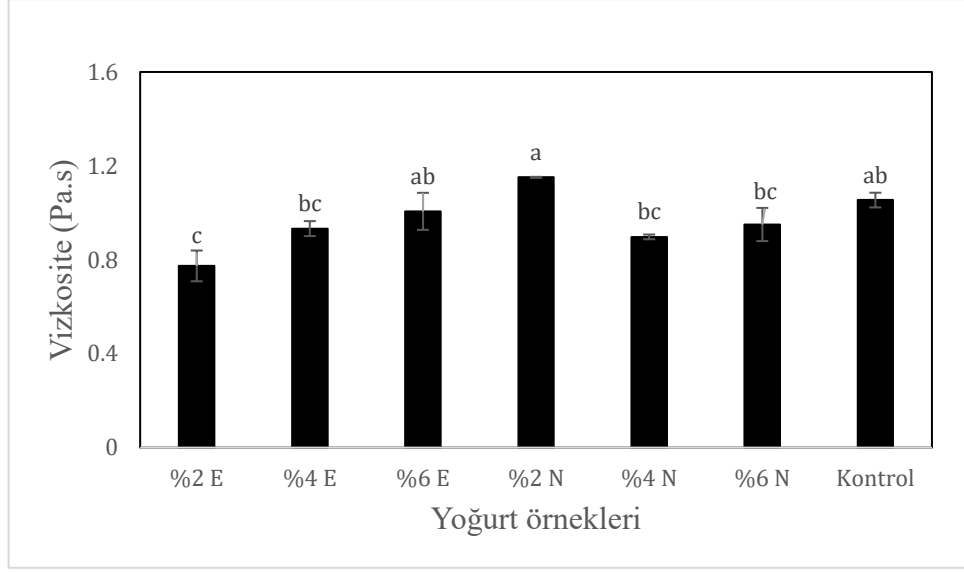
**Şekil 4.27.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen viskozite ve kayma hızı değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

Şekil 4.28-4.30'da ise, depolama süresince kayma hızının  $50 \text{ s}^{-1}$  olduğu durumda kontrol yoğurdu ve katkı maddesi eklenmiş yoğurt örneklerindeki viskozite değerleri verilmiştir. Şekil 4.28'den birinci gün için verilen viskozite değerleri incelendiğinde, %4 oranında niyozom eklenen yoğurt örneğinin viskozitesi (1.22 Pa.s) en yüksek olarak ölçülmüş olup kontrol yoğurdu ile %6 ekstrakt ve niyozom eklenmiş örneklerle istatistiksel olarak aynıdır. Birinci gün analizlerinde ölçülen en düşük viskozite değeri (0.71 Pa.s) ise %2 ekstrakt eklenen örnekte belirlenmiştir. Eklenen ekstrakt miktarının artması viskozite değerlerinin artmasına neden olmuştur. Literatürde kırmızı dut posasının %1, %2 ve %3 oranlarında sade yoğurda eklendiği benzer bir çalışmada da eklenen katkı maddesinin artması ile belirli bir kayma hızında ölçülen viskozite değerlerinin arttığı rapor edilmiştir.



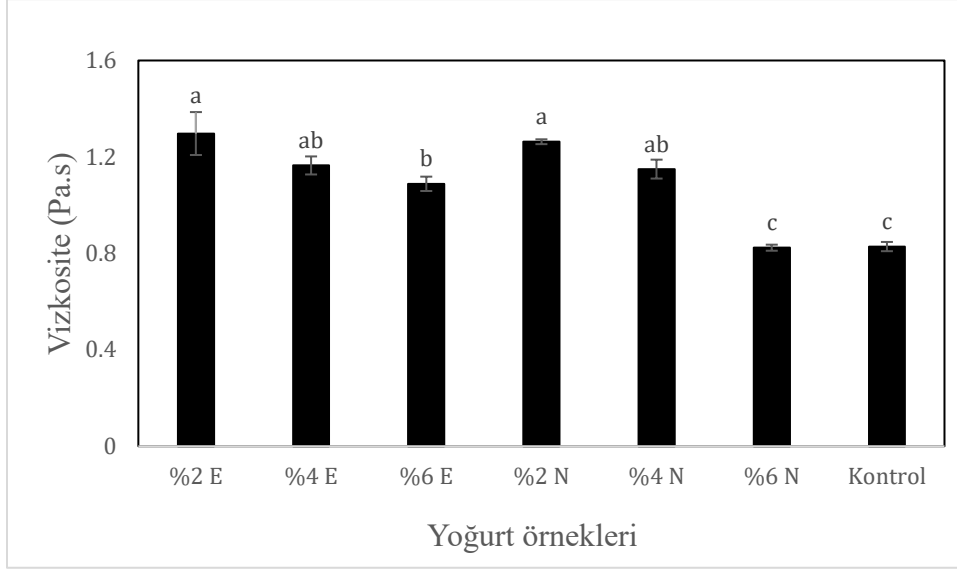
**Şekil 4.28.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri  
\*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )

Şekil 4.29'dan depolamanın 7. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri incelendiğinde 1. günden farklı olarak en yüksek (1.15 Pa.s) ve en düşük (0.77 Pa.s) viskozite değerleri sırasıyla %2 niyozom ve %2 ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinde ölçülmüştür. İstatistiksel olarak kontrol yoğurdu örneği ile en yüksek viskozite değerinin ölçüldüğü örnek arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Depolama süresince değişen viskozite değerleri yoğurdun üç boyutlu protein ağındaki değişimler ile fenolik özellikteki betalaince zengin katkı maddesi ilavesinin depolama süresince yapıyı değiştirmesi şeklinde açıklanabilmektedir (Salehi ve ark., 2021).



**Şekil 4.29.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri \*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )

Depolamanın 14. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri Şekil 4.30'da sunulmuştur. 1. ve 7. gün değerlerinden farklı olarak kontrol örneğindeki viskozite değeri azalırken, %2 ekstrakt eklenmiş yoğurt örneğinin viskozite değeri artmıştır. Depolama süresince azalan viskozite değeri literatürde buzdolabı sıcaklığında saklanan yoğurt örneğinde yoğurdun jel yapısı giderek katılaşıp tiksotropi oluşturması ile açıklanmıştır. Yoğurt proteinleri yapısındaki tiksotropi, disülfit bağlarının kırılması ve Van der Waals etkileşimlerinin yanı sıra protein parçacıkları arasındaki iyonik ve hidrofobik etkileşimlerle karakterize edildiği de ifade edilmektedir (dos Santos Moreira ve ark., 2024). 14. gün için ölçülen en düşük ve en yüksek viskozite değerleri sırasıyla 0.82 ve 1.30 Pa.s olarak %6 niyozom eklenen örnek ile %2 ekstrakt eklenen örneklerde ölçülmüştür. %2 ekstrakt ve kapsül eklenen örneklerde ölçülen viskozite değerleri, diğer örneklere göre istatistiksel olarak en üstündür. Çizelge 4.24'te verilen su tutma kapasitesi verilerine göre, 14 günlük depolama sonucunda %2 ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerdeki su tutma kapasitesinin en yüksek ölçülmesi bu örneklerdeki yüksek viskozite değerleri ile ilişkilendirilebilir. Depolama sonucunda yoğurt örneğinde su salınımı engelleyen en uygun konsantrasyon %2 olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.30.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde  $50 \text{ s}^{-1}$  sabit kayma hızında ölçülen viskozite değerleri \*Sütun grafiklerindeki farklı küçük harfler örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ )

Tez çalışmasının reolojik analiz kısmında ayrıca kesme hızının  $0.1$  ile  $150 \text{ s}^{-1}$  aralığında lineer olarak arttığı durumda kesme gerilimi ve viskozite değerleri kaydedilmiştir. Depolama süresince değişen verilerin üs yasası (Power law) modeline uygunluğu; kıvam katsayısı ( $k$ ), akış davranış indeksi ( $n$ ) ve  $r^2$  değerleri ile değerlendirilmiş ve Çizelge 4.26’da sunulmuştur. Üs yasası denklemindeki  $n$  değeri, akışkanın akış davranışının bir ölçüsüdür.  $n$  değeri bire eşitse akışkan Newtonian özellikte olup viskozite değeri değişen kayma hızına ve gerilimi değişse değişmez.  $n < 1$  ise artan kayma hızında akışkanın viskozitesi düşerken,  $n > 1$  ise artan kayma hızında akışkanın viskozitesi artmaktadır. (McClements ve Grossmann, 2021). Kıvam katsayısı ( $k$ ), akışkanın viskozite düzeyini ifade eden bir kavram olup sayısal olarak yükselmesi akışkanın viskozite değerinin arttığını ifade etmektedir.  $r^2$  değeri ise elde edilen daların Power law modeline uygunluğunun bir ölçüsü olarak tanımlanmış olup sayısal olarak bir değerine yaklaşması bu modele uygunluğun artması anlamına gelmektedir (Kumar ve ark., 2021b).

Çizelge 4.26 incelendiğinde, n değerlerinin birden küçük olması hem kontrol yoğurdu hem de farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerin shear thinning özellikte olduğunu doğrular niteliktedir. Literatürde sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda portakal posası tozu ve ananas posası tozu ilave edilen farklı iki çalışmada da hesaplanan n değerlerinin tez çalışmasına benzer olarak birden küçük olduğu ifade edilmiştir. Sözü geçen çalışmalarda, birden küçük bulunan n değerleri artan kesme hızı ile yoğurttaki protein agregatlarının bütünlüğünün bozularak viskozite değerlerini düşürmesi şeklinde açıklanmıştır (Acharjee ve ark., 2021; Meena ve ark., 2022). Depolamanın birinci gününde örneklerde hesaplanan n değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı görülmektedir. Depolama süresince değişen n değerleri incelendiğinde ise, %4 ve %6 ekstrakt ve niyozom eklenen örnekleri dışındaki örneklerde n değerinin istatistiksel olarak depolama süresince azaldığı bulunmuştur.

Kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde hesaplanan 1. günde hesaplanan k değerleri incelendiğinde, eklenen katkı maddesinin konsantrasyonu arttıkça k değerlerinin de arttığı görülmektedir (Çizelge 4.26). Bu durum Şekil 4.27'de verilen viskozite değerlerinden de doğrulanmaktadır. Literatürde k değerindeki bu değişimin eklenen katkı maddesinin içeriğinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan betalince zengin fenolik içeriği yüksek ekstrakt ve bu ekstraktın kaplandığı niyozom sayesinde yoğurttaki protein yapıları ile polifenoller arasında hidrofobik, Van der Waals ve hidrojen bağı gibi etkileşimlerin artmıştır. Bunun sonucunda viskozite değerlerinin yükseldiği literatürde sade yoğurda kavun kabuğu tozu eklenen benzer bir çalışmada da doğrulanmıştır (Nguyen ve ark., 2024). 7. ve 14. gün değerleri incelendiğinde ise, 7. günde %4 ekstrakt eklenen örneğin 14. günde ise, %2 ekstrakt eklenen örneğin hesaplanan k değerlerinin en yüksek olduğu Çizelge 4.26'dan görülmektedir. Bunun nedeni depolama süresince değişen protein katkı maddesi etkileşimlerinin k değerini doğrudan etkilemesi ile açıklanabilir.

Çizelge 4.26'dan  $r^2$  değerleri incelendiğinde ise 0.89 ile 0.98 aralığında değiştiği görülmektedir. Bulunan yüksek  $r^2$  değerleri örneklerin Power law modeline uygunluğunun yüksek olduğunu ifade etmektedir. %2 ve %4 niyozom eklenen örneklerde 1. gün analizlerinde ölçülen  $r^2$  değerlerinin diğer günlerde ölçülen  $r^2$  değerlerine göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunması, depolama süresince değişen protein ağ yapısının değişimine bağlı olarak  $r^2$  değerlerinin bir miktar azaldığı düşünülmektedir.

**Çizelge 4.26.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince Power law modeli için elde edilen kıvam katsayısı, akış davranış indeksi ve  $r^2$  değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
n	Kontrol	0.35±0.007 <sup>A,a</sup>	0.29±0.015 <sup>BC,ab</sup>	0.20±0.044 <sup>E,b</sup>
	%2 ekstrakt	0.36±0.024 <sup>A,a</sup>	0.32±0.018 <sup>ABC,ab</sup>	0.26±0.022 <sup>DE,b</sup>
	%4 ekstrakt	0.33±0.035 <sup>A,a</sup>	0.26±0.024 <sup>C,a</sup>	0.28±0.002 <sup>BCD,a</sup>
	%6 ekstrakt	0.39±0.015 <sup>A,a</sup>	0.37±0.032 <sup>AB,a</sup>	0.37±0.008 <sup>A,a</sup>
	%2 niyozom	0.41±0.013 <sup>A,a</sup>	0.37±0.001 <sup>A,b</sup>	0.35±0.002 <sup>ABC,b</sup>
	%4 niyozom	0.33±0.029 <sup>A,a</sup>	0.32±0.011 <sup>ABC,a</sup>	0.27±0.005 <sup>CD,a</sup>
	%6 niyozom	0.40±0.011 <sup>A,a</sup>	0.37±0.026 <sup>A,a</sup>	0.35±0.010 <sup>AB,a</sup>
k		<b>1</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
	Kontrol	15.93±0.843 <sup>A,a</sup>	17.65±1.480 <sup>A,a</sup>	18.97±3.156 <sup>ABC,a</sup>
	%2 ekstrakt	8.26±0.707 <sup>B,c</sup>	10.78±0.586 <sup>B,b</sup>	22.03±0.450 <sup>A,a</sup>
	%4 ekstrakt	13.37±1.948 <sup>AB,a</sup>	16.25±0.715 <sup>A,a</sup>	16.21±5.178 <sup>ABC,a</sup>
	%6 ekstrakt	11.79±0.297 <sup>AB,a</sup>	10.64±1.161 <sup>B,a</sup>	12.16±0.397 <sup>BC,a</sup>
	%2 niyozom	9.85±0.087 <sup>B,b</sup>	12.83±0.566 <sup>B,ab</sup>	15.37±1.711 <sup>ABC,a</sup>
	%4 niyozom	16.68±3.059 <sup>A,a</sup>	12.33±0.505 <sup>B,a</sup>	19.81±0.685 <sup>AB,a</sup>
%6 niyozom	11.33±0.862 <sup>AB,a</sup>	10.57±0.454 <sup>B,a</sup>	10.21±0.524 <sup>C,a</sup>	
$r^2$		<b>1</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
	Kontrol	0.97±0.003 <sup>AB,a</sup>	0.95±0.001 <sup>ABC,ab</sup>	0.92±0.020 <sup>BC,b</sup>
	%2 ekstrakt	0.97±0.009 <sup>AB,a</sup>	0.94±0.011 <sup>C,a</sup>	0.94±0.002 <sup>AB,a</sup>
	%4 ekstrakt	0.96±0.004 <sup>BC,a</sup>	0.95±0.005 <sup>ABC,a</sup>	0.93±0.022 <sup>ABC,a</sup>
	%6 ekstrakt	0.98±0.003 <sup>A,a</sup>	0.98±0.005 <sup>A,a</sup>	0.97±0.003 <sup>A,a</sup>
	%2 niyozom	0.98±0.002 <sup>A,a</sup>	0.97±0.006 <sup>AB,ab</sup>	0.96±0.003 <sup>AB,b</sup>
	%4 niyozom	0.95±0.008 <sup>C,a</sup>	0.94±0.011 <sup>BC,a</sup>	0.89±0.005 <sup>C,b</sup>
%6 niyozom	0.97±0.000 <sup>AB,a</sup>	0.96±0.012 <sup>ABC,a</sup>	0.96±0.000 <sup>AB,a</sup>	

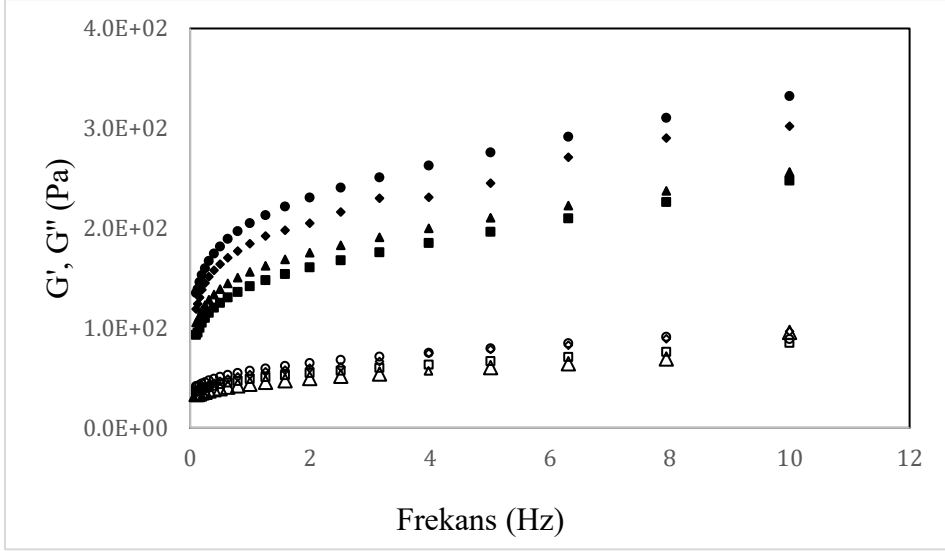
Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.2.2. Frekans Tarama Testi

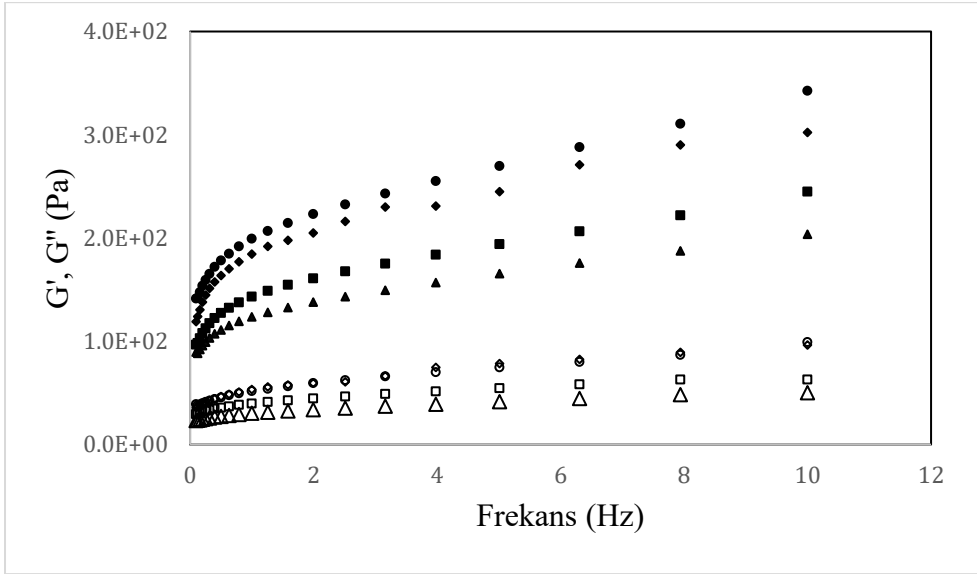
Yoğurt örneklerinde depolama süresince 1., 7. ve 14. günlerde frekans tarama testi gerçekleştirilerek elastik ( $G'$ ) ve viskoz modülüs ( $G''$ ) değerlerindeki değişimler kaydedilmiştir. Ayrıca kayıp tanjant ( $\tan\delta = G''/ G'$ ) değerleri de hesaplanmıştır.

Elastik modülüs ( $G'$ ) ve viskoz modülüs ( $G''$ ) viskoelastik materyallerin özelliklerini anlamak için kullanılmaktadır. Elastik modülüs değeri, akışkanın elastik davranışını göstermektedir. Başka bir deyişle, akışkanın uygulanan gerilimi ne kadar depolayabildiğini ve geri eski haline dönebilme kapasitesini ifade etmektedir. Viskoz modülüs değeri ise, akışkanın viskoz yani akışkan benzeri davranışının bir ölçüsüdür (Nnyigide ve Hyun, 2023).  $G' > G''$  ise akışkanın elastik karakterin daha baskın,  $G' < G''$  ise akışkanın viskoz karakterinin daha baskın olduğu söylenebilir.

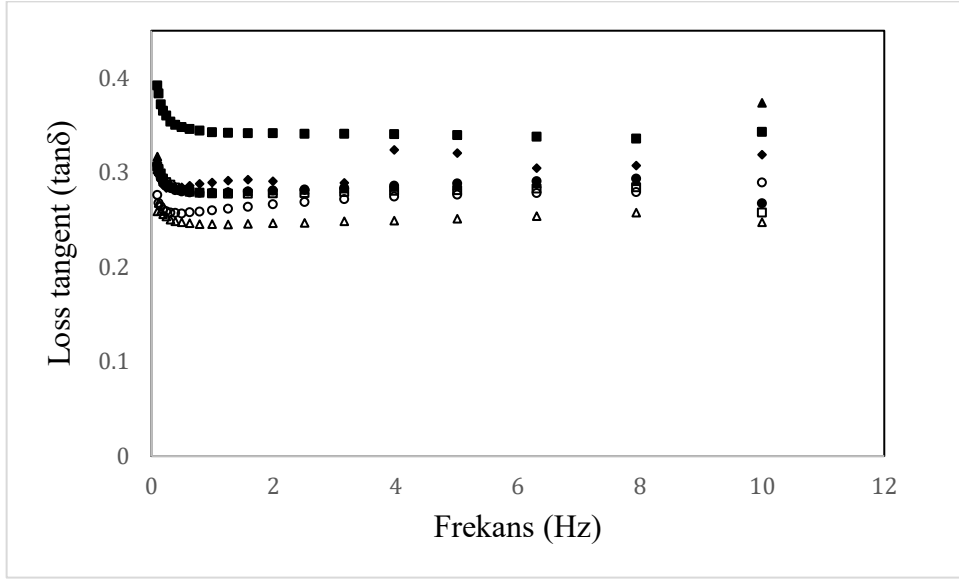
Şekil 4.31 ve 4.32'den sırasıyla ekstrakt ve niyozom eklenen örnekler için depolamanın birinci gününde ölçülen  $G'$  ve  $G''$  grafikleri incelendiğinde kontrol örneği ile ekstrakt ve kapsül eklenen örneklerde elastik modülüs değerlerinin viskoz modülüs değerlerinden yüksek olması örneklerin viskoelastik stabil jel özelliğinde olduğunu göstermektedir (Wang ve ark., 2020c) Bu durum Şekil 4.33'de verilen birden küçük  $\tan\delta$  değerlerinden de doğrulanmıştır. Katkı maddesi ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde %4'lük katkı maddesi ilavesine kadar  $G'$  ve  $G''$  değerlerinin arttığı sonrasında azaldığı tespit edilmiştir. Bunun sonucu olarak  $\tan\delta$  değerlerinin %6 konsantrasyonda ekstrakt ve niyozom ilave edilen örneklerde en yüksek olduğu da belirlenmiştir.  $\tan\delta$  değerlerinin yüksek olması literatürde viskoz özelliği fazla olan sineresis potansiyeli yüksek yapıda bir ürün elde edilmesi şeklinde açıklamıştır (Zhao ve Corredig, 2016) Literatürde sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda portakal posası tozu ilave edilen bir çalışmada da tez çalışmasına benzer olarak depolamanın birinci gününde ölçülen  $G'$  değerinin  $G''$  değerlerinden yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca sözü geçen çalışmada eklenen katkı maddesi miktarı arttıkça  $G'$  ve  $G''$  değerlerinin de arttığı rapor edilmiştir (Acharjee ve ark., 2021)



**Şekil 4.31.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen G' değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt; G'' değerleri: △ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt

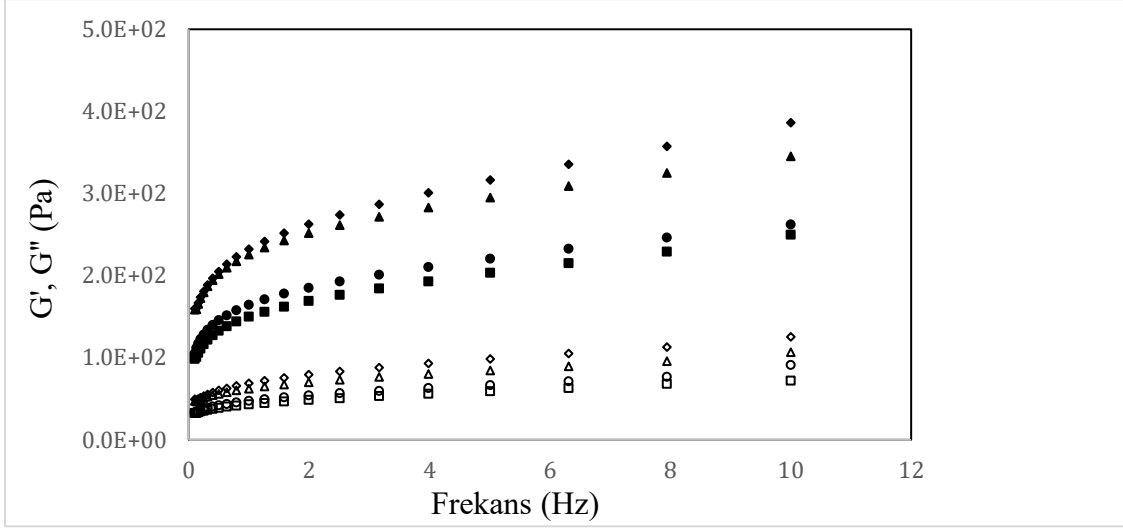


**Şekil 4.32.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde ölçülen G' değerleri: ♦ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom; G'' değerleri: △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

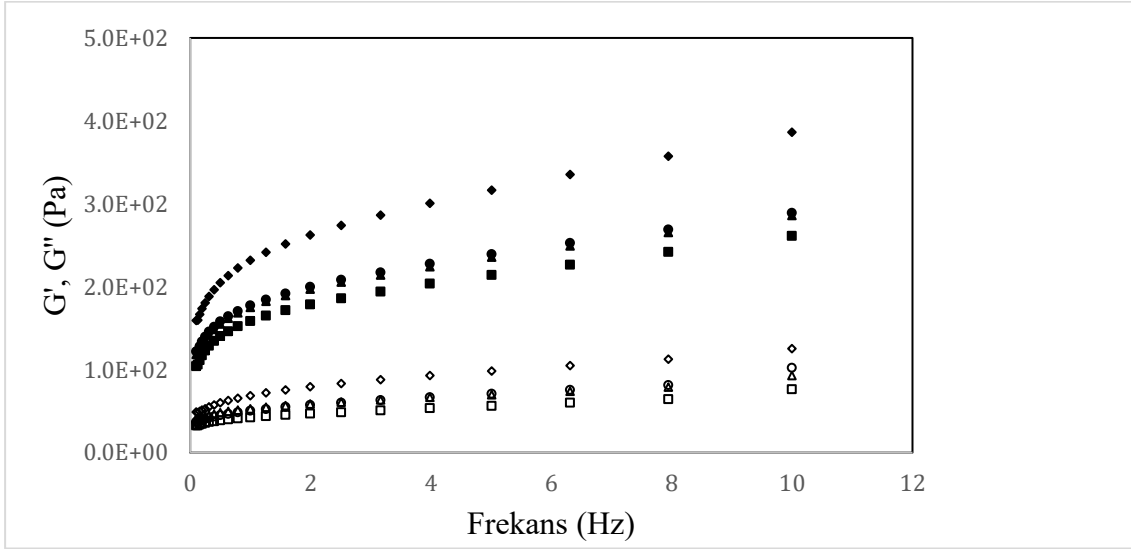


**Şekil 4.33.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 1. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, Δ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

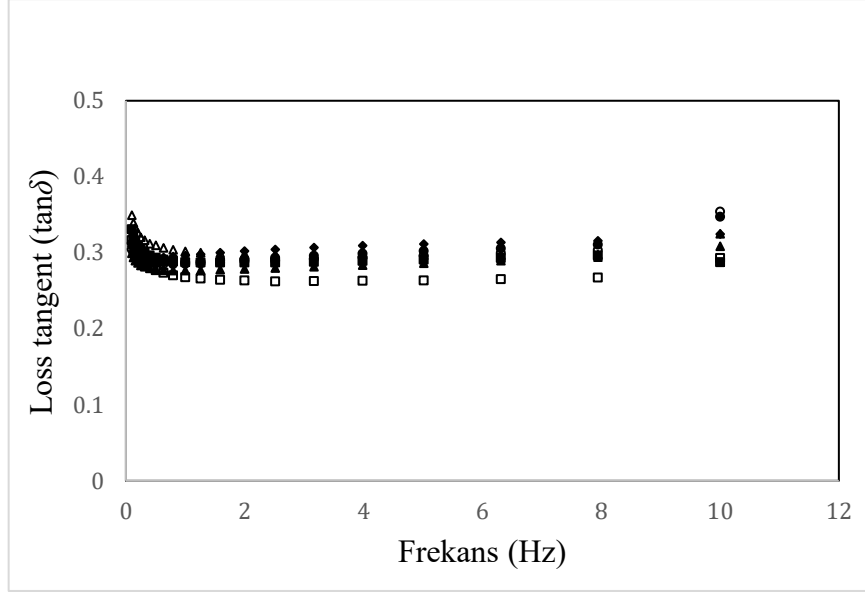
Şekil 4.34-4.36'da yoğurt örneklerinde depolamanın 7. gününde frekans testlerinin sonuçları sunulmuştur.  $G'$  ve  $G''$  değerleri incelendiğinde, kontrol örneğinin depolamanın 7. gününde %2 ekstrakt eklenen örnekle büyük oranda benzediği görülmektedir. Ayrıca 1. gün sonuçlarına benzer olarak, tüm örneklerde depolamanın 7. gününde de  $G'$  değerlerinin  $G''$  değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 1. gününde örnekler arasında farklılık görülen  $\tan\delta$  değerlerinin depolamanın 7. gününde birbirine büyük oranda benzerlik gösterdiği de bulunmuştur. Literatürde,  $\tan\delta$  değerlerinin su tutma kapasitesi değerleri ile bağlantılı olduğu ifade edilmiştir. Su tutma kapasitesinin artması sineresis durumunu azaltmakta böylece  $\tan\delta$  değerleri de azalmaktadır (Acharjee ve ark., 2021).



**Şekil 4.34.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt;  $G''$  değerleri: △ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt

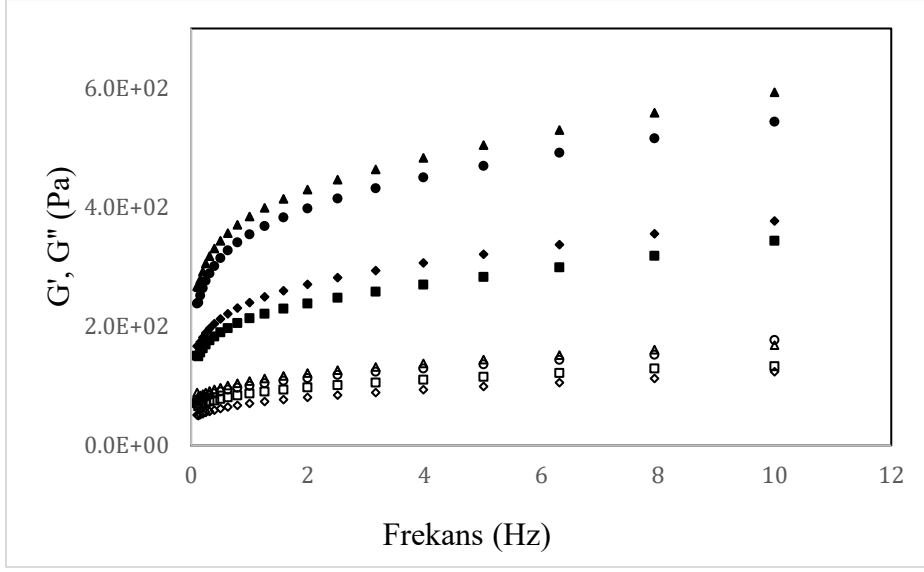


**Şekil 4.35.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde ölçülen  $G'$  değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom;  $G''$  değerleri: △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

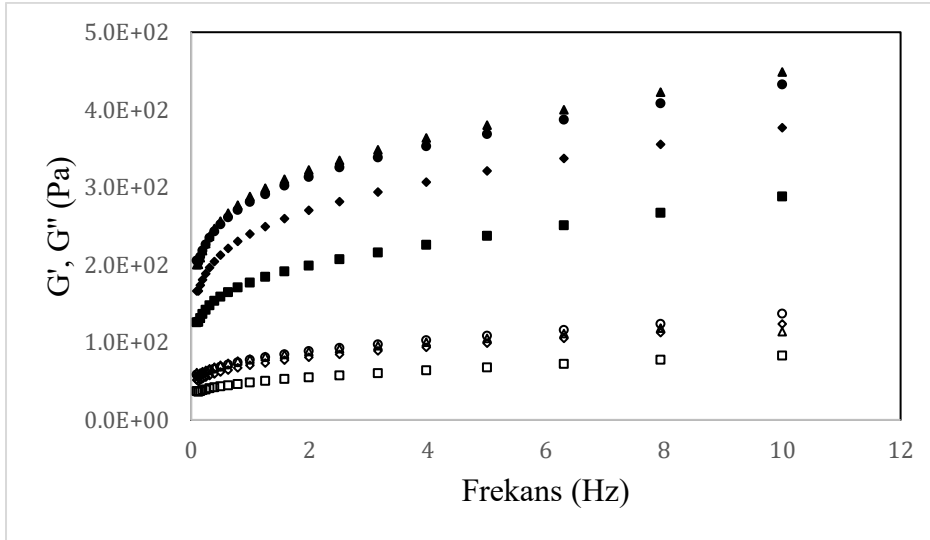


**Şekil 4.36.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

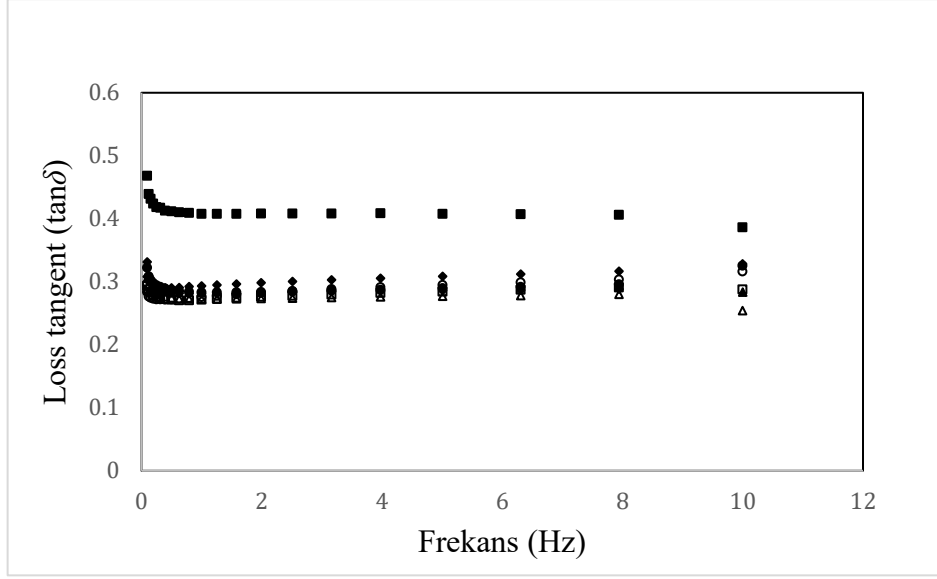
Depolamanın 14. gününde uygulanan frekans testi sonuçları ise Şekil 4.37-4.39'de verilmiştir. Depolama süresince hem kontrol yoğurdu hem de farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde ölçülen  $G'$  ve  $G''$  değerleri artış göstermiştir. Bu durum literatürde yapılan benzer bir çalışmada tekstür analizindeki parametrelerden sertlik değerinin artması ile ilişkilendirilmiştir. Sözü geçen çalışmada *Solenostemma argel* Hayne bitkisinin ekstraktı sade yoğurt örneğine farklı konsantrasyonlarda (%0.1 ve 0.2) eklenmiş ve tez çalışmasına benzer depolama süresince değişen  $G'$  ve  $G''$  değerleri kaydedilmiş ve tekstür analizindeki sertlik parametresinin artışı ile karşılaştırılmıştır (Ahmed ve ark., 2021).  $\tan\delta$  değerlerinde ise %6 ekstrakt eklenen örnek hem kontrol örneğine hem de katkı maddesi eklenen örneklere göre öne çıkmaktadır. 14. günde ölçülen  $\tan\delta$  değerleri genel olarak tüm örneklerde depolama süresince bir miktar artmıştır.



**Şekil 4.37.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen G' değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt; G'' değerleri: △ %2 ekstrakt, ○ %4 ekstrakt, □ %6 ekstrakt



**Şekil 4.38.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda niyozom eklenen örneklerde depolamanın 14. gününde ölçülen G' değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 niyozom, ● %4 niyozom, ■ %6 niyozom; G'' değerleri: △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom



**Şekil 4.39.** Kontrol yoğurdu ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününde hesaplanan kayıp tanjant ( $\tan\delta$ ) değerleri: ◆ kontrol, ▲ %2 ekstrakt, ● %4 ekstrakt, ■ %6 ekstrakt, △ %2 niyozom, ○ %4 niyozom, □ %6 niyozom

Çizelge 4.27’de 1 Hz sabit frekans değerinde kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen elastik modülüs ( $G'$ ) viskoz modülüs ( $G''$ ) ve  $\tan\delta$  değerleri sunulmuştur. 1 Hz olarak seçilen sabit frekansa, literatürde sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda portakal posası tozu ilave edilen bir çalışmadan yola çıkılarak karar verilmiştir (Acharjee ve ark., 2021). 1. günde kaydedilen elastik modülüs ( $G'$ ) değerleri incelendiğinde eklenen ekstrakt ve niyozom miktarının %4’lük konsantrasyona kadar elastik davranışın bir ölçüsü olan  $G'$  değerinin arttırdığı, %6’lık konsantrasyonda ise %4 ‘lük katkı maddesi eklenen örneklerle istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir. Literatürde sade yoğurda elma posası eklenen benzer bir çalışmada da, eklenen katkı maddesi ilavesinin artışı ile  $G'$  değerinin arttığı ifade edilmiştir (Wang ve ark., 2020c). Depolama süresince ise, kontrol örneği ile %6 ekstrakt ve niyozom eklenen örneklerde  $G'$  değerlerinin istatistiksel olarak artma seyriinde olduğu Çizelge 4.27’den görülmektedir. Bu durum depolama süresince tekstür analizinde ölçülen sertlik değeri ile su tutma kapasitesi değerlerinin artışı ile ilişkilendirilmektedir. Depolamanın 7. ve 14. günündeki  $G'$  değerlerine göre sırasıyla kontrol yoğurdu ile %2 ekstrakt içeren örneklerde ölçülen elastik modülüs değerlerinin istatistiksel olarak en yüksek bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.27).

1 Hz sabit frekanstaki  $G''$  değerleri incelendiğinde, viskoz modülüs değerlerinin elastik modülüs değerlerinden daha düşük oldukları görülmektedir. 1. günde  $G'$  değerlerine benzer olarak eklenen katkı maddesinin %4’lük konsantrasyona kadar artışı ile kontrol yoğurduna istatistiksel olarak benzer viskoz modülüs değerleri elde edilmiştir. Depolama süresince %6 kapsül eklenen örnek dışındaki örneklerde  $G''$  değerlerinin artış gösterdiği Çizelge 4.27’de görülmektedir. Literatürde sade yoğurda farklı konsantrasyonlarda portakal posası tozu ilave edilen bir çalışmada da benzer sonuçların bulunduğu rapor edilmiştir (Acharjee ve ark., 2021).

Çizelge 4.27’de verilen  $\tan\delta$  değerlerinin birden küçük olması depolama süresince ölçülen  $G'$  değerlerinin  $G''$  değerlerinden yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda katkı maddesi ilavesi yapılan örneklerde 1., 7. ve 14. günde ölçülen  $\tan\delta$  değerlerine incelendiğinde kontrol örneği ile katkı maddesi ilavesi yapılan örneklerde istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. %4 niyozom içeren örnek dışındaki tüm örneklerin ise depolama süresince  $\tan\delta$  değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.

**Çizelge 4.27.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince elastik modülüs (G') viskoz modülüs (G'') ve tanδ değerleri

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
G'	Kontrol	184.40±6.511 <sup>AB,a</sup>	232.10±16.263 <sup>A,a</sup>	239.80±29.416 <sup>CD,a</sup>
	%2 ekstrakt	156.20±13.744 <sup>AB,c</sup>	225.60±1.414 <sup>AB,b</sup>	384.35±35.143 <sup>A,a</sup>
	%4 ekstrakt	204.75±7.566 <sup>A,b</sup>	164.30±18.102 <sup>C,b</sup>	352.00±2.828 <sup>AB,a</sup>
	%6 ekstrakt	141.85±28.496 <sup>AB,a</sup>	149.70±2.687 <sup>C,a</sup>	213.15±41.083 <sup>CD,a</sup>
	%2 niyozom	123.65±25.530 <sup>B,b</sup>	175.35±13.647 <sup>C,b</sup>	287.80±0.283 <sup>BC,a</sup>
	%4 niyozom	199.30±28.850 <sup>A,b</sup>	177.45±15.768 <sup>BC,b</sup>	280.87±7.019 <sup>CD,a</sup>
	%6 niyozom	143.40±29.416 <sup>AB,a</sup>	158.65±7.000 <sup>C,a</sup>	177.15±1.768 <sup>D,a</sup>
G''		<b>1</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
	Kontrol	53.37±2.113 <sup>A,b</sup>	68.80±3.345 <sup>A,ab</sup>	70.32±8.457 <sup>CD,a</sup>
	%2 ekstrakt	43.68±3.111 <sup>AB,b</sup>	62.36±2.121 <sup>AB,b</sup>	107.90±10.465 <sup>A,a</sup>
	%4 ekstrakt	57.05±1.669 <sup>A,b</sup>	47.22±6.541 <sup>AB,b</sup>	105.26±7.156 <sup>AB,a</sup>
	%6 ekstrakt	40.48±8.471 <sup>AB,b</sup>	43.06±0.304 <sup>B,b</sup>	86.93±12.693 <sup>ABC,a</sup>
	%2 niyozom	30.37±1.549 <sup>B,b</sup>	52.40±12.120 <sup>AB,ab</sup>	78.45±3.132 <sup>BC,a</sup>
	%4 niyozom	51.80±7.191 <sup>A,b</sup>	50.62±2.326 <sup>AB,b</sup>	77.42±3.288 <sup>C,a</sup>
%6 niyozom	39.85±6.838 <sup>AB,a</sup>	42.50±1.195 <sup>B,a</sup>	48.06±13.22 <sup>D,a</sup>	
tanδ		<b>1</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
	Kontrol	0.29±0.003 <sup>A,a</sup>	0.30±0.006 <sup>A,a</sup>	0.29±0.000 <sup>A,a</sup>
	%2 ekstrakt	0.28±0.005 <sup>A,a</sup>	0.28±0.008 <sup>A,a</sup>	0.28±0.002 <sup>A,a</sup>
	%4 ekstrakt	0.28±0.002 <sup>A,a</sup>	0.29±0.008 <sup>A,a</sup>	0.30±0.018 <sup>A,a</sup>
	%6 ekstrakt	0.29±0.002 <sup>A,a</sup>	0.29±0.007 <sup>A,a</sup>	0.42±0.141 <sup>A,a</sup>
	%2 niyozom	0.25±0.039 <sup>A,a</sup>	0.30±0.046 <sup>A,a</sup>	0.27±0.011 <sup>A,a</sup>
	%4 niyozom	0.26±0.002 <sup>A,b</sup>	0.29±0.012 <sup>A,a</sup>	0.28±0.005 <sup>A,ab</sup>
%6 niyozom	0.28±0.010 <sup>A,a</sup>	0.27±0.004 <sup>A,a</sup>	0.27±0.005 <sup>A,a</sup>	

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

### 4.5.3. Yoğurt Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler

Hem kontrol yoğurt örneğine hem de farklı oranlarda ekstrakt ve niyozom eklenmiş yoğurt örneklerinde depolama süresince değişen mikroorganizma sayıları Çizelge 4.28’de verilmiştir. Mikroorganizma sayıları  $\log_{10}$ kob/g yoğurt cinsinden verilmiş olup, *S. thermophilus* sayımı amacıyla M17 agar, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayımı için ise MRS agar kullanılmıştır.

MRS besiyeri için de kontrol örneğindeki 1. günde tespit edilen mikroorganizma sayısı ekstrakt ve niyozom eklenmiş örneklerden daha fazladır. Bu durum yoğurt örneğine steril edilmeden eklenen betalaince zengin fenolik içeriği yüksek ekstrakt ve niyozomun mikroorganizmaları kısmen inhibe etmesi ile ilişkilendirilebilir. Yoğurdu renklendirmek amacıyla farklı konsantrasyonlarda çeşitli ekstraktların stirred tip yoğurda eklendiği bir çalışmada, tez çalışmasına benzer olarak kontrol örneğinde ölçülen mikroorganizma sayısı, farklı konsantrasyonlarda fenolik içerikli ekstrakt eklenen örneklerle göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (Wijesekara ve ark., 2022). Çizelge 4.28’deki birinci gün sonuçları incelendiğinde ekstraktın ve kapsülün miktarının artması ile her iki besiyerinde tespit edilen mikroorganizma sayısının istatistiksel olarak bir miktar azalttığı belirlenmiştir. 7. ve 14. gün sonuçları değerlendirildiğinde ise, hem *S. thermophilus* hem de *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayım sonuçlarının farklı konsantrasyonlarda kapsül eklenen bazı örneklerde istatistiksel olarak azalırken, farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen bazı örnekler için MRS agar besiyerinde de eklenen ekstrakt konsantrasyonunun artması ile sayım sonuçlarının azaldığı belirlenmiştir. *Tragopogon collinus* ekstraktının ve ekstraktın dondurmali kurutma yöntemi ile enkapsüle edilmiş halinin farklı konsantrasyonlarının probiyotik yoğurt formülasyonuna katıldığı bir çalışmada, tez çalışmasına benzer olarak ekstrakt konsantrasyonunun artması ile mikroorganizma sayısının azaldığı, fakat farklı konsantrasyonlarda kapsül eklenen örneklerde mikroorganizma sayısının çok değişmediği rapor edilmiştir (Maleki ve ark., 2021).

Depolama süresince değişen mikroorganizma sayıları incelendiğinde, kontrol örneğinde depolama süresince hem *S. thermophilus* hem de *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayısında istatistiksel açıdan bir azalma gözlenmektedir (Çizelge 4.28). Kontrol yoğurdunda depolama süresince mikroorganizma sayısının azalması literatürde depolama süresince azalan pH değeri ile ilişkilendirilmiştir (Farahmand ve ark., 2021). *S. thermophilus* sayısı açısından değerlendirildiğinde farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinde depolama süresince önemli bir değişim olmazken, kapsül eklenen

örneklerde depolamanın 7. günü ile *S. thermophilus* sayısında düşüş olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince değişen *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* sayıları incelendiğinde ise, %4 ekstrakt ve kapsül eklenen örnekler haricindeki diğer konsantrasyonlarda hem ekstrakt hem de niyozom eklenen örneklerde depolamanın 7. gününden itibaren mikroorganizma sayısının istatistiksel olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Literatürde yoğurda böğürtlen eklenen bir çalışmada depolama süresince ölçülen *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayım sonuçları tez çalışmasında yapılan kontrol ve katkı maddesi eklenen yoğurt örnekleri ile benzer bulunmuştur (Akan, 2022).

**Çizelge 4.28.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince mikrobiyolojik analiz sonuçları

Besiyeri	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
M17 agar	Kontrol	9.06±0.021 <sup>AB,a</sup>	8.89±0.028 <sup>A,b</sup>	8.76±0.032 <sup>C,c</sup>
	2% ekstrakt	8.95±0.020 <sup>B,a</sup>	8.86±0.013 <sup>AB,a</sup>	8.82±0.056 <sup>BC,a</sup>
	4% ekstrakt	8.60±0.069 <sup>C,a</sup>	8.66±0.027 <sup>BC,a</sup>	8.54±0.053 <sup>D,a</sup>
	6% ekstrakt	8.52±0.037 <sup>C,a</sup>	8.49±0.137 <sup>C,a</sup>	8.38±0.088 <sup>D,a</sup>
	%2 niyozom	9.17±0.017 <sup>A,a</sup>	9.04±0.008 <sup>A,b</sup>	8.97±0.023 <sup>AB,b</sup>
	%4 niyozom	9.14±0.011 <sup>A,a</sup>	8.99±0.016 <sup>A,b</sup>	9.02±0.003 <sup>A,b</sup>
	%6 niyozom	9.08±0.018 <sup>AB,a</sup>	9.02±0.024 <sup>A,ab</sup>	8.96±0.007 <sup>AB,b</sup>
MRS agar	Kontrol	7.92±0.011 <sup>A,a</sup>	7.75±0.102 <sup>A,ab</sup>	7.57±0.041 <sup>B,b</sup>
	2% ekstrakt	7.90±0.023 <sup>A,a</sup>	7.72±0.053 <sup>A,b</sup>	7.73±0.046 <sup>A,ab</sup>
	4% ekstrakt	6.92±0.018 <sup>D,a</sup>	6.93±0.032 <sup>CD,a</sup>	6.81±0.038 <sup>D,a</sup>
	6% ekstrakt	6.86±0.033 <sup>D,a</sup>	6.79±0.020 <sup>D,ab</sup>	6.67±0.046 <sup>D,b</sup>
	%2 niyozom	7.29±0.011 <sup>B,a</sup>	7.23±0.033 <sup>B,ab</sup>	7.15±0.002 <sup>C,b</sup>
	%4 niyozom	7.16±0.013 <sup>C,a</sup>	7.14±0.024 <sup>B,a</sup>	7.04±0.059 <sup>C,a</sup>
	%6 niyozom	7.10±0.027 <sup>C,a</sup>	7.04±0.014 <sup>BC,ab</sup>	7.01±0.015 <sup>C,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Sayılan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kolonileri temel bazı biyokimyasal reaksiyonlara bakılarak ve mikroskopik testler gerçekleştirilerek kontrol edilmiştir. Nutrient broth besiyerine geçilen saf kültürlerden öncelikle Gram boyama gerçekleştirilmiştir. Hem *S. thermophilus* hem de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Gram pozitif, olarak mikroskopta mor renkli görülmüştür. Biyokimyasal doğrulama amacıyla da saf kültürlerle katalaz testi ve hareket testi uygulanmıştır. Yapılan testler sonucunda *S.*

*thermophilus* hem de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un katalaz negatif ve hareketsiz mikroorganizmalar oldukları doğrulanmıştır. Glukoz broth besiyerinde gerçekleştirilen glukoz fermantasyon testleri sonucunda ise glukozun bu iki mikroorganizma tarafından fermente edildiği ancak durham tüplerinde gaz oluşumu gerçekleşmediği gözlenmiştir.

Literatürde yapılan bir çalışmada da bu iki mikroorganizmanın biyokimyasal özellikleri tez çalışması ile aynı bulunmuştur (Huang ve ark., 2024; Khushboo ve ark., 2023).

#### **4.5.4. Yoğurt Örneklerinde Biyoaktif Bileşiklerin Analizi**

##### **4.5.4.1. Toplam Fenolik Madde (TFM) Analizi**

Tez çalışmasında yoğurt örneklerinde gerçekleştirilen TFM analizi sonuçları Çizelge 4.29'da sunulmuştur. Depolama süresince kontrol örneğindeki TFM değerlerinin bir miktar azaldığı tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyondaki ekstrakt ve niyozom örnekleri için, %2 ve %4'lik konsantrasyonlarda depolama süresince TFM değerlerinin bir miktar arttığı; %6'lık konsantrasyon için ise, TFM değerlerinin istatistiksel olarak bir miktar azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum belirli bir konsantrasyona kadar bağlı formda bulunan fenolik bileşenlerin yoğurt matriksinde aktif forma geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde sade yoğurda üzüm posası eklenen bir çalışmada, bu durum eklenen katkı maddesindeki fenolik bileşikler ile yoğurttaki proteinlerde protein-polifenol komplekslerinin oluşarak fenolik bileşiklerin miktar olarak artabileceği şeklinde açıklanmıştır (Demirkol ve Tarakci, 2018). 1., 7. ve 14. gün örnekleri kendi arasında incelendiğinde ise, hiçbir ilave yapılmamış kontrol yoğurdu örneğinde ölçülen TFM diğer örneklere göre en düşük olduğu görülmektedir. Ayrıca ekstrakt eklenen örneklerde ölçülen TFM değerleri niyozom eklenen örneklerden istatistiksel olarak bir miktar fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durum, enkapsülasyon esnasındaki bir dizi proses esnasında bir miktar TFM'nin kaybedilebileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Fenolikçe zengin bileşenler içeren ekstraktın kapsüllenmediği durumda ise depolama esnasında daha fazla kayıp olacağı literatürde doğrulanmıştır (Khoshdouni Farahani ve ark., 2022). Çizelge 4.29'da verilen aynı sütündeki örneklere göre ayrıca yoğurda ilave edilen betalaince zengin ekstrakt ve niyozom miktarının artması ile TFM değerlerinin arttığı da belirlenmiştir. Literatürde tez çalışmasına benzer olarak farklı konsantrasyonlarda dut ve elma posası eklenen yoğurt örneklerinde de TFM analizi

gerçekleştirilmiş ve fenolik bileşik içeren katkı maddesi ilavesinin yüzde olarak artması durumunda ölçülen TFM değerlerinin de arttığı rapor edilmiştir (Du ve ark., 2021; Wang ve ark., 2020c).

**Çizelge 4.29.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen TFM değerleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/ g yoğurt))

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
TFM	Kontrol	0.05±0.001 <sup>G,a</sup>	0.04±0.001 <sup>F,b</sup>	0.04±0.001 <sup>F,b</sup>
	%2 ekstrakt	2.63±0.058 <sup>E,c</sup>	5.56±0.043 <sup>C,a</sup>	5.27±0.047 <sup>C,b</sup>
	%4 ekstrakt	4.78±0.073 <sup>C,b</sup>	5.47±0.108 <sup>C,a</sup>	5.30±0.047 <sup>C,a</sup>
	%6 ekstrakt	8.57±0.067 <sup>A,a</sup>	7.23±0.111 <sup>B,b</sup>	7.05±0.080 <sup>B,b</sup>
	%2 niyozom	2.25±0.050 <sup>F,c</sup>	3.57±0.070 <sup>E,a</sup>	2.62±0.055 <sup>E,b</sup>
	%4 niyozom	4.49±0.033 <sup>D,b</sup>	5.04±0.120 <sup>D,a</sup>	5.01±0.070 <sup>D,a</sup>
	%6 niyozom	8.23±0.033 <sup>B,a</sup>	8.06±0.081 <sup>A,a</sup>	7.99±0.088 <sup>A,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05) Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.4.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK) Analizi

Yoğurt örneklerine depolama süresince uygulanan TAK analizi sonuçları Çizelge 4.30’da verilmiştir. Yoğurt örneklerindeki TFM sonuçları ile TAK sonuçları birbirleri ile büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. Bu durum fenolik özellikteki bileşiklerin aynı zamanda antioksidan özellikte de olmasından kaynaklanmaktadır (Shi ve ark., 2022a). Birinci gün örnekleri incelendiğinde, kontrol örneğindeki TAK değeri en az olmakla birlikte, yoğurda eklenen ekstrakt ve niyozom miktarı arttıkça TAK değerlerinin de arttığı tespit edilmiştir. Literatürde yoğurda farklı konsantrasyonlarda kuşburnu posası eklenen bir çalışmada da, eklenen antioksidan özellikteki katkı maddesi ilavesinin artışı ile ölçülen TAK değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Sahingil ve Hayaloglu, 2022). Ayrıca istatistiksel olarak

%4 niyozom ile %6'lık konsantrasyondaki ekstrakt ve niyozom örnekleri için TAK değerleri arasında bir fark bulunmamıştır. 7. ve 14. gün örneklerine bakıldığında ise, örneklerde istatistiksel açıdan aynı sonuçların elde edildiği görülmektedir. TAK değerlerinin en yüksek konsantrasyonda ekstrakt eklenen örnekten başlayarak düşük konsantrasyona doğru azaldığı belirlenmiştir. Çizelge 4.30'a göre, TFM değerlerine benzer olarak depolama süresince TAK değerlerinin istatistiksel olarak hem arttığı hem de azaldığı örnekler bulunmuştur. Depolama süresince TAK değerlerinin artışı literatürde, depolama süresince yoğurtta meydana gelen protein hidrolizi sonucu oluşan kısa peptidlerin antioksidan kapasiteyi artırması ile açıklanmaktadır (Abdel-Hamid ve ark., 2019; Sahingil ve Hayaloglu, 2022). Kontrol örneği ile %6 ekstrakt ve niyozom eklenen örnekler için ise, depolama süresince TAK değerlerinin istatistiksel olarak bir miktar azaldığı tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.30.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C'de depolama süresince değişen TAK değerleri (TAK: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg yoğurt))

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
TAK	Kontrol	0.52±0.001 <sup>E,a</sup>	0.47±0.010 <sup>G,b</sup>	0.46±0.012 <sup>G,b</sup>
	%2 ekstrakt	21.66±0.283 <sup>C,b</sup>	29.42±0.474 <sup>E,a</sup>	28.63±0.899 <sup>E,a</sup>
	%4 ekstrakt	34.75±0.471 <sup>B,b</sup>	38.89±0.340 <sup>C,a</sup>	33.37±0.519 <sup>C,c</sup>
	%6 ekstrakt	44.79±0.356 <sup>A,a</sup>	43.41±0.498 <sup>A,b</sup>	43.03±0.617 <sup>A,b</sup>
	%2 niyozom	20.19±0.392 <sup>D,c</sup>	26.28±0.340 <sup>F,a</sup>	22.98±0.249 <sup>F,b</sup>
	%4 niyozom	33.96±0.568 <sup>B,a</sup>	34.15±0.303 <sup>D,a</sup>	31.70±0.519 <sup>D,b</sup>
	%6 niyozom	43.53±0.801 <sup>A,a</sup>	41.40±0.980 <sup>B,b</sup>	40.99±0.054 <sup>B,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.5.4.3. Toplam Betalain Miktarı (TBM) Analizi

Tez çalışmasındaki yoğurt deneylerinde gerçekleştirilen TBM analizi sonuçları Çizelge 4.31’de görülmektedir. Kontrol örneğine betalaince zengin bir katkı maddesi ilavesi yapılmadığı için TBM analizi de gerçekleştirilmemiştir. 1. gün örnekleri incelendiğinde, eklenen ekstrakt ve kapsül yüzdesi arttıkça ölçülen TBM değerlerinin de arttığı görülmektedir. Ekstrakt eklenen örneklerdeki TBM değerleri, aynı konsantrasyonda niyozom eklenen örneklere göre istatistiksel açıdan daha yüksektir. Bu durum TFM ve TAK analizlerine benzer olarak enkapsülasyon prosesi esnasında az bir miktar betalainin kaybedilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 7. ve 14. gün örnekleri kendi arasında incelendiğinde istatistiksel olarak 1. gün sonuçlarına benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Depolama süresince değişen TBM sonuçları incelendiğinde ise, ekstrakt eklenen örneklerde 7. günden itibaren TBM’de önemli azalmalar gözlenirken, niyozom eklenen örneklerdeki azalmanın ekstrakt eklenen örneklere göre daha az olduğu belirlenmiştir. Bu durum niyozom yöntemi ile uygulanan kapsülleme prosesinin doğal renk maddesi olan betalainleri korumak için anlamlı bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde kırmızı pancar suyu konsantresinin iyonik jelleşme metodu ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, tez çalışmasına benzer olarak enkapsülasyon koşulları optimize edilmiş ve optimum koşulda elde edilen kapsül 6 hafta boyunca depolanmıştır. Sözü edilen çalışmada bulunan sonuçlara göre, TBM 4 haftaya kadar istatistiksel olarak stabil kalmış sonrasında bir miktar azalmaya başladığı belirlenmiştir (Tekin ve ark., 2023). Ejder meyvesinden elde edilen betaksantince zengin ekstraktın farklı kaplama malzemeleri ile sprey kurutma metodu ile enkapsüle edildiği farklı bir çalışmada ise, elde edilen kapsüller ve kapsüllememiş ekstrakt yumuşak şeker formülasyonuna eklenmiştir. Yumuşak şeker formülasyonlarının 30 günlük depolanması sonucunda kapsüllemiş örnek içeren şekerlemelerde renk bileşenlerinin sadece ekstrakt eklenen örneğe göre daha iyi muhafaza edildiği rapor edilmiştir (Otálora ve ark., 2019).

**Çizelge 4.31.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde + 4 °C’de depolama süresince değişen TBM değerleri (TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/kg yoğurt))

Parametre	Konsantrasyon	Depolama zamanı (gün)		
		1	7	14
TBM	2% ekstrakt	747.42±2.766 <sup>E,a</sup>	554.14±3.301 <sup>D,b</sup>	413.21±1.641 <sup>F,c</sup>
	4% ekstrakt	1073.28±1.533 <sup>C,a</sup>	964.56±10.545 <sup>C,b</sup>	652.39±8.584 <sup>D,c</sup>
	6% ekstrakt	2430.36±1.145 <sup>A,a</sup>	1260.23±4.117 <sup>B,b</sup>	1092.90±10.879 <sup>B,c</sup>
	%2 niyozom	711.39±6.347 <sup>F,a</sup>	533.71±4.745 <sup>D,b</sup>	518.19±5.047 <sup>E,c</sup>
	%4 niyozom	1016.86±8.942 <sup>D,a</sup>	969.38±7.989 <sup>C,b</sup>	905.03±8.102 <sup>C,c</sup>
	%6 niyozom	1927.48±6.216 <sup>B,a</sup>	1714.63±18.277 <sup>A,b</sup>	1706.65±5.152 <sup>A,b</sup>

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.6. *In-vitro* Sindirim Uygulaması

##### 4.6.1 Ekstrakt Örneği ve Niyozomal Veziküllerde *in-vitro* Sindirim

Tez çalışmasının son aşamasında, kaktüs meyvesinden VMDE ile elde edilen kapsüllenmemiş ve kapsüllenmiş ekstraktların *in-vitro* sindirimi iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Mide fazı ve bağırsak fazı sonrasında biyoaktif bileşikler ölçülmüş ve sindirime uğramadan ölçülen değerler ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.32’de verilmiştir. Sindirim öncesi ve sindirimin her aşaması sonrası ölçülen TFM, TAK ve TBM değerleri tek yönlü varyans analizi ile analiz edilmiş ve istatistiksel olarak farklılıkları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ayrıca biyoerişilebilirlik yüzdesi olarak da aynı çizelgede verilmiştir. Sözü edilen biyoerişilebilirlik indeksi biyoaktif bileşiğin bağırsak sonrası ölçülen miktarının sindirim öncesi ölçülen miktarına oranlanıp 100 ile çarpılması ile elde edilmiştir (Mehta ve ark., 2024). Çizelge 4.32 incelendiğinde hem ekstrakt hem de niyozom için sindirimin iki aşamasında da TFM ve TAK değerleri büyük ölçüde artarken TBM değerleri ekstrakt için daha fazla niyozom için daha az artış göstermiştir. Niyozomlarda başlangıçta ölçülen TFM ve TAK değerleri

ekstrakttakilere çok daha azken sindirim sonrasında ulaşılan miktarlar, ekstraktta sindirim sonrasında ölçülen TFM ve TAK değerleri ile neredeyse aynıdır. Sindirim sonrasında TFM ve TAK değerlerinin artışı sindirim koşullarında bağlı formdan aktif hale geçen fenolik ve antioksidan bileşiklerin oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ejder meyvesinden ekstrakte edilen betaksantinlerin hem kaplanarak hem de kaplanmadan yumuşak şeker formülasyonuna katıldığı bir çalışmada, örneklere uygulanan *in-vitro* sindirimden sonra antioksidan kapasite değerleri ölçülmüştür. Buna göre, bağırsak fazı sonrasında tez çalışmasına benzer olarak ekstraktta ölçülen biyoerişilebilirlik yüzdesinin kapsülde ölçülenden daha az olduğu rapor edilmiştir (Otálora ve ark., 2023). TBM değerleri incelendiğinde ekstraktta sindirim biyoerişilebilirlik miktarı kapsüllere göre daha fazla ölçülmüştür. Bu durum kaplama materyalinin renk maddesini ekstraktta göre sindirim koşullarına karşı bir daha iyi koruduğunu göstermektedir. Literatürde kaktüs meyvesinden elde edilen betalainlerin iyonik jelleşme metodu ile kaplanarak yumuşak şeker formülasyonuna katıldığı bir çalışmada, betalainlerin enkapsüle edildiği takdirde renk maddesinin daha iyi korunduğu ifade edilmiştir (Mehta ve ark., 2024). Mide fazı sonrasında TBM değerleri incelendiğinde, bu fazdan sonra hem kapsül hem de ekstrakt için TBM'nin düştüğü belirlenmiştir. pH betalainlerin stabilitesini etkileyen önemli bir dış etmen olup literatürde betalainlerin en stabil olduğu aralık pH 4-7 arasında olduğu ifade edilmiştir (Thirugnanasambandham ve Sivakumar, 2017). Bu nedenle, mide fazı sonrasında, TBM'nin hem ekstrakt hem de kapsül için azalması düşük pH değerlerinde betalainlerin stabilitesini kısmen kaybetmesi ile açıklanabilir.

Literatürde betalainlerle yapılan *in-vitro* sindirimi çalışmalarının birinde, *in-vitro* analizlerindeki mide fazı ve bağırsak fazı koşullarına betaksantinlerin betasiyaninlerden daha stabil olarak kaldıkları ifade edilmiştir. Bu durum betasiyaninlerdeki baskın betalain olarak bilinen betanin bileşeninin hidrofobik doğasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Grace ve ark., 2025). Sözü geçen çalışmada, kırmızı pancardan elde edilen betalainler bezelye proteinin kullanılarak dondurmalı ve püskürtmeli kurutma yöntemleri ile enkapsüle edilmiş ve kapsüllere *in-vitro* sindirim uygulaması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, sindirim sonunda kapsüllerdeki betasiyaninler kısmen kayba uğrarken, betaksantinlerin büyük ölçüde korunduğu ifade edilmiştir.

**Çizelge 4.32.** Kaktüs meyvesi için optimum koşullarda elde edilen ekstrakt ve niyozomlardaki *in-vitro* sindirim sonrasında biyoaktif bileşenlerinin değişimi (TFM: Toplam fenolik madde (mg GAE/g kuru ağırlık), TAK: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (mmol TE/ kg kuru ağırlık), TBM: Toplam betalain miktarı mg betalain/kg kuru ağırlık))

Ekstrakt	TFM	TAK	TBM
Sindirim öncesi	7.78 <sup>c</sup> ±0.13	47.06 <sup>b</sup> ±0.43	715.50 <sup>b</sup> ±5.50
Mide sindirimi sonrası	10.38 <sup>b</sup> ±0.11	46.98 <sup>b</sup> ±0.96	645.47 <sup>c</sup> ±18.19
Bağırsak sindirimi sonrası	16.75 <sup>a</sup> ±0.03	98.28 <sup>a</sup> ±1.13	2181.36 <sup>a</sup> ±17.76
Biyoreişilebilirlik indeksi (%)	215.30	208.84	304.87
Niyozom	TFM	TAK	TBM
Sindirim öncesi	3.06 <sup>c</sup> ±0.06	24.40 <sup>c</sup> ±0.26	687.30 <sup>b</sup> ±0.10
Mide sindirimi sonrası	9.86 <sup>b</sup> ±0.24	91.04 <sup>a</sup> ±0.26	503.77 <sup>c</sup> ±3.52
Bağırsak sindirimi sonrası	15.99 <sup>a</sup> ±0.34	88.42 <sup>b</sup> ±0.81	830.29 <sup>a</sup> ±18.51
Biyoreişilebilirlik indeksi (%)	522.55	362.38	120.80

\*Sonuçlar ekstrakt ve kapsül için ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, aynı sütündeki farklı küçük harfler, sindirim öncesi ve sindirimin her bir aşaması sonrasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

#### 4.6.2 Yoğurt Örneklerinde *in-vitro* Sindirim

Tez çalışmasının bu aşamasında ise, hiçbir katkı maddesi eklenmemiş kontrol yoğurdu örneği ile farklı konsantrasyonlarda konsantre ekstrakt ve bu ekstrakt ile hazırlanan niyozomların eklendiği örnekler *in-vitro* sindirim uygulanmış, mide ile bağırsak fazı sonrasında TFM, TAK ve TBM analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.33'ten sindirim süresince değişen TFM değerleri incelendiğinde hem kontrol örneği hem de farklı konsantrasyonlarda katkı maddesi eklenen yoğurt örnekleri için mide fazında TFM değerleri istatistiksel olarak bir miktar azalırken, bağırsak fazı sonrasında sindirim öncesi ölçülen TFM değerlerinin üstüne çıktığı tespit edilmiştir. Bu durum fenolik maddelerin ekstrakt ve kapsül içeren yoğurt ortamında mide ve bağırsak fazındaki pH değişimine karşı gösterdiği stabilite ile açıklanabilir. Ayrıca eklenen ekstrakt ve kapsül miktarı arttıkça sindirim sonunda ölçülen TFM değerlerinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde yoğurda tarçın ekstraktı eklenen bir çalışmada da tez çalışmasına benzer olarak sindirim tamamlandıktan sonra ölçülen TFM değerleri sindirim

öncesinde ölçülen değerlere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum süt ürünleri maktisinde varolan süt proteinleri ile polifenolik özellikteki bileşiklerin etkileşimleri ile açıklanmıştır. Sindirim öncesinde kompleks formda olan proteinler ile fenolik bileşikler sindirim sonrasında süt proteinin hidrolize olmasıyla serbest forma geçtiklerinden ölçülen TFM değerlerinin arttığı ifade edilmiştir (Helal ve Tagliazucchi, 2018). Benzer bir sonuç da yoğurda antosiyanince zengin bir pirinç ekstraktı eklenen yoğurt çalışmasında da mevcuttur. Sözü edilen çalışmada da bağırsak fazı sonrasında elde edilen TFM değerlerinin sindirim öncesi ölçülen TFM'ye göre yüksek olduğu rapor edilmiştir (Anuyahong ve ark., 2020). Biyoerişilebilirlik indeksi değerleri incelendiğinde ise, %4 ekstrakt eklenen örnek dışında bağırsak fazı sonunda ölçülen TFM değerleri sindirim öncesi TFM değerlerinden yüksek olduğundan indeks değerlerinin 100'ün üzerinde olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.33.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TFM değerleri (TFM: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/ g yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi)

Parametre	Konsantrasyon	Sindirim öncesi	Mide fazı sonrası	Bağırsak fazı sonrası	BI (%)
TFM	Kontrol	0.05±0.001 <sup>b</sup>	0.04±0.004 <sup>c</sup>	0.07±0.006 <sup>a</sup>	140.00
	%2 ekstrakt	2.63±0.058 <sup>ab</sup>	2.54±0.018 <sup>b</sup>	2.68±0.011 <sup>a</sup>	101.90
	%4 ekstrakt	4.78±0.073 <sup>a</sup>	4.38±0.016 <sup>b</sup>	4.74±0.025 <sup>a</sup>	99.16
	%6 ekstrakt	8.57±0.067 <sup>b</sup>	7.12±0.025 <sup>c</sup>	9.23±0.065 <sup>a</sup>	107.70
	%2 niyozom	2.25±0.050 <sup>b</sup>	2.20±0.017 <sup>b</sup>	3.23±0.014 <sup>a</sup>	143.56
	%4 niyozom	4.49±0.033 <sup>b</sup>	4.48±0.021 <sup>b</sup>	4.82±0.033 <sup>a</sup>	107.35
	%6 niyozom	8.23±0.033 <sup>b</sup>	8.21±0.024 <sup>b</sup>	8.86±0.033 <sup>a</sup>	107.65

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 4.34'te ise, kontrol yoğurdu ve farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom içeren örnekler için mide ve bağırsak fazı sonrasında değişen TAK değerleri sunulmuştur. TFM değerlerine benzer olarak TAK değerlerinde de mide fazı sonrasında yaşanan düşüş sonrasında bağırsak fazında TAK değerlerinde artış gözlenmiştir. Yine TFM değerlerine benzer olarak eklenen ekstrakt ve niyozom miktarı arttıkça örneklerde bağırsak fazı sonunda ölçülen TAK değerlerinin de arttığı belirlenmiştir. Betalaince zengin katkı maddesi içeriğindeki fenolik bileşikler aynı zamanda antioksidan özellikte de olduğundan TFM ve TAK sonuçlarının birbirine paralel olması olası olarak görülmektedir (Alara ve ark., 2021). Literatürde TAK ve TFM değerlerinin artması, yoğurda uygulanan *in-vitro* sindirim uygulaması sonucu hidrolize olan süt proteinleri ile laktik asit bakterilerinin sekonder metabolizmaları sonucunda fenolik bir yan zincir içeren biyoaktif peptidlerin ve başka bileşiklerin oluşması ile açıklanmaktadır. Artan fenolik içeriğe bağlı olarak antioksidan kapasitenin de artması ile raf ömrü daha uzun olan yoğurt eldesinin sağlanacağı da ifade edilmektedir (Ferreira ve Santos, 2023). Belirli bir oranda sumak yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilen yoğurt örneğine uygulanan *in-vitro* sindirim uygulaması yapılan bir çalışmada, sindirim sonucu elde edilen TAK değerlerinin sindirim öncesi ölçülen değerlerden yüksek olduğu ve biyoerişilebilirlik indeksi değerlerinin tez çalışmasına benzer olarak yüzden fazla olduğu rapor edilmiştir. Sözü geçen çalışmada, bağırsak fazından sonra antioksidan özelliğinin artmasının bazik ortamda fenolik bileşenlerdeki aromatik halkanın hidroksil radikallerinin deprotonasyonu sonucunda gerçekleştiği de ifade edilmiştir (Simonetti ve ark., 2021). Biyoerişilebilirlik indeksi değerlerinin kapsüllerde ekstraktlara göre daha yüksek olduğu da Çizelge 4.34'te görülmektedir.

**Çizelge 4.34.** Hiçbir ilave yapılmamış kontrol örneği ile farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TAK değerleri (TAK: Toplam antioksidan madde miktarı (mmol TE/ kg yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi)

Parametre	Konsantrasyon	Sindirim öncesi	Mide fazı sonrası	Bağırsak fazı sonrası	BI(%)
	Kontrol	0.52±0.001 <sup>b</sup>	0.51±0.046 <sup>b</sup>	0.63±0.043 <sup>a</sup>	119.23
	%2 ekstrakt	21.66±0.283 <sup>a</sup>	19.73±0.180 <sup>b</sup>	22.09±0.105 <sup>a</sup>	101.98
	%4 ekstrakt	34.75±0.471 <sup>a</sup>	30.21±0.115 <sup>c</sup>	32.33±0.204 <sup>b</sup>	93.04
TAK	%6 ekstrakt	44.79±0.356 <sup>b</sup>	43.70±0.201 <sup>c</sup>	46.44±0.483 <sup>a</sup>	103.68
	%2 niyozom	20.19±0.392 <sup>c</sup>	21.08±0.107 <sup>b</sup>	24.79±0.392 <sup>a</sup>	122.78
	%4 niyozom	33.96±0.568 <sup>b</sup>	32.33±0.197 <sup>c</sup>	36.42±0.206 <sup>a</sup>	107.24
	%6 niyozom	43.53±0.801 <sup>b</sup>	42.73±0.379 <sup>b</sup>	47.81±0.653 <sup>a</sup>	109.83

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 4.35’te farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom içeren yoğurt örneklerine uygulanan *in-vitro* sindirim sonrasında değişen TBM değerleri ile ölçülen TBM değerlerinden hesaplanan biyoerişilebilirlik indeksi değerleri verilmiştir. Kontrol örneğinde betalain içerikli herhangi bir katkı maddesi ilavesi yapılmadığı için TBM analizi gerçekleştirilmemiştir. TFM ve TAK analizlerinde ölçülen biyoerişilebilirlik indeksi değerlerine benzer olarak TBM için de bu değerlerin yüzün üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Tüm örnekler için mide fazı sonrasında ölçülen TBM değerleri sindirim öncesinde ölçülenlere göre daha düşük olarak belirlenmiştir. Literatür kaynaklarına göre, betalainlerin stabilitesini birçok faktör (ışık, sıcaklık, metal iyonları vb.) etkilemekle birlikte pH değişimi stabilize üzerinde en çok etkiye sahip olan bir kriter olarak ifade edilmiştir. Diğer çevresel faktörlere de bağlı olmakla birlikte literatür kaynaklarında betalainlerin en stabil olduğu pH aralığı 4-7 olarak ifade edilmektedir (Calva-Estrada ve ark., 2022; Lukitasari ve ark., 2024). Bu nedenle mide fazı sonrasında, TBM değerlerinin bir miktar azalması beklenmektedir. Bağırsak fazı sonrası ölçülen TBM değerlerinin ise sindirim öncesi ve mide fazı sonrası TBM değerlerine göre istatistiksel olarak en yüksek

olduğu belirlenmiştir. Bağırsak fazı sonrasında yüksek ölçülen TBM değerleri, intestinal fazdaki pH değerinin betalainlerin stabil kaldığı pH aralığında olmasından olduğu düşünülmektedir. Kırmızı ejder meyvesi ekstraktının lipozomal yöntem ile enkapsüle edildiği bir çalışmada, elde edilen kapsül tez çalışmasına benzer olarak mide ve bağırsak simülasyonuna maruz bırakılarak sonrasında betalain miktarı incelenmiştir. Mide fazı esnasında düşük pH değerine maruz kalan kapsüllerde elektrostatik itici kuvvetlerin azalması sonucu meydana gelen agregasyonlar ile içerikteki betalainler serbest halde olmadığından mide fazı sonrası betalainlerin bir miktar azaldığı ifade edilmiştir. Mide fazı sonrası kapsüllere bağırsak fazı uygulaması da gerçekleştirildiğinde ise, pankreatik enzimler ve betalainler için optimum olan pH ortamı sayesinde betalainlerin serbest forma geçerek miktar olarak artış gösterdiği ifade edilmiştir (Lin ve ark., 2022).

**Çizelge 4.35.** Farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örneklerinde *in-vitro* sindirim süresince değişen TBM değerleri (TBM: Toplam betalain miktarı (mg betalain/kg yoğurt), BI: Biyoerişilebilirlik indeksi)

Parametre	Konsantrasyon	Sindirim öncesi	Mide fazı sonrası	Bağırsak fazı sonrası	BI (%)
TBM	%2 ekstrakt	747.42±2.766 <sup>b</sup>	645.86±4.574 <sup>c</sup>	929.47±8.121 <sup>a</sup>	124.36
	%4 ekstrakt	1073.28±1.533 <sup>b</sup>	913.26±3.120 <sup>c</sup>	1270.99±7.684 <sup>a</sup>	118.42
	%6 ekstrakt	2430.36±1.145 <sup>b</sup>	2073.39±5.206 <sup>c</sup>	2510.15±12.067 <sup>a</sup>	103.28
	%2 niyozom	711.39±6.347 <sup>b</sup>	688.68±7.511 <sup>c</sup>	828.20±7.584 <sup>a</sup>	116.42
	%4 niyozom	1016.86±8.942 <sup>b</sup>	896.32±1.264 <sup>c</sup>	1248.29±4.935 <sup>a</sup>	122.76
	%6 niyozom	1927.48±6.216 <sup>b</sup>	1529.91±21.734 <sup>c</sup>	2300.36±17.054 <sup>a</sup>	119.35

Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). Yanıtlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

## 5. YORUM

Bu tez çalışmasında, özellikle kurak ve yarı-kurak iklimlerde yetişen, betalain pigmentleri ile fenolik bileşikler açısından zengin olan mevsimlik kaktüs meyvesinin (*Opuntia ficus-indica* L.) fonksiyonel olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Kaktüs meyvesinden betalain ve fenolik bileşikler yönünden zengin biyoaktiflerin ekstraksiyonu amacıyla konvansiyonel ekstraksiyon (KE), ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon (VMDE) yöntemleri kullanılmıştır. Her üç ekstraksiyon yöntemi için Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak 5 tanesi merkez noktada olmak üzere 29 adet deney gerçekleştirilmiş ve Design Expert 13 programı kullanılarak ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. KE ve UDE için bağımsız değişkenler: ekstraksiyon süresi ( $X_1$ ) (saat-dakika), ekstraksiyon sıcaklığı ( $X_2$ ) ( $^{\circ}\text{C}$ ), çözücüdeki etanol yüzdesi ( $X_3$ ) (%) ve örnek: çözücü hacmi oranı ( $X_4$ ) (g katı örnek/mL çözücü) olarak belirlenmiştir. VMDE için bağımsız değişkenler ise; vakum değeri ( $X_1$ ) (mmHg), ekstraksiyon süresi ( $X_2$ ) (dakika), ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi ( $X_3$ ) (%) ve örnek: çözücü hacmi oranıdır ( $X_4$ ) (g katı örnek/mL çözücü). Deneyler sonucunda, elde edilen yanıtlar ise, toplam fenolik madde miktarı (TFM), iki farklı yöntemle ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $\text{TAK}_{\text{DPPH}}$  ve  $\text{TAK}_{\text{CUPRAC}}$ ) ve toplam betalain miktarıdır (TBM).

Yanıt yüzey yöntemi yardımıyla gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında, üç ekstraksiyon yöntemi için yapılan deneyler sonucunda optimum işlem koşulları bulunmuştur. Buna göre, KE için optimum ekstraksiyon koşulları;  $X_1$ : 2.05 saat,  $X_2$ : 50  $^{\circ}\text{C}$ ,  $X_3$ : %80 etanol yüzdesi ve  $X_4$ : 1:22.60 g katı örnek/mL çözücü oranı olarak belirlenmiştir. UDE için optimum ekstraksiyon koşulları;  $X_1$ : 30 dakika,  $X_2$ : 50  $^{\circ}\text{C}$ ,  $X_3$ : %40 etanol yüzdesi ve  $X_4$ : 1:30 g katı örnek/mL çözücü oranıdır. Son yöntem olan VMDE için optimum çalışma koşulları ise;  $X_1$ : 108.82 mmHg,  $X_2$ : 2.47 dakika,  $X_3$ : %20 etanol yüzdesi ile  $X_4$ : 1:29.42 g katı örnek /mL çözücü olarak belirlenmiştir. VMDE'nin diğer iki yöntemle göre çok daha kısa sürede daha düşük oranda etanol kullanılarak verimli bir ekstraksiyon sağladığı görülmüştür.

KE, UDE ve VMDE optimum koşullarında da elde edilen ekstraktların 70 °C'deki ısıl kararlılığı belirlenmiş ve renk analizleri gerçekleştirilmiştir. KE, UDE ve VMDE yöntemlerinde elde edilen ekstraktlarda ısıl kararlılık değerleri sırasıyla %55.501, %60.752, %66.808 olarak bulunmuştur. Renk analizinde ölçülen değerler ise ekstraktlarda ölçülen TBM değerleri ile tutarlı bulunmuştur. Ayrıca ekstraktların kompozisyonlarının analizi için ticari betanin örneğinden Q-TOF LC/MS analizi ile standart eğri oluşturulmuş ve ekstraktlardaki farklı betalainler betanin cinsinden miktar olarak tayin edilmiştir. Optimum koşullardaki ekstraktların *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), and *Listeria monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyel etkileri de 2 farklı yöntem ile araştırılmıştır. Kuyucuk difüzyon metodunda her üç yöntemin optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar, *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, sadece VMDE yönteminin optimum koşullarında elde edilen ekstrakt *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922) üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. *Listeria monocytogenes* üzerinde ise herhangi bir antimikrobiyal etki bulunmamıştır. Tüp dilüsyon metodunda her üç yöntemin de optimum koşullarında elde edilen ekstraktlar için MİK seyrelti yapılmayan tüplerde sadece *Salmonella enteritidis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis için elde edilmiştir.

Ekstraksiyon çalışmalarından sonraki aşamada, VMDE yönteminden elde edilen optimum ekstrakt örneğindeki betalainler ve fenolik bileşiklerin dış etmenlerden olumsuz etkilenmemesi ve stabilizasyonunun sağlanması için niyozomal enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon yöntemlerine benzer olarak Box-Behnken yöntemi ile toplam 29 deney yapılmış ve uygulanan bağımsız değişkenler; sürfektan maddelerin molar oranları ( $X_1$ ) (Span 60: Tween 80) (M/M), ekstrakt miktarı ( $X_2$ ) (mg ekstrakt/100 mg sürfektan), kolesterol miktarı ( $X_3$ ) (mg kolesterol/100 mg sürfektan) ve enkapsülasyon sonrasında uygulanan ultrason süresi ( $X_4$ ) (sn) olarak seçilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda enkapsülasyon verimi, toplam fenolik madde miktarı (TFM), CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi ( $TAK_{CUPRAC}$ ), renk analizinde ölçülen  $b^*$  değeri ve toplam betalain miktarı (TBM) yanıtları ölçülmüştür. Yanıt yüzey yöntemi sonucunda belirlenen optimum enkapsülasyon koşulları;  $X_1$ :1.161,  $X_2$ : 14.440 mg ekstrakt/100 mg sürfektan,  $X_3$ : 0.1 mg kolesterol/100 mg sürfektan ve  $X_4$ : 89.99 sn olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda yanıtlardan enkapsülasyon verimi %96.06, TFM 3.06 mg GAE/ g kuru ağırlık,  $TAK$  24.41 mmol TE/kg kuru ağırlık,  $b^*$  değeri 2.81

ve TBM 687.30 mg betalain/kg kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Optimum enkapsülasyon koşullarında elde edilen kapsülde karakterizasyon amacıyla FT-IR ve TEM analizleri ile zeta potansiyeli ve parçacık boyutu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. 30 günlük depolama süresince betalain degradasyon sabiti ölçülmüş ve ısıl kararlılık değeri enkapsülasyon ile %92.91'e kadar yükseltilmiştir. Bu değerin ekstraktlardaki ısıl kararlılık değerlerine göre yüksek ölçülmesi kapsüllerde stabilize edici ajan olarak kullanılan kolesterol ile niyozom veziküllerinin stabilizasyonu sağlanarak kabuk materyalinin iyi korunmasındandır. 30 günlük depolama sonucunda betalain degradasyon sabiti  $9.4 \times 10^{-3}$  gün<sup>-1</sup> olarak ölçülmüştür.

Literatürde fonksiyonel özellikteki doğal renk bileşenleri ile biyoaktif bileşiklerin bir gıdaya uygulanması sıklıkla çalışılan konulardandır. Fakat kaktüs meyvesinden elde edilen betalaince zengin biyoaktif bileşiklerin yoğurda uygulandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bundan yola çıkılarak, tez çalışmasında VMDE'nin optimum koşullarında elde edilen ekstrakt ile bu ekstraktın optimum enkapsülasyon koşullarında niyozom yöntemi ile kaplanmış hali farklı konsantrasyonlarda (%2, %4 ve %6) sade yoğurt örneğine entegre edilmiş ve örnekler 14 gün boyunca +4°C'de depolanmıştır. Depolama süresince yoğurtlardaki bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve biyoaktif bileşiklerin değişimleri ölçülerek ve sonuçlar hiçbir katkı eklenmesi yapılmayan kontrol yoğurdu ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, %4'lük konsantrasyona kadar yoğurttaki fizikokimyasal özelliklerin büyük ölçüde korunduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte depolama süresince niyozom eklenen örneklerde ekstrakt eklenen örneklere göre betalaince zengin biyoaktif bileşiklerin daha iyi korunduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında ise, *in-vitro* sindirim çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, optimum koşullarda VMDE ile elde edilen kaktüs meyvesi ekstraktı, optimum koşullarda elde edilen niyozom ve farklı konsantrasyonlarda ekstrakt ve niyozom eklenen yoğurt örnekleri *in-vitro* sindirim uygulamasına tabi tutulmuştur. Sindirim fazları sonucunda örneklerdeki TFM, TAK<sub>CUPRAC</sub> ile TBM ölçülmüş ve mide fazı sonrasında azalma seyriinde olan betalain ve fenolik bileşikler içeren biyoaktiflerin bağırsak fazı sonrasında artış gösterdiği bulunmuştur.

Bu tez çalışmasının sonucunda, ekstraksiyon yöntemleri arasında yeni ve yeşil bir ekstraksiyon yöntemi olan VMDE ile kaktüs meyvesinden betalain ve fenolik bileşikler yönünden zengin biyoaktiflerin ekstraksiyonu için çalışmadaki diğer yöntemlere göre daha kısa sürede, daha az çözücü kullanımı ile yüksek verimde sonuçlar elde edildiği

belirlenmiştir. Ayrıca, literatürdeki gıda uygulamalarında çok yaygın olmayan niyozomal enkapsülasyonun, elde edilen hassas bileşiklerin korunmasında etkili bir yöntem olduğu da görülmüştür. Bu etkili yöntemin uygulanmasıyla birlikte, elde edilen niyozomların ülkemizde de yaygın ve sık tüketilen bir ürün olan yoğurtta doğal bir renklendirici alternatifi ve fonksiyonel bir bileşen olarak eklenmesinin de mümkün olabileceği ifade edilmiştir. Yoğurt örneklerinde, fizikokimyasal, tekstürel, reolojik, fonksiyonel ve mikrobiyolojik analizlerin yanı sıra, *in-vitro* sindirim çalışmasıyla biyoerişilebilirlik değerlerinin elde edilmesi, biyoaktiflerin sindirim sırasındaki davranışı açısından önemli bilgiler sunmuştur. Çalışmanın sonucunda, doğal bir kaynaktan yeni yöntemlerle elde edilen betalain ve fenolik bileşikler gibi farklı biyoaktiflerin stabilizasyonunun sağlanarak gelecekte ticari bir üründe de kullanılabilme potansiyelinin olduğu açıkça görülmüştür. İlerleyen çalışmalarda yeni ekstraksiyon teknolojilerinden vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak farklı gıda kaynaklarından betalainlerin ve biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesi hedeflenebilir. Ayrıca niyozomal enkapsülasyon kullanılarak elde edilen betalainlerin farklı gıda matrikslerine uygulanabilirliği de test edilerek fonksiyonel özellikleri iyileştirilmiş ürün çeşitliliğinin artırılması sağlanabilir.

## 6. KAYNAKLAR

Abbasi, M., Reihanisaransari, R., Poustchi, F., Hheidari, A., Ghanbarikondori, P., Salehi, H., Salehi, V., Izadkhah, M., Moazzam, F., Allahyartorkaman, M., Toxicity of carboplatin-niosomal nanoparticles in a brain cancer cell line. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 24(11),(2023) 3985.

Abdel-Hamid, M., Romeih, E., Gamba, R.R., Nagai, E., Suzuki, T., Koyanagi, T., Enomoto, T., The biological activity of fermented milk produced by *Lactobacillus casei* ATCC 393 during cold storage. *International Dairy Journal* 91,(2019) 1-8.

Abdo, E.M., Mansour, H.M., Darwish, A.M.G., El-Sohaimy, S.A., Gomaa, M.A., Shaltout, O.E., Allam, M.G., Beetroot stalk extract as a functional colorant for stirred yogurt beverages: effect on nutritional value and stability during storage. *Fermentation* 9(10),(2023) 878.

Abdo, E.M., Shaltout, O.E.-S., El-Sohaimy, S., Abdalla, A.E., Zeitoun, A.M., Effect of functional beetroot pomace biscuit on phenylhydrazine induced anemia in albino rats: Hematological and blood biochemical analysis. *Journal of Functional Foods* 78,(2021) 104385.

Acharjee, A., Afrin, S.M., Sit, N., Physicochemical, textural, and rheological properties of yoghurt enriched with orange pomace powder. *Journal of Food Processing and Preservation* 45(2),(2021) e15193.

Adeyanju, A.A., Absorption, Bioavailability, Bioaccessibility, Metabolism, and Excretion of Bioactive Food Phytochemical. *Plant Food Phytochemicals and Bioactive Compounds in Nutrition and Health*, pp. 99-123. CRC Press. 2024.

Ag Seleci, D., Maurer, V., Stahl, F., Scheper, T., Garnweitner, G., Rapid microfluidic preparation of niosomes for targeted drug delivery. *International journal of molecular sciences* 20(19),(2019) 4696.

Ahmad, I., Hao, M., Li, Y., Zhang, J., Ding, Y., Lyu, F., Fortification of yogurt with bioactive functional foods and ingredients and associated challenges-A review. *Trends in Food Science & Technology* 129,(2022) 558-580.

Ahmed, I.A.M., Alqah, H.A., Saleh, A., Al-Juhaimi, F.Y., Babiker, E.E., Ghafoor, K., Hassan, A.B., Osman, M.A., Fickak, A., Physicochemical quality attributes and antioxidant properties of set-type yogurt fortified with argel (*Solenostemma argel* Hayne) leaf extract. *LWT* 137,(2021) 110389.

Ahmed, T., Akhtaruzzaman, M., Islam, M.R., Biswas, M., Kazi, F., Das, A.K., Beetroot juice as a natural colorant in functional yogurt: evaluation of physicochemical, bioactive, microbial and sensory properties during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*,(2025) 1-17.

Ajeeshkumar, K.K., Aneesh, P.A., Raju, N., Suseela, M., Ravishankar, C.N., Benjakul, S., Advancements in liposome technology: Preparation techniques and applications in food, functional foods, and bioactive delivery: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20(2),(2021) 1280-1306.

Akan, E., Effect of blackberry and oat bran addition on *Lactobacillus acidophilus* viability and antioxidant activity of probiotic yogurt,(2022).

Akdeniz, B., Sumnu, G., Sahin, S., Microencapsulation of phenolic compounds extracted from onion (*Allium cepa*) skin. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(7),(2018) e13648.

Akdeniz, N.S., Yolaçaner, E.T., Screening of the process parameters for vacuum microwave-assisted extraction of bioactive compounds from amaranth flowers. *Food and Health* 11(1),(2024) 57-66.

Akyüz, M., İnci, Ş., Kırbağ, S., Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxic and DNA Protective Effects of Oyster Mushroom: *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. *Arabian Journal for Science and Engineering* 48(6),(2023) 7273-7283.

Alamoudi, S.A., Saad, A.M., Alsubhi, N.H., Alrefaei, G.I., Al-Quwaie, D.A., Binothman, N., Aljadani, M., Alharbi, M., Alanazi, H., Babalghith, A.O., Upgrading the physiochemical and sensory quality of yogurt by incorporating polyphenol-enriched citrus pomaces with antioxidant, antimicrobial, and antitumor activities. *Frontiers in Nutrition* 9,(2022) 999581.

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I., Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science* 4,(2021) 200-214.

Albuquerque, B.R., Heleno, S.A., Oliveira, M.B.P., Barros, L., Ferreira, I.C., Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function* 12(1),(2021) 14-29.

Amal, A., Eman, A., Nahla, S.Z., Fruit flavored yogurt: Chemical, functional and rheological properties. *International journal of environmental and agriculture research* 2(5),(2016) 57-66.

Aman Mohammadi, M., Ahangari, H., Mousazadeh, S., Hosseini, S.M., Dufossé, L., Microbial pigments as an alternative to synthetic dyes and food additives: a brief review of recent studies. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 45(1),(2022) 1-12.

Amarowicz, R., Pegg, R.B., Condensed tannins—Their content in plant foods, changes during processing, antioxidant and biological activities. *Advances in food and nutrition research* 110,(2024) 327-398.

Amchova, P., Siska, F., Ruda-Kucerova, J., Food safety and health concerns of synthetic food colors: an update. *Toxics* 12(7),(2024) 466.

Amoabediny, G., Haghirsadat, F., Naderinezhad, S., Helder, M.N., Akhoundi Kharanaghi, E., Mohammadnejad Arough, J., Zandieh-Doulabi, B., Overview of preparation methods of polymeric and lipid-based (niosome, solid lipid, liposome) nanoparticles: A comprehensive review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* 67(6),(2018) 383-400.

Antony, A., Farid, M., Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences* 12(4),(2022) 2107.

Anuyahong, T., Chusak, C., Adisakwattana, S., Incorporation of anthocyanin-rich riceberry rice in yogurts: Effect on physicochemical properties, antioxidant activity and *in-vitro* gastrointestinal digestion. *LWT* 129,(2020) 109571.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(26),(2004) 7970-7981.

Arab, M., Yousefi, M., Khanniri, E., Azari, M., Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Mollakhalili-Meybodi, N., A comprehensive review on yogurt syneresis: Effect of processing conditions and added additives. *Journal of food science and technology* 60(6),(2023) 1656-1665.

Aragona, M., Lauriano, E., Pergolizzi, S., Faggio, C., *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. *Natural Product Research* 32(17),(2018) 2037-2049.

Arslaner, A., Salık, M.A., Bakırcı, İ., 2017. Çırpılmış Yoğurdun Bazı Kalite Nitelikleri Üzerine Bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.) Marmeladı İlavesinin Etkisi. *International Conference on Advanced Engineering Technologies (ICADET 2017)*, p. 23.

Aruwa, C.E., Amoo, S.O., Kudanga, T., *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects—A comprehensive review. *Food Research International* 112,(2018) 328-344.

Ashokkumar, V., Flora, G., Sevanan, M., Sripriya, R., Chen, W., Park, J.-H., Kumar, G., Technological advances in the production of carotenoids and their applications—A critical review. *Bioresource Technology* 367,(2023) 128215.

Atalay, E.Ç., Celep, A.G.S., Gıda Katkı Maddeleri ve Genetik Etkileri. *Gıda* 49(1),(2024) 1-24.

Ayar-Sumer, E.N., Nyambe, C., Hashim, M.A., Altin-Yavuzarslan, G., El-Messery, T.M., Özçelik, B., Optimizing encapsulation of black carrot extract using complex coacervation technique: Maximizing the bioaccessibility and release kinetics in different food matrixes. *LWT* 198,(2024) 115995.

Aykın-Dinçer, E., Güngör, K.K., Çağlar, E., Erbaş, M., The use of beetroot extract and extract powder in sausages as natural food colorant. *International Journal of Food Engineering* 17(1),(2021) 75-82.

Ayustaningwarno, F., Fogliano, V., Verkerk, R., Dekker, M., Surface color distribution analysis by computer vision compared to sensory testing: Vacuum fried fruits as a case study. *Food Research International* 143,(2021) 110230.

Balpetek Külçü, D., Koşgin, E.B., Çelik, Ö.F., Turabi Yolacaner, E., Investigation of physicochemical, microbiological, textural, and sensory properties of set-type yogurt with *Mentha pulegium* L.(pennyroyal) powder. *Journal of Food Processing and Preservation* 45(6),(2021) e15549.

Bankole, A.O., Irondi, E.A., Awoyale, W., Ajani, E.O., Application of natural and modified additives in yogurt formulation: Types, production, and rheological and nutraceutical benefits. *Frontiers in Nutrition* 10,(2023) 1257439.

Barba, F.J., Garcia, C., Fessard, A., Munekata, P.E., Lorenzo, J.M., Aboudia, A., Ouadia, A., Remize, F., *Opuntia Ficus Indica* Edible Parts: A Food and Nutritional Security Perspective. *Food Reviews International*,(2020) 1-23.

Barretto, F.J.d.F.P., Clemente, H.A., Santana, A.L.B.D., Vasconcelo, M.A.d.S., Stability of encapsulated and non-encapsulated anthocyanin in yogurt produced with natural dye obtained from *Solanum melongena* L. Bark. *Revista Brasileira de Fruticultura* 42,(2020) e-137.

Baş, D., Boyacı, I.H., Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(3),(2007) 836-845.

Berenshtein, L., Okun, Z., Shpigelman, A., Stability and bioaccessibility of Lignans in food products. *ACS omega* 9(2),(2024) 2022-2031.

Bhardwaj, P., Tripathi, P., Gupta, R., Pandey, S., Niosomes: A review on niosomal research in the last decade. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 56,(2020) 101581.

Bisht, A., Zuñiga-Bustos, M.a., Prasher, G., Gautam, S., Poblete, H., Singh, R.P., Stabilization of Carbon Nanotubes and Graphene by Tween-80: Mechanistic Insights from Spectroscopic and Simulation Studies. *Langmuir* 38(33),(2022) 10173-10182.

Bo, L.y., Pan, Z.q., Du, G.j., Song, Z.q., Song, C.l., Jian, R., An, J.j., Effects of sugar beet pulp on the microstructure, rheological and textural properties of set yogurt. *International Journal of Dairy Technology* 78(1),(2025).

Bowers, L.M.R., Sobek, S.J.S., Impact of medium and ambient environment on the photodegradation of carmine in solution and paints. *Dyes and Pigments* 127,(2016) 18-24.

Brahmi, F., Blando, F., Sellami, R., Mehdi, S., De Bellis, L., Negro, C., Haddadi-Guemghar, H., Madani, K., Makhoulf-Boulekbache, L., Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures. *Industrial Crops and Products* 184,(2022) 114977.

Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols* 14(4),(2019) 991-1014.

Buanasari, B., Dhamayanti, S.M.S., Suryaningsih, S., Effect of Variation Conditions of The Extraction Process of *Morinda Citrifolia* L Leaves Using Ultrasound-Assisted Extraction Method (Uae). *Journal of Science and Technology Research for Pharmacy* 1(1),(2021) 25-33.

Bulut, M., Tunçtürk, Y., Alwazeer, D., Effect of fortification of set-type yoghurt with different plant extracts on its physicochemical, rheological, textural and sensory properties during storage. *International Journal of Dairy Technology* 74(4),(2021) 723-736.

Caldas, T.W., Mazza, K.E., Teles, A.S., Mattos, G.N., Brígida, A.I.S., Conte-Junior, C.A., Borguini, R.G., Godoy, R.L., Cabral, L.M., Tonon, R.V., Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products* 111,(2018) 86-91.

Calva-Estrada, S., Jiménez-Fernández, M., Lugo-Cervantes, E., Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. *Food chemistry: molecular sciences* 4,(2022) 100089.

Carreón-Hidalgo, J.P., Franco-Vásquez, D.C., Gómez-Linton, D.R., Pérez-Flores, L.J., Betalain plant sources, biosynthesis, extraction, stability enhancement methods, bioactivity, and applications. *Food Research International* 151,(2022) 110821.

Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Luján-Hidalgo, C., Álvarez-Gutiérrez, P., Martínez-Galero, N., Meza-Gordillo, R., Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioproducts Processing* 127,(2021) 212-224.

Castellanos-Santiago, E., Yahia, E.M., Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(14),(2008) 5758-5764.

Castro-Enríquez, D., Montañó-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C., Juaréz-Onofre, J., Carvajal-Millan, E., Burrueal-Ibarra, S., Tapia-Hernández, J., Barreras-Urbina, C., Rodríguez-Félix, F., Stabilization of betalains by encapsulation—a review. *Journal of food science and technology* 57,(2020) 1587-1600.

Cenobio-Galindo, A.D.J., Díaz-Monroy, G., Medina-Pérez, G., Franco-Fernández, M.J., Ludeña-Urquiza, F.E., Vieyra-Alberto, R., Campos-Montiel, R.G., Multiple emulsions with extracts of cactus pear added in a yogurt: Antioxidant activity, *in vitro* simulated digestion and shelf life. *Foods* 8(10),(2019) 429.

Chakraborty, A., Jayaseelan, K., Mandal, S.K., Impact of Extraction, Processing, Storage and Packaging Conditions on the Antioxidant Activity of Dragon Fruit (*Pithecia*)—A Review. *Egyptian Journal of Chemistry* 67(5),(2024) 607-640.

- Chasanah, U., Mahmintari, N., Hidayah, F.a., Maghfiroh, F.A.E., Rahmasari, D., Nugraheni, R.W., Thin-layer hydration method to prepare a green tea extract niosomal gel and its antioxidant performance. *European Pharmaceutical Journal* 68(1),(2021) 125-135.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., Abert-Vian, M., Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: A review. *Ultrasonics sonochemistry* 34,(2017) 540-560.
- Chen, X., Lan, W., Xie, J., Natural phenolic compounds: Antimicrobial properties, antimicrobial mechanisms, and potential utilization in the preservation of aquatic products. *Food Chemistry* 440,(2024) 138198.
- Cheng, Y., Liu, J., Li, L., Ren, J., Lu, J., Luo, F., Advances in embedding techniques of anthocyanins: Improving stability, bioactivity and bioavailability. *Food Chemistry: X* 20,(2023) 100983.
- Choudhury, N., Meghwal, M., Das, K., Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers* 2(4),(2021) 426-442.
- Christodoulou, M.C., Orellana Palacios, J.C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J.M., Domínguez, R., Moreno, A., Hadidi, M., Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. *Antioxidants* 11(11),(2022) 2213.
- Churyumov, G.I., Microwave heating: electromagnetic fields causing thermal and non-thermal effects. *BoD–Books on Demand*. 2021.
- Coelho, S.C., Estevinho, B.N., Rocha, F., Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying—A review. *Food Chemistry* 339,(2021) 127850.
- Coultate, T., Blackburn, R.S., Food colorants: Their past, present and future. *Coloration Technology* 134(3),(2018) 165-186.
- Coy-Barrera, E., Analysis of betalains (betacyanins and betaxanthins). Recent advances in natural products analysis, pp. 593-619. Elsevier. 2020.
- Çakmak Sancar, B., Öztürk, M., Akhan, M., Ergün, Ö., Mikrobiyal Pigmentlerin Gıdalarda Renklendirici Olarak Kullanılması. *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*,(2023).
- D'Angelo, R.W., Gonçalves, M.M., Fachi, M.M., Vilhena, R.d.O., Pontarolo, R., Maluf, D.F., UPLC–QToF-MS characterization of blackberry extracts of cultivars 'Tupy', 'Guarani', and 'Xavante': Development of extract-loaded niosomes. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 30,(2020) 519-527.

da Rosa, G.S., Vanga, S.K., Garipey, Y., Raghavan, V., Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (*Olea europaea* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 58,(2019) 102234.

da Silva, H.R.P., da Silva, C., Bolanho, B.C., Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Process Engineering* 41(6),(2018) e12833.

Das, P., Nayak, P.K., Krishnan Kesavan, R., Ultrasound assisted extraction of food colorants: Principle, mechanism, extraction technique and applications: A review on recent progress. *Food Chemistry Advances* 1,(2022) 100144.

de OX Machado, T., Portugal, I., de AC Kodel, H., Fathi, A., Fathi, F., Oliveira, M.B.P., Dariva, C., Souto, E.B., Pressurized liquid extraction as an innovative high-yield greener technique for phenolic compounds recovery from grape pomace. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 40,(2024) 101635.

De Wit, M., Du Toit, A., Osthoff, G., Hugo, A., Antioxidant content, capacity and retention in fresh and processed cactus pear (*Opuntia ficus-indica* and *O. robusta*) fruit peels from different fruit-colored cultivars. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4,(2020) 133.

Delia, S.-C., Chávez, G.M., Frank, M.L.-M., Araceli, S.-G.P., Irais, A.-L., Franco, A.-A., Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. *Food Chemistry* 272,(2019) 715-722.

Delikanli, B., Ozcan, T., Effects of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 67(4),(2014) 495-503.

Demirkol, M., Tarakci, Z., Effect of grape (*Vitis labrusca* L.) pomace dried by different methods on physicochemical, microbiological and bioactive properties of yoghurt. *LWT* 97,(2018) 770-777.

Deo, S., Janghel, A., Raut, P., Bhosle, D., Verma, C., Kumar, S.S., Agrawal, M., Amit, N., Sharma, M., Giri, T., Emerging microwave assisted extraction (MAE) techniques as an innovative green technologies for the effective extraction of the active phytopharmaceuticals. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 8(5),(2015) 655-666.

Deshmukh, R.K., Gaikwad, K.K., Natural antimicrobial and antioxidant compounds for active food packaging applications. *Biomass Conversion and Biorefinery* 14(4),(2024) 4419-4440.

Dey, S., Nagababu, B.H., Applications of food color and bio-preservatives in the food and its effect on the human health. *Food Chemistry Advances* 1,(2022) 100019.

Dhar, G., Prickly Pear Cactus (*Opuntia Ficus-Indica*) the Beles in Ethiopia: A Review on Nutritional Aspects and Health Benefits. Indian Journal of Public Health Research & Development 12(2),(2021) 131-138.

Dima, C., Assadpour, E., Dima, S., Jafari, S.M., Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 19(6),(2020) 2862-2884.

Dobroslavić, E., Elez Garofulić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Dragović-Uzelac, V., Polyphenolic characterization and antioxidant capacity of *Laurus nobilis* L. leaf extracts obtained by green and conventional extraction techniques. Processes 9(10),(2021) 1840.

dos Santos Moreira, I., de Figueirêdo, R.M.F., de Melo Queiroz, A.J., Lisbôa, J.F., Moura, H.V., Saraiva, M.M.T., Feitosa, R.M., dos Santos, F.S., de Souza Silva, H., da Silva, W.P., Physicochemical, rheological, and sensory properties of yogurt added with myrtle jelly during storage. Caderno Pedagógico 21(6),(2024) e4378-e4378.

Du, H., Wang, X., Yang, H., Zhu, F., Tang, D., Cheng, J., Liu, X., Changes of phenolic profile and antioxidant activity during cold storage of functional flavored yogurt supplemented with mulberry pomace. Food Control 132,(2022) 108554.

Du, H., Yang, H., Wang, X., Zhu, F., Tang, D., Cheng, J., Liu, X., Effects of mulberry pomace on physicochemical and textural properties of stirred-type flavored yogurt. Journal of Dairy Science 104(12),(2021) 12403-12414.

Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E.B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A.A., Novellino, E., Santini, A., Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. Phytotherapy Research 33(9),(2019) 2221-2243.

Ecevit, K., Barros, A.A., Silva, J.M., Reis, R.L., Preventing microbial infections with natural phenolic compounds. Future Pharmacology 2(4),(2022) 460-498.

Echegaray, N., Guzel, N., Kumar, M., Guzel, M., Hassoun, A., Lorenzo, J.M., Recent advancements in natural colorants and their application as coloring in food and in intelligent food packaging. Food Chemistry 404,(2023) 134453.

Elbanna, K., Sarhan, O.M., Khider, M., Elmogy, M., Abulreesh, H.H., Shaaban, M.R., Microbiological, histological, and biochemical evidence for the adverse effects of food azo dyes on rats. Journal of Food and Drug Analysis 25(3),(2017) 667-680.

Elebyary, T.T., Sultan, A., El-Sayed Abu-Risha, S., El Maghraby, G., Effect of formulation variables on drug release from bilosomes; effect of cholesterol concentration. Journal of Advanced Medical and Pharmaceutical Research 5(2),(2024) 56-59.

Elmi, N., Ghanbarzadeh, B., Ayaseh, A., Sahraee, S., Heshmati, M.K., Hoseini, M., Pezeshki, A., Physical properties and stability of quercetin loaded niosomes: Stabilizing effects of phytosterol and polyethylene glycol in orange juice model. Journal of Food Engineering 296,(2021) 110463.

Espinosa-Muñoz, V., Roldán-Cruz, C., Hernández-Fuentes, A., Quintero-Lira, A., Almaraz-Buendía, I., Campos-Montiel, R., Ultrasonic-assisted extraction of phenols, flavonoids, and biocompounds with inhibitory effect against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* from Cactus pear. *Journal of Food Process Engineering* 40(2),(2017) e12358.

Eyshi, S., Ghareaghajlou, N., Afshar Mogaddam, M.R., Ghasempour, Z., Red beet betalains extraction process: A comprehensive review of methods, applications, and physicochemical properties. *Food science & nutrition* 12(11),(2024a) 8540-8558.

Eyshi, S., Ghareaghajlou, N., Afshar Mogaddam, M.R., Ghasempour, Z., Red beet betalains extraction process: A comprehensive review of methods, applications, and physicochemical properties. *Food science & nutrition*,(2024b).

Faheem, S., Hameed, H., Paiva-Santos, A.C., Zaman, M., Sarwar, H.S., Majeed, I., Niosome-based gels: a smart nano-carrier for effective and advanced transdermal drug delivery. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*,(2024) 1-19.

Fahmy, S.A., Sedky, N.K., Ramzy, A., Abdelhady, M.M., Alabraham, O.A.A., Shamma, S.N., Azzazy, H.M.E.-S., Green extraction of essential oils from *Pistacia lentiscus* resins: Encapsulation into Niosomes showed improved preferential cytotoxic and apoptotic effects against breast and ovarian cancer cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 87,(2023) 104820.

Farag, M.A., Saleh, H.A., El Ahmady, S., Elmassry, M.M., Dissecting yogurt: the impact of milk types, probiotics, and selected additives on yogurt quality. *Food Reviews International* 38(sup1),(2022) 634-650.

Farahmand, N., Ouoba, L.I., Naghizadeh Raeisi, S., Sutherland, J., Ghoddusi, H.B., Probiotic lactobacilli in fermented dairy products: Selective detection, enumeration and identification scheme. *Microorganisms* 9(8),(2021) 1600.

Fernando, G.S.N., Wood, K., Papaioannou, E.H., Marshall, L.J., Sergeeva, N.N., Boesch, C., Application of an ultrasound-assisted extraction method to recover betalains and polyphenols from red beetroot waste. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 9(26),(2021) 8736-8747.

Ferreira, S.M., Santos, L., Incorporation of phenolic extracts from different by-products in yoghurts to create fortified and sustainable foods. *Food Bioscience* 51,(2023) 102293.

Figuroa, J.G., Borrás-Linares, I., Del Pino-García, R., Curiel, J.A., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., Functional ingredient from avocado peel: Microwave-assisted extraction, characterization and potential applications for the food industry. *Food Chemistry* 352,(2021) 129300.

Flores-Mancha, M.A., Ruíz-Gutiérrez, M.G., Sánchez-Vega, R., Santellano-Estrada, E., Chávez-Martínez, A., Effect of encapsulated beet extracts (*Beta vulgaris*) added to yogurt on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Molecules* 26(16),(2021) 4768.

Fuenmayor, C.A., Baron-Cangrejo, O.G., Salgado-Rivera, P.A., Encapsulation of carotenoids as food colorants via formation of cyclodextrin inclusion complexes: A review. *Polysaccharides* 2(2),(2021) 454-476.

Gao, M.-R., Xu, Q.-D., He, Q., Sun, Q., Zeng, W.-C., A theoretical and experimental study: The influence of different standards on the determination of total phenol content in the Folin–Ciocalteu assay. *Journal of Food Measurement and Characterization* 13,(2019) 1349-1356.

García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., Cano, M.P., Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis* 76,(2019) 1-13.

Ge, X., Wei, M., He, S., Yuan, W.-E., Advances of non-ionic surfactant vesicles (niosomes) and their application in drug delivery. *Pharmaceutics* 11(2),(2019) 55.

Gezginç, Y., Akyol, İ., Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*' ların Tanımlanması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi* 13(2),(2010) 23-29.

Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., Chakraborty, R., Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *LWT* 153,(2021).

Gómez-López, I., Lobo-Rodrigo, G., Portillo, M.P., Cano, M.P., Ultrasound-assisted “green” extraction (UAE) of antioxidant compounds (Betalains and Phenolics) from *Opuntia stricta* var. *Dillenii*'s fruits: optimization and biological activities. *Antioxidants* 10(11),(2021) 1786.

Gonçalves Santana, M., Freitas-Silva, O., Mariutti, L.R.B., Teodoro, A.J., A review of *in vitro* methods to evaluate the bioaccessibility of phenolic compounds in tropical fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 64(6),(2024) 1780-1790.

González-Peña, M.A., Ortega-Regules, A.E., Anaya de Parrodi, C., Lozada-Ramírez, J.D., Chemistry, occurrence, properties, applications, and encapsulation of carotenoids— A review. *Plants* 12(2),(2023) 313.

Gore, A.J., Bhagwat, S.S., Mhaskar, S., Saxena, S., Determination of required HLB value and emulsifiers for the preparation of water in coconut oil emulsions for application in food process industries. *Journal of Dispersion Science and Technology* 44(8),(2023) 1363-1370.

Gorjian, H., Amiri, Z.R., Milani, J.M., Khaligh, N.G., Preparation and characterization of the encapsulated myrtle extract nanoliposome and nanoniosome without using cholesterol and toxic organic solvents: A comparative study. *Food Chemistry* 342,(2021) 128342.

Grace, M.H., Hoskin, R.T., Alghamdi, M., Lila, M.A., Chalova, V.I., Betalain–Chickpea Protein Particles Produced by Freeze Drying and Spray Drying: Physicochemical Aspects, Storage Stability, and *In Vitro* Digestion. *Foods* 14(2),(2025) 281.

- Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., Bucić-Kojić, A., Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. *Antioxidants* 9(10),(2020) 923.
- Gulcin, İ., Alwasel, S.H., DPPH radical scavenging assay. *Processes* 11(8),(2023) 2248.
- Gutiérrez, G., Matos, M., Barrero, P., Pando, D., Iglesias, O., Pazos, C., Iron-entrapped niosomes and their potential application for yogurt fortification. *LWT* 74,(2016) 550-556.
- Güler, Z., Park, Y.W., Characteristics of physico-chemical properties, volatile compounds and free fatty acid profiles of commercial set-type Turkish yoghurts. *Open Journal of Animal Sciences* 1(1),(2011) 1-8.
- Güneşer, O., Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry* 196,(2016) 220-227.
- Haas, K., Obernberger, J., Zehetner, E., Kiesslich, A., Volkert, M., Jaeger, H., Impact of powder particle structure on the oxidation stability and color of encapsulated crystalline and emulsified carotenoids in carrot concentrate powders. *Journal of Food Engineering* 263,(2019) 398-408.
- Hadipour, E., Taleghani, A., Tayarani-Najaran, N., Tayarani-Najaran, Z., Biological effects of red beetroot and betalains: A review. *Phytotherapy Research* 34(8),(2020) 1847-1867.
- Halloub, A., Raji, M., Essabir, H., Nekhlaoui, S., Bensalah, M.-O., Bouhfid, R., Stable smart packaging betalain-based from red prickly pear covalently linked into cellulose/alginate blend films. *International Journal of Biological Macromolecules* 234,(2023) 123764.
- Hameed, A., Maan, A.A., Nazir, A., Amin, U., Khan, M.K.I., Khan, M.U., Shariati, M.A., Rebezov, M., Lorenzo, J.M., Microwave-vacuum extraction technique as a green and clean label technology: kinetics, efficiency analysis, and effect on bioactive compounds. *Food Analytical Methods* 16(3),(2023) 525-540.
- Hayek, S.A., Ibrahim, S.A., Antimicrobial activity of xocostle pears (*Opuntia matudae*) against *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium. *International Journal of Microbiology* 2012,(2012).
- Heidari, F., Akbarzadeh, I., Nourouzian, D., Mirzaie, A., Bakhshandeh, H., Optimization and characterization of tannic acid loaded niosomes for enhanced antibacterial and anti-biofilm activities. *Advanced Powder Technology* 31(12),(2020) 4768-4781.
- Helal, A., Tagliacruzchi, D., Impact of *in-vitro* gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. *LWT* 89,(2018) 164-170.
- Howard, J.E., Villamil, M.B., Riggins, C.W., Amaranth as a natural food colorant source: Survey of germplasm and optimization of extraction methods for betalain pigments. *Frontiers in Plant Science* 13,(2022) 932440.

Huang, Y.-Y., Lu, Y.-H., Liu, X.-T., Wu, W.-T., Li, W.-Q., Lai, S.-Q., Aadil, R.M., Riaz Rajoka, M.S., Wang, L.-H., Zeng, X.-A., Metabolic properties, functional characteristics, and practical application of *Streptococcus thermophilus*. Food Reviews International 40(2),(2024) 792-813.

Hussain, M., Rababah, T., Izhar, H., Azam, M., Almajwal, A., AL-Rayyan, N., Hamadneh, B.N., Bartkutė-Norkūnienė, V., Jammal, R.M., Synergistic approach: Optimizing probiotic viability in ice cream through prebiotic based encapsulation and betalain fortification. AIMS Agriculture and Food 10(2),(2025) 293-313.

Iftikhar, K., Siddique, F., Ameer, K., Arshad, M., Kharal, S., Mohamed Ahmed, I.A., Yasmin, Z., Aziz, N., Phytochemical profiling, antimicrobial, and antioxidant activities of hydroethanolic extracts of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit and pulp. Food science & nutrition 11(4),(2023) 1916-1930.

Igual, M., Fernandes, Â., Dias, M.I., Pinela, J., García-Segovia, P., Martínez-Monzó, J., Barros, L., The *in vitro* simulated gastrointestinal digestion affects the bioaccessibility and bioactivity of beta vulgaris constituents. Foods 12(2),(2023) 338.

Javani, R., Hashemi, F.S., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Quercetin-loaded niosomal nanoparticles prepared by the thin-layer hydration method: Formulation development, colloidal stability, and structural properties. LWT 141,(2021) 110865.

John, C.R., Sailaja, A.K., A curcumin loaded niosomes as novel drug delivery system by ether injection method. Drug Discovery 17,(2023) e19dd1918.

Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., Development of a probiotic low-fat set yogurt containing concentrated sweet pepper extract. Food science & nutrition 12(7),(2024) 4656-4666.

Juhaimi, F.A., Ghafoor, K., Uslu, N., Ahmed, I.A.M., Babiker, E.E., Özcan, M.M., Fadimu, G.J., The effect of harvest times on bioactive properties and fatty acid compositions of prickly pear (*Opuntia ficus-barbarica* A. Berger) fruits. Food Chemistry 303,(2020) 125387.

Junyaprasert, V.B., Singhsa, P., Suksiriworapong, J., Chantasart, D., Physicochemical properties and skin permeation of Span 60/Tween 60 niosomes of ellagic acid. International Journal of Pharmaceutics 423(2),(2012) 303-311.

Kainat, S., Gilani, S.R., Asad, F., Khalid, M.Z., Khalid, W., Ranjha, M.M.A.N., Bangar, S.P., Lorenzo, J.M., Determination and comparison of phytochemicals, phenolics, and flavonoids in *Solanum lycopersicum* using FTIR spectroscopy. Food Analytical Methods 15(11),(2022) 2931-2939.

Kandasamy, S., Naveen, R., A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. Journal of Food Process Engineering 45(8),(2022) e14059.

Kanpipit, N., Mattariganont, S., Janphuang, P., Rongsak, J., Daduang, S., Chulikhit, Y., Thapphasaraphong, S., Comparative study of lycopene-loaded niosomes prepared by Microfluidic and Thin-Film hydration techniques for UVB Protection and Anti-hyperpigmentation Activity. *International journal of molecular sciences* 25(21),(2024) 11717.

Kara, S.G., Yuzbasioglu, D., Avuloglu-Yilmaz, E., Unal, F., Do the azo food colorings carmoisine and ponceau 4R have a genotoxic potential? *Toxicology Research* 14(2),(2025) tfaf033.

Kaur, A., Ghoshal, G., Encapsulation of betalains extracted from *Beta vulgaris* L. pomace powder using different hydrocolloids and its characterization. *Food and Bioprocess Technology*,(2024) 1-15.

Kaur, A., Ghoshal, G., Comprehensive analysis of phytochemical extraction of betalains from *Beta vulgaris* L. pomace using conventional, enzyme-assisted and ultrasonic-assisted methods. *Journal of Food Measurement and Characterization* 19(1),(2025) 656-670.

Khadhraoui, B., Ummat, V., Tiwari, B., Fabiano-Tixier, A., Chemat, F., Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. *Ultrasonics sonochemistry* 76,(2021) 105625.

Khan, D.H., Bashir, S., Figueiredo, P., Santos, H.A., Khan, M.I., Peltonen, L., Process optimization of ecological probe sonication technique for production of rifampicin loaded niosomes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 50,(2019) 27-33.

Khan, M.I., Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry* 197,(2016) 1280-1285.  
Khan, S.U., Khan, S.U., Alissa, M., Kamreen, H., Khan, W.U., Alghamdi, S.A., Al-Shahari, E.A., Albakri, G.S., Abouzied, A.S., Khan, D., Comparative analysis of polyphenol contents in green tea infusions extracted by conventional and modern extraction techniques and optimization of the ultrasonic-assisted extraction parameters by response surface methodology. *Microchemical Journal* 208,(2025) 112380.

Kharrat, N., Salem, H., Mrabet, A., Aloui, F., Triki, S., Fendri, A., Gargouri, Y., Synergistic effect of polysaccharides, betalain pigment and phenolic compounds of red prickly pear (*Opuntia stricta*) in the stabilization of salami. *International Journal of Biological Macromolecules* 111,(2018) 561-568.

Khoshdouni Farahani, Z., Mousavi, M., Seyedain Ardebili, M., Bakhoda, H., The influence of sodium alginate and sodium alginate/WPI as coating material on microcapsules of Jujube extract produced by spray dryer. *Journal of Food Processing and Preservation* 46(12),(2022) e17175.

Khushboo, Karnwal, A., Malik, T., Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Frontiers in microbiology* 14,(2023) 1170725.

- Kim, A.-N., Lee, K.-Y., Rahman, M.S., Kim, H.-J., Kerr, W.L., Choi, S.-G., Thermal treatment of apple puree under oxygen-free condition: Effect on phenolic compounds, ascorbic acid, antioxidant activities, color, and enzyme activities. *Food Bioscience* 39,(2021) 100802.
- Kocer, S., Copur, O.U., Tamer, C.E., Suna, S., Kayahan, S., Uysal, E., Cavus, S., Akman, O., Optimization and characterization of chestnut shell pigment extract obtained microwave assisted extraction by response surface methodology. *Food Chemistry* 443,(2024) 138424.
- Korkmaz, I.O., Bilici, C., Korkmaz, S., Sensory, pH, syneresis, water-holding capacity, and microbiological changes in homemade yogurt prepared with maca (*Lepidium meyenii*) powder and propolis extract. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 23,(2021) 100291.
- Kowalska-Krochmal, B., Dudek-Wicher, R., The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens* 10(2),(2021) 165.
- Krylov, D.I., Arslanov, V.V., Static and dynamic surface properties of mixed nonionic surfactant/cholesterol monolayers as niosome shell models. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*,(2025) 136771.
- Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V.S., Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry* 70,(2021a) 105325.
- Kumar, S., Brooks, M.S.-L., Use of red beet (*Beta vulgaris* L.) for antimicrobial applications—a critical review. *Food and Bioprocess Technology* 11,(2018) 17-42.
- Kumar, S.S., Chauhan, A.S., Giridhar, P., Nanoliposomal encapsulation mediated enhancement of betalain stability: Characterisation, storage stability and antioxidant activity of *Basella rubra* L. fruits for its applications in vegan gummy candies. *Food Chemistry* 333,(2020) 127442.
- Kumar, Y., Roy, S., Devra, A., Dhiman, A., Prabhakar, P.K., Ultrasonication of mayonnaise formulated with xanthan and guar gums: Rheological modeling, effects on optical properties and emulsion stability. *LWT* 149,(2021b) 111632.
- Kumari, T., Das, A.B., Deka, S.C., Effect of enzymatic modified pea peel dietary fibre on syneresis, texture, rheology and microstructural properties of yogurt. *Biomass Conversion and Biorefinery* 14(23),(2024) 30001-30013.
- Kumorkiewicz-Jamro, A., Świergosz, T., Sutor, K., Spórna-Kucab, A., Wybraniec, S., Multi-colored shades of betalains: Recent advances in betacyanin chemistry. *Natural Product Reports* 38(12),(2021) 2315-2346.
- Kumorkiewicz, A., Sutor, K., Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Wybraniec, S., Thermal decarboxylation of betacyanins in red beet betalain-rich extract. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 70(1),(2020) 7-14.

Lacerda, V.R., Bastante, C.C., Machado, N.D., Vieites, R.L., Casas Cardoso, L., Mantell-Serrano, C., Supercritical extraction of betalains from the peel of different pitaya species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 104(9),(2024) 5513-5521.

Lazăr, S., Constantin, O.E., Stănciuc, N., Aprodu, I., Croitoru, C., Râpeanu, G., Optimization of betalain pigments extraction using beetroot by-products as a valuable source. *Inventions* 6(3),(2021) 50.

Le, L.T., Tien, N.N.T., Vo, H.T.D., Vu, L.T.K., Le, N.L., Comparison of Physical and Functional Characteristics of Biodegradable Smart Films Embedded with Betacyanin-Rich Extracts from Different Sources. *Waste and Biomass Valorization* 15(12),(2024) 7017-7032.

Leal-Alcazar, M.C., Bautista-Palestina, F., Rocha-Pizaña, M.d.R., Mojica, L., Hernández-Álvarez, A.J., Luna-Vital, D.A., Extraction, stabilization, and health application of betalains: An update. *Food Chemistry*,(2025) 144011.

Lee, Y.-J., Lee, G.J., Yi, S.S., Heo, S.-H., Park, C.-R., Nam, H.-S., Cho, M.-K., Lee, S.-H., Cisplatin and resveratrol induce apoptosis and autophagy following oxidative stress in malignant mesothelioma cells. *Food and Chemical Toxicology* 97,(2016) 96-107.

Li, H., Deng, Z., Liu, R., Zhu, H., Draves, J., Marcone, M., Sun, Y., Tsao, R., Characterization of phenolics, betacyanins and antioxidant activities of the seed, leaf, sprout, flower and stalk extracts of three *Amaranthus* species. *Journal of Food Composition and Analysis* 37,(2015) 75-81.

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., Chen, F., Hu, X., Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-assisted extraction process. *Journal of Food Engineering* 109(2),(2012) 274-280.

Li, Z., Lu, D., Gao, X., Optimization of mixture proportions by statistical experimental design using response surface method-A review. *Journal of Building Engineering* 36,(2021) 102101.

Lima, R.C., de Carvalho, A.P.A., da Silva, B.D., Neto, L.T., de Figueiredo, M.R.d.S., Chaves, P.H.T., de Almeida, A.E.C.C., Conte-Junior, C.A., Green ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds of babassu (*Attalea speciosa*) mesocarp: Effects of solid-liquid ratio extraction, antioxidant capacity, and antimicrobial activity. *Applied Food Research* 3(2),(2023) 100331.

Lin, X., Li, B., Wen, J., Wu, J., Tang, D., Yu, Y., Xu, Y., Xu, B., Storage stability and *in vitro* bioaccessibility of liposomal betacyanins from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). *Molecules* 27(4),(2022) 1193.

Lombardelli, C., Benucci, I., Mazzocchi, C., Esti, M., Betalain extracts from beetroot as food colorants: Effect of temperature and UV-light on storability. *Plant Foods for Human Nutrition* 76,(2021) 347-353.

- López-Salazar, H., Camacho-Díaz, B.H., Ocampo, M.A., Jiménez-Aparicio, A.R., Microwave-assisted extraction of functional compounds from plants: A Review. *BioResources* 18(3),(2023) 6614.
- López-Solórzano, E., Muro, C., Perez, Y.A., Guadarrama-Lezama, A.Y., Gutiérrez-Cortez, E., Urrieta, J.M., Conservation Analysis and Colorimetric Characterization of Betalain Extracts from the Peel of Red Beetroot, Golden Beetroot, and Prickly Pear Applied to Cottage Cheese. *Foods* 14(2),(2025) 228.
- Lubis, R.R., Wahyuni, D.D., Antibacterial activity of betle leaf (*Piper betle* l.) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* in conjunctivitis patient. *American journal of clinical and experimental immunology* 9(1),(2020) 1.
- Lukitasari, D.M., Indrawati, R., Chandra, R.D., Heriyanto, Shioi, Y., Botosudarmo, T.H., pH-dependent stability of major betalains in the encapsulated beetroot extracts (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Science* 89(5),(2024) 2761-2773.
- Lussier, N., Gilbert, A., St-Gelais, D., Turgeon, S.L., Effect of the Heat Exchanger Type on Stirred Yogurt Properties Formulated at Different Total Solids and Fat Contents. *Dairy* 4(1),(2023) 108-123.
- Luzardo-Ocampo, I., Ramírez-Jiménez, A.K., Yañez, J., Mojica, L., Luna-Vital, D.A., Technological applications of natural colorants in food systems: A review. *Foods* 10(3),(2021) 634.
- Machado, N.D., Gutiérrez, G., Matos, M., Fernández, M.A., Preservation of the antioxidant capacity of resveratrol via encapsulation in niosomes. *Foods* 10(5),(2021) 988.
- Malabadi, R.B., Kolkar, K.P., Chalannavar, R., Plant natural pigment colorants-health benefits: toxicity of synthetic or artificial food colorants. *International Journal of Innovation Scientific Research and Review* 4,(2022) 3418-3429.
- Maleki, M., Ariaii, P., Sharifi Soltani, M., Fortifying of probiotic yogurt with free and microencapsulated extract of *Tragopogon Collinus* and its effect on the viability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Food science & nutrition* 9(7),(2021) 3436-3448.
- Manzur-Valdespino, S., Arias-Rico, J., Ramírez-Moreno, E., Sánchez-Mata, M.d.C., Jaramillo-Morales, O.A., Angel-García, J., Zafra-Rojas, Q.Y., Barrera-Gálvez, R., Cruz-Cansino, N.d.S., Applications and pharmacological properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) peel: a review. *Life* 12(11),(2022) 1903.
- Maran, J.P., Manikandan, S., Mekala, V., Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box–Behnken design with desirability function. *Industrial Crops and Products* 49,(2013) 304-311.

- Martínez-Rodríguez, P., Guerrero-Rubio, M.A., Henarejos-Escudero, P., García-Carmona, F., Gandía-Herrero, F., Health-promoting potential of betalains in vivo and their relevance as functional ingredients: A review. *Trends in Food Science & Technology* 122,(2022) 66-82.
- Martins, I.R., da Silva Martins, L.H., Chisté, R.C., Picone, C.S.F., Joele, M.R.S.P., Betalains from vegetable peels: Extraction methods, stability, and applications as natural food colorants. *Food Research International*,(2024) 114956.
- Mawazi, S.M., Ge, Y., Widodo, R.T., Niosome Preparation Techniques and Structure—An Illustrated Review. *Pharmaceutics* 17(1),(2025) 67.
- Mazzotta, E., Orlando, C., Muzzalupo, R., New nanomaterials with intrinsic antioxidant activity by surface functionalization of niosomes with natural phenolic acids. *Pharmaceutics* 13(6),(2021) 766.
- McClements, D.J., Grossmann, L., The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20(4),(2021) 4049-4100.
- Meena, L., Neog, R., Yashini, M., Sunil, C., Pineapple pomace powder (freeze-dried): Effect on the texture and rheological properties of set-type yogurt. *Food Chemistry Advances* 1,(2022) 100101.
- Mehta, D., Kuksal, K., Sharma, A., Soni, N., Kumari, S., Nile, S.H., Postharvest integration of prickly pear betalain-enriched gummies with different sugar substitutes for decoding diabetes type-II and skin resilience-*in vitro* and in silico study. *Food Chemistry* 464,(2025) 141612.
- Mehta, D., Kuksal, K., Yadav, K., Yadav, S.K., Zhang, Y., Nile, S.H., Ultrasound-assisted extraction and encapsulation of betalain from prickly pear: Process optimization, *in-vitro* digestive stability, and development of functional gummies. *Ultrasonics sonochemistry* 108,(2024) 106975.
- Melgar, B., Dias, M.I., Barros, L., Ferreira, I.C., Rodriguez-Lopez, A.D., Garcia-Castello, E.M., Ultrasound and microwave assisted extraction of *Opuntia* fruit peels biocompounds: Optimization and comparison using RSM-CCD. *Molecules* 24(19),(2019) 3618.
- Mella, C., Vega-Gálvez, A., Uribe, E., Pasten, A., Mejias, N., Quispe-Fuentes, I., Impact of vacuum drying on drying characteristics and functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*). *Applied Food Research* 2(1),(2022) 100120.
- Merinas-Amo, R., Martínez-Jurado, M., Jurado-Güeto, S., Alonso-Moraga, Á., Merinas-Amo, T., Biological Effects of Food Coloring in In Vivo and *In Vitro* Model Systems. *Foods* 8(5),(2019).
- Miftahof, R.N., *Biomechanics of the human stomach*. Springer. 2017.

Mikucka, W., Zielinska, M., Bulkowska, K., Witonska, I., Recovery of polyphenols from distillery stillage by microwave-assisted, ultrasound-assisted and conventional solid–liquid extraction. *Scientific reports* 12(1),(2022) 3232.

Mir, M.A., Bashir, N., Alfaify, A., Oteef, M.D., GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC complementary medicine and therapies* 20,(2020) 1-9.

Molina, A.K., Corrêa, R.C., Prieto, M.A., Pereira, C., Barros, L., Bioactive natural pigments' extraction, isolation, and stability in food applications. *Molecules* 28(3),(2023) 1200.

Montiel-Sánchez, M., García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., García, H.S., Cano, M.P., *In vitro* gastrointestinal stability, bioaccessibility and potential biological activities of betalains and phenolic compounds in cactus berry fruits (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Chemistry* 342,(2021) 128087.

Morales, N.X.C., Gómez, K.Y.V., Schweiggert, R.M., Delgado, G.T.C., Stabilisation of betalains and phenolic compounds extracted from red cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) by spray and freeze-drying using oca (*Oxalis tuberosa*) starch as drying aid. *Food Science and Technology International* 27(5),(2021) 456-469.

Mousavi, M., Heshmati, A., Garmakhany, A.D., Vahidinia, A., Taheri, M., Optimization of the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical, textural and sensorial characteristics of flaxseed-enriched stirred probiotic yogurt by using response surface methodology. *LWT* 102,(2019) 80-88.

Muhoza, B., Yuyang, H., Uriho, A., Harindintwali, J.D., Liu, Q., Li, Y., Spray-and freeze-drying of microcapsules prepared by complex coacervation method: A review. *Food Hydrocolloids* 140,(2023) 108650.

Mulet-Cabero, A.-I., Egger, L., Portmann, R., Ménard, O., Marze, S., Minekus, M., Le Feunteun, S., Sarkar, A., Grundy, M.M.-L., Carrière, F., A standardised semi-dynamic *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function* 11(2),(2020) 1702-1720.

Munteanu, I.G., Apetrei, C., Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences* 22(7),(2021) 3380.

Murugesan, N., Damodaran, C., Krishnamoorthy, S., Niosomal formulation of Quercetin and Resveratrol and *in-vitro* release studies. *Journal of Integrated Science and Technology* 10(2),(2022) 134-138.

Mustafa, R.A., Role Medicinal Plant Extracts *Glossostemon bruguierian*d (Moghat) On Bio-Yogurt Quality During Storage. *International Journal of Advanced Science and Technology* 29(11),(2020) 3341-3352.

Muthukumar, J., Ekambaram, N., Jose Gnanaleela, A.J., Chandrasekaran, R., Michael, G.P., Savarimuthu, I., Aasaithambi, K., Larvicidal Activity of Niosomal Formulations Loaded with Citrus limon (L.) Osbeck Essential Oil Against Vector Mosquitoes. *BioNanoScience* 15(1),(2025) 1-9.

Myers, R.H., Montgomery, D.C., Anderson-Cook, C.M., Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, Third ed. John Wiley & Sons. **2016**.

Nakov, G., Ninova-Nikolova, N., Ivanova, N., Raykova, V., Trajkovska, B., Čolić, M.L., Lukinac, J., Jukić, M., Yogurt Enriched with Chia Seeds: Physicochemical, Microbiological, and Sensory Changes during Storage. *Fermentation* 10(8),(2024) 431.

Nasseri, B., Effect of cholesterol and temperature on the elastic properties of niosomal membranes. *International Journal of Pharmaceutics* 300(1-2),(2005) 95-101.

Nguyen, T.Q.N., Le, T.T., Dong, T.H.T., Enhancing yogurt overall quality with enzymatically hydrolyzed cantaloupe rind powder: Effects of the supplement ratio on texture, rheology, stability, phenolic content, and antioxidant activity. *AIMS Agriculture & Food* 9(3),(2024).

Nhon, H.T.N., Hang, N.T.T., Optimization of extraction of betalain from red beetroot (*Beta vulgaris* var. *rubra* [L.] Moq). *Journal of food science and technology* 20,(2020) 93-102.

Nnyigide, O.S., Hyun, K., A comprehensive review of food rheology: Analysis of experimental, computational, and machine learning techniques. *Korea-Australia Rheology Journal* 35(4),(2023) 279-306.

Nonglait, D.L., Gokhale, J.S., Review insights on the demand for natural pigments and their recovery by emerging microwave-assisted extraction (MAE). *Food and Bioprocess Technology* 17(7),(2024) 1681-1705.

Nour, A.H., Oluwaseun, A.R., Nour, A.H., Omer, M.S., Ahmed, N., Microwave-assisted extraction of bioactive compounds. *Microwave Heating-Electromagnetic Fields Causing Thermal and Non-Thermal Effects*. IntechOpen. **2021**.

Novais, C., Molina, A.K., Abreu, R.M., Santo-Buelga, C., Ferreira, I.C., Pereira, C., Barros, L., Natural food colorants and preservatives: A review, a demand, and a challenge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70(9),(2022) 2789-2805.

Osorio-Tobón, J.F., Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of food science and technology* 57,(2020) 4299-4315.

Otálora, M.C., de Jesús Barbosa, H., Perilla, J.E., Osorio, C., Nazareno, M.A., Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. *LWT-Food Science and Technology* 103,(2019) 222-227.

- Otálora, M.C., Wilches-Torres, A., Gómez Castaño, J.A., Evaluation of guava pulp microencapsulated in mucilage of aloe vera and opuntia ficus-indica as a natural dye for yogurt: Functional characterization and color stability. *Foods* 11(15),(2022) 2380.
- Otálora, M.C., Wilches-Torres, A., Gómez Castaño, J.A., Microencapsulation of Betaxanthin pigments from pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) by-products: Characterization, food application, stability, and *in vitro* gastrointestinal digestion. *Foods* 12(14),(2023) 2700.
- Owodeha-Ashaka, K., Ilomuanya, M.O., Iyire, A., Evaluation of sonication on stability-indicating properties of optimized pilocarpine hydrochloride-loaded niosomes in ocular drug delivery. *Progress in biomaterials* 10,(2021) 207-220.
- Özcan, K., Bilek, S.E., Kırmızı Pancardan Renk Maddesi Üretimi ve Stabilitesinin Sağlanması. *Akademik Gıda* 16(4),(2018) 439-449.
- Özcan, T., Sahin, S., Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L., Assessment of antioxidant capacity by method comparison and amino acid characterisation in buffalo milk kefir. *International Journal of Dairy Technology* 72(1),(2019) 65-73.
- Pande, S., Liposomes for drug delivery: review of vesicular composition, factors affecting drug release and drug loading in liposomes. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 51(1),(2023) 428-440.
- Pandey, P., Pal, R., Khadam, V.K.R., Chawra, H.S., Singh, R.P., Advancement and Characteristics of Non-Ionic Surfactant Vesicles (Niosome) and their Application for Analgesics. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* 14(3),(2024).
- Pannerchelvan, S., Rios-Solis, L., Wasoh, H., Sobri, M.Z.M., Wong, F.W.F., Mohamed, M.S., Mohamad, R., Halim, M., Functional yogurt: a comprehensive review of its nutritional composition and health benefits. *Food & Function*,(2024).
- Patricia, V., Syaputri, F., 2021. Antioxidant Activities from Two Varieties of Pear Peel Extracts using DPPH and CUPRAC Methods. *Journal of Physics: Conference Series*, p. 012013. IOP Publishing.
- Permana, L., Sriptom, P., Manamoongmongkol, K., Phumjan, L., Assawasaengrat, P., Optimization of betalain extraction from dragon fruit (*Hylocereus undatus*) peel and effect of pH on its properties. *Biomass Conversion and Biorefinery*,(2024) 1-12.
- Petrotos, K., Giavasis, I., Gerasopoulos, K., Mitsagga, C., Papaioannou, C., Gkoutisidis, P., Optimization of vacuum-microwave-assisted extraction of natural polyphenols and flavonoids from raw solid waste of the orange juice producing industry at industrial scale. *Molecules* 26(1),(2021) 246.
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M.F., Ak, G., Zengin, G., Conventional versus green extraction techniques—A comparative perspective. *Current Opinion in Food Science* 40,(2021) 144-156.

- Pilařová, V., Plachká, K., Herbsová, D., Kosturko, Š., Svec, F., Nováková, L., Comprehensive two-step supercritical fluid extraction for green isolation of volatiles and phenolic compounds from plant material. *Green Chemistry* 26(11),(2024) 6480-6489.
- Poshadri, A., Aparna, K., Microencapsulation technology: a review. *Journal of Research ANGRAU* 38(1),(2010) 86-102.
- Prabhu, S.V., Varadharajan, V., Mohanasundaram, S., Manivannan, S., Khaled, J.M., Goel, M., Srihari, K., A comparative study on process optimization of betalain pigment extraction from *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*: RSM, ANN, and hybrid RSM-GA methods. *Biomass Conversion and Biorefinery*,(2023) 1-19.
- Prieto-Santiago, V., Cavia, M.M., Alonso-Torre, S.R., Carrillo, C., Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *Journal of food science and technology* 57,(2020) 3305-3313.
- Putthawan, P., Prompanya, B., Promnet, S., Extraction, biological activities and stability of *Hylocereus polyrhizus* peel extract as a functional food colorant and nutraceutical. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 20(8),(2021) 1683-1690.
- Rad, M.E., Egil, A.C., Ince, G.O., Yuce, M., Zarrabi, A., Optimization of curcumin loaded niosomes for drug delivery applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 654,(2022) 129921.
- Rahimi, P., Abedimanesh, S., Mesbah-Namin, S.A., Ostadrahimi, A., Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59(18),(2019) 2949-2978.
- Raj, G.B., Dash, K.K., Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics sonochemistry* 68,(2020) 105180.
- Rashwan, A.K., Osman, A.I., Chen, W., Natural nutraceuticals for enhancing yogurt properties: a review. *Environmental Chemistry Letters* 21(3),(2023) 1907-1931.
- Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Knorr, D., Teissie, J., Miklavčič, D., Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 37,(2016) 312-321.
- Ray, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R., An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience* 13,(2016) 76-83.
- Rezaei, H., Iranbakhsh, A., Sepahi, A.A., Mirzaie, A., Larijani, K., Formulation, preparation of niosome loaded zinc oxide nanoparticles and biological activities. *Scientific reports* 14(1),(2024) 16692.
- Rezagholidade-Shirvan, A., Soltani, M., Shokri, S., Radfar, R., Arab, M., Shamloo, E., Bioactive compound encapsulation: Characteristics, applications in food systems, and implications for human health. *Food Chemistry: X*,(2024) 101953.

- Riccardi, D., Baldino, L., Reverchon, E., Liposomes, transfersomes and niosomes: Production methods and their applications in the vaccinal field. *Journal of Translational Medicine* 22(1),(2024) 339.
- Ridolfo, R., Tavakoli, S., Junnuthula, V., Williams, D.S., Urtti, A., van Hest, J.C., Exploring the impact of morphology on the properties of biodegradable nanoparticles and their diffusion in complex biological medium. *Biomacromolecules* 22(1),(2020) 126-133.
- Robert, P., Vergara, C., Silva-Weiss, A., Osorio, F.A., Santander, R., Sáenz, C., Giménez, B., Influence of gelation on the retention of purple cactus pear extract in microencapsulated double emulsions. *PloS one* 15(1),(2020) e0227866.
- Rodriguez-Amaya, D.B., Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science* 7,(2016) 20-26.
- Roriz, C.L., Xavier, V., Heleno, S.A., Pinela, J., Dias, M.I., Calhelha, R.C., Morales, P., Ferreira, I.C., Barros, L., Chemical and Bioactive Features of *Amaranthus caudatus* L. Flowers and Optimized Ultrasound-Assisted Extraction of Betalains. *Foods* 10(4),(2021) 779.
- Sabir, I.A., Manzoor, M.A., Khan, I., Hu, X., Chen, J., Qin, Y., Emerging Trends in Secondary Metabolite Research in Caryophyllales: Betalains and Their Roles in Plant Adaptation and Defense Mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,(2025).
- Sadowska-Bartos, I., Bartosz, G., Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules* 26(9),(2021) 2520.
- Saeed, M., Ali, S.W., Ramzan, S., Physicochemical analysis of mango flavored yogurt supplemented with moringa oleifera leaf powder. *Journal of food science and technology* 58(12),(2021) 4805-4814.
- Sahingil, D., Hayaloglu, A., Enrichment of antioxidant activity, phenolic compounds, volatile composition and sensory properties of yogurt with rosehip (*Rosa canina* L.) fortification. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 28,(2022) 100514.
- Saifullah, M., Shishir, M.R.I., Ferdowsi, R., Rahman, M.R.T., Van Vuong, Q., Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. *Trends in Food Science & Technology* 86,(2019) 230-251.
- Saini, N., Anmol, A., Kumar, S., Wani, A.W., Bakshi, M., Dhiman, Z., Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants-a comprehensive review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*,(2024) 102383.
- Saleh, A., Pirouzifard, M., Almasi, H., Optimization and characterization of *Lippia citriodora* essential oil loaded niosomes: a novel plant-based food nano preservative. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 650,(2022) 129480.

- Salehi, M., Ghorbani, M., Sadeghi Mahoonk, A., Khomeiri, M., Physicochemical, antioxidant and sensory properties of yogurt fortified with common purslane (*Portulaca oleracea*) extract. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(5),(2021) 4288-4296.
- Sanket, K., Prakash, J., Vivekkumar, R., Overview on Niosome. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* 11(4),(2023) 143-154.
- Santos-Sánchez, N.F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., Hernández-Carlos, B., Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *IntechOpen*. 2019.
- Sarıcan, S.Y., Beyter, N., Yılmaz, İ., Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlık Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 12(1),(2024) 91-99.
- Schumann, C., Martín-Gómez, B., Jano, A., Ares, A.M., Bernal, J., Pressurized fluid extraction of bioactive compounds from peanut by-products to promote waste recovery and circular economy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*,(2025) 1-12.
- Sensoy, I., A review on the food digestion in the digestive tract and the used *in vitro* models. *Current Research in Food Science* 4,(2021) 308-319.
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., Einafshar, S., Ramaswamy, H.S., Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. *Ultrasonics sonochemistry* 76,(2021) 105666.
- Sharma, A., Mazumdar, B., Keshav, A., Valorization of unsalable *Amaranthus tricolor* leaves by microwave-assisted extraction of betacyanin and betaxanthin. *Biomass Conversion and Biorefinery*,(2021) 1-17.
- Shehata, M.G., Awad, T.S., Asker, D., El Sohaimy, S.A., Abd El-Aziz, N.M., Yousef, M.M., Antioxidant and antimicrobial activities and UPLC-ESI-MS/MS polyphenolic profile of sweet orange peel extracts. *Current Research in Food Science* 4,(2021) 326-335.
- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., Suleria, H.A.R., Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research* 29(54),(2022a) 81112-81129.
- Shi, M., Gu, J., Wu, H., Rauf, A., Emran, T.B., Khan, Z., Mitra, S., Aljohani, A.S., Alhumaydhi, F.A., Al-Awthan, Y.S., Phytochemicals, nutrition, metabolism, bioavailability, and health benefits in lettuce—A comprehensive review. *Antioxidants* 11(6),(2022b) 1158.
- Shori, A.B., Albalawi, A., Al Zahrani, A.J., Al-sulbi, O.S., Baba, A.S., Microbial analysis, antioxidant activity, and sensory properties of yoghurt with different starter cultures during storage. *International Dairy Journal* 126,(2022) 105267.
- Sıçramaz, H., Turmeric-Enriched Yogurt: Increased Antioxidant and Phenolic Contents. *Fermentation* 11(3),(2025) 127.

Siddiqui, S.A., Shrestha, P., Awad, N.M., Mortas, M., Povetkin, S.N., Pathare, P.B., A review on textural quality analysis of dried food products. *Food Reviews International* 40(7),(2024) 1854-1874.

Sigurdson, G.T., Tang, P., Giusti, M.M., Natural colorants: Food colorants from natural sources. *Annual review of food science and technology* 8(1),(2017) 261-280.

Simonetti, A., Perna, A., Grassi, G., Gambacorta, E., *In vitro* phenols bioaccessibility and antioxidant activity of goat milk yogurt fortified with *Rhus coriaria* leaf powder. *Journal of Food Science* 86(4),(2021) 1400-1409.

Singh, T., Pandey, V.K., Dash, K.K., Zanwar, S., Singh, R., Natural bio-colorant and pigments: Sources and applications in food processing. *Journal of Agriculture and Food Research* 12,(2023) 100628.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, pp. 152-178. Elsevier. 1999.

Skenderidis, P., Leontopoulos, S., Petrotos, K., Giavasis, I., Optimization of vacuum microwave-assisted extraction of pomegranate fruits peels by the evaluation of extracts' phenolic content and antioxidant activity. *Foods* 9(11),(2020) 1655.

Skenderidis, P., Leontopoulos, S., Petrotos, K., Giavasis, I., Vacuum microwave-assisted aqueous extraction of polyphenolic compounds from avocado (*Persea americana*) solid waste. *Sustainability* 13(4),(2021) 2166.

Somera, T., Mafaldo, Í.M., Bezerril, F.F., Rosset, M., Magnani, M., Pimentel, T.C., Unconventional foods and by-products as sustainable encapsulating materials carrying probiotic cultures: An overview of the encapsulation methods, and incorporation on food products. *Food Bioscience*,(2024) 104892.

Spórna-Kucab, A., Tekieli, A., Grzegorzczak, A., Świątek, Ł., Boguszewska, A., Skalicka-Woźniak, K., Betaxanthin Profiling in Relation to the Biological Activities of Red and Yellow *Beta vulgaris* L. Extracts. *Metabolites* 13(3),(2023) 408.

Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P.S., Kapoor, A., Vo, D.-V.N., Prabhakar, S., Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review. *Environmental Chemistry Letters* 19,(2021) 3409-3443.

Subramanian, P., Lipid-based nanocarrier system for the effective delivery of nutraceuticals. *Molecules* 26(18),(2021) 5510.

Surano, B., Leiva, G., Marshall, G., Maglietti, F., Schebor, C., Pulsed electric fields using a multiple needle chamber to improve bioactive compounds extraction from unprocessed *Opuntia ficus-indica* fruits. *Journal of Food Engineering* 317,(2022) 110864.

Szpisják-Gulyás, N., Al-Tayawi, A.N., Horváth, Z.H., László, Z., Kertész, S., Hodúr, C., Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. *Acta Alimentaria* 52(4),(2023) 521-537.

Şen Arslan, H., Eco-friendly microwave-assisted extraction of fruit and vegetable peels demonstrates great biofunctional properties. *Food science & nutrition* 12(11),(2024) 8930-8938.

Şengül, M., Can, B., Ürkek, B., Gürbüz-Kaçan, Z., Effect of blueberry addition on antioxidant activity, textural, microbiological and physicochemical properties of strained yoghurt. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 94(4),(2022) e20201798.

Talebi, V., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Pezeshki, A., Ostadrahimi, A., Effects of different stabilizers on colloidal properties and encapsulation efficiency of vitamin D<sub>3</sub> loaded nano-niosomes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 61,(2021) 101284.

Tariq, F., Zaman, M., Waqar, M.A., Saeed, M.A., Sarfraz, R.M., Design, optimization & characterization of niosomal & polymeric nanoparticles. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* 73(15),(2024) 1353-1366.

Tarone, A.G., Silva, E.K., Barros, H.D.d.F.Q., Cazarin, C.B.B., Junior, M.R.M., High-intensity ultrasound-assisted recovery of anthocyanins from jaboticaba by-products using green solvents: Effects of ultrasound intensity and solvent composition on the extraction of phenolic compounds. *Food Research International* 140,(2021) 110048.

Tatipamula, V.B., Kukavica, B., Phenolic compounds as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer agents and improvement of their bioavailability by liposomes. *Cell Biochemistry and Function* 39(8),(2021) 926-944.

Tavan, M., Hanachi, P., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Segura Carretero, A., Mirjalili, M.H., Natural phenolic compounds with neuroprotective effects. *Neurochemical Research* 49(2),(2024) 306-326.

Tekin, İ., Özcan, K., Ersus, S., Optimization of ionic gelling encapsulation of red beet (*Beta vulgaris* L.) juice concentrate and stability of betalains. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 51,(2023) 102774.

Temprom, L., Kongsuk, S., Thapphasaraphong, S., Priperm, A., Namuangruk, S., A novel preparation and characterization of melatonin loaded niosomes based on using a ball milling method. *Materials Today Communications* 31,(2022) 103340.

Tenore, G.C., Novellino, E., Basile, A., Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. *Journal of Functional Foods* 4(1),(2012) 129-136.

Thabet, Y., Elsabahy, M., Eissa, N.G., Methods for preparation of niosomes: A focus on thin-film hydration method. *Methods* 199,(2022) 9-15.

Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V., Microwave assisted extraction process of betalain from dragon fruit and its antioxidant activities. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16(1),(2017) 41-48.

Thummajitsakul, S., Samaikam, S., Tacha, S., Silprasit, K., Study on FTIR spectroscopy, total phenolic content, antioxidant activity and anti-amylase activity of extracts and different tea forms of *Garcinia schomburgkiana* leaves. LWT 134,(2020) 110005.

Tissera, C.E., Barnetche, M.E., Silva, O.F., Fernández, M.A., Increasing the stability of ascorbic acid through encapsulation in food-grade vesicles: an approach for nutritional improvement. International Journal of Food Science and Technology 60(1),(2025) vvae027.

Tiwari, B.K., Ultrasound: A clean, green extraction technology. TrAC Trends in Analytical Chemistry 71,(2015) 100-109.

Toledo-Madrid, K., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Microencapsulation of purple cactus pear fruit (*Opuntia ficus indica*) extract by the combined method W/O/W double emulsion-spray drying and conventional spray drying: a comparative study. Processes 6(10),(2018) 189.

Tran, U.P., Dang-Bao, T., Le, P.T.K., Huynh, U.D., Nguyen, T.T., Le, T.M., Encapsulation of betalains extracted from red dragon fruit peels by freeze-drying using microcrystalline cellulose and dragon fruit peel pectin as wall materials. Chemical Engineering Transactions 97,(2022) 31-36.

Trivedi, H.R., Puranik, P.K., Chlorogenic acid loaded niosomes and proniosomes: *in vitro* antioxidant and antibacterial activities with efficacy in wound healing. Digital Chinese Medicine 6(2),(2023) 170-188.

Tyagi, R., Waheed, A., Kumar, N., Mujeeb, M., Naved, T., Khan, M.R., Alhosaini, K., Alqarni, Y.A., Rahat, R., Alam, P., *In-vitro* and *ex-vivo* antidiabetic, and antioxidant activities of Box-Behnken design optimized *Solanum xanthocarpum* extract loaded niosomes. Saudi Pharmaceutical Journal 31(10),(2023) 101785.

Umbarkar, M.G., Niosome as a Novel Pharmaceutical Drug Delivery: A Brief Review Highlighting Formulation, Types, Composition and Application. Indian Journal of Pharmaceutical Education & Research 55,(2021).

Usman, I., Hussain, M., Imran, A., Afzaal, M., Saeed, F., Javed, M., Afzal, A., Ashfaq, I., Al Jbawi, E., A. Saewan, S., Traditional and innovative approaches for the extraction of bioactive compounds. International Journal of Food Properties 25(1),(2022) 1215-1233.

Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Sigala-Hernández, A., Núñez-Gastélum, J.A., Ruiz-May, E., Rodrigo-García, J., Larqué-Saavedra, A., del Rocio Martínez-Ruiz, N., Sensory attributes, physicochemical and antioxidant characteristics, and protein profile of wild prickly pear fruits (*O. macrocentra* Engelm., *O. phaeacantha* Engelm., and *O. engelmannii* Salm-Dyck ex Engelmann.) and commercial prickly pear fruits (*O. ficus-indica* (L.) Mill.). Food Research International 140,(2021) 109909.

Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A.V., Carrera, C., Palma, M., Barbero, G.F., Aliaño-González, M.J., Ultrasound-assisted extraction of betalains from *Opuntia* fruit pulp of different color varieties. Agronomy 12(11),(2022) 2604.

Vega, E.N., Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Barros, L., Morales, P., Natural sources of food colorants as potential substitutes for artificial additives. *Foods* 12(22),(2023) 4102.

Victor, O., Charles, F., Estella, T.-F., Marthe, T., Angélique, M., Jean, A., Bethelémy, N., Frederick, K., Kamdje, A.H.N., Veronique, P., Phytochemical Screening and Biological Activity Studies of the Extract from the Bark of *Ricinodendron heudoletti*, Euphorbiaceae. *Journal of Diseases and Medicinal Plants* 2(6),(2016) 83-89.

Vieira, T.R.R., Lima, A.B., Ribeiro, C.M.C.M., de Medeiros, P.V.Q., Converti, A., dos Santos Lima, M., Maciel, M.I.S., Red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) as a source of betalains and phenolic compounds: Ultrasound extraction, microencapsulation, and evaluation of stability. *LWT* 196,(2024) 115755.

Vulić, J.J., Čebović, T.N., Čanadanović, V.M., Četković, G.S., Djilas, S.M., Čanadanović-Brunet, J.M., Velićanski, A.S., Cvetković, D.D., Tumbas, V.T., Antiradical, antimicrobial and cytotoxic activities of commercial beetroot pomace. *Food & Function* 4(5),(2013) 713-721.

Wang, J.-X., Xiao, X.-H., Li, G.-K., Study of vacuum microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds and pigment from Chinese herbs. *Journal of Chromatography A* 1198,(2008) 45-53.

Wang, J., Jayaprakasha, G.K., Patil, B.S., UPLC-QTOF-MS fingerprinting combined with chemometrics to assess the solvent extraction efficiency, phytochemical variation, and antioxidant activities of *Beta vulgaris* L. *Journal of Food and Drug Analysis* 28(2),(2020a) 217.

Wang, J., Zhao, Y., Sun, B., Yang, Y., Wang, S., Feng, Z., Li, J., The structure of anthocyanins and the copigmentation by common micromolecular copigments: A review. *Food Research International* 176,(2024a) 113837.

Wang, N., Zhu, H., Wang, M., Zhao, S., Sun, G., Li, Z., Recent advancements in microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*,(2024b) 1-18.

Wang, T., Liu, L., Rakhmanova, A., Wang, X., Shan, Y., Yi, Y., Liu, B., Zhou, Y., Lü, X., Stability of bioactive compounds and *in vitro* gastrointestinal digestion of red beetroot jam: Effect of processing and storage. *Food Bioscience* 38,(2020b) 100788.

Wang, X., Kristo, E., LaPointe, G., Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids* 100,(2020c) 105453.

Wang, Y., Liu, K., Lu, M., Shi, J., Xu, Y.J., Liu, Y., Comparative evaluation of static and dynamic simulated digestion models. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 103(12),(2023) 5893-5903.

Weremfo, A., Abassah-Oppong, S., Adulley, F., Dabie, K., Seidu-Larry, S., Response surface methodology as a tool to optimize the extraction of bioactive compounds from plant sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 103(1),(2023) 26-36.

- Wijesekara, A., Weerasingha, V., Jayarathna, S., Priyashantha, H., Quality parameters of natural phenolics and its impact on physicochemical, microbiological, and sensory quality attributes of probiotic stirred yogurt during the storage. *Food Chemistry: X* 14,(2022) 100332.
- Wijesinghe, V.N., Choo, W.S., Antimicrobial betalains. *Journal of Applied Microbiology* 133(6),(2022) 3347-3367.
- Wong, Y.-M., Siow, L.-F., Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of food science and technology* 52,(2015) 3086-3092.
- Wybraniec, S., Starzak, K., Skopińska, A., Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Michałowski, T., Studies on nonenzymatic oxidation mechanisms in neobetanin, betanin, and decarboxylated betanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(26),(2013) 6465-6476.
- Xiao, X., Song, W., Wang, J., Li, G., Microwave-assisted extraction performed in low temperature and in vacuo for the extraction of labile compounds in food samples. *Analytica Chimica Acta* 712,(2012) 85-93.
- Yeo, P.L., Lim, C.L., Chye, S.M., Ling, A.K., Koh, R.Y., Niosomes: a review of their structure, properties, methods of preparation, and medical applications. *Asian Biomedicine* 11(4),(2017) 301-313.
- Yildiz, E., Ozcan, T., Functional and textural properties of vegetable-fibre enriched yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 72(2),(2019) 199-207.
- Yong, Y.Y., Dykes, G., Lee, S.M., Choo, W.S., Effect of refrigerated storage on betacyanin composition, antibacterial activity of red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and cytotoxicity evaluation of betacyanin rich extract on normal human cell lines. *LWT* 91,(2018) 491-497.
- Yurdakul, Ö., Yılmaz, E.G., Şen, E., Tutun, S., Tüketilen Bazı Probiyotik Preparatların İçerdiği Bakteri Seviyelerinin Belirlenerek PZR ile Doğrulanması. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 12(1),(2024) 59-65.
- Yusoff, I.M., Taher, Z.M., Rahmat, Z., Chua, L.S., A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International* 157,(2022) 111268.
- Yvonne, R.-M., Josefina, V.-R.S., Alfonso, M.L., Esmeralda, U.-S.J., Impact of the Food Matrix on the Hypoglycemic Effect of Betalains from Red Prickly Pear Juice After *In Vitro* Digestion,(2025).
- Zabot, G.L., Schaefer Rodrigues, F., Polano Ody, L., Vinícius Tres, M., Herrera, E., Palacin, H., Córdova-Ramos, J.S., Best, I., Olivera-Montenegro, L., Encapsulation of bioactive compounds for food and agricultural applications. *Polymers* 14(19),(2022) 4194.

Zaky, A.A., Akram, M.U., Rybak, K., Witrowa-Rajchert, D., Nowacka, M., Bioactive compounds from plants and by-products: Novel extraction methods, applications, and limitations. *AIMS Molecular Science* 11(2),(2024) 150-188.

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., Zhang, Y., A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. *Natural product communications* 17(1),(2022).

Zhao, X., Liang, Q., EPS-producing *Lactobacillus plantarum* MC5 as a compound starter improves rheology, texture, and antioxidant activity of yogurt during storage. *Foods* 11(11),(2022) 1660.

Zhao, Z., Corredig, M., Influence of sodium chloride on the colloidal and rennet coagulation properties of concentrated casein micelle suspensions. *Journal of Dairy Science* 99(8),(2016) 6036-6045.

Zin, M., Márki, E., Bánvölgyi, S., Conventional extraction of betalain compounds from beetroot peels with aqueous ethanol solvent. *Acta Alimentaria* 49(2),(2020) 163-169.

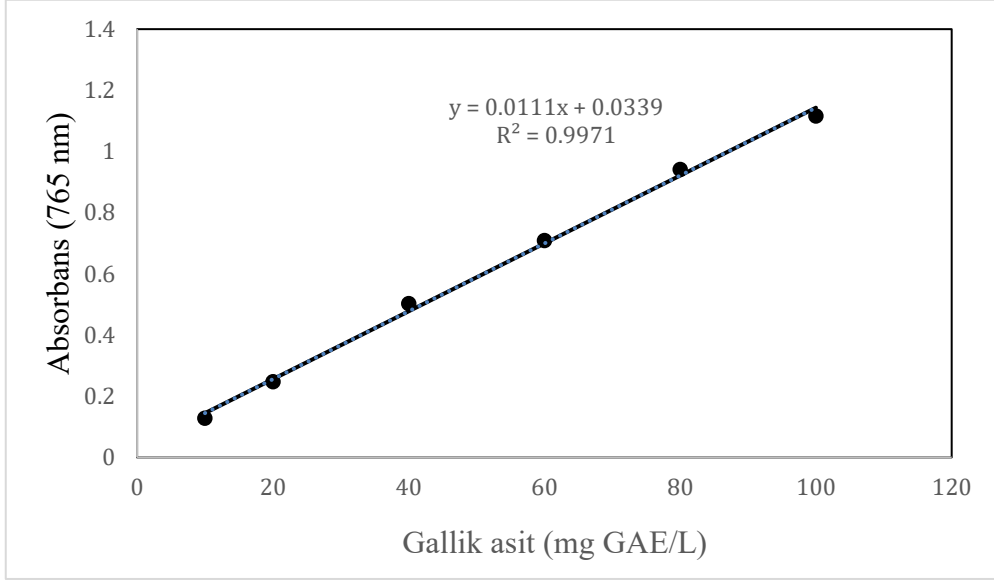
Zin, M.M., Bánvölgyi, S., Emerging technology approach for extractability and stability of betalains from the peel of beetroot (*Beta vulgaris* L.). *Biomass Conversion and Biorefinery*,(2021) 1-11.

Zin, M.M., Borda, F., Márki, E., Bánvölgyi, S., Betalains, total polyphenols, and antioxidant contents in red beetroot peel (*Cylindra type*). *Progress in Agricultural Engineering Sciences* 16(S2),(2021) 27-36.

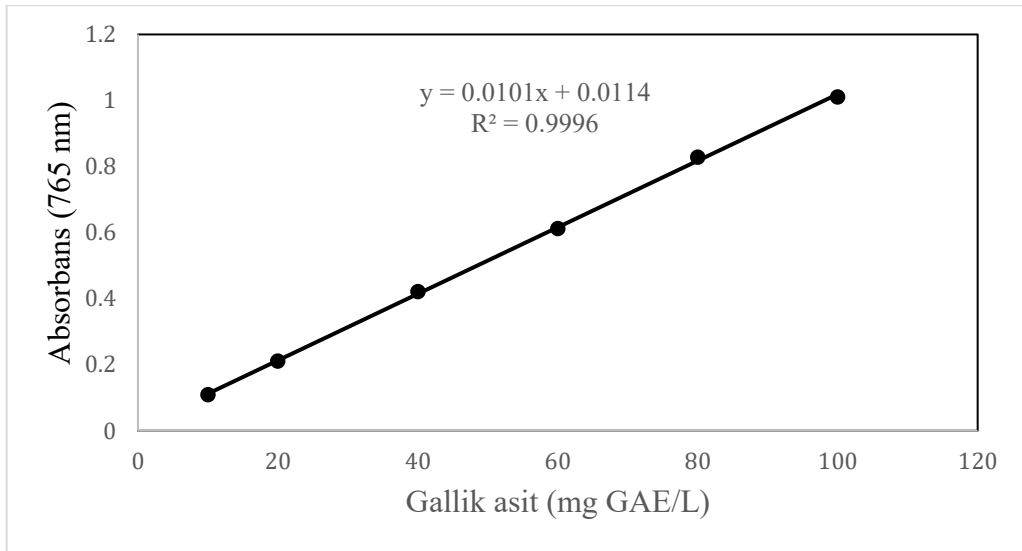
Zin, M.M., Nagy, K., Bánvölgyi, S., Abrankó, L., Nath, A., Effect of microwave pretreatment on the extraction of antioxidant-rich red color betacyanin, phenolic, and flavonoid from the crown of *Cylindra-type* beetroot (*beta vulgaris* l.). *Journal of Food Process Engineering* 45(12),(2022) e14175.

## EKLER

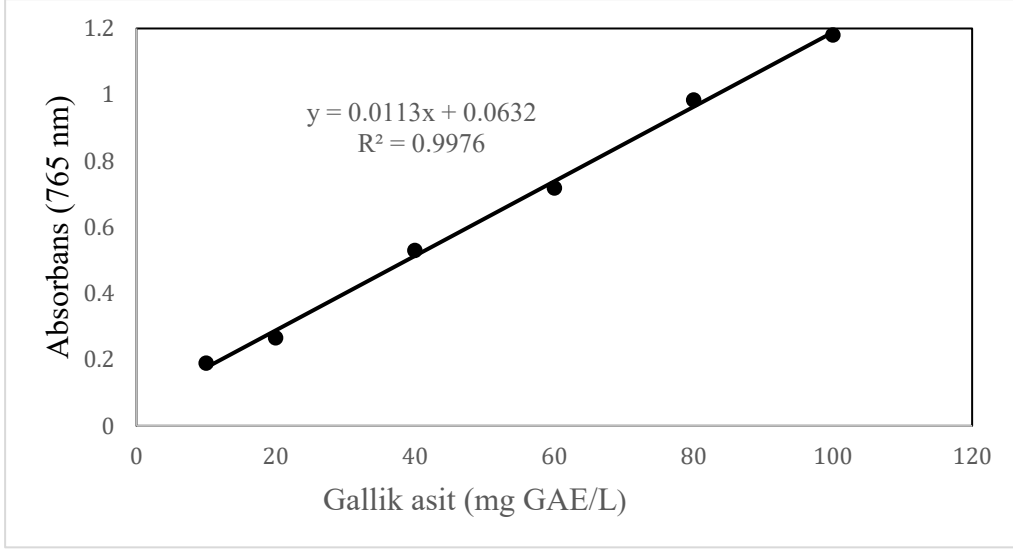
### EK A – TFM ve TAK Ölçümleri İçin Kullanılan Kalibrasyon Eğrileri



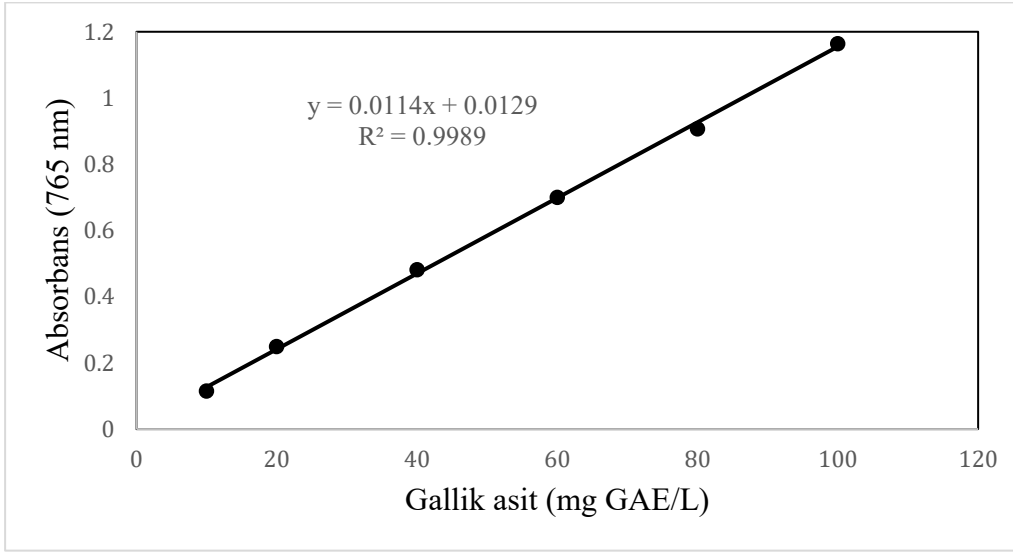
**Şekil A1.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



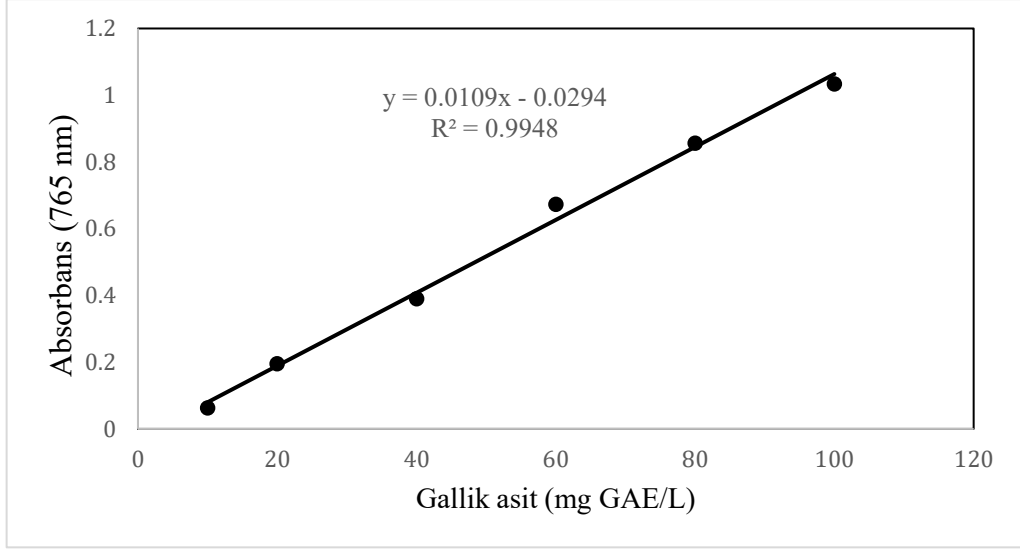
**Şekil A2.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



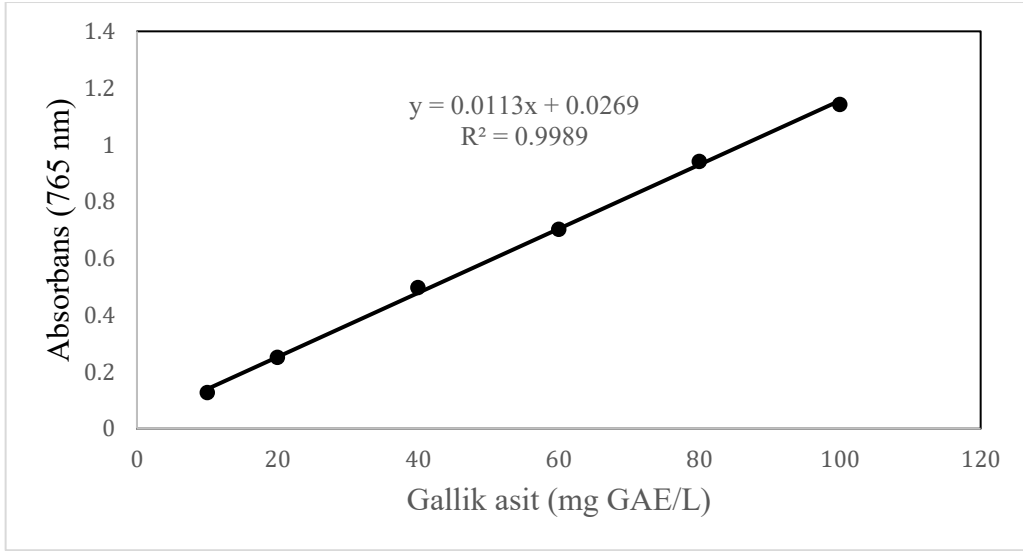
**Şekil A3.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



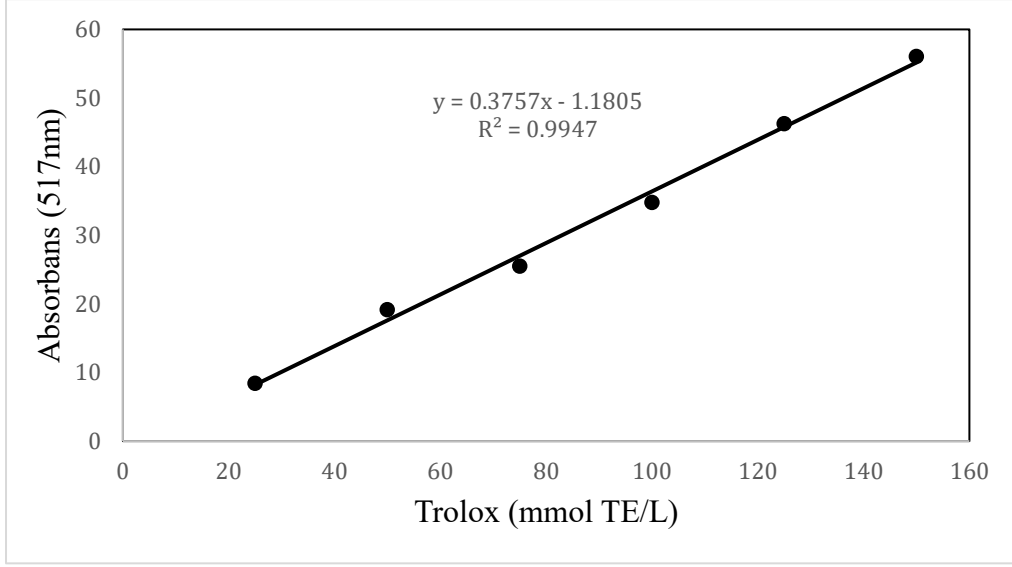
**Şekil A4.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



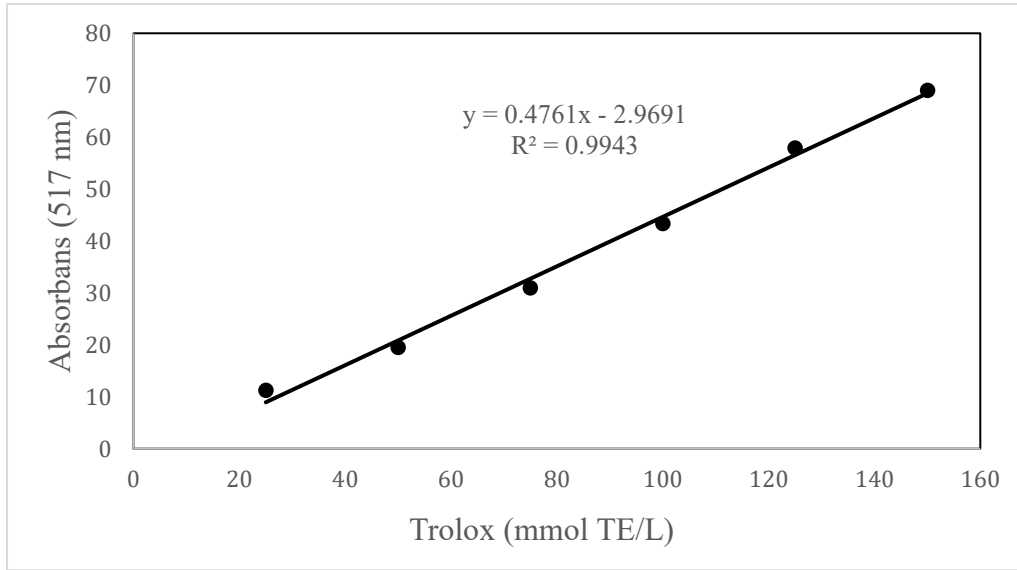
**Şekil A5.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



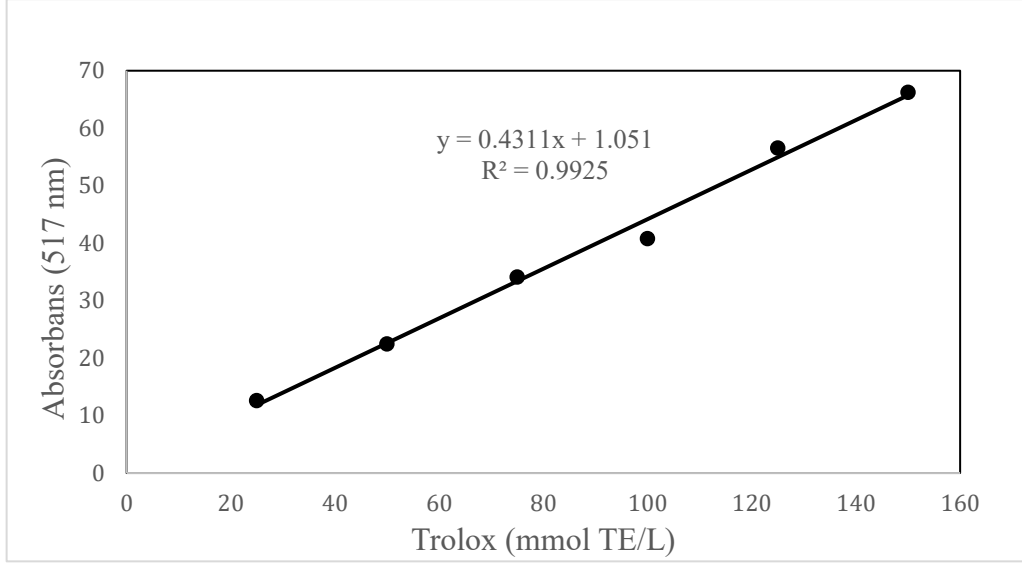
**Şekil A6.** TFM hesaplamalarında kullanılmak üzere %70 metanol ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon eğrisi



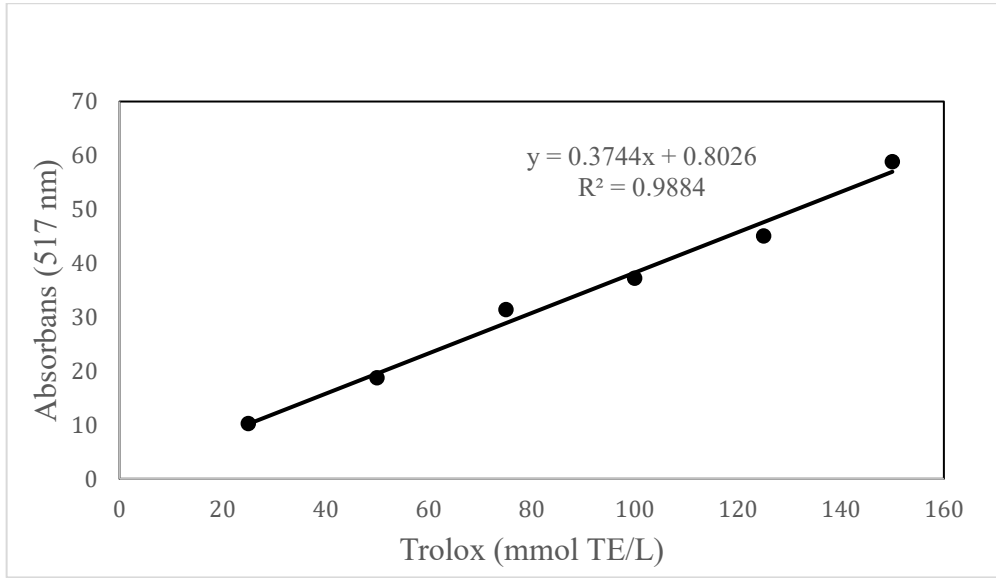
**Şekil A7.** TAK<sub>DPPH</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



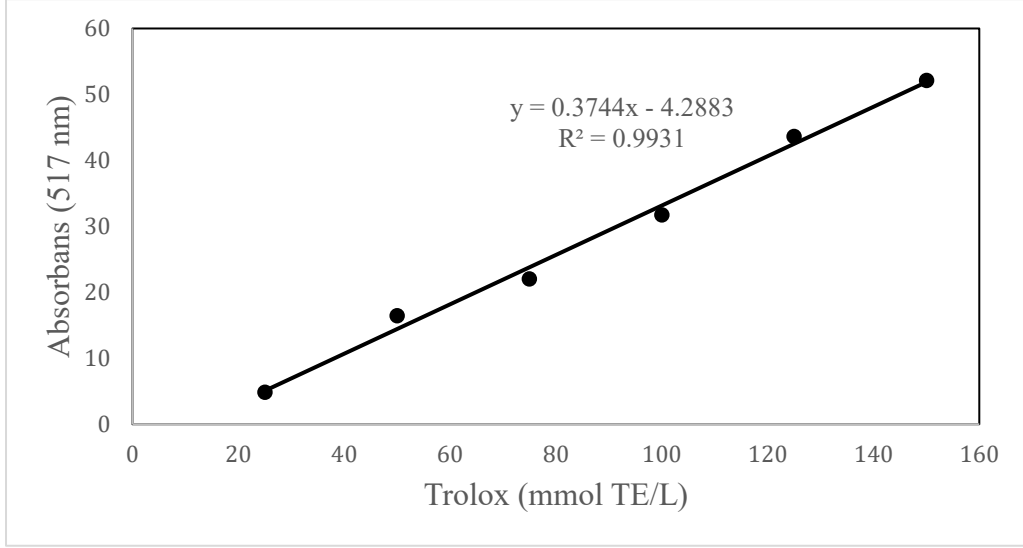
**Şekil A8.** TAK<sub>DPPH</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



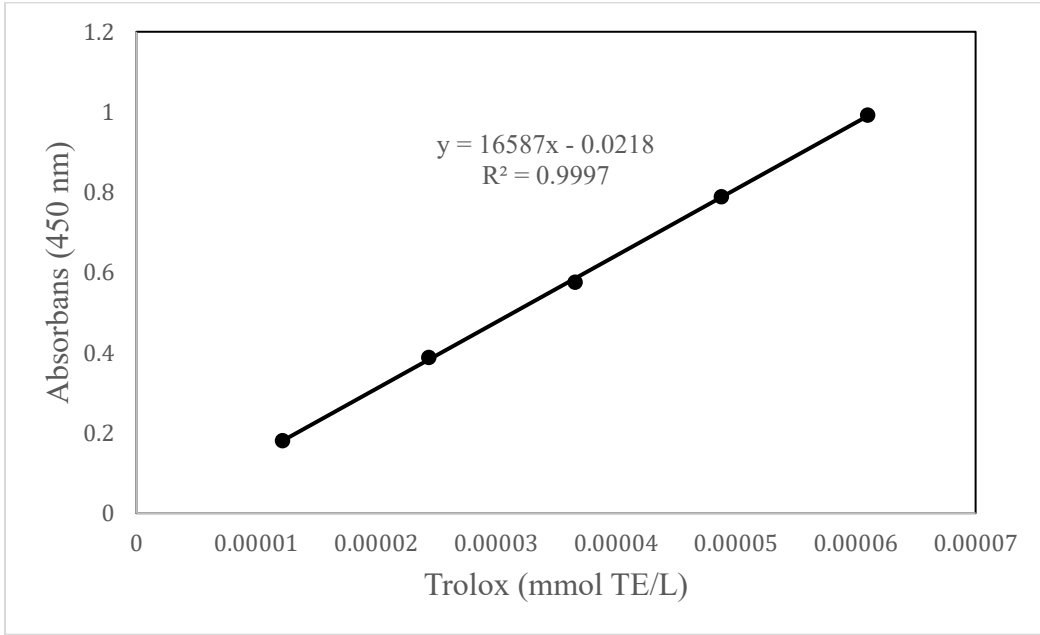
**Şekil A9.** TAK<sub>DPPH</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



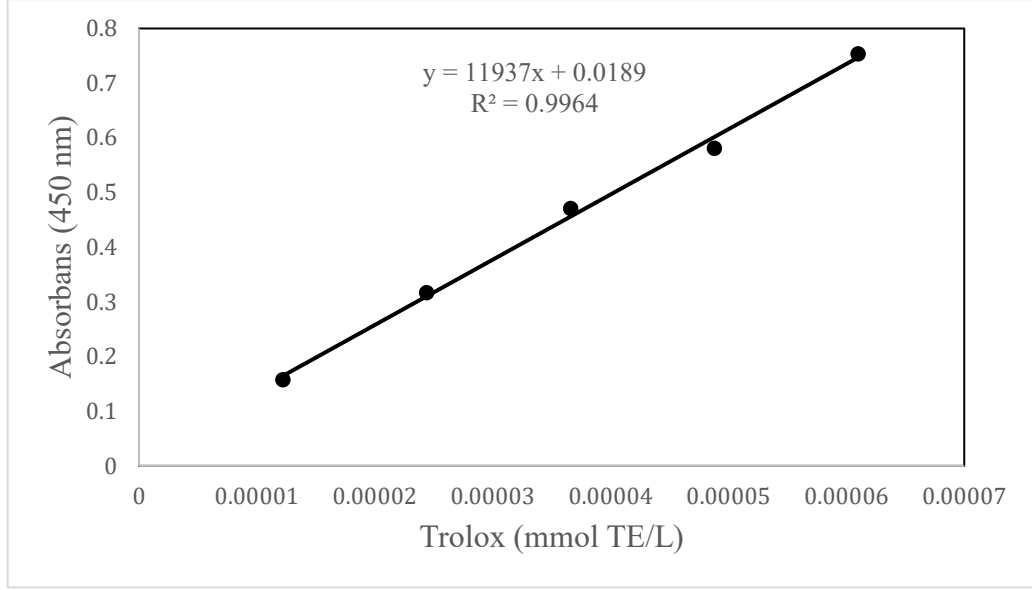
**Şekil A10.** TAK<sub>DPPH</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



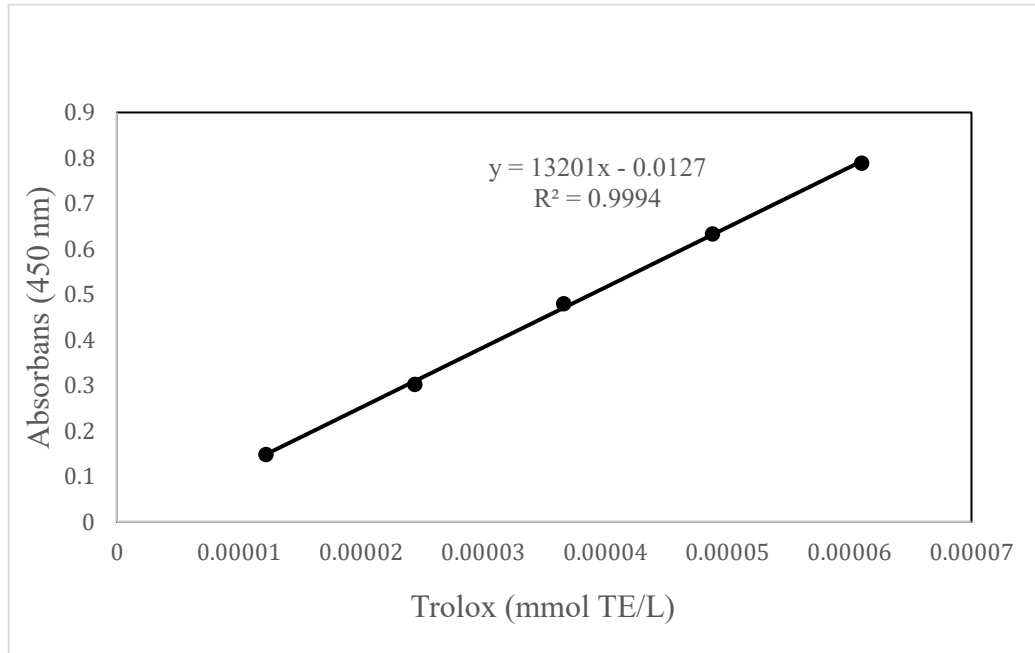
**Şekil A11.** TAK<sub>DPPH</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



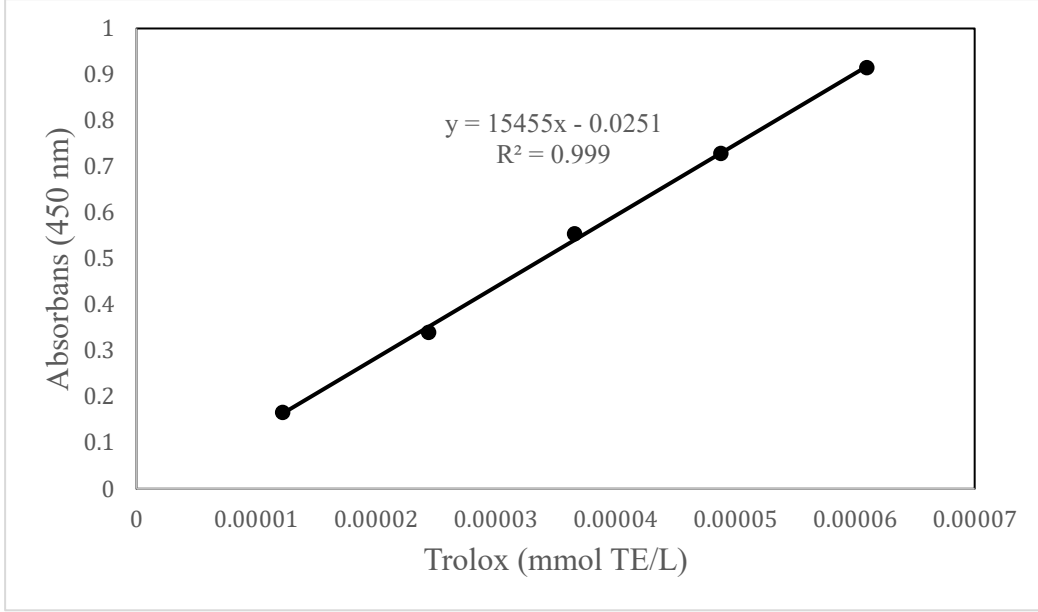
**Şekil A12.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %50 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



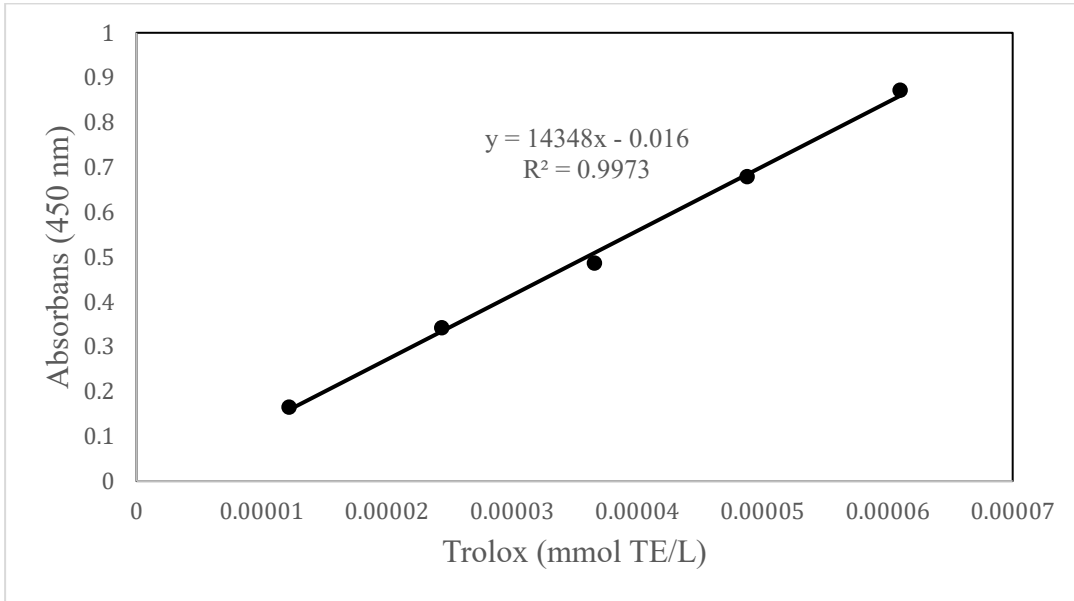
**Şekil A13.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %20 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



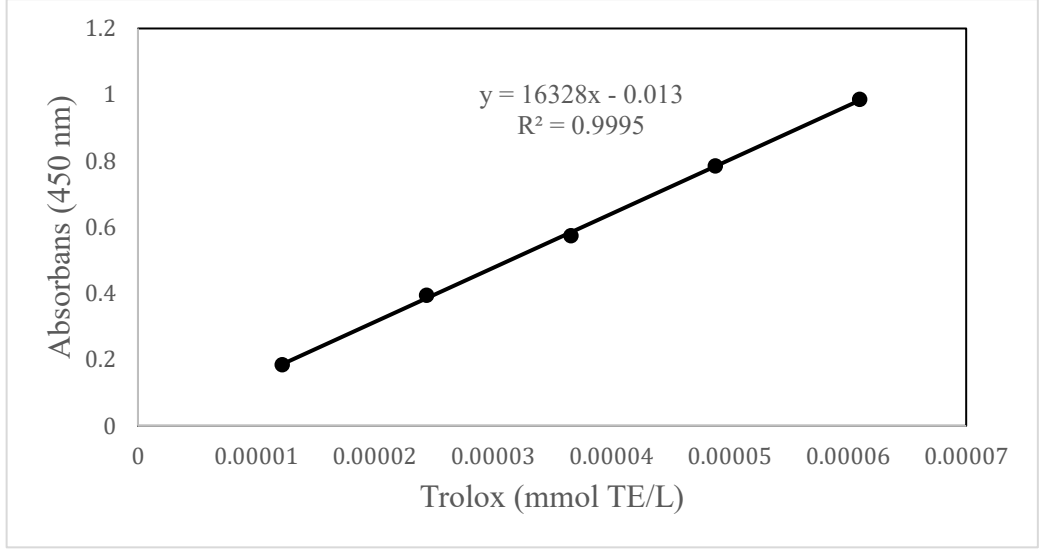
**Şekil A14.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %40 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



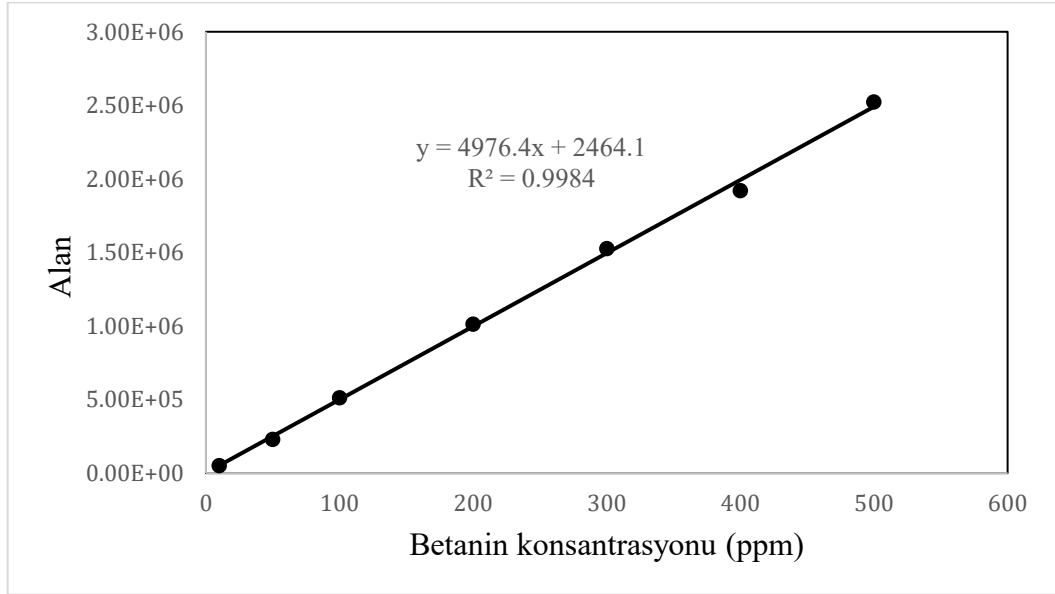
**Şekil A15.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %60 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



**Şekil A16.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %80 etanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



**Şekil A17.** TAK<sub>CUPRAC</sub> hesaplamalarında kullanılmak üzere %70 metanol ile hazırlanan troloks kalibrasyon eğrisi



**Şekil A18.** Ticari betanin örneğinin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan standart eğri

## EK B- Optimizasyon Deneylerinde Elde Edilen Yanıtlar

**Çizelge B1.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde KE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Deney No	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>
1	5.10±0.152	10.20±0.076	26.66±0.199	187.37±0.286
2	5.83±0.203	7.79±0.036	29.85±0.133	467.18±3.085
3	4.72±0.540	6.18±0.033	27.23±0.179	376.02±7.885
4	5.66±0.442	6.84±0.020	25.91±0.405	441.05±3.154
5	5.65±0.382	11.93±0.320	26.39±0.577	418.42±2.439
6	4.95±0.051	6.55±0.051	18.33±0.213	430.82±1.148
7	6.15±0.382	7.78±0.034	34.86±0.655	426.22±0.779
8	5.60±0.827	7.63±0.019	31.48±0.459	403.10±6.409
9	5.62±1.128	6.84±0.019	25.82±0.334	441.03±2.640
10	4.10±0.737	5.75±0.017	22.78±0.237	402.94±1.161
11	5.55±0.175	6.91±0.052	25.56±0.668	379.93±3.102
12	5.64±0.405	6.84±0.035	25.87±0.133	440.71±3.221
13	6.14±0.462	14.87±0.205	29.43±1.545	420.86±6.082
14	5.63±0.702	6.84±0.035	25.82±0.276	440.98±2.634
15	5.33±0.616	6.72±0.020	28.78±1.086	392.16±2.188
16	4.67±0.843	6.09±0.100	20.47±0.153	397.81±1.103
17	5.08±0.998	6.64±0.050	27.02±0.466	213.06±5.994
18	5.05±0.368	6.88±0.060	25.68±0.237	405.44±2.425
19	5.08±0.912	9.75±0.083	22.48±0.199	403.99±3.852
20	5.53±0.212	7.77±0.100	26.10±0.206	440.07±0.978
21	4.35±0.548	9.84±0.052	26.79±0.804	359.93±5.283
22	5.02±0.975	5.64±0.029	27.28±0.499	361.97±1.381
23	5.01±0.791	6.80±0.072	24.23±0.101	394.50±2.302
24	4.35±0.837	4.12±0.042	16.56±0.101	414.69±3.454
25	4.42±0.088	3.30±0.031	21.28±0.078	393.16±5.693
26	3.99±0.406	8.85±0.068	24.15±0.356	400.95±4.883
27	5.35±0.662	12.42±0.138	28.45±0.912	393.98±2.173
28	5.65±0.304	6.86±0.059	25.78±0.276	441.05±0.296
29	4.70±0.318	11.39±0.029	39.22±0.214	422.41±2.704

\*Sonnular üç tekrarin aritmetik ortalamasi alinarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

**Çizelge B2.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde UDE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Deney No	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>
1	5.95±2.013	12.37±0.104	34.86±0.623	363.61±2.912
2	5.49±3.015	10.09±0.155	31.14±0.356	470.65±6.285
3	5.28±0.564	8.24±0.201	31.92±0.203	432.89±2.004
4	5.27±0.442	8.18±0.066	32.06±0.502	432.30±1.338
5	5.27±1.594	5.94±0.025	32.98±0.268	374.83±5.924
6	4.63±0.464	8.07±0.052	24.32±0.502	377.35±2.011
7	4.91±1.505	6.10±0.306	34.94±0.677	413.55±3.154
8	4.77±0.765	7.95±0.069	33.91±0.203	392.90±1.857
9	5.28±0.351	8.17±0.099	31.83±0.133	432.10±2.545
10	5.66±0.405	7.05±0.087	36.83±0.334	415.97±2.979
11	4.96±0.088	6.76±0.050	31.15±0.233	405.02±5.658
12	4.92±0.841	12.18±0.052	22.79±1.057	381.77±4.912
13	5.53±0.464	7.87±0.153	31.26±0.536	425.02±2.272
14	4.46±0.541	6.10±0.120	29.40±0.782	360.12±7.834
15	5.78±0.662	10.23±0.131	35.88±0.753	401.94±5.545
16	4.78±0.35	6.09±0.280	29.09±0.233	390.74±1.430
17	4.53±0.638	6.78±0.126	35.25±0.945	456.40±3.888
18	5.81±1.449	9.92±0.129	38.27±1.849	441.80±7.774
19	5.25±0.368	5.66±0.060	31.99±0.411	473.90±4.106
20	4.33±1.645	5.90±0.137	31.11±1.206	421.79±0.153
21	3.59±0.505	6.99±0.056	22.29±0.258	329.60±3.669
22	5.51±0.804	10.38±0.227	35.42±0.526	412.35±4.290
23	4.92±0.304	6.69±0.079	30.99±0.203	407.17±4.646
24	5.27±0.268	8.18±0.087	32.01±0.276	432.35±2.844
25	5.28±0.616	8.16±0.050	31.88±0.777	432.18±4.007
26	6.00±2.498	8.68±0.407	29.67±1.971	358.87±3.692
27	4.89±2.009	10.03±0.062	29.18±0.828	461.38±4.881
28	6.14±0.971	17.05±0.146	32.86±0.857	361.14±5.362
29	4.30±1.425	8.40±0.242	25.24±0.436	376.27±1.289

\*Sonuçlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

**Çizelge B3.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre kaktüs meyvesi örneklerinde VMDE sonucu elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: TFM (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>2</sub>: TAK<sub>DPPH</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: TAK<sub>CUPRAC</sub> (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: TBM (mg betalain/ kg kuru ağırlık))

Deney No	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>
1	5.60±0.098	9.25±0.362	40.63±0.996	445.85±2.307
2	5.85±0.117	7.86±0.269	21.52±0.805	374.17±2.593
3	7.27±0.053	8.10±0.232	56.15±1.411	472.21±4.271
4	7.44±0.091	8.28±0.199	56.96±2.797	471.39±1.265
5	6.98±0.179	11.06±0.117	29.77±1.925	517.40±5.112
6	7.40±0.074	8.16±0.248	56.22±1.867	471.86±3.981
7	4.79±0.228	8.37±0.376	37.98±2.985	371.40±3.934
8	6.54±0.042	11.23±0.171	25.97±1.560	454.41±4.087
9	5.27±0.117	8.48±0.251	37.83±1.708	481.44±10.747
10	4.15±0.433	7.82±0.295	35.28±2.516	412.45±7.257
11	5.21±0.023	6.26±0.067	39.84±0.741	420.50±1.186
12	6.70±0.032	10.14±0.405	27.94±0.994	437.73±8.270
13	5.05±0.102	6.85±0.215	35.08±0.789	420.05±10.483
14	5.47±0.151	8.11±0.371	33.75±0.470	437.98±10.796
15	6.32±0.111	7.95±0.144	18.82±0.382	452.89±3.956
16	8.32±0.090	12.48±0.322	44.31±0.824	554.32±13.720
17	7.45±0.099	8.13±0.340	56.09±1.479	472.85±0.984
18	4.47±0.270	8.86±0.506	35.86±0.654	420.09±0.687
19	5.23±0.065	5.52±0.060	32.30±0.986	469.21±4.009
20	5.23±0.103	5.12±0.069	33.40±0.129	498.69±0.793
21	5.91±0.043	6.48±0.094	44.10±0.970	421.84±5.736
22	5.98±0.234	10.33±0.151	42.59±0.890	521.55±3.973
23	5.06±0.065	7.02±0.180	49.70±2.313	470.36±3.274
24	5.94±0.147	10.12±0.638	30.24±0.663	442.92±7.457
25	6.98±0.117	11.09±0.135	52.05±1.309	579.81±4.584
26	5.69±0.132	9.27±0.133	43.27±1.244	490.34±7.015
27	7.86±0.118	10.96±0.093	53.13±0.560	581.56±5.887
28	7.40±0.077	8.29±0.240	55.72±0.745	471.698±3.054
29	5.31±0.161	11.00±0.252	43.73±1.348	483.53±0.082

\*Sonuçlar üç tekrarın aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değerleri ile verilmiştir.

**Çizelge B4.** Box-Behnken deneysel tasarımına göre niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda elde edilen yanıtlar\* (Y<sub>1</sub>: Enkapsülasyon verimi, Y<sub>2</sub>: Toplam fenolik madde (TFM) (mg GAE/g kuru ağırlık), Y<sub>3</sub>: CUPRAC yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan kapasitesi (TAK<sub>CUPRAC</sub>) (mmol TE/ kg kuru ağırlık), Y<sub>4</sub>: Renk analizinde ölçülen b değeri, Y<sub>5</sub>: Toplam betalain miktarı (TBM) (mg betalain/kg kuru ağırlık))

Deney No	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>
1	94.16±0.035	2.31±0.023	19.77±0.101	3.60±0.021	673.68±0.254
2	95.86±0.011	2.79±0.023	20.68±0.101	3.38±0.131	685.87±0.080
3	92.89±0.023	2.47±0.013	21.56±0.210	5.25±0.026	664.63±0.167
4	90.11±0.006	2.52±0.031	16.88±0.154	7.26±0.220	644.72±0.045
5	92.94±0.078	2.72±0.013	21.46±0.309	4.75±0.205	664.95±0.558
6	96.56±0.012	2.80±0.012	23.75±0.058	3.36±0.172	690.85±0.086
7	97.62±0.035	2.17±0.027	21.63±0.309	6.39±0.074	698.45±0.251
8	91.53±0.017	2.49±0.057	18.63±0.154	5.54±0.256	654.89±0.118
9	94.11±0.025	2.33±0.036	19.91±0.117	3.59±0.015	673.34±0.181
10	94.09±0.035	2.26±0.053	19.81±0.233	3.57±0.053	673.20±0.250
11	96.31±0.039	2.72±0.012	23.48±0.210	3.35±0.139	689.07±0.278
12	94.69±0.038	2.82±0.024	14.96±0.117	6.60±0.133	677.49±0.273
13	95.38±0.027	2.63±0.012	21.69±0.101	3.40±0.015	682.45±0.193
14	94.10±0.033	2.28±0.031	19.87±0.364	3.64±0.050	673.25±0.240
15	97.12±0.022	2.78±0.007	18.66±0.175	5.76±0.061	694.92±0.155
16	94.30±0.068	2.46±0.018	26.24±0.101	2.07±0.032	674.71±0.483
17	93.87±0.057	2.83±0.027	19.67±0.101	6.09±0.208	671.65±0.411
18	94.87±0.072	2.58±0.036	19.81±0.210	5.48±0.188	678.82±0.515
19	92.70±0.027	2.63±0.055	19.81±0.058	6.81±0.254	663.25±0.196
20	90.92±0.032	2.74±0.101	15.97±0.254	5.70±0.214	650.51±0.227
21	87.66±0.073	2.77±0.020	16.91±0.117	8.84±0.8523	627.17±0.521
22	94.12±0.032	2.26±0.007	19.91±0.117	3.54±0.053	673.42±0.229
23	90.51±0.027	2.60±0.042	22.97±0.058	5.54±0.124	647.57±0.195
24	93.62±0.009	2.86±0.044	23.75±0.058	4.33±0.309	669.87±0.063
25	90.89±0.038	2.50±0.049	19.50±0.309	5.05±0.145	650.33±0.271
26	90.43±0.027	2.53±0.037	18.36±0.364	4.26±0.093	646.99±0.191
27	95.98±0.019	2.44±0.018	19.27±0.303	8.01±0.006	686.76±0.137
28	93.04±0.048	2.68±0.036	21.29±0.440	6.46±0.292	665.71±0.345
29	92.15±0.050	2.48±0.020	17.45±0.440	5.45±0.115	659.30±0.359

\*Sonaçlar üç tekrarin aritmetik ortalaması alınarak standart sapma değeri ile verilmiştir.

### EK C – Anova Çizelgeleri

**Çizelge C.1.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}C$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_1$ )	9.90	14	70.7	1207.43	< 0.0001
$X_1$	0.0868	1	8.68	148.27	< 0.0001
$X_2$	0.4983	1	49.83	851.04	< 0.0001
$X_3$	0.8969	1	89.69	1531.78	< 0.0001
$X_4$	0.5035	1	50.35	859.92	< 0.0001
$X_1X_2$	0.0716	1	7.16	122.25	< 0.0001
$X_1X_3$	0.0159	1	1.59	27.11	0.0006
$X_1X_4$	0.1884	1	18.84	321.81	< 0.0001
$X_2X_3$	0.1012	1	10.12	172.9	< 0.0001
$X_2X_4$	0.0408	1	4.08	69.76	< 0.0001
$X_3X_4$	0.5321	1	53.21	908.72	< 0.0001
$X_1^2$	1.16	1	115.72	1976.37	< 0.0001
$X_2^2$	0.1348	1	13.48	230.3	< 0.0001
$X_3^2$	0.0243	1	2.43	41.51	0.0001
$X_4^2$	2.13	1	212.87	3635.58	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0053	5	0.0898	4.61	0.082
Hata	0.0045	4	0.0195		
Genel	0.0008	23			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9986; Tahminsel  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9922

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C.2.** KE’de bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı (°C),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_2$ )	154.36	14	11.03	28988.5	< 0.0001
$X_1$	1.13	1	1.13	2969.99	< 0.0001
$X_2$	0.3983	1	0.3983	1047.25	< 0.0001
$X_3$	12.38	1	12.38	32553	< 0.0001
$X_4$	18.22	1	18.22	47898.7	< 0.0001
$X_1X_2$	0.1625	1	0.1625	427.3	< 0.0001
$X_1X_3$	12.73	1	12.73	33481.5	< 0.0001
$X_1X_4$	0.2044	1	0.2044	537.37	< 0.0001
$X_2X_3$	33.68	1	33.68	88555.9	< 0.0001
$X_2X_4$	1.67	1	1.67	4383.16	< 0.0001
$X_3X_4$	13.58	1	13.58	35702.7	< 0.0001
$X_1^2$	2.15	1	2.15	5660.1	< 0.0001
$X_2^2$	3.43	1	3.43	9005.13	< 0.0001
$X_3^2$	17.64	1	17.64	46388.8	< 0.0001
$X_4^2$	6.18	1	6.18	16243.9	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.003	5	0.0006	5.5	0.0619
Hata	0.0004	4	0.0001		
Genel	154.36	23			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_2$ ) =0.9999; Tahminsel  $R^2$  ( $Y_2$ ) =0.9997

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C.3.** KE'de bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}C$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_3$ )	438.01	14	31.29	3793.2	< 0.0001
$X_1$	0.7004	1	0.7004	84.91	< 0.0001
$X_2$	21.24	1	21.24	2575.12	< 0.0001
$X_3$	22.58	1	22.58	2737.13	< 0.0001
$X_4$	150.33	1	150.33	18226.5	< 0.0001
$X_1X_2$	0.9218	1	0.9218	111.76	< 0.0001
$X_1X_3$	0.3293	1	0.3293	39.93	0.0001
$X_1X_4$	0.5799	1	0.5799	70.31	< 0.0001
$X_2X_3$	0.0003	1	0.0003	0.0333	0.8593
$X_2X_4$	0.3843	1	0.3843	46.59	< 0.0001
$X_3X_4$	45.07	1	45.07	5464.06	< 0.0001
$X_1^2$	4.14	1	4.14	502.11	< 0.0001
$X_2^2$	7.03	1	7.03	852.14	< 0.0001
$X_3^2$	18.9	1	18.9	2291.46	< 0.0001
$X_4^2$	61.47	1	61.47	7452.57	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0641	5	0.0128	5.04	0.0711
Hata	0.0102	4	0.0025		
Genel	438.09	23			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_3$ ) = 0.9996; Predicted  $R^2$  ( $Y_3$ ) = 0.9978

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C.4.** KE’de bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (saat),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı (°C),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_4$ )	42975.9	14	3069.71	37667.3	< 0.0001
$X_1$	5999.41	1	5999.41	73616.8	< 0.0001
$X_2$	6624.31	1	6624.31	81284.7	< 0.0001
$X_3$	2716.57	1	2716.57	33334.2	< 0.0001
$X_4$	566.83	1	566.83	6955.39	< 0.0001
$X_1X_2$	50.1	1	50.1	614.72	< 0.0001
$X_1X_3$	1282.91	1	1282.91	15742.2	< 0.0001
$X_1X_4$	121.55	1	121.55	1491.49	< 0.0001
$X_2X_3$	1744.51	1	1744.51	21406.3	< 0.0001
$X_2X_4$	442.12	1	442.12	5425.07	< 0.0001
$X_3X_4$	1118.14	1	1118.14	13720.3	< 0.0001
$X_1^2$	4873.57	1	4873.57	59801.9	< 0.0001
$X_2^2$	1766.46	1	1766.46	21675.6	< 0.0001
$X_3^2$	1238.49	1	1238.49	15197	< 0.0001
$X_4^2$	7863.86	1	7863.86	96494.8	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.6491	5	0.1298	6.15	0.0514
Hata	0.0844	4	0.0211		
Genel	42976.6	23			
Adjusted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9999; Predicted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9996					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C5.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_1$ )	5.84	14	0.4172	8797.71	< 0.0001
$X_1$	0.0817	1	0.0817	1722.57	< 0.0001
$X_2$	0.0424	1	0.0424	893.56	< 0.0001
$X_3$	4.05	1	4.05	85466.23	< 0.0001
$X_4$	0.1837	1	0.1837	3874.13	< 0.0001
$X_1X_2$	0.7983	1	0.7983	16833.23	< 0.0001
$X_1X_3$	0.1494	1	0.1494	3150.18	< 0.0001
$X_1X_4$	0.1254	1	0.1254	2643.93	< 0.0001
$X_2X_3$	0.0657	1	0.0657	1385.68	< 0.0001
$X_2X_4$	0.1233	1	0.1233	2600.43	< 0.0001
$X_3X_4$	2.25	1	2.25	47475.31	< 0.0001
$X_1^2$	0.0992	1	0.0992	2092.03	< 0.0001
$X_2^2$	0.1366	1	0.1366	2880.05	< 0.0001
$X_3^2$	0.1097	1	0.1097	2313.22	< 0.0001
$X_4^2$	0.0387	1	0.0387	816.53	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0003	4	0.0001	2.96	0.1592
Hata	0.0001	4	0.0000		
Genel	5.84	22			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9998; Predicted  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9985

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C6.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}C$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_2$ )	137.69	14	9.84	3662.06	< 0.0001
$X_1$	0.179	1	0.179	66.64	< 0.0001
$X_2$	0.1567	1	0.1567	58.34	< 0.0001
$X_3$	29.18	1	29.18	10865.55	< 0.0001
$X_4$	27.54	1	27.54	10254.46	< 0.0001
$X_1X_2$	0.9212	1	0.9212	343.01	< 0.0001
$X_1X_3$	0.7969	1	0.7969	296.72	< 0.0001
$X_1X_4$	0.8144	1	0.8144	303.24	< 0.0001
$X_2X_3$	18.36	1	18.36	6837.01	< 0.0001
$X_2X_4$	0.0765	1	0.0765	28.47	0.0007
$X_3X_4$	8.74	1	8.74	3253.83	< 0.0001
$X_1^2$	0.9941	1	0.9941	370.15	< 0.0001
$X_2^2$	0.4699	1	0.4699	174.96	< 0.0001
$X_3^2$	10.21	1	10.21	3802.07	< 0.0001
$X_4^2$	0.5676	1	0.5676	211.35	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0181	4	0.0045	5.27	0.0682
Hata	0.0034	4	0.0009		
Genel	137.72	22			
Adjusted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9996; Predicted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9982					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C7.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{CUPRAC}$  ( $Y_3$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Ekstraksiyon süresi (dakika),  $X_2$ : Ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}C$ ),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_3$ )	190.15	14	13.58	500.53	< 0.0001
$X_1$	0.6619	1	0.6619	24.39	0.0011
$X_2$	7.14	1	7.14	263.13	< 0.0001
$X_3$	1.64	1	1.64	60.56	< 0.0001
$X_4$	13.79	1	13.79	508.14	< 0.0001
$X_1X_2$	12.27	1	12.27	452.3	< 0.0001
$X_1X_3$	16.27	1	16.27	599.77	< 0.0001
$X_1X_4$	5.41	1	5.41	199.55	< 0.0001
$X_2X_3$	10.9	1	10.9	401.87	< 0.0001
$X_2X_4$	29.6	1	29.6	1091.02	< 0.0001
$X_3X_4$	17.89	1	17.89	659.22	< 0.0001
$X_1^2$	41.13	1	41.13	1515.64	< 0.0001
$X_2^2$	14.23	1	14.23	524.38	< 0.0001
$X_3^2$	43.05	1	43.05	1586.6	< 0.0001
$X_4^2$	17	1	17	626.35	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.1835	4	0.0459	5.46	0.0645
Hata	0.0336	4	0.0084		
Genel	190.36	22			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_3$ ) =0.9969; Predicted  $R^2$  ( $Y_3$ ) =0.9818

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C8.** UDE’de bağımsız değişkenlerinin TBM (Y<sub>4</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Ekstraksiyon süresi (dakika), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model (Y <sub>4</sub> )	18585.8	14	1327.56	5208.43	< 0.0001
X <sub>1</sub>	257.31	1	257.31	1009.51	< 0.0001
X <sub>2</sub>	24.54	1	24.54	96.27	< 0.0001
X <sub>3</sub>	5441.89	1	5441.89	21350.24	< 0.0001
X <sub>4</sub>	684.58	1	684.58	2685.83	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	672.48	1	672.48	2638.34	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	268.67	1	268.67	1054.09	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	496.97	1	496.97	1949.75	< 0.0001
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	293.16	1	293.16	1150.17	< 0.0001
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	37.85	1	37.85	148.49	< 0.0001
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	150.94	1	150.94	592.17	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	2121.52	1	2121.52	8323.4	< 0.0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	220.39	1	220.39	864.68	< 0.0001
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	448.02	1	448.02	1757.71	< 0.0001
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	597.11	1	597.11	2342.67	< 0.0001
Uyum eksikliği	1.66	4	0.4149	4.37	0.091
Hata	0.3796	4	0.0949		
Genel	18587.9	22			
Adjusted R <sup>2</sup> (Y <sub>4</sub> ) =0.9997; Predicted R <sup>2</sup> (Y <sub>4</sub> ) =0.9978					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C9.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_1$ )	24.94	14	1.78	99.82	< 0.0001
$X_1$	2.41	1	2.41	135.26	< 0.0001
$X_2$	0.2236	1	0.2236	12.53	0.0041
$X_3$	8.69	1	8.69	486.78	< 0.0001
$X_4$	0.3747	1	0.3747	21.00	0.0006
$X_1X_2$	0.4296	1	0.4296	24.08	0.0004
$X_1X_3$	2.77	1	2.77	154.99	< 0.0001
$X_1X_4$	0.5971	1	0.5971	33.46	< 0.0001
$X_2X_3$	0.5009	1	0.5009	28.07	0.0002
$X_2X_4$	0.0198	1	0.0198	1.11	0.3134
$X_3X_4$	0.3162	1	0.3162	17.72	0.0012
$X_1^2$	1.79	1	1.79	100.12	< 0.0001
$X_2^2$	6.10	1	6.10	341.67	< 0.0001
$X_3^2$	1.02	1	1.02	57.28	< 0.0001
$X_4^2$	6.74	1	6.74	377.77	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.1937	8	0.0242	4.76	0.0745
Hata	0.0204	4	0.0051		
Genel	25.15	26			

Adjusted  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9816; Predicted  $R^2$  ( $Y_1$ ) =0.9436

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C10.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin  $TAK_{DPPH}$  ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_2$ )	84.96	14	6.07	221.04	< 0.0001
$X_1$	10.58	1	10.58	385.34	< 0.0001
$X_2$	0.4219	1	0.4219	15.37	0.0020
$X_3$	5.99	1	5.99	218.09	< 0.0001
$X_4$	41.87	1	41.87	1525.18	< 0.0001
$X_1X_2$	0.9817	1	0.9817	35.76	< 0.0001
$X_1X_3$	11.03	1	11.03	401.85	< 0.0001
$X_1X_4$	0.8849	1	0.8849	32.23	0.0001
$X_2X_3$	0.4925	1	0.4925	17.94	0.0012
$X_2X_4$	4.71	1	4.71	171.67	< 0.0001
$X_3X_4$	0.5554	1	0.5554	20.23	0.0007
$X_1^2$	0.0378	1	0.0378	1.38	0.2633
$X_2^2$	0.0595	1	0.0595	2.17	0.1668
$X_3^2$	16.58	1	16.58	603.86	< 0.0001
$X_4^2$	1.73	1	1.73	62.92	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.3008	8	0.0376	5.24	0.0635
Hata	0.0287	4	0.0072		
Genel	85.29	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9916; Predicted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9699					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C11.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin TAK<sub>CUPRAC</sub> (Y<sub>3</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Vakum değeri (mmHg), X<sub>2</sub>: Ekstraksiyon süresi (dk), X<sub>3</sub>: Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol), X<sub>4</sub>: örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model (Y <sub>3</sub> )	3013.02	14	215.22	280.41	< 0.0001
X <sub>1</sub>	235.24	1	235.24	306.49	< 0.0001
X <sub>2</sub>	5.80	1	5.80	7.56	0.0176
X <sub>3</sub>	182.65	1	182.65	237.97	< 0.0001
X <sub>4</sub>	47.19	1	47.19	61.48	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.1933	1	0.1933	0.2518	0.6249
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	130.25	1	130.25	169.71	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	7.53	1	7.53	9.82	0.0086
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	11.19	1	11.19	14.58	0.0024
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	41.75	1	41.75	54.39	< 0.0001
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	529.90	1	529.90	690.42	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	243.01	1	243.01	316.62	< 0.0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	569.29	1	569.29	741.73	< 0.0001
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	937.44	1	937.44	1221.40	< 0.0001
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	387.01	1	387.01	504.23	< 0.0001
Uyum eksikliği	8.39	8	1.05	5.11	0.0662
Hata	0.8211	4	0.2053		
Genel	3022.23	26			
Adjusted R <sup>2</sup> (Y <sub>3</sub> ) =0.9934; Predicted R <sup>2</sup> (Y <sub>3</sub> ) =0.9789					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C12.** VMDE’de bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Vakum değeri (mmHg),  $X_2$ : Ekstraksiyon süresi (dk),  $X_3$ : Ekstraksiyonda kullanılan etanol yüzdesi (% etanol),  $X_4$ : örnek/ekstraksiyon solventi oranı (g katı örnek/mL solvent))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_4$ )	60216.32	14	4301.17	3959.40	< 0.0001
$X_1$	3536.02	1	3536.02	3255.05	< 0.0001
$X_2$	1783.63	1	1783.63	1641.90	< 0.0001
$X_3$	5051.34	1	5051.34	4649.97	< 0.0001
$X_4$	4213.04	1	4213.04	3878.27	< 0.0001
$X_1X_2$	53.78	1	53.78	49.51	< 0.0001
$X_1X_3$	22257.17	1	22257.17	20488.64	< 0.0001
$X_1X_4$	15410.62	1	15410.62	14186.11	< 0.0001
$X_2X_3$	2853.74	1	2853.74	2626.98	< 0.0001
$X_2X_4$	548.09	1	548.09	504.54	< 0.0001
$X_3X_4$	4350.20	1	4350.20	4004.54	< 0.0001
$X_1^2$	64.40	1	64.40	59.29	< 0.0001
$X_2^2$	1696.63	1	1696.63	1561.82	< 0.0001
$X_3^2$	2.46	1	2.46	2.27	0.1581
$X_4^2$	436.78	1	436.78	402.07	< 0.0001
Uyum eksikliği	11.78	8	1.47	4.68	0.0765
Hata	1.26	4	0.3147		
Genel	60229.36	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9995; Predicted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9985					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C13.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin enkapsülasyon verimi ( $Y_1$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_1$ )	139.30	14	9.95	4296.33	< 0.0001
$X_1$	11.90	1	11.90	5136.69	< 0.0001
$X_2$	30.52	1	30.52	13179.31	< 0.0001
$X_3$	0.3766	1	0.3766	162.62	< 0.0001
$X_4$	20.38	1	20.38	8798.90	< 0.0001
$X_1X_2$	30.01	1	30.01	12958.03	< 0.0001
$X_1X_3$	16.99	1	16.99	7336.69	< 0.0001
$X_1X_4$	12.94	1	12.94	5586.91	< 0.0001
$X_2X_3$	0.9930	1	0.9930	428.77	< 0.0001
$X_2X_4$	7.27	1	7.27	3140.62	< 0.0001
$X_3X_4$	2.71	1	2.71	1170.51	< 0.0001
$X_1^2$	2.06	1	2.06	888.74	< 0.0001
$X_2^2$	0.1974	1	0.1974	85.24	< 0.0001
$X_3^2$	0.6989	1	0.6989	301.78	< 0.0001
$X_4^2$	8.94	1	8.94	3861.69	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0249	8	0.0031	4.32	0.0869
Hata	0.0029	4	0.0007		
Genel	139.33	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_1$ ) =0.9996; Predicted $R^2$ ( $Y_1$ ) =0.9987					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C14.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin TFM ( $Y_2$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_2$ )	0.9234	14	0.0660	19.87	< 0.0001
$X_1$	3.294E-10	1	3.294E-10	9.925E-08	0.9998
$X_2$	0.0001	1	0.0001	0.0187	0.8934
$X_3$	0.0056	1	0.0056	1.68	0.2199
$X_4$	0.1543	1	0.1543	46.48	< 0.0001
$X_1X_2$	0.0626	1	0.0626	18.85	0.0010
$X_1X_3$	0.1055	1	0.1055	31.78	0.0001
$X_1X_4$	0.0002	1	0.0002	0.0557	0.8174
$X_2X_3$	0.0023	1	0.0023	0.6963	0.4203
$X_2X_4$	0.0613	1	0.0613	18.47	0.0010
$X_3X_4$	0.0100	1	0.0100	3.01	0.1082
$X_1^2$	0.1530	1	0.1530	46.10	< 0.0001
$X_2^2$	0.0830	1	0.0830	25.01	0.0003
$X_3^2$	0.3349	1	0.3349	100.90	< 0.0001
$X_4^2$	0.1363	1	0.1363	41.07	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0356	8	0.0045	4.24	0.0898
Hata	0.0042	4	0.0011		
Genel	0.9632	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9104; Predicted $R^2$ ( $Y_2$ ) =0.9587					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C15.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin TAK<sub>CUPRAC</sub> (Y<sub>3</sub>) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları (X<sub>1</sub>: Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80), X<sub>2</sub>: Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan); X<sub>3</sub>: Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan); X<sub>4</sub>: Ultrason uygulanma süresi (saniye))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model (Y <sub>3</sub> )	167.17	14	11.94	1115.29	< 0.0001
X <sub>1</sub>	21.80	1	21.80	2036.15	< 0.0001
X <sub>2</sub>	5.21	1	5.21	486.36	< 0.0001
X <sub>3</sub>	3.00	1	3.00	280.01	< 0.0001
X <sub>4</sub>	9.40	1	9.40	877.97	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.0928	1	0.0928	8.67	0.0123
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	13.85	1	13.85	1293.94	< 0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	22.72	1	22.72	2121.79	< 0.0001
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.4246	1	0.4246	39.66	< 0.0001
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	15.14	1	15.14	1414.31	< 0.0001
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	16.85	1	16.85	1574.13	< 0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	18.96	1	18.96	1771.08	< 0.0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	9.76	1	9.76	912.10	< 0.0001
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	2.53	1	2.53	236.60	< 0.0001
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	3.63	1	3.63	339.34	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.1135	8	0.0142	3.79	0.1069
Hata	0.0150	4	0.0037		
Genel	167.29	26			
Adjusted R <sup>2</sup> (Y <sub>3</sub> ) =0.9983; Predicted R <sup>2</sup> (Y <sub>3</sub> ) =0.9949					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C16.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin renk analizinde ölçülen b değeri ( $Y_4$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_4$ )	59.39	14	4.24	1557.41	< 0.0001
$X_1$	0.2882	1	0.2882	105.80	< 0.0001
$X_2$	18.22	1	18.22	6689.17	< 0.0001
$X_3$	0.8640	1	0.8640	317.19	< 0.0001
$X_4$	8.52	1	8.52	3126.79	< 0.0001
$X_1X_2$	0.3729	1	0.3729	136.89	< 0.0001
$X_1X_3$	1.07	1	1.07	391.99	< 0.0001
$X_1X_4$	4.12	1	4.12	1512.80	< 0.0001
$X_2X_3$	0.0210	1	0.0210	7.72	0.0167
$X_2X_4$	0.7805	1	0.7805	286.53	< 0.0001
$X_3X_4$	0.4467	1	0.4467	163.97	< 0.0001
$X_1^2$	12.34	1	12.34	4529.60	< 0.0001
$X_2^2$	5.45	1	5.45	2001.57	< 0.0001
$X_3^2$	2.13	1	2.13	781.21	< 0.0001
$X_4^2$	0.9958	1	0.9958	365.54	< 0.0001
Uyum eksikliği	0.0273	8	0.0034	2.53	0.1934
Hata	0.0054	4	0.0014		
Genel	59.43	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9988; Predicted $R^2$ ( $Y_4$ ) =0.9964					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**Çizelge C17.** Niyozom yöntemi ile yapılan enkapsülasyonda bağımsız değişkenlerinin TBM ( $Y_5$ ) üzerindeki etkilerine ait ANOVA testi sonuçları ( $X_1$ : Sürfektanların molar oranları (Span 60: Tween 80),  $X_2$ : Ekstrakt miktarı (mg ekstrakt/ 100 mg sürfektan);  $X_3$ : Kolesterol miktarı (mg kolesterol/100 mg sürfektan);  $X_4$ : Ultrason uygulanma süresi (saniye))

Varyans kaynağı	KT	SD	KO	F-değeri	p-değeri
Model ( $Y_5$ )	6478.32	14	462.74	3056.37	< 0.0001
$X_1$	801.56	1	801.56	5294.30	< 0.0001
$X_2$	908.26	1	908.26	5999.06	< 0.0001
$X_3$	54.08	1	54.08	357.20	< 0.0001
$X_4$	1324.54	1	1324.54	8748.61	< 0.0001
$X_1X_2$	1087.15	1	1087.15	7180.61	< 0.0001
$X_1X_3$	687.85	1	687.85	4543.27	< 0.0001
$X_1X_4$	390.07	1	390.07	2576.43	< 0.0001
$X_2X_3$	4.30	1	4.30	28.40	0.0002
$X_2X_4$	188.90	1	188.90	1247.71	< 0.0001
$X_3X_4$	251.59	1	251.59	1661.74	< 0.0001
$X_1^2$	144.70	1	144.70	955.74	< 0.0001
$X_2^2$	3.29	1	3.29	21.74	0.0005
$X_3^2$	34.29	1	34.29	226.52	< 0.0001
$X_4^2$	683.14	1	683.14	4512.11	< 0.0001
Uyum eksikliği	1.67	8	0.2087	5.66	0.0559
Hata	0.1475	4	0.0369		
Genel	6480.13	26			
Adjusted $R^2$ ( $Y_5$ ) =0.9994; Predicted $R^2$ ( $Y_5$ ) =0.9980					

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması

**EK D- KE, UDE ve VMDE Yöntemleri İçin Optimum Koşullarda Elde Edilen Ekstraktların Kuyucuk Difüzyon Metodu ile Bulunan Antimikrobiyal Etkilerinin Sonuçları**



(a)

(b)

**Şekil D1.** (a) KE ve UDE, (b) VMDE yöntemlerinin optimum koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstraktların seyreltme uygulanmamış hallerinde kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak *Salmonella enteridis* subsp. *enterica* serovar Enteritidis'e karşı oluşan zonlar



**Şekil D2.** VMDE yöntemin optimum koşullarında elde edilen betalaince zengin ekstraktların seyreltme uygulanmamış hallerinde kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak *E. coli* O157:H7 için oluşan zonlar

**EK E- Farklı Konsantrasyonlarda Katkı Maddesi Eklenen ve Hiçbir Ekleme Yapılmayan Yoğurt Örnekleri**



(a)



(b)



(c)

**Şekil E.** Farklı konsantrasyonlarda (a) ekstrakt eklenen, (b) niyozomal kapsül eklenen ve (c) hiçbir ekleme yapılmayan kontrol yoğurtu örnekleri

### **EK F- Tezden Türetilmiş Yayınlar**

Akdeniz Oktay, B., Turabi Yolaçaner, E., & Aytaç, S. A. (2024). Ultrasound-assisted extraction of betalain-rich bioactive compounds of prickly pear fruit: An optimization study. *Food Bioscience*, 61, 104734 (SCI).

## EK G- Tezden Türetilmiş Bildiriler

- B.Akdeniz Oktay, C. A. Oluk, E. Turabi Yolaçaner, & S. A. Aytaç, (2024). 6. Geleneksel Gıdalar sempozyumu, Toros Üniversitesi, Mersin, 7-9 Kasım 2024, Kaktüs Meyvesi (*Opuntia ficus-indica* L.) Ekstraktı İçeren Geleneksel Yoğurtta Fonksiyonel Özelliklerin İncelenmesi, Sözlü sunum
- B.Akdeniz Oktay, E. Turabi Yolaçaner, & S. A. Aytaç, (2024). 6. Geleneksel Gıdalar sempozyumu, Toros Üniversitesi, Mersin, 7-9 Kasım 2024, Betalainler: fonksiyonel özellikleri ve kullanım alanları, Poster sunumu
- B.Akdeniz Oktay, E. Turabi Yolaçaner (2024). XV International Agriculture Symposium "Agrosym 2024", Bosna-Hersek, 10-13 Ekim 2024, Comparison of the extraction methods for betalain-rich bioactives from cactus pear (*Opuntia Ficus-indica* L.) Peel, Sözlü sunum
- B.Akdeniz Oktay, E. Turabi Yolaçaner (2024). International Food Innovation and Sustainability Congress (IFIS2024), 16-18 Mayıs 2024, Optimization of the vacuum microwave-assisted extraction conditions for betaxanthin-rich bioactives from cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.), Sözlü sunum, sf:80