

TC
İİTÖNÜ İNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PORTAKAL KABUĞU YAĞI İLAVESİNİN RAF İNE
ZEYTİNYAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ VE DUYUSAL
ÖZELLİKLERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

DİDEM BURCU YAZLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

MALATYA

2012

Tezin Başlığı Portakal Kabuğı Yağırlavesinin Rafine Zeytinyağının Oksidatif Stabilitesi ve Duyusal Özelliklerine Etkisinin Belirlenmesi

Tezi Hazırlayan: Didem Burcu YAZLAK

Sınav Tarihi: 11.01.2012

Yukarıda adıgeçen tez jürimizce değerlendirilerek Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak Kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet Alparslan

ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë

Doç. Dr. İhsan Karabulut (Danışman)

ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë

Yrd. Doç. Dr. Gökhan Durmaz

ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë ë

İzmir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onay

Prof. Dr. Asım KÜNKÜL

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **óPortakal Kabuğu Yağé ıavesinin Rafine Zeytinyağéın Oksidatif Stabilitesi ve Duyusal Özelliklerine Etkisinin Belirlenmesiô** baálıéklé bu çalımanéın bilimsel ahlak ve geleneklere aykăé dülecek bir yardına baıvurmaksééın taraféından yazéddééıné ve yararlandééın bütün kaynaklaréın, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluítuğunu belirtir, bunu onurumla dođrularéın.

Didem Burcu YAZLAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PORTAKAL KABUĞU YAĞI İLAVESİNİN RAFİNE ZEYTİNYAĞININ
OKSİDATİF STABİLİTESİ VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ

Didem Burcu YAZLAK

İstanbul Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Bölümü

55 + xv sayfa

2011

Danışman: Doç. Dr. İhsan KARABULUT

Soğuk pres portakal kabuğu yağı (SPPKY), dondurularak kurutulan portakal kabuğunun kendisi (DKPK) ve DKPK'ından elde edilen hegzan (HE) ile aseton ekstraktları (AE) kullanılarak portakal kabuğunun antioksidan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda çeşitli kromatografik ve spektrofotometrik teknikler kullanılmış ve duyusal değerlendirme yapılmıştır.

Çeşitli oranlarda SPPKY rafine zeytinyağına (RZ) ilave edilerek duyusal değerlendirme yapılmış ve en uygun konsantrasyon belirlenmiştir. DKPK, HE ve AE'den de SPPKY ile aynı oranda RZ'ye ilave edilerek örneklerde DPPH, ABTS yöntemleri ile antioksidan kapasite, toplam fenolik ve toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir. RZ alumina dolgu kolondan geçirilerek trigliseritler (RZ-TG) elde edilmiştir. Antioksidan içeren örnekler RZ ile RZ-TG'lerine ilave edildiğinde oluşan oksidatif durum hızlandırılmış oksidasyon koşullarında (60°C'de 24 gün) farklı günlerde alınan örneklerde peroksit ve p-anisidin sayıları ile izlenmiştir. Ayrıca ransimat cihazı kullanılarak ekstraktların indüksiyon periyodu üzerine etkileri 130°C'de saptanmıştır.

Duyusal değerlendirmede %0,5 oranında SPPKY ilavesi en yüksek beğeniyi kazanmıştır. Ekstraktların ilave edilmesine bağlı olarak RZ ve RZ-TG örneklerinde SPPKY, DKPK veya çözücü ekstraktlarının DPPH ve ABTS sonuçları oldukça farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Diğerlerine kıyasla SPPKY en zayıf antioksidan gücüne sahiptir. Antioksidan yapılar olarak kabul edilen toplam karotenoid ve fenolik miktarları

en yüksek RZ ve RZ-TG'lerine ilave edilen AE'nda saptanmıştır. Ancak yağ örneklerinde toplam karotenoidlerin antioksidatif etkilerinin düşük olduğu görölmüştür. RZ-TG örneklerinde HE ile AE'nin ve RZ örneklerinde de HE'nin DPPH antiradikal aktivitesi diğerklerine kıyasla yüksek bulunmuştur. Örneklerin indüksiyon periyotları dikkate alındığında RZ-TG'lerine AE ilavesi en yüksek korumayı sağlarken (1,16 saat), DKPK içeren RZ en uzun indüksiyon periyoduna sahip (2,73 saat) bulunmuştur.

Hızlandırılmış oksidasyon denemesi sonuçlarına göre RZ'na ilave edilen hegzan ve aseton ekstraktları oksidasyonun başlangıç dönemlerinde kontrole (RZ) kıyasla peroksit oluşumunu daha güçlü engellemiştir. Ancak, ileri oksidasyon sürelerinde ekstraktların etkilerinin azaldığı gözlenmiştir. Oksidasyon düzeyleri RZ-TG ağışından irdelendiğinde sağlaşılmış RZ-TG'nin hızlı bir şekilde okside olduğu (12. günde peroksit sayısı $305,63 \pm 0.89$ meq/kg) gözlenmiş ve AE ilavesinin oksidasyon sürelerinin tamamında peroksit sayısını en düşük düzeyde tuttuğu belirlenmiştir. AE ilave edilen RZ-TG için benzer sonuç oksidasyon günlerinin tamamında p-anisidin sayılarında da saptanırken, HE'nin da bir miktar antioksidan etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Saptanan sonuçlar dikkate alındığında portakal kabuğuna ait antioksidan yapılar balta uçucu yağ ve bitkisel yağlar olmak üzere pek çok lipid içeren gıda formülasyonlarında antioksidan olarak kullanılabilir durumdadır.

ANAHTAR KELİMELELER: Portakal kabuğu, ekstrakt, antioksidan aktivite, zeytinyağı oksidasyon

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECT OF ORANGE PEEL OIL ADDITION ON OXIDATIVE STABILITY AND SENSORIAL PROPERTIES OF REFINED OLIVE OIL

Didem Burcu YAZLAK

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

55 + xv sayfa

2011

Supervisor: Assoc.Prof. Dr. İhsan KARABULUT

It was aimed to determine the antioxidant effect of orange peel by using cold pressed orange peel oil (CPOPO), powdered freeze-dried orange peel (FDOP), hexane (HE) and acetone (AE) extracts of FDOP. In this context various chromatographic and spectrophotometric techniques were used and sensorial assessment was performed.

CPOPO was added to refined olive oil (ROO) at various concentrations in order to select the best concentration by sensory analysis. FDOP, HE and AE were added to ROO at same concentrations with CPOPO and the samples were evaluated afterwards for their antioxidant capacity by DPPH and ABTS methods, total phenolics and total carotenoids. ROO triacylglycerols (TAGs) was obtained by alumina column chromatography. The samples containing antioxidant structures of orange peel were added to ROO and ROO-TAG and the oxidation status was followed by peroxide and p-anisidine values of the samples oxidized at accelerated oxidation conditions (60°C during 24 day). Separately, induction periods of the samples were determined by rancimat apparatus at 130°C.

Based on the sensory evaluation, addition of the CPOPO at the ratio of 0.5% was selected for following experiments. Depending on the addition methods such as direct addition of CPOP and FDOP or addition of solvent extracts of FDOP, considerably different DPPH and ABTS values were observed ($P < 0.05$) in TAGs and ROO. Compared to others, CPOP has the poorest antioxidant powers. The highest amount of

total carotenoids and phenolics, which are accepted as antioxidant constituents, were observed in acetone extract (AE) added to ROO and TAGs. However, a weak antioxidative effect of total carotenoid contents in oil system was observed. DPPH antiradical activity of hegzan and acetone extracts in TAG system and HE in ROO were higher than that of other extracts. When ransimat IP values were taken into account, addition of AE to refined olive oil TAGs provided best protection (1.16 h) at analysis conditions, in contrary, ROO containing FDOP has the longest IP value (2.73 h).

Compared to the control (ROO), addition of HE and AE to ROO prevented the formation of the peroxides at initial stages of the oxidation during accelerated oxidation. However, this effect decreased at prolonged oxidation days. When the oxidation levels of ROO-TAG were taken into account, ROO-TAG oxidized rapidly (peroxide value reached to 305.63 ± 0.89 meq/kg at twelfth day) and the lowest peroxide values were observed in ROO containing AE at all of oxidation times. The similar results were observed for p-anisidin values in ROO-TAG containing AE. In addition, HE has also a small amount of antioxidant power in ROO-TAG.

When the results were taken into account, it can be concluded that the antioxidant structures from orange peel can be used as antioxidant in essential oils, vegetable oils and the lipid containing foods.

KEYWORDS: Orange peel oil, extract, antioxidant activity, olive oil, oxidation

TELEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemedi beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. İhsan KARABULUT'a;

Tezin deneysel aşamalarında bana büyük yardımlar olan Yrd. Doç. Dr. Gökhan DURMAZ'a, Yrd. Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT'a, Arş Grv. Tuğçe BİLLENLER'e ve değerli arkadaşım Arş Grv. Kübra İLLİKOĞLU'na;

Ayrıca çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen sevgili babam Hüseyin YAZLAK'a, annem Mebure YAZLAK'a, kardeşim Seçil Aheste YAZLAK'a;

Bu çalışmayı 2010/113 proje numarası ile maddi olarak destekleyen ve olanak sağlayan İÖnÜ Üniversitesi Bilimsel Araştışmalar Birimi'ne

Telekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
ONUR SÖZÜ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TELEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
1 GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Zeytinyağı	4
2.1.1. Zeytinyağın oksidatif stabilitesi	5
2.2. Esansiyel Yağlar	5
2.3. Turunçgillerin Kabuğu	6
2.3.1. Turunçgillerin kabuk yapısı	6
2.3.2. Turunçgil kabuk yağı	7
2.4. Oksidasyon	8
2.4.1. Serbest radikaller	8
2.4.2. Oksidasyon mekanizması	9
2.5. Antioksidanlar	10
2.5.1. Lipitlerde oksidatif bozulma tepkimelerinin önlenmesi	10
2.6. Gıda Sanayinde Kullanılan Antioksidanlar	11
2.6.1. Yapay antioksidanlar	11
2.6.2. Gıda kaynaklı doğal antioksidanlar	11
2.7. Portakal Kabuğu ve Portakal Kabuk Yağının Antioksidan Etkisi	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17

3.1.	Kullanılan Kimyasallar	17
3.2.	Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar	17
3.3.	Materyal	17
3.4.	Yöntem	17
3.4.1.	Portakal kabuklarının dondurularak kurutulması	20
3.4.2.	Portakal kabuğundan çözücü ekstraksiyonu	20
3.4.3.	Rafine Zeytinyağından trigliseritlerin elde edilmesi	20
3.4.3.1.	Rafine Zeytinyağının aktif karbon ile muamelesi	20
3.4.3.2.	Alüminyum oksitin aktifleştirilmesi	21
3.4.3.3.	Kolon kromatografisi	21
3.4.4.	Örneklerin hazırlanması	21
3.4.5.	Analiz metodları	22
3.4.5.1.	Hızlandırılmış koşullarda oksidasyon	22
3.4.5.1.1	Peroksit sayım	22
3.4.5.1.2	P-anisidin tayini	22
3.4.5.2.	Duyusal Test	23
3.4.5.3.	Yağ asidi bileşiminin belirlenmesi	24
3.4.5.4.	Uçucu aromatik bileşenlerin belirlenmesi	24
3.4.5.5.	Ransimat analizleri	25
3.4.5.6.	Toplam fenolik tayini	25
3.4.5.7.	Toplam karotenoid analizi	25
3.4.5.8.	DPPH testi	26
3.4.5.9.	ABTS testi	26
3.4.5.10.	İstatistiksel Analiz	27
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	28
4.1.	Yağ Asidi Bileşimi	28

4.2.	GC-MS ile Soğuk Pres Portakal Kabuğu Yağının Aromatik Bileşenleri	28
4.3.	Oksidatif Stabilité Testleri	29
4.4.	Ransimat Testi	33
4.5.	Bileşim Analizleri	34
4.5.1.	Toplam fenolik madde miktarı	34
4.5.2.	Toplam karatenoid miktarı	33
4.6.	Antioksidan Kapasite Testleri	36
4.6.1.	DPPH testi	36
4.6.2.	ABTS testi	37
5.	TARTILMA	39
6.	KAYNAKLAR	45
7.	EKLER	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

RZ	Rafine Zeytinyağı
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
TBHQ	Tersiyer Bütildidrokinon
OS	Oksidatif Stabilite
RZ-TG	Rafine Zeytinyağı Trigliseritleri
SPPKY	Soğuk Pres Portakal Kabuk Yağı
HE	Hegzan Ekstraktı
AE	Aseton Ekstraktı
DKPK	Dondurarak Kurutulmuş Portakal Kabuğu
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
DNA	Deoksiribonükleik Asit
R-OO*	Peroksi
R-O*	Alkoksi
R*	Alkil
Fe	Demir
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
C ₁₁ H ₁₆ O ₂	Bütillenmiş Hidroksianisol
PG	Propil Gallat
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
C	Karbon
UV	Ultra Viole
Nm	Nanometre
¹ O ₂	Tekli Oksijen
ROO-	Peroksil Radikali

O ₂	Süperoksit Anyonu
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
Se	Selenyum
Cu	Bakır
Zn	Çinko
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
DPPH	1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl
Mg	Miligram
ml	Mililitre
UV-VIS	Ultra-Violet/Visible
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometresi
GC-FID	Gaz Kromatografi-Alev İyonlaşma Dedektörü
mm-Hg	Milimetre Cıva
Cm	Santimetre
°C	Santigrat Derece
G	Gram
P	Para
HCl	Hidroklorik Asit
Dk	Dakika
FID	Alev İyonlaşma Dedektörü
M	Metre
mm	Milimetre
N	Normal
PS	Peroksit Sayısı
EI	Electron Impact
NIST	National Institute Of Standards And Technology
RI	Retention Index
AOCS	American Oil Chemists' Society
KI	Potasyum İyonu

A.İ.	Anonim İirketi
<i>p</i> – AS	Para-Anisidin
ark.	Arkadařlarė
µL	Mikrolitre
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
SPSS	Statistical Package For The Social Sciences
SFA	Doymul yağ asidi
MUFA	Tekli doymamđ yağ asidi
PUFA	Çoklu doymamđ yağ asidi
Meq	Milliequivalent
Kg	Kilogram
GAE	Gallik asit eldeşeri
ABTS	2,2-Azinobis (3-Ethyl-Benzothiazoline-6-Sulfonic Acid

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Zeytinyağın bileşimi	5
Çizelge 2.2.	Turunçgil kabuk yağlarındaki balıca bileşikleri	7
Çizelge 4.1.	Rafine zeytinyağ ve rafine zeytinyağ trigliseritlerinin yağ asidi bileşimi	28
Çizelge 4.2.	Soğuk presleme ile elde edilmiş portakal kabuğu yağın uçucu bileşenleri	29
Çizelge 4.3.	Çelitle portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ'nin oksidasyonu süresince peroksit (meq/kg) sayışına etkisi	31
Çizelge 4.4.	Çelitle portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ oksidasyonu süresince p-anisidin sayışına etkisi	31
Çizelge 4.5.	Çelitle portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ-TG'lerinin oksidasyonu süresince peroksit (meq/kg) sayışına etkisi	33
Çizelge 4.6.	Çelitle portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ-TG'derinin oksidasyonu süresince p-anisidin sayışına etkisi	33
Çizelge 4.7.	Portakal kabuğu ekstraktlarının RZ-TG'lerine ve RZ'ye % 0,5 oranında ilavesinin indüksiyon periyodu üzerine etkileri	34
Çizelge 4.8.	Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik içeriği	35
Çizelge 4.9.	Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının •-karoten cinsinden ifade edilen toplam karotenoid içerikleri	36
Çizelge 4.10.	Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının DPPH radikal süpürme güçleri	37
Çizelge 4.11.	Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının ABTS radikal süpürme güçleri ...	38
Çizelge 5.1.	Örneklerin indüksiyon periyotları ile antioksidan unsurlar arasındaki korelasyonlar	43

İEKİLLER DİZİNİ

İekil 3.1. Tez kapsamında izlenilen yöntemin İematik gösterimië ë ë ë ë ë ë .. 19

1.GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine göre [1] zeytinyağı sadece zeytin ağacı *Olea europaea* L. meyvelerinden elde edilen yağlardır. Çözücü kullanılarak ekstrakte edilen veya reesterifikasyon işlemi ile doğal trigliserid yapış değiştirilmiş yağlar ve diğer yağlarla karışmış bu tanının dâhilidir. Zeytinyağı Natürel zeytinyağı Rafine zeytinyağı (RZ), Riviera zeytinyağı Çeşnili zeytinyağı olmak üzere dört ana gruba ayrılır. RZ, ham zeytinyağının doğal trigliserid yapışında deşilikliye yol açmayan metotlarla rafine edilmeleri sonucu elde edilen ve serbest yağ asitliki oleik asit cinsinden her 100 gramda 0,3 gramdan fazla olmayan yağdır [1].

Yüksek asitli veya doğrudan yemeye uygun olmayan natürel zeytinyağları ve ham zeytinyağları (%3,3ün üzerinde serbest yağ asidi içeren) doğal trigliserid yapışında deşilikliye yol açmayan fiziksel veya kimyasal rafinasyona tabi tutulmak suretiyle RZye (en çok % 0,3 serbest yağ asidi içeren) dönüştürülmektedir [2].

Yağ bünyesindeki doymuş veya doymamış yağ asitleri; su, oksijen ağı metal iyonları ve ışığın tek tek veya birlikte etkileri ile oksiasitlere dönüştür. Doymamış yağ asitlerini oksiasitlere dönüştüren reaksiyonlar su, hidrojen peroksit ve oksijenin eliliğinde olurken, doymamış yağ asitleri sadece oksijenin etkisi ile oksiasitlere dönüştürmektedir. Ootoksidasyon reaksiyonlarında, çok fazla ara ürün meydana gelir. Olun bu ara ürünler yağın tat ve kokusunu kötü yönde etkiler, bu reaksiyonu önemli kandan da budur. Çünkü yağda olun olumsuz tat ve koku yağın kalitesini bozmakta ve ekonomik zarara yol açmaktadır [3].

Yemeklik katı ve sıvı yağların kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir seri kimyasal reaksiyon, yağ oksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Oksidasyon olayı hidrolitik ve oksidatif (otooksidasyon) olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Hidrolitik oksidasyon, daha çok nispeten yüksek sıcaklığa sahip ve sulu ortamlarda gliserit moleküllerinin gliserol ve yağ asitlerine hidrolizi ile olmaktadır. Ootoksidasyon ise yağların bileşiminde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksijenle yükseltgenmesi ile aldehit, keton, hidroksiasit, alkol ve küçük moleküllü yağ asitlerinin oluşumuyla sonuçlanan bir seri olaylar zinciridir [4].

Oksidatif kararlacak bitkisel yağ kullanıcıları ve üreticileri için önemli bir kalite kontrol parametresidir. Oksidasyon ile olun bileşikler, yağların lezzetini, aromasını

besin değerini ve tüm kalitesini olumsuz etkilemektedir. Bunun yanında, baz oksidasyon ürünleri potansiyel toksik özelliği taşırlar [5].

Yağlar ve yağ içerikli ürünler eltli parçalanma reaksiyonlar ile çok kısa sürede bozulabilirler. Bu reaksiyonlardan en önemlisi lipit oksidasyonudur [6]. Yağ oksidasyonu bulundukları gdalarn değerini dlrdğ gibi, insan vücudunda gerçekleşen lipit oksidasyonu kalp damar hastalklarna kadar birçok anormal duruma neden olabilir. Antioksidanların eklenmesi yağların oksidasyonunu geciktirmede etkilidir. BHA (Btilenmi hidrokslanisol), BHT (Btilenmi hidroksitoluen), TBHQ (Tersiyer bütilhidrokinon) gibi sentetik antioksidanların kullann gdalarn raf ömrünü arttırebilir. Doğal antioksidanlardan daha ucuz ve etkili olduklar için gda endüstrisinde geniş ölçüde kullanılırlar. Buna karlı bu katkıdarn güvenilirlikleri sorgulanmaktadır. BHAn hayvan deneklerinde kanser yape olabildiği rapor edilmiştir. Bu koşullarda daha güvenilir olan doğal antioksidanların kullanmesastr [7].

Olea europaea L.n meyvesinden elde edilen preslenmiş zeytinyağ oksidasyona karlı diğer yağlardan daha dirençlidir. Çünkü bu yağlar fenolik bileşenleri içerir [8].

Antioksidatif birçok madde doğal kaynaklarda bulunmaktadır. Örneğin Sheaber ve Neeman [9] zeytinden elde edilen ekstraktlarda doğal antioksidan aratırmlar ve gallik asit ve öjenol gibi antioksidanların varlığını saptamlard. Kikuzaki ve Nakatani [10] keklik otu yapraklarında elde ettikleri ekstraktlarda be antioksidatif bileen bulmulard. Karanfilde gallik asit ve öjenol majör antioksidan olarak saptanmtı [11].

Son ylarda doğal kaynaklardan antioksidan elde etme çalışmaları yayęın olarak yürütülmektedir. Doğal kaynaklardan elde edilen biberiye reçinesi gibi ekstraktların biftek domuz eti ve tavuk parçasında yağ oksidasyonunu önlediği grlmltr. Yerfstğ ve soya yağlarnda yer fstğ kabuğı metanol ekstraktn antioksidan etkisi aratırm ve güçlü etkiler saptanmtı [7]. Oksidatif stabilite (OS) veya yağların dayanıklı testi resmi bir yöntem olarak yer almasa da, son ylarda bütün yemeklik yağlarda raf ömrü andan dikkat çeken bir fizikokimyasal kalite parametresi olarak önem taşınmaktadır. Zeytinyağlarnda ve diğer rafine yemeklik yağlarda baharatlarn veya onların özütlerinin kullanmnn oksidatif stabilite üzerine etkileri konusunda

elıtlı alımlar bulunmaktadır. Bunlar arasında natürel zeytinyağına kekik, biberiye ve defne ilavesi içeren ve gurme yağlarė olarak tanımlanan alımlar oldukça dikkat çekici bulunmaktadır [12].

Bir bağka alımda Çelıtlı otların Çelıtlı ekstraktlarının rafine palm olein yağındaki antioksidan etkileri hēzlandırılmıő oksidasyon koğullarında araştırılmıő ve katıdđē yağın oksidatif stabilitelerini önemli ölçüde geliőtirdikleri belirlenmiştir [13, 14].

Polifenol bakımından zengin olan zeytin ağacıyaprakēekstraktının, ayiekēi yağē zeytinyağı ve palmiye yağında yapılan kēzartmalarda oksidatif stabiliteye olan etkileri araştırılmıőtē. Toplam fenol içeriği, tokoferol bileğimi, oksidatif stabilitesi ve antioksidan aktivitesi incelenerek, ekstraktın yağlar için oksidatif stabiliteyi arttıracē özellik taşıdıēı saptanılmıőtē [15].

Ülkemizde turunil suyu üretiminin yan ürünü olarak turunil kabuk yağē da üretilmektedir. Ekonomik değeri son derece yüksek olan bu ürün elde edilme yöntemlerine göre endüstride geniş bir kullanım alanē bulmaktadır. Turunil yağlarē terpenik hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, aldehytler, oksijenlenmiş bileğikler ve diğer bileğikleri içeren kompleks bir karēındē [16]. Portakal yağının uçucu olmayan kēsmından Permethoxylated flavonlar, dehidrokabietik asit ve linoleil monoglisericid izole edilmiş, bunların tümünün ıda buladılarına ve fitopatojenik türlere karēı anti fungal etki sergiledikleri görülmüştür. İzole edilen hexa- ve heptametoksi flavonların *Geotrichum candidum*ēa karēı önemli fungisidal etki sergiledikleri ve buna ek olarak bu bileğenlerin antioksidan aktivite gösterdikleri saptanılmıőtē. Ayrıca bu bileğikler çok yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlardan biri olan tert-butyl-4-hydroxyanisol düzeyinde antioksidan aktivite göstermiştir, geniş alanlarda kullanılan doğal bir antioksidan olan tokoferol de izole edilmiştir [17].

Bu alımanın amacı RZ ve RZ trigliseritlerine (RZ-TG) eklenen soğuk pres portakal kabuğu yağının (SPPKY), heksan ekstraktının (HE), aseton ekstraktının (AE) ve RZ ile RZ-TGēlerine eklenen dondurularak kurutulmuş portakal kabuğu (DKPK) OS ve duyuusal özelliklere etkisinin belirlenmesidir. Bu amaçla RZ ve RZden kolon kromatografisi ile izole edilen RZ-TG kullanılmıőtē.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Zeytinyağı

Kimyasal olarak gıdalardaki yağ; 3 değerlikli bir alkol olan gliserinin 3 yağ asidi ile esterleşmesi sonucu oluşan trigliserittir. Yemeklik sıvı yağlar olarak zeytinyağı, mısırözü yağı, yerfıstığı yağı, ayçiçeği yağı, soya yağı ve pamuk tohumu yağı gibi bitkisel yağlar kullanılır [18]. Bitkisel yağlar; insan beslenmesinde karbonhidratlar ve proteinlerle birlikte temel besin maddelerinden birisidir [19].

Zeytinyağları zeytin ağacı (*Olea europaea sativa* Hoffm. et Link) meyvesinden, doğal özelliklerini deşiltirmeyecek bir sıcaklıkta sadece mekanik veya fiziksel işlemler (presleme, santrifüjleme ve perkolsayon yöntemleri) uygulanarak elde edilen, berrak, yeşilden sarıya deşilabilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda olan doğal halinde gıda olarak tüketilebilen yağlardır [2].

Zeytinyağında: serbest yağ asitlerinin neden olduğu asitlik %1'den az ise zeytinyağı ekstra sızma, %1-3 ise sıvı, %3'ten yüksek ise rafine olarak etiketlenir. Virgin zeytinyağları rafine edilmedikçe otoksidasyona karşı yüksek stabilite gösteren fenolik bileşenler bir dereceye kadar korunur [20].

Yemeklik zeytinyağları elde edilişlerine ve uygulanan işlemlere göre; doğal zeytinyağı, rafine zeytinyağı, doğal ve RZ'nin karışımından oluşan riviera tip zeytinyağı olarak 3 gruba ayrılır [18].

Çizelge 2.1. Zeytinyağının bileşimi [18].

1. RZ-TG'der (%95'den fazla)	
Doymul yağ asitleri	%8-20 (ortalama %11,5)
Tekli doymamış yağ asitleri	%53-83 (ortalama %75)
Çoklu doymamış yağ asitleri	%5-15 (ortalama %9,5)
2. Gliserid olmayan fraksiyonlar (%5'den daha az oranda)	
Triterpen alkoller	Özellikle squalen
Steroller	En bolta •-sitosterol
Antioksidanlar	Tokoferoller
Tad ve koku maddeleri	Polifenoller (özellikle flavanoidler)

2.1.1. Zeytinyağının oksidatif stabilitesi

Rafine edilmeden tüketilebilen zeytinyağ, genellikle rafinasyonun çeşitli aşamalarında diğer bitkisel yağlardan ayrılan fenolik bileşenleri içerir. Rafine edilmeyen zeytinyağında toplam tokoferolün %95'e varan kısmında Ü-tokoferol hakimdir. Hem fenoller hem de tokoferoller yağların stabilitesine dikkate değer katkı sağlar [21].

Yağ asidi bileşimi yanında oldukça etkili antioksidan bileşikler içeren illem görmemiş zeytinyağ, diğer bitkisel yağlara göre daha uzun raf ömrüne sahiptir. Zeytinyağının güçlü oksidatif stabilitesi kendine özgü triaçilgliserol gruplarına ve polar fenolik antioksidanların varlığına bağlanmaktadır [22].

2.2. Esansiyel Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerden su veya su buharı distilasyonu ile elde edilen, normal koşullarda sıvı bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağsız karışımlardır [22].

Bitki esansiyel yağları çeşitli bileşenlerin kompleks karışımları, mono ve sesquiterpenler, alkoller, esterler, aldehitler, ketonları içerir [23].

Açıkta bırakıldıklarında, oda sıcaklığında bile buharlaıabildiklerinden "uçucu yağ", eter gibi uçtuklarından "eterik yağ"; güzel kokulu olmaları ve parfümeride kullanılmaları nedeniyle "esansiyel yağ" gibi isimlerle anılırlar [24].

Uçucu yağlar, biyolojik etkileri yönünden de farklılıklar göstermektedirler [25]. Esansiyel yağlar ve aromatik bitkiler koruyucu ve antimikrobiyal olduğundan flora ve hoı koku verici olarak yüzyıllardır kullanılırlar [23].

Kimyasal yapılarında en büyük grubu terpenler olmaktadır. Bununla birlikte az miktarda alkoller, aldehitler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşiklerde bulunmaktadır [26].

Terpenler, beı karbonlu bir hidrokarbon olan izopren birimlerinden meydana gelmektedir. İki izoprenin birbirine bağlanması ile meydana gelen terpene monoterpen denir. Dört, altı ve sekiz izoprenin birbirine bağlanması ile meydana gelen terpenlere diterpenler, triterpenler ve tetra terpenler adı verilir [27]. Sudan hafif olan uçucu yağların kılma indeksleri genellikle yüksek olup, optikçe aktif özelliktedirler. İlık ve oksijenin etkisi ile reçineleştikleri için uzun süreli saklamalarda koyu renkli ililerde ağızkapalı olarak muhafaza edilmelidirler [26].

2.3. Turunçgillerin Kabuıı

2.3.1. Turunçgillerin kabuk yapısı

Turunçgil meyve kabukları ticari kullanım için büyük potansiyeli olan meyve imalatının yan ürünlerinden biridir [28].

Turunçgil kabukları flavedo ve albedo denen iki tabakadan oluşur [29]. Flavedo kabuk tabakasının yaklaşık %30'unu oluştururken albedo tabakası ise kabuğun yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır. Portakala rengini veren flavedo tabakası portakalın türüne göre turuncudan kırmızıya değişen renk aralığına sahip olup karotenoid pigmentleri ve eterik yağlar bakımından zengindirler. Özellikle içerdiği eterik yağ bakımından ürüne acı veren flavedo tabakası diyet lifi üretiminde sıkıntı oluşturmaktadır. Kabuk kısmının alt katmanını oluşturan albedo, sahip olduğu yüksek miktardaki lif içeriği sebebiyle özellikle diyet lifi üretiminde varlığı arzu edilen bir bölgedir. Zira bu bölge pektin bakımından oldukça zengindir [30].

Turunçgil kabuklarındaki renkli kışınlarından elde edilen yağ, 100'den fazla bileşikten oluşmaktadır. Bu yağların bileşimi; terpenhidrokarbonlar, oksijenlenmiş bileşikler ve uçucu olmayan bileşikler olmak üzere 3 grupta toplanmaktadır. Oksijene olmuş bileşikler turuncgillerin tadında önemli rol oynarlar. Bu da meyvenin çelidine, işleme metoduna, olgunluğuna, çevre şartlarına, asit kaynağına ve ağaç gelişimine bağlıdır [16].

2.3.2. Turunçgil kabuk yağı

Turunçgil esansiyel yağları antimikrobiyal, antifungal, antioksidan gibi biyolojik aktivitelerinden dolayı genellikle güvenilir olarak değerlendirilir. Farklı turunçgil türlerinin yaprak ve kabuklarından elde edilen esansiyel yağların kimyasal kompozisyonunun tanımlanmasına yönelik birçok araştırma, fonksiyonel ve ekonomik önemleri nedeniyle başarıyla gerçekleştirilmiştir [28].

Turunçgil yağları terpenik hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, aldehytlar, oksijenlenmiş bileşikler ve diğer bileşikleri içeren kompleks bir karışımdır. Turunçgil yağlarındaki önemli bazı bileşikler; α -piren, β -piren, mirisin, limonin, γ -terpilen, valensen, sabinen, neral ve geraniyaldir. Ayrıca turunçgil yağlarındaki aldehytlar arasında oktanal, dekanal ve sinensal gösterilebilir. Bir monoterpen olan limonin; lime ve diğer turunçgil yağlarının ana bileşikidir. Turunçgil kabuk yağlarında terpen miktarı daha fazla iken sesquiterpen içeriği daha azdır. Oksijenlenmiş bileşikler alkoller, aldehytlar, ketonlar, asitler ve esterleri içermektedir. Bunlar karakteristik tat ve koku profilini oluşturmaktadır [16].

Çizelge 2.2. Turunçgil kabuk yağlarındaki bazı bileşenler [16].

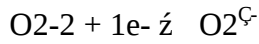
Monoterpenler	Sesquiterpenler	Asitler	Alkoller	Esterler	Aldehytlar
α -piren	Bisabolen	Asetik	Sitronelol	Geraniyl asetat	Asetaldehit
β -piren	Kadinen	Kaprik	Linalol	Linalil asetat	Sitral
γ -terpilen	Karyopilen	Kaprilik	1-nonanol	Metil-N-metil anthranilat	n-dekanal
δ -terpilen		Desiklik	Oktanol	Oktil asetat	Geraniyal
d-limonin		Formik	β -terpineol		Oktanal
Mirisin		Oktilik	Terpilen-4-ol		
p-simen					
Terpinolen					
Sabinen					
Kampfen					

2.4. Oksidasyon

2.4.1. Serbest radikaller

Bir serbest radikal son yörüngesinde e lelmemi  1, 3, 5 gibi tek sayıda elektronlara sahip herhangi bir atom veya molekül olarak tan nlan r [31]. Kimyasal bile likler iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal ba  oluşturması ile meydana gelir. Bu ba lar negatif yüklü elektronlarla sar m  t r ve bu elektronların düzeni bile i e kararl  k sa lar. Kararlı bile liklerin elektronlar  iftlenmi  halde bulunur. Eğer elektron  iftlenmemi  ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer. Bir ya da daha fazla sayıda  iftlenmemi  elektrona sahip element veya bileşiklere  serbest radikaller  denir [32].

Serbest radikallerin oluşum mekanizmalarına örnek olarak süperoksit ve hidroksi radikaline ait olanlar verilebilir. Oksijen molekülüne d ar dan bir elektron verildiğinde kararsız bir yapı olan oksijen radikali oluşur, bu radikal proton yüküne kar   1 fazla elektron i erdik ini göstermek için (-) ve  iftlenmemi  elektron varl  n  belirtmek için (  ilareti kullanılarak $O_2^{\cdot-}$ - şeklinde gösterilir ve süperoksit radikali olarak adland   r [33].



Süperoksit radikaline 1 elektron daha ilave edilirse hidroperoksit meydana gelmektedir [33].

Serbest radikaller bir veya daha fazla e lelmemi  elektrona sahip, k sa ömürlü, kararsız, molekül a  l   d   k ve çok reaktif moleküller olarak tan nlan r [34]. Ba ka moleküller ile çok kolayca elektron al veril ne giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROT) de denilmektedir [35].

BHA, BHT, TBHQ gibi sentetik antioksidanların kullan n  g dalar n raf ömrünü art r abilir. Doğal antioksidanlardan daha ucuz ve etkili olduklar i in g da endüstrisinde geniş ölçüde kullan  lar. Buna kar  n bu katk dar n güvenilirlikleri sorgulanmaktadır. BHA n n hayvan deneklerinde kanser yap    olabildiği rapor edilmiştir. Bu koşullarda daha güvenilir olan doğal antioksidanların kullan n  esastır [7].

Serbest radikal oluşumu, organizmanın savunma kapasitesini aştıkça zaman moleküler hasar ortaya çıkar. Bu hasar biriktikçe, sonuçta hücrelerin, organların ve organizmanın bizzat kendisinin ölümüne neden olacak şekilde hücresel fonksiyon kademeli olarak azalır. Oksidatif hasar bir seri hastalığın ve yaşılanmanın esas ve gelişimi ile bağlantıda bulunmuştur [32]. Serbest radikaller nötralize edilmediklerinde vücutta, hücre membranı proteinini yıkararak hücreleri öldürmek, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını yararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'ya kâdima ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak yoluyla ciddi zararlanmalara neden olabilirler [36].

2.4.2. Oksidasyon mekanizması

Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin gıdalar oksidatif bozulmalara daha çok maruz kalmaktadır. Oksidatif bozulma, gıda ürünlerinin raf ömrünü sınırlayan ve kalite kaybına neden olan önemli faktörlerden biridir. Ayrıca gıda endüstrisi açısından büyük bir öneme sahiptir. Doymamış yağların oksidasyonu sırasında hidroperoksitlere ek olarak karbonil bileşikler, aldehytler, asitler, ketonlar, epoksitler gibi toksik bileşikler oluşur. Bunların sonucu olarak da gıdaların dokusunda, renginde, kokusunda ve tadında arzu edilmeyen değişiklikler olur [37].

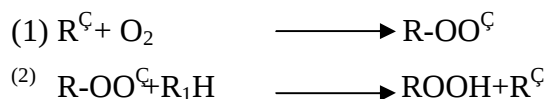
Lipitlerin yağlarda ve yağ içeren diğer gıda maddelerinde oksidasyonu, yalnızca neden oldukları tat ve koku bozuklukları yönünden önem taşımaz. Bunun yanında oksidasyon sırasında değişiklik tepkime ürünlerinin insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaları hatta karsinojenik maddelerin oluştuğunun ileri sürülmesi, bu tepkimelerin mekanizması ve oluşan ürünlerin nitelikleri üzerindeki araştırmaların yoğunlaşmasını zorunlu hale getirmiştir [38].

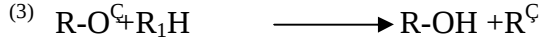
Lipit otooksidasyonunun belirtilerleri

Reaksiyonun başlaması

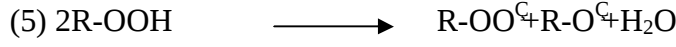
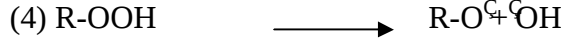
Peroksi (R-OO[•]), alkoksi(R-O[•]) veya Alkil(R[•])radikalleri oluşumu

Reaksiyonun gelişmesi;

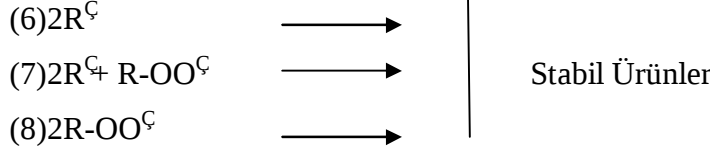




Reaksiyonun dallanması



Reaksiyonun sona ermesi



Lipitler 60°C'nin üzerinde sıcaklıklarında otooksidatif tepkimelerin seçiciliği azalarak oluşan hidroperoksitler, derhal hidroksi- ve alkoksi radikallerine parçalanırlar. Oluşan bu yeni ürünler çok aktif maddeler olmaları nedeniyle, doymuş yağ asitlerinden bile H^+ iyonu çekerek kendilerine baklarken, yeni aktif radikallerin oluşumuna neden olurlar [38].

2.5. Antioksidanlar

2.5.1. Lipitlerde oksidatif bozulma tepkimelerinin önlenmesi

Lipitlerde özellikle doymamış yağ asitlerine bakl olarak oluşan oksidatif bozulmalar, 3 temel olanaktan yararlanılarak önlenabilir;

1. Yağlar veya yağ içeren maddelerin ilenme ve saklanmaları sırasında mümkün olduğu kadar oksijenle temasları kesilmesi. Bunun mümkün olmaması durumunda ise, yağ veya gıda maddesi içerisinde bir miktar glikozoksidaz enzimi katılarak, yağ içerisinde erimiş oksijenin lipitlerle tepkimeye girmesinden önce, bu enzim tarafından kullanılması sağlanır.

2. Yağ ve yağlı gıdaları, mümkün olduğunca düşük sıcaklık derecelerinde ve ıktan korunarak depolanması

3. Antioksidan maddelerin kullanılması [38].

Oksidasyona bakl olarak gerçekleştirilen ransit tat ve kokunun oluşmasında antioksidanların rolü büyüktür. Antioksidanlar ransit ürünleri ortadan kaldırmaz ya da

oksidasyonu geri çevirmezler. Bu maddeler gđdalara ilave edilerek oksidasyonun oluřmasınę geciktirir ya da engellerler [37].

Bilindiği gibi antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonlarę önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelerdir [36]. Metabolizmanın illeyili şasasında doğal bir proses olan oksidasyon sonucunda, organizmada elitali hasarlar yaratan ve kanser, kalp v.b. hayati öneme sahip bazę kronik hastalękların bařlatęıř olan serbest radikallerin oluşumu, bunlarla mücadele eden antioksidan bileşiklere olan ilgiyi artırmęı, bu konudaki çalışmalar daha çok gđdaların ve farmasötik preparatların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesine yönelmiştir [32].

2.6. Gđda Sanayiinde Kullanılan Antioksidanlar

Doğal antioksidanların gđda sanayinde kullanęnları çok eskilere dayanmaktadır. Yapay antioksidanlar ise, son yęlarda yayęınlařmıřtır. Örneğin; ABDde fazla yağ içeren gđdaları muhafaza için, 1940de yęların sonunda antioksidanlar kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla kullanılan ilk antioksidan olan BHA ile oldukça bařarę sonuçlar alınmıştır. Antioksidanlar, oksidasyonun radikal zincir mekanizmasında stabil ara ürünlerin oluşumunu sağlayan zincir tepkimesini kırma amacıyla kullanılan maddelerdir [39].

2.6.1. Yapay antioksidanlar

BHA, beyaz mumsu paracęklar halindedir. BHT ise beyaz kristal görünümdedir. İki bileşikte yağda çözünür ancak suda çözünmezler BHAö nın gđda içinde taşınması BHTöden daha iyidir [39].

TBHQ, kęartma yaęlarınę oksidasyona karşlı korumak için en iyi antioksidan olarak bilinmektedir. Bej renkli bir toz olan TBHQ, katı ve sıvı yağlarda özünür. Tek başına veya BHA ve/veya BHT ile kombine olarak kullanın daha uygundur. TBHQ ve sitrik asit kombinasyonu, genellikle bitkisel yağlar, ıorteningler ve bir ölçüde de hayvansal yağlarda kullanılmaktadır [39].

2.6.2. Gıda kaynaklı doğal antioksidanlar

Gıdalardaki antioksidanlar, oksidasyondan kaynaklanan acılaşmaya ve diğer tat bozulmalarına geciktirme veya önleme özelliğine sahip olan maddelerdir. Tokoferoller, askorbik asit, flavonoidler ve fenolik asitler en önemli doğal antioksidan gruplarıdır [41].

Meyve ve sebzeler antioksidatif aktivite gibi farklı biyoaktif özelliklere sahip fitokimyasalları içermektedirler. Yapay antioksidanların kullanılması giderek azalmakta iken doğal kaynaklı antioksidanlara ilgi son yıllarda artmış göstermekte ve bunların bitkisel materyallerden elde edilmesi önem kazanmaktadır [41]. BHT ve BHA gibi bilinen sentetik antioksidanlar toksik etkileri nedeniyle, yerini doğal antioksidanlara bırakmaktadır [42].

Pek çok araştırmacı uzun süredir besinlerin ilenmesinde kullanılan BHT, BHA, TBHQ ve propil galatlar (PG) gibi bazı sentetik antioksidanların canlı organizmada karsinojenik ve teratojenik etki gösterdiğine dikkat çekmektedir. Tüketicilerde genelde doğal antioksidanları sentetik olanlara tercih etmektedir. Bu nedenle uzun süreden beri, besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini artırmak için katkı olarak kullanılan baharat ve doğal aromatik bitkiler giderek önem kazanmaktadır. Doğal antioksidanların kaynağı ve kullanılması ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Bu bitki ve baharatların bazıları doğal antioksidan kapasitelerinin, sentetik antioksidanlardan daha fazla olduğu kanıtlanmıştır. Bu bitkilerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma ve tekli oksijen oluşumunu engelleme gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır [37].

Vitaminler (A, C, E), fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler v.b), karotenoidler, tokoferoller ve peptitler (glutasyon, sistin) gibi bazı bileşikler doğal antioksidanları oluşturmaktadır [43].

Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapısındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir. Bu bileşikler içerisinde en fazla bulunanları flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik terpenlerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal iletlama) ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma özelliklerinden kaynaklanmaktadır [44].

Flavonoidler ve diğerk fenolik bileşikler okunlukla bitkinin yaprak, iek ve odunsu kėřnlarėda bulunmaktadış. Bu nedenle, genellikle aromatik bitkiler yaprak ve iek kėřnlarė kurutulularak drog halinde ya da ekstraksiyon, destilasyon gibi yöntemlerle elde edilen uçucu yağ ekstraktlarė ġeklinde kullanılmaktadır. Aromatik bitkilerin kimyasal bileşimi birçok etmene bağlı olarak farklılık gösterdiğinden, antioksidan etkileride değilıebilmektedir [44].

Fenolik bileşiklerin, bitkilerde aromatik aminoasit metabolizmasė sėrasėda sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler olduklarė varsayılmaktadır. Gėda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı aışından ġlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri renk oluşumu ve değilimine katılmalarė antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibasyonuna neden olmalarė değilik gėdalarda sağlık kontrol kriteri olmalarė gibi birçok açıdan önem tağınmaktadışlar. Antioksidan etki, fenol halkasėda ġOH grubu sayėı arttıkça artmakta ve aynė bileşikte ise bu etki meta-, orto-, ve para- sėrasė ile yükselmektedir. Fenolik bileşikler içinde en fazla antioksidan etkiyi gallik asit, floroglusinik asit, kafeik asit ve gentisik asit göstermektedir [38].

Flavonoidler C6-C3-C6 difenilpropan yapışındadış ve fenil gruplarė arasėdaki ul karbon köprüsü oksijenle halka oluşturmaktadır. Flavonoidler, bitkisel fenolik bileşikler içinde en önemli grubu oluştururlar ve flavan türevleridir. Yapışal olarak bel guruba ayrėlılar; antosiyanidinler, flavon ve flavonoller, flavanonlar, katelin ve lkoantosiyanidinler proantosiyanidinler [38].

Antosiyanidinler, doğal olarak genellikle antosiyanin adı verilen glikozit formunda bulunmaktadışlar. Meyve ve sebzelerin kėrmėřadan mora kadar deėilėn tipik renkleri bu glikozitlerden kaynaklanmaktadır. Balığca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin ve malvinidindir. Bunlar arasėda en yayėın bulunanė siyanidin olup, en çok tüketilen meyvelerin yaklağık %90ėnda saptanmıştır [38].

Flavon ve flavon glikozitleri hemen her bitkide bulunurlar ve açık sarı renkli bileşiklerdir [38].

Tokoferoller, en yayėın ve en fazla bilinen doğal antioksidandış. Alfa, beta gama ve delta homologlarėn bir karıřımė olarak bitki dokularėda bulunur. Antioksidan etkileri deltadan alfaya azalırken vitamin E aktivitesi artmaktadır [39].

Özellikle zeytinyağında 151-178 mg/kg arasında, depolanmış zeytinyağında ise 28-55 mg arasında bulunur. Diğer adıyla E vitamini olarak tanınır [40].

Vitamin E yağda çözünen zincir kâççe bir antioksidandır. Vitamin E terimi bir grup tokoferol ve tokotrienoller için kullanılmaktadır. Bu grup içine giren tokoferoller ve dört tokotrienol (α, β, γ, δ) antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunlardan α tokoferol doğada en bol bulunan vitamin E'dir ve yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Tokoferoller, ROTün özellikle singlet oksijen ve OH[•] radikalini etkisiz hale getiren antioksidatif bir fonksiyon taâlmaktadırlar. Vitamin E lipid peroksidasyonunu engellemekte ve diğer oksidatif reaksiyonlar sırasında meydana gelen radikallerin etkisini önlemektedir [35].

C vitamini, suda yüksek çözünürlük özelliği gösteren hem asidik hem de indirgen karakter taâlayan bir vitamindir. Bu nitelikler lakton halkasındaki karbonil grubu ile konjuge olan enediol yapıdan kaynaklanmaktadır. Vitaminin doğal formu L-izomer olup, D-izomer, L-izomerin %10 aktivitesine sahiptir [38].

Bitkiler, bazı bakteri, alg ve funguslar tarafından sentezlenen, meyve ve sebzelere sarıdan kırmızıya kadar değişen renkleri veren karotenoidler; genîl daâğılımları yapısal farklılıkları çok çeşitli etki ve fonksiyonlarıyla doğada bulunan en önemli pigment gruplarından birini oluşturmaktadır [33].

Likopen, fitoen, fitoflavin; α-karoten, β-karoten, γ-karoten ve δ-karoten siklik yapıdaki karotenoidlerdir. Likopen yağda çözünür bir karotenoid olup, β-karotenden en az iki kat daha fazla antioksidan kapasiteye sahiptir [33].

Karotenoidler arasında besleme fizyolojisi açısından en önemlisi β-karotendir. β-karoten birçok meyve ve sebzenin bileşiminde yer alır. Bazende domateste olduğu gibi bir ksantofil olan likopen ile birlikte bulunur. β-karoten organizmada A vitaminine dönüşümü için provitamin A olarak işlev yapar [38].

Karotenoidler singlet oksijen yakalayıcı ve antioksidan olarak da oldukça etkilidir. Son zamanlarda biyolojik antioksidan olarak karotenoidler birçok çalışmanın ilgi odağı olmuştur. Canlılar, serbest radikallerin potansiyel yıkıcı etkilerine karşı kendilerini korumak için çeşitli enzimatik savunma sistemlerine (süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz, glutathion peroksidaz vb.) sahiptir. Bu enzimatik savunma sistemlerinin

etkinliği; karotenoidler, fenolik bileşikler, E vitamini, C vitamini, gibi doğal antioksidan bileşikleri ve esansiyel iz minerallerin (Se, Cu, Zn) gđdalarla yeterince alđnmasđna bakđlıđđ. Özellikle meyve ve sebzeler hem yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmalarđ hem de iyi bir antioksidan karđđđnđ ve kombinasyonunu temsil etmeleri ađřđndan çok önemli doğal antioksidan kaynaklarđarasđnda sayđlmaktadıř [33].

2.7. Portakal Kabuğu ve Portakal Kabuk Yađđđn Antioksidan Etkisi

Meyve suyu endüstrisinin yan ürünü olan turunçgil kabuğu ve tohumlarđđn doğal antioksidan olarak kullanđmasđ ile değerlendirmeleri mümkündür. elđtli turunçgil kabuğu ve tohumlarđđn ya metanol ekstraksiyonu ile ya da alkalın hidrolizisi ile elde edilen ekstraktlarđ hđzlandđđmđ citronellal oksidasyon temel alđnarak test edilmiş ve genellikle, çekirdeklerin antioksidan aktivitesinin kabuklardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. HPLC tekniği ile yapđđan bu değerlendirmede, metanol ekstraktlarđđn flavonlar ve glikosile flavononlarca zengin olduğu buna karđđn hidrolize edilen ekstraktlarđ tamamen fenolik asit ve flavononlarđierdiki tespit edilmiştir [45].

C.nobilisn kabuk yađđđn kimyasal kompozisyonu belirlendiğinde, yađđn majör bileşeni limonen olarak belirlenmiştir. Bu bileşeni sđayla -terpinen, linalol ve myrcene takip etmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde toplam yađđn yaklařđk %90 monoterpenden meydana gelmektedir. İkinci büyük bileşen grubu monoterpenoidler olup sesquiterpenlerin az miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir [46].

C.nobilisn kabuk yađđđn antioksidan aktivitesi birbirini tamamlayan 4 metot ile belirlenmiştir. • karoten/linoleik asit ağartma metodunda konsantrasyon artđđyla yađđn antioksidan aktivitesinin arttđđđ saptanmđđtđ. 20 mg/mL konsantrasyonda yađđn antioksidan özelliği %96,8 olarak saptanmđđtđ ve bu etkinin antioksidan özelliği %98,1 olan pozitif kontrol BHT ve %97,7 olan -tokoferol kadar etkili olduğu grlmştr. Yađđn radikal süpürme etkisi ise 1,1-diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) yöntemi ile test edilmiştir. Yak 0,025 mg/mL konsantrasyonda herhangi bir radikal süpürücü etki göstermemiştir. Ancak, yađđn radikal süpürme etkisi 1,5 mg/mL konsantrasyonda pozitif kontroller olan BHT ve -tokoferolden yüksek bulunmştur [46].

Limonen; *C.nobilis* kabuk yađđlarđ için majör bileşendir. Birçok meyve sebze ve baharatta varlđđđ saptanmđđtđ. Turunçgil meyvelerinin esas koku bileşeni olduğu gibi gđda üreticileri tarafđnda tat-koku bileşeni olarak kullanđlmaktadıř. Ayrđca limonenin

yüksek dozunun antikanserojen aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Limonenin düşük dozu gaz giderici etki gösterdiği ve safra taşı tedavisinde kullanıldığı görülmektedir [46]. Yapılan bir çalışmada doğal zeytinyağının raf ömrü ve duyu özellikleri üzerine soğuk pres tekniği ile elde edilen esansiyel limon yağının etkisi araştırılmıştır. Doğal zeytinyağına %0,4 soğuk pres esansiyel limon yağı karıştırılmış ve 10 aylık depolama süresi içinde esansiyel yağların eklendiği yağlar izlenmiş ve kontrol örneği olan doğal zeytinyağı ile karşılaştırılmıştır. Aroma yağlarının eklendiği yağlar bu süre içinde kontrol örneğine göre daha yüksek oksidatif stabilite ve hoş tat-koku göstermiştir [47].

Turuncgil meyve kabuğu esansiyel yağları farklı alanlarda ticari kullanıma potansiyeli olan ve meyve suyu üretiminde ortaya çıkan bir yan üründür. Bu yağlar alkolsüz içecekler ya da dondurma gibi gıda ürünlerinde tat-koku ingredientleri olarak kullanılır. Bileşimlerinde yer alan maddelerin çoğunun sahip olduğu antiseptik özellik farklı amaçlarla kullanılabilirlerine olanak sağlamaktadır [48].

Portakal yağının uçucu olmayan kısmında bulunan permethoxylated flavonlar, dehidrokabietik asit ve linoleil monoglisericid izole edilmiş ve gıda bulgularıyla ilgili fitopatogenik türlere karşı anti fungal etki sergiledikleri görülmüştür. İzole edilen hexa- ve heptametoksi flavonların *Geotrichum candidum* ile karşı önemli fungisidal etki sergiledikleri ve buna ek olarak bu bileşenlerin antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca bu bileşimler çok yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlardan biri olan BHA ile gösterdiği etkiye benzer antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir [49].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasalların birçoğu Sigma firmasından temin edilmiştir. Farklı olanlar ilgili yerlerde belirtilmiştir. Çalışmada; aseton, metanol, DPPH, ABTS, n-hegzan, asetik asit, p-anisidin, izooktan, kloroform, trolox, folin reaktifi, sodyum karbonat, niasta ve aktif karbon kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar

Tez Kapsamında kullanılan cihaz ve gereçler; UV-VIS Spektrofotometre, HPLC Sistemi, GC-MS sistemi, su banyosu, vorteks karıştırıcı santrifüj, etüv, otomatik pipet seti, rotary evaporatör, terazi, dondurulmuş kurutucu, cam malzemeler (İffaf cam İle, mezür, erlen, beher, pipet)

3.3. Materyal

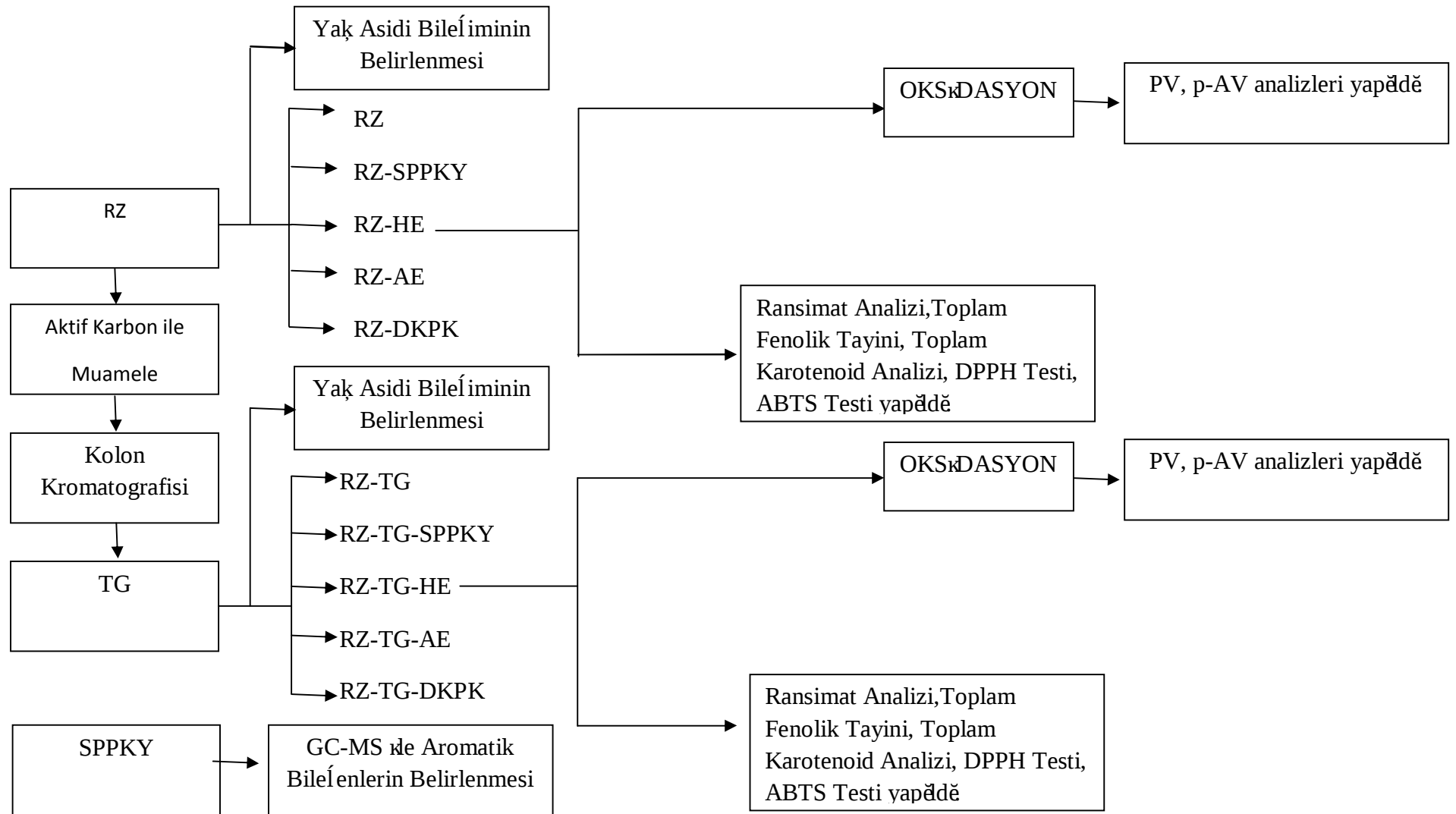
Tez kapsamında portakal kabuğu, SPPKY, RZ kullanılmıştır. Portakal kabukları Malatya ilinde kasım-aralık aylarında tüketime sunulan portakallardan elde edilmiştir. Portakal kabukları dondurularak kurutulmuş ve kullanıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Ayrıca soğuk presleme tekniği ile üretildiği bildirilen portakal kabuğu yağı (SPPKY) Froma Kimya (İstanbul) firmasından temin edilmiştir. RZ (Tarifi) bölgesel bir marketten saklanmıştır.

3.4. Yöntem

Çalışmada antioksidan özellikleri incelenecek olan SPPKY ve dondurularak kurutulan portakal kabuğundan farklı çözücülerle ekstrakte edilen ekstraktların antioksidan ve diğer özellikleri saptanmıştır. Kolon kromatografisi ile saflaştırılarak elde edilen RZ-TG'lerine ve RZ örneğine, SPPKY ve portakal kabuğunun çözücü ekstraktları ilave edilerek antioksidan etkileri belirlenmiştir. Ekstraktların eklendiği yağlardaki antioksidan kapasiteleri farklı tekniklerle saptanmıştır. SPPKY'nin uçucu bileşenleri GC-MS tekniği ile belirlenmiştir. Ekstraktların ve SPPKY'nin fenolik bileşenlerinin belirlenmesinde HPLC tekniği kullanılmıştır.

RZ ve RZ-TG'nin yağ asidi bileşimi ise GC-FID tekniği ile belirlenmiştir.

RZ ve RZ-TGöye antioksidan etkilerinin belirlenmesi amacıyla SPPKY ve ekstraktlar ilave edilmiş ve hēzlandēđmē oksidasyon kořullarēnda farklı günlerde peroksit ve p-anisidin sayđarē belirlenmiştir. Aynı amaçla örnekler ransimat cihazē kullanarak da incelenmiş ve indüksiyon periyotlarēsaptanmēttē.



Şekil 1.3. Tez kapsamında izlenen yöntemin şematik gösterimi

3.4.1. Portakal kabuklarının dondurularak kurutulması

Çalışmada kullanılacak portakal kabukları dondurularak kurutulmuş ve antioksidan özelliklerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kurutma de Ancos et al. [50] tarafından öngörüldüğü şekilde yapılmıştır. Laboratuara getirilen portakal kabukları küçük parçalar şeklinde kesilmiş, derin dondurucuda yaklaşık 6-8 saat süre ile dondurulmuştur. Dondurucudan alınan örnekler dondurarak kurutucu (freze-drier) cihazında (Armfield, England) 5 mm-Hg basınç ve -50°C kondenser sıcaklığında kurutulmuştur. Her bir kurutma işlemi 12-15 saat sürmüştür.

3.4.2. Portakal kabuğundan çözücü ekstraksiyonu

Portakal kabuğunun bileşiminde yer alan farklı polariteye sahip bileşenleri ekstrakte etmek amacıyla farklı polaritede çözücüler kullanılmıştır. Bu amaçla hegzan ve aseton çözücü olarak kullanılmıştır.

Dondurularak kurutulan toz haldeki portakal kabuğu 50 gr 250 mL'lik erlenmayere tartılmış ve üzerine 150 mL çözücü eklenmiştir. Bu karışım 24 saat su banyosunda ekstraksiyona bırakılmış, süre sonunda Whatman No:1 süzgeç kâğıdından süzülerek filtre edilmiştir. Geriye kalan katı kısımda da 2×50 mL çözücü kullanılarak aynı koşullarda ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 3 ekstrakt birleştirilmiştir. Çözücü rotary evaporatörden geçirilerek ayrılmış ve ekstraktlar elde edilmiştir.

3.4.3. Rafine Zeytinyağından trigliseritlerin elde edilmesi

RZ-TG'ü preparatif kolon tekniğine uygun olarak Karabulut ve ark.ının [51] uyguladığı yonteme göre alüminyum oksit doldurulan cam kolondan (40 cm x 2,6 mm) hegzan kullanılarak ayrılmıştır.

3.4.3.1. Rafine Zeytinyağının aktif karbon ile muamelesi

RZ'de bulunan ve özellikle karotenoid yapısında bulunan renk maddeleri RZ-TG molekülüne benzer polariteye sahip olduklarından kolon kromatografisi (çözücü olarak hegzanın kullanıldığı) ile RZ-TG'den ayıramamaktadır. Bu nedenle ayrılmalarını sağlayabilmek için kolon kromatografisi işleminden önce aktif karbonla tanınlanan koşullarda muamele edilmiştir. Kısaca, RZ'ye kütlece %10 oranında aktif karbon eklenmiş ve 60 °C de 6 saat süresince karıştırılmıştır. Elde edilen çamur kıvamındaki

kitleden yağ filtrasyonu ile ayrılmıştır. Bu aşamada filtrasyonu hızlandırmak amacıyla heksan ilave edilmiştir. Elde edilen filtrat veya çözücüsü uzaklaştırılan RZ kolon kromatografisi uygulamasında kullanılmıştır.

3.4.3.2. Alüminyum oksit ile aktifleştirilmesi

Alüminyum oksit 100°C'de ayarlanmış etüvde 16 saat ardından 220°C'de 8 saat bekletilerek aktive olmasa saklanmıştır.

3.4.3.3. Kolon kromatografisi

Karabulut ve ark.ın [51] uyguladığı yöntemle göre yaklaşık 150 g aktifleştirilmiş alüminyum oksit heksan ile bulamaç haline getirilerek alt ucuna cam yünü yerleştirilen cam kolona doldurulmuştur. Doldurulan kolon 250 mL heksan geçirilmek suretiyle iletilemiştir. Elit haciminde heksanda çözülen ve aktif karbon uygulamasından geçen RZ kolona verilmiştir. Yaklaşık 150 mL heksan ile kolon elüe edilmiş ve alt kısmından RZ-TG-heksan karışımı toplanmıştır. Ayrım esnasında iletim neden olabileceği oksidasyonu engellemek amacıyla kolon alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Elde edilen solüsyondan heksan, rotary evaporatörde 37-40°C'de vakum altında ayrılarak RZ-TG elde edilmiş ve kullanıma kadar -18°C'de saklanmıştır.

3.4.4. Örneklerin hazırlanması

Saflaştırılmış RZ-TG ve RZ'ye SPPKY, farklı çözücü ekstraktları ve dondurularak kurutulmuş toz haldeki portakal kabuğunun kendisi ilave edilmiştir. İlave edilecek miktara karar vermek amacıyla SPPKY'nin farklı oranlarda RZ'ye katıldığı örnekler kullanılarak duyuşal değerlendirme yapılmış ve en yüksek puan alan %0,5'lik oran bundan sonraki denemelerde ilave edilecek SPPKY ve ekstrakt miktarı olarak kabul edilmiştir. %0,5 oranında SPPKY veya ekstrakt içeren RZ-TG ve RZ karışımı hazırlamak amacıyla 0,325 g SPPKY veya ekstrakt RZ-TG veya RZ'ye eklenerek toplam kütle 65 g'a tamamlanmıştır.

Dondurularak kurutulmuş toz haldeki portakal kabuğunun RZ-TG ve RZ'ye ilave edilmesi amacıyla 2 g DKPK RZ-TG ve RZ ile 80 g'a tamamlanmıştır. Karışım magnet ile 24 saat süresince karıştırılmış ve süre sonunda santrifüjlenerek ayrılmıştır.

Bu İekilde elde edilen örnekler h zland     oksidasyon denemesinde, toplam fenolik madde miktarı antioksidan kapasite testleri (DPPH ve ABTS) ve ransimat analizinde kullan      .

3.4.5. Analiz metodlarë

3.4.5.1. Həzlandərilmə kolullarda oksidasyon

Toplam 5 g örnek (SPPKY/ekstrakt+RZ-TG/RZ) 15 mL hacimli İeffaf cam İİfelerde 60 °C de oksidasyona bırakılmıştır. Farklı günlerde (2, 4, 8, 12, 16 ve 24) örnekler alınarak oksidasyon düzeyleri peroksit ve p-anisidin sayılarak belirlenmiştir.

3.4.5.1.1 Peroksit sayışə tayini

AOCS official method Cd 8-53'ü [53] tanımlanmış gibi belirlenmiştir. Buna göre; hazırlanan örneklerden 1,5 g kadar numune alınıp üzerine 10 mL kloroform ilave edilerek iyice çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra 15 mL asetik asit ve 1 mL doymuş KI ilave edilmiş, erlenin kapağı kapatılıp 1 dk süresince çalkalanmış, 5 dk karanlıkta tutulmuştur. Süre sonunda 75 mL saf su ilave edilip 0,015 N Sodyum tiyosulfat ile %1'dik nişasta çözeltisi indikatörlüğünde titre edilmiştir. Peroksit değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$PS = \frac{(V_1 - V_0) \times N}{M}$$

PS: Peroksit sayışə

V_1 : Örnek için harcanan sodyum tiosülfat miktarı (mL)

$$V_0: \text{Tanık için harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (mL)}$$
$$^N : \text{Sodyum tiyosülfatın normalitesi}$$
$$M : \text{Örnek miktarı (g)}$$

3.4.5.1.2 P-anisidin tayini

AOCS official method Cd 18-90'da [53] tanımlanmış gibi belirlenmiştir. Buna göre; yaklaşık 1 g örnek 25 mL'lik ölçü balonlarına tartılmıştır. Tartılan örnekler izooktan ile çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır. Çözeltilerin absorbansları (Ab) 350 nm'de belirlenmiş, çözücü ile doldurulan diğer kuvvet kör olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan çözeltilerden 5 mL deney tüpüne alınmış, diğer deney tüpüne 5 mL izooktan koyulmuştur. Her iki tüpe de 1 mL p-anisidin çözeltisinden ilave edilip çalkalanmıştır. 10 dk bekledikten sonra birinci tüpün absorbansını 350 nm'de okunmuş, kör olarak ikinci tüp kullanılmıştır.

Buna göre yaklaşık 1 g örnek/25 mL izooktan çözeltisinin absorbansını 350 nm'de kör olarak izooktan kullanılarak belirlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan örnek solüsyonundan 5 mL alınarak p-anisidin çözeltisinden (0,25 g/100 mL asetik asit) 1 mL eklenmiş, aynı şekilde 1 mL de 5 mL izooktan çözeltisine eklenmiş (kör) ve tüpler 10 dk süresince karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 350 nm'de köre karşı absorbans okunmuştur. Sonuç aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$p-AS = \frac{25 \times (1,2A_s - A_b)}{M}$$

$p-AS$: p-Anisidin sayısı

A_s : RZ-TG çözeltisinin p-anisidin eklendikten sonraki absorbans değeri

A_b : RZ-TG çözeltisinin absorbans değeri

M : Örnek miktarı

3.4.5.2. Duyusal Test

Çalışmada yağlara ilave edilecek konsantrasyonları belirlemek amacıyla duyusal analiz olarak toplam beğeni testi yapılmıştır. Duyusal analiz 5 kişiden oluşan panelist grubu ile gerçekleştirilmiştir. Puanlamada numunelerin her bir niteliği 5 tam puan üzerinden değerlendirilmiştir.

Duyusal analizde panalistlere % 0,1; % 0,3; %0,5; %0,7; %0,9 konsantrasyonlardaki SPPKY-RZ örnekleri duyusal olarak test ettirilmiş ve beğenilerine göre en yüksek 5 ve en düşük 1 olacak şekilde puanlar vermeleri istenmiştir. Örnek duyusal analiz formu Ek 1'de verilmiştir.

3.4.5.3. Yağ asidi bileşiminin belirlenmesi

Metil esterleri, Lâhin ve ark. [52]’nin kullandığı yöneteme göre hazırlanmıştır. Buna göre; Folch ekstraksiyonu ile elde edilen lipid fraksiyonundan yaklaşık 50 mg yağ, amber renkli viallere tartılmış ve üzerine 3 mL % 6 HCl içeren metanol eklenmiştir. Vialler vortekslenmiş ve 75°C’ye ayarlanmış bir etüvde 2 saat bekletilmiştir. Etüvden çıkarılan vialler buz üzerinde bekletilerek soğutulmuş, her bir vial 2 mL hegzan eklenerek çalkalanmış ve 2000 rpm’de 5 dk santrifüjlenmiştir. Hegzan fazı bir pastör pipetiyle viallere alınarak yağ asidi bileşimini tespit etmek amacıyla kullanılmıştır.

Metil esterleri oluşturulan örneklerin yağ asidi bileşimi Agilent 7890A Gaz kromatografi sistemi, 7683B serisi oto enjektör ve alev iyonizasyonu dedektörü (FID) ile belirlenmiştir. Kromatografik ayrım için HP-88 kapillar GC kolonu (100 m×0,25×mm, 0,20 µm film kalınlığı J&W Scientific, USA) kullanılmıştır.

Analiz şartları enjektör sıcaklığı 250°C, fırın sıcaklığı programı 140°C’de 5 dk, 4°C/dk artışla 240°C ve bu sıcaklıkta 10 dk bekleyecek şekilde belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum (30 mL/dk akış hızı) kullanılmış ve 1/30 split modu seçilmiştir. Ticari yağ asidi metil esterleri karışımına standart olarak, her bir yağ asidi metil esterinin belirli zamanlarda belirlemek için kullanılmıştır. Her bir yağ asidinin % oranı o yağ asidine ait pikin kalan alanının, toplam pik alanına bölümünden elde edilmiştir.

3.4.5.4. Uçucu aromatik bileşenlerin belirlenmesi

Uçucu aroma maddelerinin belirlenmesi amacıyla DB-Wax kapiler kolon (60 m 0,25 mm inner diameter. 0,25 µm film thickness; J&W scientific (Folsom, CA, USA)) bulunan GC (Shimadzu GC-2010)-MS (Shimadzu QP-2010) sistemi kullanılmıştır. Hegzanda 1:10 oranında seyreltilen SPPKY’den 1 µL otomatik enjektör vasıtasıyla sisteme verilmiş, kolon sıcaklığı 40°C’de 2 dk ve ardından 3°C/dk hızla 245°C’ye yükselecek ve bu sıcaklıkta uygun süre çalışacak şekilde programlanmıştır. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250°C olup 1:100 split oranı kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1mL/dk akış hızında helyum kullanılmıştır. Kütle spektrometresi 70 eV’da 15-210 amu aralığında electron impact (EI)-mode’da çalıştırılmıştır. Ayrıştırılacak aroma bileşimlerinin tanımlanmasında Wiley 7 (7th edition), National Institute of Standards and Technology (NIST) kütüphaneleri ve her bir pikin alkolizasyon zamanları ile hidrokarbon standardının C10 - C26 (Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers, Augsburg, Germany)

alınma zamanları kullanılarak hesaplanan Retention Index (RI) değerleri referans alınmıştır. Sonuçlar her bir pikin toplam pik alanına % oranı şeklinde verilmiştir. Analizler üç paralelli olarak gerçekleştirilmiş ve ortalama değerler verilmiştir.

3.4.5.5. Ransimat analizleri

Ransimat analizleri Fiskobirlik A.Ş. Entegre tesisleri laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir [54]. Çalışmada Methrom 743 (Herisau, İsviçre) cihazı kullanılmıştır. Cihazın tüplerine yaklaşık 4 g yağ örneklerinden konulmuş ve hava akışı 20 litre/saat olarak ayarlanmıştır. Cihaz 130 °C'ye ayarlanmış ve bu sıcaklığa 1,7 °C/dk olarak belirlenmiştir. Karbona karışan zaman grafiğindeki ani değişimin olduğu dönüm noktası cihaz tarafından otomatik olarak belirlenmiş ve indüksiyon zamanı olarak kaydedilmiştir. Örnek bir ransimat grafiği Ek 2'de verilmiştir.

3.4.5.6. Toplam fenolik tayini

Yağlardan metanol ekstraktı hazırlama işlemi Tuberoso ve ark.ân [55] kullandığı yonteme göre yapılmıştır. Bu amaçla ekstrakt ilave edilen örneklerden (oksidasyona bırakılmamış) 0,5 g tartılarak 1 mL %80 metanol çözeltisiyle deney tüplerinde karıştırılmış ve 2 dk vortekslenmiştir. Metanol fazı 2500 rpm'de 20 dk santrifüj (Heraeus, Labofuge 200) ile ayrılmış ve bir pastör pipetiyle başka bir tüpe alınmıştır. Kalan yağın üzerine yeniden 1 mL %80'lik metanol çözeltisi eklenerek bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar birleştirilmiş, tüm örneklerde elüt hacim sağlayabilmek için 1 mL'ye metanolle tamamlanmış ve toplam fenolik madde miktarı analizinde kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı folin yöntemiyle belirlenmiştir [56]. 100 µL ekstrakt suyla 1 mL'ye tamamlanmış ve üzerine 1 mL 10 kat seyreltilmiş folin reaktifi ve 3 dk sonra 1 mL %2'lik sodyum karbonat konulmuştur. Oda sıcaklığında 2 saat bekletilen karışımların absorbansı 700 nm'de okunmuştur. Örnekler için yapılan işlemlerin aynı şekilde gallik asit için de yapılmış ve sonuçlar gallik asit eldesi olarak verilmiştir.

3.4.5.7. Toplam karotenoid analizi

Yağlarda toplam karotenoid miktarları spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bunun için yağlar hegzan içerisinde 10 kat seyreltilmiş ve UV-vis spektrofotometrede (Shimadzu 1800) absorbans değerleri çözücüye karşı 450 nm'de ölçülmüştür [57].

Standart grafik α -karotenin hegzan içindeki farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin absorbans okunarak çizilmiş ve örneklerdeki toplam karotenoid miktar α -karoten cinsinden ifade edilmiştir. Örnek α -karoten standart eğrisi Ek 3'te verilmiştir.

3.4.5.8. DPPH testi

Bu test, Espin ve ark.ân [58] önerdiği yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Buna göre; DPPH çözeltisi, etil asetatla hazırlanmış ve çözeltinin absorbans 520 nm'de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde seyreltilmiştir. Deney tüplerine 200 mg yaklaşık tartılmış ve üzerine 1850 μ L etil asetat ve 2,9 mL DPPH[•] serbest radikal çözeltisi eklenerek, 20 saniye vortekslenmiştir. Karanlıkta 30 dakikalık inkübasyon süresi sonunda örneklerin absorbans etil asetatla karıştırdı kuvars küvetlerde 520 nm'de çift ışık yollu spektrofotometrede (Shimadzu 1700) okunmuştur. Referans bileşik olarak Trolox kullanılmış ve yaklaşı antioksidan kapasiteleri Trolox cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla Trolox'un 100 mg/100 mL stok çözeltisi etil asetat içinde hazırlanmıştır. Daha sonra bu stoktan alınan 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 μ L hacimler etil asetatla 5 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltilerden alınan 100'er μ L üzerine 2,9 mL DPPH çözeltisi koyulmuştur ve aynen örneklerde olduğu gibi 40 dk sonunda spektrofotometrede ölçüm alınmıştır. Elde edilen absorbans değerlerine karıştırdı deney karıştımlarındaki Trolox miktarı grafiğe geçirilerek standart çalışma eğrisi elde edilmiştir (Ek 4). Daha sonra gerekli seyreltme faktörleri ile çarpılarak, antioksidan kapasite, gram yaklaşı g Trolox eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.4.5.9. ABTS testi

Bu test, Durmazân [59] önerdiği yöntem kullanılarak uygulanmıştır. ABTS[•] radikali; potasyum peroksodisülfat (6,6 mg) ve ABTS (30 mg)ânin 7,8 mL sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen renkli çözelti dondurularak kurutulmuş ve bu toz, metanol: kloroform (1:1) karışımı içerisinde çözülerek çalışma için gerekli ABTS solüsyonu elde edilmiştir. ABTS çözeltisinin absorbans 765 nm'de $0,700 \pm 0,020$ 'ye ayarlanmıştır. Deney tüplerine örneklerden yaklaşık 200 mg tartılarak üzerine 1750 μ L metanol: kloroform karışımı ve 2,8 mL ABTS solüsyonu eklenmiş ve vortekslenmiştir. 6 dk sonra karışımın absorbans 750 nm'de metanol: kloroform karışımına karıştırdı kuvars küvetler kullanılarak

okunmuştur. Antioksidan kapasite Trolox cinsinden ifade edilmiştir ve hesaplamalar DPPH testindeki gibi yapılmıştır [59].

3.4.5.10. İstatistiksel Analiz

Araştırma sonuçları One-Way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ile incelenmiştir. Örneklerin ortalamalarının birbirinden farklı olup olmadıkları Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Sonuçlar ($P < 0,05$) önem seviyesinde değerlendirilmiştir. Farklı grupların istatistiksel olarak önem düzeyleri a,b,c şeklinde indislerle gösterilmiştir. Tüm istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS paket programı (sürüm 16.0) kullanılmıştır.

4. ARAĞTIRMA BULGULARI

4.1. Yağ Asidi Bileğimi

Zeytinyağında en önemli yağ asidi olan oleik asit bileğiminin RZ-TGöde %71,14 RZöde ise %71,94 olduğu görölmöktür. RZ-TG ve RZönin yağ asitleri bileğimlerinin birbirlerine yakın olduğu görölmöktür.

Çizelge 4.1. Rafine zeytinyağöve rafine zeytinyağötrigliseritlerinin yağ asidi bileğimi

Yağ asitleri	Yağ asidi bileğimi (%)			
	RZ-TG		RZ	
C16:0	12,50	±0,75a	11,13	±0,09a
C16:1	0,77	±0,01a	0,80	±0,04a
C17:0	0,12	±0,02a	0,09	±0,01a
C17:1	0,20	±0,02a	0,20	±0,01a
C18:0	2,64	±0,13a	2,31	±0,03b
C18:1	71,14	±0,85a	71,94	±0,16a
C18:2	11,10	±0,26a	12,58	±0,00b
C18:3	0,64	±0,18a	0,45	±0,05a
C20:0	0,90	±0,39a	0,51	±0,04a
SFA	16,16	±1,25a	14,04	±0,15a
MUFA	72,10	±0,82a	72,93	±0,10a
PUFA	11,74	±0,43a	13,02	±0,05b

Küçük harfler aynı satırda rafine zeytinyağö ile rafine zeytinyağö trigliseritlerinin yağ asitleri değerleri arasında $P < 0,05$ düzeyinde farklılağö göstermektedir.

4.2. GC-MS öle Soğuk Pres Portakal Kabuğu Yağöen Aromatik Bileğenleri

Çizelge 4.2öde de anlağılaçağö gibi SPPKYöde 48 çelıt aroma bileğeni belirlenmiöktir. Elde edilen kromatogramda çokunluğunu terpenlerin (23 adet, toplam %90,49) oluğturduğu 48 adet bileğenin tanımlanmasö yapılmıötır. Diğer bileğenler aldehytler (12 adet, %5,67), alkoller (8 adet, %3,52), asetatlar (4 adet, %0,29) ve ketonlar (1 adet, %0,14) olarak sınıflandırılmıötır. Belirlenen bileğenler arasında terpenler grubunda yer alan I-Limonene %72,71 oranöyla balıöca bileğen olarak

belirlenirken, α -Myrcene (%7,87), α -Pinene (%2,74), Sabinene (%2,25) ve Linalool (%1,99) diğer bağıl bileşenler olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Soğuk presleme ile elde edilmiş portakal kabuğu yağına uçucu bileşenleri

Bileşik	RI	%		RI	%
α -pinene	1049	2.74 $\pm$ 0.01	(E)-2-Decenal	1623	0.03 $\pm$ 0
Nopinen	1155	0.17 $\pm$ 0	1-Nonanol	1636	0.05 $\pm$ 0
Sabinene	1169	2.25 $\pm$ 0.01	Citronellyl acetate	1638	0.03 $\pm$ 0.01
β -3-Carene	1201	1.10 $\pm$ 0	(Z)- α -Farnesene	1642	0.08 $\pm$ 0
γ -Myrcene	1216	7.87 $\pm$ 0.01	α -Humulene	1658	0.08 $\pm$ 0.01
l-Limonene	1274	72.71 $\pm$ 0.11	α -Citral	1663	0.54 $\pm$ 0.01
γ -Phellandrene	1278	1.20 $\pm$ 0.04	Terpineol	1679	0.80 $\pm$ 0.01
(E)- α -Ocimene	1293	0.04 $\pm$ 0.01	Dodecanal	1690	0.37 $\pm$ 0.03
α -Terpinen	1306	0.09 $\pm$ 0.01	Germacrene D	1699	0.21 $\pm$ 0.01
γ -(Z)-ocimene	1310	0.23 $\pm$ 0.01	Neryl acetate	1705	0.07 $\pm$ 0
p-Cymene	1331	0.06 $\pm$ 0.01	Valencene	1709	0.41 $\pm$ 0.01
α -Terpinolen	1345	0.22 $\pm$ 0.00	Geranial	1715	0.82 $\pm$ 0.01
Octanal	1350	1.04 $\pm$ 0.01	Carvone	1725	0.14 $\pm$ 0.01
Nonanal	1459	0.29 $\pm$ 0.01	α -(E)-Farnesene	1728	0.06 $\pm$ 0.00
(E)-Limonene oxide	1516	0.11 $\pm$ 0.01	1-Decanol	1742	0.10 $\pm$ 0.02
Trans-Sabinene hydrate	1518	0.07 $\pm$ 0.01	(+)- α -Funebrene	1746	0.35 $\pm$ 0.01
Octyl acetate	1523	0.11 $\pm$ 0	Perillal	1778	0.31 $\pm$ 0.01
γ -Citronellal	1525	0.35 $\pm$ 0.01	(Z)-Geraniol	1783	0.09 $\pm$ 0.01
Decanal	1536	1.52 $\pm$ 0.03	2,4-Decadienal	1798	0.04 $\pm$ 0.00
Linalool	1559	1.99 $\pm$ 0	(Z)-Carveol	1822	0.08 $\pm$ 0.01
1-Octanol	1566	0.35 $\pm$ 0	Guaniol	1831	0.06 $\pm$ 0
γ -Elemene	1585	0.12 $\pm$ 0.01	Limonen-10-yl acetate	1848	0.08 $\pm$ 0
Undecanal	1590	0.10 $\pm$ 0	Caryophyllene oxide	1996	0.05 $\pm$ 0
Caryophyllene	1591	0.27 $\pm$ 0.01	α -Sinsenal	2237	0.26 $\pm$ 0.01

4.3. Oksidatif Stabilité Testleri

Oksidatif stabilité testlerinde RZ ve ondan elde edilen RZ-TGöye portakal kabuğuna ait ekstraktlar ilave edilerek hazırlanmış oksidasyon koşullarında oksidatif parametrelerin değişimi incelenmiştir. Farklı günlerde alınan örneklerde primer oksidasyon ürünleri peroksit sayısı ve sekonder oksidasyon ürünleri ise p-anisidin sayısı ile belirlenerek ilave edilen ekstraktların oksidasyon düzeyine etkisi belirlenmiştir.

Bölüm 3.4.4'te tanımlandığı şekilde % 0,5 konsantrasyonlarında RZ-SPPKY karışımı 60 °C de 24 gün boyunca oksidasyona bırakılmış ve oksidatif değişimlerin belirlenmesi amacıyla 2, 4, 8, 12, 16 ve 24. günlerde peroksit sayısı (Çizelge 4.3.) ve p-

anisidin sayışe (Çizelge 4.4) belirlenmiştir. RZ-SPPKY karđ ģnē (%0,5)ññ oksidasyon süresi SPPKYñin antioksidatif etkisi dikkate alñarak RZ-TGñin oksidasyon süresinden daha uzun, RZ ile aynē süre uygulamasē yapđmđ tđ.

Bölüm 3.4.4te tanñnlandđđ ģekilde % 0,5 konsantrasyonlarñda RZ-HE, RZ-AE ve RZ-DKPK karđ ģnē 60 ģC de 24 gün boyunca oksidasyona bñrakđmđ ve oksidatif değilimlerin belirlenmesi amacēyla 2, 4, 8, 12, 16 ve 24. günlerde peroksit sayışe (Çizelge 4.3) ve p-anisidin sayışe (Çizelge 4.4) belirlenmiştir. RZ-HE, RZ-AE ve RZ-DKPK karđ ģnlarē (%0,5)ññ oksidasyon süresi HE, AE ve DKPKñin antioksidatif etkisi dikkate alñarak saf trigliseridin oksidasyon süresinden daha uzun, RZ ile aynē süre uygulamasē yapđmđ tđ.

Çelitle antioksidan öğeler ile yak asitlerinden oluñan RZ-TGđeri bünyesinde içeren RZñin oksidatif dayanñnē fazla olacađñdan analizler arasñda farklđđ gözlemlenebilmesi için oksidasyon süresi uzun tutulmuğ olup (24 gün) daha sēk aralđklarla örneklemeler yapđarak analiz edilmiştir. Peroksit sayışēna ait sonuçlar Çizelge 4.3de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre RZöye ilave edilen hegzan ve aseton ekstraktlarē oksidasyonun bałlangē dönemlerinde kontrole (RZ) kēyasla peroksit oluñumunu daha güçlü engellemiştir. RZñin ileri oksidasyon sürelerinde ekstraktlarñ etkilerinin azaldđđ gözlenmiştir. DKPK ilave edilen RZde p-anisidin sayışēññ kontrole kēyasla oksidasyon sürelerinin tamamñda (24.gün hariē) daha düñük deđerlerde olduđu saptanmđ tđ.

Oksidasyon örnekler arasñdaki farklđđklar oksidasyon süresi arttđça belirginleñmiştir ($P < 0,05$). Aynē oksidasyon günlerinde örneklerin peroksit sayđarē arasñdaki farklđđklar bałlangē günlerinde istatistiksel olarak farklđđ gösterirken ($P < 0,05$), ilerleyen günlerde ekstraktlar arasñdaki farklđđklar giderek azalmđ tđ ($P > 0,05$) (16. Gün hariē). Oksidasyon denemesin son gününde (24. Gün) en düñük peroksit sayışēna RZ-SPPKY örneğinde ulađmđ tđ ($25,35 \pm 0,05$ meq/kg). RZñin kendisi 4. ve 16. Gün arasñdaki oksidasyon denemelerinde diğer örneklerden daha düñük peroksit sayışēna sahiptir (12. günde RZ-AE daha düñük).

Çizelge 4.3. Çelítli portakal kabuğu ekstraktlarėilavesinin RZ'nin oksidasyonu süresince peroksit (meq/kg) sayėřına etkisi

Oksidasyon süresi (gün)	Peroksit Sayėřė (meq/kg)				
	RZ	RZ + SPPKY	RZ + HE	RZ + AE	RZ + DKPK
2	5.42 ± 0.71aBC	6.40 ± 0.70aC	2.96 ± 0.02aA	4.68 ± 0.36aB	4.95 ± 0.00aB
4	6.45 ± 0.68aA	6.96 ± 0.69aA	6.43 ± 0.75bA	6.44 ± 0.72aA	7.17 ± 0.34bA
8	8.64 ± 0.68bA	10.19 ± 0.02bA	10.13 ± 0.01cA	9.13 ± 0.02bA	9.11 ± 1.40cA
12	13.72 ± 0.78cB	14.74 ± 0.71cB	15.25 ± 0.12dB	11.63 ± 0.76cA	14.65 ± 0.63dB
16	16.21 ± 0.96dA	17.77 ± 0.21dB	21.08 ± 0.61eC	18.88 ± 0.09dB	18.72 ± 0.10eB
24	27.73 ± 0.61eA	25.35 ± 0.05eA	27.88 ± 2.09fA	27.46 ± 1.42eA	28.40 ± 0.04fA

RZ: rafine zeytinyağė SPPKY:soğuk preslenmił portakal kabuğu yağė HE:hekzan ekstraktė AE: aseton ekstraktė DKPK: dondurularak kurutulanan portakal kabuğu. Küçük harfler yağ + portakal kabuğu yağlarė (ekstraktlarė) için farklı günlerdeki değerler için $P < 0,05$ düzeyinde farklılađđđ büyük harfler ise aynı oksidasyon günlerinde yağ + portakal kabuğu yağlarė (ekstraktlarė) arasındaki farklılađđđ $P < 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Çizelge 4.4. Çelítli portakal kabuğu ekstraktlarėilavesinin RZ oksidasyonu süresince p-anisidin sayėřına etkisi

Oksidasyon süresi (gün)	p-anisidin sayėřė				
	RZ	RZ + SPPKY	RZ + HE	RZ + AE	RZ + DKPK
2	3,25 ± 0,16aA	4,46 ± 0,13aB	4,30 ± 0,00aB	5,16 ± 0,24aC	3,43 ± 0,14aA
4	3,43 ± 0,34aA	4,54 ± 0,05aB	4,36 ± 0,03aB	5,40 ± 0,10abC	3,67 ± 0,00bA
8	3,96 ± 0,00bB	4,58 ± 0,04aC	4,48 ± 0,19aC	5,57 ± 0,00bcD	3,70 ± 0,01bA
12	4,40 ± 0,00cB	4,73 ± 0,16aC	4,76 ± 0,00bC	5,61 ± 0,01bcD	3,99 ± 0,09cA
16	4,42 ± 0,00cB	4,75 ± 0,15aC	4,90 ± 0,06bC	5,70 ± 0,09cD	4,09 ± 0,05cA
24	4,64 ± 0,10cA	5,32 ± 0,12bC	5,46 ± 0,15cC	6,23 ± 0,05dD	4,94 ± 0,10dB

Küçük harfler yağ + portakal kabuğu yağlarė (ekstraktlarė) için farklı günlerdeki değerler için $P > 0,05$ düzeyinde farklılađđđ büyük harfler ise aynı oksidasyon günlerinde yağ + portakal kabuğu yağlarė (ekstraktlarė) arasındaki farklılađđđ $P < 0,05$ düzeyinde göstermektedir. Kėsaltmalar için bakınız Çizelge 4.3.

RZönin aktif karbon, alumina kolon kromatografisi ile ayrıłmasė ile elde edilen RZ-TGđer oksidasyon kołullarında 12 gün süre ile okside edilmiłtir. Bilełiminde hiçbir antioksidan madde içermediğinden, oksidasyon dayanānė RZöye kıyasla oldukça düłük olacağė düłüncesiyle oksidasyon süresi kėsa tutulmuł ve 2, 4, 8 ve 12. günlerde örnekleme yapılarak peroksit ve p-anisidin sayđlarė belirlenmiłtir. RZ-TGđerin oksidasyonu ile peroksit ve p-anisidin sayđlarında görülen deđilimler Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6da verilmiłtir. Elde edilen deđerlere göre RZ-TG fraksiyonunun peroksit ve p-anisidin deđerleri oldukça hızlı bir íekilde yükseliđ göstermiłtir. İlk 2 gün sonunda

peroksit ve p-anisidin değerleri sırasıyla 32,33 ve 1,55 íeklinde belirlenmiítir. RZ ile kıyaslandıkında oldukça yüksek derecede oksidasyonun geręekleítiki saptanmıítır. RZönin 12 gün süre sonunda ulaítık rakamsal değerlerden daha fazla peroksit ve p-anisidin değerlerinin oluítuęu belirlenmiítir.

Bölüm 3.4.4te tanınlandık íekilde % 0,5 konsantrasyonlarında RZ-TG-SPPKY ve RZ-TG-DKPK karđınė 60 ěC de 12 gün boyunca oksidasyona bırakılmı ve oksidatif değilimlerin belirlenmesi amacıyla 2, 4, 8 ve 12. günlerde peroksit sayığ ve p-anisidin sayığ belirlenmiítir. RZ-TG-SPPKY karđınė (%0,5) için RZ-TG ile aynı süre uygulaması yapılmıítır. RZ-TG-DKPK karđınėn oksidasyon süresi RZ-TGönin oksidasyon süresi ile aynı süre uygulaması yapılmıítır.

Bölüm 3.4.4te tanınlandık íekilde % 0,5 konsantrasyonlarında RZ-TG-HE karđınė ve % 0,5 konsantrasyonlarında RZ-TG-AE karđınė 60 ěC de 24 gün boyunca oksidasyona bırakılmı ve oksidatif değilimlerin belirlenmesi amacıyla 2, 4, 8, 12, 16 ve 24. günlerde peroksit sayığ ve p-anisidin sayığ belirlenmiítir. RZ-TG-HE karđınėn (%0,5) oksidasyon süresi HE'nin antioksidatif etkisi dikkate alınarak saf trigliseridin oksidasyon süresinden daha uzun, RZ ile aynı süre uygulaması yapılmıítır. RZ-TG-AE karđınėn (%0,5) oksidasyon süresi aseton ekstraktın antioksidatif etkisi dikkate alınarak saf trigliseridin oksidasyon süresinden daha uzun, RZ ile aynı süre uygulaması yapılmıítır.

Oksidasyon düzeyleri RZ-TG ağından irdelendiğinde saflaítılmı RZ-TGönin hızlı bir íekilde okside olduğu (12. günde $305,63 \pm 0,89$ meq/kg) gözlenmi ve aseton ekstrakte ilavesinin oksidasyon sürelerinin tamamında peroksit sayıın en düük düzeyde tuttuğu belirlenmiítir. Aseton ekstrakte ilave edilen RZ-TG için benzer sonuç oksidasyon günlerinin tamamında p-anisidin sayıında da saptanık, hegzan ekstraktın da bir miktar antioksidan etkiye sahip olduğu gözlenmiítir.

Çizelge 4.5. Çelıtlı portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ-TG'lerinin oksidasyonu süresince peroksit (meq/kg) sayışına etkisi

Oksidasyon süresi (gün)	RZ-TG	RZ-TG-SPKKY	RZ-TG-HE	RZ-TG-AE	RZ-TG-DKPK
2	32,33 ± 0,46aD	28,80 ± 1,13aC	3,95 ± 0,03aB	1,98 ± 0,01aA	3,45 ± 0,69aB
4	80,78 ± 0,31bD	71,13 ± 1,23bC	4,94 ± 0,01aB	2,97 ± 0,72abA	5,92 ± 0,03bB
8	219,00 ± 1,41cD	199,16 ± 1,18cC	6,09 ± 0,03bA	5,07 ± 0,01bA	40,66 ± 1,31cB
12	305,63 ± 0,89dA	291,62 ± 0,54dC	9,17 ± 0,01cA	8,08 ± 1,45cA	260,59 ± 0,83dB
16			66,76 ± 1,08dB	13,77 ± 1,31dA	
24			186,84 ± 0,28eB	152,25 ± 1,40eA	

RZ-TG: rafine zeytinyağı trigliseritleri, Diğer kışaltmalar için bakınız Çizelge 4.3. Küçük harfler yağ + portakal kabuğu yağları (ekstraktları) için farklı günlerdeki değerler için $P > 0,05$ düzeyinde farklılaştık büyük harfler ise aynı oksidasyon günlerinde yağ + portakal kabuğu yağları (ekstraktları) arasındaki farklılaştık $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Çizelge 4.6. Çelıtlı portakal kabuğu ekstraktları ilavesinin RZ-TG'lerinin oksidasyonu süresince p-anisidin sayışına etkisi

Oksidasyon süresi (gün)	RZ-TG	RZ-TG-SPPKY	RZ-TG-HE	RZ-TG-AE	RZ-TG-DKPK
2	1,55 ± 0,21aA	2,83 ± 0,11aB	1,68 ± 0,00aA	2,35 ± 0,08aAB	1,32 ± 0,84aA
4	6,38 ± 0,04bB	6,98 ± 0,26bB	1,86 ± 0,23aA	2,54 ± 0,04abA	1,71 ± 0,72aA
8	18,31 ± 1,48cB	17,29 ± 0,41cB	2,06 ± 0,00aA	2,71 ± 0,10abA	3,39 ± 0,43aA
12	28,80 ± 0,16dC	31,26 ± 0,51dC	2,95 ± 0,07aA	2,99 ± 0,17bcA	20,15 ± 2,14bB
16			6,93 ± 1,75bB	3,25 ± 0,07cA	22,64 ± 0,00cC
24			20,17 ± 2,32cB	15,02 ± 0,38dA	53,79 ± 0,00dC

Kışaltmalar için bakınız Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.5. Küçük harfler yağ + portakal kabuğu yağları (ekstraktları) için farklı günlerdeki değerler için $P > 0,05$ düzeyinde farklılaştık büyük harfler ise aynı oksidasyon günlerinde yağ + portakal kabuğu yağları (ekstraktları) arasındaki farklılaştık $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

4.4. Ransimat Testi

Bu testten elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Oksidasyon koşullarında RZ ve RZ-SPPKY örneklerinin indüksiyon periyodu birbirine yakın çıkmıştır.

RZ-TG'lerine HE, AE ve DKPK eklenmesi indüksiyon periyodunu uzatmıştır. RZ-TG'nin indüksiyon zamanı 0,17 saat iken RZ-TG-HE, RZ-TG-AE ve RZ-TG-DKPK örneklerinin indüksiyon periyodu RZ-TG'ye göre yüksek olup sırası ile 0,77; 1,16; 0,86 saattir.

RZ'na SPPKY, HE, AE ve DKPK eklenmiş ve en y'ksek ind'ksiyon periyodu değerini 2,73 saat ile RZ-DKPK 'rneğinde ulaşımdır.

Çizelge 4.7. Portakal kabuğu ekstraktların RZ-TG'lerine ve RZ'ye % 0,5 oranında ilavesinin ind'ksiyon periyodu 'zerine etkileri

'rnek adı	ind'ksiyon
	Periyodu (Saat)
RZ-TG	0,17
RZ-TG-SPPKY	0,17
RZ-TG-HE	0,77
RZ-TG-AE	1,16
RZ-TG-DKPK	0,86
RZ	2,57
RZ+SPPKY	2,52
RZ-HE	2,68
RZ-AE	2,57
RZ-DKPK	2,73

Kısaltmalar ıin bakınız izelge 4.3,5.

4.5. Bileşim Analizleri

4.5.1. Toplam fenolik madde miktarı

Ekstrakt ilave edilen 'rneklerden toplam fenolik maddelerin ekstraksiyonunda 'oz'c' olarak metanol+su karşını (80 mL metanol+20 mL saf su) kullanımdır. 'rneklerin toplam fenolik madde i'eriği izelge 4.8'de verilmiştir.

Diğer 'rnelere kıyasla RZ-AE nin 48,7 µg GAE/g yağ değeri ile en y'ksek fenolik madde i'eriğine sahip olduğu belirlenmiştir. RZ-AE'yi takiben en y'ksek fenolik madde i'eriğine sahip 'rnekler sırası ile; RZ-DKPK (43,0 µg GAE/g yağ), RZ+SPPKY (38,5 µg GAE/g yağ), RZ-HE (38,2 µg GAE/g yağ), RZ (37,3 µg GAE/g yağ), RZ-TG-AE (16,8 µg GAE/g yağ) RZ-TG-HE (7,5 µg GAE/g yağ), RZ-TG-DKPK

(3,9 µg GAE/g yağ), RZ-TG-SPPKY (3,6 µg GAE/g yağ) ve en düşük fenolik madde içeriği ile RZ-TG (2,7 µg GAE/g yağ)dir.

Çizelge 4.8. Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik içeriği

Örnek	Toplam Fenolik (µg GAE/g yağ)
RZ-TG	2,7 ± 0,01a
RZ-TG-SPPKY	3,6 ± 0,43ab
RZ-TG-HE	7,5 ± 0,02b
RZ-TG-AE	16,8 ± 1,28c
RZ-TG-DKPK	3,9 ± 0,01ab
RZ	37,3 ± 0,43d
RZ+SPPKY	38,5 ± 2,13d
RZ-HE	38,2 ± 1,70d
RZ-AE	48,7 ± 4,68f
RZ-DKPK	43,0 ± 0,0e

Kısaltmalar için bakınız Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5. Rakamların yanındaki harfler RZ -RZ-TG'leri/RZö ye portakal kabuğu yağ/ekstrakt eklenmesinin toplam fenolik değerleri üzerine $P > 0,05$ düzeyinde etkisini göstermektedir.

4.5.2. Toplam karotenoid miktarı

Toplam karotenoidlerin spektrofotometrik belirlenmesinde; örnekler hegzanda seyreltilerek karotenoidler ekstrakte edilmiş ve 450 nm dalga boyunda absorbanslar okunarak, saf β -karoten kullanarak elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla µg β -karoten /g yağ cinsinden sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; RZ-AE toplam karotenoid içeriği 52,3 µg β -karoten /g yağ değeri ile en yüksek bulunurken, bunu takiben RZ-TG-AE (51,7 µg β -karoten /g yağ), RZ-TG-HE(34,2 µg β -karoten /g yağ), RZ-HE (32,12 µg β -karoten /g yağ), RZ-DKPK(14,4 µg β -karoten /g yağ), RZ-TG -DKPK (2,3 µg β -karoten /g yağ), RZ-SPPKY (1,5 µg β -karoten /g yağ), RZ (0,9 µg β -karoten /g yağ), RZ-TG-SPPKY (0,4 µg β -karoten /g yağ) ve RZ-TG'nin en düşük toplam karotenoid içeriğine (0 µg β -karoten /g yağ) sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının β -karoten cinsinden ifade edilen toplam karotenoid içerikleri

Örnek	Toplam Karotenoid (μg /g yağ)
RZ-TG	0 A
RZ-TG $\pm$ SPPKY	$0,4 \pm 0,04\text{b}$
RZ-TG $\pm$ HE	$34,2 \pm 0,03\text{h}$
RZ-TG $\pm$ AE	$51,7 \pm 0,21\text{j}$
RZ-TG $\pm$ DKPK	$2,3 \pm 0,03\text{e}$
RZ	$0,9 \pm 0,07\text{c}$
RZ $\pm$ SPPKY	$1,5 \pm 0,12\text{d}$
RZ $\pm$ HE	$32,1 \pm 0,24\text{g}$
RZ $\pm$ AE	$52,3 \pm 0,03\text{k}$
RZ $\pm$ DKPK	$14,4 \pm 0,21\text{f}$

Kısaltmalar için bakınız Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5. Rakamların yanındaki harfler farklı portakal kabuğu/yağ ekstraktlarının toplam karotenoid içerikleri arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde etkisini aynı sütunda göstermektedir.

4.6. Antioksidan Kapasite Testleri

İncelenen örneklerin antioksidan kapasitelerini ifade etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan DPPH ve ABTS metotları kullanılmış ve sonuçlar ayrı başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

4.6.1. DPPH testi

Örneklerin antioksidan kapasitelerinin DPPH reaktifi ile belirlenmesinde sonuçlar trolox eğdeğeri olarak hesaplanmış (μg trolox/g yağ) ve sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Örnekler içinde en yüksek antioksidan aktiviteye 248,4 μg trolox/g yağ değeri ile RZ-HE örneğinin sahip olduğu belirlenmiştir. Bunu takiben sırasıyla en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan örnekler; RZ-AE (240,5 μg trolox/g yağ), RZ-DKPK (232,5 μg trolox/g yağ), RZ-SPPKY (229,9 μg trolox/g yağ), RZ (227,2 μg trolox/g yağ), RZ-TG-HE (19,6 μg trolox/g yağ), RZ-TG-AE (19,6 μg trolox/g yağ), RZ-TG-

DKPK (3,7 µg trolox/g yağ)dir. RZ-TG ve RZ-TG-SPPKYnin antioksidan aktivitesi 0 µg trolox/g yağ olarak belirlenmiştir.

DPPH indirgeme güçlerinin yüksekliği bakımından RZ-HEden sonra; RZ-AE, RZ-DKPK, RZ-SPPKY, RZ, RZ-TG-HE, RZ-TG-AE, RZ-TG-DKPKdir. En düşük değere sahip örnekler 0 µg trolox/g yağ değerleri ile RZ-TG ve RZ-TG-SPPKYdır.

Çizelge 4.10. Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının DPPH radikal süpürme güçleri

Örnek	DPPH (µg trolox/g yağ)
RZ-RZ-TG	0
RZ-TG-SPPKY	0
RZ-TG-HE	19,6 ± 5,61b
RZ-TG-AE	19,6 ± 1,87b
RZ-TG-DKPK	3,7 ± 1,87a
RZ	227,2 ± 3,74c
RZ+SPPKY	229,9 ± 3,74c
RZ-HE	248,4 ± 3,74e
RZ-AE	240,5 ± 0,00d
RZ-DKPK	232,5 ± 3,74c

Kısaltmalar için bakınız Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5. Küçük harfler RZ RZ-TGleri/RZöye portakal kabuğu yağ ekstraktı eklenmesinin DPPH değerleri üzerine $P > 0,05$ düzeyinde etkisini aynı sütunda göstermektedir.

4.6.2. ABTS testi

Örneklerin antioksidan kapasitelerinin ABTS reaktifi ile belirlenmesinde sonuçlar trolox eldeğeri olarak hesaplanmıştır (µg trolox/g yağ) ve sonuçlar Çizelge 4.11de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre örnekler arasında en yüksek radikal süpürme gücüne sahip örnek 164,8 µg trolox/g yağ değeri ile RZ-AE dir. Bunu takiben sırasıyla en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan örnekler; RZ-HE (157,2µg trolox/g yağ), RZ-DKPK (151,8µg trolox/g yağ), RZ (130,2µg trolox/g yağ), RZ-SPPKY (128,8µg trolox/g yağ), RZ-TG-HE (49,3µg trolox/g yağ), RZ-TG-AE(39,0µg trolox/g yağ), RZ-

TG (8,4µg trolox/g yağ) RZ-TG-DKPK(6,8µg trolox/g yağ) ve RZ-TG-SPPKY(6,7 µg trolox/g yağ)adır.

Çizelge 4.11. Farklı portakal kabuğu ekstraktlarının ABTS radikal süpürme güçleri

Örnek	ABTS (µg trolox/g yağ)
RZ-TG	8.4 ± 1.83a
RZ-TG-SPPKY	6.7 ± 4.14a
RZ-TG-HE	49.3 ± 7.96b
RZ-TG-AE	39.0 ± 0.56b
RZ-TG-DKPK	6.8 ± 8.01a
RZ	130.2 ± 9.67c
RZ-SPPKY	128.8 ± 15.37c
RZ-HE	157.2 ± 4.45d
RZ-AE	164.8 ± 19.77d
RZ-DKPK	151.8 ± 1.72d

Kısaltmalar için bakınız Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5. Küçük harfler RZ-TGleri/RZ'ne portakal kabuğu yağ/ekstrakti eklenmesinin ABTS değerleri üzerine $P > 0,05$ düzeyinde etkisini aynı sütunda göstermektedir.

5. TARTILMA

Yağlarda veya serbest yağ asitlerinde özellikle de çok doymamış yağ asitlerinde meydana gelen oksidasyon, lipid kimyasında en önemli reaksiyonlardan biridir. Yağ ve yağ içeren gıdalarda kalite düşmesini etkileyen en önemli faktör oksidasyondur [60].

Oksidasyona karşı BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlar olarak kullanılırken tüketicilerin sentetik antioksidanların güvenilirliği hakkındaki endişeleri doğal antioksidanlara olan talebi artırmıştır [61]. Bu bakımdan yağların oksidasyonunu özellikle doğal antioksidanlarla önlemek için yapılacak çalışmalar önem kazanmaktadır.

Akademik ortamlarda doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktların antioksidan olarak kullanılmasına yönelik araştırmalar oldukça ilgi çekmektedir. Elde edilecek antioksidan yapıların doğal olması sayesinde sağlık üzerine olumsuz etkisinin olmaması ve bunun bir sonucu olarak tüketici güvenliğini kazanması yeni antioksidan kaynaklarının araştırılmasına gerektirir. Ayrıca gıda korumada kullanılan kimyasal maddelere yasal sınırlamalar getirilmesi nedeniyle, bitkilerden elde edilen ve antioksidan olarak kullanılabilen uçucu yağlara olan talep her geçen gün artmaktadır [62].

Bu amaçla tez kapsamında yürütülen çalışmalarda portakal kabuğundan farklı yollarla elde edilen ve antioksidan bileşenlerce zengin unsurların etkileri yağ sistemlerinde denenmiştir. Üretim koşullarına bağlı olarak bünyesinde bulunan antioksidan yapılar rafine zeytinyağından önemli ölçüde uzaklaşmaktadır. RZ bu haliyle çok düşük bir tüketim oranına sahiptir ve genellikle sıvı zeytinyağı ile karıştırılarak riviera tipi zeytinyağı üretiminde kullanılmaktadır. RZ'nin tüketilebilirliğinin artırılmasına ve oksidasyon stabilitesinin yükseltilmesine katkı sağlamak amacıyla RZ'ye portakal kabuğundan elde edilen yüksek kaliteli ekstraktlar ile uçucu yağ ilave edilmiştir. Eklenen unsurların gerçek antioksidan etkisini belirginleştirmek amacıyla RZ'den kolon kromatografisi ile elde edilen trigliseritler de kullanılmıştır.

Çalışmamızda, SPPKY'nin, HE'nin, AE'nin ve DKPK'nin antioksidan özellikleri farklı deney düzenekleri ile test edilmiştir.

Portakal kabuğu, meyve suyu endüstrisinde atık olarak ortaya çıkan bir üründür. Bu atığın yeniden ekonomiye dönüşümünü sağlayabilmek ve değerlik alanlarda farklı amaçlarla (antioksidan, antimikrobiyal veya aroma maddesi) kullanımlarının

belirlenebilmesi için uçucu fraksiyonlarında yer alan bileşenlerin bilinmesi gerekmektedir. Bu amaçla endüstriyel olarak soğuk presleme tekniği ile üretilen portakal kabuğu yağı'nın bileşenleri gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) tekniği ile belirlenmiştir.

Elde edilen kromatogramda 48 adet bileşenin tanımlanması yapılmıştır. Belirlenen bileşenlerden miktarı %1'den fazla olan bileşiklerin yağa özgü aromanın algılanmasında etkisinin fazla olacağı kabullenilerek yapılan değerlendirmede, en yüksek oranda bulunan bileşikler majör bileşen limonen olmak üzere; l-Limonene (%72,71), α -Myrcene (% 7,87), α -pinene (% 2,74), Sabinene (%2,25), Linalool (%1,99), Decanal (%1,52), α -Phellandrene (%1,20), γ -3-Carene (% 1,10), Octanal (%1,04) bulunmuştur. Limonen, monosiklik bir monoterpendir. Limonene'nin balıca antibakteriyal, antifungal [63], antiprotozoan [64], antikanserojen aktiviteye ve sedatif özelliklere sahip olduğu rapor edilmektedir [65].

Turuncgil yağların temelini oluşturan terpenler güçlü antifungal ve antioksidan aktiviteye sahiptir [48]. GC-MS ile soğuk pres portakal kabuğu yağı'nın aromatik bileşenleri belirlenmiş ve %72,71'inin l-Limonene olduğu görülmüştür. Limonen monosiklik bir monoterpendir. Çalışmalar limonenin antioksidan etkisinin güçlü radikal süpürücü etkisinden olduğunu göstermiştir [46].

Portakal kabuğu yağı saklık açısından ve duyuşal özellikleri bakımından pek çok olumlu katkılarından söz edilen limonen bileşenini bol miktarda içerdiği için, balıca gıda endüstrisinde olmak üzere, ayrıca duyuşal olarak kaliteye yaptığı olumlu etkilerinden dolayı da kozmetik, eczacılık ve parfüm endüstrisinde kullanılmaya söz konusu olmaktadır.

DKPK ve bundan elde edilen hegzan ve aseton ekstraktları ile ticari olarak satılan SPPKY, RZ ve RZ-TG'ye ilave edilmiş ve hızlandırılmış oksidasyon koşullarında (60°C) 24 gün süresince oksidasyona maruz bırakılmıştır. Farklı günlerde alınan örneklerde primer oksidasyon ürünleri peroksit sayısı ve sekonder oksidasyon ürünleri ise p-anisidin sayısı ile belirlenmiştir. RZ'ye ilave edilen aseton ve hegzan ekstraktları oksidasyonun başlangıç dönemlerinde RZ'ye (kontrol) kıyasla peroksit oluşumunu daha kuvvetli engellemiştir. RZ'nin ileri oksidasyon sürelerinde ekstraktların etkilerinin azaldığı gözlenmiştir. DKPK ilave edilen RZ'de p-anisidin sayısının kontrole kıyasla oksidasyon sürelerinin tamamında (24.gün hariç) daha düşük değerlerde olduğu

saptanmıştır. Oksidasyon düzeyleri RZ-TG aışından irdelendiğinde saflaıtırılmış RZ-TG'nin hışlı bir şekilde okside olduğu grlml ve AE ilavesinin oksidasyon sürelerinin tamamında peroksit sayışını dlk düzeyde tuttuğu belirlenmiştir. AE ilave edilen RZ-TG için benzer sonuç oksidasyon sresinin tamamında p-anisidin sayışarında da saptanırken, HE'nin antioksidan etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Ransimat yöntemi, yaşlarda stabilitenin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Cihazın alışma prensibi, iletkenlikteki değilimin belirlenmesi sonucunda elde edilen derecelerin, sıaklığa karşlı logaritma raf ömrü sonu grafiğinde gösterilerek yorumlanmasına dayanmaktadır [42]. Ransimat testinde; DKPK ve HE'nin RZ esas alındığında oksidasyon stabilitesini oldukça arttırdığı ve antioksidan aktivite gösterdiği, DKPK, HE, AE'nin RZ RZ-TG'deri esas alındığında oksidasyon stabilitesini oldukça arttırdığı ve antioksidan aktivite gösterdiği izelge 4.7'den aışa görülmektedir.

Çizelge 4.7'de SPPKY'nin oksidasyon stabilitesini etkilemediği ve antioksidan etki göstermediği grlmltr. Bunun nedeni antioksidan aktivitenin; sıaklık derecesine, bileşim gibi faktörlere bağlı olarak değilmesi olabilir. Sıaklık antioksidan aktivitede önemli bir parametredir. Çünkü Ransimat testinde 130 C gibi yüksek sıaklık, ekstraktlardaki etken maddelerin aktivite göstermesini engellemekte veya ters yönde bir etki göstermesine neden olabildiği gibi, etken uçucu bileşenlerin ortamdan uçarak kaybolmasına da neden olduğu dlnlmektedir.

Ransimat cihazı ile belirlenen indüksiyon periyotları arasında AE'nin TG'dere ve DKPK'nin RZ'ye ilavesi ile en yüksek etkiler sağlanmıştır. İlave etme yöntemlerine ve antioksidan etkiyi belirleme şekline bağlı olarak farklı etkiler saptanmıştır. SPPKY ilavesinin yüksek sıaklık denemelerinde dlk antioksidan etkiler göstermesi, SPPKY'nin bu sıaklıklarda kolaylıkla yağdan uzaklaımasının bir sonucu olabilir. Ekstraktların bileşiminde yer alan unsurların farklılığı değilik koşullarda sağlanan etkinin farklılaımasına neden olabilir.

RZ, RZ-SPPKY, RZ-HE, RZ-AE, RZ-DKPK, RZ-TG, RZ-TG-SPPKY, RZ-TG-HE, RZ-TG-AE, RZ-TG-DKPK rnekleri için antioksidan aktivite testleri yapılmıştır. Antioksidan aktivite testleri stabil sentetik radikaller olan ABTS ve DPPH kullanılarak yapılmıştır. Toplam fenol miktarı yüksek olan ekstraktlarda DPPH ve ABTS yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri de yüksek bulunmuştur.

DPPH testinde sonuçlar incelendiğinde RZ ve RZ-SPPKY örnekleri antiradikal etki gösterirken RZ-TG ve RZ-TG-SPPKY örneklerinde anti radikal etkiye rastlanmamıştır. Bu durum RZ’de doğal olarak bulunan antioksidanların varlığı ile açıklanabilir.

ABTS testinde RZ içeren örneklerde en yüksek antiradikal etkiyi 164,8 µg trolox/g yağ değeri ile RZ-AE örneği göstermiştir. Bunu sırasıyla; RZ-HE (157,2 µg trolox/g yağ), RZ-DKPK (151,8 µg trolox/g yağ), RZ (130,2 µg trolox/g yağ), RZ-SPPKY (128,8 µg trolox/g yağ) örnekleri takip etmektedir. RZ-TG içeren örneklerde ise en yüksek antiradikal etkiyi 49,3 µg trolox/g yağ değeri ile RZ-TG-HE örneği göstermiştir. Bunu sırasıyla RZ-TG-AE (39,0 µg trolox/g yağ), RZ-TG (8,4 µg trolox/g yağ), RZ-TG-DKPK (6,8 µg trolox/g yağ) ve RZ-TG-DKPK(6,7 µg trolox/g yağ) örneği izlemektedir.

Portakal kabuğu ekstraktları(HE ve AE), SPPKY ve DKPK bileşimlerinde farklı özellikte (polarite gibi) ve miktarlarda antioksidan yapıları içermektedir bu nedenle bunların yağ sisteminde antioksidan getirileri farklı olacaktır. Benzer şekilde RZ ve RZ-TG’de DPPH ve ABTS yöntemleri ile test edilen antioksidan kapasite değerleri farklı bulunmuştur ($P < 0,05$). Diğerlerine kıyasla SPPK’nin en düşük antioksidan gücüne sahip olduğu görülmüştür. En yüksek toplam karotenoid ve fenolik içeriği AE’de saptanmıştır. Ancak toplam karotenoidlerin yağ sistemindeki antioksidan etkileri zayıf bulunmuştur. HE ve AE’nin TG sistemindeki DPPH aktivitesi en yüksek bulunurken, RZ’de HE’nin daha güçlü etki gösterdiği görülmüştür.

Örneklerin ransimat cihazı ile belirlenen indüksiyon periyotları ile toplam fenolik, DPPH ve ABTS değerleri arasında yüksek korelasyon saptanırken toplam karotenoidler ile düşük korelasyon bulunmuştur. Örneklerin indüksiyon periyotları dikkate alındığında RZ-TG’lerine AE ilavesi en yüksek korumayı sağlarken (1,16 saat), DKPK içeren RZ en uzun indüksiyon periyoduna sahip (2,73 saat) bulunmuştur. Hesaplanan korelasyon değerleri Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Örneklerin indüksiyon periyotları ile antioksidan unsurları arasındaki korelasyonlar

Örnek	İndüksiyon Periyodu (saat)	Toplam karotenoid (µg /g yağ)	Toplam Fenolik (µg GAE/g yağ)	DPPH (µg trolox/g yağ)	ABTS (µg trolox/g yağ)
RZ-TG	0,17	0	2,7	0	8,4
RZ-TG+SPPKY	0,17	0,4	3,6	0	6,7
RZ-TG+HE	0,77	34,2	7,5	19,6	49,3
RZ-TG+AE	1,16	51,7	16,8	19,6	39,0
RZ-TG+DKPK	0,86	2,3	3,9	3,7	6,8
RZ	2,57	0,9	37,3	227,2	130,2
RZ+SPPKY	2,52	1,5	38,5	229,9	128,8
RZ+HE	2,68	32,1	38,2	248,4	157,2
RZ+AE	2,57	52,3	48,7	240,5	164,8
RZ +DKPK	2,73	14,4	43,0	232,5	151,8
R ²		0,0484	0,9427	0,9445	0,9361

Kesaltmalar için bakınız Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5.

Bitkisel materyallerden antioksidan yapıların izolasyonunda antioksidan yapıların bulunduğu bitki kısımları da dikkate alınarak farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanmaktadır. Örnek vermek gerekirse, çözünabilir fenolik yapılar bitki matriksi içerisinde daha çok dı kısımlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır [66]. Bitkisel antioksidanların izolasyonunda çözücü ekstraksiyonu en yaygın kullanılan tekniktir. Ancak, ekstraksiyon verimi ve ekstraktın antioksidan aktivitesi, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün yapısı ve özellikleri (polarite gibi) bitkisel yapıda bulunan antioksidanların çözünürlüğünü etkilemektedir. Polar çözücüler polifenoller gibi yapıların elde edilmesinde yaygın olarak kullanılırken bu amaçla metanol, etanol, aseton ve etilasetat gibi çözücüler tercih edilmektedir [67]. Ancak, hangi çözücünün ve ekstraksiyon tekniğinin bitkisel yapıda bulunan antioksidan yapıların izolasyonunda en uygun olacağına dair kesin bir sonuçlama bulunmamaktadır [68]. Bitkide bulunan antioksidan yapıların özelliklerine göre her yapı için farklı çözücülerin kullanılarak en yüksek antioksidan etkiyi sağlayarak çözücü seçimi en uygun yoldur. Bu bakımdan, tez çalışması kapsamında detaylı etkileri verilmeyen farklı çözücüler (metanol, sulu metanol ve etil asetat) çalışmanın başlangıç aşamasında denenmiş ve en yüksek DPPH ve ABTS

değerleri saptanan hegzan ve aseton ekstraktları ile çalışmaya devam edilmesine karar verilmiştir. RZ ve RZ-TG sistemlerinde eklenen ekstraktlardan farklı antioksidan etkilerin saptanmasının başlıca nedeni de değinilen bu konuların bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır.

Ayrıca portakal kabuğu yağına vitamin C (askorbik asit) bakımından zengin olduğu bildirilmiştir [69]. Söz konusu madde polar karakterde olduğundan elde edilen ekstraktlarda antioksidan etkinin farklı olmasının diğer bir nedenidir. Kullanılan çözücülerden özellikle hegzan polar karakterde olmadığından C vitamini etkisinin hegzan ekstraktında tamamen sızdığı kabul edilebilir. Doğrudan DKPK ve SPPKY ilavesinde ise askorbik asit bir miktar bulunabileceğinden DPPH ve ABTS değerleri peroksit, p-anisidin ve indüksiyon periyodu değerleri arasında anlamlı ilişkiler bulunmamasının bir sebebi olarak kabul edilebilir. Benzer şekilde Citrus kabuklarının fenolik asitler ve flavonoidleri kapsayan fenolik bileşenlerce zengin olduğu saptanmıştır [70]. Bu bileşikler farklı polarite ve çözünürlük özelliklerine sahip olduğundan saptanan sonuçlar arasındaki farklılığın oluşmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre portakal kabuğuna ait antioksidan etkiye sahip bileşikler çeşitli şekillerde ekstrakte edilmiş ve değişik yöntemlerle antioksidan etkileri saptanmıştır. Literatür değerlendirmelerine [70] bakıldığında portakal kabuğu yağına antioksidan yapılarının polaritesi, yağ ve trigliserit sistemlerine kıyasla daha yüksek olmasına rağmen uygun özellikteki antioksidan yapıları içeren ekstraktlar yağ sistemlerinde de antioksidan etki göstermiştir. Portakal kabuğuna ait antioksidan yapılar (balta uçucu yağ ve bitkisel yağlar olmak üzere) pek çok lipid içeren gıda formülasyonlarında antioksidan olarak kullanılabilir durumdadır. Bu şekilde, özellikle endüstriyel üretimin bir aşaması olarak ortaya çıkan kabukların değerlendirilmesi ile ekonomiye katkı sağlanmasında söz konusudur. Ayrıca portakal kabuğunun kendisinin, sahip olduğu hoş giden aromatik özellikleri sayesinde, gıdalarda kullanılması halinde tüketici beğenisini kazanabilmesi açısından sorun çıkmayacağı öngörülmektedir.

6.KAYNAKLAR

- [1] <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2010-35.html>
- [2] F. Öztürk, M. Yalçın, H. Döran, *Türkiye zeytinyağı ekonomisine genel bir bakış*, **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 4 (2009) 35-51.
- [3] M. Kayahan, *Yağ Kimyası*, ODTÜ Yayınları, Ankara, 2003.
- [4] İ. Targan, K. Arsoy, Y. Abaloğlu E. Kaya, *Ayçiçek yağlarının raf ömrünün uzatılmasında sitrik asit ve fosforik asidin antioksidan etkisi*, **BAÜ FBE Dergisi**, 10 (2008) 67-75.
- [5] A. Limlek, *Özellikle kararlı ve termal yöntemler ile kalitesinin belirlenmesi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2008).
- [6] M. Kalkan, A. Bayrak, *Bitkisel yağların stabilizasyonunda doğal antioksidanların rolü*, **Gıda**, 30 (2005) 247-254.
- [7] P.-D. Duha, G.-C. Yen, *Antioxidant efficacy of methanolic extracts of peanut hulls in soybean and peanut oils*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 74 (1997) 745-748.
- [8] M.T. Satue, S. Huang, E.N. Frankel, *Effect of natural antioxidant in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 72 (1995) 1131-1137.
- [9] F.Z. Sheabar, I. Neeman, *Separation and concentration of natural antioxidants from the rape of olives*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 65 (1988) 990-993.
- [10] H. Kikuzaki, N. Nakatani, *Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano*, **Agric. Biol. Chem.** 53 (1989) 519-524.
- [11] R.E. Kramer, *Antioxidants in Clove*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 62 (1985) 111-113.
- [12] H. Döran, Y. Hacıoğlu, *Bazı bitkisel (Zeytin, Fındık ve karabiber) yağlara baharat ilavesinin oksidatif stabilite ve yağ asitleri bileşenleri üzerine etkisi*, **Gıda**, 35 (2009) 41-47.

- [13] N. Aldris, F.M. Nor, R. Ismail, S. Mohamed, C.Z. Hassan, *Antioxidative activity of Malaysian herb extracts in refined, bleached, and deodorized palm olein*, **J. Palm Oil Res.** 20 (2008) 517-526.
- [14] A. Chiou, N. Kalogeropoulos, F. Salta, P. Efstathiou, N. Andrikopoulos, *Pan-frying of french fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract oxidative stability and fate of microconstituents*, **LWT- Food Sci. Technol.** 42 (2009) 1090-1097.
- [15] M. Ayadi, N. Kamoun, H. Attia, *Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected tunisian aromatic plants*, **Food Chem. Toxic.** 47 (2009) 2613-2619.
- [16] K. Turhan, N. Tetik, M. Karhan, *Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı*, **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 3 (2006) 71-77.
- [17] I. Vargas, I. Sanz, P. Moya, E. Prima-Yúfera, *Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oil*, **J. Food Protect.** 62 (1999) 929-932.
- [18] M. Demirci, *Beslenme*, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ, 2003.
- [19] A. Kubal, K. Karhan, Ö. Azabaçaoğlu, *Türkiye'de Bitkisel Yağ Sektörünün Karşılaştığı Temel Sorunlar*, Türkiye I. Yağ Tohumlar, Bitkisel Yağlar Ve Teknolojileri Sempozyumu Bildirileri, İstanbul, Mayıs 22-23 (2003), pp.34-38.
- [20] M.T. Satue, S.-W. Huang, E.N. Frankel., *Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 72:10 (1995) 1131-1137.
- [21] M. Tsimidou, G. Papadopoulos, D. Boskou, *Determination of phenolic compound and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection*, **Food Chem.** 44 (1992) 53-60.
- [22] S. Toroklu, M. Çenet, *Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanıldığı alanlar ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar*, **KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi**, 9:2 (2006) 12-19.

- [23] H.P. Singh, S. Mittal, S. Kaur, D.R. Batish, R.K. Kohli, *Characterization and antioxidant activity of essential oils from fresh and decaying leaves of Eucalyptus Tereticornis*, **J. Agric. Food Chem.** 57:15 (2009) 6962-6966.
- [24] E. Çalkglu, M. Kralan, A. Bayrak, *Uçucu yağ nedir, nasıl üretilir ve türkiye'deki durumuna genel bir bak*. Türkiye 9. Gda Kongresi, Bolu, Mayıs 24-26, (2006), pp.569-570.
- [25] R. Ertürk, C. elik, R. Kaygusuz, H. Aydın, *Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri*, **Cumhuriyet Tp Dergisi**, 32 (2010), 281-286.
- [26] A. K, *Uçucu yağ elde etme yöntemleri*, **Bartın Orman Fakültesi Dergisi**, 10:13 (2008) 37-45.
- [27] E.M. Gözükara, *Biyokimya*, Cilt1, Nobel Kitap Evi, 2001.
- [28] K. Hosni, N. Zahed, R. Chrif, I. Abid, W. Medfei, M. Kallel, N.B. Brahim, H. Sebei, *Composition of peel essential oils from four selected tunisian citrus species: evidence for the genotypic influence*, **Food Chem.** 123 (2010) 1098-1104
- [29] C. Saroban, E. oksever, M. Karakaya, M. T. Ymaz , *Et rnlerinde turunçgil yan ürünlerinin kullanımı*, Türkiye 10. Gda Kongresi; Erzurum, 21-23 Mayıs 2008.
- [30] B. Yalnk, *Sucuk üretiminde portakal lifi kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Türkiye, 2009
- [31] G. Kavas, *Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri*, Türkiye Klinikleri, 9/1:(1989)
- [32] . Gknar, T. Koray, E. Akek, T. Göksan, Y. Durmaz, *Algal antioksidanlar*, **E.. Su rnleri Dergisi**, 1 (2006) 85-89
- [33] N. Konar, *Domates karotenoidlerinden likopenin dokal renklendirici ve antioksidan olarak fonksiyonel gda üretiminde kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Türkiye, 2008.

- [46] N. Gursoy, B. Tepe, M. Sokmen, *Evaluation of the chemical composition and antioxidant activity of the peel oil of citrus nobilis*, **Int. J. Food Proper.** 13 (2010) 983–991.
- [47] G. Arcoleo, M.C. Indovina, G. Varvaro, C.M. Lanza, A. Mazzaglia, *Improving olive oil shelf life with lemon essential oil*, Department DOFATA – Food Technology section, University of Catania.
- [48] S.-A. Rezzoug, N. Louka, *Thermomechanical process intensification for oil extraction from orange peels*, **Innov. Food Sci. Emerg.** 10 (2009) 530-536.
- [49] I. Vargas, I. Sanz, P. Moya, E. Prima-Yúfera, *Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oil*, **J. Food Protect.** 62 (1999) 929-932.
- [50] B. Ancos, E.M. González, M.P. Cano, *Ellagic acid, Vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit*, **J. Agric. Food Chem.** 48 (2000) 4565–4570.
- [51] I. Karabulut, A. Topçu, C.A. Basar, Y. Onal, A-M. Lampi, *Obtaining Butter Oil Triacylglycerols Free From β -Carotene And α -Tocopherol Via Activated Carbon Adsorption And Alumina-Column Chromatography Treatments*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 85 (2008) 213-219.
- [52] N. Láhin, C. Akoh, A. Karaali, *Lipase-catalyzed acidolysis of tripalmitin with hazelnut oil fatty acids and stearic acid to produce human milk fat substitutes*, **J. Agric. Food Chem.** 46 (1998) 4113–4117.
- [53] AOCS, 1989. Official and Recommended Methods of the American Oil Chemists' Society, American Oil Chemists' Society, Champaign, IL.
- [54] R. Mateos, M. Uceda, M.P. Aguilera, *Relationship of rancimat method values at frying temperatures for virgin olive oils*, **Eur. Food Res. Technol.** 223 (2006) 246-252.
- [55] C.I.G. Tuberoso, A. Kowalczyk, E. Sarritzu, P. Cabras, *Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use*, **Food Chem.** 103 (2007) 1494-1501

- [56] E. Ragazzi, and G. Veronese, *Quantitative analysis of phenolic compounds after thin-layer chromatographic separation*, **J. Chromatogr.** 77 (1973) 369-375.
- [57] M.H. Chuang, G. Brunner, Concentration of minor components in crude palm oil. **J. Supercrit. Fluid.** 37 (2006) 151-156.
- [58] J.C. Espin, C. Soler-Rivas, H.J. Wichers, *Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical*, **J. Agric. Food Chem.** 48 (2000) 648-656.
- [59] G. Durmaz, *Freeze-Dried ABTS^{•+} (FD-ABTS) Method: A ready-to-use radical powder assay to assess antioxidant capacity of oils*, Unpublished (Submitted to **Food Chem.**)
- [60] S. Çakmakçı, H.Y. Gökalp, *Gıdalarda Kışaca Oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanılmaları*, **Atatürk Üniv. Zir. Fak. Der.** 23 (2) (1992) 174-192.
- [61] M.A. Anagnostopoulou, P. Kefalas, V.P. Papageorgiou, A. N. Assimopoulou, D.Boskou, *Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (citrus sinensis)*, **Food Chem.** 94 (2006) 19-25.
- [62] İ. Kurt, S. Büyükalaca, *Pleurotus ostreatus yetiştiriciliğinde tarımsal artıkların verim üzerine etkisi*, **Alatarm,** 9 (2010) 1-7.
- [63] K.S. Jin, M. Jun, M.J. Park, S. Ok, J.H. Jeong, H.S. Kang, W.K. Jo, H.J. Lim, W.S. Jeong, *Promises and risks of unsaturated volatile organic compounds: Limonene, pinene, and isoprene*, **Food Sci. and Biotechnol.** 17 (2008) 447-456.
- [64] D.C. Arruda, D.C. Miguel, J.K.U. Yokoyama-Yasunaka, A.M. Katzin, S.R.B. Uliana, *Inhibitory activity of limonene against Leishmania parasites in vitro and in vivo*, **Biomed. Pharmacother.** 63 (2009) 643.
- [65] M.R. Marostica, G.M. Pastore, *Limonene and its oxyfunctionalized compounds: biotransformation by microorganisms and their role as functional bioactive compounds*, **Food Sci. and Biotechnol.** 18 (2009) 833-8415.
- [66] M. Antolovich, P. Prenzler, K. Robards, D. Ryan, *Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits*, **Analyst.** 125 (2000) 989-1009.

- [67] W. Peschel, F. Sanchez-Rabaneda, W. Dn, A. Plescher, I. Gartzia, D. Jimenez, R. Lamuela-Raventos, S. Buxaderas, C. Condina, *An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes*, **Food Chem.** 97 (2006) 137-150.
- [68] Y. Zuo, H. Chen, Y. Deng, *Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector*, **Talanta**, 57 (2002) 307-316.
- [69] S.M.S. Sawalha, D. Arráez-Román, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, *Quantification of main phenolic compounds in sweet and bitter orange peel using CE-MS/MS*, **Food Chem.** 116 (2009) 567-574.
- [70] A. Bocco, M.-E. Cuvelier, H. Richard, C. Berset, *Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts*, **J. Agric. Food Chem.** 46 (1998) 2123-2129.

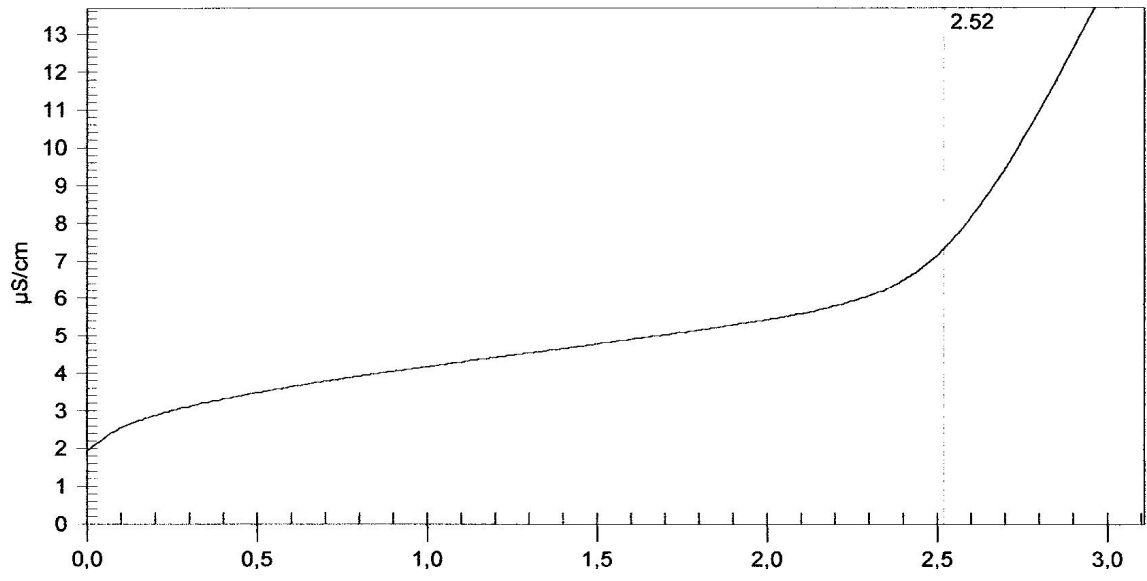
7. EKLER

Ek 1. Örnek Bir Duyusal Analiz Uygulama Formu

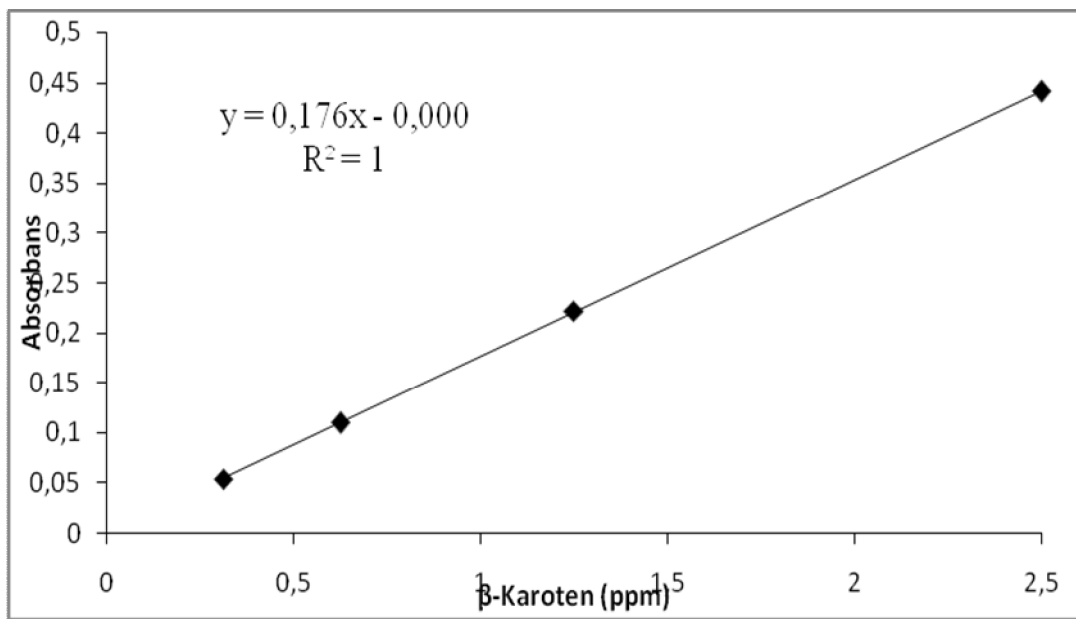
Size sunulan örnekleri bekenilerinize göre en yüksek 5 endüük 1 olacak íekilde farklı puanlar vererek değerlendiriniz

İSM:		Tarih:			
ÜRÜN: Belirli bir konsantrasyonda Soğuk pres portakal kabuk yağı içeren Rafine Zeytinyağı					
Örnek	Lezzet	koku	renk	Portakal aroması	Toplam bekeni
0,1					
0,3					
0,5					
0,7					
0,9					

Ek 2. Örnek Ransimat Grafiği



Ek 3. β -Karoten Standart Eğrisi



Ek 4. Örnek Bir Troloks Standart Grafiği

