

ZEYTİN KARASU VE PİRİNA EKSTRAKTLARININ RAFİNE AYÇİÇEK
YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ

DENİZ GÜNAL

ŞUBAT 2013

ZEYTİN KARASU VE PİRİNA EKSTRAKTLARININ RAFİNE AYÇİÇEK
YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ

DENİZ GÜNAL

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALINDA
YÜKSEK LİSANS DERECEŚİ İÇİN GEREKLİ ÇALIŞMALARI YERİNE
GETİREREK JÜRİ ONAYA SUNULAN YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2013

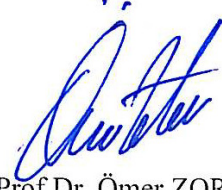
Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı



Prof.Dr. Yaşar DÜRÜST

Enstitü Müdürü

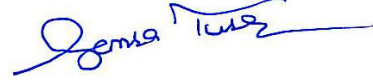
Bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak gerekli çalışmaları yerine getirdiğini onaylarım.



Prof.Dr. Ömer ZORBA

Bölüm Başkanı

Okuduğumuz bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak onaylanması, düşüncemize göre, amaç ve kalite olarak tamamen uygundur.



Yrd.Doç.Dr. Semra TURAN

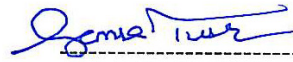
Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

1- Prof.Dr. Ali BAYRAK



2- Yrd.Doç.Dr. Semra TURAN



3- Yrd.Doç.Dr. Mustafa KIRALAN



ÖZET

ZEYTİN KARASU VE PİRİNA EKSTRAKTLARININ RAFİNE AYÇİÇEK YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

GÜNAL, Deniz

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Semra TURAN

Şubat 2013, 105 sayfa

Bu çalışmada, karasu ve pirinadan elde edilen ekstraktların hızlandırılmış oksidasyon koşullarında ve derin yağda kızartma işlemi sırasında rafine ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan karasu ekstraktlarının 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini yakalama güçleri, demir iyonlarını indirgeme güçleri ve linoleik asit emülsiyonunda konjuge dien metodu ve β -karoten metodu ile belirlenen antioksidan aktiviteleri pirina ekstraktlarınınkinden daha yüksek bulunmuştur. Ekstrakt konsantrasyonunun artması antioksidan aktivitenin artmasına neden olmuştur. Karasu ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri 6.8-26.0 μ M arasında değişirken, pirina ekstraktlarınınki 6.7-27.1 μ M arasında bulunmuştur. 3 mg/mL konsantrasyondaki karasu ekstraktları 0.2 mg/mL konsantrasyondaki bütillenmiş hidroksianizolden (BHA) daha yüksek indirgeme güçlerine sahip olmuşlardır.

Ekstrakt ilavesi ayçiçek yağının ve trigliseritlerinin indüksiyon periyotlarını yükseltmiştir. Ekstrakt ile birlikte lesitin kullanılması daha etkili olmuş ve daha yüksek koruma faktörlerine ulaşılmıştır. 60 °C'da etüvde uygulanan oksidasyon testinde ekstrakt (1 mg/g) ve lesitin (5 mg/g) içeren ayçiçek yağlarının E_{232} değerleri BHA ve α -tokoferol içeren yağlardan daha düşük olmuştur. Trigliseritlerin E_{232} değerleri 9. günden sonra, karasu ekstraktı içerenlerin ise 12. günden sonra artış göstermiştir. Ayçiçek yağlarının 180 °C'daki oksidasyon testinde karasu ekstraktı pirina ekstraktına kıyasla konjuge dien içeriğini düşürmede daha etkili bulunmuştur. 40 saat sonunda karasu ekstraktı ve lesitin ilave edilen ayçiçek yağı, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) içeren yağdan daha düşük p -anisidin değerlerine, daha yüksek tokoferol içeriği ve indüksiyon periyotlarına sahip olmuştur.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında karasu ekstraktı ile lesitin içeren ayçiçek yağının konjuge dien içeriğinin, p -anisidin değerinin, polar madde içeriğinin, viskozitesinin ve b^* değerlerinin kontrolden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak lesitin yağın serbest yağ asidi içeriğinin artmasına ve renginin koyulaşmasına neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Karasu, pirina, antioksidan aktivite, indüksiyon periyodu, hızlandırılmış oksidasyon, derin yağda kızartma

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF OLIVE WASTEWATER AND POMACE EXTRACTS ON THE OXIDATIVE STABILITY OF REFINED SUNFLOWER OIL

GÜNAL, Deniz

MSc, Food Engineering Department

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Semra TURAN

February 2013, 105 pages

In the present study, the effect of olive wastewater and pomace extracts on the oxidative stability of refined sunflower oil during deep frying and under accelerated oxidation conditions were investigated. The 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, ferric ion reducing antioxidant power and the antioxidant activity, which was determined by the conjugated diene method and the β -carotene method in linoleic acid emulsion, of the wastewater extracts at different concentrations were all determined to be higher than those of the pomace extracts. An increase in the extract concentration resulted in an increase in antioxidant activity. The Trolox-equivalent antioxidant activity of wastewater extracts was determined to be in the range of 6.8-26.0 μ M whereas that of pomace extracts was determined to range between 6.7 μ M and 27.1 μ M. The wastewater extract at a concentration of 3 mg/mL was determined to have a higher reducing power than the butylated hydroxyanisole (BHA) that was used at a concentration of 0.2 mg/mL.

The addition of extracts increased the induction periods of the sunflower oil and its triglycerides. The use of lecithin along with the extracts was shown to be more effective and higher protection factor values were achieved. The E_{232} values of the sunflower oil with extract (1 mg/g) and lecithin (5 mg/g) was lower than that of BHA and oil samples containing α -tocopherol in the oxidation test conducted in the incubator at 60 °C. The E_{232} values of the triglycerides increased after the 9th day and those of wastewater containing samples increased after the 12th day. Wastewater extract was more efficient in lowering the conjugated acid content of the sunflower oil samples than the pomace extract during the oxidation test conducted at 180 °C. The sunflower oil containing wastewater extract and lecithin was shown to have lower *p*-anisidine values, higher tocopherol content and higher induction periods than that containing butylated hydroxytoluene (BHT) at the end of 40 hours.

The oil samples with wastewater extract and lecithin were determined to have lower conjugated diene content, *p*-anisidine value, polar material content, viscosity and *b** values than the control samples during deep frying. However, lecithin caused an increase in the free fatty acid content of the oil and darkening of the color.

Key Words: Wastewater, pomace, antioxidant activity, induction period, accelerated oxidation, deep frying

TEŞEKKÜR

Bu araştırmada bilgi birikimleri ve deneyimlerinden yararlandığım beni yönlendiren tez danışmanım Yrd. Doç Dr. Semra Turan’a,

2012.09.01.505 nolu Araştırma projesi kapsamında sağladığı olanaklardan dolayı A.İ.B.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı’na,

Bölüm imkanlarından yararlanmamı sağlayan Gıda Mühendisliği Bölümü Başkanı Prof.Dr. Ömer ZORBA’ya,

Laboratuvar çalışmalarımın bir bölümünde bana imkan sağlayan Ortun Gıda A.Ş. firmasına ve bu firmada çalışan gıda mühendisi Serkan Biçer’e,

Araştırma sürecimde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Turgay Köroğlu’na; sevgili kardeşime ve sabırlarından dolayı tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY SAYFASI	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1.....GİRİŞ	1
2.....KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Natürel Zeytinyağı Üretimi.....	4
2.2. Zeytinyağı Üretiminde Elde Edilen Yan Ürünler	5
2.3. Pirinanın Özellikleri ve Değerlendirilmesi	5
2.4. Karasuyun Özellikleri ve Değerlendirilmesi	7
2.5. Karasu, Pirina ve Zeytin Yaprak Ekstraktlarının Antioksidan Olarak Kullanımı	9
3.....MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Karasu ve pirinanın bazı özelliklerinin belirlenmesi	19
3.2.2. Ekstraktların hazırlanması.....	19
3.2.3. Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde tayini	20
3.2.4. Farklı konsantrasyonlarda karasu ve pirina ekstraktlarının hazırlanması	21
3.2.5. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi	22

3.2.5.1. DPPH radikallerini yakalama gücünün belirlenmesi	22
3.2.5.2. Linoleik asit emülsiyonunda konjuge dien metodu kullanılarak antioksidan aktivitenin belirlenmesi	23
3.2.5.3. β -karoten ağartma testi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi	24
3.2.5.4..... Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitenin belirlenmesi	25
3.2.5.5. Demir iyonlarını indirgeme gücünün belirlenmesi	27
3.2.6. Saflaştırılmış ayçiçek yağı trigliseritlerinin hazırlanması.....	28
3.2.7. Ayçiçek yağına ve saflaştırılmış trigliseritlere karasu ve pirina ekstraktlarının ilave edilmesi	29
3.2.8. Ransimat cihazı kullanılarak ekstrakt ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin indüksiyon periyotlarının belirlenmesi	29
3.2.9. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotlarının belirlenmesi	30
3.2.10. Karasu ve pirina ekstraktı içeren ayçiçek yağlarının toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi	30
3.2.11. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağı ve saflaştırılmış trigliseritlere 60 °C'da hızlandırılmış oksidasyon testinin uygulanması	32
3.2.12. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağına 180 °C'da termal oksidasyon testinin uygulanması	32
3.2.13. Derin yağda kızartma işlemi	32
3.2.14. Hızlandırılmış oksidasyon ve kızartma işlemleri sırasında alınan yağ numunelerinde gerçekleştirilen analizler.....	34
3.2.14.1..... Yağ asidi bileşimi	34
3.2.14.2..... Tokoferol miktarı	35
3.2.14.3..... Serbest yağ asiti miktarı (%)	36
3.2.14.4..... Polar madde miktarı	36
3.2.14.5..... Renk	37
3.2.14.6..... Viskozite	37
3.2.14.7..... Konjuge dien miktarı	37

3.2.14.8.....	<i>p</i> -anisidin değeri	38
3.2.14.9.....	E ₂₃₂ ve E ₂₇₀ değerleri	38
3.2.15.....	İstatistiksel Değerlendirme	38
4.....	BULGULAR ve TARTIŞMA	39
4.1. Karasu ve Pirina Ekstraktlarının Ekstraksiyon Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları		39
4.2. Ekstraktların DPPH Radikallerini Yakalama Güçleri.....		41
4.3. Ekstraktların Linoleik Asitli Sistemde Antioksidan Aktiviteleri.....		44
4.4. Ekstraktların β -karoten Ağartma Metodu ile Belirlenen Antioksidan Aktiviteleri		46
4.5. Ekstraktların Troloks Eşdeğeri Antioksidan Aktiviteleri		49
4.6. Ekstraktların Demir İyonlarını İndirgeme Güçleri		51
4.7. Ekstrakt İçeren Trigliseritlerin İndüksiyon Periyotları		53
4.8. Ekstrakt İçeren Ayçiçek Yağlarının İndüksiyon Periyotları.....		56
4.9. Ekstrakt İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarları.....		59
4.10. 60 °C’da Uygulanan Hızlandırılmış Oksidasyon Testi.....		61
4.10.1. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C’daki oksidasyonu		61
4.10.2. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C’daki oksidasyonu		66
4.11. Karasu ve Pirina Metanol Ekstraktları İçeren Ayçiçek Yağlarının 180 °C’daki Termal Oksidasyonu.....		75
4.12. Karasu ve Pirina Metanol Ekstraktları İçeren Ayçiçek Yağlarının Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılması.....		81
5.....	SONUÇLAR	94
KAYNAKLAR		98
ÖZGEÇMİŞ		104

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a*	CIE renk sistemine göre kırmızı-yeşil renk
ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
ABTS ^{•+}	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikali
AY	Ayçiçek yağı
b*	CIE renk sistemine göre sarı-mavi renk
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
DPPH	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil
DPPH [•]	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil radikali
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
E ₂₃₂	232 nm'de özgül absorbans değeri
E ₂₇₀	270 nm'de özgül absorbans değeri
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
KE	Karasu etanol ekstraktı
KM	Karasu metanol ekstraktı
L	Lesitin
L*	CIE renk sistemine göre rengin açıklık-koyuluğu
PE	Pirina etanol ekstraktı
PM	Pirina metanol ekstraktı
α -TOK	α - tokoferol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Ekstraktların toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılan gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon doğrusu	21
Şekil.3.2.	Troloks eşdeğeri antioksidan aktivitenin hesaplanmasında kullanılan troloks standardının % inhibisyon grafiği	27
Şekil 3.3.	Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında kullanılan gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon grafiği	31
Şekil 3.4.	Yağların tokoferol miktarlarının belirlenmesinde kullanılan α -tokoferol ile hazırlanan kalibrasyon doğrusu.....	36
Şekil 4.1.	Karasu ve pirina ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri	43
Şekil 4.2.	Karasu ve pirina ekstraktlarının linoleik asitli sistemde antioksidan aktiviteleri	46
Şekil 4.3.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit emülsiyonunda antioksidan aktivitelerindeki değişim	47
Şekil 4.4.	β -karoten ağartma testinde inkübasyon süresince 470 nm'deki absorbans değerlerindeki değişim	49
Şekil 4.5.	Karasu ve pirina ekstraktlarının demir iyonlarını indirgeme güçleri	52
Şekil 4.6.	Karasu ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C'da oksidasyonu sırasında E ₂₃₂ değerindeki değişim.....	69
Şekil 4.7	Pirina ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C'da oksidasyonu sırasında E ₂₃₂ değerindeki değişim.....	70
Şekil 4.8.	Karasu ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C'da oksidasyonu sırasında E ₂₇₀ değerindeki değişim.....	73

Şekil 4.9.	Pirina ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C’da oksidasyonu sırasında E ₂₇₀ değeriindeki değişim.....	74
Şekil 4.10.	180 °C’deki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının konjuge dien değerleri.....	77
Şekil 4.11.	180 °C’deki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının <i>p</i> -anisidin değerleri.....	78
Şekil 4.12.	180 °C’deki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının tokoferol miktarları	79
Şekil 4.13.	180 °C’deki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının DSC ile belirlenen indüksiyon periyotları.....	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Karasu ve pirina ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri ve fenolik madde miktarları	40
Çizelge 4.2.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri	42
Çizelge 4.3.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının linoleik asitli sistemde antioksidan aktiviteleri	45
Çizelge 4.4.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit emülsiyonunda antioksidan aktiviteleri	47
Çizelge 4.5.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri	50
Çizelge 4.6.	Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının demir iyonlarını indirgeme güçleri	51
Çizelge 4.7.	Ekstrakt, lesitin veya antioksidan içeren trigliseritlerin Ransimat cihazı ile belirlenen indüksiyon periyotları	53
Çizelge 4.8.	Ekstrakt, lesitin veya BHT içeren ayçiçek yağlarının DSC ile belirlenen indüksiyon periyotları	57
Çizelge 4.9.	Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarları	60
Çizelge 4.10.	Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C'da E_{232} değerleri	63
Çizelge 4.11.	Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C'da E_{270} değerleri	65
Çizelge 4.12.	Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C'da E_{232} değerleri	67
Çizelge 4.13.	Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C'da E_{270} değerleri	72

Çizelge 4.14.	Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 180 °C’da bazı kimyasal özellikleri	76
Çizelge 4.15.	Kızartma numunelerinin konjuge dien içeriği, <i>p</i> -anisidin değeri ve tokoferol miktarları.....	83
Çizelge 4.16.	Kızartma numunelerinin serbest yağ asidi içeriği, polar madde miktarları ve viskozite değerleri.....	86
Çizelge 4.17.	Kızartma numunelerinin L*, a*, b* renk değerleri	89
Çizelge 4.18.	Derin yağda kızartma sırasında karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının başlangıçtaki ve 6. gün sonundaki yağ asidi bileşimleri.....	93

1. GİRİŞ

Zeytinyağı üretiminde presleme, santrifüjleme ve sinolea yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Kullanılan yöntemlerde zeytinyağı yanında karasu ve pirina olarak adlandırılan iki yan ürün elde edilmektedir. Hem karasu hem de pirina şekerler, azotlu bileşikler, uçucu asitler, polialkoller, pektinler, yağ ve fenolik bileşiklerce zengindir. Yüksek oranda organik kirletici yüküne, fitotoksik ve antimikrobiyel özellikteki bileşenlere sahip olmaları nedeniyle biyolojik olarak doğada parçalanmaları güç olmakta ve çevre kirliliğine neden olmaktadırlar. Zeytin küspesinin ve karasuyun çevreye olan zararını en aza indirmek ve ekonomik değere kavuşturmak amacı ile çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Mulinacci ve ark., 2001; Alu'datt ve ark., 2010; Lafka ve ark., 2011)

Zeytinyağı üretimi sırasında, zeytinde bulunan fenolik bileşiklerin % 2'si zeytinyağına geçerken, % 53'ü karasuya, % 45'i ise pirinaya geçmektedir (De Marco ve ark., 2007). Bu fenolik bileşiklerin fitotoksik etkisi yanında antioksidan ve tedavi edici özelliği, kanseri, viral enfeksiyonları önleyici etkileri olduğu, kan şekerini ve lipit düzeyini düşürdüğü bildirilmektedir (Lafka ve ark., 2011). Zeytinyağı fabrikası yan ürünleri içerdikleri bu fenolik bileşikler nedeniyle doğal antioksidanların mükemmel kaynağı olmaktadırlar.

Genel olarak rafine yağların oksidatif stabilitesinin artmasında sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak bu sentetik katkılardan bütillenmiş

hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), propil galat, tersiyer bütıl hidrokinon gibi bileşiklerin insan sağlığına olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır (De Medina ve ark., 2011). BHA'nın sıçanların midelerinde lezyonlara, BHT'nin yüksek dozlarda farelere ve domuzlara verildiğinde ölümle sonuçlanan iç ve dış kanamalara neden oldukları belirtilmiştir. BHT ve BHA'nın sıvı ve katı yağlara ilave edilebileceği maksimum doz ise 200 mg/kg olarak bildirilmiştir. Ancak bu bileşiklerin kanserojen olma ihtimalleri nedeniyle kullanımları sınırlıdır (Orozco-Solano ve ark., 2011). Diğer taraftan çeşitli araştırmacılar BHT ve BHA'nın uçucu olduklarını, yüksek sıcaklıklarda parçalandıklarını ve oksidasyon sırasında istenmeyen kokunun oluşumunu önleyemediklerini bildirmektedirler (Zhang ve Weng, 2004; Farag ve ark., 2007).

Belirtilen nedenlerden dolayı sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımları tercih edilmektedir. Doğada bulunan bazı tıbbi ve aromatik birkiler doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılmaktadır. Çeşitli gıdaların işlenmesi sırasında açığa çıkan atıklar veya yan ürünler antioksidan kaynağı olarak kullanılmaktadır. Yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmesi ve ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi sayesinde antioksidan maddeler daha hızlı ve kolay elde edilebilmektedir (Farag ve ark., 2007; De Medina ve ark., 2011).

Olea europaeae olarak bilinen zeytin ağacı yaprakları ve zeytinyağı üretimi sırasında açığa çıkan karasu ve pirinadan ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri ve lipit oksidasyonunda kullanılmaları ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda farklı ekstraksiyon teknikleri ile ekstraktların hazırlanması, bu ekstraktlardan fenolik maddelerin saflaştırılması veya

fraksiyonlanarak belirli fenolik bileşiklerin elde edilmesine yönelik işlemler uygulanmıştır (Frag ve ark., 2007; Dejong ve Lanari, 2009; Cioffi ve ark., 2010; Orozco-Solano ve ark., 2011).

Bu çalışmanın amacı, zeytinyağı endüstrisi yan ürünlerinden olan karasu ve pirinadan elde edilen ekstraktların fenolik madde miktarlarının belirlenmesi, antioksidan kapasitelerinin çeşitli yöntemlerle saptanması, ayçiçek yağının oksidasyonunun önlenmesinde antioksidan olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır. Hızlandırılmış oksidasyon koşullarında 60 °C’da ekstraktların yalnız başlarına ve lesitin ile birlikte kullanıldıklarında hem ayçiçek yağı, hem de saflaştırılmış trigliseritlerin oksidatif stabilitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Diğer taraftan 180 °C’da 40 saat ısıtma ve 6 günlük derin yağda kızartma işlemleri sırasında ayçiçek yağının çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine ekstrakt ve lesitin etkisi de değerlendirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAşTIRMASI

2.1. Natürel Zeytinyağı Üretimi

Natürel zeytinyağları, zeytin ağacı meyvesinden, doğal özelliklerini değiştirmeyecek bir sıcaklıkta sadece mekanik işlemler uygulanarak elde edilen, berrak, yeşilden sarıya değişebilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda, doğal olarak tüketilebilen yağlardır. Dünya’da yaklaşık yıllık 2.5 milyon ton zeytinyağı üretiminin % 98’i Akdeniz ülkelerinde, bu değerin yarısı ise tek başına İspanya’da gerçekleşmektedir. Ülkemizde ise yıllık 150.000 ton zeytinyağı üretimi gerçekleştirilmektedir (Göğüş ve ark., 2009).

Natürel zeytinyağı üretimi, zeytinlerin hasadı, yaprak ayırma ve yıkama, zeytinin kırılması, ezilmesi ve oluşan hamurun yoğrulması, zeytin hamurunun (katı pirina) ve sıvı fazların) preslenmesi, santrifüj dekantasyon ve sinolea gibi yöntemlerle ayrılması, yağdaki karasuyun uzaklaştırılması, yağın süzülmesi ve depolanması aşamalarını içermektedir (Kayahan ve Tekin, 2006).

Üç fazlı santrifüj sisteminde zeytin hamuruna su ilave edilerek yumuşatılmakta ve ardından santrifüj dekantörlere verilmektedir. İşlem sonrasında yağ, karasu ve pirina olarak üç ayrı faz elde edilmektedir. Ancak karasu ve yağ fazları tam olarak birbirinden ayrılamamaktadır. İki fazlı santrifüj sisteminde ise yağı sadece sıvı ve katı olmak üzere iki faza ayıran santrifüj dekantörler kullanılmaktadır. Santrifüj

dekantörlerden alınan sıvı faz dikey seperatörlere verilerek, yağ ile karasuyun birbirinden tam olarak ayrılımları sağlanmaktadır (Kayahan ve Tekin, 2006).

Zeytin hamuruna su ilave edilmesi yağda var olan doğal antioksidan miktarını azaltırken, karasu miktarının artmasına neden olmaktadır. Dışarıdan sıcak su ilave etmek yerine karasuyu devir daim ettirmek bu sorunu çözebilmektedir. Bu şekilde yapılan uygulamada karasu miktarında % 35-40 oranında bir azalma ve toplam fenol miktarında % 30'luk bir artış sağlanmaktadır (Göğüş ve ark., 2009).

2.2. Zeytinyağı Üretiminde Elde Edilen Yan Ürünler

Zeytinin toplanması ve yağının çıkarılmasından önceki temizleme-harmanlama işlemleri sırasında zeytin yaprakları ile zeytinden yağ çıkarılması sonucunda zeytin karasuyu ve zeytin çekirdeği + posasından oluşan pirina olmak üzere üç farklı yan ürün elde edilmektedir. Zeytinin yağa işlenmesi sürecinde toplam ağırlığının % 20'si oranında zeytinyağı, % 40'ı oranında pirina ve % 40'ı oranında ise karasu elde edilmektedir. Ülkemizde yılda ortalama 1 milyon ton zeytin yağa işlenmekte, 200 bin ton yağ yanında, 400 bin ton karasu ve 400 bin ton pirina elde edilmektedir (Kayahan ve Tekin, 2006; Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).

2.3. Pirinanın Özellikleri ve Değerlendirilmesi

Pirina, zeytinin fiziksel işlemler uygulanarak yağının ve suyunun büyük kısmı alınmış küspesine verilen isimdir. Pirinadan elde edilen en önemli yan ürün pirina yağıdır. Bu yağ kozmetik ve sabun sanayinde kullanılabildiği gibi, rafine edildikten

sonra yemeklik yağ olarak da kullanılmaktadır. Yağı alınmış pirina ise katı yakıt, hayvan yemi, gübre, biyogaz, aktif karbon ve fenolik bileşiklerin üretiminde kullanılmaktadır (Göğüş ve ark., 2009).

Pirina işletmelerde, sıcak su ve buhar üretiminde, elektrik üretiminde, kireç ocaklarında ve merkezi kalorifer sistemlerinde kullanılmaktadır. Hayvan yemi olarak kullanımında yağsız pirinanın asitliğinin ayarlanması, çekirdek parçalarının uzaklaştırılması ve protein bakımından fakir olması nedeniyle proteince zenginleştirilmesi gereklidir. Gübre olarak kullanılmasının en önemli getirisi atığın taşıdığı yüksek miktardaki besleyici bileşenlerin toprağa doğal yollarla kazandırılmasıdır (Göğüş ve ark., 2009).

Pirina lipitler, şekerler, organik asitler, mineral maddeler ve fenolik bileşikler bakımından zengindir (Kayahan ve Tekin, 2006). 100 g yağsız pirinada yaklaşık 0.27-0.29 g polifenol (oleuropein, hidroksitirozol ve tirozol), tokoferol ve flavonoit (apigenin, kuersetin, luteolin vb.), 70.0-79.3 g selüloz, 3.54-4.75 g kül, 107.1-195.4 mg polialkol (mannitol) bulunmaktadır (Göğüş ve ark., 2009).

Zeytin küspesinde bulunan fenolik bileşiklerin ise hidroksitirozol, oleuropein, tirozol, *p*-kumarik asit, vanilik asit, verbaskozit, elenolik asit, kateşol ve rutin olduğu bildirilmektedir. Alu'datt ve ark. (2010) zeytin küspesindeki fenolik bileşiklerin % 75-90'ının serbest halde bulunduğunu, % 10-25'inin ise bağlı formda olduğunu bildirmişlerdir. Serbest fenolik bileşiklerin metanol kullanılarak ekstrakte edilebildiğini, bağlı fenoliklerin ise bazik ve asidik hidroliz sonrasında metanol ile ekstrakte edildiğini belirtmişlerdir.

2.4. Karasuyun Özellikleri ve Değerlendirilmesi

Zeytinin geleneksel yöntemle preslenmesi, iki veya üç fazlı yöntemlerle yağa işlenmesi sırasında zeytinde bulunan özsu, zeytin yıkama suları, işleme sırasında ilave edilen su ve pirinadan sızan suyun tümü karasu olarak değerlendirilmektedir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011). Karasu esas olarak zeytinde bulunan maddeleri içermektedir. Bunlar % 82.5 su, % 1.8 anorganik bileşikler, % 2.0 azotlu bileşikler, % 7.5 şeker, % 1.5 organik asitler, % 1.5 poli alkoller, % 1.5 pentoza ve tanendir (Kiritsakis, 1998).

Zeytin karasuyu koyu kahverengi-menekşe tonlarında, kuvvetli zeytinyağı kokusuna sahip, kimyasal oksijen ihtiyacı değeri 220 g/L'ye kadar çıkabilen, pH'sı 3-5.9 arasında değişen, yüksek polifenol içeriği (3-80 g/L) ve yüksek katı madde içeriğine (20 g/L) sahip olan sıvı yan üründür. Çok yüksek konsantrasyonlarda biyolojik oksijen ihtiyacı, kimyasal oksijen ihtiyacı, askıda katı madde, yağ ve gres ve fitotoksik özelliği olan çeşitli fenol ve polifenol bileşikleri içermeleri, karasuyun önemli bir kirlileme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Göğüş ve ark., 2009).

Karasuyun yarattığı çevre kirliliğini azaltmak amacıyla üç fazlı sürekli sistem yerine karasu ve pirinayı birlikte veren iki fazlı sistemler kullanılmaktadır. Zeytinden iki fazlı dekantör ile yağ üretildiğinde yarı katı formdaki yan ürün elde edilmektedir. Bu ürün % 65-70 nem içermektedir. Benzer şekilde içerdiği şekerler, tanen, polialkoller, lipitler ve fenoller nedeniyle çevre için oldukça tehlikeli bir atıktır (Laque de Castro ve Japon-Lujan, 2006).

Zeytin karasuyunun miktarı işletme koşulları ve prosese (presleme, santrifüj veya sinolea) bağlı olarak değişmekle birlikte 0.5-1.68 m³/ton zeytin arasındadır. Ülkemizde her yıl yaklaşık olarak 880.000 m³ zeytin karasuyu oluşmaktadır. Zeytin karasuyunun belirtilen kirletici özelliklerinden dolayı 1 m³'ünün yaklaşık olarak 200 m³ evsel atık suya eşdeğer olduğu bildirilmektedir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).

Genel olarak zeytinyağı işletmelerinde proses sonrası karasu dinlendirme havuzlarında bekletilmektedir. Yüzeyde toplanan yağ alındıktan sonra güneşin etkisiyle buharlaşması sağlanmaktadır. Konsantre edilmesinde yakıt kullanımı masraflı olmaktadır. Toprağa verilmesi toprağa organik gübre ile mineral madde sağlamasına rağmen sınırlı düzeyde uygulanmaktadır. Karasuyun arıtımında ise biyolojik, kimyasal, fiziksel ve bunların kombine edildiği teknolojik prosesler uygulanmaktadır. Tek hücre proteini, maya, lipaz enzimi ve metan gazı üretiminde kullanımı gibi çeşitli değerlendirme yolları üzerine çalışmalar da devam etmektedir (Kayahan ve Tekin, 2006; Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).

Polifenollerin karasudaki miktarı pirinadaki miktarından daha fazladır. Çünkü bu bileşikler suda kolaylıkla çözündüğünden zeytinin işlenmesi sırasında büyük oranda karasuya geçmektedir. Fenolik bileşiklerin karasudaki miktarı 10 g/L'yi aşmaktadır. Karasuda bulunan fenolik asitler kumarik, vanilik, protokateşik, dihidrokafeik, dihidroksisinnamik, sinnamik, 2,6-dihidroksibenzoik, *p*-hidroksifenilasetik, 3,4,5-trihidroksibenzoik ve gallik asittir. Bunlara ek olarak fenol alkollerden 4-hidroksifenil alkol, 3,4-hidroksifeniletanolün varlığı saptanmışken, oleuropein, 4-monoglikozit, diglikozit, apigenin siyanidin, luteolin-7-glikozit ile kuersetin ve

flavonlar belirlenmiştir (Kayahan ve Tekin, 2006; Laque de Castro ve Japon-Lujan, 2006).

Karasuda bulunan serbest fenoller çeşitli mikroorganizmaların gelişmesini önlemektedir. Bu serbest fenoller zeytin pulpunda bulunan glikozitlerin ve esterlerin enzimatik hidrolizi sonucu oluşmaktadır. Karasudaki fenolik bileşikler çevreye zararlı bileşikler olarak değerlendirilmektedir (Laque de Castro ve Japon-Lujan, 2006).

2.5. Karasu, Pirina ve Zeytin Yaprak Ekstraktlarının Antioksidan Olarak Kullanımı

Akdeniz diyetinde önemli bir yere sahip olan zeytinin ve zeytinyağının sağlıklı uzun bir yaşam sağladığına inanılmaktadır. İçerdiği fenolik bileşikler nedeniyle doğal fonksiyonel gıdalar olarak adlandırılmaktadırlar. Fenolik bileşiklerin antioksidatif, antimutajenik, antikarsinojenik, antiglisemik etkileri olduğu belirlenmiştir (Marsilio ve ark., 2001).

Fenolik bileşikler diyetle en sık rastlanan antioksidanlardandır. Gıdalarda fenolik bileşiklerin antioksidan işlevi yanında insan sağlığına olumlu etkileri olduğu da bildirilmektedir. Oleuropein türevlerinin ve bazı flavonoidlerin düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu önledikleri belirlenmiştir (Suárez ve ark., 2009).

Fenolik bileşikler çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etkide bulunarak insan beslenmesinde önemli rol oynarlar. Dokuları oksidasyona karşı korurlar. Bazı

alışmalar serbest radikaller nedeniyle oluşabilecek oksidatif değişimlere karşı koruyucu etkiye sahip olduklarını, antioksidatif etkileri nedeniyle kalp damar rahatsızlıklarını ve çeşitli kanser tiplerinin gelişimini nlediklerini göstermiştir (Boskou ve ark., 2006).

Fenolik bileşikler hidrofilik yapıdadırlar. Hidroksitirozol, tirozol, sekoiridoitler ve bunların konjuge formları zeytinyağında bulunmaktadır. Bu fenolik bileşikler aktif radikallerle birleşerek veya peroksi ve alkoksi radikalleri ile reaksiyona girerek lipit oksidasyonu engellemektedir (Orozco-Solano ve ark., 2011).

Zeytinyağı retimi sırasında uygulanan işlemlerden kırma, zeytin meyvesinin hücresel parçalanmasına neden olurken, yoğurma işlemi ile hücresel içeriğin karışması sağlanmaktadır. Bu iki proses sonucu oleuropeinin ve ligstrositin moleküler yapısında değişimler gerçekleşmekte, oleuropein ve ligstrosit aglikonları gibi sekoiridoit türevleri oluşmaktadır (Surez ve ark., 2009).

Zeytinyağı işleme prosesi sırasında zeytin hamurundan karasuya geçen oleuropein gibi sekoiridoit yapısındaki bileşiklerin karasudaki enzimlerin etkisi ile hidroliz olarak hidroksitirozol ve tirozol gibi aglikon yapısındaki bileşiklere dönüştüğü bildirilmiştir (De Medina ve ark., 2011).

Zeytin karasuyundan fenolik bileşiklerin eldesi çözücülerle ekstraksiyon, reğine kromatografisi, ultrafiltrasyonla seçici konsantrasyon, ters osmoz, katı-sıvı veya sıvı-sıvı ekstraksiyon, süperkritik sıvı ekstraksiyonu gibi yöntemlerle gerçekleştirilmektedir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).

Çeşitli araştırmacılar karasudan fenolik maddelerin ekstraksiyonu, karakterizasyonu ve lipit oksidasyonunun önlenmesinde kullanımına yönelik çalışmalar yapmışlardır. Bunlardan birinde De Marco ve ark. (2007) sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi uygulayarak asitlendirilmiş karasudan etil asetat ile fenolik maddeleri ekstrakte ettikten sonra katı faz ekstraksiyon yöntemi ile fraksiyonlarına ayırmışlardır. Asitlendirme işleminin karasuda yer alan proteinlerin çökmesine neden olduğunu ve bu yolla hücre duvarına bağlı olan biyofenollerin ayrılmasının kolaylaştığını ve fenolik bileşiklerin organik çözücülerdeki çözünürlüğünün arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca asitlendirme işleminin kompleks fenolik bileşiklerin hidroliz sonucu fenolik monomerlere dönüşümünü sağladığını da belirtmişlerdir. Ekstraksiyonda doğrudan etil asetat kullanıldığında elde edilen ekstraktın 20 ppm, asitlendirme sonrası hazırlanan ekstraktın ise 1224 ppm hidroksitirozole sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu yöntemle antioksidan kapasitesi yüksek olan hidroksitirozolün kimyasal veya enzimatik senteze gerek kalmadan ucuza, kolay ve basit bir ekstraksiyon yöntemi ile elde edilebileceğini ve bu yöntemin sanayiye aktarılabilirliğini öne sürmüşlerdir.

Başka bir çalışmada Lafka ve ark. (2011) karasudan antioksidan bileşikleri ekstrakte etmede farklı ekstraksiyon yöntemlerini kullanmışlardır. Bu yöntemler çözücü ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemleri olmuştur. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu, ancak ekstraksiyon veriminin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çözücü ekstraktlarından etanol ekstraktının antiradikal aktivitesinin yüksek olduğunu, ayçiçek yağına ilave edildiğinde askorbil palmitat ve vitamin E'ye kıyasla daha yüksek indüksiyon periyoduna sahip olduklarını saptamışlardır. HPLC analizi

sonucunda elde edilen ekstraktlarda en fazla olan bileşenin ise hidroksitirozol olduğu belirlenmiştir.

Diğer taraftan Fki ve ark. (2005) sürekli ve ters akışlı bir ekstraksiyon ünitesinde zeytin karasuyundan fenolik maddeleri etil asetat ile ekstrakte etmişlerdir. Hem karasu ekstraktının hem de saflaştırılmış fraksiyonlarının antiradikal ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Saf hidroksitirozol ve 3,4-dihidroksifenil asetik asitin radikal yakalama gücünün ve β -karoten linoleik asit sisteminde antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Her bir fenolik bileşiğin zeytinyağı ve pirina yağı üzerine antioksidatif etkileri ise 50 °C’da hızlandırılmış oksidasyon koşullarında araştırılmıştır. 3,4-hidroksitirozol ilave edilen yağın peroksit sayısının hidroksitirozol içeren yağinkinden daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca 500 ppm ekstrakt ilave edilen yağın peroksit sayısının BHA, *p*-hidroksi-fenil asetik asit ve tirozol içeren yağların peroksit sayısından düşük olduğu bildirilmiştir.

Pişmiş et ürünlerinde lipit oksidasyonu istenmeyen tat ve kokunun ve toksik bileşiklerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu değişimi önlemek veya azaltmak amacıyla uzun yıllar sentetik antioksidanlar kullanılmıştır. Ancak bu antioksidanların sağlığa zararlı etkileri olduğu saptandığından doğal kaynaklardan elde edilen katkıların et ürünlerinde kullanımı gündeme gelmiştir (Dejong ve Lanari, 2009).

Dejong ve Lanari (2009) iki fazlı santrifüj sistemi ile elde edilen karasudan hazırlanan ekstraktları 50 veya 100 mg/kg düzeyinde dana eti ve domuz etine ilave etmişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre ekstrakt ilavesi ette 2-tiobarbütirik asit aktif bileşiklerinin oluşumunu azaltmıştır. Çay ve şarap ekstratları ile kıyaslandığında

karasu ekstraktının çay ve şarap ekstraktı arasında aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. HPLC analizi sonucunda ise karasu ekstraktının % 70.6 hidroksitirozol, % 17.5 tirozol, % 9.5 kafeik asit , % 1.9 *p*-kumarik asit ve % 0.3 vanillik asit içerdiği belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada ise De Leonardis ve ark. (2007) ise karasu ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda (50-350 mg/kg) domuz i yağına ilave edildiğinde yağın indüksiyon periyodunu artırdığını bildirmişlerdir. Bu nedenle karasu ekstraktlarının domuz yağının oksidatif stabilitesinin artırılmasında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Zeytinyağı etimi sırasında uygulanan iki fazlı santrifüj sisteminde fenolik bileşiklerin % 2'si yağa geçerken, geri kalanı sulu pirinaya geçmektedir. Zeytinyağında polifenollerin ağırlıkça oranı % 0.005-0.12 iken, sulu pirinada % 0.87'ye kadar yukselmektedir. Sulu pirina zeytinyağına kıyasla 100 kat daha fazla fenolik madde içermektedir. Pirinada yer alan en önemli fenolik bileşikler; fenolik alkoller, fenolik asitler, sekoiridoit türevleri, lignanlar ve flavonoidlerdir. Bu fenoliklerin çeşitli çalışmalarda antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bu çalışmalarda 3,4-dihidroksil grubuna sahip olan fenoliklerle, aromatik halkaya bağlı 3, 4, 5-trihidroksi yapısını içerenlerin (oleuropein ve türevleri, luteolin ve apigenin gibi bazı flavonlar) radikal yakalama gücünün yüksek olduğu saptanmıştır (Surez ve ark., 2009; De Medina ve ark., 2011).

Obied ve ark. (2007) iki farklı zeytin çeşitinin (Frantoio ve Mission) retim atığı olan pirinaların antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Mission eşitine ait pirinanın toplam fenolik madde içeriğinin ve β -karoten ağartma metodu ile belirlenen

antioksidan aktivitesinin diğer çeşitten elde edilene kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada Obied ve ark. (2008) iki-fazlı santrifüj dekantörden aldıkları pirinanın fenolik bileşiklerini incelemişlerdir. Fenolik bileşikler ekstrakte edildikten sonra katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmış ve HPLC ile bu fraksiyonlar incelenmiştir.

Zeytin ağacının yaprakları da meyveleri gibi fenolik maddelerce zengindir. Zeytin yaprağında yer alan fenolik bileşikler oleuropein, ligstrosit, dimetiloleuropein ve oleosit sekoiridoit yapısındaki bileşiklerdir. Zeytin yaprağının fenolik madde miktarının ise % 1 ile % 14 arasında olduğu bildirilmektedir. Zeytinyağı ve diğer bitkisel yağlarda zeytin yaprak ekstraktının kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Chiou ve ark., 2009; De Medina ve ark., 2011).

De Medina ve ark. (2011) zeytin yaprağı ve pirinadan elde edilen ekstraktları 200 ve 400 µg/mL düzeyinde olacak şekilde mısır özü yağı, soya yağı, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve kolza yağlarına ilave ederek yağlara geçen fenolik maddelerin bileşimini ve düzeylerini belirlemişlerdir. Ekstrakt ilavesinin yağın peroksit sayısını düşürdüğünü, indüksiyon periyodunu ise artırdığını bildirmişlerdir.

Cioffi ve ark. (2010) zeytinyağı, zeytin küspesi ve zeytin yaprağından fenolik maddeleri ekstrakte ederek fenolik madde bileşimlerini, toplam fenolik madde miktarlarını ve 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini yakalama güçlerini belirlemişlerdir. Toplam fenolik madde miktarı ile DPPH radikallerini yakalama güçleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. En yüksek fenolik madde miktarı zeytin yaprak ekstraktında saptanırken, bu ekstraktın DPPH

radikallerinin % 50'sinin indirgenmesi için gerekli miktarı (EC₅₀) en düşük olmuştur. Zeytin pirinası ise zeytinyağı ve zeytin yaprak ekstraktı arasında bir EC₅₀ değerine sahip olmuştur.

Bouaziz ve ark. (2008) zeytin yaprağından antioksidan maddeleri % 80'lik metanol ile ekstrakte etmişlerdir. Sıvı haldeki metanol ekstraktına asit uygulanması kompleks yapıdaki fenolik bileşiklerin hidrolizini sağlamıştır. İşlem sırasında oleuropein miktarında azalma ve hidroksitirozolün miktarında artış gerçekleşmiştir. Uygulanan saflaştırma işlemi sonrasında ise 100 g zeytin yaprağından 2.3 g hidroksitirozol elde edilmiştir.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında yağ sıcaklığı 160-180 °C arasında olup, hızla ısıнын gıdaya transferi gerçekleşmekte ve kısa sürede gıda pişmektedir. Ancak, kızartma sırasında ısı transfer ortamı olan yağda birtakım fiziksel ve kimyasal değişimler açığa çıkmaktadır.

Oksijen varlığında gıda nemi ve yüksek sıcaklık yağda üç farklı bozulma reaksiyonuna neden olmaktadır. Gıdadan gelen su nedeniyle hidroliz, oksijen varlığında oksidasyon ve oksijen ile ısı nedeniyle termal oksidasyon gerçekleşmektedir. Bu kompleks reaksiyonlar sonucu çeşitli polimerizasyon ürünleri açığa çıkmaktadır. Oluşan bozulma ürünleri yağın ve gıdanın tat ve kokusunda istenmeyen değişimlere neden olurken, yağın kullanım ömrü de kısalmaktadır. Oksidasyon sonucu oluşan acımsı tat, gıdanın duyuşal kalitesini düşürmekte ve oluşan okside ürünler sağlığı tehdit etmektedir (Mariod ve ark., 2006; Şahin ve Sumnu, 2009).

Orozco-Solano ve ark. (2011) pirina ekstraktı veya dimetilsiloksan ilave edilmiş ayçiçek yağlarının 180 °C'daki 20 seferlik tekrarlı ısıtılmasında, fenolik madde bileşimi ve tokoferol içeriğindeki değişimi incelemişlerdir. Pirina ekstraktı içeren ayçiçek yağının tirozol, sekoiridoit türevleri, luteolin, hidroksitirozol asetat, vanilik asit, ferulik asit ve kumarik asit içeriklerinde ısıtma süresince çok az değişim olduğu saptanmıştır. Ayçiçek yağının tokoferol içeriği üzerine ekstrakt ilave edilmesinin ise fazlaca etkisi olmamıştır. Pirina ekstraktının yağın fenolik maddelerce zenginleştirilmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Chiou ve ark. (2007) zeytin yaprak ekstraktı ile zenginleştirilen yağlarda patates kızartılması sırasında hem yağda hem de patateslerde fenolik madde dağılımını incelemişlerdir. Bu amaçla palm yağı, zeytinyağı ve ayçiçek yağına 120 ve 240 ppm düzeyinde zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmiştir. Hem ekstrakt ilave edilmiş hem de edilmemiş yağlarda tavada kızartma yöntemi ile patates kızartılarak fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi ile saptanmıştır. Ayrıca yaprak ekstraktının fenolik madde bileşimi HPLC ile tayin edilmiş, en baskın olan fenolik bileşiğin oleuropein olduğu bildirilmiştir. Hem ekstrakt ile zenginleştirilmiş yağların hem de bu yağlarda kızartılan patateslerin yüksek oranda oleuropein içerdiği bildirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan kızartılmış patateslerin tüketilmesi ile rafine yağlarda kızartılan patateslere kıyasla 6-31 kat daha fazla oranda fenolik bileşiğin vücuda alınabileceği öne sürülmüştür.

Benzer bir çalışmada Chiou ve ark. (2009) zeytin yaprak ekstraktı ilave edilmiş ve edilmemiş yağların fenolik madde miktarlarını ve DPPH radikallerini indirgeme güçlerini saptamışlardır. Bunların yanında ekstrakt ilavesinin yağlardaki tokoferol,

sterol ve skualen düzeyleri üzerine etkileri de incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre zenginleştirme yapılan yağların daha yüksek oranda fenolik madde ve tokoferol içeriğine sahip olduğu, oksidatif stabilitesinin ve antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu, ancak sterol ve skualen içeriğinin ekstrakt ilave edilmesinden etkilenmediği belirlenmiştir. Buna karşılık ekstrakt ilave edilmiş yağlarla hazırlanan patateslerin ilave yapılmayanlara kıyasla daha yüksek polifenol, tokoferol, sterol ve skualen içerdiği ve antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Farag ve ark. (2007) zeytin yaprağından elde edilen sıvının ayçiçek yağının 180 °C'a ısıtılması sırasında oksidatif stabilitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Ayçiçek yağına fenolik madde düzeyi 400, 800, 1600 ve 2400 ppm olacak şekilde bu sıvıdan ilave edilmiştir. Günde 5 saat olacak şekilde 5 gün boyunca ayçiçek yağı 180 °C'da tutulmuştur. Gün sonunda alınan yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki değişim araştırılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde 800 ppm düzeyinde fenolik ile zenginleştirilen ayçiçek yağlarının oksidatif stabilitesinin BHT içeren yağlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan karasu ve pirina iki fazlı santrifüj sistemi ile üretim yapan bir zeytinyağı işletmesinden (Laleli Taylıeli Zeytin ve Zeytinyağı İşletmesi, Burhaniye, Balıkesir) temin edilmiş ve -18 °C’da depolanmıştır.

Oksidasyon çalışmalarında kullanılan rafine ayçiçek yağı ve dondurulmuş parmak patatesler (0.9 x 0.9 cm x 6/8 cm) bir marketten temin edilmiştir. Dondurulmuş parmak patates üretiminde, belirli ölçülerde kesilmiş olan parmak patatesler haşlama ve kurutma işlemleri sonrasında bitkisel sıvı yağ içinde ön kızartma işlemine tabi tutulmuştur.

Analizlerde kullanılan reaktifler Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır. DPPH reaktifi, linoleik asit (% 99), β -karoten (% 99), α - tokoferol (% 95), BHT, BHA ve lesitin (soya lesitini, tip II-S, % 14-23 fosfatidil kolin içeren) Sigma-Aldrich (St Louis, ABD) firmasından alınmıştır. *p*-anisidin reaktifi, 2,2'-dipiridil (% 99) ve demir (III) klorür hekzahidrat ise Acros Organics (New Jersey, ABD) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karasu ve pirinanın bazı özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan karasu ve/veya pirinanın pH'sı, oksitlenme indirgenme potansiyeli, elektriksel iletkenliği ve çözünmüş oksijen miktarı Thermo Orion Star multi parametre ölçer (Thermo Scientific, ABD) ile belirlenmiştir. Kuru madde miktarı etüvde kurutma yöntemi, yağ miktarı kloroform-metanol metodu, toplam fenolik madde miktarı ise Folin-Ciocalteu metodu ile tespit edilmiştir.

3.2.2. Ekstraktların hazırlanması

100 g karasu ve 20 g pirina 250 mL'lik erlene tartıldıktan sonra üzerine 100 mL etanol veya metanol ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda 150 rpm çalkalama hızında 1 saat tutulmuştur. Bir gece çözücü içerisinde bekletildikten sonra kaba filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiş ve kalıntı üzerine tekrar 100 mL çözücü ilave edilerek ikinci bir ekstraksiyon işlemi daha yapılmıştır. Ardından ekstraktlar birleştirilmiştir.

Karasu ve pirina ekstraktı içinde bulunabilecek olan yağı uzaklaştırmak amacı ile 50 mL hekzan ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 20 dakika karıştırılmıştır. Süre sonunda ayırma hunisi kullanılarak alkol:su ve hekzan fazı ayrılmıştır. Hekzan fazı uzaklaştırıldıktan sonra alkol:su fazı Whatman 1 nolu filtre kağıdından filtre edilmiştir. Sulu alkol fazı döner buharlaştırıcı kullanılarak 50 °C'da vakum altında buharlaştırılmıştır.

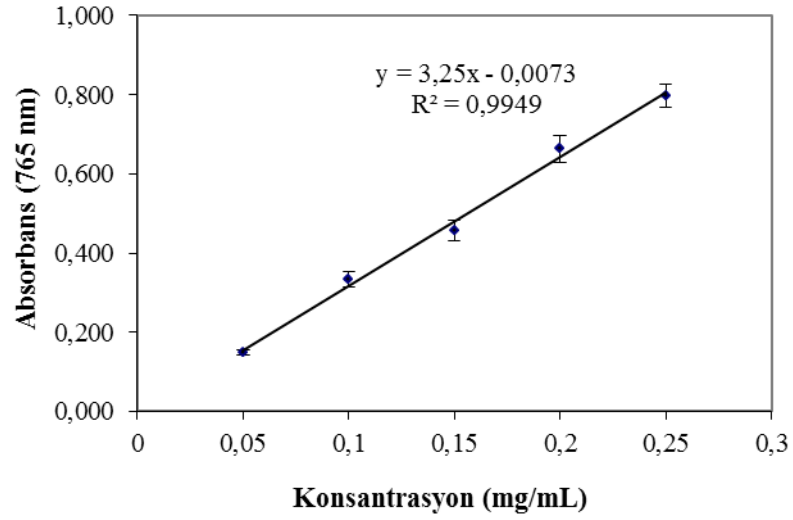
Balon içindeki ekstrakt renkli bir şişeye aktarıldıktan sonra üzerine 20 dakika azot gazı verilmiş, bu şekilde kalmış olabilecek alkol uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt içinde bulunan su ise dondurarak kurutma ünitesi kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kuru ekstrakt miktarı belirlenerek ekstraksiyon verimi g/100 g şeklinde hesaplanmıştır. Kuru liyofilize ekstraktlar analizler gerçekleştirilene kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde tayini

Folin-Ciocalteu metodunun ilkesi; fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip, kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda indirgenen ayracın mavi rengi spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Örneğin toplam fenolik madde miktarı ise gallik asit veya kafeik asit gibi bir fenolik bileşik ile hazırlanan kalibrasyon doğrusunun denkleminde yararlanılarak hesaplanmaktadır (Cemeroğlu, 2010).

Ekstraktların fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yönteminden yararlanılarak Iqbal ve ark. (2008)' göre belirlenmiştir. 0.01 g kuru liyofilize ekstrakt 5 mL damıtık su içinde çözülmüştür. Bu sulu çözeltiden 0.2 mL alınarak üzerine Folin-Ciocalteu reaktifinden (1:3 oranında seyreltilmiş) 0.8 mL, % 7.5'lik (w/v) Na_2CO_3 çözeltisinden ise 2 mL aktarılmıştır. 4 mL saf su ilavesinden sonra 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve süre sonunda santrifüj edilmiştir. Şahit deneme için 0.2 mL saf su kullanılmış, diğer işlemler aynen uygulanmıştır. UV-visible spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) kullanılarak 765 nm'de şahite karşılık absorbans okunmuştur.

Fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden verilmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlardaki (0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25 mg/mL) gallik asit çözeltilerinden yararlanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır. Doğrunun denklemi $Y=3.25x-0.0073$ ($R^2=0.9949$) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılan gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon doğrusu

3.2.4. Farklı konsantrasyonlarda karasu ve pirina ekstraktlarının hazırlanması

Etanol veya metanol ile hazırlanan liyofilize haldeki karasu ve pirina ekstraktları kullanılarak 0.5, 1, 2 ve 3 mg/mL konsantrasyonlarda % 50'lik (v/v) sulu alkol içinde çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.5. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi

3.2.5.1. DPPH radikallerini yakalama gücünün belirlenmesi

Bu yöntem, antioksidan bileşiklerin mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH[•] radikalini indirgeme yeteneklerinin ölçülmesine dayanmaktadır. Mor renkli DPPH[•] radikal çözeltisi, antioksidan aktiviteye sahip ekstrakt ile karıştırılınca, antioksidan bileşik ortama bir hidrojen atomu vererek stabil yapıdaki DPPH formunun oluşmasına neden olmaktadır. Bu dönüşüm sırasında eş zamanlı olarak yoğun mor renk (DPPH[•]) kaybolmakta ve indirgeme sonucu sarı renk (DPPH) oluşmaktadır (Cemeroğlu, 2010).

0.025 g/L konsantrasyonda metanolde hazırlanmış DPPH reaktifinden 4 mL alınarak üzerine 0.1 mL farklı konsantrasyonlardaki (0.5, 1, 2 ve 3 mg/mL) karasu veya pirina ekstraktı ilave edilmiştir. Çalkalandıktan sonra 20 dakika karanlıkta bekletilmiş ve 517 nm’de metanole karşılık absorbans okunmuştur. Kontrol denemede aynı işlemler uygulanmış, ancak ekstrakt çözeltisi yerine 0.1 mL etanol veya metanol kullanılmıştır. Radikal yakalama gücü kontrol ve ekstrakt için okunan absorbans değerleri dikkate alınarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Karasu ve pirina ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama gücü 0.2 mg/mL konsantrasyondaki BHT, BHA ve α - tokoferolün sahip olduğu değerler ile kıyaslanmıştır (Kulisic ve ark. 2004; Nor ve ark., 2008).

$$\% \text{ DPPH radikallerini yakalama gücü} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol denemede okunan absorbans değeri

$A_{\text{örnek}}$: Karasu veya pirina ekstraktı ile hazırlanan denemede okunan absorbans değeri

3.2.5.2. Linoleik asit emülsiyonunda konjuge dien metodu kullanılarak antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Antioksidan varlığında linoleik asidin okside olma derecesi 234 nm’de oksidasyon ürünlerinin belirlenmesiyle saptanmaktadır. Karasu ve pirina ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri linoleik asit emülsiyonunda konjuge dien metodu ile belirlenmiştir. Yöntemde 0.02 M linoleik asit emülsiyonu kullanılmaktadır. 0.02 M linoleik asit emülsiyonunun hazırlanması için 0.2804 g linoleik asit ve 0.2804 g Tween 20 tartılarak bir miktar 0.05 M derişimde pH’sı 7.4 olan potasyum fosfat tamponu ile çözündürölmüş ve aynı tampon ile 50 mL’ye tamamlanmıştır. Emülsiyonun stabil olması için ultrasonik su banyosunda tutulmuş ve iyice çalkalanmıştır.

Analiz sırasında bu emülsiyondan her numune için 2.5 mL alınarak, üzerine farklı konsantrasyonlardaki 0.5 mL ekstrakt (0.5, 1, 2 ve 3 mg/mL) ve 2 mL 0.2 M pH’sı 7.0 olan potasyum fosfat tamponundan ilave edildikten sonra şişe içeriğı iyice çalkalanmıştır. Aynı işlemler kontrol deneme için 0.5 mL ekstrakt yerine etanol/metanol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şişeler etüvde 37 °C’de karanlıkta kapaksız olarak 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Oksidasyon derecelerini saptayabilmek için inkübasyon sonunda her şişeden 0.1 mL alınarak içinde 6 mL %

60'lık (v/v) metanol bulunan tüpe aktarılmıştır. Aynı işlemler oksidasyon öncesi ayrılan numuneler için de tekrarlanmıştır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri oksidasyon öncesi ve sonrasında absorbans değerlerindeki değişim dikkate alınarak hesaplanmıştır. Karasu ve pirina ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri 0.2 mg/mL konsantrasyondaki BHA, BHT ve α -tokoferol gibi antioksidanların sahip oldukları değerler ile kıyaslanmıştır (Mau ve ark., 2004; Iqbal ve ark., 2008).

$$\% \text{ Antioksidan Aktivite} = ((\Delta A_{\text{kontrol}} - \Delta A_{\text{örnek}}) / \Delta A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

$\Delta A_{\text{kontrol}}$: İnkübasyon öncesi ve sonrasında kontrolün absorbansındaki değişim

$\Delta A_{\text{örnek}}$: İnkübasyon öncesi ve sonrasında örneğin absorbansındaki değişim

3.2.5.3. β -karoten ağartma testi ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Yöntem, emülsiyon içerisinde linoleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin β -karotenin sarı renginin açılmasına neden olması ilkesine dayanmaktadır. Antioksidan varlığında β -karotenin renginde çok az değişim gerçekleşmektedir (Kulisic ve ark., 2004).

0.2 mL β -karoten çözeltisi (kloroformda hazırlanmış 0.03 g/10 mL), 60 mg linoleik asit, 600 mg Tween 80 karışımı azot gazı altında çözücünün tamamı uzaklaştırılıncaya kadar tutulmuştur. Üzerine 150 mL damıtık su ilave edilerek, emülsiyonun stabil olması için ultrasonik su banyosunda 5 dakika tutulmuştur. Bu şekilde hazırlanan emülsiyondan 4'er mL tüplere aktarılmıştır. Üzerlerine 0.3 mL farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2 ve 3 mg/mL) karasu veya pirina ekstraktları ilave

edildikten sonra iyice çalkalanmıştır. Kontrol denemede 4 mL emülsiyon üzerine ekstrakt yerine 0.3 mL alkol ilave edilmiştir. Spektrofotometreyi sıfırlamak için β -karoten içermeyen (20 mg linoleik asit, 200 mg Tween 80 ve 50 mL damıtık su) emülsiyondan 4 mL alınarak üzerine 0.3 mL etanol ilave edilmiştir. t= 0 anında 470 nm’de kontrolün ve ekstrakt ilave edilmiş numunelerin absorbansları okunmuş ve tekrar tüpe aktarılmıştır. Daha sonra hazırlanan tüpler 50 °C’da su banyosunda 180 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 15 dakika aralıklarla su banyosundan alınan numunelerin 470 nm’de absorbansları okunmuştur. Absorbans okuma işlemine kontrol numunede β -karotenin rengi açılana kadar devam edilmiştir. Yapılan denemelerde bu süre 150 dak olarak belirlenmiştir. Ekstrakt ve kontrol için okunan absorbans değerlerinden yararlanılarak % antioksidan aktivite aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Karşılaştırma amacıyla BHA, BHT ve α - tokoferol gibi antioksidanlar 0.2 mg/mL konsantrasyonda kullanılmıştır (Cheung ve ark., 2003; Kulisic ve ark., 2004).

$$\text{Antioksidan aktivite (\%)} = ((R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}) \times 100$$

$$R = \ln(a/b) / t$$

R: β -karoten ağartma oranı

a: t=0 anındaki absorbans

b: t=150 dak anındaki absorbans

3.2.5.4. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Troloks eşdeğeri, antioksidan aktivite yöntemi 2,2’-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asitin (ABTS) oksidasyonu ile üretilen ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine,

antioksidan içeren bir örneğin ilave edilmesi sonucu radikalın indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Mavi/yeşil renkli ABTS^{•+} radikali, 600-750 nm dalga boyunda kuvvetli bir absorbans vermekte ve spektrofotometrede kolaylıkla belirlenebilmektedir. ABTS^{•+} radikali, antioksidan bir bileşikle reaksiyona girdiğinde radikal, ABTS'nin renksiz formuna çevrilmiştir. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS^{•+} miktarı ise troloks (sentetik bir antioksidan) eşdeğeri olarak hesaplanmaktadır (Cemeroğlu, 2010).

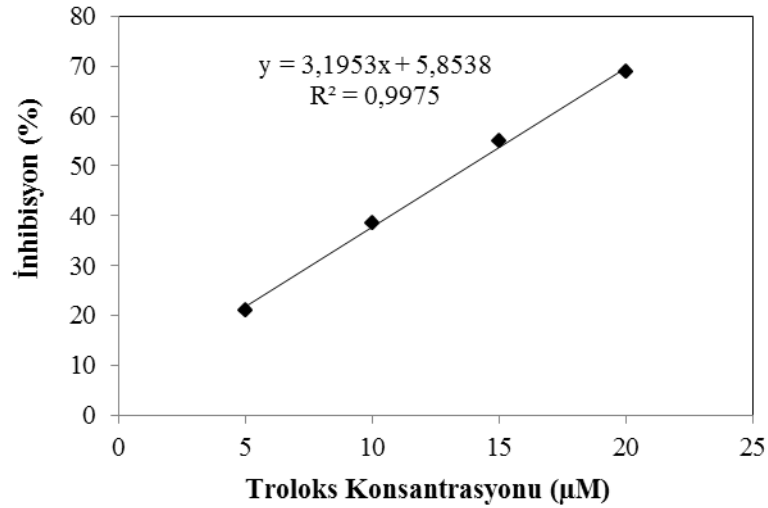
Karasu ve pirina ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri Cemeroğlu (2010) ve De Marco ve ark. (2007) tarafından uygulanan yöntemlerde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Analiz öncesinde 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık sulu ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti kullanılmadan önce 4 °C'da 12-16 saat bekletilmiştir. Analiz öncesinde konsantre ABTS^{•+} çözeltisi 734 nm'de 0.700±0.02 absorbansa sahip olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir.

990 µL ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine farklı konsantrasyonlarda (0.5-3 mg/mL) hazırlanan karasu veya pirina ekstraktlarından 10 µL ilave edilmiştir. 6 dakika sonunda 734 nm'de etanole karşı absorbans değerleri okunmuştur. Kontrol denemede ekstrakt yerine 10 µL etanol kullanılmıştır. 6 dakika sonunda % inhibisyon oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) \times 100 / A_{\text{kontrol}}$$

A_{kontrol} ve $A_{\text{örnek}}$: 734 nm'de kontrol ve örnek için ölçülen absorbans değerleri

2.5 mM troloks stok çözeltisi metanol ile hazırlanmıştır. Bu stokdan yararlanılarak 0.5, 1, 1.5 ve 2 mM troloks standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bu standart çözeltilerden 10 µL alarak içinde 990 µL radikal çözeltisi bulunan şişeye aktarıldığında şişe içinde 5, 10, 15 ve 20 µM konsantrasyonlarda troloks olmuştur. Farklı konsantrasyonlardaki troloks standartlarının 6 dakika sonundaki % inhibisyon oranları troloks konsantrasyonuna karşılık grafiğe geçirilerek denklemi $Y=3.1953x+5.8538$ olan kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir (Şekil 3.2.). Bu denklemden yararlanılarak farklı konsantrasyonlardaki karasu ve metanol ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Troloks eşdeğeri antioksidan aktivitenin hesaplanmasında kullanılan troloks standardının % inhibisyon grafiği

3.2.5.5. Demir iyonlarını indirgeme gücünün belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlardaki (0.5, 1, 2 ve 3 mg/mL) karasu ve pirina ekstraktlarından 0.2 mL alınarak üzerine 2.3 mL 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.6) ve 2.5 mL % 1'lik potasyum ferrisiyanür çözeltisi ilave edilmiştir. 50 °C'da 20 dakika

bekletildikten sonra 2.5 mL % 10'luk trikloroasetik asit ilave edilmiştir. Karışım 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip 5 mL üst fazdan alınmış ve 5 mL deiyonize su ve 1 mL % 0.1'lik demir (III) klorür ilave edilmiştir. 25 dakika bekletildikten sonra 700 nm'de UV-visible spektrofotometrede absorbans okunmuştur. Demir iyonlarını indirgeme gücü belirlenirken örneğin absorbansından kontrolün absorbansı çıkarılarak hesaplama yapılmıştır. Absorbansın yüksek olması indirgeme gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Ekstraktların demir iyonlarını indirgeme güçleri 0.2 mg/g konsantrasyondaki BHA, BHT ve α - tokoferol gibi antioksidanların sahip oldukları değerler ile kıyaslanmıştır (Mau ve ark., 2004).

3.2.6. Saflaştırılmış ayçiçek yağı trigliseritlerinin hazırlanması

Ayçiçek yağı trigliseritlerinin hazırlanması Karabulut ve ark. (2008)'e göre gerçekleştirilmiştir. 60 g ayçiçek yağı üzerine % 6 oranında aktif karbon ilave edildikten sonra 5 saat döner buharlaştırıcıda 100 rpm çalkalama hızında tutulmuştur. Eşit hacimde n-hekzan ile karıştırıldıktan sonra filtre edilmiştir. Diğer taraftan 150 g alüminyum oksit 100 °C'de 16 saat, 220 °C'de 8 saat aktive edildikten sonra 250 mL hekzan ile bulamaç haline getirilmiş ve 3 cm x 30 cm boyutlarındaki kolona aktarılmıştır. Kolondan 150 mL hekzan geçirilerek dolgu maddesinin yerleşmesi ve hava boşluklarının uzaklaşması sağlanmıştır. Bu işlem sırasında hekzan akış hızı 1 mL/dak olarak ayarlanmıştır. Kolonun alt ucuna 500 mL'lik bir balon yerleştirildikten sonra filtre edilmiş yağlı çözücü kolona yüklenmiş ve tümünün kolondan geçmesi sağlanmıştır. Ardından kolonda adsorblanan yağı almak için kolon 200 mL hekzan ile yıkanmıştır. Balonda toplanan yağlı çözeltideki hekzan döner

buharlaştırıcı kullanılarak 40 °C'da vakum altında uzaklaştırılmıştır. Trigliseritlerin saflığı tokoferol tayini ile test edilmiştir (Wong ve ark.. 1988).

3.2.7. Ayçiçek yağına ve saflaştırılmış trigliseritlere karasu ve pirina ekstraktlarının ilave edilmesi

Hazırlanan karasu ve pirina ekstraktları propandiolde çözüldükten sonra farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2, 3 mg/g) ayçiçek yağına ve saflaştırılmış trigliseritlere ilave edilmiş ve vorteks kullanılarak iyice çalkalanmıştır. Ardından ultrasonik su banyosunda 40 °C'da 20 dakika tutularak çözünen ekstrakt miktarının artması sağlanmıştır.

3.2.8. Ransimat cihazı kullanılarak ekstrakt ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin indüksiyon periyotlarının belirlenmesi

1 mg/g ve/veya 2 mg/g karasu ve pirina ekstraktları ile lesitin içeren saflaştırılmış trigliseritlerin indüksiyon periyotları Metrohm 743 Ransimat cihazı (Metrohm, İsviçre) kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol olarak katkı içermeyen trigliseritler kullanılmıştır. Bu amaçla 3 g örnek reaksiyon tüplerine tartılmış ve 90 °C'a ısıtılmıştır. Uçucu bileşenlerin tutulduğu ve elektrotların yer aldığı kaplara ise 60 mL deiyonize damıtık su konmuştur. Hava akış hızı 25 L/h olarak ayarlanmıştır. Karşılaştırma amaçlı olarak 0.2 mg/g konsantrasyonda BHT, BHA veya α -tokoferol trigliseritlere ilave edilerek indüksiyon periyotları belirlenmiştir. Ekstrakt içeren trigliseritlerin indüksiyon periyotları, kontrolün indüksiyon periyoduna oranlanarak

“Koruma faktörü” hesaplanmıştır. Böylece belirtilen katkıların oksidasyonu önleyici etkileri kontrole kıyasla verilmiştir.

3.2.9. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotlarının belirlenmesi

Karasu ve pirina ekstraktları (1 mg/g) ile lesitin (5 mg/g) içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları DSC cihazı (Shimadzu, DSC 60, Japonya) kullanılarak 130 °C’da belirlenmiştir. Kontrol amaçlı olarak katkı içermeyen ayçiçek yağı kullanılmıştır.

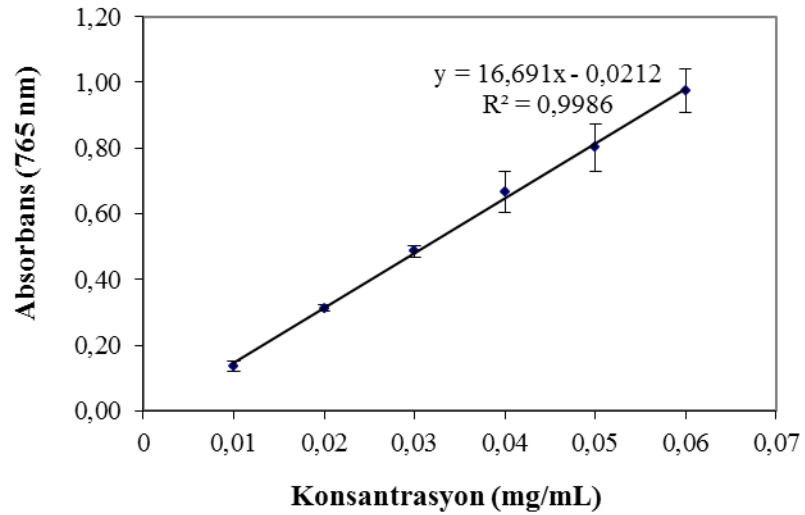
Bu amaçla 1.0±0.1 mg alüminyum DSC kaplarına tartılmıştır. DSC kabı fırın içine kapaksız olarak yerleştirilmiştir. Fırın 50 mL/dak akış hızındaki azot gazı (% 99,999 saflıkta) varlığında 50°C’den 130 °C’a 10 °C/dak hız ile ısıtılmıştır. 130 °C’a ulaşıldığında azot gazı yerine fırına 50 mL/dak akış hızında oksijen gazı (% 99.99 saflıkta) verilmiş ve analiz süresince 130 °C’da tutulmuştur. Oksidasyon ekzotermik bir reaksiyon olduğundan sabit sıcaklığa ulaşıldığı andan oksidasyon pikinin gözlemlendiği ana kadar geçen süre çalışılan sıcaklıkta indüksiyon periyodunu vermektedir (Suja ve ark., 2004).

3.2.10. Karasu ve pirina ekstraktı içeren ayçiçek yağlarının toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi

Lesitin ve/veya ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metodundan yararlanılarak Iqbal ve ark. (2008)’e göre belirlenmiştir.

Öncelikle belirtilen katkıları içeren ayçiçek yağlarından fenolik maddeler metanol ile ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla 2.5 g yağ üzerine 2.5 mL metanol ilave edilmiş ve 2 dakika tüp karıştırıcı ile çalkalanmıştır. Ardından fazların ayrılması için 10-15 dakika bekletilmiş ve üstteki metanol fazından 0.5 mL alınmıştır (Murcovic ve ark., 2004). Üzerine 0.8 mL Folin reaktifi (1:3, v/v oranında seyreltilmiş), 2 mL % 7.5 (w/w)'lik NaCO_3 ilave edilmiş ve 5 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. 2 saat bekletildikten sonra santrifüj edilmiş ve 765 nm'de kontrole karşı absorbans okunmuştur. Fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Kalibrasyon doğrusunun hazırlanması için 0.01-0.06 mg/mL konsantrasyon aralığındaki gallik asit standart çözeltilerinin absorbans değerleri aynı şekilde okunmuş ve konsantrasyona karşılık absorbans grafiğe geçirilmiştir. Grafiğin denkleminde ($Y=16,691x-0,0212$, $R^2=0,9986$) yararlanarak ppm düzeyinde yağdaki fenolik madde miktarı hesaplanmıştır (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında kullanılan gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon grafiği

3.2.11. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağı ve saflaştırılmış trigliseritlere 60 °C’da hızlandırılmış oksidasyon testinin uygulanması

Ayçiçek yağı ile saflaştırılmış trigliseritlere 1 mg/g konsantrasyonlarda çözücü ekstraktları ve/veya lesitin (5 mg/g) ilave edilerek 60 °C’da 21 gün oksidasyona bırakılmıştır. Oksidasyonun başlangıcında ve 3’er gün aralıkla (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 gün sonunda) alınan numunelerin 232 ve 270 nm’de özgül absorbanları saptanmıştır. Ekstraktların antioksidatif etkisini yapay ve doğal antioksidanlarla karşılaştırmak için BHT, BHA ile α - tokoferol 0.2 mg/g konsantrasyonda olacak şekilde hem ayçiçek yağına hem de saflaştırılmış trigliseritlere ilave edilmiş ve aynı koşullarda oksidasyona bırakılmıştır.

3.2.12. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağına 180 °C’da termal oksidasyon testinin uygulanması

Karasu ile pirina metanol ekstraktları (1 mg/g) ve/veya lesitin (5 mg/g) ayçiçek yağına ilave edilerek 180 °C’da 40 saat bekletilmiş ve 8, 16, 24, 32 ve 40 saat sonunda alınan yağların konjuge dien miktarı, *p*-anisidin değeri, tokoferol içeriği ve indüksiyon periyotları saptanmıştır. Elde edilen bulgular kontrol ve BHT ilave edilen ayçiçek yağlarının sahip olduğu değerler ile karşılaştırılmıştır.

3.2.13. Derin yağda kızartma işlemi

Karasu ve pirina ekstraktları (1 mg/g) ve/veya lesitin (5 mg/g) içeren ayçiçek yağları patates kızartılmasında kullanılmıştır. Derin yağda kızartma işlemleri için 1 L yağ

hacmine sahip olan mutfak tipi fritöz kullanılmıştır. Kızartma işlemlerinde dondurulmuş 0.9 x 0.9 x 6/8 cm boyutlarındaki şerit kesilmiş parmak patatesler kullanılmıştır.

Kızartma işlemleri bazı modifikasyonlar uygulanarak Che Man ve Jaswir (2000)'e göre gerçekleştirilmiştir. Kızartmalarda kullanılacak olan yağlardan 100 g örnek alınarak azot gazı verildikten sonra -18 °C'de saklanmıştır. Kalan yağ 10 dakika içinde 180 ± 5 °C'a ısıtılmıştır. İlk kızartma işlemi yağ sıcaklığı 180 °C'a ulaştıktan 30 dakika sonra yapılmıştır. Dondurulmuş parmak patatesler 100 ± 1 g ağırlığında tartıldıktan sonra poşetlere konulmuş ve kızartmalar yapılınca kadar -18 °C'da derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Kızartma işleminden 10 dakika önce dondurucudan çıkarılmıştır. Kağıt havlu ile kurulandıktan sonra 100 g patates 180 ± 5 °C sıcaklıkta 3 dakika kızartılmıştır. Kızartma sonrası patateslere yapışan yağın sepet sallanarak iyice süzülmesi sağlanmıştır. Kızartma işlemi esnasında ve bekleme aşamalarında fritözün kapağı kapalı tutulmuştur. Bir sonraki kızartma işlemi için yağ 180 °C'a ısıtılmış ve 30 dakika sonrasında ikinci kızartma işlemi uygulanmıştır. Bu şekilde aynı gün içinde 10 defa patates kızartılmıştır. Gün sonunda fritözdeki yağın 60 °C'a kadar soğuması sağlanmış ve filtre edildikten sonra 100 mL yağ kahverengi şişeye aktarılmış, üzerine azot gazı verildikten sonra analizler gerçekleştirilene kadar -18 °C'da bekletilmiştir. Kızartma işlemleri 6 gün boyunca aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Numune olarak alınan ve patates tarafından absorplanan yağın yerine her gün taze yağ koyulmuştur. Kontrol olarak rafine ayçiçek yağı ve lesitin içeren ayçiçek yağları kullanılmıştır.

3.2.14. Hızlandırılmış oksidasyon ve kızartma işlemleri sırasında alınan yağ numunelerinde gerçekleştirilen analizler

Her gün sonunda alınan yağların serbest yağ asidi içeriği, konjuge dien miktarı, *p*-anisidin değeri, polar madde içeriği, tokoferol miktarı, viskozitesi ve renginde gerçekleşen değişim incelenmiştir. Ayrıca, kızartmaların başlangıcındaki ve 6. gün sonunda alınan yağ numunelerin yağ asidi bileşimi belirlenmiştir.

3.2.14.1. Yağ asidi bileşimi

Kızartma başlangıcında ve 6. gün sonunda alınan numunelerinin yağ asidi bileşimi Shimadzu GC 2010 (Shimadzu, Japonya) gaz kromatografisi cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Gaz kromatografisi cihazı çalışma şartları aşağıdaki gibidir.

Gaz kromatografi cihazı	: Shimadzu GC 2010 (Shimadzu, Japonya)
Kolon	: 60 m uzunluk, 0.25 iç çapında ve 0.2 µm film kalınlığında kapiler kolon (Teknokroma Phase TR-CN 100)
Enjeksiyon miktarı	: 1 µL
Enjeksiyon bloğu sıcaklığı	: 250 °C
Split oranı	: 1:50
Dedektör	: Alev iyonlaştırma dedektörü (FID)
Dedektör sıcaklığı	: 250 °C
Taşıyıcı gaz	: Yüksek saflıkta azot gazı
Taşıyıcı gaz akış hızı	: 1 mL/dak
Fırın sıcaklığı	: 90 °C’de 5 dk bekletme, 90 °C’dan 240 °C’a 4 °C /dk hızla ısıtma, 240 °C’da ise 10 dk bekletme

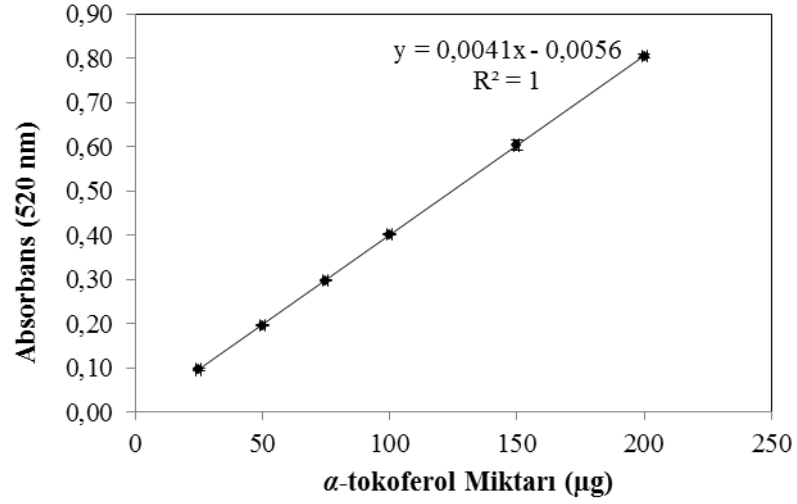
Piklerin tanımlanmasında yağ asidi metil ester standart çözeltisi (37 FAME mix, Sigma-Aldric, St Louis, USA) kullanılmıştır. Yağ asitlerinin miktarı pik alanlarından yararlanılarak % oranları şeklinde verilmiştir.

Yağ asidi bileşimi sonuçlarından yararlanılarak yağların C18:2/C16:0 ile C18:1/C16:0 oranları hesaplanmıştır. Bu şekilde ayçiçek yağında bulunan doymamış yağ asitlerinde kızartma sırasında gerçekleşen değişim, doymuş yağ asitlerinden palmitik asite kıyasla saptanmıştır (Onal-Ulusoy ve ark., 2007).

3.2.14.2. Tokoferol miktarı

Ayçiçek yağlarının tokoferol içerikleri Wong ve ark. (1988) tarafından uygulanan spektrofotometrik yöntemle göre belirlenmiştir. Bu yöntemle göre 0.2 g±0.01 g yağ üzerine 5 mL toluen ilave edilerek çözülmüş, üzerine 3.5 mL 2,2' dipridil (% 0.07 w/v, % 95'lik etil alkolde), 1 mL % 95'lik etil alkol ve 0.5 mL demir klorür (% 0.2 w/v, % 95'lik etil alkolde) ilave edildikten sonra 1 dakika içinde 517 nm'de toluene karşı absorbans okunmuştur. Aynı işlemler yağ kullanılmadan şahit deneme için de yapılmıştır.

Tokoferol miktarının hesaplanmasında farklı miktarlarda (25-200 µg) α-tokoferol içeren çözeltiler aynı koşullarda analiz edilmiş ve okunan absorbans değerleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır. Kalibrasyon doğrusunun denklemi $Y = 0.0041x - 0.0056$ şeklinde belirlenmiştir. Bu denklemden yararlanılarak yağ numunelerinin tokoferol içerikleri mg/kg (ppm) şeklinde hesaplanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Yağların tokoferol miktarlarının belirlenmesinde kullanılan α -tokoferol ile hazırlanan kalibrasyon doğrusu

3.2.14.3. Serbest yağ asiti miktarı (%)

Kızartmaların başlangıcında ve kızartmalar süresince günün sonunda alınan yağ örneklerinin serbest yağ asidi miktarları Foglia ve ark. (1993)'e göre belirlenmiştir. 0.5 g yağ üzerine 20 mL dietil eter/etil alkol/su (v/v/v, 3/3/2) karışımından ilave edilmiş ve indikatör eşliğinde 0.01 N NaOH ile titrasyon yapılmıştır. Harcanan hacimden yararlanarak yağın serbest yağ asidi içeriği % oleik asit cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.14.4. Polar madde miktarı

Bu çalışmada polar madde miktarındaki değişim Miroil Optifry (Miroil Division of Oil Process Systems, Inc., ABD) kızartma yağı test cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Cihazın kalibrasyonunda taze rafine ayçiçek yağı kullanılmıştır. Ölçüm sırasında

rafine ayçiçek yağının polar madde miktarı sıfır olarak kabul edilmiş ve kızartma sırasında polar madde miktarındaki değişim saptanmıştır.

3.2.14.5. Renk

Kızartma sırasında ayçiçek yağlarının rengindeki değişim Hunter Lab Colorflex renk tayin cihazı (Hunterlab, ABD) kullanılarak CIE- L* a* b* renk sistemi ile belirlenmiştir. Cihaz kullanım öncesi beyaz ve siyah renkteki plakalar kullanılarak kalibre edilmiştir. CIE- L* a* b* sistemine göre a* kırmızı-yeşil rengi verirken, b* sarı-mavi rengi, L* ise aydınlık ve karanlık değerini vermektedir.

3.2.14.6. Viskozite

Kızartma sırasında alınan yağ örneklerinin viskoziteleri 30 °C’de And SV-10 Vibro Viscometer (Malvern Instruments Ltd., İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Yağ numuneleri 8 saat 30 °C’da etüvde bekletilmiştir. Analiz öncesi etüvden alınarak sirkülasyonlu su banyosu bağlı olan viskozimetre hücresindeki numune kabına aktarılmıştır. 30 ± 1 °C’daki suyun hücrenin iç cidarından geçirilmesi sayesinde analiz süresince sıcaklığın sabit tutulması sağlanmıştır.

3.2.14.7. Konjuge dien miktarı

Kızartma sırasında alınan numunelerin konjuge dien miktarları AOCS (1998) Ti 1a-64’e göre spektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) 232 nm’de belirlenmiştir.

3.2.14.8. *p*-anisidin değeri

p-Anisidin değeri AOCS (1998) Cd 18-90'e göre spektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) 350 nm'de belirlenmiştir.

3.2.14.9. E₂₃₂ ve E₂₇₀ değerleri

Özgöl absorbans değerleri (E₂₃₂, E₂₇₀) % 1'lik (w/v) yağlı çözelti için Maskan ve Bağcı (2003)'ya göre belirlenmiştir.

3.2.15. İstatistiksel Değerlendirme

Analiz sonuçları SPSS 18.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Analizler iki veya üç tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. Ortalama değerler arasındaki farklılık ANOVA ve Duncan testi kullanılarak % 5 güven aralığında saptanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Karasu ve Pirina Ekstraktlarının Ekstraksiyon Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları

Çalışmada kullanılan karasuyun pH'sı 4.97, oksitlenme ve indirgenme potansiyeli 114.5 mV, elektrik iletkenliği 5.83 mS/cm, çözülmüş oksijen miktarı 5.95 mg/L toplam kuru madde içeriği % 5.3 (w/w), yağ miktarı % 0.10, toplam fenolik madde miktarı ise 0.83 g/kg olarak saptanmıştır.

El-Abbassi ve ark. (2012) ise iki farklı zeytinyağı işletmesinden alınan karasuyun pH'sını 5.2 ve 5.1, elektriksel iletkenliğini 43 ve 13 mS/cm, toplam organik madde miktarını 31 ve 14 g/L, kimyasal oksijen ihtiyacını 113 ve 51 g O₂/L, askıda katı madde miktarını 87 ve 48 g/L, fenolik madde miktarını ise tirozol eşdeğeri olarak 9.82 ve 6.11 g/L olarak belirlemişlerdir.

Çalışmada kullanılan pirinanın pH'sı 4.93, oksitlenme ve indirgenme potansiyeli 117.2 mV, toplam kuru madde içeriği % 34.4 (w/w), yağ miktarı % 4.6, toplam fenolik madde miktarı ise 1.65 g/kg olarak belirlenmiştir.

Göğüş ve ark. (2009) iki fazlı santrifüj sisteminden elde edilen pirinanın kuru madde miktarının % 43.20, yağ miktarının % 4.65 ve fenolik madde içeriğinin ise % 2.43 olduğunu bildirmişlerdir.

Karasu ve pirinadan metanol ve etanol kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Çizelge 4.1’de liyofilize karasu ve pirina ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları verilmiştir. Görüldüğü gibi karasu metanol ve etanol ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri birbirine yakın olup, sırası ile ağırlıkça % 2.18 ve % 2.38 olarak belirlenmiştir. Etanol ile elde edilen pirina ekstraktının miktarı düşük olup, ekstraksiyon verimi % 1.30 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.1. Karasu ve pirina ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri ve fenolik madde miktarları

Örnek	Çözücü	Verim (g/100 g numune)	Toplam Fenolik Madde (mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt)
Karasu	Metanol	2.18	90.98±2.51
	Etanol	2.38	89.48±1.69
Pirina	Metanol	2.26	69.87±4.56
	Etanol	1.30	72.35±0.86

Ekstraktların fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden 69.87-90.98 mg/g ekstrakt şeklinde değişim göstermiştir. Ekstraksiyonda kullanılan çözücünün fenolik madde içeriği üzerine etkisi düşük olmuştur. Karasu ekstraktlarının fenolik madde miktarları 89.48-90.98 mg/g arasında iken, pirina ekstraktlarının fenolik madde miktarları 69.87-72.35 mg/g arasında olmuştur. Görüldüğü gibi karasu ekstraktları pirina ekstraktlarından daha fazla fenolik madde içermektedir. Zeytinyağından yağ eldesi sırasında zeytinde bulunan fenolik bileşikler büyük oranda karasu ve pirinaya geçmektedir.

Dejong ve Lanari (2009) iki fazlı santrifüj sistemden alınan atıktan santrifüj yoluyla ayrılan karasudan elde edilen ekstraktın fenolik madde miktarını 26.83 mg gallik asit/g ekstrakt olarak belirlemişlerdir. Bu ekstraktın % 70.6 oranında hidroksitirozol,

% 17.5 oranında tirozol, % 9.5 oranında kafeik asit, % 1.9 *p*-kumarik asit ve % 0.3 oranında vanilik asit içerdiğini bildirmişlerdir. De Leonardis ve ark. (2007) ise karasu ekstraktının % 66.7 hidroksitirozol, % 16.7 tirozol, % 8.3 kafeik asit, % 8.3 ferulik asit içerdiğini saptamışlardır.

Cioffi ve ark. (2010) metanol ile ekstraksiyon sonucu elde edilen iki ayrı pirina ekstraktının fenolik madde miktarlarını oleuropein eşdeğeri olarak 207 ve 210 µg/mg olarak belirlemişlerdir. Pirina ekstratlarının oleuropein, ligstrosit aglikonu, oleuropein aglikonu, tirozol, gallik asit ve hidroksitirozolden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada Alu'datt ve ark. (2010) pirinadan metanol ile hazırlanan ekstraktın fenolik madde miktarının kuru pirina esas alındığında 2.20 mg/g olduğunu bildirmişlerdir.

Obied ve ark. (2007) ise iki farklı işletmeden sağlanan zeytin atıklarını % 80'lik asitlendirilmiş metanol ile ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların fenolik madde miktarlarını 17.7 ve 21.1 mg kafeik asit/g kuru ekstrakt olarak bulmuşlardır. Başka bir çalışmada Lafka ve ark. (2011) zeytin endüstrisi atıklarından hazırlanan ekstraktların fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon çözücüsüne bağlı olmak üzere kuru atık dikkate alındığında kafeik asit cinsinden % 0.43-1.29 (w/w) arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

4.2. Ekstraktların DPPH Radikallerini Yakalama Güçleri

Karasu ve pirinadan elde edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktların DPPH radikallerini indirgeme güçleri Çizelge 4.2. ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Ekstrakt konsantrasyonu arttıkça DPPH radikallerini yakalama gücü belirgin bir şekilde artmıştır. Bu değişim istatistiksel olarak önemli olmuştur ($p<0.05$). Hem karasu hem de pirina ekstraktları için çalışılan konsantrasyonların bir kısmında metanol bir kısmında ise etanol ekstraktı daha yüksek değerlere sahip olmuştur. Ekstraksiyonun metanol veya etanol ile yapılması da DPPH radikallerini indirgeme gücünü etkilemiş, farklılık istatistiksel olarak önemli olmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri

Ekstrakt	Konsantrasyon (mg/mL)	DPPH radikallerini yakalama gücü (%)*
Karasu		
Metanol	0.5	14.78±0.57dA
	1.0	28.42±0.66cA
	2.0	55.43±1.65bA
	3.0	61.84±1.40aA
Etanol	0.5	14.67±0.35dA
	1.0	23.72±1.92cB
	2.0	48.85±2.15bB
	3.0	63.52±1.67aA
Pirina		
Metanol	0.5	10.64±0.08dC
	1.0	22.88±1.72cB
	2.0	41.44±2.05bC
	3.0	54.85±1.97aB
Etanol	0.5	12.78±0.56dB
	1.0	25.16±0.23cB
	2.0	33.27±1.34bD
	3.0	54.50±2.80aB
BHA	0.2	49.96±1.75
BHT	0.2	12.81±2.52
α -tokoferol	0.2	33.20±0.00

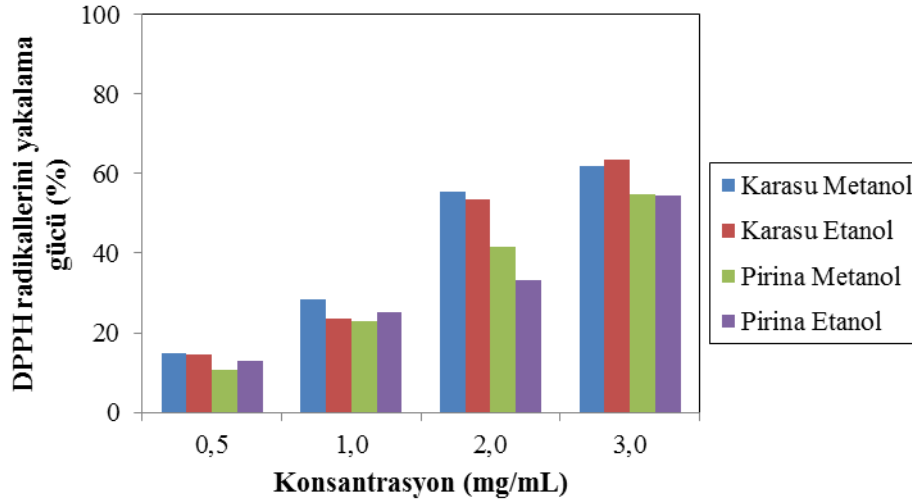
^{*}Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiş olup analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

^{a-d} Aynı ekstrakt için konsantrasyonlar arası farklılığı göstermektedir ($p<0.05$)

^{A-D} Aynı konsantrasyonda ekstraktlar arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$)

Farklı konsantrasyonlardaki karasu ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri % 14.67 ile % 63.52 arasında iken pirina ekstraktlarının sahip olduğu

değerler % 10.64 ile % 54.85 arasında değişim göstermiştir. Görüldüğü gibi karasu ekstraktları pirina ekstraktlarından daha yüksek DPPH radikallerini indirgeme gücüne sahip olmuştur.



Şekil 4.1. Karasu ve pirina ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri

Karasu ve pirina ekstraktlarının 1.0-3.0 mg/mL konsantrasyon aralığında DPPH radikallerini yakalama güçleri yapay bir antioksidan olan 0.2 mg/mL konsantrasyondaki BHT'nin sahip olduğu değerden (% 12.81) daha yüksek olmuştur. 2 ve 3 mg/mL konsantrasyonlarda ise ekstraktlar doğal bir antioksidan olan α -tokoferolden (% 33.20) daha yüksek değerlere sahip olmuşlardır. Ayrıca 3 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlar ise 0.2 mg/mL konsantrasyonda BHA (% 49.96) ile yarışabilir nitelikte olmuşlardır.

Lafka ve ark. (2011) zeytinyağı endüstrisi atıklarından elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının DPPH radikallerini indirgeme güçlerini % 58.7 ve % 59.8 olarak belirlemişlerdir. Birçok çalışmada ise % inhibisyon değerlerinden yararlanılarak DPPH radikalinin % 50'sini indirmek için gerekli olan ekstrakt miktarını veya

konsantrasyonunu ifade eden EC₅₀ değeri hesaplanmıştır. Buna göre Lesage-Meessen ve ark. (2001) üç veya iki fazlı sistemden alınan karasudan elde edilen ekstraktların EC₅₀ değerlerini sırasıyla 5.27 ve 2.61 µg/mL olarak belirlemişlerdir.

El-Abbassi ve ark. (2012) ise zeytin karasu ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama testinde EC₅₀ değerlerini 263 ve 169 µg/mL olarak hesaplamışlardır. Aynı koşullarda EC₅₀ değerinin askorbik asit için 158 µg/mL ve BHT için 15.2 µg/mL olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada Fki ve ark. (2005) karasu ekstraktının EC₅₀ değerinin 1.20 µg/mL olduğunu saptamışlardır. Karasu ekstraktından elde edilen hidroksisitirozol ve 3,4-dihidroksifenil asetik asitin ise ekstraktan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Pirinin antioksidan aktivitesinin belirlendiği bir çalışmada Cioffi ve ark. (2010) pirina ekstraktlarının EC₅₀ değerlerinin 99.7 ile 101.3 µg/mL arasında olduğunu bildirmişlerdir. Obied ve ark. (2007) ise zeytinyağı endüstrisi atıklarından hazırlanan ekstraktların EC₅₀ değerini 28.3 ve 34.7 ppm olarak belirlemişlerdir. Aynı koşullarda kafeik asit ve troloks için EC₅₀ değerini ise 1.73 ve 4.2 ppm olarak saptamışlardır.

4.3. Ekstraktların Linoleik Asitli Sistemde Antioksidan Aktiviteleri

Çizelge 4.3. ve Şekil 4.2’de farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının linoleik asitli sistemde antioksidan aktiviteleri gösterilmiştir. DPPH radikallerini yakalama gücü testinin aksine bu yöntemde ekstrakt konsantrasyonunun artışı antioksidan aktivitenin çok az artmasına neden olmuştur. Ancak bu artış istatistiksel olarak önemli olmuştur (p<0.05).

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının linoleik asitli sistemde antioksidan aktiviteleri

Ekstrakt	Konsantrasyon (mg/mL)	Antioksidan aktivite (%)*
Karasu		
Metanol	0.5	91.70±2.07cA
	1.0	94.68±0.32bA
	2.0	96.98±0.48aA
	3.0	97.74±0.76aA
Etanol	0.5	87.59±2.11bB
	1.0	91.23±1.68bB
	2.0	95.37±0.53aB
	3.0	95.93±0.5aB
Pirina		
Metanol	0.5	91.15±1.36bA
	1.0	92.16±1.27bB
	2.0	93.11±0.15bC
	3.0	95.14±0.81aB
Etanol	0.5	91.85±1.74cA
	1.0	91.99±0.67cB
	2.0	95.22±0.97bB
	3.0	95.80±0.33aB
BHA	0.2	96.51±1.11
BHT	0.2	95.11±0.13
α - tokoferol	0.2	98.35±0.43

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

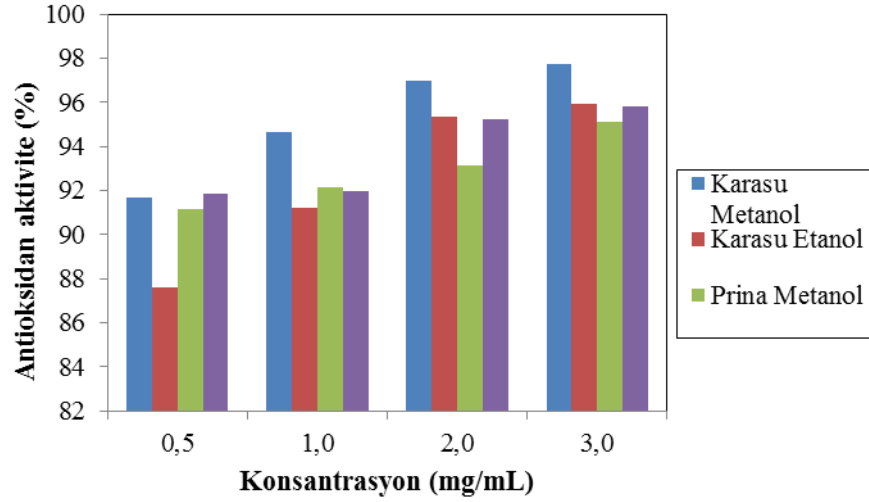
^{a-c} Aynı ekstrakt için konsantrasyonlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

^{A-C} Aynı konsantrasyonda ekstraktlar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Karasu ve pirina ekstraktları linoleik asit emülsiyonunda birbirine benzer antioksidan aktivitelere sahip olmuşlardır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri % 87.59 ile % 97.74 arasında olmuştur. Karasu metanol ekstraktları etanol ekstraktlarına kıyasla daha yüksek antioksidan aktive gösterirken, pirina metanol ve etanol ekstraktları birbirine yakın değerler göstermiştir (p<0.05).

İncelenen tüm ekstraktlar çalışılan konsantrasyonlarda 0.2 mg/mL konsantrasyondaki BHA, BHT ve α - tokoferole yakın antioksidan aktivite değerlerine sahip olup,

linoleik asit emülsiyonunda hidroperoksitlerin oluşmasını önemli ölçüde engellemişlerdir.



Şekil 4.2. Karasu ve pirina ekstraktlarının linoleik asitli sistemde antioksidan aktiviteleri

4.4. Ekstraktların β -karoten Ağartma Metodu ile Belirlenen Antioksidan Aktiviteleri

Karasu ve pirina ekstraktlarının β -karoten ağartma metodu ile saptanan antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Linoleik asitli sistemde konjuge dien metodunda olduğu gibi konsantrasyon artışı ile antioksidan aktivitede artış gerçekleşmektedir ($p<0.05$). Ancak bu testte elde edilen antioksidan aktivite değerleri daha düşük bulunmuştur. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri % 32.19-84.06 arasında değişim göstermiştir. Genel olarak metanol ekstraktları etanol ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir. Karasu ekstraktlarının antioksidan aktivitesi pirina ekstraktlarının antioksidan aktivitesinden daha yüksek olmuştur.

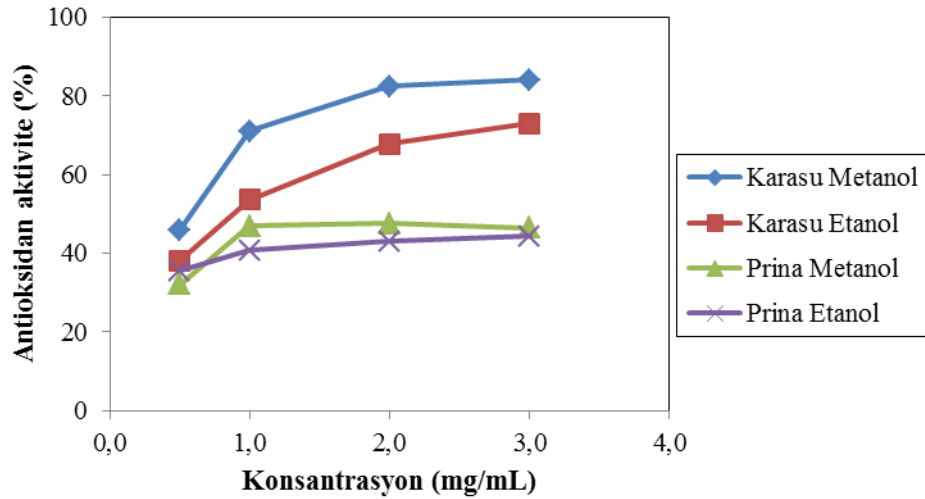
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit emülsiyonunda antioksidan aktiviteleri

Ekstrakt	Konsantrasyon (mg/mL)	Antioksidan Aktivite (%)*
Karasu		
Metanol	0.5	45.94±1.36cA
	1.0	70.99±0.09bA
	2.0	82.38±0.22aA
	3.0	84.06±3.12aA
Etanol	0.5	38.16±5.29cAB
	1.0	53.56±5.30bB
	2.0	67.76±2.07aB
	3.0	72.96±2.62aB
Pirina		
Metanol	0.5	32.19±1.52bB
	1.0	46.95±1.63aBC
	2.0	47.59±0.00aC
	3.0	46.41±0.62aC
Etanol	0.5	35.58±1.62bB
	1.0	40.78±0.00abC
	2.0	43.06±2.79aC
	3.0	44.25±2.74aC
BHA	0.2	95.85±0.06
BHT	0.2	95.23±0.37
α -tokoferol	0.2	92.81±1.29

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

^{a-c} Aynı ekstrakt için konsantrasyonlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

^{A-C} Aynı konsantrasyonda ekstraktlar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)

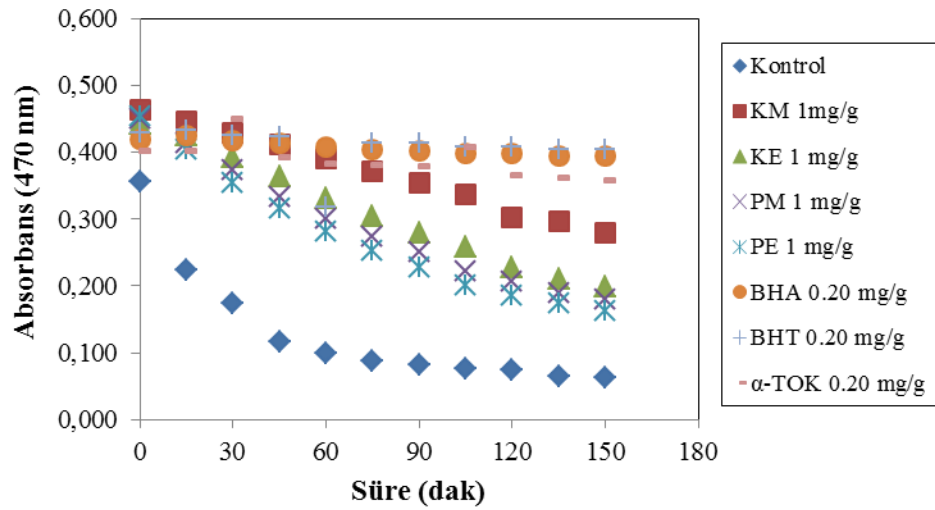


Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit emülsiyonunda antioksidan aktivitelerindeki değişim

Yapay antioksidanlardan BHA ve BHT birbirlerine oldukça yakın antioksidan aktivite değerlerine (% 95.85-95.23) sahip olup bu değerler α -tokoferolün sahip olduğu değerden (% 92.81) yüksek olmuştur. Karasu metanol ekstraktı 2 ve 3 mg/mL konsantrasyonlarda BHT, BHA ve α -tokoferole yakın değerler sergilemiştir.

Alu'datt ve ark. (2010) pirina metanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin β -karoten ağartma testi kullanıldığında % 58.67 olduğunu bildirmişlerdir. Obied ve ark. (2007) ise zeytin atıklarından elde edilen ekstraktların linoleik asitin oksidasyonunu engellediğini ve β -karotenin renginin açılmasını önemli ölçüde önlediğini bildirmişlerdir. EC₅₀ değerinin kafeik asit için 50.4 ppm iken, ekstraktların 60.6 ve 79.9 ppm değerlerine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Şekil 4.4'de ise 150 dakikalık inkübasyon süresince 470 nm'de okunan absorbans değerleri gösterilmiştir. Absorbansta en hızlı düşme kontrol denemede gerçekleşmiştir. 1 mg/g konsantrasyondaki karasu ve pirina ekstraktları ise kontrolden daha yüksek absorbans değerlerine sahip olup, bu denemelerde kontrole kıyasla absorbans daha yavaş düşmektedir. Bu durumda ekstraktlarda bulunan fenolik bileşikler linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikalleri inaktif hale getirerek β -karotenin renginin açılmasını engellemektedirler. Karasu ekstraktları pirina ekstraktlarından, metanol ekstraktları ise etanol ekstraktlarından daha etkili olmuşlardır. 0.2 mg/g konsantrasyonda BHT ile BHA içeren emülsiyonların absorbanslarında ise çok az değişim gerçekleşmiştir. α -tokoferol ise karasu metanol ekstraktı ile yapay antioksidanlar arasında absorbans değerlerine sahip olmuştur.



KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PE, pirina etanol; PM, pirina metanol ekstraktları

Şekil 4.4. β -karoten ağartma testinde inkübasyon süresince 470 nm'deki absorbans değerlerindeki değişim

Fki ve ark. (2005) β -karoten ağartma testinde kontrolün renginin 29 dak sonunda, karasu ekstraktı içeren emülsiyonun ise renginin 236 dak sonunda açıldığını bildirmişlerdir.

4.5. Ekstraktların Troloks Eşdeğeri Antioksidan Aktiviteleri

Troloks eşdeğeri antioksidan aktivite hem hidrofilik hem de hidrofobik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Yöntem, ABTS^{•+} radikalinin ekstraktta yer alan antioksidanlarca indirgenmesi sonucu renksiz stabil bir ürüne dönüşmesine dayanmaktadır. Rengin açılma derecesi polar yapıdaki α -tokoferol analogu olan troloksun neden olduğu değişim ile kıyaslanarak verilmektedir (De Marco ve ark., 2007). Karasu ve pirina ekstraktlarının ABTS^{•+} radikalini inhibe etme güçleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri

Ekstrakt	Konsantrasyon (mg/mL)	İnhibisyon (%)	Troloks eşdeğeri antioksidan aktivite (μM)
Karasu Metanol	0.5	37.0±1.5	9.7±0.5dB
	1.0	57.6±3.3	16.2±1.0cA
	2.0	80.3±1.5	23.3±0.5bA
	3.0	88.8±3.2	26.0±1.0aB
Etanol	0.5	27.7±2.2	6.8±0.7cC
	1.0	46.0±0.3	12.6±0.1bB
	2.0	77.7±0.2	22.5±0.1aA
	3.0	78.5±0.4	22.7±0.1aB
Pirina Metanol	0.5	27.2±1.0	6.7±0.3dC
	1.0	42.0±0.6	11.3±0.2cB
	2.0	84.7±1.7	24.7±0.5bA
	3.0	89.5±2.0	26.2±0.6aA
Etanol	0.5	43.8±0.6	11.9±0.2cA
	1.0	54.3±1.8	15.2±0.6cA
	2.0	78.1±8.9	22.6±2.8bA
	3.0	92.3±4.3	27.1±1.3aA

*Soniclar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

^{a-d} Aynı ekstrakt için konsantrasyonlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

^{A-C} Aynı konsantrasyonda ekstraktlar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Karasu ve pirina ekstraktlarının ABTS⁺ radikalini inhibe etme güçleri ve troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri konsantrasyon arttıkça artış göstermiştir. Ekstraktların inhibisyon oranları % 27.2 ile % 92.3 arasında değişirken, troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri 6.8 ile 27.1 μM arasında değişmiştir. Karasu metanol ekstraktları etanol ekstraktlarından daha yüksek değerlere sahip olmuştur. Pirina etanol ekstraktları ise 2.0 mg/mL konsantrasyon dışında metanol ekstraktlarından daha yüksek troloks değerleri sergilemişlerdir.

De Marco ve ark. (2007) karasu ekstraktının troloks eşdeğeri antioksidan aktivitesinin 55.8 mmol troloks/L olduğunu bildirmişlerdir. Suárez ve ark. (2009)

karasu ve pirina ekstraktlarının ve bunlardan hazırlanan fraksiyonların 1 gramının 3450 ve 17900 μmol arasında troloks eşdeğerine sahip olduklarını saptamışlardır.

4.6. Ekstraktların Demir İyonlarını İndirgeme Güçleri

700 nm’de saptanan absorbens değerleri demir iyonlarını indirgeme gücünün saptanmasında kullanılmıştır. Absorbans değerinin yüksek olması indirgeme gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Analiz sonuçları Çizelge 4.6. ve Şekil 4.5’de sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki karasu ve pirina ekstraktlarının demir iyonlarını indirgeme güçleri

Ekstrakt	Konsantrasyon (mg/mL)	İndirgeme gücü (Abs 700nm)
Karasu		
	Metanol	
	0.5	0.073 $\pm$ 0.003dA
	1.0	0.122 $\pm$ 0.005cA
	2.0	0.223 $\pm$ 0.018bAB
	3.0	0.313 $\pm$ 0.020aA
Etanol	0.5	0.062 $\pm$ 0.001dB
	1.0	0.104 $\pm$ 0.002cB
	2.0	0.230 $\pm$ 0.006bA
	3.0	0.338 $\pm$ 0.003aA
Pirina		
	Metanol	
	0.5	0.075 $\pm$ 0.004dA
	1.0	0.120 $\pm$ 0.006cA
	2.0	0.199 $\pm$ 0.008bBC
	3.0	0.257 $\pm$ 0.010aB
Etanol	0.5	0.062 $\pm$ 0.001dB
	1.0	0.119 $\pm$ 0.005cA
	2.0	0.184 $\pm$ 0.002bC
	3.0	0.258 $\pm$ 0.000aB
BHA	0.2	0.288 $\pm$ 0.011a
BHT	0.2	0.170 $\pm$ 0.042b
α -tokoferol	0.2	0.082 $\pm$ 0.005c

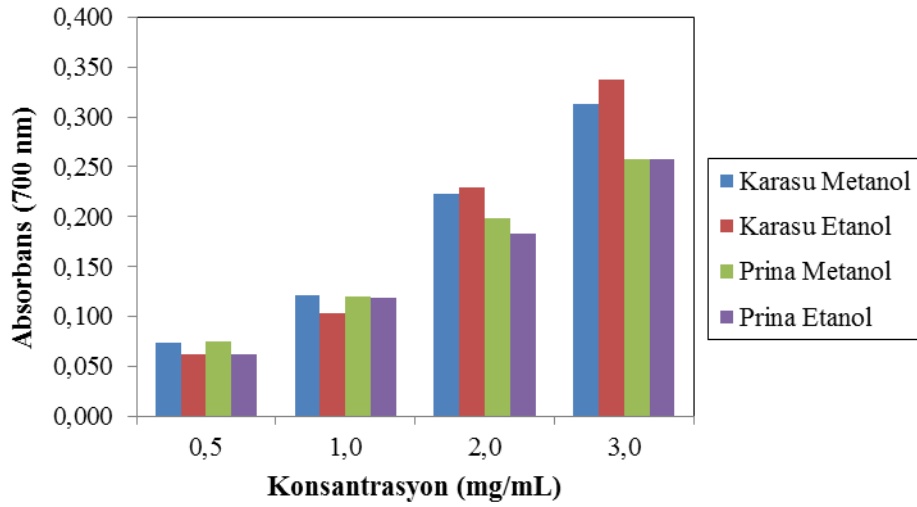
*Sonuçlar ort $\pm$ std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

^{a-d} Aynı ekstrakt için konsantrasyonlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

^{A-C} Aynı konsantrasyonda ekstraktlar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Görüldüğü gibi karasu ekstraktları pirina ekstraktlarından daha yüksek indirgeme gücüne sahiptir. Ekstraksiyon çözücülerini dikkate alındığında ise metanol ekstraktları ile etanol ekstraktları birbirlerine oldukça yakın değerlere sahip olmuşlardır. Konsantrasyon arttıkça absorbans değerleri de artmıştır ($p<0.05$).

Hem karasu hem de pirina ekstraktları 2 ve 3 mg/mL konsantrasyonlarda BHT'den daha yüksek indirgeme gücüne sahip olmuşlardır. 1-3 mg/mL konsantrasyonlarda ise α -tokoferolden daha yüksek değerler sergilemişlerdir. Görüldüğü gibi 3 mg/mL konsantrasyonda karasu metanol ve etanol ekstraktları sırasıyla 0.313 ve 0.338 değerlerine sahip olup bu değerler BHA'nın sahip olduğu değerlerden daha yüksektir.



Şekil 4.5. Karasu ve pirina ekstraktlarının demir iyonlarını indirgeme güçleri

Obied ve ark. (2008) farklı konsantrasyonlardaki (1-28 ppm) zeytin karasu ekstraktlarının demir iyonlarını indirgeme güçlerini belirlemişlerdir. Ekstrakt konsantrasyonu arttıkça indirgeme gücünü gösteren absorbans değerlerinde artış olduğunu bildirmişlerdir.

4.7. Ekstrakt İçeren Trigliseritlerin İndüksiyon Periyotları

Ayçiçek yağında bulunan antioksidan maddeler uzaklaştırılarak saf trigliseritler elde edilmiş ve bu trigliseritlere farklı konsantrasyonlarda karasu ve pirina ekstraktları ile lesitin ilave edilmiştir. 90 °C’da 25 L/h akış hava akış hızında saptanan indüksiyon periyotları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Koruma faktörleri ise her bir numunenin indüksiyon periyodu saf trigliseritlerin indüksiyon periyoduna oranlanarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Ekstrakt, lesitin veya antioksidan içeren trigliseritlerin Ransimat cihazı ile belirlenen indüksiyon periyotları

Yağlar	İndüksiyon periyodu (saat)*	Koruma faktörü
Ayçiçek yağı	24.40±0.78	
TG (kontrol)	6.84±0.46	
TG+ L (1 mg/g)	7.39±0.18	1.08
TG+ L (2 mg/g)	7.60±0.19	1.11
TG+ L (3 mg/g)	8.72±0.70	1.27
TG+ L (4 mg/g)	9.90±1.03	1.45
TG+ L (5 mg/g)	11.47±0.80	1.68
TG+ KM (1 mg/g)	11.27±0.40	1.65
TG+ KE (1 mg/g)	10.21±0.28	1.49
TG+ KM (1 mg/g)+L (5 mg/g)	22.12±1.70	3.23
TG+ KM (2 mg/g)+L (5 mg/g)	22.10±3.08	3.23
TG+ KE (1 mg/g) +L (5 mg/g)	20.17±2.95	2.95
TG+ KE (2 mg/g) +L (5 mg/g)	23.76±3.47	3.47
TG+ PM (1 mg/g)	9.79±0.40	1.43
TG+ PE (1 mg/g)	8.16±0.60	1.19
TG+ PM (1 mg/g)+L (5 mg/g)	16.32±1.44	2.39
TG+ PM (2 mg/g)+L (5 mg/g)	15.92±1.32	2.33
TG+ PE (1 mg/g) +L (5 mg/g)	17.11±0.81	2.50
TG+ PE (2 mg/g) +L (5 mg/g)	16.48±0.23	2.41
BHA	23.11±0.16	3.38
BHT	15.52±0.92	2.27
α - tokoferol	19.81±0.03	2.90

*Soniclar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

90 °C’da ve 25 L/h hava akış hızında Ransimat cihazı ile ölçüm yapılmıştır.

TG, saflaştırılmış trigliseritler; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

Ayçiçek yağının indüksiyon periyodu 24.40 saat iken uygulanan saflaştırma işlemi sırasında doğal antioksidanların uzaklaştırılması nedeniyle indüksiyon periyodu 6.84 saate düşmüştür.

Lesitin bitki ve hayvan dokularında yer alan, fosforik asit, kolin, yağ asitleri, gliserol, glikolipit, trigliserit ve fosfolipitlerden fosfatidil kolin, fosfatidil etanol amin, fosfatidil inositol gibi bileşiklerden oluşan, gıda sanayinde daha çok emülgatör özelliğinden yararlanılan bir maddedir. Lesitinde yer alan fosfolipitler yağ/su ara yüzeyinde yer alarak oksijenin yağ ile temas etmesini engellemekte ve atmosferik oksijene karşı lipitleri koruyucu rol üstlenmektedirler (Anonim, 2013, Judde ve ark. 2003).

Saf trigliseritlere 1 mg/g konsantrasyonda lesitin katılması sonucu indüksiyon periyodu 7.39 saate yükselmiştir. Lesitin konsantrasyonu artırıldıkça indüksiyon periyodu da artmıştır. 5 mg/g düzeyinde ilave edildiğinde ise indüksiyon periyodu 11.47 saat olarak saptanmıştır. Saf trigliseritlerin indüksiyon periyodundaki bu artış lesitin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Judde ve ark. (2003), kolza yağının indüksiyon periyodunun 110 °C’da 8.4 saat olduğunu, ilave edilen lesitin miktarı arttıkça (% 1-5, w/w) indüksiyon periyodunun arttığını, % 5 oranda katıldığında ise 37.6 saate yükseldiğini bildirmişlerdir. Lesitin miktarı arttıkça antioksidatif etkinin artmasına karşılık, yüksek miktardaki lesitini yağa homojen bir şekilde karıştırmanın güç olduğunu ve % 1 oranında lesitin kullanılmasının daha uygun olduğunu vurgulamışlardır. Lesitin antioksidan

aktivitesinin içerdği fosfolipitlerden kaynaklandığını, fosfolipit miktarı arttıkça antioksidan aktivitenin de arttığını savunmuşlardır.

Trigliseritlere 1 mg/g konsantrasyonda olacak şekilde karasu metanol ve etanol ekstraktı ilave edilmesi indüksiyon periyodunu 6.84 saatten sırasıyla 11.27 ve 10.21 saate yükseltmiştir. Bu koşullarda ekstraktların oksidasyona karşı trigliseritleri koruma faktörü 1.65 ve 1.49 olarak hesaplanmıştır.

Hidrofilik ve lipofilik antioksidanların yağdaki termal bozulmayı nasıl önlediklerine ilişkin ileri sürülen “polar paradoks” adlı hipoteze göre polar antioksidanlar polar olmayan lipidlerde, polar olmayan antioksidanlar ise polar lipid emülsiyonlarında daha etkili olmaktadır. Polar olmayan antioksidanlar yağda çözünürken, fenolik bileşikler gibi polar yapıdaki antioksidanlar yağda çözünmemekte ve yağ-hava ara yüzeyinde kalarak oksijenin yağa temasını dolayısı ile oksidasyonu önlemektedirler (Oroco-Solano ve ark., 2011; Shahidi ve Zhong, 2011; Zhong ve Shahidi, 2012). Karasu ve pirina ekstraktları önemli düzeyde polar yapıdaki fenolik bileşik içerdüğinden saflaştırılmış trigliseritler üzerine koruyucu etkide bulunmuş ve indüksiyon periyodunu yükseltmişlerdir.

Karasu metanol ekstraktları (1 mg/g ve 2 mg/g) lesitin (5 mg/mL) ile birlikte kullanıldığında trigliseritlerin indüksiyon periyodunu 22.12 ve 22.10 saat değerlerine yükseltmiştir. Bu değerler antioksidan maddeler uzaklaştırılmadan önce ayçiçek yağının indüksiyon periyodu olan 24.40 saat değerine oldukça yakındır. Lesitin ile birlikte iken karasu etanol ekstraktının konsantrasyonunun 1 mg/g’dan 2 mg/g’a çıkarılması indüksiyon periyodunu 20.17 ve 23.76 saate yükseltmiştir. Koruma

faktörü ise sırasıyla 2.95 ve 3.47 olmuştur. Bu değerler BHT (2.27), α -tokoferol (2.90) veya BHA'nın (3.38) koruma faktörlerinden daha yüksektir.

Lesitin fenolik antioksidanlar üzerine sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir. Fosfolipitler amino gruplarındaki bir hidrojeni vererek okside olmuş fenolik antioksidanı rejenere edebilmektedirler (Judde ve ark., 2003).

1 mg/g konsantrasyonda pirina ekstraktı içeren trigliseritlerin indüksiyon periyotları ise 9.79 ve 8.16 saat olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda pirina ekstraktlarının oksidasyona karşı trigliseritleri koruma faktörleri 1.19 ve 1.43 olmuştur. Pirina metanol ekstraktı ise etanol ekstraktından daha etkili olmuştur. Pirina ekstraktları 5 mg/g konsantrasyonda lesitin ile birlikte kullanıldığında indüksiyon periyodu daha da yükselmiş ve koruma faktörleri 2.50 olarak belirlenmiştir. Ulaşılan indüksiyon periyodu değerleri ile koruma faktörleri 0.2 mg/g konsantrasyonda BHT ilave edilmesi durumunda elde edilen indüksiyon periyotlarından daha yüksek olmuştur.

Karasu ekstraktları tek başlarına veya lesitin ile birlikte kullanıldıklarında pirina ekstraktlarından daha etkili olmuş, trigliseritlerin indüksiyon periyodunun daha fazla yükselmesini sağlamışlardır. Bunda karasu ekstraktlarının daha fazla miktarda fenolik bileşik içermesinin rolü olduğu düşünülmektedir.

4.8. Ekstrakt İçeren Ayçiçek Yağlarının İndüksiyon Periyotları

Karasu ve pirina ekstraktları içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları DSC cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Oksidasyon ekzotermik bir reaksiyon olduğundan

sabit sıcaklıkta oksidasyon pikinin gözleendiği ana kadar geçen süre indüksiyon periyodu olarak değerlendirilmiştir. Ransimat sonuçlarına göre ekstrakt konsantrasyonu 1 mg/g ve lesitin konsantrasyonu ise 5 mg/g olarak seçilmiş ve sadece metanol ekstraktları içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları belirlenmiştir. Analiz sonuçları ise Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ekstrakt, lesitin veya BHT içeren ayçiçek yağlarının DSC ile belirlenen indüksiyon periyotları

Yağlar	İndüksiyon periyodu (dak)	Koruma faktörü
AY	22.98±0.18g	
AY+L (5 mg/g)	34.95±0.54d	1.52
AY+KM (1 mg/g)	37.92±0.47c	1.65
AY+KM (1 mg/g)+L (5 mg/g)	44.76±0.43a	1.95
AY+PM (1 mg/g)	34.01±0.30e	1.48
AY+PM (1 mg/g)+L (5 mg/g)	41.22±0.42b	1.79
AY+BHT (0.2 mg/g)	26.99±0.31f	1.17

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.
DSC cihazı ile 50 mL/dak oksijen varlığında 130 °C’da indüksiyon periyotları belirlenmiştir.
AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; PM, pirina metanol; KM, karasu metanol

Ayçiçek yağının indüksiyon periyodu 22.98 dakikadan karasu metanol ekstraktı ilave edildiğinde 37.92 dakikaya, pirina ekstraktı katıldığında ise 34.01 dakikaya yükselmiştir. Bu ekstraktların koruma faktörleri ise 1.65 ve 1.48 olarak hesaplanmıştır. Görüldüğü gibi karasu ekstraktı oksidasyonu önlemede pirina ekstraktına kıyasla daha etkili olmuştur.

Ayçiçek yağına 5 mg/g konsantrasyonda lesitin ilave edildiğinde indüksiyon periyodu 34.95 dakika olarak saptanmıştır. Evans (1935) lesitin % 0.05- 0.1 oranlarında kullanıldığında etkili bir antioksidan olduğunu, oda sıcaklığında pamuk

tohumu yağının oksidasyonunu önemli ölçüde önlediğini bildirmiştir. Judde ve ark. (2003) ise farklı yağ asiti bileşimlerine ve tokoferol izomerlerine sahip olan soya, palm, ceviz, balık ve domuz yağlarına % 1 oranında lesitin ilave edildiğinde indüksiyon periyotlarının yükseldiğini belirtmişlerdir.

Lesitin ile birlikte ekstrakt kullanıldığında ayçiçek yağının indüksiyon periyodu ekstraktın tek başına kullanıldığı durumdan daha yüksek olmuştur. Bu değerler karasu metanol ekstraktı ile lesitin içeren yağ için 44.76 dakika iken, pirina metanol ekstraktı ile lesitin içeren yağ için 41.22 dakika olarak tespit edilmiştir. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları dolayısı ile koruma faktörleri BHT içeren yağın sahip olduğu değerlerden yüksek olmuştur. BHT ve BHA'nın yüksek sıcaklıklarda uçucu oldukları, gıdaların pişirilmesi veya kızartılması sırasında su buharı ile gıdadan uzaklaştıklarından etkili olmadıkları bildirilmektedir (Zhang ve Weng, 2004).

Lesitin antioksidan özelliği yanında, yağda bulunan tokoferoller üzerine sinerjistik etki gösterdiği, ilave edilen antioksidanın yağda iyice dağılmasını sağladığı bildirilmektedir (Evans, 1935; Hamilton ve ark., 1998; Judde ve ark., 2003).

Lafka ve ark. (2011) 150 ppm karasu etanol ekstraktı içeren ayçiçek yağının Ransimat cihazında 100 °C'da indüksiyon periyodunun 11.37 saat ve koruma faktörünün ise 1.53 olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre etanol ekstraktının BHT, askorbil palmitat veya E vitamininden daha etkili bir antioksidan olduğunu öne sürmüşlerdir. Antioksidan aktivitenin yüksek olmasının ekstraktın içerdiği kateşin, luteolin, hidroksitirozol, kafeik asit ve oleuropeinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Ayrıca ekstraktın 200 ppm konsantrasyondaki askorbil palmitat ile birlikte kullanılması durumunda antioksidan aktivitenin arttığını ve koruma faktörünün 4.18 değerine ulaştığını bildirmişlerdir. Bunda lipofilik karakterdeki askorbil palmitatın fenolik antioksidanlarla birlikte kullanıldığında sinerjistik etki göstermesinin rolü olduğunu savunmuşlardır.

De Leonardis ve ark. (2007) domuz yağının stabilizasyonunda karasudan elde edilen ekstraktların oldukça etkili olduklarını belirlemişlerdir. Domuz yağına ilave edilen ekstrakt miktarı (50-200 mg/kg) artırıldıkça indüksiyon periyodunun (120 °C’da Ransimat cihazı kullanılarak) doğrusal olarak arttığını bildirmişlerdir. Üç farklı domuz yağına 150 ppm konsantrasyonda karasu ekstraktı ilave edildiğinde indüksiyon periyotları yükselmiş, koruma faktörleri ise 7.7, 2.7 ve 14.9 olarak tespit edilmiştir.

De Medina ve ark. (2011) zeytin yaprağından ve pirinadan elde edilen ekstraktların 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda mısır özü, soya, ayçiçek ve kolza yağı ile zeytinyağlarına ilave edildiğinde indüksiyon periyodunu yükselttiklerini bildirmişlerdir.

4.9. Ekstrakt İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarları

Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarları Çizelge 4.9’da verilmiştir. Ayçiçek yağının fenolik madde miktarı 8.6 ppm olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağına 1 mg/g veya 2 mg/g konsantrasyonda karasu ekstraktı katıldığında yağın fenolik madde miktarı 14.2 ile 17.9 ppm, pirina ekstraktı

katıldığında ise 13.2 ile 17.1 ppm arasında değişmiştir. Ekstrakt konsantrasyonunun artırılması yağın fenolik madde miktarını bir miktar yükseltmiştir. Ekstrakt ile birlikte yağa 5 mg/g konsantrasyonda lesitin ilave edilmesi fenolik madde miktarının artmasına neden olmuştur. Lesitin ve ekstrakt içeren ayçiçek yağının indüksiyon periyodunun sadece ekstrakt içerenden daha yüksek olmasının bir başka nedeninin lesitin yağda çözünen fenolik madde miktarını artırması olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.9. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının fenolik madde miktarları

Yağlar	Toplam Fenolik Madde Miktarı (ppm)*
AY	8.6 ± 1.0
AY+L	9.7 ± 0.4
AY+KM (1 mg/g)	14.2 ± 1.0
AY+KM (2 mg/g)	17.9 ± 2.2
AY+KM (1 mg/g)+ L (5 mg/g)	21.9 ± 0.3
AY+KM (2 mg/g)+ L (5 mg/g)	49.3 ± 1.5
AY+KE (1 mg/g)	15.1 ± 0.7
AY+KE (2 mg/g)	17.7 ± 1.7
AY+KE (1 mg/g) + L (5 mg/g)	20.2 ± 1.1
AY+KE (2 mg/g) + L (5 mg/g)	21.2 ± 0.8
AY+PM (1 mg/g)	13.7 ± 1.4
AY+PM (2 mg/g)	15.2 ± 2.1
AY+PM (1 mg/g) + L (5 mg/g)	22.5 ± 1.0
AY+PM (2 mg/g) + L (5 mg/g)	28.3 ± 1.5
AY+PE (1 mg/g)	13.2 ± 1.6
AY+PE (2 mg/g)	17.1 ± 1.9
AY+PE (1 mg/g) + L (5 mg/g)	19.8 ± 2.3
AY+PE (2 mg/g) + L (5 mg/g)	17.3 ± 0.6

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

1 mg/g karasu metanol ekstraktı içeren yağın fenolik madde miktarı 14.2 ppm iken, 5 mg/g lesitin ile birlikte kullanıldığında yağın fenolik madde miktarı 21.9 ppm'e yükselmiştir. Karasu metanol ekstraktı 2 mg/g düzeyinde ilave edildiğinde 17.9 ppm olan fenolik madde miktarı, lesitin varlığında 49.3 ppm düzeyine yükselmiştir. Lesitin ile birlikte kullanıldıklarında karasu metanol ekstraktı, etanol ekstraktına

kıyasla daha yüksek oranda fenolik maddenin yağa geçmesini sağlamıştır. Benzer şekilde lesitin varlığında pirina metanol ekstraktı fenolik madde miktarını artırmada etanol ekstraktından daha etkili olmuştur.

Chiou ve ark. (2007) ayçiçek yağlarını 120 ve 240 mg/kg fenolik madde düzeyinde zeytin yaprak ekstraktları ile zenginleştirmişler ve tavada kızartma işleminde kullanmışlardır. Konsantrasyon artışı yağın fenolik madde miktarını 8.0'dan 17.2 mg/kg'a yükseltmiştir. Kızartma işlemi sırasında yağın fenolik madde miktarında ise düşme gerçekleşmiştir.

De Medina ve ark. (2011) ise zeytin yaprağı ve karasu ekstraktlarından çeşitli bitkisel yağlara geçen fenolik madde miktarlarının ve bileşimlerinin farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Karasu ekstraktından yağlara hidroksitirozol, tirozol ve luteolin gibi fenolik bileşiklerin, zeytin yaprak ekstraktından ise oleuropein ve ferulik asitin geçtiğini belirtmişlerdir.

4.10. 60 °C'da Uygulanan Hızlandırılmış Oksidasyon Testi

4.10.1. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C'daki oksidasyonu

Karasu ve pirina ekstraktları içeren ayçiçek yağlarının 60 °C'daki oksidasyonu sırasında E_{232} ve E_{270} değerlerinde gerçekleşen değişim Çizelge 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir. Oksidasyonun birincil ürünleri olan hidroperoksitler ve konjuge dienler 232-234 nm'de, oksidasyonun ikincil ürünleri olan aldehitler, ketonlar, kısa

zincirli yağ asitleri ve alkoller ile konjuge trienler ise 268-270 nm’de absorbans yükselmesine neden olmaktadır (Göğüş ve ark., 2009). Bu nedenle bu dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülerek yağ oksidasyonu hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir.

Hızlandırılmış oksidasyon koşullarında birincil oksidasyon ürünleri zamanla arttığı için alınan tüm yağ numunelerinin E_{232} değerlerinde artış gerçekleşmiştir ($p<0.05$). Ayçiçek yağının E_{232} değeri 3.54’den yavaş bir artışla 12. gün sonunda 17.39’a, ardından hızlı bir artışla 21 gün sonunda 98.25 değerine yükselmiştir. Ayçiçek yağına 5 mg/g konsantrasyonda lesitin ilave edilmesi yağın oksidasyona karşı direncini artırmış ve E_{232} değerinin 18. gün sonunda 28.58, 21. gün sonunda ise 60.09 değerine düşmesini sağlamıştır.

Hamilton ve ark. (1998), balık yağının 20 °C’deki oksidasyonu sırasında % 0.5 oranında lesitin içeren balık yağının hem kontrolden hem de % 0.1 oranda askorbil palmitat içeren balık yağından daha düşük peroksit sayısına sahip olduğunu belirlemişlerdir. Evans (1935) % 0.1 oranında lesitin içeren pamuk tohumu yağının peroksit sayısının kontrolden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Ayçiçek yağına karasu metanol veya etanol ekstraktının ilave edilmesi E_{232} değerinde benzer değişimlere neden olmuş ve 21 gün sonunda E_{232} değeri 75.23 ve 75.30 değerlerine yükselmiştir. Bu değer oksidasyon süresi sonunda kontrolün sahip olduğu değerden düşük, lesitin içeren ayçiçek yağınınkinden yüksektir.

Çizelge 4.10. Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C’da E₂₃₂ değerleri

Gün	Başlangıç	3	6	9	12	15	18	21
AY	3.54±0.16fABC	5.33±0.26fBC	11.59±2.37eA	14.94±0.02deAB	17.39±1.14dB	25.13±0.47cB	48.34±0.29bA	98.25±4.69aA
AY+L	3.31±0.04fBC	4.54±0.14efEF	7.91±0.35eCDEF	11.92±0.38dD	14.64±0.38dC	23.15±0.19cC	28.58±0.93bE	60.09±4.30aE
AY+KM	3.53±0.14hABC	5.36±0.03gBC	7.91±0.21fCDEF	14.78±0.95eAB	18.88±0.80dAB	23.31±0.46cC	32.98±1.20bD	75.23±0.71aD
AY+KE	3.54±0.04hABC	5.14±0.05gCD	8.53±0.07fBCD	14.06±0.82eBC	18.29±0.02dAB	23.71±0.77cC	31.99±0.50bD	75.30±0.99aD
AY+KM+L	3.86±0.51fA	4.14±0.04fFG	6.45±0.00eFG	9.90±0.71dFG	11.95±0.27dD	18.85±0.97cD	24.55±1.34bF	39.55±1.71aG
AY+KE+L	3.70±0.23fAB	4.23±0.13fFG	7.93±1.36eCDEF	9.07±0.39eGH	12.20±0.14dD	17.81±0.21cD	22.86±0.23bFG	36.09±1.05aGH
AY+PM	3.59±0.05hABC	6.11±0.39gA	8.99±0.11fBCD	15.27±0.14eA	18.44±1.78dAB	22.77±0.21cC	39.10±0.04bC	81.32±1.28aC
AY+PE	3.62±0.14gABC	5.63±0.09fgB	8.41±0.33fBCDE	13.57±0.08eC	19.87±0.38dA	23.02±0.73cC	39.49±2.06bBC	75.28±2.90aD
AY+PM+L	3.25±0.04fC	3.99±0.11fG	5.71±0.02eG	8.73±0.07dH	10.24±0.04dE	16.31±0.44cE	21.98±1.66bGH	32.95±0.99aH
AY+PE+L	3.66±0.10hABC	4.79±0.33gDE	6.55±0.16fEFG	9.29±0.08eGH	11.29±0.18dDE	18.16±0.43cD	21.06±0.50bGH	36.10±0.46aGH
AY+BHT	3.39±0.07fBC	4.69±0.21efE	7.2±0.16eDEFG	10.70±0.45dEF	10.96±0.14dDE	13.87±1.42cF	19.66±1.34bH	30.90±2.49aH
AY+BHA	3.35±0.06gBC	5.28±0.12gBC	9.25±0.12fBC	14.50±0.07eABC	17.48±0.17dB	26.16±0.09cB	32.31±0.02bD	49.69±3.02aF
AY+α-TOK	3.30±0.01gBC	5.60±0.13fB	9.94±0.47eAB	10.95±0.00eDE	18.96±0.69dAB	29.36±0.27cA	41.71±1.45bB	89.93±1.11aB

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları, α-TOK, α-tokoferol

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05); ^{A-H} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Ayçiçek yağına karasu ekstraktı ile beraber lesitin ilave edildiğinde daha etkili olmuş ve yavaş bir artışla E_{232} değeri 3.86-3.70 değerlerinden 21 gün sonunda 39.55-36.09 değerlerine ulaşmıştır. Bu değer kontrolün sahip olduğu değer % 65 daha altında olmaktadır. Ayrıca elde edilen bu değerler sentetik bir antioksidan olan BHA'yı içeren ayçiçek yağının E_{232} değerlerinden daha düşüktür. Oksidasyon süresince en düşük E_{232} değerleri ise BHT içeren ayçiçek yağında saptanmıştır.

Ayçiçek yağına ilave edilen pirina ekstraktları karasu ekstraktları ile benzer değişimlere neden olmuştur. Oksidasyon sonunda pirina metanol ekstraktı içeren numunelerde 81.32 ve pirina etanol ekstraktlarını içerenlerde ise 75.28 değerine ulaşmıştır. Pirina ekstraktları için saptanan değerler α - tokoferol içeren yağların sahip olduğu değerlerden daha düşüktür. Pirina ekstraktı ile beraber lesitin kullanımı oksidasyon ürünlerinin oluşum hızını yavaşlatmış, E_{232} değerini 3.25-3.66 değerlerinden 21 gün sonunda 32.95-36.1 değerlerine yükseltmiştir. Bu değerler de α - tokoferol ve BHA içeren yağların değerlerinden düşük, ancak BHT içeren yağinkinden yüksektir.

E_{270} değerleri dikkate alındığında tüm numunelerde oksidasyon süresince artış ve azalışlar şeklinde değişimler olmuştur. Ayçiçek yağının E_{270} değeri 3.01 değerinden çok az bir artışla 21 gün sonunda 4.49 değerine yükselmiştir. Ekstrakt ve lesitin bir arada kullanıldığı ayçiçek yağlarında kontrolden biraz daha yüksek değerler gözlenmiştir. BHT, BHA ve α - tokoferol içerenlerde de benzer şekilde daha yüksek değerler saptanmıştır. Ayçiçek yağında bulunan doğal antioksidanlar E_{270} değerinin değişmesine engel olmuşlardır.

Çizelge 4.11. Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının 60 °C’da E₂₇₀ değerleri

Gün	Başlangıç	3	6	9	12	15	18	21
AY	3.01±0.04deA	2.99±0.16deBC	3.57±0.16bcBC	3.67±0.08bABC	2.61±0.17efD	3.19±0.01cdDE	2.47±0.09fCD	4.49±0.44aCDEF
AY+L	2.91±0.01deA	2.93±0.10deBC	3.49±0.15bcBC	3.64±0.14bABC	2.76±0.14eD	3.37±0.08bcCD	3.25±0.10cdAB	4.29±0.31aDEF
AY+KM	2.99±0.12cA	2.85±0.04cBC	2.68±0.07cD	3.51±0.13bBC	4.29±0.29aAB	1.80±0.24dG	1.95±0.12dDE	4.28±0.21aD
AY+KE	3.00±0.02cdA	2.70±0.03dC	2.87±0.01dD	3.31±0.15cC	3.71±0.12bC	2.77±0.14dF	1.91±0.00eDE	4.36±0.33aCDEF
AY+KM+L	2.92±0.04cA	2.96±0.03cBC	3.43±0.03bC	3.54±0.33bBC	2.69±0.00cD	3.47±0.09bCD	3.81±0.08bA	6.19±0.43aAB
AY+KE+L	3.03±0.18cA	3.02±0.07cB	4.25±0.45bA	3.31±0.11cB	2.89±0.05cD	3.95±0.28bB	3.22±0.12cAB	5.62±0.06aBC
AY+PM	2.98±0.03bA	3.08±0.20bB	2.90±0.02bD	3.64±0.01aABC	3.99±0.43aBC	1.77±0.27cG	1.62±0.01cE	3.72±0.19aEF
AY+PE	2.95±0.00cA	3.10±0.05cB	2.91±0.10cD	3.35±0.03bC	4.63±0.14aA	1.70±0.02dG	1.81±0.11dE	3.28±0.07bF
AY+PM+L	2.86±0.00cdA	3.03±0.07cB	3.54±0.05bBC	3.65±0.03bABC	2.73±0.05dD	3.49±0.11bCD	3.52±0.28bA	5.62±0.05aB
AY+PE+L	3.00±0.09deA	3.53±0.30bcA	3.85±0.12bB	3.64±0.13bABC	2.75±0.10eD	3.66±0.04bBC	3.21±0.29cdAB	4.92±0.09aBCDE
AY+BHT	2.96±0.08bA	3.00±0.15bBC	3.52±0.12bBC	4.00±0.31bA	2.73±0.01bCD	2.83±0.25bEF	3.36±0.44bAB	7.48±1.68aA
AY+BHA	2.93±0.08cdA	2.97±0.04cdBC	3.43±0.03bcdC	3.72±0.06bcAB	2.76±0.06dD	3.80±0.35bBC	3.43±0.67bcdAB	5.28±0.55aBCD
AY+ α -TOK	2.90±0.01deA	3.03±0.07dB	3.54±0.24cBC	2.73±0.00deD	2.67±0.11eD	4.52±0.05bA	2.88±0.10deBC	5.51±0.26aBCD

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları; α -TOK, α -tokoferol

^{a-f} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-F} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Lafka ve ark. (2011) zeytinyağı fabrikası atıklarından hazırlanan ekstraktların 85 °C’da ayçiçek yağı ile zeytinyağının oksidasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Ekstrakt içeren yağların peroksit sayısının kontrole kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır. Ekstraktların oksidasyonu önlemede 150 ppm konsantrasyonda kullanıldığında 100 ppm’den daha etkili oldukları bildirilmiştir. Fki ve ark. (2005) ise 50 °C’da depolama sırasında 500 ppm karasu ekstraktı içeren yağların kontrolden daha düşük peroksit sayısına sahip olduğunu bildirmiştir.

Dejong ve Lanari (2009) domuz etine 50 ve 100 ppm düzeyinde zeytin karasu ekstraktı ilave edildikten sonra 76 °C’da pişirmiş ve pişirme sonrası 4 °C’da 6 gün bekletmişlerdir. Bu süreçte lipit oksidasyonu tiobarbitürik asit testi ile takip edilmiştir. Zeytin karasu ekstraktlarının dana eti ve domuz etlerinde 2-tiobarbitürik asit reaktif ürünlerinin oluşumunu sırasıyla % 63-83 ve % 47-66 oranlarında önlediğini bildirmişlerdir.

4.10.2. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C’daki oksidasyonu

Karasu ve pirina ekstraktları ilave edilen trigliseritlerin 60 °C’daki oksidasyonu sırasında E_{232} ve E_{270} değerlerinde gerçekleşen değişim Çizelge 4.12 ve 4.13’de ve Şekil 4.6, 4.7, 4.8, 4.9’da gösterilmiştir. Oksidasyonun birincil ve ikincil ürünlerinin oluşumu nedeniyle hem E_{232} hem de E_{270} değerlerinde artış gerçekleşmiştir ($p<0.05$). Ayçiçek yağı numunelerine kıyasla başlangıçtaki artışlar daha yavaş olup belirli bir indüksiyon periyodu aşıldıktan sonra hızla yükselmiştir. Trigliseritlerin saflaştırılması sırasında peroksitler de uzaklaştığı için başlangıçtaki E_{232} değerleri ayçiçek yağıninkine kıyasla daha düşük olmuştur.

Çizelge 4.12. Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C’da E₂₃₂ değerleri

Gün	Başlangıç	3	6	9	12	15	18	21
TG	2.45±0.64dABCD	2.75±0.07dGH	4.42±0.03dE	7.9±0.08dCD	29.83±2.81cD	82.66±1.23bA	98.28±10.01aA	102.27±0.07aA
TG+L	2.63±0.17eAB	3.59±0.02eC	7.29±0.03dA	31.09±1.56cA	46.53±0.19aA	45.43±3.08aF	41.63±1.88bD	40.69±0.97bE
TG+KM	2.05±0.00fD	3.12±0.03fDEF	3.70±0.12fFG	7.14±0.32eD	12.17±0.81dGH	50.66±1.26cE	86.25±2.47bB	94.43±0.37aB
TG+KE	2.08±0.04fCD	2.70±0.09fH	3.85±0.32eF	7.06±0.07eD	13.41±1.07dG	40.22±3.52cG	88.42±2.17bB	94.51±0.54aB
TG+KM+L	2.74±0.41eA	2.99±0.12eFG	5.46±0.08dC	3.92±0.47eF	5.83±0.24dI	27.34±0.03cH	43.70±1.20bD	48.77±0.49aD
TG+KE+L	2.69±0.02eA	3.38±0.19eCD	3.36±0.18eGH	4.01±0.95eF	6.22±1.00dI	24.00±0.34cH	43.23±0.62bD	50.17±1.05aD
TG +PM	2.11±0.33gBCD	3.07±0.21fgEF	4.43±0.00fE	8.92±0.01eBC	37.39±0.16dB	77.84±1.61cB	97.21±0.97aA	93.6±0.57bB
TG +PE	2.05±0.04fD	3.30±0.00efDE	4.20±0.02efE	7.92±0.30eCD	26.44±0.27dE	72.04±1.88cC	99.97±0.71aA	94.6±5.75bB
TG +PM+L	2.49±0.03eABCD	3.33±0.20eCDE	3.24±0.14eH	5.53±0.34dE	20.83±0.24cF	38.8±0.99bG	44.72±0.78aD	45.57±1.33aDE
TG +PE+L	2.68±0.00eA	3.12±0.02eDEF	3.61±0.07eFG	9.48±0.17dB	34.42±0.19cC	46.56±1.36aF	45.03±1.46abD	42.87±2.00bE
TG +BHT	2.58±0.05dABC	3.06±0.13dEF	3.14±0.02dH	4.10±0.13bcF	3.78±0.11cJ	4.18±0.01bcJ	4.44±0.35bF	9.19±0.58aF
TG +BHA	2.63±0.03fAB	3.94±0.01fB	4.92±0.24fD	7.57±0.19eD	10.23±0.70dH	12.64±0.14cI	19.81±0.95bE	43.72±2.48aE
TG + α -TOK	2.44±0.05dABCD	4.38±0.19dA	6.26±0.24cdB	9.68±0.14cB	37.01±0.45bB	58.16±1.97aD	57.06±3.35aC	56.64±3.63aC

*Sonn lar ort std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

TG, saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları; α -TOK, α -tokoferol

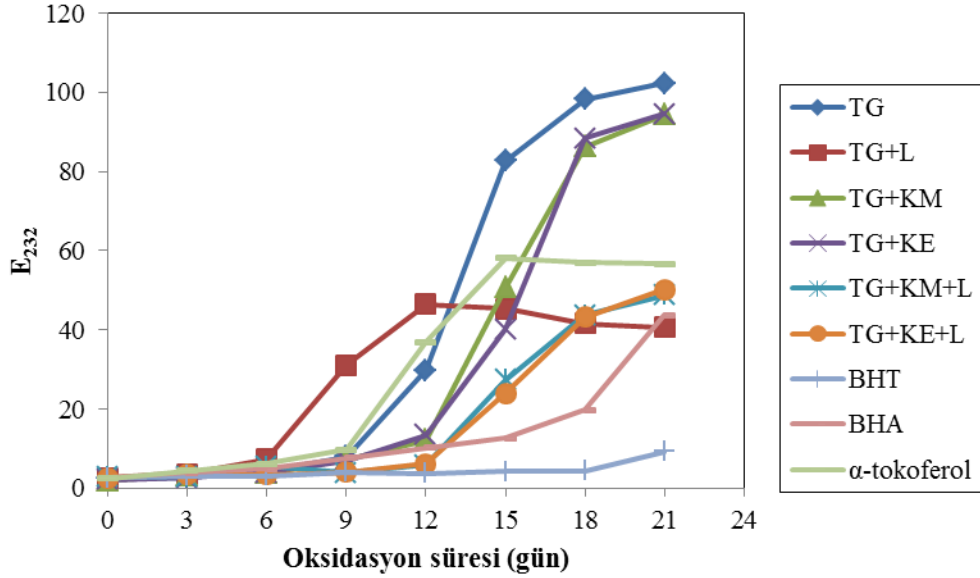
^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-J} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05).

9. gün sonuna kadar trigliseritlerin E_{232} değeri ayçiçek yağınınkinden düşük iken, 9. günden itibaren hızla yükselmiştir. Özellikle 9-18. günler arasında yaklaşık 90 birimlik artış gerçekleşmiştir. Ayçiçek yağı ise başlangıçta trigliseritlerden biraz daha yüksek değerlere sahip olmasına karşın 12. günden sonra E_{232} değerlerinde hızlı bir artış meydana gelmiştir. Ancak 12-21 gün arasında ayçiçek yağı numuneleri trigliseritlerden oldukça düşük değerlere sahip olmuştur. Bunun nedeni ayçiçek yağının tokoferoller ve karotenler gibi antioksidan bileşikleri içermesidir.

Trigliseritlere lesitin ilave edildiğinde kontrole kıyasla daha erken olmak üzere 6. günden itibaren artış gerçekleşmiştir. 7-18. günler arasında lesitin içeren trigliseritler lesitin içeren ayçiçek numunelerinden daha yüksek E_{232} değerlerine sahip olmuşlardır. Ayçiçek yağında gözlenen bu olumlu durum lesitin antioksidan özelliği yanında sinerjist özelliğinden de kaynaklanmaktadır (Hamilton ve ark., 1998; Judde ve ark., 2003). Ayçiçek yağında bulunan tokoferoller lesitin tarafından rejenere edilmektedir. Trigliseritlerde tokoferol bulunmadığından lesitin sinerjist etkisini gösterememektedir.

Lesitin içeren trigliseritlerde 15-21. günler arasında ise kontrolden (saf trigliserit) daha düşük E_{232} değerleri saptanmıştır. Ancak 6-12.günler arasında E_{232} değerleri kontrolden daha yüksek olmuştur. Lesitin içeren trigliseritler için E_{270} değerleri (Çizelge 4.13.) incelendiğinde 9-18. günler arasında bu değerlerin kontrolden daha yüksek olması bu süreçte ikincil oksidasyon ürünlerinin kontrole kıyasla daha hızlı oluştuğunu ortaya koymaktadır. O halde lesitin saflaştırılmış trigliseritlerde oksidasyonun birincil ürünlerinin düşürülmesinde etkili iken ikincil ürünlerin artmasını engileyememektedir. Lesitin trigliseritler üzerinde sınırlı düzeyde

antioksidan aktivite göstermektedir. Judde ve ark. (2003) tokoferol içermeyen rafine domuz yağının 40 °C’da 16 gün sonunda peroksit sayısının 30.0 meq O₂/kg olduğunu, % 1 oranında lesitin içeren domuz yağında ise bu değerin 19.0 meq O₂/kg olduğunu belirlemişlerdir.

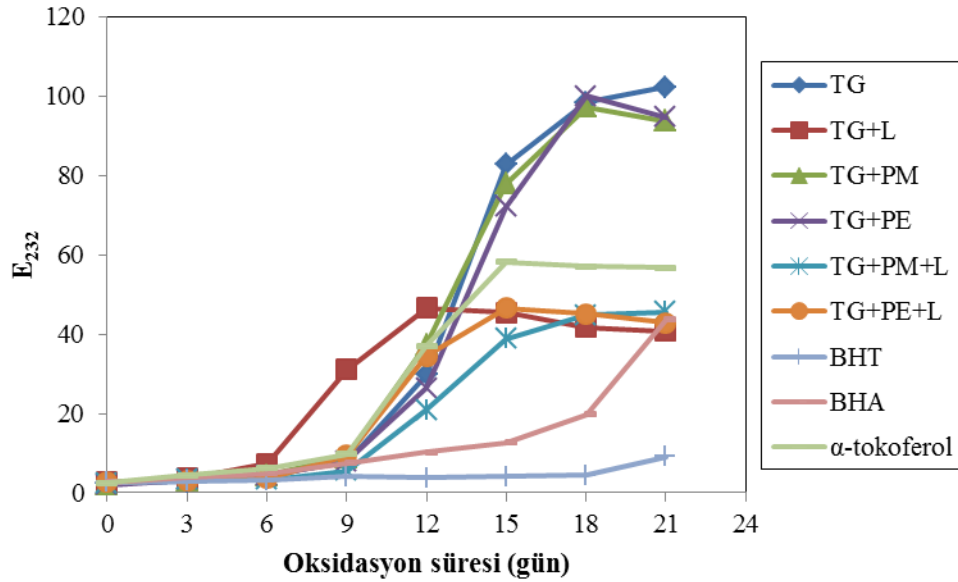


TG, saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

Şekil 4.6. Karasu ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C’da oksidasyonu sırasında E₂₃₂ değerindeki değişim

Karasu metanol ve etanol ekstraktları içeren trigliseritlerin indüksiyon periyodu 9 günden 12 güne yükselmiş, bu günden itibaren hızlı bir şekilde artmaya başlamıştır. Ancak elde edilen değerler kontrolün sahip olduğu değerlerden daha düşük olmuştur. Örneğin karasu metanol ekstraktının 12. günde 12.17 olan E₂₃₂ değeri 21. gün sonunda 94.43 değerine yükselmiştir. Bu değer kontrol denemede oksidasyon sonunda 102.27’dir.

Karasu ekstraktlarının lesitin ile birlikte trigliseritlerde kullanılması sonucunda ilk 12 gün boyunca çok az değişim gerçekleşirken 15. günde E_{232} değerleri 27.34-24.0 değerlerinden 21 gün sonunda 48.77-50.17 değerlerine yükselmiştir. Bu değerler α -tokoferol içeren trigliseritlerinkinden daha düşüktür. α -tokoferol içeren trigliseritlerde 9. günden itibaren artış olmuştur. Ekstraktla beraber lesitin ilave edilmesi tek başına karasu ekstraktlarının kullanılmasından daha etkili olmuştur. Karasu ekstraktları ile pirina ekstraktlarından daha düşük E_{232} değerlerine sahip olmuştur.



TG, saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

Şekil 4.7. Pirina ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C'da oksidasyonu sırasında E_{232} değerindeki değişim

Pirina etanol veya metanol ekstraktları içeren trigliseritler kontrole oldukça yakın değerler sergilerken, lesitin ile birlikte kullanılmaları durumunda 9. günden sonra hem kontrolden hem de pirina ekstraktı içerenlerden daha düşük E_{232} değerlerine

sahip olmuşlardır. 9-18. günler arasında lesitin varlığında pirina metanol ekstraktı pirina etanol ekstraktından daha etkili olmuş, daha düşük değerler göstermiştir.

Judde ve ark. (2003) rafine domuz yağına % 1 lesitin ile birlikte 1000 ppm tokoferol izomerleri (α - veya γ/δ tokoferol) ilave edildiğinde peroksit sayısının tek başına lesitin kullanımına kıyasla daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Lesitinin tokoferol izomerlerinden γ/δ tokoferol üzerine sinerjistik etkisinin ise daha fazla olduğunu öne sürmüşlerdir.

Ekstrakt, yapay veya doğal antioksidan içeren trigliseritlerin oksidasyonu sırasında da ayçiçek yağında olduğu gibi en düşük E_{232} değerleri BHT içeren trigliseritlerde gözlenmiştir. BHT içeren trigliseritlerde E_{232} değeri 2.58'den oksidasyon süresi sonunda 9.19 değerine yükselmiştir. BHT içeren trigliseritlerde 18. günden sonra, BHA içerenlerde 15. gün, α -tokoferol içerenlerde ise 9. günden sonra belirgin artışlar gözlenmiştir.

Oksidasyonun ikincil ürünlerini gösteren E_{270} değerleri göz önünde bulundurulduğunda trigliseritler söz konusu olduğunda ayçiçek yağında gerçekleşenin aksine oksidasyon süresince belirgin bir artış saptanmıştır. E_{270} değeri ayçiçek yağında 21. gün sonunda 4.49 iken, trigliseritlerde 10.34 değerine ulaşmıştır. Bu durum trigliseritlerde oksidasyonun daha ileri düzeyde olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.13. Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 60 °C’da E₂₇₀ değerleri

Gün	Başlangıç	3	6	9	12	15	18	21
TG	1.82±0.10dA	1.71±0.04dBC	1.7±0.03dA	1.47±0.01dBC	1.22±0.16dD	3.27±0.46cCD	5.99±0.74bBC	10.34±0.15aB
TG+L	0.44±0.04fB	0.51±0.03fG	0.37±0.01fF	2.00±0.58eA	4.06±0.01dA	6.15±0.35cA	6.80±0.22bA	9.39±0.04aC
TG+KM	1.65±0.01bB	1.78±0.03bAB	1.42±0.02bB	2.01±0.10bA	1.63±0.05bCD	2.33±1.37bDE	2.43±0.10bE	7.86±0.03aE
TG+KE	1.7±0.03cdAB	1.5±0.04dD	1.43±0.10dB	1.88±0.02bcAB	1.98±0.15bCD	0.83±0.04fFG	2.00±0.20bE	7.14±0.04aF
TG+KM+L	0.58±0.21dBCD	0.46±0.00dG	0.54±0.15dE	0.46±0.19dF	0.13±0.00eG	1.66±0.07cEF	4.26±0.04bD	8.43±0.02aD
TG+KE+L	0.47±0.00deD	0.84±0.01dE	0.78±0.12dC	0.62±0.21dEF	0.15±0.22eG	1.25±0.10cFG	4.12±0.30bD	8.50±0.06aD
TG +PM	1.72±0.01dAB	1.66±0.09dC	1.44±0.01dB	1.81±0.02dAB	2.58±0.30cB	1.72±0.06dEF	6.18±0.11bABC	10.86±0.28aA
TG +PE	1.67±0.01cdAB	1.85±0.02cA	1.51±0.01cdeB	1.88±0.14cAB	1.06±0.01eDE	1.28±0.12deFG	5.99±0.35bBC	10.33±0.47aB
TG +PM+L	0.43±0.01fgD	0.71±0.03eF	0.29±0.04gF	0.99±0.11dDE	0.55±0.16efFG	3.24±0.13cCD	5.64±0.04bC	8.91±0.04aCD
TG +PE+L	0.44±0.02fD	0.54±0.02fG	0.71±0.03fCD	1.15±0.16eCD	2.03±0.37dC	5.09±0.27cB	6.64±0.03bAB	9.24±0.21aC
TG +BHT	0.47±0.01bcdD	0.48±0.03bcdG	0.29±0.06dF	0.59±0.04bcEF	0.40±0.04cdFG	0.55±0.08bcG	0.67±0.02bF	3.43±0.24aH
TG +BHA	0.47±0.00deD	0.53±0.00cdeG	0.28±0.05eF	0.62±0.11cdeEF	0.79±0.25bcdEF	0.87±0.14bcFG	1.03±0.13bF	4.71±0.28aG
TG + α -tokoferol	0.70±0.00dC	0.83±0.09dE	0.59±0.04dDE	0.95±0.01dDE	0.80±0.13dEF	4.10±0.19cC	6.07±0.42bBC	8.60±0.41aD

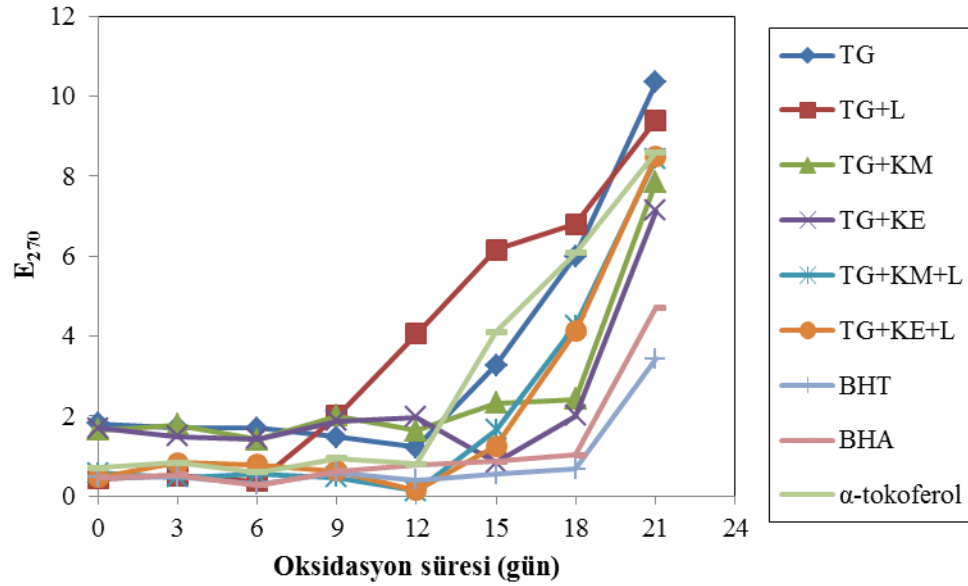
*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

TG;saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları.

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-H} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05).

İlk 6 gün boyunca lesitin içeren trigliseritlerde kontrole kıyasla daha düşük E_{270} değerleri elde edilmesine rağmen, trigliseritlerden daha erken olmak üzere 6. günden itibaren hızlı bir artış gerçekleşmiştir. Trigliseritlerin E_{270} değerleri ise 12. günden sonra hızla yükselmiştir. Karasu ekstraktlarının katılması halinde ise bu süre 18 gün olarak belirlenmiştir. Karasu ekstraktlarının E_{270} değerleri 1.65-1.70 değerlerinden 21. gün sonunda 7.86-7.14 değerlerine yükselmiştir.

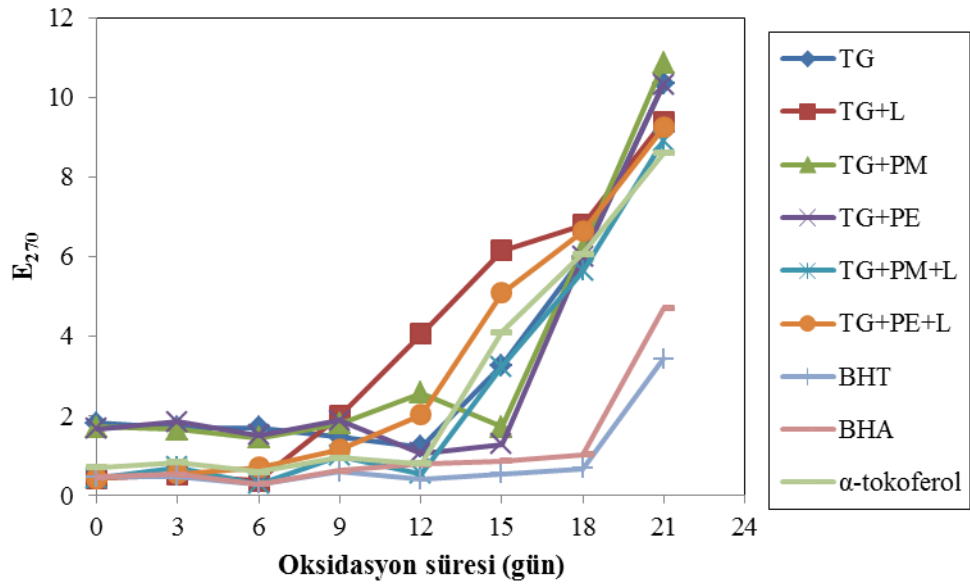
Karasu ekstraktları lesitinle beraber kullanıldığında ilk 12 gün süresince karasu ekstraktlarını içeren trigliseritlere kıyasla daha düşük E_{270} değerleri saptanmıştır. Ancak 15 ile 21. günler arasında ise ekstrakt içeren trigliseritlerden daha yüksek değerlere sahip olmuşlardır.



TG, saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

Şekil 4.8. Karasu ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C'da oksidasyonu sırasında E_{270} değerindeki değişim

Pirina, metanol ve etanol ekstraktları E_{270} değerlerini düşürmede karasu ekstraktları kadar etkili olamamış ve saf trigliseritlere benzer değerler sergilemişlerdir. Ancak oksidasyonun ilk 12 gününde lesitin ve pirina metanol ekstraktı içeren trigliseritlerin E_{270} değerleri sadece pirina etanol ve metanol ekstraktı içerenlerden daha düşük olmuştur.



TG, saf trigliserit; L, lesitin; KM, karasu metanol; KE, karasu etanol; PM, pirina metanol; PE, pirina etanol ekstraktları

Şekil 4.9. Pirina ekstraktları içeren trigliseritlerin 60 °C’da oksidasyonu sırasında E_{270} değerindeki değişim

BHT ile BHA içeren trigliseritlerin E_{270} değerleri benzer şekilde değişirken α -tokoferol içerenlerde 12. günden sonra artış başlamış ve 21 gün sonunda 8.60 değerine ulaşmıştır. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren numuneler α -tokoferolden daha etkili olmuş ve daha düşük değerlere sahip olmuşlardır.

4.11. Karasu ve Pirina Metanol Ekstraktları İçeren Ayçiçek Yağlarının 180 °C'daki Termal Oksidasyonu

İndüksiyon periyodu verileri ve hızlandırılmış oksidasyon testi sonuçlarına göre metanol ekstraktları ile etanol ekstraktlarının birbirlerine çok yakın değerler sergilemeleri nedeniyle 180 °C'daki oksidasyon denemesinde sadece metanol ekstraktları kullanılmıştır. Oksidasyon süresince 8 saat aralıklarla alınan numunelerin konjuge dien miktarı, *p*-anisidin değeri, tokoferol içeriği ve indüksiyon periyotları Çizelge 4.14. ve Şekil 4.10, 4.11, 4.12 ve 4.13'de verilmiştir.

Konjuge dien içeriği yağ oksidasyonunu sonucu oluşan birincil ürünleri gösteren bir parametredir. Termal oksidasyon sırasında çift bağların konjugasyonundan dolayı yağın konjuge dien içeriğinde artış gerçekleşmektedir (Bhattacharya ve ark., 2008). Ayçiçek yağının konjuge dien içeriği % 0.28'den 40 saat sonunda % 2.29 değerine yükselmiştir. Lesitin ilave edilmesi konjuge dien içeriğinde kontrol ile kıyaslandığında daha düşük değerler elde edilmesini sağlamıştır. Lesitin içeren ayçiçek yağlarının konjuge dien içeriği % 0.24'den 40 saat sonunda % 1.46 değerine yükselmiştir.

Karasu ekstraktı pirina ekstraktına göre konjuge dien içeriğini düşürmede daha etkili olmuştur. Karasu veya pirina ekstraktlarının lesitin ile birlikte ayçiçek yağına ilave edildiğinde ise ekstraktların tek başına kullanımına kıyasla daha düşük değerler saptanmıştır. Karasu ekstraktı ve lesitin içeren yağlar BHT içerenlere yakın değerler göstermiştir.

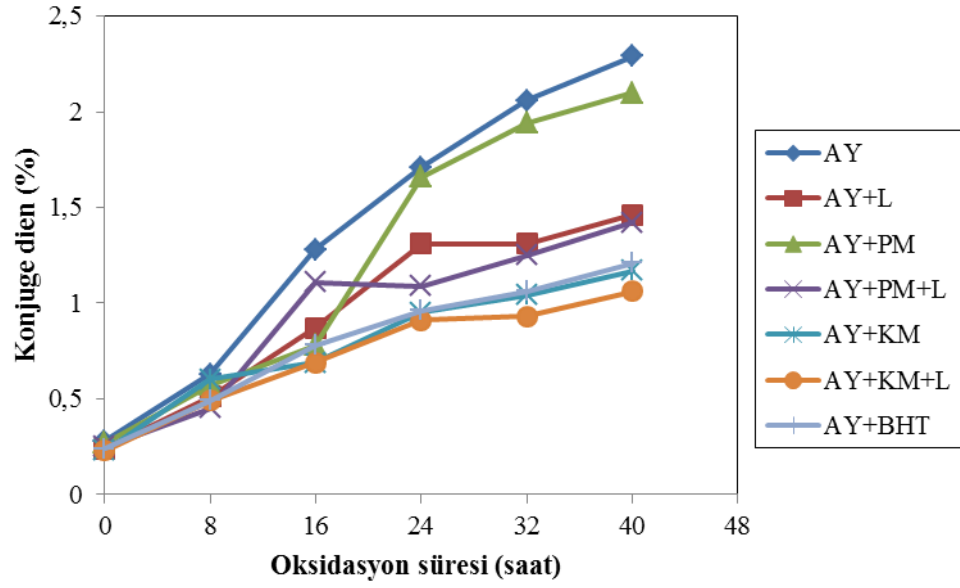
Çizelge 4.14. Karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren trigliseritlerin 180 °C’da bazı kimyasal özellikleri

Süre (saat)	AY	AY+L	AY+KM	AY+KM+L	AY+PM	AY+PM+L	AY+BHT
Konjuge dien içeriği (%)							
Başlangıç	0.28±0.01eA	0.24±0.00eB	0.23±0.00fB	0.23±0.00eB	0.27±0.01fA	0.25±0.00eB	0.24±0.01fB
8	0.63±0.01dA	0.51±0.01dC	0.60±0.03eAB	0.49±0.04dCD	0.57±0.00eB	0.45±0.02dD	0.49±0.01eCD
16	1.28±0.01cA	0.87±0.01cC	0.69±0.03dE	0.69±0.00cE	0.78±0.03dD	1.11±0.00cB	0.78±0.02dD
24	1.71±0.01bA	1.31±0.06bB	0.95±0.04cD	0.91±0.00bD	1.66±0.05cA	1.09±0.04cC	0.96±0.03cD
32	2.06±0.01bA	1.31±0.00bC	1.04±0.01bE	0.93±0.00bF	1.94±0.03bB	1.25±0.02bD	1.06±0.05bE
40	2.29±0.00aA	1.46±0.06aC	1.17±0.01aD	1.06±0.00aE	2.1±0.02aB	1.42±0.05aC	1.21±0.00aD
<i>p</i> -anisidin değeri							
Başlangıç	7.56±0.62A	7.82±0.20fA	5.22±0.06fD	4.93±0.18fD	6.70±0.04eB	5.91±0.14fC	7.24±0.13fAB
8	100.58±1.33dB	74.83±0.13eC	70.57±0.37eE	61.72±0.28eF	107.47±0.73dA	73.22±0.28eD	60.38±0.19eF
16	178.99±1.85cB	124.06±3.41dC	120.87±0.63dC	88.57±1.75dE	231.71±2.08cA	101.18±2.00dD	89.99±0.27dE
24	256.79±7.96bB	173.74±3.13cC	163.24±0.68cD	118.06±0.79cF	309.01±4.05bA	150.40±1.84cE	122.74±0.47cF
32	268.17±0.84bB	181.52±1.09bC	174.15±1.89bD	122.47±0.61bF	325.05±5.19aA	181.59±0.29bC	129.93±4.69bE
40	276.99±8.74aB	191.88±5.48aC	178.52±0.11aD	127.75±1.79aF	322.82±3.98aA	194.18±6.05aC	141.52±2.86aE
Tokoferol içeriği (ppm)							
Başlangıç	521.56±1.46aAB	527.72±4.12aA	502.14±8.98aB	533.1±10.80aA	501.38±14.82aB	532.73±5.42aA	536.41±5.32aA
8	238.65±12.39bF	340.75±0.18bD	515.62±5.24aA	437.07±10.18bB	297.52±4.92bE	375.88±9.01bC	423.56±6.89bB
16	118.57±3.78eF	226.86±1.91cE	444.85±2.34bA	352.49±12.46cC	127.59±3.32eF	319.49±0.81cD	367.19±8.44cB
24	157.08±8.77dE	180.77±5.31dD	383.5±2.31cA	320.41±1.39dB	144.34±21.25eE	205.49±7.98dC	312.17±6.80dB
32	206.87±9.08cD	156.84±1.35eG	345.36±11.22dA	296.19±7.43eB	188.11±0.07dE	173.11±1.49eF	245.83±1.03eC
40	245.52±0.77bB	177.42±1.55dE	312.65±2.68eA	301.33±4.98deA	221.89±0.88cC	177.64±5.89eE	208.75±11.70fD
İndüksiyon periyodu (dak. 130 °C)							
Başlangıç	22.98±0.18aG	34.95±0.47aD	37.92±0.47aC	44.76±0.43aA	34.01±0.30aE	41.22±0.42aB	26.99±0.31aF
8	18.28±0.93bD	16.86±0.40bE	32.90±0.36bA	33.37±0.07bA	21.55±0.11bC	28.92±0.08bB	16.63±0.04bcE
16	9.00±0.08cE	15.15±0.12cD	22.01±0.04cB	26.92±0.37cA	6.83±0.51F	21.32±0.26cB	16.10±0.46cC
24	2.85±0.20dF	7.97±0.36dE	10.60±0.15dC	27.50±0.60cA	2.05±0.56dF	9.39±0.22dD	13.54±0.04dB
32	2.25±0.16deF	4.26±0.25eE	8.79±0.50eC	24.05±0.33dA	0.80±0.07eG	7.93±0.08eD	14.02±0.35dB
40	1.73±0.02eD	4.07±0.23eC	7.31±0.14fB	16.94±0.26eA	1.80±0.38dD	6.97±0.49fB	17.27±0.71bA

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; PM, pirina metanol.

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-J} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05).



AY, ayçiçek yağı; PM, pirina metanol ekstraktı, KM, karasu metanol ekstraktı; L, lesitin

Şekil 4.10. 180 °C'daki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının konjuge dien değerleri

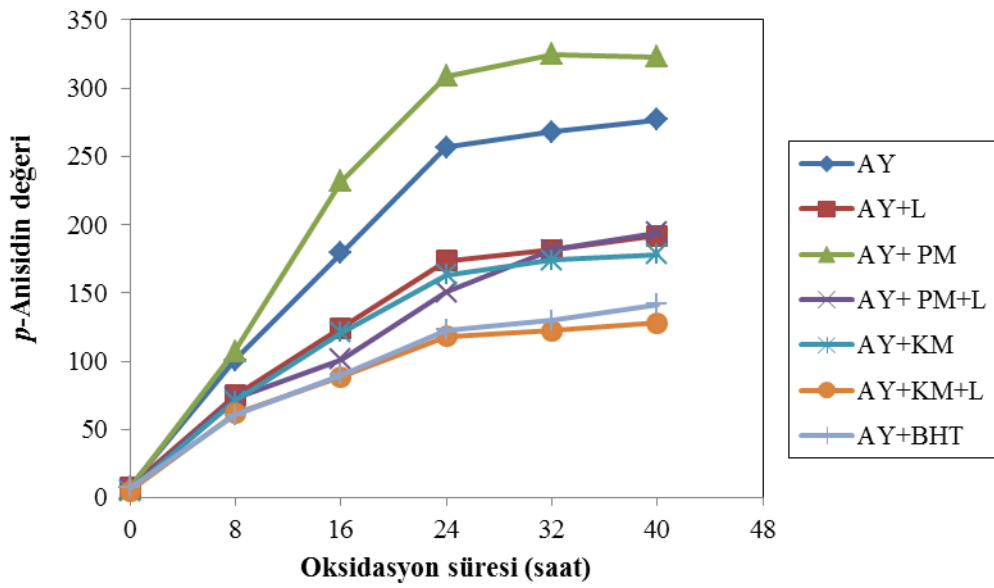
Lee ve ark. (2009) zeytin yaprağından bütanol ile hazırlanan ekstratın diğer çözücü ekstraktlarından daha etkili olduğunu, 180 °C'da 48 saat bekletme sırasında BHT içeren yağdan daha düşük konjuge dien içeriğine sahip olduğunu bildirmiştir.

p-anisidin değeri yağ oksidasyonu sonucu ikincil ürünlerin özellikle 2,4-dienallerin belirlenmesine yönelik bir yöntemdir (Che Man ve Wan Hussin, 1998). *p*-anisidin değeri, konjuge dien değeri gibi oksidasyon süresince istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır ($p < 0.05$, Şekil 4.11.).

Ayçiçek yağının *p*-anisidin değeri 7.56'dan 276.99 değerine yükselirken, sadece lesitin ilave edilenlerde 40 saat sonunda 191.88 mmol/kg değerine yükselmiştir.

Lesitin antioksidan ve sinerjist etkisini hızlandırılmış oksidasyon testinde olduğu gibi 180 °C’da göstermiştir.

Karasu ekstraktı içeren yağlar kontrole ve lesitin içeren yağa kıyasla daha düşük değerlere sahip olmuştur. Karasu ekstraktı içerende oksidasyon sonunda ulaşılan değer 178.52 iken, ekstrakt ve lesitin içerende 127.75 mmol/kg olmuştur. Bu değerler BHT ilave edilen yağın aynı koşullarda sahip olduğu değerlerden daha düşüktür.

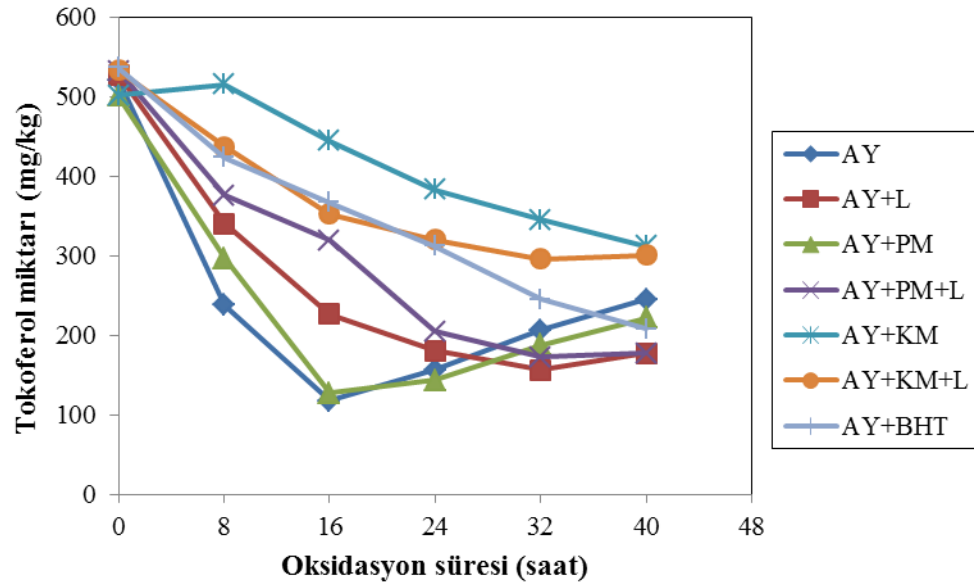


AY, ayçiçek yağı; PM, pirina metanol ekstraktı, KM, karasu metanol ekstraktı; L, lesitin

Şekil 4.11. 180 °C’deki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının *p*-anisidin değerleri

Pirina ekstraktları yüksek sıcaklıkta prooksidan etkili olmuş ve kontrolden daha yüksek *p*-anisidin değerlerine neden olmuştur. Ancak pirina ekstraktı lesitin karışımı genel olarak sadece lesitin içeren yağdan daha düşük değerler saptanmasını sağlamıştır.

Ekstraktların tokoferoller üzerine etkisini saptamak, koruyucu özelliği olup olmadığını test etmek için, oksidasyon sürecinde tokoferol düzeyindeki değişim de incelenmiştir (Şekil 4.12). Ayçiçek yağının oksidasyonun başlangıcındaki tokoferol içeriği 521.56 ppm olarak belirlenmiştir. Gunstone ve ark. (1994) ayçiçek yağının 487 ppm α -tokoferol, 51 ppm γ -tokoferol ve 8 ppm δ -tokoferol içerdiğini bildirmişlerdir.



AY, ayçiçek yağı; PM, pirina metanol ekstraktı, KM, karasu metanol ekstraktı; L, lesitin

Şekil 4.12. 180 °C'daki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının tokoferol miktarları

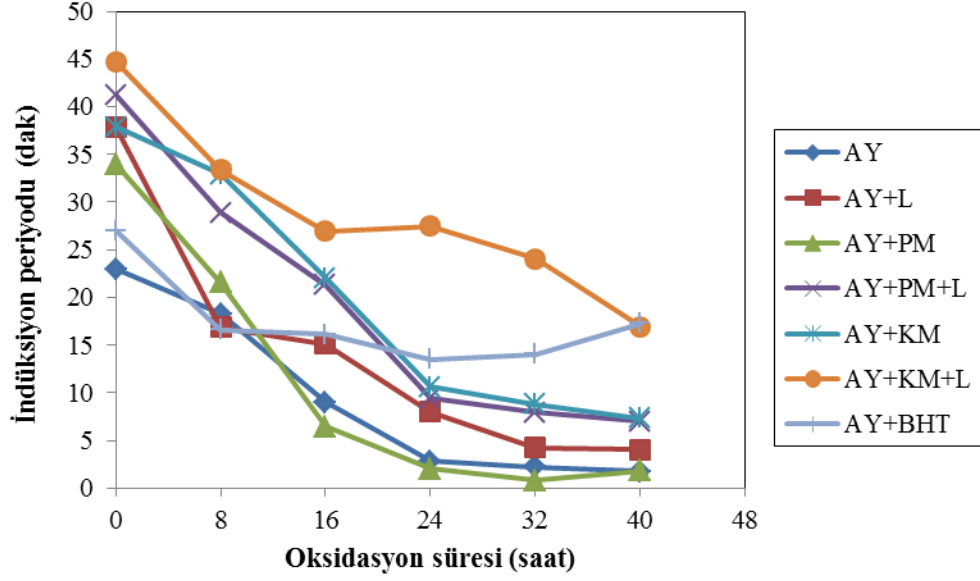
Termal oksidasyon tüm denemelerde tokoferollerin önemli düzeyde yıkımına neden olmuştur. Oksidasyonun ilk 16 saatlik diliminde en düşük tokoferol değerleri kontrol denemede saptanmıştır. Ayçiçek yağına lesitin ilave edilmesi tokoferollerin yıkımını yavaşlatmıştır. Lesitin tokoferoller üzerine sinerjist etki gösterdiği çeşitli araştırmalarda saptanmıştır (Hamilton ve ark., 1998; Judde ve ark., 2003).

Pirina ekstraktı tek başına tokoferollerini korumakta etkili olamaz iken, lesitin varlığında etkili olmuş ve tokoferol düzeyi 24 saat boyunca hem kontrol ve hem de sadece lesitin içeren numuneden daha yüksek bulunmuştur.

BHT içeren yağlarda tokoferol düzeyi 536.41 ppm'den 208.75 ppm'e düşmüştür. Genel olarak karasu ekstraktı ve/veya lesitin içeren yağların oksidasyon süresince BHT içeren yağa yakın veya daha fazla miktarda tokoferol içermesi bu katkıların koruyucu etkisini ortaya koymaktadır.

DSC cihazı kullanılarak belirlenen indüksiyon periyodunda da tokoferol içeriğinde olduğu gibi düşme gerçekleşmektedir (Şekil 4.13.). Ayçiçek yağının 130 °C'da indüksiyon periyodu 22.98 dakika iken, ekstrakt, lesitin veya BHT ilave edilmesi indüksiyon periyodunun yükselmesini sağlamıştır. Ayçiçek yağının indüksiyon periyodu 22.98 dakikadan 40 saat sonunda 1.73 dakikaya düşmüştür. Lesitin içeren ayçiçek yağı hem başlangıçta hem de 40 saat sonunda kontrolden daha yüksek değerlere sahip olmuştur. Karasu ekstraktı içeren yağın 16. saat sonunda ulaştığı indüksiyon periyodu kontrolün başlangıçtaki değerine yakın olup, oksidasyon sonunda 7.31 dakika değerine düşmüştür.

Karasu ekstraktı ile lesitin birlikte kullanıldığında oksidasyon süresince yağın indüksiyon periyodu tüm denemelerden daha yüksek olmuştur. 40. saat sonunda ulaşılan değer 16.94 dakika olup BHT içeren yağın indüksiyon periyoduna (17.27 dak) oldukça yakındır. Ayrıca karasu ekstraktı ve lesitin içeren yağ oksidasyon süresince 40. saat dışında BHT içeren yağdan daha yüksek indüksiyon periyotlarına sahip olmuştur.



AY, ayçiçek yağı; PM, pirina metanol ekstraktı, KM, karasu metanol ekstraktı; L, lesitin

Şekil 4.13. 180 °C'daki termal oksidasyon sırasında ekstrakt içeren ayçiçek yağlarının DSC ile belirlenen indüksiyon periyotları

4.12. Karasu ve Pirina Metanol Ekstraktları İçeren Ayçiçek Yağlarının Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılması

Genel olarak derin yağda kızartma işlemleri sırasında gerçekleşen çeşitli reaksiyonlar sonucu yağın serbest yağ asidi içeriği, polar madde miktarı, konjuge dien miktarı ve *p*-anisidin değeri artarken, C18:2/C16:0 ile C18:1/C16:0 oranları azalmaktadır. Bunlara ilave olarak, kızartma süresi arttıkça oluşan oksidasyon ürünleri (polimerler ve dimerler) nedeniyle yağın rengi koyulaşmakta ve viskozitesi artmaktadır (Réblova ve ark., 1999; Che Man ve Jaswir, 2000; Jaswir ve ark., 2000; Bensmira ve ark., 2007).

Derin yağda kızartma işlemi sırasında alınan yağların konjuge dien içeriği, *p*-anisidin değeri ve tokoferol miktarları Çizelge 4.15’de gösterilmiştir. Kızartma süresince gerçekleşen termal oksidasyon nedeniyle ayçiçek yağının konjuge dien içeriğinde artış olmaktadır ($p<0.05$). Ayçiçek yağının başlangıçta % 0.23 olan konjuge dien içeriği 6 günlük kızartma sonunda % 2.32’ye yükselmiştir. Ayçiçek yağına lesitin veya ekstrakt ilave edilmesi kızartmalar sonunda yağın konjuge dien içeriğini çok az düşürmüştür. Ancak ekstraktların lesitin ile birlikte kullanılması sonucunda yağın konjuge dien içeriğinde, karasu ekstraktı için % 1.87, pirina ekstraktı için ise % 1.68’lik artış gözlenmiş ve bu değerler kontroldeki % 2.09’luk değişimin altında olmuştur.

Kızartma sırasında alınan yağ numunelerinin *p*-anisidin değerleri de artış göstermiştir ($p<0.05$). Ayçiçek yağının *p*-anisidin değeri 6.67’den 6 günlük kızartma sonunda 173.06 değerine yükselmiş ve 166.39 birimlik artış olmuştur. Denemeler içinde *p*-anisidin değerinde en az değişim 151.14 değeri ile lesitin içeren ayçiçek yağında olmuştur. Pirina ekstraktı tek başına *p*-anisidin değerini düşürmede etkili olmaz iken lesitin varlığında etkili olmuş ve *p*-anisidin değerinin kontrolün sahip olduğu değerin altında olmasını sağlamıştır.

Kızartma sırasında tokoferol düzeyinde azalma gerçekleşmektedir ($p<0.05$). Ayçiçek yağının tokoferol içeriği 558.05 ppm’den 6. gün sonunda 153.39 ppm’e düşmüştür. Kızartmalar sonunda lesitin içeren yağ 178.16 ppm, pirina ekstraktı içeren 160.58 ppm, pirina ekstraktı ve lesitini bir arada içeren yağ ise 203.62 ppm tokoferol içermekte olup, bu değerler kontrolün sahip olduğu değerlerin üstünde olmuştur.

Çizelge 4.15. Kızartma numunelerinin konjuge dien içeriği, *p*-anisidin değeri ve tokoferol miktarları

Günler	AY	AY+L	AY+KM	AY+KM+L	AY+PM	AY+PM+L
Konjuge dien içeriği (%)						
Başlangıç	0.23±0.01dAB	0.23±0.00eAB	0.20±0.02dB	0.23±0.01gAB	0.23±0.01gAB	0.24±0.00eA
1	0.96±0.02cA	0.81±0.00dBC	0.93±0.04cA	0.65±0.00fD	0.86±0.03fB	0.75±0.04dC
2	1.64±0.30bA	1.48±0.32cAB	1.47±0.16bAB	1.05±0.03eB	1.30±0.02eAB	1.34±0.03cAB
3	1.73±0.02bA	1.60±0.03bcAB	1.55±0.13bB	1.37±0.04dC	1.54±0.03dBC	1.52±0.06bBC
4	2.11±0.02aA	1.64±0.01bcC	2.04±0.01aB	1.61±0.02cCD	2.00±0.01cB	1.58±0.05bD
5	2.16±0.07aA	1.85±0.01abB	2.10±0.03aA	1.82±0.07bB	2.07±0.00bA	1.83±0.04aB
6	2.32±0.15aA	1.99±0.14aBC	2.23±0.00aA	1.92±0.08aC	2.21±0.01aAB	1.92±0.08aC
Değişim	2.09	1.76	2.03	1.87	1.98	1.68
<i>p</i> -anisidin değeri (mmol/kg)						
Başlangıç	6.67±0.07fC	6.30±0.07fD	6.31±0.01gD	8.68±0.07fA	6.72±0.00gC	7.52±0.04fB
1	95.64±0.89eA	80.87±2.34eC	91.45±0.18fB	72.88±2.04eE	76.99±0.02fD	84.07±0.61eC
2	135.51±1.34dB	116.41±0.03dF	132.87±0.13eC	120.39±0.98dE	122.38±0.27eD	139.92±0.83cA
3	147.28±1.23cA	142.72±1.51cB	150.07±1.01dA	140.80±0.88cB	147.31±0.55dA	142.86±1.83cB
4	157.59±1.15bB	145.23±0.46cC	167.96±0.42bA	143.61±1.42cC	159.92±1.43cB	128.79±0.41dD
5	170.84±2.40aB	152.77±2.57bE	195.56±0.03aA	161.03±1.70bCD	165.35±0.73bBC	159.08±4.26bD
6	173.06±1.09aB	157.44±2.64aD	183.69±1.65bA	174.45±2.43aB	180.98±1.03aA	167.88±1.02aC
Değişim	166.39	151.14	177.38	165.77	174.26	160.36
Tokoferol içeriği (ppm)						
Başlangıç	558.05±3.2aD	533.94±0.51aE	582.81±5.53aBC	594.96±0.00aA	578.70±4.02bC	588.18±0.00aAB
1	388.11±5.29bD	466.25±0.84bB	388.07±8.42bD	486.38±5.02bA	415.10±0.49bC	457.46±1.84bB
2	302.35±2.89cD	359.41±7.46cB	305.90±2.09cD	389.64±4.43cA	328.25±2.59cC	366.58±3.11cB
3	216.18±1.36dE	269.97±3.84dC	217.41±5.57dE	314.83±0.88dB	236.82±0.33dD	331.09±1.32dA
4	146.26±1.16fD	212.81±1.79eB	139.19±0.03eE	240.96±3.31eA	165.46±3.19eC	242.65±3.13eA
5	120.76±2.77gD	188.64±4.35fB	141.54±7.56eC	208.08±1.54fA	128.60±2.14fCD	214.16±11.09fA
6	153.39±0.54eD	178.16±4.58gB	133.48±0.09eE	149.60±0.16gD	160.58±0.11eC	203.62±0.21fA
Değişim	-404.27	-355.78	-449.40	-445.48	-418.20	-445.48

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; PM, pirina metanol.

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-J} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Başlangıç ile 5. gün arasında sadece karasu ekstratı içeren yağların tokoferol düzeyleri kontrole yakın olmuş, diğer tüm denemelerde kontrolden daha yüksek tokoferol içerikleri saptanmıştır. Bu aralıkta belirtilen yağların tokoferol içerikleri küçükten büyüğe aşağıda olduğu gibi sıralanmıştır;

$$PM < AY+L < AY+PM+L \leq AY+KM+L$$

Bu durum ekstraktların ve/veya lesitinin termal oksidasyon sırasında tokoferollerini koruyucu etkiye sahip olduklarını göstermektedir.

Orozco-Solano ve ark. (2011) pirina ekstraktı içeren ayçiçek yağını 180 °C’da 20 defa 5 dakikalık periyotlarla ısıtarak 100 dakika boyunca kızartma sıcaklığında tutmuşlardır. Ayçiçek yağı ve pirina ekstraktı içeren ayçiçek yağlarının 8 tekrarlı ısıtma sonunda α -tokoferol içeriği % 50 oranında, 16. ısıtma süresi sonunda ise % 80 oranında azalmıştır. Buna karşın dimetilsiloksan içeren ayçiçek yağında tokoferol degradasyonu 8 tekrarlı ısıtma boyunca önlenmiştir.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında alınan yağların serbest yağ asidi miktarı, polar madde içeriğindeki değişim ve viskozite değerleri Çizelge 4.16’da verilmiştir. Serbest yağ asiti içeriğinin belirlenmesi kızartma yağlarının kalite kontrolünde sıklıkla kullanılmaktadır. Kızartma sırasında gıdadan gelen suyun ve yüksek sıcaklığın etkisi ile serbest yağ asidi içeriğinde artış gerçekleşmektedir (Che Man ve Jaswir, 2000; Bensmira ve ark., 2007). Ayçiçek yağının serbest yağ asidi içeriği kızartmalar sırasında 0.35’den 0.87’ye yükselmiştir.

Ayçiçek yağına lesitin ilave edilmesi yağın serbest yağ asidi miktarının artmasına neden olmuştur. Bu nedenle kızartmalar boyunca lesitin içeren yağda kontrolden daha yüksek olmak üzere % 0.74 oranında artış gerçekleşmiştir. Karasu ekstraktı kullanıldığında % 0.4, pirina ekstraktı kullanıldığında % 0.45 oranında artış olmuştur. Ekstraktlar serbest asitlikteki artışı bir miktar engellemiştir. Lesitin ile ekstratın birlikte kullanılması durumunda ise sadece lesitin içeren yağdakinden daha az değişim olmuştur.

Kızartma işlemi sırasında gerçekleşen termal oksidasyon ve hidroliz sonucu yüksek moleküler ağırlıkta ve polar karakterde bileşikler oluşmaktadır. Bu bileşiklerden bazıları uçucu olmayan polar karakterdeki mono ve digliseritler ile serbest yağ asitleridir (Bhattacharya ve ark., 2008; Sahin ve Sumnu, 2009).

Tüm denemelerde kızartma sayısı arttıkça ayçiçek yağının polar madde miktarı artırmıştır ($p < 0.05$). Kızartma süresince ayçiçek yağının polar madde içeriğinde % 42.55 oranında artış gerçekleşmiştir. Yağa lesitin veya ekstrakt ilave edilmesi başlangıç yağının polar madde içeriğini bir miktar artırmıştır. Kızartmalar süresince değişim dikkate alındığında tüm denemelerde kontrolden daha düşük polar madde içerikleri saptanmıştır.

Lesitin ile birlikte karasu ekstraktının kullanılması tek başına olduğundan daha düşük polar madde içeriklerinin elde edilmesini sağlamıştır. Pirina ekstraktı da lesitin varlığında daha etkili olmuş, bu katkıyı içeren yağ, kızartmalar sonunda kontrolden daha küçük polar madde içeriğine sahip olmuştur.

Çizelge 4.16. Kızartma numunelerinin serbest yağ asidi içeriği, polar madde miktarları ve viskozite değerleri

Günler	AY	AY+L	AY+KM	AY+KM+L	AY+PM	AY+PM+L
Serbest yağ asidi (% oleik asit)						
Başlangıç	0.35±0.05eA	0.33±0.08eA	0.30±0.04cA	0.36±0.04dA	0.28±0.00dA	0.37±0.04cA
1	0.43±0.00eCD	0.63±0.04dA	0.34±0.00cD	0.47±0.04dBC	0.34±0.00dD	0.59±0.12bAB
2	0.44±0.00deD	0.78±0.00cA	0.34±0.00cE	0.53±0.04cdC	0.41±0.04dD	0.64±0.04bB
3	0.53±0.05cdCD	0.84±0.08bA	0.42±0.04cD	0.61±0.08bcBC	0.50±0.01bcCD	0.70±0.04bB
4	0.59±0.04cB	0.92±0.03abA	0.56±0.08bB	0.62±0.04bcB	0.59±0.12bB	0.70±0.04bB
5	0.75±0.04bB	1.01±0.08aA	0.61±0.08bC	0.67±0.01bBC	0.65±0.04BC	0.89±0.01aA
6	0.87±0.04aB	1.07±0.00aA	0.70±0.03aC	0.95±0.00aAB	0.73±0.08aC	0.97±0.05aAB
Değişim	0.52	0.74	0.40	0.59	0.45	0.60
Polar madde miktarındaki değişim (%)						
Başlangıç	0.00±0.00gE	2.18±0.15gB	0.90±0.00gD	3.78±0.45gA	1.65±0.30gC	2.48±0.15gB
1	9.03±0.34fC	10.28±0.29fA	9.53±0.15fB	9.75±0.17fB	7.33±0.15fD	9.45±0.17fB
2	13.68±0.75eC	16.10±0.00eA	13.53±0.105eC	13.60±0.00eC	11.18±0.15eD	15.50±0.00eB
3	18.95±0.71dB	21.68±0.29dA	17.08±0.15dD	16.10±0.00dE	17.75±0.17dC	21.50±0.23dA
4	26.68±0.29cA	26.60±0.24cA	24.40±0.00cC	20.33±0.15cD	25.18±0.15cB	25.18±0.15cB
5	32.43±0.51bC	36.13±0.15bA	30.95±0.40bD	29.03±0.15bE	32.68±0.25bC	33.80±0.20bB
6	42.55±0.17aA	39.75±0.17aC	40.88±0.90aB	34.70±0.00aE	42.25±0.17aA	38.40±0.00aD
Değişim	42.55	37.57	39.98	30.92	40.60	35.92
Viskozite (mPa.s)						
Başlangıç	42.62±0.11gD	44.23±0.12gA	43.67±0.10gC	44.00±0.08gB	44.01±0.08gB	42.50±0.04gD
1	52.43±0.09fA	51.77±0.03fC	51.06±0.09fD	47.35±0.09fF	50.31±0.06fE	52.28±0.13fB
2	57.09±0.12eC	63.16±0.09eA	61.09±0.11eB	55.19±0.12eF	55.83±0.23eE	56.77±0.08eD
3	66.26±0.10dB	68.46±0.09dA	64.25±0.06dD	62.46±0.08dE	65.92±0.12dC	66.05±0.11dC
4	73.79±0.13cB	76.85±0.03cA	72.76±0.10cC	66.27±0.07cF	71.60±0.13cE	71.87±0.12cD
5	91.94±0.07bA	87.91±0.10bB	79.54±0.12bE	80.20±0.08bD	84.47±0.02bC	78.66±0.16bF
6	108.87±0.16aB	100.52±0.16aE	105.07±0.25aB	92.04±0.12aF	113.06±0.19aA	102.42±0.21aC
Değişim	66.25	56.29	61.40	48.04	69.05	59.92

*Sonuçlar ort±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; PM, pirina metanol.

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-J} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Aydeniz ve Yilmaz (2012) fındığın yeşil kabuğundan elde edilen ekstraktı içeren kanola yağında hamur kızartılması sırasında polar madde içeriğindeki artışın kontrolden daha yavaş olduğunu bildirmişlerdir. 7. gün sonunda kontrolün polar madde içeriği % 49.27 iken bu ekstraktı içeren yağın polar madde içeriği % 20.00 olarak saptanmıştır.

Yağ yüksek sıcaklıklarda hızla oksidasyona uğramakta, polimerizasyon reaksiyonu ve diğer kimyasal değişimler sonucu yağın viskozitesi artmaktadır. Kızartma yağının viskozitesinin artması bozulmanın bir işareti olarak kabul edilmektedir. Kızartma sırasında yağ ısı transfer ortamı olarak görev yaptığından kıvamının artması ısı iletimini azaltmakta ve gıdanın yağda pişme süresini artırmaktadır. Viskozitedeki artıştan esas olarak kızartma sırasında oluşan polimerler sorumlu olmaktadır (Che Man ve Jaswir, 2000; Bensmira ve ark., 2007).

Ayçiçek yağının viskozitesi 42.62 mPa.s değerinden 6. gün sonunda 108.87 mPa.s değerine yükselmiştir (Çizelge 4.16.) Pirina metanol ekstraktı içeren yağ dışında diğer tüm denemelerde kızartmalar sonunda saptanan viskozite değerleri kontrolden daha düşük olmuştur. Farklı katkıları içeren yağların viskozite değerleri arası farklılık istatistiksel olarak önemli olmuştur ($p < 0.0$). Viskoziteyi düşürmede en etkili olan katkı karasu metanol ekstratı ve lesitin karışımı olmuştur. Bu katkıyı içeren yağın viskozitesi 6 günlük kızartma sonunda 92.04 mPa.s olarak belirlenmiştir.

HunterLab cihazı ile belirlenen L^* , a^* ve b^* renk değerleri ise Çizelge 4.17.'de verilmiştir. Kızartmalar sırasında oluşan renkli bileşikler nedeniyle yağın L^* (açıklık-koyuluk) değerinde düşme, a^* (kırmızı-yeşil) ve b^* (sarı-mavi) değerlerinde

ise artış olmaktadır (Maskan, 2003). Kızartma süresince renk değerlerindeki değişim istatistiksel olarak önemli olmuştur ($p<0.05$).

Kızartmalar sonunda ayçiçek yağının L^* değeri 65.31'den 42.99'a düşmüştür. L^* değerindeki düşme yağın renginin koyulaştığını göstermektedir. Yağa lesitin veya ekstrakt katılması kızartmalar öncesinde L^* değerlerinde çok az düşmeye yani rengin daha koyu olmasına neden olmuştur. Kızartmalar sırasında da lesitin içeren ayçiçek yağının rengi kontrolden daha koyu olmuştur. Hamilton ve ark. (1998) lesitin yüksek sıcaklıklarda yağın renginin koyulaşmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

6 günlük kızartma işlemi süresince kontrole benzer şekilde karasu veya pirina ekstraktı içeren yağların L^* değerlerinde doğrusal olarak düşme olmuştur. Genel olarak lesitin veya ekstrakt+lesitin içeren yağlarda kızartmaların ilk günü hızlı bir düşüş, kızartma sonuna kadar ise yavaş bir artış gözlenmiştir. Ancak karasu ekstraktı ve lesitini birlikte içeren yağın 6. günde L^* değeri tekrar düşerek 34.44 değerine ulaşmıştır.

Kırmızı-yeşil rengi gösteren a^* değeri başlangıçta negatif olup kızartmalar süresince artmış ve pozitif değerler elde edilmiştir. Bu durum kızartma süresi arttıkça yağın renginin yeşilden kırmızıya döndüğünü göstermektedir. Karasu veya pirina ekstraktlarını içeren ayçiçek yağlarında kontroldekine benzer şekilde doğrusal olarak artış gözlenmiştir. Lesitinli denemelerde ise a^* değeri 1. gün oldukça hızlı artarken, bu günden sonra yavaş bir şekilde artmıştır.

Çizelge 4.17. Kızartma numunelerinin L*, a*, b* renk değerleri

Günler	AY	AY+L	AY+KM	AY+KM+L	AY+PM	AY+PM+L
L*						
Başlangıç	65.31±0.00aB	65.54±0.00aA	64.34±0.01aC	60.24±0.01aF	64.20±0.00aD	61.92±0.01aE
1	62.97±0.01bA	27.16±0.06gD	61.89±0.04bC	22.76±0.00gF	62.01±0.01bB	25.21±0.21gE
2	59.95±0.01cA	29.17±0.02fE	58.81±0.01cB	23.37±0.08fF	56.96±0.02cC	30.22±0.03fD
3	55.40±0.01dA	31.8±0.05dE	52.74±0.03dB	26.31±0.13eF	52.54±0.02dC	34.74±0.02eD
4	50.16±0.01eA	30.43±0.09eF	47.83±0.04eB	34.83±0.04cE	46.54±0.01eC	36.42±0.01dD
5	46.45±0.01fA	32.48±0.01cF	43.43±0.05fB	41.19±0.02bD	42.65±0.01fC	37.59±0.04cE
6	42.99±0.02gA	37.94±0.16bD	41.01±0.05gB	34.44±0.01cF	40.99±0.04gC	37.67±0.01bE
Değişim	-22.32	-27.60	-23.33	-25.80	-23.21	-24.25
a*						
Başlangıç	-3.59±0.01C	-3.94±0.01dF	-3.65±0.01gD	-1.54±0.01gA	-0.37±0.01gE	-2.44±0.01gB
1	-4.10±0.03fF	20.15±0.05cA	-3.44±0.01fE	18.68±0.03fC	-3.21±0.02fD	19.70±0.02fB
2	-1.9±0.01eF	22.62±0.04bA	0.10±0.02eE	21.65±0.05dC	1.93±0.01eD	22.32±0.02eB
3	5.29±0.02dE	23.85±0.03bA	8.69±0.04dD	23.15±0.03bB	9.50±0.01dC	23.13±0.04dB
4	13.99±0.02cF	26.59±0.12aA	16.65±0.02cE	22.96±0.05cC	18.38±0.01cD	23.96±0.03cB
5	19.13±0.01bF	26.34±0.05aA	22.09±0.04bD	21.43±0.02eE	23.56±0.04bC	24.65±0.09bB
6	24.11±0.01aB	27.30±2.19aA	26.1±0.04aAB	27.16±0.00aA	26.96±0.08aA	25.54±0.03aAB
Değişim	27.70	31.24	29.75	28.70	27.33	27.98
b*						
Başlangıç	15.73±0.02gF	26.31±0.01fC	19.76±0.03fE	35.44±0.05eA	21.35±0.01fD	32.82±0.00eB
1	34.28±0.06fC	37.73±0.45eA	34.28±0.06eC	29.78±0.05gD	35.24±0.06eB	35.41±0.36dB
2	45.06±0.00eD	42.84±0.45dE	50.28±0.00dB	33.69±0.40fF	52.73±0.02dA	46.09±0.21cC
3	61.02±0.13dB	49.08±0.01bD	64.67±0.25bA	38.54±0.14dE	64.42±0.24bA	51.79±0.13bC
4	66.55±0.13cC	46.58±0.16cE	67.70±0.92aB	50.85±0.34bD	70.34±0.08aA	51.83±0.11bD
5	68.13±0.23aA	42.76±0.11dE	65.04±0.35bB	57.95±0.08aC	64.91±0.33bB	53.32±0.08aD
6	67.62±0.12bA	57.48±0.26aC	59.55±0.31cB	49.33±0.27cE	59.51±0.42cB	51.71±0.00bD
Değişim	51.89	31.17	39.79	13.89	38.16	18.89

*Sonuçlar ortalama±std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; PM, pirina metanol.

^{a-g} Aynı yağda günler arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). ^{A-J} Aynı günde yağlar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Lesitinli denemelerde genel olarak en düşük a^* değerleri karasu ekstraktı+lesitin içeren yağda gözlenmiştir. Ancak bu değerler karasu veya pirinayı tek başına içeren yağların sahip olduğu değerlerden daha yüksektir. Lesitinin renkte koyulaşma yanında kırmızı renk değerlerinde de artışa neden olduğu sonucuna varılabilir. Ayrıca ekstraktların kahverengimsi renkte olması da a^* değerini yükselten diğer bir faktördür. Kızartmalar sonunda tüm denemelerin a^* değerlerindeki değişim ise birbirine yakın olmuştur.

Sarı-mavı rengi gösteren b^* değerleri kızartma süresi arttıkça artmıştır. Bu durum sarı renk şiddetinin arttığını göstermektedir. Ayçiçek yağının b^* değeri 15.73'den 67.62 değerine yükselmiş ve 51.89 birimlik artış gerçekleşmiştir. Diğer tüm denemelerde b^* değerindeki artış kontrolün sahip olduğu değerlerdeki artıştan daha düşük olmuştur. Ekstrakt ilave edilen yağların kahverengimsi olan rengi sarı renk şiddetinin başlangıçta kontrolden yüksek olmasına neden olmuştur. Kızartma süresince lesitinli denemelerin b^* değerleri ise sadece ekstrakt ierenlerinkinden daha düşük olmuştur.

Farag ve ark. (2007) ise zeytin yaprağının sıkılması ile elde edilen öz suyu fenolik madde kaynağı olarak ayçiçek yağında kullanmışlardır. 180  C'da 5 gün boyunca gerçekleştirilen tekrarlı ısıtma sırasında bu sıvının yağın kırılma indisi, dumanlanma noktası, asit değeri, peroksit sayısı, TBA değeri, iyot sayısı, okside yağ asitleri, polar bileşikler, polimer maddeler, fenolik bileşikler ile rengi ve viskozitesi üzerine olumlu etkiler gösterdiğini belirlemişlerdir.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında ayçiçek yağlarının yağ asiti bileşimlerinde gerçekleşen değişim Çizelge 4.18’de gösterilmiştir. Ayçiçek yağının kızartma süresince linoleik asit oranı % 54.62’den % 35.73’e düşerken, oleik asit oranı % 35.29’dan % 40.12’ye, palmitik asit içeriği % 5.94’den % 18.43’e, stearik asit içeriği ise % 2.71’den % 3.70’e yükselmiştir.

Alireza ve ark. (2010) çeşitli bitkisel sıvı yağlar ve bunların karışımlarının derin yağda kızartma işlemi sırasında yağ asiti bileşimi ile iyot sayısında belirgin değişimler olduğunu saptamışlardır. McNeill ve ark. (1986) belirli bir süre patates kızartılmasında kullanılan kanola yağınının taze yağ ile kıyaslandığında linolenik, linoleik ve oleik asit oranlarında % 35, % 33 ve % 28 azalma gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Casal ve ark. (2010) derin yağda kızartma işlemleri sırasında zeytinyağının doymuş yağ asiti içeriğinde çok az artış olduğunu, doymamış yağ asitlerinden C18:1, C18:2 ve C18:3 oranlarında ise oksidasyon nedeniyle düşme gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca trans yağ asiti oranında da artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Yağ asidi bileşimi % oranları şeklinde verildiğinden doymamış yağ asitlerindeki değişimi doymuş yağ asitlerine oranlayarak vermek genellikle tercih edilen bir yoldur (Onal-Ulusoy ve ark., 2007). Bu nedenle oleik asit ve linoleik asitteki değişim palmitik asite oranlanarak verilmiştir.

Kızartma sırasında doymamış yağ asitlerinde gerçekleşen oksidasyon nedeniyle ayçiçek yağının C18:1/C16:0 oranı 5.9’dan 2.2’ye, C18:2/C16:0 oranı ise 9.2’den

1.9'a düşmüştür. Ayrıca cis yapıdaki yağ asitleri de geometrik izomeri dönüşümü nedeniyle trans yağ asitlerine dönüşmüş ve trans yağ asidi içeriği % 0.23'den % 0.43'e yükselmiştir.

Ekstrakt veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının yağ asiti bileşimlerinde de benzer değişimler olmuştur. Belirtilen katkıları içeren ayçiçek yağlarının C18:1/C16:0 ile C18:2/C16:0 oranları kontrol denemedeki oranlarla aynı veya çok yakın olmuştur. Ancak lesitin veya ekstrakt içeren yağların trans yağ asidi içeriği kontrolün sahip olduğu değerlerden biraz daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Derin yağda kızartma sırasında karasu ve pirina ekstraktları ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının başlangıçtaki ve 6. gün sonundaki yağ asidi bileşimleri

	AY		AY+L		KM		KM+L		PM		PM+L	
	Baş.	6.gün	Baş.	6.gün	Baş.	6.gün	Baş.	6.gün	Baş.	6.gün	Baş.	6.gün
Yağ asitleri (%)												
Miristik asit (C14:0)	0.05	0.35	0.05	0.28	0.05	0.34	0.07	0.32	0.07	0.32	0.05	0.31
Palmitik asit (C16:0)	5.94	18.43	5.87	15.76	5.97	17.97	5.97	17.34	5.97	17.37	5.90	17.79
Palmitoleik asit (C16:1)	0.10	0.12	0.10	0.12	0.10	0.12	0.10	0.12	0.10	0.12	0.10	0.12
Heptadekanoik asit (C17:0)	0.03	0.05	0.03	0.04	0.03	0.05	0.04	0.07	0.04	0.07	0.03	0.04
cis-10-heptadekanoik asit (C17:1)	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Stearik asit (C18:0)	2.71	3.70	2.65	3.41	2.70	3.63	2.66	3.50	2.66	3.51	2.65	3.54
Elaidik asit (C18:1 n9t)	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
Oleik asit (C18:1 n9c)	35.29	40.12	35.87	40.21	35.31	40.21	35.45	39.19	35.46	39.25	35.36	39.55
Linolelaidik asit (C18:2 n6t)	0.22	0.41	0.22	0.35	0.22	0.36	0.22	0.34	0.22	0.34	0.22	0.38
Linoleik asit (C18:2 n6c)	54.62	35.73	54.19	38.77	54.65	36.23	54.54	38.04	54.56	38.10	54.74	37.20
Araşidik asit (C20:0)	0.20	0.28	0.20	0.26	0.20	0.27	0.20	0.27	0.20	0.27	0.19	0.27
cis-11-aykosenoik asit (C20:1)	0.15	0.17	0.15	0.16	0.00	0.16	0.00	0.16	0.00	0.16	0.00	0.16
Linolenik asit (C18:3 n6c)	0.07	0.05	0.08	0.06	0.15	0.05	0.15	0.06	0.15	0.06	0.15	0.06
Behenik asit (C22:0)	0.58	0.52	0.55	0.51	0.57	0.51	0.54	0.50	0.54	0.50	0.56	0.50
Trikosanoik asit (C23:0)	0.03	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Diğerleri	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.00	0.01
C18:1/C16:0	5.90	2.20	6.10	2.60	5.90	2.20	5.90	2.30	5.90	2.30	6.00	2.20
C18:2/C16:0	9.20	1.90	9.20	2.50	9.20	2.00	9.10	2.20	9.10	2.20	9.30	2.10
Toplam trans yağ asitleri	0.23	0.43	0.22	0.37	0.23	0.39	0.21	0.36	0.21	0.36	0.23	0.40

*Sonn lar ort std sapma şeklinde verilmiş olup analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

AY, ayçiçek yağı; L, lesitin; KM, karasu metanol; PM, pirina metanol.

5. SONUÇLAR

Karasu ekstraktlarının pirina ekstraktlarından daha fazla fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Ekstraksiyonun etanol veya metanol ile yapılması fenolik madde miktarı üzerinde fazlaca etkili olmamıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan karasu ekstraktlarının DPPH radikallerini yakalama güçleri, demir iyonlarını indirgeme güçleri ve linoleik asit emülsiyonunda konjuge dien metodu ve β -karoten metodu ile belirlenen antioksidan aktiviteleri pirina ekstraktlarınınkinden daha yüksek olmuştur. Dolayısıyla ekstraktların fenolik madde miktarları ile antioksidan kapasiteleri birbirleri ile ilişkili olmuştur. Ekstrakt konsantrasyonunun artırılması antioksidan aktivitelerinin de yükselmesine neden olmuştur.

Ekstraktlar linoleik asit emülsiyonunda hidroperoksitlerin oluşumunu önemli ölçüde engelleyerek BHT, BHA ve α -tokoferole yakın antioksidan aktivite değerlerine sahip olmuşlardır. β -karoten metodu ile antioksidan aktivite tayininde metanol ekstraktlarının etanol ekstraktlarından daha etkili oldukları belirlenmiştir. 150 dakikalık inkübasyon süresince karasu metanol ekstraktı linoleik asit emülsiyonunda β -karotenin rengini diğer ekstraktlardan daha iyi korumuştur. Karasu ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri 6.8-26.0 μ M arasında değişirken, pirina ekstraktlarınınki 6.7-27.1 μ M arasında olmuştur. 3 mg/mL konsantrasyondaki karasu ekstraktları ise 0.2 mg/mL konsantrasyondaki BHA'dan daha yüksek indirgeme güçlerine sahip olmuşlardır.

Ekstrakt ilave edilmesi ayçiçek yağının ve trigliseritlerinin indüksiyon periyotlarının yükselmesini sağlamıştır. Ekstrakt ile birlikte lesitin kullanılması daha etkili olmuş ve daha yüksek koruma faktörlerine ulaşılmıştır. Karasu metanol ekstraktı lesitin ile beraber trigliseritlere ilave edildiğinde indüksiyon periyodu ayçiçek yağıninkine yaklaşmıştır. 1 mg/g veya 2 mg/g karasu ekstraktı ile 5 mg/g lesitin içeren trigliseritlerin indüksiyon periyodu BHT ile α -tokoferol içerenlerden daha yüksek olmuştur. Lesitinin ekstraktlarda bulunan fenolik bileşikler üzerine sinerjistik etkiye bulunduğu düşünülmektedir. Ayçiçek yağlarına ekstrakt ve lesitin ilave edildiğinde yağın toplam fenolik madde miktarı yalnızca ekstrakt içeren yağlardan daha yüksek olmuştur. Lesitinin yağa geçen fenolik madde miktarını artırdığı ve indüksiyon periyodunu artırmada bu durumun da etkili olduğu düşünülmektedir.

60 °C’da etüvde uygulanan oksidasyon testinde ekstrakt (1 mg/g) ve lesitin (5 mg/g) birlikte kullanıldıklarında ayçiçek yağının oksidasyonu süresince E_{232} değerlerinin BHA ve α -tokoferol içeren yağlardan daha düşük olmasını sağlamışlardır. Ekstrakt ve/veya lesitin içeren ayçiçek yağlarının E_{270} değerlerinde ise oksidasyon süresi boyunca çok az artış gerçekleşmiştir. Ayçiçek yağında bulunan doğal antioksidanlar ikincil ürünlerin oluşmasına önemli ölçüde engel olmuşlardır.

Trigliseritlerin 60 °C’daki oksidasyonunda ise trigliseritlerin E_{232} değerleri 9. günden sonra hızla yükselmeye başlarken, karasu ekstraktı içerenlerde bu süre 12 gün olarak saptanmıştır. Karasu ekstraktı ve lesitin içerenlerde ise 21 gün sonunda ulaşılan E_{232} değerleri, sadece karasu ekstraktları içerenlerin sahip olduğu değerlerden yaklaşık % 45-50 oranında daha düşük olmuştur. Trigliseritlerin E_{270} değerleri oksidasyon süresi arttıkça önemli düzeyde artış göstermiştir ($p<0.05$). Trigliseritlerin E_{270}

değerleri 12. günden sonra artarken, karasu ekstraktları ilave edildiğinde 18. günden sonra hızla artmaya başlamıştır. Pirina ekstraktları trigliseritlerin E_{270} değerlerini düşürmede karasu ekstraktları kadar etkili olamamıştır.

Ayçiçek yağlarının 180 °C'daki oksidasyon testinde karasu ekstraktı pirina ekstraktına kıyasla konjuge dien içeriğini düşürmede daha etkili olmuştur. Karasu veya pirina ekstraktlarının lesitin varlığında etkinlikleri artmıştır. Karasu ekstraktı *p*-anisidin değerini düşürmede etkili iken, pirina ekstraktı prooksidan etki göstermiştir. Karasu ekstraktı lesitin varlığında ise BHT içeren yağdan daha düşük *p*-anisidin değerleri sergilemiştir. Termal oksidasyon sırasında karasu ekstraktı ve/veya lesitin ilave edilen yağların BHT içeren yağa yakın veya daha fazla tokoferol içerdikleri saptanmıştır. Bu durum karasu ekstraktı ve lesitin tokoferollerini koruyucu etkisinin bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca bu katkıyı içeren yağın indüksiyon periyodu da diğerlerinden yüksek olmuştur.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında karasu ekstraktı ile birlikte lesitin içeren yağlar kontrolden daha düşük konjuge dien içeriğine, *p*-anisidin değerine, polar madde içeriğine, viskoziteye ve b^* değerine sahip olmuştur. Bu katkıyı içeren yağın tokoferol içeriği de kontrolden yüksek olmuştur. Lesitin serbest yağ asidi içeriğinde artışa neden olduğundan lesitin ve/veya ekstrakt içeren yağlarda kontrolden daha yüksek değerler elde edilmiştir. Lesitin renkte koyulaşmaya neden olduğundan lesitin içeren yağlarda daha yüksek a^* değeri saptanırken, L^* değerleri kontrolden daha düşük olmuştur. Genel olarak değerlendirildiğinde ekstraktlar ve lesitin kızartmalarda yağda oluşan bozulmayı önlemede 180 °C'daki veya 60 °C'daki kadar etkili olamamışlardır.

Karasu ve pirina ekstraktları fenolik bileşikler yanında çeşitli şekerleri, organik asitleri, proteinleri, pektin ve inorganik tuzları da içermektedir. Bu bileşikler ekstraktın yağda çözünürlüğünü düşürmektedir. Katı faz ekstraksiyon kartuşları (C18 SPE kartuşları, 500 mg/3 mL) kullanılarak ekstraktların saflaştırılması yoluna gidilebilir. Bu şekilde saflaştırılmış ekstrakt kullanımı ile çözünürlüğün ve belirli bir konsantrasyonda ilave edilecek olan ekstrakttaki fenolik madde miktarının göreceli olarak artışı sağlanmış olacaktır. Fenolik maddeler saf olarak elde edildikten sonra yağ oksidasyonunda etkisi incelenebilir. Bu fenolik bileşikler HPLC’de fraksiyonlarına ayrılarak her bir fenolik bileşiğin antioksidatif etkisi araştırılabilir. Farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanarak apolar karakterdeki etil asetat gibi çözücüler ile ekstraksiyon gerçekleştirilerek daha saf ekstraktlar elde edilebilir. Ekstraktlar lesitin dışında askorbil palmitat ile birlikte kullanılarak bu bileşiğin ekstraktlar üzerine sinerjist etkisi olup olmadığı sa araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Alireza, S., Tan, C.P., Hamed, M., Che Man, Y.B. 2010. Effect of frying process on fatty acid composition and iodine value of selected vegetable oils and their blends. International Food Research Journal, 17, 295-302.

Alu'datt, M.H., Alli, I., Ereifej K., Alhamad, M., Al-Tawaha A.R., Rababah T. 2010. Optimization, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. Food Chemistry, 123, 117-122.

Anonim, 2013. <http://en.wikipedia.org/wiki/Lecithin>, Wikipedia The Free Encyclopedia, erişim tarihi 31.01.2013.

AOCS. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (5th ed.), Champaign, IL, AOCS Press.

Aydeniz, B., Yilmaz, E. 2012. Enrichment of frying oils with plant phenolic extracts to extend the usage life. European Journal of Lipid Science and Technology, 114, 933-941.

Basmacıoğlu-Malayoğlu, H., Aktaş, B. 2011. Zeytinyağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ve zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. Hayvansal Üretim, 52, 49-58.

Bensmira, M., Jiang B., Nsabimana, C., Jian T. 2007. Effect of lavender and thyme incorporation in sunflower seed oil on its resistance to frying temperatures. Food Research International, 40, 341-346.

Bhattacharya, A.B., Sajilata, M.G., Tiwari, S.R., Singhal, R.S. 2008. Regeneration of thermally polymerized frying oils with adsorbents. Food Chemistry, 110, 562-570.

Boskou, G., Salta, F.N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N.K. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. Food Chemistry, 94, 558-564.

Bouaziz, M., Hammami, H., Bouallagui, Z., Jemai, H., Sayadi, S. 2008. Production of antioxidants from olive processing by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7, 3231-3236.

Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B.P.P., Pereira, J.A. 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2972-2979.

Cemeroğlu, B. 2010. *Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, No 34, 2.baskı, ISBN: 9789759857868, Ankara

Che Man, Y.B., Jaswir, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 69, 301-307.

Che Man, Y.B., Wan Hussin, W.R. 1998. Comparison of the frying performance of refined, bleached and deodorized palm olein and coconut oil. *Journal of Food Lipids*, 5, 197-210.

Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V. EC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, 249-255.

Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Salta, F.N., Efstathiou, P., Andrikopoulos, N.K. 2009. Pan-frying of french fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative Stability and fate of microconstituents. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1090-1097.

Chiou, A., Salta, E.N., Kalogeropoulos, N., Mylona, A., Andrikopoulos, N.K. 2007. Retention and distribution of polyphenols after pan-frying of French fries in oils enriched with olive leaf extract. *Journal of Food Science*, 72: 574-584.

Cioffi, G., Pesca M.S., De Caprariis, P., Braca, A., Severino, L., De Tommasi N. 2010. Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilentano (Campania, Italy) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121, 105-111.

De Leonardis, A., Macciola, V., Lembo, G., Aretini, A., Nag, A. 2007. Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater. *Food Chemistry*, 100, 998-1004.

De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., Sacchi, R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 104, 858-867.

De Medina, V.S., Priego-Capote, F., Jiménez-Ot, C., Laque de Castro, M.D.L. 2011. Quality and stability of edible oils enriched with hydrophilic antioxidants from the olive tree: The role of enrichment extracts and lipid composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11432-11441.

Dejong S., Lanari M.C. 2009. Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food Chemistry*, 116, 892-897.

El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A. 2012. Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. *Food Chemistry*, 132, 406-412.

Evans, E.I. 1935. Antioxidant properties of vegetable lecithin. *Industrial and Engineering Chemistry*, 27, 329-331.

Farag, R.S., Mahmoud, E.A., Basuny, A.M. 2007. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 107-115.

Fki, I., Allouche, N., Sayadi, S. 2005. The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93, 197-204.

Foglia, T.A., Petruso, K., and Fearheller, S.H. 1993. Enzymatic interesterification of tallow-sunflower oil mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, 281-285.

Göğüş, F., Özkaya, M.T., Ötleş, S. 2009. *Zeytinyağı*, Eflatun Yayınevi, Ankara, s: 119-154. ISBN: 978 605 4160 04 4.

Gunstone, F.D., Harwood, J.L., Padley, F.B. 1994. *The Lipid Handbook*, Chapman & Hall, Great Britain, p: 131, ISBN-10: 0 412 43320 6.

Hamilton, R.J., Kalu, C., McNeill, G.P., Padley, F.B., Pierce, J.H. 1998. Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 813-822.

Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., Akbar, J. 2008. Efficiency pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions, *Food Research International*, 41, 194-200.

Jaswir, I., Che Man, Y.B., Kitts, D.D. 2000. Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. *Food Research International*, 33, 501-508.

Judde, A., Villeneuve, P., Rossignol-Castera, A., Le Guillou, A. 2003. Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 1209-1215.

Karabulut, I., Topcu, A., Akmil-Basar, C., Onal, Y., Lampi, A.-M. 2008. Obtaining butter oil triacylglycerols free from β -carotene and α -tocopherol via activated carbon adsorption and alumina-column chromatography treatments. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 213-219.

Kayahan, M., Tekin, A. 2006. Zeytinyağı Üretim Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar serisi:15, s:18, 93-103, ISBN: 9944 89 207 6.

Kiritsakis, A.K. 1998. Olive oil from the tree to the table. Food and Nutrition Press Inc., Connecticut, p.348. ISBN: 0 917678 42 7

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633-640.

Lafka, T.-I., Lazou, A.E., Sinanoglou, V.J., Lazos E.S. 2011. Phenolic and antioxidant potential of olive mill wastes. *Food Chemistry*, 125, 92-88.

Laque de Castro, M.D., Japon-Lujan, R. 2006. State-of-art and trends in the analysis of oleuropein and derivatives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25, 501-508.

Lee, O.-H., Lee, B.-Y., Lee, J., Lee, H.-B., Son, J.-Y., Park, C.-S., Shetty, K., Kim, Y.-C. 2009. Assessment of phenolic-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Biosource Technology*, 100, 6107-6113.

Lesage-Meessen, L., Navarro, D., Maunier, S., Sigoillot, J.-C., Lorquin, J., Delattre M., Simon, J.-L., Asther, M., Labat, M. 2001. Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75, 501-507.

Mariod, A., Matthaus, B., Eichner, K., Hussein, I.H. 2006. Frying quality and oxidative stability of two unconventional oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83, 529-538.

Marsilio, V., Campestre, C., Lanza, B. 2001. Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*, 74, 55-60.

Maskan, M. 2003. Change in colour and rheological behavior of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*, 218, 20-25.

Maskan, M., Bağcı, H.İ. 2003. Effect of different adsorbents on purification of used sunflower seed oil utilized for frying. *European Food Research and Technology*, 217, 215-218.

Mau, J.L., Chang, C.N., Huang, S.J., Chen, C.C. 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chemistry*, 87, 111-118.

McNeill, J., Kakuda, Y., Kamel, B. 1986. Improving the quality of used frying oils by treatment with activated carbon and silica. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63, 1564-1567.

Mulinacci, N., Romani, A., Galardi, C., Giaccherini, Vincieri, F.F. 2001. Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3509-3514.

Murcovic, M., Lechner, S., Pietzka, A., Bratacos, M., Katzogiannos, E. 2004. Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61, 155-160.

Nor, F.M., Mohamed, S., Idris, N.A., Ismail, R. 2008. Antioxidative properties of *Pandanus amaryllifolius* leaf extracts in accelerated oxidation and deep frying studies. *Food Chemistry*, 110, 319-327.

Obied, H.K., Bedgood, J.D.R., Prenzler, P.D., Robards, K. 2007. Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1238-1248.

Obied, H.K., Prenzler, P.D., Robards, K. 2008. Potent antioxidant biophenols from olive mill waste. *Food Chemistry*, 111, 171-178.

Onal-Ulusoy, B., White, P., Hammond, E. 2007. Effects of linalyl oleate on soybean oil flavor and quality in a frying application. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 157-163.

Orozco-Solano, M.I., Priego-Capote, F., Luque de Castro. M.D. 2011. Influence of simulated deep frying on the antioxidant fraction of vegetable oils after enrichment with extracts from olive pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9806-9814.

Réblová, Z., Kudrnová, J., Trojáková, L., Pokorný, J. 1999. Effect of rosemary extracts on the stabilization of frying oil during deep fat frying. *Journal of Food Lipids*, 6, 13-23.

Sahin S., Sumnu S. G. 2009. *Advantages in deep-fat frying*, Chapter 4, CRC Press, Taylor&Francis Group, ISBN-13: 978-1-4200-5558-0.

Shahidi, F., Zhong, Y. 2011. Revisiting the polar paradox theory: A critical overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3499-3504.

Suárez, M, Romeiro, M.-P., Ramo, T., Maciá, A., Motilva, M.-J., 2009. Methods for prepearing phenolic extracts from olive cake for potential application as food antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1463-1472.

Suja, K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S.N., Jayalekshmy, A., Arumughan, C. 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry*, 84, 393-400.

Wong, M.L., Timms, R.E., Goh, E.M. 1988. Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *Journal of the American Chemists' Society*, 65, 258-261.

Zhang, C.X., Wu, H., Weng, X.C. 2004. Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. *Food Chemistry*, 84, 219-222.

Zhong, Y., Shahidi, F. 2012. Antioxidant behavior in bulk oil: Limitaions of polar paradoks theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 4-6.

ÖZGEÇMİŞ

İsim, Soyisim : Deniz GÜNAL

Sürekli Adres : Dereli Tütüncü Mahallesi/ Ali Günal Sok./ No: 10 / Merkez/ Düzce

Son aldığı derece ve yılı : Lisans, 2009

Doğum Yeri ve Yılı : Düzce / 03.10.1987

Orta Öğretimi : Arsal Anadolu Lisesi/ Düzce / 2005

<u>Üniversite Öğrenimi</u>	<u>Aldığı Derece</u>	<u>Bölüm/Program</u>	<u>Yıl</u>
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	Lisans	Gıda Mühendisliği	2009

Yayınları :

Akdemir Evrendilek, G., Günal, D., 2011, Yüksek Hidrolik Basıncın Süt ve Süt Ürünleri Üzerine Uygulanması, Süt Dünyası Dergisi, 5, (30), s: 53-58

Güenal, D., Turan, S., Süyünç, G., Yazıcı, R., Erkol, A., Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Strawberry Extracts Obtained With Different Solvents, Fats and Lipids for Healthy and Sustainable World, 18-21 September 2011, Rotterdam, The Netherlands, Posters Abstracts, p.471.

Turan, S., Güenal, D., Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of Olive Mill Waste Waters, Oils, Fats and Lipids for Healthy and Sustainable World, 18-21 September 2011, Rotterdam, The Netherlands, Posters Abstracts, p.385

Günel, D., Turan, S., Çeşitli Çözücü Sistemleri İle Elde Edilen Zeytin Ekstraktlarının DPPH Radikallerini İndirme Güçleri İle Linoleik Asitli Sistemde Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, III. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi, 16-18 Mayıs 2012, Aydın, Bildiri Özetleri, s: 71.

Turan, S., Günel, D., Zeytinyağı Fabrikası Yan Ürünlerinden Olan Pirinanın Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi, YABİTED 1. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-14 Nisan 2012, Adana, Bildiri kitabı s: 44.

Projeleri:

Çeşitli Pirina Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi, 2012-2013, A.İ.B.Ü. Bilimsel Araştırmalar Birimi, Proje No: 2012.09.01.505 (Araştırmacı)

Çalışma Hayatı :

-Özol Yemek Sitesi

Adres: D-100 karayolu üzeri Fevzi Çakmak Mah. No:129 Merkez/Düzce

Tel: 0380 523 48 77

Pozisyon: Sorumlu Yönetici

Başlama ve Ayrılma Tarihi: Eylül 2009-Ekim 2010

-Euro İntem Fast Food San. Tic. Ltd. Şti.

Adres: Kültür Mah. Spor Sok. No: 25/A Merkez/Düzce

Tel: 0380 524 79 79

Pozisyon: İşyeri Sorumlusu

Başlama Tarihi: Ekim 2010 (hala devam etmekte)