

**TURUNÇGİL KABUĞU KAYNAKLI ANTİOKSİDANLARIN
KIZARTMA SÜRESİNCE YAĞIN STABİLİTESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

SEMA AYDIN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
NİSAN- 2018**

**TURUNÇGİL KABUĞU KAYNAKLI ANTİOKSİDANLARIN
KIZARTMA SÜRESİNCE YAĞIN STABİLİTESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

SEMA AYDIN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

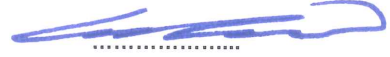
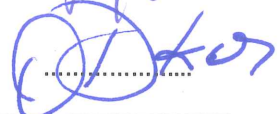
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Doç. Dr. Sedat SAYAR**

**MERSİN
NİSAN - 2018**

ONAY

Sema AYDIN tarafından Doç. Dr. Sedat SAYAR danışmanlığında hazırlanan "Turunçgil kabuğu kaynaklı antioksidanların kızartma süresince yağın stabilitesi üzerine etkileri" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 27 Nisan 2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği ile Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ	
Üye	Prof. Dr. Yüksel ÖZDEMİR	
Üye	Doç. Dr. Ülkü SAYIN	
Üye	Doç. Dr. Sedat SAYAR	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER	

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11.05.2018 tarih ve 2018.20/..624... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Doç. Dr. Cahit BİLİM
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
 - Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi
- beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

27Nisan 2018 / 27April 2018

Sema AYDIN

ÖZET

TURUNÇGİL KABUĞU KAYNAKLI ANTİOKSİDANLARIN KIZARTMA SÜRESİNCE YAĞIN STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu çalışmada, turunçgil kabuğu (portakal, limon, mandalina) kaynaklı antioksidanların derin yağda kızartma işlemi boyunca yağın oksidatif kararlılığı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, turunçgil kabuklarına özgül özütlenme yöntemleri geliştirilmiş, özütlerin kızartmalık yağ içerisinde çözünmesi sağlanmış, özütlerin antioksidan kapasitesi belirlenmiş, yağa eklenecek en uygun özüt miktarı oksidatif kararlılığa olan etkiye göre belirlenmiş, özütlerin kızartma sırasında oluşan oksidasyona olan etkisi ve etkinliği sentetik bir antioksidan olan BHT ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Mandalina kabuğu özütü içeren yağ örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Özütlerin yağa ilavesinde en uygun konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla, DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) cihazı ile yağ örneklerinin indüksiyon periyotları belirlenmiştir. Kontrol örneğinin indüksiyon periyodu 23,05 dakikadan mandalina kabuğu özütü ilave edildiğinde 41,01 dakikaya kadar yükselmiştir. Bununla birlikte özütlerin konsantrasyonlarındaki artış ile indüksiyon periyotlarının doğrusal olarak artmadığı ve en uygun konsantrasyonun 2 mg özüt/g yağ olduğu tespit edilmiştir. Tekrarlı olarak uygulanan derin yağda kızartma işlemleri sonrasında alınan yağ örneklerinin; serbest yağ asidi miktarları, peroksit sayısı, p-anisidin, konjuge dien, renk değerleri belirlenmiş ve belirtilen kalite kriterlerindeki değişim incelenmiştir. Tekrarlanan kızartmalarda radikal oluşma derecesini belirlemek ve çeşitli turunçgil kabuğu özütlerinin ayçiçek yağında oluşan oksidasyona olan etkisini araştırmak üzere örnekler her bir kızartma aşamasında Elektron Spin Rezonans (ESR) spin tuzaklama metodu ile incelenmiştir. Tekrarlı kızartma çalışmasında oksidasyonun önlenmesi açısından en etkili özütlerin, portakal ve limon özütleri olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Turunçgil kabuğu, derin yağda kızartma, antioksidan, oksidasyon

Danışman: Doç.Dr. Sedat SAYAR, Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

THE EFFECT OF CITRUS PEEL ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STABILITY OF OILS DURING DEEP FAT FRYING

In this study, the effect of citrus peel (orange, lemon, mandalina) antioxidants on oxidative stability of oils during deep frying were investigated. For this purpose, extraction methods specific to citrus peels were developed, the extracts were dissolved in frying oil, the antioxidant capacity of the extracts was determined, the optimum amount of extract to be added to the extract was determined according to the effect on oxidative stability and the effect of the extracts on oxidation occurring during frying was evaluated with comparing BHT (a synthetic antioxidant). The total phenolic content and antioxidant capacity values of the oil samples containing the mandalina peel extract were found to be higher than the other samples. The induction periods of oil samples were determined with DSC (Differential Scanning Calorimetry) in order to determine the optimal concentration of extracts in oil. The induction period of the control sample increased from 23.05 minutes to 41.01 minutes when the mandalina peel extract was added. However, it was determined that the induction periods did not increase linearly with the increase in the concentrations of the extracts, and that the optimum concentration was 2 mg extract / g of oil. Free fatty acids, peroxide, p-anisidine, conjugated diene, color values of oil samples (which were taken after repeated applications of deep fat frying process) were determined and the changes in the specified quality criterias were examined. In order to determine the degree of radical formation in repeated fries and to investigate the effect of various citrus peel extracts on oxidation of sunflower oil, samples were examined by Electron Spin Resonance (ESR) spin trapping method at each frying stage. It has been determined that orange and lemon extracts are the most effective extracts for preventing oxidation in the repeated frying operation.

Keywords: Citrus peels, deep fat frying, antioxidant, oxidation

Advisor: Assoc. Prof. Sedat SAYAR, Department of Food Engineering, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, danışmanlığımı üstlenerek benden yardımını, bilgisini ve desteğini hiç esirgemeyen; bana her konuda her zaman yol gösteren, birlikte çalışmaktan onur ve zevk duyduğum çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Sedat SAYAR'a saygılarımı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bölüm imkânlarından yararlanmamı sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e, Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne teşekkür ederim.

Bu tezin oluşumu sırasındaki katkılarından dolayı tez izleme komitesindeki hocalarım Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e, Doç. Dr. Sedat SAYAR'a ve Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER'e teşekkür ederim.

Tez konusunun belirlenmesi ve tez önerisinin sunulması sırasındaki katkı ve desteklerinden dolayı emekli olan eski danışman hocam Prof. Dr. Yüksel ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Doktora öğrenimim süresinde yardımlarını esirgemeyen değerli bölüm hocalarıma ve tüm öğretim elemanı arkadaşlarıma teşekkür ederim.

2015-TP3-1082 nolu doktora tez projesi ile tez çalışmamda kullandığım malzemelerin teminindeki katkılarından dolayı, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

ESR analizlerinde yardımcı olan, bilgi birikimi, tecrübe, malzeme ve ekipmanlarından yararlanmamı sağlayan, en yoğun anlarında bile çalışmalarına verdiği desteği esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Fizik Bölümü öğretim üyeleri Doç. Dr. Ülkü SAYIN ve Yrd. Doç. Dr. Mahmut Özgür SEZER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince göstermiş oldukları sevecenlik, arkadaşlık ve yardımlarından dolayı Sultan Damla BİLGİLİ, Elif ATAY, Özge ÖZMEN, Sümeyye İNANOĞLU ve diğer tüm yüksek lisans öğrencilerine teşekkür ederim.

Akademik kariyerimde daima destek bulduğum, çalışmalarım boyunca benden hoşgörülerini ve manevi desteklerini esirgemeyen canım annem, babam ve kardeşlerime varlıkları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Derin Yağda Kızartma İşlemi	3
2.2. Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında Yağlarda Meydana Gelen Değişimler	4
2.2.1. Fiziksel Değişimler	4
2.2.2. Kimyasal Değişimler	4
2.2.2.1. Lipid Oksidasyonu	5
2.3. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları	7
2.4. Doğal Antioksidan Kaynakları ve Fenolik Bileşikler	8
2.4.1. Bitkisel Kaynaklardan Fenolik Bileşiklerin Özütleme	9
2.4.1.1. Klasik çözücü ekstraksiyonu (Katı-sıvı ekstraksiyonu)	10
2.4.1.2. Soxhlet ekstraksiyonu	11
2.4.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon	12
2.4.1.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	13
2.4.1.5. Mikrodalga destekli ekstraksiyon	14
2.5. Kızartma yağlarındaki oksidasyonun tespiti amacıyla belirlenen kalite kriterleri	15
2.5.1. Peroksit sayısı	15
2.5.2. Serbest asitlik	16
2.5.3. Renk	16
2.5.4. Yağ asidi Kompozisyonu	17
2.5.5. <i>p-anisidin</i>	17
2.5.6. Konjuge Dien Miktarı	17
2.5.7. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) İle İndüksiyon Periyodunun Belirlenmesi	18
2.6. Elektron Spin Rezonans (ESR)	19
2.6.1. Manyetik Moment	22
2.6.2. Rezonans Koşulu	25
2.7. Literatürde Öne Çıkan Çalışmalar	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM	31
3.1 Materyal	31
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Turunçgil Kabuğu Özütlelerinin Elde Edilmesi	31
3.2.2. Ayçiçek Yağına Turunçgil Kabuğu Özütlelerinin İlave Edilmesi	33
3.2.3. Turunçgil Kabuğu Özütlelerinin ve Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Belirlenmesi	35
3.2.4. Turunçgil Kabuğu Özütlelerinin ve Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi	35
3.2.4.1. FRAP Yöntemi	35
3.2.4.2. DPPH Yöntemi	36
3.2.5. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak özüt içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotlarının belirlenmesi	36

	Sayfa
3.2.6. Derin yağda kızartma işlemi	36
3.2.7. Serbest Yağ Asidi Miktarı	37
3.2.8. Peroksit Sayısı	37
3.2.9. p-anisidin Değeri	37
3.2.10. Yağ Asidi Kompozisyonu	38
3.2.11. Konjuge Dien Miktarı	38
3.2.12. Renk	39
3.2.13. ESR (Electron Spin Resonance) İle Serbest Radikal Analizi	39
3.2.14. Tekstür	42
3.2.15. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	44
4.1. Turunçgil Kabuğu Özütü Üretim Aşamalarının İncelenmesi	44
4.2. Turunçgil Kabuklarının Toplam Fenolik Madde Miktarları, Antioksidan Kapasiteleri ve Verimleri	48
4.3. Turunçgil Kabuğu Özütü İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarları ve Antioksidan Kapasiteleri	52
4.4. Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının İndüksiyon Periyotları	55
4.5. Turunçgil Kabuğu Özütü İçeren Ayçiçek Yağlarının Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılması	58
4.5.1. Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılmış Katkılı Yağların Genel Kalite Özellikleri	58
4.5.2. Renk	63
4.5.3. Yağ Asidi Kompozisyonu	65
4.6. Tekstür	67
4.7. ESR (Electron Spin Resonance) ile Serbest Radikal Analizi	69
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Antioksidan özellik gösteren bileşiklerin etki mekanizmaları ve sınıfları	7
Tablo 4.1. Turunçgil kabuğu üretim aşamalarının toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi üzerine etkileri	45
Tablo 4.2. Turunçgil kabuklarına ait toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri	49
Tablo 4.3. Literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları (Çözücü ekstraksiyonu)	49
Tablo 4.4. Turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarına ait toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri	53
Tablo 4.5. Turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları	57
Tablo 4.6. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin serbest yağ asidi içeriği, peroksit sayısı ve <i>p-anisidin</i> değerleri	59
Tablo 4.7. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin L*, a*, b* değerleri	64
Tablo 4.8. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin yağ asidi kompozisyonu	66
Tablo 4.9. Kızartılmış parmak patates örneklerine ait maksimum kuvvet değerleri	68
Tablo 4.10. İncelenen örneklerin farklı kızartma aşamalarında ESR parametreleri	81
Tablo 4.11. Kullanılan özütler için Antioksidan Aktivite (AA) değerleri	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Derin yağda kızartma işlemi	3
Şekil 2.2. Diferansiyel taramalı kolorimetre ile elde edilen tipik oksidasyon grafiği	18
Şekil 2.3. Uygulanan dış manyetik alan altında elektronun spin yönelimleri	20
Şekil 2.4. Elektron Zeeman Etkileşmesi ve Rezonans Durumu	20
Şekil 2.5. Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi	21
Şekil 2.6. Elektronun çekirdek etrafındaki yörünge açısal momentumu ve manyetik dipol momenti arasında bulunan ilişki	22
Şekil 2.7. Elektronla ait spin açısal momentum ve spin manyetik moment	24
Şekil 2.8. . Paramanyetik sistemlerde, dış manyetik alanın spin sistemine olan etkisi	25
Şekil 3.1. Turunçgil kabuğu özütlerinin elde edilmesi amacıyla uygulanan işlem basamakları	32
Şekil 3.2. Özütlemadaki işlem basamaklarından bazıları	33
Şekil 3.3. Ayçiçek yağı örneklerine özütlerin eklenmesi	34
Şekil 3.4. Özüt eklenmiş ayçiçek yağı örnekleri	34
Şekil 3.5. ESR spin tuzaklama mekanizması	39
Şekil 3.6. PBN spin trap'ın moleküler yapısı	39
Şekil 3.7. PBN spin trapın lipid radikalini yakalama mekanizması	40
Şekil 3.8. Çalışmalarda kullanılan JEOL JesFa-300 ESR Spektrometresi	41
Şekil 3.9. Lipid radikali-PBN spin adduct ESR spektrumu için ESR parametreleri ölçümü	42
Şekil 3.10. Tekstür analizleri sonucunda elde edilen tipik kuvvet-deformasyon eğrisi	43
Şekil 4.1. Turunçgil kabuğu özütü üretim şeması ve toplam fenolik madde ile antioksidan aktivitesi değerlerindeki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu işlem basamakları	47
Şekil 4.2. Aromalandırma işlemi	55
Şekil 4.3. Örneklerde sıcaklıkla oluşan lipid radikallerinin sıcaklığa bağlı sinyal şiddeti değişimleri	71
Şekil 4.4. Örneklerin sıcaklığa bağlı antioksidan aktivite (AA) değişim grafikleri	71
Şekil 4.5. Kör örneğinin 50°C ile 90°C sıcaklıkları arasında ESR spektrumları	72
Şekil 4.6. Limon özütü katkılı örneğin 50°C ile 90°C sıcaklıkları arasında ESR spektrumları	73
Şekil 4.7. Her bir örneğin 150°C sıcaklığında ESR spektrumları ve lipid radikale ait ilk pikin ESR sinyal şiddetleri	75
Şekil 4.8. Kör örneğinin 70°C sıcaklıkta 1., 2. ve 3. kez kızartma sonrası PBN spin trapı kullanılarak kaydedilen ESR spektrumları	76
Şekil 4.9. BHT katkılanmış yağ örneğinin 70°C sıcaklıkta 1., 2. ve 3. kez kızartma sonrası PBN spin trapı kullanılarak kaydedilen ESR spektrumları	77
Şekil 4.10. Kör ve antioksidanlı örneklerin kızartma sayısına bağlı ESR sinyal şiddetleri	80
Şekil 4.11. Kör ve antioksidan katkılı örneklerin kızartma sayısına bağlı antioksidan aktivite değerleri	80

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simgesi	Tanım
a(H)	Hidrojen ile çiftlenimsiz elektronun aşırı ince yapı sabiti
a(N)	Azot ile çiftlenimsiz elektronun aşırı ince yapı etkileşme sabiti
a*	CIE renk sistemine göre kırmızı-yeşil renk
AA	Antioksidan Aktivite
ANOVA	Varyans (değişkenlik) analizi
AY	Ayçiçek yağı
b*	CIE renk sistemine göre sarı-mavi renk
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi tolüen
DPPH	1,1 – diphenyl – 2 – picrylhydrazyl
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EPR	Elektron Paramanyetik Rezonans
ESR	Elektron Spin Rezonans
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g	Spektroskopik yarılma çarpanı
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC	Gaz Kromatografisi
Hr	Rezonans manyetik alanı
Io	Kontrol örneğinin ESR sinyal şiddeti
Ix	Özüt katkılı örneğin ESR sinyal şiddeti
L*	CIE renk sistemine göre rengin açıklık-koyuluğu
L1	Limon kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (1 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
L2	Limon kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (2 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
L3	Limon kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (3 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
LA	Limon kabuğu ile aromalandırılmış ayçiçek yağı örneği
LİM	Limon kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği
M1	Mandalina kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (1 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
M2	Mandalina kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (2 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
M3	Mandalina kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (3 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
MA	Mandalina kabuğu ile aromalandırılmış ayçiçek yağı örneği
MAN	Mandalina kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği
Meq	Milieşdeğer
N	Newton
P1	Portakal kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (1 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
P2	Portakal kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (2 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
P3	Portakal kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği (3 mg özüt/g yağ konsantrasyonuna sahip)
PA	Portakal kabuğu ile aromalandırılmış ayçiçek yağı örneği
PBN	N-tert-butylphenyl nitron
Pc	Kritik Basınç
PH	Spektrumda gözlenen ilk pikin yüksekliği
POR	Portakal kabuğu özütü katkılı ayçiçek yağı örneği
RSM	Response Surface Methodology

Kısaltma/Simgesi	Tanım
SYA	Serbest yağ asitliği
Tc	Kritik Sıcaklık
TE	Trolox Eşdeğeri
TPC	Toplam Fenolik Madde Miktarı
TPTZ	2,4,6-tripiryidyl-s-triazine
TROLOX	6 – hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman – 2-karboksilik asit
UV/VIS	Görünür Bölge
V	Hacim

1. GİRİŞ

Derin yağda kızartma işlemi, gıdaya istenilen tat, koku, aroma ve lezzet gibi özellikleri kısa sürede kazandıran ve bu sebeple oldukça yaygın olarak kullanılan pişirme tekniklerinden biridir. Bununla birlikte hazır yemek sektörünün gelişmesi ve yaygınlaşması sonucu, derin yağda kızartma işlemi hem tüketici hem de gıda endüstrisi açısından önemli bir yere sahip olmuştur.

Kızartma işleminde yağın tekrarlı kullanımı sonucunda, hem yağda hem de kızartılan üründe istenmeyen besinsel, duyuşsal, fiziksel ve kimyasal değişiklikler gözlenmektedir. Bununla birlikte ürünün kalitesi ve güvenliği olumsuz etkilenmektedir. İşlem sırasında oluşan bazı bozulma ürünlerinin sağlığa zararlı oldukları; bu bileşiklerin vitamin kaybına, enzim inhibisyonuna, mutasyona, mide ve bağırsak sistemindeki zararlanmalara sebep oldukları bilinmektedir[1]. Bu sebeple kızartılan gıdanın ve kızartma yağının işlem sırasında izlenmesi önem arz etmektedir. Günümüzde kızartma yağları belli bir noktaya kadar kullanılmakta daha sonra ise bahsedilen sebeplerden dolayı atılmaktadır.

Lipid oksidasyonu, kızartma sırasında yağlarda gözlenen en önemli bozulma etmenlerinden biri olup, kızartma performansının tespit edilmesi için kullanılan önemli bir kalite kriteridir. Rafine yağların oksidasyona dayanıklılıklarının arttırılabilmesi amacıyla gıda endüstrisinde BHA, BHT, vb. gibi sentetik antioksidanlar kullanılabilmektedir. Ancak adı geçen bu bileşiklerin kanserojen olma ihtimalleri sebebiyle çoğu ülkede kullanımları sınırlandırılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucunda, sentetik antioksidanların parçalanarak istenmeyen tat ve koku oluşumunu önleyemedikleri gözlenmiştir. Sentetik antioksidanların bahsedilen bu dezavantajları sebebiyle, literatürdeki çalışmalar doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlara yönelmiştir [2-4].

Doğal kaynaklardan antioksidan özellik gösteren bileşiklerin özütlenmesine yönelik çalışmalar incelendiğinde; çoğunlukla çeşitli bitki ve baharatlardan elde edilen özütlerin veya uçucu yağların eldesi ile ilgili çok çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Ancak adı geçen baharat ve tıbbi bitkiler, kısıtlı miktarda bulunmaları ve maliyeti yükseltmeleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın bir antioksidan kaynağı olarak kullanılamamaktadırlar [4, 5]. Bu sebeple yapılan bu çalışmada oldukça bol ve ucuz bulunan, meyve suyu endüstrisinde atık olarak açığa çıkan turuncgil kabukları antioksidan kaynağı olarak seçilmiştir.

Dolayısıyla bu tez kapsamında, meyve suyu endüstrisi atıklarından olan turuncgil kabuklarına katma değer kazandırılması hedeflenmiş, yapay antioksidanların kanserojen olabilme ihtimalleri sebebiyle bu kabuklardan elde edilecek özütlerin doğal antioksidan kaynağı olarak ayçiçek yağı örneklerinde kullanımı ve ayçiçek yağına ilave edilen özütlerin derin yağda kızartma işlemi sırasında oksidatif kararlılığa olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca derin yağda

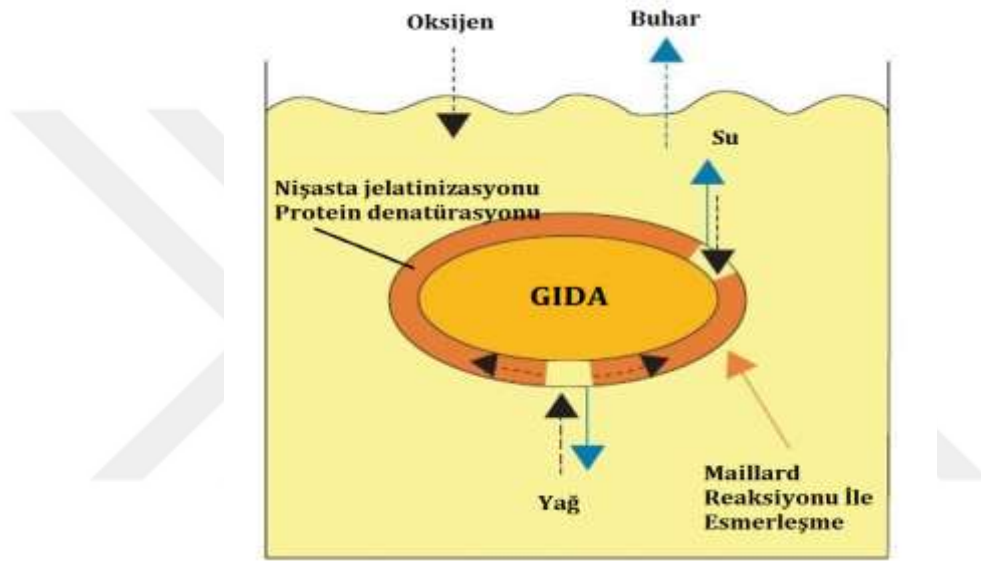
kızartma işlemi sırasında oluşan kısa ömürlü lipid radikalleri Elektro Spin Rezonans (ESR) spektroskopisi ile tespit edilmiştir. Doğal kaynaklardan antioksidan özellik gösteren bileşiklerin özütlenmesi ve bu bileşiklerin çeşitli gıda proseslerinde kullanımı ile ilgili bazı çalışmalar literatürde mevcuttur. Ancak bu çalışmada literatürden farklı olarak, özütlerin antioksidatif özellikleri geleneksel yöntemlerin yanında lipid oksidasyonu ve lipid radikalleri için daha detaylı bilgiler veren ESR yöntemi de kullanılmıştır.



2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Derin Yağda Kızartma İşlemi

Derin yağda kızartma, oldukça popüler olan ve bir gıda maddesinin 150 – 190°C sıcaklığındaki yağ içerisine daldırılarak pişirilmesi işlemi olarak bilinmektedir [6]. Bu işlemde ısı ve kütle transferi eş zamanlı olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir. Isı ve kütle transferinde etkin parametreler arasında; ortam sıcaklığı, kızartma öncesi uygulanan ön işlemler, kızartma yağının ve gıdanın fizikokimyasal ve termal özellikleri bulunduğu belirtilmiştir [7].



Şekil 2.1. Derin yağda kızartma işlemi [8]

Derin yağda kızartma esnasında sırasıyla; nem transferinin, nem transferi sonucu oluşan gözenekler vasıtasıyla yağın gıda tarafından absorbe edilmesinin, kabuk oluşumunun ve pişmenin gerçekleştiği bilinmektedir. Kızartılacak gıda ürünü, kızartma yağının içerisine daldırıldığında eş zamanlı ısı ve kütle transferinin başladığı rapor edilmiştir. Derin yağda kızartma işleminde ısı transferi, yağ içerisinde konveksiyon yolu ile kızartılan gıda içerisinde ise kondüksiyon yolu ile sağlandığı belirtilmiştir [9]. Kızartılan gıda, kızartma yağı tarafından tümüyle kaplandığı için genellikle her noktada ısı transferinin eşitve kızartma işleminin tek düze olduğu bilinmektedir. Gıda yüzeyindeki suyun, yüksek sıcaklığın etkisiyle gıdanın etrafında buhar ceketi oluşturarak yağın girişini kritik nem değerine (yapıdaki nemin yaklaşık %60'ı uzaklaştıktan sonra) kadar engellediği tespit edilmiştir Bu sırada oluşan buhar ceketinin sebep olduğu türbülans ortamın ısı transfer katsayısını arttırarak işlemi hızlandığı bildirilmiştir [10]. Böylelikle gıdanın yanmaktan korunmuş olduğu ve iç tabakalarında yüzeyine kıyasla daha yavaş

ısı transferi gerçekleştiği rapor edilmiştir. Kızartma ortamı ile gıda arasındaki sıcaklık farkının ve gıda içinde ısı transferinin yavaş olmasının; yüzeyde daha sert iç kısımda ise daha yumuşak ve nemli bir yapı oluşturduğu belirtilmiştir [6]. Ardından, gıdanın içerisinde bulunan nem, yüksek sıcaklığın etkisiyle buharlaşarak yerini kızartma yağına bıraktığı bildirilmiştir. Kızartılan gıdanın merkezine ulaşan yağ ile birlikte gıdanın sıcaklığı artmakta olduğu ve çoğunlukla nişasta jelatinizasyonu ve protein denatürasyonundan oluşan pişme işleminin gerçekleştiği bilinmektedir. Ayrıca gıdanın absorbe ettiği yağın, kabuk ve lezzet oluşumunda olumlu yönde etkili olduğu belirtilmiştir. Bunlara ek olarak, Maillard reaksiyonları ile oluşan yüzlerce farklı lezzet bileşiğinin de ürünün tat ve aromasına katkı sağladığı bilinmektedir [11].

2.2. Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında Yağlarda Meydana Gelen Değişimler

2.2.1. Fiziksel Değişimler

Derin yağda kızartma işlemi sırasında veya sonrasında gerçekleşen fiziksel değişimlerin takibi, kızartma yağının kalite kontrolü açısından fikir vermesine karşın tek başına yetersiz olduğu bilinmektedir. Farklı yağ çeşitleri, kullanılan kızartma yağının farklı bir kızartma işleminde kullanılması vb. gibi durumların hatalı sonuçlara sebep olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca meydana gelen fiziksel değişimlerin oksidatif kararlılık ile ilgili bilgi vermediği de rapor edilmiştir.

Kızartma yağlarında meydana gelen fiziksel değişimler arasında;

- Viskozite artışı,
- Köpüklenmede artış,
- Renk değişimi,
- Yoğunluk artışı,
- Dumanlanma noktasının azalması bulunduğu tespit edilmiştir[12, 13].

2.2.2. Kimyasal Değişimler

Derin yağda kızartma işlemi sırasında, yüksek sıcaklık, nem ve oksijen sebebiyle kızartma yağında oksidasyon, hidroliz ve polimerleşme reaksiyonlarının gerçekleştiği bilinmektedir. Gıdanın ve kızartma yağının bileşimi, gıdanın nem oranı, tekrarlı kızartma sayısı gibi faktörlerin adı geçen kimyasal reaksiyonlara yani bozulmaya etki ettiği rapor edilmiştir [14]. Kızartma işlemi sırasında oluşan bozunma bileşiklerinin, çoğunlukla su buharı yardımıyla yağdan uzaklaştığı tespit edilmiştir. Fakat az da olsa bir miktar kızartma yağının, kızartılan gıda ürününe geçerek tüketiciye ulaştığı bilinmektedir. Oluşan bu bozunma bileşiklerinin

anlaşılmasının ve takibiningıda kalite ve güvenliği açısından önem taşıdığı bildirilmiştir[15, 16]. Ayrıca bazı bozunma ürünlerinin sağlığa zararlı olmakla birlikte, enzimlerin inhibisyonuna, vitaminlerin parçalanmasına, mide ve bağırsak sisteminde hasarlara sebep olduğu rapor edilmiştir [17].

Kızartma yağındaki kimyasal değişimler sonucu;

- Serbest yağ asitliğinin, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin ve karbonil bileşiklerinin miktarı arttığı,
- Esansiyel yağ asitlerinin azaldığı,
- Doymamış yağ asitlerinin azaldığı,
- Gıdanın ve kızartma yağının duysal özelliklerinin değişmediği bildirilmiştir [12, 13].

Kızartılan gıdada bulunan nemin, kızartma sıcaklığında yağı hidrolize ettiği bilinmektedir. Hidroliz sonucunda kızartma yağında, serbest yağ asidi, gliserol, monoaçilgliserol ve diaçilgliserol miktarının arttığı tespit edilmiştir. Hidroliz çoğunlukla kısa zincirli doymamış yağlarda (uzun zincirli yağlara göre suda daha iyi çözündükleri için) gözlenmektedir [11].

Derin yağda kızartma işlemi sırasında oksidasyon reaksiyonlarının hidrolize kıyasla daha hızlı gerçekleştiği ve bu sebeple yağlarda acılaşmanın ve kalitenin kontrolü amacıyla daha çok oksidasyon reaksiyonlarının incelendiği belirtilmiştir [18, 19].

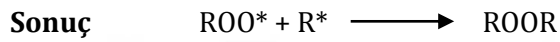
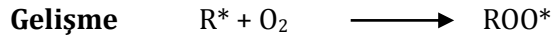
2.2.2.1. Lipid Oksidasyonu

Lipid oksidasyonu, kızartmalık yağlarda lezzet kaybına ve arzu edilmeyen aroma bileşiklerinin oluşumuna sebep olan, en önemli bozulma etmenlerinden biri olarak bilinmektedir. Bununla birlikte, lipid oksidasyonu sonucunda oluşan değişik tepkime ürünlerinin toksik özellik gösterdiği ve yağın besinsel değerini düşürdüğü belirtilmiştir. Oksidatif kararlılık kızartma performansının tespit edilmesinde kullanılan önemli bir kalite kriteri olarak belirtilmiştir [20].

Lipid oksidasyonunun, üç aşamada gerçekleşen zincirleme bir tepkime olup oksijen, metal iyonları, ışık, sıcaklık, nem gibi etkenlerle başladığı bildirilmiştir. Reaksiyonda doymamış yağ asitlerinin başlatıcı substrat olarak görev aldığı ve reaksiyon sonucunda serbest radikallerin oluştuğu belirtilmiştir [21, 22].

Başlangıç aşamasının, doymamış yağ asitlerinde bulunan çift bağa (allil grubu, $-C=C-$) komşu karbon atomlarından, bir hidrojenin kopması ile başladığı bilinmektedir. Hidrojen bağının ayrılmasının, daha sonraki oksidasyon tepkimelerinden daha yüksek aktivasyon enerjisi gerektirdiğinden (göreceli olarak), daha uzun zamanda gerçekleştiği rapor edilmiştir. Bu süre “indüksiyon periyodu” olarak tanımlanmıştır. İndüksiyon periyodunun aşılmasının oksidasyonu

hızlandırdığı ve aktif serbest radikallerin sebep olduğu zincir reaksiyonlarını başlattığı belirtilmiştir [23].



Gereken aktivasyon enerjisinin aşılmasında; ısı, ışık, nem, metal iyonları gibi etkenlerin reaksiyonu katalizleyerek reaksiyonun önemli ölçüde hızlanmasına sebep olduğu bilinmektedir. Ayrıca yağ asidindeki çift bağ sayısı (doymamışlık derecesi) arttıkça oksidasyon hızının arttığı ve bu sebeple oksidasyonun gerçekleşmesinde ortam koşulları ile yağ asidi kompozisyonunun önem taşıdığı bildirilmiştir. Bitkisel yağlarda (doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermeleri sebebiyle) oksidatif tepkimelerin doymuş yağlara göre daha hızlı gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu aşamanın sonunda yağ asidi kompozisyonunda çok büyük değişiklikler gözlenmemekle birlikte; peroksi (R-COO), alkil (R-) veya alkoksi (R-O) gibi serbest radikallerin oluştuğu belirlenmiştir [24, 25]. Adı geçen aktif haldeki serbest radikallerin, kararlı hale gelebilmek için ortamdaki yağ asidi molekülünün kararlı haldeki hidrojen atomlarına ait bağları kopardıkları bilinmektedir. Böylelikle sürekli devam eden, bağ kopararak kararlı hale gelmeyi hedefleyen zincir reaksiyonlarının geliştiği ve her seferinde farklı türde serbest radikallerin oluştuğu rapor edilmiştir. Aktif peroksi radikalleri ile başlayan reaksiyonların hidroperoksit, aldehit, keton vb. bileşiklerin oluşumuyla devam ettiği bildirilmiştir [26].

Oksijen kaynağının sınırlı olduğu durumlarda, kızartma sıcaklığında oksidasyonun yerini polimerizasyon reaksiyonlarının aldığı belirtilmiştir. Kızartılan gıdaya ait bileşenler ile kızartma yağı arasında gerçekleşen bozunma reaksiyonlarının, ürünün tat, koku ve aroma özelliklerini etkilediği rapor edilmiştir. Endüstride yağ ve yağ içeren gıdalarda oksidasyon hızının azaltılması, acılaşmanın engellenmesi veya geciktirilmesi amacıyla çoğunlukla antioksidan özellik gösteren bileşiklerin kullanıldığı bilinmektedir [27, 28, 29].

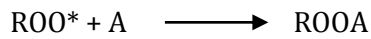
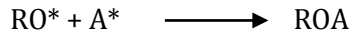
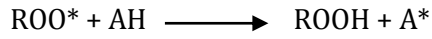
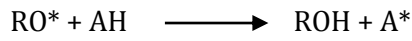
2.3. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar, yağlarda ve yağ içeren gıdalarda oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklanan acılaşmayı geciktiren ve gıdaların oksidatif kararlılığını destekleyen bileşikler olarak tanımlanmıştır. Antioksidanlar çeşitli etki mekanizmalarına sahip, değişik kimyasal yapı ve formdaki bileşikler olarak bilinmektedir [30]. Tablo 2.1.'de antioksidan özellik gösteren bileşiklerin etki mekanizmaları ve sınıfları verilmiştir.

Tablo 2.1. Antioksidan özellik gösteren bileşiklerin etki mekanizmaları ve sınıfları [31]

Antioksidan Sınıfı	Etki Mekanizması	Örnek
Özel Antioksidanlar	Serbest radikallerin inaktivasyonu	Fenolik Bileşikler
Hidroperoksit stabilizatörleri	Hidroperoksitlerin serbest radikallere parçalanmasının önlenmesi	Fenolik Bileşikler
Sinerjistler	Belirli antioksidanların etkinliğinin artırılması	Sitrik asit
Metal şelatörler	Ağır metallerin inaktif bileşiklere bağlanması	Fosforik asit
Hidroperoksitleri indirgeyen bileşikler	Hidroperoksitleri radikal olmayan maddelere indirgeme	Çeşitli protein grupları
Singlet oksijen söndürücüler	Singlet oksijenin triplet oksijene çevrilmesi	Karotenler

Serbest radikallerin inaktivasyonunun en sık gözlenen etki mekanizması olduğu ve çoğunlukla aşağıda verilen tepkimelerle gerçekleştiği rapor edilmiştir [30].



Antioksidan özellik gösteren bileşiklerin, üretilen gıda ürünlerinde doğal olarak bulunabildiği gibi sonradan da eklenebildiği bilinmektedir. Gıda endüstrisinde yağ ve yağ içeren gıdaların oksidatif kararlılığını arttırabilmek için çoğunlukla BHT (bütillenmiş hidroksi tolüen), BHA (bütillenmiş hidroksi anisol), TBHQ (tersiyer-bütildihidrokinon) gibi sentetik antioksidanlar kullanıldığı bildirilmiştir [32]. Adı geçen katkı maddeleri ile oksidatif kararlılık, ucuz ve etkili bir şekilde sağlandığı rapor edilmiştir. Ancak yapılan çoğu araştırma sonucunda sentetik antioksidanların canlı organizmalarda karsinojenik ve teratojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu sebeple sentetik antioksidanların gıdalarda kullanımı, bazı ülkelerde sınırlandırılmış bazılarında ise yasaklanmıştır [33].

Sonuç olarak, yağlarda oksidasyonun geciktirilmesi amacıyla bitki kökenli antioksidanlara olan ilgi oldukça artmış ve literatürdeki çalışmalar son yıllarda doğal antioksidan maddelere yöneldiği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda birçok bitki ve baharattan elde edilen antioksidanların oksidasyonu geciktirmede etkili olduğu hatta bazılarının ise antioksidan kapasitelerinin adı geçen sentetik antioksidanlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple sentetik antioksidanlara göre daha güvenli ve daha etkili doğal antioksidanların elde edilmesi ve kullanımlarının yaygınlaştırılması üzerine yapılan araştırmaların günümüzde önemini koruyarak devam ettiği gözlenmektedir.

2.4. Doğal Antioksidan Kaynakları ve Fenolik Bileşikler

Doğal antioksidan kaynakları arasında çok çeşitli bitki ve baharat gruplarının bulunduğu ve antioksidan özellik gösteren bileşiklerin çoğunlukla bu gıdalarda bulunan fenolik maddelerden oluştuğu bilinmektedir. Dolayısıyla bitkilere ait antioksidan aktivitenin genellikle yapılarındaki fenolik madde miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Fenolik maddelerin sahip olduğu antioksidan etkinin, metal iyonlarla bileşik oluşturma, serbest radikalleri

temizleme, süperoksit anyonu için uygun substrat oluşturma, tekli oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi çeşitli mekanizmalardan kaynaklandığı belirtilmiştir [34, 35, 36].

Fenolik maddeler bitkilerin ikincil metabolitlerinin oluşumu sırasında ortaya çıkan, bitkilerin meyve, yaprak, kök ve kabuk kısımları gibi değişik bölümlerinde (farklı miktar ve nitelikte) depolanabilen bileşikler olarak tanımlanmıştır [37].

Epidemiyolojik çalışmalara göre; fenolik maddelerin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu ve fenolik madde içeriği bakımından zengin bir diyetin kardiyovasküler hastalıklara ve kansere karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir [38].

Fenolik maddelerin bitkilerde üreme ve gelişim için zorunlu oldukları ve çoğunlukla (sahip oldukları antioksidan ve antimikrobiyal etkiler sebebiyle) bitkilerin oksidatif kararlılığı ile mikrobiyal güvenliğini arttırdıkları belirtilmiştir. Bununla birlikte, genellikle bitki patojenleri, kuraklık, radyasyon, UV ve fiziksel hasarlanma gibi durum ve etkenlere karşı bitkiyi korudukları gözlenmiştir. Ayrıca bitkisel gıdalarda lezzet, aroma, renk, yapı, vb. gibi kalite kriterlerini etkiledikleri bilinmektedir. Bitkinin türü, cinsi, olgunluk derecesi, çevresel koşulları, hastalık durumu vb. gibi faktörlerin bitkilerin yapısında bulunan toplam fenolik madde miktarını etkilediği belirlenmiştir [39-41].

Doğada fenolik madde yapısına sahip binlerce molekül bulunmasına rağmen bunların nispeten az bir kısmının (birkaç yüzü) antioksidan özellik gösterdiği ve yenilebilir bitkilerde bulunduğu tespit edilmiştir. Bitkisel kaynaklı gıdaların hemen hemen hepsinin fenolik bileşenleri içerdiği bilinmektedir. Ancak antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklerin, yoğun olarak meyvelerde bulunduğu belirlenmiştir [42].

2.4.1. Bitkisel Kaynaklardan Fenolik Bileşiklerin Özütlenmesi

Bitkisel kaynaklardan bioaktif özellik gösteren fenolik bileşiklerin özütlenmesi, bu bileşiklerin tanımlanmasının, verimi ve kullanımı açısından önem taşıdığı bilinmektedir. Bu sebeple literatürde fenolik bileşiklerin özütlenmesi amacıyla uygulanan birçok yöntem bulunmaktadır [43].

Fenolik maddelerin özütlenmesinde, bu bileşiklerin kimyasal yapıları ve hangi koşullarda çözünürlüğünün arttığı önem taşıdığı bildirilmiştir. Fenolik maddelerin çok çeşitli kimyasal formlarda oldukları ve protein, karbonhidrat vb. gibi moleküllere bağlı halde bulundukları tespit edilmiştir. Bununla birlikte, molekül ağırlığı yüksek olan bazı fenolik maddelerin ve bunların oluşturduğu bileşiklerin çözünmez formda oldukları belirtilmiştir. Fenolik bileşiklerin çözünürlüğünün kullanılan çözücünün polaritesine, polimerizasyon derecesine, diğer moleküllerle bileşik oluşturmaya ve çözünmeyen bileşiklerin yapısına bağlı

olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple bitkisel kaynaklardan fenolik maddelerin tümünü ya da belirli bir grubunu özütlemenin çoğu zaman mümkün olmadığı bilinmektedir [44].

Özütleme işleminde; etanol, metanol, aseton, su, etil asetat, vb. gibi kimyasal çözücüler ile bu çözücülerin belirli oranlardaki karışımları sıklıkla kullanılmaktadır[44]. Fenolik maddelerin özütlenmesinde çözücünün yanı sıra özütleme tekniğinin de büyük önem taşıdığı tespit edilmiştir. Bitkisel kökenli fenolik maddelerin özütlenmesinde kullanılan geleneksel yöntemlerin zaman, emek, seçicilik ve verim açısından dezavantajlara sahip oldukları bilinmektedir [43]. Bunlara ek olarak, kullanılan çözücülerin sağlığa zararlı kimyasalları içermekte ve özüt içinde bulunan fenoliklerin işlem sırasında oksidatif bozulmaya uğradıkları bildirilmiştir. Belirtilen dezavantajlar sebebiyle, sağlığa zararlı çözücü kullanımı az, çevre dostu, yüksek verime ve kısa işlem süresine sahip olmayı hedefleyen çeşitli yöntemler geliştirilmiştir [45, 46, 47]. En yaygın kullanılan özütleme metotları arasında; klasik çözücü ekstraksiyonu, soxhlet ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli ekstraksiyon bulunmaktadır.

2.4.1.1. Klasik çözücü ekstraksiyonu (Katı-sıvı ekstraksiyonu)

Klasik çözücü ekstraksiyonu, özütlenmesi istenen bileşenin sıvı bir çözücü yardımıyla katı bir madde içerisinden ayrılması işlemi olarak tanımlanmaktadır. Çözücü ve çözünen maddelerin belirli süre ve koşullarda bir arada tutulduğu ve ardından çözücünün ortamdan uzaklaştırıldığı rapor edilmiştir. Klasik çözücü ekstraksiyonunda, katı maddeden çözücüye kütle transferinin gerçekleştiği ve kütle transferinin üç basamakta olduğu bilinmektedir. Bu basamakların; çözücünün hedef bileşeni çözmesi, çözünen bileşenin katı içinden yüzeye difüze olması ve çözünmüş haldeki bileşenin çözelti yığına ulaşması olduğu belirtilmiştir. Yöntemin verimliliğini; çözünürlük, işlem süresi, ortam sıcaklığı, viskozite, yüzey alanı, vb. gibi faktörlerin etkilediği bilinmektedir [48].

Pathirana ve Shadidi'nin yaptıkları çalışmada, katı sıvı ekstraksiyonu ile buğday ve kepeğinden fenolik bileşikler en uygun koşullarda ve yüksek verimle özütlemek amacıyla ekstraksiyon optimizasyonu yapmışlardır. Çalışma sonucunda en uygun koşulların; yumuşak buğday için 61°C, %54 etanol, 64 dk; sert buğday için 61°C, %54 etanol, 65 dk; yumuşak buğday kepeği için 64°C, %49 etanol, 61 dk; sert buğday kepeği için 62°C, %50 etanol, 60 dk olduğunu tespit etmişlerdir [49]

Silva ve arkadaşları, *Inga edulis* bitkisinin yapraklarından katı sıvı ekstraksiyonu ile fenolik bileşikler özütlemişlerdir. Çalışmada ekstraksiyon optimizasyonu yapılmış ve optimizasyon yanıt yüzey yöntemine göre (RSM) gerçekleştirilmiştir. Ayrıca toplam fenolik madde, toplam flavonoid ve toplam flavonol miktarları yanıt olarak belirlenmiş ve katı:sıvı oranı

(24/1) ile tanecik çapı (0.6-0.84) sabit tutulmuştur. Çalışma sonunda ise en uygun ekstraksiyon koşulları olarak 58.2°C, %86.8 etanol ve 46.8 dakika tespit edilmiştir [50]

Pompeu ve arkadaşları, *Euterpe oleracea* (Acai) meyvesinden fenolik bileşiklerin özütlenmesi amacıyla, katı-sıvı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile optimizasyonunu çalışmışlardır. Yöntemde bağımsız değişken olarak; etanol, sıcaklık ve hidroklorik asit (HCl) seçilmiştir. Bağımlı değişkenler olan; toplam fenolik madde miktarı (TPC), oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) ve toplam antosiyanin miktarı ölçülmüştür. En uygun çalışma koşulları olarak; 0.065 – 0.074 mol/L hidroklorik asit konsantrasyonu, %70–80 etanol ve 58°C belirlenmiştir [51].

Zeng ve arkadaşları *Salvia miltiorrhizae* adaçayı örneği ile katı sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirmiş ve çözgen olarak etanol su karışımı (etanol:su, 65:35) kullanmışlardır. Elde edilen özüt HPLC/MS cihazı ile analiz edilmiş ve özüt yapısında 28 farklı fenolik bileşik türü tespit edilmiştir. Bu bileşikler arasında, kafeik asit, protokateşialdehit, rozmarinik asit, protokateşik asit, vb. bulunmaktadır [52].

2.4.1.2. Soxhlet ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu örnek ile çözücünün muamele edildiği ve ardından çözücünün ısıtılarak buharlaştırıldığı bir sistem olarak bilinmektedir. Örneği içeren özütleme kolonunun, yoğunlaşmış haldeki çözücü ile dolduğunda sifon yaptığı ve çözücünün cam balonda toplandığı belirtilmiştir. Bahsedilen döngünün tüm özütleme işlemi boyunca devam ettiği bildirilmiştir. Yöntemin filtrasyon gerektirmemesi, basit ve ucuz olması açısından avantajlı olduğu rapor edilmiştir. Ancak sistemin dezavantajları arasında; işlemin uzun sürmesinin, sürekli olarak temiz çözücü ile muamele sebebiyle gereken çözücü miktarının fazla olmasının, nispeten yüksek sıcaklığın sebep olduğu hedef bileşiklerin olası kaybının bulunduğu belirtilmiştir [53]. Bu sebeple özellikle sıcaklığa duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonunda çoğunlukla yöntemin tercih edilmediği görülmektedir.

Baydar ve arkadaşlarının üzüm çekirdeklerinden fenolik bileşikleri özütledikleri çalışmalarında, soxhlet ekstraksiyonu yapılmıştır. Yöntemde çözücü olarak farklı oranlara sahip aseton, su ve asetik asit karışımı ile etil asetat, metanol ve su karışımı kullanılmıştır. Yapılan özütleme işlemi sonucunda; aseton, su ve asetik asit karışımı ile 667.87 mg GAE/g toplam fenolik madde miktarı; etil asetat, metanol ve su karışımı ile ise 627.98 mg GAE/g toplam fenolik madde miktarı elde edilmiştir [54].

Hayouni ve arkadaşları; *Quercuscoccifera* L. ve *Juniperusphoenicea* L. meyvelerinden fenolik bileşikleri soxhlet yöntemi ile özütlemişlerdir. Çözücü olarak; etil asetat:metanol:su (60:30:10), aseton:su:asetik asit (90:9.5:0.5), kloroform ve aseton karışımları kullanılarak 5 saat

ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Çalışma sonucunda, her iki bitki için de asetonun en etkili çözücü olduğu tespit edilmiştir [55].

Castro-Vargos ve arkadaşları guava meyvesinin çekirdekleri ile yaptıkları çalışmada soxhlet ekstraksiyonu ile fenolik bileşikler özütlenmiştir. Çalışmada çözücü olarak etil asetat ve etanol kullanılmış ve ekstraksiyon 10 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek verim (%6.73), çözücü olarak etanol kullanıldığında elde edilmiştir [56].

Eminağaoğlu ve arkadaşları, dağ kekiği (*S. cuneifolia* Ten.) ve *Satureja spicigera* Boiss bitkilerinden metanol ile 60°C'da 6 saat özütleme yapmışlar ve özüt verimlerini sırasıyla 14.35 ile 15.42 olarak tespit etmişlerdir. Metanol ile özütlenen örneklerin antiradikal aktivitesi (IC₅₀, DPPH metodu ile); *S. spicigera* için 267.0 µg/mL, dağ kekiği için ise 68.0 µg/mL olarak bulunmuştur [57].

2.4.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon, ses dalgaları ile hücrelerin parçalanması ve katı maddenin çözücüye aktarılmasına dayanan bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Yöntemde düşük sıcaklıklarda çalışılabildiğinden sıcaklığa karşı hassas bileşiklerin özütlenmesinde çoğunlukla kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca hücre duvarına verilen zararın geleneksel yöntemlere göre daha fazla olması sebebiyle yöntemin daha hızlı ve daha verimli olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte geleneksel yöntemlere kıyasla daha az çözücüye ihtiyaç duyduğu tespit edilmiştir [58].

Yöntemin ucuz, kolay, hızlı ve verimli olması sebebiyle; geleneksel yöntemlere göre daha çok tercih edildiği bilinmektedir. Gıda uygulamalarında kullanılan ultrasonun, insanların duyabildiği ses aralığının üstünde (20 Hz ile 20 kHz) yani 20 kHz ile 1 MHz aralığındaki frekanslarda uygulanan bir işlem olduğu bildirilmiştir. 1 MHz üzerinde ise görüntüleme amacıyla tıp ve endüstride kullanıldığı bilinmektedir [59].

Goli ve arkadaşları, fıstık zarındaki fenolik bileşikler farklı yöntemleri kullanarak özütlemişler ve sonuçları karşılaştırmışlardır. Özütleme işlemleri; katı sıvı ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak; su, metanol ve etil asetat kullanılmıştır. Elde edilen veriler toplam fenolik madde miktarına göre değerlendirilmiş ve en etkili özütleme sistemlerinin katı sıvı ekstraksiyonu ile ultrason destekli ekstraksiyon olduğu tespit edilmiştir [60].

Wang ve arkadaşları ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile buğday kepeğindeki fenolik bileşikler özütlemişler ve bu yöntem ile özütleme hızının ve özüt kalitesinin arttığını rapor etmişlerdir. Çalışmada ayrıca optimizasyon işlemi de yapılmış ve en uygun işlem koşullarının 60°C, %64 etanol çözeltisi ve 20 dakika olduğunu tespit etmişlerdir [61].

Peschel ve arkadaşları, endüstriyel atık olarak ortaya çıkan bazı meyve ve sebze yan ürünlerinden (presleme atıkları, sap, kök, vb.) fenolik bileşikleri özütlemişlerdir. Örneklerin özütleme verimleri, elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda çeşitli meyve ve sebzelere ait atık ve artıklardan ultrason destekli ekstraksiyon ile yüksek antioksidan aktiviteye sahip özütlerin elde edilebileceğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, elde edilen özütlerin gıda ve kozmetik alanında kullanılabileceği rapor edilmiştir [62].

Rodrigues ve arkadaşları, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemini kullanarak hindistan cevizi kabuğundaki fenolik bileşikleri özütlemişlerdir. Çalışmada yüksek verimle özütleme işleminin gerçekleştirilebilmesi hedeflenmiş ve bu amaçla farklı sıcaklık ve çözücüler ile örneklerin ekstraksiyon verimleri incelenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek verim, 30°C'de %50 etanollü su çözeltisi ile elde edilmiştir [63].

2.4.1.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Yöntemde basınç altında bulunan bir çözücünün yardımıyla örnekten istenilen bileşenlerin özütlendiği belirtilmiştir. Bir maddenin basıncı ve sıcaklığının kritik değerlerin üzerine çıktığında süperkritik bölge oluşmakta ve bu bölgedeki akışkan süperkritik akışkan olarak tanımlanmaktadır [64]. Kritik sıcaklık (T_c); akışkan haldeki bir maddenin sıvı hale getirilebildiği en yüksek sıcaklığı, kritik basınç (P_c) ise kritik sıcaklıktaki basıncı ifade etmektedir [65].

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu günümüzde birçok kaynaktan özellikle ekonomik açıdan değerli olan bioaktif maddelerin özütlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok endüstri dalında süperkritik akışkan olarak; toksik olmaması, kolay temin edilebilir ve ekonomik olması sebebiyle çoğunlukla karbondioksit kullanılmaktadır. Bununla birlikte; üründen kolay ayrılabilmesi ile gerektirdiği kritik sıcaklık ve basınç değerlerinin nispeten düşük olması, karbondioksitin önemli avantajları olarak belirtilmiştir. Ancak uygulamanın pahalı olmasının sistemin en önemli dezavantajını oluşturduğu ve yaygınlaşmasını nispeten kısıtladığı bildirilmiştir [66, 67].

Pinelo ve arkadaşları, beyaz üzüm posası örneğinden katı sıvı ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemleri ile fenolik bileşikleri özütlemişlerdir. Katı sıvı ekstraksiyonunda %96 etanol:su karışımı, süperkritik akışkan ekstraksiyonunda etanol yardımcı çözücü olarak kullanılmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda; sıcaklık 35 – 50°C, basınç 80 – 350 bar ve yardımcı çözücü konsantrasyonu %0 – 8 olarak seçilmiştir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu için en yüksek verimi sağlayan koşulların (%31.3); 35°C, 350 bar, %8 etanol konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir. Aynı yöntemde en yüksek fenolik madde

miktarına (388.6 ppm) ise; 50°C, 350 bar %8 etanol konsantrasyonu ile ulaşıldığı belirtilmiştir. Katı sıvı ekstraksiyonu ile en yüksek verim (%8.54); 50°C, 90 dk, 1:5 katı:sıvı oranı ile en yüksek fenolik madde miktarı (170.9 ppm) ise, 50°C, 90 dk, 1:1 katı:sıvı oranı ile elde edilmiştir. Çalışma sonucunda süper kritik akışkan ekstraksiyonunun, katı-sıvı ekstraksiyonuna göre daha etkili ve daha verimli olduğu bildirilmiştir [68].

Ghafoor ve arkadaşları, üzüm kabuğu örneklerinden süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemini kullanarak fenolik bileşikler özütlemişler ve işlem koşullarını optimize etmişlerdir. Yöntemde optimizasyon işlemi cevap yüzey yöntemine göre yapılmıştır. Bağımsız değişkenler olarak; sıcaklık, basınç ve yardımcı çözücü konsantrasyonu seçilmiştir. Elde edilen özütler; antioksidan aktivite değerleri, toplam fenolik madde miktarları, ekstraksiyonu verimleri ve toplam antosiyanin miktarları incelenerek en uygun işlem koşullarının (bağımsız değişkenler) belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma sonucunda en uygun özütleme koşullarının; 45-46°C sıcaklık, %6 – 7 etanol konsantrasyonu ve 160 – 165 kg.cm⁻² basınç olduğunu belirtmişlerdir. Bu koşullara göre; ekstraksiyon veriminin %12.31, toplam fenolik madde miktarının 2.156 mg/100 mL ve toplam antosiyanin miktarının 1.176 mg/mL olduğu tespit edilmiştir [43].

2.4.1.5. Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminde, temelde mikrodalga enerjisi yardımıyla klasik çözücü ekstraksiyonunun yapıldığı bildirilmiştir. Böylelikle klasik çözücü ekstraksiyonu geliştirilerek, yöntemin daha hızlı ve verimli olması sağlandığı belirtilmiştir. Sistemde mikrodalga enerjisinin dielektrik sabitine bağlı olarak polar çözücüler ve ortamdaki su tarafından absorblanmakta olduğu ve ortamın ısındığı rapor edilmiştir. Klasik ısıtma sisteminden farklı olarak; ısıtma işleminin daha hızlı gerçekleştirildiği rapor edilmiştir. Ayrıca hücrelerin içinde bulunan nemin mikrodalga ile ısındığı ardından buharlaştığı ve sonrasında oluşan nispeten yüksek buhar basıncı ile hücre duvarını parçaladığı belirtilmiştir. Hücre duvarının parçalanması ile hücre içerisinde bulunan ve özütlenmesi istenen bileşiklerin oluşan gözenekler ve kapiler aracılığıyla çözücüye geçtiği bildirilmiştir [69-71].

Yöntemde kullanılan çözgenin özelliklerinin de oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Çözgenin mikrodalga enerjisini iyi absorblaması ve bunun için dielektrik sabitinin yüksek olması gerektiği rapor edilmiştir. Polaritesi yüksek olan su, etanol, metanol gibi çözücülerle daha iyi sonuçların elde edildiği bilinmektedir. Bu sebeple nispeten daha düşük dielektrik sabitine sahip hegzan, tolüen gibi apolar karakterli çözücüler ile özütleme işleminin verimli olmadığı bildirilmiştir. Dolayısıyla apolar bileşiklerin özütlenmesi amacıyla mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi çoğunlukla tercih edilmemektedir [72].

Bampouli ve arkadaşları sakız ağacı yaprakları ile yaptıkları çalışmada, 4 farklı özütleme yöntemini ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivite bakımından karşılaştırmışlardır. Özütleme işlemleri; soxhlet, süper kritik akışkan, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon sistemleri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada en yüksek verim mikrodalga destekli ekstraksiyonu ile, en yüksek antioksidan aktivite ise ultrason destekli ekstraksiyonu ile elde edilmiştir [73].

Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, domatesten fenolik bileşiklerin özütlenmesi amacıyla mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi kullanılmıştır. En uygun özütleme koşulları; toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteye bağlı olarak belirlenmiş ve katı sıvı ekstraksiyonu ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, mikrodalga destekli ekstraksiyonun hem antioksidan aktivite hem de fenolik madde miktarı bakımından katı sıvı ekstraksiyonundan daha etkili olduğu tespit edilmiştir [74].

Liazid ve arkadaşları, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üzüm kabuğu örneklerinden antosiyanin özütlemişlerdir. Bununla birlikte, çalışmada en uygun özütleme koşulları belirlenmiş ve katı sıvı ekstraksiyon sistemi ile de karşılaştırılmıştır. En uygun özütleme koşulları; 100°C, 500 Watt, 25 mL çözücü, %40 metanol çözeltisi ve 5 dk olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre üzüm kabuğu örneklerinden mikrodalga destekli ekstraksiyonla 1857.9 mg/kg toplam antosiyanin özütlenabiliyor iken, katı sıvı ekstraksiyonu ile ise 1545.9 mg/kg toplam antosiyanin özütlenebilmiştir [75].

2.5. Kızartma yağlarındaki oksidasyonun tespiti amacıyla belirlenen kalite kriterleri

Kızartma yağlarında oluşan oksidasyonun belirlenmesi amacıyla çok çeşitli tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler ile peroksit sayısı, serbest asitlik, *p-anisidin* değeri, yağ asidi kompozisyonu, konjuge dien miktarı, renk vb. gibi parametreler genellikle izlenmektedir [76].

2.5.1. Peroksit sayısı

Lipid oksidasyonunda birincil ürünlerden olan hidroperoksitler, genelde peroksitler olarak adlandırılmaktadır. Triasilgliserollerden oluşan bu bileşiklerin yağlardaki miktarı, yağlardaki oksidasyonun belirlenmesi amacıyla, peroksit sayısı tayini ile tespit edilmektedir [77, 78]. Birincil oksidasyon ürünleri olan peroksitlerin, ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşme eğilimi olan bileşikler olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla peroksit sayısının, oksidasyon başlangıcında artmakta ve oksidasyon basamakları ilerledikçe azaldığı belirtilmiştir. Oksidasyonun ilk basamağında oluşan bileşiklerin çoğunlukla kokuda bir değişime sebep

olmadıkları, ileriki basamaklarda oluşan aldehit ve keton gibi bileşiklerin tat, koku ve aromada değişime sebep oldukları tespit edilmiştir [79].

2.5.2. Serbest asitlik

Serbest asitlik değeri yağlarda bulunan asitlik bileşenlerin tümünü ifade etmektedir. Kızartma yağlarında serbest asitliğin artışının, kızartma sırasında triaçilgliseritlerin hidrolizi ve polimerlerin karboksil gruplarına bağlanmasından kaynaklandığı bilinmektedir [80]. Ancak çoğunlukla serbest asitlik değerindeki artışın, triaçilgliseritlerin hidrolizi ile oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca gıdadaki nem içeriğinin, yağdaki oksidasyon reaksiyonlarının ve diğer bozunma tepkimelerinin de serbest asitlik değerini arttırdığı rapor edilmiştir [81].

Kızartma yağları için bu yöntem kullanılırken dikkat edilmesi gereken bazı önemli noktalar bulunduğu belirtilmiştir. Bunlar arasında;

- Serbest asitlik değeri hidroliz ve oksidasyon sonucunda oluştuğundan, her iki durumda oluşan serbest asitliğin ayrı ayrı belirlenmesi mümkün olmamaktadır. Bu sebeple serbest asitlik değerinin tek başına kalite kriteri olarak kullanılmaması gerekmektedir.
- Kızartma yağlarındaki serbest asitliğin sadece kızartma ile değil kızartma öncesinde de oluştuğu göz önünde bulundurulmalıdır.
- Kızartma sırasında serbest asitliğin artışı başlangıçtaki serbest asitlik değerine de bağlıdır [82-83].

2.5.3. Renk

Renk, kızartma yağlarının kalitesi hakkında fikir veren ve kabul edilebilirliği etkileyen önemli bir kalite kriteri olarak bilinmektedir. Gıdalarda renk değişiminin genellikle 120 °C ve üzerinde gerçekleşen Maillard reaksiyonu ile oluştuğu bildirilmiştir. Reaksiyon sonucunda oluşan melanoidinlerinve şekerlerin karamelizasyonu sonucunda oluşan kahve renkli bileşiklerin renk değişiminde etkili olduğu tespit edilmiştir [84-87]. Paul ve arkadaşları, kızartma sırasında yağlarda meydana gelen renk değişiminin, polimerizasyon, karbonil bileşiklerinin oluşumu ve oksidasyon ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [88]. Ayrıca işlem sonrasında gıdalarda oluşan renk maddelerinin yağda çözünüp, yağa geçebildiği bilinmektedir.

2.5.4. Yağ asidi Kompozisyonu

Kızartma yağlarında yağ asidi kompozisyonunun yağın oksidasyon stabilitesine etki ettiği bilinmektedir. Yağ asidi kompozisyonu incelenerek, kızartma yağının oksidasyona dayanıklılığı hakkında fikir sahibi olunabileceği belirtilmiştir. Tekrarlı kızartma uygulamalarının ve böylelikle ilerleyen oksidasyon derecesinin sonucunda, yağ asidi kompozisyonunun değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Bu değişimin çoğunlukla uygulama koşullarının oksidasyonu artırma eğiliminden kaynaklı olduğu, kızartılan üründen geçen yağ ve kırıntı gibi maddelerin de yağ asidi kompozisyonunu etkilediği bildirilmiştir [89].

Kızartma yağlarının oksidasyona karşı kararlılığını azaltan en önemli etkenlerden birinin, doymamışlık derecesinin (çoklu doymamış yağ asidi miktarı) olduğu bilinmektedir. Doymamışlık düzeyinin artması ile birlikte, kızartma sırasında oksidasyonun daha da hızlandığı, yağda bulunan doymuş yağ asidi miktarının arttığı ve doymamış yağ asidi miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla kızartma sırasındaki oksidasyon derecesine bağlı olarak, yağ asidi kompozisyonundaki doymamış/doymuş yağ asidi oranının düştüğü bildirilmiştir [90-92].

Bitkisel kökenli kızartma yağlarının genellikle doymamış yağ asitlerinden olan linoleik ve linolenik asitleri önemli oranda içerdiği bilinmektedirler. Elzem yağ asitlerinden olan bu bileşiklerin, vücudun ihtiyacını önemli oranlarda karşılayabildikleri belirtilmiştir. Ancak bu bileşiklerin kızartma sırasında oksidasyonu hızlandırması sebebiyle, adı geçen yağların kızartma işleminde kullanımlarının nispeten daha az tercih edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca tekrarlı kızartma uygulamaları sonucunda artan oksidasyon derecesiyle birlikte, bu bileşiklerin kızartma yağlarındaki miktarının da azaldığı bildirilmiştir [93].

2.5.5. *p-anisidin*

Oksidasyona uğramış yağlarda oluşan peroksitlerin, karbonil bileşikleri gibi ikincil ürünlere dönüştüğü bildirilmiştir. Oksidasyonun ikincil ürünlerinden olan aldehitler, 2-alkenler, 2,4-dienaller vb. gibi yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerin miktarı, *p-anisidin* değeri ile belirlenmektedir [94].

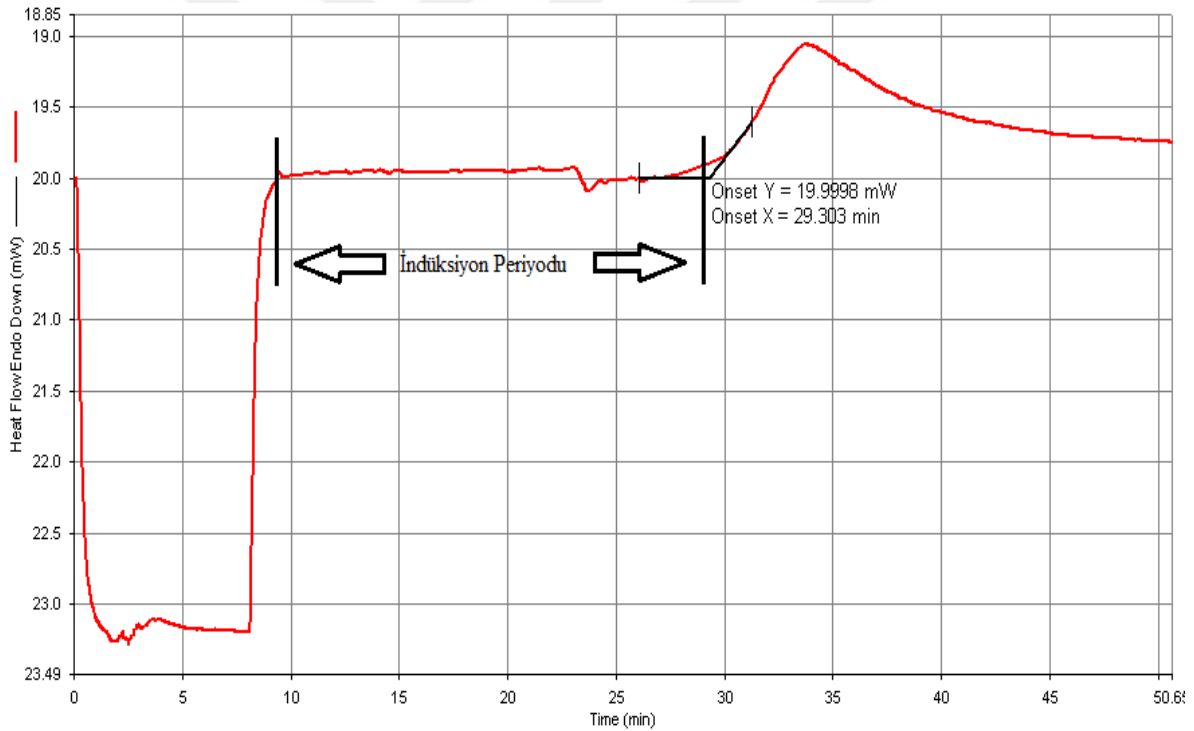
2.5.6. Konjuge Dien Miktarı

Birincil oksidasyon ürünleri arasında bulunan konjuge dien miktarının, yağlardaki çift bağların konjugasyonundan kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Reaksiyon sırasında çoklu doymamış yağ asitleri (özellikle linoleik asit ve linolenik asit) okside olup hidroperoksitlerini oluşturduğunda yapılarındaki çift bağlarda konjugasyon görülmektedir. Konjuge durumdaki yağ

asitleri UV ışınlarını absorbe edebildikleri için spektrofotometrik yöntemle 232 nm’de tespit edilmektedirler [95].

2.5.7. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) İle İndüksiyon Periyodunun Belirlenmesi

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile yağ örneklerinde oksidasyon başlangıcı tespit edilebilmekte ve bu amaçla indüksiyon periyodu belirlenmektedir. İndüksiyon periyodu, yağlarda üretimden ilk oksidasyon ürünlerinin oluşmasına kadar geçen süreye denilmektedir. Bu süre aşıldıktan sonra tepkime hızının giderek arttığı ve oksidasyonun hızlandığı bildirilmiştir. Oksidasyonun ekzotermik (ortama ısı veren) bir reaksiyon olmasından dolayı, önceden belirlenen sabit çalışma sıcaklığına ulaşıldığı andan oksidasyon pikinin gözlemlendiği ana kadar geçen süre indüksiyon periyodu olarak tanımlanmaktadır [96]. Şekil 2.2.’de diferansiyel taramalı kalorimetre ile elde edilen tipik bir oksidasyon grafiği verilmiştir.



Şekil 2.2. Diferansiyel taramalı kalorimetre ile elde edilen tipik oksidasyon grafiği

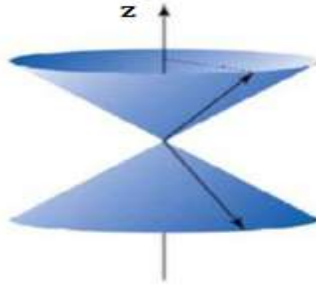
2.6. Elektron Spin Rezonans (ESR)

Yağlarda lipid oksidasyonun izlenmesi için potansiyel yöntemlerden biri de Elektron Spin Rezonans (ESR) spektroskopisidir. ESR ya da diğer adıyla EPR (Elektron Paramanyetik Rezonans) spektroskopisi ortaklanmamış elektrona sahip atom, iyon, molekül ya da molekül sistemlerinin tespitine dayanan bir yöntem olarak bilinmektedir. Yöntemde örnek, uygun koşullar altında manyetik alan içerisine yerleştirilmekte ve elektromanyetik dalgaya maruz bırakılmaktadır. Örneğin soğurduğu elektromanyetik dalga miktarına bağlı olarak da analiz edilen maddenin özellikleri incelenmektedir [97].

Manyetik rezonans temeline göre çalışan ESR çiftlenimsiz elektronların manyetik alan içindeki yönelimini, mikrodalga enerji bölgesindeki geçişlerini inceleyen ve radikal tespitinde kullanılan tek yöntemdir. ESR, serbest radikaller hakkında yapısal, kantitatif ve mekaniksel bilgi sağlaması nedeniyle Fizik, Kimya, Biyoloji gibi temel bilimlerde ve Malzeme, Tıp, Gıda gibi uygulamalı bilimlerde oldukça önemlidir [98].

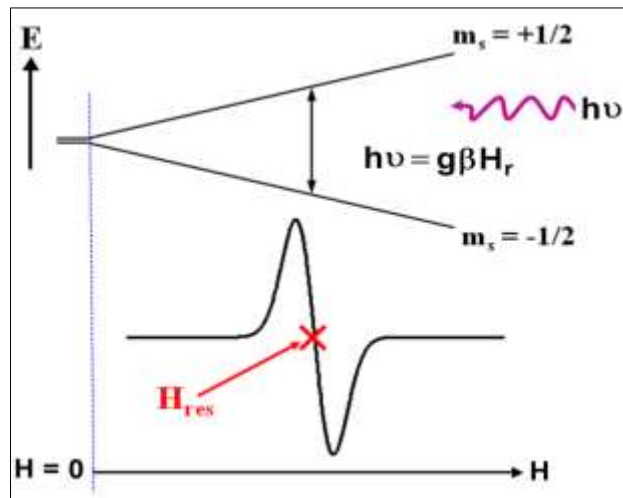
ESR tekniğinde paramanyetik özelliğe sahip örnekler dolayısıyla paramanyetik sistemler incelenmektedir. Paramanyetik sistemler yapılarında ortaklanmamış elektrona sahip olup, bu yapılara serbest radikaller de denilmektedir. Kısaca ESR tekniğinde paramanyetik özelliğe sahip serbest radikaller incelenebilmektedir [99].

Örneğin paramanyetik özellik gösterdiği ve örnek dışında manyetik alan olmadığı durumdaki manyetik dipol momentlerin, gelişigüzel yani rastgele yönelim gösterdikleri belirtilmiştir. Bununla birlikte örneğin dışında manyetik alanın olmayışı sebebiyle örnekte miknatıslanmanın da görülmediği bildirilmiştir. Ancak böyle bir örneğe belli bir yönde (örneğin z-ekseninde) örnek dışından manyetik alan uygulanırsa aynı manyetik dipollerin, örnek dışından uygulanan manyetik alan etrafında ortaklanmamış elektronların spin yönelimlerine göre aynı veya zıt yönde dönü hareketi yaptıkları tespit edilmiştir [100]. Sistemde manyetik alana aynı veya zıt yönde yönelen ortaklanmamış elektronların spinlerinin farklı miktarda enerjilere sahip oldukları bildirilmiştir. Sisteme dışarıdan bu enerji farkı verildiğinde spin durumları arasında geçişler oluşmakta ve sisteme gönderilen enerjideki değişme miktarının gözlenmesi ile spin geçişleri izlenebilmektedir. Yani sistemde enerjinin absorblanması manyetik momentten, manyetik moment de ortamdaki ortaklanmamış elektronlardan kaynaklanmaktadır [101]. Şekil 2.3.'de uygulanan dış manyetik alan altında elektronun spin yönelimleri verilmiştir.



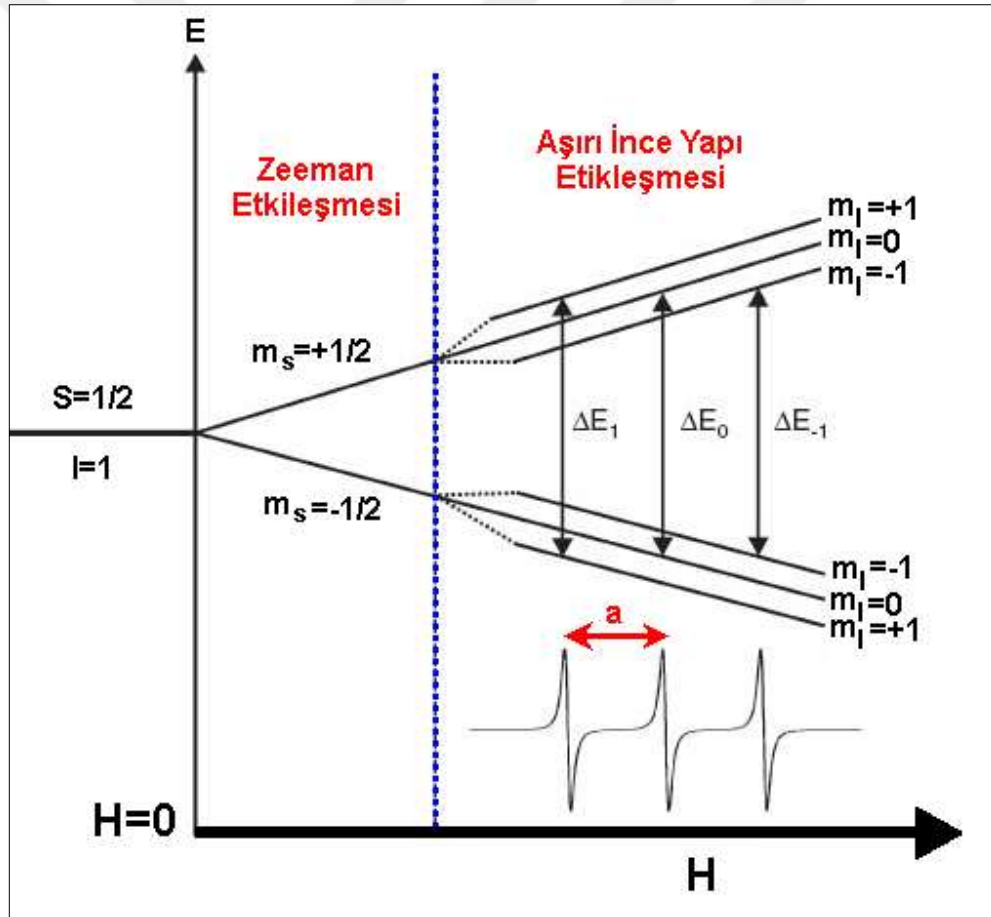
Şekil 2.3. Uygulanan dış manyetik alan altında elektronun spin yönelimleri [102]

Çiftlenimsiz elektron spinleri ile dış manyetik alanın etkileşmesine Elektron Zeeman Etkileşmesi denir. Zeeman etkileşmesi sonucunda $s=1/2$ olan elektronun $m_s=1/2$ ve $m_s=-1/2$ durumlarına karşılık gelen iki enerji seviyesine yarıma gözlenir. Alt enerji seviyesindeki elektronlar değişken bir manyetik alanla (mikrodalga) uyarılarak enerji soğurur ve üst enerji seviyesine geçer. Elektronların seviyeler arasındaki enerji farkına karşı gelen mikrodalga enerjisini soğurması duruma “rezonans” denir ve ESR geçişleri ancak $h\nu=g\beta H_r$ rezonans koşulu sağlandığında gerçekleşir. Eşitlikte h ; Planck sabiti, ν ; mikrodalga frekansı, g ; spektroskopik yarıma çarpanı, β ; Bohr magnetonu ve H_r ; rezonans manyetik alanıdır. ESR spektrometrelerinde teknik nedenlerden dolayı rezonans koşulunu sağlayabilmek için mikrodalga frekansı sabit tutularak manyetik alan taraması yapılır [103]. Rezonans durumunda soğurulan enerjinin birinci türevini temsil eden bir ESR piki gözlenir. Şekil 2.4.’ te paramanyetik merkezin parmak izi olarak bilinen g spektroskopik yarıma çarpanı rezonans koşulundaki H_r rezonans manyetik alanı kullanılarak elde edilir.



Şekil 2.4. Elektron Zeeman Etkileşmesi ve Rezonans Durumu

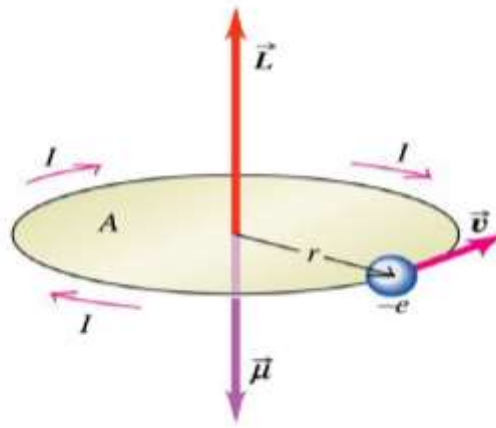
Zeeman etkileşmesinin yanı sıra paramanyetik sistemde çekirdek spini sıfırdan farklı çekirdeklerle elektronlar arasında bir etkileşme daha gözlenebilir. Çekirdek spini sıfırdan farklı olan çekirdek, elektronun bulunduğu yerde bir manyetik alan oluşturur. Elektron spin manyetik momenti ile çekirdeğin oluşturduğu bu manyetik alanın etkileşmesine aşırı ince yapı etkileşmesi denir. Elektron Zeeman etkileşmesi nedeniyle m_s değerlerine karşılık oluşan enerji seviyeleri sıfırdan farklı çekirdek spini (I) nedeniyle farklı m_I değerleri nedeniyle $2I+1$ seviyeye yarılacaktır. Bu durumda rezonans gerçekleştiğinde $\Delta m_s = \pm 1$ ve $\Delta m_I = 0$ izinli seçim kuralları gereği enerji seviyeleri arasında geçiş gözlenecektir. Gözlenen bu ESR pikleri aşırı ince yapı çizgileri olarak bilinir. Şekil 2.5.' te çekirdek spini $I=1$ olan bir çekirdek için aşırı ince yapı etkileşmesi nedeniyle oluşan enerji seviyeleri ve rezonans durumunda gözlenen ESR spektrumu verilmiştir. Pikler arası ölçülen manyetik alan değeri çekirdekle elektronun etkileşme derecesinin bir ölçüsü olarak tanımlanan aşırı ince yapı sabiti, a , olarak bilinir.



Şekil 2.5. Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi

2.6.1. Manyetik Moment

Merkezden r yarıçapı kadar uzaklıkta v çizgisel hızıyla hareket etmekte olan bir elektronun, zıt yönde bir akım oluşturduğu bilinmektedir. Oluşan bu akım, bir akım halkası şeklinde düşünülebilir. Bu duruma bağlı olarak da sabit bir eksen etrafında dönmekte olan her yüklü parçacığın, bu hareket sebebiyle bir manyetik momente sahip olduğu bildirilmiştir [101].



Şekil 2.6. Elektronun çekirdek etrafındaki yörünge açısal momentumu ve manyetik dipol momenti arasında bulunan ilişki [102]

Klasik sistemde A alanına sahip bir dairesel sarımda ilerleyen i elektrik akımı, sarımın yapıldığı düzleme dik bir doğrultuda μ manyetik dipol momenti oluşturmaktadır.

$$\vec{\mu} = iA\hat{n} \quad (1)$$

e yüküne ve m_e kütesine sahip bir elektron için;

$$i = \frac{ev}{2\pi r} \quad (2)$$

ve dairenin alanı,

$$A = \pi r^2 \quad (3)$$

olduğundan bu eşitlikler (1) denkleminde yerine konulduğunda,

$$\vec{\mu} = \frac{1}{2} e v r \hat{n} \quad (4)$$

denklemini elde edilmektedir. Bu denklem;

$$\vec{\mu} = \frac{e}{2m_e} m_e v r \hat{n} \quad (5)$$

olarak da yazılabilmektedir. Açısal momentum olan $\vec{L}$ ise;

$$\vec{L} = m v r \hat{n} \quad (6)$$

Manyetik moment $\vec{\mu}$ açısal momentum $\vec{L}$ cinsinden yazıldığında denklem,

$$\vec{\mu} = \frac{e}{2m_e} \vec{L} \quad (7)$$

olarak yazılmaktadır. Bu denklemde elektronun açısal momentumu ile manyetik momenti arasındaki orantıya jromanyetik oran denilmekte ve γ ile gösterilmektedir.

$$\gamma = \frac{e}{2m_e} \quad (8)$$

Elektrona ait yük negatif olduğundan;

$$\vec{\mu} = -\gamma \vec{L} \quad (9)$$

değerini almaktadır. Bu denkleme göre bir elektronun açısal momentumuna daima zıt yönde manyetik dipol momentin karşılık geldiği görülmektedir.

Açısal momentumu ifade eden $\vec{L}$ değerine kuantum mekaniği yönünden ele alındığında, planck sabiti h ve katları olan kesikli değerler ile gösterilebilecektir.

$$|\vec{L}| = \hbar n \quad (n=1, 2, \dots) \quad (10)$$

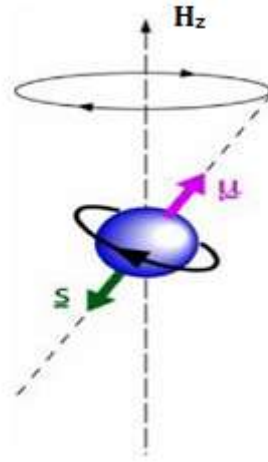
Bu duruma bağlı olarak da manyetik momentin alacağı değerler de dolayısı ile kesikli olacaktır. $n=1$ için manyetik moment,

$$|\vec{\mu}| = -\frac{eh}{2m_e} \quad (11)$$

olarak gösterilebilir. Bu değere, manyetik dipol momentin temel birimi olan Bohr magnetonu denir.

$$|\vec{\mu}| = \mu_B \quad (12)$$

Ayrıca elektronun çekirdek etrafındaki yörüngesel dönü hareketinin dışında, kendi eksenini etrafında döndüğü önceki yıllardaki çalışmalarla belirlenmiştir. Bununla birlikte, elektronun kendi eksenini etrafında dönmesinden kaynaklanan, spin açısal momentum $\vec{S}$ değerine de sahip olduğu tespit edilmiştir [104]. Şekil 2.7.'te elektrona ait spin açısal momentum ve spin manyetik moment görülmektedir.



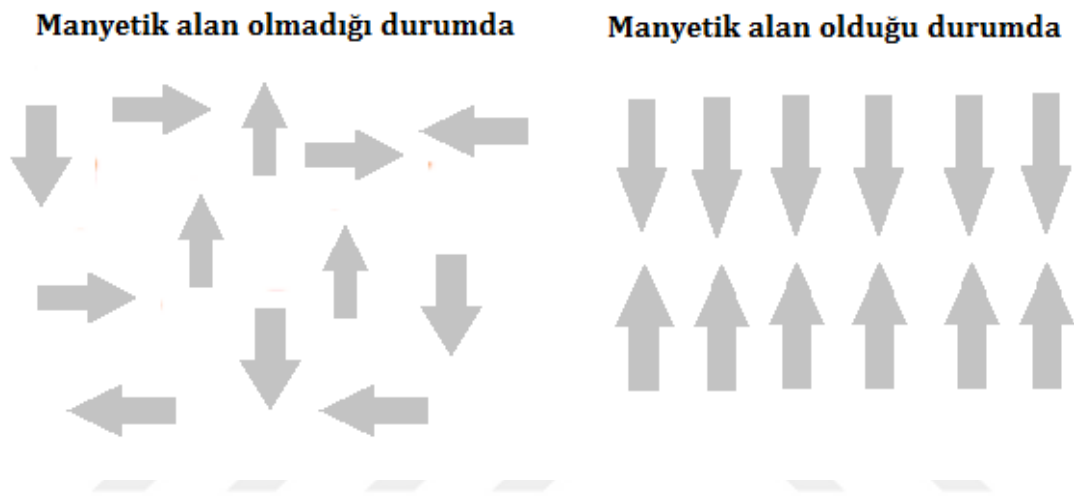
Şekil 2.7. Elektrona ait spin açısal momentum ve spin manyetik moment [105]

Spin açısal momentum vektörü açısından bakıldığında benzer şekilde;

$$\vec{\mu}_s = -g\gamma\vec{S} \quad (13)$$

olarak yazılmaktadır. Bu denklemde “g” değeri spektroskopik yarıma çarpanını ifade etmektedir (g faktörü).

Ortaklanmamış elektrona sahip manyetik momentin, çok küçük boyutlu bir çubuk mıknatıs gibi davrandığı bilinmektedir. Örneğin dışından gönderilen manyetik alanın etkisiyle, ortaklanmamış elektrona sahip paramanyetik bir sistemdeki manyetik dipollerin dışarıdan gönderilen manyetik alanla, paralel (aynı yönde) ya da antiparalel (zıt yönde) yönelim gösterdikleri belirlenmiştir. Şekil 2.8.’de paramanyetik sistemlerde, dış manyetik alanın spin sistemine olan etkisi görülmektedir [106].



Şekil 2.8. Paramanyetik sistemlerde, dış manyetik alanın spin sistemine olan etkisi [101]

2.6.2. Rezonans Koşulu

Dış manyetik alanın olmadığı durumda, elektronların spin enerji seviyelerinin dejenere (çakışık) durumda bulunduğu bilinmektedir. Bu sisteme dışarıdan manyetik alan uygulandığı zaman bu enerji seviyelerinin iki farklı enerji düzeyine yarıldığı belirtilmiştir. Elektronların spin enerji düzeylerindeki bu türden yarılmalara Zeeman yarılması denilmektedir.

Bu iki enerji düzeyinin arasındaki fark;

$$\Delta E = E_{\alpha} - E_{\beta} = g\mu_B H_z \quad (14)$$

olmaktadır. Belirtilen enerji farkına ΔE eşit enerjiye sahip bir mikrodalga fotonu sisteme gönderildiğinde, sistemin foton ile etkileşip enerjiyi soğurduğu bilinmektedir. Bu etkileşimi gösteren denklem ise,

$$h\nu = E_{\alpha} - E_{\beta} = g\mu_B H_z \quad (15)$$

şeklinde verilmiştir. Bu etkileşim rezonans koşulu olarak bilinmektedir. Bu ifade de yer alan; h değeri Plank sabitini, ν değeri mikrodalga fotonun frekansını, g değeri spektroskopik yarıлма çarpanını, μ_B değeri Bohr magnetonunu ve H_z değeri de dış manyetik alanının şiddetini (z eksenine boyunca) ifade etmektedir [107].

Rezonans koşulu gerçekleştiğinde sistem, elektromanyetik alandan enerji soğurabilmekte ve böylece elektronların spin enerji seviyeleri arasındaki geçişler izlenebilmektedir [103].

Özetle, ESR tekniğinde madde içerisinde bulunmakta olan serbest radikallere (paramanyetik merkezler) örnek dışında bir manyetik alan uygulanmakta ve serbest radikaller spin yönelimlerine bağlı olarak farklı enerji seviyelerine yarılmaktadırlar. Ardından bu enerji seviyeleri arasında gönderilen elektromanyetik dalga soğurulmakta ve enerji seviyeleri arası geçişler oluşmaktadır. ESR spektroskopisi ile ise, bahsedilen bu soğurma spektrumuna ait birinci türev sinyal çıkışı olarak verilmektedir. Bununla birlikte, elde edilen bu sinyalin şiddeti, ortamda bulunan serbest radikal miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır [10].

Tez çalışması kapsamında ise, kızartma işlemi sonucunda yağ örneklerinde oluşan serbest radikallerin oluşturduğu ESR sinyalleri analiz edilmiştir. Bu sinyallere ait spektral parametrelerin (sinyal şiddeti, spektroskopik yarıлма çarpanı, sinyal genişliği vb.) yağ örneklerine eklenen farklı kaynaklardan (mandalina, portakal, limon) elde edilmiş antioksidan özellik gösteren özütlerle bağlı değişimleri incelenmiştir.

2.7. Literatürde Öne Çıkan Çalışmalar

Literatürde kızartma yağlarının oksidatif kararlılığının artırılması amacıyla, yağ örneklerine sentetik antioksidanların ya da çeşitli bitki veya baharat özütlerinin eklendiği çok çeşitli araştırmalar bulunmaktadır [88]. Baharatlarda bulunan uçucu yağların ise, eklendikleri gıdalarda üretim sırasında uygulanan ısı işleme dayanıklı olmadıklarından çoğunlukla bu koşullar altında hızla parçalanarak ortamdan uzaklaştıkları bildirilmiştir. Bu sebeple yüksek sıcaklıklarda uçucu yağların oksidatif kararlılığı arttıran etkisinden yararlanılamadığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte, uçucu yağlar ile baharatlarınaromatik ve keskin kokuya sahip olmalarından dolayı kullanımlarının kısıtlı olduğu bilinmektedir [108].

Düşük sıcaklıklarda yapılan oksidasyon çalışmalarında ise, baharatlarda bulunan antioksidan özellik gösteren bileşikler çoğunlukla çeşitli çözücüler kullanılarak özütlenmiştir. Uçucu yağlar ise; katı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu gibi yöntemlerle elde edilmiştir [109]. Yapılan çalışmaların sonucunda

çoğunlukla aromatik bitki ve baharatlardan elde edilen özütlerin, hızlandırılmış oksidasyon koşullarında, yağların oksidatif kararlılığını arttırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmalardan birinde limon, adaçayı, oğul otu ve kekik özütleri belirli konsantrasyonlarda ayçiçek yağına ilave edilmiş ve 25 gün boyunca 60°C sıcaklıkta oksidasyona bırakılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda adaçayı özütünün BHT'den daha etkili olduğu tespit edilmiştir [88].

Bazı çalışmalarda ise gıda endüstrisi atıklarının antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceğini gösterilmiştir. Iqbal ve arkadaşlarının nar kabuğu ile yaptıkları bir çalışmada, nar kabuklarından metanol kullanılarak elde edilen özütlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca bu özütlerin, 185°C'de gerçekleştirilen 80 dakika ısıtma sonucunda ayçiçek yağının peroksit oluşumunun %66.23 oranında azalttığı tespit edilmiştir [110].

Suja ve arkadaşları susam küspe özütü eklenen ayçiçek, soya ve aspir yağlarının antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, peroksit sayısı, konjuge dien ve *p-anisidin* değeri analizleri yardımıyla, susam keki özütü ilavesinin 60°C'deki oksidasyon kararlılığını arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen özütlerin (tüm konsantrasyonlar için) 200 ppm BHT'den daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [111].

Farag ve arkadaşları zeytin yaprağı özütünün 180°C'de ayçiçek yağının oksidatif kararlılığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Ayçiçek yağına farklı konsantrasyonlarda özüt ilave edilmiş ve işlem günde 5 saat 180°C'de ve 5 gün gerçekleştirilmiştir. Her günün sonunda alınan yağ örneklerinin fiziksel ve kimyasal niteliklerindeki değişim gözlenmiştir. Araştırmanın sonuçlarına göre; 800 ppm zeytin yaprağı özütünün ayçiçek yağının oksidatif kararlılığını sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir [4].

Iqbal ve Bhanger ise sarımsak özütünün ayçiçeği yağının oksidatif kararlılığına etkisini incelemişlerdir. Metanol ile hazırlanmış sarımsak özütü eklenen ayçiçeği yağının, 185°C'de 80 dakika bekletilmesi sonucunda antioksidan aktivitesini yitirmediği ve sentetik bir antioksidan olan BHA'dan daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 65°C'de yapılmış hızlandırılmış oksidasyon testinde ise; konjuge dien, peroksit sayısı, tiobarbitürik asit ürünleri, vb. analizlere göre 1000 ppm sarımsak özütünün en etkili konsantrasyon olduğu gözlenmiştir [112].

Du ve Li'nin yaptıkları çalışmada, dana etine derin yağda kızartma işlemi uygulanmış ve tarçın uçucu yağının işlem sırasında oluşan oksidasyona olan etkisi incelenmiştir. Bu amaçla örneklerin peroksit sayısı ve TBA (tiyobarbitürik asit) miktarlarına bakılmıştır. Elde edilen verilere göre, 150°C'de 1.5 dakikada gerçekleştirilen kızartma işlemi sırasında oluşan oksidasyonun azaltılması için gereken en uygun tarçın yağı miktarının 30 µl olduğu tespit edilmiştir [113].

Ayadi ve arkadaşları, aromatik bitkileri zeytinyağı örneklerine doğrudan ilave ederek örneklerin ısı dirençlerini incelemişlerdir. Aromatik bitkilerin zeytinyağı örneklerine doğrudan

ilave edildiği bir çalışmada, zeytinyağı örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile ısı dirençleri incelenmiştir. Araştırma kapsamında adaçayı, lavanta, biberiye, reyhan, kekik ve limon bitkileri %5 oranında zeytinyağı örneklerine eklenerek 15 gün süreyle bekletilmiştir. Hızlandırılmış oksidasyon testlerinin gerçekleştirilebilmesi amacıyla; hazırlanan örnekler 130°C'de 6 saat ve 60°C'de 55 gün bekletilmiştir. Çalışma sonucunda oksidatif kararlılığın artırılmasında en etkili olan örneklerin sırasıyla biberiye, kekik ve limon olduğu tespit edilmiştir [115].

Çalıkoglu ve arkadaşları, adaçayı bitkisinin yaprakları ve uçucu yağını ayçiçek yağı örneklerine ilave ederek 60°C'de hızlandırılmış oksidasyon testine tabi tutmuşlardır. 14 gün süren oksidasyon testi boyunca belirli aralıklarla örnek alınarak peroksit sayısı ve konjuge dien değerleri incelenmiştir. Hem adaçayı yaprağı hem de adaçayı uçucu yağı ilave edilen örneklerin, kontrol örneğine kıyasla oksidatif stabilitelerinin arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, %2 adaçayı içeren yağ örneğinin en yüksek antioksidan aktivite değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak adaçayı bitkisinin karakteristik keskin kokusu sebebiyle, yağ örneklerinde kullanımının sınırlı olabileceği ve dolayısıyla örneklerin deodorizasyon işleminden sonra kullanılmasının daha uygun olacağı rapor edilmiştir [88].

Bensmira ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, ayçiçek yağı örneklerine kekik ve lavanta bitkileri doğrudan ilave edilmiş ve hazırlanan bu örnekler kızartma işleminde kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, yağ örneklerine kekik ve lavanta ilavesinin, örneklerin kızartma sıcaklığında oksidatif kararlılığını arttırdığı belirlenmiştir [117].

Isıl işlem uygulanmış organik maddelerde oluşan serbest radikallerin (paramanyetik merkezlerin) incelenmesi ilk kez 1954 yılında Ingram ve arkadaşları tarafından gözlenmiştir [118]. Çalışmada, organik maddelerin ısı işlem sonucu kömürleşmesiyle serbest radikal elde edilmiş ve bu radikaller ESR spektrumları ile incelenmiştir. Ardından 1983 ve 1984 yıllarında, arkeolojik kökenli buğday taneleri incelenmiş ve ısıl geçmişleri tespit edilebilmiştir [119, 120].

Yordanov ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, ekmek örneklerinde ısı işlem sonucunda oluşan serbest radikaller ESR tekniği ile incelenmiştir. Elde edilen verilere göre kabuk kısmının, ekmeğin orta ve alt kısımlarına kıyasla daha fazla oranda (yaklaşık 2-5 kat) serbest radikal içerdiği görülmüştür [121].

Yordanov ve Mladenova yaptıkları çalışmada kayısı, ceviz, fıstık ve badem örneklerinde oluşan serbest radikalleri ESR yöntemi ile analiz etmişlerdir. Çalışmada ısı işlem sıcaklığı ve süresine bağlı olarak değişen serbest radikal yoğunluğu incelenmiştir. Isıl işlem sıcaklığı ve süresi arttıkça örneklerde bulunan serbest radikal miktarının arttığı görülmüştür [122].

Işınlama uygulamaları sonucunda gıda örneklerinde oluşan serbest radikallerin, ESR spektroskopisi ile analiz edildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Ayrıca bazı çalışmalarda da

örneklere ışınlama işlemi uygulanıp uygulanmadığının tespiti için de kullanılabileceği bahsedilmiştir. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir:

Maghraby ve arkadaşları, ESR tekniğini kullanarak ışınlama uygulanmış ve uygulanmamış ceviz kabuğu örneklerini incelemişlerdir. Çalışmada 10 kGy doz değerinde ışınlama uygulandıktan sonra ve önce elde edilen sinyaller karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, ceviz kabuğu örneğinin ışınlanıp ışınlanmadığının tespiti için ESR tekniğinin kullanılabileceği belirtilmiştir [123].

Suhaj ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, gama radyasyonunun karabiber örnekleri üzerindeki etkilerini ESR tekniği ile analiz etmişlerdir. Işınlama işlemi sonucunda farklı özelliklere sahip serbest radikallerin (paramanyetik merkezlerin) oluştuğu gözlenmiştir. [124].

Yordanov ve arkadaşları, ışınlama yapılan şeker örneklerini ESR tekniği ile incelemişlerdir. Çalışmada, örnekler 11 ay boyunca izlenmiş ve zamana bağlı kararlılıklarında meydana gelen değişimler ESR spektrumları vasıtasıyla tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, ilk 25 saat haricinde anlamlı farklılık gözlenmediği bildirilmiştir [125].

Franko ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, ışınlanmış ve ışınlanmamış karabiber örnekleri ESR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Işınlanmış örneklerden elde edilen verilere göre, radyasyon dozuna bağlı olarak ESR spektrumlarında görülen sinyal şiddetlerinin arttığı belirtilmiştir [126].

Aleksieva ve arkadaşları, domates örneklerini ESR yöntemiyle ışınlama öncesinde ve sonrasında incelemişlerdir. Işınlama öncesinde, taze ve kuru domates örneklerinin ESR sinyali verdiği görülmüştür. Dondurulmuş patates örnekleri ile yapılan çalışmada ise, yapılan analiz sonunda herhangi bir ESR sinyali ile karşılaşılmamıştır [127].

Polat ve Korkmaz, pirinç tohumu örneklerinde oluşan serbest radikalleri ESR tekniği ile incelemişlerdir. Çalışmada Türkiye’de hasat edilmiş örnekler kullanılmış ve bu örneklerde oluşan serbest radikallerin zamana ve sıcaklığa bağlı olarak değişimleri ile karakteristik özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, örnekler 0-5 kGy dozlarda ışınlama işlemi yapılmıştır. Ayrıca ışınlama işlemi öncesi ve sonrasında elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Işınlanmamış örneklerin ESR sinyali vermediği tespit edilmiştir. Işınlama işlemi sonrasında ise, 3 farklı türde serbest radikalın oluştuğu görülmüştür. Bununla birlikte ışınlama işlemi sonrasındaki ilk 72 saat içerisinde örnekte bulunan serbest radikaller hızla sönümlenirken, daha sonra serbest radikallere ait sönüm hızının azaldığı tespit edilmiştir [128].

Leonar ve arkadaşları, ışınlanmış akasya gamı (gum arabic) örneklerine ait ESR spektrumlarını incelemişlerdir. Çalışmada, örneklerin absorbladığı doz miktarı ile ESR sinyal şiddetleri arasında lineer bir ilişki görülmüştür. Işınlama sonucunda 2 farklı türde serbest

radikal oluştuğu tespit edilmiş ve bu radikallerin yarı ömürleri 3.3 ve 125.4 saat olarak belirlenmişlerdir [129].

Fattah ışınlanmış kimyon örneğini ESR tekniği ile incelenmiştir. Işınlanma işlemi uygulanmamış kimyon örneğinin ESR spektrumunda sinyal verdiği görülmüştür. Çalışma sonucunda uygulanan radyasyon dozu arttığında, ESR sinyal şiddetinin de arttığı görülmüştür [130].

Engin ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada, Türkiye’de hasat edilmiş incir çekirdeklerine ait ESR spektrumları rapor edilmiştir. Işınlanmamış örneklerde, zayıf ESR sinyalleri tespit edilmiş ve bu sinyallere örneklere ait “doğal sinyal” denilmiştir. Ayrıca ışınlama işlemine tabi tutulan diğer tüm örneklerde de ESR sinyalleri görülmüştür [131].



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Tez kapsamında Mersin yöresi açısından ekonomik öneme sahip olan; portakal (*Citrus sinensis* L.), mandalina (*Citrus reticulata* L.) ve limon (*Citrus lemon* L.) kabukları ile çalışılmıştır. Turunçgil kabuğu örnekleri, Adana - Mersin Bölgesinde bulunan meyve suyu fabrikalarından ve yerel marketlerden temin edilmiştir. Turunçgil kabuğu örnekleri ve bu örneklerden elde edilen özütler -33°C'de dondurucuda saklanmıştır. Kızartma deneyleri ise, yerel marketten temin edilen ayçiçek yağı (Bizim Yağ, Ülker, İstanbul) ve dondurulmuş parmak patates örnekleri (Super fresh, Kerevitaş Gıda, İstanbul) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

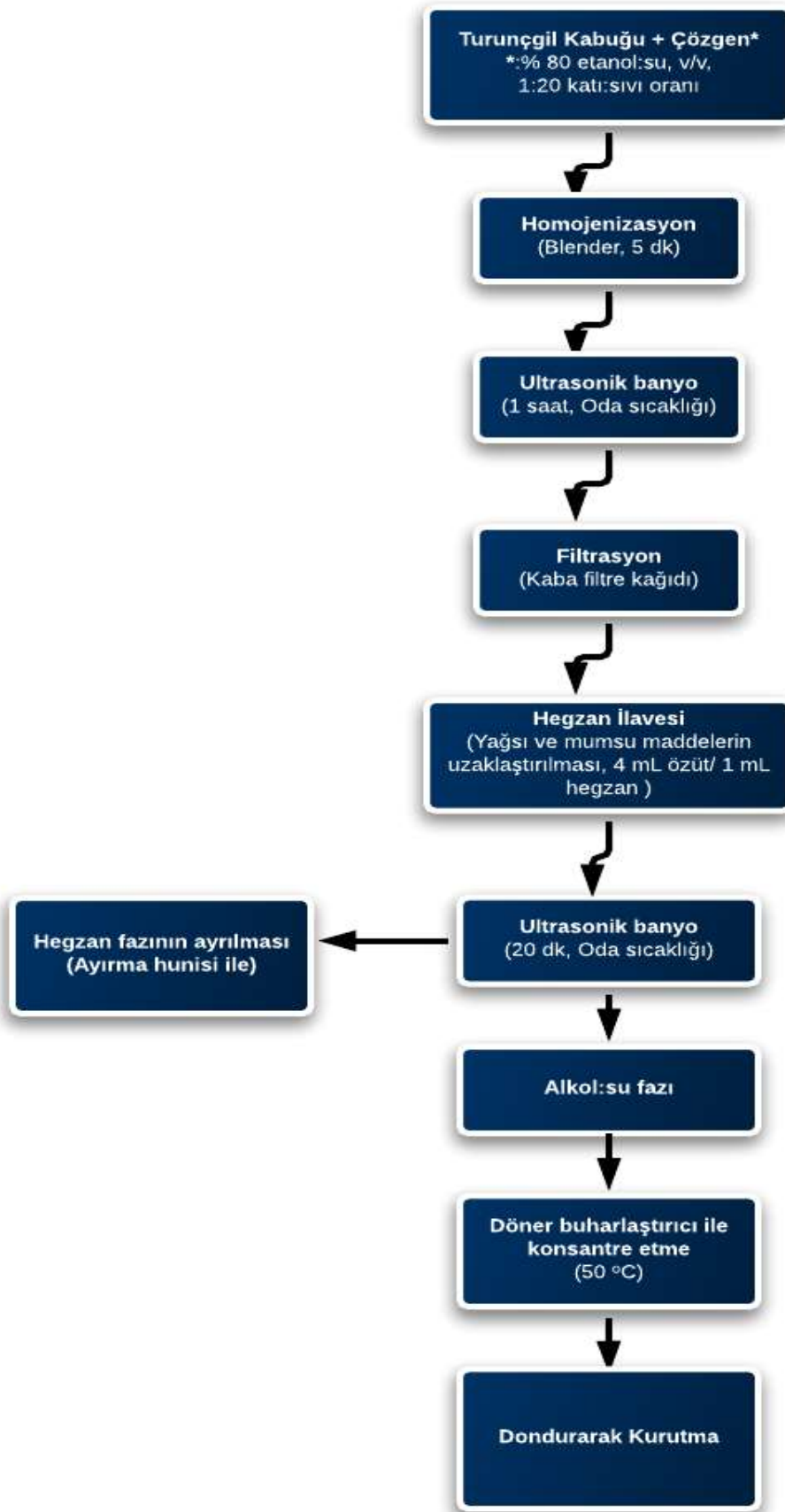
Çalışmada kullanılan Folin Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) reaktifi, TPTZ (2,4,6-tripiryridyl-s-triazine), *p-anisidin* reaktifi, demir (III) klorür hegzahidrat, TROLOX (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), metanol, dietil eter, potasyum hidroksit, kloroform, potasyum iyodür, sodyum hidroksit, asetik asit, sodyum tiyosülfat, izooktan, hegzan, N-tert-butylphenyl nitron (PBN), BHT ve sodyum asetat trihidrat (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)'ten; %99,5 saflıkta etanol, fenolftalein, glasiyel asetik asit, ise (Merck, Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Turunçgil Kabuğu Özütlerinin Elde Edilmesi

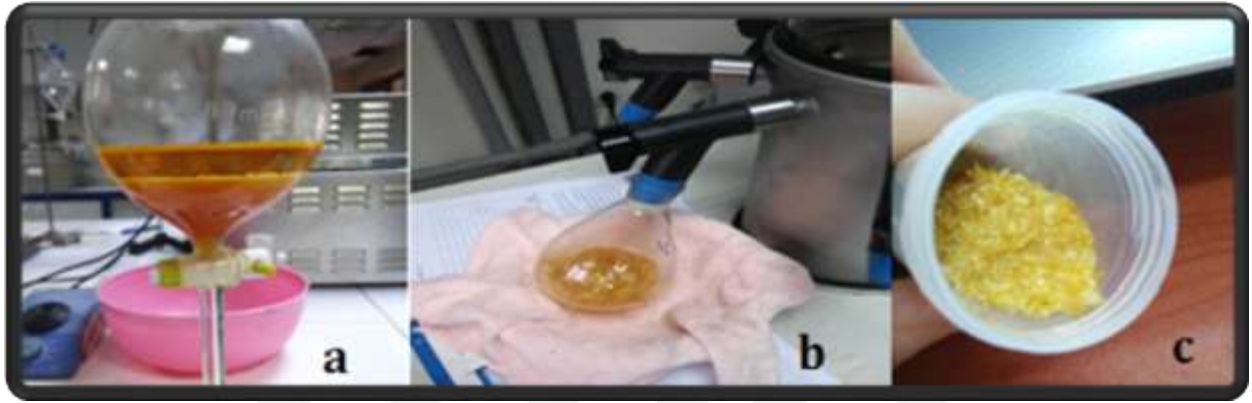
Turunçgil kabuklarından antioksidan özellik gösteren bileşenlerin özütlenmesi amacıyla etanol:su (80:20 v/v) çözeltisi, (1:20) katı-sıvı oranıyla kullanılmıştır. Turunçgil kabuğu örnekleri ekstraksiyon çözeltisi ile önce blender ile parçalanmış, ultrasonik banyoda (Elma, T 460/H, Singen, Germany) 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiş ve filtre edilmiştir.

Şekil 3.1.'de turunçgil kabuğu özütlerinin elde edilmesi amacıyla uygulanan işlem basamakları verilmiştir. Şekil 3.2.'de ise sırasıyla; hegzan fazının ayrılması, özütlerin dondurularak kurutulması işlemi ve liyofilize özütler görülmektedir.



Şekil 3.1. Turunçgil kabuğu özütlerinin elde edilmesi amacıyla uygulanan işlem basamakları

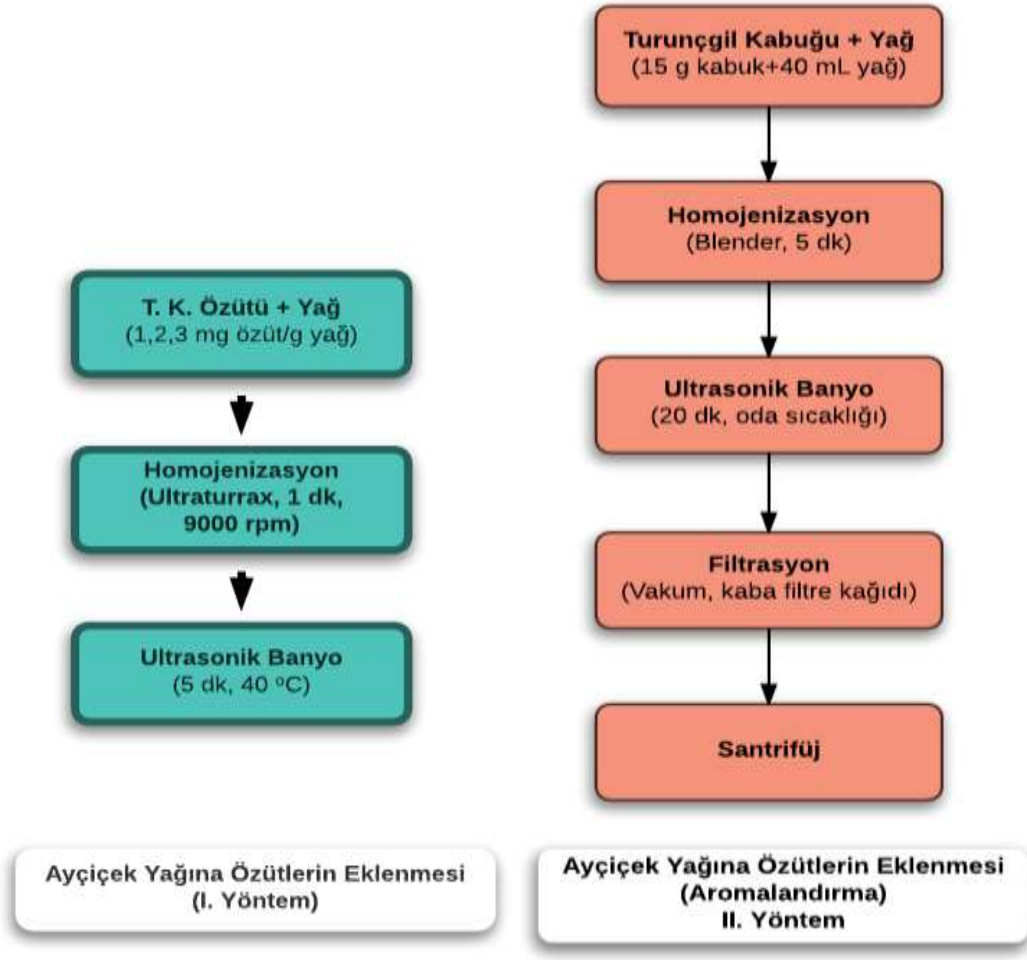
Elde edilen özütlerin içinde bulunabilecek olan yağ ve mumsu maddelerin uzaklaştırılması amacıyla, hegzan (4 mL özüt/ 1 mL hegzan oranında) ilave edilmiş ve ultrasonik banyoda 20 dakika (oda sıcaklığında) karıştırılmıştır. Süre sonunda alkol:su ve hegzan fazı ayırma hunisi ile ayrılarak, alkol:su fazı santrifüj edilmiştir. Sulu alkol fazı döner buharlaştırıcı yardımıyla (Buchi, Rotavapor R3, Flawil, Switzerland) 50°C'de konsantre edilmiş ve dondurarak kurutulmuştur. Liyofilize özütler analizler gerçekleştirilene kadar dondurucuda (-20°C) saklanmıştır. Özütlerin verimi, yağ kabuk ve elde edilen kuru özüt miktarı dikkate alınarak özüt/100 g yağ kabuk (% , a/a) şeklinde hesaplanmıştır.



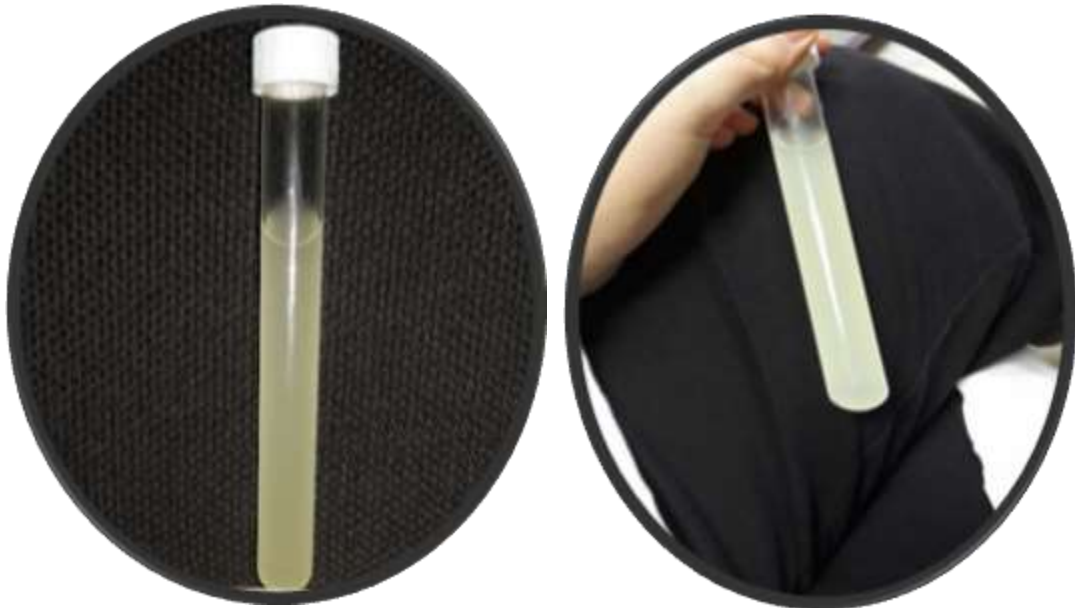
Şekil 3.2.Özütlemdeki işlem basamaklarından bazıları a) Hegzan fazının ayrılması b) Özütlerin dondurularak kurutulması işlemi c) Liyofilize özütler

3.2.2. Ayçiçek Yağına Turunçgil Kabuğu Özütlerinin İlave Edilmesi

Hazırlanan liyofilize özütler farklı miktarlarda (1, 2, 3 mg/g) ayçiçek yağı örneklerine ilave edilmiştir. Ardından homojenizasyon amacıyla örnekler; homojenizator (Ultraturrax, T25, Ika Works Inc., USA) ile 1 dak 9000 rpm'de karıştırılmış ve ultrasonik banyoda 5 dak 40°C'de bekletilmiştir. Ayrıca turunçgil kabuklarındaki antioksidan maddelerin daha kolay yağ içerisinde çözünebilmeleri amacıyla aromalandırma işlemi yapılmıştır. Bu amaçla yağ ve kabuk örnekleri doğrudan karıştırılarak (15 g kabuk/40 mL yağ) blender yardımıyla homojenize edilmiştir. Ardından 20 dak ultrasonik banyoda bekletilmiş ve vakum yardımıyla filtre edilmiştir. Hazırlanan yağ örnekleri, santrifüj edilerek 4°C de saklanmıştır. Şekil 3.3.'te ayçiçek yağı örneklerine özütlerin eklenmesine ait işlem basamakları, Şekil 3.4.'te ise özüt eklenmiş ayçiçek yağı örnekleri görülmektedir.



Şekil 3.3. Ayçiçek yağı örneklerine özütlerin eklenmesi



Şekil 3.4. Özüt eklenmiş ayçiçek yağı örnekleri; a) I. yöntem b) II. yöntem

3.2.3. Turunçgil Kabuğu Özütlerinin ve Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Belirlenmesi

Özütlerin ve özüt içeren yağ örneklerinin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metodu ile tespit edilmiştir [132]. Yöntemde; örneklerden 0.2 mL alınmış, üzerlerine 1.5 mL 1:10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenerek 5 dakika bekletilmiştir. Yapılan işlemin ardından elde edilen karışıma 60 g/L konsantrasyona sahip 1.5 mL NaCO₃ çözeltisi eklenmiştir. 90 dakika bekleme süresinin ardından örnekler 765 nm’de spektrofotometre (Cary 60 UV\VIS, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD) yardımıyla okunmuştur. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları, gallik asit cinsinden hesaplanarak mg GAE/ g yaş kabuk ve mg GAE/ kg yağ olarak sunulmuştur.

3.2.4. Turunçgil Kabuğu Özütlerinin ve Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Literatürde antioksidan kapasiteyi belirlemek amacıyla birçok yöntem bulunmaktadır [133-135]. Ancak adı geçen yöntemlerde var olan kısıtlama ve varsayımlar elde edilen sonuçlara olan güvenilirliği çoğunlukla azaltmaktadır. Bu sebeple literatürdeki yapılan çalışmalara bakıldığında, sonuçların güvenilirliğini arttırabilmek amacıyla en az 2 yöntem belirlendiği ve bu yöntemlerle elde edilen sonuçların paralelliğinin tartışıldığı görülmektedir. Dolayısıyla tez çalışması kapsamında örneklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenebilmesi amacıyla, önceki çalışmalarda oldukça sık kullanılmış ve günümüzde de hala oldukça popüler olan FRAP ve DPPH yöntemleri seçilmiştir.

3.2.4.1. FRAP Yöntemi

FRAP metodu ile örneklerin antioksidan kapasitelerinin tayini için; öncelikle FRAP çözeltisi hazırlanmış ve bu amaçla 300 mM asetat tamponu (pH 3,6), 20 mM demir klorit ve 10 mM TPTZ çözeltileri hazırlanarak karıştırılmıştır [134]. Ardından 0,3 mL örnek 5,7 mL FRAP çözeltisine eklenerek 10 dakika bekletilmiş ve 593 nm’de absorbans okunmuştur. Örneklerin antioksidan kapasiteleri $\mu\text{mol TROLOX eşdeğeri/ g yaş kabuk}$ ve $\mu\text{mol TROLOX eşdeğeri/ kg yağ}$ olarak sunulmuştur.

3.2.4.2. DPPH Yöntemi

DPPH metodu ile antioksidan kapasitesi tayini için, öncelikle DPPH serbest radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, 0,0048 g DPPH reaktifi 150 mL metanol ile çözülmüştür. 0,3 mL örnek üzerine hazırlanmış olan DPPH serbest radikal çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından örnekler 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 515 nm’de spektrofotometre (Cary 60 UV\VIS, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD) yardımıyla okunmuştur. Örneklerle ait antioksidan kapasite değerleri TROLOX eşdeğeri (TE) olarak hesaplanmış ve sonuçlar μmol TROLOX eşdeğeri/g yaş kabuk ve μmol TROLOX eşdeğeri/kg yağ olarak sunulmuştur [135].

3.2.5. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak özüt içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotlarının belirlenmesi

Farklı oranlarda (1, 2, 3 mg/g) turuncğil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları DSC cihazı (Pyris 6 DSC, B013-9005, Perkin-Elmer Inc., Netherlands) kullanılarak belirlenmiştir. Yöntemde 10.0 ± 0.3 mg yağ örneği, DSC kaplarına aktarılmış ve cihaza kapaksız olarak yerleştirilmiştir. Ardından fırın 50 mL/dakika akış hızındaki azot gazının varlığında 50°C’den 130°C’ye 10°C/dakika hız ile ısıtılmıştır. 130°C’ye ulaşıldığında ise ortama azot gazı yerine 50 mL/dakika akış hızına sahip oksijen gazı verilmiş ve analiz boyunca ortam sıcaklığı 130°C’de tutulmuştur. Kontrol örneği olarak, özüt içermeyen ayçiçek yağı kullanılmıştır [111]. Bununla birlikte özüt içeren yağ örneklerinin indüksiyon periyotları, kontrolün indüksiyon periyoduna oranlanmış ve “koruma faktörü” hesaplanmıştır. Böylelikle elde edilen özütlerin oksidatif kararlılığı arttırıcı etkileri kontrol örneği ile kıyaslanarak verilmiştir.

3.2.6. Derin yağda kızartma işlemi

Turuncğil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağları, 0,9 x 0,9 x 6 cm boyutlarına sahip dondurulmuş parmak patateslerin kızartılması amacıyla kullanılmıştır. Derin yağda kızartma işlemleri, sıcaklık kontrollü ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA, Werke, RET Basic, KG, Germany) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Derin yağda kızartma işleminde kullanılacak yağ örneklerinden 100 mL alınarak 10 ± 2 dakika içerisinde $180 \pm 5^\circ\text{C}$ ’ye ısıtılmış ve $10 \pm 0,9$ g dondurulmuş parmak patates örneği 3 dakikada kızartılmıştır. Belirtilen şekilde aynı gün içerisinde 3 kez kızartma işlemi yapılmıştır. Kızartma işleminin ardından yağ örnekleri filtre edilerek 4°C’de saklanmıştır.

3.2.7. Serbest Yağ Asidi Miktarı

Yağ örneklerinin serbest yağ asidi miktarları, AOCS Ca 5a-40'ta açıklanmış olan titrimetrik yöntemle göre tespit edilmiştir [136]. Kızartma işlemi öncesinde ve sonrasında alınan 0,5 g yağ örneğine 20 mL dietil eter/etil alkol/su (v/v/v, 3/3/2) çözeltisi eklenmiş ve indikatör olan % 95'lik fenolftalein çözeltisi varlığında 0,01 N NaOH çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Harcanmış olan sarfiyat miktarından, yağ örneğinin serbest yağ asidi miktarı % oleik asit cinsinden verilmiştir.

3.2.8. Peroksit Sayısı

Kızartmalık yağ örneklerinin peroksit sayısı, AOCS Cd 8b-90'a göre belirlenmiştir. 1-2 g yağ örneğine (beklenen peroksit miktarına göre), 10 mL kloroform, 15 mL asetik asit ve 1 mL potasyum iyodür çözeltisi ilave edildikten sonra 5 dk karanlıkta bekletilmiştir. Belirtilen süre sonunda hazırlanan çözeltiye 75 mL saf su ve indikatör olan %1'lik nişasta çözeltisi birkaç damla eklenerek 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmış ve meq O₂/kg yağ cinsinden hesaplanmıştır [137].

$$\text{Peroksit değeri (meq O}_2\text{/kg yağ)} = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{M} \quad (16)$$

S: Yağ örneği için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin miktarı

B: Kör için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin miktarı

3.2.9. *p*-anisidin Değeri

Kızartma yağı örneklerinin *p*-anisidin değeri AOCS Cd 18-90'e göre tayin edilmiştir [138]. Bu amaçla, 0.1-0.4 g örnek 10 mL izooktana çözöldükten sonra 350 nm'de absorbansı izooktana karşı okunmuştur. Bu çözeltiden 5 mL alınarak üzerine 1 mL (2.5 g/L, glasiyel asetik asitte hazırlanmış) *p*-anisidin çözeltisi ilave edilmiştir. Şahit numunenin hazırlanması amacıyla, 5 mL izooktan ve 1 mL *p*-anisidin reaktifi karıştırılmıştır. 10 dakikalık bekleme süresinin ardından hazırlanan örnek şahite karşı 350 nm'de okunmuştur. Örnekler için *p*-anisidin değeri aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$p\text{-anisidin değeri} = 10 \times \frac{1,2 \times (A_s - A_b)}{m} \quad (17)$$

As: p-anisidin ile reaksiyon sonrası yağın absorbanası

Ab: yağ çözeltisinin absorbanası

m: yağ miktarı

3.2.10. Yağ Asidi Kompozisyonu

Örneklerin yağ asidi kompozisyonu, TS 4664 EN ISO 5508 metoduna göre Gaz Kromatografi Cihazı (GC, 7890A, Agilent, USA) ile tespit edilmiştir. Analizi yapılacak örnekler (0,1 g yağ örneği) önce 10 mL hegzanda çözölmüş ardından, metanollü potasyum hidroksit çözeltisinden (2 N metanolde çözölmüş) 0,5 ml eklenmiştir. Ardından santrifüj edilmiştir. Böylelikle yağ örnekleri, yağ asidi metil esterlerine dönüştürölmüş ve gaz kromatografisinde aşğıda belirtilen koşullarda analiz edilmiştir. Analiz sonunda elde edilen veriler, yağ asidi standartlarından elde edilen veriler ile karşılaştırılarak yağ asitlerinin oranı % olarak belirlenmiştir [139].

Kromatografik Koşullar:

Dedektör: FID (Alev İyonlaştırma Dedektörü)

Taşıyıcı gaz: Helyum

Kolon: HP 88

Enjektör sıcaklığı: 250°C

Akış hızı: 0,82 mL/dak-33 psi

Enjeksiyon hacmi: 1 µL

Dedektör sıcaklığı: 300°C

Gaz Kromatografisi Isıtma Programı: Sıcaklık 4°C/dakika hızla arttırılarak 240 °C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 20 dakika bekletilmiştir.

3.2.11. Konjuge Dien Miktarı

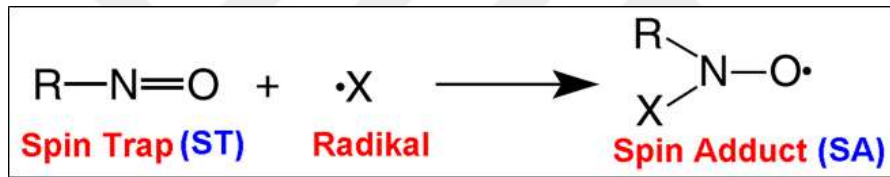
Kızartma sonrasında alınan yağ örneklerinin konjuge dien miktarları AOCS Ti 1a-64'e göre belirlenmiştir. Buna göre, yaklaşık 0.1 g tartılan yağ örnekleri 10 mL'ye iso-oktanla seyreltilmiştir. Elde edilen çözelti iso-oktana karşı spektrofotometre (Cary 60 UV\VIS, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD) yardımıyla 232 nm'de okunmuştur [140].

3.2.12. Renk

Ayçiçek yağı örneklerinin rengindeki değişimin belirlenmesi amacıyla Hunter Lab Color Quest XE renk tayin cihazı (Hunter Lab., Hunter Associates Laboratory, Reston, VA., USA) kullanılmış ve analiz CIE- L* a* b* renk sistemine göre yapılmıştır. Sistemde a* kırmızı-yeşil rengi, b* sarı-mavi rengi, L* ise aydınlık ve karanlık değerini vermektedir [141].

3.2.13. ESR (Electron Spin Resonance) İle Serbest Radikal Analizi

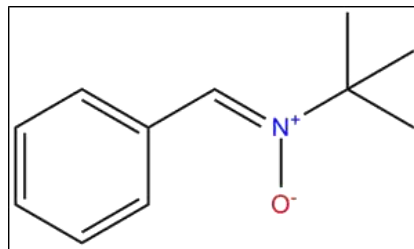
Bu tez çalışmasında literatürde önemli yeri olan ESR spin tuzaklama (ESR spin trapping) metodu lipid peroksidasyonu sırasında oluşan kısa ömürlü lipid radikallerinin tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır [142, 143]. Metotta kısa ömürlü serbest radikaller diamanyetik bir spin trap ile yakalanır ve ESR ile ölçülebilir ömre sahip spin adduct elde edilir. Şekil 3.5.' de herhangi bir spin trapın radikal yakalama mekanizması verilmiştir.



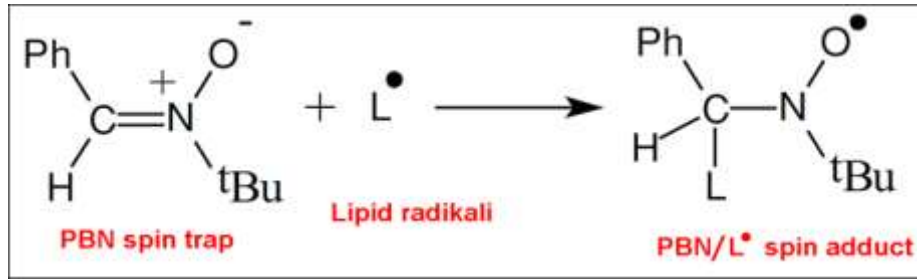
Şekil 3.5. ESR spin tuzaklama mekanizması

Yapılan ESR analizi çalışmasında lipid radikallerini yakalamak için N-tert-butylphenyl nitron (PBN) spin trapı seçilmiştir. PBN spin trapı literatürde hem yağlar için oksidasyon tespitinde hem de oksidasyon nedeniyle oluşan lipid radikallerini söndürebilecek antioksidan tayini çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır [144-149].

Moleküler ağırlığı 177.24 g/mol olan ve Sigma Aldrich' den toz halde satın alınan PBN spin trapın moleküler yapısı Şekil 3.6.'da verilmiştir. Şekil 3.7.' de ise PBN spin trapı ile lipid radikalinin birleşme mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 3.6. PBN spin trap'ın moleküler yapısı



Şekil 3.7. PBN spin trapın lipid radikalini yakalama mekanizması

Çalışmada, kör (antioksidan katılmamış) ayçiçek yağı örneği ve portakal, mandalina, limon ve BHT katılmış ayçiçek yağı örneklerinin 1., 2. ve 3. kızartma aşamalarında aynı örnek hazırlama prosedürü izlenmiştir. Toz haldeki PBN spin trapı 2.5 M olacak şekilde 25 µL etanolde çözündürülmüştür. Elde edilen spin trap çözeltisi 0.5 mL kızartma aşamasındaki yağ örneğine katılarak vortexde yaklaşık 2 dakika karıştırılmıştır. Spin trapın yağda oksidasyonun gerçekleştiği sırada katılması oldukça önemlidir. Daha sonra, 125 mM olarak hazırlanan spin trap-yağ çözeltisinden 60 µL alınarak mikropipet yardımıyla kuvars capillary tüpe konulmuştur. Her iki tarafı diyamanyetik teflon ile kapatılan capillary tüp, kuvars ESR tüpüne yerleştirilerek uygun ESR spektrometre şartlarında ESR spektrumları kaydedilmiştir.

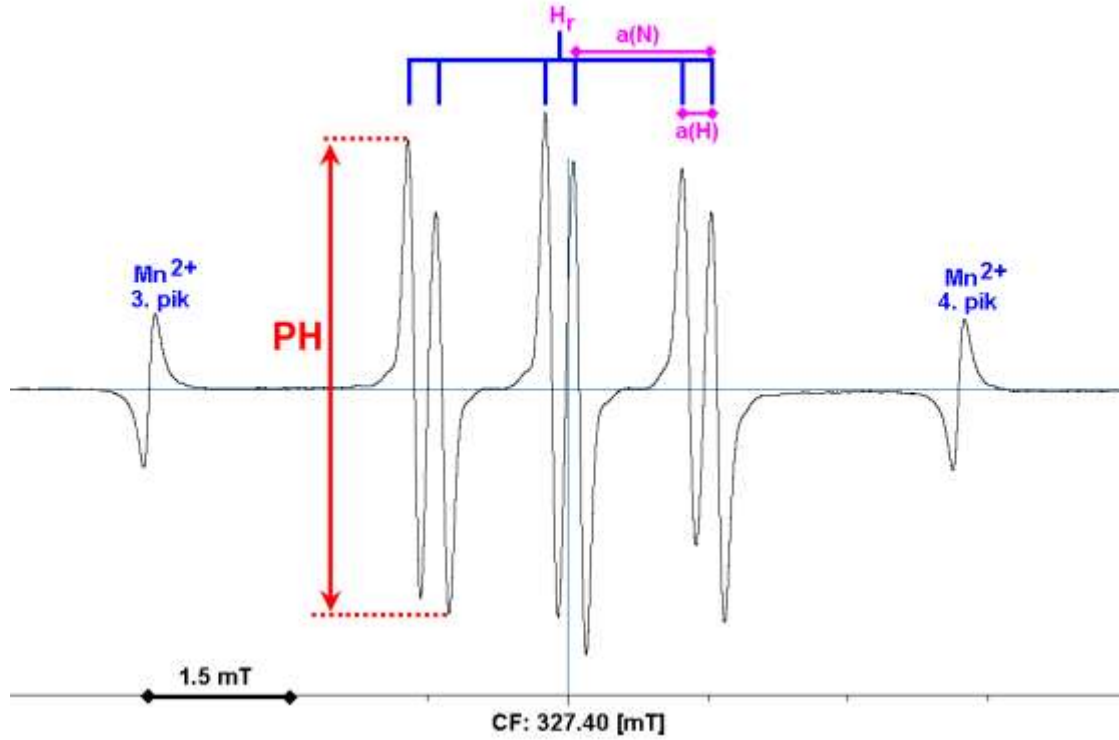
Sıcaklığa bağlı oksidasyonun belirlenmesi amacıyla kör (antioksidan katılmamış) ayçiçek yağı örneği ve portakal, mandalina, limon ve BHT katılmış ayçiçek yağı örnekleri için 50°C ile 150°C sıcaklık aralığında 10°C adımlarla ESR spin tuzaklama çalışması yapılmıştır. Bunun için öncelikle toz haldeki PBN spin trapı 2.5 M olacak şekilde 25 µL etanolde çözündürülmüştür. Elde edilen spin trap çözeltisi 0.5 mL yağ örneğine katılarak vortexde yaklaşık 2 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra, 125 mM olarak hazırlanan spin trap-yağ çözeltisinden 100 µL alınarak mikropipet yardımıyla kuvars ESR tüpüne konulmuş ve uygun ESR spektrometre şartlarında ESR spektrumları kaydedilmiştir.

ESR ölçümlerinde Şekil 3.8.' de gösterilen Selçuk Üniversitesi İleri Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde bulunan Japon marka JEOL JesFa-300 X-band ESR spektrometresi kullanılmıştır. Spektrumlar 327.4 mT merkez alanında, 15 mT tarama aralığında, 9.2 GHz mikrodalga frekansında, 0.1 mT modülasyon genliğinde, 20 mW mikrodalga gücünde, 30 s tarama zamanı ve 0.03 s zaman sabitinde, oda sıcaklığında ve 5 kez üst üste alınarak kaydedilmiştir. Spektroskopik yarılmaya çarpanı, g, değerleri MgO(Mn) standart örneğinin Mn²⁺ nın g=2.034 değerindeki üçüncü ve g=1.981 değerindeki dördüncü piklerine göre kalibrasyon yapılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. Çalışmalarda kullanılan JEOL JesFa-300 ESR Spektrometresi

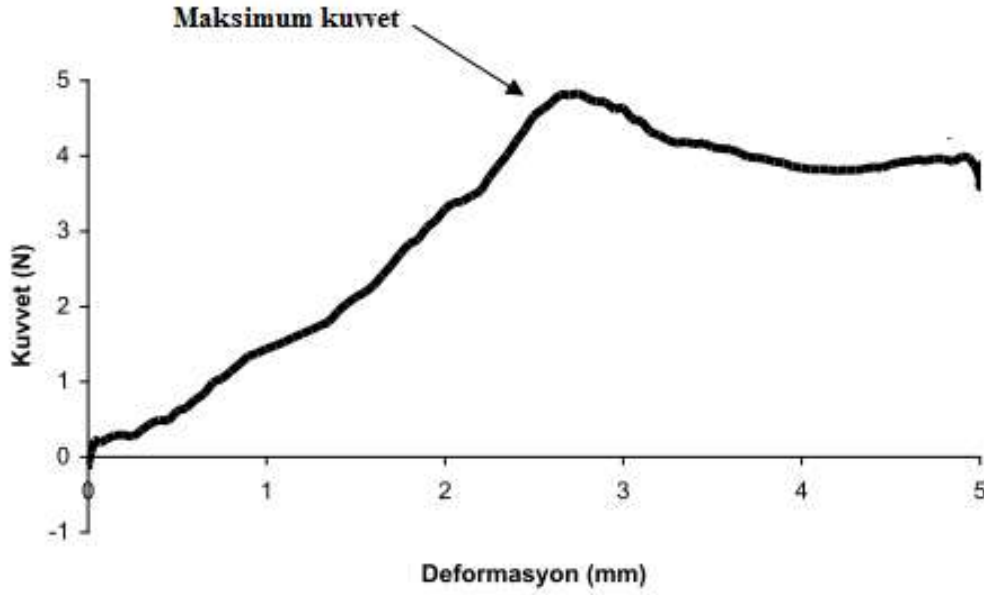
Şekil 3.9.' de spektrumda ESR parametrelerinin gösterimi verilmiştir. Burada PH; spektrumda gözlenen ilk pikin yüksekliğini, H_r ; rezonans manyetik alanını, $a(N)$; azot ile çiftlenimsiz elektronun aşırı ince yapı etkileşme sabitini, $a(H)$; hidrojen ile çiftlenimsiz elektronun aşırı ince yapı sabitini göstermektedir. H_r , $a(N)$ ve $a(H)$ değerlerinin birimi mT' dir. Spektrumdaki Mn^{2+} pikleri radikalın g değerini ölçmek için standart olarak kullanılmıştır. Oksidasyon sonucu oluşan radikal yoğunluğunu bağıl olarak tüm örneklerde kıyaslayabilmek için radikal sayısı ile doğru orantılı olarak artan ilk pikin pik yüksekliği (PH) kullanılmıştır [150-152].



Şekil 3.9. Lipid radikali-PBN spin adduct ESR spektrumu için ESR parametreleri ölçümü

3.2.14. Tekstür

Kızartılmış parmak patates örneklerinde tekstür analizi, Texture Analyzer cihazı (TA-XT2i , Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tekstür cihazı yardımıyla yapılan analizin, patates örneklerinin ön dişlerle kesilmesi işlemine benzetilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla 30° kesme açısına ve 9 mm kalınlığa sahip olan alüminyum prob kullanılmakta ve örnek 10 mm/s hızla kesilmektedir. Analiz, örneklerin kızartma yağından çıkarılmasından 2 dk sonra yapılmış ve ölçüm parmak patates örneğinin orta noktasından alınmıştır. Analiz sonucunda kuvvet-deformasyon eğrileri elde edilerek maksimum kuvvet değerleri belirlenmiş ve bu değerler kabuk sertliği ile ilişkilendirilmiştir [153]. Şekil 3.10.'da yapılan çalışma sonucu elde edilen tipik bir kuvvet deformasyon eğrisi görülmektedir.



Şekil 3.10. Tekstür analizleri sonucunda elde edilen tipik kuvvet-deformasyon eğrisi

3.2.15. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler varyans analizi ile incelenmiş ve ortalamalar arasındaki farkların önemli ($p < 0,05$) olup olmadığı ANOVA testi ile belirlenmiştir. İstatistiksel analiz, (Statistica ® 8.0, StatSoft Inc., 1984 – 2007) paket programı ile yapılmıştır. Çalışmada, Elektro Spin Rezonans (ESR) spektroskopisi ile yapılan deneyler 5 tekrarlı, diğer deneyler ise 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Turunçgil Kabuğu Özütü Üretim Aşamalarının İncelenmesi

Meyve suyu endüstrisinde atık olarak ortaya çıkan turunçgil kabuklarının, yapılarında oldukça yüksek oranda fenolik bileşikler içerdikleri bilinmektedir. Ancak turunçgil kabuklarının kimyasal yapısına çevresel ve genetik faktörler ile büyüme ve gelişme farklılıklarının etkili olduğu bilinmektedir [154]. Bununla birlikte, değişik polaritelerde çok çeşitli fenolik bileşik türü olması sebebiyle en uygun özütleme koşullarının belirlenmesi gerekmektedir. Çalışmada fenolik bileşiklerin özütlenmesi amacıyla ultrason destekli özütleme sistemi kullanılmıştır. Böylelikle hücre duvarlarının daha kolay parçalanması ve özütleme işleminin daha hızlı ve etkili olması hedeflenmiştir. Döner buharlaştırıcı ile konsantre etme aşamasında oluşan elastik maddelerin getirdiği pratik kısıtlamalar nedeniyle başlangıçta hazırlanan çözelti (turunçgil kabuğu ve çözgenden oluşan) hegzan ile yıkanmıştır. Böylelikle yapıda bulunabilecek olası yağsı ve mumsu maddelerin giderilmesi amaçlanmıştır. Yıkama işleminin ardından hegzan fazında kalan fenolik bileşikler tespit edilerek oluşan kayıp hesaplanmıştır.

Tablo 4.1.'de turunçgil kabuğu özütü üretim aşamalarının, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi üzerine etkileri verilmiştir. Özüt üretim aşamalarına bağlı olarak örneklerin toplam fenolik madde içerikleri 0,98 – 1,42 mg GAE aralığında olup; antioksidan kapasiteleri ise 2,98 – 4,05 μ mol Troloks/ g yaş kabuk (DPPH yöntemine göre) ile 11,21 – 17,24 μ mol Troloks/ g yaş kabuk (FRAP yöntemine göre) aralığında değişmektedir. Araştırmada yer alan farklı işlem basamakları (Tablo 4.1.'de gösterilen her bir faz), antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içerikleri bakımından istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) farklılıklar göstermiştir. Örneğin limon kabuğu özütünün elde edilme basamakları incelendiğinde (yaş kabuk fazı, hegzanlı faz, alkollü su fazı ve döner buharlaştırıcıdan sonraki faz), toplam fenolik madde miktarı bakımından her bir fazın birbirinden farklı değerlere sahip olduğu görülmektedir. Benzer durum diğer örneklerde ve antioksidan aktivite değerlerinde de görülmektedir.

Tablo 4.1. Turunçgil kabuğu üretim aşamalarının toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi üzerine etkileri

	Limon			Mandalina			Portakal		
	TPC	DPPH	FRAP	TPC	DPPH	FRAP	TPC	DPPH	FRAP
<i>Yaş Kabuk Fazı</i>	0,98 ^a	4,05 ^a	11,21 ^a	1,42 ^a	2,98 ^a	17,24 ^a	1,03 ^a	3,37 ^a	14,15 ^a
<i>Hegzanlı Faz</i>	0,07 ^b	0,03 ^b	1,05 ^b	0,32 ^b	0,15 ^b	1,31 ^b	0,10 ^b	0,21 ^b	0,93 ^b
<i>Alkol:su</i>	0,72 ^c	3,92 ^c	9,25 ^c	0,92 ^c	2,34 ^c	14,01 ^c	0,80 ^c	2,72 ^c	12,02 ^c
<i>Döner buharlaştırıcıdan sonraki faz</i>	0,28 ^d	1,01 ^d	4,11 ^d	0,31 ^d	0,76 ^d	5,07 ^d	0,18 ^d	0,71 ^d	6,01 ^d

*: Toplam fenolik madde miktarı (TPC, mg GAE/ g yaş kabuk); DPPH ($\mu\text{mol TE /g yaş kabuk}$);FRAP ($\mu\text{mol Trolox /g yaş kabuk}$)

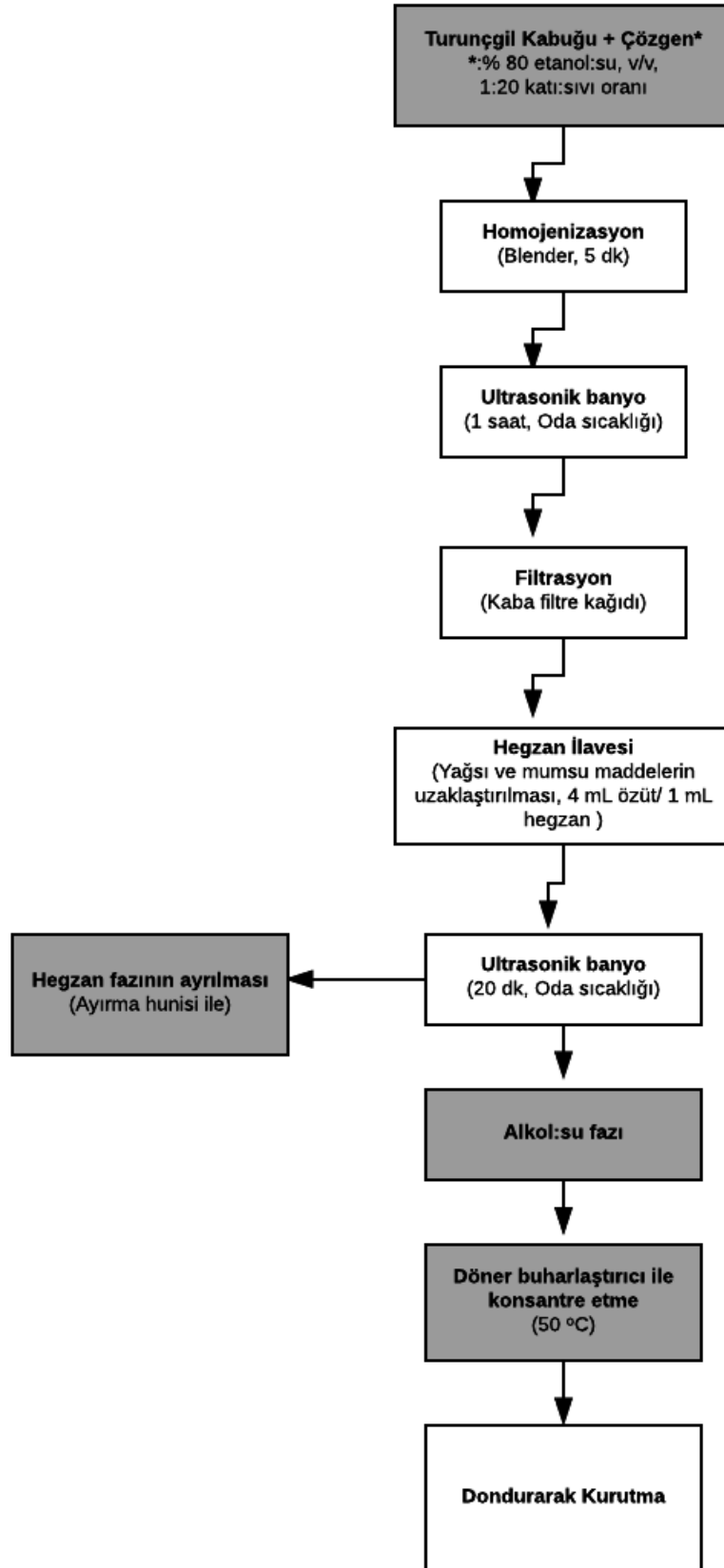
**: (a-d): Aynı sütundaki fazlar arası farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

***: Yağ analizlerinde kullanılan özütler, döner buharlaştırıcıdan sonraki fazın dondurarak kurutulmasıyla elde edilmiştir.

Şekil 4.1.'de turunçgil kabuğu özütü üretim şeması ve toplam fenolik madde ile antioksidan aktivitesi değerlerindeki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu işlem basamakları verilmiştir. Çalışmada, olası yağsı ve mumsu maddelerin giderilmesi amacıyla apolar karakterli olan hegzan kullanılmıştır. Böylelikle döner buharlaştırıcı ile konsantre etme aşamasında oluşan elastik maddelerin varlığı giderilmiştir. Tablo 4.1.'de görüldüğü üzere, tüm kabuk örneklerinde hegzan kullanımı sonucunda toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri azalmıştır. Çalışmada döner buharlaştırıcıdan sonraki faz dondurarak kurutulmuş ve elde edilen özütler yağ analizlerinde kullanılmıştır.

Literatürdeki birçok çalışmada, turunçgil kabuklarında bulunan ve antioksidan özellik gösteren apolar karakterli fenolik bileşiklerin varlığı tespit edilmiştir [155, 156]. Özellikle apolar karakterli olan uçucu yağların, antioksidan aktivite değerlerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir [157 – 159]. Ancak adı geçen fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan aktivite göstermelerine rağmen, verimlerinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir [160 – 162]. Bu sebeple hegzan kullanımı sonrası antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarındaki azalmanın oldukça düşük olması önceki çalışmalarla uyum göstermektedir.

Araştırmada, elde edilen turunçgil kabukları 50°C'de döner buharlaştırıcı yardımıyla konsantre edilmiştir. Turunçgil kabukları ile ekstraksiyon optimizasyonu (fenolik madde) yapılan önceki çalışmalarda, sıcaklık artışı ile birlikte özütlerin toplam fenolik madde miktarlarının ve antioksidan aktivitesi değerlerinin istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte özütleme işlemi sırasında fenolik madde kaybının azaltılabilmesi amacıyla, düşük sıcaklıklarda (çoğunlukla 40°C'de) çalışılması gerektiği belirtilmiştir [163]. Ancak düşük sıcaklıklarda çalışmanın getirdiği pratik kısıtlamalar sebebiyle çalışma sıcaklığı, 50°C olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Turunçgil kabuğu özütü üretim şeması ve toplam fenolik madde ile antioksidan aktivitesi değerlerindeki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu işlem basamakları (koyu renk ile gösterilmiştir)

4.2. Turunçgil Kabuklarının Toplam Fenolik Madde Miktarları, Antioksidan Kapasiteleri ve Verimleri

Tablo 4.2.'de üç farklı kaynaktan temin edilen turunçgil kabuğu örneklerinin antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik madde miktarları ve ekstraksiyon verimleri verilmiştir. % 80 etanol:su çözeltisi ile hazırlanan örneklerin ekstraksiyon verimleri sırasıyla; 1.6, 2 ve 1.8 g/100 g olarak belirlenmiştir. Turunçgil kabuklarının toplam fenolik madde içerikleri 0,98 – 1,03 mg GAE aralığında olup; antioksidan kapasiteleri ise, 2,98 – 4,05 μmol Troloks (DPPH yöntemine göre) ile 17,24 – 11,21 μmol Troloks (FRAP yöntemine göre) aralığında değişmektedir. Araştırmada yer alan kabuk örnekleri toplam antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içerikleri bakımından, kaynaklarına göre istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,05$) farklılıklar göstermiştir. Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değeri en yüksek olan türün ise mandalina kabuğu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen turunçgil kabuğu özütlerinin sentetik bir antioksidan olan BHT'nin çalışılan konsantrasyondaki değeri Tablo 4.2.' de verilmiştir. Buna göre, örneklerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi değerlerinin BHT'ye yakın olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçların Tablo 4.3.'de verilen önceki çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Zulkifli ve arkadaşları; guava, mango, portakal ve elma kabuğu örneklerinden elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarlarını ve antioksidan aktiviteleri belirlemişlerdir. Özütleme işlemi 1/20 katı-sıvı oranı ile öğütülmüş yaş kabukların suda kaynatılması ile gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte işlemde, homojenizasyon, filtrasyon ve 60°C'de konsantre etme basamakları bulunmaktadır. Dondurarak kurutma işlemi yardımıyla kuru özüt örnekleri elde edilmiştir. Kabuk örneklerine ait toplam fenolik madde miktarları Folin Ciocalteu yöntemi ile antioksidan kapasiteleri ise FRAP ve DPPH yöntemleri ile belirlenmiştir. Çalışma sonunda, portakal kabuğu özütlerine ait toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri sırasıyla; 277 mg gallik asit eşdeğeri / g kuru özüt, 0,564 mg/mL (DPPH, EC_{50}) ve 20.03 mM Troloks eşdeğeri / 100 g kuru özüt olarak belirlenmiştir [164].

Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; mandalina, limon ve portakal kabuğu örneklerine ait toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir. Çalışmada özütleme amacıyla; turunçgil kabukları sıvı nitrojen ile toz haline getirilmiş, 1/20 katı-sıvı oranı ve % 70 metanol çözeltisi ile 4°C'de 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından filtrasyon işlemi yapılmış ve elde edilen sıvı özütler analizlerde kullanılmıştır. Örnekler için toplam fenolik madde miktarları 310.18 – 575.06 mg kateşin eşdeğeri /100 g yaş kabuk aralığında tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değerleri ise, 1987.1 – 3897.9 μmol troloks eşdeğeri/100 g yaş kabuk (FRAP için) ve 535.3 – 825.4 μmol troloks eşdeğeri/100 g yaş kabuk (DPPH için) aralıklarında bulunmuştur [165].

Tablo 4.2. Turunçgil kabuklarına ait toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri

Örnek	Toplam Fenolik Madde		Antioksidan Kapasitesi	
	Verim g özüt/100 g yaş kabuk	Folin- Ciocalteu mg GAE/ g yaş kabuk	DPPH μmol TE/ g yaş kabuk	FRAP μmol TE/ g yaş kabuk
Portakal	1,8	1.03 ^b	3,37 ^b	14,15 ^b
Mandalina	2,0	1.42 ^c	2,98 ^a	17,24 ^c
Limon	1,6	0,98 ^a	4,05 ^c	11,21 ^a
BHT (mg BHT)		1.65 (mg GAE/mg BHT) ^d	5.57 (μmol TE/mg BHT) ^d	25.78 (μmol TE/mg BHT) ^d

**: (a-d): Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (p<0,05).

Tablo 4.3. Literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları (Çözücü ekstraksiyonu)*

Materyal	TPC (mg GAE/g yaş kabuk)	DPPH (μmolTrolox/g FW)	FRAP (μmolTrolox/g FW)
Portakal (<i>Citrus sinensis</i> L.)	0,8 – 1,5	3 - 5	12 - 40
Mandalina (<i>Citrus reticulata</i> L.)	1,2 – 1,7	2,8 - 7	10 - 42
Limon (<i>Citrus lemon</i> L.)	0,9 – 1,5	4 - 5	10 - 18

*[164 – 173]

Casquete ve arkadaşları, yüksek basınç uygulamalarının (HPP) toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal etki üzerine etkilerini araştırmışlardır. Limon, Tahiti limonu (Tahiti lime), mandalina ve tatlı portakal kabukları çalışma materyali olarak seçilmiştir. Yüksek basınç uygulamaları farklı basınç ve sürelerde (300 mPa/3 dak, 300 mPa/10dak, 500 mPa/3 dak, 500 mPa/10 dak) 10°C sıcaklıkta uygulanmıştır. Özütleme amacıyla, 10 g turuncgil kabuğu 60 mL çözücü ile homojenize edilmiş, 1 saat karanlıkta ve 25°C'de karıştırılmıştır. Çözücü olarak % 80'lik etanol ve % 1'lik HCl çözeltisi kullanılmıştır. Özütleme işleminin ardından örnekler filtre edilmiş ve 37°C'de döner buharlaştırıcıda konsantre edilmiştir. Çalışma sonunda örnekler ait toplam fenolik madde miktarlarının 266.23 – 587.28 mg gallik asit eşdeğeri /100 g yaş kabuk aralığında değiştiği tespit edilmiştir. DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivitenin ise; 189.85 – 40.30 mg troloks / 100 g yaş kabuk aralığında olduğu belirlenmiştir [166].

Shofinita ve arkadaşları, farklı kaynaklardan elde edilen turuncgil kabuğu örneklerinin özüt verimlerini çalışmışlardır. Araştırma kapsamında çalışma materyalleri olarak; portakal, mandalina, limon ve lime tipi limon belirlenmiştir. Özütleme amacıyla soxhlet sistemi ve çözgen olarak deiyonize su kullanılmıştır. Sıvı özüt örnekleri püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuş ve örnekler ait toplam fenolik madde miktarları ile antioksidan aktiviteleri analiz edilmiştir. Çalışma sonunda örnekler ait toplam fenolik madde miktarının, 4.5 – 6.1 mg GAE/g yaş kabuk aralığında olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değeri DPPH metodu (EC_{50}) ile belirlenmiş ve değerlerin 740 – 1290 µg/mL arasında olduğu rapor edilmiştir [167].

Londono ve arkadaşları; limon (Tahiti lime), tatlı portakal ve mandalina kabuğu örneklerini ultrason destekli ekstraksiyon metodu ile özütlemişlerdir. Çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonu sisteminde en uygun koşulların belirlenebilmesi için RSM metodu ile optimizasyon yapılmıştır. Çalışmada elde edilen verilere göre; limon, portakal ve mandalina örneklerine ait toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 74.80, 66.36, 58.68 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru kabuk olarak tespit edilmiştir [168].

Dahmoune ve arkadaşları, mikrodalga ve ultrason uygulamalarının klasik çözücü ekstraksiyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kurutulmuş limon kabukları kullanılmış ve uygulama koşulları optimize edilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyonu için en uygun özütleme koşulları, 63.93 % etanol, 40 mL/g katı:sıvı oranı, 15.05 dakika olarak belirlenmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda ise, 48 % etanol, 28:1 mL/g katı:sıvı oranı, 123 s, 400 W olarak belirlenmiştir. Örnekler ait toplam fenolik madde miktarları mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonu için sırasıyla; 15.74 ve 15.08 mg gallik asit eşdeğeri / g kuru kabuk bulunmuştur. DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri ise mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonu için sırasıyla 203.59 ve 268.24 mg GAE / mL olarak tespit edilmiştir [169].

Khan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ultrason destekli ekstraksiyonu sistemi kullanılarak portakal kabuğu örneklerinde bulunan polifenoller özütlenmiştir. Ayrıca en uygun özütleme koşulları toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerlerine göre belirlenmiştir. Çalışmada en uygun işlem koşulları, 40°C, 150 W ve % 80 etanol olarak belirlenmiştir. Örneklerle ait toplam fenolik madde miktarı ise 275.8 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g yaş kabuk olarak bulunmuştur [170].

Brito ve arkadaşları, limon kabukları ile yaptıkları bir çalışmada örneklerin toplam fenolik madde miktarlarını ve antioksidan kapasitelerini belirlemişlerdir. Özütleme işleminde; ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ve çözgen olarak da % 0.1'lik HCl içeren metanol çözeltisi kullanılmıştır. Ardından örnekler 40°C'de döner buharlaştırıcı yardımıyla konsantre edilmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemiyle, antioksidan kapasiteleri ise DPPH ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, örneklerle ait toplam fenolik madde miktarı 34.59 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru kabuk, antioksidan aktivite değerleri ise, 10.34 µg/mL (DPPH yöntemine göre) ve 120.63 µM troluks eşdeğeri / g kuru kabuk olarak belirlenmiştir [171].

Abeyasinghe ve arkadaşları, turuncgillerin farklı kısımlarından örnekler olarak toplam fenolik madde miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışmada mandalina (*Citrus reticulata*), portakal (*Citrus sinensis*) ve hibrid (*Citrus changshanensis*) örnekleri kullanılmıştır. Örnekler klasik çözücü ekstraksiyonu ile özütlenmiş ve bu amaçla 1.2 M HCl asit içeren % 80'lik metanol çözeltisi tercih edilmiştir. Örnek ve çözücünün karıştırılmasının ardından, hazırlanan karışım 90°C'de 3 saat bekletilmiş ve her yarım saatte bir vorteks ile karıştırılmıştır. Örneklerle ait toplam fenolik madde miktarları mandalina, portakal ve hibrid türleri için sırasıyla; 251 – 801 mg klorojenik asit eşdeğerliği / 100 g yaş kabuk, 217 – 752 mg klorojenik asit eşdeğerliği / 100 g yaş kabuk, 210 – 916 mg klorojenik asit eşdeğerliği / 100 g yaş kabuk olarak belirlenmiştir [172].

Hegazy ve İbrahim'un yaptıkları çalışmada, portakal kabuğu özütleri farklı çözücüler ile özütlenerek örneklerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri tespit edilmiştir. Örneklerin özütlenmesi amacıyla, soxhlet ekstraksiyonu ve çözgen olarak ise metanol, etanol, diklorometan, aseton, hegzan ve etil asetat kullanılmıştır. Özütleme işlemi 6 saatte gerçekleştirilmiş ve özütler 60°C'de döner buharlaştırıcı yardımıyla konsantre edilmiştir. Çalışma sonunda örneklerle ait toplam fenolik madde miktarlarının 63.20 – 169.56 mg gallik asit eşdeğeri / g özüt aralığında, DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivitelerinin ise, % 58.78 – 78.14 (% DPPH) aralığında olduğu tespit edilmiştir [173].

Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri ile hem DPPH hem de FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasiteleri arasında kuvvetli pozitif korelasyonlar mevcuttur. Bu durum

kabukların antioksidan kapasitelerinde fenolik maddelerin oldukça belirleyici bileşenler olduğunu göstermektedir.

Turunçgil kabuğu ile yapılan önceki yıllara ait çalışmalara göre örneklerle ait toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi değerlerinin oldukça geniş bir aralıkta olduğu görülmektedir. Çalışma sonuçları incelendiğinde örneklerin farklı ülke ve bölgelerden elde edildiği, örneklerin farklı türlerde olduğu, farklı özütleme yöntemleri ve çözümlerin kullanıldığı göze çarpmaktadır. Adı geçen bölge, tür, yöntem, çözümlerin farklılıklarının sonuçları etkilediği düşünülmektedir.

4.3. Turunçgil Kabuğu Özütü İçeren Ayçiçek Yağlarının Toplam Fenolik Madde Miktarları ve Antioksidan Kapasiteleri

Turunçgil kabuğu içeren ayçiçek yağlarının antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde içerikleri Tablo 4.4.'de verilmiştir. Turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarının toplam fenolik madde miktarları 8,05 – 15,75 mg GAE/L yağ aralığında olup; antioksidan kapasiteleri ise 5,1 – 14,44 μ mol TE/L yağ (DPPH yöntemine göre) ile 13,37 – 29,17 μ mol TE/L yağ (FRAP yöntemine göre) aralığında değişmektedir. Özüt ilave edilmemiş ayçiçek yağı örneğinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri sırasıyla; 7,82 mg GAE/L yağ, 4,28 μ mol TE/L yağ (DPPH yöntemine göre), 12,85 μ mol TE/L yağ (FRAP yöntemine göre) olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağı örneğine sentetik bir antioksidan olan BHT ilave edildiğinde ise toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri sırasıyla 16,27 mg GAE/ L yağ, 17,58 μ mol TE/L yağ (DPPH yöntemine göre), 35,24 μ mol TE/L yağ (FRAP yöntemine göre) olarak tespit edilmiştir. Araştırmada yer alan örneklerde, antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içerikleri bakımından kullanılan özüt kaynağına göre istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) farklılıklar gözlenmiştir. Mandalina kabuğu özütü içeren yağ örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Yağ örneklerindeki özüt konsantrasyonunun artırılması yağın fenolik madde miktarını ve antioksidan kapasitesini bir miktar yükseltmiştir. Hazırlanan özüt ve BHT katkılı yağlar karşılaştırıldığında ise, turunçgil kabuğu özütü içeren yağların toplam fenolik ve antioksidan aktivitesi değerlerinin BHT katkılı yağlara oldukça yakın olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.4. Turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarına ait toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri

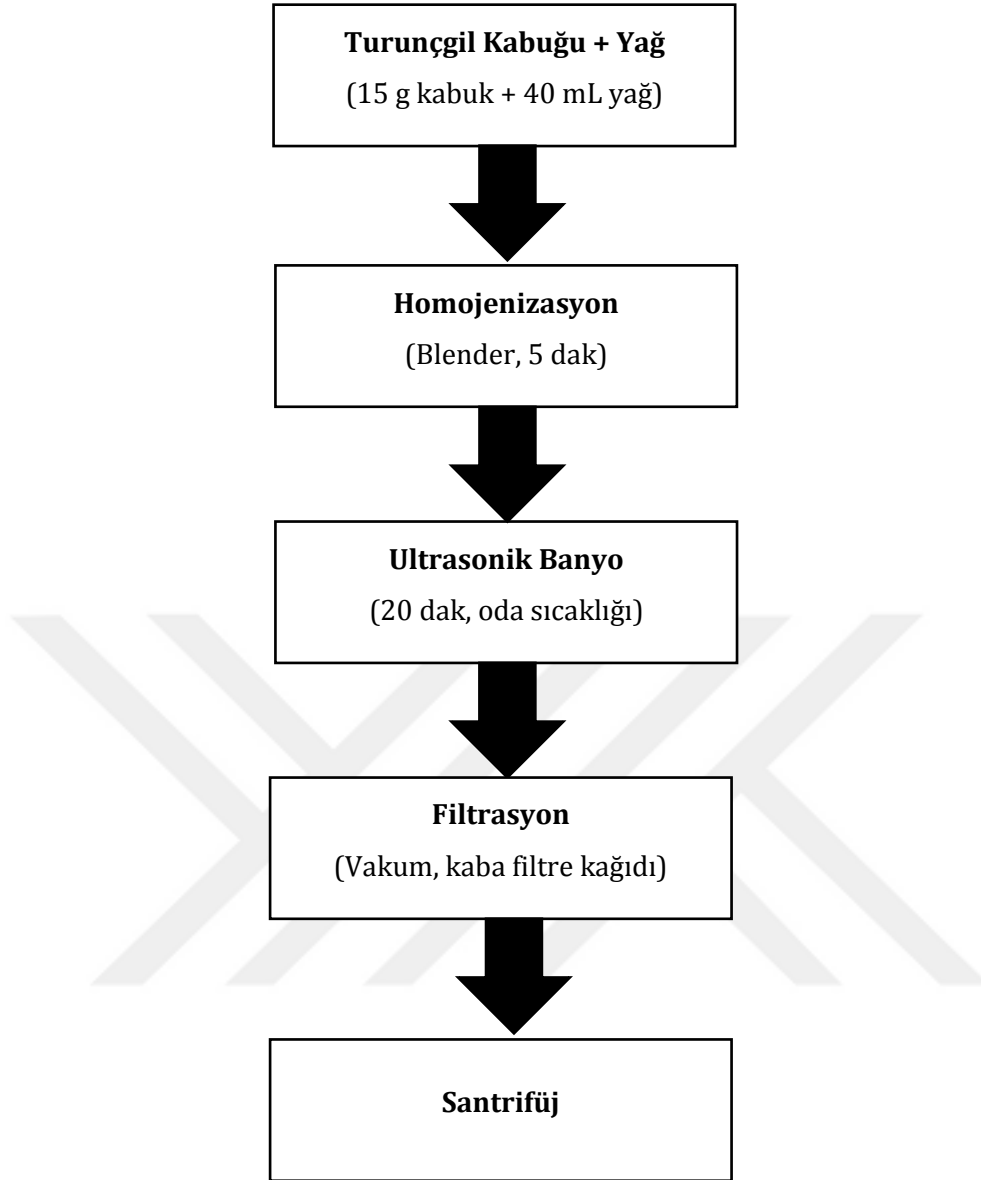
Örnek No	Örnek	Konsantrasyon mg özüt/g yağ	TPC mg GAE/ L yağ	DPPH μmol TE/ L yağ	FRAP μmol TE / L yağ
AY*			7,82	4,28	12,85
AY+BHT			16,27	17,58	35,24
P1	Portakal	1	8,21 ^a	6,2 ^a	15,12 ^a
P2		2	8,55 ^b	7,5 ^b	18,25 ^b
P3		3	9,01 ^c	8,3 ^c	19,15 ^c
PA		Aromalandırma	12,68 ^d	14,44 ^d	28,12 ^d
M1	Mandalina	1	9,05 ^A	7,3 ^A	17,41 ^A
M2		2	9,55 ^B	7,7 ^B	18,13 ^B
M3		3	10,01 ^C	8,1 ^C	20,27 ^C
MA		Aromalandırma	15,75 ^D	8,5 ^D	29,17 ^D
L1	Limon	1	8,05 ^x	5,1 ^x	13,37 ^x
L2		2	8,12 ^y	5,5 ^y	14,01 ^y
L3		3	9,01 ^z	6,4 ^z	16,07 ^z
LA		Aromalandırma	9,28 ^t	8,78 ^t	23,05 ^t

**: (a-d),(A-D),(x-t): Özüt kaynağına göre, aynı sütundaki veriler arası farklılıklar gösterilmektedir (p<0,05).

Daha önceki bölümlerde de belirtildiği gibi, farklı çözücülerin kullanılması ve yüksek sıcaklık uygulamaları örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerlerini olumsuz etkilemektedir. Antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklerin yağ içinde daha fazla çözünmesi ve adı geçen stres kaynaklarının ortadan kaldırılması için, turunçgil kabuklarında bulunan fenolik bileşiklerin doğrudan yağ içerisinde çözündürülmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, Şekil 4.2.'de gösterilen aromalandırma adı verilen işlem uygulanmıştır. Yöntemde, turunçgil kabuğu örnekleri yağ ile karıştırılmış ve blender yardımıyla homojenize edilmiştir. Ardından ultrasonik banyoda 20 dak bekletme, vakum altında filtrasyon ve santrifüj işlemleri gerçekleştirilmiştir. Aromalandırma işlemi yapılan ayçiçek yağlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi değerlerinin özüt katkılı ayçiçek yağlarından yüksek, BHT katkılı ayçiçek yağı örneklerine ise yakın olduğu Tablo 4.4'de görülmektedir.

Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri ile hem DPPH hem de FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasiteleri arasında kuvvetli pozitif korelasyonlar mevcuttur. Bu durum örneklerin antioksidan kapasitelerinde fenolik maddelerin oldukça belirleyici bileşenler olduğunu göstermektedir.

Chiou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ayçiçek yağı örneklerine zeytin yaprağı özütleri (120 ve 240 mg/kg toplam fenolik madde miktarlarına sahip) eklenmiş ve kızartma işleminde kullanılmıştır. Deney sonucunda konsantrasyon artışının, ayçiçek yağının toplam fenolik madde miktarını (8.0'dan 17.2 mg/kg'a yükselterek) arttırdığı gözlenmiştir [174].



Şekil 4.2. Aromalandırma işlemi

4.4. Özüt İçeren Ayçiçek Yağlarının İndüksiyon Periyotları

Bitkisel yağlarda bulunan ve antioksidan özellik gösteren bileşiklerin, belirli bir süreye kadar oksidasyonu engellediği bilinmektedir. Üretimden oksidasyonun başladığı ana kadar geçen bu süreye indüksiyon periyodu denilmektedir. İndüksiyon periyodu, bitkisel yağlarda oksidasyona karşı olan direnci göstermektedir. Bununla birlikte ortamda bulunan ve antioksidan aktivite gösteren bileşikler için optimum konsantrasyon elde edilinceye kadar indüksiyon periyodu arttığı belirtilmektedir [112, 110, 175].

Tez çalışması kapsamında turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağı örneklerinin indüksiyon periyotları DSC cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Tablo 4.5.'te görüldüğü üzere,

örneklerin indüksiyon periyotları 23,05 – 42,22 dakika aralığında değişmektedir. Örneklerin koruma faktörleri; özüt ilave edilen örneklerle ait indüksiyon periyodu değerlerinin kontrol örneğe ait indüksiyon periyodu değerine (23,05) bölünmesiyle elde edilmiştir. Koruma faktörü hesaplanarak, antioksidan etki gösteren özütün kontrol örneği olan ayçiçek yağının oksidatif kararlılığına olan etkisini daha net gözlemlemek hedeflenmiştir. Turunçgil kabuğu özütü ilave edilen örneklerin koruma faktörlerinin, 1,09-1.83 aralığında değiştiği hesaplanmıştır.

Elde edilen verilere göre 130°C'deki termal oksidasyonun engellenmesinde en etkili özütün mandalina kabuğu olduğu görülmüştür. Kontrol örneği olan ayçiçek yağının indüksiyon periyodu 23,05 dakikadan mandalina kabuğu özütü ilave edildiğinde 41,01 dakikaya kadar yükselmiştir. Ayrıca özütlerin konsantrasyonlarındaki artış ile indüksiyon periyotlarının doğrusal olarak artmadığı ve genel olarak 2 mg/g ve 3mg/g özüt içeren yağlar ile aromalandırma işlemi elde edilen katkılı yağların indüksiyon periyotları birbirlerine yakın değerlerde oldukları görülmüştür. Bu sebeple termal oksidasyon ve derin yağda kızartma işlemleri için 2 mg özüt/g yağ içeren ayçiçek yağı örnekleri kullanılmıştır. Bu örneklerin indüksiyon periyotlarının 29,12 – 40,55 aralığında ve koruma faktörlerinin 1,26 – 1,76 aralığında değiştiği gözlenmiştir.

Lafka ve arkadaşları, zeytin karasuyu özütü ilave edilmiş ayçiçek yağı örneğinin 100°C'de indüksiyon periyodunun 11.37 saat olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda zeytin karasuyu özütünün E vitamini, BHT ve askorbil palmitattan daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değerinin yüksek olmasının özütün içerdiği luteolin, kateşin, oleuropein, hidroksitirozol ve kafeik asitten kaynaklandığını belirtmişlerdir [176].

Beddows ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, genellikle 2 mg/g konsantrasyona sahip çeşitli bitki ve baharat özütlerinin ayçiçek yağı örneklerinin indüksiyon periyodunu arttırdığı ve örneklerle ait koruma faktörlerinin ise 1.06 ile 1.72 arasında değiştiğini belirlemişlerdir [177]. Ayrıca, özüt içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları dolayısı ile koruma faktörleri BHT içeren yağ örneğinin sahip olduğu değerlerden yüksek çıkmıştır.

BHT'nın yüksek işlem sıcaklıklarında uçucu olduğu ve bu sebeple gıdaların pişirilmesi ve/veya kızartılması işlemleri sırasında su buharı vasıtasıyla gıdadan uzaklaşması sebebiyle etkili olamadığı bildirilmiştir [4, 178].

De Medina ve arkadaşları ise, zeytin yaprağından elde edilen özütlerin belirli konsantrasyonlarda soya, mısır özü, ayçiçek ve kolza yağı örnekleri ile zeytinyağlarına eklenildiğinde indüksiyon periyodu değerlerini yükselttikleri belirlenmiştir [179].

Tablo 4.5. Turunçgil kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarının indüksiyon periyotları

Örnek No	Örnek	Konsantrasyon mg özüt/g yağ	İndüksiyon Periyodu	Koruma faktörü
AY*			23,05	
AY+BHT			28,01	1,22
P1	Portakal	1	29,07	1,26
P2		2	37,49	1,63
P3		3	36,42	1,58
PA		Aromalandırma	37,22	1,61
M1	Mandalina	1	31,05	1,35
M2		2	40,55	1,76
M3		3	41,01	1,78
MA		Aromalandırma	42,22	1,83
L1	Limon	1	25,07	1,09
L2		2	29,12	1,26
L3		3	30,01	1,30
LA		Aromalandırma	31,28	1,36

*AY: Ayçiçek yağı

4.5. Turunçgil Kabuğu Özütü İçeren Ayçiçek Yağlarının Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılması

4.5.1. Derin Yağda Kızartma İşleminde Kullanılmış Katkılı Yağların Genel Kalite Özellikleri

İndüksiyon periyodu verilerine göre 2 mg/g ve 3mg/g özüt içeren yağlar ile aromalandırma işlemi sonucu elde edilen katkılı yağların birbirlerine çok yakın değerler sergilemeleri nedeniyle, kızartma deneylerinde sadece 2 mg/g özüt içeren yağlar kullanılmıştır. Derin yağda kızartma işlemi sonrasında alınan yağ örneklerinin serbest yağ asidi miktarları, peroksit sayısı, p-anisidin ve konjuge dien değerleri Tablo 4.6.'de verilmiştir. Turunçgil kabuğu özütleri yağın oksidasyon stabilitesini oldukça düşük oranda artırmıştır. Benzer eğilim BHT katkılı ayçiçek yağlarında da gözlenmiştir. Zhang ve Weng'in yaptığı çalışmada da benzer olarak, BHT'nin kızartma ve pişirme sıcaklığında uçucu olduğu ve su buharı ile ortamdan uzaklaşarak yeterince etkili olamadığı tespit edilmiştir [178].

Yağ örneklerine ait serbest yağ asidi miktarları incelendiğinde başlangıçta (kızartma işleminden önce) kontrol ve antioksidan katkılı örneklerin birbirine yakın değerlerde olduğu görülmektedir. Bununla birlikte tüm kızartma işlemleri boyunca serbest yağ asitliğinin arttığı tespit edilmiştir. Örneklerin serbest yağ asidi miktarlarındaki değişim aşağıda verilmiştir. Yani;

1. kızartma için, AY > LIM > BHT ≈ MAN > POR
2. kızartma için, LIM > POR > AY ≈ MAN > BHT
3. kızartma için, POR > MAN > AY > BHT > LIM

olarak belirlenmiştir. Bu verilere göre 1., 2. ve 3. kızartma için en etkili özütler sırasıyla portakal kabuğu özütü, BHT ve limon kabuğu özütüdür. 1. Kızartma sırasında en fazla değişim kontrol örneğinde görülmüş diğer örneklerin serbest yağ asidi oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla katkıların serbest yağ asitliği bakımından 1. Kızartma sırasında etkili olduğu söylenebilir. 2. Kızartma için BHT haricindeki katkıların çoğunlukla kontrol örneğine göre serbest yağ asitliğini arttırdıkları görülmektedir. Bu sebeple 2. Kızartma işlemi için katkıların oksidasyonu arttırdıkları belirlenmiştir. 2. Kızartma sırasında, kızartma ortamında kalan gıda kırıntılarının ve özütlerin içinde bulunan organik maddelerin ısı işlem sonrasında okside olup oksidasyonu hızlandırmış olabileceği düşünülmektedir. 3. Kızartma işlemi sonrasında ise, portakal ve mandalina oksidasyonu kontrol örneğine göre daha fazla artırırken BHT ve limon örnekleri nispeten daha az miktarda artışa sebep olmuşlardır. Özetle elde edilen verilere göre, serbest yağ asitliği tekrarlı kızartma işlemleri sırasında dalgalı bir değişim göstermiştir.

Tablo 4.6. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin serbest yağ asidi içeriği, peroksit sayısı ve *p-anisidin* değerleri

Örnek Kodu	Kızartma Sayısı	Peroksit Sayısı (meq/kg)	SYA* (% oleik asit)	p-anisidin	Konjuge dien
AY (Ayçiçek Yağı, kontrol)	Başlangıç	6,28 ^a	0,32 ^a	7,56 ^a	0,01 ^a
	1	37,25 ^b	0,44 ^b	25,18 ^b	0,07 ^b
	2	52,18 ^c	0,53 ^c	42,77 ^c	0,09 ^c
	3	66,21 ^d	0,87 ^d	65,81 ^d	0,12 ^d
AY+BHT	Başlangıç	5,98 ^A	0,30 ^A	7,12 ^A	0,01 ^A
	1	25,14 ^B	0,35 ^B	18,10 ^B	0,06 ^B
	2	39,21 ^C	0,38 ^C	31,14 ^C	0,07 ^C
	3	55,17 ^D	0,70 ^D	51,15 ^D	0,09 ^D
Portakal (POR)	Başlangıç	5,28 ^x	0,38 ^x	7,18 ^x	0,01 ^x
	1	33,12 ^y	0,40 ^y	23,15 ^y	0,02 ^y
	2	48,14 ^z	0,52 ^z	39,41 ^z	0,07 ^z
	3	62,21 ^t	0,92 ^t	61,28 ^t	0,10 ^t
Mandalina (MAN)	Başlangıç	6,55 ^X	0,36 ^X	7,01 ^X	0,02 ^X
	1	35,12 ^Y	0,41 ^Y	29,01 ^Y	0,04 ^Y
	2	54,21 ^Z	0,60 ^Z	39,47 ^Z	0,11 ^Z
	3	68,19 ^T	0,95 ^T	64,12 ^T	0,12 ^T
Limon (LİM)	Başlangıç	5,92 ^{aa}	0,32 ^{aa}	8,01 ^{aa}	0,01 ^{aa}
	1	33,75 ^{bb}	0,43 ^{bb}	20,92 ^{bb}	0,03 ^{bb}
	2	53,12 ^{cc}	0,57 ^{cc}	33,79 ^{cc}	0,05 ^{cc}
	3	67,10 ^{dd}	0,78 ^{dd}	59,15 ^{dd}	0,08 ^{dd}

* SYA:Serbest Yağ Asidi

**: (a-d),(A-D),(x-t), (X-T), (aa-dd); Özüt kaynağına göre, aynı sütundaki veriler arası farklılıklar gösterilmektedir (p<0,05).

Derin yağda kızartma işlemi sırasında oluşan gıda kırıntıları, serbest yağ asidi oluşumunu ve dolayısıyla yağın bozulmasını hızlandırmaktadırlar. Ayrıca derin yağda kızartma işleminde kullanılan yağ örneğinin uzun süre tekrarlı olarak kullanımı sonunda; kızartma yağının rengi koyulaşmakta, gıdanın görünüşünde istenmeyen değişiklikler oluşmakta ve ortamdaki ısı transferi azalmaktadır [183].

Yağ örneklerinin peroksit sayısı değerleri Tablo 4.6.'da görülmektedir. Elde edilen verilere göre, tüm kızartma işlemleri sonunda örneklerin peroksit sayılarının belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, örneklerle ait değerlerin kızartma işlemlerinden önce birbirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. Örneklerin peroksit sayılarındaki değişim aşağıda verilmiştir.

1. kızartma için, $AY > MAN > POR \approx LIM > BHT$
2. kızartma için, $LIM > MAN > POR > AY > BHT$
3. kızartma için, $BHT > POR > AY > MAN \approx LIM$

Analiz sonuçlarına göre, 1. ve 2. kızartma için BHT katkılı örneğin oksidatif kararlılığının diğer örneklerle göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 3. Kızartmada ise tam tersi olarak oksidasyona en fazla maruz kala örnek BHT katkılı örnek olmuştur. Bununla birlikte sonuçların serbest yağ asidi miktarında olduğu gibi dalgalı bir değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Gıdada bulunan nem, derin yağda kızartma işlemi sırasında kızartma yağının hidroliz olmasına sebep olmaktadır. Yağın hidrolizi sonucunda ise; serbest yağ asidi, gliserin, mono ve digliserit oluşumu gözlenmektedir. Ayrıca ortamda bulunan nem, kızartma yağı üzerinde buhar ceketi oluşturmakta ve böylelikle yağ ile havanın temasını engellemektedir. Bununla birlikte, oluşan bu buhar ceketi kızartma sırasında oluşan peroksitler ile tat ve koku bileşiklerinin kızartma ortamından uzaklaşmasına sebep olmaktadır. Bu sayede adı geçen bileşiklerin ortamdaki derişimi sürekli olarak azalmaktadır [184].

Analiz edilen örneklerin p-anisidin değerleri Tablo 4.6.'da verilmiştir. Kızartma işleminden önce, tüm örneklerle ait verilerin birbirlerine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Kızartma işlemlerinden sonra ise tüm örneklerin p- anisidin değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Bu artışın sıcaklığın artışıyla meydana gelen termal oksidasyona bağlı olduğu düşünülmektedir. Kızartma işlemleri boyunca örneklerdeki p – anisidin değerlerinde gerçekleşen değişim aşağıda verilmiştir.

1. kızartma için, $MAN > AY > POR > LIM > BHT$
2. kızartma için, $AY > POR > BHT > LIM > MAN$
3. kızartma için, $LIM > MAN > AY > POR > BHT$

Tekrarlı kızartma deney verilerine göre, BHT katkılı örneğin 1. ve 3. Kızartma boyunca en etkili antioksidan olduğu belirlenmiştir. 1. Kızartmada mandalina kabuğu özütü katkılı örneğin kontrol örneğinden fazla okside olduğu görülmüştür. Dolayısıyla mandalina kabuğu

özütü katkılı örneğin oksidasyonu arttığı ve *p-anisidin* verilerine göre etkisiz olduğu söylenebilir. Diğer oksidasyon parametrelerinde olduğu gibi (serbest yağ asitliği, peroksit sayısı) verilerde dalgalı bir değişim tespit edilmiştir.

Yağ örneklerine ait konjuge dien değerleri Tablo 4.6.'da verilmiştir. Kızartma işleminden önce (başlangıç) tüm verilerin birbirlerine oldukça yakın oldukları görülmektedir. Kızartma işlemlerinden sonra veriler tüm örneklerde belirgin olarak artmıştır. Bu durumun termal oksidasyona bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Kızartma işlemleri süresince gerçekleşen değişimler aşağıda verilmiştir.

1. kızartma, AY > BHT > MAN $\approx$ LIM > POR
2. kızartma, MAN > POR > LIM $\approx$ AY > BHT
3. kızartma, AY $\approx$ POR $\approx$ LIM > BHT > MAN

Elde edilen veriler incelendiğinde, 1. kızartma işleminde tüm antioksidan katkılarının oksidasyonu kontrol örneğine göre azalttıkları tespit edilmiştir. Özütlerin ise, sentetik bir antioksidan olan BHT'ye göre daha etkili oldukları görülmüştür. 2. kızartmada ise, tam tersi olacak şekilde özütlerin kontrol örneğine göre oksidasyonu arttırdıkları görülmüştür. Yani özüt katkılı örnekler için değerlerin kontrol örneğinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 3. kızartma işleminde ise, mandalina kabuğu katkılı özütün oksidatif kararlılığı en fazla koruyan örnek olduğu bulunmuştur. Diğer analizlerde de olduğu gibi, tüm veriler dalgalı bir değişim göstermiştir.

Doymamış yağ asitlerinde gerçekleşen oksidasyon sonucunda konjuge dienler oluşmakta ve bu bileşikler UV ışınlarını 232 nm'de absorbe etmektedirler. Linolenik ve linoleik asit, peroksitlerin oluşturulması için okside olduklarında yapılarındaki çift bağlar konjuge olmaktadır. Doymamış yağ asidi miktarı fazla olan yağlarda, kızartma boyunca konjuge dien miktarındaki artışın daha fazla olduğu bilinmektedir [181, 182]

Turunçgil kabuğu özütleri önemli düzeyde polar yapıdaki fenolik bileşikler içerdiğinden, özütlerin ayçiçek yağı örnekleri üzerine koruyucu etkide bulunarak serbest yağ asitliği, peroksit sayısı ve *p-anisidin* değerlerini azaltmış olabilecekleri düşünülmektedir.

Hidrofilik ve lipofilik özellik gösteren antioksidanların yağlardaki oksidatif kararlılığı nasıl arttırdıkları ile ilgili olarak literatürde "polar paradoks" adındaki hipotez ile karşılaşılmaktadır. Bu hipotezde, polar karakterli antioksidanların apolar karakterli lipidlerde, apolar karakterli antioksidanların ise polar karakterli lipid emülsiyonlarında daha etkili oldukları savunulmaktadır [180].

Turunçgil kabuğu özütleri fenolik bileşikler yanında çeşitli şekerleri, organik asitleri, proteinleri, pektin ve inorganik tuzları da içermektedir. Bu bileşikler özütün yağda çözünürlüğünü düşürmektedir. Aynı zamanda bu bileşiklerin tekrarlanan kızartma işlemleri sonucu ikincil ve üçüncül oksidasyon ürünlerinin oluşmasını hızlandırdığı düşünülmektedir.

Derin yağda kızartma işlemi sırasında ortamda bulunan karbonhidratlar genellikle kısmi olarak tahrip olmakta ve ardından nişasta-lipit bileşikleri oluşmaktadır. Kızartma ortamında bulunan sakkaroz ise, hem maillard reaksiyonunda reaktant görevi yapmakta hem de glukoz ve früktoza hidrolizlenmektedir [183].

Göy ve Gül tarafından yapılan bir çalışmada, rafine ayçiçek yağı ile derin yağda kızartma işlemi yapılmış ve işlem 3 gün boyunca tekrarlanmıştır. Yağ örneğine ait serbest asitlik değeri kızartma sonunda %0,14'ten %0,60'a yükselmiştir. Peroksit değeri ise, ilk 4 saatte artmış ardından azalmıştır. Elde edilen verileri " yağlarda oksidasyon sonucunda oluşan peroksit bileşiklerinin ikincil ürünlere parçalanması ve peroksit değerinin nispeten daha düşük olduğu kızartma periyotlarında bu bileşiklerin parçalanması oluşumundan daha hızlı gerçekleşmesi" şeklinde yorumlamışlardır [184].

Maskan ve Bağcı, rafine ayçiçek yağı ile 170°C'de 6 dak derin yağda kızartma işlemi yapmışlardır. Çalışmada aynı yağ örneği ile tekrarlı olarak 50 kez kızartma yapılmış ve her tekrar arasında 1 dak beklenilmiştir. Deney sonucunda; serbest yağ asitliği %0,17'den %0,29'a çıkmış; peroksit değeri ise 12,7 meq O₂/kg'dan 4 meq O₂/kg'a inmiştir [185].

Rafine yağlarda peroksit değeri, oksidasyona bağlı oluşan birincil oksidasyon ürünlerinin miktarını gösteren bir parametredir ve ayçiçek yağlarında peroksit değerinin en fazla 10 meq/kg olmasına izin verilmektedir [186,187].

Lafka ve arkadaşları, zeytinyağı fabrikası atıkları ile hazırlanan özütlerin (85°C sıcaklıkta) ayçiçek yağının oksidatif kararlılığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Özüt ilave edilen yağ örneklerinin peroksit değerinin kontrole göre daha düşük olduğu görülmüştür. Özütlerin oksidatif kararlılığının artırılması amacıyla 150 ppm konsantrasyon ile kullanılmasının, 100 ppm konsantrasyon ile kullanılmasından daha etkili olduğu tespit edilmiştir [176].

Fki ve arkadaşları ise; 50°C'de gerçekleştirilen depolama işlemi sırasında yağ örneklerine eklenen karasu özütlerinin, peroksit sayısını kontrole kıyasla düşürerek oksidatif kararlılığı arttırdıklarını tespit etmişlerdir [188].

Farag ve arkadaşları, zeytin yaprağı özütünü ayçiçek yağına ilave etmişlerdir. Çalışmada hazırlanan yağ örnekleri 5 gün boyunca 180°C 'de tekrarlı olarak ısıtılmıştır. Çalışma sonucunda özüt ilavesinin; yağın oksidatif kararlılığı üzerine olumlu etki gösterdiği görülmüştür [4].

Görüldüğü gibi literatürde var olan çalışmalarda da bitkisel kökenli antioksidan özellik gösteren özütlerin, yağ örneklerinin oksidatif kararlılığını olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklıklarda bazı antioksidan bileşiklerin etkisinin azaldığı, tekrarlı kızartmaların ve gıda kırıntılarının oksidasyonu hızlandığı bildirilmiştir. Tez çalışması kapsamında, turuncgil kabuğu özütlerinin (ayçiçek yağı ile patates kızartılması sırasında) ayçiçek yağının oksidatif kararlılığını bir miktar arttırdığı ama bunun düşük oranda

gerçekleştiği görülmüştür. Bu açıdan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, sonuçların literatür ile uyumlu olduğu düşünülmektedir.

4.5.2. Renk

Analiz edilen ayçiçek yağı örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerleri Tablo 4.7.'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre, L^* (açıklık/koyuluk) 42,65 – 65,31, a^* (kırmızı /yeşil) -4,10 – 9,50, b^* (sarı/mavi) 15,73 – 64,67 aralığında değişmektedir. Derin yağda kızartma işlemi süresince örneklerin renk değerlerinde meydana gelen değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir.

Kızartmalar sonunda oluşan ayçiçek yağının L^* değerindeki düşme yağın renginin koyulaştığını göstermektedir. Yağa özüt katılması kızartmalar öncesinde L^* değerlerinde çok az düşmeye yani rengin daha koyu olmasına neden olmuştur. 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. Turuncu kabuğu özütü içeren ayçiçek yağlarında kontroldekine benzer şekilde artış gözlenmiştir. Kızartmalar sonunda tüm denemelerin a^* değerlerindeki değişim ise birbirine yakın olmuştur. Sarı-mavi rengi gösteren b^* değerleri kızartma süresi arttıkça artmıştır. Bu durum sarı renk şiddetinin arttığını göstermektedir. Diğer tüm denemelerde b^* değerindeki artış kontrolün sahip olduğu değerlerdeki artıştan daha düşük olmuştur. Özüt ilave edilen yağların turuncumsu rengi sarı renk şiddetinin başlangıçta kontrolden yüksek olmasına neden olmuştur.

Yağ örneklerine ait tüm renk verileri değerlendirildiğinde, uygulanan tekrarlı kızartma işlemleri sonucunda rengin açık sarıdan turuncu-kahverengine doğru değiştiği görülmektedir. Derin yağda kızartma işlemi sırasında oluşan renk değişikliklerinin oksidasyon, polimerizasyon, Maillard reaksiyonları vb. gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlardan kaynaklandığı bilinmektedir [189, 190].

Blumenthal, yağ örneklerinde kırmızı rengin okside olmuş yağ asitleri ile sarı rengin aldehitler, peroksitler ve karotenoidler ile mavi rengin ise yağda bulunan ve bulanıklığa sebep olan partiküllerle bağlantılı olduğunu belirtmiştir [191].

Ceballos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, yağ örnekleri hızlandırılmış oksidasyona maruz bırakılmıştır. Bu amaçla Ransimat cihazı kullanılmış ve çalışma koşulları 100°C ve 63 saat olarak belirlenmiştir. Yağ örneklerine ait klorofil, karotenoid ve renk değerleri her 3 saatte bir analiz edilmiştir. Çalışma sonunda, örneklerin L^* değerlerinin azalarak renklerinin koyulaştığı ve klorofil ile karotenoid miktarlarının ise azaldığı rapor edilmiştir [192].

Tablo 4.7. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin L*, a*, b* değerleri

Örnek Kodu	Kızartma Sayısı	L*	a*	b*
AY (Ayçiçek Yağı, kontrol)	Başlangıç	65.31±0.00 ^a	-3.22±0.01 ^a	15.73±0.02 ^a
	1	62.57±0.02 ^b	-4.05±0.02 ^b	34.24±0.01 ^b
	2	58.24±0.03 ^c	-1.02±0.01 ^c	42.01±0.02 ^c
	3	55.23±0.01 ^d	2.05±0.02 ^d	60.09±0.01 ^d
Portakal	Başlangıç	64.20±0.00 ^A	-0.37±0.01 ^A	21.35 ± 0.01 ^A
	1	60.01±0.05 ^B	3.21±0.02 ^B	35,24±0.06 ^B
	2	56.96±0.02 ^C	4.93±0.01 ^C	52.73±0.02 ^C
	3	42.65±0.06 ^D	9.50±0.01 ^D	64.42±0.24 ^D
Mandalina	Başlangıç	64.34±0.01 ^x	-3.65±0.01 ^x	19.76±0.03 ^x
	1	61.89±0.04 ^y	-3.44±0.01 ^y	34.28±0.06 ^y
	2	58.81±0.0 ^z	0.10±0.02 ^z	50.28±0.00 ^z
	3	52.74±0.03 ^t	8.69±0.04 ^t	64.67±0.25 ^t
Limon	Başlangıç	63.38±0.00 ^X	-3.59±0.01 ^X	15.73±0.02 ^X
	1	62.97±0.01 ^Y	-4.10±0.03 ^Y	34.28±0.06 ^Y
	2	50.16±0.01 ^Z	-1.9±0.01 ^Z	45.06±0.00 ^Z
	3	42.99±0.02 ^T	5.29±0.02 ^T	61.02±0.13 ^T

**: (a-d),(A-D),(x-t),(X-T): Özüt kaynağına göre, aynı sütundaki veriler arası farklılıklar gösterilmektedir (p<0,05).

Tyagi and Vasishtha yaptıkları çalışmada, kızartma yağlarında artan rengin kızartma sıcaklığı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun sebebini ise, oksidasyon ve polimerizasyonun artan sıcaklık ile birlikte artması olarak açıklamışlardır [80].

4.5.3. Yağ Asidi Kompozisyonu

Derin yağda kızartma işlemi sonrasında, ayçiçek yağı örneklerinin yağ asidi kompozisyonlarında gerçekleşen değişim Tablo 4.8'da gösterilmiştir. Ayçiçek yağının kızartma süresince linoleik asit oranı %58,61'den %51,99'a düşerken, oleik asit oranı %28,47'den %35,96'ya, palmitik asit içeriği %6,38'den %6,72'e yükselmiştir. Ayçiçeği yağının, ağırlıklı olarak %1-7 stearik asit, %4 – 9 palmitik asit ve %48-70 linoleik asit ve %14-40 oleik asit içerdiği bilinmektedir [193]. Derin yağda kızartma işleminde kullanılmamış ayçiçek yağı örneklerinden elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Yağ asidi kompozisyonlarında belirtilen değişimlerin, kızartma sırasında oluşan termal oksidasyon sebebiyle olduğu düşünülmektedir.

Kızartma işlemi sırasında oluşan oksidasyon reaksiyonları için, linoleik asitte meydana gelen oksidasyonun oleik asitten 64 kez, linolenik asitten ise 1200 kat daha hızlı gerçekleştiği bilinmektedir. Yani yapıdaki çift bağların sayısı arttıkça oksidasyonun hızı da artmaktadır [77].

Alireza ve arkadaşları, derin yağda kızartma işlemi sırasında çeşitli bitkisel yağ ve karışımlarının yağ asidi kompozisyonu ile iyot sayısında istatistiksel açıdan önemli değişimler olduğunu tespit etmişlerdir [194].

McNeill ve arkadaşları belirli bir süre kanola yağı ile patates kızartmışlardır. Kullanılan yağ örneği taze yağ ile kıyaslandığında; linoleik, linolenik ve oleik asit oranlarında %33, %35, %28 azalma olduğunu belirlemişlerdir [195].

Casal ve arkadaşları, derin yağda kızartma sırasında zeytinyağının doymuş yağ asidi miktarındaki artışın çok az olduğunu, doymamış yağ asitleri olan C18:1, C18:2 ve C18:3 bileşiklerinin miktarlarında ise oksidasyon sebebiyle azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte yapılan çalışmada, trans yağ asidi miktarının da arttığı tespit edilmiştir [196].

Che Man ve Wan Hussin, derin yağda kızartma işlemi sonrasında, doymuş yağ asidi miktarında artış ve doymamış yağ asitlerinden olan linoleik asit miktarında ise düşme olduğunu belirlemişlerdir [197].

Che Man ve Jaswir, özüt (adaçayı ve biberiye) ilave edilmiş yağ örnekleri ile derin yağda kızartma işlemi yapmışlardır. Elde edilen verilere göre, özüt ilave edilen yağ örnekleri kontrole (özüt ilave edilmemiş yağ örneği) kıyasla C18:2/C16:0 oranında daha az değişim göstermişlerdir [198].

Tablo 4.8. Kızartılmış ayçiçek yağı örneklerinin yağ asidi kompozisyonu

Yağ Asitleri (%)	AY* (Kontrol)	AY			AY+BHT			Portakal			Mandalina			Limon		
	Başlangıç	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Palmitik asit (C16:0)	6,38	6,37	6,55	6,72	6,73	7,26	8,06	6,57	6,97	7,40	6,63	6,91	7,37	6,59	6,95	7,77
Palmitoleik asit (C16:1)	0,11	0,13	0,14	0,13	0,13	0,12	0,13	0,12	0,13	0,12	0,13	0,13	0,14	0,12	0,13	0,13
Stearik asit (C18:0)	3,59	3,28	3,28	3,28	4,01	3,83	3,94	3,28	3,29	3,35	3,41	3,31	3,33	3,28	3,29	3,77
Oleik asit (C18:1n9c)	28,47	35,89	35,95	35,96	35,81	36,09	36,36	35,90	36,01	36,36	36,22	35,91	36,08	35,89	36,03	36,15
Linoleik asit (C18:2n6c)	58,61	52,60	52,20	51,99	51,70	51,05	49,84	52,11	51,68	50,96	51,47	51,82	51,05	52,26	51,68	50,44
Arasidik asit (C20:0)	0,29	0,25	0,24	0,25	0,25	0,25	0,26	0,24	0,25	0,25	0,29	0,27	0,27	0,25	0,25	0,26
Behenik asit (C22:0)	0,68	0,70	0,69	0,69	0,68	0,67	0,67	0,69	0,69	0,71	0,72	0,70	0,70	0,70	0,70	0,69

* Ayçiçek yağı

Réblová ve arkadaşları kolza yağı ile yaptıkları çalışmada; derin yağda kızartma işlemi sırasında oluşan doymamış yağ asidi miktarındaki değişimin işlem süresi ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir [199].

Tez kapsamında elde edilen veriler, literatürdeki bilgiler dikkate alınarak değerlendirildiğinde kızartma işleminde kullanılmış ayçiçek yağı örneklerinin doymamış yağ asidi oranlarında azalma, doymuş yağ asidi oranlarında ise artma olduğu görülmüştür. Daha önceki paragraflarda bahsedilen çalışmalar ile de benzer şekilde, deneyler süresince kızartma işlemi sonucunda oksidasyon artışı ve artan tekrarlı kızartma sayısına bağlı olarak da oksidasyonun hızlandığı tespit edilmiştir. Ancak ayçiçek yağı örneklerine ait yağ asidi kompozisyonlarında belirtilen değişimler olmasına rağmen, özüt içeren örneklerle ve kontrol örneğine ait sonuçların birbirlerine oldukça yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir. Bu durumun ayçiçek yağı örneğinin yapısında doğal olarak bulunan ve antioksidan özellik gösteren bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayçiçek yağı örneğine ait, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri Bölüm 4.3.'te verilmiştir. Ayrıca 3 tekrarlı olarak uygulanan kızartma işlemi boyunca, ayçiçek yağında bulunan fenoliklerin oksidasyona karşı direnç göstermiş olabileceği ve böylelikle oksidatif kararlılığı arttırdığı yani yağ asidi kompozisyonlarındaki örnekler arası belirgin değişimi önlediği düşünülmektedir.

4.6. Tekstür

Tekstür analizleri sonucunda elde edilen, kızartılmış parmak patates örneklerine ait maksimum kuvvet değerleri Tablo 4.9'da verilmiştir. Bu verilere göre; örneklerle ait maksimum kuvvet değerleri 3,68 – 4,33 N aralığında değişmektedir. Bununla birlikte, sonuçlar arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p < 0,05$) tespit edilmiş ve örneklerin benzer kabuk sertliğine sahip oldukları görülmüştür. Sonuç olarak, ayçiçek yağı örneklerine ilave edilen özütlerin ve sentetik bir antioksidan olan BHT'nin kızartılmış parmak patateslerin kabuk sertliği değerlerini kontrole kıyasla değiştirmedikleri belirlenmiştir. Ayçiçek yağı örneklerine ilave edilen özüt ve BHT miktarlarının oldukça düşük olması sebebiyle, örnek grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark elde edilmediği düşünülmektedir.

Tablo 4.9. Kızartılmış parmak patates örneklerine ait maksimum kuvvet değerleri

Örnek Kodu	Maksimum Kuvvet (N)
AY (Ayçiçek Yağı, kontrol)	4,33 ± 1,52 ^a
AY+BHT	4,15 ± 1,13 ^a
Portakal	3,87 ± 0,92 ^a
Mandalina	3,68 ± 0,67 ^a
Limon	3,96 ± 0,84 ^a

Bunger ve arkadaşları, dondurulmuş parmak patates örneği kullandıkları bir çalışmada, bu yöntemi kullanarak benzer bir tekstür grafiği elde etmişlerdir [200]. Sanz ve arkadaşları ise, 180°C'de 5 dk süren kızartma işlemi sonunda 3N'luk maksimum kuvvet değeri tespit etmişlerdir [201].

Diğer bir çalışmada ise, kızartma süresinin parmak patates örneğinin tekstürü üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen verilere göre 6 dk dan daha uzun süren kızartma işlemi sonucunda kabuğun kırılması için gereken kuvvetin 13 N'a kadar çıktığı tespit edilmiştir [202]. Önceki çalışmalarda ise, elde edilen maksimum kuvvet değerlerinin genellikle 6 N civarında olduğu gözlenmiştir [201, 203]. Dolayısıyla adı geçen çalışmada 13 N'luk Fmax değerinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

4.7. ESR (Electron Spin Resonance) ile Serbest Radikal Analizi

Çalışma kapsamında, kızartma işlemi sonucunda yağ örneklerinde oluşan serbest radikallerin oluşturduğu ESR sinyalleri analiz edilmiştir. Bu sinyallere ait spektral parametrelerin (sinyal şiddeti, spektroskopik yarıma çarpanı, sinyal genişliği vb.) yağ örneklerine eklenen farklı kaynaklardan (mandalina, portakal, limon) elde edilmiş antioksidan özellik gösteren özütlerle bağlı değişimleri incelenmiştir.

ESR tekniğinde, madde içerisinde bulunmakta olan serbest radikallere (paramanyetik merkezler) örnek dışında bir manyetik alan uygulanmakta ve serbest radikaller spin yönelimlerine bağlı olarak farklı enerji seviyelerine yarılmaktadırlar. Ardından bu enerji seviyeleri arasında gönderilen elektromanyetik dalga soğurulmakta ve enerji seviyeleri arası geçişler oluşmaktadır. ESR spektroskopisi ile ise, bahsedilen bu soğurma spektrumuna ait birinci türev sinyal çıkışı olarak verilmektedir. Bununla birlikte, elde edilen bu sinyalin şiddeti, ortamda bulunan serbest radikal miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır [100].

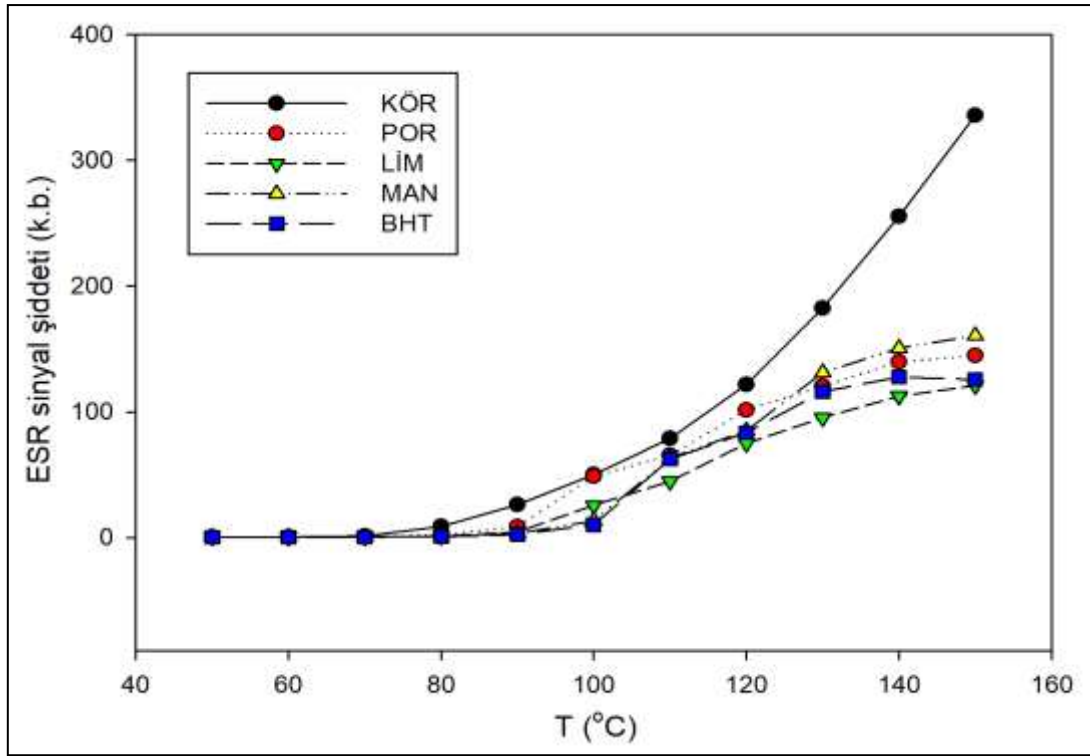
Çalışmada öncelikle kör ayçiçek yağında oksidasyonun gerçekleşme aşamalarını ve derecesini izleyebilmek için JEOL JesFa-300 ESR spektrometresinin sıcaklık kontrol ünitesi kullanılarak sıcaklık çalışması yapılmıştır. Bunun için PBN (N-tert-butylphenyl nitron) spin tırapı katılmış ve içinde patates olmayan kör ayçiçek yağı +50°C den +150°C ye kadar 10°C aralıklarla ve her bir sıcaklıkta yaklaşık 1 dk bekletilerek capillary tüpte ESR spektrumları kaydedilmiştir. Şekil 4.3' de gösterilen bu spektrumlar incelendiğinde PBN spin tırapı kullanılarak oksidasyonun oluşturduğu lipid radikallerinin başarıyla yakalandığı ve PBN spin adduct ESR spektrumlarının sinyal şiddetleri değerlendirildiğinde 60°C de oksidasyonun başladığı 70 ve 80°C de kısmen arttığı, 90°C sıcaklıktan sonra ise oldukça arttığı anlaşılmaktadır. Lipid radikalının yakalanması sonucu oluşan PBN spin adduct ESR spektrumunun sinyal şiddeti için ilk pik yüksekliği kullanılmıştır.

Örneklerin 50°C ile 150°C sıcaklık aralığında alınan ESR spektrumlarında gözlenen lipid radikale ait ESR sinyal şiddetinin sıcaklığa bağlı değişim grafiği Şekil 4.3.' de verilmiştir. Şekilden de gözleneceği gibi yağın içine katılan BHT sentetik antioksidan ve turuncgil özütleri sıcaklığa bağlı olarak ortaya çıkan oksidasyon nedeniyle yağda oluşan lipid radikallerine karşı antioksidan etki göstermiş ve oluşumlarını kısıtlamışlardır. Ayrıca oksidasyonun kör örneğinde başlama sıcaklığı yaklaşık 70°C iken antioksidan olarak öngörülen katkı maddelerinin etkisiyle bu başlama sıcaklığı yaklaşık 90-100°C sıcaklığına kadar yükselmiştir. Bu sebeple ayçiçek yağı örneklerine eklenen katkı maddelerinin (turuncgil kabuğu özütlerinin) oksidatif kararlılığı arttırdıkları düşünülmektedir. Bununla birlikte kör örneğinde radikal oluşumu eksponansiyel bir fonksiyonla önemli bir derecede artmakta iken katkı maddeleri ile birlikte bu artış yaklaşık

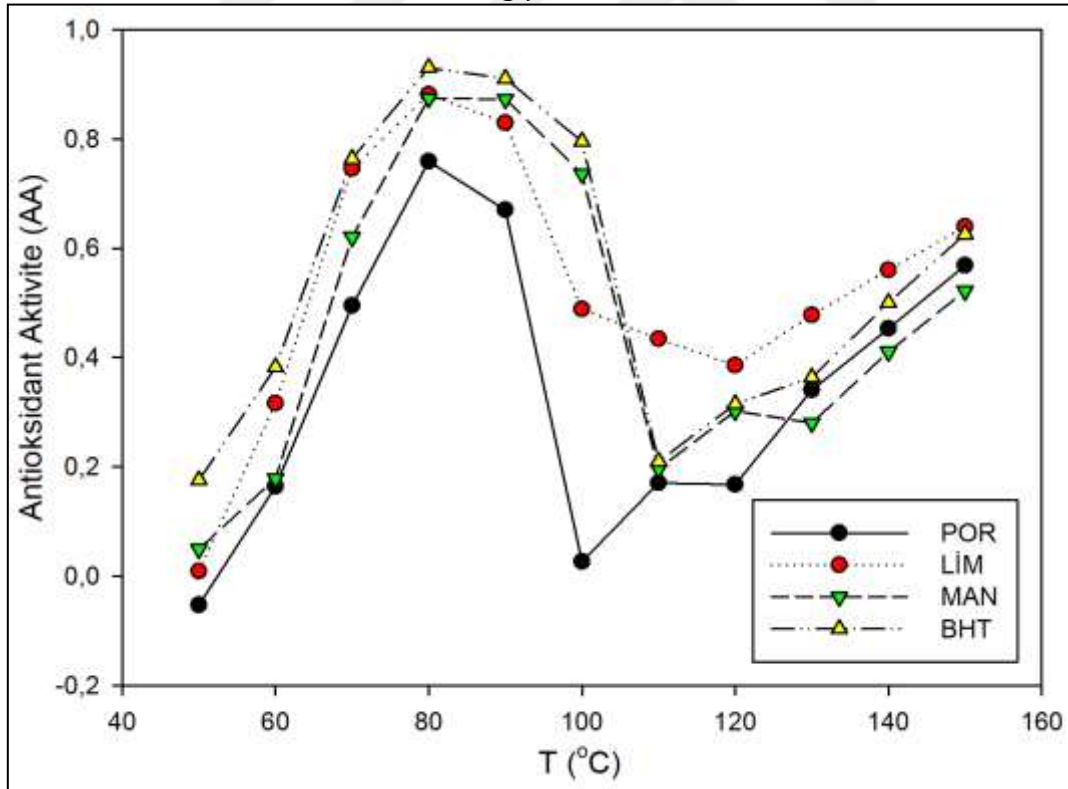
130°C sıcaklığında eksponansiyel doyum şeklinde gözlenmiş yani katkı maddelerinin radikallerin oluşumunu sınırladığı belirlenmiştir.

Her ne kadar katkı maddelerini Şekil 4.3.' de verilen grafiğe bakarak birbiriyle kıyaslamak çok mümkün gözükme de kabaca limon katkısının diğerlerine göre daha etkili olduğu söylenebilir. Bu kıyaslamayı daha anlaşılır yapmak açısından her bir katkı maddesi için Antioksidan Aktivite değerleri $AA=(I_0-I_x)/I_0$ denklemi kullanılarak hesaplanmış [204]ve bu değerlerin sıcaklığa bağlı değişimleri Şekil 4.4.' de verilmiştir. Denklemden AA; antioksidan aktivitesini, I_0 ; kontrol örneğinin ESR sinyal şiddetini, I_x ise antioksidan katkılı örneğin ESR sinyal şiddetini temsil etmektedir.

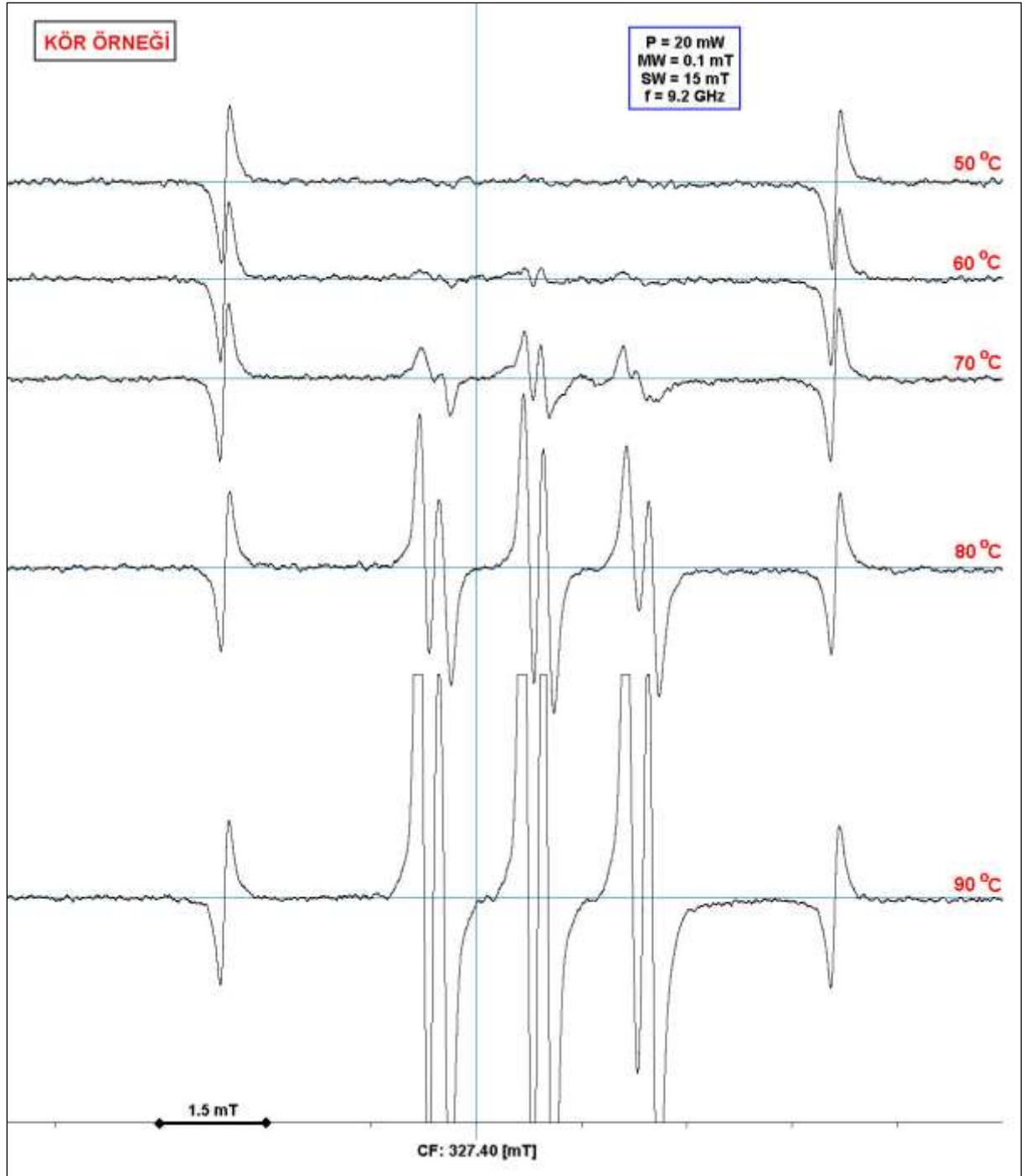
Limon katkısının etkisini görebilmek için sırasıyla Şekil 4.5 ve Şekil 4.6.' de kör örneğinin ve limon özütü katkılı örneğin 50°C ile 90°C sıcaklık aralığında kaydedilen spektrumları verilmiştir. Spektrumlardan da anlaşıldığı gibi limon özütü sıcaklığa bağlı olarak oluşan oksidasyona karşı antioksidan etki göstermektedir. Kör örneğinde oksidasyon nedeniyle oluşan lipid radikallerinin sinyal şiddetleri oldukça büyüktür. Limon katkısı lipid radikallerinin oluşumunu azaltmıştır.



Şekil 4.3. Örneklerde sıcaklıkla oluşan lipid radikallerinin sıcaklığa bağlı sinyal şiddeti değişimleri



Şekil 4.4. Örneklerin sıcaklığa bağlı Antioksidan Aktivite (AA) değişim grafikleri



Şekil 4.5. Kör örneğinin 50°C ile 90°C sıcaklıkları arasında ESR spektrumları



Şekil 4.6. Limon özütü katkılı örneğin 50°C ile 90°C sıcaklıkları arasında ESR spektrumları

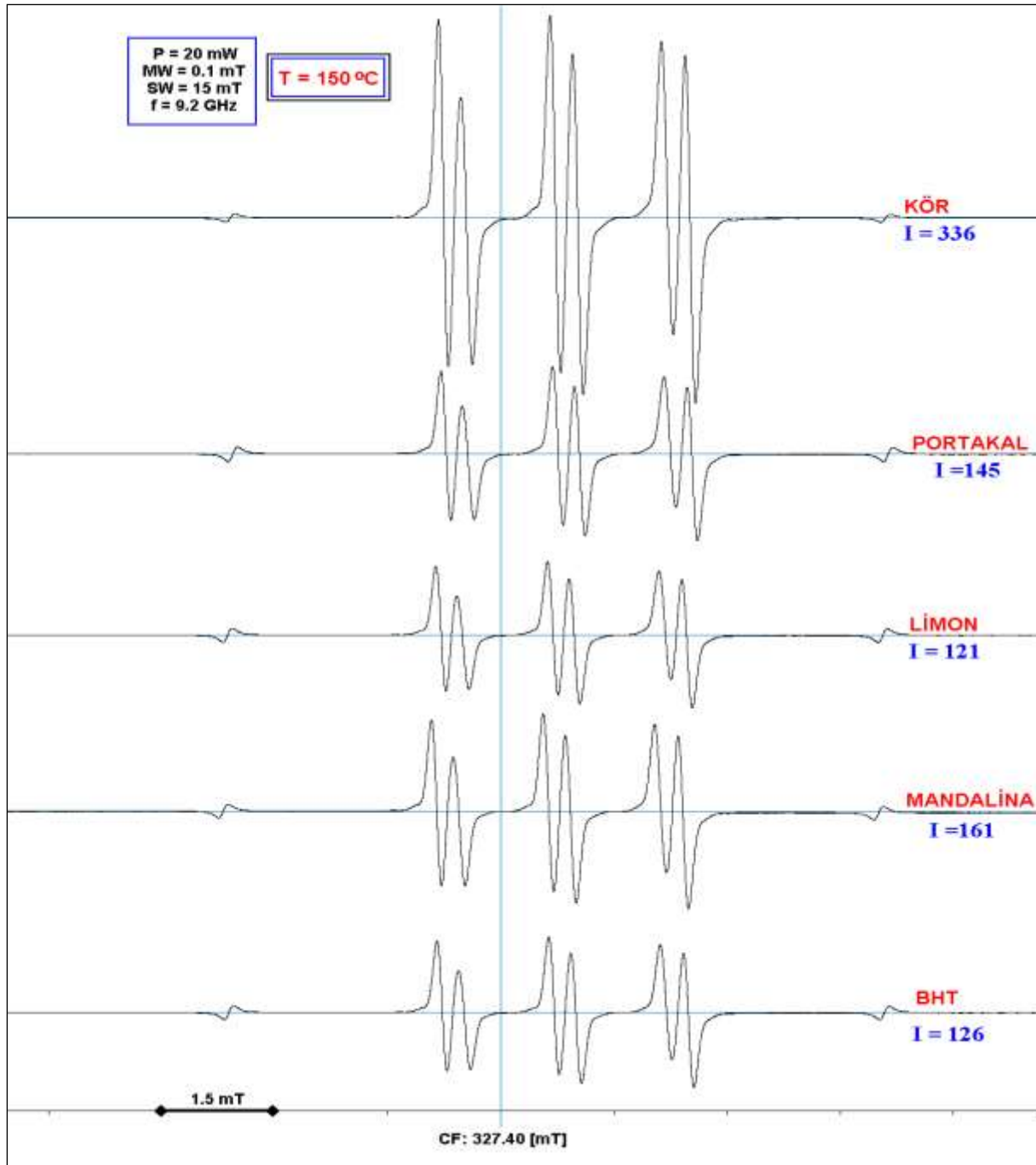
Şekil 4.7.' de ise tüm örneklerin 150°C sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumları verilmiştir. Spektrumlar üzerinde lipid radikallerine ait ESR sinyal şiddetleri (I) not edilmiştir. Buna göre KÖR örneğinde sinyal şiddeti 336 iken sırasıyla portakal, limon, mandalina ve BHT örneklerinde 145, 121, 161, 126 olarak ölçülmüştür. Bunun anlamı LİMON örneğinde oluşan radikal sayısı en az, KÖR örneğinde oluşan radikal sayısı en fazladır.

Oksidasyon nedeniyle oluşan lipid radikallerinin sayısı 150°C sıcaklığı için;

KÖR>MANDALİNA>PORTAKAL>BHT>LİMON şeklinde verilebilir.

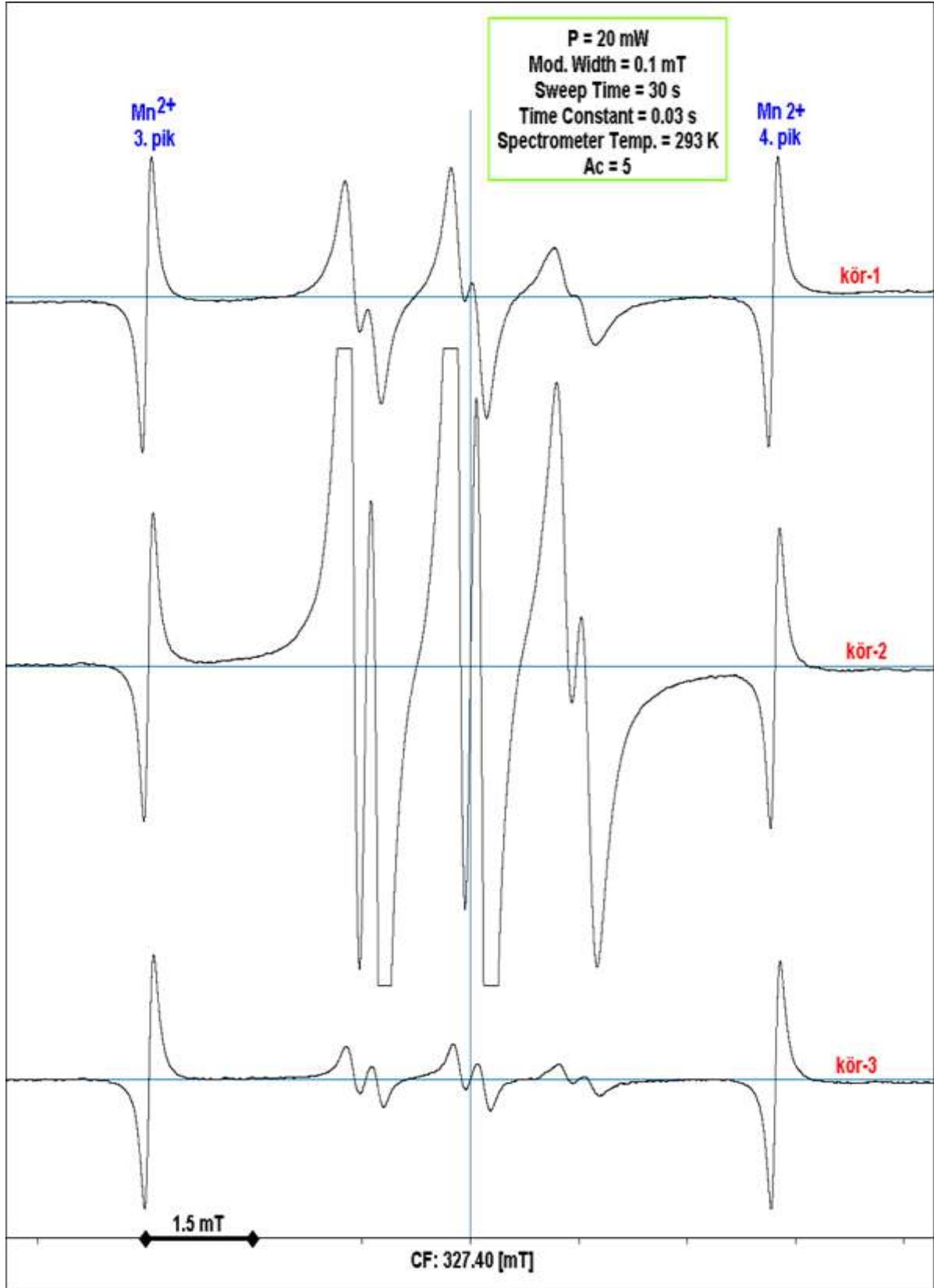
Sıcaklık çalışmasında antioksidan katkılı örneklerin ESR spektrumları kör örneği spektrumları ile kıyaslanmış ve yine limon katkısının diğerlerine göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, tüm katkıların 100°C sıcaklığından sonra oksidasyonun artması sonucu oluşan radikalleri azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir.



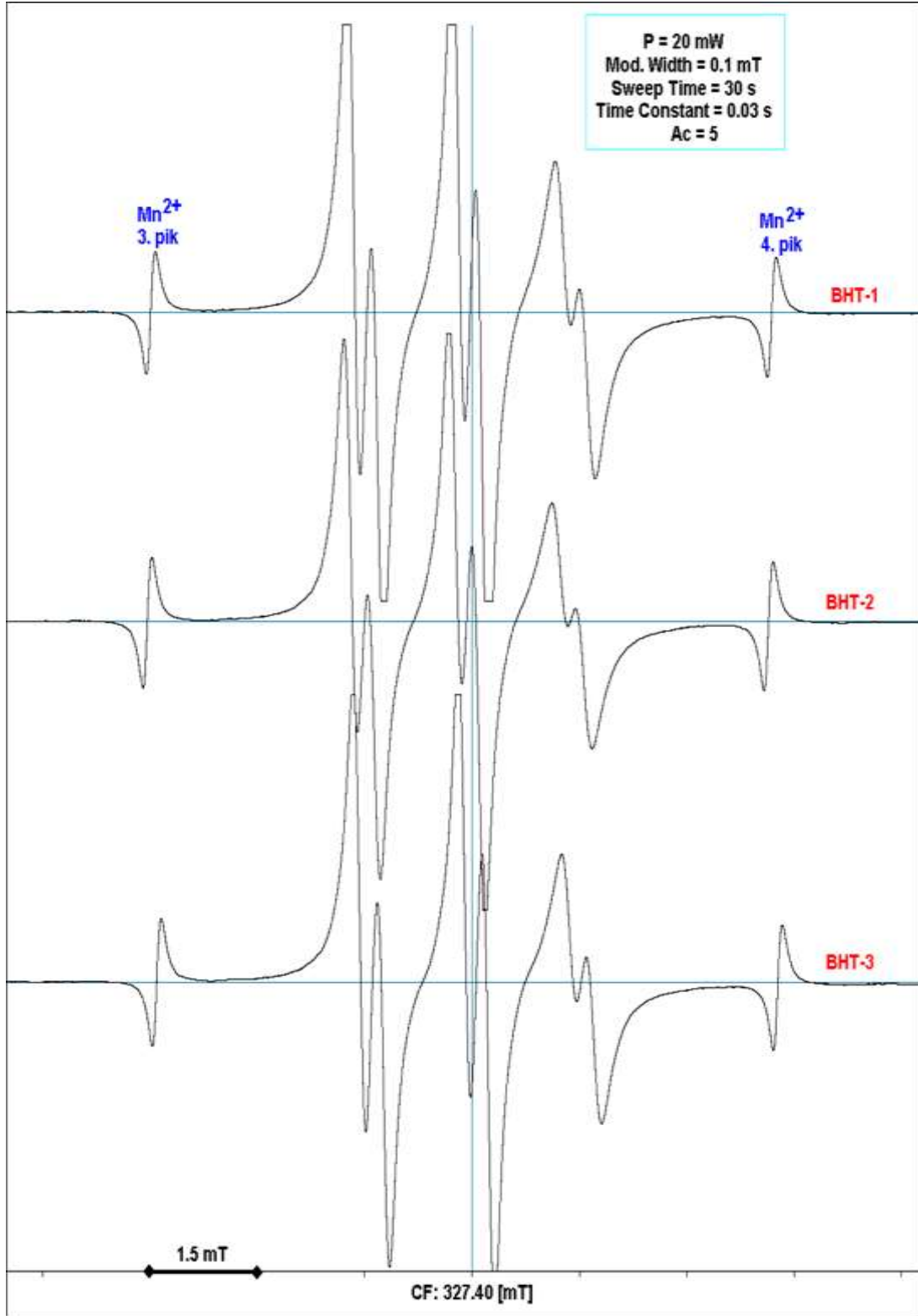


Şekil 4.7. Her bir örneğin 150°C sıcaklığında ESR spektrumları ve lipid radikaline ait ilk pikin ESR sinyal şiddetleri

Tekrarlanan kızartmalarda radikal oluşma derecesini belirlemek ve çeşitli turuncu kağıdu özütlerinin ayçiçek yağında oluşan oksidasyona antioksidan etkisini araştırmak üzere kör-katkısız ve BHT, portakal, mandalina, limon katkılı ayçiçek yağı örnekleri her bir kızartma aşamasında ESR spin tuzaklama metodu ile incelenmiştir. Şekil 4.8.' da kör örneği için Şekil 4.9.' de ise BHT örneği için bu spektrumlar gösterilmiştir. Şekil 4.10.' de ise her biri için tekrarlanan kızartmaya göre ESR sinyal şiddeti değerleri verilmiştir.



Şekil 4.8. Kör örneğinin 70°C sıcaklıkta 1., 2. ve 3. kez kızartma sonrası PBN spin tırapı kullanılarak kaydedilen ESR spektrumları



Şekil 4.9. BHT katkılanmış yağ örneğinin 70°C sıcaklıkta 1., 2. ve 3. kez kızartma sonrası PBN spin tırapı kullanılarak kaydedilen ESR spektrumları

Şekil 4.10.' de verilen grafikten de anlaşıldığı gibi 1. kızartmada portakal ve limon için ESR sinyal şiddetleri kör seviyesindedir fakat mandalina ve BHT katkılanmış örneklerde ESR sinyal şiddetleri artmıştır. Yani; portakal ve limon özütü 1. kızartmada antioksidan olarak kullanılabilir fakat BHT ve mandalina radikal oluşumunu artırmıştır. 2. kızartmada ise portakal, limon ve mandalina katkılı örneklerde kör örneğine göre daha az radikal oluşmuştur. En az oluşanı portakal katkılı örnektir. BHT katkılı örnekte ise kör örneği seviyesinde radikal oluşumu izlenmiştir. 3. kızartmada durum ilginçtir. Kör örneğinde ESR sinyal şiddeti zayıflamış fakat mandalina ve BHT katkılı örneklerde artmıştır. Portakal ve limon katkılı örneklerde ise kör örneğinden daha az radikal oluşumu gözlenmiştir. Yani;

1. kızartma için: $I(\text{BHT}) > I(\text{MAN}) > I(\text{LİM}) = I(\text{POR}) = I(\text{KÖR})$

2. kızartma için: $I(\text{KÖR}) \geq I(\text{BHT}) > I(\text{LİM}) > I(\text{MAN}) > I(\text{POR})$

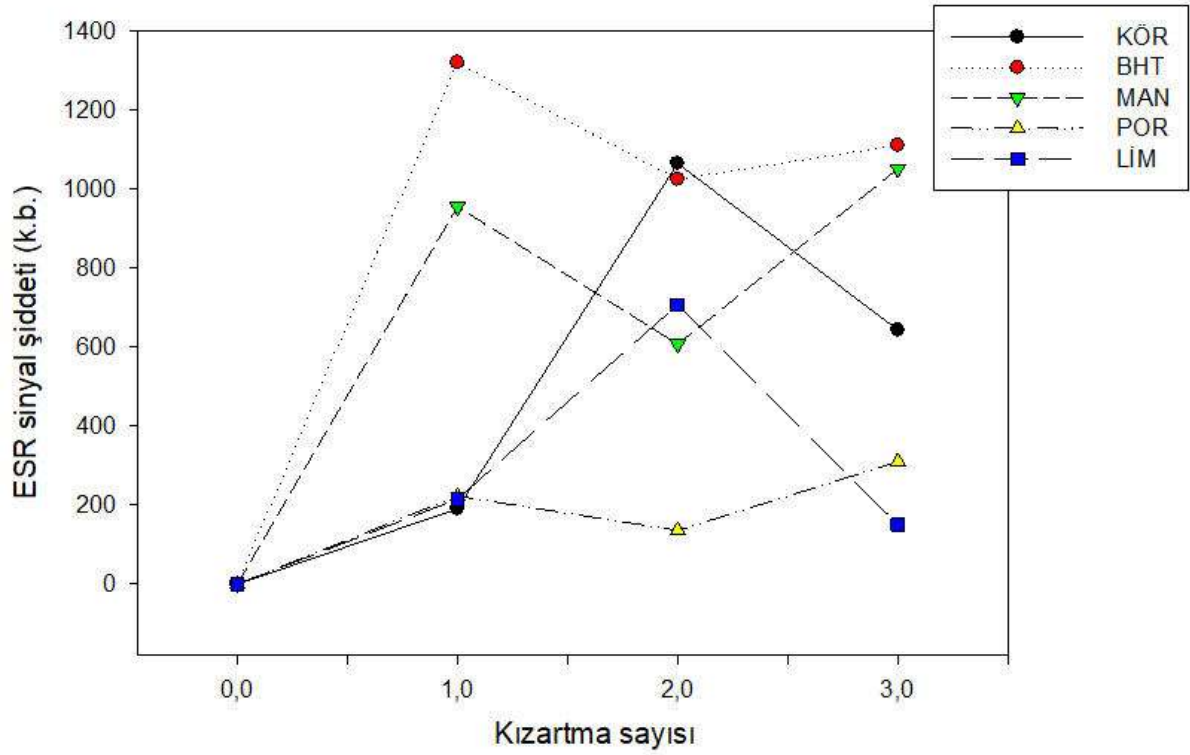
3. kızartma için: $I(\text{BHT}) > I(\text{MAN}) > I(\text{KÖR}) > I(\text{POR}) > I(\text{LİM})$

olarak belirlenmiştir. Burada I; ESR sinyal şiddetini göstermektedir. Sinyal şiddetinin büyük olması radikal yoğunluğunun fazla olması anlamına gelmektedir.

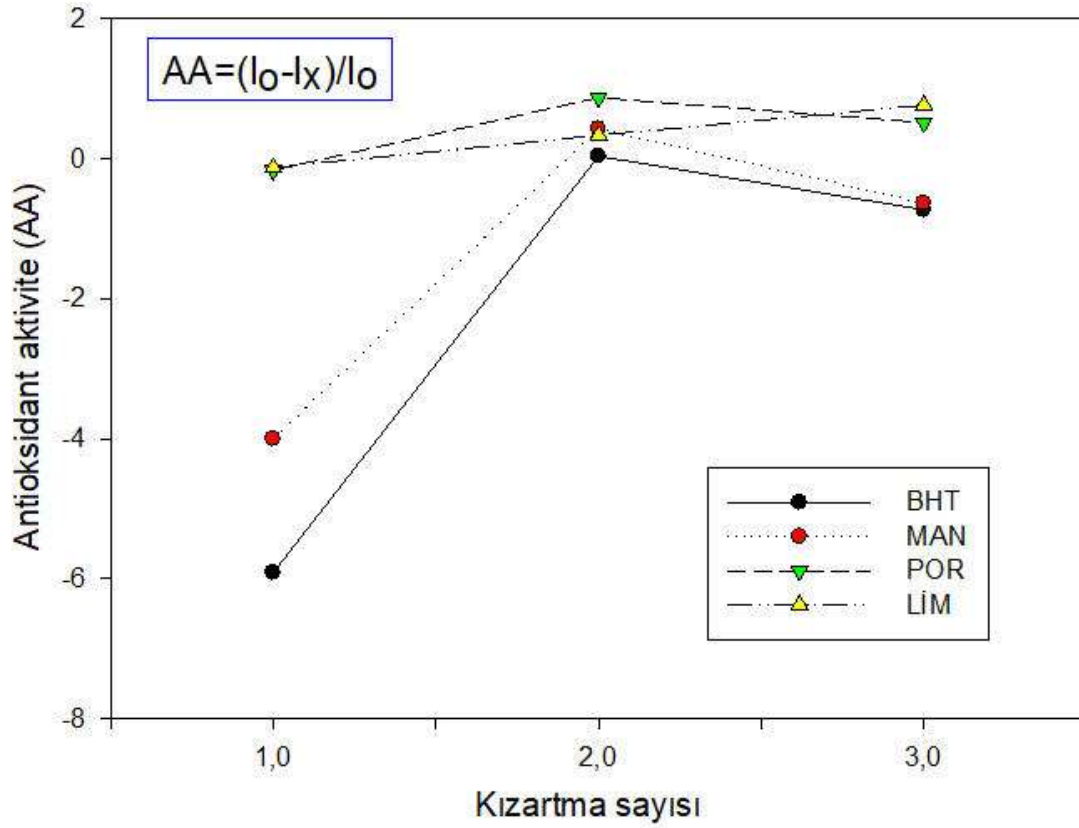
Her bir katkı maddesinin antioksidan aktivitesini belirlemek için $AA = (I_0 - I_x) / I_0$ denklemi kullanılarak hesap yapılmış [204, 205] ve Şekil 4.11.' de verilen grafik elde edilmiştir. Denklemde AA; antioksidan aktivitesini, I_0 ; kontrol örneğinin ESR sinyal şiddetini, I_x ise antioksidan katkılı örneğin ESR sinyal şiddetini temsil etmektedir. Bu çalışmada antioksidan katkılı örnekler kör örneği ile kıyaslanmıştır. Yani her bir kızartma aşamasında kör örneğinin ESR sinyal şiddeti kontrol örneğinin sinyal şiddeti olarak ele alınmış böylece her bir kızartma için antioksidan aktivite belirlenmiştir. Grafikten de gözlemlendiği gibi 1. kızartmada BHT ve mandalina özütü antioksidan özellik göstermemektedir. 3. kızartmada da benzer durum izlenmiştir. Yalnızca 2. kızartmada mandalina çok az aktivite göstermiştir. Portakal ve limon ise her üç kızartmada da antioksidan özellik göstermiştir.

Tüm örneklerin hesaplanan ESR parametreleri Tablo 4.10' de kullanılan özütlerin antioksidan aktivite değerleri ise Tablo 4.11' de verilmiştir. Tablo 4.10' deki değerlere göre tüm örneklerde spektroskopik yarılmaya çarpanı değerlerinde kayma olmaması ve aşırı ince yapı sabitlerinin aynı olması oluşan lipit radikallerinin aynı tür olduğunu göstermektedir. Tablo 4.11.'deki antioksidan aktivite değerleri ise, her ne kadar 1. kızartmada portakal ve limon için az bir radikal artışı gözlenirse de portakal için 2. kızartmadaki 0.87 ve 3. kızartmadaki 0.52 değerleri ve limon için 2. kızartmada 0.34 ve 3. kızartmada 0.77 değerleri oldukça iyidir. Birinci kızartmadaki çok az radikal artışı ise beklenen bir durumdur.

ESR spektroskopisi ile elde edilen veriler, klasik kimyasal metotlar ile karşılaştırıldığında benzer olarak tüm verilerin kızartma işlemleri boyunca dalgalı bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Yani, örneklerden biri 1. kızartmada oksidatif kararlılığı arttırırken 2. kızartmada azaltmış ve 3. kızartmada tekrar arttırmıştır. Ancak 4 faklı kimyasal metot (serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, *p* - *anisidin*, konjuge dien) ile yapılan oksidasyon testlerinde ve ESR analizlerindeki tek ortak nokta verilerin dalgalı değişim göstermesidir. Hangi örneğin hangi kızartma işleminde oksidatif kararlılığı arttırdığı, hangisinde ise azalttığı tüm kimyasal metotlarda farklılık göstermiştir. Bu durumun, klasik kimyasal metotların oksidasyon sırasında oluşan kimyasal bileşiklerin miktarını tayin etmesi sebebiyle oluştuğu düşünülmektedir. Yani, analizlerin bazıları birincil oksidasyon ürünlerini, bazıları da ikincil ürünleri tayin etmektedir. Oksidasyon basamakları ilerlerken, birincil ürünlerin hızla ikincil ve daha ileri basamaklardaki ürünlere dönüştükleri bilinmektedir. Dolayısıyla, birincil ürünleri tespit eden peroksit analizi yapıldığı sırada birçok peroksit ikincil ürünlere (konjuge dien) dönüşmüş olabilir. Sonuçlardaki farklılık sebebi olarak ilerleyen oksidasyon basamaklarında oluşan kimyasal bileşiklerin farklılıkları ve kimyasal metotların sadece bu bileşikleri tayin etmesi olarak düşünülmektedir. Bunlara ek olarak, klasik kimyasal metotlarda örnek hazırlama kısmı oldukça uzun ve meşakkatlidir. Analizlerde yapılan hataların en fazla örnek hazırlama kısmında oluştuğu bilinmektedir. Ancak ESR yönteminde örnek hazırlama kısmı klasik kimyasal metotlara kıyasla oldukça kolay ve analiz süresi de oldukça kısadır. Bu sebeple kimyasal bileşikler yerine sinyal şiddetini ölçen ESR yönteminin klasik kimyasal metotlara göre daha kararlı ve daha güvenilir olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.10. Kör ve antioksidanlı örneklerin kızartma sayısına bağlı ESR sinyal şiddetleri



Şekil 4.11. Kör ve antioksidan katkılı örneklerin kızartma sayısına bağlı antioksidan aktivite değerleri

Tablo 4.10. İncelenen örneklerin farklı kızartma aşamalarında ESR parametreleri

KÖR							
	PH	Amp.	V (μl)	I (KÖR)	g	a_N (mT)	a_H (mT)
1.kızartma	11477	1000	60	191,28	2.0067	1.45	0.30
2.kızartma	63939	1000	60	1065,65	2.0067	1.46	0.34
3.kızartma	38633	1000	60	643,88	2.0067	1.46	0.34
BHT							
	PH	Amp.	V (μl)	I (BHT)	g	a_N (mT)	a_H (mT)
1.kızartma	39658	500	60	1321,93	2.0067	1.46	0.33
2. kızartma	30766	500	60	1025,53	2.0067	1.46	0.33
3 .kızartma	33351	500	60	1111,70	2.0067	1.46	0.34
MAN							
	PH	Amp.	V (μl)	I (MAN)	g	a_N (mT)	a_H (mT)
1.kızartma	28687	500	60	956,23	2.0067	1.46	0.33
2. kızartma	18237	500	60	607,90	2.0067	1.46	0.33
3 .kızartma	31552	500	60	1051,73	2.0067	1.46	0.33
POR							
	PH	Amp.	V (μl)	I (POR)	g	a_N (mT)	a_H (mT)
1.kızartma	13362	1000	60	222,70	2.0067	1.45	0.33
2. kızartma	8151	1000	60	135,85	2.0067	1.46	0.33
3 .kızartma	18621	1000	60	310,35	2.0067	1.46	0.33
LİM							
	PH	Amp.	V (μl)	I (LİM)	g	a_N (mT)	a_H (mT)
1.kızartma	6460	500	60	215,33	2.0067	1.47	0.33
2. kızartma	21225	500	60	707,50	2.0067	1.46	0.34
3 .kızartma	4539	500	60	151,30	2.0067	1.46	0.33

Tablo 4.11. Kullanılan özütler için Antioksidan Aktivite (AA) değerleri

	BHT	MAN	POR	LİM
1. kez kızartma	-5,91087	-3,99904	-0,16424	-0,12573
2. kez kızartma	0,037645	0,42955	0,872519	0,336086
3. kez kızartma	-0,72656	-0,63342	0,518003	0,76502

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında; limon, portakal ve mandalina olmak üzere 3 farklı turunçgil kabuğu örneğinden antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler özütlenmiştir. Elde edilen bu özütlerin toplam fenolik madde miktarları, antioksidan kapasiteleri ve ayçiçek yağı örneklerine oksidatif etkileri belirlenmiştir.

Özütlerin döner buharlaştırıcı yardımıyla konsantre edilmesi aşamasında, yapışkan ve elastik maddeler oluşmuş ve bu durum özütleme verimini olumsuz etkilemiştir. Bu sorunun giderilmesi amacıyla özütleme aşamasında hegzan çözeltisi kullanılmıştır. Böylelikle çözelti hegzan ile yıkanarak, ortamda bulunabilecek olası yağsı ve mumsu maddelerin giderilmesi hedeflenmiştir. Yapılan işlem sonucunda (hegzan çözeltisi ile yıkama sonrası), özütlerin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerlerinde oldukça düşük oranda azalmanın gerçekleştiği görülmüştür.

Araştırmada yer alan özütler toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi bakımından incelendiğinde, örneklerin sentetik bir antioksidan olan BHT'ye yakın oldukları gözlenmiştir. Ayrıca mandalina kabuğu özütünün en yüksek fenolik madde miktarına ve antioksidan kapasitesi değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Mandalina kabuğu özütü içeren yağ örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Yağ örneklerindeki özüt miktarının artırılması yağın fenolik madde miktarını ve antioksidan kapasitesini bir miktar yükseltmiştir. Hazırlanan özüt ve BHT katkılı yağlar karşılaştırıldığında ise, turunçgil kabuğu özütü içeren yağların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerlerinin BHT katkılı yağlara oldukça yakın olduğu gözlenmiştir.

Antioksidan katkılı ayçiçek yağı örneklerinin hazırlanması amacıyla, 2 farklı yöntem kullanılmıştır. İlk yöntemde özütler doğrudan yağ örneklerine farklı konsantrasyonlarda ilave edilirken, ikinci yöntemde aromalandırma işlemi uygulanmıştır. Tekrarlı kızartma işlemlerinde kullanılacak katkılı ayçiçek yağları için, en uygun yöntem ve/veya konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla örneklerin indüksiyon periyotları ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre oksidatif kararlılığı en çok arttıran özütün mandalina kabuğu özütü gözlenmiştir. Tüm özütler için, işlem kolaylığı ve indüksiyon periyotlarının belirgin şekilde artmamaları sebebiyle en uygun yöntemin doğrudan ilave etme (I. yöntem) ve 2 mg özüt/g yağ olduğu tespit edilmiştir.

Tekrarlı olarak uygulanan derin yağda kızartma işleminde kullanılan ayçiçek yağlarında; rengin koyulaştığı, kırmızı ve sarı renk değerlerinin ise arttığı tespit edilmiştir. Yani ayçiçek yağı örneklerinin renginin açık sarıdan turuncu kahverengine doğru değiştiği belirlenmiştir. Yağ asidi kompozisyonu verileri incelendiğinde, 3 kez tekrarlanan kızartma işlemleri sonucunda elde edilen verilerde belirgin değişimler olmadığı görülmüştür. Tekstür analizleri sonucunda,

ayçiçek yağı örneklerine ilave edilen özütlerin ve BHT'nin patates örneklerine ait kabuk sertliği verilerini etkilemediği tespit edilmiştir.

Tekrarlanan kızartmalarda radikal oluşma derecesini belirlemek ve özütlerin ayçiçek yağında oluşan oksidasyona olan etkisini araştırmak üzere örnekler her bir kızartma aşamasında ESR spin tuzaklama metodu ile incelenmiştir. ESR çalışmalarının sonucunda; cihazın sıcaklık kontrol ünitesi kullanılarak (patates içermeyen yağ örneğinde) oksidasyonun 70°C'de kısmen başladığı 90°C'de oldukça arttığı belirlenmiştir. Tekrarlanan kızartma işlemleri için BHT ve mandalina özütünün 1. kızartma aşamasında hiç etki göstermediği hatta oksidasyonu artırdığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, BHT ve mandalina özütünün tekrarlanan patates kızartmalarında işe yaramadığı tespit edilmiştir. Tekrarlı kızartma çalışmasında oksidasyonun önlenmesi açısından en etkili özütlerin, portakal ve limon özütleri olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Manral, M., Pandey, M.C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K., Bawa, A.S. (2008). Effect of fish (Catla catla) frying on the quality characteristics of sunflower oil. *Food Chemistry*, 106, 634-639.
- [2] 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.
- [3] Zhang, C.X., Wu, H., Weng, X.C. 2004. Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. *Food Chemistry*, 84, 219-222.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Franke, K. and Reimerdes, E.H., 2004, Possibilities in Simulating Frying Processes with respect to Minimizing Acrylamide Contents, 4th International Symposium on Deep Frying-Tastier and Healthier Fried Foods.
- [7] Krokida, M.K., Oreopolou, V., Maroulis, Z.B., Marinos – Kouris, D., 2001b. Deep fat frying of potato strips – quality issues. *Drying Technology: An International Journal*, 19: 5, 879- 935.
- [8] Aydeniz, B. (2012). Bazı Doğal Antioksidanların Yerfıstığı Yağının Kızartma Kalitesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi. Çanakkale
- [9]. Kayahan M., 2002. Modifiye Yağlar ve Üretim Teknolojileri. Ankara–2002. 227-246.
- [10] Blumenthal, M.M., 1991, A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying, *Food Technology*, 45, 68–71.
- [11] Choe, E., Min, D.B., 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, 72 (5): 77-86.
- [12] Keskinler B., 2008. Atık Bitkisel Yağların Çevresel Etkileri.
- [13] Türkay, S., 2008. Atık Bitkisel Yağların İnsan Sağlığına Etkileri, 10 Ocak 2011, <http://pdfsb.com/readonline/596c68486451463958485a304448526b55513d3d3240314>.
- [14] Ramadan, M. F., 2007, Monitoring Deep Frying Oils, *International News on Fats, Oils and Related Materials*, Vol.18(2):139-141p.
- [15] Düzakar H., 1995, Bitkisel Sıvı Yağların Termik Oksidasyon Kinetiğinin Matematiksel Modellenmesi, İzmir, 4-5s. FDA Reg. Sayı:68, no:133.
- [16] Chang, S.S., Robert J.P. and Chi-Tang H., 1978, Chemical Reactions Involved in the Deep Fat Frying of Foods, *JAOCs*, 55(10): 718-727p.
- [17] Manral, M., Pandey, M.C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K., Bawa, A.S. 2008. Effect of fish (Catla catla) frying on the quality characteristics of sunflower oil. *Food Chemistry*, 106, 634-639.
- [18] 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 (3): 341-346.

- [19] Clark, W. L., Serbia, G. W., 1991. Safety aspects of frying fats and oils. *Food Technology*, 45 (2): 84–86, 88–89, 94.
- [20] Shahidi F. ve Zhong Y., 2005. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: Shahidi, F. Ed. *Bailey's Industrial Oil And Fat Products, Edible Oil and Fat Products: Products and Applications* (6th ed., Vol. 1.) Wiley Interscience Publication, 357-385
- [21] Melton, S.L., 1983, Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 38 (7), 105-111.
- [22] Fernández, J., Pérez-Álvarez, J., Fernández-López, J.A., 1997, Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat, *Food Chemistry*, 59(3), 345-353.
- [23] Kayahan, M., 2003, *Yağ Kimyası*, Ankara, 220s
- [24] Velasco, J. and Dobarganes, C., 2002, Oxidative stability of virgin olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104 (2002) 661–676.
- [25] Gómez S., Campos V., Salvador M., Fregapane G., 2004a, Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25–75°C), *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106, 369–375.
- [26] Özdemir, H. (2013). *Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyal Ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- [27] Paul S, Mittal GS., 1997. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(7): 635-662.
- [28] Gertz, C., Klostermann, S., Kochhar, S. P., 2000. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102: 543-551.
- [29] Takeoka, G., Perrino, C., Jr., Buttery, R., 1996. Volatile constituents of used frying oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44: 654-660.
- [30] Pokorny, J. & Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidants. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, eds. *Antioxidants in food, Practical applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp. 311-330.
- [31] Yağcıoğlu, P., Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (*salvia officinalis* l.) Bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul
- [32] Bandoniene, D., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. and Murkovic, M. 2002. —Antioxidative activity of sage (*Salvina officinalis* L.) savorY (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borage officinalis* L.) extracts in rapeseed oil|. *European Journal of Lipid Science Technology*, 104: 286-292.
- [33] Madhavi, D.L. and Salunkhe, D.K. 1995. Toxicological aspects of food antioxidants. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K. (Eds.), *Food Antioxidants*. Marcel Dekker Inc., New York, p. 267.
- [34] Mathew, S. and Abraham, T.E., 2006a. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, 94, 520-528.
- [35] Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M. and Knez, Z., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones, and flavonol in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, 89, 191-198.

- [36] Cam, M. ve Hışıl, Y., 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.
- [37] Roginsky, V. and Lissi, E.A., 2005. Review of methods to determine chain- breaking antioxidant activity in food, Food Chemistry, 92, 235-254.
- [38] Lee, H.S. (2004). Phenolic Compounds in Foods. In: Nollet, L.M.L. (eds.) "Handbook of Food Analysis". Marcel Dekker Inc., pp: 657- 715.
- [39] Brown, J.E. (2005). Nutrition Now, 4. Baskı, Thomson Learning Inc.
- [40] Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds, Critical reviews in Food Science and Nutrition, 44:453-464
- [41] Wildman, R.E.C. (2001), Handbook of nutraceuticals and Functional Foods, Boca Raton, FL: CRC Basımevi
- [42] Nizamlıoğlu, N. M. Ve Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 20-35.
- [43] Ghafoor, K., Park, J., Choi, Y.-H., 2010. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 11, 485-490.
- [44] Naczek, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food, Journal of Chromatography A, 1054, 95-111.
- [45] Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., Parajó, J. C., 2006. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 2441-2469.
- [46] Wang, L., Weller, C. L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Trends in Food Science & Technology, 17, 300-312.
- [47] Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples, Molecules, 15, 8813-8826.
- [48] Fellows, P. J. (2009). Food Processing Technology - Principles and Practice (3rd Edition). Woodhead Publishing, Cambridge.
- [49] Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F., 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology, Food Chemistry, 93, 47-56.
- [50] Silva, E. M., Rogez, H., Larondelle, Y., 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology, Separation and Purification Technology, 55, 381-387.
- [51] Pompeu, D. R., Silva, E. M., Rogez, H., 2009. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology, Bioresource Technology, 100, 6076-6082.
- [52] Zeng G., Xiao H., Liu J., Liang X. (2006). Identification of phenolic constituents in *Radix Salvia miltiorrhizae* by liquid chromatography / electrospray ionization mass spectrometry. Rapid communications in mass spectrometry 20:499-506
- [53] Luque de Castro, M. D., Garcı a-Ayuso, L. E., 1998. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, Analytica Chimica Acta, 369, 1-10.

- [54] Baydar, N. G., Özkan, G., Sağdıç, O., 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts, *Food Control*, 15, 335-339.
- [55] Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts, *Food Chemistry*, 105, 1126-1134.
- [56] Castro-Vargas, H. I., Rodríguez-Varela, L. I., Ferreira, S. R. S., Parada-Alfonso, F., 2010. Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents, *The Journal of Supercritical Fluids*, 51, 319-324.
- [57] Eminağaoğlu Ö., Bektaş T., Yumrutaş Ö., Aşkın Akbulut H., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A. (2007). The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch) Boiss. and *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry* 100:339-343.
- [58] Wang, L., Weller, C. L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.
- [59] Feng, H., Barbosa-Cánovas, G. V., Weiss, J., 2011. *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*, Springer, New York.
- [60] Goli, A. H., Barzegar, M., Sahari, M. A., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts, *Food Chemistry*, 92, 521-525.
- [61] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., Li, X., 2008. Optimisation of ultrasound- assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran, *Food Chemistry*, 106, 804-810.
- [62] Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., Codina, C., 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes, *Food Chemistry*, 97, 137-150.
- [63] Rodrigues, S., Pinto, G. A. S., Fernandes, F. A. N., 2008. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 95-100.
- [64] Ötleş, S., 2009. *Handbook of Food Analysis Instruments*, CRC Press, Washington.
- [65] McHugh, M.A., Krukonis, V.J., 1994. *Supercritical Fluid Extraction* (2nd Edition). Butterworth-Heinemann, Boston.
- [66] Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E., 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by- products, algae and microalgae: a review, *Food Chemistry*, 98, 136-148.
- [67] Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., Parajó, J. C., 2006. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2441-2469.
- [68] Pinelo, M., Ruiz-Rodríguez, A., Sineiro, J., Señoráns, F., Reglero, G., Núñez, M., 2007. Supercritical fluid and solid-liquid extraction of phenolic antioxidants from grape pomace: a comparative study, *European Food Research and Technology*, 226, 199-205.
- [69] Li, Y., Skouroumounis, G. K., Elsey, G.M. Ve Taylor, D. K. (2011). Microwave- assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols. *Food Chemistry*, 129(2): 570-576.
- [70] Mitra, S. (2004). *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, Wiley, New York.
- [71] Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 209-242.

- [72] Rietjens, I., Boersma, M., Haan, L., Spenkelink, B., Awad, H., Cnubben, N., Zanden, J., Woude, H., Alink, G., Koeman, J., 2002, The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants, vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11 (3-4), 321-333.
- [73] Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Krokida, M. Ve Magoulas, K. (2014). Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1 (3): 81-91.
- [74] Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., Tsao, R., 2012. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, *Food Chemistry*, 130, 928-936.
- [75] Liazid, A., Guerrero, R. F., Cantos, E., Palma, M., Barroso, C. G., 2011. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins, *Food Chemistry*, 124, 1238-1243.
- [76] Göncüoğlu, N., *Kızartma Yağlarında Termal Proses İndikatörü Olarak Hidroksimetilfurfural Varlığının İncelenmesi*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara
- [77] Rossell, J.B., 1983, Measurement of rancidity. Rancidity in foods. Allen, J.C. and Hamilton, R.J., (eds.), Applied Science, Essex, UK. pp. 21-46.
- [78] Lawson, H. W., 1985, Standards for Fats and Oils, AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- [79] Perkins, E.G., 1967, Formation of nonvolatile decomposition products in heated fats and oils, *Food Technology*, 21, 611-616.
- [80] Tyagi, V.K. and Vasishtha, A.K., 1996, Changes in characteristics and composition of oils during deep fat frying, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 499-506.
- [81] Al-Harbi, M.M. and Al-Kabtani, H.A., 1993, Chemical and biological evaluation of discarded frying palm oil commercial restaurants, *Food Chemistry*, 48, 395- 401.
- [82] Stevenson, S.G., Vaisey-Genser, M. and Eskin, N.A.M., 1984, Quality control in the use of deep-frying oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(6), 1102-1108.
- [83] Fritsch, C.W., 1981, Measurements of frying fat deterioration: A Brief View, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58, 272.
- [84] Marquez, G., Anon and M.C., 1986, Influence of reducing sugars and amino acids in the color development of fried potatoes, *Journal of Food Science*, 51, 157- 160.
- [85] Kroh, L.W., 1994, Caramelisation in food and beverages, *Food Chemistry*, 51, 373- 379.
- [86] Gökmen, V., genyuva, H.Z., Acar, J. and Sarioğlu, K., 2005, Determination of acrylamide in potato chips and crisps by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1088, 193-199.
- [87] Pedrechi, F., Moyano, P., Kaack, K. and Granby, K., 2005, Color changes and acrylamide formation in fried potato slices, *Food Research International*, 38, 1-9.
- [88] Paul, S., Mittal, G.S. and Chinnan, M.S., 1997, Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 635-662.
- [89] Xu, X. Q., Tran, V. H., Palmer, M., White, K., Salisbury, P., 1999. Chemical and physical analyses and sensory evaluation of six deep fat frying oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76: 1091-1099.

- [90] Al-Harbi, M. M., Al-Kahtani, H. A., 1993. Chemical and biological evaluation of discarded frying palm oil from commercial restaurants. *Food Chemistry*, 48: 395-401.
- [91] Albi, T., Lanzon, A., Guinda, A., Perez-Camino, M. C., Leon, M., 1997. Microwave and conventional heating effects on some physical and chemical parameters of edible fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 3000-3003.
- [92] Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, C., 1996. Short-chain fatty acid formation during thermoxidation and frying. *Journal of Science for Food and Agriculture*, 70: 120-126.
- [93] Kayahan, M., 2002/b. Modifiye Yağlar ve Üretim Teknolojileri, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. Yayınları, Ankara, 263s.
- [94] 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.
- [95] 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.
- [96] 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.
- [97] Pilbrow, J.R., 1996, ESR fundamentals, *Appl. Radiat. Isot.*, 47(11-12), 1465-1470.
- [98] Weil J.A., Bolton J.R., and Wertz J.E., 1993, *Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications*, John Wiley and Sons Inc., USA
- [99] Anbar, G. (2006). Mağara çökellerinin electron spin rezonans yöntemi ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [100] Saifutdinov, R. G., Larina, L. I., Vakul'skaya, T. I. ve Voronkov, M. G. (2002). *Electron paramagnetic resonance in biochemistry and medicine*. New York: Kluwer Academic Publishers.
- [101] Aydın, H. (2015). *Fırınlanmış Sütlaç Örnekleri Yüzeyinde Isıl Yolla Oluşan Paramagnetik Merkezlerin Elektron Spin Rezonans (ESR) Tekniği ile İncelenmesi*, Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR
- [102] Tokgöz, H. (2012). 2,6-Di-Tert-Butil-4-Metilfenol ve 1-Fenil-3-Pirazolidinon maddelerinde gama ışınları ile oluşturulan serbest radikallerin ESR yöntemiyle incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- [103] Brustolon M. and Giamello E., 2009, *Electron Paramagnetic Resonance: A Practitioner's Toolkit*, John Wiley and Sons Inc., USA
- [104] Paksu, U. (2013). *Gama Işınları ile Işınlanmış İhlamur Örneklerinin Elektron Spin Rezonans (ESR) ve Termoluminesans (TL) Teknikleri ile İncelenmesi*, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- [105] Başar, B. (2000). *Kuantum kimyası*. İstanbul: Birsan Yayınevi.
- [106] Saifutdinov, R. G., Larina, L. I., Vakul'skaya, T. I. ve Voronkov, M. G. (2002). *Electron paramagnetic resonance in biochemistry and medicine*. New York: Kluwer Academic Publishers.
- [107] Berliner, L. J. (2003). *In Vivo EPR (ESR)* (Vol. 18).
- [108] Suhaj, M. 2006. Spice antioxidant isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 531-537.
- [109] Kılıç, A. 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 37-45.

- [110] Iqbal, S., Halem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Research International*, 41, 194-200.
- [111] Suja, K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S. N., Jayalekshmy, T. A., Arumughan, C. 2004. Antioxidant efficacy of susame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry*, 84, 393-400.
- [112] Iqbal, S., Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100, 246-254.
- [113] Du, H., Li, H. 2008. Antioxidant effect of Cassia essential oil on deep-fried beef during the frying process. *Meat Science*, 78, 461-468.
- [114] Tohma, S. (2015). Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında Rafine Fındık Yağının Oksidatif Stabilitesi Üzerine Biberiye (*Rosmarinus Officinalis*) Bitkisinin, Çözücü Ekstraktinin Ve Uçucu Yağının Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi
- [115] Ayadi, M.A., Grati-Kamoun, N., Attia, H. 2009. Physicochemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2613-2619.
- [117] 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.
- [118] Ingram, D.J.E., Tapley, J.G., Jackson, R., Bond, R.L. ve Murnaghan, A.R. (1954). Paramagnetic resonance in carbonaceous solids. *Nature*, 174, 797-798.
- [119] Hillman, G.C., Robins, G.V., Oduwole, D., Sales, K.D. ve McNeil, D.A.C. (1983). Determination of thermal histories of archaeological cereal grains with Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Science*, 222 (4629), 1235-6.
- [120] Robins, G.V. (1984). The study of heated and charred archaeological materials with Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 6 (1) , 31-43.
- [121] Yordanov, N. D. ve Mladenova, R. (2004). EPR study of free radicals in bread. *Spectrochimica Acta Part A*, 60, 1395-1400.
- [122] Yordanov, N. D. ve Mladenova, R. (2007). EPR study of thermally generated free radicals in nuts. *International Journal of Food Science and Technology*, (42), 1384-1389.
- [123] Maghraby, A., Salama, E., Sami, A., Mansour, A., Sayed, M. 2012. Identification and dosimetry of irradiated walnuts (*Juglans regia*) using EPR. *Radiation Effects and Defects in Solids*, 167: 170-178.
- [124] Suhaj, M., Racova, J., Polovka, B.V. 2006. Effect of γ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.), *Food Chemistry*, 97: 696-704.
- [125] Nicola, D., Yordanov, E.G. 2004. EPR and UV spectral study of gamma-irradiated white and burned sugar, fructose and glucose. *Spectrochimica Acta Part A* 60: 1307– 1314.
- [126] Franco, R.W.A., Martin-Neto, L., Kato, M.S.A., Furlan, G.R., Walder, J.M.M., Colnago, L.A. 2004. Identification of irradiation treatment in black pepper by electron paramagnetic resonance. *International Journal of Food Science and Technology*, 39: 395-401.
- [127] Aleksieva, K., Georgieva, L., Tzvetkova, E., Yordanov, N.D. 2009. EPR study on tomatoes before and after gamma-irradiation. 78: 823-825.

[128] Polat, M., Korkmaz, M. 2003. Use of electron spin resonance technique for the detection of irradiated rice seeds (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 38: 653-659.

[129] Leonor, S.J., Gómez, J.A., Kinoshita, A., Calandrelli, I., Tfouni, E., Baffaa, O. 2013. ESR spectroscopic properties of irradiated gum Arabic, *Food Chemistry*, 141: 1860-1864.

[130] Abdel-Fattah, A.A. 2002. Identification and dose assessment of irradiated cumin by EPR spectrometry. *Applied Radiation and Isotopes*, 56: 557-562.

[131] Engin B., Aydaş C., Polat M. 2011. Detection of gamma irradiated fig seeds by analysing electron spin resonance. *Food Chemistry*, 126: 1877-1882.

[132] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Yazıma hazır: (Formatı düzenlenmiş)

[133] Kalantzakis, G., Blekas G., Pegklidou K., Boskou D. (2006). Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 108, 329-335

[134] Benzie, I., Strain, J. (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power; the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76.

[135] Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.

[135] Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200.

[136] AOCS 1998b. AOCS-Methods Ca 5a-40, Free Fatty Acids. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (5th ed). Champaign, IL.

[137] AOCS Cd 8b-90. Peroxide value acetic acid— isooctane method, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 1997.

[138] AOCS Cd 18-90. p-Anisidine value. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed.; American Oil Chemists' Society: Champaign, Illinois, 1998.

[139] TSE Türk Standartları Enstitüsü, TS 4664 EN ISO 5508

[140] American Oil Chemists' Society. 1990. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Urbana-Champaign, Ill.: AOCS Press.

[141] Anna Sokół-Łętowska, Alicja Z. Kucharska, Katarzyna Wińska, Antoni Szumny, Agnieszka Nawirska-Olszańska, Paulina Mizgier, Dorota Wyspiańska, Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs, *Food Chemistry*, Volume 157, 2014, Pages 533-539,

[142] Buettner, G.R., 1987, Spin Trapping: ESR Parameters of Spin Adducts, *Free Radicals Biol. Med.* 3:259-303.

[143] Venkataraman S., Schafer F.Q., and Buettner G.R., 2004, Detection of Lipid Radicals Using EPR, *Antioxidants & Redox Signaling*, 6 (3) 631-638.

[144] Ottaviani M.F., Spallaci M., Cangiotti M., Bacchiocca M. and Ninfali P., 2001, Electron Paramagnetic Resonance Investigations of Free Radicals in Extra Virgin Olive Oils, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3691-3696.

- [145] Velasco J., Andersen M.L., Skibsted L.H., 2004, Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry *Food Chemistry* 85 623-632.
- [146] Falch E., Velasco J., Aursand M., Andersen M.L., 2005, Detection of radical development by ESR spectroscopy techniques for assessment of oxidative susceptibility of fish oils, *Eur. Food Res. Technol.*, 221: 667-674.
- [147] Kameya H. and Ukai M., 2013, Fat and Oil Oxidation by Electron Spin Resonance (ESR) Spin-Trapping Method, *Journal of Food Science and Engineering* 3, 584-591.
- [148] Chen H., Cao P., Li B., Sun D., Li J., Liu Y., 2017, High sensitive and efficient detection of edible oils adulterated with used frying oil by Electron Spin Resonance, *Food Control*, 73, 540-545.
- [149] Cui L., Lahti P.M., Decker E.A., 2017, Evaluating Electron Paramagnetic Resonance (EPR) to Measure Lipid Oxidation Lag Phase for Shelf-Life Determination of Oils, *J.Am. Oil Chem. Soc.* 94:89-97.
- [150] Thomsen M.K., Kristensen D., and Skibsted L.H., 2000, Electron Spin Resonance Spectroscopy for Determination of the Oxidative Stability of Food Lipids, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 77 (7) 725-730.
- [151] Falch E., Velasco J., Aursand M., Andersen M.L., 2005, Detection of radical development by ESR spectroscopy techniques for assessment of oxidative susceptibility of fish oils, *Eur. Food Res. Technol.*, 221: 667-674.
- [152] Chen H., Cao P., Li B., Sun D., Li J., Liu Y., 2017, High sensitive and efficient detection of edible oils adulterated with used frying oil by Electron Spin Resonance, *Food Control*, 73, 540-545.
- [153] Miranda, M. L., Aguilera, J., M. "Structure and Texture Properties of Fried Potato Products", *Food Reviews International*, 22: 173-201, (2006).
- [154] Karaca, E. ve Aytaç, S., 2007, Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler, *Journal of Fac. Agriculture., OMU*, 22 (1) : 123-131.
- [155] Turhan İ., TETİK, N., KARHAN, M., 2006, Turunçgil Kabuk Yağlarının Elde Edilmesi ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, s. 71-77.
- [156] Steuer, B., Schulz, H. and Lager, E., 2001, Classification and analysis of citrus oils by NIR spectroscopy, *Food Chemistry*, 72: 113-117.
- [157] Yusof, S., Ghazali, H.M., King, G.S., 1990, Naringin content in local citrus fruits, *Food Chemistry*, 113-121.
- [158] Kroyer, G., 1986, The antioxidant activity of citrus fruit peels, *Europe PMC*, 25 (1), 63-69.
- [159] Bocco, A., Cuvelier, M-E., Richard, H., Berset, C., 1998, Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts, *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (6), 2123-2129.
- [160] Minh Tu, N., T., Thanh, L., X., Une, A., Ukeda, H., Sawamura, M., 2002, Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils, *Flavour Fragr. J.*, 17, 169-174.
- [161] Huang Y., Wu, Y., 1998, Chemical components of essential oils from peels of 25 citrus species and cultivars. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, 10, 48-54.

- [162] Lota, M., L., Serra, D., R., Tomi, F., Casanova, J., 2001, Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. *Biochem. Sys. Eco.*, 29, 77-104.
- [163] Ghitescu, R.-E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A.-M., Gilca, I., & Popa, V. I. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry*.
- [164] Zulkifli, K.S., Abdullah, N., Abdullah A., Aziman N., Kamarudin W. S. S. W. (2012). Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Selected Fruit Peels. *2012 International Conference on Environment, Chemistry and Biology*, 49, 66-70.
- [165] Barros, H.R. M., Ferreira T. A. P. C., Genovese M.I. (2012) Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, 134, 1892–1898.
- [166] Casquete R., Castro S. M., Moyano A. M. S. R., Jorge A. S., C´ordoba M. G., Teixeira P. (2015). Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, DOI: doi: 10.1016/j.ifset.2015.07.005
- [167] Shofinita D., Feng S., Langrish T. A. G. (2015). Comparing yields from the extraction of different citrus peels and spray drying of the extracts. *Advanced Powder Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.appt.2015.09.007>
- [168] Londoño-Londoño, J., Lima, V. R., Lara, O., Gil, A., Pasa, T. B. C., Arango G. J., Pineda J. R. R. (2010). Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chemistry*, 119, 81–87
- [169] Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., Madani, K. (2013). Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 50, 77–87.
- [170] Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119, 851–858
- [171] Brito, A., Ramirez, J. E., Areche, C., Sepúlveda, B., Simirgiotis, M. J. (2014). HPLC-UV-MS Profiles of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Fruits from Three Citrus Species Consumed in Northern Chile. *Molecules*, 19, 17400–17421.
- [172] Abeyasinghe, D. C., Li, X., Sun, C., Zhang, W., Zhou, C., & Chen, K. (2007). Food Chemistry Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species, *104*, 1338–1344. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.047>
- [173] Hegazy, A. E., & Ibrahim, M. I. (2012). Antioxidant Activities of Orange Peel Extracts, *18*(5), 684–688. <http://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.18.05.64179>
- [174] 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.
- [175] Nor, F.M., Suhaila, M., Nor Aini, I., Razali, I. 2008. Antioxidative properties of Pandanus amaryllifolius leaf extracts in accelerated oxidation and deep frying studies. *Food Chemistry*, 110, 319-327.
- [176] 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.

- [177] Beddows, C. G., Jagait, C., Michael, J. K. 2001. Effect of ascorbyl palmitate on the preservation of α -tocopherol in sunflower oil, alone and with herbs and spices. *Food Chemistry*, 73, 255-261.
- [178] Zhang, C.X., Wu, H., Weng, X.C. 2004. Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. *Food Chemistry*, 84, 219-222.
- [179] 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.
- [180] Zhong, Y., Shahidi, F. 2012. Antioxidant behavior in bulk oil: Limitations of polar paradox theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 4-6.
- [181] Houhoula D.P., Oreopoulou V. ve Tzia C., 2003. The Effect of Process Time and Temperature on the Accumulation of Polar Compounds in Cottonseed Oil During Deep-Fat Frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 314-319.
- [182] Ghazali H.M., Abdulkarim S.M., Long K., Lai O.M. ve Muhammad S.K.S., 2007. Frying Quality and Stability of High-oleic Moringa Oleifera Seed Oil in Comparison with Other Vegetable Oils. *Food Chem*, 105:1382–1389.
- [183] Önder, Ö., (2011). Derin yağda kızartma işleminde adsorbant kullanımının kızartmalık yağların kullanım süreleri üzerine etkisi. Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- [184] Göy G ve Gül C (1987). Derin kızartıcılarda yapılan kızartma işlemi sırasında kızartma yağında oluşan değişiklikler. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Lisans Tez çalışması.
- [185] Maskan M, Bağcı Hİ (2003). The recovery of used sunflower seed oil utilized in repeated deep-fat frying process. *European Food Res Technology*, 218: 26-31.
- [186] Cocks, L.V. and Van Rede, C., 1966, *Laboratory Handbook for Oil and Fat Analysis*, Academic Press, London.
- [187] Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı İle Anılan Yağlar Tebliği, (Tebliğ No: 2012/29), Sayı : 28262
- [188] 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.
- [189] Paul, S., Mittal, G.S. and Chinnan, M.S., 1997, Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 635–662.
- [190] Pedrechi, F., Moyano, P., Kaack, K. and Granby, K., 2005, Color changes and acrylamide formation in fried potato slices, *Food Research International*, 38, 1-9.
- [191] Blumenthal, M.M., 1996. Frying technology. *Bailey's industrial oil & fat products edible oil & fat products: Products and application technology*. Hui, Y.H., (eds), Wiley-Interscience, New York. pp. 429-483.
- [192] Ceballos, C., Moyano, M., Vicario, I., Alba, J. and Heredia, F., 2003, Chromatic Evolution of Virgin Olive Oils Submitted to an Accelerated Oxidation Test, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 80, 257-262.
- [193] Bitki Adı İle Anılan Yemeklik Yağlar, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tebliğ No:2010/17.

- [194] 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.
- [195] 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.
- [196] 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.
- [197] 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.
- [198] 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.
- [199] 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.
- [200] Bunger, A., Moyano, P., Rioseco, V. "NaCl Soaking Treatment for Improving the Quality of French-Fried Potatoes", *Food Research International*, 36: 161-166, (2003),
- [201] Sanz, T., Primo-Martin, C., Vliet, T. "Characterization of Crispness of French Fries by Fracture and Acoustic Measurements, Effect of Pre-frying and Final Frying Times", *Food Research International* 40: 63-70, (2007).
- [202] Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., Rosa, D. M. "Effect of Frying Time on Acrylamide Content and Quality Aspects of French Fries", *Eur Food Res Technol*, 226: 555-560, (2008).
- [203] Liu, E. Z., Scanlon, M. G. "Modeling the Effect of Blanching Conditions on Texture of Potato Strips", *Journal of Food Engineering*, 81: 292-297, (2007).
- [204] Spasojević I., Mojović M., Ignjatović A. and Bačić G., 2011, The role of EPR spectroscopy in studies of the oxidative status of biological systems and the antioxidative properties of various compounds, *J. Serb. Chem. Soc.* 76 (5) 647–677
- [205] Živković J., Zeković Z., Mujić I., Gođevac D., Mojović M., Mujić A., Spasojević I., 2009, EPR Spin-Trapping and Spin-Probing Spectroscopy in Assessing Antioxidant Properties: Example on Extracts of Catkin, Leaves, and Spiny Burs of *Castanea sativa*, *Food Biophysics*, 4:126–133.

ÖZGEÇMİŞ**Adı ve Soyadı** :Sema AYDIN**Doğum Tarihi** :28.04.1986**E-mail** :sema_aydin95@hotmail.com**Öğrenim Durumu** :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2004-2008
Yüksek Lisans	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2008-2011
Doktora	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2011-

Görevler :

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü	2008-2017

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- 1.Aydın, S.; Sayar, S. (2017).Turunçgil Kabuğu Kaynaklı Antioksidanların Ayçiçek Yağının Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Etkileri. *International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC)*. Adana. Türkiye. (poster)
2. Aydın, S.; Özdemir, Y. (2017). Development and Characterization of Carob Flour Based Functional Spread for Increasing Use as Nutritious Snack for Children. *Hindawi Publishing Corporation*. 1-7.
- 3.Aydın, S., Sayar, S. (2017). Basic Quality Characteristics of Non-Commercial Olive Oils Produced in East Mediterranean Region of Turkey. *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies*.Nevşehir. Türkiye. (sözlü sunum)
- 4.Aydın, S.;Sayar, S. (2016). Ultrasonic extraction optimization of citrus peel antioxidants with Response Surface Methodology (RSM). *18th World Congress of Food Science and Technology*. Dublin. Ireland. (poster)
5. Aydın, S.; Özdemir, Y. (2015). Portakal Kabuğu Özütünün Rafine Ayçiçek Yağının Oksidatif Kararlılığı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *2. Tarım ve Gıda Kongresi (TARGID)*. Nevşehir. Türkiye. (poster)
- 6.Aydın, S.;Özdemir, Y. (2012). A Study for Increasing Carob Value: Spreadable Carob (Locust Bean) Cream. *3rd Pak-Turk Conference on Chemical Sciences*. Bursa. Türkiye (poster)
7. Aydın, S.;Özdemir, Y. (2011). Production Of Spreadable Carob (Locust Bean) Sweet. *Novel Approaches in Food Industry*. İzmir, Türkiye. (poster)
8. Aydın, S.;Özdemir, Y. (2011). Keçiboynuzu Tatlısı Üretiminde Sürülebilirliğin Belirlenmesi. *7. Gıda Mühendisliği Kongresi*.Ankara. Türkiye. (poster)
- 9.Özdemir, Y.; Aydın, S. (2010). Sürülebilir Keçiboynuzu Tatlısı.Patent. (2010-G-230136).