

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAYISI ÇEKİRDEĞİ YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ
VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

GÖKHAN DURMAZ

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**MALATYA
EKİM 2008**

Tezin Başlığı: “Kayısı Çekirdeği Yağının Oksidatif Stabilitesi ve Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması”

Tezi hazırlayan: Gökhan Durmaz

Sınav tarihi: 13.10.2008

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında “Doktora Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof.Dr. Muhittin YÜREKLİ

Yrd.Doç.Dr. Türkan KUTLU (Danışman)

Doç.Dr. Fikret KARATAŞ

Doç.Dr. İsmet YILMAZ

Doç.Dr. Mehmet ALPASLAN

Prof.Dr. İsmail ÖZDEMİR
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum “Kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesi ve antioksidan özelliklerinin araştırılması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım tüm kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Gökhan DURMAZ

ÖZET

Doktora Tezi

KAYISI ÇEKİRDEĞİ YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gökhan DURMAZ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

xii + 85 sayfa
2008

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Türkan KUTLU

Bu çalışmada, kavurma işleminin kayısı çekirdeği yağının antioksidan özellikleri ve oksidatif stabilitesine etkilerini belirlemek amacıyla, kayısı çekirdekleri 180 °C’de 5, 10, 15, 20 ve 30 dk kavrulmuş ve kavrulmamış örneklerle birlikte yağları çözücü ekstraksiyonuyla elde edilmiştir. Yağlarda oksidatif stabilite testleri; tahmine dayalı DSC, Ransimat ve FT-IR metotlarıyla ve ölçüme dayalı peroksit sayısı ve para-anisidin değeri ölçüm yöntemleriyle yapılmıştır. Antioksidan testler ise hem direkt yağlarda hem de metanol ekstraktlarında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca yağların tokoferol izomerleri ve yağ asidi kompozisyonu da belirlenmiştir.

Bu çalışma kapsamında, kayısı çekirdeği yağı içeren yemlerle beslenen kolesterolü yükseltilmiş deney sıçanlarının kan kolesterol düzeyleri ve karaciğer katalaz, glutatyon peroksidaz ve malondialdehit düzeyleri, ayçiçeği yağıyla beslenen hayvanlarla karşılaştırılmıştır.

Örnekler içerisinde en düşük peroksit sayısını, 15 dk ve 20 dk kavrulan kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağlar gösterirken 5 dk kavrulmuş örnek en yüksek değerleri vermiştir. *p*-anisidin testinde de yine benzer bir eğilim gözlenmiştir. Tahmine dayalı oksidatif stabilite testlerinde ise en uzun indüksiyon periyodunu metoda göre değişmekle beraber 15, 20 ve 30 dk kavrulmuş yağlar göstermiştir.

Farklı düzeylerde kavurma ile antioksidan aktivitede artış olduğu, fakat metanol ekstraktlarında bu artışın, yağda yapılan direkt testlere göre çok daha belirgin gerçekleştiği belirlenmiştir.

Kayısı çekirdeği yağı, deney sıçanlarında kan LDL ve toplam kolesterol düzeylerini artırırken, trigliserid ve HDL düzeylerini aşağı çekmiştir. Karaciğer antioksidan parametrelerini ise olumlu etkileyen kayısı çekirdeği yağı, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerini artırırken malondialdehid düzeyini düşürmüştür.

Oleik asit ve Linoleik asitçe zengin olduğu belirlenen kayısı çekirdeği yağında, tokoferol izomerlerinden γ -tokoferol en yüksek düzeyde ölçülmüş ve bu bileşiğin miktarının kavurma işlemi ile önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kayısı, Çekirdek, Yağ, Antioksidan, Kolesterol, Oksidatif Stabilite, Tokoferol.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

INVESTIGATION OF OXIDATIVE STABILITY AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF APRICOT KERNEL OIL

Gökhan DURMAZ

Inonu University
Institute of Natural Sciences
Department of Chemistry

xii + 85 pages
2008

Advisor: Türkan KUTLU, Asst. Prof.

In this study, with the aim of determination the effect of roasting on antioxidant properties and oxidative stability of apricot kernel oil, the kernels roasted for 5, 10, 15, 20 and 30 min at 180 °C and oils were obtained by solvent extraction. Oxidative stability were determined by the predictive methods; DSC, Rancimat and FT-IR methods and measurement based methods; Peroxide value, *p*-anisidine value determinations. Antioxidant activity tests were applied to both bulk oils and methanolic oil extracts. Tocopherol isomers and fatty acids were also determined.

In this work, blood cholesterol and liver catalase, glutathione peroxidase and malondialdehyde levels of rats, fed with diet containing apricot kernel oil, were determined and compared with the animals fed with sunflower containing diet.

Among apricot kernel oil samples, 15 and 20 min roasted samples showed the lowest and 5 min roasted sample showed the highest peroxide values. Similar results were obtained from *p*-anisidine tests. According to the results obtained from predictive oxidative stability tests, depending of the method, 15, 20 and 30 min roasted samples showed the longest induction periods.

Antioxidant activities of samples increased by roasting, but increases in antioxidant activity of methanolic extract were more remarkable in comparison to bulk oils.

Apricot kernel oil, caused increase in LDL and total cholesterol levels, whereas cause decrease in HDL and triglyceride levels. On the other hand, apricot kernel oil affected liver antioxidant parameters by elevating catalase and glutathione peroxidase and lowering malondialdehyde levels.

Apricot kernel oil which were found to rich in oleic and linoleic acids, found to contain γ -tocopherol as a major tocopherol isomer. The amount of this compound was decreased by roasting degree.

Keywords: Apricot, Kernel, Oil, Antioxidant, Cholesterol, Oxidative Stability, Tocopherol.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında beni yönlendiren ve her konuda anlayışını esirgemeyen danışman hocam Sn. Yrd.Doç.Dr. Türkan KUTLU'ya;

Her zaman desteğini hissettiğim kıymetli hocalarım Sn. Prof.Dr. Muhittin YÜREKLİ, Prof.Dr. Turgay SEÇKİN, Prof.Dr. İsmail ÖZDEMİR, Doç.Dr. Fikret KARATAŞ, Doç.Dr. İsmet YILMAZ, Doç.Dr. Mehmet ALPASLAN ve Yrd.Doç.Dr. M.Şevket ÇETİN, Yrd.Doç.Dr. Yunus ÖNAL'a;

Deneysel çalışmalarımda bilgi ve birikimlerinden çok yararlandığım değerli mesai arkadaşlarım Sn. Dr. İhsan KARABULUT, Dr. Adnan HAYALOĞLU, Dr. Süleyman KÖYTEPE ve Dr. Meltem ASİLTÜRK, Dr. Burhan ATEŞ, Dr. Selim ERDOĞAN, Dr. Serpil Demir, Arş.Grv. Ali ERDOĞAN ve Arş.Grv. İncilay GÖKBULUT'a;

İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizikokimya laboratuvarı çalışanlarına,
Çalışmalarım sırasında bana fedakârca yardım eden değerli öğrencilerim Adnan ATA ve İlhan FIRAT'a;

Materyal temininde yardımlarını gördüğüm Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Akçin Gıda San. Tic. Aş. ve Şitoğlu Gıda yönetici ve çalışanlarına,
Analizlerime destek veren Fiskobirlik A.Ş. Entegre tesisleri laboratuvar çalışanlarına,

ve bana gerek yüksek lisans ve gerekse doktora dönemimde katlanan ve her zaman desteğini arkamda hissettiğim sevgili eşim Işıl DURMAZ'a;

Teşekkür ederim.

Ayrıca,

2004-10 no'lu proje kapsamında bu çalışmayı destekleyen **İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine**,

Çalışmama maddi destek sağlayan **Malatya Valiliği Kayısı Araştırma ve Geliştirme Vakfına** teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1 GİRİŞ	1
1.1 Lipid ve Yağ Kavramı	2
1.2 Yağ Oksidasyonu ve Oksidatif Stabilite.....	2
1.2.1. Yağ oksidasyonunu etkileyen faktörler ve oksidatif dayanımı artırma yolları.....	7
1.2.2. Oksidatif bozulma ürünleri	7
1.2.2.1. Birincil oksidasyon ürünleri	8
1.2.2.2. İkincil oksidasyon ürünleri	9
1.2.3. Oksidatif stabilite belirleme testleri.....	11
1.2.3.1. Ağırlık artışı.....	11
1.2.3.2. Aletli analizler	11
1.2.3.3. Peroksit sayısı	13
1.2.3.4. <i>p</i> -anisidin değeri	13
1.2.3.5. TBA değeri	14
1.2.3.6. Konjuge dien ve trienlerin belirlenmesi	14
1.3. Antioksidan Aktivite ve Antioksidanlar	14
1.3.1. Yağlarda bulunan antioksidan bileşikler	17
1.3.1.1. Tokoller (tokoferoller ve tokotrienoller)	18
1.3.1.2. Karotenoidler	20
1.3.1.3. Fenolik bileşikler	20
1.3.2. Yağlarda toplam antioksidan kapasite tayinleri.....	21
1.4. Kavurma İşleminin Yağlara ve Yağlı Tohumlara Etkileri.....	22
1.4.1. Lipid sınıflarına etkisi.....	23
1.4.2. Tokoferoller ve tokotrienoller üzerine etkisi	23
1.4.3 Renk üzerine etkisi	23

1.4.4.	Yağ asidi bileşimi üzerine etkisi.....	24
1.4.5.	Aroma üzerine etkisi.....	24
1.4.6.	Oksidatif durum üzerine etkisi.....	24
1.4.7.	Protein-yağ ve karbohidrat-yağ arasındaki etkileşimlere etkisi.....	25
2.	KAYNAK ÖZETLERİ.....	26
3.	MATERYAL VE METOD	29
3.1.	Kullanılan Kimyasallar	29
3.2.	Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar.....	29
3.3.	Materyal.....	29
3.4.	Metod.....	29
3.4.1.	Kavurma işlemi.....	29
3.4.2.	Yağ eldesi	30
3.4.3.	Antioksidan kapasite testleri.....	30
3.4.3.1.	Yağlarda yapılan direkt antioksidan testler	30
3.4.3.2.	Yağ metanol ekstraktlarında antioksidan testler.....	32
3.5.	Oksidatif Stabilite Testleri.....	33
3.5.1.	Peroksit sayısı	33
3.5.2.	<i>p</i> -anisidin sayısı	33
3.5.3.	FT-IR analizleri	34
3.5.4.	DSC analizleri.....	35
3.5.5.	Ransimat testi.....	36
3.6.	Yağ Analizleri.....	37
3.6.1.	Yağ asidi bileşimi	37
3.6.2.	Tokoferol analizi.....	38
3.7.	Deney Hayvanı Çalışmaları.....	38
3.7.1.	Hayvanlar ve diyet.....	38
3.7.2.	Hayvanların kesimi	39
3.7.3.	Dokuların homojenizasyonu.....	40
3.7.4.	Protein tayini.....	40
3.7.5.	Enzim aktivite tayinleri.....	41
3.7.5.1.	Katalaz aktivite tayini	41
3.7.5.2.	Glutasyon peroksidaz aktivite tayini	42
3.7.5.3.	TBARS metoduyla lipid peroksidasyonunun belirlenmesi	42
3.7.6.	Kan kolesterol ve trigliserid düzeylerinin belirlenmesi.....	42

3.8.	İstatistiksel Analiz	43
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	44
4.1.	Antioksidan Kapasite Testleri.....	44
4.1.1.	Yağarda direkt antioksidan testler	44
4.1.2.	Yağ metanol ekstraktlarında antioksidan testler	45
4.2.	Oksidatif Stabilit� Testleri	48
4.2.1.	Peroksit sayısı	48
4.2.2.	<i>p</i> -anisidin değeri	49
4.2.3.	FT-IR analizleri	51
4.2.4.	Diferansiyel taramalı kalorimetre testleri	53
4.2.5.	Ransimat testi.....	55
4.3.	Yağ Analizleri.....	56
4.3.1.	Yağ asidi bileşimi	56
4.3.2.	Tokoferol analizi.....	59
4.4.	Deney Hayvanı Çalışmaları	60
4.4.1.	Kan lipid parametreleri	60
4.4.2.	Karaciğer antioksidan parametreleri.....	62
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	63
6.	KAYNAKLAR	74
	ÖZGEÇMİŞ	83
	EKLER	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Bir trigliserid molekülü. R^1 , R^2 ve R^3 ; trigliserid molekülüne bağlanan yağ asitlerinin hidrokarbon kısmını göstermektedir.....	3
Şekil 1.2.	Oleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler.....	8
Şekil 1.3.	Linoleik asidin oksidasyon basamaklarının gösterimi.....	9
Şekil 1.4.	İkincil yağ oksidasyon ürünleri ve oluşum basamakları.....	10
Şekil 1.5.	<i>p</i> -Anisidin reaktifinin ikincil reaksiyon ürünü aldehitlerle reaksiyon verip renkli bileşik oluşturma mekanizması.....	13
Şekil 1.6.	Tokoferol ve tokotrienol yapıları.....	18
Şekil 1.7.	Tokoferolün oksidasyon basamakları ve oluşan ürünler	19
Şekil 3.1.	Örnek bir Trolox standart grafiği.....	31
Şekil 3.2.	20 dk kavrulmuş kayısı çekirdeği örneğinin 968 cm ⁻¹ dalga sayısı değerinde 130 °C'de 280 dk boyunca FT-IR absorbansında görülen değişimin grafik olarak gösterimi Grafikte ani değişimin görüldüğü yer indüksiyon zamanı olarak kaydedilmiştir.	35
Şekil 3.3.	DSC indüksiyon zamanının nasıl belirlendiğinin grafik üzerinden gösterimi.....	36
Şekil 3.4.	Örnek bir Ransimat grafiği. Dikey çizgi indüksiyon zamanını göstermektedir. ...	37
Şekil 4.1.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının DPPH radikal süpürme güçleri. (RSG: 1 gram yağın µg trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme gücü). Barların üzerinde görülen indisler, grupların istatistiksel gruplarını göstermektedir ($P<0,05$).	44
Şekil 4.2.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının ABTS radikal süpürme güçleri. (RSG: 1 gram yağın µg trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme gücü)....	45
Şekil 4.3.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının DPPH radikal süpürme güçleri. (RSG; 1 gram yağdan elde edilen metanol ekstraktının mikrogram trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme gücü).....	46
Şekil 4.4.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının ABTS radikal süpürme güçleri. (RSG; 1 gram yağdan elde edilen metanol ekstraktının µg trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme gücü)	47
Şekil 4.5.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının hızlandırılmış oksidasyon koşullarında β-karotenin beyazlamasına etkisi.....	48
Şekil 4.6.	Fırın oksidasyon testinin 22. günü itibariyle örneklerin gösterdiği peroksit sayısı değerleri (milieşdeğer gram oksijen/kg yağ).	49

Şekil 4.7.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında peroksit sayısındaki (milieşdeğer gram oksijen/kg yağ) değişim. ...	49
Şekil 4.8.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında <i>p</i> -anisidin değerindeki değişim.	50
Şekil 4.9.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında 22. günde gösterdikleri <i>p</i> -anisidin değeri.....	51
Şekil 4.10.	Kavrulmamış ve okside olmamış kayısı çekirdeği yağının FT-IR spektrumu. Sol üst köşedeki küçük şekilde mısır yağının FT-IR spektrumu görülmektedir.....	52
Şekil 4.11.	Kavrulmamış kayısı çekirdeği örneğinin FT-IR hücresinde 130 °C bekletilirken başlangıçta, 160. dk'da ve 360. dk'da alınan spektrumlarından bir kesit.....	52
Şekil 4.12.	Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların izotermal DSC indüksiyon süreleri.....	55
Şekil 4.13.	Aktif oksijen metodu (Ransimat metodu) ile hızlandırılmış oksidasyon koşullarında farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği örneklerinin 110 °C'de indüksiyon periyodları.	56
Şekil 4.14.	Yağ asidi metil esteri karışımının (37 adet yağ asidi) GC-FID kromatogramı. ...	57
Şekil 4.15.	Kavrulmamış kayısı çekirdeği yağı için elde edilen GC-FID kromatogramı.	57
Şekil 4.16.	Standart tokoferol karışımının HPLC-DAD kromatogramı (pikler; 1:α-tokoferol, 2:β-tokoferol, 3:γ-tokoferol ve 4:δ-tokoferol)	59
Şekil 4.17.	Kavrulmamış kayısı çekirdeği yağının tokoferol analizi için alınan HPLC kromatogramı.....	60
Şekil 4.18.	Farklı diyetlerle beslenen deney sıçanlarının kan LDL, HDL, Toplam kolesterol ve trigliserid düzeyleri.	61
Şekil 4.19.	Farklı diyetlerle beslenmiş deney sıçanlarının karaciğer antioksidan parametreleri (CAT: Katalaz, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, MDA: Malondialdehit).	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı ikincil oksidasyon ürünü aldehitler, oluştukları yağ asitleri, hidroperoksit türleri ve oluşan aromalar.	11
Çizelge 1.2. Bazı reaktif oksijen türleri	15
Çizelge 1.3. Bazı bitkisel yağlarda mg/kg olarak tokoferol izomerlerinin miktarları	19
Çizelge 1.4. Bazı yağlı tohumların içerdiği karakteristik fenolik bileşikler	21
Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemlerin gruplara göre bileşimi.	39
Çizelge 3.2. Yemlere katılan vitamin&mineral karışımının bileşimi.	39
Çizelge 4.1. Şekil 4.10.'deki FT-IR spektrumundaki piklerin açıklamaları	53
Çizelge 4.2. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların FT-IR spektrumlarında bazı dalga sayılarında indüksiyon zamanları. İndüksiyonun görüldüğü dalga sayılarının hangi kimyasal yapılara ait olduğunun belirlenmesi için literatür bilgilerinden faydalanılmıştır.	54
Çizelge 4.3. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeğinin yağ asidi bileşimi.	58
Çizelge 4.4. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağlarda tokoferol izomerlerinin miktarları (mg/kg yağ).....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS	2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate
ANOVA	Varyans (değişkenlik) analizi
AOCS	American Oil Chemists' Society
ATR	Attenuated total reflectance (azaltılmış toplam yansıma)
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
BSA	Sığır serum albümini
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
FAME	Yağ asidi metil esteri
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi
GC	Gaz kromatografisi
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz
GSSH	Okside glutatyon
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	Malondialdehit
MS	Kütle spektroskopisi
OD	Optik yoğunluk
PBS	Fosfat tamponu tuzu
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
RSG	Radikal süpürme gücü
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif türler
TLC	İnce tabaka kromatografisi
TROLOX	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid
UV-VIS	Mor ötesi-Görünür bölge
•	Radikal yapı (paylaşılmamış elektron)

1. GİRİŞ

Kayısı (*Prunus armeniaca* L.), gülgiller familyasından sert çekirdekli bir meyvedir [1]. Kayısı, özellikle Akdeniz ülkelerinde, Rusya, İran, Pakistan, Amerika Birleşik Devletleri ve Türkiye’de bol miktarda üretilmektedir. Türkiye, Dünya üzerinde kayısı üretimi yapan ülkelerin başında gelmektedir. FAO kaynaklarına göre Türkiye’de yıllık yaş kayısı üretimi 500 bin ton ve kuru kayısı üretimi de 120 bin ton civarındadır. Dünya üzerinde yapılan toplam yaş kayısı üretimi ise 2,2-2,7 milyon ton civarındadır. Dünya kuru kayısı üretiminin yaklaşık % 80-85’i Malatya ve yöresi tarafından karşılanmaktadır ve bundan dolayı da Malatya yöresi kayısı üretiminde özel bir yere sahiptir [2].

Kayısı meyvesi, ağırlıkça yaklaşık % 16 civarında kabuklu çekirdek içerir. Bu çekirdeğin de ortalama % 20’si iç çekirdektir. Dolayısıyla çekirdek içi, meyvenin yaklaşık % 3’ünü oluşturmaktadır. Kayısı çekirdeği içi yaklaşık % 50 civarında yağ, yaklaşık % 20 civarında da protein içermektedir [3]. Kayısı çekirdeği yağı, yenilebilir özellikte bir yağdır ve başlıca yağ asidi olarak oleik asit (% 58,3-73,4) ve linoleik asit (% 18,8-31,7) içermektedir [1]. Bu oranlar kayısı çekirdeği yağının tekli doymamış yağ asitlerince zengin ve doymuş yağ asitlerince de fakir bir yağ olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan kayısı çekirdeği yağı karakteristik ağaç tohum yağı özellikleri gösterir [4]. Kayısı çekirdeği yağı, γ - tokoferolce zengin bir yağdır ve bu antioksidan bileşiğin kayısı çekirdeği yağındaki miktarı, 475 mg/kg düzeyine kadar çıkabilmektedir. Bunun yanında miktar olarak daha az olmakla birlikte kayısı çekirdeği yağı, α ve δ tokoferol de içermektedir. β - tokoferol miktarı ise iz düzeydedir [5]. Kayısı çekirdeği içi, genellikle çerez olarak tüketilmekte olup bunun yanında kozmetik ve ilaç sanayinde de yaygın olarak kullanılmaktadır [6].

Meyve tohumlarının, özellikle de yağlarının, içerdikleri biyoaktif bileşiklerden dolayı sağlıkla ilgili olumlu etkileri olan gıdalar oldukları bilinmektedir. Bu yağlı tohumların tüketilmesiyle koroner kalp hastalıkları riskinin azaldığı, yapılan bazı klinik çalışmalarla gösterilmiştir [7]. İlk bakışta, tohumlar, içerdikleri yüksek oranda yağlardan dolayı sağlıksızmış gibi görünse de, bu yağların özellikle tekli doymamış yağ asitlerince zengin olması, kan kolesterol düzeylerini aşağı çekmelerini sağlamaktadır [8]. Fındık, antepfıstığı, ceviz, badem gibi, kayısı çekirdeği içi de çerezlik olarak bol miktarda tüketilen bir yağlı tohumdur. Bu tohumun içerdiği yağın, fiziksel ve kimyasal

özellikleri bakımından incelenmesi, yöremiz açısından hayati önem arz eden kayısının bir yan ürünü olması bakımından da gereklidir.

Son yıllarda artan dünya nüfusu ve tükenen kaynaklar, ciddi gıda krizlerinin gündeme gelmesine neden olmuştur. Küresel ısınma, bitki zararlılarıyla mücadelenin zorlaşması, hava ve su kirlenmesi gibi faktörler bu krizin ağırlaşmasında başlıca etmenlerdir. Bitkisel yağlar ve bunların elde edildiği yağlı tohumlar konusunda da son yıllarda ciddi sıkıntılar yaşanmaktadır. Bu sıkıntı tüketiciye kadar yansımış ve perakende fiyatlarının artışına sebep olmuştur. Mevcut yağlı tohumlarda zirai verimi arttırmak ve alternatif yenilebilir yağ kaynaklarını araştırmak bu krizin aşılmasında iki temel çıkış yolu olarak görülmektedir. Ortalama yıllık kayısı üretim verileri ve çekirdek içinin yağ oranı hesaba katıldığında, basit bir hesaplama Malatya yöresinde üretilen kayısı çekirdeklerinden elde edilecek yağ miktarının 5-10 bin ton civarında olacağı tahmin edilebilir [1]. Ülkemizin diğer yörelerinde üretilen kayısılar da hesaba katıldığında bu miktar daha da artabilecektir. Dolayısıyla kayısı çekirdeği, alternatif bir yağ kaynağı olarak değerlendirilebilecek bir potansiyele sahiptir.

Oksidatif stabilite, yağlar açısından önemli bir kalite kriteridir ve belli bir yağın raf ömrünü belirleyen temel faktördür. Bir yağın oksidatif stabilitesini de; o yağın içerdiği antioksidan bileşikler, doymuş/doymamış yağ asidi oranı ve yağın elde edilişi sırasında gördüğü endüstriyel işlemler belirlemektedir. Yüksek sıcaklıklarda ısıtma işlemi, yağlı tohumların yağa işlenmesinde ve birçok gıdanın tüketime hazırlanmasında, yaygın bir uygulamadır. Bu ısıtma işlemlerinin elde edilen yağlara etkisi, araştırılması gereken bir husustur.

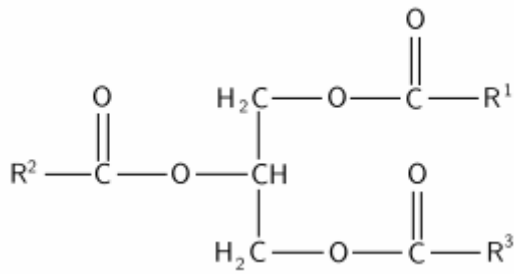
Bu tezin temel amacı kayısı çekirdeği yağının antioksidan kapasitesini ve oksidatif dayanımını belirlemek ve kavurma işleminin buna etkisini araştırmaktır. Ayrıca kayısı yağı katkılı yem tüketimiyle, deney hayvanlarının kan kolesterol düzeylerindeki ve karaciğer antioksidan parametrelerindeki değişimler de bu tez kapsamında araştırılmıştır.

1.1. Lipid ve Yağ Kavramı

Türkçemizde çoğu zaman birbirini yerine kullanılsa da aslında “yağ” sözcüğüyle triaçilgliseroller (trigliseridler), “lipid” kavramıyla da triaçilgliseroller de dâhil olmak üzere fosfolipidler, mono ve digliseridler, yağ asitleri, glikolipidler, mumlar, karotenoidler, terpenler gibi birçok molekül yapısını da içine alan bir aile

kastedilmektedir. Ancak gıdalarda bulunan lipidlerin, oldukça yüksek bir oranda trigliseridlerden oluştuğunu düşünürsek bu iki kavramın birbiri yerine kullanılması bu anlamda normaldir [9]. Bu tez metninde, yağ kavramıyla büyük oranda trigliseridlerden oluşan gıdasal lipidler kastedilmektedir.

Bir trigliserid molekülü, adından da anlaşılacağı üzere bir mol gliserol ve 3 mol yağ asidinin esterleşmesiyle oluşmaktadır. Yağ asitlerinin karboksil uçları ve gliserolün de üç hidroksil grubu bu esterleşme sonucunda kapandığı için trigliserid yapıları oldukça apolar özellik göstermektedir. Bu apolar özelliklerinden dolayı suda çözünürlükleri yok denecek kadar düşük, organik çözücülerde ise yüksektir [10].



Şekil 1.1. Bir trigliserid molekülü. R^1 , R^2 ve R^3 ; trigliserid molekülüne bağlanan yağ asitlerinin hidrokarbon kısmını göstermektedir.

1.2. Yağ Oksidasyonu ve Oksidatif Stabilite

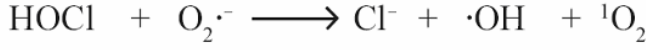
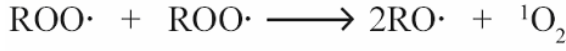
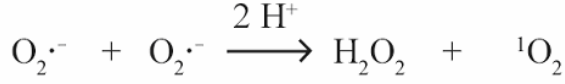
Oksidatif stabilite, yağların oksidatif bozulmalara karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanabilir. Bu stabilite, genellikle oksidasyon için geçen sürenin uzunluğu ile ifade edilir. Oksidatif reaksiyonlardaki ani hızlanma (indüksiyon) veya tat ve aromada meydana gelen hızlı değişimlere kadar geçen sürenin uzunluğu oksidatif stabilite hakkında fikir vermektedir [11].

Yağların oksidasyonu, gıda bozulmalarının en önemli sebeplerinden biridir. Birçok gıda maddesi az veya çok yağ içerdiğinden dolayı, yağ oksidasyonu gerek ekonomik açıdan gerekse de insan sağlığı bakımından ciddi bir önem taşımaktadır. Yağ oksidasyonu, gıdalarda istenmeyen tat ve aromaların oluşmasına neden olduğu gibi besin değerinde de azalmalara yol açmaktadır. Öte yandan bazı gıdalarda ise belli oranda yağ oksidasyonu istenen aromanın oluşması için istenen bir durumdur. Sözgelimi peynirin, sucuk ve salam gibi et ürünlerinin olgunlaşması, kavurma ve kızartma işlemleri

sırasında yağ oksidasyonu gerçekleşmekte, istenen aromanın oluşumuna katkı sağlamaktadır [12].

Canlı dokusunda da lipidler okside olabilmektedir. Özellikle hücre zarı ve diğer hücrel membranlar lipidlerce zengin bölgelerdir. Bu bölgelerde meydana gelen oksidatif bozulmalar hücre geçirgenliğinde ve diğer hücre fonksiyonlarında bozulmalara neden olur. Canlı dokusunda okside edici ajanların antioksidan faktörlere oranla artması durumunda oksidatif stres denilen durum ortaya çıkar ve hücrel lipidlerde ve diğer makro moleküllerde oksidatif hasarlar meydana gelir. Bu durum genellikle çeşitli hastalıkların ve düzensizliklerin ortaya çıkmasıyla kendini gösterir. Araştırmacılar kanser, romatizma, katarakt gibi birçok hastalığın sebebinin okside edici ajanlar olduğunu ortaya koymuşlardır [13].

Yağ oksidasyonuna oto-oksidasyon da denilmektedir. Bunun temel nedeni, yağların havadaki oksijenle genellikle herhangi bir dış katalizöre ihtiyaç duymadan kendiliğinden reaksiyon verme kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır. Diğer bir deyişle yağlar kendi oksidasyonlarını katalizleyen moleküllerdir. Oysa doymuş yağ asitlerince zengin lipidlerin oksijen varlığında direkt olarak reaksiyona girmesi, aktivasyon enerjisinin yüksek olmasından dolayı termodinamik açıdan zor bir olaydır. Fakat aynı koşullarda singlet oksijenin yağlarla reaksiyona girip radikal ürünler oluşturması için gerekli aktivasyon enerjisi oldukça düşüktür [14]. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) aslında bir radikal değildir ancak son yörüngesindeki elektronların dönüş yönü bakımından triplet oksijen molekülünden farklıdır ve oldukça reaktiftir. Oksijen molekülü normalde doğada triplet formunda ($^3\text{O}_2$) bulunur. Bu formda oksijenin son yörüngesinde paylaşılmamış halde bulunan iki elektron iki farklı yörünge izlerler. Organik moleküller ise genellikle singlet formda bulunur, yani son yörüngelerindeki elektronlar zıt istikamette dönüş yapmaktadır. “Pauli Exclusion” prensibine göre singlet formda olan bir molekülün triplet formdaki bir molekülle reaksiyona girmesi olanaksızdır. Bu yüzden de oksijenle iç içe yaşadığımız halde oksijen, organizmamızdaki organik moleküllere zarar vermemektedir. Oysa singlet oksijen, son yörüngesindeki elektronlar zıt istikamette dönüş yaptığı için organik moleküllerle çok kolay reaksiyona girebilmekte ve onları radikal forma geçirebilmektedir. Singlet oksijen biyolojik sistemlerde aşağıda görüldüğü gibi süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) veya peroksil radikalinin ($\text{ROO}^{\bullet}$) parçalanmasıyla, hipoklorik asitin (HOCl) süperoksit radikaliyle etkileşimi gibi mekanizmalarla oluşmaktadır [15].

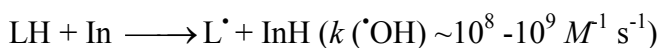


Yağların oksidatif stabilitesi, bu yağların içerdiği antioksidan bileşiklerle doğrudan ilgilidir. Aynı bileşime sahip iki yağdan, antioksidanlarca zengin olanının oksidatif stabilitesinin daha yüksek olduğu bilinen bir gerçektir. Bu antioksidanların, yağ stabilitesini arttırmasının yanında, bu yağı tüketen insanların sağlığı açısından da önemi büyüktür. Nitekim tokoferollerin temel kaynağı bitkisel yağlardır ve bu yönden eksik beslenen bir bireyde bazı düzensizliklerin görülmesi olağandır. Bitkisel yağlar kendilerine özgü antioksidan profillere sahiptir. Sözelimi zeytinyağı diğer tüm yağlara göre çok daha yüksek oranda fenolik bileşik içerirken, buğday rüşeym yağı oldukça yüksek miktarlarda tokoferol içermekte, susam yağı ise sesamol ve sesamolin gibi kendine has antioksidanlar içermektedir. Aynı zamanda, yağlar birbirinden farklı doymamış ve doymuş yağ asidi profillerine sahiptir. Bunların yanında fosfolipid oranları ve diğer minör bileşikler de hesaba katarsak, farklı bitkilerden elde edilen yağların birbirinden farklı oksidatif stabilite değerleri göstereceği açıktır [16].

Yağ oksidasyonu tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonu şeklinde gerçekleşir. Radikaller, eşleşmemiş elektronlarını verme bakımından çok reaktif olduklarından dolayı, yakınında bulundukları organik moleküllerle kolayca reaksiyona girebilmekte ve bu molekülleri radikal forma geçirebilmektedirler. Çoklu doymamış yağ asitleri, içerdikleri çift bağlardan dolayı, oksidasyona doymuş yağ asitlerine göre daha elverişlidirler. Bunun sebebi hidroksil radikali gibi radikalik bir yapının yağ molekülünden hidrojen koparabilmesi için enerjisi düşük bağları seçmesidir. Çift bağlarda hidrojenin karbonla yaptığı bağın enerjisi tekli bağlara göre düşük olduğu için, doymamış yağ asitlerinin oksidasyona yatkınlığı daha fazladır [17].

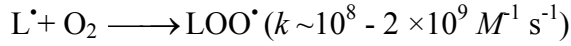
Yağ peroksidasyonunu basamak basamak incelersek [18] ;

Başlangıç (Initiation)

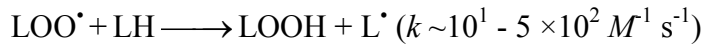


In: Initiator (başlatıcı faktörler) varlığında yağlar bir hidrojen kaybederek lipid radikalini ($L^\bullet$) oluşturur. Başlatıcı faktörler ortamda bulunan radikaller (hidroksil $^\bullet\text{OH}$, peroksil $\text{ROO}^\bullet$, alkoksil $\text{RO}^\bullet$ ve alkil $L^\bullet$) olabildiği gibi, UV ışınlar ve singlet oksijen gibi non-radikal etmenler de olabilir.

Gelişme (Propagation)

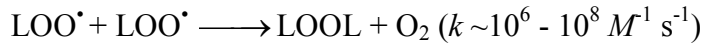


Lipid alkil radikali, moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalini oluşturur.



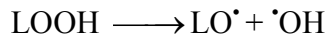
Peroksil radikali, başka bir doymamış yağdan hidrojen kopararak hidroperoksit (LOOH) ve başka bir lipid radikalini ($L^\bullet$) oluşturur.

Sonlanma (Termination)

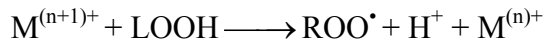
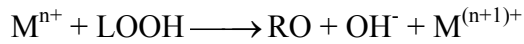


Peroksil radikalleri birbiriyle reaksiyona girerek radikal olmayan son ürünler oluştururlar.

İkinci başlangıç



Metal katalizörlüğünde oksidasyon



1.2.1. Yağ oksidasyonunu etkileyen faktörler ve oksidatif dayanımı arttırma yolları

Yağlar, içerdikleri farklı yağ asidi türleri ve dolayısıyla da trigliserid türlerinin çeşitliliği sebebiyle oksidasyona karşı farklı dirençler gösterirler. Bunun yanında yağlarda bulunan diğer lipid fraksiyonları ve lipid olmayan maddeler de oksidasyon üzerinde etkili olmaktadır. Bu yağ dışı bileşenler gerek trigliserid molekülleriyle, gerek okside edici ajanlarla gerekse de oksidasyon ürünleriyle çeşitli reaksiyonlara girebilmektedir. Bundan dolayı da oksidasyon olayı oldukça kompleks ve çok yönden incelenmesi gereken bir süreçtir [19].

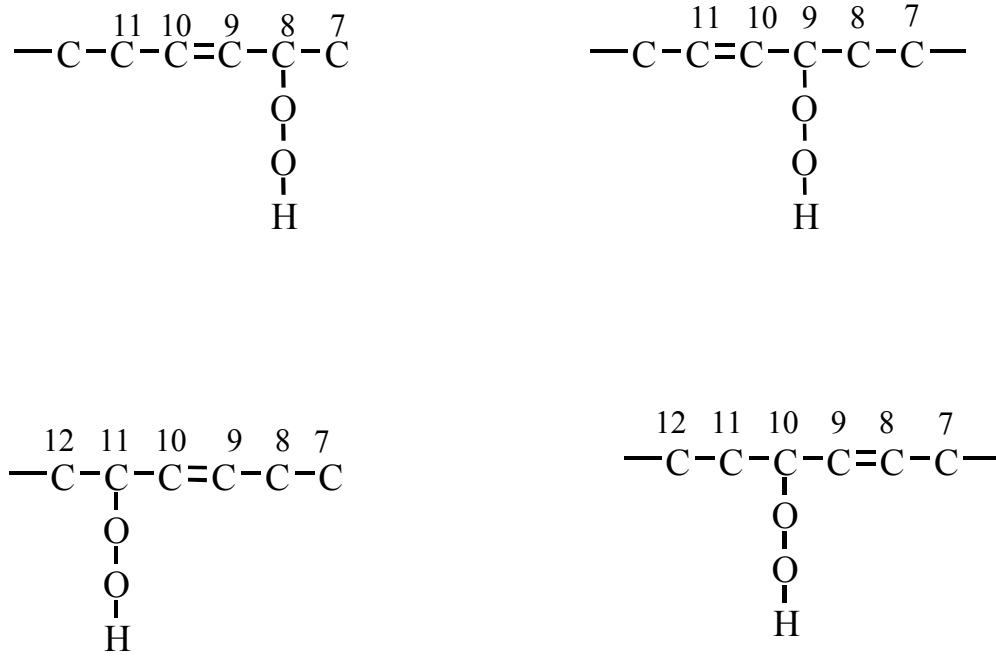
Oksidatif bozulmanın olmazsa olmaz koşulu oksijen olduğuna göre, yağın oksijenle temasının kesilmesi en etkili koruma yolu olmaktadır. Yağların işlenmesi sırasında uygulanan deodorizasyon işlemi ile hem kötü kokular giderilmekte hem de yağ içerisinde eser düzeyde bulunan oksijen uzaklaştırılmaktadır. Bu basamaklarda yağın temas ettiği atmosfer azot veya azot-karbondioksit karışımından oluşan inert bir gazla oluşturulursa, yağın stabilitesi daha da arttırılabilir. Oksidasyonu hızlandıran diğer bir etmen olan sıcaklığın düşük tutulması ve yağların ışıktan uzak tutulmasıyla da oksidatif bozulmalar geciktirilebilmektedir. Yağa işlenen tarım ürünlerinin ilaçlanması, gübrelenmesi, hasat ve işlenmesi sırasında bulaşan metallerin etkisiyle de oksidatif bozulmalar hızlanmaktadır. Bu metallerin bir şekilde tutulması da oksidatif dayanımı arttırmaktadır. Tüm bunlarla birlikte yağlarda doğal olarak bulunan antioksidan maddelere ilaveten harici olarak katılacak antioksidanlar, oksidatif stabilitenin arttırılmasını sağlamaktadır [20].

1.2.2. Oksidatif bozulma ürünleri

Oksidatif bozulmalar sonucunda normalde yağda bulunmayan birçok yeni bileşik ortaya çıkmaktadır. Bu bileşiklerden bazıları yağa acımsı bir tat vererek “ransidite” dediğimiz olaya yol açmaktadır. Uçucu olan bazı bileşikler ise kokuda belirgin değişikliklere yol açmaktadır. Yağ oksidasyon ürünleri ayrıca yağın viskozite, renk, berraklık gibi fiziksel bazı özelliklerini de etkilemektedir [11].

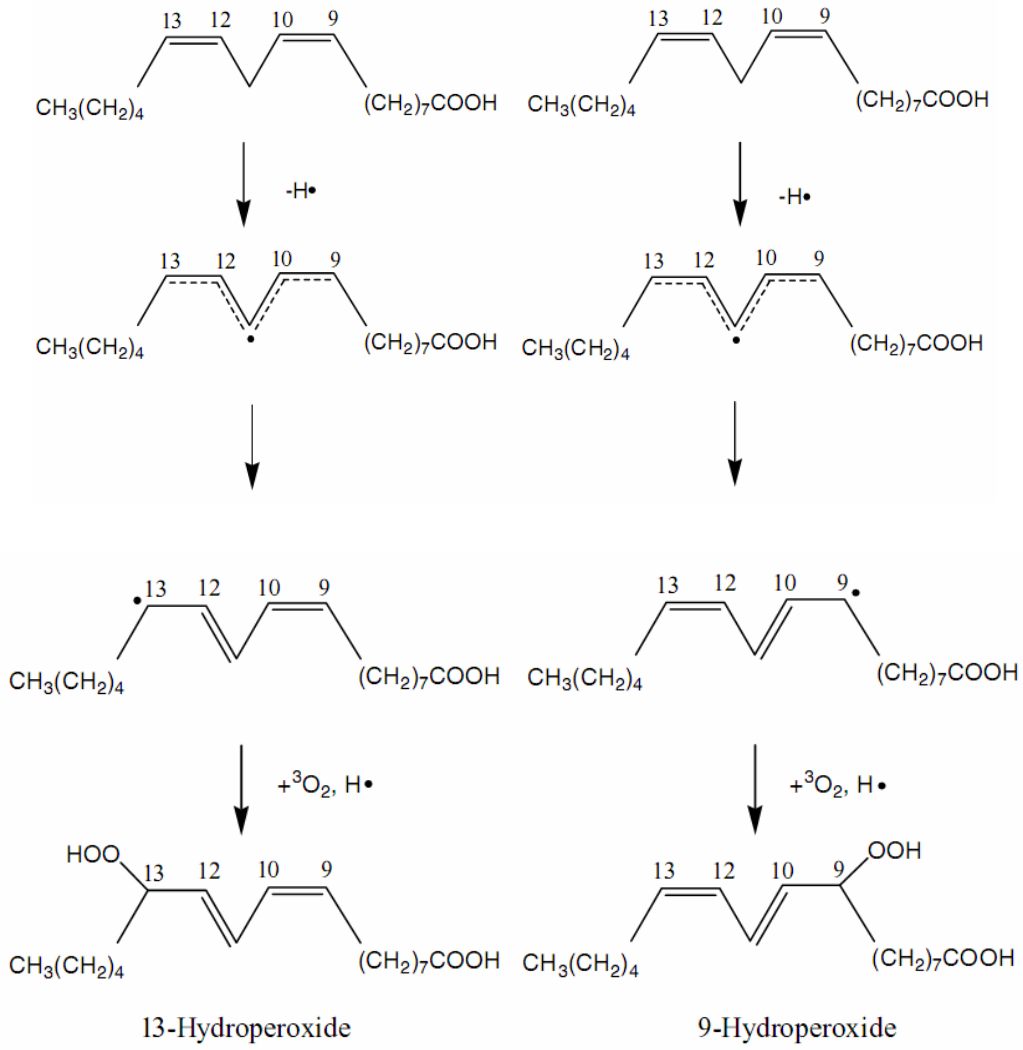
1.2.2.1. Birincil oksidasyon ürünleri

Yağ oksidasyonunun başlatıcı etmenlerin etkisiyle tetiklenmesinden sonra oluşan; lipid radikalleri, konjuge dienler, trienler ve hidroperoksitler, birincil oksidasyon ürünleri olarak ortaya çıkmaktadır. En önemli birincil oksidasyon ürünleri hidroperoksitlerdir ve oldukça çeşitlilik gösterirler. Oleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Oleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler.

Şekil 1.3’de ise linoleik asidin oksidasyon basamakları ve hidroperoksit oluşumu görülmektedir. Burada yağ asidinden 1 hidrojen koparılmasıyla meydana gelen lipid alkil radikali kararsız bir yapıdadır ve kararsızlık 9. ve 13. karbonlar arasında elektron paylaşımına dayalı bir rezonans oluşturur. Bu kararsız molekül, oksidasyona çok açıktır ve triplet oksijen çift bağa konjuge konumda olacak şekilde, 9 veya 11 numaralı karbona bağlanır ve lipid hidroperoksitleri oluşur [11].

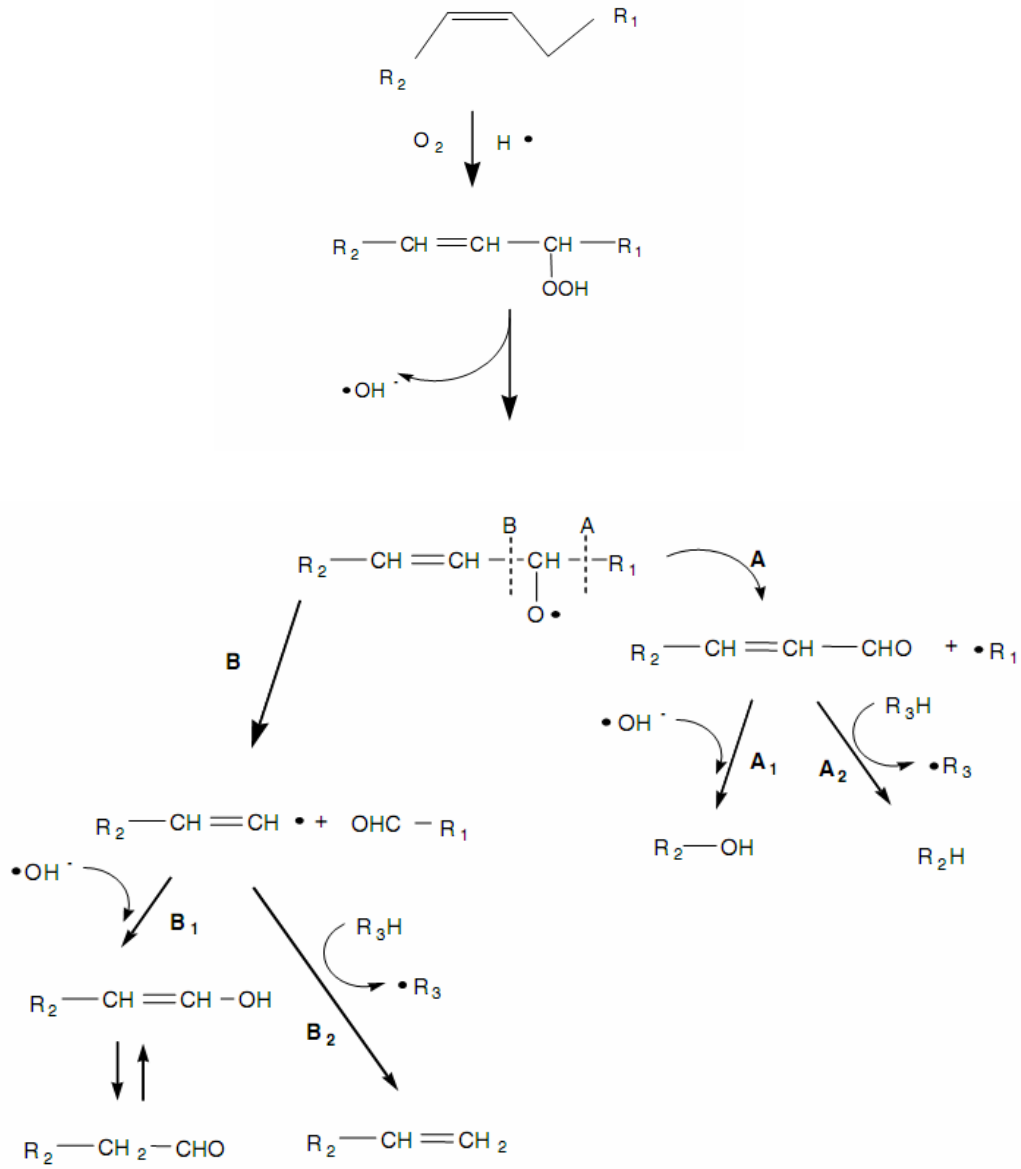


Şekil 1.3. Linoleik asidin oksidasyon basamaklarının gösterimi.

1.2.2.2. İkincil oksidasyon ürünleri:

Hidroperoksitler oldukça kararsız bileşiklerdir ve oksidasyonun ilerleyen basamaklarında parçalanarak ikincil oksidasyon ürünlerini oluştururlar. İkincil oksidasyon ürünlerinin bileşimi ve miktarı yağın kimyasal kompozisyonuna, prooksidanların varlığına ve oksidasyon koşullarına bağlı olarak farklılık gösterir. Hidroperoksitlerin parçalanmasıyla; ketonlar, hidroksitler, alkoller ve eğer doymamış yağ asitleri söz konusuysa; epoksitler, dimerler ve oligomerler oluşur. İkincil oksidasyon ürünleri hidroperoksitlerdeki hidroperoksil grubuna komşu olan C-C bağının kopmasıyla ortaya çıkar. Bu kopmaya “β-parçalanması” adı verilmektedir [13]. İkincil oksidasyon ürünü olan doymamış aldehit ve ketonlar daha ileri düzeyde parçalanarak uçucu bileşenleri oluşturur. Propanal, hepta-2,4-dienal, n-3 PUFA’ların;

hekzanal ve pentan ise n-6 PUFA'ların uçucu oksidatif bozulma ürünleridir [21]. İkincil oksidasyon ürünlerinden malondialdehit (MDA: $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$) özellikle canlı dokularda oksidatif hasarın göstergesi olması bakımından önemli bir moleküldür. MDA özellikle hücre membranının oksidatif hasarı sonucu ortaya çıkan ve toksik özellikleri olan bir bileşiktir [13]. Bazı ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşum basamakları Şekil 1.4'de verilmiştir.



Şekil 1.4. İkincil yağ oksidasyon ürünleri ve oluşum basamakları [11].

Bazı ikincil oksidasyon ürünleri ve oluştukları yağ asitleri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı ikincil oksidasyon ürünü aldehitler, oluştukları yağ asitleri, hidroperoksit türleri ve oluşan aromalar [22].

Yağ asidi	Hidroperoksit	Meydana gelen aldehit	
		İsim	Aroma
Oleik (18:1)	8-OOH	2-undecenal	
		decanal	
	9-OOH	2-decenal, nonanal	
	10-OOH	nonanal	
Linoleik (18:2)	11-OOH	octanal	
	9-OOH	2,4-decadienal	Yağımsı, mumsu
		3-nonenal	
	13-OOH	hexanal	Ot tadı
Linolenik (18:3)	9-OOH	2,4,7-decatrienal	Boyamsı, balığımsı
		3,6-nonadienal	Sabunsu
	12-OOH	2,4-heptadienal	
		3-hexenal	Yeşil fasulye
	13-OOH	3-hexenal	Yeşil fasulye
	16-OOH	propanal	

1.2.3. Oksidatif stabilite belirleme testleri

1.2.3.1. Ağırlık artışı

Yağlar özellikle oksidasyon periyodunun ilk aşamalarında yapıya katılan oksijenden dolayı ölçülebilir bir ağırlık artışı gösterirler. Bu artış, balık yağı gibi hızlı okside olan bazı yağlarda % 0,3-0,5'e kadar yükselebilmektedir. Deneysel hata ihtimalinin yüksek olduğu bu yöntem yine de çabuk okside olan yağların oksidatif durumunu belirlemek için uygun bir metottur [23].

1.2.3.2. Aletli analizler

ESR (Electron Spin Resonance) spektroskopisi ile yağ oksidasyonu sonucu ortaya çıkan radikaller belirlenebilmektedir. Bu cihaz temel olarak paylaşılmamış elektronları tespit edebilmektedir. Çok titiz bir örnek hazırlık aşaması içermesi en önemli dezavantajıdır. HPLC ile UV dedektör kullanılarak 240 nm'de hidroperoksitler tespit edilebilmektedir. Benzer bir mantıkla GC-MS'de de hidroperoksitleri tayin etmek mümkündür. Ancak

her iki yöntemde de iç standart kullanımı tekrarlanabilirlik açısından mecburidir. UV spektrofotometre ile 233 nm’de konjuge dienler, 268 nm’de de trienler belirlenmektedir [21]. Gaz kromatografisi (GC), yağ oksidasyonu sonucu oluşan uçucu bileşiklerin belirlenmesi suretiyle yağın oksidatif durumu hakkında fikir vermektedir. Statik Headspace, dinamik headspace ve direkt injeksiyon yöntemleri bu amaçla en yaygın kullanılan üç GC tekniğidir [24]. Bir diğer güncel metot da yağ oksidasyon ürünlerinin Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenmesidir. Bu analiz, ya yağın KBr diskler arasında sıkıştırılması ya da FT-IR-ATR yönteminde olduğu gibi direkt yağın yüzeyinden ölçüm almak şeklinde gerçekleştirilmektedir. Yağ oksidasyonu sırasında oluşan hidroperoksitler (ROOH) FT-IR spektrumunda 3444 cm^{-1} dalga boyu civarında pik vermektedir. Bu pikin zamanla değişimi hidroperoksit miktarındaki değişimle doğru orantılı olmaktadır. Ayrıca istenirse standart bir madde ile kalibrasyon grafiği oluşturulabilmekte ve kantitatif tayin de yapılabilmektedir [25]. Yağların oksidasyona dayanıklılığını belirlemede kullanılan diğer bir aletli yöntem de aktif oksijen metodu (ransimat metodu)’dur. Bu metotta, taşıyıcı tüplere konulan yağlar yüksek, sabit bir sıcaklığa ve hava akımına maruz bırakılmaktadır. Yağ içerisine üflenmiş hava, yağda oluşan oksidasyon ürünlerini sürükleyerek başka bir kaptaki elektrolit sıvıya taşımaktadır. Bu sıvının elektrik iletkenliği sürekli olarak ölçülmekte ve oksidasyon ürünlerinin artışıyla iletkenlik arasındaki lineer ilişkiden yararlanarak oksidasyonun hızlandığı indüksiyon zamanı tespit edilmektedir. Zamana karşı peroksit değerinin çizildiği grafikteki kırılma noktası, indüksiyon zamanı olarak belirlenmekte ve bu sürenin uzunluğuyla oksidatif dayanım arasında doğrusal bir ilişki olduğu kabul edilmektedir. Bu yöntemdeki en önemli dezavantajlar; yüksek miktarlarda örneğe ihtiyaç duyulması, peroksitlerin stabil olmayan ara ürünler olması ve yüksek sıcaklıklarda yağların gösterdiği oksidatif profilin oda sıcaklığı koşulları için her zaman model teşkil etmemesidir [23]. Yağların oksidasyon eğilimini belirlemede kullanılan diğer bir hızlı test yöntemi de Differential Scanning Calorimetry (DSC) metodudur. Bu yöntemde alüminyum küvetlere konulan örnek ısıtılırken, üzerinden oksijen veya hava geçirilmekte ve ısı geçişleri cihaz tarafından sürekli olarak takip edilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda önce düzenli olarak artan sıcaklıkta indüksiyon sıcaklığı belirlenmekte ve daha sonra bu sıcaklığın $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ altındaki sabit sıcaklıkta, aktif oksijen metodundaki temel ilkeye benzer bir şekilde indüksiyon zamanı yani oksidasyon ürünlerindeki artışın ivme kazandığı zaman dilimine kadar geçen süre belirlenmektedir. Az miktarda örneğe ihtiyaç duyulması ve hızlı sonuç vermesi bu yöntemin en önemli

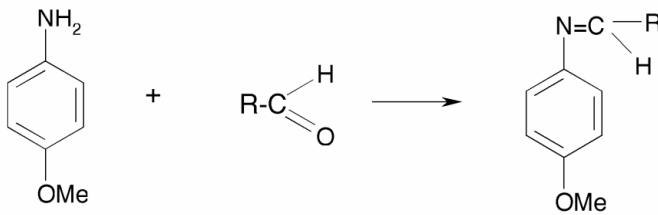
avantajları arasındadır. DSC ile oksidatif stabilitenin belirlenmesi aktif oksijen metodu gibi tahmin esasına dayanan (predictive) bir metottur [26].

1.2.3.3. Peroksit sayısı

En eski oksidatif bozulma tayin metotlarından biridir. Yağ oksidasyonu sonucu ortaya çıkan birincil oksidasyon ürünleri olan peroksitlerin miktarını “mili eşdeğer gram oksijen/kg yağ” cinsinden verir. Ortamdaki oksijen varlığı, işlem süresinin uzun olması, kullanılan kaplardaki kirlilikler ve ışık, sonuçları önemli düzeyde etkilemektedir. Bundan dolayı da dikkatli çalışmak gerekmektedir. Bu yöntemin temel mantığı hidroperoksitlerin iyodürü iyodine çevirmesi ve açığa çıkan iyodinin de tiyosülfatla titre edilmesidir [27]. Peroksit değerini iyodometriden daha hassas bir şekilde belirlemek için diğer bazı teknikler geliştirilmiştir. Mesela ferik tiyosiyanat metodu peroksit değerini iyodometriden 10 kat daha hassas belirlemektedir ve dedeksiyon limiti 3 μg oksijenden daha da azdır. Bu yöntemde $\text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{Fe}^{3+}$ oksidasyonu gerçekleşmekte ve Fe^{3+} kompleksi spektrofotometrik olarak 470 nm’de belirlenmektedir. Bu yöntemin bir diğer avantajı da iyodometrinin aksine 20 mg kadar az miktarda yağın bile yeterli olmasıdır [28].

1.2.3.4. *p*-Anisidin değeri

p-Anisidin reaktifi, yağ oksidasyonu sonucu ortaya çıkan doymamış aldehitlerle (2-alkenallerle) reaksiyona girerek 350 nm’de absorbands veren sarımsı renkte bir kompleks oluşturur. Bu renk spektrofotometrede ölçülerek *p*-anisidin değeri ölçülür [20].



p-Anisidin reaktifi

Aldehit

350 nm’de absorbsiyon

Şekil 1.5. *p*-Anisidin reaktifinin ikincil reaksiyon ürünü aldehitlerle reaksiyon verip renkli bileşik oluşturma mekanizması.

1.2.3.5. TBA değeri

Tiyobarbütirik asit değerinin belirlenmesi yağlarda ransiditenin ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin ilkesi çoklu doymamış (en az üç çift bağ içeren) lipid peroksitlerinin sıcaklık etkisiyle parçalanması sonucu oluşan malondialdehitin bir molekülünün, iki molekül TBA ile birleşerek renkli bir kompleks oluşturmaya dayanır. Bu renkli kompleks spektrofotometre ile belirlenebilir. Bu yöntem, ortamdaki esmerleşme reaksiyonu ürünleri, protein ve şekerlerin parçalanma ürünleri, amino asitler, nükleik asitler ve nitritler gibi diğer tiyobarbütirik asit reaktif (TBARS) türlerle de aynı reaksiyonu oluşturabildiği için spesifik değildir [29]. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için MDA direkt olarak tek başına HPLC ile de ölçülebilmektedir [30].

1.2.3.6. Konjuge dien ve trienlerin belirlenmesi

Eğer iki “çift bağ”, aralarında tek bir “tek bağ” içerecek şekilde ardışık olarak bir molekülde bulunurlarsa, bu çift bağlara “konjuge çift bağ” denir. Bir yapıda konjuge konumda 2 çift bağ varsa buna “dien”, 3 çift bağ varsa buna da “trien” denilmektedir. Konjuge dien hidroperoksitler, çoklu doymamış yağ asitlerince zengin lipidlerin oksidasyonu sonucu ortaya çıkar ve 234 nm’de verdikleri kuvvetli absorpsiyonla belirlenirler. Bu metotla birincil oksidasyon ürünleri ölçülse de bazen 9-hidroksioktadeka-10,12-dienoik asit ve 13-hidroksioktadeka-9,11-dienoik gibi bazı ikincil oksidasyon ürünleri de konjuge yapı içerdikleri için absorbansa katkıda bulunurlar [20].

1.3. Antioksidan Aktivite ve Antioksidanlar

Tanım olarak antioksidanlar; “küçük miktarlarda bulunduğu bile yağlar gibi biyolojik materyallerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir” denilebilir. Yağlarla birlikte, proteinler, karbonhidratlar ve DNA gibi diğer makro moleküller de oksidasyonla hasara uğrayabilmektedir [31]. Bu hasar, serbest radikallerin saldırısı sonucu gerçekleşmektedir. Serbest radikaller; son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren atom veya moleküllere verilen isimdir. Serbest radikaller; çeşitli kimyasalların, radyasyonun, ilaçların etkisiyle oluşabilen zararlı yapılardır. Ancak normal fizyolojik koşullarda da oluşmakta ve hücrede çeşitli işlevler görmektedirler. Serbest radikallerin üretimi normalden daha fazla olunca, paylaşılmamış elektronlarından kaynaklanan kararsızlıklarını gidermek için,

çevresindeki biyolojik moleküllerden elektron koparmak suretiyle hasar oluşturmakta ve çeşitli anormalliklerin oluşmasına sebep olmaktadır. Özellikle membran bölgelerinde bu tür radikallerin oluşmasıyla membran lipidleri okside olmakta ve lipid oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Lipid oksidasyon ürünleri kendileri de radikal yapısındadırlar ve başka lipidleri de okside ederler. Bu reaksiyonlar birbirini takip eden ve tetikleyen reaksiyonlar olduğu için “zincir reaksiyonlar” olarak adlandırılır [32]. Bu konuda geniş bilgi için Bkz. “1.2 Yağ oksidasyonu ve Oksidatif Stabilité”.

Serbest radikallerin birçoğu oksijen kaynaklıdır ve dolayısıyla radikal oksijen türleri olarak adlandırılır. Ancak radikal yapıda olmadığı halde reaktif olan oksijen türleri de vardır. Dolayısıyla radikal tanımı yetersiz kaldığı için tüm bu reaktif moleküllere “reaktif oksijen türleri” denilmektedir. Çizelge 1.2’de reaktif oksijen türleri verilmektedir [14].

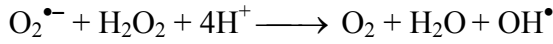
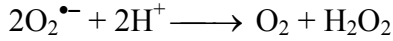
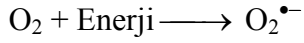
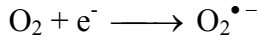
Çizelge 1.2. Bazı reaktif oksijen türleri

Reaktif Oksijen Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\bullet}$	Hipoklorik Asit	$HOCl$
Peroksil	$RO_2^{\bullet}$	Hipobromik Asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\bullet}$	Ozon	O_3
Hidroperoksi	$HO_2^{\bullet}$	Singlet Oksijen	$^1O_2^{\bullet}$

Reaktif oksijen türleri, canlı sistemlerde çoğunlukla oksidatif fosforilasyon sırasında, oksijenin suya indirgenmesi sırasında ortaya çıkar. Elektronun çok yüksek bir hızla molekülden uzaklaşmasıyla molekülün son yörüngesinde paylaşılmamış elektron(lar) meydana gelir. Oksijenin tamamen suya indirgenebilmesi için 4 elektronun transfer olması gerekir. Bu indirgenme sırasında eğer 4’den daha az elektronun transferi gerçekleşirse, reaksiyon ara ürünleri olarak reaktif oksijen türleri oluşur. Reaktif oksijen türleri; genellikle hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) gibi oksijen merkezli radikaller ve hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve ozon gibi non-radikaller için kullanılan yaygın bir terimdir. Moleküler oksijenin bir elektron almasıyla süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) oluşur. Daha sonra

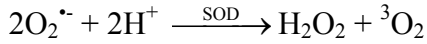
çeşitli etkilerle Hidrojen peroksit (H₂O₂), Hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türleri oluşur [32].

Önemli bazı reaktif oksijen türlerinin oluşum mekanizmaları aşağıda verilmektedir;

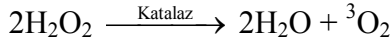


Antioksidanlar bu serbest radikal hasarlarını önleyen moleküller olarak bilinmektedir. Antioksidanlar yapı ve işlev olarak birbirinden oldukça farklı özelliklerde olduğu gibi antioksidan aktivite mekanizmaları da çok çeşitlidir. Kimi antioksidanlar reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırarak etki gösterirken (Süperoksit dismutaz), kimi antioksidanlar metalleri tutuklayarak (sitrik asit, EDTA), zincirleme radikal reaksiyonlarını durdurarak (askorbik asit, flavonoidler), singlet oksijeni süpürerek (karotenoidler), lipid peroksidasyon ürünlerini parçalayarak (glutasyon peroksidaz) etki gösterirler [33]. Antioksidanlar bunun yanında etki mekanizmasına göre primer ve sekonder antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilir. Birincil antioksidanlar serbest radikallerle direkt olarak etkileşen ve süpüren antioksidanlar olarak tanımlanırken, sekonder antioksidanlar ise ortamdaki metalleri tutuklayarak veya oksidasyonu indükleyen diğer faktörleri ortadan kaldırarak oksidasyonu önleyen antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca bulundukları yere göre antioksidanlar; endojen (canlı dokuda üretilen ve bulunan bilirubin, glutasyon, ürik asit, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi) ve ekzojen (gıdalarla dışarıdan alınan fenolik maddeler, karotenoidler ve askorbik asit gibi) olarak da sınıflandırılabilir [34]. Diğer bir yaklaşımla antioksidanlar, enzimatik (glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve enzimatik olmayan (selenyum, vitamin E ve C) şeklinde de sınıflandırılabilir [35]. Enzimatik antioksidanlar serbest radikallere karşı canlı sistemlerin en temel savunma mekanizmalarını oluşturmaktadır. Bu enzimlerden bazıları; glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz'dır. Glukoz oksidaz ortamdaki oksijeni uzaklaştırarak görev yapar. Ksantin

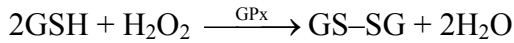
oksidaz enzimi ve hidrojen peroksit tarafından üretilen süperoksit iyonu, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından yok edilir;



Katalaz enzimi ise hidrojen peroksidi oksijen ve suya çevirmekle görevlidir;



Glutasyon peroksidaz ise lipid hidroperoksitlerini alkollere indirgeyerek veya hidrojen peroksiti suya indirgeyerek antioksidan korumaya katkıda bulunur;



(GSH: Redükte glutasyon, GS-SG: Okside glutasyon) [17].

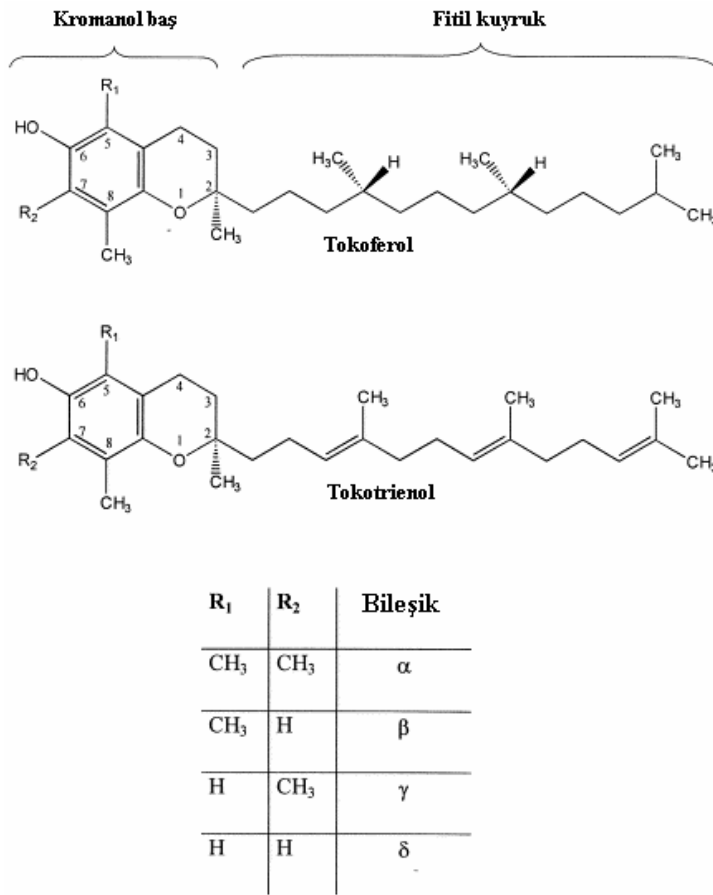
1.3.1. Yağlarda bulunan antioksidan bileşikler

Bitkisel yağlar, doğal olarak oksidatif bozulmaları geciktiren bileşikler içerirler. Bu antioksidan bileşikler, yağların gerek bitki dokusunda iken gerekse de ekstrakte edildikten sonra oksidatif bozulmalara maruz kalmasını önlemektedir. Bitki dokusunda iken yağlar hem non-polar hem de polar antioksidanlar tarafından korunur. Ekstraksiyon işleminden sonra ise ekstraksiyon tekniğine bağlı olarak bitkide bulunan antioksidanların sadece bir kısmı yağa geçer ve koruma burada da devam eder. Ancak bu koruma sınırsız bir koruma değildir. Gerek yağların işlenmesi gerekse de oksidasyon koşullarının bizzat kendisi, yağ içerisinde bulunan antioksidan bileşiklerin zamanla parçalanmasına, farklı formlara dönüşmesine ve dolayısıyla da antioksidan etkilerinin kaybolmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı da endüstriyel olarak işlenen yağlara genellikle dışarıdan antioksidan madde takviyesi yapılmaktadır [36]. Antioksidan bileşiklerin yağlar üzerindeki koruyucu etkisinde, polarite bakımından çelişkili bir durum vardır. Yağlar apolar bileşikler olduğu için normalde apolar yapıdaki antioksidan bileşiklerce daha iyi korunmaları, polar bileşiklerin ise bu konuda yetersiz kalmaları beklenirken deneysel çalışmalar bunun tersini göstermiştir. Yani Trolox ve askorbik asit gibi polar antioksidanlar yağları tokoferol ve BHA gibi apolar antioksidanlardan daha iyi korumaktadır. Yağ-su emülsiyonlarında ise tam tersi bir durum söz konusudur ve apolar antioksidanlar polar olanlara nispeten daha iyi bir koruma sağlamaktadır [37].

Yağlarda bulunan en önemli antioksidan bileşikler tokoferoller ve karotenoidlerdir. Bunların yanında steroller ve bazı lignan türevleri de bazı yağlarda antioksidan korumadan sorumlu moleküllerdir [38].

1.3.1.1. Tokoller (tokoferoller ve tokotrienoller)

Şekil 1.6’de bitkisel yağlarda yaygın olarak bulunan tokoferoller ve tokotrienoller gösterilmektedir. Bu bileşikler temel olarak bir kromanol baş ve fitil kuyruk içermektedir. Tokoferollerle tokotrienoller arasındaki temel fark tokotrienollerin fitil kuyrukta doymamışlık içermesidir. Ayrıca hem tokotrienol hem de tokoferol yapısının kromanol halkasındaki 5. ve 7. pozisyonlara bağlanan grupların hidrojen veya metil olmasına göre α , β , γ , δ olarak adlandırılırlar. [39].



Şekil 1.6. Tokoferol ve tokotrienol yapıları.

Tokoferoller antioksidan etki gösterirken kromanol halkasındaki bir hidrojenini lipid peroksil radikaline verir ve lipid radikalini stabilize ederken kendisi tokoferoksil radikaline dönüşür. Ancak bu radikal, lipid radikaline göre oldukça kararlı olduğu için toplam radikal aktivitesi azalmaktadır. Tokoferoksil radikali de bir hidrojenini vererek tokoferona, o da tokoferol kinona dönüşür. Tokoferoksil radikali ve tokoferon, biyolojik

sistemlerde askorbik asit ve ubikinon tarafından tekrardan tokoferole dönüştürülebilmektedir. Ancak tokoferol kinon kararlı bir son üründür (Şekil 1.7) [40].



Şekil 1.7. Tokoferolün oksidasyon basamakları ve oluşan ürünler.

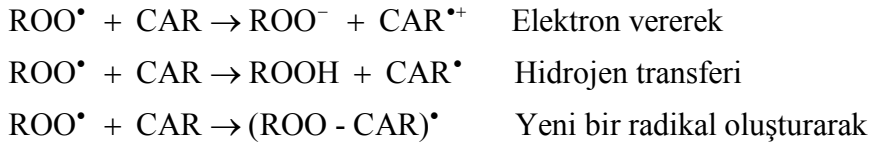
Tokoferol izomerlerinin antioksidan etkilerinin karşılaştırılmasıyla ilgili farklı literatür bilgilerine rastlanmaktadır. Antioksidan etki bakımından α -tokoferol *in vivo* olarak en etkin tokoferol izomeri iken, γ -tokoferol yağlarda oksidatif bozulmanın geciktirilmesinde daha etkilidir [16]. γ -tokoferol, yağlı tohumlar için genellikle en önemli antioksidan olarak bulunmaktadır [41]. İnsan ve hayvanların vücut dokularında α -tokoferol diğer tokoferol izomerlerine göre daha yüksek oranlarda bulunmakta ve dışarıdan alınan γ -tokoferol, bu miktarı arttırmaktadır. Yani γ -tokoferol bir anlamda α -tokoferolün yedeği gibi işlev görmektedir [42]. Termal stabilitesi bakımından ise α -tokoferol < β -tokoferol < γ -tokoferol $\approx$ δ -tokoferol sırası söz konusudur [43]. Bazı yağlarda bulunan tokoferol izomerlerinin miktarları Çizelge 1.3’de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Bazı bitkisel yağlarda mg/kg olarak tokoferol izomerlerinin miktarları [44].

Bitkisel yağ	α -Tokoferol	β -Tokoferol	γ -Tokoferol	δ -Tokoferol
Soya yağı	9–352	0–36	89–2307	154–932
Ayçiçeği yağı	403–935	< 45	0–34	0–7
Kolza yağı	100–386	< 140	189–753	0–22
Yerfıstığı yağı	49–373	< 41	88–389	50
Susam yağı	0–3	0	521–983	4–21
Aspir tohum yağı	234–660	0–17	0–12	0
Mısırozü yağı	23–573	< 356	268–2468	23–75
Zeytinyağı	90	–	10	–
Ceviz yağı	10–20	–	263–400	46–60
Hindistancevizi yağı	0–17	< 11	0–14	0
Kakao yağı	1–19	< 10	18–196	0–17

1.3.1.2. Karotenoidler

Bitkilerde doğal olarak bulunan bir grup bileşiğe verilen genel isimdir. Başlıca karotenoidler; β -karoten, likopen, kriptoksantin ve fitofluendir. Karotenoidler izopren ünitelerinden oluşmuşlardır ve yağda veya organik çözücülerde iyi çözünen, suda ise çözünürlükleri zayıf olan moleküllerdir. Bu yüzden de bitkisel yağlar ekstrakte edilirken yapıda bulunan karotenoidlerin büyük ölçüde yağa geçmesi beklenir [45]. Karotenoidler A vitamini öncülü bileşiklerdir ve vücutta gerektiğinde A vitaminine dönüşürler. Ancak bu bileşikler vitamin öncülü olmalarının yanında diğer bazı önemli fonksiyonları da yerine getirirler [46]. Karotenoidler gıdalarda ve yağlarda oksidatif bozulmalara karşı koruyucu özellik gösterirler. Aşağıda da gösterildiği gibi karotenoid molekülleri lipid radikallerini etkisiz hale getirerek antioksidan özellik göstermektedir [47].



Bunun yanında karotenoidler güçlü singlet oksijen süpürücüler olarak bilinir. Karotenoidler *in vitro* olarak çözelti içerisinde ve *in vivo* olarak da membranlarda radikal tutucu özellik gösterirler [48]. Karotenoidlerin antioksidan özellikleri oksijen kısmi basıncından oldukça etkilenmektedir ve düşük oksijen varlığında artmaktadır [49].

1.3.1.3. Fenolik bileşikler

Yukarıda bahsi geçen tokoferoller de fenolik madde grubundan bileşiklerdir. Ancak çok önemli bir grup olmalarından dolayı ayrı bir başlık altında incelenmiştir. Fenolik bileşiklerin en önemli grubu flavonoidlerdir. Bunlar flavonlar, flavonollar, isoflavonlar ve kalkonları içerirler. Bu bileşikler, radikalleri süpürerek ($\text{ROO}^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$, $\text{HO}^\bullet$, $\text{O}_2^\bullet$, $^1\text{O}_2$) proteinlerle (enzimler ve onların metal bağlayan bölgeleriyle) kompleks oluşturarak, metalleri tutuklayarak ve diğer antioksidanlarla sinerjistik etki göstererek antioksidan etki gösterirler [50]. Bu bileşikler yağda çözünürlüğü oldukça düşük bileşiklerdir fakat kompleks matrikslerde yağların stabilitesine önemli düzeyde katkı sağlarlar [51]. Bitkisel yağlar içinde fenolik bileşiklerce zengin yağlara en önemli örnek zeytinyağıdır. Zeytinyağı fenolikleri, hem yağın bozulmasını geciktirmekte hem de bu yağa kendine has aromasını vermektedir [52]. Zeytinyağındaki bazı önemli fenolik maddeler; 4-

acetoxy-ethyl-1,2-dihydroxybenzene, 1-acetoxy-pinoresinol, apigenin, caffeic asit, cinnamic asit (fenolik değil), *o*- ve *p*-coumaric asit, elenolic asit (fenolik değil), ferulic asit, gallic asit, homovanillic asit, *p*-hydroxybenzoic asit, *p*-hydroxyphenylacetic asit, hydroxytyrosol, luteolin, oleuropein, pinoresinol, protocatechuic asit, sinapic asit, syringic asit, tyrosol, vanillic asit ve vanillindir [53]. Yine susam yağı ve keten tohumu yağı da lignan grubu fenolik bileşiklerce zengin yağlardır. Susamda bulunan sesamol ve sesamolin güçlü antioksidanlardır ve yağın stabilitesini önemli ölçüde arttıırırlar [54]. Yağlı tohumlardan ceviz yağının da taninlerce zengin bir yağ olduğu bildirilmiştir [55]. Bazı yağlı tohumlar ve içerdikleri başlıca fenolik bileşikler Çizelge 1.4’de verilmiştir.

Çizelge 1.4. Bazı yağlı tohumların içerdiği karakteristik fenolik bileşikler [16].

Yağlı tohum	Antioksidan bileşik
Kolza, kanola	Sinapine, benzoik ve cinnamik asit türevleri, fenolik asit esterleri ve glikozidleri.
Hardal tohumu	Sinapine, fenolik asit esterleri.
Soya	Syringic, vanillic, ferulic, salicylic, <i>p</i> -coumaric asit ve esterleri, chlorogenic, caffeic, sinapic asitler, isoflavonlar ve glikozidleri.
Yer fıstığı	Fenolik asitler ve esterleri, <i>p</i> -hydroxybenzoic, <i>p</i> -coumaric, syringic, ferulic, caffeic asit.
Ayçiçeği	Chlorogenic, caffeic, <i>p</i> -hydroxybenzoic, <i>p</i> -coumaric, cinnamic, <i>m</i> -hydroxy-benzoic, vanillic, syringic, gallic, ve vanillic asitler, epicatechin, catechin.
Eşekotu tohumu	Proanthocyanidinler ve bunların gallatları, isoflavonlar.
Keten tohumu	Sinapic, <i>p</i> -hydroxybenzoic, coumaric, ferulic asit, lignanlar ve bunların glikozidleri
Pamuk çiğiti	Sinapic, ferulic, <i>p</i> -hydroxybenzoic asit, quercetin, rutin.
Susam	Lignanlar, coumaric, ferulic, vanillic, sinapic asit.
Zeytin	Hydroxytyrosol, secoiridoidler, flavonoidler, lignanlar.
Üzüm çekirdeği	Catechin, epicatechin, procyanidin.

1.3.2. Yağlarda toplam antioksidan kapasite testleri

Gıda maddelerinde antioksidan kapasite tayinleri son yıllarda oldukça yaygın olarak çalışılan bir konudur ve literatürde bu konuda yayımlanmış binlerce bilimsel makale bulunabilmektedir. Bu çalışmalarda birbirinden farklı onlarca metot kullanılmaktadır.

Bunun yanında, birçok çalışmada da en az 2-3 farklı metot aynı materyal için kullanılmaktadır. Bunun sebebi de, belli bir metodun tek başına her zaman tam ve yeterli bilgi verememesidir [56]. Antioksidan kapasite tayinleri genelde polar reaksiyon karışımlarında yapılmaktadır. Örneğin DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikal süpürme gücü, metanol veya etanolde [57], ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radikal süpürme gücü [58], indirgeme gücü [59]; suda, beta karoten beyazlatma yöntemi sulu emülsiyonda yapılmaktadır [60]. Bu durum yağların antioksidan kapasitelerinin ölçümünde önemli sınırlamalar getirmektedir. Bundan dolayı, araştırmacılar bu yöntemleri yağlara uygulamak için çeşitli modifikasyon yollarına gitmiştir. DPPH yöntemi oldukça yaygın kullanılan ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada hem DPPH hem de yağları iyi çözen bir çözügen aranmış ve etil asetatın bu noktada en iyi sonucu verdiği görülmüştür [61]. Yine ABTS metodu için sulu ortamda elde edilen radikal solüsyonunun ve yağların etanolle seyreltilmesi yoluna gidilmiştir [62]. Bazı çalışmalarda ise dolaylı yoldan antioksidan kapasite belirlenmektedir. İlke olarak bu yöntemlerde yağ hızlandırılmış oksidasyon koşullarına tabi tutulmakta ve belli aralıklarla yağın oksidatif durumu belirlenerek yağdaki antioksidanların yağı ne ölçüde koruduğu tahmin edilmektedir. Bu konuda ayrıntılı bilgi “yağların oksidatif stabilitesinin belirlenmesi” başlığında verilmektedir.

1.4. Kavurma İşleminin Yağlara ve Yağlı Tohumlara Etkileri

Kavurma işlemi gıda sektöründe oldukça yaygın bir uygulamadır. Birçok yağlı tohumdan yağ elde edilmeden önce kavurma işlemi yapılmakta ve bu sayede yağın daha iyi ekstrakte edilmesi sağlanmakta yani yağ verimi artmaktadır. Yapıdaki proteinlerin koagüle olması, hücre membranlarının parçalanması ve tohumun kompleks yapısı içinde yağ moleküllerinin çeşitli bağlarla bağlandığı moleküllerle arasındaki bağların kopması ve zayıflaması bu etkinin ortaya çıkmasını sağlamaktadır [63]. Kavurma işlemi ayrıca çerezlik olarak tüketilen yağlı tohumlar için de yaygın bir uygulamadır. Sözgelimi fındık, Antep fıstığı, yer fıstığı, badem gibi birçok çerezlik yağlı tohum kavrulduktan sonra tüketilmektedir. Bu çalışmanın konusu olan kayısı çekirdeği de piyasada genellikle kavrulmuş ve tuzlanmış olarak satılmaktadır. Kavurma işlemi ile yağlı tohumların yağlarında bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler ve getirdiği sonuçlar aşağıda ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

1.4.1. Lipid sınıflarına etkisi

Lipidler, trigliseridleri de içeren ancak bunun yanında fosfolipidler, glikolipidler, lipoproteinler, steroidler, di ve monogliseridler ve serbest yağ asitlerini de içeren geniş bir gruptur. Kavurma işlemi bu lipidleri belli ölçülerde etkileyen fiziksel bir işlemdir. Yoshida ve ark. [64] susam tohumlarını mikrodalga fırında 2450 MHz’de 6, 12, 20 ve 30 dakika kavurmuş ve lipidleri BHT katkılı kloroform-metanol karışımıyla ekstrakte etmişler ve TLC’de lipid fraksiyonlarını ayırarak her bir lipid fraksiyonunun miktarını standartlarla karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada kavurma süresinin artmasıyla trigliserid, fosfolipid ve steril esterlerin miktarında azalma olurken, serbest yağ asidi, monogliserid ve digliserid miktarında artış görülmüştür. Fosfolipidlerin ve trigliseridlerin yağ asidi kompozisyonunda kısa süreli kavurma ile önemli bir değişim oluşmazken, daha uzun süreli kavurma, palmitik, stearik ve oleik asit miktarında göreceli bir artışa neden olmuş, linoleik asit miktarı ise azalmıştır. Benzer şekilde yapılan diğer bazı çalışmalarda ise soyada [65] ve susam [66] tohumunda bu yağ asitlerindeki değişim daha önemli düzeyde gerçekleşmiştir.

1.4.2. Tokoferoller ve tokotrienoller üzerine etkisi

Kavurma işleminin tokollere etkisi birçok çalışmada araştırılmıştır. Genellikle ısı işleme dayanıklı oldukları düşünülen tokollerin miktarının kavurma işlemiyle arttığına dair bazı bulgular vardır. Ancak bu artışın gerçek bir artış olmadığı, kavurma işlemi ile zayıflayan hücresel bağlardan kurtulan tokollerin daha iyi ekstrakte edilmesiyle bu artışın görüldüğü düşünülmektedir. Aspir yağı ile yapılan bir çalışmada tohumlar, yağları ekstrakte edilmeden önce 140, 160 ve 180 °C sıcaklıkta kavrulmuş ve artan kavurma etkinliği ile yağa geçen α , β ve γ - tokoferol miktarlarının önemli düzeyde arttığı görülmüştür. Tokotrienol miktarlarında ise önemli bir değişim gözlenmemiştir [67]. Pirinç germ yağında da kavurma ile tokoferol düzeyinde artış olduğu görülmüştür [68].

1.4.3. Renk üzerine etkisi

Yağlı tohumların kavrulmasıyla bu tohumlardan elde edilen yağda belirgin bir esmerleşme meydana gelir. Bu esmerleşme çoğunlukla Maillard reaksiyonlarından kaynaklanır. Yapılan çalışmalarda aspir [67], susam [66], yerfıstığı [69] gibi bitkilerin yağlarının renginin kavurma işlemi sırasında değiştiği gözlenmiştir.

1.4.4. Yağ asidi bileşimi üzerine etkisi

Kavurmanın etkisiyle yağlı tohumların yağ asidi bileşiminde bir değişim gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda çoğunlukla yağ asitlerinin birbirine göre göreceli oranları verilmektedir. Bundan dolayı bazı yağ asitlerinin toplamdaki oranları düşerken bazılarının artmaktadır. Susam tohumunda yapılan bir çalışmada trigliserid ve fosfolipid yapısına giren yağ asitlerinin bileşimindeki değişimler incelenmiştir. Ayrıca bu çalışmada trigliseridin farklı pozisyonlarındaki yağ asitlerinin bileşimindeki değişimler de incelenmiştir. Kavurmanın etkisiyle trigliserid yapısından yağ asitlerinin koptuğu ve serbest asitliğin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca trigliseridlerin *sn*-2- pozisyonundaki linoleik asit gibi doymamış yağ asitlerinin *sn*-1,3- pozisyonundaki doymamış yağ asitlerine göre daha iyi korunduğu görülmüştür [66]. Başka bir çalışmada yerfıstığının mikrodalga fırında kavrulmasıyla palmitik asit miktarında kısmi bir artış görülürken oleik asit miktarında ise düşme görülmüştür [69].

1.4.5. Aroma üzerine etkisi

Kavurma işlemiyle birlikte yağlı tohumlarda pişmiş tat ve koku oluşmaktadır. Bu aromayı veren bileşikler, kavurma sırasında tohumda bulunan makro moleküllerin ısı etkisiyle parçalanması, birbiriyle reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Genellikle belli bir kavurma düzeyine kadar hoşça giden bir aroma oluşurken daha ileri düzeyde kavurma ile “yanık tat” adı verilen hoşça gitmeyen tat ve kokular oluşmaktadır. Oluşan bu aroma bileşikleri ya gaz kromatografisi [70] tekniğiyle belirlenmektedir ya da duyuşal analiz [66] yapılarak panelistler tarafından verilen puanların değerlendirilmesiyle analiz edilmektedir. Kavurma sonucu oluşan bazı bileşikler yağ oksidasyonu ürünleri [70], ketonlar, aldehitler, pirazinler, alkoller, aromatik hidrokarbonlar, furanlar, piroller, terpenler ve düz zincirli hidrokarbonlardır [71].

1.4.6. Oksidatif durum üzerine etkisi

Normalde yağlı tohumların kavrulmasıyla hızlı bir oksidasyon gerçekleşmekte ve oda koşullarında depolamada birkaç hafta veya ayda gerçekleşebilecek oksidatif bozulmalar dakikalar içinde gerçekleşebilmektedir. Bu etki oksijenin varlığı, kavurma sıcaklığı ve kavrulan materyaldeki antioksidanların konsantrasyonu, doymamışlık düzeyi gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir [69]. Ancak fenomenik bir durum olarak, kavrulmuş tohumlardan elde edilen yağlar, uzun vadede kavrulmamış olanlardan elde edilen yağlara göre daha yüksek bir oksidatif dayanım göstermekte, yani zamanla

kavrulmamış yağın oksidasyon düzeyi kavrulmuş olanları geride bırakmaktadır [67]. Bu etkinin en muhtemel iki sebebinden biri kavurma işlemi sırasında yüksek sıcaklıklarda indirgen şekerlerle amin grubu içeren bileşikler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonu ürünlerinden antioksidan karakterli olanların yağa kısmen geçmesi ve yağı oksidatif bozulmalardan korumasıdır [72]. Bir diğer muhtemel mekanizma da kavurma işlemi sırasında dokuların parçalanması ve tokoferoller gibi antioksidanların açığa çıkarak yağa daha çok geçmesi ve bu şekilde oksidatif stabilitenin artmasıdır [67].

1.4.7. Proteinler ve yağlar arasındaki etkileşimlere etkisi

Yağlı tohumlarda, yağ molekülleri çoğunlukla proteinlerle zayıf bağlar yapmış bir şekilde bulunurlar. Kavurma veya pişirme işlemleri, yağlar ve proteinler arasındaki bağların bir kısmının kopmasına neden olur. Bu da yağları ekstraksiyon veya oksidasyon gibi olaylara daha elverişli kılar. Ancak bu ısı işlemleri sırasında oluşan yağ oksidasyon ürünleri ile proteinler arasında da etkileşimler gerçekleşir ve hatta kovalent bağlar oluşabilir. Sözgelimi lipid oksidasyonu ürünlerinde bulunan hidroperoksil grubu (-OOH), keto grubu (=C=O) gibi gruplarla proteinlerin amid, amin, tiyol ve sülfid gibi grupları arasında kovalent bağ oluşumu söz konusudur. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan birincil reaksiyon ürünleri olan hidroperoksitler genelde merkezinde hidroperoksil grubu içerirler. Bu moleküller özellikle de ortamda suyun bulunduğu durumlarda oldukça reaktiftir ve diğer yağlarla veya proteinlerle düşük sıcaklık derecelerinde dahi reaksiyona girme kabiliyetine sahiptirler. Hidroperoksitlerin daha ileri düzeyde parçalanmasıyla oluşan ikincil oksidasyon ürünleri de proteinlerin fonksiyonel gruplarına saldırırlar. Ancak birincil oksidasyon ürünlerinin reaksiyon kabiliyeti ikincil oksidasyon ürünlerine oranla oldukça yüksektir [73].

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bilim literatüründe kayısı çekirdeği ile ilgili yapılmış çalışmalar oldukça azdır. Bunun sebebi büyük ihtimalle kayısı çekirdeğinin dünya üzerinde genellikle acı çeşitlerinin bulunması ve dolayısıyla gıda olarak tüketiminin ve ekonomik değerinin sınırlı olmasıdır. Oysaki ülkemizde ve özellikle Malatya yöresinde yetiştirilen kayısıların çekirdekleri çoğunlukla tatlıdır ve çerezlik olarak tüketilmektedir.

Yapılan bir çalışmada tatlı kayısı çekirdeklerinin 100 gramında 53 g yağ ve 7 g çözünür şeker bulunduğu, acı kayısı çekirdeğinde ise bu oranların sırasıyla 43 ve 14 g olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada linoleik ve oleik asidin toplam yağ asitlerinin % 92'sini oluşturduğu belirlenmiştir. Acı kayısı çekirdeğinde yaklaşık 5,5 g/100 gram amigdalin bulunduğu ve tatlı kayısı çekirdeğinde ise amigdalin bulunmadığı rapor edilmiştir [74]. Farklı türlere ait kayısı çekirdeklerinin kısmi kimyasal bileşimi ve yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Bu çalışmada oleik asidin başlıca yağ asidi olduğu ve miktarının çeşide bağlı olarak yüzde 56,5 ile 73,4 arasında, ikincil yağ asidi olan linoleik asidin ise 18,8 ile 31,7 arasında değiştiği saptanmıştır [75]. Kayısı çekirdeği yağının süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemiyle eldesi çalışılmıştır. Çalışmada “response surface method” yöntemi; çözgeninin akış hızının, basıncın, sıcaklığın ve ek çözücülerin kayısı çekirdeği yağının çekirdekten ekstraksiyon verimine etkisi belirlenmiştir. Çalışma sonucunda en ideal şartlarda yağ veriminin 0,26 g/g çekirdek olduğu belirlenmiştir. Bu verimin, 15 dakikada 4 gram çözücü (% 3 etanol içeren süperkritik karbondioksit) ile 45 MPa basınç ve 60°C sıcaklık şartlarında gerçekleştiği rapor edilmiştir [76]. Benzer bir çalışmada ise 313,15, 323,15 ve 333,15 K sıcaklıkları ve 15, 30, 45, 52,5 ve 60 MPa basınç değerleri kayısı çekirdeği yağının süperkritik karbondioksit ile ekstraksiyonu için denenmiştir. En ideal ekstraksiyonun 20-30 MPa basınçta gerçekleştiği, geçiş noktasının üstündeki basınç değerlerinde artan sıcaklıkla yağın çözünürlüğü artarken geçiş noktasının altındaki basınçlarda ise tam tersinin gerçekleştiği görülmüştür [77]. Güncel bir çalışmada dokuz farklı kayısı çekirdeği yağının *sn*-2 yağ asitleri, trigliserid fraksiyonları, tokoferol izomerleri ve fitosteroller belirlenmiştir. Bu çeşitlerde toplam yağ içeriğinin % 40,23 ile 53,19 arasında değiştiği, bu yağ içinde oleik asidin % 70,83, linoleik asidin % 21,96, palmitik asidin % 4,92 ve stearik asidin % 1,21 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Kayısı çekirdeği yağlarında yedi farklı trigliserid tipinin bulunduğu belirlenmiştir ve bunların LLL, OLL, PLL, OOL + POL, OOO + POO, ve SOO (P, palmitoil; S, stearoil; O, oleil;

ve L, linoleol) olduğu rapor edilmiştir. Kayısı çekirdeği yağlarında γ -tokoferol miktarının 475.11 mg/kg'a, β -sitosterol miktarının ise 273,67 mg/100 g'a kadar çıktığı tespit edilmiştir [5].

Kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesinin belirlendiği bir çalışmaya uluslararası bilimsel literatürde rastlanmamıştır. Ancak diğer yağlı tohumların yağlarının oksidatif stabilitesinin belirlendiği yüzlerce çalışma bulunmaktadır. Susam tohumunun kavrulmasıyla, yağının oksidatif stabilitesindeki değişim birçok çalışmada belirlenmiştir. Abau-Gharbia ve ark. [78] susam tohumlarını farklı ısıl işlemlere (kavurma, buharlama, buharlama/kavurma ve mikrodalgada kavurma) tabi tutmuşlar ve bu işlemlerin susam yağının oksidatif stabilitesine etkisine peroksit sayısı ve *p*-anisidin değerindeki değişime bakarak araştırmışlardır. Bu çalışmada hızlandırılmış oksidasyon koşullarında en stabil yağın, herhangi bir işleme tabi tutulmamış çiğ tohumlardan elde edilen yağ olduğu görölmüştür. Yapılan başka bir çalışmada ise susam tohumları elektrikli fırında 140, 160 ve 180 °C'de kavrulmuş ve yağlar mekanik presle çıkartılarak oksidatif stabilite testleri yapılmış, tokoferol miktarları belirlenmiş ve kavrulmamış tohumdan elde edilen yağla karşılaştırılmıştır. Oksidatif stabilite testlerinde kavrulmamış yağın peroksit sayısının ve konjuge dien değerinin kavrulmuş yağlara göre çok daha hızlı bir şekilde arttığı görölmüştür. Kavrulmuş susamlardan elde edilen yağların oksidatif stabilitelerinin ise kavurma sıcaklığı arttıkça arttığı gözlemlenmiştir [67]. Kolza ve ayçiçeği tohumlarından yağ eldesinden önce mikrodalga fırın ile yapılan ısıl işlemin, elde edilen yağların oksidatif stabilitesine etkisine bakılmıştır. Bu alışmada 20-140 °C arasında ısıtılan tohumlardan kolza yağının ön işlem sıcaklığına bağlı olarak oksidatif stabilitesinin belirgin olarak arttığı görölmüştür. Ayçiçeği yağında ise bu etki daha düşük düzeyde olsa da benzer şekilde gözlemlenmiştir [79].

Kayısı çekirdeği yağının antioksidan karakteri konusunda herhangi bir çalışma mevcut değildir. Daha önce yapılan bir çalışmada yağı alınmış kayısı çekirdeği ununun antioksidan özelliklerinin kavurma ile değişimi incelenmiş ve belli düzeye kadar kavurma ile bu etkinin arttığı ve daha fazla kavurma ile tekrar düşüş eğilimi gösterdiği belirlenmiştir [6]. Kayısı çekirdeği yağının tokoferol içeriği incelenmiş ve γ -tokoferolün başlıca tokoferol olduğu belirlenmiştir. Diğer tokoferol izomerlerinin ise daha düşük düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir [5].

Yapılan bir çalışmada acı kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağlarla beslenen sıçanların çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik parametreleri, yerfıştığı yağıyla beslenmiş

sıçanları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada acı çekirdekte bulunan siyanoglikozidik maddelerin yağa geçmediği ve deney hayvanlarının biyokimyasal ve fizyolojik göstergelerinde herhangi bir anormalliğe yol açmadığı rapor edilmiştir [80]. Yapılan diğer bir çalışmada farklı oranlarda mısır özü yağı ve içyağı içeren yemlerle beslenen sıçanların plazmalarında TBARS (tiyobarbütirik asit reaktif türler) değerleri belirlenmiştir. Diyetle artan doymuş yağ asidi oranıyla TBARS miktarı arasında ters bir ilişkinin olduğu görülmüştür [81]. Tokoferollerce zenginleştirilmiş bir diyetle beslenen hiperlipidemik (kan kolesterol ve lipid düzeyleri artırılmış) sıçanlarda LDL oksidasyonunun ve TBARS miktarının azaldığı rapor edilmiştir [82].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan bütün kimyasallar “Sigma” firmasından temin edilmiştir. Farklı firmalardan temin edilen kimyasalların satın alındığı firma parantez içerisinde belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında; kloroform, aseton, glasiyel asetik asit, potasyum iyodür, nişasta, *p*-anisidin reaktifi, izooktan, metanol, DPPH, ABTS, β -karoten, 2-propanol, n-hekzan, petrol eteri, sodyum tiyosülfat, linoleik asit, tokoferol seti (α , β , γ , δ), Tween-20, potasyum ferri siyanür, ferik klorür, yağ asitleri metil esterleri karışımı, hidroklorik asit, sodyum klorür, PBS (fosfat tamponu tuzu), potasyum klorür, sodyum karbonat, sodyum-potasyum tartarat, bakır sülfat, folin-fenol belirteci, BSA (sığır albümin proteini), disodyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat, hidrojen peroksit, EDTA (etilen diamin tetra asetik asit), sodyum azid, NADPH, GSH (redükte glutatyon), GSSG (okside glutatyon), trikloroasetik asit, TBA (tiyobarbütirik asit) kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar

DSC (Diferansiyel taramalı kalorimetre), Ransimat cihazı, UV-VIS (Mor ötesi ve görünür bölge) spektrofotometre, HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) sistemi, GC-FID (Gaz kromatografisi-Alev iyonizasyon dedektörü) sistemi, FT-IR (fourier dönüşümlü kızıl ötesi) spektrofotometresi, su banyosu, vorteks karıştırıcı, soğutmalı ve normal santrifüj cihazları, -80 °C dondurucu, laboratuvar tipi fırın, etüv, otomatik büret, otomatik pipet seti tez kapsamında kullanılan ekipman ve düzeneklerdir.

3.3. Materyal

Çalışmada kullanılan kayısı çekirdekleri, Akçin Gıda San.Tic.Ltd.Şti.’nden temin edilmiştir. Dış kabukları kırılmış bir şekilde alınan kayısı çekirdekleri, Waring blender’da 1 mm’lik elekten geçecek şekilde öğütülmüştür.

3.4. Metot

3.4.1. Kavurma işlemi

Yapılan ön çalışmalarda öğütülmeksizin bütün halde kavurma sırasında, çekirdekte homojen bir kavrulmanın çoğunlukla gerçekleşmediği görülmüştür. Bundan dolayı da kavurma işlemi öğütme işleminden sonra gerçekleştirilmiştir. Kavurma süre

optimizasyonu çalışması için, öğütülmüş çekirdekler laboratuvar tipi fırında 180 °C’de 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika kavrulmuş, fırından çıkarılan çekirdek unları soğutulmuş ve plastik buzdolabı poşetlerine konularak -20 °C’de kullanılıncaya kadar kavrulmamış örneklerle birlikte saklanmıştır.

3.4.2. Yağ eldesi

Yağ ekstraksiyonu petrol eteri (40-60 °C kaynama noktalı):Hekzan (1:1) karışımıyla yapıldı. Kayısı çekirdeği örnekleri traşlı kapaklı erlenlere tartıldı ve üzerine 3 misli çözücü karışımı eklendi. Karışım oda sıcaklığında 1 gece karanlıkta bekletildi. Çift kat Whatman No:1 filtre kâğıdından süzülen çözücü-yağ karışımından çözücü, rotary evaporatörde (Bibby RE 100) 40 °C’de vakum altında uzaklaştırıldı. Buzdolabında 2 gece bekletilen yağlarda oluşan misel benzeri bulanıklık, 6000 rpm’de 15 dk santrifüj (MSE, Mistral 1000, Sanyo Inst, UK) yapılarak giderildi. Daha sonra elde edilen berrak yağlar hemen kullanılmayacaksa derin dondurucuda -20 °C’de saklandı. Deney hayvanı çalışması için kullanılacak yağlar, ekstraksiyondan kalan çözücü kalıntıları sebebiyle hayvanların yemi reddetmesi ihtimali göz önünde bulundurularak preslenerek elde edildi. Presleme işlemi laboratuvar tipi el presiyle (Caselsan, Giresun) yapıldı.

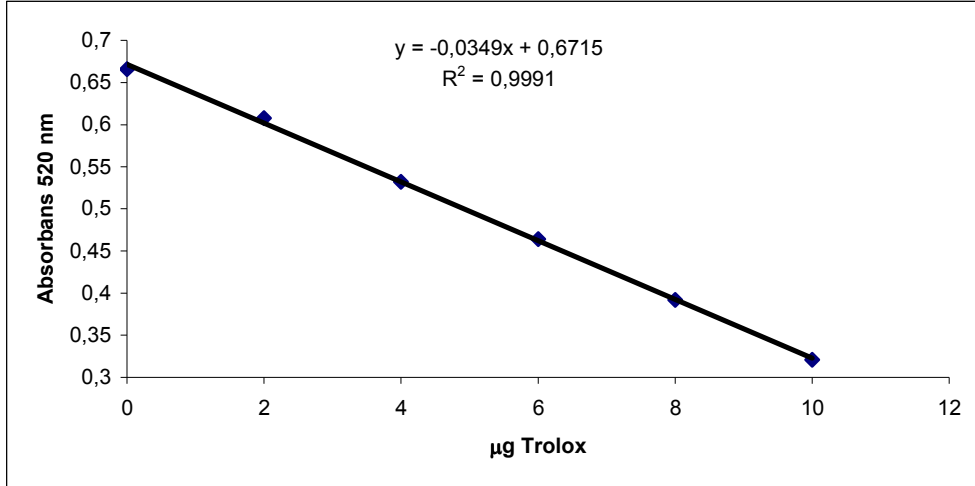
3.4.3. Antioksidan kapasite testleri

3.4.3.1. Yağda yapılan direkt antioksidan testler

DPPH testi

Bu test, Espin ve arkadaşlarının [61] modifikasyonlarına göre yapılmıştır. DPPH çözeltisi, etil asetatta hazırlandı ve çözeltinin absorbansı 520 nm’de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde seyreltilti. Deney tüplerine 20 mg yağ tartıldı ve üzerine 80 μ L etil asetat ve 2,9 ml DPPH’ serbest radikal çözeltisi eklendi ve 20 saniye vortekslendi (Velp Scientifica). Karanlıkta 30 dk’lık inkübasyon süresi sonunda örneklerin absorbansı etil asetata karşı kuvars küvetlerde 520 nm’de çift ışın yollu spektrofotometrede (Shimadzu 1700) okundu. Referans bileşik olarak Trolox kullanıldı ve yağların antioksidan kapasiteleri Trolox cinsinden ifade edildi. Bu amaçla Trolox’un 100 mg/100 ml stok çözeltisi etil asetat içinde hazırlandı. Daha sonra bu stoktan alınan 100, 200, 300, 400 ve 500 μ L çözelti etil asetatla 10 mL’ye tamamlandı. Bu çözelti-lerden alınan 100’er μ L üzerine 2,9 mL DPPH çözeltisi konuldu ve aynen örneklerde olduğu gibi 30 dk sonunda spektrofotometrede ölçüm alındı. Elde edilen absorbans değerlerine karşı deney

karışımlarındaki Trolox miktarı grafiğe geçirildi (Şekil 3.1). Çizilen lineer eğrinin denklemi hesaplandı ve “ $y = ax + b$ ” şeklindeki denklemde örnekler için elde edilen absorbans, denklemdeki “ y ” yerine yazılarak buna karşılık gelen Trolox derişimi “ x ” hesaplandı. Daha sonra gerekli seyreltme faktörleri ile çarpılarak, antioksidan kapasite, gram yağda μg Trolox eşdeğeri olarak hesaplandı.



Şekil 3.1. Örnek bir Trolox standart grafiği.

ABTS testi

Bu deney klasik ABTS metodunun [83] yağlar için kullanılabilmesi için tarafımızca modifiye edilerek uygulanmıştır. ABTS* radikali; potasyum peroksodisülfat (6,6 mg) ve ABTS (30 mg)’nin 7,8 mL sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilmesiyle elde edildi. Elde edilen renkli çözelti dondurularak kurutuldu ve bu toz, metanol:kloroform (1:1) karışımı içerisinde çözülerek çalışma için gerekli ABTS solüsyonu elde edildi. ABTS çözeltisinin absorbansı 765 nm’de $0,700 \pm 0,020$ ’ye ayarlandı. Deney tüplerine yaklaşık 20 mg yağ tartılarak üzerine 80 μL metanol:kloroform karışımı ve 2,9 mL ABTS solüsyonu eklendi ve vortekslendi. 6 dk sonra karışımların absorbansı 765 nm’de metanol:kloroform karışımına karşı kuvars küvetler kullanılarak okundu. Antioksidan kapasite Trolox cinsinden ifade edildi ve işlemler DPPH testindeki gibi yapıldı.

3.4.3.2. Yağ metanol ekstraktlarında antioksidan testler

Metanol ekstraktının hazırlanışı

Yağlardan metanol ekstraktı hazırlama işlemi Tuberoso ve ark. kullandığı yöntemle göre yapılmıştır [84]. Bu amaçla 1 gram kayısı çekirdeği yağı 1 mL metanolle deney tüplerinde karıştırılmış ve 2 dk vortekslenmiştir. Metanol fazı 4000 rpm'de 5 dk santrifüj (Heraeus, Labofuge 200) ile ayrılmış ve bir pastör pipetiyle başka bir tüpe alınmıştır. Kalan yağın üzerine yeniden 1 mL metanol eklenerek bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar birleştirilmiş, tüm örneklerde eşit hacim sağlayabilmek için 10 mL'ye metanolle tamamlanmış ve antioksidan testlerde kullanılmıştır.

DPPH testi

Bu test Bondet ve ark.'nın [85] kullandığı metoda göre yapılmıştır. 100 μ L yağ metanolik ekstraktları 2,9 mL DPPH çözeltisi (metanolde) ile karıştırılmıştır. DPPH'nin konsantrasyonu, çözeltisinin absorbansı 520 nm'de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde ayarlanmıştır. 30 dk inkübasyondan sonra absorbanslar 520 nm'de metanole karşı okunmuş ve sonuçlar Trolox cinsinden ifade edilmiştir.

ABTS testi

Yağda direkt yapılan testten farklı olarak bu deneyde ABTS radikali suda oluşturulmuş ve metanolle istenilen absorbansa seyreltilmiştir. Daha sonra 100 μ L yağ metanolik ekstraktları 2,9 mL ABTS çözeltisi ile karıştırılmış ve 6 dk sonra çözeltilerin absorbansı 752 nm'de metanole karşı okunmuştur. Sonuçlar Trolox cinsinden ifade edilmiştir.

Beta-karoten beyazlatma testi

Hızlandırılmış oksidasyon koşullarında, yağ metanol ekstraktlarının β -karoteni koruma gücü, Miller'in metoduyla yapılmıştır [60]. 2 mg β -karoten 10 mL kloroformda çözülmüş ve bu çözeltilerden 1 mL, 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween-20 (Merck) bulunan balona konulmuştur. Kloroform, rotary evaporatörde vakum altında 40 °C'de uzaklaştırılmıştır. 100 mL destile su hızlı bir karıştırma eşliğinde konulmuş ve berrak bir emülsiyon elde edilmiştir. Deney tüplerine 50 μ L metanolik yağ ekstraktları konulmuş üzerine 3 mL β -karoten çözeltisi konulmuş ve 50 °C'lik su banyosunda (Nüve ST 402) kontrol örneği tamamen beyazlayıncaya kadar bekletilmiştir. Daha sonra

tüpler oda sıcaklığına soğutularak absorbensları 470 nm’de β-karoten bulunmayan emülsiyona karşı ölçülmüştür. Sonuçlar Trolox cinsinden ifade edilmiştir.

3.5. Oksidatif Stabilité Testleri

3.5.1. Peroksit sayısı

Bu analiz, standart AOCS metoduna göre yapılmıştır [86]. Bu amaçla yağlar 50 cm² yüzey alanına sahip petri kaplarına 5’er gram olacak şekilde tartılmıştır. Petri kapları, kapakları açık bir şekilde 70±1 °C’de tutulan vantilatörlü etüvde (Nüve) oksidasyona bırakılmıştır. Deneyin başlangıcında ve 2, 6, 10, 14, 18 ve 22’nci günlerde birincil oksidasyon ürünleri olan peroksitlerin miktarı iyodometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 1-1,5 gram yağ 250 mL’lik kapaklı erlenlere tartılmış ve 10 mL kloroform içinde çözülmüştür. Üzerine 15 mL buzlu asetik asit ve 1 mL doygun potasyum iyodür konularak 1 dk çalkalanmış ve ağızları kapalı bir şekilde 5 dk karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 75 mL destile su ve 1 mL % 1’lik nişasta çözeltisi eklenerek oluşan renk kayboluncaya kadar 0,01 N sodyum tiyosülfat ile titre edilmiştir. Peroksit sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve mili eşdeğer gram oksijen / kg yağ olarak ifade edilmiştir.

$$PV = \frac{(V_{\text{ö}} - V_{\text{k}}) \times N}{m} \times 1000$$

PV : Peroksit değeri (mili eşdeğer gram oksijen/kg yağ)

V_ö : Örnek için harcanan mililitre tiyosülfat

V_k : Kör deneme için yapılan sarfiyat

N : Sodyum tiyosülfatın normalitesi

M : Gram olarak tartılan yağ miktarı

3.5.2. *p*-anisidin değeri

Bu çalışmada, peroksit sayısı deneyindeki gibi etüvde okside edilen yağlardan, 22 gün boyunca örnekler alınmış ve *p*-anisidin değeri ölçülmüştür. İkincil oksidasyon ürünleri olan aldehitleri belirlemede kullanılan bu yöntem AOCS metoduna göre yapılmıştır [86]. Bu amaçla 0,5-1,0 g civarında yağ hassas terazide 25 mL’lik balon jojelere tartıldı. Yağlar izooktanla çözümlenerek hacim çizgisine kadar izooktanla tamamlandı. Bu çözeltilerin absorbensı izooktana karşı 350 nm’de okundu. Daha sonra yine bu

çözeltilerden 5'er mL tüplere aktarıldı ve üzerlerine 1 mL % 0,25'lik *p*-anisidin reaktifi (asetik asit içinde) eklenerek 20 sn çalkalandı ve 10 dk karanlık bir yerde bekletildi. Kör örnek için, *p*-anisidin reaktifi 5 mL izooktan üzerine konuldu ve örneklerle aynı işlemlere tabi tutuldu. Bekleme sonunda örneklerin absorbanansı kör örneğe karşı cam küvetler kullanılarak 350 nm'de ölçüldü. *p*-anisidin sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$p-AV = \frac{A_s - (A_b \times 1.2)}{m}$$

m : örnek miktarı

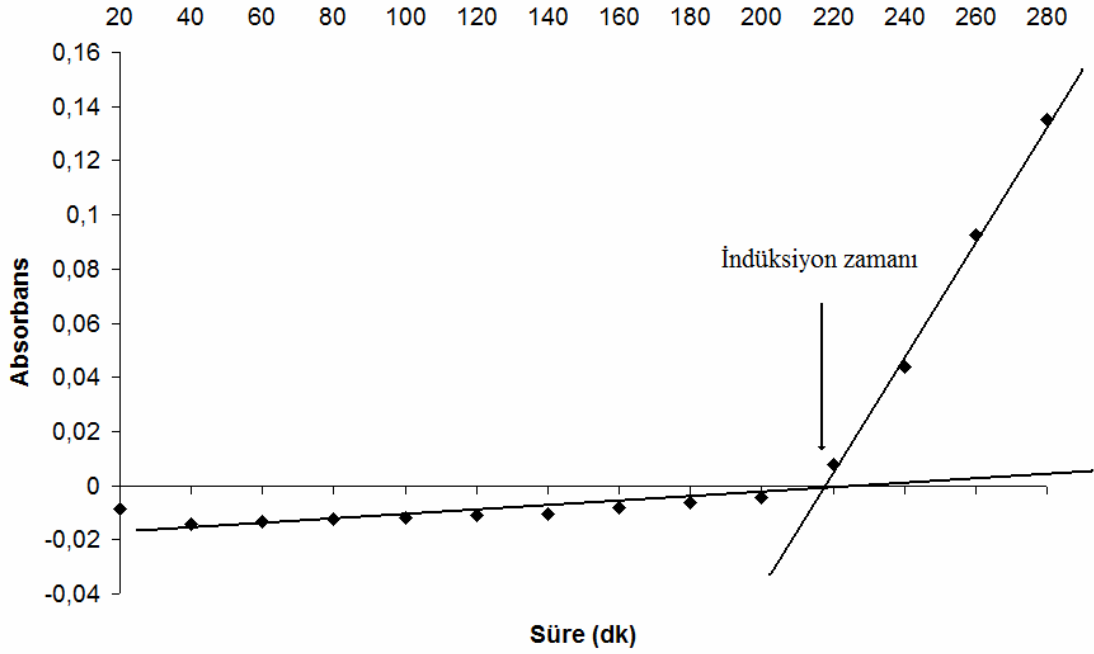
p-AV : para-anisidin değeri

A_s : *p*-anisinin reaktifi konduktan sonra okunan absorbanans

A_b : yağın izooktandaki çözeltisinin absorbanansı

3.5.3. FT-IR analizleri

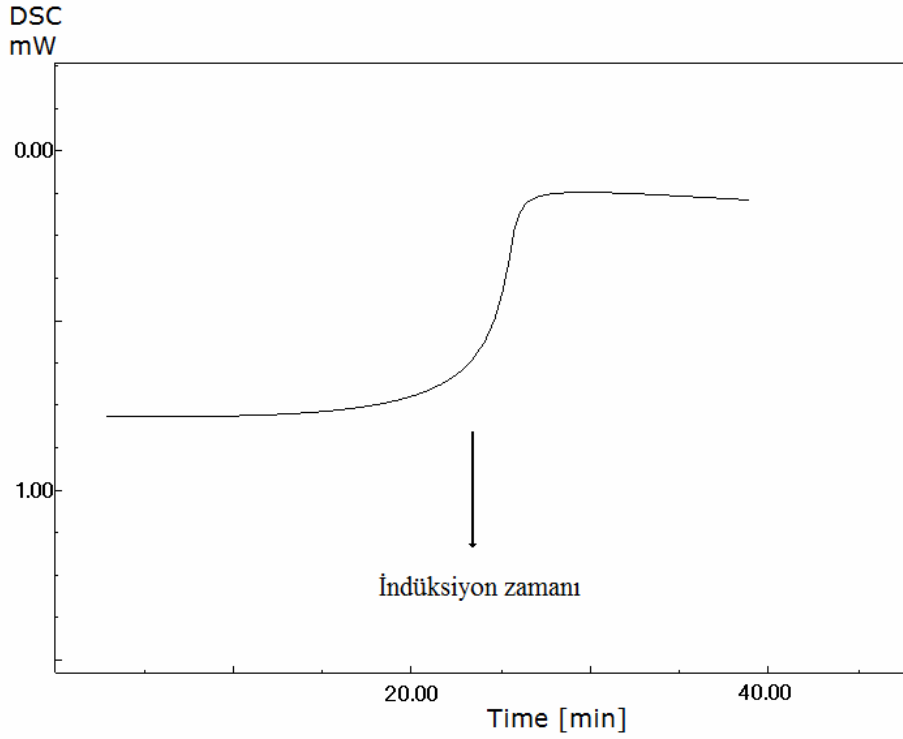
Örneklerin FT-IR spektrumları Varian 1000 model cihazla, yatay ATR (attenuated total reflectance) aparatı kullanılarak alınmıştır [25]. Cihaz çalıştırılmadan önce ortamdan 20 dk azot geçirilmiş ve muhtemel nem kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Cihazın örnek haznesine otomatik pipetle yaklaşık 400 μ L yağ konulmuş ve Omega CN 800 (PIKE technology) model ısıtma ünitesi ile örnek hücresi 130 ± 1 °C'de 360 dk tutulmuştur. Deneyin başlangıcında ve 20 dk aralıklarla 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında spektrum taraması yapılmıştır. Spektrum alınırken tarama sayısı 18 ve rezolusyon 16 olarak ayarlanmıştır. Alınan spektrumlarda peroksitlere ve ikincil oksidasyon ürünlerine ait olduğu tahmin edilen ve absorbansta düzenli artış olan dalga sayısı değerlerinde zamana karşı absorbanans değişimi kaydedilmiştir. İndüksiyon periyodunun nasıl belirlendiği Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Burada başlangıçtan eğrinin eğiminin değiştiği noktaya kadar lineer bir doğru çizilmiş ve denklemi hesaplanmıştır. Daha sonra eğimin arttığı ikinci bölüm için de lineer bir doğru çizilerek denklem hesaplanmış ve bu iki doğrunun kesiştiği noktadaki süre değeri indüksiyon zamanı olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. 20 dk kavrulmuş kayısı çekirdeği örneğinin 968 cm^{-1} dalga sayısı değerinde $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 280 dk boyunca FT-IR absorbensinde görülen değişimin grafik olarak gösterimi. Grafikte ani değişimin görüldüğü yer indüksiyon zamanı olarak kaydedilmiştir.

3.5.4. DSC analizleri

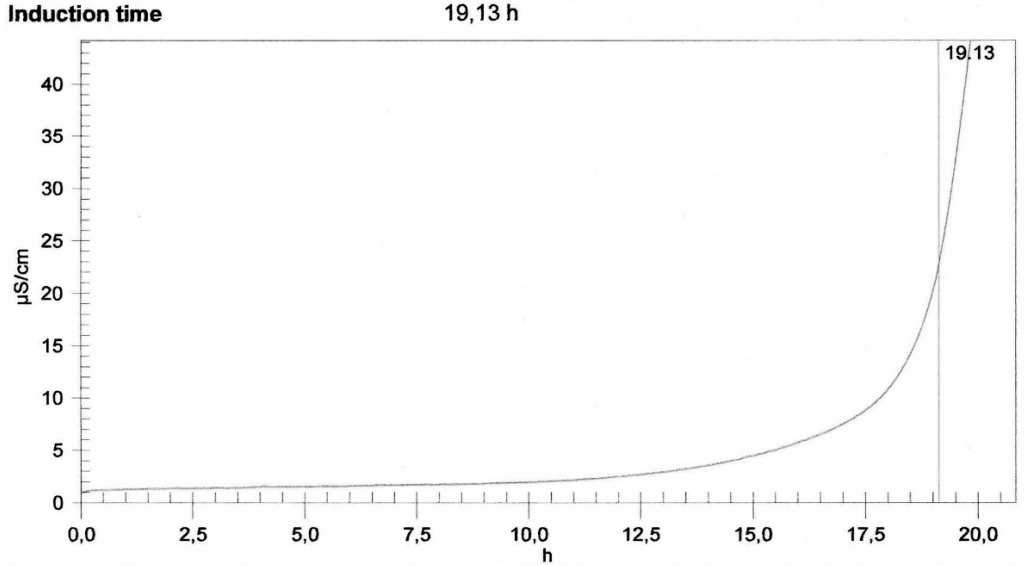
Analizler, Shimadzu DSC 60 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazı ile gerçekleştirilmiştir [87]. DSC kalibrasyonu indiyum ve çinko standartları ile yapılmış ve referans madde olarak $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ kullanılmıştır. Alüminyum DSC küvetlerine 3 mg örnek tartılmış ve havanın yağla temasını arttırmak için 1 mm delik açılmış kapaklar, hermetik olarak kapatılmış ve referans olarak boş DSC küveti kullanılmıştır. Yağların oksidatif indüksiyon sıcaklıklarını belirlemek amacıyla $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{dak}$ ısıtma hızı ile hava atmosferinde (60 litre/saat akış hızında) $20\text{-}350\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında artan sıcaklık programı uygulanmıştır. Tüm örnekler için $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de izotermal DSC tekniği uygulanmıştır. Burada $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızı ile örnekler $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye getirilerek bu sıcaklıkta 60 dakika bekletilmiş ve her bir örneğin entalpisinde ani değişimin olduğu süre indüksiyon süresi olarak belirlenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. DSC indüksiyon zamanının nasıl belirlendiğinin grafik üzerinden gösterimi.

3.5.5. Ransimat testi

Ransimat analizleri Fiskobirlik A.Ş. Entegre tesisleri laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir [88]. Çalışmada Methrom 743 (Herisau, İsviçre) cihazı kullanılmıştır. Cihazın tüplerine yaklaşık 4 gram yağ örneklerinden konulmuş ve hava akış hızı 20 litre/saat olarak ayarlanmıştır. Cihaz 110 °C'ye ayarlanmış ve bu sıcaklığa çıkış hızı 1,5 °C/dk olarak belirlenmiştir. İletkenliğe karşı zaman grafiğindeki ani değişimin olduğu dönüm noktası cihaz tarafından otomatik olarak belirlenmiş ve indüksiyon zamanı olarak kaydedilmiştir. Örnek bir ransimat grafiği Şekil 3.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.4. Örnek bir Ransimat grafiği. Dikey çizgi indüksiyon zamanını göstermektedir.

3.6. Yağ Analizleri

3.6.1. Yağ asidi bileşimi

Metil esterleri eldesi

Yağ asidi metil esterleri Şahin ve ark.'nın kullandığı yöntemle göre hazırlanmıştır [89]. Yaklaşık 40 mg yağ, amber renkli viallere tartılmış ve üzerine 3 mL % 8 HCl içeren metanol eklenmiştir. Vialler vortekslenmiş ve 75 °C'ye ayarlanmış bir etüvde 2 saat bekletilmiştir. Etüvden çıkarılan vialler buz içerisinde bekletilerek soğutulmuş, her bir vial 2 mL hekzan eklenerek çalkalanmış ve 2000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Hekzan fazı bir pastör pipetiyle alınarak GC cihazına verilmek üzere GC viallerine alınmıştır.

Gaz kromatografisi

Kayısı çekirdeği yağlarının yüzde yağ asidi bileşimi Agilent 7890A Gaz kromatografi sistemi, 7683B serisi oto enjektör ve alev iyonizasyonu dedektörü (FID) ile belirlenmiştir. Kromatografik ayırım için DB-23 kapillar GC kolonu (60 m × 0.25 i.d., 0.25 μm film kalınlıklı; J&W Scientific, USA) kullanılmıştır. Analiz şartları; enjektör sıcaklığı; 250 °C, dedektör sıcaklığı; 250 °C, fırın sıcaklığı programı; 140 °C'de 5 dk, 4 °C/dk artışla 240 °C ve bu sıcaklıkta 10 dk bekleyecek şekilde belirlenmiştir. Yürütücü

gaz olarak helyum (30 mL/dk akış hızıyla) kullanılmış ve 1:30 split modu seçilmiştir. Ticari yağ asidi metil esterleri karışımı, dış standart olarak, her bir yağ asidi metil esterinin çıkış zamanını belirlemek için kullanılmıştır. Her bir yağ asidinin % oranı, o yağ asidine ait pikin altında kalan alanının, toplam pik alanına bölümünden elde edilmiştir [5].

3.6.2. Tokoferol analizi

α , β , γ ve δ -Tokoferol analizi için Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılmıştır [5]. Çalışmada ThermoFinnigan (ThermoFinnigan, San Jose, CA) marka cihaz, Luna Silica (250×4,6 mm, 5 μ m; Phenomenex, Torrance, CA) kolon ve foto diyot array dedektör kullanılmıştır. Analizler 30 °C sabit kolon fırını sıcaklığında ve hareketli faz olarak % 99 hekzan ve % 1 izopropanol kullanılarak normal faz şartlarında izokratik olarak yapılmıştır. Yağlar yürütücü faz içerisinde seyreltilerek direkt olarak kolona enjekte edilmiştir. Örnek injeksiyon miktarı 20 μ L olup analiz 292 nm’de yapılmıştır. Her bir tokoferol izomerinin miktarı dış standartların (α , β , γ ve δ -Tokoferol, Merck) alıkonma zamanlarıyla ve pik alanlarıyla karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

3.7. Deney Hayvanı Çalışmaları

3.7.1. Hayvanlar ve diyet

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Etik Kurulu’nun 2006/011 Protokol No’lu etik kurulu raporunda belirtilen izinle gerçekleştirilmiştir. 24 adet Wistar cinsi hayvan İnönü Üniversitesi Deney hayvanları araştırma biriminden temin edilmiştir. Hayvanlar her grupta 8 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrılmış ve her bir grup da kendi içinde ikiye ayrılarak toplam 6 kafes oluşturulmuştur. Hayvanlar 12 saat ışık - 12 saat karanlık olacak şekilde 20±1 °C’de tutulan barınaklarda tutulmuştur. Her bir kafese sınırsız su ve bileşimi Çizelge 3.1’de verilen yem günlük olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemlerin gruplara göre bileşimi.

% Bileşim	kontrol	1.grup	2.grup
Kazein	20	20	20
Sakaroz	15	15	15
Selüloz*	5	5	5
Vitamin&Mineral**	5	5	5
Ayçiçeği yağı	7	7	-
Kayısı çekirdeği yağı	-	-	7
Kolik asit	0,25	0,25	0,25
Kolesterol	-	0,5	0,5
Methionin	0,2	0,2	0,2
Mısır Nişastası	kalan	kalan	kalan

*Selüloz kaynağı olarak buğday kepeği kullanılmıştır. Buğday kepeği yaklaşık %50 lif içermektedir.

**Vitamin mineral karışımının bileşimi Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Yemlere katılan vitamin&mineral karışımının bileşimi.

Vitamin mineral karışımının her kilogramında	
Vitamin A	1 200 000 IU
Vitamin D ₃	300 000 IU
Vitamin E	10 000 mg
Vitamin B1	50 mg
Vitamin B2	200 mg
Vitamin B6	10 mg
Vitamin C	100 mg
VitaminK3	100 mg
Cal-D-Pantotenat	400 mg
Niacin	600 mg
Demir	10 000 mg
Manganez	5 000 mg
Bakır	1 000 mg
Kobalt	12 mg
Selenyum	12 mg
Çinko	4 000 mg
Sodyum	79 500 mg
İyot	50 mg
Kalsiyum	190 400 mg
Fosfor	90 100 mg
Kolin	1 000 mg

3.7.2. Hayvanların kesimi

Deney sıçanları “servikal dislokasyon” yoluyla öldürülmüş, kanları ana arterden alınmış, vakumlu tüplere aktarılmış ve aynı gün kan lipid düzeylerine bakılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır. Hayvanların karaciğerleri, cerrahi tekniklerle alınmış ve izotonik

sodyum klorür (0.9 % NaCl) ile perfüze edilip temizlenerek iki kısma ayrılmıştır. Birinci kısım enzim aktivite tayini için, ikinci kısım ise lipid peroksidasyonunu belirlemek için homojenize edilmiştir.

3.7.3. Dokuların homojenizasyonu

Enzim aktivitesi yapılacak dokunun homojenizasyonunda, öncelikle doku tartılmış ve 1/5 (w/v) oranında PBS tamponu (pH 7.4) eklenerek buz izolasyonu altında tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar, sonifikatörde (VWR Branson scientific) 30 saniyelik aralıklarla 3 defa 30 saniye sonifiye edilmiş ve +4 °C’ de 17 000 g’de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Böylece enzim aktiviteleri ve protein tayininin yapılacağı süpernatant elde edilmiştir. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapıncaya kadar –70 °C ’de derin dondurucuda saklanmıştır.

Lipid peroksidasyonunu belirleyeceğimiz dokunun homojenizasyonu ise % 1,15’lik KCl ile 1/10 (w/v) oranında eklenerek hazırlanmış ve analiz yapıncaya kadar yine –70 °C’ de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.7.4. Protein tayini

Enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu ölçümleri yapılmadan önce karaciğer dokusundan elde edilen süpernatandaki protein miktarını belirlemek için Lowry yöntemi kullanılmıştır [90]. Bu yöntem için kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıdaki gibidir:

A çözeltisi:

- % 2’lik Na₂CO₃’ın 0,1 N NaOH’ teki çözeltisi : 100 hacim
- % 2’lik Na,K- Tartarat çözeltisi : 1 hacim
- % 1’lik CuSO₄ çözeltisi : 1 hacim

A çözeltisi, yukarıda belirtilen üç çözeltinin hazırlanarak deneye başlamadan hemen önce belirtilen hacim oranlarında karıştırılması ile hazırlandı.

B çözeltisi :

- Folin Fenol Belirteci : 1 hacim

-- Distile su : 1 hacim

B çözeltisi, yukarıdaki çözeltilerin belirtilen hacim oranlarında karıştırılmasıyla hazırlandı.

BSA çözeltisi:

Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA (Bovine Serum Albumin) 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti olarak hazırlanmış ve örneklerin çalışma aralığına göre 10, 20, 30, 40, 50 μg /mL'lik çözeltileri hazırlanarak kullanılmıştır.

İşlem:

Her deney için 2 kör, örneğin çalışma aralığına göre değişik konsantrasyonlarda BSA'lar ve örnek tüpleri hazırlanmıştır. Bütün tüplere **A** çözeltisinden 2.5 mL eklenmiştir. BSA tüplerine belirtilen hacimlerde BSA çözeltilerinden, numune tüplerine ise deney şartlarına bağlı olarak 5,10,.. μL 'lik örnek çözeltileri tüpün duvarlarına damlacıklar şeklinde yapıştırılmıştır. İki kez vortekslenen tüpler 10 dk bekletilmiş ve 1:1 oranında hazırlanan Folin-fenol belirtecinden tüm tüplere 250 μL eklenmiştir. Tekrar vortekslenen tüpler, renk oluşumu için karanlıkta 45 dk beklemeye bırakılmış, bu sürenin bitiminde karanlık ortamdan çıkarılmış ve örneklerin 695 nm'deki absorbanları okunmuştur. Standart BSA çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örneklerin 1 mL'sindeki protein miktarı hesaplanmıştır.

3.7.5. Enzim aktivite tayinleri

3.7.5.1. Katalaz aktivite tayini

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck, 1965 [91] yöntemine göre yapılmıştır. Na-K-fosfat tampon çözeltisinin (Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 pH: 7,0, 1/15 M) 100 mL'sine 160 μL H_2O_2 (derişik) çözeltisi eklenerek hazırlanan bu çözeltiden 1000 μL alınıp kör olarak kullanılmıştır. Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000 μL alınıp spektrofotometre küvetine konmuş ve üzerine çalışma aralığına bağlı olarak 30 μL 'den başlayarak artan miktarlarda süpernatant eklenmiş ve bir kez karıştırılıp 240 nm dalga boyunda 30 sn süreyle absorban takip edilmiştir. Okunan optik yoğunluk farkından mL'deki enzim ünite sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$C = \frac{\Delta OD \times 1 \text{ dk} \times 1000}{0.036 \times \mu\text{L süpernatant}} \times 100 \quad \Delta OD: \text{Optik yoğunluk farkı}$$

3.7.5.2. Glutasyon peroksidaz aktivite tayini

Glutasyon peroksidaz enziminin aktivite tayini için Lawrence ve Burk'un yöntemi kullanılmıştır [92]. Kör için 1 mL tampon (50 mM KH_2PO_4 + K_2HPO_4 + 5 mM EDTA içeren pH:7), 10 μL 0,2 mM NADPH, 10 μL 2 mM GSH, 10 μL 1 mM NaN_3 ve 2 μL 1,2 U/mL GSSG redüktaz çözeltileri spektrofotometre küvetine konmuştur. 37°C de 5 dk süre ile inkübasyona tabii tutulan çözelti karışımına 10 μL H_2O_2 ilave edilmiş ve 340 nm deki absorbans değişimi 1 dk süresince gözlenmiştir. Numune deneyleri için ise belirli miktarlarda süpernatant ilave ettikten sonra 37°C de 5 dk süre ile inkübasyona tabi tutulup kör denemede olduğu gibi 340 nm deki absorbans değişimi okunarak enzim aktivite tayini aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$C = \frac{\Delta OD}{6220/\text{mL}} \quad \Delta OD: \text{Optik yoğunluk farkı}$$

3.7.5.3. TBARS metoduyla lipid peroksidasyonunun belirlenmesi

Bu analiz Beuge [93]'nin yöntemiyle yapılmıştır. % 15'lik TCA çözeltisi, % 0,375'lik TBA çözeltisi ve 0,25 N 'lik HCl çözeltisinden birer hacim karıştırılarak bir çözelti elde edilmiş ve 10 mL'lik santrifüj tüplerine bu karışımdan 4 mL konulmuştur. Kör tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 1 mL homojenat konmuş ve vortekslenerek kaynar suda (95-100 °C 'de) 15 dk bekletilmiştir. Daha sonra tüpler soğutulmuş ve 3500 rpm' de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanın 535 nm'deki absorbansı spektrofotometrede okunarak, MDA miktarı $\epsilon = a.b.c$ formülünde (Lambert-Beer formülü) MDA-TBA kompleksi için molar absorbans katsayısı: $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $b = 1 \text{ cm}$ ve $a =$ okunan absorbans olacak şekilde yerlerine konularak "c" konsantrasyon değeri hesaplanmıştır.

3.7.6. Kan kolesterol ve trigliserid düzeylerinin belirlenmesi

Deney sıçanlarının kanlarında LDL, HDL, total kolesterol ve trigliserid düzeyleri, özel bir sağlık kurumunda oto analizör (Giese H902) kullanılarak belirlenmiştir.

3.8. İstatistiksel Analiz

Her bir deney en az 3 tekrarlı olarak yapılmış ve elde edilen sonuçlar “SPSS 9.0” paket programıyla değerlendirilmiştir. Farklı düzeylerde kavrulmuş örnekler ve farklı çeşitlerden elde edilen sonuçlar arasındaki farkların istatistiksel önem düzeyleri “One way ANOVA (Analysis of variances)” testi ve “DUNCAN” post testiyle belirlenmiştir. Farklı grupların istatistiksel olarak önem düzeyleri a,b,c... şeklinde indislerle gösterilmiştir. Bu indislerin sayısı DUNCAN testinde oluşan grup sayısına göre belirlenmiştir. Sözelimi, yapılan istatistiksel analiz sonucu 3 farklı grup oluşmuşsa, en yüksek değerlerin görüldüğü gruba “a” indisi, bir düşük gruba “b” ve en düşük sonuçları içeren gruba da “c” indisi verilmiştir. Eğer herhangi bir sonuç aynı anda iki grupta yer almışsa, bu sonuç “ab” “bc” gibi bir indisle işaretlenmiştir. Örnek bir istatistik tablosu EK 1’de verilmiştir.

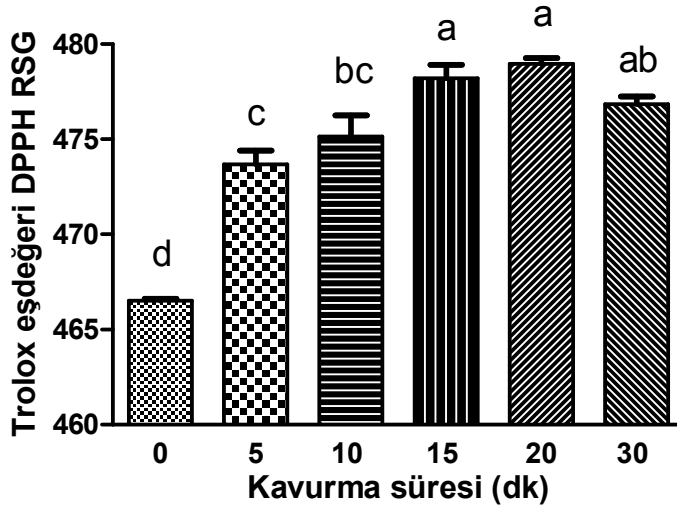
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Antioksidan Kapasite Testleri

4.1.1. Yağlarda direkt antioksidan testler

DPPH Testi

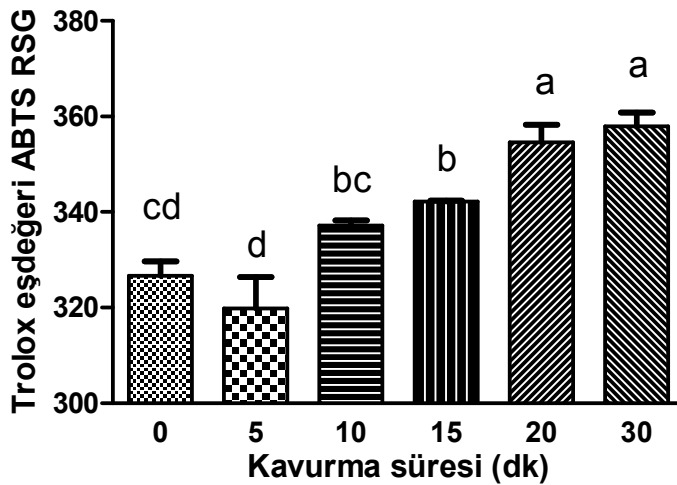
DPPH radikali süpürme gücü bakımından, tüm kavrulmuş örnekler kavrulmamış çekirdekten elde edilen yağa göre daha yüksek sonuçlar vermiştir ($P<0,05$) (Şekil 4.1). Kavrulmamış yağın gramı 467 ± 2 μg Trolox eşdeğeri antiradikal aktivite gösterirken 5, 10, 15, 20 ve 30 dk kavrulmuş çekirdeklerden elde edilen yağlar sırasıyla 472 ± 2 , 475 ± 2 , 478 ± 1 , 478 ± 1 , 476 ± 1 μg Trolox/gram yağ değerlerini vermiştir. 15 ve 20 dk kavrulmuş örnekler diğer tüm örneklerle göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek sonuçlar vermiştir ($P<0,05$). Bunları, istatistiksel önem düzeylerine göre 30 dk, 10 dk, 5 dk kavrulmuş örnekler takip etmiştir.



Şekil 4.1. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının DPPH radikal süpürme güçleri (RSG: 1 gram yağın μg Trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme gücü). Barların üzerinde görülen indisler, grupların istatistiksel gruplarını göstermektedir ($P<0,05$).

ABTS Testi

ABTS radikal süpürme gücü bakımından da DPPH yöntemine benzer bir şekilde kavurma ile antiradikal aktivitede bir artış gözlenmiştir. Ancak buradaki artış DPPH yöntemine göre çok daha belirgin olmuştur. Ayrıca bu yöntemde DPPH yönteminden farklı olarak 5 dk kavurulmuş örnek kavrulmamış örnekten daha düşük sonuç vermiştir. 1 gram yağın μg Trolox eşdeğeri olarak gösterdiği ABTS radikal süpürme gücü değerleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. En düşük değeri $319 \pm 9 \mu\text{g}$ Trolox/gram yağ ile 5 dk kavurulmuş çekirdek yağı gösterirken en yüksek değeri $357 \pm 4 \mu\text{g}$ Trolox/gram yağ ile 30 dk kavurulmuş örnek göstermiştir. ABTS radikal süpürme gücü bakımından 20 dk kavurulmuş örnek ile 30 dk kavurulmuş örnek arasındaki farkın önemsiz düzeyde olduğu görülmüştür. 5 dk kavurulmuş örnek hariç diğer tüm örnekler kavrulmamış örneğe göre önemli düzeyde yüksek ABTS radikal süpürme gücü göstermiştir ($P < 0,05$).



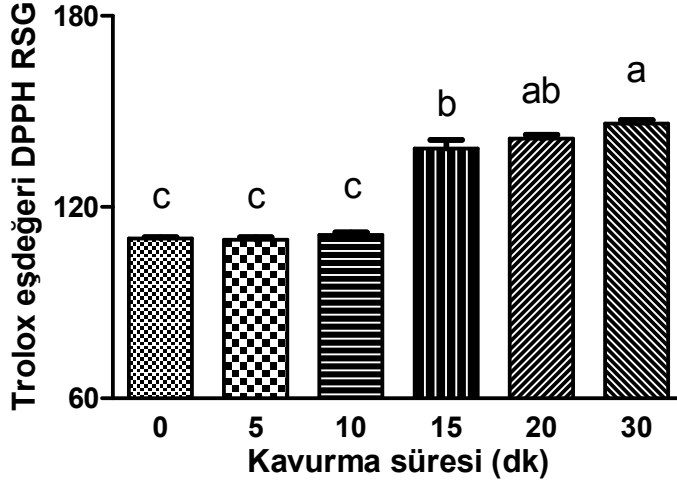
Şekil 4.2. Farklı düzeylerde kavurulmuş kayısı çekirdek yağlarının ABTS radikal süpürme güçleri (RSG: 1 gram yağın μg Trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme gücü).

4.1.2. Yağ metanol ekstraktlarında antioksidan testler

DPPH Testi

Beş farklı düzeyde kavurulmuş ve kavrulmamış çekirdeklerden elde edilen metanol ekstraktlarının DPPH radikalini süpürme güçleri Şekil 4.3’de gösterilmiştir. En yüksek antioksidan kapasiteyi 30 dk kavurulmuş çekirdekten elde edilen yağın metanol ekstraktı

göstermiştir ($146 \pm 2 \mu\text{g}$ Trolox/gram yağ). 5 ve 10 dk kavrulmuş örneklerin antiradikal aktivitesi kavrulmamış örnekle istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır.

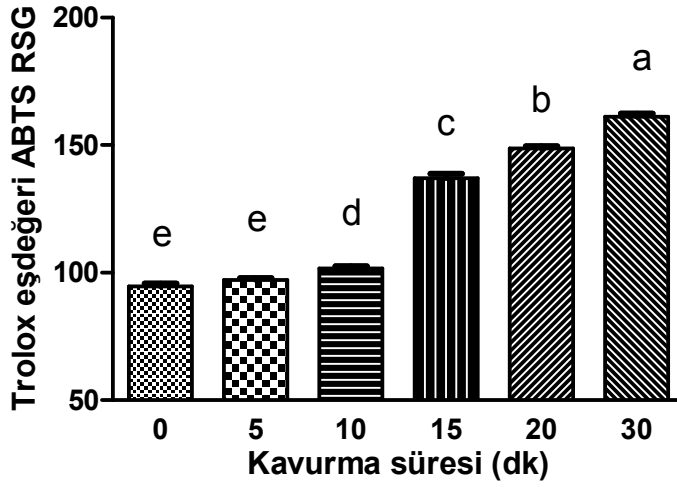


Şekil 4.3. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının DPPH radikal süpürme güçleri. (RSG; 1 gram yağdan elde edilen metanol ekstraktının mikrogram Trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme gücü)

Kavrulmamış örnek $110 \pm 0 \mu\text{g}$ Trolox/g yağ eşdeğeri antiradikal aktivite gösterirken 5 dk kavrulmuş örnek ekstraktı 109 ± 0 ve 10 dk kavrulmuş örnek ekstraktı da $110 \pm 0 \mu\text{g}$ Trolox/g yağ düzeyinde antiradikal aktivite göstermiştir. 15 dakika kavrulmuş örnek için ölçülen DPPH radikal süpürme gücünde, 10 dk kavrulmuş örneğe göre belirgin bir artış görülmüş (138 ± 4), ama daha ileri düzeyde kavurma ile (20 ve 30 dk) hafif bir artış olsa da bu kadar belirgin bir aktivite artışı görülmemiştir.

ABTS testi

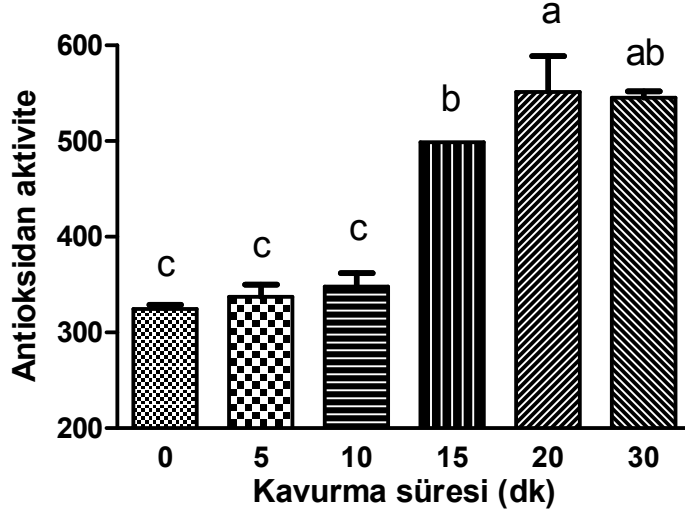
ABTS radikali süpürme gücü bakımından kavurma işlemi ile birlikte (5 dk kavrulmuş örnek hariç) kayısı çekirdeği yağı metanol ekstraktının antioksidan kapasitesinde önemli bir yükseliş gözlenmiştir ($P < 0,05$). Bu yükseliş 15 dakika ve daha uzun süreli kavurma için çok daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiş ve 15 ve 20 dk kavrulmuş örnekler sırasıyla 137 ± 3 ve $148 \pm 1 \mu\text{g}$ Trolox/gram yağ antioksidan kapasite göstermiştir. En yüksek ABTS radikal süpürme gücü 30 dk kavrulmuş örnekte $161 \pm 2 \mu\text{g}$ Trolox/gram yağ ile saptanmıştır (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının ABTS radikal süpürme güçleri. (RSG; 1 gram yağdan elde edilen metanol ekstraktının μg Trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme gücü)

β -karoten beyazlatma testi

Beş farklı düzeyde kavrulmuş ve kavrulmamış çekirdeklerden elde edilen yağların metanol ekstraktlarının, hızlandırılmış oksidasyon koşullarında β -karotenin beyazlamasına olan etkisi Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 5 ve 10 dk kavrulmuş örnekler hariç, diğer tüm kavrulmuş örnekler kavrulmamış örneğe göre daha yüksek antioksidan kapasite göstermiştir ($P<0,05$). Antioksidan kapasitede belirgin yükselme 15 dk ve daha uzun süre kavrulmuş örneklerde görülmüştür. 20 dk’dan daha fazla kavurma ile antioksidan kapasitede daha fazla bir artış görülmemiş, hatta 30 dk kavrulmuş örneğin antioksidan kapasitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde düşüş gözlenmiştir. Artan kavurma süresine bağlı olarak örnekler 324 ± 7 , 337 ± 22 , 347 ± 24 , 524 ± 45 , 551 ± 53 , 526 ± 33 μg Trolox/gram yağ düzeyinde antioksidan kapasite göstermişlerdir.

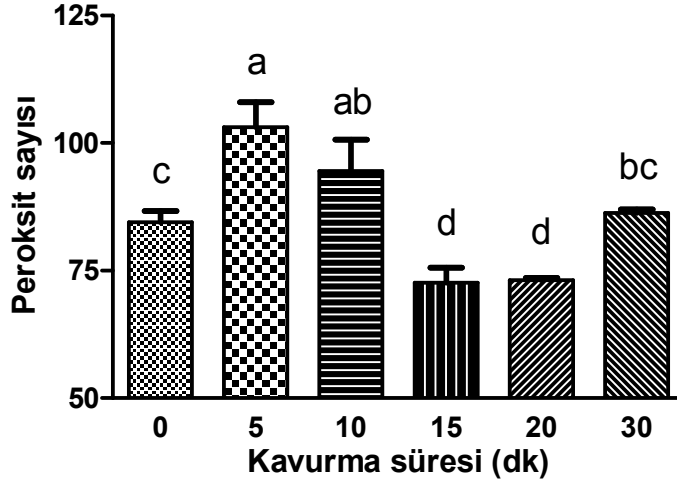


Şekil 4.5. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdek yağlarının metanol ekstraktlarının hızlandırılmış oksidasyon koşullarında β -karotenin beyazlamasına etkisi.

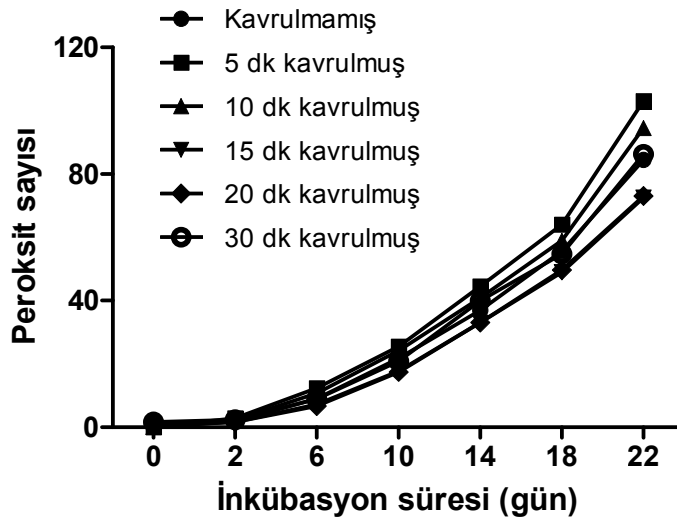
4.2. Oksidatif Stabilité Testleri

4.2.1. Peroksit sayısı

Oksidasyonun 22. günü itibariyle örneklerin peroksit değerleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. 5 ve 10 dk kavurma ile kavrulmamış örneğe göre daha yüksek peroksit değerleri okunurken 15 ve 20 dk kavurma ile peroksit sayısı düşmekte ve 30 dk kavurma ile ise tekrardan yükselen peroksit değeri gözlenmiştir ($P<0,05$). Artan kavurma düzeyine göre peroksit sayıları sırasıyla 84 ± 2 , 103 ± 5 , 94 ± 6 , 72 ± 3 , 73 ± 0 , 86 ± 2 mili eşdeğer gram oksijen/kg yağ olarak gerçekleşmiştir. Oksidasyon periyodu boyunca peroksit sayısındaki değişim Şekil 4.7'de görülmektedir.



Şekil 4.6. Fırın oksidasyon testinin 22. günü itibariyle örneklerin gösterdiği peroksit sayısı değerleri (milieşdeğer gram oksijen/kg yağ).

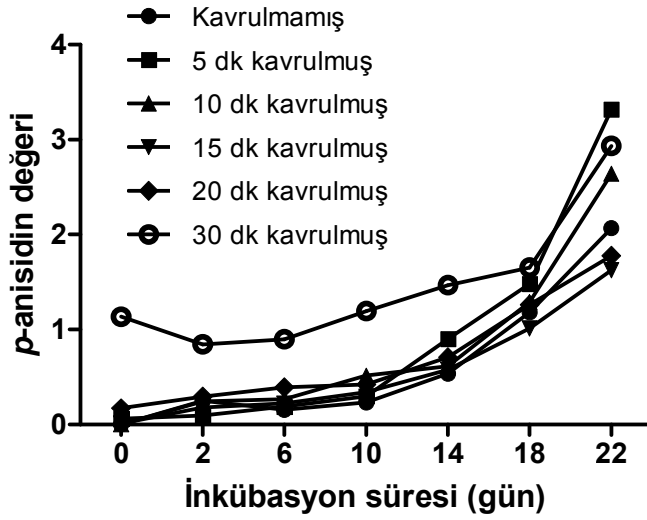


Şekil 4.7. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında peroksit sayısındaki (milieşdeğer gram oksijen/kg yağ) değişim.

4.2.2. *p*-anisidin değeri

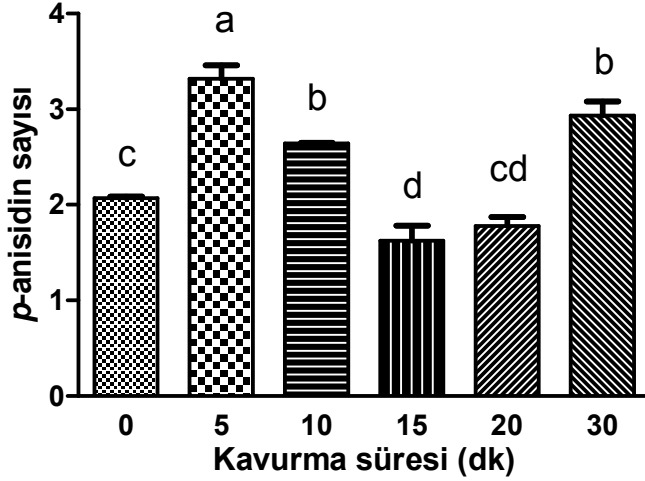
Bu testte peroksit sayısından farklı olarak oksidasyon periyodunda 14. güne kadar kavrulmamış örnek en düşük değerleri gösterirken, bu günden sonra 15 dk kavrulmuş örnek daha düşük sonuçlar vermiştir. Oksidasyonun başlangıcından 18. gününe kadar 30 dk kavrulmuş örnek her ölçümde en yüksek değerleri vermiş bu aşamadan sonra ise

5 dk kavrulmuş örnek daha yüksek sonuçlar vermiştir. Oksidasyon periyodu boyunca *p*-anisidin değerlerindeki değişim Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında *p*-anisidin değerindeki değişim.

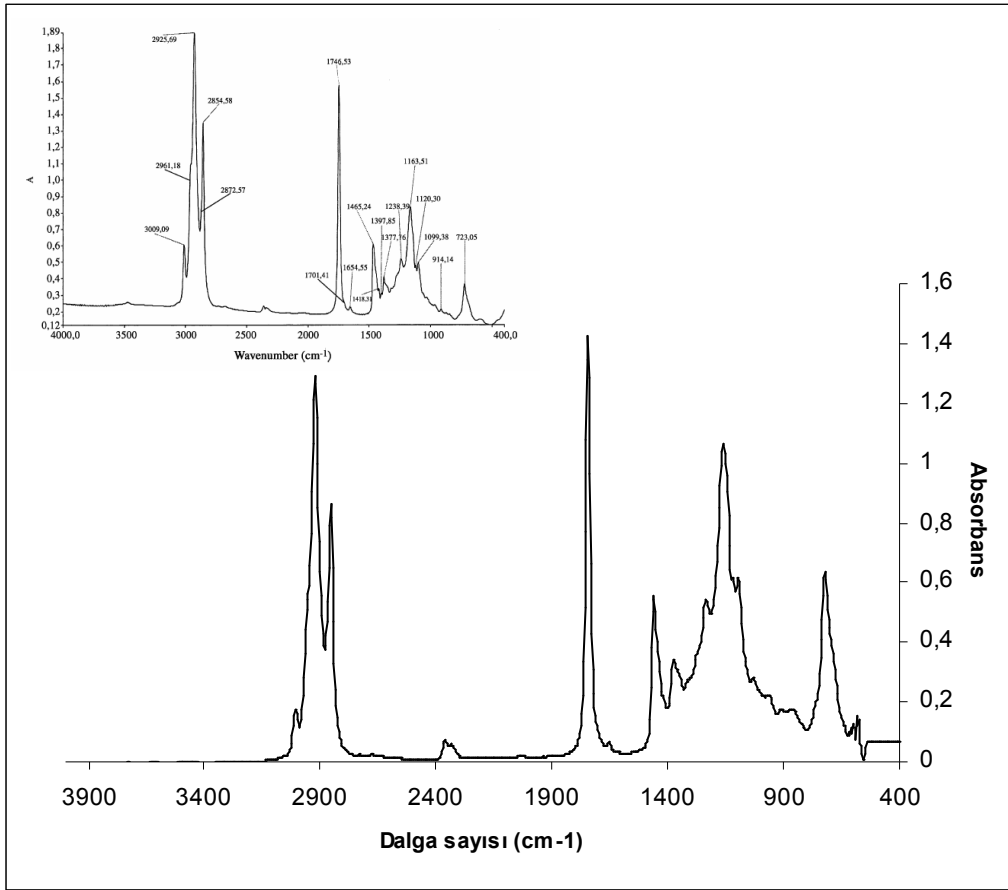
Örneklerin oksidasyonun 22. gününde gösterdikleri *p*-anisidin değerleri Şekil 4.9’da görülmektedir. Peroksit sayısında olduğu gibi *p*-anisidin sonuçlarında da 5 ve 10 dk kavrulmuş örnekler kavrulmamış örnekten daha yüksek sonuçlar vermiştir. 15 ve 20 dk kavrulmuş örnekler ise kavrulmamış örnekten daha düşük sonuçlar vermiştir ($P<0,05$). 30 dk kavrulmuş örnek ise 5 dk kavrulmuş örnek hariç diğer tüm örneklerden daha yüksek *p*-anisidin değeri göstermiştir.



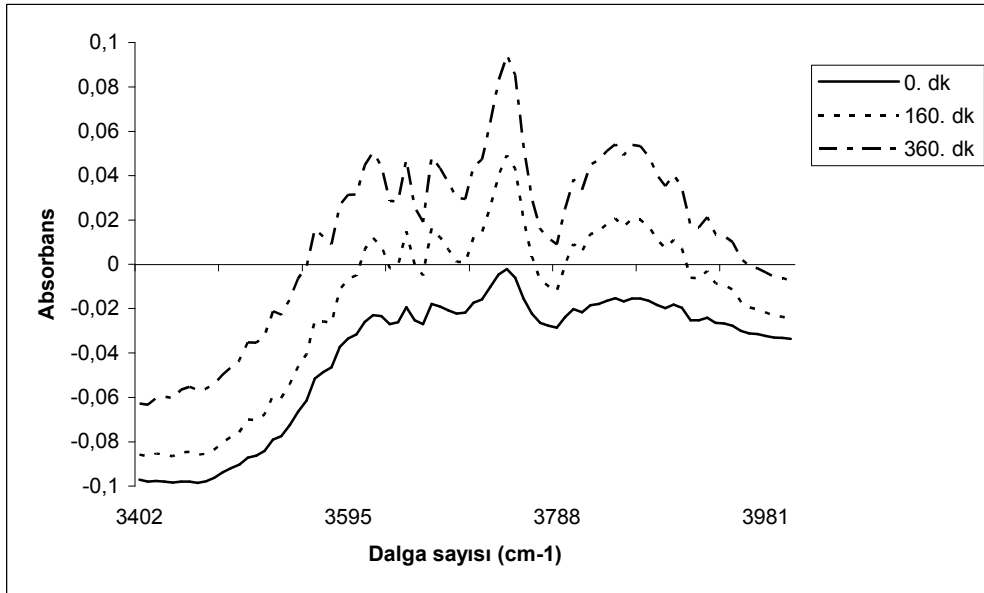
Şekil 4.9. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği yağlarının fırın oksidasyon koşullarında 22. günde gösterdikleri *p*-anisidin değeri.

4.2.3. FT-IR analizleri

Kavrulmamış örneğin oksidasyon başlangıcında verdiği FT-IR spektrumu Şekil 4.10’de verilmiştir. Bu spektrum mısır özü yağı spektrumuna benzerlik göstermektedir. Ancak kayısı çekirdeği yağının kendine has yağ asidi bileşimi, serbest yağ asidi oranı gibi faktörlerden dolayı pik yükseklikleri ve genişliklerinde bazı farklılıklar görülmektedir. Çizelge 4.1’de tipik bir yağ spektrumundaki piklerin anlamları verilmektedir. Çizelge 4.2’de 130 °C de tutulan FT-IR hücrelerinde kayısı yağı örneklerinin zamana karşı absorban değerinde değişim görülen dalga sayıları ve bu dalga sayılarında oksidasyonun indüklendiği süreler verilmiştir. Bu süreler Şekil 3.2’de gösterildiği gibi belirlenmiştir. Şekil 4.11.’de ısıtma hücrelerinde bekletilen yağın 3400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında başlangıç, 160. dk ve 360. dk’da verdiği spektrumlar üst üste görülmektedir. Oksidasyonun ilerleyen basamaklarında, oluşan absorban artışı bu grafikte görülebilmektedir.



Şekil 4.10. Kavrulmamış ve okside olmamış kayısı çekirdeği yağının FT-IR spektrumu. Sol üst köşedeki küçük şekilde mısır yağının FT-IR spektrumu görülmektedir [94].



Şekil 4.11. Kavrulmamış kayısı çekirdeği örneğinin FT-IR hücreinde 130 °C bekletilirken başlangıçta, 160. dk'da ve 360. dk'da alınan spektrumlarından bir kesit.

Çizelge 4.1. Şekil 4.10.'deki FT-IR spektrumundaki piklerin açıklamaları [94]

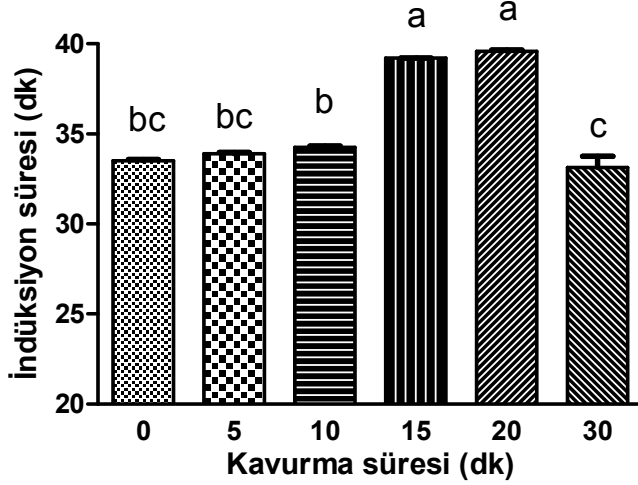
Fonksiyonel grubun bölgesi	Absorbansın sebebi
1.a. Hidrojen bağı gerilme bölgesi	
3009 cm ⁻¹	<i>cis</i> konumundaki (=CH) bağlarındaki C-H gerilmesi
2925, 2854 cm ⁻¹	Alifatik CH ₂ gruplarının simetrik ve asimetrik gerilmesi
2962, 2872 cm ⁻¹	Alifatik CH ₃ gruplarının simetrik ve asimetrik gerilmesinin omuzu
1.b. Çift bağ gerilimleri bölgesi	
1746 cm ⁻¹	Trigliseridin karbonil ester grubu
1700 cm ⁻¹	Serbest yağ asitlerinin omuzu
1654 cm ⁻¹	<i>cis</i> konumdaki C=C bağlarının gerilmesi
1.c. Diğer bağ deformasyon ve eğilmeleri bölgesi	
1465 cm ⁻¹	Alifatik CH ₂ ve CH ₃ gruplarının eğilme titreşimleri
1418 cm ⁻¹	<i>cis</i> -disubstituye olefinlerin CH bağının salınım titreşimi
1397 cm ⁻¹	<i>cis</i> -olefinlerin CH gruplarının yatay eğilim titreşimleri
1377 cm ⁻¹	CH ₂ gruplarının salınım titreşimi
2. Parmak izi bölgesi	
1238, 1163 cm ⁻¹	C-O ester grubunun gerilim titreşimleri
723 cm ⁻¹	Düzlem dışı <i>cis</i> -disubstituye olefinlerin salınım titreşiminin ve CH ₂ bağının salınımlarının üst üste gelmesi.

4.2.4. Diferansiyel taramalı kalorimetre testleri

Bu test 150 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiş ve DSC termogramlarındaki kırılma noktaları oksidatif bozulmaların hızlandığı an olarak kaydedilmiştir. Kavrulmamış ve 5, 10, 15, 20 ve 30 dk kavrulmuş örnekler sırasıyla 33,50±0,11, 33,91±0,08, 34,27±0,09, 39,21±0,03, 39,59±0,11, 33,15±0,86 dakikalık indüksiyon süreleri göstermişlerdir (Şekil 4.12). Kavrulmamış örneğe göre 5, 10 ve 30 dk kavrulmuş örneklerin gösterdiği indüksiyon süreleri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 15 ve 20 dk kavrulmuş örneklerin indüksiyon süreleri ise diğer tüm örneklerle göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 4.2. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların FT-IR spektrumlarında bazı dalga sayılarında indüksiyon zamanları. İndüksiyonun görüldüğü dalga sayılarının hangi kimyasal yapılara ait olduğunun belirlenmesi için literatür bilgilerinden faydalanılmıştır.

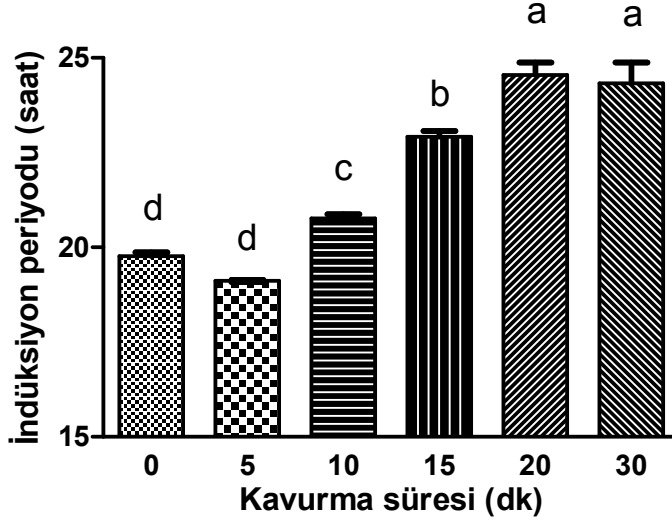
Dalga sayısı (cm ⁻¹)	Kavurma süresi (dk)	İndüksiyon zamanı (dk)	Ait olduğu tahmin edilen yapı(lar)
700-725	0	170±2	Metilen grupları [95]
	5	160±2	
	10	140±4	
	15	200±3	
	20	210±1	
	30	150±3	
880-890	0	200±3	Genel olarak ikincil oksidasyon ürünleri [95]
	5	200±2	
	10	200±1	
	15	210±0	
	20	230±4	
	30	170±6	
960-975	0	200±2	4-Hekzen-3-one, Hekzenal ve 2,4-Dekadienal [96]
	5	190±3	
	10	190±1	
	15	200±2	
	20	210±1	
	30	160±4	
1697-1701	0	190±3	Hekzenal ve dekadial yapılarının karbonil gruplarının absorpsiyonu [96].
	5	190±4	
	10	190±2	
	15	200±2	
	20	225±3	
	30	180±4	
1720-1746	0	190±3	Aldehitler (Hekzenal vs.), ketonlar [94, 95]
	5	190±4	
	10	200±2	
	15	200±2	
	20	210±1	
	30	170±5	
3400-3800	0	180±1	Hidroperoksitler [94, 97]
	5	175±3	
	10	170±4	
	15	190±2	
	20	200±3	
	30	170±2	



Şekil 4.12. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların izotermal DSC indüksiyon süreleri.

4.2.5. Ransimat testi

Bu testten elde edilen sonuçlar Şekil 4.13.'de gösterilmiştir. Oksidasyon koşullarında 5 dk kavurma ile kavrulmamış örneğe göre indüksiyon periyodunda düşüş görülmüştür. Daha ileri düzey kavurma ile indüksiyon periyodu uzamış ve kavrulmamış örneğe göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek değerler ölçülmüştür. Kavrulmamış örneğin ransimat testinde indüksiyon zamanı $19,76 \pm 0,15$ saat iken bu değer 5, 10, 15, 20 ve 30 dk kavurulmuş örnekler için sırasıyla $19,11 \pm 0,02$, $20,76 \pm 0,15$, $22,92 \pm 0,21$, $24,55 \pm 0,45$ ve $24,33 \pm 0,76$ saat olarak gerçekleşmiştir. 20 ve 30 dk kavurulmuş örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş, diğer örnekler için ise anlamlı farklar saptanmıştır ($P < 0,05$).



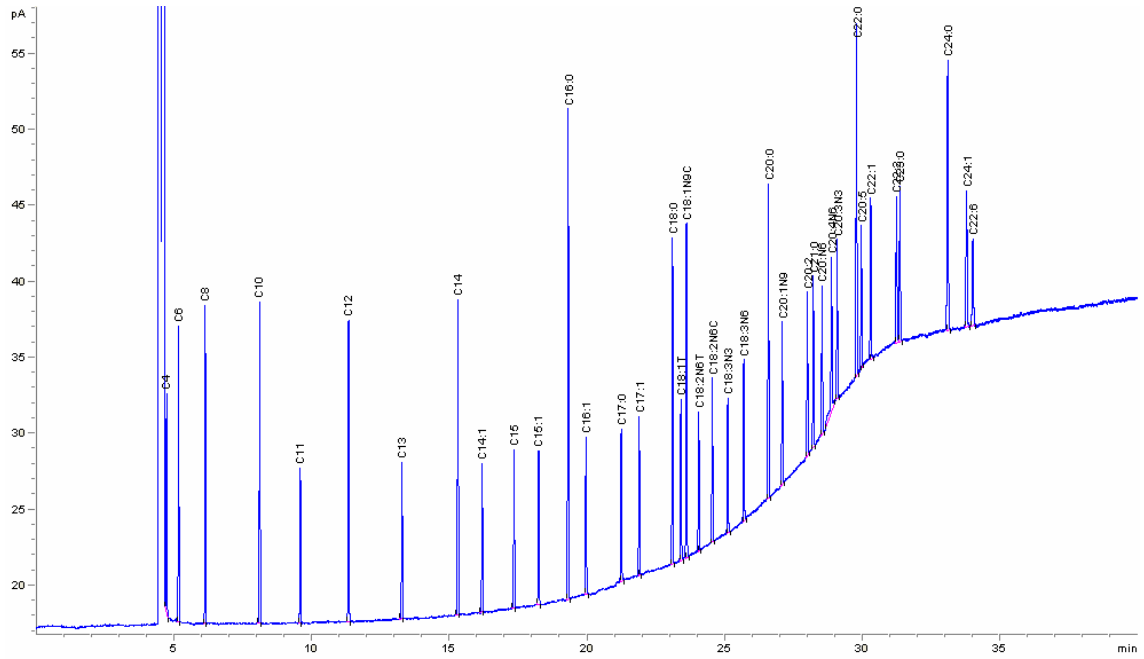
Şekil 4.13. Aktif oksijen metodu (Ransimat metodu) ile hızlandırılmış oksidasyon koşullarında farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği örneklerinin 110 °C’de indüksiyon periyotları.

4.3. Yağ Analizleri

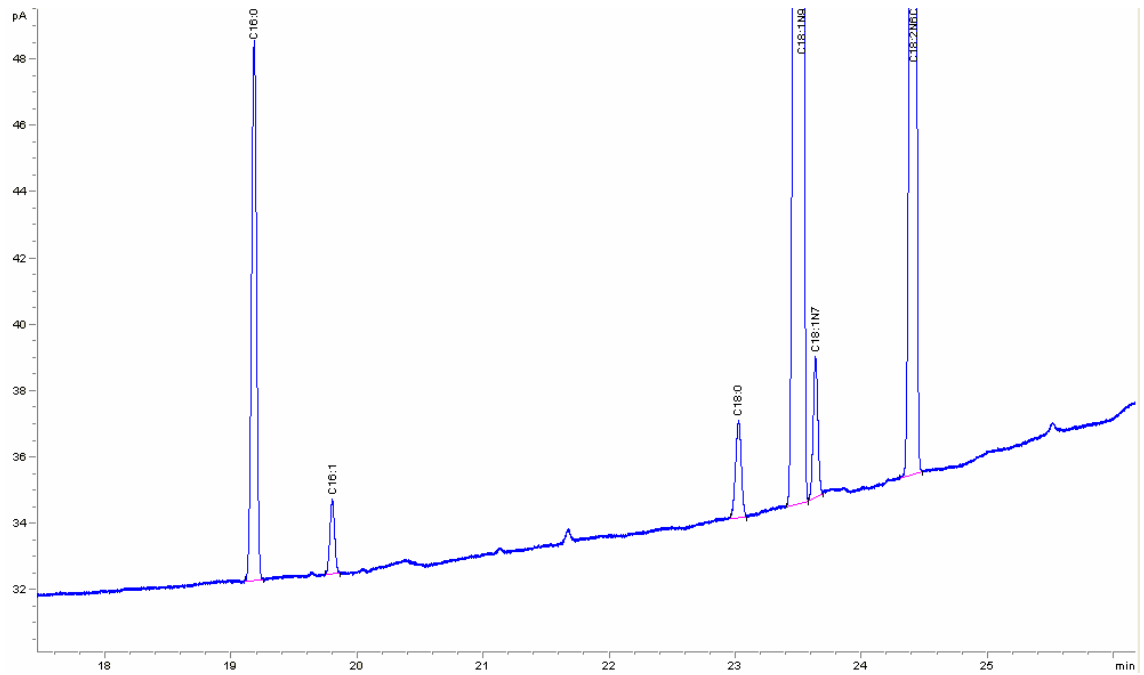
4.3.1. Yağ asidi bileşimi

Yağ asidi analizinde dış standart olarak kullanılan 37 yağ asidinin metil ester karışımının cihazda alınan kromatogramı Şekil 4.14’de görülmektedir. Kayısı çekirdeği yağı örneklerinde başlıca 5 farklı yağ asidinin pikleri görülmüş ve değerlendirilmiştir. Kavrulmamış kayısı çekirdeği yağı örneği için elde edilen GC-FID kromatogramı örnek olarak Şekil 4.15’de verilmiştir. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların yağ asidi dağılımında büyükten küçüğe doğru; oleik asit > linoleik asit > palmitik > stearik > palmitoleik asit sırası görülmüştür. Oleik asit oranı bakımından en yüksek değeri $68,685 \pm 0,092$ ile kavrulmamış örnek gösterirken en düşük değeri $68,325 \pm 0,078$ ile 10 dk kavrulmuş örnek göstermiştir. Ancak kavurmanın oleik asit miktarına etkisi her düzeyde kavrulmuş örnek için istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P < 0,05$). Kavurma işleminin kayısı çekirdeğinin ikinci önemli yağ asidi olan linoleik asit miktarlarına önemli düzeyde etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Kavrulmamış örnek $23,185 \pm 0,007$ ile en düşük değeri verirken farklı düzeylerde kavrulmuş örnekler bu değerden daha yüksek sonuçlar vermiştir. En yüksek linoleik asit miktarı $23,635 \pm 0,092$ değeriyle 10 dk kavrulmuş örnek için bulunmuştur. Palmitik, Stearik ve Palmitoleik asit miktarları da, farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeği

örnekleri için istatistiksel olarak önemsiz düzeylerde değişimler göstermiştir. Yağ asidi analizleri sonucu elde edilen veriler Çizelge 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.14. Yağ asidi metil esteri karışımının (37 adet yağ asidi) GC-FID kromatogramı.



Şekil 4.15. Kavrulmamış kayısı çekirdeği yağı için elde edilen GC-FID kromatogramı.

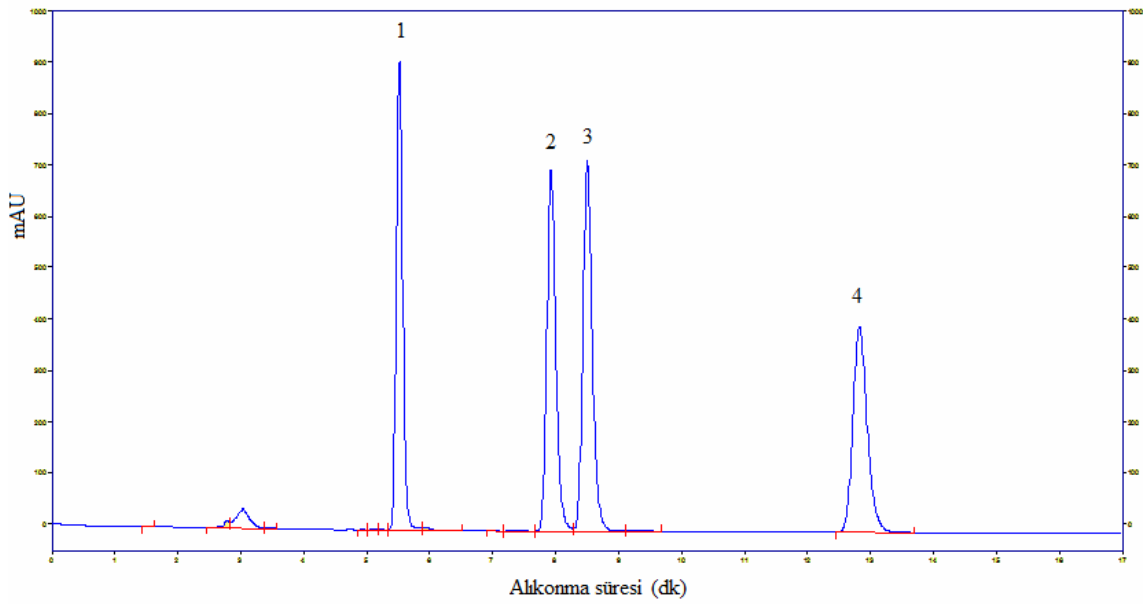
Çizelge 4.3. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeğinin yağ asidi bileşimi* .

Kavurma süresi (dakika)	Yüzde yağ asidi bileşimi				
	Palmitik asit	Palmitoleik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit
0	6,000 ±0,014	0,805 ±0,021	1,295 ±0,092	68,685 ±0,092	23,185 ±0,007
5	5,995 ±0,007	0,805 ±0,021	1,220 ±0,014	68,510 ±0,339	23,445 ±0,361
10	5,995 ±0,007	0,795 ±0,007	1,230 ±0,028	68,325 ±0,078	23,635 ±0,092
15	6,010 ±0,028	0,810 ±0,014	1,230 ±0,028	68,340 ±0,057	23,590 ±0,028
20	6,030 ±0,000	0,810 ±0,014	1,220 ±0,014	68,435 ±0,191	23,480 ±0,184
30	6,025 ±0,007	0,790 ±0,014	1,220 ±0,014	68,485 ±0,120	23,275 ±0,106

* Farklı kavurma süreleri için yağ asitlerinin % oranında istatistiksel olarak önemli değişimler gözlenmediğinden, tablo üzerinde gösterilmemiştir.

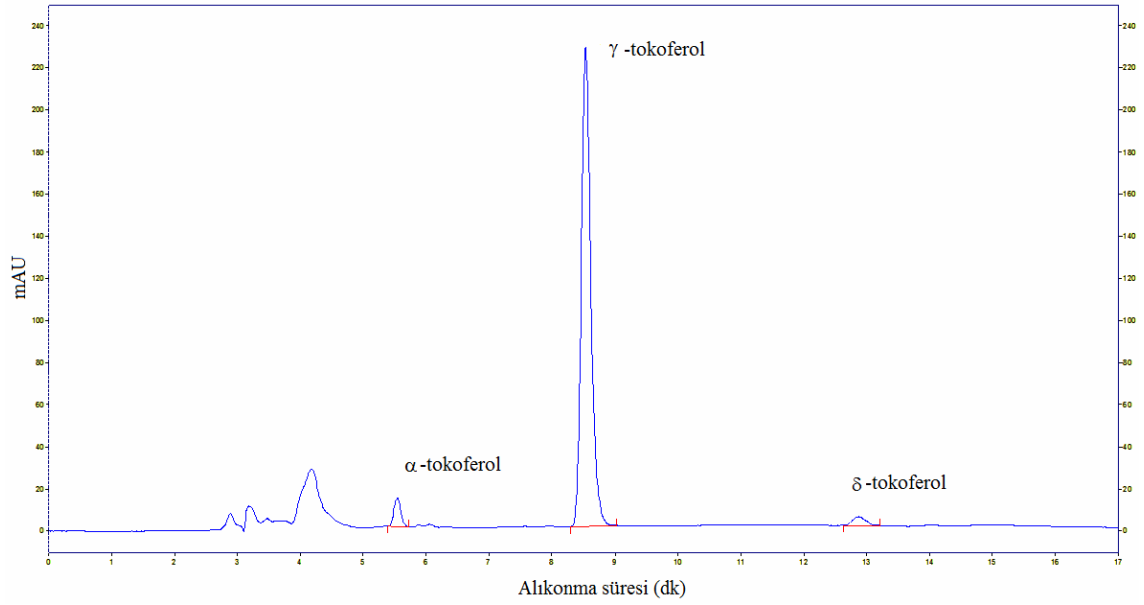
4.3.2. Tokoferol analizi

Yapılan analizler sonucunda kayısı çekirdeği yağlarında en fazla γ -tokoferol izomerinin bulunduğu, α ve δ izomerlerin düşük miktarlarda ve β izomerin ise, iz miktarda olduğu görülmüştür ve sonuçlarda verilmemiştir. Tokoferollerin belirlenmesi amacıyla yapılan HPLC analizinde standart tokoferol karışımı için elde edilen kromatogram Şekil 4.16.'de verilmiştir. Örnekler için elde edilen kromatogramlardan kavrulmamış örneğe ait olan kromatogram ise Şekil 4.17'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Standart tokoferol karışımının HPLC-DAD kromatogramı (pikler; 1: α -tokoferol, 2: β -tokoferol, 3: γ -tokoferol ve 4: δ -tokoferol).

Farklı sürelerde kavurma ile γ -tokoferol miktarlarında önemli bir düşüş görülürken, α -tokoferol ve δ -tokoferol miktarındaki değişimler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P < 0,05$). Kavrulmamış örnek $452,32 \pm 3,71$ mg/kg yağ düzeyinde γ -tokoferol içerirken, bu miktar 5 dk kavurma ile önemli düzeyde azalmış, 10 dk kavrulmuş örnekte nispeten artmış ve daha uzun süre kavrulan örneklerde ise 380 mg/kg yağ düzeyinin altına düşmüştür. Kayısı çekirdeği yağı örneklerinin α , γ ve δ -tokoferol miktarları ve bunun kavurma ile değişimi Çizelge 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Kavrulmamış kayısı çekirdeği yağının tokoferol analizi için alınan HPLC kromatogramı.

Çizelge 4.4. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağlarda tokoferol izomerlerinin miktarları (mg/kg yağ) *.

Kavurma süresi (dakika)	Tokoferol izomerleri		
	α-tokoferol	γ-tokoferol	δ-tokoferol
0	22,62±1,04	452,32±3,71 ^a	12,95±0,78
5	20,87±0,56	406,71±3,32 ^c	11,67±0,33
10	22,67±0,84	426,52±7,32 ^b	13,19±0,97
15	21,50±1,81	378,58±5,13 ^d	12,88±1,33
20	21,68±2,88	377,37±7,55 ^d	11,96±1,49
30	23,84±0,32	374,54±7,88 ^d	12,77±0,47

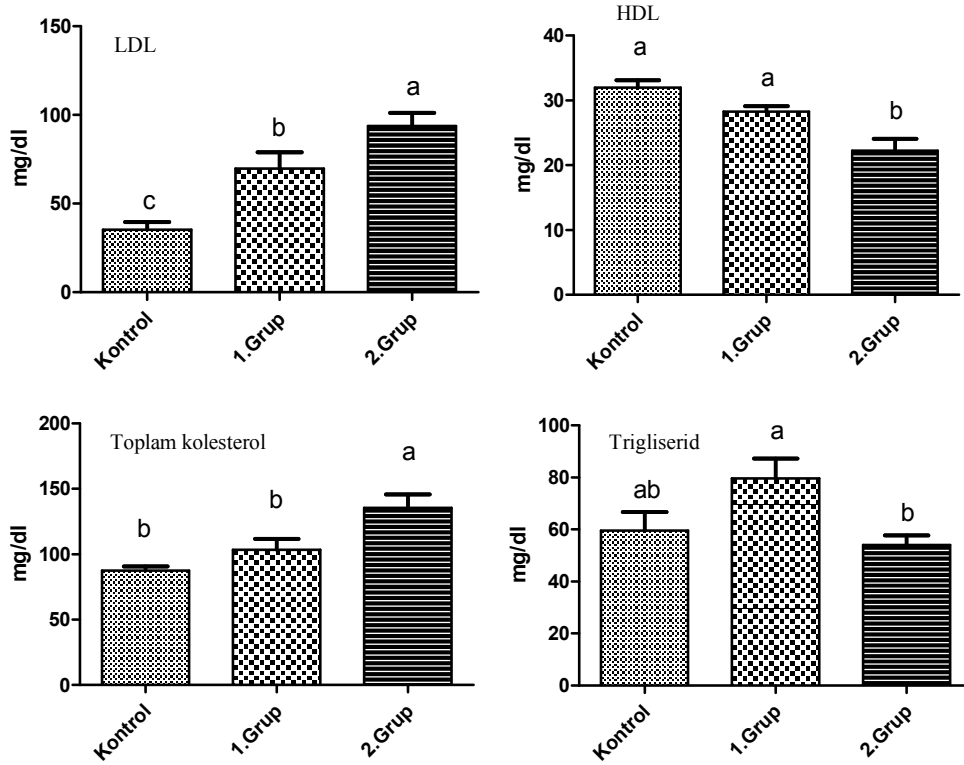
* α ve δ tokoferol miktarlarında kavurma süresi ile istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmediğinden değerlerin yanına indis konulmamıştır.

4.4. Deney Hayvanı Çalışmaları

4.4.1. Kan lipid parametreleri

Farklı diyetlerle beslenen sıçanların kanlarında ölçülen lipid düzeyleri Şekil 4.18’de özetlenmiştir. Ayçiçeği yağı içeren ve kolesterol içermeyen kontrol grubuna nazaran, hem 1. grup (ayçiçeği yağı+kolesterol) hem de 2. grup (kayısı çekirdeği yağı+kolesterol) daha yüksek LDL düzeyleri göstermiştir. Yüksek yoğunluklu

lipoprotein konsantrasyonu (HDL) bakımından kayısı çekirdeği yağı içeren grup hayvanlarının kanları, hem kontrol hem de 1. grup hayvanların kanlarına oranla daha düşük sonuçlar göstermiştir. 1. Grubun HDL düzeyi kontrole göre daha düşük bulunmuştur ancak bu fark istatistiksel olarak önemsiz düzeydedir ($P<0,05$). Toplam kolesterol düzeyi bakımından da kayısı çekirdeği yağıyla beslenmiş olan 2. grup hayvanlarının kanları hem kontrol hem de 1. grup hayvanlarının kanlarına göre daha yüksek sonuçlar vermiştir ($P<0,05$). Toplam kolesterol düzeyi bakımından 1. grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Triglicerid düzeyi bakımından, 1.grup kontrole göre yüksek, 2. grup da hem kontrol hem de 1. gruba göre düşük sonuçlar vermiştir.

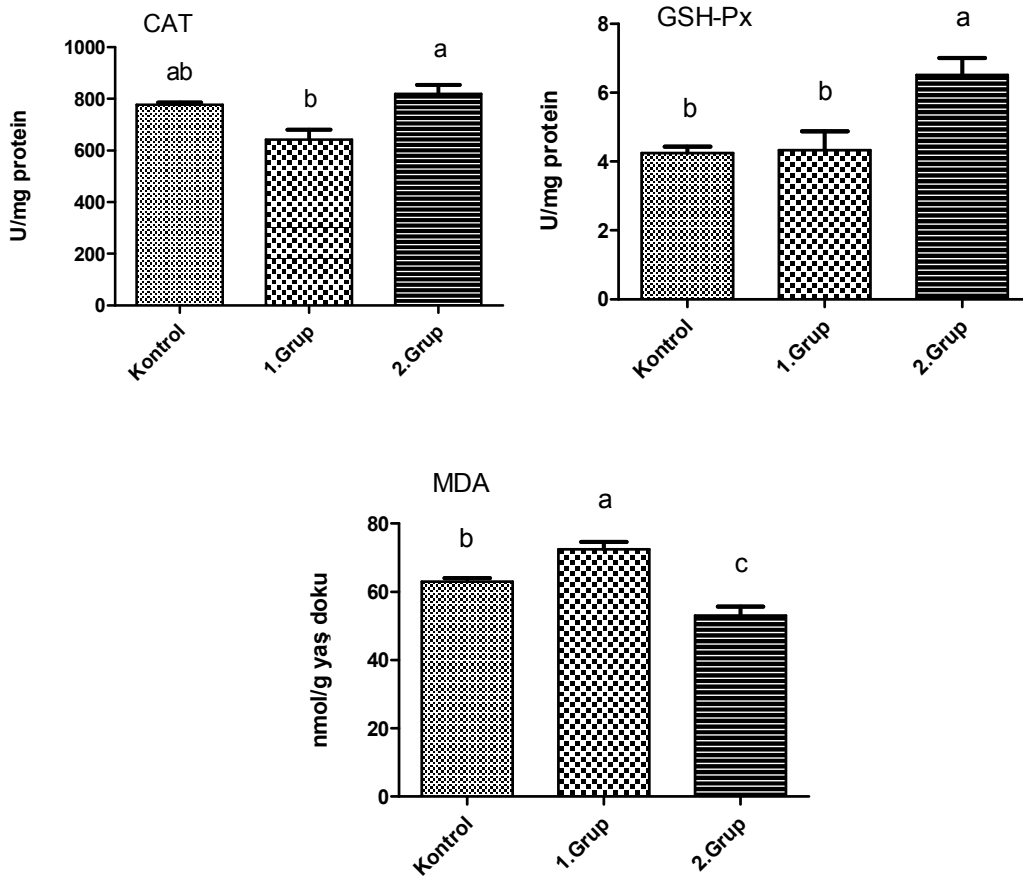


Şekil 4.18. Farklı diyetlerle beslenen deney sıçanlarının kan LDL, HDL, Toplam kolesterol ve trigliserid düzeyleri.

4.4.2. Karaciğer antioksidan parametreleri

Karaciğer dokusunun antioksidan parametrelerini belirlemek amacıyla katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin aktivitelerine bakılmış ve lipid peroksidasyonu

ürünlerinden MDA (malondialdehit)'nin miktarı belirlenmiştir. Katalaz enzim aktivitesi bakımından 1. grup kontrole göre daha düşük sonuç vermiştir. Yani kolesterol indüklemesi katalaz aktivitesini bir miktar aşağı çekmiştir. Kayısı çekirdeği katkılı yemle beslenen grupta bu enzimin aktivitesi hem kontrol grubuna hem de 1. gruba göre anlamlı düzeyde artmıştır (Şekil 4.19). Glutasyon peroksidaz aktivitesi bakımından kontrol ve 1. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, 2. grup anlamlı düzeyde yüksek değerler vermiştir ($P<0,05$). TBARS (tiyobarbütirik asit reaktif türler)'lerin belirlendiği çalışmadan elde edilen sonuçlar MDA düzeyinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek MDA düzeyini 1. grup gösterirken bunu kontrol grubu ve 2. grup izlemiştir.



Şekil 4.19. Farklı diyetlerle beslenmiş deney sıçanlarının karaciğer antioksidan parametreleri (CAT: Katalaz, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, MDA: Malondialdehit).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Malatya ve çevresinde bolca yetiştirilen bir meyve olan kayısının ekonomik yararlılığını ve ürün çeşitliliğini arttırmanın yollarından biri de, kayısı yan ürünlerini daha verimli olarak değerlendirmektir. Kayısı çekirdeğinin içerdiği yenilebilir proteinler ve karbonhidratların yanında, % 50 civarındaki yağı da değerli bir gıda maddesi olma özelliği taşımaktadır. Kayısı çekirdeği yağı gerek yağ asidi bileşimi, gerekse tokoferol içeriği bakımından kıymetli bir yağ olup, acı çekirdeklerden elde edilen yağlar bile yenilebilir özelliktedir [80]. Bu bakımdan kayısı çekirdeği yağının çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılması amacıyla yapılacak çalışmalar bölgemizin kalkınmasına katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada, kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesi ve antioksidan özellikleri farklı deney düzenekleri ile test edilmiştir. Bu çalışmada en önemli amaçlar; daha önce yapılan bir çalışmada yağsız kayısı çekirdeğinin kavrulmasıyla görülen antioksidan kapasite artışının [6], yağı uzaklaştırılmadan kavrulan kayısı çekirdeğinin yağında da görülüp görülmeyeceğini, yağ örneklerinde ölçülen antioksidan kapasite ile aynı yağın oksidatif stabilitesi arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Literatürde çok az rastlanan, yağlarda antioksidan kapasiteyi direkt olarak ölçmek için deney sistemlerinin oturtulması da bu çalışmanın amaçlarından biridir. Kayısı çekirdeği yağı katkılı yemlerle beslenen hayvanların kan kolesterol ve trigliserid düzeylerinin belirlenmesi, karaciğer antioksidan parametrelerindeki değişimin gözlenmesi de, bu çalışmanın kapsamındadır.

Kavurma işlemi; özellikle çerezlerde, yağlı tohumlarda, fırıncılık ürünlerinde oldukça yaygın bir uygulamadır [6]. Kavurma işlemi ile oluşan pişmiş tat, insanoğlunun damak zevkine binlerce yıl önce girmiş ve bu beslenme alışkanlığı günümüzde de devam etmektedir. Sözelimi insanlar fındık, fıstık, badem, soya fasulyesi, mısır gibi tohumları çoğunlukla kavurarak yemeyi tercih etmektedir. Kavurma işlemi sadece hoş giden tat ve koku oluşturmaya değil, aynı zamanda tohumun sert yapısını yumuşatması, sindirimini kolaylaştırması ve görünüm olarak albenisini arttırması gibi avantajları da sağlamaktadır [98, 99]. Bunun yanında belli düzeyde kavurma ile antioksidan kapasite arasında pozitif bir ilişki olduğu, ancak aşırı kavurma ile bu etkinin azaldığı bildirilmiştir [6, 100]. Yine son yıllarda, özellikle yüksek sıcaklıklarda ve uzun sürelerde kavurma ile akrilamid gibi kanserojen bileşiklerin oluştuğu da bilinen bir gerçektir [101]. Bu bakımdan kavurma işleminin yağlı tohumlar için hangi düzeylere

kadar olumlu ve hangi düzeyden sonra olumsuz etkilere sahip olduğunun belirlenmesi gıda güvenliği açısından da önem taşımaktadır.

Bu çalışmada farklı düzeylerde kavrulan çekirdekler için 180 C sıcaklık kullanılmıştır. Seçilen bu sıcaklık, yapılan bazı ön denemeler ışığında belirlenmiştir. Kavurma süresinin optimizasyonu amacıyla, kavrulan çekirdekler alüminyum bir tepside yaklaşık 1 cm kalınlığındaki yığınlar halinde kavrulmuştur. Bu şartlarda 180 C’den daha düşük sıcaklıklarda, istenen kavrulmuş tat ve görünümün oluşması oldukça uzun zaman aldığı gözlemlenmiştir. 190-200 C gibi daha yüksek sıcaklıklarda ise kavrulmanın çok kısa sürelerde gerçekleştiği ve yer yer yanmalar olduğu grlmştr. Bunun yanında yapılan ön denemelerde kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesi ve antioksidan özellikleri bakımından kavurmanın süre veya sıcaklığından çok, kavurmanın etkinliğinin (kahverengi renk, pişmiş tat ve koku oluşumu) nemli olduğu grlmştr. Sözgelimi 180 C’de 10 dk’da elde edilen kavurma etkinliğine diğer tüm şartlar sabit kalmak kaydıyla 190 C’de 7 dk’da ulaşılmaktadır. Diğer bir yaklaşımla ince bir tabaka halinde kavrulan çekirdek unları için belli bir sıcaklıkta 10 dk’da ulaşılan kavurma etkinliğini elde etmek için daha kalın bir tabaka halinde kavrulan çekirdeklerin aynı sıcaklıkta daha uzun bir süre kavrulması gerekmektedir. Bu anlamda kavurma etkinliğinin sıcaklık, süre, örnek miktarı ve sıcak yüzeyle temas alanı gibi faktörlerle değişiminin incelenmesi tez konusu kapsamında değildir. Bu çalışmada, sadece 180 C’de farklı sürelerde kavrularak, birbirinden farklı kavrulma etkinliğine sahip kayısı çekirdeği unu örnekleri elde edilmiş ve bunlardan ekstrakte edilen yağlarda antioksidan kapasite testleri, oksidatif stabilite testleri, deney hayvanı çalışmaları ve diğer analizler gerçekleştirilmiştir.

Beş farklı düzeyde kavrulmuş çekirdeklerden elde edilen yağlar için hem yağda direkt hem de bu yağların metanol ekstraktlarında antioksidan testler yapılmıştır. Burada temel amaç; yağda direkt test yaparak yağda bulunan tüm antioksidan karakterli bileşiklerin toplam antioksidan kapasiteye etkisini belirlemektir. Metanol ekstraktı elde edilmesinde ise amaç, nispeten polar yapıda olan ve fakat ekstraksiyon sırasında yağa geçen bileşiklerin toplam antioksidan kapasitesini belirlemektir. Yağlarda yapılan antioksidan testlerde metanol ekstraktı yaygın olarak kullanılmaktadır [84, 102]. Bunun en önemli sebebi, muhtemelen antioksidan testlerin genelde polar çözücüler kullanılarak gerçekleştirilebilmesidir [103]. Yani çoğunlukla bu tercih bir zorunluluktan dolayı

yapılmaktadır. Ancak, az da olsa yağ örneklerinin direkt kullanıldığı yani bütünüünün çözündürüldüğü çalışmalar da bulunmaktadır [61,62].

Bu çalışmada kullanılan ABTS radikal süpürme gücü metodu tarafımızca modifiye edilmiştir. Çünkü literatürde ABTS yöntemi ile yağlarda yapılan çalışmalarda, ya yağ ile sulu faz etkin bir şekilde karıştırılıp reaksiyon gerçekleştikten sonra su fazı santrifüjle ayrılarak absorbansı okunmuş [104] ya da başlangıçta su içinde oluşturulmuş ABTS radikal çözeltisi etanolde seyreltilerek yağ çözeltileriyle karıştırılmış ve antiradikal aktivite tayini yapılmıştır [61,62]. Ancak yaptığımız ön denemelerde, su içerisinde hazırlanmış ABTS çözeltisine hekzan veya kloroform gibi yağı iyi çözen bir organik çözücü eklendiğinde faz ayrımı olduğu görülmüştür. Aseton ve etanol gibi polaritesi nispeten yüksek olan çözücüler eklendiğinde ise faz ayrımı olmamış ancak çözücü içindeki yağın, su ile karşılaştığında küçük damlacıklar şeklinde ayrıldığı gözlemlenmiştir. Dolayısıyla literatürdeki yöntemler çalışmamız için yetersiz bulunmuş ve örneklerimiz için uygun olan yöntem, denemeler sonucunda ortaya konmuştur. Bu amaçla potasyum peroksodisülfat ile ABTS'nin 12-16 saat inkübasyonu su içerisinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen ABTS* radikal çözeltisi dondurularak kurutulmuştur. Hem yağlar için hem de kurutulmuş ABTS radikal tozu için iyi bir çözücü olduğu denemeler sonucu belirlenen metanol-kloroform (1:1) karışımı içinde yağ ve ABTS tozu çözülerek çalışma için gerekli çözeltiler elde edilmiştir. Böylelikle hem ABTS için hem de yağ örnekleri için tam bir dağılma sağlanmış ve test gerçekleştirilmiştir. Nitekim antioksidan testlerde radikal moleküllerinin kullanılması durumunda, antioksidan bileşiklerle bu radikal yapıların çözelti içinde birbiri ile etkileşme düzeyleri o antioksidan testin sağlıklı olması bakımından önemli bir parametredir [105]. ABTS yönteminde elde edilen sonuçlar 10 dk kavurmadan itibaren 20 dk kavurmaya kadar, yağın antioksidan kapasitesinin arttığını 20 dk'dan fazla kavurma ile ise istatistiksel olarak önemli bir değişimin olmadığını göstermiştir. Bu sonuç DPPH yönteminde elde edilen sonuca benzetmekle birlikte DPPH yönteminde 30 dk kavurma ile 20 dk kavrulmuş örneğin antiradikal kapasitesine göre belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Aynı örneklerin metanol ekstraktlarında yapılan çalışmalara bakıldığında, yine benzer bir şekilde DPPH ve ABTS metotlarında kavurma ile antioksidan kapasitede artış görülmüş ancak bu artış yağlarda direkt yapılan testlere göre çok daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. Örneğin DPPH yönteminde 20 dk kavrulmuş örnekte antiradikal aktivite artışı, kavrulmamış örneğe göre % 2,3 civarında iken aynı yöntemde metanol ekstraktında aynı düzeyde kavrulmuş örnek için artış yaklaşık % 30 civarında

gerçekleşmiştir. Benzer bir durum ABTS metodunda da gözlenmiştir. Bu sonuçlar antioksidan kapasiteden sorumlu bileşiklerin çoğunun metanolde çözünürlüğü yüksek yani nispeten polar bileşikler olduğunu göstermektedir. Kavurma sonucu antioksidan kapasitede görülen bu artışın Maillard reaksiyonu ürünlerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir [6]. Maillard reaksiyonu ürünlerinin antioksidan mekanizmasının, çoğunlukla yapılarında bulundurdıkları hidroksil gruplarından hidrojen vermeleri sonucu oluştuğu bilinmektedir [106]. Bu hidroksil gruplarının Maillard reaksiyonu ürünlerine polar bir yapı kazandıracağı açıktır ve metanol ekstraktında daha yüksek kapasite görülmesinin de bunun sonucu olması muhtemeldir. Farklı düzeylerde kavrulmuş çekirdeklerin yağlarından elde edilen metanol ekstraktının β -karoten beyazlatma yöntemi ile yapılan antioksidan kapasite tayininde de kavurma ile antioksidan kapasitede çok belirgin bir artış kaydedilmiştir. Bu artış özellikle 10 dk kavurmada daha uzun kavurma sürelerinde oldukça belirgin gerçekleşmiştir. Ancak yine DPPH ve ABTS yöntemlerinde olduğu gibi ileri düzey kavurma ile antioksidan kapasitede daha fazla bir artış gözlenmemiş, hatta istatistiksel olarak önemli bir düşüş gözlenmiştir.

Yapılan antioksidan kapasite testlerinde 20 dk'dan daha uzun süre kavurma ile antioksidan kapasitede az miktarda artış, duraklama veya düşüş görülmüştür. Yani 20 dk süre kavurmaya kadar görülen hızlı kapasite artışı bu noktadan sonra yavaşlamış veya gerilemiştir. Bu daha önceki bulgularla benzerlik göstermektedir [6, 100] ve orta düzeylerde (15-20 dk) kavurmanın yeterli düzeyde olduğunu göstermiştir. Artan kavurma etkinliğine karşı tokoferol miktarında kaydedilen düşüşe rağmen antioksidan kapasitede belli bir kavurma düzeyine kadar görülen bu artış, kavurma sonucu ortaya çıkan minör bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Bu minör bileşikler, muhtemelen kavurma işlemi sırasında, indirgen şekerlerle amin grubu içeren bileşikler arasında Maillard reaksiyonları sonucunda oluşmaktadır. Maillard reaksiyonlarının başlangıç aşamasında birincil Maillard reaksiyonu ürünleri oluşmakta, daha sonra da Amadori bileşikleri oluşmaktadır [107]. Kavurma sonucu oluşan bileşiklerden antioksidan karakterli olanlar genellikle bu Amadori bileşikleridir [72,108] ve oldukça fazla çeşitlilik gösterirler. Bu bileşikler içinde farklı polaritede olanların olduğu bilinmekte [109] ve muhtemelen bu bileşiklerden bir kısmının polaritesi yağın polaritesine yakın olduğu için yağa geçebilmektedir. Nitekim Maillard reaksiyonu ürünlerinin lipid oksidasyonunu geciktirdiği literatürde bildirilmiştir [107]. Bunun yanında Maillard reaksiyonunun olduğu şartlarda oluşan lipid oksidasyonu ürünleri ile amino grubu

içeren bileşikler arasında da kahverengi renkli bileşiklerin oluştuğu ve bu bileşiklerin de melanoidinler gibi antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [110]. Isıl işlem sonucu oluşan bu bileşiklerin, yağın hem antioksidan kapasitesini hem de oksidatif stabilitesini artırdığı çalışmamız sonuçlarında görülmüştür.

Beş farklı düzeyde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilmiş yağlarda yaptığımız oksidatif stabilite çalışmalarında, 5 ve 10 dk kavrulmuş örneklerin oksidatif stabilitesinin kavrulmamış örneğe göre azaldığı ancak 15 ve 20 dk'lık kavurma ile bu stabilitenin arttığı gözlenmiştir. 5 ve 10 dk kavurma ile görülen oksidatif stabilitedeki bu azalmanın temel sebebinin kavurmanın erken dönemlerinde görülen tokoferol miktarındaki azalma olduğu sanılmaktadır. Bu aşamalarda kavurma sonucu oluşan antioksidan karakterli bileşiklerin miktarının, yağın oksidatif stabilitesini arttırmada yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Nitekim antioksidan testlerde de, yağda yapılan DPPH testi hariç 5 dk kavurma ile kavrulmamış örneğin antioksidan kapasitesine göre istatistiksel olarak önemli bir yükseliş görülmemiş hatta yağda yapılan ABTS testinde düşüş gözlenmiştir. Oksidatif stabilite testlerinden Ransimat testi hariç, diğer tüm testlerde 30 dk'lık kavurma işlemi ile oksidatif stabilite parametrelerinin azaldığı görülmüştür. İleri düzeyde kavurma ile görülen bu düşüşün, ileri düzey Maillard reaksiyonu ürünlerinin prooksidan etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir [6,100]. Yukarıda da vurgulandığı gibi antioksidan testlerde de çoğunlukla ileri düzey kavurma ile (30 dk) antioksidan kapasitede duraklama veya düşme gözlenmişti. Kavurma işleminin ransimat testiyle ölçülen indüksiyon periyoduna etkisi, yapılan başka bir çalışmada da araştırılmış ve yağ ekstraksiyonundan önce mikrodalga ile yapılan ısıl işlemin süresi ile indüksiyon periyodu arasında doğrusal bir ilişki olduğu bildirilmiştir [79]. Diğer bir çalışmada da kavrulmuş kahve örnekleri soya yağı ile karıştırılmış ve 95 °C'de Ransimat testine tabi tutulmuştur. Bu çalışmada tüm örnekler kavrulmamış kahveden daha uzun indüksiyon periyotları gösterirken orta düzeyde kavurma ile maksimum indüksiyon periyodu görülmüştür. Daha ileri düzeyde kavrulmuş kahve örneği bulunan soya yağlarının indüksiyon periyodu ise orta düzeyde kavrulmuş örneklerle göre azalma göstermiştir [100]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

Fırın testinde belli periyotlarda alınan örneklerde yapılan peroksit sayısı deneylerinde, 15 dk ve 20 dk kavrulmuş örnekler, kavrulmamış örnekten daha düşük peroksit sayısı değerleri göstermiştir. Ancak daha ileri düzeyde 30 dk kavrulmuş örnek 15 ve 20 dk

kavrulmuş örnekten daha yüksek peroksit değeri vermiştir. Bu çalışmada 5 ve 10 dk kavrulmuş örneklerin peroksit değerleri fırın testi boyunca kavrulmamış örnekten ve diğer kavrulmuş örneklerden daha fazla bulunmuştur.

Yapılan *p*-anisidin testinde, en yüksek değerleri 18. gün ölçümlerine kadar 30 dk kavrulmuş örnek göstermiştir. Zaten deney başlangıcında da 30 dk kavrulmuş örnek en yüksek değeri, 20 dk kavrulmuş örnek de en yüksek ikinci değeri vermiştir. Yani henüz fırın oksidasyon deneyinin başlangıcında, ileri düzeyde kavrulmuş örnekler belli düzeyde *p*-anisidin değerleri göstermiştir. Bunun sebebi kavurma işlemi sırasında yüksek sıcaklıktan kaynaklanan hızlı oksidasyondur [111]. Ancak fırın testinin ilerleyen aşamalarında 15 ve 20 dk kavrulmuş örnekler için ölçülen *p*-anisidin sayısı değeri diğer örneklerin altında kalmıştır. Bu bulgu diğer oksidatif stabilite testleriyle uyum göstermiştir. Yine diğer yöntemlerde elde edilen bulguları destekleyecek şekilde, 5 dk kavrulmuş örnek, deneyin son aşamasında 30 dk kavrulmuş örneğin de üzerinde bir *p*-anisidin değeri göstermiştir. *p*-anisidin testi, yağ oksidasyonu sırasında oluşan peroksitlerin parçalanması sonucu oluşan ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının bir göstergesidir. Bu bakımdan peroksit sayısı deneyi ile birlikte yapılması gereken ve bu deneyi tamamlayan bir deneydir. Sadece peroksitlerin ölçülmesi durumunda, düşük peroksit sayısı gösteren bir örneğin oksidasyon düzeyinin düşük olduğu sonucuna varılır ki bu her zaman doğru değildir. İleri düzeyde okside olmuş örneklerde peroksitlerin oluşum hızı parçalanma hızından daha düşüktür ve peroksitlerin miktarı azalırken ikincil oksidasyon ürünleri (aldehitler, ketonlar, alkoller vs.) artmaktadır [112].

Kavurma süre optimizasyonu çalışmasında, farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinden elde edilen yağların DSC analizlerinde 150 °C’de tutulan örneklerin termogramlarında, oksidasyon sonucu oluşan peroksitlerin ve diğer oksidasyon ürünlerinin yağın ısı geçişlerine etkisinden kaynaklanan dönüm noktaları “indüksiyon” noktaları olarak alınmıştır. Bu çalışmada kullanılan 150 °C’lik sıcaklık oldukça yüksek bir değer olduğu için, oksidasyon indüksiyon süresinin 110 °C’de yapılan ransimat testine ve 130 °C’de yapılan FT-IR analizine göre daha kısa olması normaldir. Kısa süreli kavurma ile (5-10 dk) yağın DSC indüksiyon sürelerinde önemli değişimler görülmezken, 15 ve 20 dk kavurma ile indüksiyon süresinde anlamlı değişimler gözlenmiştir. Bu test sisteminde, ransimat, peroksit sayısı ve *p*-anisidin testinde görülen kısa süreli kavurma ile oksidatif stabilitede azalış eğilimi gözlenmemiştir. Ancak 30 dk’lık kavurma ile oksidatif stabilitede gözlenen düşüş, DSC metodunda oldukça

belirgin gerçekleşmiştir. Oksidasyon ekzotermik bir reaksiyondur ve açığa çıkan ısı oksidasyon olayının DSC ile takibine imkân sağlamaktadır [87]. Maillard reaksiyonları ve kavurma sırasında meydana gelen diğer etkileşimler sonucu oluşan antioksidan karakterli bileşikler, yağın DSC indüksiyon periyodunda gecikmeye sebep olarak daha yüksek oksidatif stabilite sağlamışlardır. Kavrulmuş tohumlardan elde edilen yağların oksidatif stabilitesinin belirlendiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Ancak ısıtma işlem sırasında oluşan polar karakterli bileşiklerin DSC soğutma termogramlarında entalpiyi ve pikin görüldüğü sıcaklığı düşürdüğü yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir [113,114].

Yağların oksidatif stabilitesini ölçmede nispeten yeni bir yöntem [115] olan FT-IR spektrofotometresi, molekülde bulunan bazı fonksiyonel grupların, örnek üzerine gönderilen IR bölgesine ait ışınlarla ($400-4000\text{ cm}^{-1}$) titreşim frekansının değişmesi sayesinde kalitatif ve kantitatif analizine olanak sağlayan bir tekniktir. Bu metot ile yaptığımız çalışmada cihazın örnek konulan haznesine belli miktarda yağ konulmuş ve $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtma yapılırken bir yandan da belli aralıklarla yatay-ATR (attenuated total reflectance) aparatı kullanılarak spektrumlar alınmıştır. Spektrum alınırken kullanılan ATR tekniğinin üstünlüğü, klasik IR spektrofotometrelerinde kullanılan potasyum bromür disklerinin arasına örnek sıkıştırma basamağının olmayışı ve direkt olarak materyalin yüzeyinden spektrum alma imkânının oluşudur [96]. $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yapılan ısıtma, zamanla termal oksidasyona neden olmuş ve belli dalga sayılarında cihazda okunan absorbans değerleri artmış ve zamana karşı absorbans grafiğinde ani artışın görüldüğü indüksiyon süresi belirlenmiştir (Bkz. Şekil 3.2). Yapılan değerlendirmede $700-725$, $880-890$, $960-975$, $1697-1701$, $1720-1746$ ve $3400-3800\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralıklarında oksidasyon süresince anlamlı değişiklikler görülmüştür. Bu değişimin temel sebebi oksidasyon sonucu normalde yağda bulunmayan veya az bulunan kimyasal grupların oksidasyon süresince ortaya çıkmasıdır. Sözgelimi R-O-O-H şeklinde gösterilen hidroperoksitler bozulmamış yağlarda çok az düzeyde bulunurken oksidasyon sırasında çift bağlara oksijen girmesiyle meydana gelmektedir. Dolayısıyla bu bağların titreşmesinden kaynaklanan pikler 3400 cm^{-1} dalga sayısı civarında çıkmaktadır. Bu dalga sayısı noktalarının bazıları literatürde tanımlanmışken çoğuna rastlanmamıştır. Sözgelimi 1743 cm^{-1} 'de her ne kadar trigliseridlere ait bir pik varsa da oksidasyon sırasında oluşan aldehit ve ketonların 1728 cm^{-1} civarında verdikleri piklerin genişleyerek bu bandı genişlettiği ve trigliserid bandını da içine alarak pik şiddetini artırdığı rapor edilmiştir [116]. Yağın oksidatif bozunumunun ısıtmalı FT-IR ATR ile

yapıldığı bir çalışmada, Genistein'in yağları koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde FT-IR örnek hücresi 60 °C'de tutulmuş ve keten tohumu yağının oksidasyonu takip edilmiştir [25]. Sıcaklığın bizim kullandığımız 130 °C'den çok daha düşük olması, keten tohumu yağının kayısı çekirdeği yağına oranla çok daha çabuk okside olabilen bir yağ olmasından kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada 3444 cm⁻¹ dalga sayısı değerinde ölçülen absorbansa karşı oksidasyon için geçen zaman grafiğe geçirilmiş ve indüksiyon periyodu belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, 70 °C sabit sıcaklıkta tutulan fırında oksidasyona bırakılan yağlardan belli aralıklarla alınan örneklerin FT-IR spektrumları alınmış ve belli dalga sayılarında meydana gelen transmittans değişimleri takip edilmiştir [95]. Tüm bu çalışmalar ve bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar FT-IR spektrofotometresinin, yağların oksidatif durumunun belirlenmesinde kolay ve doğru sonuçlar veren bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Tokoferoller yağlar için en önemli antioksidan bileşiklerdir ve birçok yağın oksidatif stabilitesini önemli ölçüde bu bileşiklere bağlıdır [38]. Bu tez kapsamında asıl hedeflenen husus, kavurma sonucu oluşan bileşiklerin, yağın oksidatif stabilitesini etkileyip etkilemediğini belirlemek olduğundan, tokoferollerin de analiz edilmesi bu bağlamda önemlidir. Farklı düzeylerde kavurma işlemi ile özellikle kayısı çekirdeğinde en yüksek miktarda bulunan γ -tokoferol miktarında bir düşüş görülmüştür. Bu düşüş sıcaklığın etkisiyle tokoferolün parçalanmasından veya oksidasyondan dolayı ortamda harcanmasından kaynaklanmış olabilir. Yapılan başka bir çalışmada, farklı düzeylerde kavruken susam tohumu yağında da γ -tokoferol miktarının kavurma düzeyine bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir [66]. Tokoferol miktarında görülen bu düşüşün oksidatif stabilitede ve antioksidan parametrelerde de düşüşe yol açması beklenirdi. Tersine bir durumun görülmesi, kavurma sırasında oluşan çeşitli bileşiklerin, tokoferollerin yerini doldurduğu ve hatta daha yüksek antioksidan koruma sağladığını göstermiştir.

Kayısı çekirdeği yağının yağ asidi bileşimini belirlemek için yaptığımız çalışmaların sonuçları literatür bilgileriyle [5,74,75] uyum içindedir. Oleik asit yaklaşık %70, linoleik asit ise yaklaşık %23 civarında bulunmuştur. Diğer yağ asitlerinden palmitik, palmitoleik ve stearik asit miktarları daha düşük düzeyde bulunurken, bunların dışındaki yağ asitlerine rastlanılmamıştır. Oleik asitçe zengin bir yağ olması, kayısı çekirdeği yağının bu bakımdan zeytinyağına benzer bir yağ olduğunu göstermektedir. Oleik asitçe zengin yağların da kalp damar hastalıkları yönünden insan sağlığı üzerinde olumlu

etkileri olduğu bilinmektedir [117]. Farklı düzeylerde kavrulmuş kayısı çekirdeklerinin yağ asidi bileşiminde ise anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Kavurma işleminin yağ asidi bileşimine etkilerinin belirlendiği diğer bazı çalışmalarda da, benzer sonuçlar bulunmuştur [66,118]. İleri düzeyde kavurma işlemi ile özellikle doymamış yağ asitlerinde, çift bağların okside olmasıyla belli bir düşüş olması muhtemeldir. Çalışmamızda kayısı çekirdeği yağında bolca bulunan linoleik asit miktarında kavurma işlemi ile önemli bir değişiklik olmaması, kavurma şartlarımızın çok ağır olmadığı sonucunu ortaya koymaktadır.

Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda, serum lipid parametreleri ve karaciğer antioksidan parametreleri araştırılmıştır. Bu parametreler, diyetteki yağlardan en fazla etkilendiği düşünülen parametreler olduğu için tercih edilmiştir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, kayısı çekirdeği yağı ile beslenen 2. grup hayvanların toplam kan kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ayçiçeği yağıyla beslenen 1. gruba göre artarken, HDL kolesterol düzeyleri ve trigliserid düzeyleri azalmıştır. Çalışmamızda kayısı çekirdeği yağıyla kıyasladığımız ayçiçeği yağı, % 60-70 civarında linoleik ve % 20-30 civarında oleik asit içermektedir [119]. Bu bakımdan ayçiçeği yağı, kayısı çekirdeği yağıyla kıyaslandığında oleik asitçe fakir ve linoleik asitçe zengin bir yağdır. Linoleik asit oleik aside göre doymamışlık derecesi daha yüksek bir yağ asidi olduğu için LDL düzeyini aşağı çekmekte ve HDL düzeyini artırmaktadır [120]. Bu bakımdan bulgularımız literatür bilgileriyle benzeşmektedir.

Diyette kolesterol bulunmasıyla karaciğer glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi istatistiksel olarak önemli düzeyde değişmezken, katalaz enzim aktivitesinin bir miktar azaldığı MDA düzeyinin ise arttığı görülmüştür. Bu karşılaştırma kontrol ve 1. grup hayvanlar arasında yapılmıştır. Çünkü bu iki grubun beslendiği yemin bileşimi tamamen aynıdır ve tek fark olarak 1. grup hayvanların yemi kolesterol içerirken kontrol grubu yemi kolesterol içermemektedir. MDA düzeyinde görülen bu artış diyetle verilen kolesterolün lipoprotein yapılarına girmesi ve bu yapıların oksidasyona karşı duyarlılığını artırmasından kaynaklanmaktadır [121]. Kayısı çekirdeği yağı içeren yemle beslenen sıçanların (2. grup) karaciğer antioksidan enzim aktivite düzeylerinin ayçiçeği yağı ile beslenen sıçanlardan daha yüksek, MDA düzeylerinin ise daha düşük olduğu görülmüştür. Bu karşılaştırma hem 1. grup hem de kontrol grubu için geçerlidir. Yani 2. grup hayvanlar kolesterol içeren yemle beslenmiş olmasına rağmen, kolesterol içermeyen yemle beslenen kontrol grubuna göre bile daha yüksek enzim aktivite

değerleri ve daha düşük MDA sonuçları göstermiştir. Kayısı çekirdeği yağının oleik asitçe zengin olması karaciğer antioksidan parametrelerini olumlu etkilemesinin temel nedeni olarak düşünülmektedir. Nitekim çoklu doymamış yağ asitlerinin tekli doymamış yağ asitlerine oranla oksidasyona daha açık olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı da lipid peroksidasyon ürünlerinin oleik asitçe zengin bir yağ olan kayısı yağıyla beslenen hayvanlarda daha düşük miktarda görülmesi literatür bilgileriyle örtüşmektedir [122]. Kratz ve ark. [123] tekli doymamış yağ asitlerince zengin bir diyetle LDL okside edilebilirliğinin n-6 çoklu doymamış yağ asitlerince zengin bir diyetle göre oldukça düşük olduğunu belirtmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, farklı oranlarda karıştırılan mısır özü yağı ve içyağı katkılı yemlerle beslenen sıçanların plazmasında lipid peroksidasyonu ürünleri ölçülmüştür. Doymuş yağ oranı arttıkça LDL'den kaynaklanan lipid peroksidasyon ürünlerinin azaldığı rapor edilmiştir. Bu düşüşün sebebinin LDL yapısına giren linoleik asit miktarının azalmasından kaynaklandığı bildirilmektedir [124]. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulguyla benzeşen bu sonuçlar çelişkili bir durumu ortaya koymaktadır. Doymuş yağ asitlerince zengin yağlarla beslenmek her ne kadar LDL miktarını artırsa da, artan bu LDL'lerin oksidasyona dayanıklılığı, doymamış yağ asitlerince zengin yağlarla beslenen bireylerin LDL'lerine oranla daha yüksek olmaktadır. Benzer bir kıyaslama tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin yağlar için de geçerlidir [123]. Kayısı çekirdeği yağı içeren yemlerle beslenen hayvanların antioksidan parametrelerindeki iyileşmenin diğer bir sebebi de bu yağın gama tokoferol gibi antioksidan yönünden zengin olmasıdır. Dışarıdan alınan antioksidan bileşiklerle canlı dokudaki antioksidan parametrelerin arttığı bilinen bir durumdur. Bu, fenolik bileşikler ve tokoferoller gibi bazı antioksidanların, enzimatik antioksidanların aktivitesinde artışa sebep olabilme kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır [125].

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgulardan aşağıdaki sonuçlar çıkartılmıştır;

- Kayısı çekirdeğinin kavrulmasıyla bu yağın antioksidan özellikleri hem yağ olarak kullanıldığında hem de metanol ekstraktı elde edilerek kullanıldığında belirgin bir şekilde artmaktadır.
- Bu artış hafif düzeylerde kavurma ile önemsiz düzeyde gerçekleşirken (veya bazı testler için düşerken), orta düzeyde kavurma (180 °C'de 15-20 dk) ile önemli düzeyde artmakta ve ileri düzeyde kavurma (180 °C'de 30 dk) işlemi ile tekrar duraklamakta veya düşmektedir.

- Kavrurma sonucu ortaya çıktığı tahmin edilen antioksidan karakterli bileşikler, yağın oksidatif stabilitesini artırmaktadır. Kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesinin, antioksidan aktivitede de olduğu gibi hafif kavrurma ile azaldığı, orta düzeyde kavrurma ile maksimum düzeye çıktığı ve ileri düzey kavrurma ile durakladığı veya düştüğü görülmektedir.
- Kayısı çekirdeği katkılı yemlerle beslenen deney hayvanlarının kan kolesterol parametrelerinden kolesterol ve LDL artarken HDL ve trigliserid miktarı düşmekte ancak aynı hayvanların karaciğer antioksidan parametrelerinden katalaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri artarken, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyi düşmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları ışığında ileride yapılacak çalışmalar için aşağıdaki öneriler sıralanabilir;

- Kayısı çekirdeğinin kavrulması sonucu oluşan minör bileşiklerin kimyasal yapılarının aydınlatılması ve her bir yapının tek başına sahip olduğu antioksidan aktivitenin belirlenmesi faydalı olacaktır.
- Bu tez kapsamında imkânlar elvermediği için tokotrienol analizi yapılamamıştır. Kayısı çekirdeği yağının bileşiminin tam olarak aydınlatılması bakımından, bu çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.
- Günümüzde kayısı çekirdeği yağının yemeklik yağ olarak kullanımı ekonomik anlamda söz konusu değildir. Ancak, kayısı çekirdeği yağı, endüstriyel olarak yaygın tüketilen, çoklu doymamış yağ asitlerince zengin mısırözü yağı, ayçiçeği yağı ve soya yağı gibi yağlara katılarak, bu yağların oksidatif stabiliteleri artırılabilir. İleride yapılacak çalışmalarda, bu karışımların oksidatif bozulmalara karşı dayanımının araştırılması, kayısı çekirdeği yağının değerlendirilmesi bakımından faydalı olacaktır.

6. KAYNAKLAR*

- [1] M. Alpaslan, M. Hayta, *Apricot kernel: Physical and Chemical Properties*, **J. Am. Oil Cem. Soc.** 83 (2006) 469-471.
- [2] B.M. Asma and K. Öztürk, *Analysis of morphological, pomological and yield characteristics of some apricot germplasm in Turkey*, **Genet. Resour. Crop Ev.** 52 (2005) 305–313.
- [3] A. Silem, H.O. Gunter, J. Einfeldt and A. Boualia, *The occurrence of mass transport processes during the leaching of amygdalin from bitter apricot kernels: detoxification and flavour improvement*, **Int. J. Food Sci. Tech.** 41 (2006) 201-213.
- [4] F. Shahidi, H. Miraliakbari, “Tree Nut Oils and Byproducts: Compositional Characteristics and Nutraceutical Applications”, In F. Shahidi (Ed.) *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, CRC press, 2006, p. 159.
- [5] S. Turan, A. Topçu, İ. Karabulut, H. Vural, A.A. Hayaloğlu, *Fatty Acid, Triacylglycerol, Phytosterol, and Tocopherol Variations in Kernel Oil of Malatya Apricots from Turkey*, **J. Agric. Food Chem.** 55:26 (2007) 10787-10794.
- [6] G. Durmaz, M. Alpaslan, *Antioxidant properties of roasted apricot (Prunus armeniaca L.) kernel*, **Food Chem.** 100:3 (2007) 1177-1181.
- [7] M. Kornsteiner, K.H. Wagner, I. Elmadfa, *Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types*, **Food Chem.** 98 (2006) 381-387.
- [8] L.S. Maguire, S.M. O’Sullivan, K. Galvin, T.P. O’Connor and N.M. O’Brien, *Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut*, **Int. J. Food Sci. Nutr.** 55:3 (2004) 171-178.
- [9] S.F. O’Keefe, “Nomenclature and Classification of Lipids” in C.C. Akoh, and D.B. Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, 2002, p.3-10.
- [10] R.H. Garrett, C.M. Grisham, *Biochemistry 2. Edition*, Saunders Collage Publishing, 1999, p.238-239.
- [11] E. Choe, D.B. Min, *Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation*, **Compr. Rev. Food Sci. Food S.** 5 (2006) 169-186.
- [12] E.N. Frankel, *Volatile lipid oxidation products*, **Prog. Lipid Res.** 22:1 (1983) 1-33.

* Elektronik kitaplarda sayfa numaralandırması olmadığı için referanslarda bu kaynaklar için sayfa numarası verilememiştir.

- [13] H Esterbauer, *Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products*, **Am. J. Clin. Nutr.** 57 (1993) 779-785.
- [14] D.B. Min, and J.M. Boff, "Lipid Oxidation of Edible Oils" in C.C. Akoh, and D.B. Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. NewYork, Basel, 2002, p.335.
- [15] N. I. Krinsky, *Singlet oxygen in biological systems*, **Trends Biochem. Sci.** 2 (1977) 35–38.
- [16] Š. Schmidt and J. Pokorný, *Potential Application of Oilseeds as Sources of Antioxidants for Food Lipids – a Review*, **Czech J. Food Sci.** 23:3 (2005) 93–102.
- [17] B. Halliwell, J.M. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, (2nd ed.) 1989, p. 543.
- [18] O. I. Aruoma, S. L. Cuppett, *Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1997, p. 241.
- [19] E.N. Frankel, *Lipid oxidation: Mechanisms, products and Biological significance*, **J. Am.Oil Chem. Soc.** 61 (1984) 1908-1917.
- [20] M.H. Gordon, "Factors affecting lipid oxidation", in *Understanding and Measuring Shelf-life of Food*, R. Steele (Ed.), Cambridge, England, 2004, (E-kitap).
- [21] A. Kolakowska, "Lipid oxidation in food systems", in Z.E. Sikorski and A. Kolakowska (Ed.), *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, CRC Pres, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2003, (E-kitap).
- [22] C.T. Ho, Q. Chen & R. Zhou, "Flavor Compounds in Fats and Oils", *Bailey's Industrial Oil & Fat products*, 5th edition, John Wiley, 1996, (E-kitap).
- [23] F. Shahidi, U.N. Wanasundara, "Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils", in C.C. Akoh, and D.B. Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. NewYork, Basel, 2002, (E-kitap).
- [24] W.J. Reid, "Instrumental methods in detecting taints and off-flavours", in; B. Baigrie (Ed.) *Taints and off-flavours in food*, CRC Pres, 2003, (E-kitap).
- [25] T.A. Russin, J.I. Boye, H.M. Pham and Y.Arcand, *Antioxidant Properties of Genistein in a Model Edible Oil System*, **J. Food Sci.** 71:7 (2006) C395-C399.
- [26] C.P. Tan, Y.B.C. Man, *Recent developments in differantial scanning calorimetry for assesing oxidative deterioration of vegetable oils*, **Trends Food Sci.Tech.** 13 (2000) 312-318.

- [27] J.W. Irwin and N. Hedges, “Measuring lipid oxidation”, in R. Steele (Ed.) *Understanding and Measuring Shelf-life of Food*, Cambridge, England, 2004, (E-kitap).
- [28] A. Lips, R.A. Chapman, and W.D. McFarlane. *The application of ferric thiocyanate method to the determination of incipient rancidity in fats and oils*. **Oil Soap**, 20 (1943) 240–243.
- [29] R. Guillén-Sans, M. Guzmán-Chozas, *the thiobarbutiric acid (TBA) Reaction in Foods: A review*, **Crit. Rew. Food Sci. Nutr.**, 38 (1998) 315-350.
- [30] F. Karatas, M. Karatepe, and A. Baysar, *Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography*, **Anal. Biochem.** 311 (2002) 76–79.
- [31] E.M. Becker, L.R. Nissen, L.H. kibsted, *Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects*, **Eur. Food Res. Technol.** 219 (2004) 561-571.
- [32] B. Halliwell, and J.M.C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, New York: Oxford University Press, 1985, p. 20-64.
- [33] H. Shi, N. Noguchi and E. Niki, “Introducing natural antioxidants” in J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (Ed.) *Antioxidants in Food*, CRC Pres, Cambridge, England, 2001, (E-kitap).
- [34] M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic and M. Mazur, *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*, **Chem-Biol. Interact.** 160 (2006) 1-40.
- [35] M.K. Eberhardt, *Reactive oxygen metabolites*, CRC Pres, 2001, p.261.
- [36] B. Bermond, “Biological Effects of Food Antioxidans”: in B.J.F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidans*, 1990, p. 218.
- [37] E.N. Frankel, S.W. Huang, J. Kanner, and J.B. German, *Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils vs Emulsions*, **J. Agric. Food Chem.** 42 (1994) 1054-1059.
- [38] A. Kamal-Eldin, L.A. Appelqvist, *The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols*, **Lipids**, 19 (1996) 671–701.
- [39] F.J. Ruperez, D. Martin, E. Herrera, C. Barbas, *Chromatographic analysis of α -tocopherol and related compounds in various matrices*, **J. Chrom. A**, 935 (2001) 45–69.
- [40] M.C. Erickson, “Lipid Oxidation of Muscle Foods” in C.C. Akoh, and D.B. Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. NewYork, Basel, 2002, (E-kitap).
- [41] A. Kamal-Eldin, *Nature’s wisdom polyunsaturated fatty acids and antioxidants in plants*, **Lipidforum**, (1999) 17–18.

- [42] M. Clement and J.M. Bourre, *Graded dietary levels of RRR-gamma-tocopherol induces a marked increase in the concentration of alpha- and gamma-tocopherol in nervous tissue, heart, liver and muscle of vitamin E-deficient rats*, **Biochim. Biophys. Acta**, 1334 (1997) 173-181.
- [43] H. Yoshida, and S. Takagi, *Antioxidative effects of sesamol and tocopherols at various concentrations in oils during microwave heating*, **J. Sci. Food Agric.** 79 (1999) 220.
- [44] D. Firestone, *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 4th ed. AOCS Press, Champaign, IL., 1996, Cd 8-53.
- [45] T.W. Goodwin, *Biochemistry of the Carotenoids, Vol.1: Plants*, 2nd ed., Chapman and Hall, New York, 1980, p.1-95.
- [46] D.S. Goodman, *Metabolism of Beta-carotene and Vitamin A*. **Proc. Biochem. Pharmacol.** 3 (1967) 487-97.
- [47] A.J. Young, and G.M. Lowe, *Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids*, **Arch. Biochem. Bioph.** 385:1 (2001) 20–27.
- [48] K.M. Haila, B.R. Nielsen, M.I. Heinonen, L.H. Skibsted, *Carotenoid reaction with free radicals in acetone and toluene at different oxygen partial pressures*, **Z. Lebensm. Unters. Forsch. A**, 204 (1997) 81-87.
- [49] C.S. Foote, and R.W Denny, *Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by β -carotene*, **J. Am. Chem. Soc.**, 90 (1968) 6233-6235.
- [50] E.N. Frankel, *Food antioxidants and phytochemicals: present and future perspectives*, **Fett/Lipid**, 101:12 (1999) 450.
- [51] D.E. Pratt, and B.J.F. Hudson, “Natural antioxidants not exploited commercially”, in B.J.F. Hudson, (Ed.) *Food Antioxidants*, , Elsevier Applied Science, London, 1990, p.171.
- [52] B.A. Zullo, G. Ciafardini, *The olive oil oxygen radical absorbance capacity (DPPH assay) as a quality indicator*, **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 110 (2008) 1-7.
- [53] D. Boskou, “Olive oil” in F.D. Gunston (Ed.) *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*, Blackwell Publishing, Boca Raton, 2000, p.257.
- [54] M. Dachtler, F.H.M. Van De Put, F.V. Stijn, C.M. Beindorff, J. Fritsche, *On-line LC-NMR-MS characterization of sesame oil extracts and assessment of their antioxidant activity*, **Eur. J. Lipid Sci. Tech.** 105 (2003) 1438-7697.
- [55] T. Fukuda, H. Ito, T. Yoshida, *Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.)*, **Phytochem.** 63 (2003) 795–801.
- [56] A.P. Kulkarni, S.M. Aradhya and S. Divakar, *Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit*. **Food Chem.** 87 (2004) 551-557.

- [57] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. **Lebensm. Wiss. Technol.** 28 (1997) 25-30.
- [58] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*, **Free Rad. Biol. Med.**, 26 (1999) 1231-1237.
- [59] M. Oyaizu, *Studies on products of browning reactions antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine*. **Jap. J Nutr.**, 44 (1986) 307-315.
- [60] H.E. Miller, *A simplified method for the evaluation of antioxidants*. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, 48 (1971) 91-97.
- [61] J.C. Espin, C. Soler-Rivas, and H.J. Wichers, *Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical*, **J. Agric. Food Chem.**, 48 (2000) 648-656.
- [62] N. Pellegrini, M. Serafini, B. Colombi, D. D. Rio, S. Salvatore, M. Bianchi and F. Brighenti, *Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays*, **J. Nutr.**, 133 (2003) 2812-2819.
- [63] R.Y.Y. Chiou, T.T. Tsai, *Characterization of Peanut Proteins during Roasting As Affected by Initial Moisture Content*, **J. Agric. Food Chem.** 37 (1989) 1377-1381.
- [64] H. Yoshida, Y. Hirakawa, S. Abe, Y. Mizushima, *The content of tocopherols and oxidative quality of oils prepared from sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds roasted in microwave oven*, **Eur. J. Lipid Sci. Tech.** 104 (2002) 116-122.
- [65] H. Yoshida, S. Takagi, *Vitamin E and oxidative stability of soya bean oil prepared with beans at different moisture contents roasted in a microwave oven*, **J. Sci. Food Agric.** 72 (1996) 111-119.
- [66] H. Yoshida, S. Takagi, *Effects of seed roasting temperature and time on the quality characteristics of sesame (*Sesamum indicum*) oil*, **J.Sci. Food Agric.** 75 (1997) 19-26.
- [67] Y.C. Lee, S.W. Oh, J. Chang, I.H. Kim, *Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures*, **Food Chem.** 84 (2004) 1-6.
- [68] I.H. Kim, C.J. Kim, J.M. You, K.W. Lee, C.T. Kim, S.H. Chung and B.S. Tae, *Effect of roasting temperature and time on the chemical composition of rice germ oil*, **J. Am. Oil Chemist's Soc.** 79 (2002) 413-418.
- [69] M.G. Megahed, *Microwave roasting of peanuts: Effect on oil characteristics and composition*, **Nahrung/Food**, 45 (2001) 255-257.

- [70] B. Siegmund, and M. Murkovic, *Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 2: volatile compounds)*, **Food Chem.** 84 (2004) 367-374.
- [71] S. Behera, S. Nagarajan and L.J.M. Rao, *Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles*, **Food Chem.** 87 (2004) 25-29.
- [72] F.J. Morales, S.J. Perez, *Free Radical Scavenging capacity of Maillard reaction Products as Related to Colour and Fluorescence*. **Food Chem.**, 72 (2001) 119-125.
- [73] J. Pokorny and A. Kolakowska, "Lipid-Protein and Lipid-Saccharide Interactions" in Z.E. Sikorski and A. Kolakowska (Ed.), *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, CRC Pres, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2003, (E-kitap).
- [74] A. Femenia, C. Rossello, A. Mulet, C. Canellas, *Chemical Composition of Bitter and Sweet Apricot Kernels*, **J. Agric. Food Chem.** 43 (1995) 356-361.
- [75] M. Özcan, *Composition of Some Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Kernels Grown in Turkey*, **Acta Aliment.** 29 (2000) 289–293.
- [76] S.G. Özkal, M.E. Yener, L. Bayındırlı, *Surfaces of apricot kernel oil yield in supercritical carbon dioxide*. **Lebensm.Wiss.Technol.** 38 (2005) 611–616.
- [77] S.G. Özkal, M.E. Yener, L. Bayındırlı, *The solubility of apricot kernel in supercritical carbondioxide*, **Int. J. Food Sci. Tech.** 41 (2006) 399-404.
- [78] H.A. Abou-Gharbia, A.A.Y. Shehata, F. Shahidi, *Effect of processing on oxidative stability and lipid classes of sessame oil*, **Food Res. Int.** 33 (2000) 331-340.
- [79] J. W. Veldsink, B. G. Muuse, M. M. T. Meijer, F. P. Cuperus, R. L. K. M. van de Sande, K. P. A. M. van Putte, *Heat pretreatment of oilseeds: effect on oil quality*, **Lipid-Fett.** 101(1999) 244-248.
- [80] V.M. Gandhi, M.J. Mulky, B. Mukerji, V.J. Iyer and K.J. Cherian, *Safety Evaluation of Wild Apricot Oil*, **Food Chem. Toxicol.** 35 (1997) 583-587
- [81] Y.F. Lu, S. Lu, *Influence of dietary fat saturation on lipid peroxidation of serum and low density lipoprotein in rats*, **Nutr. Res.** 22 (2002) 463–472.
- [82] M. Minhajuddin, Z. H. Beg, J. Iqbal, *Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats*, **Food Chem. Toxicol.** 43 (2005) 747–753.
- [83] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*, **Free Rad. Biol. Med.** 26:9-10 (1999) 1231-1237.

- [84] C.I.G. Tuberoso, A. Kowalczyk, E. Sarritzu, P. Cabras, *Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use*, **Food Chem.** 103 (2007) 1494-1501.
- [85] V. Bondet, W. Brand-Williams and C. Berset, *Kinetics and Mechanism of Antioxidant Action Using the DPPH Free Radical Method*, **Lebensm.Wiss.Technol.** 30 (1997) 609-615.
- [86] AOCS (1998) Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press, Champaign.
- [87] K. P. Suja, John T. Abraham, Selvam N. Thamizh, A. Jayalekshmy and C. Arumughan, *Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection*, **Food Chem.** 84 (2004) 393-400.
- [88] R. Mateos, M. Uceda, M.P. Aguilera, *Relationship of rancimat method values at frying temperatures for virgin olive oils*, **Eur. Food Res. Technol.** 223 (2006) 246-252.
- [89] N. Şahin, C. Akoh, A. Karaali, *Lipase-Catalyzed Acidolysis of Tripalmitin with Hazelnut Oil Fatty Acids and Stearic Acid To Produce Human Milk Fat Substitutes*, **J. Agric. Food Chem.** 53 (2005) 5779-5783.
- [90] O.H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. **J. Biol. Chem.** 193 (1951) 265–275.
- [91] H.S. Luck, “Catalase”. In: H.U. Bergmeyer (Ed.) *Methods in Analysis*, Academic Press, London, 1965. pp. 855-884.
- [92] R.A. Lawrence and R.F. Burk, *Species, Tissue and Subcellular Distribution of Non Se-Dependent Glutathione Peroxidase Activity*, **J. Nutr.** 108 (1978) 211-215.
- [93] J.A. Buege, and S. D. Aust. *Microsomal lipid peroxidation*, **Methods Enzymol.** 52 (1978) 302-310.
- [94] N. Vlachos, Y. Skopelitis, M. Psaroudaki, V. Konstantinidou, A. Chatzilazarou, E. Tegou, *Applications of Foirer transform-infrared spectroscopy to edible oils*, **Anal. Chim. Acta**, 573-574 (2006) 459-465.
- [95] M.D. Guillen, N. Cabo, *Usefulness of the frequency data of the Fourier Transform Infrared Spectra to Evaluate the degree of edible oils*, **J. Agric. Food. Chem.** 47 (1999) 709-719.
- [96] J. Dubois, F.R. van de Voort, J. Sedman, A.A. Ismail, and H.R. Ramaswamy, *Quantitative Fourier Transform Infrared Analysis for Anisidine Value and Aldehydes in Termally Stressed Oils*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 73 (1996) 787-794.
- [97] T.A. Russin, F.R. van de Voort, and J. Sedman, *Rapid determination of oxidative stability of edible oils by FTIR spectroscopy using disposable IR cards*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 81 (2004) 111-116.

- [98] M. Özdemir, O. Devres, *Kinetics of color changes of hazelnut during roasting*, **J. Food Eng.** 44 (2000) 31-38.
- [99] U. Krings, and R.G. Berger, *Antioxidant Activity of Some Roasted Foods*, **Food Chem.** 72 (2001) 223-229.
- [100] M.C. Nicoli, M. Anese, L. Manzocco, and C.R. Lerici, *Antioxidant Properties of Coffe Brews in Relation to the Roasting Degree*. **Lebensm.Wiss.Technol.** 30 (1997) 292-297.
- [101] C.A. Summa, B.D.L. Calle, M. Brohee, R.H. Stadler and E. Anklam, *Impact of the roasting degree of coffee on the in vitro radical scavenging capacity and content of acrylamide*, **LWT Food Sci. Tech.** 40 (2007) 1849-1854.
- [102] L. L. Yu, K.K. Zhou and J. Parry, *Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils*, **Food Chem.** 91 (2005) 723-729.
- [103] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S McDonald and K. Robards, *Methods for testing antioxidant activity*, **Analyst**, 127 (2002) 183–198.
- [104] K. Schlesier, M. Harwat, V. Böhm And R. Bitsch, *Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In Vitro Methods*, **Free Rad. Res.** 36 (2002) 177-187.
- [105] A. Serpen, E. Capuano, V. Fogliano, and V. Gökmen, *A New Procedure To Measure the Antioxidant Activity of Insoluble Food Components*, **J. Agric. Food Chem.** 55 (2007), 7676–7681.
- [106] K-H. Wagner, S. Derkits, M. Herr, W. Schuh, I. Elmadfa, *Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose–glycine model*, **Food Chem.** 78 (2002) 375–382.
- [107] D. Mastrocola, M. Munari, *Progress of the Maillard Reaction and Antioxidant Action of Maillard Reaction Products in Preheated Model Systems during Storage*, **J. Agric. Food Chem.** 48 (2000) 3555-3559.
- [108] J. P. Eiserich, C. Macku, and T. Shibamoto, *Volatile Antioxidants Formed from an L-Cysteine/D-Glucose Maillard Model System*, **J. Agric. Food Chem.** 40 (1992) 1982-1988.
- [109] W.M. Coleman, *A Study of the Behavior of Polar and Nonpolar Solid-Phase Microextraction Fibers for the Extraction of Maillard Reaction Products*, **J. Chrom. Sci.** 35 (1997) 245-258.
- [110] M. Alaiz, F.J. Hidalgo, and R. Zamora, *Antioxidative Activity of Nonenzymatically Brownd Proteins Produced in Oxidized Lipid/Protein Reactions*, **J. Agric. Food Chem.** 45 (1997), 1365 -1369.
- [111] C. Gertz, S. Clostermann, S.P. Kochhar, *Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature*, **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 102 (2000) 543–551.

- [112] F. Anjum, F. Anwar, A. Jamil, and M. Iqbal, *Microwave Roasting Effects on the Physico-chemical Composition and Oxidative Stability of Sunflower Seed Oil*, **J. Am. Oil Chem's. Soc.** 83 (2006) 777-784.
- [113] C.P. Tan, Y.B.C. Man, *Differential scanning calorimetric analysis for monitoring the oxidation of heated oils*, **Food Chem.** 67 (1999) 177-184.
- [114] C.P. Tan, Y.B.C. Man, S. Jinap, M.S.A. Yusoff, *Effects of microwave heating on the quality characteristics and thermal properties of RBD palm olein*, **Innov. Food Sci. Em. Tech.** 3 (2002) 157-163.
- [115] F. R. van de Voort, A. A. Ismail, J. Sedman and G. Emo, *Monitoring the oxidation of edible oils by Fourier transform infrared spectroscopy*, **J. Am. Oil Chem. Soc.** 71 (1994) 243-253.
- [116] M.D. Guillen, N, Cabo, *Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils*, **Food Chem**, 77 (2002) 503-510.
- [117] P. M. Kris-Etherton, *Monounsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease*, **J. Am. Heart Assoc.** 100 (1999) 1253-1258.
- [118] C. Wijesundera, C. Ceccato, P. Fagan and Z Shen, *Seed roasting improves the oxidative stability of canola (B. napus) and mustard (B. juncea) seed oils*, **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 110 (2008) 360-367.
- [119] M. K. Gupta, "Sunflower oil", in F.D. Gunstone (Ed.) *Vegetable Oils in Food Technology*, Blackwell Publishing, 2002, p.138.
- [120] D.M. Hegsted, R.B. McGandy, M.I. Myers, F.J. Stare, *Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man*, **Am. J. Clin. Nutr.** 17 (1965) 281.
- [121] R.P. Mensink, J. Plat, "Dietary fats and coronary heart disease", in C.C. Akoh (Ed.) *Food Lipids*, Marcel Decker, 2002, p.603
- [122] P. Reaven, S. Parthasarathy, B.J. Grasse, E. Miller, D. Steinberg, and J.L. Witztum, *Effects of oleate rich and linoleate rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects*, **J. Clin. Invest.**, 91 (1993) 668-676.
- [123] M. Kratza, P. Cullenb, U. Wahrburgc, *The impact of dietary mono- and polyunsaturated fatty acids on risk factors for atherosclerosis in humans*, **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 104 (2002) 300–311.
- [124] Y.F. Lu, S. Lu, *Influence of dietary fat saturation on lipid peroxidation of serum and low density lipoprotein in rats*, **Nutr. Res.**, 22 (2002) 463–472.
- [125] N.P. Visavadiya, A.V.R.L. Narasimhacharya, *Sesame as a hypocholesterolaemic and antioxidant dietary component*, **Food Chem. Toxicol.** 46 (2008) 1889–1895.

ÖZGEÇMİŞ

ADI VE SOYADI : **Gökhan DURMAZ**

DOĞUM TARİHİ : 29.06.1976

DOĞUM YERİ : Malatya

ADRESİ : İnönü Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü
İnönü Üniversitesi Merkez Kampüsü
44280, MALATYA
E-posta: gdurmaz@inonu.edu.tr

EĞİTİM DURUMU

1994-1999 : **Lisans**, İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.

1999-2002 : **Yüksek Lisans**, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilimdalı “**Kayısı meyvesinin ve kavrulmuş kayısı çekirdeğinin antioksidan özellikleri**”

2002-2008 : **Doktora**, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı (Biyokimya), “**Kayısı çekirdeği yağının oksidatif stabilitesi ve antioksidan özelliklerinin araştırılması**”

İŞ TECRÜBESİ

1993-2000: Ziraat Teknisyeni, Tarım Bakanlığı.

2000-.....: Araştırma Görevlisi, İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü.

YAYINLAR

- H Geçkil, B Ateş, **G Durmaz**, S Erdoğan, İ Yılmaz, Antioxidant, free radical scavenging and metal chelating characteristics of Propolis. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1 (2005) 27-31.

- **G Durmaz**, M Alpaslan, Antioxidant properties of roasted apricot (*Prunus armeniaca L.*) kernel, *Food Chemistry*, 100 (2007) 1177-1181.
- B Ateş, I Örun, Z S Talas, **G Durmaz** and İ Yılmaz, Effects of sodium selenite on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Fish Physiology and Biochemistry*, 34 (2008), 53-59.
- M Çam, Y Hışıl, **G Durmaz**. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112 (2009) 721-726.
- M Çam, Y Hışıl, **G Durmaz**, 2008. Characterisation of pomegranate juices from ten cultivars grown in Turkey. *International Journal of Food Properties*, (in press).

EK 1. Örnek bir SPSS tablosu. Yağda direkt yapılan DPPH radikal süpürme gücü ölçümü verilerin de yapılan istatistik görülmektedir.

ANOVA
VAR00002

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	206,568	5	41,314	48,285	,000
Within Groups	5,134	6	,856		
Total	211,702	11			

¢

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

VAR00002
Duncan

	N	Subset for alpha = .05
VAR00001	1	2 3 4
,00	2	466,5062
5,00	2	473,6932
10,00	2	475,1396 475,1396
30,00	2	476,8448 476,8448
15,00	2	478,2046
20,00	2	478,9757
Sig.		1,000 ,169 ,115 ,068

¢

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.