

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇÖREK OTU (*NIGELLA SATIVA L.*) YAĞI TAĞŞIŞINDE KULLANILAN YAĞ
CİNSİ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ İÇİN KEMOMETRİK VERİ
ANALİZ YAKLAŞIMLARINA DAYALI NÜKLEER MANYETİK REZONANS
(NMR) SPEKTROSKOPİ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Süleyman DİNCER

**Fen Bilimleri ve Teknojileri Anabilim Dalı
Kimya Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Haziran 2020

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇÖREK OTU (*NIGELLA SATIVA L.*) YAĞI TAĞŞIŞINDE KULLANILAN YAĞ
CİNSİ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ İÇİN KEMOMETRİK VERİ
ANALİZ YAKLAŞIMLARINA DAYALI NÜKLEER MANYETİK REZONANS
(NMR) SPEKTROSKOPİ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Süleyman DİNCER
(170861108)**

**Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı
Kimya Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Haziran 2020

TEZ ONAYI

Süleyman DİNCER tarafından hazırlanan "**Çörek Otu (*Nigella Sativa L.*) Yağı Tağşışinde Kullanılan Yağ Cinsi ve Miktarının Belirlenmesi İçin Kemometrik Veri Analiz Yaklaşımlarına Dayalı Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi Yöntemlerinin Geliştirilmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Jüri Üyeleri

İmza:

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Dr. Öğretim Üyesi Hayriye Nevin GENÇ

Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Tez Savunma Tarihi: 25/06/2020

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Ahmet KAYABAŞI
Enstitü Müdür V.



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Süleyman DİNCER





ÖNSÖZ

Sunulan bu tez çalışması, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN danışmanlığında tamamlanarak, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında her türlü bilgi ve önerileriyle tez çalışmamın yürütülmesinde bana yol gösteren danışmanım Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN'a,

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdağ Fen Fakültesi Kimya Bölümünün sahip olduğu olanaklardan faydalanmamı sağlayan, bilgi ve tecrübelerini eksik etmeyen kimya bölümündeki değerli hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında oldukları gibi eğitimim boyunca benden desteklerini eksik etmeyen değerli aileme, eşimin ailesine, sevgili eşim Zeynep Emine DİNCER'e ve minik kızım İkra Elif DİNCER'e sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Sunulan tez çalışması, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğünün 10-YL-19 nolu tez projesi ile desteklenmiştir.

Haziran 2020

Süleyman DİNCER



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET	xxi
ABSTRACT	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Çörek Otu Yağı ve Özellikleri.....	3
2.1.1. Çörek Otu Yağı Özellikleri ve Mevcut Biyoaktif Bileşenleri	4
2.1.2. Çörek Otu Yağının Üretim Teknikleri ve Üretim Potansiyeli	6
2.1.3. Çörek otu yağının kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri	15
2.2. Yenilebilir Yağlarda Tağşiş ve Tağşiş Belirleme Yöntemleri	18
2.2.1. Yenilebilir yağlarda tağşiş.....	18
2.2.2. Tağşiş tespiti için kullanılan moleküler spektroskopi yöntemleri.....	20
2.2.2.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi tekniği	21
2.2.2.2. Fourier dönüşümlü-kızılötesi (FT-IR) spektroskopi tekniği.....	27
2.2.2.3. Floresans spektroskopi tekniği.....	32
2.2.3. Tağşişin tespiti için kullanılan kromatografik yöntemler	34
2.3. Çok Değişkenli Kemometrik Analiz Yöntemleri.....	36
2.3.1. Spektral verilerin ön işleme yöntemleri	37
2.3.2. Kemometrik gözetimsiz örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri	37
2.3.2.1. Temel bileşen analizi (principle component analysis, PCA)	37
2.3.2.2. Hiyerarşik küme analizi (hierarchical cluster analysis, HCA).....	38
2.3.3. Kemometrik gözetimli örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri.....	39
2.3.3.1. Doğrusal diskriminant analiz (linear discriminant analysis, LDA).....	39
2.3.3.2. Sınıf analogilerinin yumuşak bağımsız modellenmesi (soft independent modeling of class analogies, SIMCA)	40
2.3.4. Kemometrik kalibrasyon yöntemleri.....	41
2.3.4.1. Kısmi en küçük kareler-regresyon analizi (partial least squares-regression analysis, PLS-R)	43
3. MATERYAL VE METOT	45
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Analiz Sistemleri.....	45
3.2. Yağ Örneklerinin ve Karışımlarının Hazırlanması	47

3.3. Yağ Örnekleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler	50
3.3.1. Moleküler spektroskopi analizleri	50
3.3.1.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi analizleri.....	50
3.3.2. Kromatografi analizleri	50
3.3.2.1. GC–MS–FID sistemi ile yağ asit kompozisyonu tayini.....	51
3.4. Kemometrik Yöntemlere Dayalı Veri Analizleri/ Çok Değişkenli Kemometrik Modellerin Geliştirilmesi.....	52
3.4.1. Veri ön işleme	52
3.4.2. Çok değişkenli kalitatif/ kemometrik sınıflandırma analizleri: PCA, HCA, LDA ve SIMCA modelleri	52
3.4.3. Çok değişkenli kantitatif/ kemometrik kalibrasyon analizleri: PLS–R modeli	53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	54
4.1. Saf Yağ Numunelerinin Moleküler Spektroskopi Analizlerine Ait Sonuçlar.....	54
4.2. Saf Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kalitatif/ Kemometrik Sınıflandırma Analizlerine Ait Sonuçlar	59
4.2.1. Kemometrik veri ön işlemlerine ait sonuçlar	59
4.2.2. PCA analizlerine ait sonuçlar.....	61
4.2.3. SIMCA analizlerine ait sonuçlar.....	68
4.2.4. HCA analizlerine ait sonuçlar	84
4.2.5. LDA analizlerine ait sonuçlar	92
4.3. Karışım Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kalitatif/ Kemometrik Sınıflandırma Analizlerine Ait Sonuçlar	95
4.3.1. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Ayçiçek Yağı Karışım Numunelerinin Çok Değişkenli Sınıflandırma Analizleri	95
4.3.2. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Pamuk Yağı Karışım Numunelerinin Çok Değişkenli Sınıflandırma Analizleri	100
4.4. Karışım Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kantitatif/ Kemometrik Kalibrasyon Analizlerine Ait Sonuçlar	105
4.4.1. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Ayçiçek Yağı Karışım Numunelerinin PLS–R Kalibrasyon Analiz Sonuçları	107
4.4.2. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Pamuk Yağı Karışım Numunelerinin PLS–R Kalibrasyon Analiz Sonuçları	110
4.5. Saf Yağ Numunelerinin Kromatografi Analizlerine Ait Sonuçlar	113
5. SONUÇ	122
6. KAYNAKLAR	125
ÖZGEÇMİŞ.....	134

KISALTMALAR

BCSO	Çörek otu yağı
CSO	Pamuk yağı
DAD	Diot array dedektör
FFA	Serbest yağ asitleri
FID	Alev iyonlaşma dedektör
FL	Fluoresans
FTIR	Fourier transform infrared
GC	Gaz kromatografisi
GC/ FID	Gaz kromatografisi alev iyonlaşma
GC/MS	Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
HNO	Fındık yağı
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IR	İnfrared
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Tayin limiti
MS	Kütle spektroskopisi
MUFA	Tekli doymamış yağ asidi
NIR	Yakın infrared spektroskopisi
NMR	Nükleer magnetik rezonans
OO	Zeytinyağı
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
RID	Kırma indisi dedektörü
RPC	Ters faz kromatografisi
RSD	Bağıl standart sapma
SBO	Soya yağı
SFA	Doymuş yağ asidi
SFO	Ayçiçek yağı
UV	Ultraviyole



SEMBOLLER

% v/v	Hacimce yüzde
%	Yüzde
M	Molarite
N	Normalite
R	Rezolüsyon
T-	Tokoferol
TT-	Tokotrienol
α -	Alfa
β -	Beta
γ -	Gama
δ -	Sigma



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1: Çözrek otu yağı yağ asit bileşimi (Zahide, 2012).....	3
Çizelge 3. 1 : Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler	45
Çizelge 3. 2 : Yağ asit kompozisyon tayininde kullanılan standart maddeler	45
Çizelge 3. 3 : Kullanılan analiz sistemleri ve modelleri	46
Çizelge 3. 4 : Yağ örneklerinin hazırlanmasında uygulanan tasarım	49
Çizelge 3. 5 : Yağ asit kompozisyonu tayini için kullanılan metot parametreleri	51
Çizelge 4. 1 : Yağ numunelerinin ¹ H-NMR spektrumlarında kemometrik analiz uygulamaları için seçilen spektrum bölgeleri.....	57
Çizelge 4. 2 : Çörek otu yağının rafine ayçiçeği ve pamuk yağları ile karışımlarının ¹ H-NMR verileri kullanılarak yapılan PLS-R analizlerine ait kalibrasyon ve validasyon sonuçları.....	106
Çizelge 4. 3 : Saf Çörekotu yağı ve diğer rafine yağlara ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/100 g yağ (%)	120
Çizelge 4. 4 : Farklı markalara ait çörekotu yağlarına ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/100 g yağ (%)	121



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1 :	Çörek otu yağı	5
Şekil 2. 2 :	Timokinon yapısı.....	6
Şekil 2. 3 :	Ham yağ akış şeması	12
Şekil 2. 4 :	Soğuk yağ pres makinesi	13
Şekil 2. 5 :	Soğuk pres yağ üretim şeması	13
Şekil 4. 1 :	Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait ^1H -NMR tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ , ppm) spektrumları	55
Şekil 4. 2 :	Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait ^1H -NMR tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) spektrumlarına uygulanan veri ön işlemleri (a) transpoze (b) Savitzky–Golay türev ve (c) standard normal variate (SNV) işlemi.....	60
Şekil 4. 3 :	Farklı marka ve türdeki tüm saf yağ numuneleri için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafiği	61
Şekil 4. 4 :	Farklı markalara ait saf (a) çörek otu yağı, (b) pamuk yağı, (c) fındık yağı ve (d) zeytinyağı numunelerinde tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafikleri	63
Şekil 4. 5 :	Farklı markalara ait saf (a) soya yağı ve (b) ayçiçeği yağı numunelerinde tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafikleri	64
Şekil 4. 6 :	Farklı tür ve markadaki tüm saf yağ numuneleri için, belirlenen 6 farklı bölgenin spektrumu kullanılarak yapılan PCA analizlerine ait skor grafikleri	66
Şekil 4. 7 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri	70
Şekil 4. 8 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	73
Şekil 4. 9 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	75
Şekil 4. 10 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	77
Şekil 4. 11 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	79
Şekil 4. 12 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	81
Şekil 4. 13 :	Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri.....	83

Şekil 4. 14 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	85
Şekil 4. 15 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	86
Şekil 4. 16 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	87
Şekil 4. 17 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	88
Şekil 4. 18 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	89
Şekil 4. 19 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	90
Şekil 4. 20 :	Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri.....	91
Şekil 4. 21 :	Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan LDA analizlerine ait grafikler (a) I. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan BCSO–CSO lineer grafik, (b) II. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan BCSO–CSO lineer grafik	93
Şekil 4. 22 :	Saf BCSO–1’in, SFO–1ve SFO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	96
Şekil 4. 23 :	Saf BCSO–2’in, SFO–1ve SFO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	97
Şekil 4. 24 :	Saf BCSO–3’ün, SFO–1ve SFO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	98
Şekil 4. 25 :	Saf BCSO–4’ün, SFO–1ve SFO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	99
Şekil 4. 26 :	Saf BCSO–1’in, CSO–1ve CSO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	101

Şekil 4. 27 :	Saf BCSO–2’in, CSO–1ve CSO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	102
Şekil 4. 28 :	Saf BCSO–3’ün, CSO–1ve CSO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	103
Şekil 4. 29 :	Saf BCSO–4’ün, CSO–1ve CSO–2’den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi	104
Şekil 4. 30 :	Saf BCSO–1 ve BCSO–2’ye katıştırılan ayçiçeği yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS–R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri.....	108
Şekil 4. 31 :	Saf BCSO–3 ve BCSO–4’e katıştırılan ayçiçeği yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS–R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri.....	109
Şekil 4. 32 :	Saf BCSO–1 ve BCSO–2’ye katıştırılan pamuk yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS–R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri.....	111
Şekil 4. 33 :	Saf BCSO–3 ve BCSO–4’e katıştırılan pamuk yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS–R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri.....	112
Şekil 4. 34 :	Saf çörek otu yağı (BCSO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı.....	114
Şekil 4. 35 :	Saf pamuk yağı (CSO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı.....	115
Şekil 4. 36 :	Saf ayçiçek yağı (SFO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı.....	116
Şekil 4. 37 :	Saf fındık yağı (HNO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı.....	117
Şekil 4. 38 :	Saf zeytinyağı (OO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı	118
Şekil 4. 39 :	Saf soya yağı (SBO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı	119



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇÖREK OTU (*NIGELLA SATIVA L.*) YAĞI TAĞŞIŞINDE KULLANILAN YAĞ CİNSİ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ İÇİN KEMOMETRİK VERİ ANALİZ YAKLAŞIMLARINA DAYALI NÜKLEER MANYETİK REZONANS (NMR) SPEKTROSKOPİ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Süleyman DİNCER

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Haziran, 2020, 160 sayfa

Sunulan tez çalışması ile; çörek otu (*Nigella sativa L.*) tohumundan herhangi bir ısıtma işlemi yada kimyasal madde uygulamasına maruz kalmadan üretilen ve biyoaktif bileşenler bakımından zengin soğuk pres çörek otu yağına katıştırılan ucuz rafine yağların tür ve miktarını belirlemeye yönelik, çok değişkenli kemometrik veri analiz yaklaşımına dayalı NMR yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Deneysel çalışmalar başlıca iki aşamada yürütülmüştür; **(i)** ilk aşamada hazırlanan saf yağlar ve 1–50% oranında hazırlanan karışım yağ numuneleri (çörek otu–ayçiçeği ve çörek otu–pamuk) için ¹H–NMR ve GC–FID analizleri gerçekleştirilmiş, **(ii)** ikinci aşamada ise elde edilen NMR verileri ile çok değişkenli kemometrik modellerin geliştirilmesi sağlanmıştır. Çörek otu yağına katıştırılan rafine yağın cinsini belirlemek üzere; PCA, HCA, LDA ve SIMCA modellemeleri, katıştırılan yağın miktarını belirlemek üzere ise; PLS–R kalibrasyon modelleri geliştirilmiştir. Kalitatif/ sınıflandırma modellemelerinin tümünde, farklı tür bitkisel yağların sınıflandırılabilirlik kabiliyetlerinin oldukça yüksek olduğu, 95% güven aralığında geliştirilen SIMCA modellemelerinde ise soğuk pres çörek otu yağı numunelerinin diğer yağ örneklerinden 100% farklı bir grupta sınıflandırılabilirliği gözlemlenmiştir. Çörek otu yağına katıştırılan rafine ayçiçeği ya da pamuk yağının kalitatif olarak tespit limiti <1% şeklinde belirlenmiştir. PLS–R modellemelerinde; tağşış için kullanılan rafine ayçiçek ve pamuk yağlarının belirlenebildikleri kantitatif limit değerleri sırasıyla 0.13–1.69% ve 0.03–1.43% olarak tespit edilmiş ve oldukça yüksek korelasyon katsayı değerleri elde edilmiştir. Sonuç olarak; saf ve karışım yağların NMR spektrumlarındaki farklılıklara göre tağşış durumlarının başarılı bir şekilde belirlenebileceği ve güvenilir bir yöntem olduğu, elde edilen farklı modellemelerle kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tağşış, NMR spektroskopisi, Kemometri, Çörek otu yağı, Ayçiçek yağı, Pamuk yağı



ABSTRACT

Ms Thesis

DEVELOPMENT OF NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY METHODS BASED ON CHEMOMETRIC DATA ANALYSIS APPROACHES FOR DETERMINING THE KIND AND AMOUNT OF VEGETABLE OIL USED IN BLACK CUMIN SEED (*NIGELLA SATIVA L.*) OIL ADULTERATION

Süleyman DINCER

Karamanoglu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Science and Technology

Supervisor: Associate Prof. Dr. Fatma Nur ARSLAN

June, 2020, 160 pages

With the present thesis; it is aimed to develop NMR spectroscopy methods based on multivariate chemometric data analysis approach to determine the type and quantity of cheap refined oils adulterated cold pressed black cumin seed oils, produced from black cumin seeds (*Nigella sativa L.*) without any heat treatment or chemical application and rich in bioactive components. The experimental studies were carried out mainly in 2 stages; **(i)** in the first stage, ^1H -NMR ve GC-FID analyses of pure and 1–50% mixture oils (black cumin seed– sunflower and black cumin seed–cotton seed) were carried out, **(ii)** in the second stage, multivariate chemometric models were developed with the NMR data. To determine the type of refined oil adulterated in black cumin seed oil, PCA, HCA, LDA and SIMCA models; to determine the amount of oil added, PLS-R calibration models have been developed. In all classification models, the ability to classify different types of oils is quite high, on the other hand, it was observed that cold pressed black cumin seed oil samples could be classified in 100% different group than other vegetable oil samples. In SIMCA models developed in 95% confidence interval, also the qualitative detection limit of refined sunflower or cotton seed oil adulterated in black cumin seed oil was <1%. In PLS-R models, the quantitative limit values of refined sunflower and cotton seed oil used for adulteration in cold press black cumin seed oil were determined as 0.13–1.69% and 0.03–1.43%, respectively, and very high correlation coefficient values were obtained. In summary, it has been shown that the adulteration conditions can be determined successfully according to the NMR spectral differences of pure and mixed oils and the developed method has proven to be a reliable method for qualitative and quantitative determination of the adulteration of cold press black cumin seed oils with cheap refined oils.

Keywords: Adulteration, NMR spectroscopy, Chemometrics, Black cumin seed oil, Sunflower oil, Cotton seed oil



1. GİRİŞ

Yağlar, organik kimyada lipit olarak adlandırılan; yüksek viskoziteli ve suyla karışmayan; temel yapı taşı yağ asitleri olan yapılardır. Yağlar çok farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Lipit kaynakları gruplandırmaya tabi tutularak bitkisel, hayvansal, madeni, eteri yağlar ve mumlar gibi ayırmak mümkündür. Bitkisel yağlara örnek olarak; çörek otu yağı, ayçiçek yağı, susam, çığıt, mısır, kolza, fındık, badem, palm, zeytin gibi yağlar gösterilirken; hayvansal kaynaklı yağlara da; iç yağı, tereyağı ve balık yağı söylenebilir (Başoğlu, 2006). Bitkisel kaynaklı yağlardan biri olan çörek otu günümüzde olduğu kadar geçmişte de yoğun ilgi görmüş. Yapılan arkeolojik araştırmalarda, antik çağda M.Ö.'ki zamanlarda Mısır kralına ait bulunan kalıntılarda ve eski Mezopotamya'da çörek otuna rastlanmıştır. Ayrıca baharat şeklinde işlenmesinin de Romalıları dönemine denk geldiği bilinmektedir (Barkoudah, 1998). Peygamberimiz Hz. Muhammed'in (s.a.v.) 'Şu kara taneyi (çörek otu) kullanın, ölümden başka her şeye devadır' sözü (Buhari, Tıp, 7/13) çörek otu'na olan ilgiyi artırmıştır. Çörek otu günümüzde de üzerinde en fazla çalışılan aromatik bitkilerinden birisidir.

Çörek otu (*Nigella sativa* L.), *Ranunculaceae* familyasından *Nigella* cinsine aittir. Dünya üzerinde *Nigella* cinsinin 22 kadar türü bulunmaktadır (Dönmez ve diğerleri, 2010). Türkiye florasında ise 12 tür yer almaktadır (Davis ve diğerleri, 1965). Çörekotu cinsine ait bilinen 20'ye yakın tür bulunmakla birlikte, 14 tanesinin Türkiye şartlarında bulunduğu bildirilmektedir. Bunlar; Fırıldak çörek otu (*Nigella ciliaris*), Yabani çörek otu (*Nigella arvensis*), İspanya çörek otu (*Nigella hispanica*), Şam çörek otu (*Nigella damascena*), *N. Turcica*, *N. lancifolia*, *N. icarica* ve *Nigella nigellastrum*, *Nigella integrifolia*, *Nigella oxypetala*, Adi çörek otu (*Nigella sativa* L.), Sarı çörek otu (*Nigella orientalis*), ve *Nigella segetalis*'dir (Seçmen ve diğerleri, 2000). Bunlardan *Nigella damascena* ile *Nigella sativa*'nın üretimi tarımsal olarak yapılmaktadır. *Nigella sativa* Orta Asyada, Doğuda, Orta Doğuda ve Batı Avrupada üretilirken, Akdeniz'in bazı kesimlerinde ise *Nigella damascena* yetiştirilmektedir. Doğal olarak bulunduğu yerler ise; Orta Asya, Güney Avrupa, Kafkasya, Kırım şeklindedir. Bunlardan iki türün de tohumları tıbbi özelliklere sahiptir. Türkiye'de çörek otu adıyla satılan tür genelde *Nigella sativa*'dır (Bıyık, 2018).

Çörek otu yağı bulundurduğu; demir, kalsiyum, sodyum, potasyum, karbonhidrat, magnezyum gibi mineraller ile A, C, D, B6 ve B12 gibi vitaminler bulundurması açısından insan sağlığı için yararlı ve zengin bir yağdır (Anonim, 2017). *Nigella sativa* bitkisinin tohumları insanlar arasında mide kaynaklı rahatsızlıkların tedavi edilmesinde, bağırsaklarda ise gaz sorunları için kullanılmaktadır (Ceylan, 1997). Sunulan araştırmalarda bu bitkinin tohumu ve içerdiği diğer maddelerin, anti-tümör (Worthen ve diğerleri, 1998), anti-bakteriyel (Morsi, 2000) ve bağışıklık sistemi için antioksidan, anti-enflamatuar (Salemai ve Hossain, 2000) etkileri yaptığı bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasındaki amaç çörek otu (*Nigella sativa* L.) tohumlarına kimyasal madde kullanımı yapılmadan veya herhangi bir ısı işlem uygulanmadan soğuk pres yöntemi ile üretilen ve biyoaktif bileşenler bakımından oldukça zengin olduğu bilinen çörek otu yağına katıştırılan ucuz rafine yağların, tür ve miktarını belirlemeye yönelik kemometrik veri analiz yaklaşımına dayalı nükleer manyetik rezonans (NMR) yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Çörek Otu Yağı ve Özellikleri

Çörek otu tohumu doymamış yağ asitleri bakımından oldukça zengin bir bitki olup, bunlardan yağın esas oranını linoleik asit, yağın daha az bir miktarını ise oleik asit oluşturmaktadır. Araşidonik ve eikosanoit ise diğer doymamış yağ asitleridir. Ayrıca palmitik, stearik ve miristik asidi gibi asitlerde doymuş yağ asitleri olarak söylenebilir (Rhouhou ve ark, 2007).

Çizelge 2. 1: Çörek otu yağı yağ asit bileşimi (Zahide, 2012)

Yağ asit bileşeni		kütle/kütle, w/w (%)
Linoleik asit	18:2	44.7-56
Oleikasit	18:1	20.7-24.6
Linoleik asit	18:3	0.6-1.8
Araşidik asit	20:3	2-3
Palmitoleik asit	16:1	3
Eikosadienoik asit	16:0	2-2.5
Palmitik asit	16:0	12-14.3
Stearik asit	18:0	2.7-3
Miristik asit	14:0	0.16
Steroller		0.5

Çörek otunun mineral maddeler bakımından içerik olarak zengin olduğu bilinmektedir. Tohumun yapısındaki bu mineraller fazla oranda görülürken potasyumun yanı sıra fosfor, kalsiyum, sodyum, çinko, mangan, demir ve bakırla birlikte azalan miktarlarda magnezyum da bulunmaktadır (Cheikh ve diğerleri, 2007; Zahide, 2012).

Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen nigella sativa yağlarının fizikokimyasal nitelikleri gözlemlendiğinde soğuk pres yöntemi ya da çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen çörek otu yağının fizikokimyasal özellikleri incelendiğinde aralarında çok önemli farklar görülmemiştir. Bu verilere göre çörek otu tohumu yağında; yağ verimliliği % 24.76, özgül ağırlık $0.9110 \pm 0.0003 \text{ g/cm}^3$, refraktif İndeks (20°C) 1.4732 ± 0.0001 , erime noktası $-1.7 \pm 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$, renk K:08, S:42, M:14, serbest yağ asidi (% oleik asit cinsinden) 11.0 ± 0.0 , peroksit sayısı $13.5 \pm 0.2 \text{ meqO}_2/\text{kg}$, iyot sayısı $115 \pm 31 \text{ wijs}$,

sabunlaşma sayısı 192 ± 2.0 mg KOH/g, sabunlaşmayan madde $\%1.0 \pm 0.4$ olarak bulunmuştur (Atta, 2003).

Çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerini; yağ asidi bileşimi, termal profil, renk, viskozite, oksidatif stabilite parametreleri incelenerek de değerlendirilmiştir. Yapılan diğer araştırmalarla birlikte renk bileşimleri ile UV absorpsiyonunun yüksek çıktığı ve bu özelliği dikkate alınarak güneşe karşı koruyucu görevi üstlenebildiği bildirilmiştir. Oksidatif stabilite özelliği rancimat cihazı ile yapılan araştırmalarda 55 saate kadar varan dayanç süreleri gözlenmiştir. İçeriğinde bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ve yüksek orandaki doğal antioksidanlar ile çörek otu yağının pekçok bitkisel yağların önüne geçtiği görülmektedir (Cheikh ve diğerleri, 2007). Çörek otu tohumu yağı soğuk pres yöntemi ile incelendiğinde toplam fenolik bileşen içeriği en yüksek oranda çıkan numunelerde en düşük oksidatif stabilitenin görüldüğü gözlemlenmiştir (Lutterodt ve diğerleri, 2011).

Birçok hastalığa sebep olan serbest radikallerin ince yüzey kromatografisi (TLC) sayesinde *Nigella sativa*'nın içeriğinde bulunan timokinon, karvakol, t-anetol ve 4-terpineol gibi bileşiklerinin bu serbest radikalleri azaltma etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Burits and Bucar, 2000). Bazı farklı çalışmalarda çörek otu ekstraktının ve saflaştırılmış bileşenlerinin etkisi ile antitümör özelliğini olumlu yönde etkilediği incelenmiştir. Araştırmacılar çörek otundan elde edilen metanolik özütü lenfoma ve sarkoma hücreleri üzerine uygulamış ve daha sonra normal hücrelerle mukayese edildiğinde maksimum sitotoksik etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir (Salomi ve diğerleri, 1992). Başka bir çalışmada da çörek otu tohumlarının farklı kanser tipleri üzerinde SW620, P388, Wehi, Molt4, 164, LL:2, Hep G2 ve J82, sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak araştırılmış ve özellikle karaciğer karsinomu olan HepG2 üzerinde önemli derecede sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır (Swamy ve Tan, 2000).

2.1.1. Çörek Otu Yağı Özellikleri ve Mevcut Biyoaktif Bileşenleri

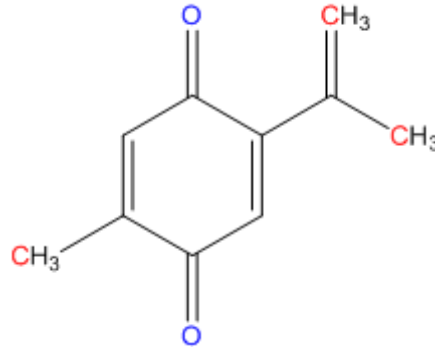
Çörek otu tohumları genel olarak siyah tohum veya kutsal tohum olarak bilinir (Ali ve Blunden, 2003). Ayrıca tohumunda, sabit yağ ($\%30-40$), uçucu yağ ($\%0,38-0,49$), protein ($\%20-30$), nigellin, tanen, melantin ve saponin bulunur. Çörek otu tohumunun kimyasal içeriği, ürünün türüne, hasat zamanına ve yetiştirilen iklim şartlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Kahire civarında üretilen çörek otu tohumlarından

işlenen uçucu yağın, 67 değişik madde barındırdığı ve bu bileşiklerin en önemlilerinin timokinon, psimen, a-pinen ve α -pinen, olduğu bildirilmiştir (Dattner, 2003). Çeşitli aktif kimyasal bileşenler içeren çörek otu tohumunun besin değerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Çörek otu tohumunun yapısında başlıca doymuş/doymamış sabit yağlar (%31,0-35,5), uçucu yağlar (%0,4-0,45), proteinler (%16,0-19,9), karbonhidratlar (%33,0-34,0), alkaloidler, aminoasitler, tanenler, lifler, saponinler, vitaminler (askorbik asit, tiyamin, niasin, pridoksin ve folik asit), mineraller (kalsiyum, çinko, fosfat) olduğu bildirilmektedir. Linoleik asit, linolenik (omega-6) asit, araşidonik asit, oleik asit, eikozadienoik asit ve palmitoleik asit doymamış yağ asitleridir (~%85). Doymuş yağ asitleri (~%18); stearik asit, palmitik asit ve miristik asit olarak söylenebilir. Çörek otu tohumunun uçucu yağlarından çeşitli farmakolojik aktif kimyasal bileşenler izole edilmiştir; bunların başlıcaları ditimokinon, timokinon, timohidrokinon ve timol olmakla birlikte; d-limonen, p-simen, trans-anetol, α ve β -pinen, nigellon ve karvakrol da bulunmatadır (Gerige ve diğerleri, 2009; Forouzanfar ve diğerleri, Khader ve diğerleri, Shafiq ve diğerleri, 2014).



Şekil 2. 1: Çörek otu yağı

Çörek otu tohumu ve yağının antienflamatuar, antioksidan, analjezik, antipiretik, antimikrobiyal ve antineoplastik aktiviteye sahip olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Çörek otunda bulunan; timokinon, dihidrotimokinon, timohidrokinon ve timolün farmakolojik etkilere sahip olduğu açıklanmıştır (Bulca, 2014). Çörek otu uçucu yağında en yüksek oranda ve en önemli biyoaktif bileşen olan timokinon (TQ) çörek otu uçucu yağında yaklaşık olarak % 18.4-24 oranında bulunmaktadır (Bacak Güllü ve diğerleri, 2013).



Şekil 2. 2: Timokinon yapısı

Fibrosarkoma, akciğer kanseri, prostat kanseri vb. Kanser türlerine çörek otundaki timokinonun inhibe etki gösterdiği araştırmalarca saptanmıştır (Roepke ve diğerleri, 2007). Ayrıca hepatoselüler karsinoma hücrelerini büyük oranda yavaşlattığı ve hepatoselüler tedavisi için timokinon bileşiği anti kanser çalışmalarına umut ışığı olmuş bir bileşiktir (Güllü ve Gülcan, 2013; Randhawa ve Alghamdi, 2002). Bu ve bunlar gibi daha birçok tümör ve anti kanser çalışmaları için timokinon iyileştirici etkiye sahip bir bileşen olmuştur. Akut akciğer yaralanmaları ve akut solunum sıkıntısı sendromlarında tamamıyla çözüm bulunamamış olup tedaviler halen destekleyici niteliktedir. Bu sıkıntıların giderilmesiyle ilgili yapılan bir araştırmada ratlar üzerinde bazı denemeler yapılmış ve timokinonun akciğer dokusunu zararlı maddelerin etkilerinden koruduğu saptanmıştır (Güllü ve diğerleri, 2013; Işık, Kati, Bayram, ve Özbek, 2005). Bununla birlikte timokinon, akciğer dokularında allerjen maddenin indüklediği eozinofilik inflamasyonu ve kadeh hücrelerinden mukus üretimini belirgin oranda engellediği görülmüştür. Buna çok benzer bir çalışmada ise timokinonun deneysel astımda antiinflamatuvar etkisi olduğu belirlenmiştir (El Gazzar ve diğerleri, 2006; Güllü ve diğerleri, 2013).

2.1.2. Çörek Otu Yağının Üretim Teknikleri ve Üretim Potansiyeli

Çörek otu tohumlarının üretim ve potansiyelinde dal miktarı, tohum verimi, kapsüldeki tohum miktarı, kapsül miktarı ve bin tane ağırlığa doğrudan etki ettiği bilinmektedir. Seyrek ekim şartları kapsülün içerdiği tohum sayısında ve dal sayısındaki artışın görülmesiyle beraber sık ekimlerde ise ekim miktarının artmasıyla alınan verimin daha da çok arttığı bildirilmiştir. Çörek otunda bin tane ağırlığı 1.98-3.00 g aralığında bulunup, sıra üzeri sabit olmak üzere sıra arası aralığı artış gösterdiğinde bin tane

ağırlığında artış görüldüğü belirtilmiştir (Ahmed ve Hague, 1986). Tokat koşullarında değişik ekim oranının çörek otu'nda verimin, verim unsurlarının ve bazı bitkisel özelliklerinin etkisini araştırıldığı ve dal sayısını 4.19-5.22 adet, bitki boyunu 42.83-53.46 cm, kapsül sayısını 5.97-11.47 adet, hasat indeksini %26.25-38.45, kapsül tohum ağırlığını 0.779-1.019 g, bin tohum ağırlığını 2.13-2.46 g, sabit yağ oranını %34.41-40.31, sabit yağ veriminin 36.78-52.73 kg/da, tohum veriminin 104.18-151.95 kg/da aralığında farklılık gösterdiği açıklanmıştır (Telci, 1995). Ayrıca Türkiye koşullarında, içeriğinde çörek otunu da barındıran ilaç baharat bitkileri üreticiliğinin tarihi çok zamanlara ulaşmadığından, şimdilerde ise farklı bölgelerin kendine has tarımsal taktiklerini inceleyen araştırmalar bildirilmektedir. Buna bağlı Çukurova koşullarında Kasım, Aralık, Şubat, Mart, Nisan, Mayıs aylarında yapılan 6 değişik ekim döneminde en kaliteli tohum değerlerini, Kasım ayında yapılan ekimlerden alınan tohumlardan (135.5 kg/da) elde edilmiştir (Özgüven ve Tansı, 1989).

Nigella sativa bileşiminde bulunan yağın elde edilmesi farklı metotlar ile sağlanmaktadır. Bu metotlar arasında hekzan gibi organik çözücülerin kullanıldığı ekstraksiyon, kimyasal madde ve sıcaklık uygulamasının olmadığı soğuk pres metodu, mikrodalga ile ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu sayılabilir. Çörek otu tohumundan yağ elde etmek için araştırılan metotlar arasında mikrodalga ekstraksiyonu yer almaktadır. Bu metot nütrosötiklerin ekstraksiyonu için uygulanan yeni bir yöntem olup, mikrodalga ve çözücü ekstraksiyonu kombine edilmektedir. Uçucu yağların elde edilmesinde de tercih edilen yöntemin proses süresinin kısa olması, daha az çözücü kullanımı, yüksek yağ verimi ve optimizasyonunun daha kolay olması nedeni ile tercih edilebileceği bildirilmiştir. Fakat ekstraksiyon sonunda üründe kalan katı çözücü bileşenlerinin uzaklaştırılması için ekstra filtrasyon veya santrifüj uygulaması gerekmektedir (Wang ve Weller, 2006; Zigoneanu, 2006).

Yağ eldesi için Soxhlet ekstraksiyonu, modifiye Bligh-Dyer metodu ve hekzan ekstraksiyonunun karşılaştırıldığı farklı bir çalışmada yağın fizikokimyasal özelliklerini ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve kullanılan çözücü çeşidinin etkilediği görülmüştür. Bu üç farklı metodun arasından Soxhlet ekstraksiyonunun diğer metotlara kıyasla daha yüksek verimli olduğu, elde edilen yağda doymamış yağ ve omega-6/omega-3 oranının daha yüksek bulunduğu ve diğerleri ile kıyaslandığında daha iyi kalite parametrelere sahip olan ürün üretilmesine olanak sağladığı için daha uygun olduğu belirtilmiştir

(Khoddami, 2011). Başka bir çalışmada ise hekzan ile çözücü ekstraksiyonu uygulaması ile elde edilen yağda yüksek miktarda tokoferol tespit edilmiş fakat yağda çözücü kalıntısı bulunma riski nedeni ile bu metodun kullanımı önerilmemiştir (Hoed ve diğerleri, 2011).

Tohumdan yağ elde etmek için kullanılan süperkritik CO₂ ekstraksiyonu küçük ölçekli sistemlerde uygulanabilir bulunmuş, makine yatırımı ve elde edilen yağın yüksek maliyeti nedeni ile ticarileştirilememiştir (Lampi ve Heinonen, 2009). Son yıllarda, yüksek miktarda besin maddelerini içermesi nedeni ile soğuk pres metoduna olan ilgi artmış, tüketicilerin doğal ve güvenli gıda arayışlarına cevap verdiği için ticari anlamda da yaygınlaşan bir uygulama haline gelmiştir.

Soğuk pres yağ ekstraksiyonu esnasında herhangi bir şekilde sıcaklık ve kimyasal madde uygulaması olmayan bir prosestir (Yu ve diğerleri, 2005; Ramadan ve diğerleri, 2012; Kiralan ve diğerleri, 2014). Her ne kadar bu yöntem ile daha düşük verimliliklerde yağ elde ediliyor olsa da, çözücü ekstraksiyonu ile gerçekleştirilen proseslerde olduğu gibi son üründe çözücü kalıntısına rastlama riski bulunmamakta, böylelikle daha güvenli ve kullanıcıların daha çok tercih ettiği bir ürün haline gelmektedir (Lutterodt ve diğerleri, 2011). Soğuk pres tekniği kullanılarak üretilen yağdan elde edilen, kimyasal olarak yapısı bozulmamış doğal antioksidanları içeren ve doğal bileşenlerin besin bakımından çeşitlilik gösterdiğini kapsayan lipofilik fitokimyasalları fazla oranda barındırmaktadır (Yu ve diğerleri, 2005; Lutterodt ve diğerleri, 2011; Ramadan ve diğerleri, 2012, Kiralan ve diğerleri, 2014). Bahsedilen metotlar kullanılarak üretilen yağların fizikokimyasal özellikleri karşılaştırıldığında soğuk pres yöntemi kullanılarak elde edilen yağların serbest yağ asidi açısından kalite değerlerinde daha etkili sonuçlar gözlemlendiği bildirilmiştir. Timokinon oranları, α , β , γ , δ tokoferol değerleri, toplam fenoller ve sterol bileşikleri daha yüksek bulunmuştur (Kiralın ve diğerleri, 2014). Ayrıca tedavi ve destek amaçlı çörek otu tohumu yağı kullanımında etken madde olarak belirlenen timokinon bileşiminin soğuk pres kullanılarak üretilen yağlarda önemli ölçüde bulunduğu da araştırma sonuçları ile görülmüştür (Lutterodt ve diğerleri, 2010). Soğuk pres tohum yağları sağlık faydaları sağlayan biyoaktif bileşenleri de bünyesinde bulundurlar. Antikardiyovasküler ajan olarak görev yapan, biyoaktif bileşik olan tokoferoller güçlü antioksidanlar olarak görev yaparlar (Wolf, 1997; Le'ger, 2000). Soğuk pres yağların içerdiği fenolikler ve

flavonoit gibi polifenol bileşikler de antialerjik, antimikrobiyal, antiaterojenik, antienflamatuvar, antioksidan, antitrombotik gibi teröpatik etkiye bulunurlar (Balasundram ve diğerleri, 2006). Soğuk pres tekniğinin dikkat edilmesi gereken en önemli özelliği ısı faktörünün kullanılmamasıdır. Bu fraksiyonlama adımında yağ elde etme işlemi sıcaklık kullanılmadan devam etmektedir. Kaynak verilerine dayalı olarak presle tohumlardan elde edilen yağ üretme işleminde sıcaklığın 50°C derecesini geçmemesi bildirilmektedir (Dimic, 2005; Moreau ve Kamal-Eldin, 2009; Rabrenovic ve diğerleri, 2014). Bu üretim metodu vitaminler, provitaminler, fitosteroller, fosfolipitler gibi önemli besin bileşenlerinin son üründe kalmasını sağlar (Rabrenovic ve diğerleri, 2014). Soğuk pres kullanılarak üretilen farklı meyve yağlarında antioksidan ürünler bulunduğu ve önemli oranda radikal yok etme ve radikal absorpsiyon olanağını barındırdığı bildirilmiştir (Dimitrios, 2006). Bunun yanında oto-oksidasyona karşı çözücü ekstraksiyonuna oranla oldukça durağan yapı göstermektedir (Atta, 2003). Sıcak pres ve ön ısıtma kullanılan pres tekniklerine oranla soğuk pres işleminin daha az miktarlarda serbest yağ asitlerini içerdiği açıklanmıştır (Ustun ve diğerleri, 1990). Ekstrakte edilmiş diğer yağlara kıyasla soğuk pres metodu kullanılarak üretilen yağlar, daha yüksek seviyede doğal antioksidan bileşikleri içerdiği için, raf ömrünü artırmak amacı ile sentetik antioksidan bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) yerine kullanılabilir (Hoed ve diğerleri, 2011). Çörek otu bitkisi, fitokimyasal ve farmakolojik açıdan üzerinde oldukça fazla çalışılan bir bitki türüdür. Çörek otu tohumunun amino asitler, proteinler, karbonhidratlar, sabit ve uçucu yağ bileşenleri gibi kimyasal bileşenler açısından oldukça zengin olduğu ve pekçok farklı bileşeni bünyesinde bulundurduğu görülmektedir. Yukarıda bahsedilen pekçok farmakolojik aktivitenin yapısında bulunan kinon bileşikler ile ilgili olduğu belirtilmektedir. 1956 yılında Chopra ve ark. timokinonun (TQ) çörek otu uçucu yağının asıl bileşeni olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı bir çalışmada çörek otu tohumunun sabit yağ içeriğinin %30, uçucu yağ içeriğinin ise ortalama %0.5, en çok %1.5 olduğu belirtilmiştir. Ayrıca uçucu yağın %54 oranında TQ ve p-simen, α -pinen, TQ2 THQ gibi pekçok monoterpen bileşeni içerdiği tespit edilmiştir. Bunun dışında uçucu yağın timol (TOH) bileşenleri içerdiği de tespit edilmiştir (Aboutabl ve diğerleri, 1986). İnce tabaka kromatografisi kullanılarak çörek otu yapısında TQ'un yanısıra karvakrol, t-anetol, 4-terpineol bileşenleri de tespit edilmiştir (Burits ve Bucar, 2000). Çörek otunun temel ürünü olan timokinon ve yardımcı diğer uçucu ürünler; böbrek taşlarını eritmek (Hashem ve El-Kiey, 1982),

öksürük etkisini azaltmak (Mahfouz ve diğerleri, 1960), antiinflamatuvar (Chakravarty, 1993; Houghton ve diğerleri, 1995), karın bölgesi ağrıları ve sindirim kaynaklı sorunların iyileştirilmesinde (Enomoto ve diğerleri, 2001) ve antioksidan etkisi (Mansour ve diğerleri, 2002) sebebinden dolayı ilgi görmektedir. Sağladığı bu etkilerin yanında çörek otu tohumunun içerdiği uçucu yağ ürünlerinin antiviral (Salem ve Hossein, 2000), hipoglisemik (Al-Hader ve diğerleri, 1993), diüretik ve antihipertansif (Tahir ve diğerleri, 1993; Zaoui ve diğerleri, 2000), antimikrobiyal (Hanafy ve Hatem, 1991; Aboul-Ela ve diğerleri, 1996), antioksitik (Aqel ve Shaheen, 1996), hematolojik (Enomoto ve diğerleri, 2001), hepatoprotektif (Daba ve Abdel-Rahman, 1998) ve immun sistemini düzenleyici (Swamy ve Tan, 2000) gibi faydalarının bulunduğu çalışmalar sunulmuştur.

2.1.2.1. Ön işlemler

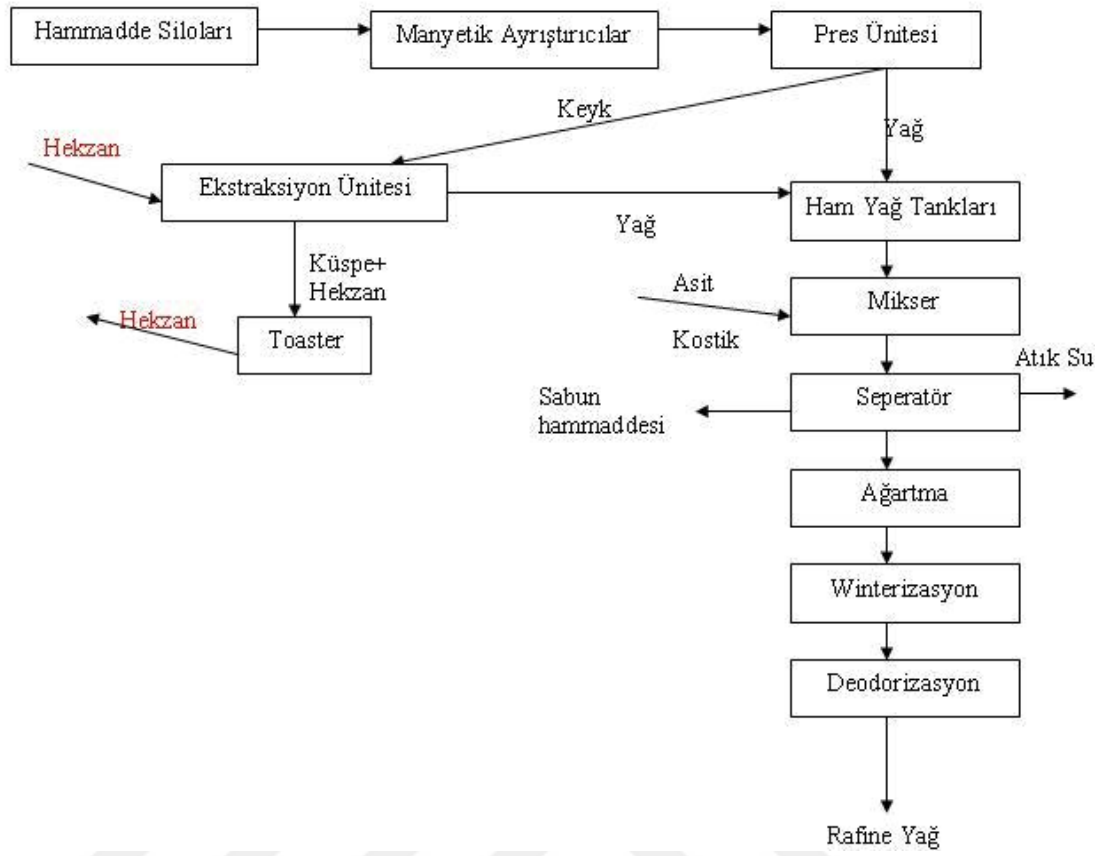
Yağlı tohumlar çeşitli fiziksel işlemlerden geçirilerek tohumun bünyesindeki yağ elde edilmektedir. Ham yağın elde edilmesindeki fiziksel işlemler aşağıdaki Şekil 2.3'de gösterilmektedir. Toplanan yağlı tohum tartıma girer sonra tohum içerisindeki diğer maddeler temizlenir, temizlenen tohum uygun kırma makinesine gönderilir, bu işlemden sonra kavurma tavalardan geçirilerek preslenir (sıcak pres yağ) veya kırma işleminden sonra direkt preslenir (soğuk pres yağ) ve ham madde elde edilmiş olur. Son aşama olan filtrasyon ham yağ tanklarında depolanır. Bu işlem sonucunda çıkan yağlı küspeye ekstraksiyon yöntemi uygulanarak yağlı küspedeki yağ da elde edilir ve filtre uygulandıktan sonra ham yağ tanklara iletilir. Ekstraksiyon uygulanan yağlı küspe küspe ambarına alınır ve satışı yapılır. Ham yağ tanklarındaki yağ ise yapılacak rafinasyona hazır veya satışa hazır halde beklemektedir (Anonim, 2017.)

2.1.2.2. Soğuk pres/ mekanik pres yöntemi

Son dönemlerde bitkisel yağlarla ilgili tüketici farkındalığının gelişmesi, besin verici özelliklerinden farklı olarak bedenimize fizyolojik faydaları olan ve süreğen hastalıkların belirtileirini azaltan "fonksiyonel yağ" bileşenlerine duyulan arzın çoğalmasına sebep olabilmektedir. Fonksiyonel yağ ürünlerinin değerinin deneysel çalışmalarla incelenmiş olması "doğal" ya da "organik" şeklinde belirtilen şartlara uygun, yeni ürünlerinin üretimi için endüstriyel üretimin olması gerektiği bildirilmektedir. Yaygın üretimi/ tüketimi endüstriyel olarak sağlanan rafine bitkisel

yağların yerine daha çok tercih edilen çörek otu yağı, üzüm çekirdeği yağı, incir çekirdeği yağı, ruşeym yağı, kabak çekirdeği yağı, keten tohumu yağı, aspir yağı, susam yağı gibi yağların eldesi için sunulan araştırmalar dikkat çekmektedir. Üretim yapılırken herhangi bir ısı işlemi ve kimyasal işlem uygulanmadan, bu tür yağların mekanik pres yöntemi kullanılarak elde edilmesi saf özelliklerinin bozulmamasını sağlar ve işlem sonunda oluşan yağ soğuk pres yağ olarak adlandırılmaktadır (Nyama ve diğerleri, 2009; Akin, 2016).

Soğuk pres uygulanarak üretilen yağlara ısı işlem uygulanmadan, yalnızca mekanik işlemlerle, yağın saf özelliğinin korunarak elde edilen bitkisel yağlardır. Bu yöntemle elde edilen yağlara proses anında yüksek sıcaklıklar uygulanmadığından trans yağ asitleri meydana gelmez ve özünde bulunan biyoaktif bileşikler de doğallığını korumaktadır. Bu şekilde doğallığını koruyarak, hem sağlık, hemde gıdalardaki besin değeri bakımından oldukça faydalıdır. Yüksek kalitedeki bitkisel yağların üretiminde kullanılan soğuk pres yöntemi; yararlanılan yöntemlerin en önemlisi konumundadır. Soğuk pres tekniği ile üretilen yağlar daha yüksek oranlarda fosfatidler, antioksidanlar, fitosteroller, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi farklı ürünleri barındırdıkları için sağlık yönünden yararları dikkat çekmektedir (Ay ve diğerleri, 2015).



Şekil 2. 3: Ham yağ akış şeması



Şekil 2. 4: Soğuk yağ pres makinesi



Şekil 2. 5: Soğuk pres yağ üretim şeması

Soğuk pres tekniği ile yenilebilir olan yağ eldesinin en olumsuz yanı, yağdan elde edilen verimin çözücü ekstraksiyon tekniğine oranla çok daha düşük olmasıdır. Bu durum soğuk pres yağların, rafine yağlara oranla daha pahalı olmasına neden olmaktadır. Bu teknikle daha düşük verimliliklerde ürün eldesi sağlansa da, çözücü ekstraksiyonu ile yapılan proseslerde karşılaşılan son üründe çözücü kalıntısı görülme riski olmamakta, bu sebeple daha güvenli ve tüketicilerin daha fazla talep gösterdiği bir ürün elde edilmektedir (Alfawaz, 2004; Akin, 2016). Ürün verimini arttırmak için tohumlara ısıl ön işlem uygulanması gibi farklı endüstriyel yöntemler görülmektedir, fakak bu teknikler yağlarda kalitenin bozulmasına ve aynı zamanda elde edilen yağın tercih edilmemesine sebep olmaktadır. Yağ veriminin ve üretilen yağın niteliğinin daha

fazla olması için ultrasonik etki ile tohumların ön işlemi, son zamanlarda önemli bir teknik olarak literatürde rapor edilmektedir. Yöntem ile; tohum hücre duvarları çatlatılarak yağın daha kolay ayrılmasının, ve böylece verimde artışın olacağı ve yöntemde sıvı ortam özelliği oluşturan etanolün, tohumların sterilizasyonu, barındırdığı enzimlerin deaktivasyonu gibi etkilerle yağın kalite bakımından daha avantajlı duruma geldiği belirtilmektedir.

Tiryaki ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada; sızma zeytinyağı, soğuk pres prosedürü veya termal ve kimyasal işlem yapılmadan santrifüj yoluyla üretilebilir olduğu ve zeytinyağı kategorisi altında en kaliteli yağ olarak kabul edilmiştir. Zeytinyağı, fenolik ve antioksidan içeriği bakımından zengin olması ve çeşitli sağlık sorunlarının önlenmesine katkısından dolayı üstün özellikleri, zeytinyağı talebini yıllar içinde artırmıştır. Sonuç olarak, günümüzde piyasadaki normal bitkisel yağlardan çok daha yüksek bir fiyata satıldığı bilinmektedir. Fakat sızma zeytinyağı (EVOO) potansiyel yüksek ticari kar nedeniyle diğer ucuz yağlarla sürekli karıştırılmaktadır. EVOO'da (kromatografik yöntemler ve PCR gibi) karıştırmayı saptamak için yöntemler mevcut olsa da, alternatif daha basit ve daha hızlı yöntemler araştırılmaktadır. Bu çalışmada, EVOO'da soya fasulyesi yağı (SO) karışımını [ağırlıkça %25'e kadar (ağırlık / ağırlık)) ölçmek için portatif Raman spektroskopisinin performansı değerlendirilmiştir. Kısmi En Küçük Kare Regresyon (PLSR) kalibrasyon modelleri geliştirildi ve hem dahili olarak (çapraz validasyon, bir defaya mahsus bırakma yaklaşımı kullanılarak) hem de harici olarak (bağımsız bir örnek seti kullanılarak) onaylanmıştır. Bu çalışmada da görüldüğü gibi soğuk pres yönteminin verimli olduğu görülmüştür.

2.1.2.3. Diğer üretim yöntemleri

▪ **Süperkritik ekstraksiyon yöntemi.** Süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi (SCFE) ile ayrılacak olan maddenin kendine özgü bulunan kritik basınç ve sıcaklığın üstünde çözme gücünün düzenlenebildiği bir akışkanda çözündüğü işlem ile tamamlanmaktadır. SCFE yöntemi, bütünüyle oksijenden arındırılmış bir ortamda yapıldığından bazı olumsuz reaksiyonun oluşmasının engellendiği ve işlem sıcaklığının düşük tutulmasından dolayı özellikle uçucu yağların eldesi için genelde kullanışlı bir yöntem olduğu görülmektedir. Bu yöntem üründe kirlilik barındırmayan bir süreçtir ve işletim tesisi için oldukça fazla alana ihtiyaç duyulmamakta ve üründe bulunan değerli bileşenlerin kaybının olmadığı bir yöntemdir. Bu teknikte kullanılan yüksek basınçlı

malzemelerin kullanımından dolayı diğer sistemlere oranla pahalı, fakat sistem proses optimum şartlarda ve yeterli büyüklükte bir ekstraktörle işletildiği durumlarda toplam operasyon maliyeti düşük bir sistem haline gelmektedir (Gök, 2012).

▪ **Çözücü ekstraksiyon yöntemi.** Yağ bakımından zengin olan tohumlardan ham yağların ayrıştırılması ve saflaştırılması yoluyla fazlaca kullanılan bir yöntemdir. Sistemdeki çözücü büyük oranda uçurularak tekrar kazanılmasına rağmen, kimyasal kirlilik ve kalıntılar bakımından karşılaşılan sorunlar halen tartışma konusudur. Petrol eteri, kloroform, benzol ve hekzan gibi çözücüler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ham yağın elde edildiği tohumlar, oda sıcaklığında direkt olarak çözücünün içerisine daldırılabilir ya da sokslet düzeneğinin içinde organik çözücü ile işleme tutulabilmektedir. Sokslet düzeneği ile yapılan işlemden sonra, kullanılan çözücü destilasyonla ortamdan uzaklaştırılarak geri kazanılmakta, yağlı kısım içerisinde ise uçucu bileşikler bulunmaktadır. Yağ verimliliği bakımından oldukça yüksek kaliteli ve en çok kullanılan yöntem, hekzan çözücü ekstraksiyon yöntemidir (Dalkıran, 2014).

▪ **Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi.** Yağlı tohumun çekilmesi, sulu tampon çözelti ile karıştırılması, enzim inkübasyonu, santrifüjle ayırma ve sıvı fazdan yağın eldesi adımlarını içeren bir yöntemdir. Çözücü ekstraksiyon tekniğine nazaran kirlilik barındırmayan bir prosestir. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen karışımlar santrifüj edilmekte ve işlem sonrasında dört farklı faz olmak üzere yağ, krema, sulu ve katı şeklinde sınıflandırılmaktadır. Yöntemin dezavantajlarından birisi, oluşan emülsiyon nedeniyle yağ kayıplarının oluşmasıdır. Oluşan emülsiyonun giderilmesi işlemi, enzimatik sulu ekstraksiyonun uygulanabilirliğini belirlemektedir. Bu işlem için, hekzan yardımıyla ekstraksiyon ya da dondurma-eritme gibi yöntemler uygulanmaktadır. Yağın eldesi için ekstraksiyon karışımına sıcak su ilave edilerek sıcak suda yağ yüzdürülüp, daha sonra emülsiyon katmanı üst kısma çıkartılmakta, kaynatılarak emülsiyon kırılmakta ve son aşamada ise yağ tabakası ayrılmaktadır. Bu yöntem ile elde edilen yağ kalitesinin, endüstriyel teknikte kullanılan çözücü ekstraksiyonu ile üretilen yağın kalitesine oranla kabul edilebilir olduğu pek çok araştırma ile ortaya konmuştur.

2.1.3. Çörek otu yağının kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri

Nigella cinsine ait olup üç türünden birini oluşturan çörek otu (nigella sativa)' nun diğer bitkilerden çok uzun zaman önce tıp alanında kullanılmış olduğu bilinip, yiyeceklere

lezzet katmada ve uzun süreler korunmasında oldukça etkili bir şekilde kullanıldığı bildirilmektedir(Ragaa 2010). Çörek otunun sağlık alanında kullanılması geleneksel halk tedavisi olarak bilinmekte ve gelişmiş tıp olanaklarının ilerlemiş olmasına rağmen geçerliliğini hala korumaktadır. Nigella sativa'dan yararlanılmaya başlanan ilk dönemlerden günümüze kadar geçen zamanda yararlı yönlerini araştırmak için sunulan bilimsel araştırmaların çörek otunun ve bileşenlerinin, antioksidan (Badary ve diğerleri, 1999), hipoglisemik (Badary 1999), antiinflamatuvar ve analjezik (Abdel ve diğerleri, 2000), antikanserojenik (Kaseb ve diğerleri, 2007), antitümöral (Badary 1999), antiülserojenik (Kanter ve diğerleri,2005), antibakteriyel (Halawani 2009) gibi bağışıklık sistemine iyi gelen (Salem, 2005) olumlu yanlarının bulunduğunu göstermiştir. Yapılan bu incelemelerle birlikte çörek otu bileşenlerinin antihelmintik/antiparazitik etkileri gösterdiğine dair bildirilen araştırmalar da bulunmaktadır.

Modern bitki biliminde öncü olarak kabul gören ve İ.Ö 40-90 yılları aralığında yaşayan Penedius Dioskorides (Adana-Kozan'da yaşadığı bilinen ve Anavarzalı olarak tanınan) bu alanda öncü kabul edilmektedir. Diş ağrıları tedavisinde, baş ağrısı tedavisinde, bağırsak parazitlerini düşürücü olarak ve burun tıkanıklarının giderilmesinde çörek otu yağından yararlanmıştır. Penedius Dioskorides, nigella sativa tohumlarının idrar söktürücü, süt miktarını arttırmada ve adet zamanını düzenleyici yönlerinin bulunduğunu da bildirmiştir (Ragaa, 2010).

- Beyin fonksiyonlarının sağlıklı devam edebilmesini sağlama,
- Alzheimer riskini azaltma,
- Sağlıklı büyüme ve kemik gelişimini destekleme,
- Bağışıklık sisteminin güçlenmesine yardımcı olma,
- Diyabet sebebiyle oluşan damar hasarlarının engellenmesini sağlama,
- Obezite oluşumunu önleme,
- Kalp ve damar sağlığını destekleme,
- Hücre zarının dayanıklılığını artırma ve hücrelere zarar veren molekülleri etkisiz hale getirme,
- Kolesterolü dengeleme,

- Sinir sistemi sağlığının korunmasına yardımcı olma,
- Kan basıncını düşürme,
- Kolesterolün düşürölmesine yardımcı olma,
- Cildi besleme, canlandırma ve hücre yenilenmesini hızlandırma etkileri nedeniyle cilt tedavisinde yardımcı olma gibi sağlık üzere pek çok önemli etkisi bulunmaktadır.



2.2. Yenilebilir Yağlarda Tağşış ve Tağşış Belirleme Yöntemleri

2.2.1. Yenilebilir yağlarda tağşış

Tağşış, bir maddenin kalitesinin, kendisinden daha düşük kalite ve fiyatta olan bir başka hammadde ile kasıtlı bir şekilde düşürülmesi ve ekonomik çıkar elde etme işlemidir. Gıda maddelerinde tağşış yapma işlemi çok eski tarihlere dayanmaktadır. Eski Yunan ve Roma'da şaraba renklendirici maddeler ve aromaların ilave edildiği bildirilmektedir. Dünyanın çoğu yerinde tağşışın önüne geçebilmek için gıda ile ilgili gerekli yasal düzenlemeler yapılmıştır. Türkiye'de tağşış ile ilgili kanun 1936 tarihli olup, İngiltere'de 1860 yıllarına kadar gitmektedir (Anonim, 2010).

Tağşış, gıda ürünlerinde en sık başvurulanan hile türü olarak bilinmektedir. Özetle, bir ürünün doğal yapısının başka bir ürünle rastgele veya maksatlı olarak değiştirilmesi olarak söylenebilir. Gıda sektöründe yapılan tağşışın öncelikli amacı; insanların sağlığı bakımından risk barındırmayan, daha sağlıklı, bozulmaya karşı dayanıklı özelliklere sahip ve fonksiyonel gıda üretimi sağlamaktır. Diğer bir amaç ise yüksek kaliteye sahip ürüne düşük kalitedeki ürünlerin ilave edilerek, tüketiciye aynı fiyatla sunulan gıdalar elde etmektir (Ertaş ve Topal, 2009).

Gıdalarda yapılan tağşışın başlıca nedenleri arasında; gıda arzının talepten az olması, üretim maliyetlerini aşağı indirerek pazar rekabeti içerisinde avantajlı konuma gelmek istenmesi, daha fazla kâr etme isteği, yetişmiş yeterli sayıda elemanın bulunmaması ve güncel üretim tekniklerinin araştırılmaması, gıda güvenliği ve riskin sonuçları hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması şeklinde ifade edilmektedir (Vasireddi, 2013).

Amerikan Kamu Analizi kurumunun verilerine bakılarak, en çok tağşışe uğrayan yedi ürünün; süt, bal, zeytinyağı, elma suyu, portakal suyu, safran ve kahve olduğu görülmektedir. Amerika Farmakope Kongresinin (USP) sunduğu bu bilgiler, bazı başlıca ürünlerin risk oranının belirlenmesine olanak sağlayan temel bilgileri sunmaktadır. Ayrıca bu veriler, 667 adet akademik çalışma ve halka açık raporlardan elde edilen ve gıda alanında yapılan 1.305 adet hile ve tağşış bilgilerini barındırmaktadır (Lakshmi ve diğerleri, 2012).

Şarap, zeytinyağı, süt gibi gıda ürünlerine yapılan tağşışlar ülke ekonomisine telafisi zor olan zararlar verirken ülkenin itibarını da kötü anlamda etkilemektedir (Skevin ve diğerleri, 2011).

Tüketicilere sağlık ve kalite bakımından daha iyi ürünler sunulması, bunlarla beslenmesi ve haksız rekabetin önüne geçilebilmesi için üretilen ve tüketilen tüm ürünlerin kalitesinin belirlenmesi ve izlenebilirliğinin sağlanması gerekmektedir. Bundan dolayı gıdada sürekli kontrol büyük öneme sahip olmaktadır (Vural, 1992).

Gıda maddelerindeki tağşiş işleminin tarihinin orta çağa kadar uzanmaktadır. O dönemlerde dahi hilenin önüne geçilmesi için çok ciddi cezaların uygulandığı literatürden takip edilebilmektedir. Bu bilgilerin bulunduğu eski literatürlerden en dikkat çekeni Hammurabi Yasaları'dır (M.Ö 17. yüzyılda Babil Hukuk Külliyyatından anlaşılmaktadır). Hammurabi yasasında gıda ürünlerine hile karıştıracak olanlara uygulanacak olan caydırıcı cezalar belirlenmiş olup, gıda maddeleri ile ilgili belli ağırlık ve ölçü birimleri kurallara göre belirlenmiştir. Osmanlılarda Sultan II. Beyazid Han döneminde ise çıkarılan Kanunname-i İhtisabı Bursa adlı tarihin ilk standardı belgesinde, belediye kanunu ve gıda tüzüğü yerine geçebilecek kanunnamede gıda maddelerinin standartlarının nasıl ve ne şekilde olması gerektiği gibi bilgiler yer almaktadır (Ertaş ve Topal, 2009).

Hile ve taklit yakın zamanda da oldukça fazladır. Dünya genelinde üretilen ürünlerin araştırma sonuçlarına bakıldığında %7'si veya farklı bir yoruma göre de %10'unun hileli olduğu görülmektedir. Dünya Tüketici Örgütü (WCO), bu şekilde oluşan zararın yılda 49 milyar doları bulunduğunu bildirmektedir. Hile ve tağşişe uğrayan ürünlerin başında ise zeytinyağı (%14), süt (%11), bal (%7), meyve suyu (%6) ve safran (%5) şeklinde sıralandığı görülmektedir. Anlaşıldığı üzere tağşişin başlıca amacı ekonomik kazancı arttırmaktır. Bundan dolayı, taklitin son bulması ekonomik kazancın olmadığı noktanın beklenmesi gerektiğinden söz edilmektedir. Bu durum ise tağşişin bitirilmesinin gerçekte imkansız olduğunu vurgulayan ironik bir açıklamadır. Temelde hilelerin belirlenmesi ya da gerçekliğinin saptanması sanıldığı gibi kolay bir işlem değildir (Ekşi, 2015).

Gıdanın özüne ait olan özellikleri ya da kimliğini belirten bilgiler etiketinde bulunmaktadır. Günümüzde bu etiketler yaygın biçimde artış göstermiştir. Bundan dolayı gerçekliği doğrulanması istenen soru sayısı bir hayli çoktur. Hangi yöreye ait olduğu, çeşiti ne, hangi yıldan alındığı, organik olup olmadığı, geleneksel olup olmadığı, yüzde yüz mü, herhangi bir bileşeni kaybolmuş mu, farklı bir bileşen bulunduruyor mu, farklı bir ürün karıştırılmış mı, bileşen oranı belirtilen seviyede mi,

GDO barındırıyor mu, bulunduruyorsa ne düzeyde gibi soruların yanıt bulması bu alanda çalışanların veya bu alanda denetleme yapan kişilerin işidir. Cevabın geçerli görülmesi ise kanıtlama ölçütlerinin biliniyor olmasına ve incelenmesi için kabul gören bir analiz tekniğinin olmasına dayanır. Ölçütlerin bir bölümü gıda kodeksinde bulunsa da bu ölçütlerin kullanışlılığı zamanla kaybolmaktadır. Bunun nedeni; inceleme yöntemleri ilerleme gösterirken tağşişin taktığı de aşama kaydetmektedir. Bundan dolayı ölçütlerin geliştirilmesi ve analiz yöntemlerinin kendini durmaksızın yeniliyor olmasını gerektirmektedir (Ekşi, 2015). Bazı taklitlerin ispatlanması oldukça basittir. Anlaşılması için tek değişkenli bir ölçütün varlığı yeterlidir. Örnek olarak vişne suyun içerisinde üzüm suyu aranacaksa tartarik asidin aranması yeterli gelmektedir. Çünkü tartarik asit vişne suyunun doğal bileşeni değil iken üzüm suyunun baş asididir. Bu şekilde bala yapılan şeker hilesi C izotop miktarı veya domatesin organikliğini N izotop oranı ile açıklayabilmektedir (Ekşi, 2015). Bazı taklitler ise sadece grup profili ile ispatlanabilmektedir. Örneğin zeytinyağında farklı sıvı katkısı veya bileşen eksigi ispatlanacaksa, tek bir yağ asidi ile kanıtlamak zor olacaktır. Bu durumda; araştırılan yağın hiç değilse yağ asidi profilinin araştırılması ve sunulan kromatogramın zeytinyağı ve yağa katıştırılacak olan başka zeytinyağları ile karşılaştırılması yeterli olacaktır (Ekşi, 2015).

2.2.2. Tağşiş tespiti için kullanılan moleküler spektroskopi yöntemleri

Son dönemlerde özellikle gıda analizlerinde hızlı ve tahribe neden olmayan spektroskopik tekniklerin kemometrik veri analiz yaklaşımları ile birarada kullanılması ile ilgili araştırmalar, gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Gıda ürünlerinde mevcut yağ, protein, karbonhidrat ve su gibi bileşenlerin hepsi spektruma katkı sağlamaktadır. Spektroskopi analizlerinde kimyasala duyulan ihtiyacın çok az ya da hiç olmaması, analizlerin maliyet ve süre bakımından avantajlı olması birden fazla ürünün aynı anda analiz edilebilmesi, analiz işlemi bitiminde ölçüm yapılan numunelerin zarar görmemiş olması ve kullanılan numune miktarının az olması önemli üstünlüklerdir. Bu avantajlar, sayesinde spektroskopi tekniği araştırma ve endüstri alanındaki tercih edilebilirliği artış göstermiştir. Aynı zamanda, referans yöntemler arasına spektroskopi analiz tekniklerini de alan uluslararası standart kuruluşları bu tekniklerin kullanım oranının arttığını bildirmektedir (Ertugay, 2011; Osborne, 2000; Taş, 2008).

Yağ analizlerinde taklitin niteliği ve niceliğini anlamaya yönelik sunulan bu yöntemlerde; analizi yapılmak istenen numunler için “kalibrasyon” ve “sınıflandırma” gibi spektroskopik kemometrik tahmin yaklaşımları araştırılmaktadır. Bu basamaklar; analizi yapılacak olan türün spektral verileri ile referans analiz dökümanlarının ilişkilendirilerek tahmin modelleri sunma aşamalarını göstermektedir. Maddelerin yapısında var olan spektral verilerdeki farklılıklar ile maddelerin yapısındaki fonksiyonel gruplarda olan kimyasal bağlarının, rezonans veya floresan özellik gösteren türlerin, elektromanyetik spektruma gösterdikleri tepkiye dayalı olan bu etkileşim ile uygun kemometrik yöntemler belirlenmektedir. Araştırmaların odağında, rezonans veya floresan şiddetindeki farklılıkların tespiti, uygulanan elektromanyetik spektrum enerjisine karşı maddenin yapısındaki kimyasal bağlarda ortaya çıkan titreşim seviyelerindeki değişimlerin, ve bu değişimlere bakılarak kemometrik yöntemlere göre tahmin yönteminin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır.

Temel moleküler spektroskopi yöntemlerinin yenilebilir yağların taşıdığı başlıca; nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, fourier dönüşümlü-infrared (FT-IR) spektroskopisi, fourier dönüşümlü yakın infrared (FT-NIR) spektroskopisi, raman spektroskopisi ve floresans spektroskopisi gibi tekniklerinin genel olarak tercih edildiği bilinmektedir. Bu yöntemlerin yağ taşıdığındaki çalışmalarından özetle anlatılmaya çalışılmıştır. Yenilebilir yağların taşıdığındaki kullanımlarına dair literatürde belirtilen işlemler ve konunun önemi kısaca özetlemeye çalışılmıştır.

2.2.2.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi tekniği

NMR spektroskopisi organik moleküllerin yapı incelenmesi için tercih edilen bir başka önemli spektroskopi koludur. Bu spektroskopi kolu da moleküllerin elektromanyetik radyasyonu absorblayarak uyarılması ve sonra uyarılan düzeyden temel düzeye gelmesi esnasında ortaya çıkan enerji farkının analizine dayanır. Genellikle atom çekirdekleri üzerine absorblaması için 4–900 MHz (75 m–0,33 m) radyo frekansı aralığındaki elektromanyetik ışın gönderilir. Atom numarası veya kütle numarası tek sayı olan bütün atomlar nükleer dönme enerjisine sahiptir. Kendi spin hareketini yapıp dönen elektrik yükleri bu anda manyetik alan meydana getirirler. Dönme hareketi gösteren yüklü bir tanecik, küçük bir mıknatıs gibi hareket eder ve bu yüzden dışarıdan uygulanan bir manyetik alanın etkisinde kalır. Spin hareketi yapan bu protonlar bir dış manyetik alan içerisine alındıklarında sahip oldukları manyetik alanları dış manyetik alanla ya aynı

doğrultuda ya da dış manyetik alanla tam ters doğrultuda hareket eder. Yeterli oranda enerji bulunduran bir fotonun absorblanması ile protonun manyetik alanının doğrultusu değişir. İki enerji düzeyi arasındaki enerji farkı uygulanan dış manyetik alanın gücüyle orantılıdır (Özgür, 2014).

Vıgılı ve diğerleri (2003) tarafından sunulan çalışma; 13 farklı bitkisel yağdan (Fındık, ayçiçeği, mısır, soya fasulyesi, susam, ceviz, kolza tohumu, badem, palmiye, yer fıstığı, aspir, hindistancevizi ve Yunanistan'ın çeşitli bölgelerinden alınan sızma zeytinyağı) ile oluşturulan 192 numuneyi gruplandırmak için ^1H -NMR, ^{31}P -NMR spektroskopisi ve çok değişkenli istatistiksel analiz kombinasyonu kullanıldığını bildirmiştir. 1,2-Digliseritler, 1,3-digliseritler, 1,2-digliseritlerin toplam digliseritlere oranı, asitlik, iyot değeri ve ilgili ^1H -NMR ve ^{31}P -NMR spektrumlarının analizi üzerine belirlenen yağ asidi bileşimi diskriminant analizi kullanılarak bir sınıflandırma / tahmin modeli oluşturmak için değişkenler olarak seçilmiştir. Bu model, 128 numune eğitim setinden elde edilen, farklı yağ sınıfları arasında önemli bir ayrımcılıkla sonuçlanırken, 64 numune için doğru onaylanmış sonuçların %100'ü elde edilmiştir. Zeytin-fındık, zeytin-mısır, zeytin-ayçiçeği ve zeytin-soya yağlarının farklı oranlarda karışımları hazırlanmış ve ^1H -NMR ve ^{31}P -NMR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak uygulanabilir ve sınıflandırmada etkili görüldüğü açıklanmıştır.

Longobardi ve diğerleri (2012) tarafından sunulan araştırmada 7 değişik bölgeden (İtalya – 3 bölge, Yunanistan-4 bölge) toplanan doğal ekstravirgin zeytinyağları, çok değişkenli istatistiksel analizle kombinasyon halinde ^1H Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi ile araştırılmıştır. Baskın lipid sinyallerinin yanı sıra yağda düşük orandaki bileşiklerden gelen sinyalleri de kapsayabilmek için, hem basit bir darbe deneyi hem de lipid sinyallerinin çoklu doygunluğuna sahip bir deney her bir numuneye uygulanmış ve bu nedenle, iki deney tarafından kapsanan dinamik konsantrasyon aralığı, numunelerin daha kapsamlı bir NMR değerlendirmesine izin verecek şekilde 100.000 düzeyinde çıkmıştır.

Çizelge 2. 2: Yağ numunelerinin ^1H -NMR spektrumlarında kemometrik analiz uygulamaları için seçilen spektrum bölgeleri

Kemometrik modellemeler için seçilen ¹ H–NMR spektral bölgeleri			
	kimyasal kayma bölgesi, δ (ppm)	kimyasal kayma değeri, δ (ppm)	fonksiyonel gruplar
I. bölge	6.00–4.75	5.51	β–karoten
		5.36	–CH=CH– (tüm doymamış yağ asitleri)
		5.29	–CH–OCO–R (gliserol yapısı, trigliseritler)
		5.22	–CH–OCO–R (gliserol yapısı, trigliseritler)
		5.06	–CH–OH (1,3–digliseritler)
II. bölge	4.75–3.50	4.47	–CH ₂ –OCO–R sn–1,3 (1,3–digliseritler)
		4.39	–CH ₂ –OCO–R (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.25	–CH ₂ –OCO–R (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.16	–CH ₂ –OCO–R (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.07	–CH ₂ –OCO–R sn–1,3 (1,3–digliseritler)
III. bölge	3.50–2.50	3.89	–CH ₂ –OCO–R sn–1,2 (1,2–digliseritler)
		2.79	–CH=CH–CH ₂ –CH=CH– (linolenil grup)
		2.72	–CH=CH–CH ₂ –CH=CH– (linoleil grup, doymamış yağ asitleri)
IV. bölge	2.50–1.75	2.38	–CH ₂ –COO– (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.26	–CH ₂ –COO– (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.13	–CH ₂ –COO– (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.03	–CH ₂ –CH=CH– (tüm doymamış yağ asitleri, linolenil ve linoleil grupları)
		1.98	–CH ₂ –CH=CH– (tüm doymamış yağ asitleri, oleil grupları)
V. bölge	1.75–1.00	1.65	–CH ₂ –CH ₂ –COO– (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		1.55	–CH ₂ –CH ₂ –COO– (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		1.22	–(CH ₂) _n – (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
VI. bölge	1.00–0.25	0.87	–CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₃ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri, linoleil grup hariç)
		0.84	β–sitosterol
		0.71	stigmasterol

Test edilen oldukça sınırlı sayıda numune göz önüne alındığında, %53 ile %100 arasında bölgeye özgü doğru tahminlerle %78 doğru tahmin olasılıkları yöntemin yararlı yönü olarak rapor edilmiştir.

Fang ve diğerleri (2013) tarafından rapor edilen çalışmada; son zamanlarda sağlık açısından ve tüketiciler için önemli bulunan sıvı ve katı yağların doğru tanımlanması amaçlanmıştır. Proton nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) spektroskopisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi sıvı ve katı yağların kalite kontrolü için (GC/MS) parmak izi ve kemometri başarıyla kullanılmıştır. Her iki tekniğin temel bileşen analizi (PCA), 14 tip katı ve sıvı yağın grup kümelemesini göstermiş GC/MS verilerini kullanan kısmi en küçük kareler ayırıcı analizi (PLS-DA) ve gizli yapılara dik projeksiyonlar, GC / MS verilerini kullanan ayırma analizi (OPLS-DA), NMR verilerini kullanan modellere kıyasla mükemmel sınıflandırma duyarlılığına ve özgüllüğüne sahip olduğu açıklanmıştır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda her iki teknikten elde edilen veriler, bilinmeyen numuneleri tanımlamak için bir katı ve sıvı yağ veri tabanının oluşturulması için etkili bir şekilde uygulanabilmektedir. Kısmen en küçük kareler (PLS) modelleri, kanola yağına eklenmiş domuz yağı ve sığır donyağının %5'inin tespit edilmesi için başarılı bir şekilde oluşturulup rapor edilmiştir.

Kim ve diğerleri (2015) tarafından sunulan bu çalışmanın amacı, ^1H -NMR spektroskopisi ve yağların yağ asidi profillerinin birleşik analizini kullanarak susam yağlarının gerçekliğini doğrulamaktır. Analitik veriler, Kore'de dağıtılan 35 otantik susam yağı örneğinden ve 29 numune katkılı susam yağı örneğinden elde edilmiştir. Susam yağı özgünlüğünü en etkili şekilde doğrulayan değişkenleri seçmek için gizli yapıya ayırıcı analiz tekniğine dik projeksiyon kullanılmıştır. Değişkenler $\delta^{13}\text{C}$ değeri, n-3 yağ asitlerinin CH_3 'ünü gösteren NMR piklerinin entegrasyon değerleri, iki C=C arasındaki proton CH_2 , protonları içerir. Sesamin / sesamolin ve 18: 1n-9, 18: 3n-3, 18: 2t ve 18: 3t içerik değerlerinden elde edilebilir olduğunu göstermiştir. 70 numunedan 65'inin orijinalliği, orijinal susam yağı örneklerinde bulunan sekiz değişkenin aralığı uygulanarak doğru bir şekilde doğrulanmıştır, bu çalışmanın sonucunda da üçlü analizin susam yağı orijinalliğini doğrulamak için yararlı bir yaklaşım olduğu bildirilmiştir.

Castejón ve diğerleri (2017) tarafından sunulan bu çalışma; Mutfak yağları, ayçiçeği ve zeytin ve ekili kardondan gelen yağ (*Cynara cardunculus* L.) 36 saat boyunca derin yağda kızartma işlemine tabi tutulmuş daha sonra nükleer manyetik rezonans (NMR) ve

elektron paramanyetik rezonans (EPR) ile yapılan heterospektroskopi analizi, (1) yağ asidi tiplerinin yüzdesinin (doymuş artış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin azalması) izlenmesi yoluyla yağ kalitesini kontrol etmeyi sağlamıştır. Çalışma sonucunda yeni bileşikler (aldehitler ve peroksitler) ve (3) derin yağlı kızartma sırasında yağın oksidatif stabilitesini oluşturmuştur. Aldehit içeriği ayçiçeği ve sinara yağlarında zeytinden çok daha yüksek olduğu görülmüş bununla birlikte epoksitler bu yağda daha fazla artış göstermiştir.

Zhu ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bu çalışma ^1H düşük alanlı nükleer manyetik rezonans (LF-NMR) ve kemometri, soya fasulyesi yağı (SO), kolza yağı (RO) veya hurma yağı (PAO) ile karıştırılan fıstık yağının (PEO) kalite değişikliklerini taramak için kullanılmıştır. Saf ve karıştırılmış yer fıstığı yağı örnekleri %0 ila %100 arasında olacak şekilde ayarlanmıştır. LF-NMR parametreleri, tek bileşenli gevşeme süresi (T_2W) ve pik alan oranı (S_{21} ve S_{22}) arasında önemli farklılıklar tespit edildi. Karıştırma oranı arttıkça, T_2W , S_{21} ve S_{22} doğrusal olarak değişti; ancak, çok bileşenli gevşeme süreleri (T_{21} ve T_{22}) biraz değişmiştir. Oluşturulan temel omponent analizi veya ayırt edici analiz modelleri, orijinal PEO'yu en az %10 SO, RO veya PAO ile sahte ve karıştırılmış örneklerden doğru şekilde ayırabilir olduğu açıklanmıştır. Fıstık yağı karışımlarındaki yağ türlerinin taranmasında olası uygulamaları, yağların ikili karışımları, karışım oranı %30'un üzerinde olduğunda ayırıcı analizle açıkça sınıflandırılabilir olduğu rapor edilmiştir.

Dayrit ve diğerleri (2018) tarafından sunulan bu makalede; Rafine edilmiş, ağartılmış, deodorize edilmiş hindistancevizi yağından (RCO) elde edilen hindistancevizi yağını (VCO) ayırt etmek için fosfor-31 nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (^{31}P NMR) kullanılmıştır. VCO ve RCO'daki monogliseritler (MG'ler), digliseritler (DG'ler), steroller ve serbest yağ asitleri (FFA'lar) dioksafosfolan türevlerine dönüştürüldü ve ^{31}P NMR ile analiz edildi. Ortalama olarak, 1-MG'nin VCO'da (%0.027) RCO'dan (%0.019) daha yüksek olduğu bulundu. 2-MG, aşağıdaki numunelerin hiçbirinde saptanmamıştır. Ortalama olarak, toplam DG'ler VCO'da (%1.55) RCO'dan (%4.10) daha düşük olduğu gözlenmiştir. Toplam DG'lere karşı [$1,2\text{-DG}$ / toplam DGs] oranı olarak çizildiğinde, VCO ve RCO örnekleri ayrı olarak gruplandırılır. Sonuç olarak temel bileşenler analizi, $1,2\text{-DG}$, $1,3\text{-DG}$ ve FFA'ların VCO'yu RCO'dan ayırmada en önemli parametreler olduğunu göstermiştir.

Fragakı ve diğerleri (2005) tarafından yapılan bu çalışmada; Yüksek alan ^{31}P NMR (202.2 MHz) spektroskopisinin hazırlanmış olan 59 numunenin analizine uygulanması amaçlanmıştır. Hazırlanan numuneler, Yunanistan'ın çeşitli bölgelerinden 34 sızma zeytin yağı, ve farklı zeytin çeşitlerinden, 13 numune rafine zeytin yağı ve 12 numune lampante zeytin yağı örneğinden oluşmaktadır. Üç dereceli zeytin yağının sınıflandırılması, beş değişkene uygulanan iki çok değişkenli istatistiksel yöntemle gerçekleştirildi ve tek yönlü ANOVA temelinde seçilmiştir. Hiyerarşik kümeleme istatistiksel prosedürü, üç zeytinyağı grubunu tatmin edici bir şekilde sınıflandırabilmiştir. Ardından seçilen beş yağ değişkenine diskriminant analiz uygulanması 59 numunenin kalitesine göre hatasız olarak gruplandırılmasını sağlamıştır. Sızma zeytinyağı ile rafine edilmiş zeytinyağı ve sızma zeytinyağı-lampant zeytinyağının farklı yapay karışımları hazırlanmış ve ^{31}P NMR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Verilerin müteakip diskriminant analizi, rafine edilmiş ve lampante zeytinyağları için %5 w / w kadar düşük sızma zeytinyağı katkısının saptanmasına izin vermiştir. Çalışmalar sonucunda sınıflandırma / tahmin modelinin, süpermarketlerden satın alınan rafine ve sızma zeytinyağlarından oluşan altı ticari harmanlanmış zeytinyağında rafine zeytinyağı konsantrasyonunun yüzde olarak tahmin edilmesine olanak sağladığı bildirilmiştir.

Mannina ve diğerleri (2009) tarafından çalışılan bu makale; Rafine zeytinyağına karıştırılan rafine fındık yağlarının tespiti için bir ^1H -NMR analitik protokolü ISO formatına göre rapor edilmiştir. Bu araştırma etkinliğinin temel amacı, temel NMR spektroskopisi bilgisine sahip operatörler tarafından kolayca kullanılabilecek yeni bir analitik metodoloji önermektir. Avrupa MEDEO projesi içinde farklı kökenlere sahip 92 yağ numunesi üzerinde geliştirilen protokol, uygun bir istatistiksel analiz ile birleştirilmiş ^1H NMR ölçümlerine dayanmaktadır. 600 MHz'lik bir cihaz kullanılarak geliştirilmiş ve iki bağımsız laboratuvar tarafından 600 MHz spektrometreleri üzerinde test edilmiştir ve zeytinyağlarının rafine fındık yağları ile %10'a kadar karıştırılmasını sağlamıştır. Son olarak, farklı manyetik alanlarda, yani 500 ve 400 MHz proton frekanslarında çalışan spektrometrelere uygulanan protokolün potansiyeli ve sınırlamaları araştırılıp rapor edilmiştir.

Salces ve diğerleri (2010) tarafından yapılan bu çalışma sızma zeytinyağlarının (VOO) bulunduğu Akdeniz havzası (üç hasat) ulusal, bölgesel veya PDO düzeyinde coğrafi

kökenlerini belirlemek için temel bileşen analizi, doğrusal diskriminant analizi (LDA) ve kısmi en küçük kareler ayrımcılık analizi (PLS-DA) ile analiz edilmesini amaçlamıştır. LDA ve PLS-DA, PDO Riviera Ligure VOO'larının karakterizasyonu için tutarlı sonuçlar elde etti. PLS-DA en iyi modeli verdi: Liguria sınıfı için, yağların %92'si modelleme adımında doğru bir şekilde sınıflandırıldı ve yağların %88'i dış validasyonda doğru şekilde tahmin edildi; Liguria dışı sınıf için, isabetlerin sırasıyla %90 ve %86'sı elde edilmiştir. Sicilya'dan VOO'ları doğrulamak için kararlı ve sağlam bir PLS-DA modeli elde edildi: tanıma yetenekleri Sicilya yağları için %98 ve Sicilya olmayanlar için %89 ve tahmin yetenekleri sırasıyla %93 ve %86 idi. Her iki kategorideki yağların %85'inden fazlası dış validasyonda doğru şekilde tahmin edildi. Yunan ve Yunan olmayan VOO'lar PLS-DA tarafından düzgün bir şekilde sınıflandırıldı: Örneklerin %90'ı çapraz doğrulama ve dış doğrulamada doğru olarak tahmin edilmiştir. Kararlı izotoplar, VOO'ların ¹H NMR parmak izlerine tamamlayıcı coğrafi bilgi sağlamıştır.

2.2.2.2. Fourier dönüşümlü-kızılötesi (FT-IR) spektroskopi tekniği

İnfr-red (kızıl ötesi) bölgesi 3×10^{12} – 3×10^{14} aralığındaki frekansa ve $710 \text{ nm}^{-1} \mu\text{m}$ aralığına denk gelen dalga boylarına sahip ışınları içermektedir. Moleküllerin titreşim ile spin enerji düzeyleri arasındaki geçişler bu alanda spektrum gösterir. Elektromanyetik dalganın maddelerce emilmesinden dolayı atomların birbirleri ile titreşim içine girdikleri görülür. Titreşim olayı sonrasında, molekülde bir dipol değişimi izlenir ve spektrumu kaydedilir. Sonuç olarak molekülün titreşim dalga boyları infrared alanda spektrum gösterir. Enerji seviyeleri arasındaki fark, 104 joule/mol gibi bir değer gösterir. Bundan dolayı endüstride, tıpta ve astronomi gibi alanlarda sıklıkla tercih edilirler (Sakarya, 2015). İnfrared spektrometre cihazında bulunan genel bileşenler monokromatör, ışık kaynağı, kaydedici ile dedektördür. Birçok farklı spektrometre cihazı bulunmaktadır. Bu cihazların spektrum bölgeleri ve optik sistemin farklı olmasına bağlı olarak değişik uygulama alanlarına uygun üretimi yapılmıştır. Spektrometre cihazlarının çift ışınlı ile daha gelişmiş olan Fourier Transform İnfrared Spektrometresi (FT-IR) türleri bulunmaktadır (Ersöz, 2010).

Fourier Transform İnfrared cihazlarında monokromatör kullanılmamaktadır. Işık kaynağından salınan bütün frekansların örnekle aynı zamanda birleşmesi sağlanmaktadır. Bütün frekansları içine alan bu verilerin değişim süreci izlenmektedir.

Farklı bir söylemle, böyle çalışmalarda spektrum, frekans ölçeğinde bulunması gerekirken zaman ölçeğinde elde edilmektedir. Zaman ölçeğinde elde edilmiş olan veriler interferogram olarak adlandırılır. İnterferogram, alışılan absorbsiyon spektrumlarının fourier transformudur. Cihazda bulunan bir bilgisayarda ters fourier transformu adını alan bir matematiksel işlemle interferogram frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Böylece alışılmış türdeki absorbsiyon spektrumu elde edilmektedir. Bilgisayarın bir başka işlevi de, zaman ölçeğindeki spektrumu birçok kez elde ederek, bu bilgiyi belleğinde biriktirmek, böylece 26 toplam sinyalin elektronik gürültüden bağımsız bir şekilde ölçümü alınmaktadır. Modern FT–IR cihazlarının avantajı kullanımı çok kolay, çok hassas, hızlı ve yüksek bir verimlilikle çalışıyor olmasıdır. FT–IR’nin eski versiyonlarına bakıldığında dalga boyunun çok daha net okunabildiği, geniş olmayan yani daha kesin pikler görülmektedir (Yıldız ve Genç, 1993).

Yağ asitleri ve vitaminler, steroller, tokoferoller, gibi yarı karakteristik özelliğini gösteren minör bileşenlere ait moleküler düzeydeki karakteristik değişimlerin (Çizelge 2.2) tek bir spektrumda eş zamanlı tespitine imkân veren bu teknik, belirtilen tüm moleküllerin hiçbir etiketleme tekniği kullanmadan (*parmak izi bölgesi ile*) izlenmesini sağlayan eşsiz bir teknik olarak tanımlanmaktadır. FTIR spektroskopisinde; yenilebilir yağlarda mevcut bileşenlere zarar vermediği bilinen infrared (kızılötesi) ışının soğurulması ile moleküllere özgü titreşim, bunun sonucu olarak da belirli frekans değerlerinde moleküler düzeyde sonuçları yansıtan karakteristik sinyaller oluşmaktadır. Infrared spektroskopi, görünür ile mikrodalga bölgeleri [*yakın* ($0.78\ \mu\text{m}$ – $2.5\ \mu\text{m}$), *orta* ($2.5\ \mu\text{m}$ – $25\ \mu\text{m}$) ve *uzak kızılötesi* ($25\ \mu\text{m}$ – $1000\ \mu\text{m}$)] arasında kalan ışınların madde tarafından soğurulması esasına dayanmaktadır (Skoog ve diğerleri, 2018). Bu sinyallerin şiddetinde, bant genişliğinde ya da frekans değerinde meydana gelen değişiklikler, incelenen yağ numunelerinin yapısı hakkında moleküler düzeyde oldukça değerli bilgiler vermektedir. Elde edilen spektrumlar üzerinde spektral belirteçlerin belirlenmesi mümkün olmaktadır. Yağ numunelerindeki bileşenlerin miktarında, oranında, yapısında ve fonksiyonlarında değişimlere neden olan taşıyıcı durumları spektruma yansıtmakta ve pek çok hile durumunun moleküler düzeyde izlenebilirliği numune ön işlemlerinin minimuma indirilmesi ya da doğrudan incelenmesi ile mümkün olmaktadır. Elde edilen spektrumlarda özellikle parmak izi özelliği taşıyan bilgilerin kemometrik veri analiz

yaklaşımları ile birlikte kullanımı; yenilebilir yağlardaki mevcut bileşenlerin kendilerine özgü fonksiyonel gruplarının tespit edilmesine ve yapıların birbirinden net olarak ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır.

Maggio ve diğerleri (2010) tarafından yapılan bu çalışmada Sızma zeytinyağının ticari örneklerindeki zerreler olarak bitkisel yağların (kanola, fındık, prina ve yüksek linoleik / oleik ayçiçeği) kalitatif ve kantitatif tayini için yararlı bir yöntem geliştirilmiştir. Karışım yağı numunelerinin Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) spektral verilerinin analizi için kısmi en küçük kareler (PLS) kullanılmıştır. PLS modelleri, dışarıda bırakma prosedürü ile dahili olarak doğrulanmıştır. Sunulan çalışmada geliştirilen yöntemin, modellenen karıştırıcıların belirlenmesi için çok uygun olduğu, ancak bu çalışmada kullanılan karıştırıcılardan oluşmamış olsa bile bir karıştırmayı ortaya çıkarabildiği gözlemlenmiştir.

Rohman ve diğerleri (2010) tarafından sunulan başka bir çalışmada; Palmiye yağına karıştırılmış olan sızma zeytinyağının analizi için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Ölçümler saf zeytinyağı üzerinde yapılmış ve değişen konsantrasyonlarda palmiye yağı ile karıştırılmıştır. Parmak izi bölgesindeki frekanslar, özellikle 1500–1000 cm⁻¹'de, hem nicelendirme hem de sınıflandırma için kullanılmıştır. Birinci türev spektrumundaki PLS veya PCR, karıştırılmış zeytinyağı numunelerinin konsantrasyonunu tahmin etmek için en iyi kalibrasyon modellerini ortaya koydu, sırasıyla 0.999 belirleme katsayısı (R²) ve kök ortalama standart çapraz doğrulama hatası (RMSECV) 0.285 ve 0.373 olmuştur. Çalışma sonucunda saf ve karıştırılmış örnekleri elde edilen yanlış sınıflandırılmış grup olmaksızın FTIR spektrumlarına göre sınıflandırılabilir olduğu ayrıca DA, EVOO örneklerini değerlendirilen diğer bitkisel yağlardan ayrı grup olarak sınıflandıracak kadar etkili olduğu rapor edilmiştir.

Lohumi ve diğerleri (2015) tarafından sunulan makalede; tüm zamanlarda yaygın olan gıda tağşişinin günümüzde, tarımsal gıda endüstrisini içeren bazı önemli örneklerle sorun olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, gıda özgünlüğünün ve katkısının belirlenmesi için dört titreşimsel spektroskopik teknik (yakın kızılötesi, orta kızılötesi, Raman spektroskopisi ve hiperspektral görüntüleme) sunulmaktadır. Bu tekniklerin özellikleri ve uygulamaları, büyük engeller ve sınırlamalar ile birlikte, spektral verilerin kemometri kullanılarak işlenmesine vurgu yapılarak araştırılmıştır. Bu çalışmada

titreşimsel spektroskopik teknikler, endüstriyel gıda kalitesi ve özgünlük analizi ihtiyacını karşılama potansiyeline sahip olduğu, ancak yine de modern gıda denetimi için ölçüm aksesuarları ve dinamik kemomatrik analitik yöntemler gerektiği vurgulanmıştır. Bu makalenin gıda endüstrisi araştırmacıları ve mühendisleri için gıda kalitesini ve özgünlüğünü analiz etmek için spektroskopik yöntemlerin seçiminde yardımcı olacak etkili yöntemler sunduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi rafine yağlara kıyasla nispeten daha pahalı olan natürel yağların veya soğuk pres yağların taşıdığı riskin tespiti için FTIR tekniğinin moleküler düzeyde çok değerli bilgiler verdiği pek çok çalışmada rapor edilmiştir.

Mossoba ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bu çalışma sızma zeytinyağlarının (EVOO) ekonomik olarak taşıma ücreti (EMA), dünya çapında bir sorun ve endişe kaynağı olduğu bildirmiştir. Zeytinyağının EMA'sını tespit etmek ve gıda güvenliği açıklarını gidermek için, EVOO'nun kimliğini doğrulamak üzere önceden geliştirilmiş bir hızlı tarama metodolojisi kullanılmıştır. İlk kez, kısa bir süre önce geliştirilen FT–NIR spektroskopik metodolojisi, kısmi en küçük kareler analizi ile birlikte, College Park, MD, ABD'de satın alınan EVOO etiketli ticari ürünlere, orijinal olup olmadıklarını hızlı bir şekilde tahmin etmek için rafine zeytinyağı ile karıştırılarak potansiyel olarak (RO) veya diğer bitkisel yağ (lar) ı içerir veya daha düşük kalitede olduğu gözlemlenmiştir. EVOO etiketli 88 ticari üründen örnek olarak alınmış belirtilen aralıklara göre, 33 numune (%37.5) saflık testini içeren otantik EVOO ürünleri için belirlenen üç yayınlanmış FT–NIR gereksinimini karşılamıştır. Bu test, üç potansiyel karışımın, linoleik asit (OHLNA) yüksek yağlar, oleik asit (OH–OLA) yüksek yağlar, palm olein (PO) ve / veya RO içeriği için belirlenen limitlere dayanmaktadır. Kalan 55 numune (%62.5), gerçek EVOO için belirlenen kriterlerden bir veya daha fazlasını karşılamamıştır. Değerlendirmeler kesinlikle yağ asidi bileşiminin Uluslararası Zeytin Konseyi (IOC) tarafından belirlenen sınırlar içinde olup olmadığına dayansaydı, %10'u EVOO olmayan olarak tanımlanacaktır. Bu bulgulardan, IOC tarafından akredite edilmiş iki duyuşal panelin sonuçlarına dayanarak daha önce yayınlanmış verilerle tutarlı olmadıkları için değil, daha da önemlisi her ölçüm / analiz 5 dakikadan daha kısa bir sürede gerçekleştirildiğinden önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Tiryaki ve diğerkleri (2017) tarafından çalışılmış olan bu makale; Sızma zeytinyağı, soğuk pres prosedürü veya termal ve kimyasal işlem yapılmadan santrifüj yoluyla üretilebilir olduğı ve zeytinyağı kategorisi altında en kaliteli yağ olarak kabul edilmiştir. Zeytinyağı, fenolik ve antioksidan içeriğı bakımından zengin olması ve çeşitli sağık sorunlarının önlenmesine katkısından dolayı üstün özellikleri, zeytinyağı talebini yıllar içinde artırmıştır. Sonuç olarak, günümüzde piyasadaki normal bitkisel yağlardan çok daha yüksek bir fiyata satıldığı bilinmektedir. Fakat , sızma zeytinyağı (EVOO) potansiyel yüksek ticari kar nedeniyle diğerk ucuz yağlarla sürekli karıştırılmaktadır. EVOO'da (kromatografik yöntemler ve PCR gibi) karıştırmayı saptamak için yöntemler mevcut olsa da, alternatif daha basit ve daha hızlı yöntemler araştırılmaktadır. Bu alışmada, EVOO'da soya fasulyesi yağı (SO) karışımını [ağırlıkça %25'e kadar (ağırlık/ağırlık) ölçmek için portatif Raman spektroskopisinin performansı değerkendirilmiştir. Kısmi En Küçük Kare Regresyon (PLS–R) kalibrasyon modelleri geliştirildi ve hem dahili olarak (apraz validasyon, bir defaya mahsus bırakma yaklaşımı kullanılarak) hem de harici olarak (bağımsız bir örnek seti kullanılarak) onaylanmıştır. Sonuç olarak çalışılan modelin uygulanabilir olduğı bildirimiştir.

Elzey ve diğerkleri (2016) tarafından yapılan bu çalışma doğal yağların son yıllarda gıda, kozmetik ve zirai kimyasal endüstrilerinde giderek daha fazla önem kazandığını açıklamıştır. Bununla birlikte, yüksek piyasa değerklerine sahip doğal yağlar, sahte ve ucuz, düşük kaliteli yağlarla, gıda ve kozmetik endüstrileri için ciddi ekonomik etkileri ve tüketiciler için potansiyel sağık etkileri ile taklit edilmiştir. Bu alışma, iki doğal yağın (neem yağı (NO) % bileşimlerinin hızlı, doğru ve düşük maliyetle belirlenmesi için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisinin (FTIR) ve kısmi en küçük kare (PLS) çok değerkşkenli regresyon analizinin ilk kombine kullanımını açıklamıştır. Katıştırılmış numunelerin elde edilen FTIR spektrum profili, büyük ölçüde doğal yağın türüne ve aynı zamanda katkılanan yağın türüne bağılı olduğı ve geliştirilen PLS modelleri daha sonra VO ve EVOO ile karıştırılmış bağımsız olarak hazırlanan NO ve FO doğrulama numunelerinin % bileşimlerini belirlemek için kullanılmıştır. PLS regresyonlarının skor grafikleri, örüntü tanıma için ilginç ve yararlı bilgiler ortaya koymuştur. Karıştırılmış NO ve FO örnekleri. PLS regresyon modelleri, %3.02 ve %4.24 saptamada düşük kök–ortalama–kare–nispi yüzde hataları (RMS% RE) ve %4.24 ile VO ile karıştırılmış NO ve FO bileşimlerini doğru bir şekilde belirlemiştir. Modeller

ayrıca %7.13 RMS %7.13 ve %2.00, %4.56 genel RMS RE ile EVOO ile karıştırılmış NO ve FO bileşimlerini doğru bir şekilde belirlemiştir. Bu çalışmada düşük maliyetli çalışmanın sadeliği ve yüksek doğruluğu, gıda, kozmetik ve zirai kimyasal endüstrilerindeki tüketici ürünleri için kalite kontrol ve kalite güvencesinde potansiyel gerçek dünya uygulamalarına sahip çekici bir model sunduğu sonucuna varılmıştır.

2.2.2.3. Floresans spektroskopisi tekniği

Floresans spektroskopisi moleküler düzeyde bir analitik teknik olup, eksitasyon-emisyon spektroskopisinde önceden belirlenmiş düzeylerdeki dalga boyu (5–10 nm) artırımları ile bir çok dalga boylarında spektrum olarak veriler elde edilmektedir. Madde üstüne iletilen elektromanyetik ışınma sayesinde uyarılan ve temel halde bulunan elektronların uyarılmış enerji seviyesine gelmesi fakat sonrasında uyarılmış olarak kalamadıkları için yine temel haldeki durumuna geldiğinde ortama ilettiği ışımının ölçülmesi esasına dayanan bir tekniktir. Moleküler floresans spektroskopisi tekniği, kullanılan molekülün floresans özelliğine bağlı olarak yüksek hassasiyete sahip analitik metotların geliştirilmesine imkân sunmaktadır. Kromatografik çalışmalarda örnek hazırlama, analizlerin uzun bir zaman gerektirmesi, analiz maliyetlerinin yüksek olması ve en önemlisi de uzman eleman eksikliği gibi sebeplerden kromatografik yöntemler dezavantajlara sahiptir. Floresans spektroskopisi yöntemleri ise hızlı, maliyetsiz, uzman analizciye gerek duymayan ve kromatografik yöntem sonuçları ile büyük ölçüde uyum içinde sonuç verebilmektedirler. Günümüzde tekniğin kemometrik veri analiz yaklaşımları ile birlikte kullanımı, yenilebilir yağların taşımasının tespitinde hızlı ve tahrip edici olmayan bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmeye başlanmıştır.

Ntakatsane ve diğerleri (2014) tarafından yapılan bu çalışmanın amacı, ön yüz floresan spektroskopisinin potansiyel olarak hızlı ve tahribatsız ayırmacılık tekniği yağ asit profillerine dayanarak hayvan ve bitki kaynaklı yağlar arasında ve floresan spektrumlarından yağ asitlerinin konsantrasyonunu tahmin etmektir. Tereyağı ve bitkisel yağ numunelerinin E vitamini emisyon spektrumları (300–500 nm), 295 nm'ye ayarlanan eksitasyon dalga boyu ile kaydedilip numunelerin yağ asidi bileşimi gaz kromatografisi ile belirlenmiştir. Gaz kromatografisi ve flüoresans spektroskopisi verilerine ana bileşen analizi ve kısmi en küçük kareler regresyon analizi uygulanmıştır. Tereyağı ve bitkisel yağlar, sırasıyla toplam doymuş ve doymamış yağ asitlerine göre ayırt edilip tokoferoller ve tokotrienoller, çeşitli yağlar arasındaki değişkenliği

açıklanmıştır. Doymuş yağ asitleri için $R^2=0.745-0.992$ ile iyi bir tahmin modeli oluşturulmuştur. Doymamış yağ asitleri düşük belirleme katsayıları ($R^2=0.339$) ile karakterize edilmiştir. Floresan spektrumlarından tahmin edilen yağ asidi profilleri referans olarak kullanılan gaz kromatografisi ile belirlenenler arasında anlamlı bir fark göstermemiştir. Sonuç olarak iki veri tablosu arasında iyi bir ilişki kurulduğu çalışmanın ön yüz floresan spektroskopisinin, hayvansal yağlar ve bitki kaynaklı yağlar arasında hızla ayırıcı özellikte olma ve tahmin etme potansiyelinin olduğu ve bunun da bitkisel yağ ile süt yağı karışımının saptanması için kullanılabilirliği bildirilmektedir.

Ge ve diğerleri (2014) tarafından sunulan bu çalışmada ceviz yağının ayçiçek yağı ile karıştırılması bir ceviz yağı endüstrisi için büyük bir problem oluşturduğu ve bu çalışmada, ceviz yağının ayçiçek yağından ayırmak için toplam senkron floresan (TSyF) spektrumlarının potansiyel kullanımı ve ceviz yağının karıştırılmasını değerlendirmek için çok değişkenli analiz ile birleştirilmiş senkron floresan spektrumları gösterilmiştir. TsyF spektrumları bölgedeki uyarma dalga boyu 250–700 nm ve bölgedeki dalga boyu aralığı ($\Delta\lambda$) 10 ila 100 nm arasında değiştirilerek elde edilmiştir. Ceviz yağı için TsyF kontur grafikleri, ayçiçek yağının aksine, 280 nm'den daha düşük uyarma dalga boyunda ekstra bir floresan bölgesi göstermiştir. Ceviz yağı ayçiçek yağı ile değişik seviyelerde (%0–100) karıştırılarak elli bir yağ karışımı hazırlanmış olup kısmi en küçük kareler regresyon modeli, 20, 40, 60 ve 80 nm dalga boyu aralıkları kullanılarak karıştırmanın nicelendirilmesi için kullanılmıştır. Sonuç olarak bu tekniğin, bir 80 nm dalga boyu aralığı kullanarak, sadece 2.5 dakikada %0.3 (v / v) seviyelerine kadar ceviz yağında ayçiçek yağının saptanması için yararlı olduğu bildirilmiştir.

Tan ve diğerleri (2017) tarafından sunulan çalışmada kullanılmış kızartma yağının (UFO) yenilebilir bitkisel yağdan (EVO) ayırt edilmesi, UFO kullanım süresinin tahmini ve EVO'nun UFO ile karıştırılmasının belirlenmesi için senkron ön yüz floresan spektroskopisi geliştirilmiştir. Hem UFO tarafından hazırlanan laboratuvarın ısıtma süresi hem de EVO'nun UFO ile karıştırılması, kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS–R) ile belirlenebilir olduğu açıklanmıştır. UFO ile EVO karıştırmayı simüle etmek için, her bir yağ türü için, %1–50 oranında karıştırıcı miktarlar hazırlanıp, daha sonra modeli oluşturmak için PLS–R benimsendi ve öngörme yeteneğini değerlendirmek için hem tam (bir defalık dışarı) çapraz doğrulama hem de harici doğrulama gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak optimum koşul altında, gözlenen ve

öngörülen değerlerin grafikleri yüksek doğrusallık göstermiştir ($R^2 > 0.9600$). Kök ortalama kare çapraz doğrulama hatası (RMSECV) ve kök ortalama kare tahmini hatası (RMSEP)% 3'ten düşük olduğu rapor edilmiştir.

2.2.3. Tağşişin tespiti için kullanılan kromatografik yöntemler

Kromatografi; bir karışımı meydana getiren bileşenlerin hareket eden faz sayesinde sabit haldeki faz yoluyla, fiziksel ve kimyasal durumlarındaki değişkenlerden faydalanılarak farklı zamanlarda ilerlemeleri ilkesine göre işleyen dayanan; etkili bir ayırma ve saflaştırma tekniğidir (Skoog ve diğerleri, 2018). Kromatografi; günümüzde birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılan etkili ve seçiciliği yüksek bir yöntem olup, yenilebilir yağlarda tağşiş için geliştirilen çok sayıda uygulaması bulunmaktadır (Gezici, 2010).

Montesinos–Herrero ve diğerleri (2006) yasal düzenlemelere uygun olmamasına karşın yoğurt üretiminde değişik gerekçeler ile taklit veya tağşişler yapılabileceğini belirterek, yoğurtta yapılan taklit ve tağşişin en önemli gerekçesi üretim maliyetini aşağıya çekmek olduğunu belirtmişlerdir. Yoğurtta başvurulmuş başlıca hileler şöyle sıralanmışlardır; miktarını ve kıvamını arttırmak için nişasta gibi stabilizörlerin eklenmesi, süt yağı yerine bitkisel yağ eklenmesi, soya proteini gibi bitkisel kaynaklı proteinlerin eklenmesi ve yasal olmayan koruyucuların kullanılması. Maliyeti düşürmek, kıvamı arttırmak ve serum ayrılmasını engellemek gibi amaçlarla değişik kaynaklardan sağlanan polisakkarit, protein ve yağlar kullanılabilir. Protein kaynağı olarak soya proteini, gluten, bezelye proteini, patates proteini, pamuk tohumu proteini gibi bitkisel proteinler öne çıkmaktadır. Süt yağı yerine daha çok ayçiçeği yağı, pamuk yağı, palm yağı, soya yağı, kolza yağı, Hindistan cevizi yağı veya bunların çeşitli kombinasyonları kullanılmaktadır. Üretimde erime noktası 30–37°C olan yağlar tercih edilmektedir.

Okay (2004) tarafından yapılan bir araştırmada Hatay'da faaliyet gösteren 21 farklı zeytinyağı işletmesinden 2002 yılında temin edilen naturel zeytinyağlarının kalite kriterleri (serbest yağ asitliği, peroksit şerhleri, ultraviyolede özgül absorbans, trilinolein değerleri) ölçülmüş ve elde edilen değerlerin TSE (Türk Standartları Enstitüsü) ve UZK (Uluslararası Zeytinyağı Konseyi) kriterlerine uygunluğu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda toplanan naturel zeytinyağlarının; %81'inin serbest yağ asitliği, %90'ının peroksit sayıları, %100'ünün 232 nm'de özgül absorbans değeri,

%14'ünün 270 nm'de özgül absorbans değeri ve %100'ünün ΔK değerleri TSE'de belirtilen standartlara; %100'ünün LLL değeri UZK'nın belirlemiş olduğu standartlara uygun bulunmuştur.

Gültekin (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, Türk natürel zeytinyağlarının trigliserid yapılarının belirlenmesi amacıyla Türkiye'de zeytin yetişen tüm bölgelerden toplanan 1995–96 ve 1996–97 ürünü natürel zeytinyağlarının trigliserid analizi yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) metodu ile yapılmıştır. Ayrıca, zeytinyağına belirli oranlarda karıştırılan ayçiçeği yağının belirlenmesi için bitkisel yağların trigliserid bileşimlerinin farklılığından yararlanmıştır.

Gürdeniz (2008) doğal sızma zeytinyağlarının üretildiği zeytinin çeşidine, üretildiği alanın özelliklerine ve alım zamanına bakılarak gruplandırılması ile birlikte bu yağlarda hilenin nasıl yapıldığı ve farklı yağlardan hangi miktarlarda katıldığı açısından incelenmesini amaçlayan bir çalışma yürütmüştür.

2.3. Çok Değişkenli Kemometrik Analiz Yöntemleri

Kemometri, genel olarak istatistik, matematik ve bunların yanında bilgisayardan yararlanılarak kimyasal bilgilerin analizini içeren bir kimya dalıdır. Kemometrinin amacı, yapılan analizlerin incelenerek, kimyasal verilerden doğru verilerin ekstraksiyonunu ya da gizli bilgilerin bulunmasını sağlayan önemli bir yöntemdir. Kemometrinin başlıca kullanıma sahalarının başında analitik kimya gelir. Başlıca kullanım alanları; analitik kimya, adli tıp, biyoloji, gıda kimyası, çevre kimyası ve arkeoloji dallar olarak sınıflandırılmaktadır. Fizikokimya ve madde bilimi ile uğraşanlar, sinyal işleme ve çok değişkenli veri analizlerinde kemometrik yöntemleri kullandıkları bilinmektedir. Organik kimyacılar ve farmasotik kimyacılar, reaksiyon koşullarının optimizasyonunda deneysel tasarım ve ilaç tasarımında yapı etki ilişkisi araştırmalarında kemometri yöntemlerinden yararlanmaktadırlar (Vandeginste ve diğerleri, 1998). İki ya da daha çok sayıda aktif bileşiği bulunduran karışımlarda çalışır bileşiklerin hiçbir ayırma işlemine uğramadan analiz edilmesi analitik kimyanın ve diğer komşu dalların temel sorunlarından biridir. Karışımı oluşturan numune analizlerinde farklı kromatografik ve spektrofotometrik tekniklerin çokça tercih edildiği araştırmalar da bulunmaktadır. Farklı koşullarda belirtilen bu yöntemlerin de istenildiği ölçüde yararlı olmadığı bilinmektedir. Sunulan tüm bu görüşler dikkate alınarak düşük pranlarda numune analizlerinin yapılması için gelişmiş analitik cihazların üretilmesine karşın klasik analitik cihazlardan alınan verilerin farklı matematiksel algoritmalarla incelenerek yöntemlerin kullanılabilirliği ve sonuçların güvenilirlik oranlarının yükseltilmeye çalışılmaktadır.

Bu kemometrik yöntemlerin tercih edilmesinde, kimya ve analitik kimyada kompleks numune analizlerinde daha seri, doğruluğu yüksek, kesin ve de güvenilir sonuçlar elde etmek için serbest ve farklı cevaplar üretme olanağı. Çalışılan bilimsel araştırmaların sonucu sunulan makalelerde görüldüğü gibi son 15 yılda analitik problemlerin çözümü için gelişmiş analitik cihazlardan alınan çok değişkenli ve çok boyutlu ölçüm verilerinin analizi için kemometrik yöntemlerin öncü kullanıcıları analitik kimyacılar.

Sunulan tez çalışmasında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar gereği,

- veri ön işleme yöntemleri
- kemometrik gözetimsiz (unsupervised) örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri

- ✓ Temel bileşen analizi (principle component analysis, **PCA**)
- ✓ Hiyerarşik küme analizi (hierarchical cluster analysis, **HCA**)
- kemometrik gözetimli (supervised) örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri
 - ✓ Doğrusal ayırmacı analizi (linear discriminant analysis, **LDA**)
 - ✓ Sınıf analogilerinin yumuşak bağımsız modellenmesi (soft independent modeling of class analogies, **SIMCA**)
- kemometrik kalibrasyon yöntemleri
 - ✓ Kısmi en küçük kareler-regresyon analizi (partial least squares-regression analysis, **PLS-R**) hakkında kısaca bilgi verilmeye çalışılmıştır.

2.3.1. Spektral verilerin ön işleme yöntemleri

Çok değişkenli kemometrik analiz öncesinde ilk aşama veri ön işleme basamağıdır. Veri ön işleme işlemi ile; spektral veriler arasındaki farklılığı artırarak yansıma spektrumları üzerine iyileştirmeler yapılabilir. Böylece spektral veriler ve sınıflandırma/konsantrasyon değerleri arasında iyi bir korelasyon sağlanabilmektedir. *Savitzky-Golay (Smoothing-SG), area normalization, standard normal variate, linear offset subtraction, straight line subtraction, vector normalization, min-max normalization, multiplicative scatter correction, first derivative ve second derivative* gibi farklı metotlar uygulanarak veri ön işleme uygulaması yapılabilir. Bu yöntemlerden genel olarak önerilebilecek bir yöntem bulunmamaktadır. Spektral verilere uygulanan birkaç farklı ön işlem arasında karşılaştırma yaparak en iyi sonucu elde edildiği yöntemi uygulamak gerekmektedir (Kavakçığlu, 2011).

2.3.2. Kemometrik gözetimsiz örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri

2.3.2.1. Temel bileşen analizi (principle component analysis, PCA)

İstatistik yöntemi olan PCA; veri tanımlanmasını, sınıflandırmasını, görüntü sıkıştırma alanlarında kullanılan bir değişkenler setinin varyans-kovaryans yapısının aydınlatılmasını ve bu değişkenlerin doğrusal birleşimlerini açıklayarak boyut indirgenmesini ve yorumlanmasına fırsat vermektedir. Ancak bunun yanında çoklu lineer regresyonu temel alan tekniklerin olumsuz yanı, karışım içerisinde bulunan bütün önemli bileşenlerin biliniyor olmasına onay vermeleridir. Bu onay doğru ise, geçerli

sonuçlar alınabilir. Bu teknikler, elde edilemeyen ve girişim yapıcı bileşenlerin bulunduğu karışımlarda kullanıldığında, önemli öngörü sorunlarını barındırabilirler. Temel bileşenler analizini uygulayan yöntemler karışımda bulunan bütün bileşik spektrumlarını ya da derişimleri konusunda derinlemesine bilgilere gerek görölmemesine karşın, bir karışımı meydana getiren temel bileşenlerin sayısını hassas olarak yorumlamak, hataları en aza indirmede önemlidir.

Anderson ve diğerkleri (2017) tarafından yapılan bu alışma; Temel bileşen analizinin (PCA), büyük, ilişkili veri kümelerini analiz etmek için kemometrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan istatistiksel bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. ¹H NMR spektral verilerinin PCA'sını içeren bir lisans laboratuvarı deneyi tarif edilmektedir. Öğrenciler bilinmeyen bir yağ örneğinin NMR spektrumlarını toplar, altı yağ standardının spektrumları (kanola, mısır, zeytin, yer fıstığı, susam ve ayçiçeği yağı) ile sağlanır ve PCA sonuçlarına dayanarak bilinmeyen yağı kullanarak puanları belirlemeleri istenmiştir. Öğrencilere verilen bu deneyin sonucunda, NMR spektrumlarını toplama, NMR spektral işleme gerçekleştirme ve verileri PCA'ya tabi tutmak ve sonraki puanlama grafiklerini hazırlamak için serbestçe kullanılabilir, web tabanlı yazılım kullanma konusunda uygulamalı deneyim sağladığı rapor edilmiştir.

Ayrıca PCA yönteminin; veri içindeki en güçlü örüntüyü bulma, seçilen küçük bir boyut setiyle verinin sahip olduğu eşitliliğın yakalanabilir olması nedeniyle veri seti üzerinde rahat şekilde çalışabilir olma, veri madenciliğinde ve diğerk veri analiz algoritmalarında değerli bir yöntem olma gibi önemli karakteristik özellikleri bulunmaktadır (Bağçeci, 2015).

2.3.2.2. Hiyerarşik küme analizi (hierarchical cluster analysis, HCA)

Hiyerarşik küme analizi (hierarchical cluster analysis, HCA); gruplandırma olarak daha yapılmamış ve grup sayısı belli olmadığından bütün verinin, benzerliklerine göre sınıflandırılması yoluyla uygulanan gözetimsiz örüntü tanımlama/ sınıflandırma tekniğidir. Yöntemin yararı değişkenlere göre örneklerin benzerlik göstermeleri ya da verilerin birimlere ayrıık kümelerde toplanmasını sağlamış olmasıdır. Bu yöntemin; benzerlik gösteren değişkenlerin aynı gruplarda bir araya gelmesini amaçlaması ve benzerlikleri olan örneklerin aynı grup içinde toplanmasını amaç edinmesi sebebiyle veri indirgeme özelliği bulunmaktadır. Çok değişkenli farklı kemometrik analiz

tekniklerinde, verilerin normalliği varsayımı önem arz ederken, bu yöntemde verilerin uzaklık göstergelerinin normalliği baz alınarak analizler yapılmıştır. Yani HCA yönteminde, iki gözlemin veya iki değişkenin benzerlik (yakınlık) ya da farklılık (uzaklık) değerleri incelenerek bulgular yorumlanmaktadır (Tatlıdil, 1992; Çakmaklı, 1995; Atamer, 1992). Örnekler içinde farklılık ölçütü için birçok teknik olmakla birlikte, Öklit uzaklığı ve Mahalanobis uzaklığı metotları genelde tercih edilen yöntemler olarak görülmektedir. Bu yöntemlerin olumlu ve olumsuz yanları bulunmaktadır, örneğin Mahalanobis yönteminin uygulanması işlenen verilerdeki değişken miktarının kullanılan bütün örnek miktarını geçmemesini amaçlamaktadır. Bu sebeple yararlanılan uzaklık ölçütü yönteminin tercih edilmesi, işlenecek veri setine ve bundan alınmış olan verinin çeşidine bağlıdır. HCA analizinde uzaklık hesapları yapılması sonrasında gereken bir kümeleme algoritmasının seçimidir ve bu basamakta genelde kullanılan yöntem Ward kümeleme metodudur.

Hiyerarşik küme analizi; kontrolü zor olan büyük çaptaki verilerin indirgenmesi, olması gereken grupların tespiti, modellemelerin belirlenmesi, analiz edilen gruplara bakılarak tahminlerin yapılması, hipotez testi, veri incelemelerinin yapılması, hipotez basamağı gibi farklı amaçlara dayalı olarak kullanılmaktadır (Ball, 1970; Everitt, 1993).

2.3.3. Kemometrik gözetimli örüntü tanıma/sınıflandırma yöntemleri

2.3.3.1. Doğrusal diskriminant analiz (linear discriminant analysis, LDA)

Doğrusal diskriminant analiz (linear discriminant analysis, LDA) 1930'lerden bu yana kullanılan ve farklı bilim alanlarında genelde tercih edilen çok değişkenli istatistik yöntemlerdendir. LDA tekniği 2 ana amaç için tercih edilmektedir; (i) ayırma analizleri (*tanımlayıcı diskriminant analiz, descriptive discriminant analysis*) ve (ii) sınıflandırma analizleri (*ayırıcı diskriminant analiz, predictive discriminant analysis*) (Özdamar, 1999; Öz, 2005). Doğrusal çok değişkenli LDA ile yapılan bir model, başarılı ve başarısız gruplar arasında en iyi ayırıcılığı gösteren değişkenlerin doğrusal bir bileşimi şeklinde açıklanmaktadır. Gruplandırma amacı ile yapılan çok değişkenli LDA modellemelerinin amacını, diskriminant analizine göre gruplardan birine gönderilmesi oluşturmaktadır (Torun, 2007).

Diskriminant analiz tekniğinde; *örneklem büyüklüğü*, *normal dağılım*, *varyans–kovaryans matrislerinin homejenliği*, *uç değerler* ve *çoklu doğrusal bağlantı* gibi temel özellikler esas alınmaktadır.

- *Örneklem büyüklüğü*; Analiz edilen grupların örneklem büyüklüklerinin (n sayılarının) aynı olması amaçlanmaktadır. En küçük grupta bulunan birey ya da birim sayısının, bağımsız değişken sayısından yüksek olması gereklidir.
- *Normal dağılım*; Nicel değişkenlerin yani bağımsız değişkenlerin çok değişkenli normal dağılım ifade etmesi gerekmektedir.
- *Varyans–kovaryans matrislerinin homejenliği*; Grup ayrılma matrisleri veya varyanskovaryans matrislerinin eşit olması gerekmektedir.
- *Uç değerler*; Herbir grupta tek yönlü ve çok yönlü uç olan sayıların taranması ve bunların öncelikle dönüştürülmesi ya da ortaya çıkartılması gerekmektedir.
- *Çoklu doğrusal bağlantı*; Bağımsız değişkenler arasında çoklu doğrusal bağlantı probleminin bulunmaması gerekir (Çokluk ve diğerleri, 2010).

2.3.3.2. Sınıf analogilerinin yumuşak bağımsız modellenmesi (soft independent modeling of class analogies, SIMCA)

Sınıf analogilerinin yumuşak bağımsız modellenmesi (soft independent modeling of class analogies, SIMCA); F–oranı sayesinde kimliği saklı bir numunenin belirli bir kalite grubuna alınıp alınmayacağına karar verilmesinde kullanılan önemli bir kalitatif veri analiz yöntemidir. İlk defa Svante Wold tarafından 1970 yılının başlarında uygulanan yöntemde, değişkenlerin dağılımı ile ilgili bir hipotez yapılmadığı görülmüş olup sınıfların birer birer modellendiği için bağımsız olduğu, yani her sınıf modelinin bağımsız olarak geliştirildiği fikri ortaya çıkmıştır (Sun, 2009).

SIMCA modelleri, her bir PCA da gerçekleştirilebilmektedir. Bir ana bileşen, veri kümesindeki her bir sınıfı temsil etmek için model olarak kullanılmaktadır. SIMCA analizlerinde belirli bir sınıf oluşturularak, bir grubun aynı gözlemler sonucu oluşturulup oluşturulmadığı veya bir gözlemin belirli bir gruba ait olup olmadığının incelenmesinde tercih edilmektedir. Her bir sınıf için tutulan ana bileşenlerin sayısı farklılık göstermektedir. SIMCA’da bileşen modelleri her bir sınıf için ayrı olarak geliştirilir ve ana bileşen modellerinden her bir nesnenin geometrik mesafesi olarak

hesaplanabilen kritik mesafeler içinde bulunacak şekilde bilgi verilmektedir. Sınıflar için modellemeyi takiben, her bir örnek her modele ve sınıflandırmalarına karşılık gelecek şekilde sınıf ile örnek elde edilmektedir. SIMCA sonuçları grafiksel olabilecek şekilde görselleştirilebilmekte ve "*Coomans grafikleri*" elde edilmektedir. SIMCA'da meydana getirilen sınıfa özel belirli bir tolerans alanı ya da F değeri alınmaktadır. Araştırılacak gözlem belirli istatistiksel testlerden geçirilerek alınan tolerans noktasına olan uzaklığını bulmakta ya da F değeri bulunabilmektedir. İncelenen tolerans bölgesi için aldığı pozisyona ya da F değerinden yararlanılarak, incelenen gözlemin çalışılan gruba mensup olup olmadığı bilgisine ulaşılabilmektedir (Brereton, 2003; Berrueta ve diğerleri, 2007).

Li ve diğerleri (2015) tarafından sunulan çalışmada; Yumuşak bağımsız modelleme ile birleştirilmiş Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) ve floresan spektroskopisi ceviz yağının gerçekliğini ve ceviz yağındaki soya fasulyesi yağının karışım oranını belirlemek için sınıf analogileri (SIMCA) ve kısmi en küçük kare (PLS) kullanılmıştır. FTIR spektrumlarının SIMCA modelinin, ceviz yağı ve diğer yağları ayrı kategorilere ayırabildiği, ceviz yağı içindeki soya fasulyesi yağının sınıflandırma limiti% 10 olduğu bildirilmiştir. Flüoresan spektroskopisi, çok değişkenli analizler olmadan yağ kompozisyonunu pik pozisyonu ve emisyon spektrumunun yoğunluğu ile ayırt edebilmiştir. Ceviz yağında flüoresan spektroskopisi ile karıştırılan soya fasulyesi yağının sınıflandırma limitinin %5'in altında olduğu tahmin modelinin floresan spektrumları için sapması FTIR spektrumlarına göre daha düşük olduğu açıklanmıştır. Floresan spektroskopisi, hem belirleme limiti hem de tahmin sapmasından, ceviz yağının karışım tespitinde FTIR'dan daha uygulanabilir olduğu rapor edilmiştir.

2.3.4. Kemometrik kalibrasyon yöntemleri

Kemometrik kalibrasyon yöntemleri ikiye ayrılır.

- 1- Tek değişkenli kalibrasyon iki değişken bağlı bulunduğu ilişkiyi barındırır. Bu kalibrasyon lineer regresyon adını da almaktadır. Bu kalibrasyon, tek bir spektroskopik dalga boyundaki absorbanstan yararlanarak bir bileşiğin derişiminin analizinde kullanılır. Matematiksel verilere dayanarak, derişimler ile absorbanlar için, aşağıdaki gibi bir eşitlik oluşturulabilir.

$$X=C.S \quad (2.1)$$

Yazılan eşitlikte X örneklerin tek bir dalga boyundaki absorbanslarından meydana gelen bir vektörü, C ise örneklerin derişimlerinden elde edilen vektörü simgelemektedir. Her iki vektörün de uzunluğu, I, örneklerin sayısına eşittir. S skaları ise, bu iki parametre arasındaki ilişkiyi gösterir.

2- İkinci kalibrasyon yöntemi olan çok değişkenli kalibrasyon veya çoklu lineer regresyonda (MLR) denilmektedir. MLR birden çok absorbans ile çalışıldığında uygulanır. Böyle olmasının iki önemli nedeni bulunur. Bunlardan ilki, bir karışımda herhangi bir bileşenden daha çok bileşen görülebilir. Böyle olduğu anlarda, bir absorbans değerinden daha fazlası uygulanmalıdır. İkincisi, her dalga boyundaki absorbans ilave ve genelde tamamlayıcı bilgi barındırır. Ayrıca, bir spektrumdaki bazı dalga boyları gürültü veya bilinmeyen, girişim yapıcı maddeler tarafından etkilenebilir.

Kalibrasyon eşitlikleri aşağıdaki şekilde bulunabilir. X veri matrisi ile C derişim ve S spektral matrisleri arasında aşağıdaki ilişki yazılabilir (Güven, 2011).

$$X=C.S \quad (2.2)$$

Çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinin, tek değişkenli kalibrasyona göre pekçok avantajları bulunmaktadır. Bir numunenin kalibrasyonunda tek değişkenli yöntem ile her bileşen için bir ölçüm yapılabilirken, çoklu değişken kalibrasyon ile eş zamanlı analizleri mümkündür. Yani, zaman bakımından çok değişkenli kalibrasyon yönteminde daha az süre harcanmaktadır. Çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinde bir ölçümün tekrarlanması ve ortalamanın hesaplanması ile tahminler kesinleştirilebilir. Bu durum, ortalamanın standart kanıtındaki azalmanın sonucunu ortaya çıkartmaktadır ve sinyal ortalaması olarak tanımlanmaktadır (Beebe ve diğerleri, 1998). Çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinde, hata tespit yeteneği bulunmakta ve bu durum analiz edilen numunede bilinmeyen girişimlerin çok değişkenli kalibrasyon ile yok edilebileceği anlamına gelmektedir. Tek değişkenli kalibrasyon yöntemlerinde ise, girişim yapan türlerin varlığı analit konsantrasyonunun yanlış tahminine sebep olabilmektedir. Girişim yapan türlerin etkisini yok etmek için fiziksel olarak analitin matriksten ayrılmış olması veya seçici ölçümler kullanılması gerekmektedir. Çok değişkenli kalibrasyon yöntemi uygulanarak daha fazla değişken seçmek suretiyle istenilen düzeyde kalibrasyon grafik eğrisi elde etme şansı artmakta ve girişimlerden kaynaklanan doğrusal olmayan türlerin etkisi azaltılabilmektedir (Öztürk, 2003).

Aşağıdaki bazı kemometrik kalibrasyon yöntemleri analitik kimyacılar tarafından sıklıkla uygulanan yöntemler haline gelmiştir.

- classical least squares (CLS)
- principal component regression (PCR)
- partial least squares regression (PLS–R)
- artifial neural network (ANN)
- bivariate kalibrasyon (BC)
- multilinear regression kalibrasyon (MLRC)

2.3.4.1. Kısmi en küçük kareler–regresyon analizi (partial least squares–regression analysis, PLS–R)

Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinden en çok tercih edilen ve kullanılan PLS tekniğidir. PLS tekniğinde kalibrasyonun oluşturulmasında yararlanılan PLS algoritmalarına dayanarak, ortogonalize yapılmış PLS algoritması (orthogonalized PLS algorithm) ve ortogonalize yapılmamış PLS algoritması (non–ortogonalized PLS algorithm) şeklinde ekileri mevcuttur. Ortogonalize PLS ve ortogonalize olmayan PLS kalibrasyonunun PLS1 ve PLS2 gibi iki şekli bulunmaktadır. PLS1 de bir bileşik model içinde iken; PLS2 de tüm bileşikler model içine alınmaktadır.

Yöntemin sağladığı avantajları

- i) PLS kalibrasyon işlemi CLS ve ILS hesap yöntemlerini içermektedir.
- ii) Tek aşamalı bir dekompozisyon ve regresyon işlemi yeterlidir, kalibrasyonda tercih edilen öz vektörler işlenen bileşenler ile en geniş ortak spektral değişimin görüldüğü alanda doğrudan ilişki gösterir.
- iii) Kalibrasyonlar çoğunlukla kalibrasyon setinde saklı olan numunelerden istenen farklı derişimler iletmesi daha çok güvenilirlik gösterecektir.
- iv) Sadece işlenecek bileşenlerin biliniyor olması koşuluyla kompleks karışımlar için yararlanılabilir.
- v) Belirli durumlarda saf kalibrasyon karışımlarında görülen ama numune içinde bulunmayan bileşenli numuneler için miktar analizinde kullanılabilir.
- vi) Bu yöntemlerin tümü spektral kantitatif analiz için kullanılırken literatürdeki nedenler genellikle PLS’ nin öngörü kapasitesinin ileri seviyede bulunduğunu

göstermektedir. Çoğu durumda PLS yöntemleri PCR' ye oranla daha iyi sonuçlar gösterir.

Yöntemin dezavantajları;

i) PLS hesaplamaları klasik metotlardan daha yavaştır.

ii) PLS modellerinin anlaşılması ve yorumlanması zor olup son derece soyuttur.

i) genellikle çok sayıda numune için doğru bir kalibrasyon gereklidir.

ii) kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Dinç, 2007).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Analiz Sistemleri

Analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler, standartlar ve çözücüler kromatografik veya analitik saflıkta olup, Merck, Fluka, Sigma–Aldrich, Supelco ve LabScan firmalarından temin edilmiştir (Çizelge 3.1 ve 3.2). Kullanılan çözücüler başka bir saflaştırma işlemine gerek duyulmadan direk kullanılmıştır.

Çizelge 3. 1: Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler

¹H–NMR spektroskopisi analizleri

- kloroform–*d*, CDCl₃

Yağ asit kompozisyonu tayini

- Hekzan
- Potasyum hidroksit
- Metanol
- Sodyum sülfat

Çizelge 3. 2: Yağ asit kompozisyon tayininde kullanılan standart maddeler

<u>Yağ Asit Standart Maddeleri</u>	
cis–13,16–Docosadienoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl linoleate 2 wt. %
cis–4,7,10,13,16,19–Docosahexaenoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl linolelaidate 2 wt. %
cis–11,14–Eicosadienoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl linolenate 2 wt. %
cis–5,8,11,14,17–Eicosapentaenoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl γ–linolenate 2 wt. %
cis–8,11,14–Eicosatrienoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl myristate 4 wt. %
cis–11,14,17–Eicosatrienoic acid methyl ester 2 wt. %	Methyl myristoleate 2 wt. %
Methyl arachidate 4 wt. %	Methyl octanoate 4 wt. %
Methyl arachidonate 2 wt. %	Methyl oleate 4 wt. %
Methyl behenate 4 wt. %	Methyl palmitate 6 wt. %
Methyl butyrate 4 wt. %	Methyl palmitoleate 2 wt. %
Methyl decanoate 4 wt. %	Methyl pentadecanoate 2 wt. %
Methyl cis–13–docosenoate 2 wt. %	Methyl cis–10–pentadecenoate 2 wt. %
Methyl dodecanoate 4 wt. %	Methyl stearate 4 wt. %
Methyl cis–11–eicosenoate 2 wt. %	Methyl tetracosanoate 4 wt. %
Methyl elaidate 2 wt. %	Methyl cis–15–tetracosenoate 2 wt. %
Methyl heneicosanoate 2 wt. %	Methyl tricosanoate 2 wt. %
Methyl heptadecanoate 2 wt. %	Methyl tridecanoate 2 wt. %
Methyl cis–10–heptadecenoate 2 wt. %	Methyl undecanoate 2 wt. %
Methyl hexanoate 4 wt. %	

Gaz kromatografi (GC) sistemi ile gerçekleştirilen tayinlerde HP–88 kapiler kolon (100 m×0.25 mm×0.20 µm, 88% Cyanopropyl–polysiloxane) kullanılmıştır. Yağ asit kompozisyonu tayinleri gaz kromatografi–kütle spektroskopisi–alev iyonlaşma dedektör

sisteminde (GC–MS–FID), spektroskopi analizleri ise Magritek Spinsolve Benchtop 60 MHz spektrometre sisteminde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3. 3).

Çizelge 3. 3: Kullanılan analiz sistemleri ve modelleri

Cihaz	Marka
▪ GC–MS–FID analiz sistemi [HP–88 kapiler kolon (100 m×0.25 mm×0.20 µm, 88% Cyanopropyl-aryl-polysiloxane)]	Agilent 7890 Series A–GC / 5975 C –MSD
▪ Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi	Magritek Spinsolve Benchtop 60 MHz spektrometre

Sunulan tez çalışması ile; *Nigella sativa* L. tohumlarından herhangi bir ısıl işlem ya da kimyasal madde uygulamasına maruz kalmadan üretilen ve biyoaktif bileşenler bakımından oldukça zengin olduğu bilinen soğuk pres çörek otu yağlarına katıştırılan ucuz rafine yağların, tür ve miktarını belirlemeye yönelik kemometrik veri analiz yaklaşımına dayalı nükleer manyetik rezonans (NMR) yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar 3 temel aşamada yürütülmüştür;

I. aşama; Çörek otu ve rafine yağ örneklerinin, çörek otu taşımasına yönelik yağ karışımlarının hazırlanması

II. aşama; NMR spektroskopi ve kromatografi analizleri

III. aşama; Kemometrik Yöntemlere Dayalı Veri Analizleri/ Çok Değişkenli Kemometrik Modellerin Geliştirilmesi

3.2. Yağ Örneklerinin ve Karışımlarının Hazırlanması

NMR ve kromatografi analizleri için kullanılan yağ örneklerinin tümü marketler ve satış ofislerinden ücret karşılığında temin edilmiştir. Çörek otu yağlarının bazı örnekleri ise saflığından emin olmak adına, özel olarak tez çalışması için üretilmiştir. Temin edilen yağ numuneleri, 0.45 µm PTFE membran filtrelerden geçirilerek içerisindeki tortu ve bulanık görüntüye sebep olan tüm safsızlık maddelerinden arındırılmış olarak serin (+4°C) ve ışık ile temas etmeyen bir alanda muhafaza edilmiştir.

Çalışmanın ilk bölümünde; NMR spektroskopi ile gerçekleştirilen kalitatif (sınıflandırma/tağşişte kullanılan yağ türünü belirleme) ve kantitatif (tağşişte kullanılan yağ miktarını belirleme) analizler için yağ örnekleri hazırlanmıştır (Çizelge 3.4).

➤ **Kalitatif yani sınıflandırmada / tağşişte kullanılan yağ türünü belirleme analizleri için;** 8 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu (BCSO) ve farklı firmalara ait 5'er yada 6'şar adet rafine yağ numunesi [*ayçiçeği yağı (SFO)*, *pamuk yağı (CSO)*, *fındık yağı (HNO)*, *sızma zeytinyağı (OO)* ve *soya yağı SBO*]] ile 34 adet saf yağ örneği kullanılmıştır. NMR spektroskopi analizlerinden elde edilen verilere ön işlemlerin uygulanmasının ardından; temel bileşen analiz (principal component analysis, PCA), kısmi bağımsız benzeşim analiz (soft independent modelling of class analogies, SIMCA), hiyerarşik kümeleme analiz (hierarchical cluster analysis, HCA) ve lineer diskriminant analiz (linear discriminant analysis, LDA) modelleri oluşturulmuştur. Elde edilen farklı modellerde, NMR tekniğinin çok değişkenli veri analiz yöntemleri ile birlikte kullanımı ile belirtilen saf yağ türlerinin sınıflandırılmasındaki etkinliği değerlendirmiştir.

➤ **Kantitatif yani tağşişte kullanılan yağ miktarını belirleme analizleri için;** seçilen 4 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu yağı (BCSO) ve model olarak seçilen 2'şer farklı firmaya ait rafine ayçiçeği (SFO) ve pamuk yağı (CSO) numuneleri kullanılarak yağ karışımları hazırlanmıştır (Çizelge 3.4). Soğuk pres çörek otu yağına ilave edilen rafine yağ oranının, 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% ve 50% (hacim/hacim, v/v) şeklinde olacağı toplam 144 adet yağ karışım numunesi hazırlanmıştır. Saf yağ örnekleri ve karışımların hazırlanmasında özel kapaklı 25 mL hacimde kahverengi numune şişeleri kullanılmıştır. Bu karışımlardan rastgele seçilen 108 adet yağ karışım numunesi ve karışım hazırlamada kullanılan 4 farklı

firmaya ait saf çörek otu yağı numunesi “kalibrasyon seti numunesi” (toplam karışımın dörtte üçü); kalan 36 adet yağ karışım numunesi ise (toplam karışımın dörtte biri) “kalibrasyon modelini doğrulama seti/ validasyon seti numunesi” olarak tanımlanmıştır.

Hazırlanan karışımlara NMR spektroskopi analizlerinin tamamlanmasının ardından, elde edilen verilere çok değişkenli veri analizleri uygulanarak kısmi en küçük kareler regresyon (partial least squares regression, PLS-R) çok değişkenli kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur. Böylece NMR tekniğinin çok değişkenli veri analiz yöntemleri ile birlikte kullanımı ile soğuk pres çörek otu yağına katıştırılan düşük maliyetli rafine pamuk ve ayçiçeği yağlarının miktarını (kantitatif) belirlemeye yönelik değerlendirmeler yapılabilmektedir.

Yağ örneklerinin hazırlanmasının ardından, ikinci bölümünde GC-MS-FID analiz sistemi ile gerçekleştirilen yağ asit kompozisyon tayinleri için, hazırlanan saf yağ örneklerinin yağ asit metil ester (FAME) türev numuneleri hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 4: Yağ örneklerinin hazırlanmasında uygulanan tasarım

Saf yağlar ve soğuk pres çörek otu yağı (BCSO) örneklerinin rafine ayçiçek yağı (SFO) ve rafine pamuk yağı (CSO) ile tağışı için hazırlanan karışımlar		
Set	BCSO	rafine SFO ve CSO ile hazırlanan yağ karışımları
1	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 0% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
2	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 1% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
3	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 2% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
4	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 5% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
5	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 10% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
6	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 20% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
7	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 30% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
8	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 40% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
9	BCSO-1, BCSO-2, BCSO-3, BCSO-4	Belirtilen BCSO yağ örnekleri ile rafine SFO-1 ve SFO-2 veya rafine CSO-1 ve CSO-2 miktarı 50% oranında olacak şekilde, karışım yağ örnekleri hazırlanmıştır.
Saf yağların sınıflandırılması için kullanılan yağ örnekleri		
10	34 saf yağ örneği	8 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu yağı, BCSO, (BCSO- 1'den BCSO-8'e kadar); 5 farklı firmaya ait rafine ayçiçek yağı, SFO, (SFO- 1'den SFO-5'e kadar); 5 farklı firmaya ait rafine soya yağı, SBO, (SBO- 1'den SBO-5'e kadar) ; 6 farklı firmaya ait rafine fındık yağı, HNO, (HNO- 1'den HNO-6'ya kadar); 5 farklı firmaya ait rafine pamuk yağı, CSO, (CSO-1'den CSO-5'e kadar) ; 5 farklı firmaya ait rafine zeytinyağı, OO, (OO- 1'den OO-5'e kadar)
Toplam 34 farklı yağ örneği ve 144 farklı yağ karışımı kullanılmıştır.		

† BCSO; çörek otu yağı, SFO; Ayçiçek yağı, CSO; Pamuk yağı, SBO; Soya yağı, OO; Zeytinyağı, HNO; Fındık yağı

3.3. Yağ Örnekleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler

Hazırlanan yağ örnekleri için gerçekleştirilen analizler literatür çalışmalarında yer alan yöntemler ve tarafımızdan oluşturulan yeni yöntemler kullanılarak yürütülmüştür. Uygulanan metotlar, her bir tayin için ayrıntılı olarak aşağıda yer almaktadır.

3.3.1. Moleküler spektroskopi analizleri

3.3.1.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi analizleri

NMR analizleri; Magritek Spinsolve Benchtop 60 MHz spektrometre cihazı kullanılarak, literatürde önerilen yöntemler esas alınarak optimize edilmiştir. Farklı NMR tüpleri içerisine koyulan 200'er µL lik yağ örneği için; 3 farklı çözücü [200 µL CDCl₃, HPLC saflıkta kloroform, kloroform-*d* (CDCl₃, D, 99.9%, 0.03% TMS içeren) ve dimethyl sulfoxide-*d*₆ (DMSO-*d*₆, D, 99.9%)] ile spektrumlar elde edilmiştir. Hem maliyet hem de spektrum kalitesi açısından uygun çözücü sisteminin kloroform-*d*, CDCl₃ olduğuna karar verilmiştir. ¹H-NMR spektrumları, manyetik alan süresi 32 K, spektral aralık 16 ppm (-2 ile 12 ppm), tarama sayısı 64, spektra edinim süresi 1 sn, gevşeme gecikme süresi 0.2 sn, sıcaklık 25 °C, spektral çizgi genişletme faktörü 0.3 Hz ve 0.03 ppm değerleri kullanılarak elde edilmiştir. Spektrumda, referans olarak kloroform-*d* çözücüsüne ait kimyasal kayma değeri (7.25 ppm) esas alınmış, kemometrik analizler öncesinde çözücü piki elimine edilerek tüm numunelerin spektrumlarından çıkartılmıştır. Aynı yağ örneğinden elde edilen 4 spektrumun ortalaması alınarak, bu ortalama spektrum detaylı spektral ve kemometrik analizler için kullanılmıştır.

3.3.2. Kromatografi analizleri

Hazırlanan yağ örneklerinde yağışın niteliği ve niceliğini belirlemek için GC-MS-FID sistemi kullanılarak, yağ asit kompozisyonu analizleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.5). Yağ asit kompozisyonu tayini, bitkisel yağlardaki 10 ile 24 karbon arası yağ asitlerinin tespit edilmesi esasına dayanmaktadır. HP-88 kapiler kolon (100 m×0.25 mm×0.20 µm) kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde, numuneleri analize uygun bir hale getirmek amacıyla öncelikle yağ numuneleri metil esterlerine dönüştürülmüştür (Arslan ve diğerleri, 2019).

3.3.2.1. GC–MS–FID sistemi ile yağ asit kompozisyonu tayini

Kromatografik analizler için yağ asitlerinin metil ester formuna dönüştürülmesi. 0.1 g yağ numune santrifüj tüpüne alınarak, üzerine 2 N'lik metanollü KOH çözeltisinden 0.1 mL ilave edilmiş, ardından 10 mL n-hekzan ilave edilmiştir. Karışım 1 dk boyunca kuvvetlice çalkalanarak 8 dk 2000 rpm devirde santrifüjlenmiştir. Santrifüj edilen çözeltinin üst fazı yani esterleşen kısım, dekantasyon ile ayrılarak GC vialine alınmış ve kromatografi cihazına yapılan enjeksiyon için kullanılmıştır.

Gaz kromatografisi/alev iyonlaşma dedektörü (GC/FID) analizleri. Arslan ve diğerleri (2019) tarafından önerilen yöntem, metil esterler türevlerine dönüştürülen yağ numunelerinin yağ asit kompozisyonu tayinlerine uygulanmış ve yönteme ait parametre değerleri Çizelge 3.5`de verilmiştir.

Çizelge 3. 5: Yağ asit kompozisyonu tayini için kullanılan metot parametreleri

Yağ Asit Kompozisyonu Tayini için Yöntem Parametreleri			
Numune ön işlemi	Metil ester türevlerinin hazırlanması		
Enjeksiyon	1 µL, split oranı 10:1		
İnlet sıcaklığı	250°C		
Kolon	HP-88 kapiler kolon (100 m×0.25 mm×0.20 µm)		
Hareketli faz	Hidrojen		
Akış hızı	1 mL/dk		
Kolon fırını sıcaklık programlaması	<u>Rampa</u>	<u>sıcaklık</u>	<u>bekletme süresi</u>
	–	40°C	4 dk
	13°C /dk	170°C	27 dk
	4°C/dk	210°C	35 dk
Toplam analiz süresi: 86 dk			
Dedektör	Alev iyonlaşma dedektörü, 280°C		
	H ₂ akış hızı 45 mL/dk, Hava akış hızı 450 mL/dk		

3.4. Kemometrik Yöntemlere Dayalı Veri Analizleri/ Çok Değişkenli Kemometrik Modellerin Geliştirilmesi

Spektroskopik analizlerin tamamlanmasının ardından; elde edilen spektral veriler kullanılarak çok değişkenli kemometrik modellerin geliştirilmesi amacıyla uygun programlarda işlenmiş ve modellemeler oluşturulmuştur. Excel şeklinde elde edilen ham cihaz verileri kemometrik modellerin geliştirilmesi için Unscrambler®X10.5.1 programına (CAMO software, Oslo, Norway) aktarılmıştır.

3.4.1. Veri ön işleme

Kemometrik veri analizleri öncesinde, elde edilen infrared spektrumlarına uygun bazı ön işlemler uygulanmıştır. Spektrumlardaki bantlar arası farklılığı arttırabilmek ve spektrumlarda iyileştirmeler yapabilmek amacıyla Unscrambler®X10.5.1 programı kullanılarak, yansıma spektrumları üzerine türev alma, detrend, baseline düzeltmesi ve ortalama merkez düzeltmesi gibi ön işlemler uygulanmıştır.

3.4.2. Çok değişkenli kalitatif/ kemometrik sınıflandırma analizleri: PCA, HCA, LDA ve SIMCA modelleri

Veri ön işleme işlemlerinin ardından, hazırlanan yağ örneklerine ait grupların sınıflandırılması amacıyla en fazla tercih edilen kemometrik analiz metotlarından gözetimsiz/unsupervised örüntü tanıma (PCA ve HCA) ve gözetimli/supervised örüntü tanıma (SIMCA ve LDA) yöntemleri uygulanmıştır.

- ✓ PCA (Principle Component Analysis),
- ✓ HCA (hierarchical cluster analysis),
- ✓ SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogies),
- ✓ LDA (Lineer Discriminant Analysis) yöntemleri kullanılarak “kalitatif” yani “sınıflandırma” değerlendirmeleri yapılmıştır.

Tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ , ppm) ve belirlenen 6 spesifik bölgeden (Çizelge 2.2) elde edilen datalar değerlendirmeye alınarak sınıflandırma modelleri oluşturulmuştur. Modellerden elde edilen tahmin değerleri ile; soğuk pres çörek otu yağı tahşişinde kullanılan rafine yağ oranı için uygulanan farklı yöntemlerinin tahmin gücü bakımından benzerlik gösterip göstermediği, modellerin güvenilirliği, modeller arasındaki farkın ne

olduğu ya da daha doğru sonuç verip vermediği, spektrumlara dayalı bu modellerin tahmin gücünün model doğrulama sonucunda kullanıma uygun olup olmadığı, kullanılacak istatistik yöntemin veya ölçüm alınan numune yapısının tahmin gücüne önemli bir etkisinin olup olmadığı gibi değerlendirmeler yapılmıştır.

3.4.3. Çok değişkenli kantitatif/ kemometrik kalibrasyon analizleri: PLS–R modeli

Kantitatif olarak taşıyıcı durumunu değerlendirmek üzere hazırlanan 144 adet karışıma ait elde edilen spektral veriler; PLS–R kalibrasyon yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Sadece tüm spektral bölgeden (7.55–0.00 δ , ppm) elde edilen datalar değerlendirmeye alınarak PLS–R kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur. PLS–R kalibrasyon yönteminin kendi tahmin değerlerini ve güvenilirliğini hesaplamak yani valide etmek için “cross validasyon” yöntemi uygulanmıştır. Toplam 144 adet karışım numuneden rastgele seçilen karışımlar ve karışım hazırlamada kullanılan 4 farklı saf çörek otu yağı kalibrasyon seti numunesi; kalan karışımlar ise kalibrasyon modelini doğrulama seti/ validasyon seti numunesi olarak tanımlanmıştır. NMR spektrumlarında tüm spektral bölge tarama spektrumları için, oluşturulan numune setleri için (Çizelge 3.4) ayrı kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur.

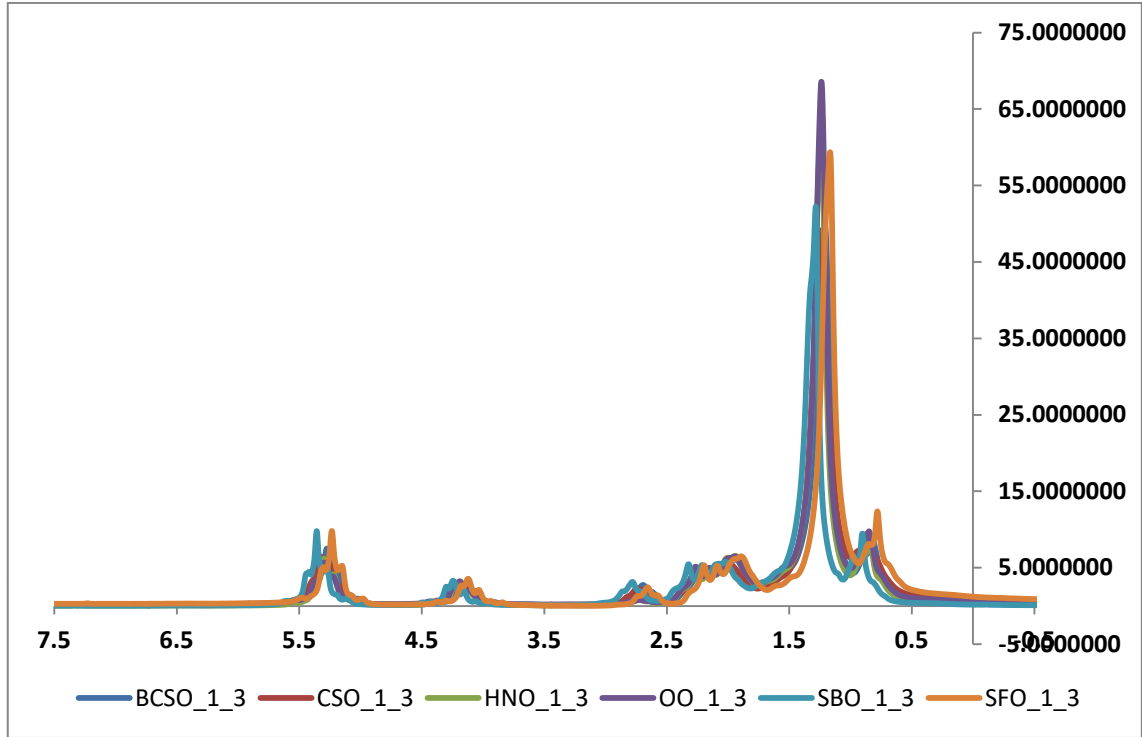
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Sunulan tez çalışmasında elde edilen deneysel bulgular, 5 ana alt başlık altında sunulmuş ve sonuçlar detaylı olarak değerlendirilmiştir.

- (i) Saf yağ numunelerinin ^1H -NMR spektroskopi analizlerine ait sonuçlar
- (ii) Saf yağ numunelerinin çok değişkenli kalitatif/ kemometrik sınıflandırma analizleri
- (iii) Karışım yağ numunelerinin çok değişkenli kalitatif/ kemometrik sınıflandırma analizleri
- (iv) Karışım yağ numunelerinin çok değişkenli kantitatif/ kemometrik kalibrasyon analizleri
- (v) Yağ numunelerinin gaz kromatografi analizlerine ait sonuçlar

4.1. Saf Yağ Numunelerinin Moleküler Spektroskopi Analizlerine Ait Sonuçlar

Sunulan tez projesinde ^1H -NMR tekniği; çörek otu yağı taşışısında kullanımı muhtemel yağ türünü belirleme amacıyla 34 adet saf bitkisel yağ numunesi ve çörek otu taşışısında kullanımı muhtemel yağların miktarını belirleme amacıyla hazırlanan 144 adet karışım yağ numunesi üzerinde uygulanmıştır. İstatistiksel çalışmalarda kullanılmak üzere her bir yağ numunesi için en az 4 tekrarlı gerçekleştirilen analizlerden toplamda 712 adet spektrum elde edilmiştir. ^1H -NMR çalışmaları spektral tanımlamaya bağlı olduğundan, öncelikle analiz için seçilen farklı türdeki bitkisel saf yağların spektral bantlarının, hangi tür moleküler bilgileri içerdiğinin belirlenmesi sağlanmıştır. Kullanılan farklı ticari markalara ait saf yağ numunelerinden temsili seçilen farklı türde yağ numunelerine ait 7.55–0.00 δ , ppm kimyasal kayma aralığındaki bölgede elde edilen spektral veri Şekil 4.1’de yer almaktadır.



Şekil 4. 1: Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait ^1H -NMR tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ , ppm) spektrumları

Elde edilen ^1H -NMR spektrumlarında (Şekil 4.1) yağ türleri arasındaki farklılıkları belirtmek amacıyla kimyasal kayma değerleri ile işaretlemeler yapılmıştır. 7.55–0.00 δ , ppm kimyasal kayma değeri aralığındaki bölgede elde edilen spektrumlarda; 6 temel bölge esas alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Yağ numunelerinde temel yapı olan yağ asit moleküllerinde mevcut H yapılarına ait spektral bantların yağ türlerinin tanımlanmasında ve yağ moleküllerindeki değişikliklere dair hassas ve kuvvetli piklerin varlığını gösterdiği görülmektedir. Bu nedenle belirlenen bu bölgelerde elde edilen spektrumlar, yağ türlerinin tanımlanmasında belirleyici bölgeler olarak kabul edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Yağ moleküllerindeki değişik fonksiyonel gruplar, ^1H -NMR spektrumunda karakteristik bant tanımları oluşturmaktadır (Çizelge 4.1).

Analiz edilen yağ örneklerinin tümünde kuvvetli spektral bantlar; 5.36 δ ppm ($-\text{CH}=\text{CH}-$, tüm doymamış yağ asitleri), 5.29 δ ppm ve 5.22 δ ppm ($-\text{CH}-\text{OCO}-\text{R}$, gliserol yapısı, trigliseritler), 5.06 δ ppm ($-\text{CH}-\text{OH}$, 1,3-digliseritler), 4.47 δ ppm ($-\text{CH}_2-\text{OCO}-\text{R}$, 1,3-digliseritler), 4.39 δ ppm, 4.25 δ ppm ve 4.16 δ ppm ($-\text{CH}_2-\text{OCO}-\text{R}$, gliserol yapısı, trigliseritler), 4.07 δ ppm ($-\text{CH}_2-\text{OCO}-\text{R}$, 1,3-digliseritler), 3.89 δ ppm ($-\text{CH}_2-\text{OCO}-\text{R}$, 1,2-digliseritler), 2.79 δ ppm ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, linolenil

grup), 2.72 δ ppm ($-\text{CH}=\text{CH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}=\text{CH}-$, linoleil grup, doymamış yağ asitleri), 2.38 δ ppm, 2.26 δ ppm ve 2.13 δ ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{COO}-$, tüm yağ asitleri açıl zincirleri), 2.03 δ ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}=\text{CH}-$, tüm doymamış yağ asitleri, linolenil ve linoleil grupları), 1.98 δ ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}=\text{CH}-$, tüm doymamış yağ asitleri, oleil grupları), 1.65 δ ppm ve 1.55 δ ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, tüm yağ asitleri açıl zincirleri), 1.22 δ ppm ($-(\underline{\text{CH}_2})_n-$, tüm yağ asitleri açıl zincirleri) ve 0.87 δ ppm ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_3}$, tüm yağ asitleri açıl zincirleri, linoleil grup hariç) kayma değerlerinde gözlenmiş, ve yağ asitlerinin doymuşluk dereceleri ilişkili olarak piklerde farklılıklar elde edilmiştir. Aynı şekilde yağlarda mevcut karoten ve sterol yapılarındaki farklılıklar 5.51 δ ppm (β -karoten) 0.84 δ ppm (β -sitosterol) ve 0.71 δ ppm (sitosterol) kayma değerlerine yansımıştır.

Çizelge 4. 1: Yağ numunelerinin ^1H -NMR spektrumlarında kemometrik analiz uygulamaları için seçilen spektrum bölgeleri

Kemometrik modellemeler için seçilen ^1H -NMR spektral bölgeleri		
	kimyasal kayma bölgesi, δ (ppm)	kimyasal kayma değeri, δ (ppm) fonksiyonel gruplar
I. bölge	6.00–4.75	5.51 β -karoten
		5.36 $-\text{CH}=\text{CH}-$ (tüm doymamış yağ asitleri)
		5.29 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ (gliserol yapısı, trigliseritler)
		5.22 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ (gliserol yapısı, trigliseritler)
		5.06 $-\text{CH}_2\text{OH}$ (1,3-digliseritler)
II. bölge	4.75–3.50	4.47 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ sn-1,3 (1,3-digliseritler)
		4.39 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.25 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.16 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ (gliserol yapısı, trigliseritler)
		4.07 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ sn-1,3 (1,3-digliseritler)
III. bölge	3.50–2.50	3.89 $-\text{CH}_2\text{OCO}-\text{R}$ sn-1,2 (1,2-digliseritler)
		2.79 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (linolenil grup)
		2.72 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (linoleil grup, doymamış yağ asitleri)
IV. bölge	2.50–1.75	2.38 $-\text{CH}_2\text{COO}-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.26 $-\text{CH}_2\text{COO}-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.13 $-\text{CH}_2\text{COO}-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		2.03 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ (tüm doymamış yağ asitleri, linolenil ve linoleil grupları)
		1.98 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ (tüm doymamış yağ asitleri, oleil grupları)
V. bölge	1.75–1.00	1.65 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{COO}-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		1.55 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{COO}-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
		1.22 $-(\text{CH}_2)_n-$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri)
VI. bölge	1.00–0.25	0.87 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (tüm yağ asitleri açıl zincirleri, linoleil grup hariç)
		0.84 β -sitosterol
		0.71 stigmasterol

† s, tekli; d, çift; t, üçlü; dd, çiftler çifti; m, çoklu; br, geniş rezonans

†† kloroform- d , CDCl_3 7.25 ppm kimyasal kayma değeri elimine edildi.

Şekil 4.1’de yer alan spektrumlar incelendiğinde, farklı yağ türlerine ait spektrumların birbirine oldukça benzer oldukları görülmektedir. Tüm kimyasal kayma bölgesine nazaran belirlenen bazı spesifik bölgelerde numuneler arası farklılıkların daha belirgin şekilde tespit edilebileceği görülmektedir. Analiz edilen 34 farklı saf yağ numunesinin ^1H -NMR spektrumlarına bakıldığında ise, elde edilen spektrumlardan yağ türlerini ayırt etmenin mümkün olamayacağı açıkça görülmektedir (Şekil 4.2a). Bu durumda, spektrum verilerinin çok değişkenli veri analizleri yani kemometrik veri analizleri ile işlenerek uygun modellemelerin oluşturulması ve yağların sınıflandırılması gerekmektedir.



4.2. Saf Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kalitatif/ Kemometrik Sınıflandırma Analizlerine Ait Sonuçlar

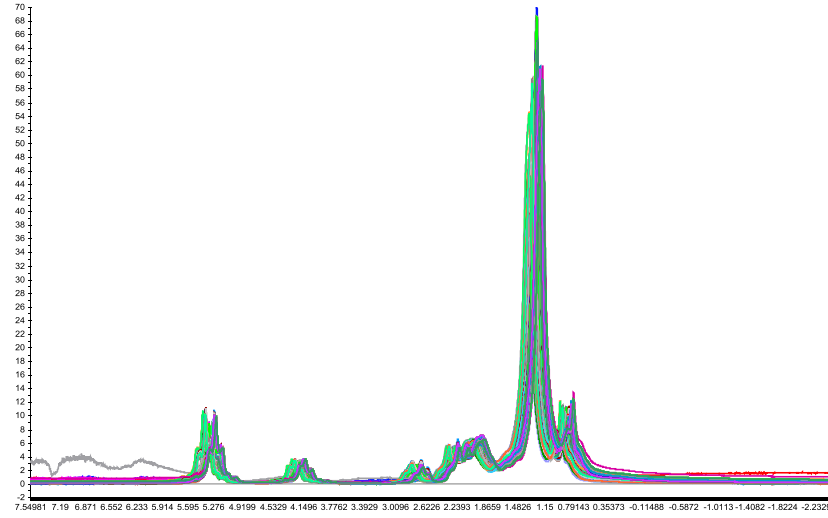
Farklı saf yağ numunelerinin ^1H -NMR analiz sonuçları incelendiğinde, spektrumların birbirine oldukça benzer olduğu ve yağ türlerini direkt spektrumlar üzerinden ayırt etmenin mümkün olamayacağı tespit edilmiştir (Şekil 4.2a). Bu nedenle, ^1H -NMR analizlerinin tamamlanmasının ardından; spektral verilerin uygun programlarda işlenmesi ile kemometrik veri analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tağışın niteliği ve niceliğini belirlemeye yönelik geliştirilen bu analizlerde; tüm bileşenlere yönelik “sınıflandırma” ve “kalibrasyon” adı verilen tahmin modelleri geliştirilmiştir. Çalışmada en fazla tercih edilen modellemeler ile;

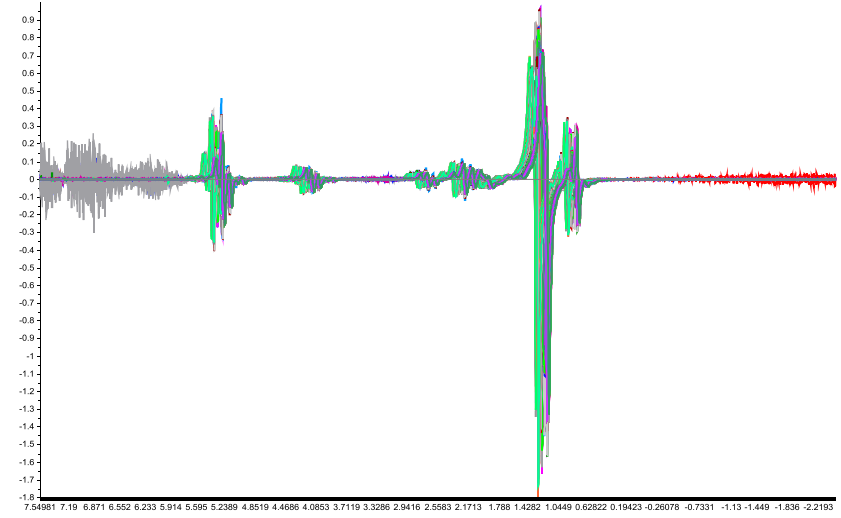
- PCA (Principle Component Analysis) (Sınıflandırma/Kalitatif),
- SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogies) (Sınıflandırma/Kalitatif),
- LDA (Linear Discriminant Analysis) (Sınıflandırma/Kalitatif),
- HCA (hierarchical cluster analysis) (Sınıflandırma/Kalitatif) ve
- PLS-R (Partial Least Squares Regression) (Kalibrasyon/Kantitatif) değerlendirmeler yapılmıştır.

4.2.1. Kemometrik veri ön işlemlerine ait sonuçlar

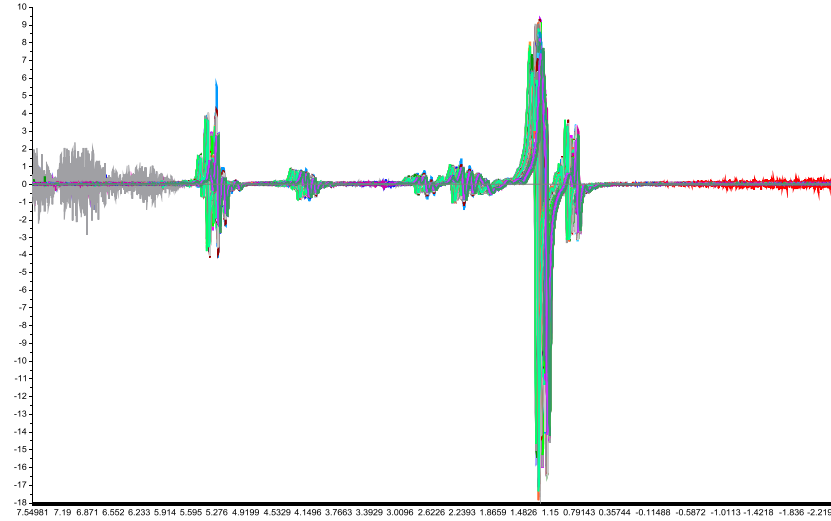
Excel şeklinde elde edilen ham cihaz verileri kemometrik modellerin geliştirilmesi için Unscrambler® X10.5.1 programına (CAMO software, Oslo, Norway) aktarılmıştır. Program kullanılarak, spektrumlardaki bantlar arası farklılığı arttırabilmek amacıyla yansıma spektrumları üzerine Savitzky–Golay türev alma (Şekil 4.2b) ve standard normal variate (SNV) baseline düzeltmesi (Şekil 4.2c) ön işlemleri uygulanmıştır.



(a) transpoze veri ön işleme



(b) Savitzky-Golay türev veri ön işleme

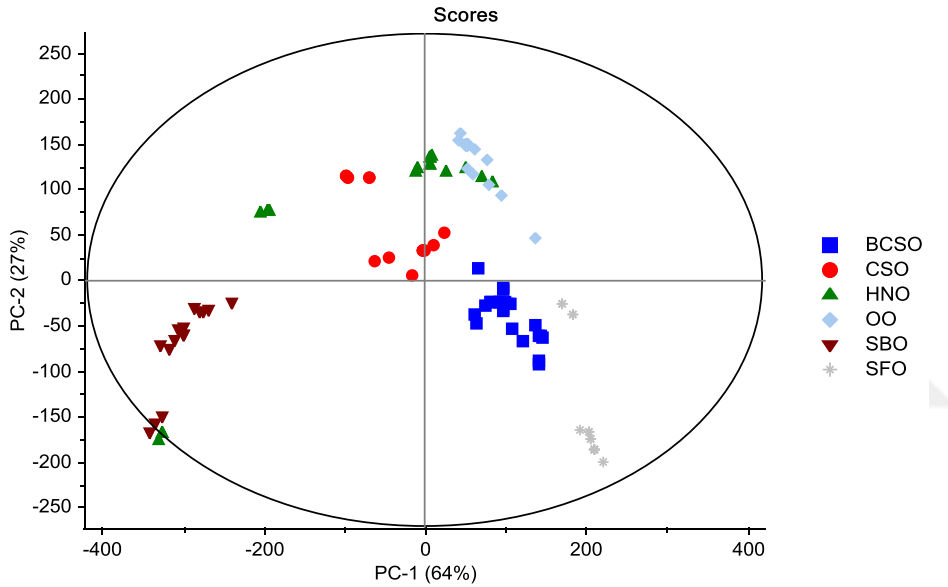


(c) standard normal variate (SNV) veri ön işleme

Şekil 4. 2: Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait ^1H -NMR tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) spektrumlarına uygulanan veri ön işlemleri (a) transpoze (b) Savitzky-Golay türev ve (c) standard normal variate (SNV) işlemi

4.2.2. PCA analizlerine ait sonuçlar

Çalışmanın ilk aşamasında saf yağ numuneleri için 7.55–0.00 δ ppm kimyasal kayma değeri aralığında elde edilen veriler kullanılarak, gözetimsiz/unsupervised örüntü tanıma PCA analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCA skor grafiklerinde, 2 koordinat üzerinde 95% tolerans değeri ile saf yağ numunelerinin önerilen ^1H -NMR tekniği ile sınıflandırılabilme kabiliyetleri incelenmiştir. Tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ) spektrum taraması kullanılarak elde edilen ^1H -NMR verileri ile oluşturulan saf yağlara ait skor grafikleri Şekil 4.3’de yer almaktadır.



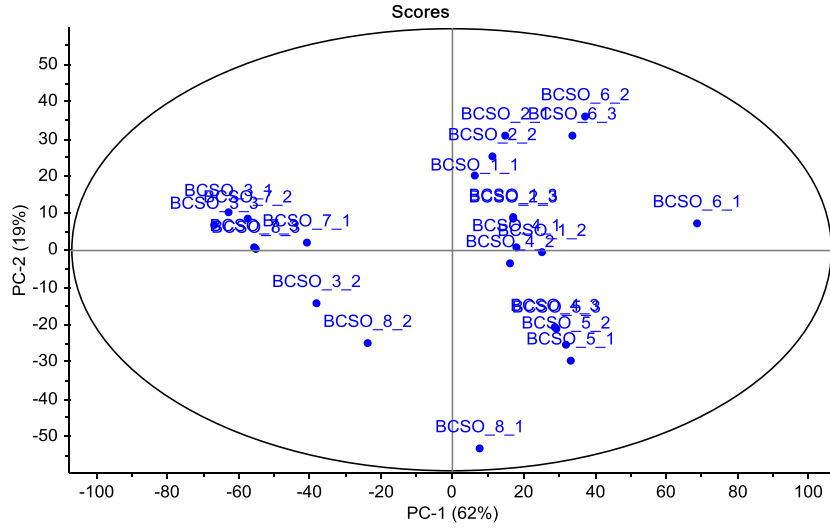
Şekil 4. 3: Farklı marka ve türdeki tüm saf yağ numuneleri için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafiği

Temel bileşen değeri–1 (PC1) ve temel bileşen değeri–2 (PC2) olmak üzere 2 koordinat üzerinde, farklı markalara ait tüm saf yağ türleri için elde edilen skor grafiğinden (Şekil 4.3) görüleceği üzere; tüm bölge verilerinin PCA analizleri ile birlikte kullanımının, saf yağların başarılı bir şekilde sınıflandırılmasında kullanılabilirliği kanıtlanmıştır. Tüm saf yağ numunelerinin değerlendirildiği skor grafiğinde özvektör değerleri; 91% (PC1=64% ve PC2=27%) şeklinde elde edilmiştir. Elde edilen PCA grafiklerinde genel olarak, yağ asit kompozisyonu bakımından benzerlik gösteren zeytinyağı ve fındık örnekleri birbirlerine yakın bölgede yerleşim gösterirken; pamuk, ayçiçeği, çörek otu ve soya yağları bu iki yağ türünden farklı bir bölgede yerleşim göstermiştir. Soğuk pres çörek otu yağları ise sahip oldukları yağ asit kompozisyonu ve diğer biyoaktif bileşenler

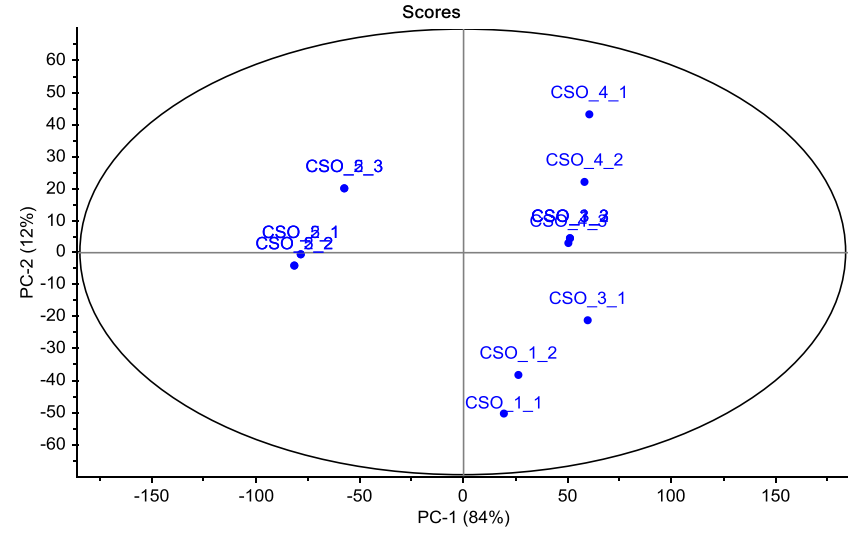
nedeniyle, incelenen diğ er numunelerden yerleşim bakımından farklılık göstermiştir. Fakat ç erek otu yağı örnekleri, yağ asit kompozisyonu bakımından kendisine benzerlik gösteren ayçiçeği ve pamuk yağlarına yakın bir bölgede yerleşim göstermiştir (bakınız Bölüm 4.5, GC-FID analiz verileri).

Her bir saf yağ türü için, tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ) spektrum taraması kullanılarak elde edilen ^1H -NMR verileri ile oluşturulan farklı markalara ait skor grafikleri ise şekil 4.4 ve 4.5’de yer almaktadır. Elde edilen skor grafiklerinden görüleceği üzere, farklı marka ile satılan aynı tür yağ numunelerinde farklı bölgelere yerleşimlerin mevcut olduğu tespit edilmiştir.

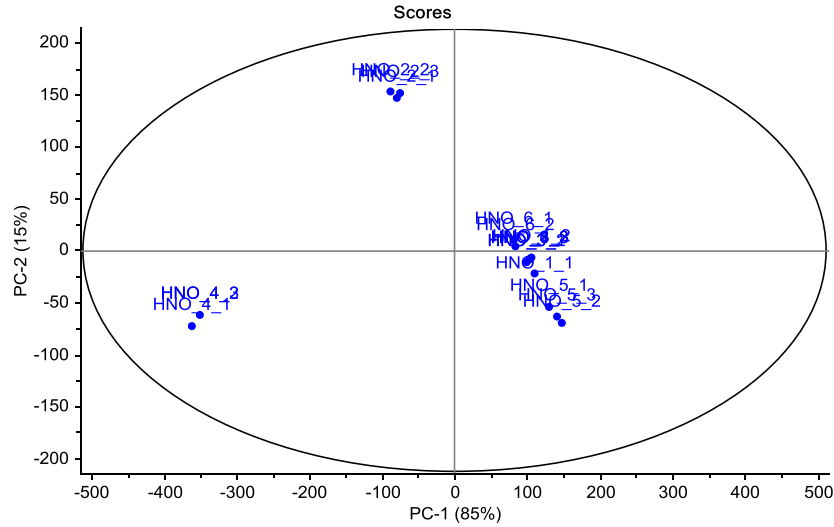




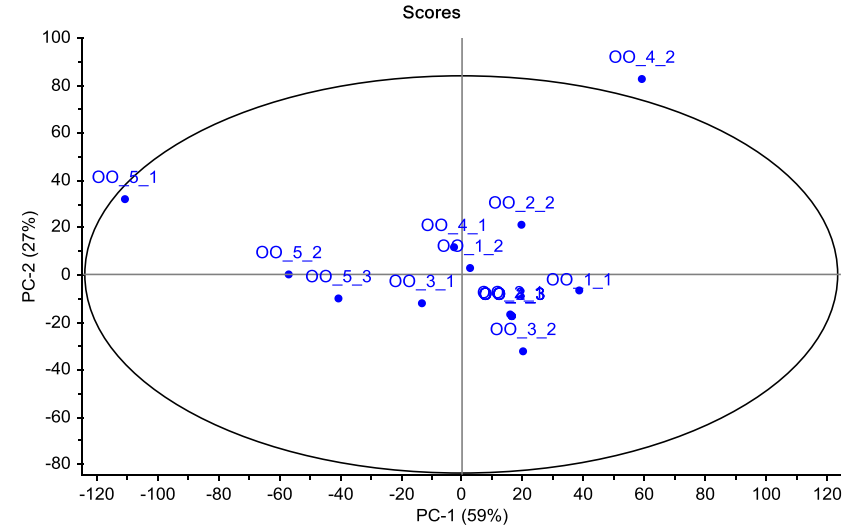
(a) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait BCSO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm



(b) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait CSO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm

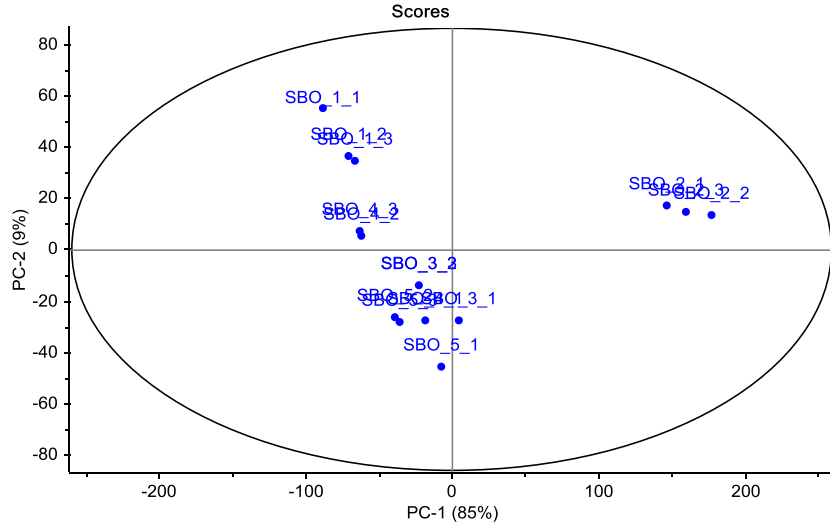


(c) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait HNO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm

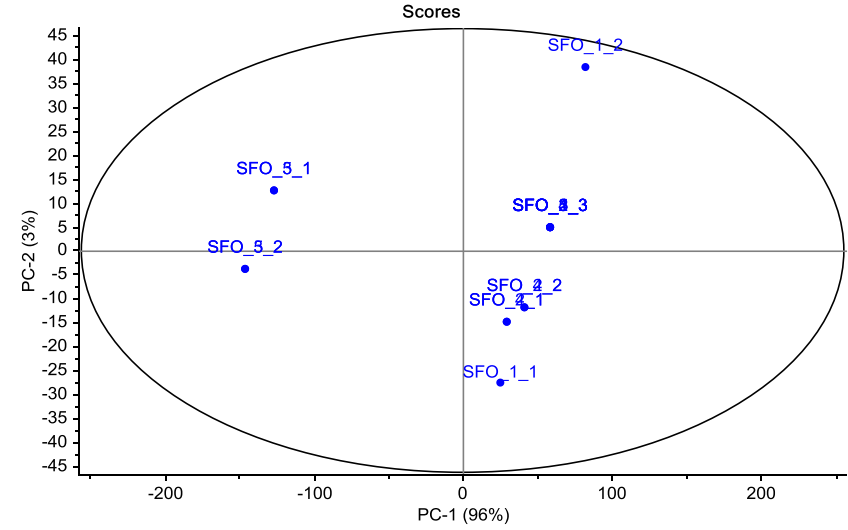


(d) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait OO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm

Şekil 4. 4:Farklı markalara ait saf (a) çörek otu yağı, (b) pamuk yağı, (c) fındık yağı ve (d) zeytinyağı numunelerinde tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafikleri



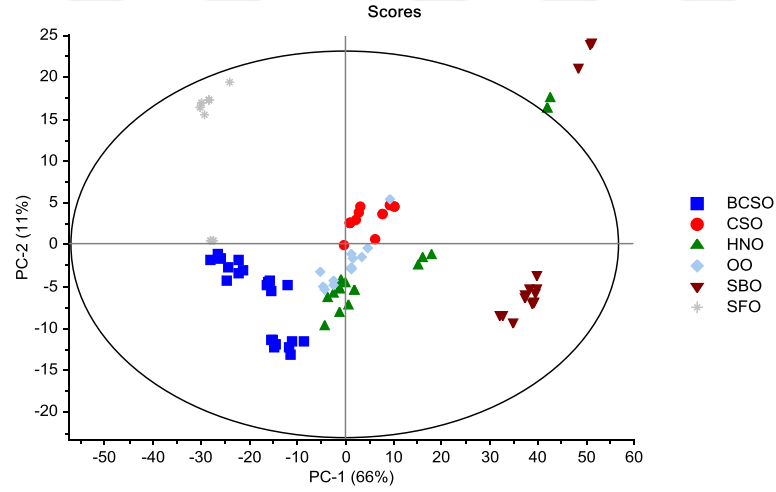
(a) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait SBO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm



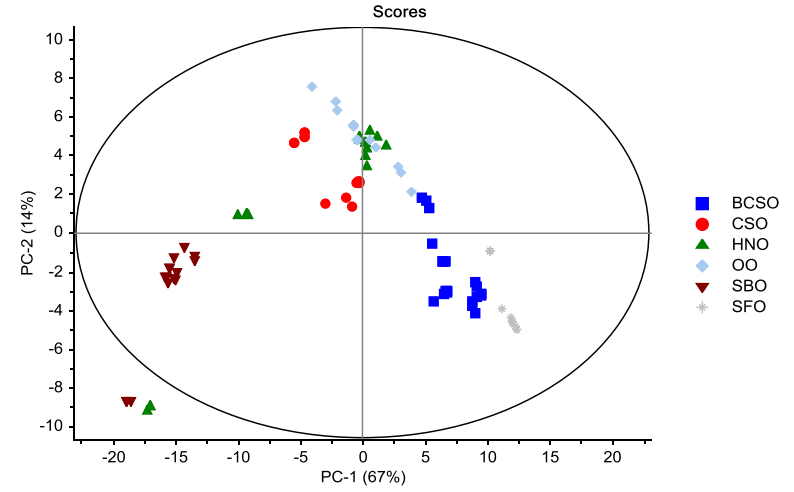
(b) PCA skor grafiği_Farklı markalara ait SFO numuneleri_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm

Şekil 4. 5: Farklı markalara ait saf (a) soya yağı ve (b) ayçiçeği yağı numunelerinde tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PCA analizine ait skor grafikleri

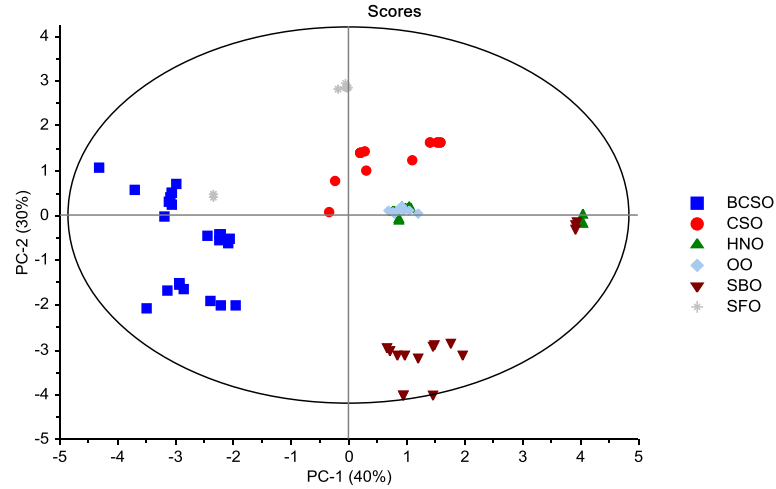
Çalışmanın ikinci aşamasında saf yağ numuneleri için spektrumda belirlenen 6 farklı bölgeye (Çizelge 4.1) ait veriler kullanılarak, PCA skor grafikleri elde edilmiştir. Farklı türdeki saf yağ numuneleri için 6 farklı bölgede elde edilen spektral verileri ile oluşturulan skor grafikleri Şekil 4.6'da yer almaktadır. Elde edilen skor grafiklerinden görüleceği üzere, 6 farklı kimyasal kayma aralığı için yani 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I), 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II), 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III), 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV), 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) ve 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) bölgelerinde, saf soğuk pres çörek otu yağı numuneleri diğer bitkisel yağlardan farklı bir bölgede yerleşim göstermiştir. Benzer şekilde farklı markalara ait farklı türdeki yağ numuneleri kendi türlerine yakın, diğer türlere uzak yerleşim göstermiştir. Tüm bölge spektrumuna benzer şekilde, yağ asit kompozisyonu bakımından benzerlik gösteren yağ örnekleri birbirlerine yakın bölgede yerleşim gösterirken, benzer olmayanlar farklı bölgelerde yerleşim göstermiştir. Özvektör değerleri sırayla; 77% (PC1=66% ve PC2=11%), 81% (PC1=67%, PC2=14%), 70% (PC1=40% ve PC2=30%), 79% (PC1=66%, PC2=13%), 93% (PC1=65% ve PC2=28%) ve 48% (PC1=27%, PC2=21%) şeklinde elde edilmiştir (Şekil 4.6).



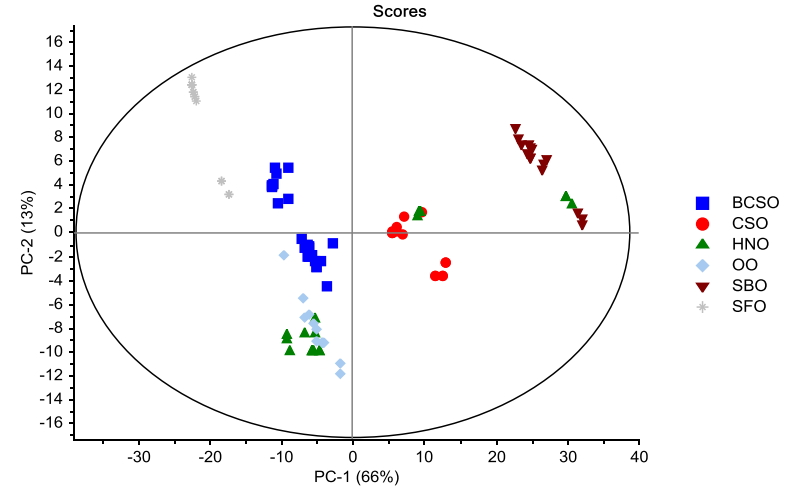
(a) PCA skor grafiği _Tüm yağlar_ PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge I_6.00-4.75 ppm (^1H δ)



(b) PCA skor grafiği _Tüm yağlar_ PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge II_4.75-3.50 ppm (^1H δ)

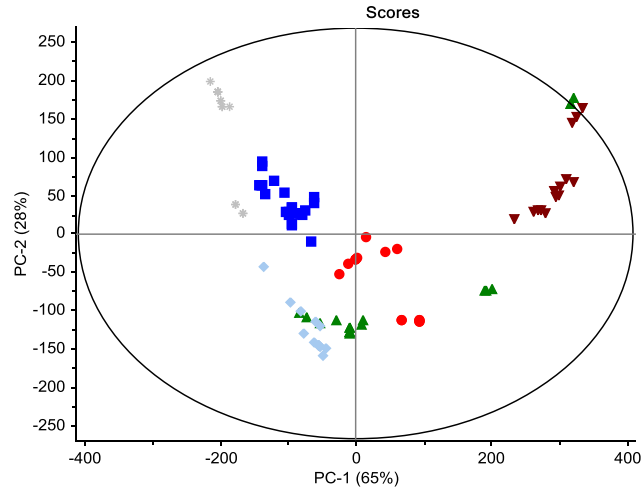


(c) PCA skor grafiği _Tüm yağlar_ PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge III_3.50-2.50 ppm (^1H δ)

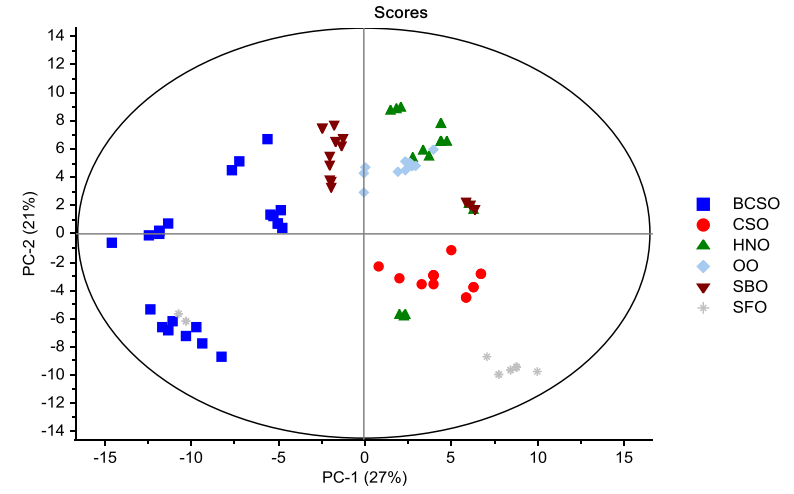


(d) PCA skor grafiği _Tüm yağlar_ PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge IV_2.50-1.75 ppm (^1H δ)

Şekil 4. 6: Farklı tür ve markadaki tüm saf yağ numuneleri için, belirlenen 6 farklı bölgenin spektrumu kullanılarak yapılan PCA analizlerine ait skor grafikleri



(e) PCA skor grafiği _ Tüm yağlar_PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge V_1.75-1.00 ppm (^1H δ)



(f) PCA skor grafiği _ Tüm yağlar_PC1 & PC2_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge VI_1.00-0.25 ppm (^1H δ)

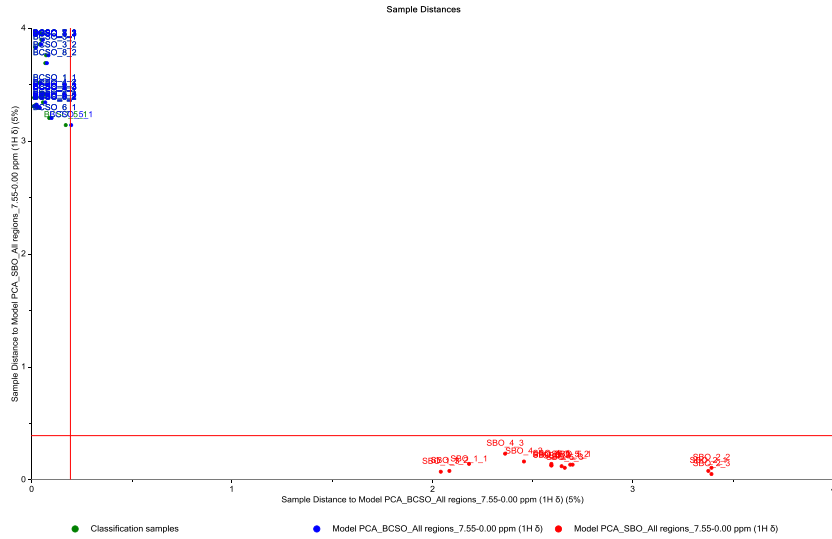
Şekil 4. 6: devamı

4.2.3. SIMCA analizlerine ait sonuçlar

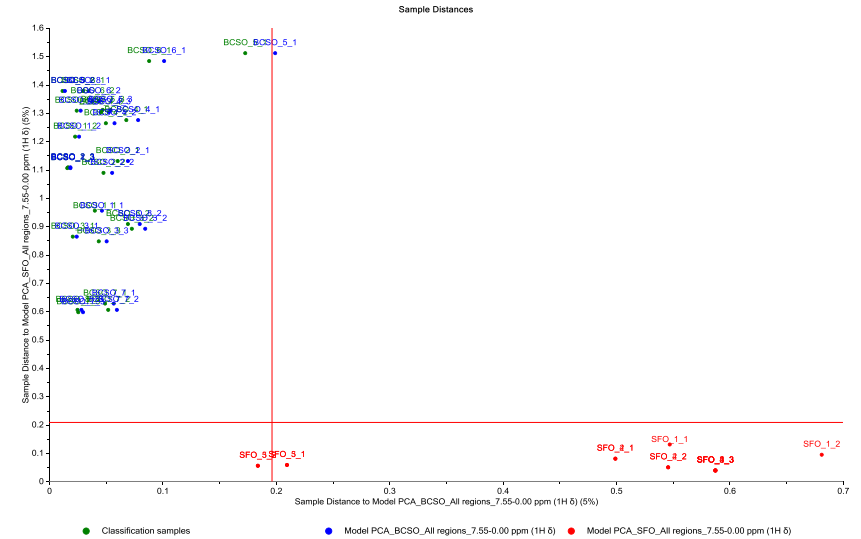
Sınıflandırma çalışmasının ikinci aşamasında; SIMCA analizleri sonucu elde edilen Coomans grafikleri ile, incelenen soğuk pres çörek otu yağlarının, çörek otu kalite sınıfına kabul edilip edilmeyeceğine ya da diğer tür saf rafine yağlardan (*pamuk yağı, ayçiçeği yağı, fındık yağı, soya yağı yada sızma zeytinyağı*) ayırt edilip edilemeyeceğine karar vermeye çalışılmıştır. Gözetimli/supervised örüntü tanıma modellemesi olan SIMCA, F -oranı yardımıyla menşei bilinmeyen bir numunenin belirli bir kalite sınıfına kabul edilip edilemeyeceğine karar verilmesinde kullanılan güvenilir bir kalitatif veri analiz yöntemidir. SIMCA analizlerinde belirli bir sınıf modellenerek, bir grubun aynı gözlemlerden oluşup oluşmadığının ya da bir gözlemin belirli bir gruba mensup olup olmadığının araştırılmasında kullanılmaktadır. SIMCA oluşturulan sınıf için, belirlenen tolerans seviyesinde (95%) belirli bir tolerans bölgesi ya da F değeri belirlemektedir. İncelenecek gözleme bazı istatistiksel testler uygulanarak bu tolerans bölgesine olan uzaklığı saptanmakta ya da F değeri hesaplanmaktadır. Gözlemin tolerans bölgesine göre pozisyonuna ya da F değerine bakılarak, incelenen gözlemin çalışılan gruba mensup olup olmadığı bilgisine ulaşılabilmektedir. SIMCA analizleri sonucunda "Coomans grafikleri" elde edilmektedir.

PCA grafiklerinde olduğu gibi saf yağ numunelerinin SIMCA sınıflandırması için tüm bölge 7.55–0.00 δ ppm kimyasal kayma değeri aralığında elde edilen veriler (Şekil 4.7) ve spektrumda belirlenen 6 farklı bölgeden elde edilen veriler (Şekil 4.8–4.13) kullanılarak Coomans grafikleri elde edilmiştir.

Tüm bölge spektrum verileri ile oluşturulan ve Şekil 4.7’de verilen Coomans grafiklerinden görüleceği üzere; farklı markalara ait soğuk pres çörek otu yağı numuneleri, 95% güven aralığında tüm saf rafine numunelerinden 100% farklı bir grupta sınıflandırılabilmiştir. Aynı yağ türü olmasına rağmen, bazı markalara ait numunelerin çörek otu yağı örneklerine daha yakın yerleşim gösterdikleri, bu durumun yağların elde edildiği kaynağın (tohum türü ya da işleme prosedürü) farklılığı ya da bu tür yağlardan biri ile tağşiş edilme olasılığı ile ilgili olma ihtimali olduğu kanaatine varılmıştır.



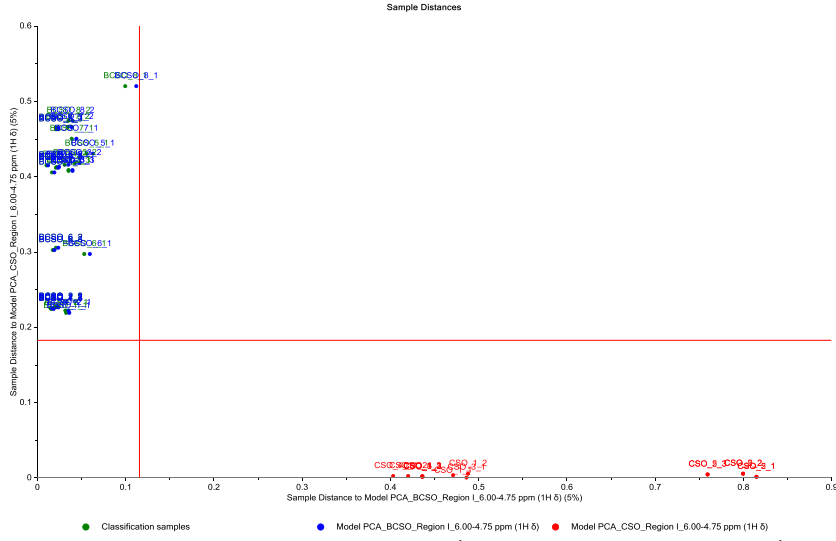
(d) Coomans grafiği_ BCSO'nun SBO'dan ayrımı_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm_95%



(e) Coomans grafiği_ BCSO'nun SFO'dan ayrımı_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm_95%

Şekil 4. 7: Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri

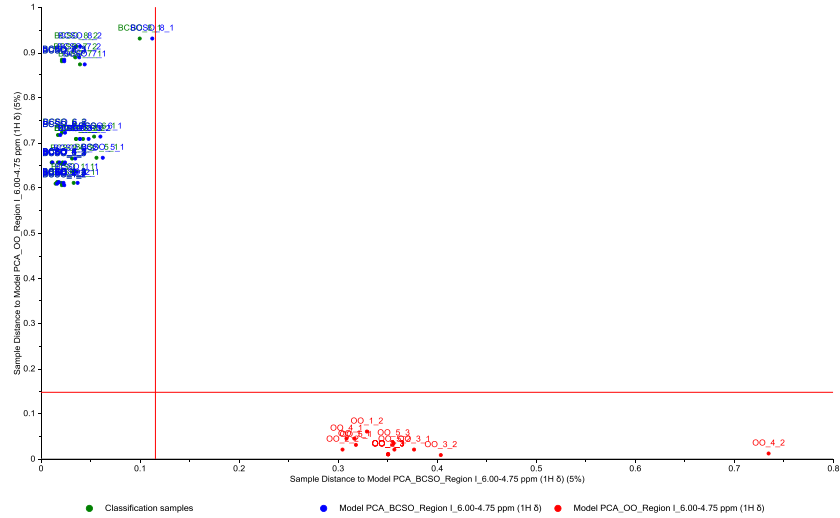
Saf yağ numunelerinin SIMCA sınıflandırması için spektrumda belirlenen 6 farklı bölgeden elde edilen veriler kullanılarak oluşturulan Coomans grafikleri Şekil 4.8 – 4.13’de yer almaktadır. Oluşturulan bu grafiklerde; tüm bölge SIMCA analizlerinde olduğu gibi belirlenen spesifik bölgelerde de soğuk pres çörek otu yağlarının, saf rafine bitkisel yağlardan sınıflandırılıp, sınıflandırılmayacağına karar verilmeye çalışılmıştır. Şekil 4.7’den görüleceği üzere; 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I), 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II), 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III), 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV), 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) ve 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) bölgeleri için oluşturulan bu grafiklerde, farklı markalara ait soğuk pres çörek otu yağı numuneleri, 95% güven aralığında tüm saf rafine numunelerinden 100% farklı bir grupta sınıflandırılabilmiştir. Ancak 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) kayma değeri aralığında oluşturulan bantlarda, sınıflandırmanın daha da net olduğu tespit edilmiştir.



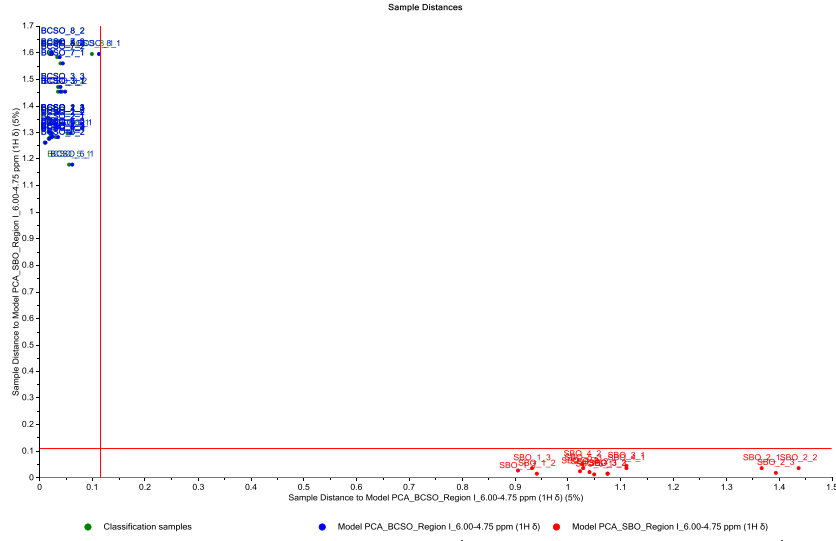
(a) Coomans grafiği_BCSO'nın CSO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge I_6.00-4.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



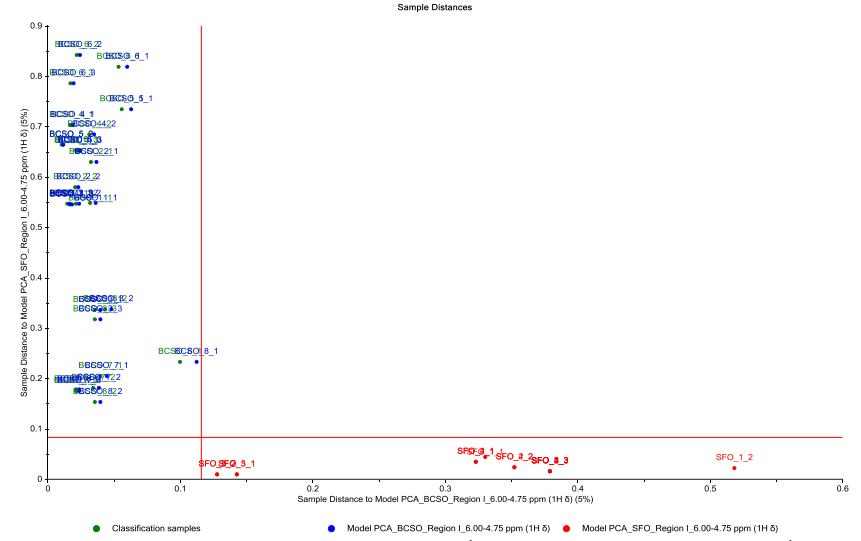
(b) Coomans grafiği_BCSO'nın HNO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge I_6.00-4.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



(c) Coomans grafiği_BCSO'nın OO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge I_6.00-4.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

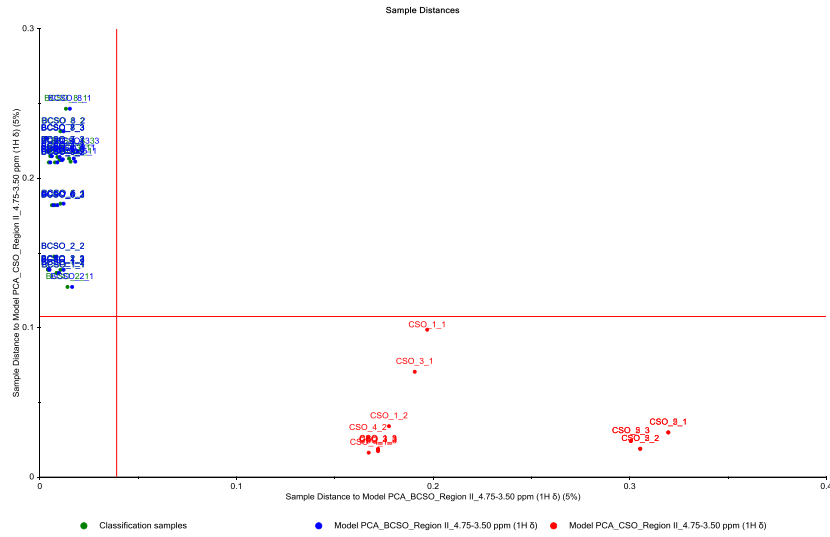


(d) Coomans grafiği_BCSO'nın SBO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge I_6.00-4.75 ppm (¹H δ)

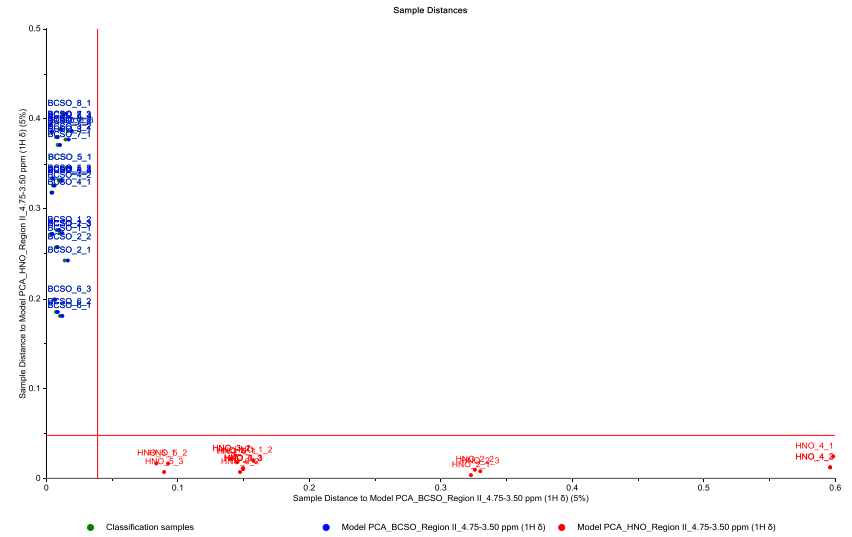


(e) Coomans grafiği_BCSO'nın SFO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge I_6.00-4.75 ppm (¹H δ)

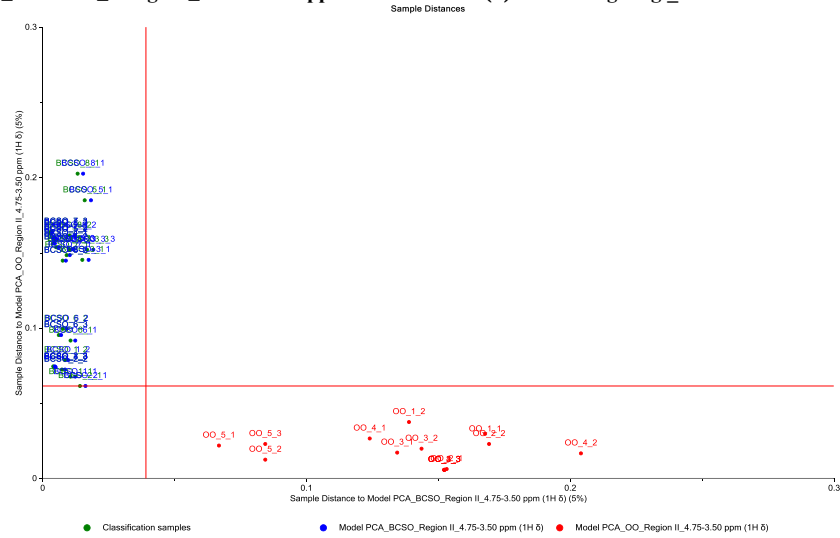
Şekil 4. 8: Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri



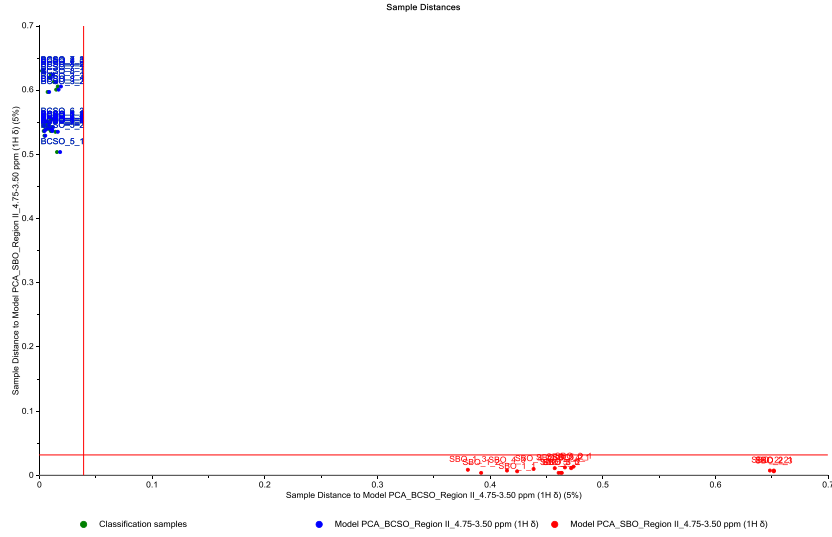
(a) Coomans grafiği_BCSO'nun CSO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge II_4.75–3.50 δ ppm



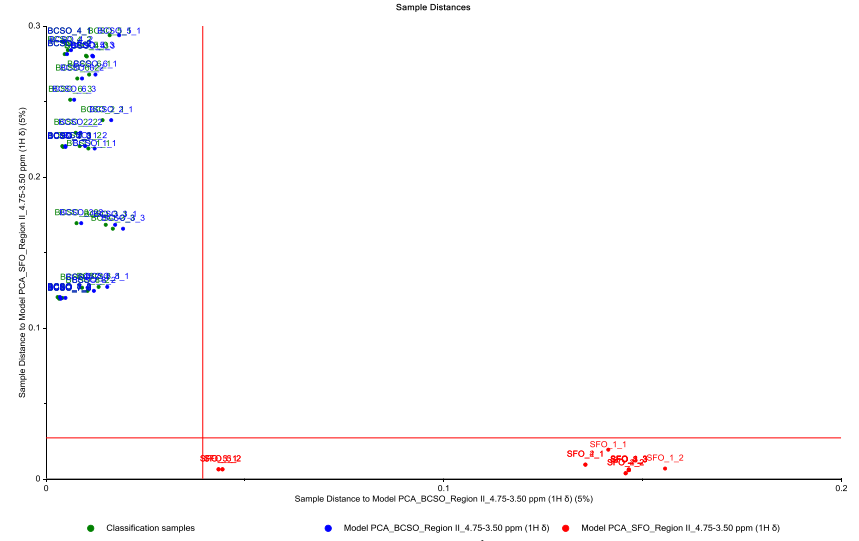
(b) Coomans grafiği_BCSO'nun HNO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge II_4.75–3.50 δ ppm



(c) Coomans grafiği_BCSO'nun OO'dan ayrımı $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge II_4.75–3.50 δ ppm

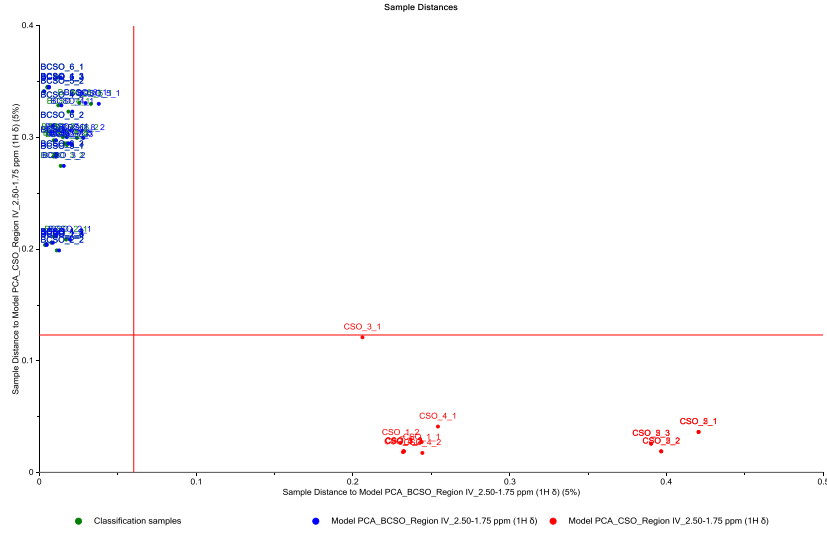


(d) Coomans grafiği_BCSO'nun SBO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge II_4.75–3.50 δ ppm

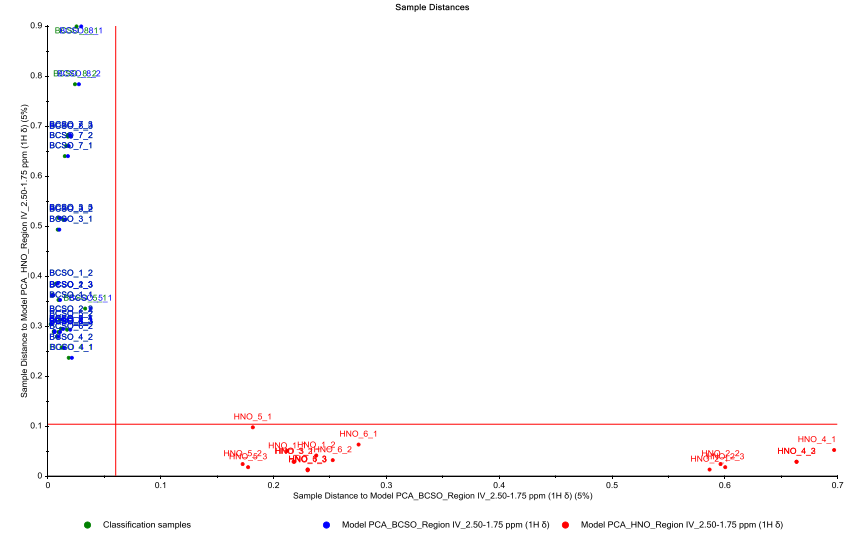


(e) Coomans grafiği_BCSO'nun SFO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge II_4.75–3.50 δ ppm

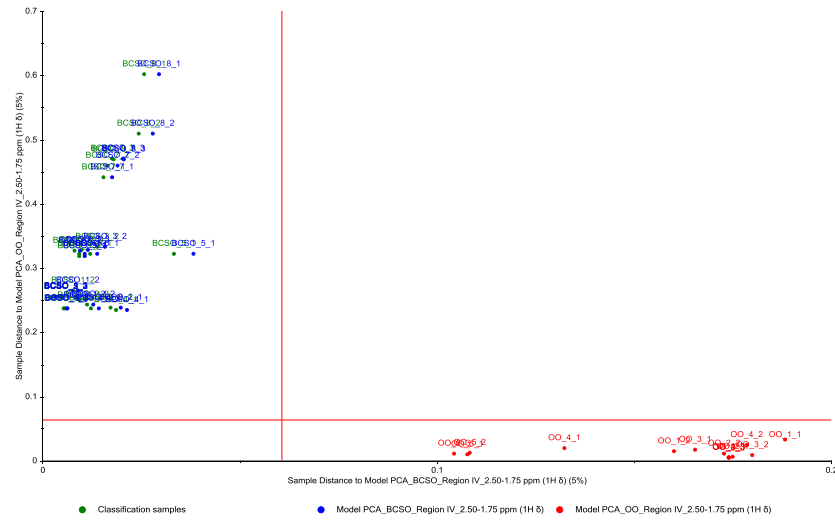
Şekil 4. 9: Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri



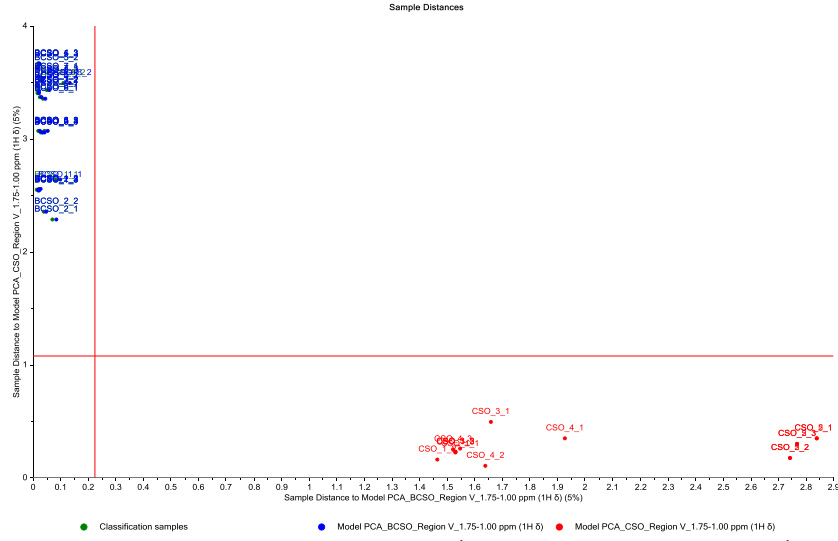
(a) Coomans grafiği_BCSO'nun CSO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



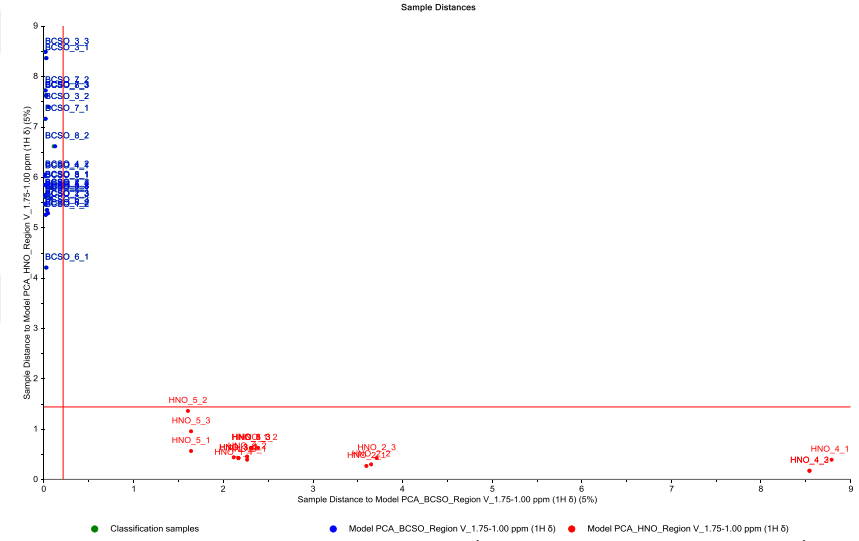
(b) Coomans grafiği_BCSO'nun HNO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



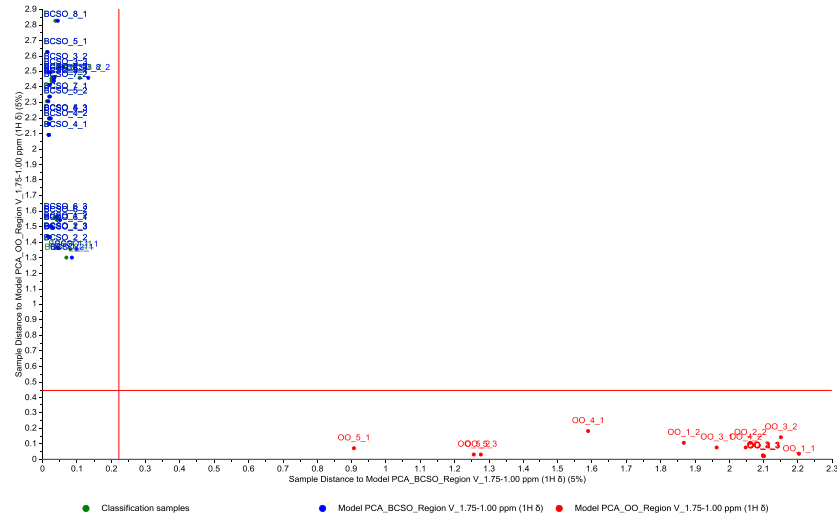
(c) Coomans grafiği_BCSO'nun OO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



(a) Coomans grafiği_BCSO'nın CSO'dan ayrımı_ ^1H -NMR_ Bölge V_1.75-1.00 ppm (^1H δ)



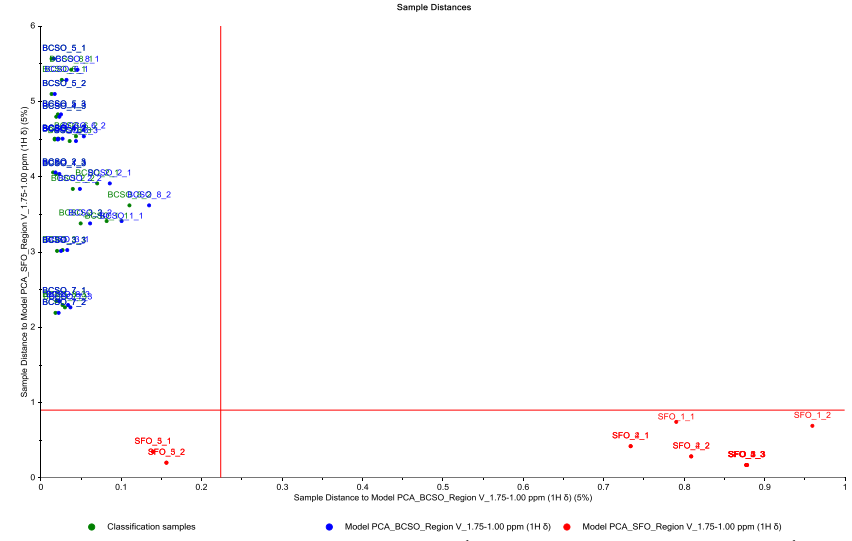
(b) Coomans grafiği_BCSO'nın HNO'dan ayrımı_ ^1H -NMR_ Bölge V_1.75-1.00 ppm (^1H δ)



(c) Coomans grafiği_BCSO'nın OO'dan ayrımı_ ^1H -NMR_ Bölge V_1.75-1.00 ppm (^1H δ)

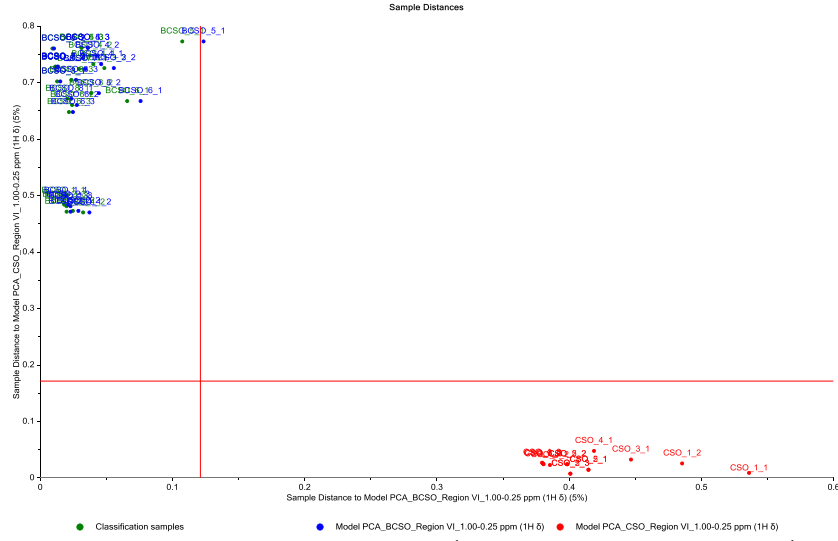


(d) Coomans grafiği_BCSO'nın SBO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge V_1.75-1.00 ppm (¹H δ)

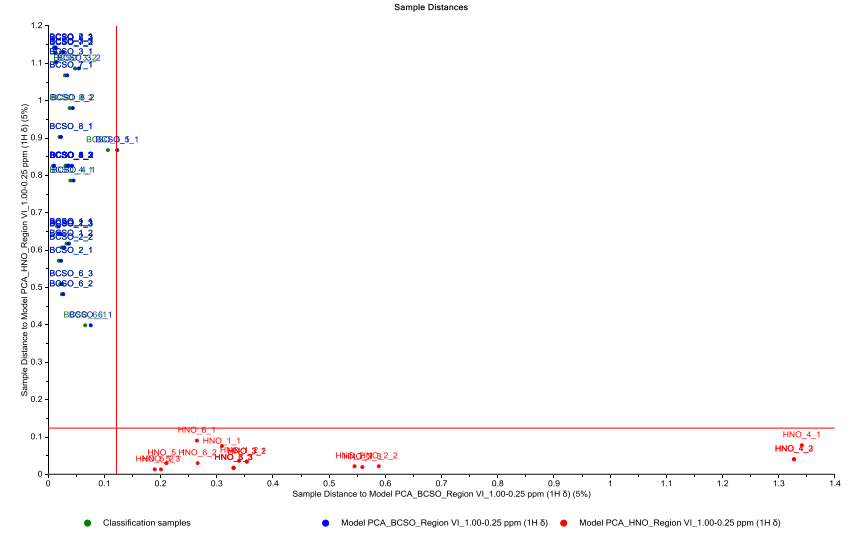


(e) Coomans grafiği_BCSO'nın SFO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge V_1.75-1.00 ppm (¹H δ)

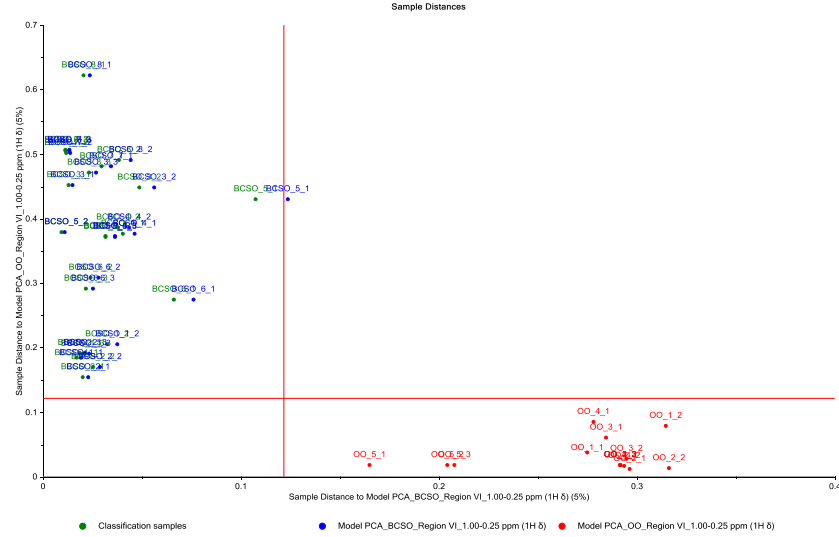
Şekil 4. 12: Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri



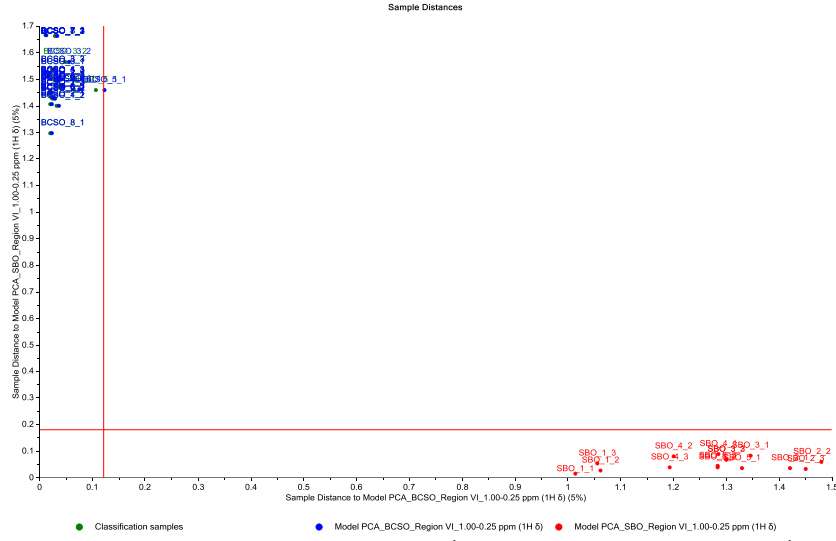
(a) Coomans grafiği_BCSO'nun CSO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge VI_1.00-0.25 ppm ($^1\text{H } \delta$)



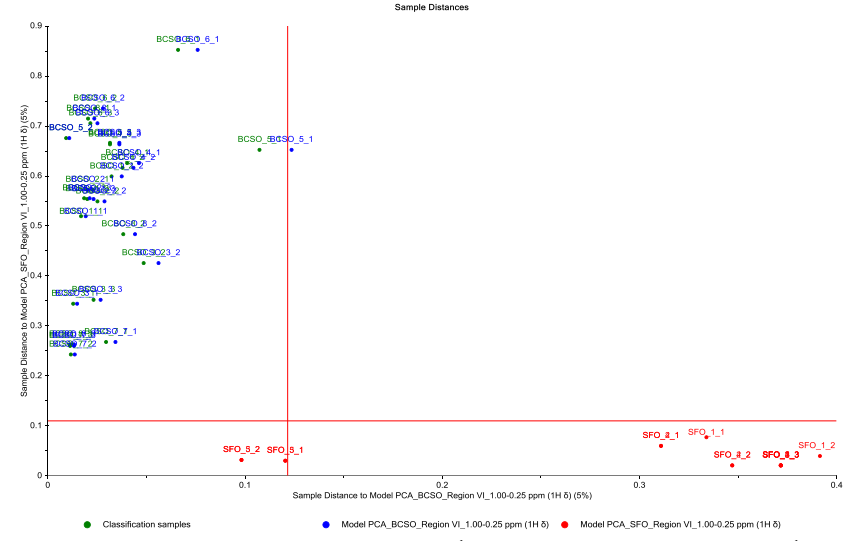
(b) Coomans grafiği_BCSO'nun HNO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge VI_1.00-0.25 ppm ($^1\text{H } \delta$)



(c) Coomans grafiği_BCSO'nun OO'dan ayrımı_ $^1\text{H-NMR}$ _ Bölge VI_1.00-0.25 ppm ($^1\text{H } \delta$)



(d) Coomans grafiği_BCSO'nın SBO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge VI_1.00-0.25 ppm (¹H δ)



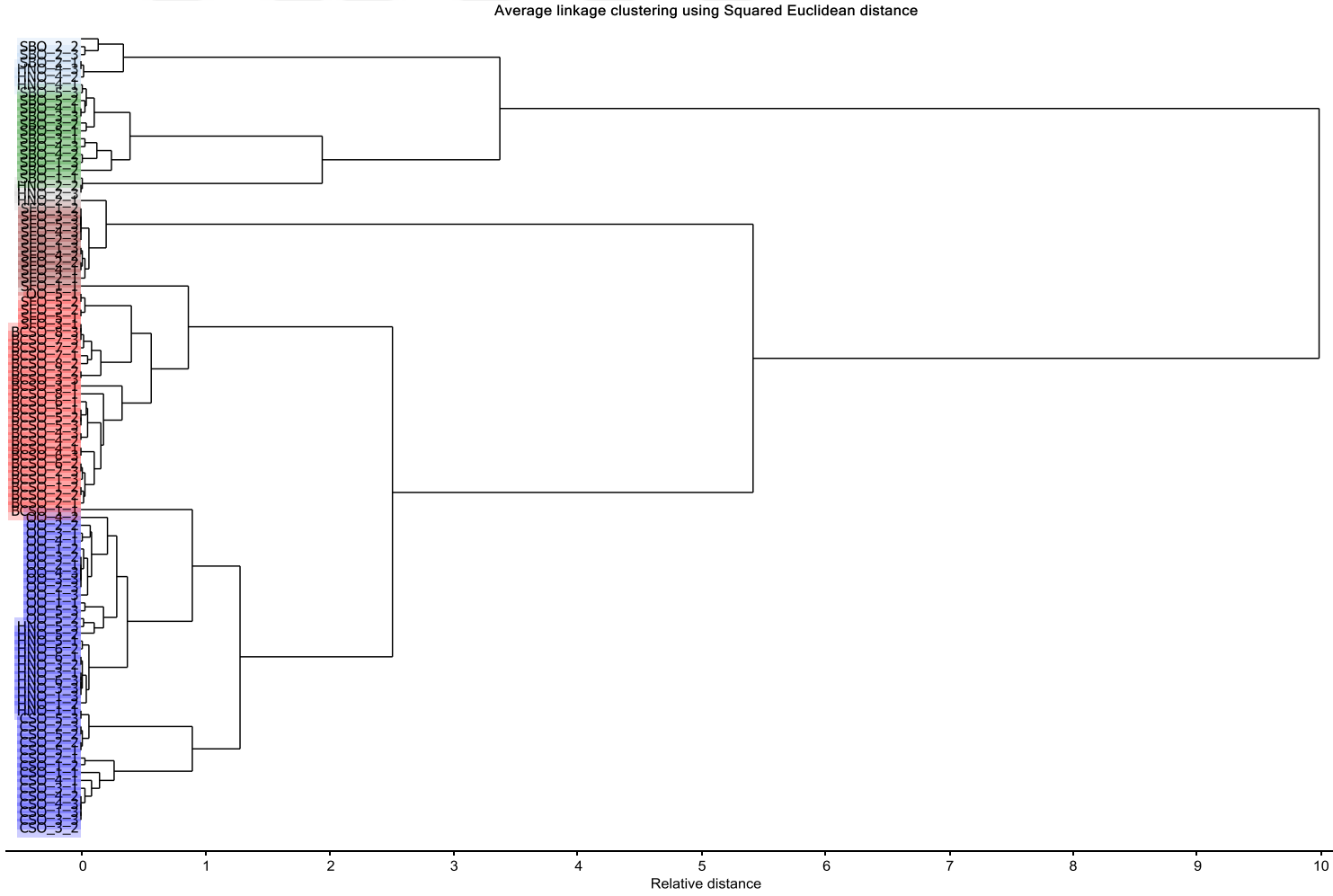
(e) Coomans grafiği_BCSO'nın SFO'dan ayrımı_¹H-NMR_ Bölge VI_1.00-0.25 ppm (¹H δ)

Şekil 4. 13: Saf çörek otu yağının saf rafine yağlardan ayrımının tespiti için, 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri

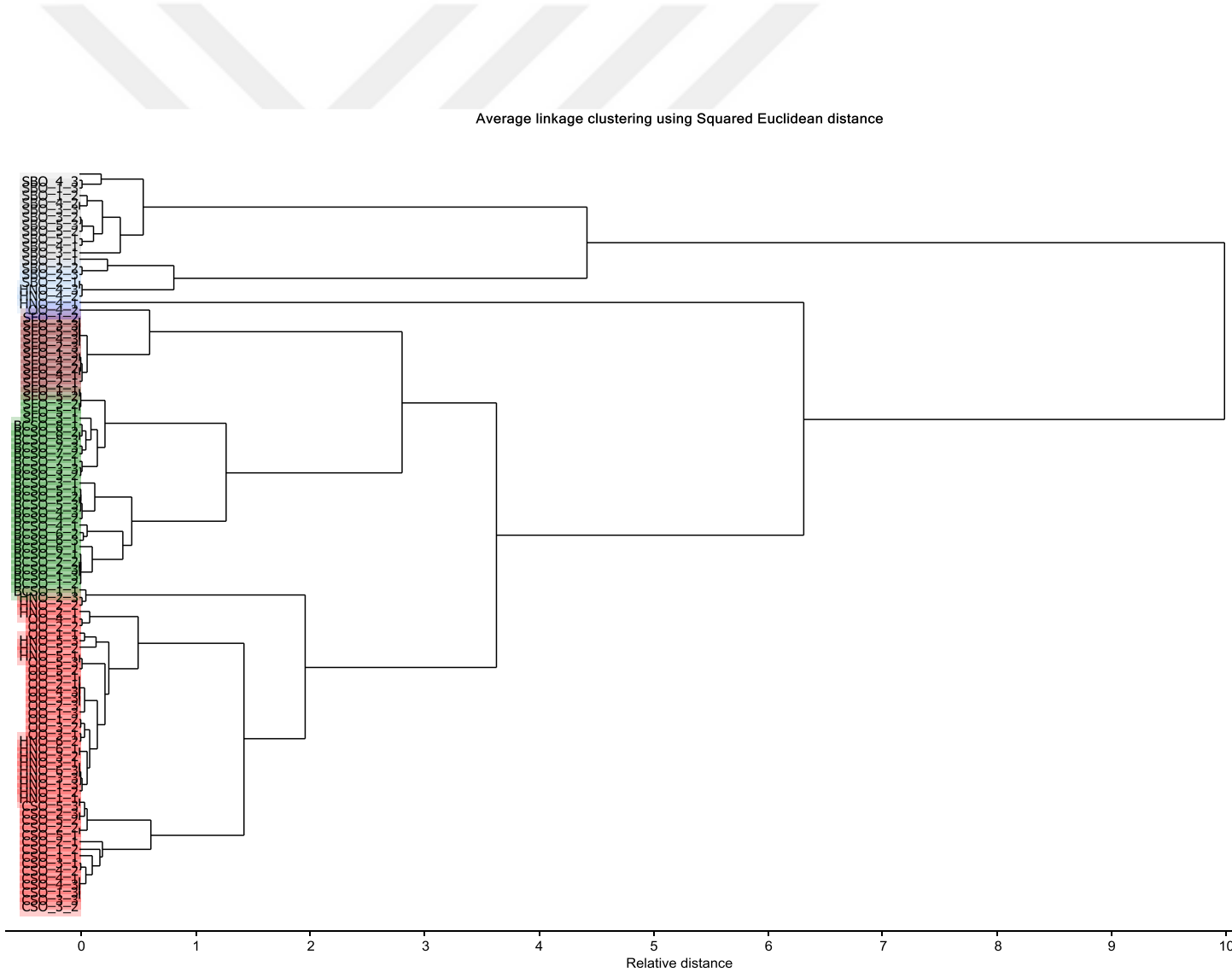
4.2.4. HCA analizlerine ait sonuçlar

SIMCA ve PCA sınıflandırma analizlerinin ardından, tez çalışmasında kullanılan saf yağ numuneleri için; tüm bölge 7.55–0.00 δ ppm kimyasal kayma değeri aralığında elde edilen veriler ve spektrumda belirlenen 6 farklı bölgeden elde edilen veriler kullanılarak gözetimsiz örüntü tanımlama/ sınıflandırma yöntemi olan hiyerarşik küme analizleri (HCA) gerçekleştirilmiştir.

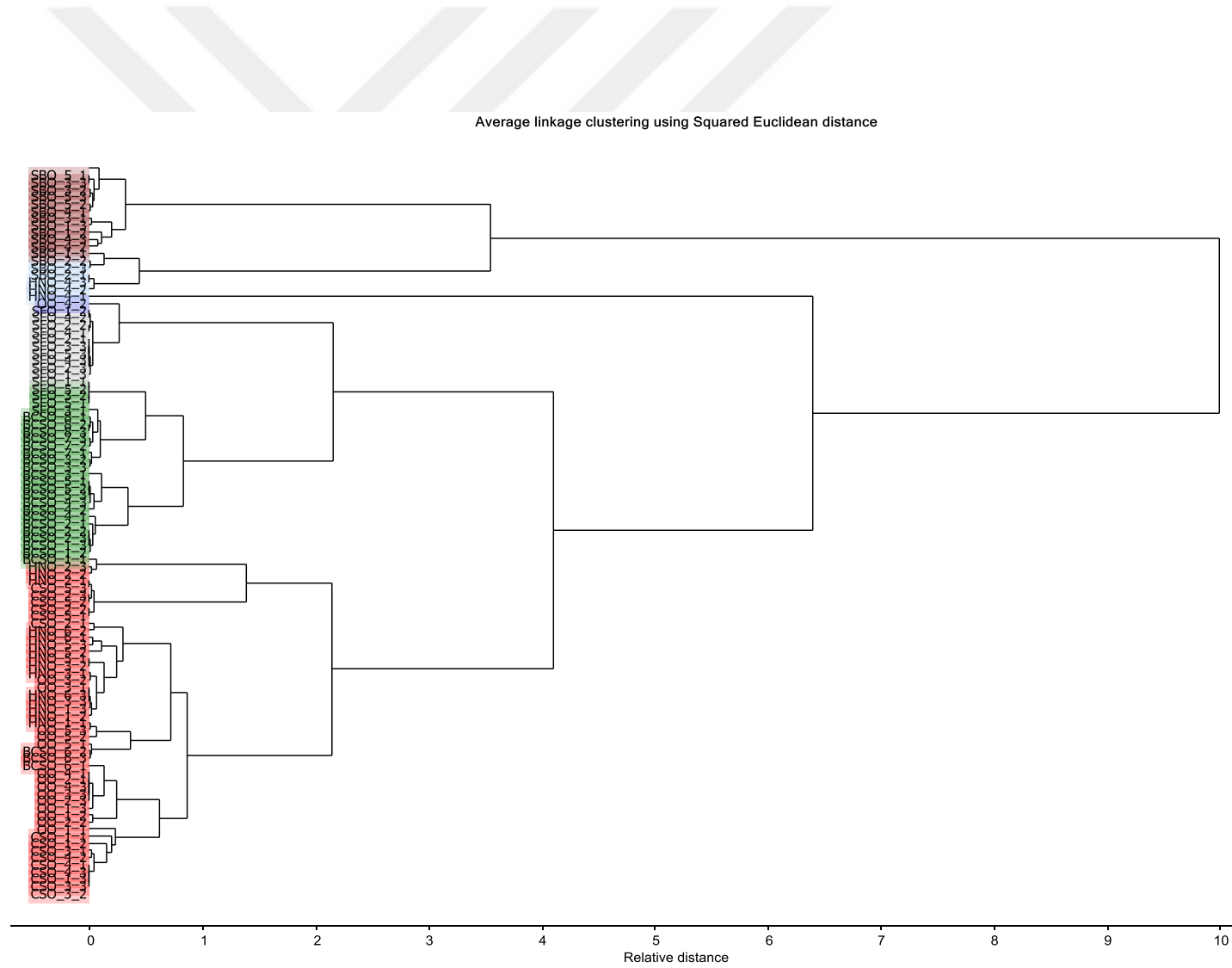
HCA'dan elde edilen dendogram grafikleri (Şekil 4.14–4.20) ile; incelenen soğuk pres çörek otu yağlarının kalite sınıfına kabul edilip edilmeyeceğine ya da diğer tür saf rafine yağlardan ayırt edilip edilemeyeceğine karar verilmeye çalışılmıştır. Elde edilen dendogramlardan görüleceği üzere; 95% güven aralığında soğuk pres çörek otu yağı numunelerinin tümü aynı grup içerisinde küme oluşturarak gruplandırılabilmiştir. HNO–2, HNO–4, SFO–5 ve SBO–2 nolu ticari marka örnekleri, kendi yağ gruplarından farklı küme oluşturarak ayrı gruplar oluşturmuştur. Bu numuneler haricinde saf rafine yağ örneklerinde ise (*soya yağı, pamuk yağı, ayçiçeği yağı, fındık yağı ve sızma zeytinyağı*) aynı tür yağlar, benzer kümeler oluşturarak başarılı bir şekilde sınıflandırılabilmiştir. HNO–2, HNO–4, SFO–5 ve SBO–2 nolu ticari marka örneklerinin farklı kümeleme oluşturması, bu yağların elde edildiği kaynağın farklılığı ya da tağşiş edilme olasılıkları ile ilgili bir durumun söz konusu olabileceği kanaatini oluşturmuştur.



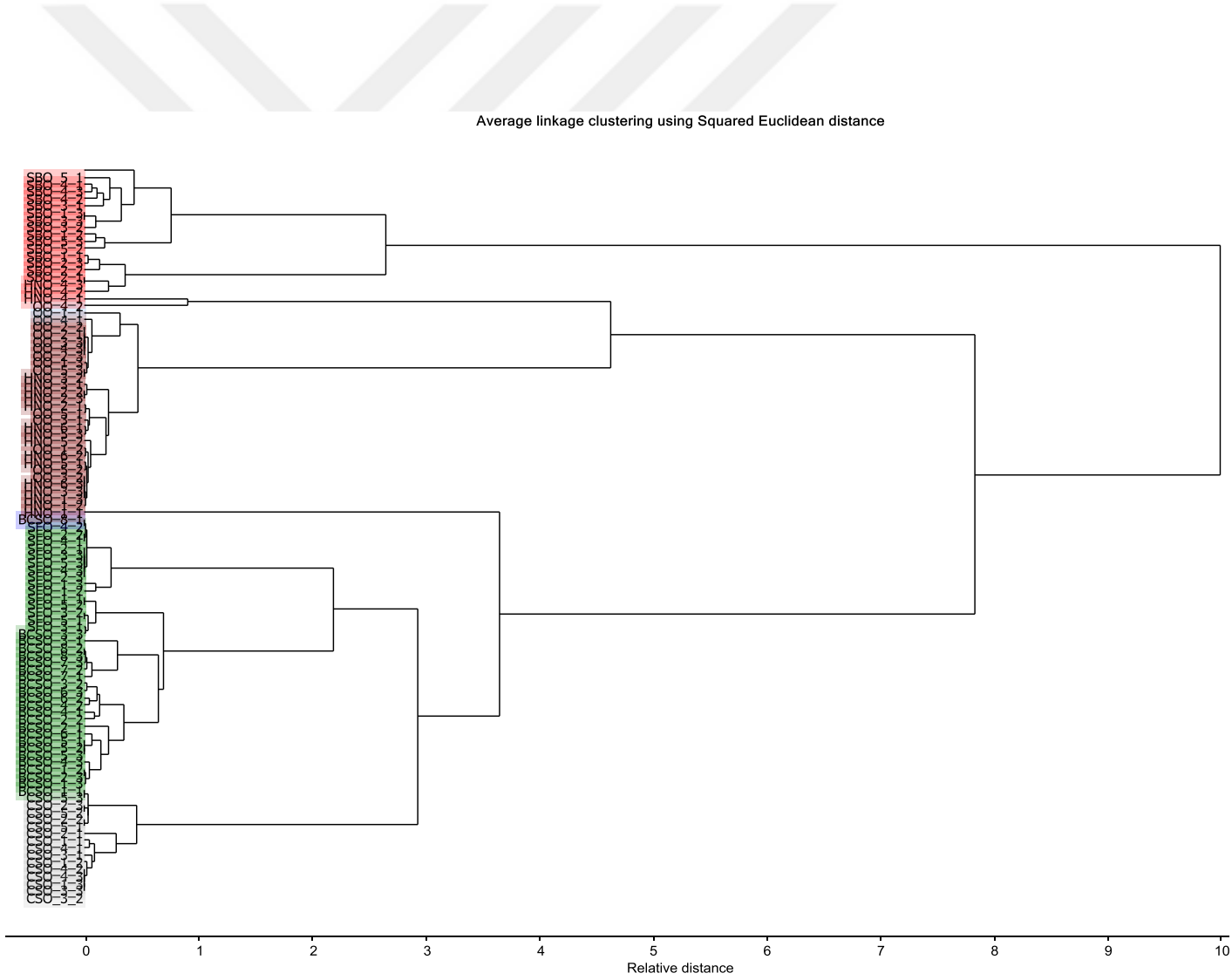
Şekil 4. 14: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



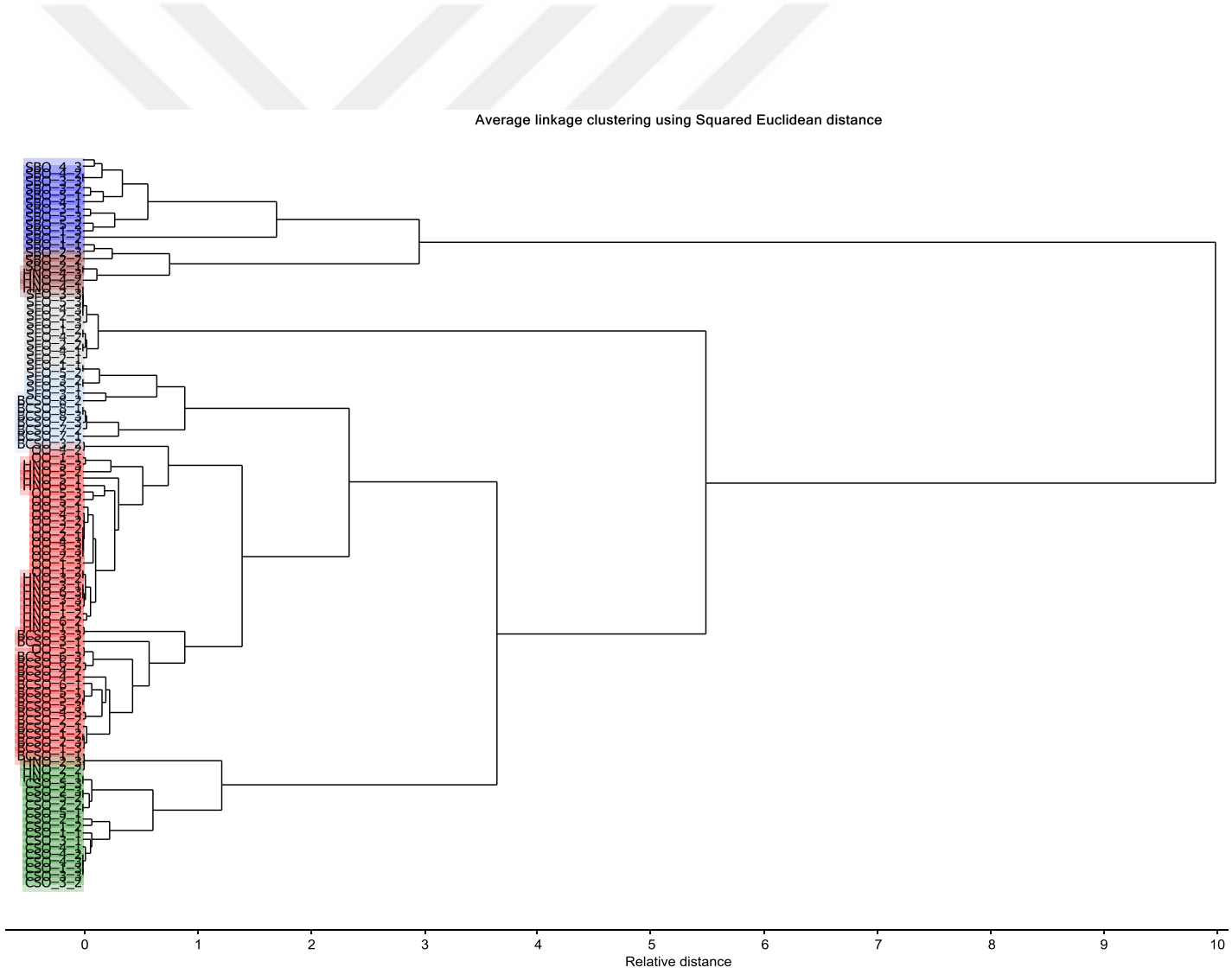
Şekil 4. 15: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 6.00–4.75 δ ppm (Bölge I) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



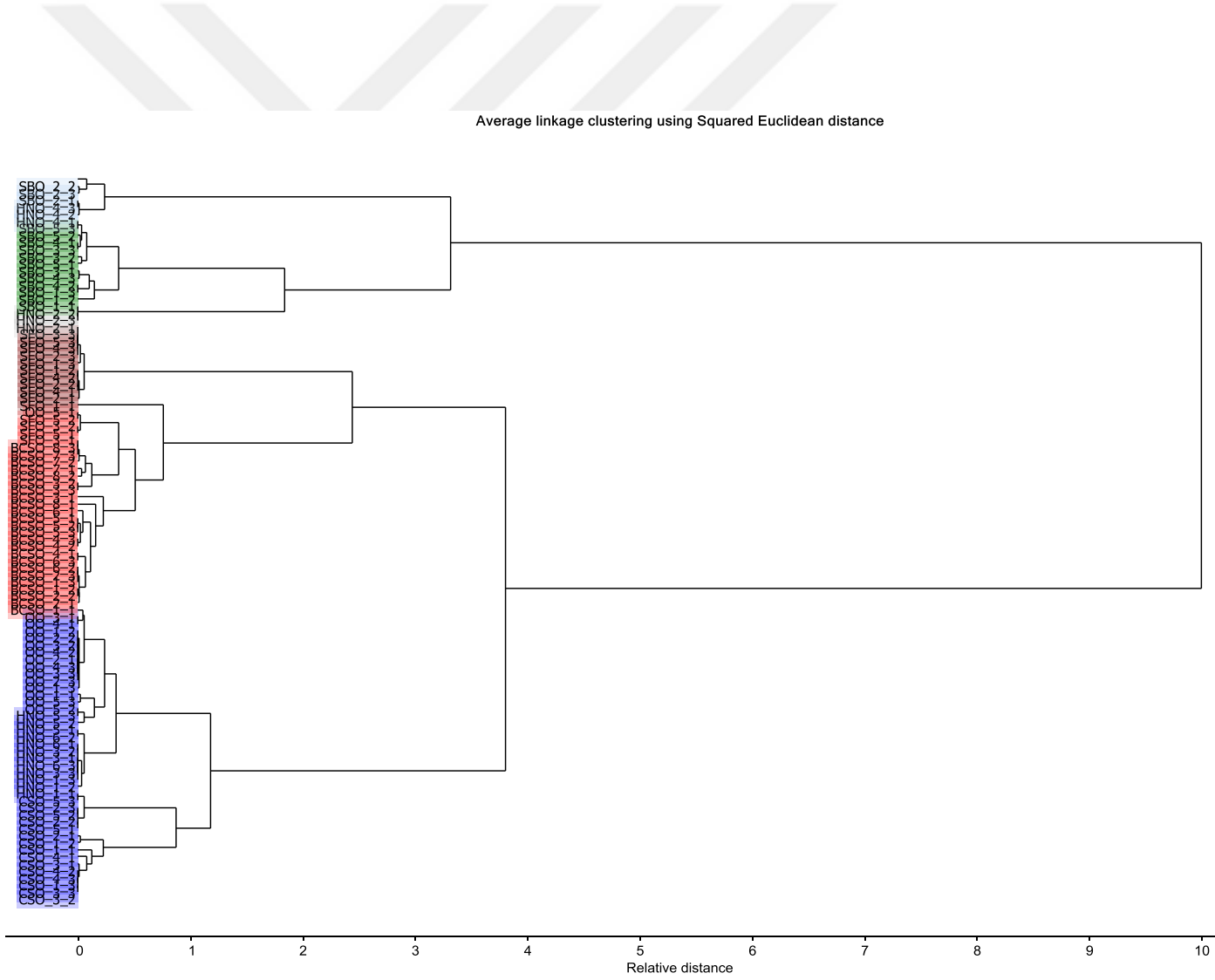
Şekil 4. 16: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



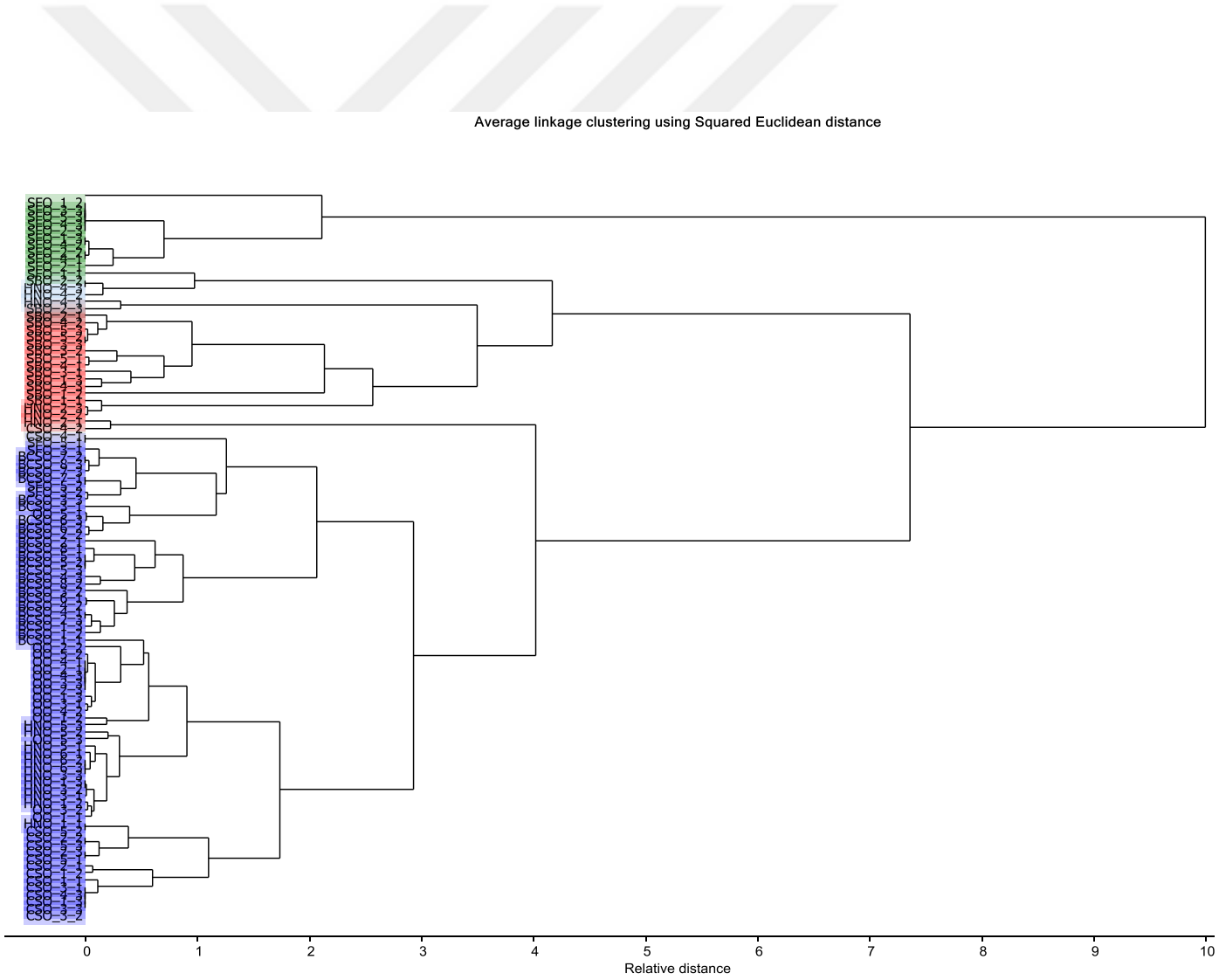
Şekil 4. 17: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



Şekil 4. 18: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



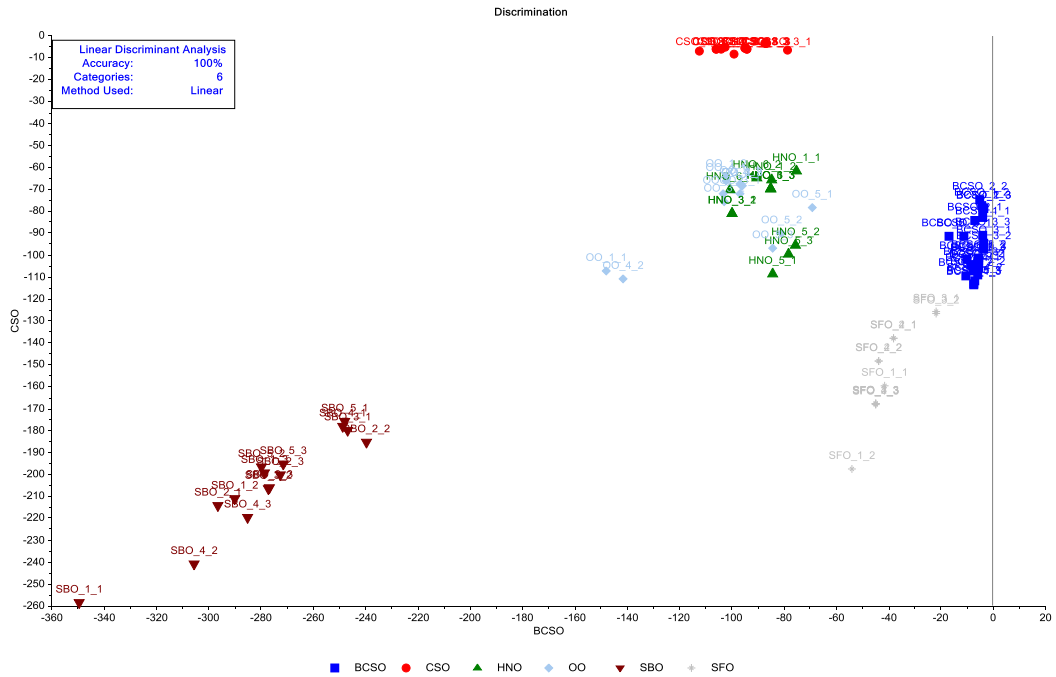
Şekil 4. 19: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri



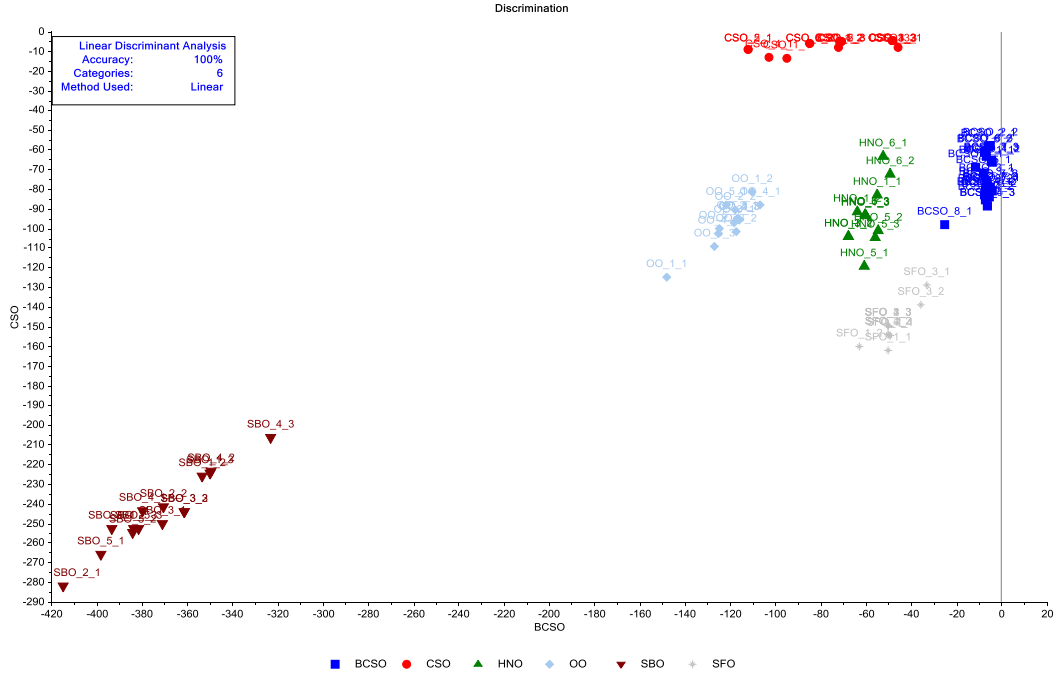
Şekil 4. 20: Farklı türdeki ve markalardaki saf yağ numunelerine ait 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI) spektral bölge verileri kullanılarak yapılan HCA analizlerine ait dendogram grafikleri

4.2.5. LDA analizlerine ait sonuçlar

Saf yağ numuneleri için gerçekleştirilen sınıflandırma analizlerinin son aşamasında; gözetimli örüntü tanımlama/ sınıflandırma yöntemi olan lineer discriminant analiz (LDA) uygulanmıştır. LDA modellemeleri ile numunelerin, lineer modelleme ile yüksek doğrulukla sınıflandırılıp sınıflandırılmayacağı tespit edilmeye çalışılmıştır. Saf yağ numunelerine ait tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri, ANOVA metodu ile değerlendirilerek farklandırma sürecinde dikkate alınabilecek en etkili değişkenler yani kayma değerleri saptanmıştır. Farklandırma oluşturduğu tespit edilen optimum kayma değerleri 2 farklı grupta değerlendirilmiş [I. bölge (5.52, 5.36, 5.29, 5.22, 5.06, 4.47, 4.39, 4.25, 4.17, 4.08 ve 3.89 δ ppm) ve II. bölge (2.38, 2.26, 2.14, 2.02, 1.98, 1.66, 1.56, 1.22, 0.87, 0.84 ve 0.72 δ ppm)] ve bu iki grup esas alınarak, analiz edilen tüm saf yağ numuneleri LDA analizine tabi tutulmuştur. LDA sınıflandırma grafikleri Şekil 4.21’de yer almaktadır. Lineer model ile iki grup için oluşturulan LDA grafiklerinde; analiz edilen numunelerin 100% doğrulukla sınıflandırılabilirdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.21). Farklı markalardaki çörek otu yağı örneklerinin, diğer yağlardan farklı ve kendi içerisinde grup oluşturarak başarılı bir şekilde gruplanmıştır.



(a)



(b)

Şekil 4. 21: Farklı türdeki saf yağ numunelerine ait tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan LDA analizlerine ait grafikler (a) I. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan BCSO–CSO lineer grafik, (b) II. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan BCSO–CSO lineer grafik

Çalışılan saf yağ örnekleri için lineer model ile oluşturulan LDA konfüzyon matrisi veri tablosu incelendiğinde ise; numunelerin büyük kısmının (100%) doğru grupta sınıflandırılabilirdi ancak HNO–2, HNO–4 ve SFO–5 nolu ticari marka örneklerinin şüpheli olduğu tespit edilmiştir. Şüpheli olan bu örnekler için sınıflandırma tablosu oluşturulduğunda; I. Bölge verileri ile oluşturulan LDA modellemesine göre HNO–2 nolu örneğin fındık yağı sınıfında, HNO–4 nolu örneğin soya yağı sınıfında, SFO–5 nolu örneğin ise ayçiçeği yağı sınıfında kabul edilmesi gerektiği görülmüştür. II. Bölge verileri ile oluşturulan LDA modellemesine göre ise; HNO–2 ve HNO–4 nolu örneklerin soya yağı sınıfında, SFO–5 nolu örneğin ise ayçiçeği yağı sınıfında kabul edilmesi gerektiği görülmüştür. Sonuç olarak; iki farklı marka fındık yağının yani HNO–2 ve HNO–4 nolu örneklerin taşış edilme olasılıklarının yüksek olduğu kanaatine varılmıştır.

I. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan LDA konfüzyon matrisi tablosu

Confusion matrix	Actual	BCSO	CSO	HNO	OO	SBO	SFO
Predicted		1	2	3	4	5	6
BCSO	1	24	0	0	0	0	0
CSO	2	0	15	0	0	0	0
HNO	3	0	0	12	0	0	0
OO	4	0	0	0	15	0	0
SBO	5	0	0	0	0	15	0
SFO	6	0	0	0	0	0	12

Şüpheli örneklere ait LDA sınıflandırma tablosu

Classified_Linear_selected regio		BCSO	CSO	HNO	OO	SBO	SFO	Class
		1	2	3	4	5	6	7
HNO_2_1	1	-239.5277	-124.6267	-95.9738	-117.1537	-148.2558	-351.4148	HNO
HNO_2_2	2	-252.1283	-136.5729	-100.8886	-125.4915	-154.0499	-365.6847	HNO
HNO_2_3	3	-247.7031	-129.8587	-103.3717	-122.3989	-140.6052	-359.7890	HNO
HNO_4_1	4	-261.7200	-210.2628	-195.5479	-280.1435	-39.4692	-395.1994	SBO
HNO_4_2	5	-267.9391	-209.7545	-188.3215	-274.3844	-38.4070	-400.9036	SBO
HNO_4_3	6	-267.9081	-209.7073	-188.2944	-274.3444	-38.4080	-400.8740	SBO
SFO_5_1	7	-21.6700	-125.8932	-129.2194	-123.9501	-345.4148	-18.0211	SFO
SFO_5_2	8	-21.5788	-126.7160	-128.3540	-120.6642	-356.9707	-18.6483	SFO
SFO_5_3	9	-44.6443	-168.1139	-163.3986	-164.1110	-389.9202	-3.2035	SFO

II. Bölge verileri kullanılarak oluşturulan LDA konfüzyon matrisi tablosu

Confusion matrix	Actual	BCSO	CSO	HNO	OO	SBO	SFO
Predicted		1	2	3	4	5	6
BCSO	1	24	0	0	0	0	0
CSO	2	0	15	0	0	0	0
HNO	3	0	0	12	0	0	0
OO	4	0	0	0	15	0	0
SBO	5	0	0	0	0	15	0
SFO	6	0	0	0	0	0	12

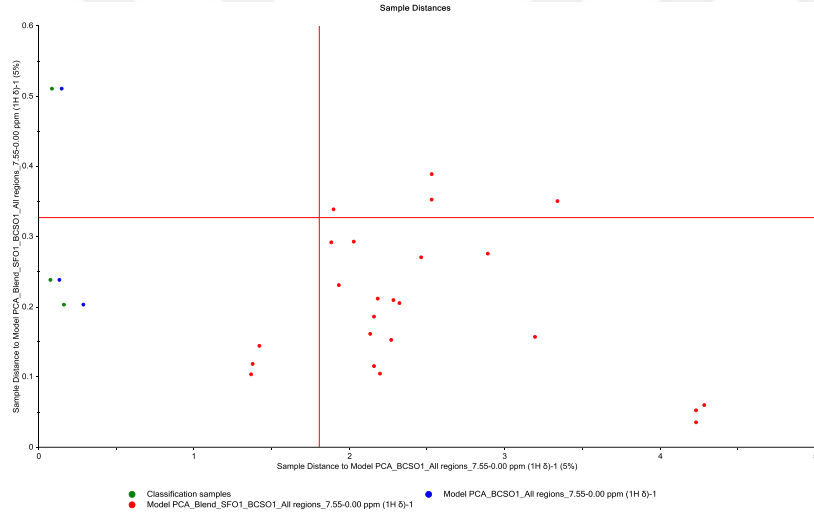
Şüpheli örneklere ait LDA sınıflandırma tablosu

Classified_Linear_selected regio		BCSO	CSO	HNO	OO	SBO	SFO	Class
		1	2	3	4	5	6	7
HNO_2_1	1	-233.8489	-140.1488	-196.2273	-283.9796	-128.4787	-264.3620	SBO
HNO_2_2	2	-234.2232	-143.2220	-199.5411	-290.8761	-131.9776	-264.3400	SBO
HNO_2_3	3	-253.9048	-155.3178	-213.8960	-307.9518	-134.7051	-281.7195	SBO
HNO_4_1	4	-529.2278	-360.6066	-490.1370	-433.1674	-73.8911	-657.9347	SBO
HNO_4_2	5	-495.1717	-332.9369	-459.7590	-423.7438	-50.7237	-627.5692	SBO
HNO_4_3	6	-495.1607	-332.9250	-459.7448	-423.7356	-50.7163	-627.5549	SBO
SFO_5_1	7	-33.1469	-129.0535	-80.0111	-138.0806	-480.9342	-16.5274	SFO
SFO_5_2	8	-35.6437	-139.1359	-75.9100	-140.8571	-482.4035	-17.9568	SFO
SFO_5_3	9	-50.2840	-149.5787	-94.5311	-176.3446	-481.7397	-3.3197	SFO

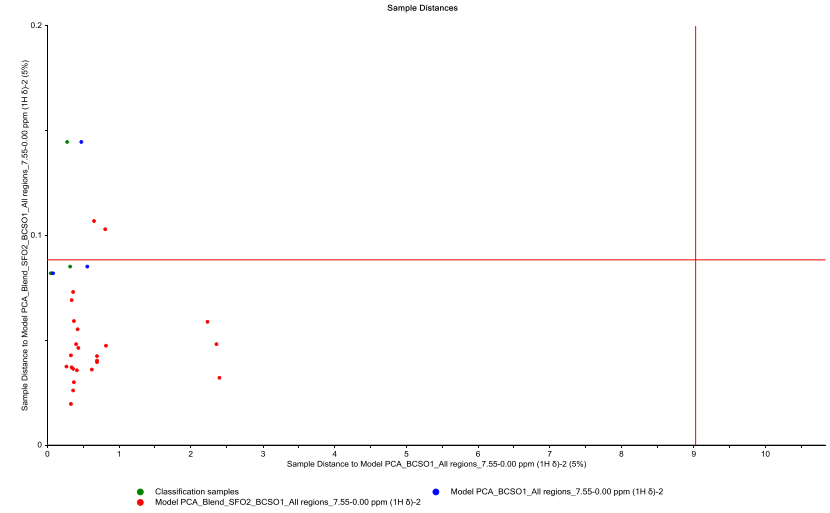
4.3. Karışım Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kalitatif/ Kemometrik Sınıflandırma Analizlerine Ait Sonuçlar

4.3.1. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Ayçiçek Yağı Karışım Numunelerinin Çok Değişkenli Sınıflandırma Analizleri

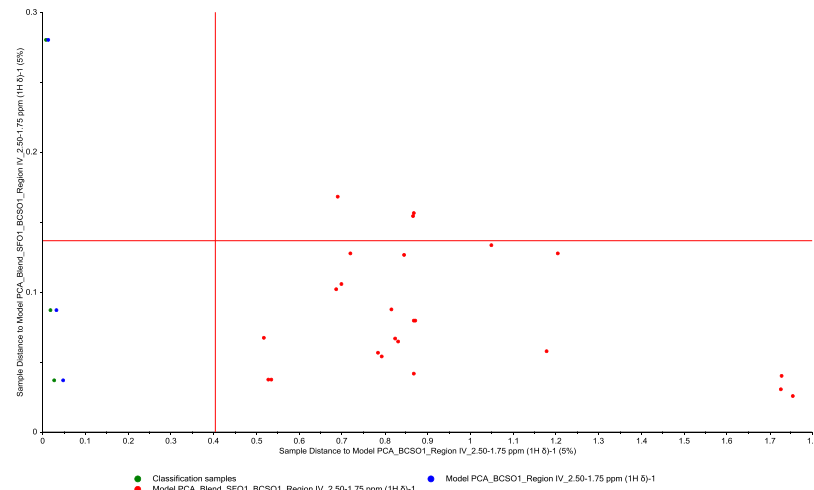
Çörek otu yağının ayçiçeği ile farklı oranlarda oluşturulan karışım yağ numuneleri (0–50%) için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) aralıklarındaki kayma verileri ile elde edilen Coomans grafikleri Şekil 4.22–25’de yer almaktadır. 95% güven aralığında elde edilen Coomans grafiklerinden görüleceği üzere, çörek otu yağı numuneleri ve karışım numuneleri, başarılı bir şekilde farklı gruplarda sınıflandırılabilmiştir. Özellikle BCSO–1 ve BCSO–2’nin SFO–1 ile karışımlarından ayırımında, sınıflandırma limit değerinin 1%’in altına indirilebildiği tespit edilmiştir. Bu örnekler haricindeki diğer sınıflandırmalarda da başarılı sonuçlar elde edilebilmiştir. Karışım içerisindeki benzerlik düzeyi azaldıkça, Coomans grafiklerindeki yerleşim bölgelerinin de uzaklaştığı ve numunelerin sınıflandırılmasında daha iyi sonuçların elde edilebildiği gözlemlenmiştir.



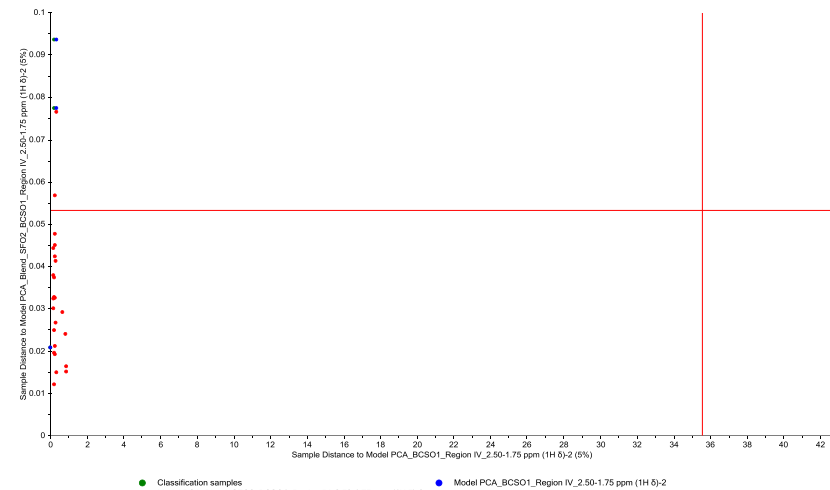
(a) Coomans grafiği_BCSO-1'nin SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-1'nin SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm

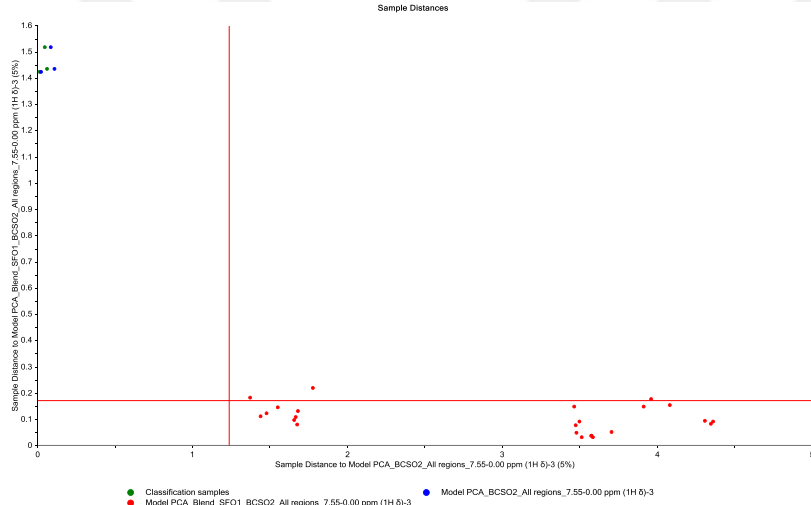


(c) Coomans grafiği_BCSO-1'nin SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

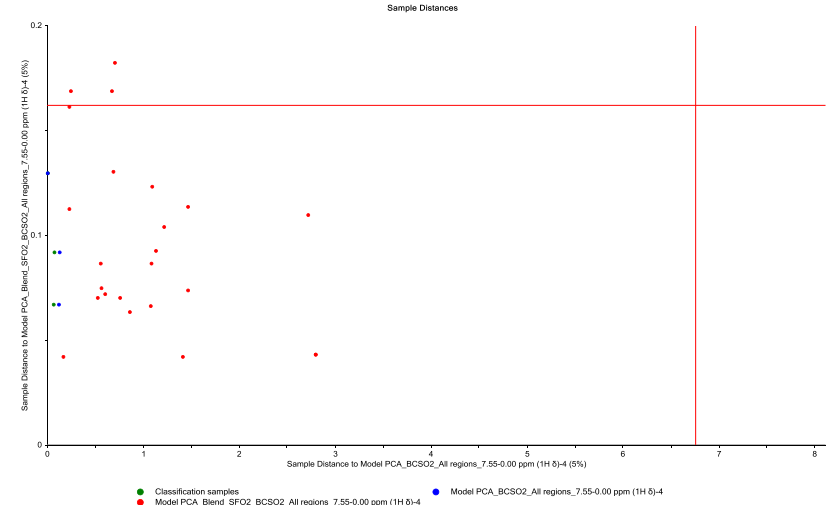


(d) Coomans grafiği_BCSO-1'nin SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

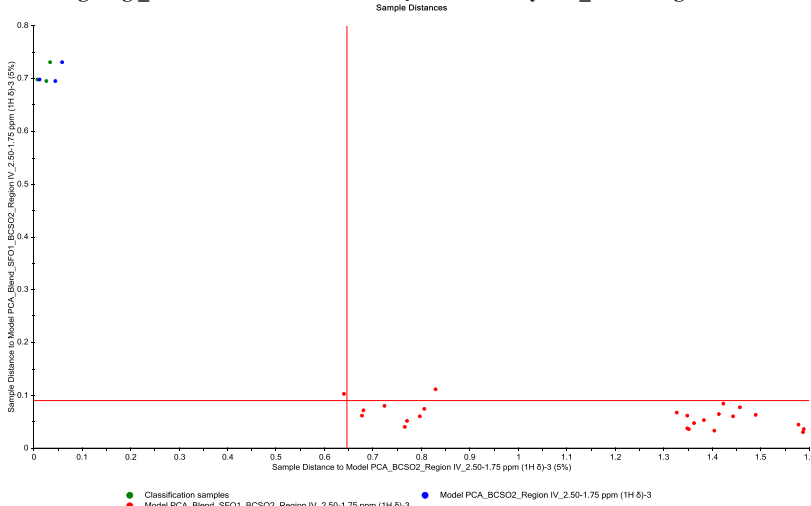
Şekil 4. 22: Saf BCSO-1'in, SFO-1ve SFO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



(a) Coomans grafiği_BCSO-2'nin SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-2'nin SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm

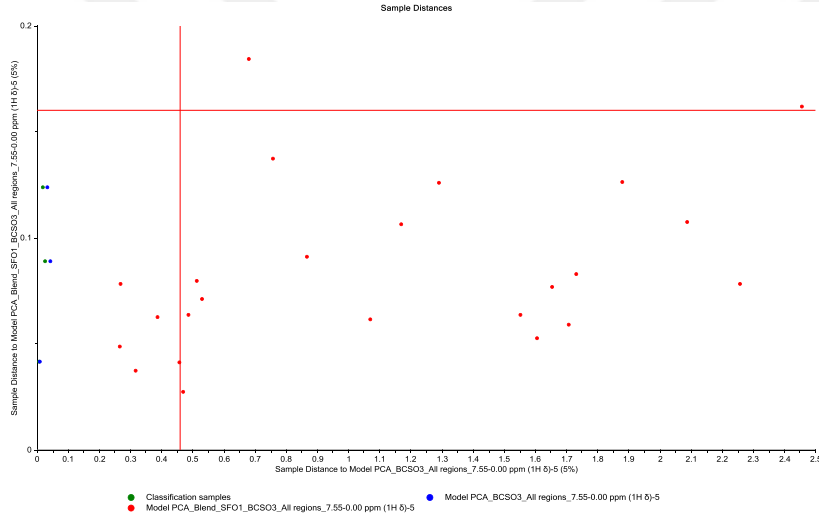


(c) Coomans grafiği_BCSO-2'nin SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

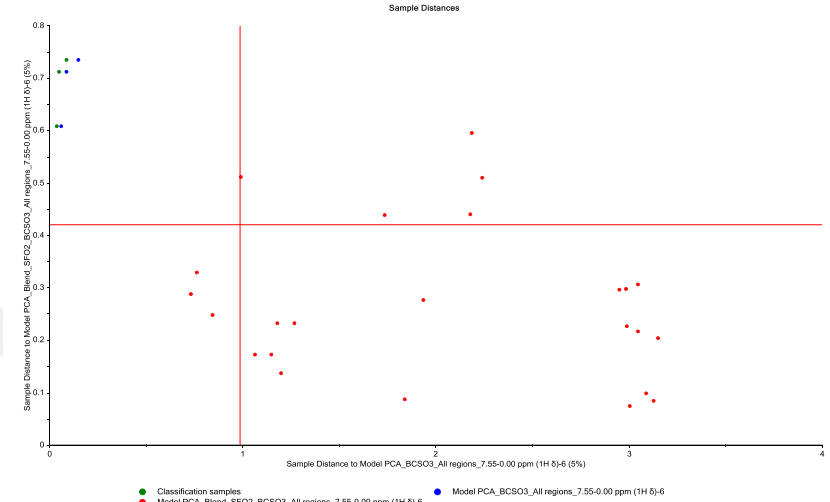


(d) Coomans grafiği_BCSO-2'nin SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

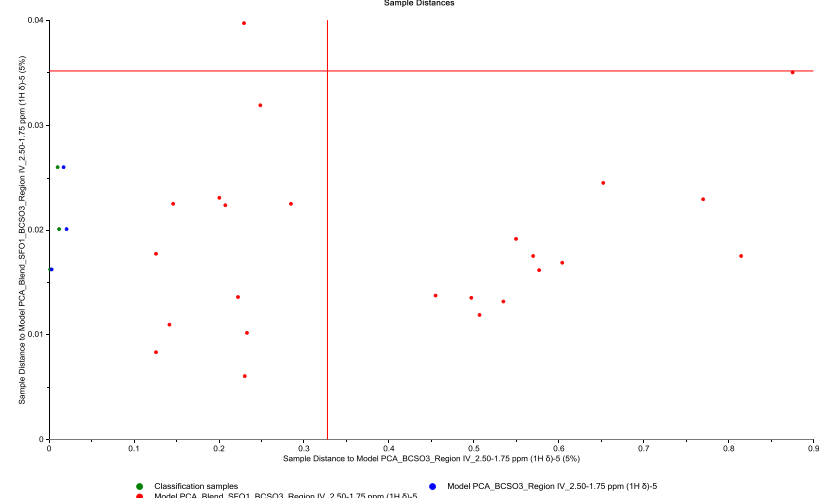
Şekil 4. 23: Saf BCSO-2'in, SFO-1ve SFO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



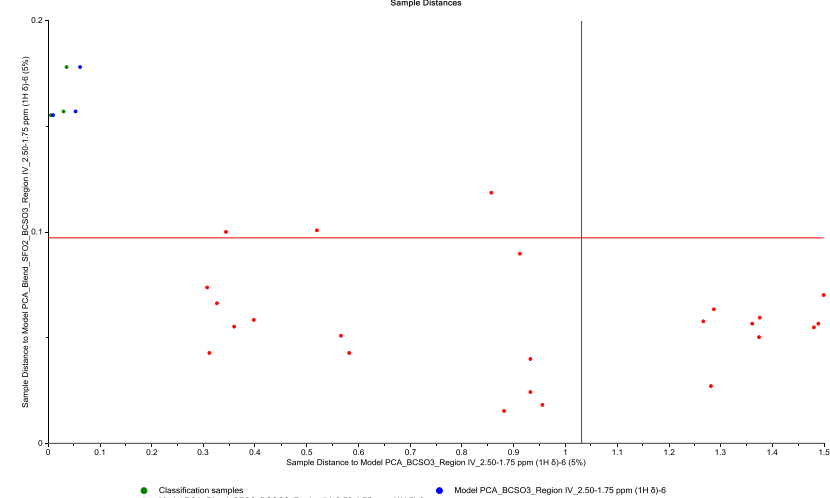
(a) Coomans grafiği_BCSO-3'ün SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-3'ün SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm

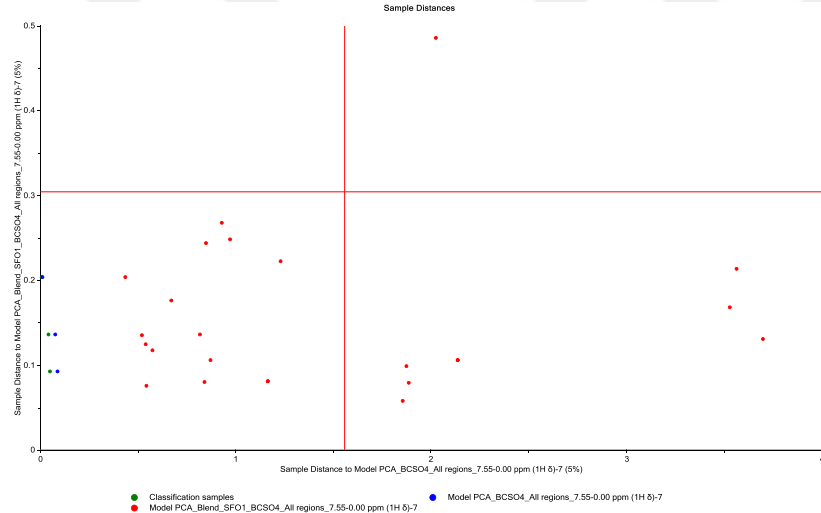


(c) Coomans grafiği_BCSO-3'ün SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

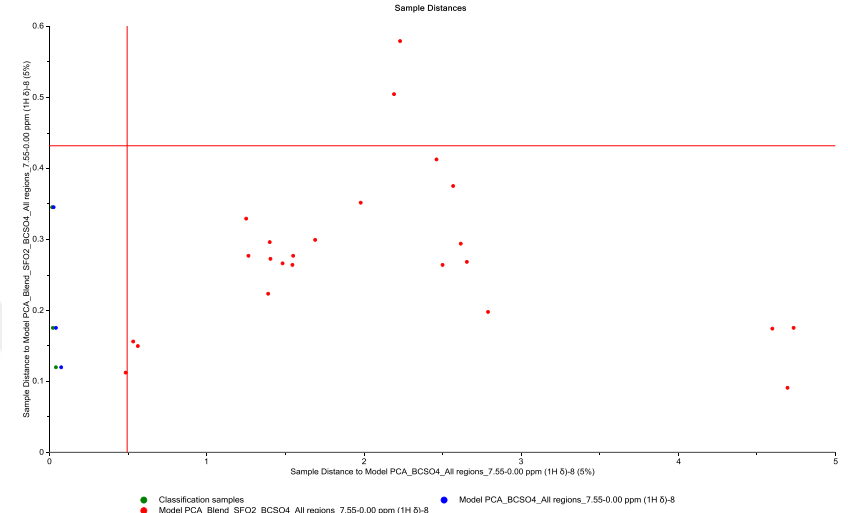


(d) Coomans grafiği_BCSO-3'ün SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

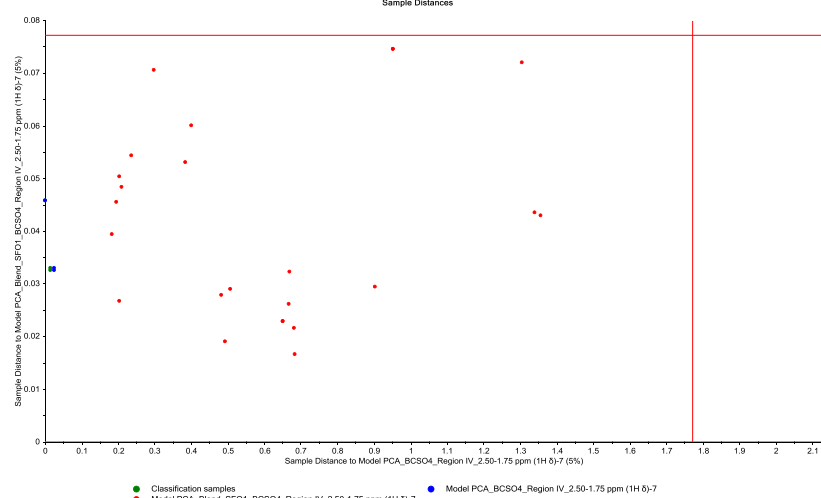
Şekil 4. 24: Saf BCSO-3'ün, SFO-1 ve SFO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



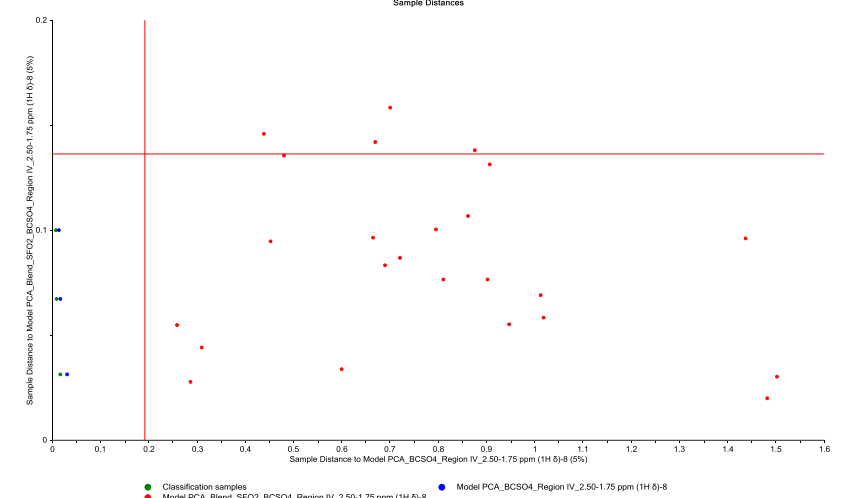
(a) Coomans grafiği_BCSO-4'ün SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-4'ün SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(c) Coomans grafiği_BCSO-4'ün SFO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

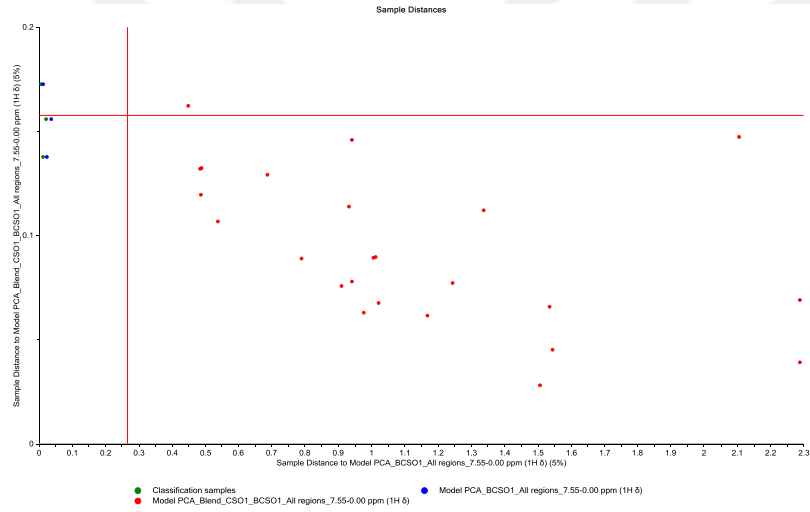


(d) Coomans grafiği_BCSO-4'ün SFO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

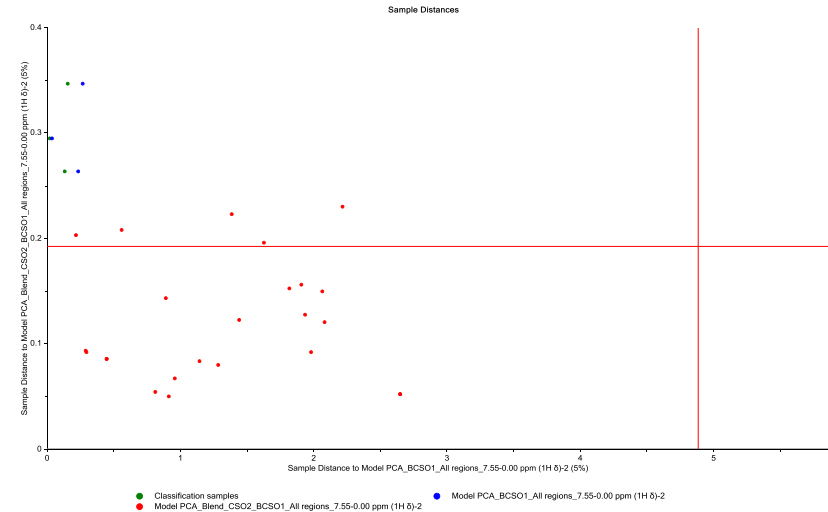
Şekil 4. 25: Saf BCSO-4'ün, SFO-1 ve SFO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi

4.3.2. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Pamuk Yağı Karışım Numunelerinin Çok Değişkenli Sınıflandırma Analizleri

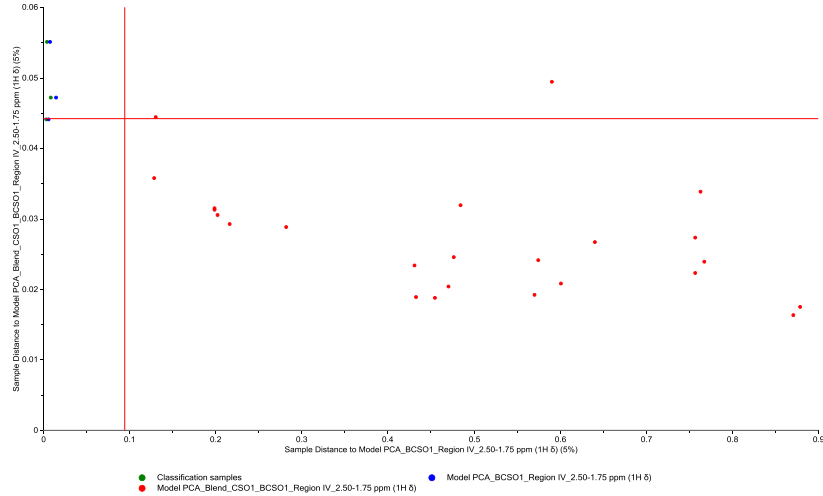
Çörek otu yağının ucuz rafine pamuk yağı ile farklı oranlarda oluşturulan karışım yağ numuneleri (0–50%) için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) aralıklarındaki kayma verileri ile elde edilen Coomans grafikleri ise Şekil 4.26–29’da yer almaktadır. 95% güven aralığında elde edilen Coomans grafiklerinden görüleceği üzere, çörek otu yağı numuneleri ve pamuk yağı karışım numuneleri, büyük oranda farklı gruplarda başarılı bir şekilde sınıflandırılabilmiştir. Genel anlamda değerlendirme yapılacak olursa, ayçiçeği ile yapılan karışımlara nazaran, pamuk yağı ile yapılan karışımlarda sınıflandırmanın daha net bir şekilde gerçekleştirilebilmiştir. 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) kayma verileri ile elde edilen Coomans grafiklerinin, 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) aralıklarındaki modellemelere kıyasla daha başarılı oldukları tespit edilmiştir. Tüm çörek otu numunelerinin CSO–1 ile olan tüm karışımlarından ayırımında ve BCSO–4 numunelerinin CSO–1 ve CSO–2 ile olan karışımlarından ayırımında, sınıflandırma limit değerinin 1%’in altına indirilebildiği tespit edilmiştir.



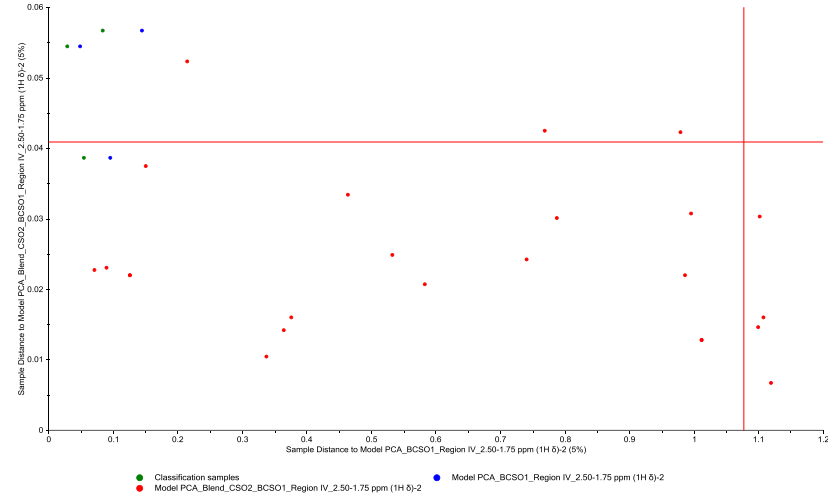
(a) Coomans grafiği_BCSO-1'nin CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-1'nin CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm

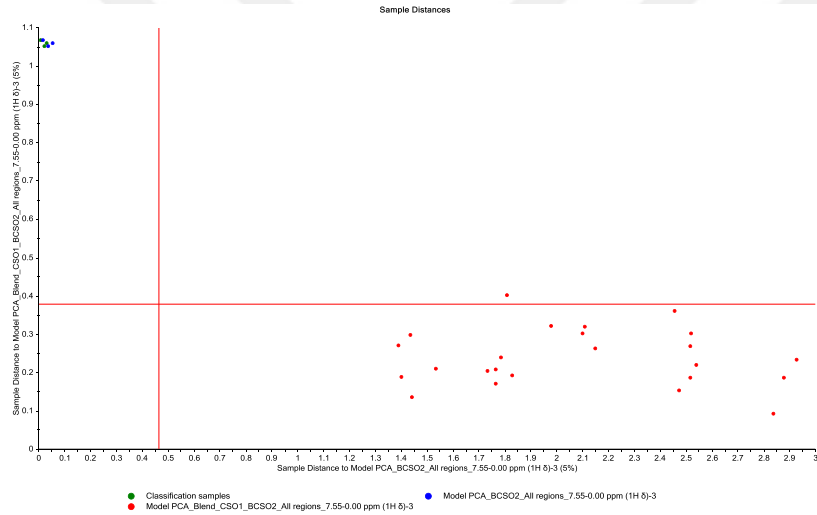


(c) Coomans grafiği_BCSO-1'nin CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

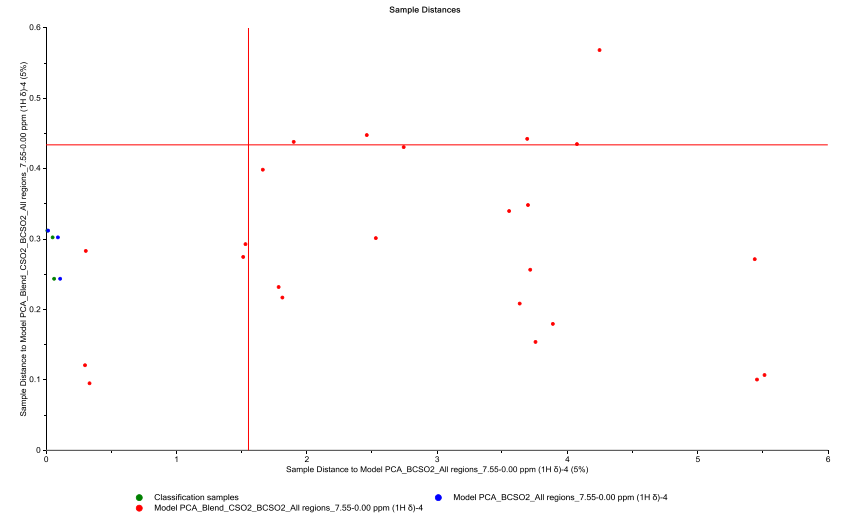


(d) Coomans grafiği_BCSO-1'nin CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

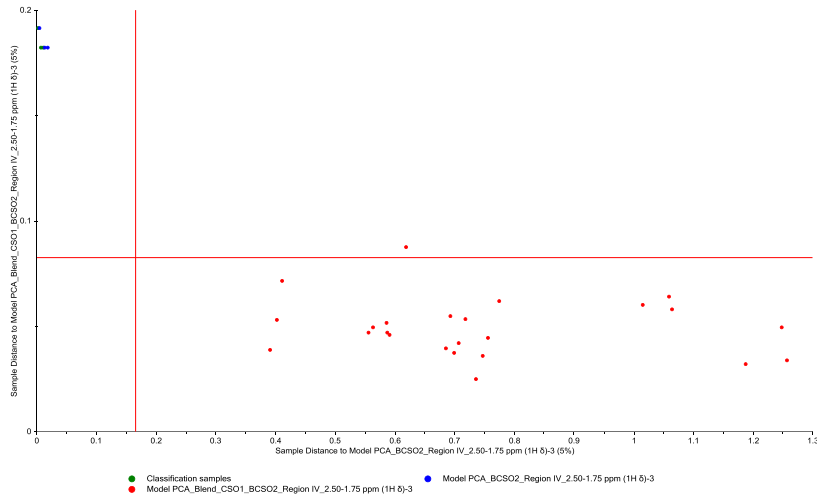
Şekil 4. 26: Saf BCSO-1'in, CSO-1ve CSO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



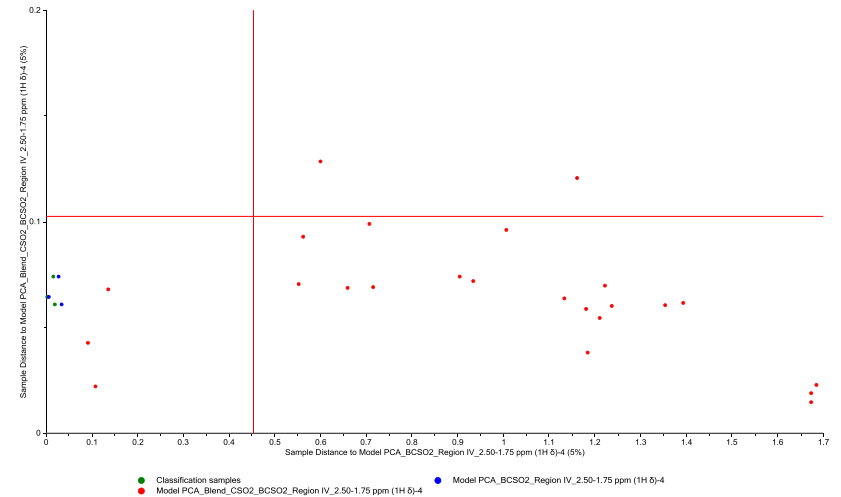
(a) Coomans grafiği_BCSO–2'nın CSO–1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO–2'nın CSO–2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55–0.00 δ ppm

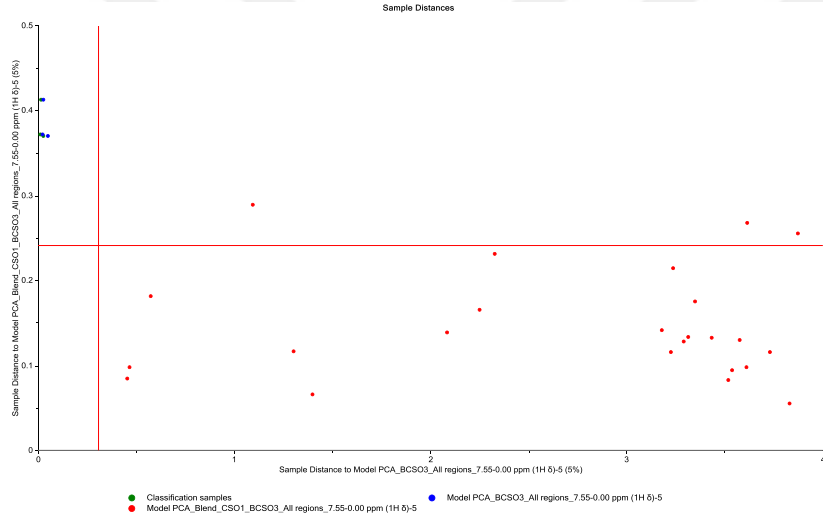


(c) Coomans grafiği_BCSO–2'nın CSO–1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm (^1H δ)

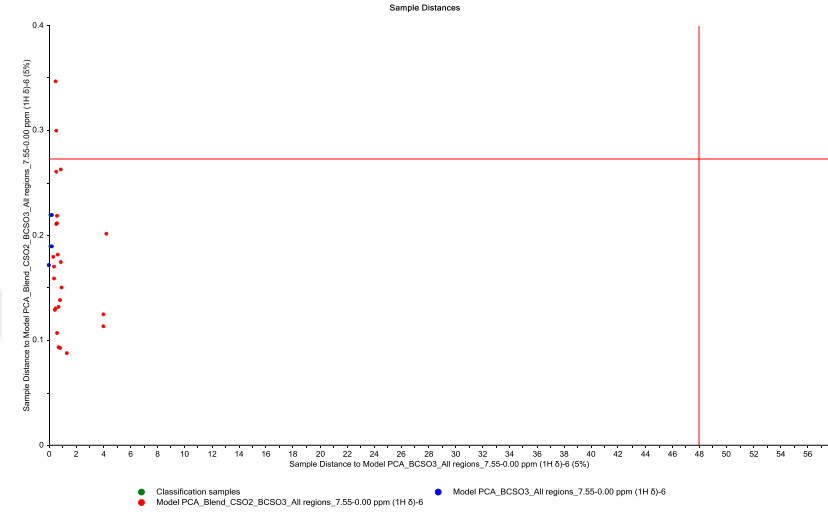


(d) Coomans grafiği_BCSO–2'nın CSO–2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm (^1H δ)

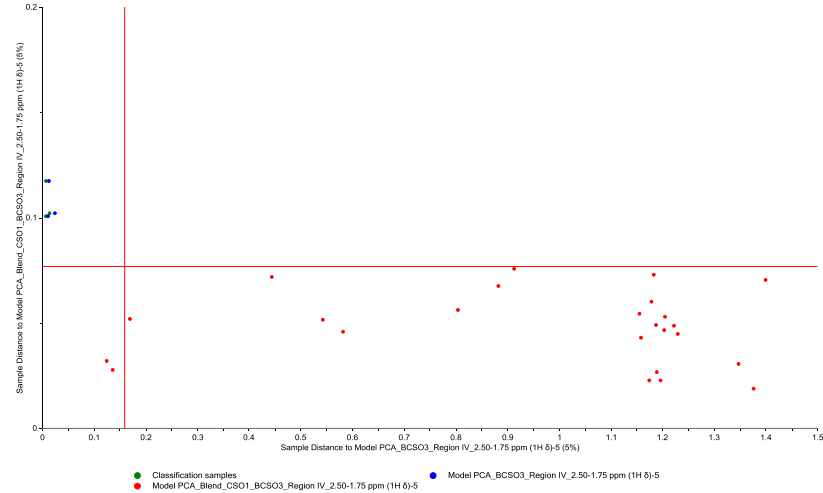
Şekil 4. 27: Saf BCSO–2'in, CSO–1ve CSO–2'den ayrımının tespiti için 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



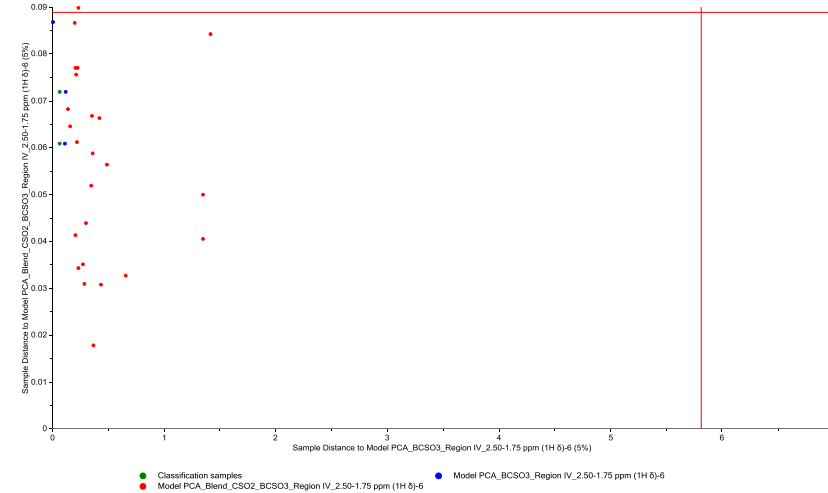
(a) Coomans grafiği_BCSO-3'ün CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-3'ün CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm

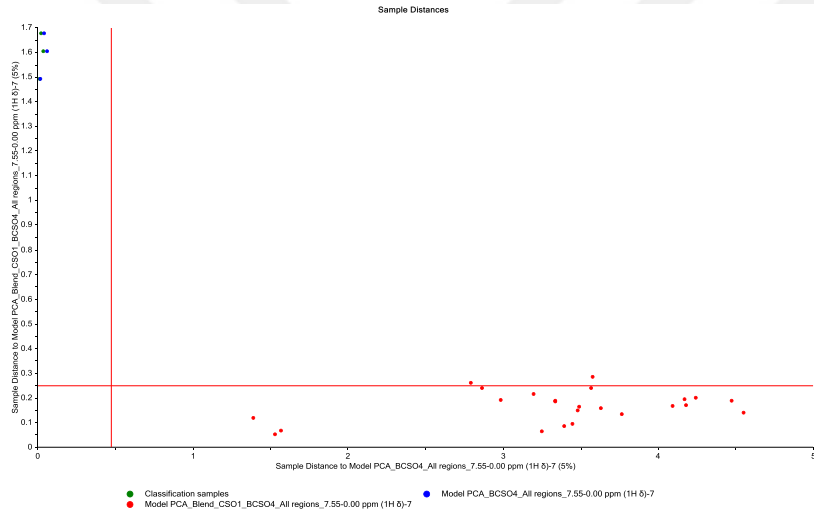


(c) Coomans grafiği_BCSO-3'ün CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

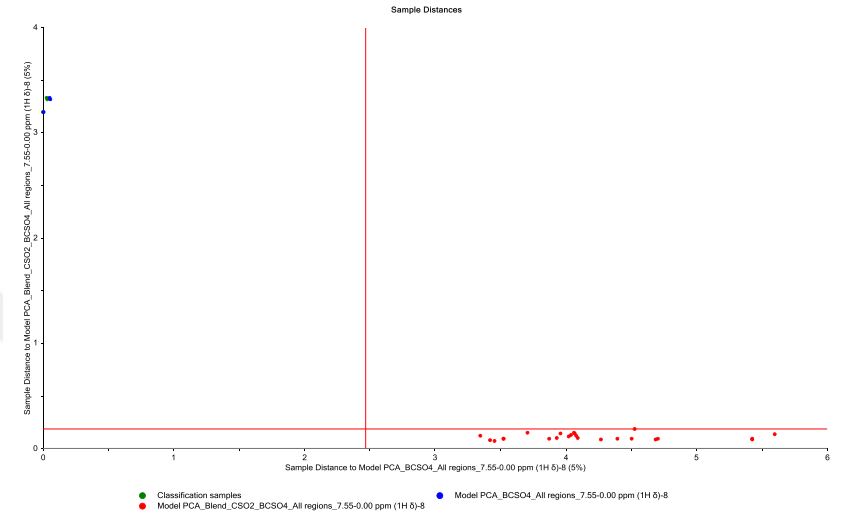


(d) Coomans grafiği_BCSO-3'ün CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

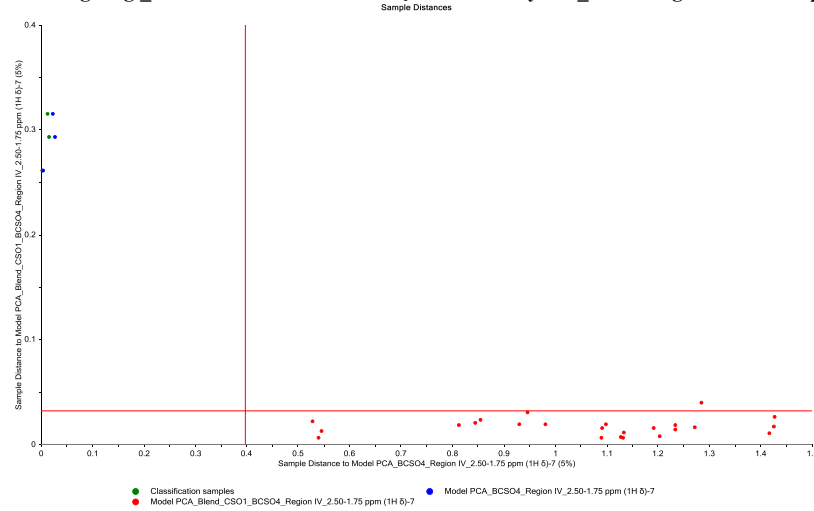
Şekil 4. 28: Saf BCSO-3'ün, CSO-1 ve CSO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi



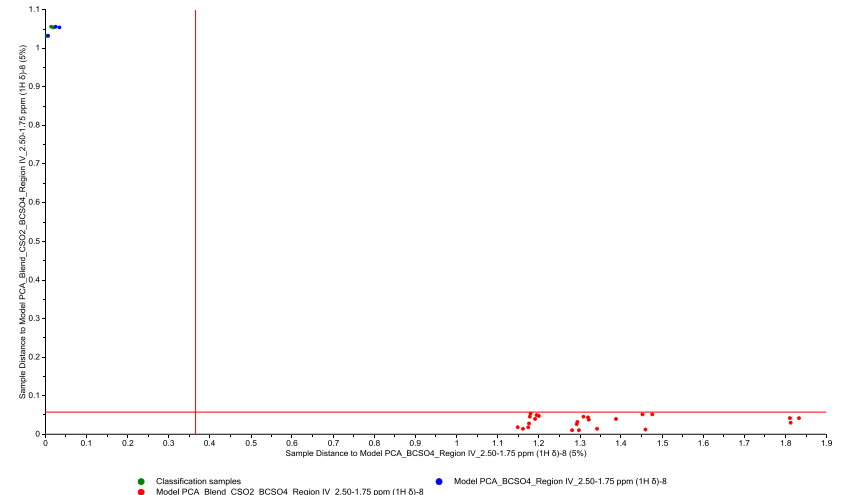
(a) Coomans grafiği_BCSO-4'ün CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(b) Coomans grafiği_BCSO-4'ün CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_ Tüm bölge_7.55-0.00 δ ppm



(c) Coomans grafiği_BCSO-4'ün CSO-1 ile karışımlarından ayrımı_Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)



(d) Coomans grafiği_BCSO-4'ün CSO-2 ile karışımlarından ayrımı_Bölge IV_2.50-1.75 ppm ($^1\text{H } \delta$)

Şekil 4. 29: Saf BCSO-4'ün, CSO-1 ve CSO-2'den ayrımının tespiti için 7.55-0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) ve 2.50-1.75 δ ppm (Bölge IV) verileri kullanılarak yapılan SIMCA analizlerine ait Coomans grafikleri, 95% güven seviyesi

4.4. Karışım Yağ Numunelerinin Çok Değişkenli Kantitatif/ Kemometrik Kalibrasyon Analizlerine Ait Sonuçlar

Kantitatif olarak taşıyıcı durumunu değerlendirmek üzere hazırlanan çörek otu yağı–pamuk yağı ya da çörek otu yağı–ayçiçek yağı karışımlarına ait spektral veriler, kısmi en küçük kareler regresyon (partial least squares regression, PLS–R) kemometrik veri analiz yöntemi ile değerlendirilmiştir. PLS–R yönteminin tahminini ve güvenilirliğini hesaplamak yani valide etmek için “*cross validasyon*” yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada analiz verisi ile konsantrasyon değerleri arasında iyi bir korelasyon sağlamak için veri ön işleme yapılmıştır. Numunelerden seçilen 4 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu yağı ve model olarak seçilen 2 farklı firmaya ait rafine ayçiçeği yağı yada 2 farklı firmaya ait rafine pamuk yağı numuneleri kullanılarak yağ karışımları hazırlanmıştır (Çizelge 3.4).

Soğuk pres çörek otu yağına ilave edilen rafine yağ oranının, 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% ve 50% (hacim/hacim, v/v) şeklinde olacağı toplam 144 adet yağ karışım numunesi hazırlanmıştır. Bu karışımlardan rastgele seçilen 108 adet yağ karışım numunesi ve karışım hazırlamada kullanılan 4 farklı firmaya ait saf çörek otu yağı numunesi “kalibrasyon seti numunesi” (*toplam karışımın dörtte üçü*); kalan 36 adet yağ karışım numunesi ise (*toplam karışımın dörtte biri*) “kalibrasyon modelini doğrulama seti/ validasyon seti numunesi” olarak tanımlanmıştır. Hazırlanan karışımlara ^1H –NMR spektroskopi analizlerinin uygulanmasının ardından, 7.55–0.00 δ ppm (tüm spektral bölge) aralıklarındaki kayma verilerine, çok değişkenli veri analizleri uygulanarak PLS–R kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur. Böylece ^1H –NMR tekniğinin çok değişkenli veri analiz yöntemleri ile birlikte kullanımı ile soğuk pres çörek otu yağına katıştırılan düşük maliyetli rafine pamuk yağı ve rafine ayçiçeği yağlarının miktarını (kantitatif) belirlemeye yönelik değerlendirmeler yapılabilmektedir. ^1H –NMR spektrumlarında tüm spektral bölge tarama spektrumları için, oluşturulan numune setleri için (Çizelge 3.4) ayrı kalibrasyon modelleri oluşturulmuştur. Her bir kalibrasyon modeli için optimum rank değerleri tespit edilmiş, bu değeri belirlemenin kriteri; test set veya cross validasyon analizinin sonucundan elde edilen RMSEC, RMSECV ve R^2 değerlerinin tespitidir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2: Çörek otu yağının rafine ayçiçeği ve pamuk yağları ile karışımlarının ¹H–NMR verileri kullanılarak yapılan PLS–R analizlerine ait kalibrasyon ve validasyon sonuçları

PLS–R analizlerine ait kalibrasyon ve validasyon sonuçları_ NMR tüm bölge 7.55-0.00 ppm (¹ H δ)										
Yağ karışımları		Numune sayısı	Kalibrasyon seti				Validasyon seti			
			Eğim	Kayma değeri	RMSEC	R ²	Eğim	Kayma değeri	RMSECV	R ²
CSO-1 (%0–%50)	BCSO-1	9	0.9988	0.0212	0.5815	0.9988	0.9987	0.0215	0.6245	0.9986
	BCSO-2	9	0.9978	0.0379	0.7778	0.9978	0.9963	0.0511	0.8644	0.9973
	BCSO-3	9	0.9993	0.0113	0.4240	0.9993	0.9992	0.0081	0.4592	0.9992
	BCSO-4	9	0.9995	0.0093	0.3848	0.9995	0.9993	0.0080	0.4165	0.9994
CSO-2 (%0–%50)	BCSO-1	9	0.9926	0.1280	1.4294	0.9926	0.9923	0.1299	1.5346	0.9915
	BCSO-2	9	0.9999	0.0004	0.0273	0.9999	0.9999	0.0014	0.0309	0.9999
	BCSO-3	9	0.9993	0.0113	0.4240	0.9993	0.9992	0.0081	0.4592	0.9992
	BCSO-4	9	0.9995	0.0093	0.3848	0.9995	0.9993	0.0080	0.4165	0.9994
SFO-1 (%0–%50)	BCSO-1	9	0.9990	0.0178	0.5335	0.9990	0.9990	0.0224	0.5626	0.9989
	BCSO-2	9	0.9963	0.0634	1.0063	0.9963	0.9948	0.0814	1.0812	0.9958
	BCSO-3	9	0.9982	0.0306	0.6992	0.9982	0.9968	0.0431	0.7757	0.9978
	BCSO-4	9	0.9991	0.0158	0.5029	0.9991	0.9990	0.0167	0.5389	0.9989
SFO-2 (%0–%50)	BCSO-1	9	0.9991	0.0177	0.5335	0.9989	0.9990	0.0223	0.5625	0.9988
	BCSO-2	9	0.9896	0.1794	1.6925	0.9896	0.9884	0.1925	1.7945	0.9883
	BCSO-3	9	0.9999	0.0011	0.1299	0.9999	0.9999	0.0005	0.1582	0.9999
	BCSO-4	9	0.9943	0.0993	1.2593	0.9943	0.9938	0.1026	1.3495	0.9934

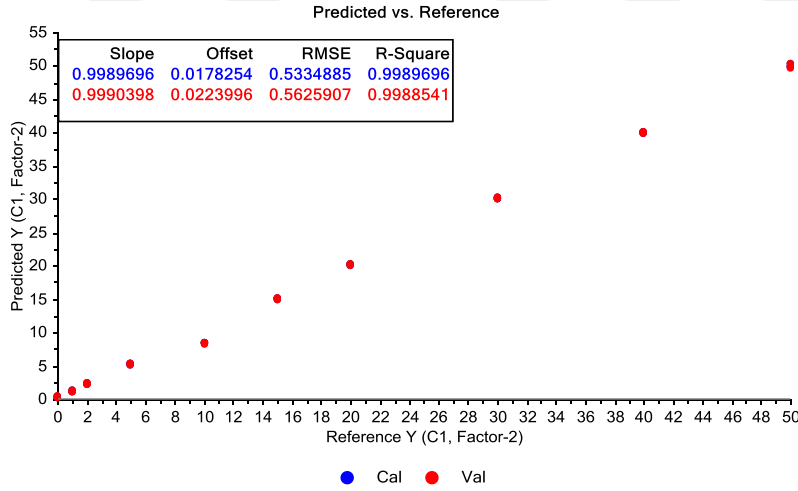
*BCSO; Çörekotu yağı, SFO; ayçiçek yağı, SBO; soya yağı

** RMSECV; root mean square error of cross validation, RMSEC; root mean square error of calibration

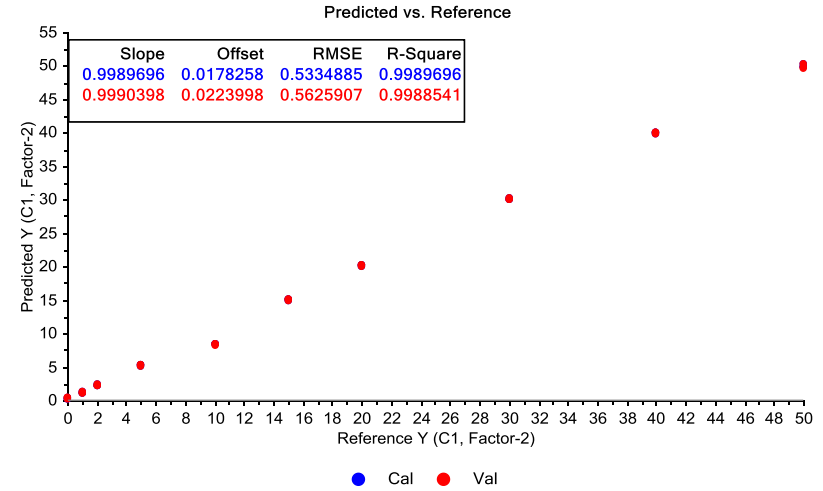
Oluşturulan PLS–R modellerde, elde edilen RMSEC, RMSECV, r ve R^2 gibi tahmin değerleri ile; soğuk pres çörek otu yağı tahşişinde kullanılan rafine yağ oranı için uygulanacak yöntemlerinin tahmin gücü bakımından benzerlik gösterip göstermediği, modellerin güvenilirliği, modeller arasındaki farkın ne olduğu ya da daha doğru sonuç verip vermediği, spektrumlara dayalı bu modellerin tahmin gücünün model doğrulama sonucunda kullanıma uygun olup olmadığı, kullanılacak istatistik yöntemin veya ölçüm alınan numune yapısının tahmin gücüne önemli bir etkisinin olup olmadığı gibi değerlendirmeler yapılmıştır.

4.4.1. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Ayçiçek Yağı Karışım Numunelerinin PLS–R Kalibrasyon Analiz Sonuçları

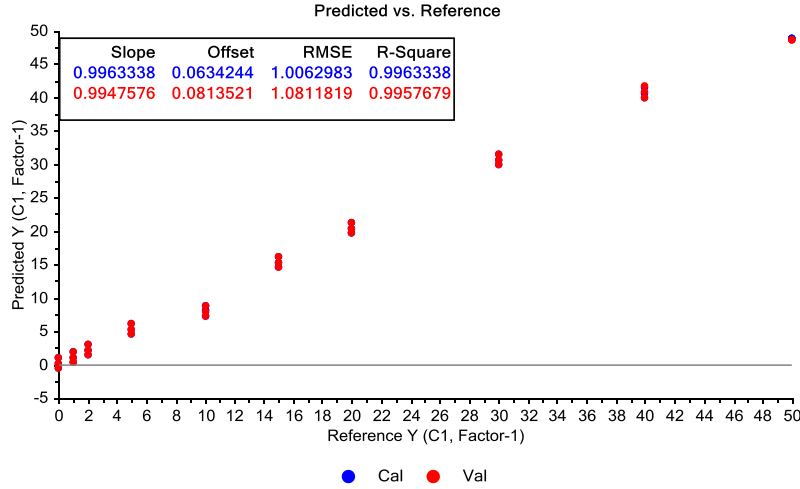
Çörek otu yağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanan her bir karışım setine özgü PLS–R kalibrasyon modelleri, tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak oluşturulmuştur (Şekil 4.30–4.31). Elde edilen kalibrasyon grafiklerinden görüleceği üzere; 4 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu yağı ve model olarak seçilen 2 farklı firmaya ait rafine ayçiçek yağı numunesi ile hazırlanan yağ karışımlarının tümü için, optimum rank ve tahmin değerlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir ($R^2=0.9943$ – 0.9999). Çizelge 4.2 ve Şekil 4.30–4.11’den görüleceği üzere NMR spektroskopi tekniği ile çörek otu yağına katıştırılan rafine ayçiçek yağı miktarının tayin edilebilme değerinin, 0.13% (v/v) değerine kadar mümkün olabildiği tespit edilmiştir (BCSO–3 ve SFO–2 karışım seti). Diğer karışım setlerinde ise bu değerin 0.13% (v/v) ila 1.69% (v/v) aralığında değiştiği tespit edilmiştir.



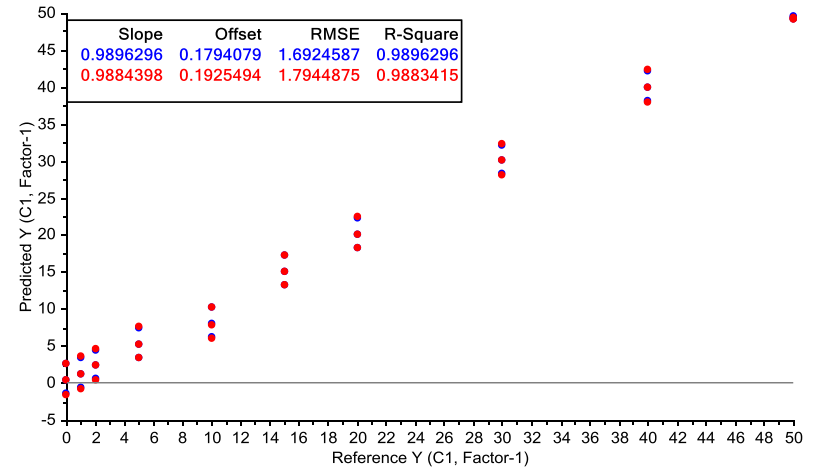
(a) PLS-R grafiği_BCSO-1 ve SFO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ 7.55–0.00 δ ppm



(b) PLS-R grafiği_BCSO-1 ve SFO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ 7.55–0.00 δ ppm

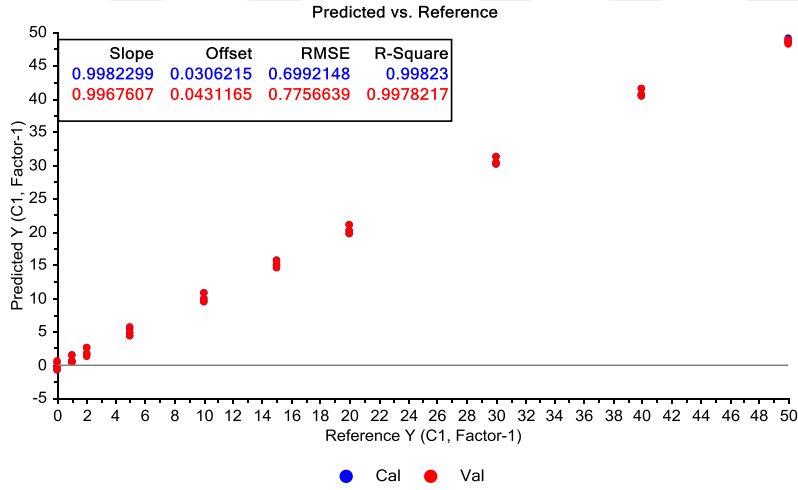


(c) PLS-R grafiği_BCSO-2 ve SFO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ 7.55–0.00 δ ppm

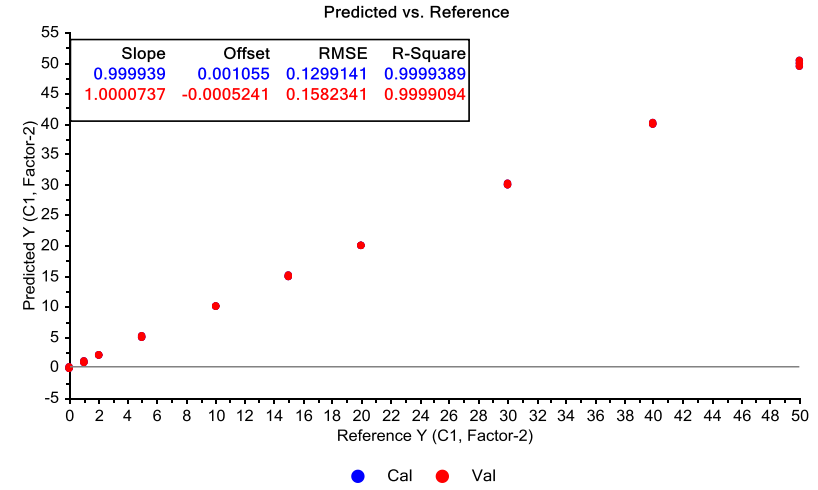


(d) PLS-R grafiği_BCSO-2 ve SFO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ 7.55–0.00 δ ppm

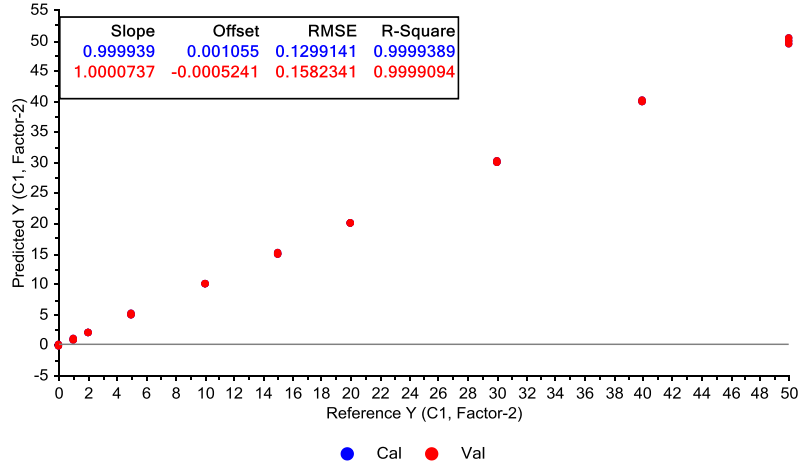
Şekil 4. 30: Saf BCSO-1 ve BCSO-2'ye katıştırılan ayçiçeği yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS-R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri



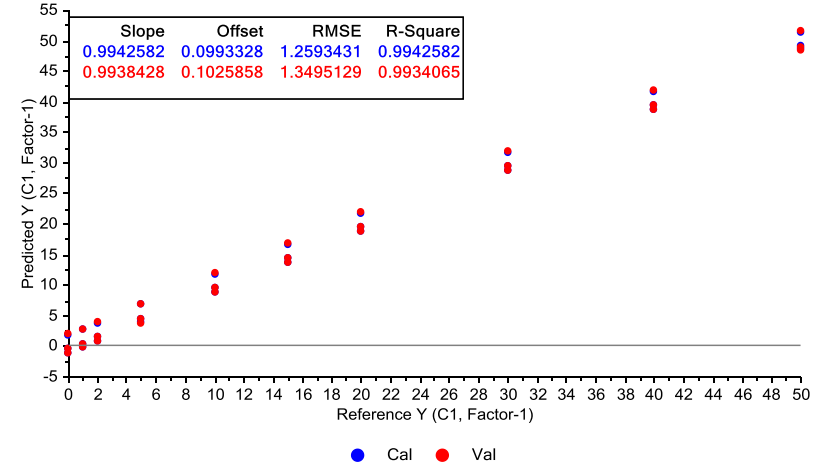
(a) PLS-R grafiği_BCSO-3 ve SFO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ _7.55-0.00 δ ppm



(b) PLS-R grafiği_BCSO-3 ve SFO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ _7.55-0.00 δ ppm



(c) PLS-R grafiği_BCSO-4 ve SFO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ _7.55-0.00 δ ppm

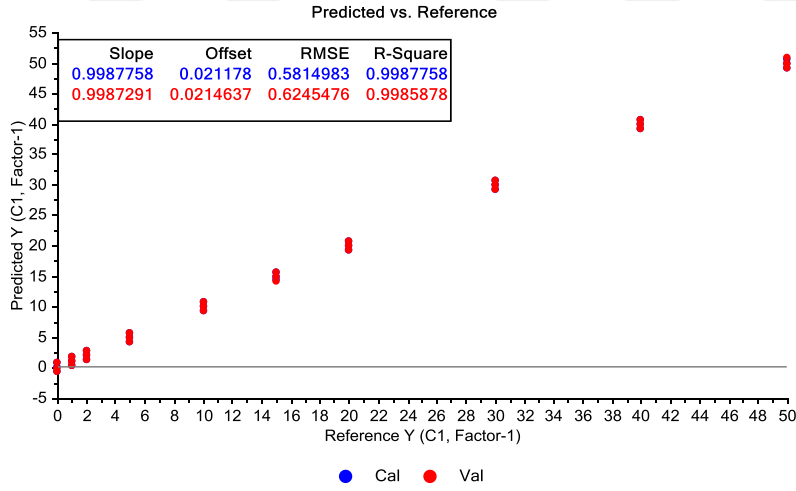


(d) PLS-R grafiği_BCSO-4 ve SFO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}$ _7.55-0.00 δ ppm

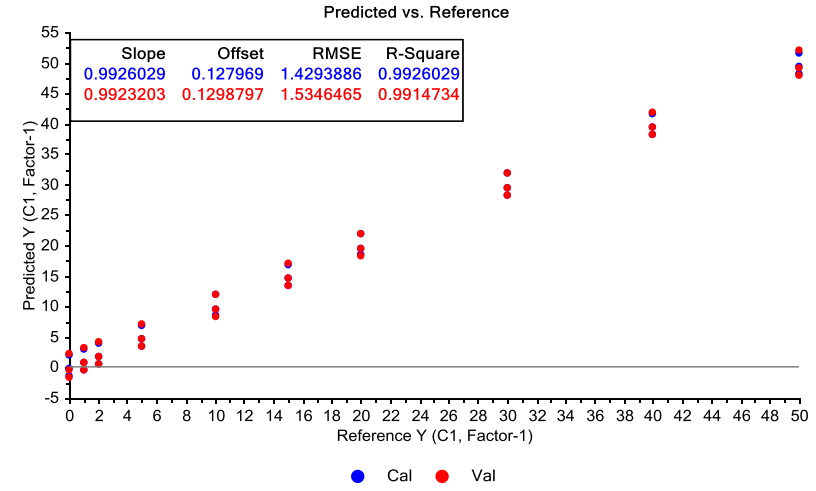
Şekil 4. 31: Saf BCSO-3 ve BCSO-4'e katıştırılan ayçiçeği yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge (7.55-0.00 δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS-R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri

4.4.2. Soğuk Pres Çörek Otu Yağı–Rafine Pamuk Yağı Karışım Numunelerinin PLS–R Kalibrasyon Analiz Sonuçları

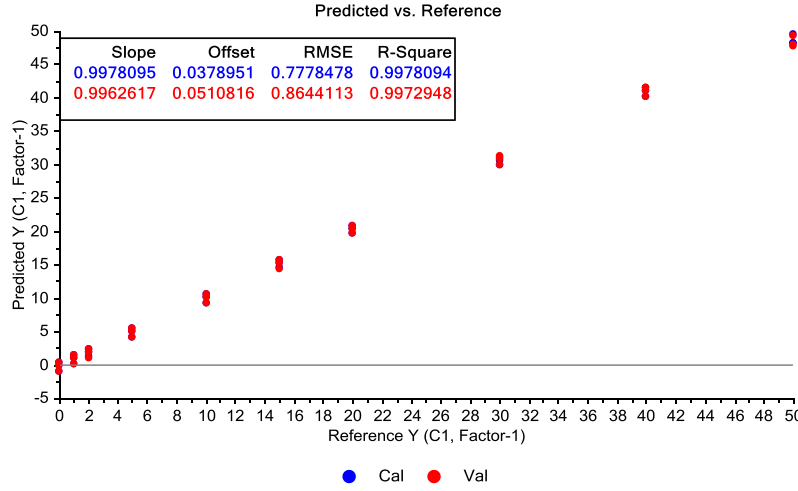
Çörek otu yağı ve pamuk yağı ile hazırlanan her bir karışım setine özgü PLS–R kalibrasyon modelleri, tüm spektral bölge (7.55–0.00 δ ppm) verileri kullanılarak oluşturulmuştur (Şekil 4.32–4.33). Elde edilen kalibrasyon grafiklerinden görüleceği üzere; 4 farklı firmaya ait soğuk pres çörek otu yağı ve model olarak seçilen 2 farklı firmaya ait rafine pamuk yağı numunesi ile hazırlanan yağ karışımlarının tümü için, optimum rank ve tahmin değerlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir ($R^2=0.9926–0.9999$). Çizelge 4.2 ve Şekil 4.32–4.33’den görüleceği üzere NMR spektroskopi tekniği ile çörek otu yağına katıştırılan rafine pamuk yağı miktarının tayin edilebilme değerinin, 0.03% (v/v) değerine kadar mümkün olabildiği tespit edilmiştir (BCSO–2 ve CSO–2 karışım seti). Diğer karışım setlerinde ise bu değerin 0.03% (v/v) ila 1.43% (v/v) aralığında değiştiği tespit edilmiştir.



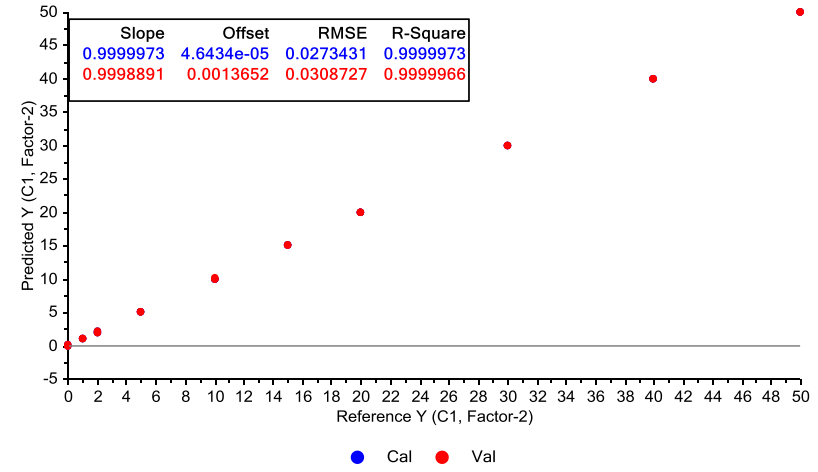
(a) PLS-R grafiği_BCSO-1 ve CSO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm



(b) PLS-R grafiği_BCSO-1 ve CSO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm

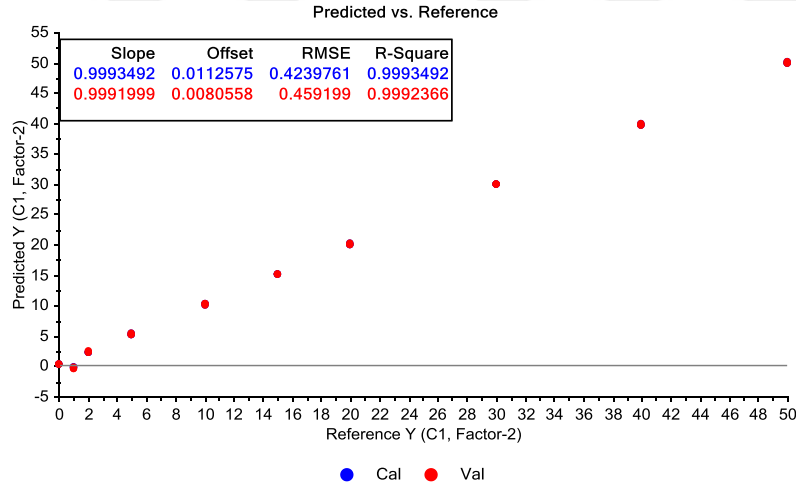


(c) PLS-R grafiği_BCSO-2 ve CSO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm

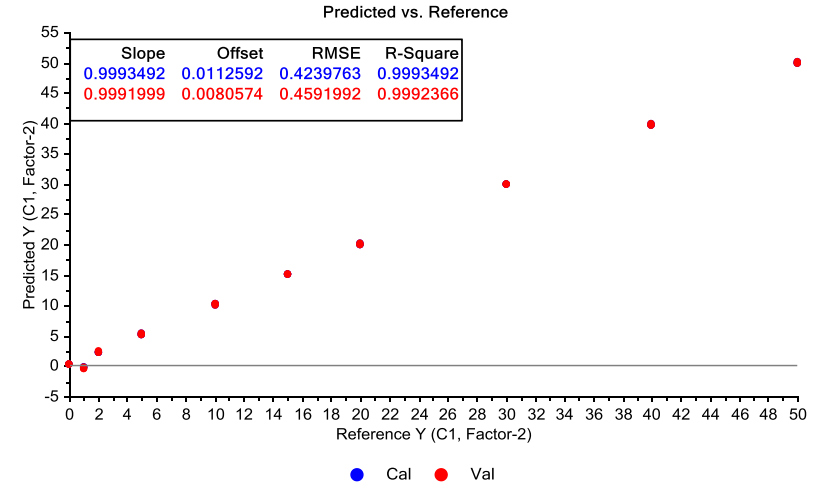


(d) PLS-R grafiği_BCSO-2 ve CSO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm

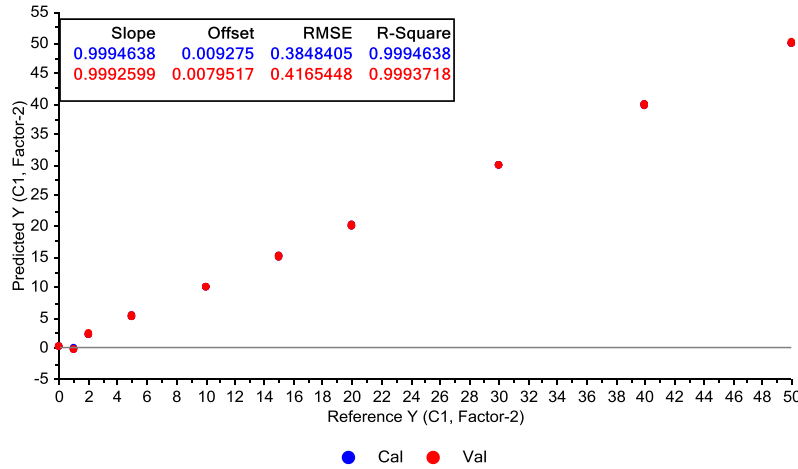
Şekil 4. 32: Saf BCSO-1 ve BCSO-2'ye katıştırılan pamuk yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge ($7.55-0.00$ δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS-R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri



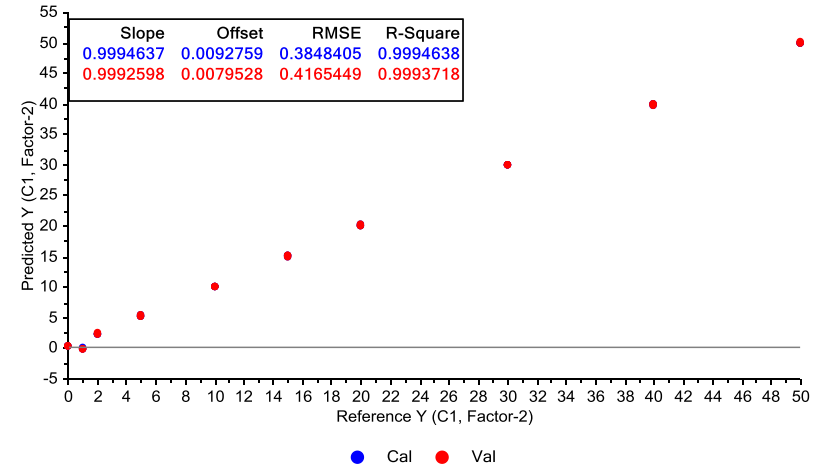
(a) PLS-R grafiği_BCSO-3 ve CSO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm



(b) PLS-R grafiği_BCSO-3 ve CSO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm



(c) PLS-R grafiği_BCSO-4 ve CSO-1 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm



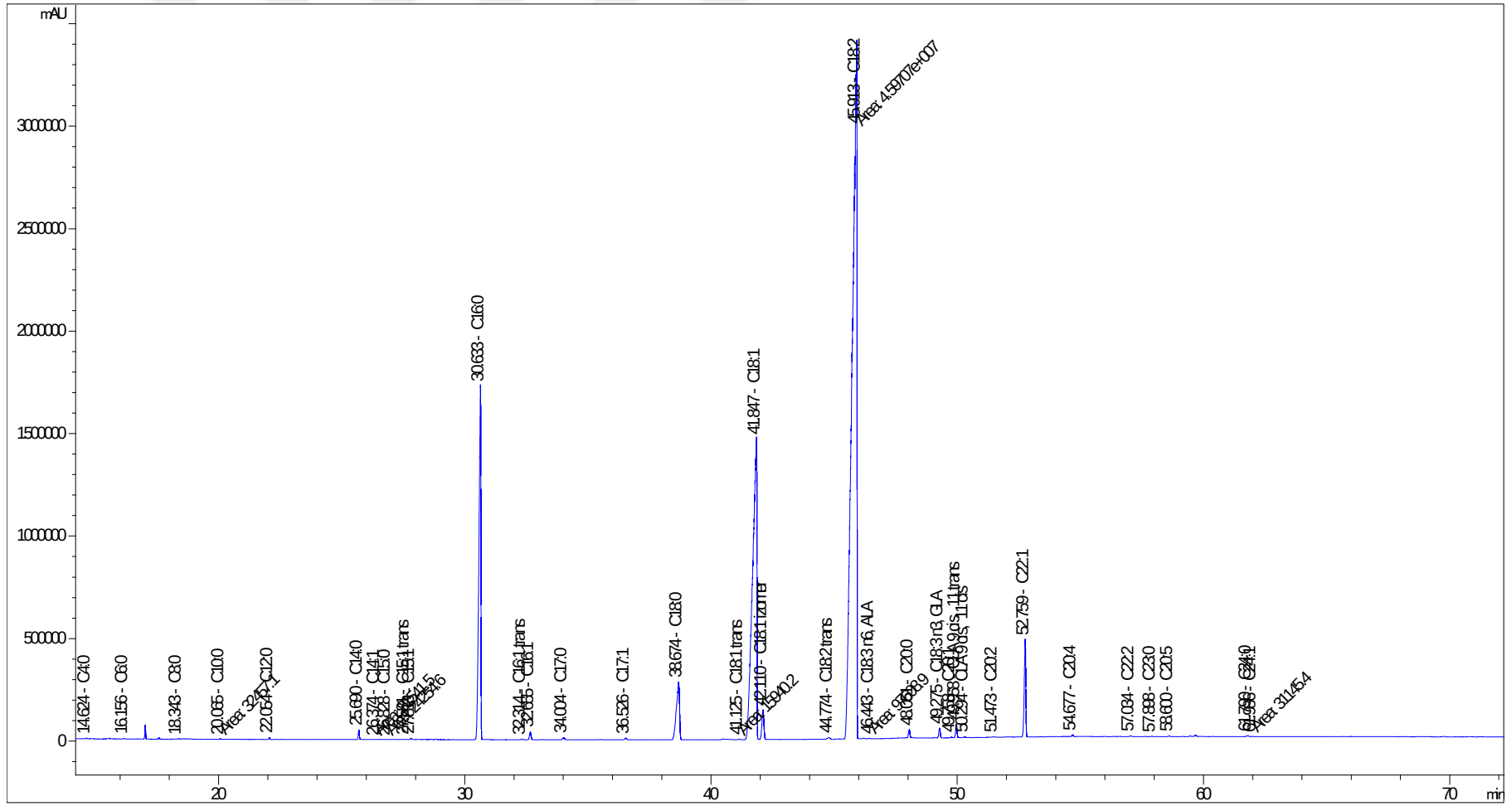
(d) PLS-R grafiği_BCSO-4 ve CSO-2 karışımlarına ait kalibrasyon grafiği_ $^1\text{H-NMR}_{7.55-0.00}$ δ ppm

Şekil 4. 33: Saf BCSO-3 ve BCSO-4'e katıştırılan pamuk yağı miktarının kantitatif olarak tespiti için tüm spektral bölge ($7.55-0.00$ δ ppm) verileri kullanılarak yapılan PLS-R analizlerine ait kalibrasyon grafikleri

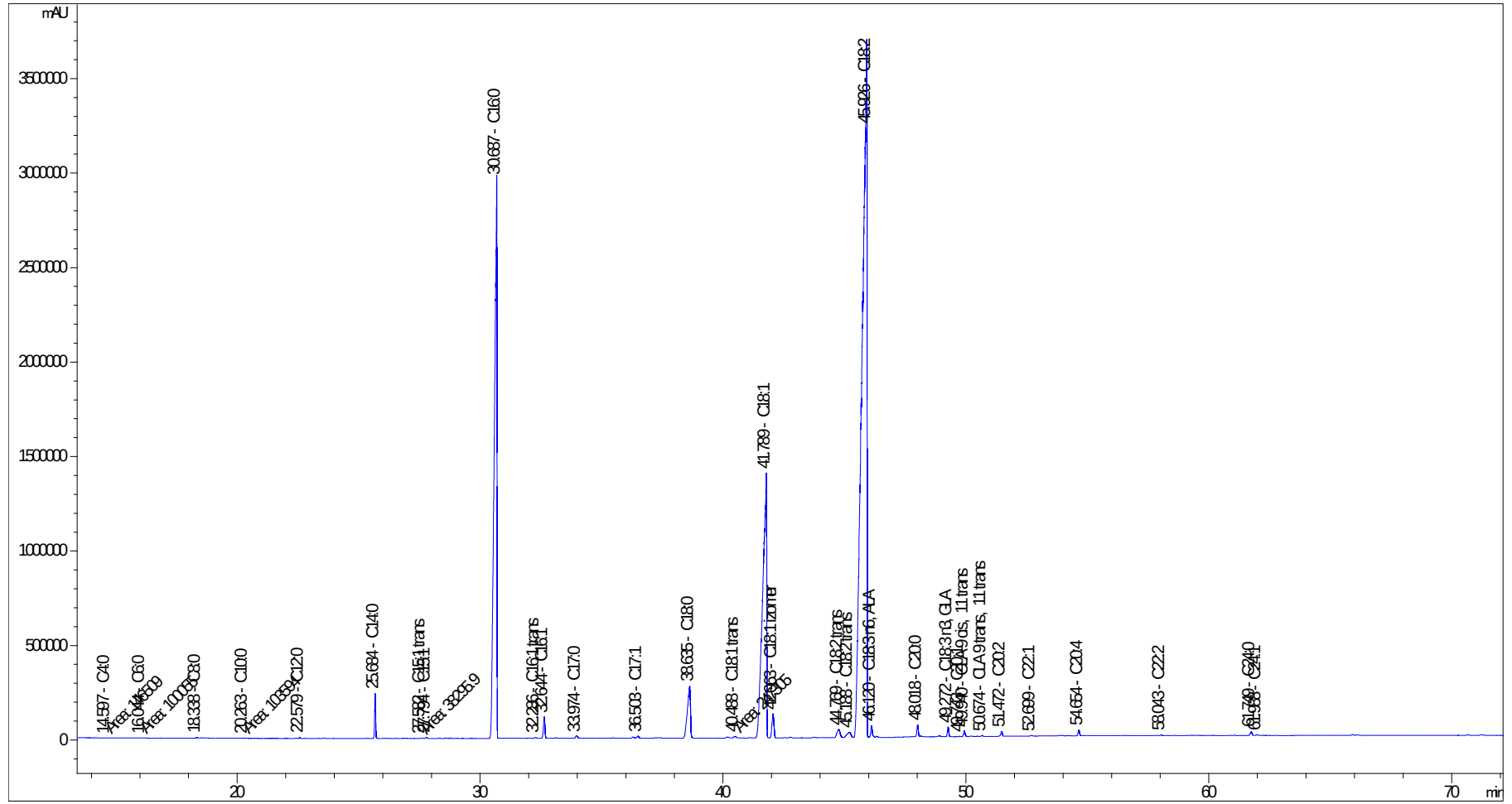
4.5. Saf Yağ Numunelerinin Kromatografi Analizlerine Ait Sonuçlar

Çalışmada kullanılan saf yağ örneklerin eldesinde uygulanan işlemlere dair kalitenin, yağların kaynağının veya muhtemel taşıyışının tespiti için; ^1H -NMR analizlerini destekleyici olarak GC-FID tekniği ile yağ asit kompozisyonu tayinleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılan farklı ticari markalara ait 34 saf yağ numunesinden temsili seçilen farklı türde numunelere (*çörek otu yağı, pamuk yağı, ayçiçeği yağı, soya yağı, sızma zeytinyağı ve fındık yağı*) ait yağ asit kompozisyon analizlerinden elde edilen kromatogramlar Şekil 4.34–39’da, sonuçlar ise Çizelge 4.3’de yer almaktadır. Çizelge 4.3’deki veriler incelendiğinde, çörek otu yağı numunesinde tespit edilen temel yağ asidi yapıları, C16:0 (palmitik asit) (12.03%), C18:0 (stearik asit)(3.17%), C18:1^{Δ9} (oleik asit, ω9)(23.57%) ve C18:2^{Δ9,12} (linoleik asit, ω6) (56.60%) şeklindedir. ΣSFA değeri %15.82, ΣMUFA değeri %26.51, ΣPUFA değeri %57.36, trans yağ asidi değeri ise %0.31 şeklindedir. Analiz edilen diğer saf yağ örneklerinden temsili seçilen numunelerin yağ asit kompozisyon verileri aynı tabloda, çörek otu yağı ile karşılaştırılmak üzere verilmiştir. C18:2^{Δ9,12} temel yağ asidi içerikleri bakımından ayçiçeği yağı (53.35%), soya yağı (59.84%) ve pamuk yağının (53.52%) çörek otu yağına daha benzer oldukları tespit edilmiştir. Fındık ve zeytinyağı örneklerinin ise, temel yağ asidi içeriklerinin C18:1^{Δ9} bakımından yüksek olduğu gözlemlenmiş ve sırasıyla 75.71% ve 71.71% şeklinde tespit edilmiştir. ΣSFA , ΣMUFA ve ΣPUFA değerleri bakımından karşılaştırıldığında; soya ve ayçiçeği yağının çörek otu yağına (57.36%) oldukça benzer özellikte oldukları, ΣPUFA değerleri bakımından ise ayçiçeği yağı, soya yağı ve pamuk yağları ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen GC verileri, kemometrik veri analiz modellemelerinden elde edilen sınıflandırma sonuçlarını destekler niteliktedir.

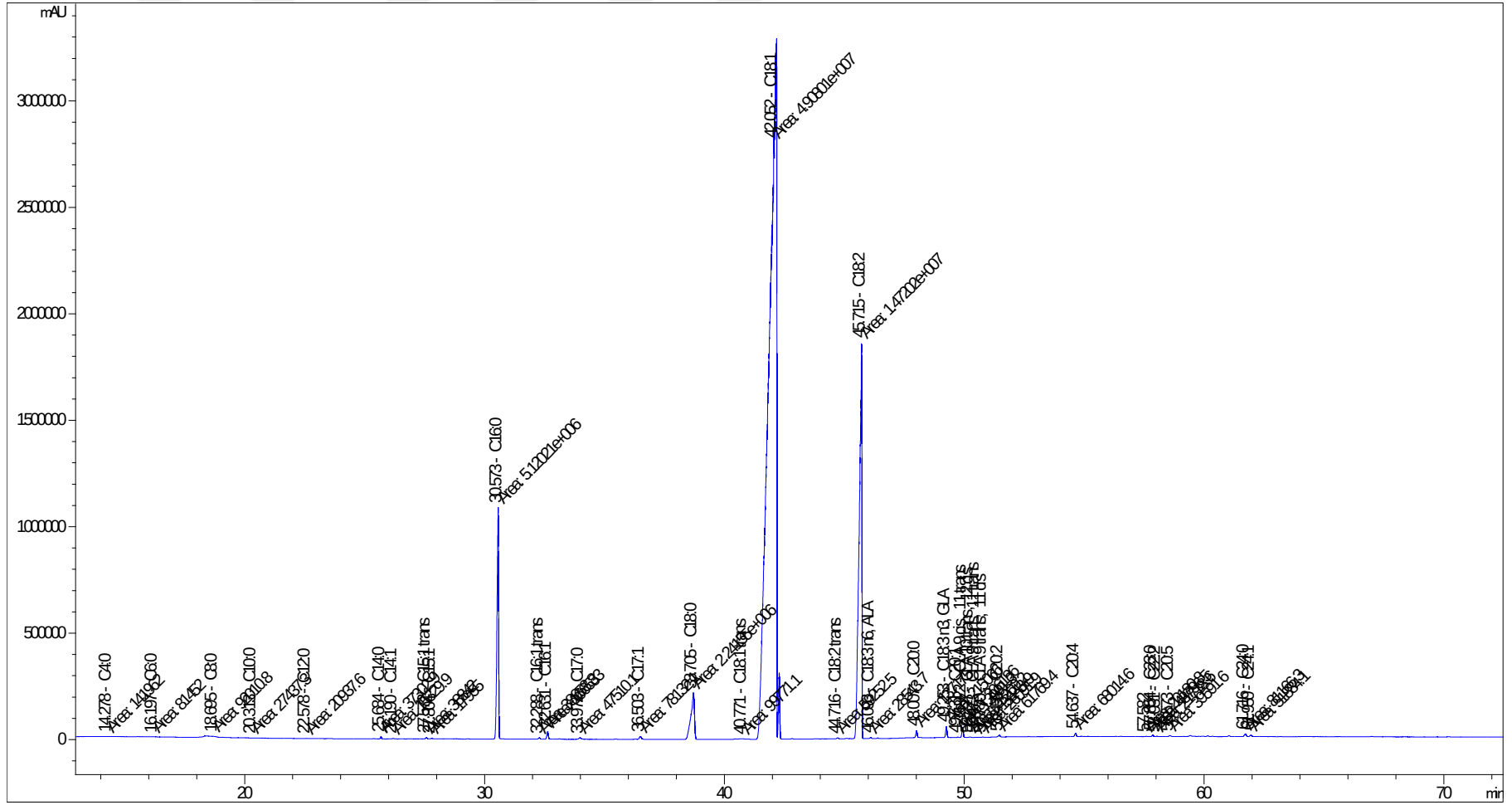
Analiz edilen 8 farklı ticari markadaki çörek otu yağı örneklerinin, yağ asit kompozisyon sonuçları ise Çizelge 4.4’de yer almaktadır. Elde edilen veriler incelendiğinde; ΣSFA değerleri 14.56% ile 16.71%, ΣMUFA değerleri 23.58% ile 31.53% ve ΣPUFA değerleri ise 52.67% ile 59.80% aralığında tespit edilmiştir. Farklı markalara ait örneklerin yağ asidi kompozisyonu bakımından oldukça benzer oldukları tespit edilmiştir.



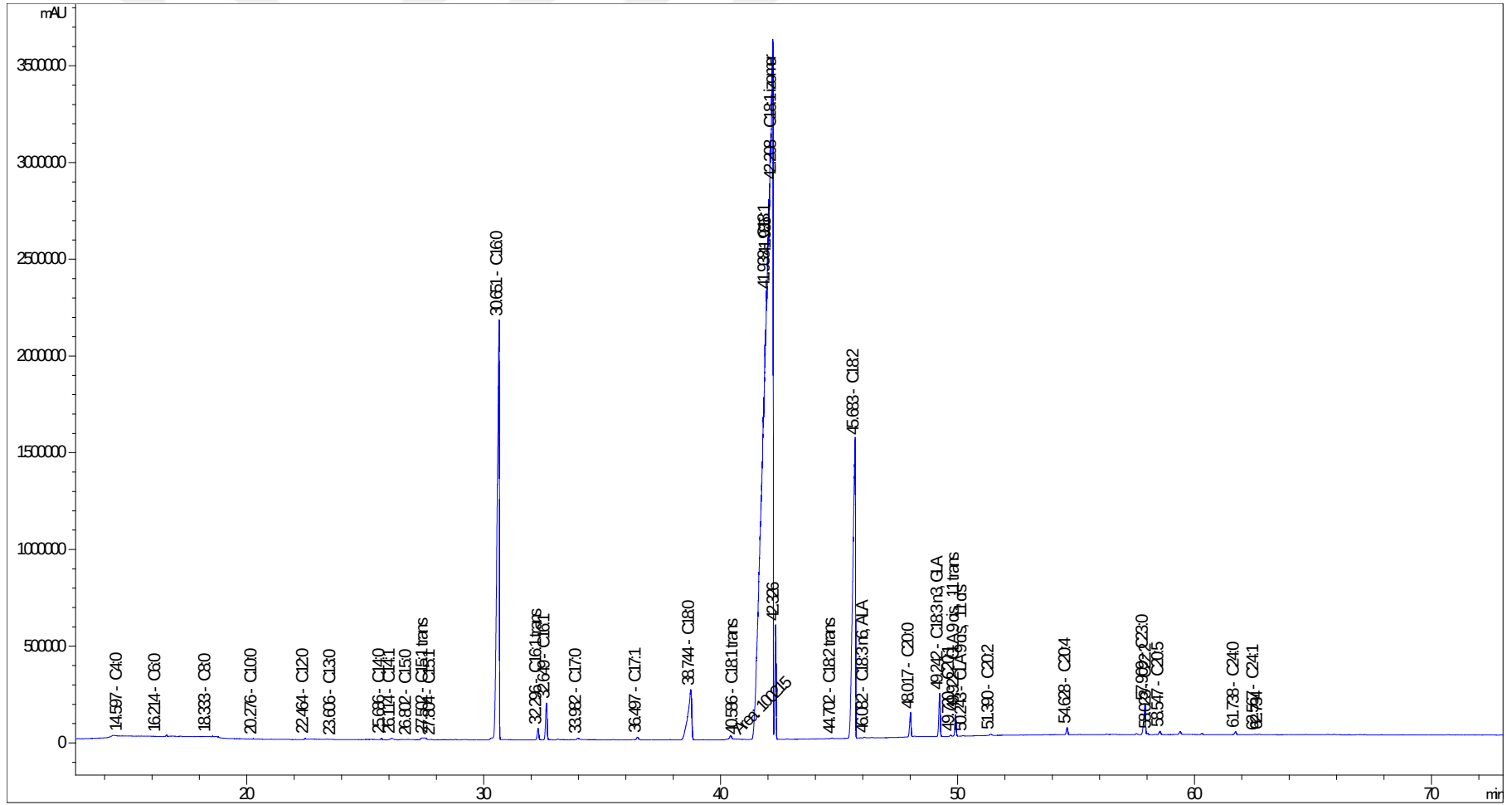
Şekil 4. 34: Saf çörek otu yağı (BCSO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı



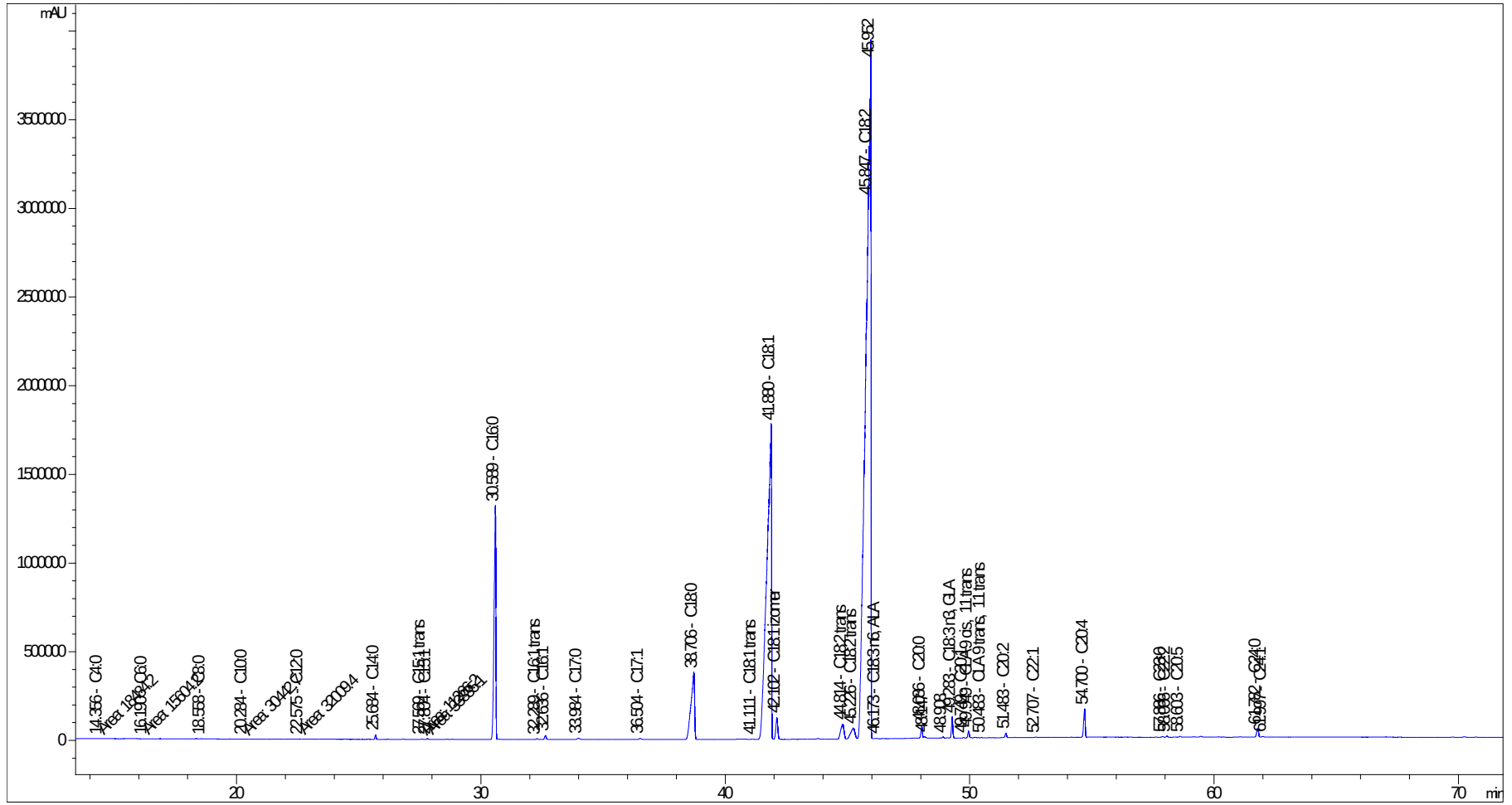
Şekil 4. 35: Saf pamuk yağı (CSO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı



Şekil 4. 37: Saf fındık yağı (HNO-1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı



Şekil 4. 38: Saf zeytinyağı (OO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı



Şekil 4. 39: Saf soya yağı (SBO–1) numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı

Çizelge 4. 3: Saf Çörekotu yağı ve diğer rafine yağlara ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/100 g yağ (%)

Çörekotu yağı ve diğer rafine yağlara ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/100 g yağ (%)						
Yağ asitleri	BCSO-1	SBO-1	SFO-1	CSO-1	OO-1	HNO-1
C4:0 (butanoikasıit)	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001
C6:0 (hexanoikasıit)	0.02 ±0.003	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.02 ±0.001
C8:0 (octanoikasıit)	0.02 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.003	0.03 ±0.002	0.02 ±0.003	0.01 ±0.001
C10:0 (decanoikasıit)	0.01 ±0.002	0.02 ±0.002	0.01 ±0.002	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.002
C12:0 (dodecanoikasıit)	0.03 ±0.001	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.003	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001
C14:0 (myristikasıit)	0.17 ±0.005	0.07 ±0.003	0.09 ±0.003	0.67 ±0.006	0.04 ±0.002	0.05 ±0.003
C14:1 (myristoleikasıit, n9)	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.02 ±0.002
C15:0 (pentadecanoikasıit)	0.01 ±0.003	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001
C15:1 trans	0.02 ±0.003	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.04 ±0.003	0.01 ±0.001	0.04 ±0.003
C15:1 (ginkgolikasıit)	0.03 ±0.001	0.02 ±0.001	0.02 ±0.003	0.01 ±0.001	0.01 ±0.002	0.03 ±0.002
C16:0 (palmitikasıit)	12.03 ±0.04	6.92 ±0.03	6.21 ±0.02	22.90 ±0.03	11.63 ±0.03	5.22 ±0.02
C16:1 trans	0.02 ±0.003	0.02 ±0.002	0.02 ±0.003	0.02 ±0.002	0.22 ±0.003	0.04 ±0.003
C16:1 (palmitoleikasıit)	0.22 ±0.001	0.05 ±0.001	0.12 ±0.004	0.50 ±0.04	0.69 ±0.005	0.17 ±0.005
C17:0 (heptadecanoikasıit)	0.08 ±0.004	0.05 ±0.002	0.04 ±0.001	0.08 ±0.003	0.05 ±0.003	0.05 ±0.002
C17:1 (heptadecanoileikasıit)	0.06 ±0.003	0.04 ±0.001	0.04 ±0.002	0.03 ±0.002	0.05 ±0.001	0.08 ±0.02
C18:0 (stearikasıit)	3.17 ±0.01	4.05 ±0.02	3.48 ±0.02	2.40 ±0.03	2.41 ±0.01	2.29 ±0.02
C18:1 trans	0.03 ±0.001	0.07 ±0.002	0.06 ±0.002	0.16 ±0.002	0.06 ±0.002	0.10 ±0.006
C18:1 (ω9)(oleikasıit)	23.57 ±0.04	25.84 ±0.05	34.03 ±0.05	17.26 ±0.04	71.71 ±0.06	75.71 ±0.05
C18:2 trans	0.24 ±0.003	1.55 ±0.003	0.63 ±0.003	0.73 ±0.03	0.03 ±0.001	0.05 ±0.002
C18:2 (ω6) (linoleikasıit)	56.60 ±0.06	59.84 ±0.07	53.35 ±0.05	53.52 ±0.06	10.34 ±0.02	15.12 ±0.03
C18:3 (ω6) (linolenikasıit)	0.02 ±0.001	0.03 ±0.002	0.03 ±0.001	0.28 ±0.004	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002
C20:0 (arachidikasıit)	0.21 ±0.002	0.28 ±0.004	0.25 ±0.003	0.29 ±0.005	0.42 ±0.003	0.14 ±0.004
C18:3 (ω3) (linolenikasıit)	0.24 ±0.002	0.45 ±0.003	0.11 ±0.002	0.26 ±0.004	0.75 ±0.004	0.12 ±0.003
C20:1 (eikosenoikasıit)	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.05 ±0.001	0.03 ±0.001	0.06 ±0.002	0.04 ±0.001
CLA isomers	0.40 ±0.003	0.31 ±0.004	0.26 ±0.003	0.20 ±0.003	0.42 ±0.004	0.33 ±0.004
C20:2 (eikosadienoikasıit)	0.02 ±0.001	0.12 ±0.002	0.10 ±0.004	0.12 ±0.002	0.02 ±0.002	0.06 ±0.001
C22:1 (erucikasıit)	2.59 ±0.01	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.05 ±0.003	0.07 ±0.002
C20:4 (lignocerikasıit)	0.05 ±0.002	0.72 ±0.006	0.71 ±0.006	0.13 ±0.002	0.12 ±0.003	0.02 ±0.001
C23:0 (trikosilylikasıit)	0.02 ±0.001	0.03 ±0.003	0.05 ±0.001	0.03 ±0.001	0.65 ±0.004	0.05 ±0.003
C22:2 (cis-13,16-docosa. asit)	0.02 ±0.001	0.03 ±0.002	0.04 ±0.002	0.02 ±0.001	0.01 ±0.002	0.02 ±0.001
C20:5 (eikosapentaenoikasıit)	0.02 ±0.003	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.04 ±0.002	0.02 ±0.002	0.04 ±0.002
C24:0 (lignocerikasıit)	0.03 ±0.004	0.23 ±0.004	0.25 ±0.004	0.16 ±0.003	0.07 ±0.003	0.06 ±0.003
C24:1 (nervonikasıit)	0.01 ±0.001	0.02 ±0.002	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.05 ±0.002
ΣSFA	15.82	11.72	10.45	26.62	15.30	7.95
ΣMUFA	26.51	26.01	34.28	17.86	72.65	76.22
ΣPUFA	57.36	61.52	54.61	54.57	11.71	15.67
trans FAs	0.31	1.65	0.72	0.95	0.31	0.23

*BCSO; çörekotu yağı, SBO; soya yağı, CSO; pamuk yağı, SFO; ayçiçek yağı, OO; zeytinyağı, HNO; fındık yağı,

**SFA; doymuş yağ asidi, MUFA; tekli doymamış yağ asidi, PUFA; çoklu doymamış yağ asidi

Çizelge 4. 4: Farklı markalara ait çörekotu yağlarına ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/100 g yağ (%)

Farklı markalara ait çörekotu yağlarına ait yağ asit kompozisyon sonuçları, g yağ asidi/ 100 g yağ (%)								
Yağ asitleri	BCSO-1	BCSO-2	BCSO-3	BCSO-4	BCSO-5	BCSO-6	BCSO-7	BCSO-8
C4:0 (butanoik asit)	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.02 ±0.001	0.03 ±0.002	0.04 ±0.003	0.06 ±0.003	0.06 ±0.002	0.03 ±0.002
C6:0 (hexanoik asit)	0.02 ±0.003	0.02 ±0.002	0.02 ±0.003	0.03 ±0.001	0.02 ±0.002	0.04 ±0.003	0.04 ±0.001	0.03 ±0.002
C8:0 (octanoik asit)	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002	0.02 ±0.003	0.03 ±0.001	0.05 ±0.004	0.08 ±0.004	0.04 ±0.003	0.02 ±0.001
C10:0 (decanoik asit)	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.003	0.02 ±0.003	0.04 ±0.002	0.05 ±0.003	0.02 ±0.001	0.06 ±0.004
C12:0 (dodecanoik asit)	0.03 ±0.001	0.04 ±0.002	0.04 ±0.003	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.03 ±0.003	0.03 ±0.002	0.04 ±0.002
C14:0 (myristik asit)	0.17 ±0.005	0.17 ±0.004	0.18 ±0.003	0.17 ±0.002	0.08 ±0.003	0.19 ±0.005	0.18 ±0.003	0.20 ±0.004
C14:1 (myristoleik asit, n9)	0.01 ±0.001	0.01 ±0.002	0.01 ±0.002	0.02 ±0.001	0.02 ±0.003	0.02 ±0.001	0.06 ±0.003	0.02 ±0.001
C15:0 (pentadecanoik asit)	0.01 ±0.003	0.01 ±0.001	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.05 ±0.002	0.02 ±0.002
C15:1 trans	0.02 ±0.003	0.01 ±0.002	0.01 ±0.001	0.02 ±0.002	0.03 ±0.002	0.03 ±0.003	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001
C15:1 (ginkgolik asit)	0.03 ±0.001	0.03 ±0.002	0.03 ±0.002	0.03 ±0.001	0.02 ±0.001	0.03 ±0.004	0.03 ±0.001	0.03 ±0.003
C16:0 (palmitik asit)	12.03 ±0.04	11.96 ±0.03	12.23 ±0.02	11.79 ±0.04	11.25 ±0.03	12.44 ±0.03	11.93 ±0.04	12.96 ±0.03
C16:1 trans	0.02 ±0.003	0.02 ±0.002	0.02 ±0.001	0.02 ±0.003	0.04 ±0.001	0.02 ±0.003	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002
C16:1 (palmitoleik asit)	0.22 ±0.001	0.20 ±0.002	0.20 ±0.003	0.20 ±0.003	0.13 ±0.002	0.24 ±0.003	0.20 ±0.003	0.22 ±0.003
C17:0 (heptadecanoik asit)	0.08 ±0.004	0.08 ±0.003	0.08 ±0.004	0.08 ±0.004	0.09 ±0.005	0.07 ±0.003	0.08 ±0.003	0.08 ±0.002
C17:1 (heptadecanoleik asit)	0.06 ±0.003	0.06 ±0.002	0.06 ±0.002	0.06 ±0.003	0.06 ±0.004	0.05 ±0.002	0.06 ±0.004	0.05 ±0.003
C18:0 (stearik asit)	3.17 ±0.01	3.19 ±0.02	3.26 ±0.02	3.27 ±0.03	2.30 ±0.02	2.79 ±0.03	3.18 ±0.02	3.00 ±0.02
C18:1 trans	0.03 ±0.001	0.11 ±0.001	0.12 ±0.002	0.02 ±0.002	0.61 ±0.003	0.02 ±0.001	0.02 ±0.003	0.11 ±0.002
C18:1 (ω9)(oleik asit)	23.57 ±0.04	24.15 ±0.03	24.81 ±0.04	24.65 ±0.02	30.60 ±0.03	22.87 ±0.03	24.47 ±0.04	23.45 ±0.03
C18:2 trans	0.24 ±0.003	0.10 ±0.002	0.13 ±0.001	0.26 ±0.003	0.56 ±0.003	0.54 ±0.003	0.28 ±0.002	0.06 ±0.001
C18:2 (ω6) (linoleik asit)	56.60 ±0.06	55.26 ±0.05	55.10 ±0.04	55.68 ±0.03	51.23 ±0.05	56.89 ±0.05	55.54 ±0.05	54.92 ±0.04
C18:3 (ω6) (linolenik asit)	0.02 ±0.001	0.01 ±0.001	0.02 ±0.002	0.03 ±0.002	0.02 ±0.003	0.18 ±0.002	0.01 ±0.001	0.42 ±0.003
C20:0 (arachidik asit)	0.21 ±0.002	0.22 ±0.002	0.22 ±0.002	0.21 ±0.003	0.45 ±0.004	0.22 ±0.004	0.23 ±0.003	0.17 ±0.003
C18:3 (ω3) (linolenik asit)	0.24 ±0.002	0.80 ±0.001	0.27 ±0.002	0.34 ±0.002	0.78 ±0.002	0.02 ±0.002	0.31 ±0.003	0.23 ±0.001
C20:1 (eikosenoik asit)	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.05 ±0.002	0.34 ±0.002	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002
CLA isomers	0.40 ±0.003	0.79 ±0.003	0.42 ±0.002	0.38 ±0.003	0.38 ±0.002	0.19 ±0.002	0.49 ±0.002	0.45 ±0.003
C20:2 (eikosadienoik asit)	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.04 ±0.002	0.07 ±0.002	2.41 ±0.004	0.02 ±0.001	0.03 ±0.002
C22:1 (erucik asit)	2.59 ±0.01	2.46 ±0.02	2.51 ±0.02	2.36 ±0.03	0.63 ±0.004	0.03 ±0.002	2.41 ±0.02	2.56 ±0.02
C20:4 (lignocerik asit)	0.05 ±0.002	0.05 ±0.002	0.04 ±0.001	0.07 ±0.002	0.16 ±0.002	0.06 ±0.001	0.04 ±0.002	0.04 ±0.001
C23:0 (trikosylik asit)	0.02 ±0.001	0.03 ±0.002	0.02 ±0.001	0.03 ±0.001	0.04 ±0.002	0.02 ±0.001	0.06 ±0.003	0.07 ±0.003
C22:2 (cis-13,16-doco. asit)	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.02 ±0.001	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002	0.02 ±0.002	0.02 ±0.003
C20:5 (eikosapentaeno. asit)	0.02 ±0.003	0.02 ±0.001	0.03 ±0.001	0.03 ±0.002	0.03 ±0.001	0.04 ±0.002	0.03 ±0.001	0.03 ±0.001
C24:0 (lignocerik asit)	0.03 ±0.004	0.05 ±0.002	0.05 ±0.003	0.06 ±0.003	0.19 ±0.003	0.01 ±0.001	0.04 ±0.002	0.04 ±0.001
C24:1 (nervonik asit)	0.01 ±0.001	0.05 ±0.002	0.02 ±0.001	0.02 ±0.001	0.03 ±0.001	0.01 ±0.001	0.01 ±0.001	0.60 ±0.002
ΣSFA	15.82	15.81	16.15	15.74	14.56	16.01	15.93	16.71
ΣMUFA	26.51	26.99	27.66	27.35	31.53	23.58	27.27	26.95
ΣPUFA	57.36	56.96	55.91	56.59	52.67	59.80	56.47	56.13
trans FAs	0.31	0.25	0.28	0.31	1.24	0.61	0.34	0.21

*BCSO; çörekotu yağı; FA; yağ asidi, SFA; doymuş yağ asidi, MUFA; tekli doymamış yağ asidi, PUFA; çoklu doymamış yağ asidi

5. SONUÇ

Sunulan tez çalışması ile; çörek otu (*Nigella sativa L.*) tohumlarından herhangi bir ısıtma işlemi ya da kimyasal madde uygulamasına maruz kalmadan üretilen ve biyoaktif bileşenler bakımından zengin soğuk pres çörek otu yağlarına katıştırılan ucuz rafine yağların tür ve miktarını belirlemeye yönelik, çok değişkenli kemometrik veri analiz yaklaşımına dayalı nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçları özetlemek gerekirse;

- NMR analizleri; soğuk pres çörek otu yağı taşıyıcısında kullanımı muhtemel yağ türünü belirleme amacıyla 34 adet saf bitkisel yağ numunesi ve taşıyıcıda kullanımı muhtemel yağın miktarını belirleme amacıyla hazırlanan 144 adet karışım yağ numunesi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kemometrik veri analizlerinde kullanılmak üzere her bir yağ numunesi için en az 4 tekrarlı gerçekleştirilen deneylerden toplamda 712 adet spektrum elde edilmiştir. ^1H -NMR çalışmaları spektral tanımlamaya bağlı olduğundan, öncelikle analiz için seçilen farklı marka türdeki saf bitkisel yağların (*çörek otu yağı, pamuk yağı, ayçiçeği yağı, soya yağı, fındık yağı ve sızma zeytinyağı*) spektrumları, hangi tür moleküler bilgileri içerdiğinin belirlenmesi sağlanmıştır.
- Yağ numunelerine ait 7.55–0.00 δ ppm kimyasal kayma değeri aralığındaki bölgede elde edilen spektrumlarda belirlenen 6 farklı bölgeye/ kimyasal kayma aralığına [6.00–4.75 δ ppm (Bölge I), 4.75–3.50 δ ppm (Bölge II), 3.50–2.50 δ ppm (Bölge III), 2.50–1.75 δ ppm (Bölge IV), 1.75–1.00 δ ppm (Bölge V) ve 1.00–0.25 δ ppm (Bölge VI)] ait veriler kullanılarak, kalitatif ve kantitatif kemometrik veri analizleri uygulanmıştır.
- Saf yağ numunelerine FT-IR analizi uygulandıktan sonra elde edilen spektral verilere; gözetimsiz/unsupervised örüntü tanıma (PCA ve HCA) ve gözetimli/supervised örüntü tanıma (SIMCA ve LDA) olmak üzere farklı kemometrik sınıflandırma yöntemleri uygulanmıştır. Saf yağların içerdikleri bileşenlere göre ^1H -NMR spektrumlarında gösterdikleri farklılıkları, oluşturulan bu modellerde farklı bölgelerine yerleşimleri ile gösterilmiştir. Çok değişkenli kemometrik sınıflandırma analizleri ile birlikte uygulanan ^1H -NMR spektroskopi

yöntemlerinin, çörek otu yağı ve diğer saf yağ numunelerinin kalitatif olarak sınıflandırılmasında başarılı şekilde kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

- Benzer yaklaşımla, çörek otu yağı–pamuk yağı ve çörek otu yağı–ayçiçeği yağı karışım numunelerine ait ^1H –NMR spektral verileri değerlendirilerek farklılaştırma sürecinde dikkate alınabilecek en etkili değişkenler saptanmış; SIMCA modellemeleri ile saf çörek otu yağı ve karışım yağların yüksek doğrulukla sınıflandırılabilmesi kanıtlanmıştır. SIMCA modellemelerinde F–oranı yardımıyla, soğuk pres çörek otu yağının rafine pamuk ya da ayçiçeği yağlarıyla taşımasının limit değerleri değerlendirilmiştir. 95% güven aralığında geliştirilen SIMCA modellemelerinde, çörek otu yağına katıştırılan rafine ayçiçeği ya da pamuk yağının kalitatif olarak tespit limiti $<1\%$ şeklinde belirlenmiştir.
- ^1H –NMR spektroskopisi ve çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri tekniğinin birlikte kullanımı ile; çörek otu yağı taşımasının kantitatif olarak da başarılı bir şekilde belirlenebileceği kanıtlanmıştır. 1–50% oranında hazırlanan çörek otu yağı–ayçiçeği yağı ve çörek otu yağı–pamuk yağı karışım yağlarına ait PLS–R kalibrasyon modelleri için sırasıyla $R^2=0.9943\text{--}0.9999$ ve $R^2=0.9926\text{--}0.9999$ aralığında oldukça yüksek korelasyon katsayı değerleri elde edilmiştir. Taşıma için kullanılan rafine ayçiçek ve pamuk yağlarının, soğuk pres çörek otu yağı içinde belirlenebildikleri kantitatif limit değer aralıkları sırasıyla 0.13–1.69% ve 0.03–1.43% olarak tespit edilmiştir.
- Saf ve karışım yağ örneklerine dair kalitenin veya muhtemel taşımasının tespiti için; ^1H –NMR analizlerini destekleyici olarak GC–FID tekniği ile yağ asit kompozisyon tayinleri gerçekleştirilmiştir. C18:2 ^{$\Delta^{9,12}$} temel yağ asidi içerikleri bakımından ayçiçeği yağı (53.35%), soya yağı (59.84%) ve pamuk yağının (53.52%) çörek otu yağına daha benzer oldukları tespit edilmiştir. Fındık ve zeytinyağı örneklerinin ise, temel yağ asidi içeriklerinin C18:1 ^{Δ^9} bakımından yüksek olduğu gözlemlenmiş ve sırasıyla 75.71% ve 71.71% şeklinde tespit edilmiştir. ΣSFA , ΣMUFA ve ΣPUFA değerleri bakımından karşılaştırıldığında; soya ve ayçiçeği yağının çörek otu yağına (57.36%) oldukça benzer özellikte oldukları, ΣPUFA değerleri bakımından ise ayçiçeği yağı, soya yağı ve pamuk yağları ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen kromatografik verilerin, kemometrik veri analiz modellemelerinden elde edilen sonuçları destekleyici nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; sunulan tez çalışması ile soğuk pres çörek otu yağı taşımasının niteliği/ kalitatif olarak ve niceliğini/ kantitatif olarak belirlemede kullanılan uygulamadaki zahmetli yöntemlere alternatif, analizlerin ön-işlemlerini bertaraf ederek büyük kolaylık sağlayan, maliyet, analiz süresi, kimyasal kullanımına duyarlılık açısından avantaj sağlayan, hızlı, kemometrik veri analizleri ile birleştirilmiş nükleer manyetik rezonans spektroskopi yöntemleri geliştirilmiştir. Yüksek miktarda biyoaktif bileşen içeriğine sahip olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanan soğuk pres çörek otu yağına, ucuz rafine ayçiçeği ve pamuk yağlarıyla yapılması muhtemel taşımanın kalitatif ve kantitatif olarak tespiti kapsamlı bir şekilde çalışılmış, önerilen yöntemlerin ve geliştirilen kemometrik modellemelerin uygulamalarında oldukça başarılı bulgular elde edilmiştir.



6. KAYNAKLAR

- Abdel-Fattah, M.A., Matsumoto, K., Watanabe, H. (2000). Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *Eur J Pharmacol.*400, 89–97.
- Aboul Ela, M.A., El-Shaer, N.S., Ghanem, N.B. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils, *Pharmazie*, 51,993–4.
- Aboutabl, E. A., El-Azzouny A. A., Hammerschmidt F. J. (1986). Aroma volatiles of *Nigella sativa*L. seeds. In: Brunke EJ editor. Progress in essential oil research. *16th International Symposium on essential oils*. Berlin: DeGruyer, pp. 49–55.
- Ahmed, N.U., Haque, K.R. (1986). Effect of row spacing ve time of showing on the yield of black cumin (*Nigella sativa*), *Bangladesh of Agriculture*; 11 (1), 21–24.
- Akin, G. (2016). Kabak Çekirdeği Yağındaki Aktif Bileşenlerin HPLC ve GC–MS İle Tayini ve İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı*, Karaman.
- Alfawaz, M.A. (2004). Chemical Composition and Oil Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seed Kernels. *Food Science and Agriculture Research Center King Saud University*, 129, 5–18.
- Al-Hader, A. A., Aqel, M.B., Hasan, Z.A. (1993). Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds, *Int J Pharmacogn* 31,96–100.
- Ali, B.H., Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*, *Phytother Res*, 17 (4), 299–305.
- Alonso-Salces M., Moreno-Rojas J., Holland M., Reniero F., Guillou C. ve Heberger. K. (2010). Virgin Olive Oil Authentication by Multivariate Analyses of ¹H NMR Fingerprints and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ Data. *J. Agric. Food Chem.* 58, 5586–5596.
- Anderson Shauna L., Rovnyak D., Strein Timothy G. (2017). Identification of Edible Oils by Principal Component Analysis of ¹H NMR Spectra. *J. Chem. Educ.* 94, 1377–1382.
- Anonim. (2010). (<http://www.izmir-kontrollab.gov.tr>.)
- Anonim. (2017). [http:// Vikipedi](http://Vikipedi)/Çörek otu/ Besin değerleri, 09.10.2017.
- Atta, M.B. (2003). Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile, *Food Chemistry*, 83, 63–68.
- Ay A, Geçgel Ü, Yılmaz İ, Apaydın D, Dülger GÇ. Soğuk Pres Yağlar İlave Edilerek Üretilen Fermente Sucukların Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. (2015).
- Aqel, M., Shaheen R. (1996). Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig, *J Ethnopharmacol.*, 52 (1), 23–26.
- Bacak Güllü E. ve Avcı G. (2013). Timokinon: *Nigella Sativa*’nın biyoaktif komponenti. *Kocatepe Vet J* 6(1), 51–61.
- Badary, O. A., Aı-Shabanah, O. A., Nagı, M. N., Aı-Rıkabı, A. C., Elmazar, M. M. A. (1999). Inhibition of benzo (a) pyrene–induced for estomach carcinogenesis in mice by thymoquinone. *Eur J Cancer Prev.*, 8: 435 – 440.

- Bağçeci, G. (2015). Parmak İzi Tespitinde Karbon Nanopartiküllerin Kullanımı Ve Temel Bileşen Analiz Yönteminin Uygulanması, *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Kültür Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Fizik Programı*, İstanbul.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry* 99 (1), 191–203.
- Barkoudah, Y. (1998). Black Cumin a Neglected Food and Medicinal Plant, *Cwana Newsletter*, 17(5).
- Başoğlu, F. (2006). Yemeklik Yağ Teknolojileri, *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara.
- Beebe K.R., Pell. R.J., and Seasholtz M.B. (1998). *Chemometrics: A Practical Guide*. Wiley-Interscience, New York.
- Bıyık, N. (2018). Seçilmiş bazı çörek otu (*Nigella Sativa* L.) popülasyonlarının Tokat-Niksar şartlarında performanslarının belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat.
- Brianda Elzey B., Pollard D., Fakayode Sayo O. (2016). Determination of adulterated neem and flaxseed oil compositions by FTIR spectroscopy and multivariate regression analysis. *Food Control*, 68, 303–309.
- Bulca, S. (2014). Çörek otunun bileşenleri ve bu yağın ve bazı diğer uçucu yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(2), 29 – 36.
- Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella Sativa* essential oil. *Phytother Res.* (2000). doi:10.1002/1099-1573(200008)14:5<323::AID-PTR621>3.0.CO;2-Q [pii]
- Burits, M., Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil, *Phytother Res*, 14, 323–8.
- Castejón D., Herrera A., Heras A., Cambero I., Mateos-Aparicio I. (2017). Oil Quality Control of Culinary Oils Subjected to Deep-Fat Frying Based on NMR and EPR Spectroscopy. *Food Anal*, 10, 2467–2480.
- Ceylan, A. (1997). Tıbbi bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:481, 206–220, İzmir.
- Chakravarty, N. (1993). Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone, *Ann Allergy*, 70,2 37–42.
- Cheikh, R.S., Besbes, S., Hentati, B., Bleker, C., Deroanne, C., Attia, H. (2007). *Nigella sativa* L. Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry* 101, 673–681.
- Daba, M.H., Abdel-Rahman, M.S. (1998). Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett.*, 95 (1), 23–29.
- Dalkıran, G.N. (2014). Kabak Çekirdeğinden Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesi ve Yüzey Aktif Madde Kullanımının Yağ Verimine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Dattner A. (2003). Tıbbi bitkibilimden dermatolojide fitoterapiye: geleceğe dönüş. *Dermatol Ther*, 16, 106–13.

- Davis, P.H., Mill, R.R. ve Tan, K. (1965). Flora of Turkey ve The East Aegean Island, Edinburg University Press, Vol: 1, 98–104 p, Edinburg.
- Dayrıt F., Buenafe Olıvia Erın M., Chainanı E. ve Vera I. (2018). Analysis of Monoglycerides, Diglycerides, Sterols, and Free Fatty Acids in Coconut (*Cocos nucifera* L.) Oil by ³¹P NMR Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 56, 5765–5769.
- Dimic, E. (2005). Cold pressed oils, *University of Novi Sad, Faculty of Technology*, In Monography 170–172.
- Dimitrios, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505–512.
- Dinç, E. (2007). Kemometri çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27(1), 61–92.
- Dönmez, A.A., Wajhani, Y. ve Alsamman, B. (2010). A New Record of *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) for Flora Syria. *Hacettepe J. Biol ve Chem*, 38(4), 307–309.
- El Gazzar M., El Mezayen R., Nicolls MR., Mareckı JC., Dreskin SC. (2006). Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760, 1088–1095.
- Ekşi A. (2015). Gıda Gerçekleri, **Labmedya**, s. 32 : 18
- Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., Singab, A.N., Okuyama, T. (2001). Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L., *Biol Pharm Bull*, 24:307–10.
- Ersöz, A. (2010). *Aletli Analiz*, Anadolu Üniversitesi Yayını, 68.
- Ertaş, E. ve Topal, B. (2009). Gıda Hileleri Konusunda Toplum Olarak Yeterince Bilinçli miyiz?, *Bilim ve Teknik*, 38–41.
- Ertugay, M.F., ve Başlar, M. (2011). Gıdaların Kalite Özelliklerinin Belirlenmesinde Yakın Kızıl Ötesi (NIR) Spektroskopisi, *Gıda*, 36(1), 49–54.
- Fang G., Goh J. Y., Tay M., Lau H. F., Li S. F. Y. (2013). Characterization of oils and fats by ¹H NMR and GC/MS fingerprinting: Classification, prediction and detection of adulteration. *Food Chemistry*, 138, 1461–1469.
- Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. (2014). Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iran J Basic Med Sci.* 17(12):929– 38.
- Fragakı G., Spyros A., Sıragakıs G., Salıvaras E., ve Daıs p. (2005). Detection of Extra Virgin Olive Oil Adulteration with Lampante Olive Oil and Refined Olive Oil Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Multivariate Statistical Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2810–2816.
- Ge F., Chen C., Liu D., Zhao S. (2014). Rapid Quantitative Determination of Walnut Oil Adulteration with Sunflower Oil Using Fluorescence Spectroscopy. *Food Anal*, 7, 146–150.
- Gerige SJ, Gerige MKY, Rao M, Ramanjaneyulu. (2009). GC–MS analysis of *Nigella sativa* seeds and antimicrobial activity of its volatile oil. *Braz Arch Biol Technol.* 52(5):1189–92.

- Gezici, O. (2010). Akış Enjeksiyon–Kromatografik Yöntemlerle İmmobilize Hümik Asidin Sabit Faz Özelliklerinin İncelenmesi, *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Gök. A. (2012). Turunçgillerden Farklı Yöntemlerle Uçucu Yağ Elde Edilmesi ve Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Programı*, İstanbul.
- Gültekin G. (1998). Türk zeytinyağlarının trigliserid yapılarının tespiti ve zeytinyağına katılan ayçiçeği yağının nicel olarak tayini üzerinde araştırmalar, *Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi*, İzmir.
- Gümüşkesen, S. A. (1999). Bitkisel Yağ Teknolojisi, *Asya Tıp Yayıncılık*, İzmir.
- Gürdeniz G. (2008). Chemometric studies for classification of olive oils and detection of adulteration , master of science in Food Engineering, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Güven, (2011). Nitrozo R Tuzu Kullanılarak Bazı Metal Katyonlarının Spektrofotometrik Olarak Birlikte Tayinine Kemometrik Yöntemlerin Uygulanması. Ankara Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara.
- Haaland, D.M., Thomas E.V. (1990). Comparison of multivariate calibration methods for Quantitative spectral analysis. *Anal.Chem*, 62, 1091–1099.
- Hanafy, M.S., Hatem, M.E. (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin), *J Ethnopharmacol*, 34 (2–3), 275–278.
- Hoed, V.V., Barbouche, I., De Clercq, N., Dewettinck, K., Slah, M., Leber, E., Verhé, R. (2011) Influence of filtering of cold pressed berry seed oils on their antioxidant profile and quality characteristics, *Food Chemistry*, 127, 1848–1855.
- Houghton, P. J., Zarka, R., De las Heras, B., Hoult, R.S. (1995). Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation, *Planta Medica*, 61, 33–6.
- Işık A.F., Katib I., Bayram I., Ozbek H. (2005). A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 28, 301–305.
- Kanter, M., Demğr, H., Karakaya, C., Ozbek, H. (2005). Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol.*, 11, 6662–6666.
- Kaseb, A.O., Chinnakannu, K., Chen, D., Sivanandam, A., Tejwani, S., MENON, M., Dou, Q.P., Reddy, G.P. (2007). Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res.*, 67, 7782–8.
- Kavakçıoğlu, A. (2011). Tereyağ ve Margarin Tağışının Near Infrared Spektroskopisi İle Tayin Edilmesi, *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik Ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı*, Gebze.
- Khader M, Eckl PM. (2014). Thymoquinone: an emerging natural drug with a wide range of medical applications. *Iran J Basic Med Sci.* 17(12):950–7.

- Khoddami, A., Ghazali, H. M., Yassoralipour A., Ramakrishnan, Y., Ganjloo, A. (2011). Physicochemical characteristics of nigella seed (*Nigella sativa* L.) oil as affected by different extraction methods, *J Am Oil Chem Soc*, 88:533–540.
- Kim J., Jin G., Lee Y., Chun H. S., Ahn S. ve Kim B. H. (2015). Combined Analysis of Stable Isotope, ^1H NMR, and Fatty Acid To Verify Sesame Oil Authenticity. *American Chemical Society*, 63, 8955–8965.
- Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M.F. (2014). Physicochemical properties and stability of black cumin seed oil as affected by different extraction methods, *Industrial Crops and Products*, 57, 52–58.
- Lakshmi, V., Labs, R.V. and Guntur, Pradesh, A. (2012). Food Adulteration, *International Journal of Science Inventions Today*, 1(2), 106–113.
- Lampi, A.M., ve Heinonen, M. (2009). Berry seed and grapeseed oils, Gourmet and health-promoting specialty oils, In R. A. Moreau A. Kamal-Eldin, *AOCS Press*, Urbana, IL, 215–236.
- Le' ger, C.–L. (2000). La vitamine E: E' tat actuel des connaissances, ro'le dans la pre'vention cardiovasculaire, biodisponibilite' .(Vitamin E: present state of knowledge, role in preventing cardiovascular, bioavailability), *OCL – Oleagineux Corps gras Lipides* 7, 235–265.
- Li B., Wang H., Zhao ,Q., Ouyang J., Wu J. (2015). Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. *Food Chemistry* 181, 25–30.
- Lohumi S., Lee S., Lee H., Cho B. (2015). A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science & Technology*, 46, 85–98.
- Longobardi F., Ventrella A., Napoli C., Humpfer E., Schütz B, Schäfer H., Kontominas M.G., Sacco A. (2012). Classification of olive oils according to geographical origin by using ^1H NMR fingerprinting combined with multivariate analysis. *Food Chemistry*, 130, 177–183.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J. ve Yu L.L. (2011). Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils, *LWT – Food Science and Technology* , 43, 1409–1413.
- Maggio Rubén M., Cerretani L., Chiavaro E., Kaufman Teodoro S., Bendini A. (2010). A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control*, 21, 890–895.
- Mahfouz, M., El-Dakhkhny, M. (1960). The isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* L. Seeds, *J Pharm Sci United Arab Republic* 1:9–19.
- Hashem, F. M., El-Kiey, M.A. (1982). *Nigella sativa* seeds of Egypt, *J Pharm Sci United Arab Republic* 3:121–33.
- Mannina I., D'imperio M., Capitani D., Rezzı S., Guillou C., Mavromoustakos T., Vilchez, Fernandez A., Thomas F., Aparicio A. (2009). ^1H NMR–Based Protocol for the Detection of Adulterations of Refined Olive Oil with Refined Hazelnut Oil. *J. Agric. Food Chem.* 57, 11550–11556.

- Mansour, M.A., Nagi, M.N., El-Khatib, A.S., Al-Bekairi, A.M. (2002). Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action, *Cell. Biochem. Funct.* 20, 143–51.
- Montesinos-Herrero, C., Cottell, D.C., O’Riordan, D., O’Sullivan, M. (2006). Partial replacement of fat by functional fibre in imitation cheese: Effects on rheology and microstructure, *International Dairy Journal*, 16, 910–919.
- Morsi, N.M. (2000). Antimicrobial Effect of Crude Extracts of *Nigella sativa* on Multiple Antibiotics Resistant Bacteria. *Acta Microbial Pol*: 49(1), 63–74 p.
- Moreau, R. A., & Kamal-Eldin, A. (Eds.). (2009). Gourmet and health-promoting specialty oils, Introduction , *AOCS Press*, Urbana, Illinois, 1–13.
- Mossoba¹ Magdi M., Azizian H., Fardin-Kia¹ A., Karunathilaka¹ Sanjeewa R., Kramer John K. (2017). First Application of Newly Developed FT-NIR Spectroscopic Methodology to Predict Authenticity of Extra Virgin Olive Oil Retail Products in the USA. *Lipids*, 52, 443–455.
- Ntakatsane Moeketsi P., Liu X., Zhou P., Mothibe Kebitsamang J. Adegoke Gabriel O. Odenya William O. (2014). Characterization of fatty acid profile by FFFS. *Food Measure*, 8,1–8.
- Okay, (2004). Hatay’da üretilen zeytinyağlarında özgül absorbans ve trilinolein (trigliserit) değerlerinin belirlenmesi ve bu değerlerin zeytinyağı taşıdığındeki önemi, *Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mustafa Kemal Üniversitesi*, Hatay.
- Osborne, B.G. (2000). Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis, in: *Encyclopedia in Analytical Chemistry* (Ed: R. A. Meyers), John Wiley Sons.
- Özgür, Ğ. (2014). Karboksilik asitlerden ester sentezi ve sentezlenen maddelerin infrared, ultraviyole ve NMR spektroskopileri yardımı ile özelliklerinin deneysel ve teorik olarak incelenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi*, Afyon.
- Özgüven, M. ve Tansı. S. (1989). Çukurova Koşullarında *Nigella* Türlerinde Optimum Ekim Zamanının Saptanması Üzerinde Bir Araştırma, *İstanbul Üniversitesi Yayınları* No: 3733, VII: Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı 19–21 Mayıs 1989, İstanbul.
- Öztürk, B. (2003). Monitoring the Esterification Reactions of Carboxylic Acids with, Alcohols Using Near Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration Methods, *Izmir Institute of Technology Thesis of M.Sc.*
- Rabrenovic, B. B., Dimic E.B., Novakovic M.M., Tesevic, V.V., Basic, Z.N. (2014). The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds, *LWT – Food Science and Technology* , 55, 521–527.
- Ragaa, HMS. (2010). Clinical and Therapeutic Trials of *Nigella sativa*. *TAF Prev Med Bull*, 2010. 9(5): 513–522.
- Ramadan, M.F., Asker, M.M.S., Tadros, M. (2012). Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils, *Eur Food Res Technol*, 234, 833–844.
- Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. (2002). A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan J Med Res*, 41(2), 77– 83.

- Rhouhou, S.C., Besbes S. (2000). Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H., 2007. *Nigella sativa* L chemical composition and phy sicochemical characteristics of lipid fraction, *Food Chem.*, 101, 673–681.
- Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider–Stock R, Galı–Muhtasib H. (2007). İnsan osteosarkom hücrelerinde p53 apoptozu ve kaspaz aktivasyonu eksikliği. *Kanser Biol Ther*, 6 (2), 160–9.
- Rohman A., Man Yaakob B. ve Riyanto S. (2010). Authentication Analysis of Red Fruit (Pandanus Conoideus Lam) Oil Using FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics. *Food Research International* 43, 886–892.
- Sakarya, (2015). Yoğunluk Fonksiyon Teorisi Yardımı İle 2,2'-Ethylenedianiline Molekülünün FT–IR, FT–Raman ve NMR Hesaplamalarının Deneyisel Ve Teorik Çalışmaları. Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, Kırşehir.
- Salemai, M.L. ve Hossain, M.S. (2000). Protective Effect of Black Seed Oil From *Nigellasativa* Against Murine Cytomegalo virus Infection. *Int J Immunopharmacol*, (22), 729–740.
- Salem, M.L., Hossagn, M.S. (2000). Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against Murine cytomegalovirus infection, *Int J Immunopharmacol.*, 22, 729–740
- Salem, M.L. (2005). Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L seed, *Int Immunopharmacol*, 5, 1749–1770.
- Salomi N., Nair S., Jayawardhanan K., Varghese C., Panikkar K. (1992). Antitumour principlis from , *Nigella sativa seends*. *Cancer Lett* 31, 41–6.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (2000). Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, İzmir, 116.
- Shafiq H, Ahmad A, Masud T, Kalem M. (2014). Cardio–protective and anti–cancer therapeutic potential of *Nigella sativa*. *Iran J Basic Med Sci*. 17(12), 967–79.
- Skevin, D., Kraljic, K., Miletic, L., Obranovic, M., Nederal, S., and Petricevic M. (2011). Adulteration of Oblica Olive Oil with Edible Sunflower and Refined Olive Pomace Oil Croatian, *Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 6 (3–4), 117–122.
- Skoog, D.A., James Holler, F., Crouch, S.R. (2018). Principles of Instrumental Analysis, 7th Edition, ISBN13: 978–1–337–67007–4, 1056.
- Swamy, S.M., Tan, B. K. (2000). Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L seeds, *J Ethnopharmacol*, 70:1–7.
- Swamy, S.M., Tan, B. K. (2000). Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L seeds, *J Ethnopharmacol*, 70, 1–7.
- Tan,J., Li R., Jiang Z., Tang S., Wang Y., Shi M., Xiao Y., Jia B., Lu T., Wang H. (2017). Synchronous front–face fluorescence spectroscopy for authentication of the adulteration of edible vegetable oil with refined used frying oil. *Food Chemistry*, 217, 274–280.
- Taş, T. (2008). Katışıklı Zeytinyağlarında Katıştırılan Yağ Cinsi ve Oranının Ftır Spektroskopisi ve Kemometrik Yöntemlerle Belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Aydın.

- Telci, İ. (1995). Tokat Şartlarında Farklı Ekim Sıklığının Çörek Otu (*Nigella sativa*)’nda Verim, Verim Unsurları ve Bazı Bitkisel Özelliklerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat.
- Tiryaki G. Y. ve Ayvaz H. (2017). Quantification of soybean oil adulteration in extra virgin olive oil using portable raman spectroscopy. *Food Measure*, 11, 523–529.
- Üstun, G., Kent, L., Çekin, N., Civelekoglu, H. (1990). Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil, *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 67 (12), 958–960.
- Vandeginste B. M. G., Massart D. L., Buydens L. M. C., De Jong S., Lew_ P. J. And Smeyers-Verbeke. J. (1998). Handbook Of Chemometrics And Qualimetrics Part B, *Elsevier*, Amsterdam.
- Vasireddi, S.P. (2013). Food Adulteration and Control Mechanism. At the Workshop on Food Defense Awareness for Food Business Operators and Exporters, ppt.
- Vıgılı G., Philippidis A., Spyros A. ve Dais P. (2003). Classification of Edible Oils by Employing ³¹P and ¹H NMR Spectroscopy in Combination with Multivariate Statistical Analysis. A Proposal for the Detection of Seed Oil Adulteration in Virgin Olive Oils. *Food Chem*, 51, 5715–5722.
- Vural, N. (1992). Besin Analizleri. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*, 69, 183, Ankara.
- Yıldız A. ve Genç Ö. (1993). *Enstrümantal Analiz*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 109.
- Yildiz Tiryaki G. ve Ayvaz H. (2017). Quantification of soybean oil adulteration in extra virgin olive oil using portable raman spectroscopy. *Food Measure* 11, 523–529.
- Yu, L. L., Zhou, K. K., Parry, J. (2005). Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry and hemp seed oil, *Food Chemistry*, 91, 723–729.
- Zahide, Ü. (2012). Farklı Stabilizasyon ve Depolama Sıcaklıklarının Buğday Ruşeym Yağı Oksidasyonuna Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Zaoui, A., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M.A., Settaf, A., Amarouch, H., Hassar, M. (2000). Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat, *Therapie* 5, 379–82.
- Zhu W., Wang X., Chen L. (2017). Rapid detection of peanut oil adulteration using low-field nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Food Chemistry*, 216, 268–274.
- Zigoneanu, I. G. (2006). Alpha-tocopherol: Extraction from rice bran by microwave-assisted method, and entrapment and release from polymeric nanoparticles, *Yüksek Lisans Tezi, Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, USA*, 10–15.
- Wang, L., and Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology* 17, 300–312.
- Wolf, G. (1997). Gamma-tocopherol: an efficient protector of lipids against nitric oxide-initiated peroxidative damage, *Nutrition Reviews* 55 (10), 376–378.

Worthen, D.R.,Ghosheh, O.A. ve Crooks, P.A. (1998). The in Vitro Antitumor Activity of Some Crudeand Purifed Components of Black Cumin (*Nigellasativa*L.) AnticancerRes; 18:15, 27–32.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Süleyman DİNCER
Doğum Tarihi ve Yeri : 1991/ GÜRPINAR
E-posta : Suleyman27151527@gmail.com

Öğrenim Durumu:

Lise : 2010, İMKB Anadolu Lisesi
Lisans : 2014, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Fen Bilimleri Öğretmenliği
: 2017, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Özel Eğitim Öğretmenliği
Yüksek Lisans : 2020, Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi, Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı, Kimya
Yabancı Dil ve Düzeyi : İngilizce, başlangıç seviyede

Mesleki Deneyim ve Ödüller:

2018-devam ediyor, Milli Eğitim Bakanlığı, Özel Eğitim Öğretmeni

Projeler

Yüksek Lisans Tez Projesi–Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi 10–YL–19 “Çörek Otu (*Nigella Sativa L.*) Yağı Taşışında Kullanılan Yağ Cinsi ve Miktarının Belirlenmesi İçin Kemometrik Veri Analiz Yaklaşımlarına Dayalı Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopi Yöntemlerinin Geliştirilmesi”, K.M.Ü. BAP, Yardımcı Araştırmacı, 2019–2020.