



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

*[BAZI ANTİOKSİDAN BİLEŞİKLERİN KOLAY OKSİDE OLABİLEN
AROMALAR ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI*

[Muhammet Onur YAKAK]

[Dr. Öğr. Üyesi Burcu BEKDEŞER]

[Kimya Anabilim Dalı]

[Analitik Kimya Programı]

[İSTANBUL-2019]

Bu çalışma 13.06.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul
edilmiştir.


TEZ JÜRİSİ



Dr. Öğr. Üyesi Burcu BEKDEŞER
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN
İstanbul Teknik Üniversitesi
Kimya-Metalurji Fakültesi



[20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa’nın aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, numaralı projesi ile desteklenmiştir.]

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve tez çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Reşat APAK'a, aynı süreçte gösterdiği her türlü destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Burcu BEKDEŞER'e, yüksek lisans öğrenimime başlamamda beni teşvik eden ve büyük katkısı olan sevgili hocam Prof. Dr. Sema DEMİRÇİ ÇEKİÇ'e ve birçok çalışmada yardımlarını benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi MUSTAFA BENER, Arş. Gör. Dr. Esin AKYÜZ, Öğr. Gör. Ayşe NUR ÖNEM, Furkan BURAK ŞEN ve Büşra KESKİN'e ve çalışmalarım süresince her türlü laboratuvar imkanı sağlayan Analitik Kimya Anabilim Dalı'na ve bu bölümdeki tüm hocalarıma en kalbi duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimi kararımın başından itibaren desteklerini ve şirket bünyesindeki imkanları benden esirgemeyen çok değerli ELSO KİMYA SAN ve TİC. A.Ş. yönetimine, bu çalışmalar esnasında yardımlarını benden esirgemeyen ELSO KİMYA bünyesinde çalışan Aroma AR-GE Departmanı'nda ve Kalite Kontrol Departmanı'nda ki çok değerli mesai arkadaşlarıma, şu an şirket bünyesinde olmayan ama çalışmalarımda yardımcı dokunan sevgili Sevda ALİMAN'a ve sürecin başından bu yana en yakın destekçilerimden olan Hilal ÇİFÇİ'ye çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olup her türlü desteği benden esirgemeyen çok sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim. Öte yandan proje aşamasında manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili İrem SUBAŞI ve Barış GÜZEL'e de çok teşekkür ederim.

Mayıs 2019

Muhammet Onur YAKAK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL KISIMLAR.....	3
2.1.AROMALAR HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	3
2.1.1.Gıdalarda Aroma Kullanım Nedenleri.....	3
2.1.2.Aromalarda Sınırlı Olan Bazı Katkı Maddeleri.....	3
2.2.ESANSİYEL YAĞLAR.....	5
2.2.1.Esansiyel Yağların Faydaları.....	6
2.3.TERPENOİDLER.....	6
2.3.1.Terpenlerin Reaksiyonları ve Oksidasyonları.....	7
2.3.2.Bazı Terpenoit Bileşiklerinin Oksidasyon Ürünleri.....	9
2.3.2.1.Linalol.....	9
2.3.2.2.Mirsen.....	11
2.3.2.3.Limonen.....	11
2.3.2.4.Alfa Pinen.....	12
2.3.2.5.Sabinen.....	13
2.3.3.GC-MS Cihazı ile Terpenoit Türevi Bileşiklerin Analizi.....	14
2.4.PORTAKAL YAĞI VE İÇERİĞİ.....	16
2.5.GIDA KORUYUCULARI OLARAK KULLANILAN BAZI ANTIOKSİDAN TÜRLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	17
2.5.1.Bazı Antioksidan Türleri.....	18
2.5.1.1.C Vitamini (Askorbik Asit).....	18
2.5.1.2.E Vitamini (Tokoferol).....	19
2.5.1.3.Fenolik Asitler.....	19

2.5.1.4.Sentetik Antioksidanlar.....	23
2.5.1.5.Sentetik Antioksidanların Yol Açtığı Sağlık Sorunları.....	24
3.MALZEME VE YÖNTEM.....	27
3.1.KULLANILAN CİHAZLAR.....	27
3.2.KİMYASAL MADDELER	27
3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması.....	27
3.2.1.1.Cuprac Reaktifinin Hazırlanışı.....	27
3.2.1.2.Dpph Reaktifinin Hazırlanışı.....	28
3.2.1.3.Portakal Aromasının Hazırlanışı.....	28
3.2.1.4.Kütlece %4'lük ve %10'luk Antioksidan Katkılı Aroma Çözeltilerinin Hazırlanışı ve Aromaya Uygulanışı.....	29
3.3.UYGULANAN YÖNTEMLER.....	29
3.3.1.CUPRAC Yöntemi.....	29
3.3.2.DPPH Yöntemi.....	30
3.3.3.GC-MS Cihazı ile Oksidasyon Ürünlerinin Belirlenmesi.....	30
3.3.4.Klimatik Test Kabininde Yaşlandırma Tekniği ile Aromaların Son Kullanım Tarihlerinin Belirlenmesi.....	32
4.BULGULAR.....	33
4.1.PORTAKAL YAĞININ TERPEN İÇERİKLERİNİN GC-MS İLE % PİK ALANLARININ BELİRLENMESİ.....	33
4.2.PORTAKAL YAĞI İÇERİSİNDEKİ TERPENOİD TÜREVİ BİLEŞİKLERİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN BELİRLENMESİ.....	34
4.3.PORTAKAL YAĞININ İÇERİĞİNDE BULUNAN TERPENLERİN GC-MS ANALİZİ İLE % PİK ALANLARINDA Kİ DEĞİŞİMİN İNCELENMESİ	39
4.4.PORTAKAL YAĞININ İÇERİSİNDEKİ TERPENLERİN KALİBRASYON GRAFİKLERİNİN OLUŞTURULMASI.....	40
4.5.PORTAKAL YAĞININ İÇERİSİNDE EN FAZLA BULUNAN TERPEN BİLEŞİKLERİNİN CUPRAC YÖNTEMİYLE OKSİDASYONA BAĞLI OLARAK ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN İNCELENMESİ.....	42
4.6.PORTAKAL YAĞININ İÇERİSİNDE EN ÇOK BULUNAN TERPEN BİLEŞİKLERİNİN DPPH YÖNTEMİYLE OKSİDASYONA BAĞLI OLARAK ANTIOKSİDAN SÜPÜRME AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ.....	44
4.7.KATKISIZ PORTAKAL AROMASININ GC-MS ANALİZİ VE KROMATOGRAMDAKİ BİLEŞİKLERİN TANIMLANMASI.....	46
4.8.PORTAKAL AROMASININ HAFTALARA GÖRE GC-MS	

KROMATOGRAMINDAKİ DEĞİŞİMLER VE OKSİDASYON ÜRÜNLERİ	48
4.9.PORTAKAL AROMASININ CUPRAC YÖNTEMİ İLE ANTiOKSİDAN KAPASİTESİNİN İNCELENMESİ.....	53
4.10.PORTAKAL AROMASININ DPPH YÖNTEMİ İLE ANTiOKSİDAN SÜPÜRME KAPASİTESİNİN İNCELENMESİ.....	55
4.11.KLİMATİK TEST KABİNİ KULLANILARAK PORTAKAL AROMASININ YAŞLANDIRILMASI VE BUNUN SONUCUNDA GERÇEKLEŞTİRİLEN DUYUSAL APLİKASYON TESTLERİ.....	57
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	62
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	72

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: İzoprenin yapısı.....	7
Şekil 2.2: Terpenlerin en çok bilinen türlerinin görünümü.....	8
Şekil 2.3: Linalol bileşiğinin gün ışığıyla oksidasyon mekanizması.....	9
Şekil 2.4: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden hidroksialdehit örnekleri.....	10
Şekil 2.5: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden hidroksikarboksilik asit örnekleri.....	10
Şekil 2.6: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden 6-Metil-5-Hepten-2-One ve 5-Metil-5-Vinil-Tetrahidrofuran-2-One yapısı.....	10
Şekil 2.7: Mirsen'in bazı minör ve majör oksidasyon ürünleri.....	11
Şekil 2.8: Limonen'in oksidasyon ürünlerinden bazıları.....	11
Şekil 2.9: Limonen'in oksidasyon ürünleri.....	12
Şekil 2.10: Limonen'in diğer oksidasyon ürünleri.....	12
Şekil 2.11: Pinon aldehit (Cis-3-Asetil-2,2-Dimetil-Siklobütil-Etanal) bileşiğinin yapısı....	13
Şekil 2.12: Alfa Pinen'in literatürde tespit edilen bazı oksidasyon ürünlerinin yapısı.....	13
Şekil 2.13: Alfa Pinen'in ozon ile oluşturduğu reaksiyonun oksidasyon ürünleri.....	13
Şekil 2.14: Sabinen keton (5-Izopropil- Bisiklo [3.1.0] Hekzan-2-One), sabinol ve sabinil asetat bileşiklerinin kimyasal yapıları.....	14
Şekil 2.15: Doğal antioksidanların sınıflandırılmaları.....	17
Şekil 2.16: Askorbik asidin yapısı.....	18
Şekil 2.17: Askorbik asidin oksidasyon mekanizması.....	18
Şekil 2.18: α-tokoferolün yapısı.....	19
Şekil 2.19: Bazı fenolik asit türleri.....	20
Şekil 2.20: Salisilik asidin kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.21: Gallik asidin kimyasal yapısı, türevleri ve görevleri	21
Şekil 2.22: Üstte kateşol ve altta pirogalloldeki moleküller arası hidrojen bağlanması ve radikal stabilizasyonu.....	22
Şekil 2.23: Gallik asit molekülünün antioksidan aktivitelerinin etkinliğinden sorumlu faktörler.....	22
Şekil 2.24: BHA'nın kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.25: BHT'nin kimyasal yapısı.....	24

Şekil 2.26: Propil, dodesil ve oktil gallatların kimyasal yapıları.....	24
Şekil 4.1: Portakal yağına ait GC-MS kromatogramı.....	34
Şekil 4.2: Limonen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.....	35
Şekil 4.3: Limonen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.....	35
Şekil 4.4: Alfa Pinen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.....	36
Şekil 4.5: Alfa Pinen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.....	36
Şekil 4.6: Sabinen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.....	37
Şekil 4.7: Sabinen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.....	37
Şekil 4.8: Mirsen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.....	38
Şekil 4.9: Mirsen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.....	38
Şekil 4.10: 3 farklı bileşenin zaman içerisinde portakal yağındaki %pik alanı değişim grafikleri.....	39
Şekil 4.11: Limonen bileşiğinin zaman içerisinde portakal yağındaki % pik alanı değişim grafikleri.....	39
Şekil 4.12: GC-MS yöntemi ile elde edilen sabinen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.....	40
Şekil 4.13: GC-MS yöntemi ile elde edilen limonen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.....	40
Şekil 4.14: GC-MS yöntemi ile elde edilen alfa pinen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.....	41
Şekil 4.15: GC-MS yöntemi ile elde edilen mirsen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.....	41
Şekil 4.16: Limonen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.....	42
Şekil 4.17: Alfa Pinen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.....	43
Şekil 4.18: Sabinen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.....	43
Şekil 4.19: Mirsen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.....	44
Şekil 4.20: Limonen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.....	44
Şekil 4.21: Alfa Pinen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.....	45
Şekil 4.22: Sabinen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.....	45
Şekil 4.23: Mirsen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.....	46
Şekil 4.24: Portakal aromasının GC-MS kromatogramı.....	47
Şekil 4.25: Portakal aromasının 1. Hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.....	48
Şekil 4.26: Portakal aromasının 2. Hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.....	49
Şekil 4.27: Portakal aromasının 3. Hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.....	50
Şekil 4.28: Portakal aromasının 4. Hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.....	51
Şekil 4.29: Portakal aromasının 5. Hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.....	52
Şekil 4.30: GA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbansları.....	53

Şekil 4.31: BHA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.....	53
Şekil 4.32: SA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.....	54
Şekil 4.33: AP katkılı portakal aromasının %4'lük konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.....	54
Şekil 4.34: %4 ve %10'luk BHA katkılı portakal aromalarının haftalara göre değişen absorban değerleri	55
Şekil 4.35: %4 ve %10'luk GA katkılı portakal aromalarının haftalara göre değişen absorban değerleri	56
Şekil 4.36: %4 ve %10'luk SA katkılı portakal aromalarının haftalara göre değişen absorban değerleri	56
Şekil 4.37: %4'lük AP katkılı portakal aromasının haftalara göre değişen absorban değerleri.....	57

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Bazı aroma hammaddelerinin gıdalar içerisindeki kullanım limitleri.....	4
Tablo 2.2: Bazı gıda katkı maddelerinin Türk Gıda Kodeksine göre sınır değerleri.....	4
Tablo 2.3: Terpenlerin yapılarındaki izopren birimlerine ve karbon atomlarına göre sınıflandırılmaları.....	7
Tablo 2.4: Portakal yağının içeriği.....	16
Tablo 3.1: Portakal aromasının içeriği.....	28
Tablo 3.2: Portakal yağının ve standart maddelerin içeriğindeki bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GC-MS metodu.....	31
Tablo 3.3: Portakal aromasının içeriğindeki bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GC-MS metodu.....	31
Tablo 4.1: Portakal yağının GC-MS analizi.....	33
Tablo 4.2: Terpenlerin molaritelerinin ve % pik alanlarının zaman içerisindeki değişimi.....	41
Tablo 4.2 (devamı): Terpenlerin molaritelerinin ve % pik alanlarının zaman içerisindeki değişimi	42
Tablo 4.3: Portakal aromasının kromatogramda görünen içeriği.....	47
Tablo 4.3 (devamı): Portakal aromasının kromatogramda görünen içeriği.....	48
Tablo 4.4: Test kabini dışında geçen 12. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabiniinden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.....	57
Tablo 4.4 (devamı): Test kabini dışında geçen 12. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabiniinden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.....	58
Tablo 4.5: Test kabini dışında geçen 16. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabiniinden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri	58
Tablo 4.6: Test kabini dışında geçen 24. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabiniinden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri	59

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

BHT: Bütil Hidroksi Toluen

BHA: Bütil Hidroksi Anisol

TBHQ: Tert-Bütil Hidrokinon

GA: Gallik Asit

SA: Salisilik Asit

AP: Askorbil Palmitat

CO₂: Karbondioksit

CO: Karbonmonoksit

OH⁻: Hidroksil anyonu

O₃: Ozon

NO₃⁻: Nitrat

MVT: 5-metil-5-vinil-tetrahidrofur-2-ol

MHO: 6-metil-5-hepten-2-one

AMCH: 4-asetil-1-metil-sikloheksen

MSDS: Malzeme Güvenlik Bilgi Formu

GC-MS: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometrisi

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

CUPRAC: Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi

Cu (II)Cl₂·2H₂O: Bakır (II) Klorür Dihidrat

Nc: Neokuproin

EtOH: Etil Alkol

MetOH: Metil Alkol

DPPH: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

UV: Ultraviyole

RT: Alıkonma Zamanı

|

ÖZET

BAZI ANTIOKSİDAN BİLEŞİKLERİN KOLAY OKSİDE OLABİLEN AROMALAR ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammet Onur YAKAK

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Burcu BEKDEŞER

Tüm dünya genelinde endüstriyellemenin hızla artmasıyla birlikte her sektörde olduğu gibi gıda sektöründede ürün standardizasyonu ve kalitesi aranan kriterlerden olmuştur. Bu bağlamda aroma sektörü özellikle değişen ürün grupları da göz önünde bulundurularak her üründe aynı tat ve kalitenin sağlanabilmesi adına her geçen gün gelişen bir sektör olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak zaman içerisinde ürünün kalitesi kadar raf ömrünün de önem kazanmasıyla birlikte aromalara antioksidan katkılarının da ilavesi araştırılmaya başlanmıştır. Mevcut durumda portakal, limon, bergamot veya turunçgil türevi aromalarının diğer aroma türlerine göre daha kısa raf ömürlerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bunun sebebi incelendiğinde ise yapılarındaki portakal, limon, bergamot yağları veya bu yağların yüksek terpenoit içerikleri ile karşılaşmaktayız.

Terpenoitler ve türevleri aromalar içerisinde kullanılan en temel bileşenlerdendir. Bu bileşenler ortam sıcaklığı, gün ışığı gibi doğal faktörlerden kolaylıkla etkilenerek kısa sürede oksidasyona uğramaktadırlar. Bu durum aroma karakterlerinde kısa sürede zayıflama, değişen tat ve koku olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu kapsamda bu tez çalışmasının amacı; aromaların daha kısa raf ömürlerine sahip olmasına sebep olan bu terpenoit türlerini içeren yağlara farklı antioksidan katkıları ilave ederek raf ömürlerinin ne kadar süre uzatılabileceğini araştırmak ve

bunun yanında piyasada mevcut durumda kullanılan sentetik antioksidan BHA' ya alternatif olabilecek bir doğal antioksidan araştırması yapmaktır.

Bu çalışmada portakal aromasına literatürde CUPRAC yöntemi olarak bilinen toplam antioksidan kapasite tayin yöntemi, DPPH yöntemi olarak bilinen serbest radikal süpürme aktivitesi yöntemleri uygulanmıştır. Spektrofotometrik bir yöntem olan CUPRAC yönteminde bakır(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc) reaktifi kullanılarak çeşitli antioksidan bileşikler varlığında aroma örneklerinin 450 nm de ölçülen absorbans değişimleri incelenmiştir. DPPH yönteminde ise 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali kullanılarak çeşitli antioksidan bileşikler varlığında aroma örneklerinin 517 nm de ölçülen absorbans değişimleri incelenmiştir. Bu yöntemler uygulanmadan önce katkılı ve katkısız aromalar klimatik test kabine konularak yaşlandırma tekniği ile raf ömürlerinin geçmesi sağlanmıştır. Bu esnada belirli aralıklarla alınan numunelerin CUPRAC ve DPPH yöntemleri uygulanarak oksidasyon aşamaları gözlemlenmiştir. Oksidasyon ürünleri GC-MS yardımıyla tespit edilmiştir ve zaman içerisinde bir aromanın kromatogramında meydana gelen değişimler yorumlanarak antioksidan katkılarının bu sonuçlara nasıl etki ettikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak elde edilen deney sonuçları göstermektedir ki BHA ile katkılandırılmış aromanın raf ömrü 2 yıla kadar çıkabiliyorken bu süreye en yakın antioksidanın gallik asit olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında daha kısa süreli koruma istenildiğinde ise salisilik asit ve askorbil palmitatın benzer etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmaların devamında en son aşamada son ürünler haline getirilen aromalara aplikasyon testleri uygulanmıştır. |

|Mayıs 2019, |88.| sayfa.

Anahtar kelimeler: | Portakal aroması, portakal yağı, terpenler, antioksidanlar, CUPRAC Yöntemi, DPPH Yöntemi . |

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF SOME ANTIOXIDANT COMPOUNDS ON EASILY OXIDIZABLE AROMATICS

M.Sc. THESIS

Muhammet Onur YAKAK

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Burcu BEKDEŞER

With the rapid increase of industrialization throughout the world, product standardization and quality in food sector as in every sector has been one of the criteria. In this context, flavor sector is seen as a developing sector in order to provide the same taste and quality in every product especially considering the different product groups. However, the shelf life as well as the quality of the product has gained importance over time with the adding of antioxidant additives to the aromas began to be investigated. Orange, lemon, bergamot or citrus-derived flavors have a shorter shelf life compared to other flavor types. When we examine the reason for this, orange, lemon, bergamot oils in the structure or the high terpenoid contents of these oils are encountered.

Terpenoids and their derivatives are among the most basic components used in flavors. These components are easily affected from natural factors such as ambient temperature, sunlight and oxidation in a short time. This situation emerges as flavor characters weakens in a short period, changing taste and smell. In this context, the aim of this thesis is; to investigate how long the shelf-life can be extended by adding different antioxidant additives to the oils containing these terpenoids which cause shorter shelf life of the flavors and to conduct a

natural antioxidant research which may be an alternative to the synthetic antioxidant BHA used in the global market.

In this study, total antioxidant capacity determination method known as CUPRAC method in literature, free radical scavenging activity methods known as DPPH method in literature have been applied to orange flavor. CUPRAC method, which is a spectrophotometric method using copper (II) -neocuproin (Cu (II) -Nc) reagent in the presence of various antioxidant compounds in the absorbance changes measured at 450 nm were examined. In the DPPH method, the absorbance changes of flavor samples measured at 517 nm were investigated in the presence of various antioxidant compounds by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals. Before these methods were applied, additived and non-additived flavors were put into climatic test cabin and shelf life was achieved with aging technique. During this period, by applying CUPRAC and DPPH methods to the samples which taken and the oxidation steps were observed. Oxidation products were determined by GC-MS and the changes in the chromatogram of a flavor in time were interpreted and the effects of antioxidant additives on these results were investigated. As a result, the obtained experimental results show that the shelf life of BHA-enriched flavor can be up to 2 years, the closest antioxidant which is near to this period is determined to be gallic acid. In addition, it was determined that salicylic acid and ascorbyl palmitate had similar effects when short term protection was desired. In the continuation of these studies, the application tests were applied to the flavors which were ending products in the final stage. |

|May 2019, |88, |pages.

Keywords: | Orange flavor, orange oil, terpenoids, antioxidants, CUPRAC Method, DPPH Method. |

1. GİRİŞ

Dünya genelinde endüstriyellemenin hızlanmasıyla birlikte her sektörde olduğu gibi gıda sektöründe de tüketilen ürünlerin kalitesini artırmak ve ürün standardizasyonunu sağlamak ihtiyacı oluşmuştur. Bu bağlamda aroma sektörü seneler içerisinde ihtiyaçlar dahilinde önem kazanan ve bu önemi artan bir sektör olmuştur. Şu an hemen hemen ambalajlanmış her ürünün içerisinde o ürünlere tat ve koku vermek için kullanılan aromalar özellikle binlerce hammadde çeşidi, çok çeşitli esansiyel yağlar ve bileşimlerle birlikte günümüzde sayısız araştırma konusunun temeli olmuştur.

Ürün çeşitliliği ne kadar fazlaysa aroma çeşitliliği de o kadar farklılık göstermektedir. Süt ürünlerinden, cipslere, meyve suyu konsantrelerinden, sakızlara kadar birçok alanda aromalardan yardım alınmaktadır [1]. Bu kadar farklı ürün çeşitliliğine sahip olunması sebebiyle aroma alanında kullanılan hammaddelerde aynı ürünler gibi farklı kimyasal özelliklere, birbirleri arasında farklı tepkimelere, gün ışığı, sıcaklık gibi doğal faktörlere karşı vermiş oldukları tepkiler konusunda da birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Özellikle turunçgil, limon, bergamot türleri gibi yapılarında portakal yağı, bergamot yağı, limon yağı gibi doğal koşullardan çok çabuk etkilenen terpenoit bileşiği içerikleri yüksek aromalarda raf ömrünü arttırabilmek amacıyla zaman içerisinde antioksidan özellikli koruyucu bileşiklerin kullanımı ihtiyaç haline gelmiştir [2].

Antioksidanlar genel tanımıyla vücudumuzdaki birçok hastalığa sebep olan serbest radikalleri etkisiz hale getiren moleküller olarak bilinirler. Doğal yollardan elde edilen türleri olduğu gibi (C vitamini, E vitamini, beta karoten, selenyum, çinko, gallik asit...vb), sentetik yollarla oluşturulmuş olan türleri de (BHT (Bütil Hidroksi Toluen), BHA (Bütil Hidroksi Anisol), TBHQ (Tert-Bütil Hidrokinon)) mevcuttur.

Antioksidan türleri üzerinde seneler boyunca yapılan sayısız araştırmalar sonucunda birçok antioksidan türünün sağlık açısından yararları her ne kadar ispatlanmış olsa da çalışmaların diğer tarafında özellikle sentetik olarak elde edilen antioksidan türlerinin kanserde dahil olmak üzere birçok hastalığa zamanla davetiye çıkardığı sonuçları elde edilmiştir. Bu bağlamda özellikle birçok sentetik antioksidan türünün günümüzde ya tamamen

yasaklandığını ya da gıda da kullanımının ülke kodekslerine göre sınırlandırıldığını görmekteyiz [3].

Özellikle gıda sektöründe aromalar da başta olmak üzere birçok safhada en fazla kullanılmakta olan antioksidanlardan BHT zaman içerisinde kanserojen etki gösterdiği tespit edildiği için tamamen yasaklanmıştır. Bunun yanında TBHQ da benzer sebeplerden dolayı yasaklanmıştır. Şu an için en çok kullanılan antioksidan olan BHA ise birçok araştırmaya konu olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda çok farklı sonuçlar ve görüşler olsa da BHA' nın da özellikle yüksek konsantrasyonlarda kullanımının çok değişik sağlık sorunlarına sebep olduğu birçok çalışmada tespit edilmiştir. Kısa vadede birçok ülkede kullanımının sınırlandırıldığı BHA' nın yakın zamanda belki de gıdalarda ve buna bağlı olarak aromalarda yasaklanması sürpriz olmayabilir.

Bu bağlamda bu çalışmada kolay okside olabilen aroma türlerinden olan portakal aromasına sentetik bir antioksidan türü olan BHA başta olmak üzere gallik asit, salisilik asit ve C vitamininin yağda çözünen türü olan askorbil palmitat bileşikleri gibi antioksidan bileşiklerinin raf ömrü üzerine etkileri incelenmiştir.

|

2. GENEL KISIMLAR

2.1. AROMALAR HAKKINDA GENEL BİLGİ

Aroma verici; olduğu haliyle tüketilmesi amaçlanmayan, tat ve/veya koku vermek veya değiştirmek amacıyla gıdalara eklenen aroma verici maddeler, aroma verici preparatlar, ısıl işlem aroma vericileri, tütü aroma vericileri, aroma öncülleri veya diğer aroma vericiler ya da bunların karışımarından yapılan veya oluşan ürünü kapsamaktadır [1].

Aroma vericiler; gıdalarda kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddelerini ve/veya depolama, standardizasyon, seyreltme veya çözünme ve stabilizasyon gibi teknolojik amaçlar doğrultusunda ilave edilmiş olan gıda bileşenlerini içerebilir [1].

2.1.1. Gıdalarda Aroma Kullanım Nedenleri

- Gıdanın doğal aromasında meydana gelen mevsimsel değişiklikleri düzeltmek.
- İşlem sırasında kaybolan aromayı geri kazanmak.
- Gıdaya kendi aromasından farklı bir aroma kazandırmak.
- Gıdaya doğal olarak bulunan ve elde edilen ürünün kalitesini olumsuz yönde etkileyecek aroma bileşenlerini maskelemek.
- Gıda maddesinin zayıf olan aromasını kuvvetlendirmek.
- Gıdalarda doğal olarak bulunan lezzeti güçlendirmek [2].

Ürün kalitesinin geliştirilmesinde ki öncelikli amaç ise hazır gıdalarda ortaya çıkan lezzet kayıplarının ortadan kaldırılmasını ya da en aza indirilmesini sağlamaktır. Bu gıdalarda lezzetin en büyük tamamlayıcısı olan aroma vericiler kullanılmaktadır [2].

2.1.2. Aromalarda Sınırlı Olan Bazı Katkı Maddeleri

Aroma maddelerinin sınıflandırılması yapılırken elde ediliş yöntemlerine göre Doğal Aroma Vericiler ve Aroma Vericiler olarak 2 sınıfta yapmak doğru olacaktır. Bu sınıflandırmanın dışında aroma vericilerin yapısında kullanılan bazı bileşenlerden ve kullanım durumlarından bahsedecek olursak; özellikle Gıda Kodeksi'nde tek başına yasaklı olan veya ürünler içerisinde kullanım sınırı olan bazı aroma verici bileşenler şunlardır:

Tablo 2.1: Bazı aroma hammaddelerinin gıdalar içerisindeki kullanım limitleri [3].

Madde ismi	Miktarı Sınırlanmış Maddenin Bulunduğu Gıdalar	En yüksek miktar (mg/kg)
Beta asaron	Alkollü içkiler	1
1-Allil-4-metoksibenzen (Estragol)	Süt ürünleri İşlenmiş meyve ve sebzeler Balık ürünleri Alkolsüz içkiler	50
Hidrosiyamik asit	Badem ezmesi ve türevleri	50
Mentofuran	Nefes tazeleyici şekerler Sakızlar Naneli alkollü içkiler	3000 1000 200
Kumarin	Tarçın içeren fırıncılık ürünleri Kahvaltılık tahıl ürünleri Tatlılar	50 20 5

Bu maddeleri çoğaltmak mümkündür. Örnek olarak yukarıda belirtilen maddelerin dışında aroma vericilerde kullanılan taşıyıcılar dahil olmak üzere gıda katkı maddeleri olarak geçen bazı maddelerin kodeksimize göre belirtilen kullanım sınırları ise şu şekildedir:

Tablo 2.2: Bazı gıda katkı maddelerinin Türk Gıda Kodeksine göre sınır değerleri [3].

Katkı numarası(E kodu)	Madde Adı	Kullanım Alanı	Kullanım Sınırı
E-200 - E-203	Sorbik Asit ve sorbatlar	Tüm Aroma Vericiler	1500 mg/kg aroma vericilerde(tek başına veya birlikte)
E210	Benzoik Asit		
E211	Sodyum Benzoat		
E212	Potasyum Benzoat		
E213	Kalsiyum Benzoat		
E310	Propil Gallat	Esansiyel Yağlar	1000 mg/kg esansiyel yağlarda(Gallatlar,TBHQ ve BHA tek başına veya birlikte)
E311	Oktil Gallat		
E312	Dodesil Gallat	Esansiyel yağlar dışındaki aroma vericilerde	100 mg/kg(1) (Gallatlar,tek başına veya birlikte) 200 mg/ kg(1) aroma vericilerde(TBHQ,BHA,tek başına veya birlikte)
E319	Tersiyer-butil Hidrokinon(TBHQ)		
E320	Bütillendirilmiş hidroksianisol		
E1519	Benzil Alkol	Likörler,aromatize şaraplar,şarap bazlı içecekler ve şarap ürünleri	100 mg/l son üründe
E1519	Benzil Alkol	Çikolata ve hafif fırıncılık ürünlerini içeren şekerlemeler	250mg/kg tüketime hazır veya üretici talimatları doğrultusunda yeniden hazırlanan gıdalarda tüm kaynaklardan gelen miktar

Aromalar oluşturulurken esansiyel yağlar ve bunların çeşitleri de dahil olmak üzere (Orange Oil Brazil, Orange Oil Valencia vb), binlerce çeşit farklı hammadde ve esansiyel yağ çeşidinin uygun kombinasyonlarda karışımına dikkat edilir. Kolay okside olabilen aromalar olarak tanımlanabilecek turunçgil, limon ve bergamot türevi aromaların bu özelliklerinin temel sebebi gün ışığı ve sıcaklıktan çok kolay etkilenen portakal yağı, limon yağı ve bergamot yağı türevlerini içermeleridir [4]. Bu yağların ortak özelliği ise terpenoit içeriklerinin çok yüksek olmasıdır. Bu bağlamda terpenoitler ve esansiyel yağlar hakkında genel bilgiler vermemiz gerekmektedir.

2.2. ESANSİYEL YAĞLAR

Esansiyel yağlar binlerce yıl boyunca çeşitli toplumlarda tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Yağ ekstraksiyonu ile bitkilerden esansiyel yağ elde edilme işlemi Orta Çağ başlangıcında Çin'de olduğu gibi Batı'da da biliniyordu. 12. yüzyılda, Amaud de Villanosa, biberiye ve adaçayından yağ damıtma işlemini açıklamıştır. Amaud de Villanosa petrol ve biberiye yağından "oleum mirabile" elde etmiştir. 1592 yılında yazılan "Dispensatorium valerii cordi" nin Nuremberg baskısında 60 farklı yağ tanımının yapılması dikkat çekicidir [5].

Antidepresan, uyarıcı, detoks etkisi olan, antibakteriyel, antiviral etkileri olduğu bilinen esansiyel yağlar çok çeşitli sağlık sorunlarına etki ettiği çözümlerle birlikte eski zamanlardan beri en etkili, ucuz tedavi ve tedavi yöntemlerinden olmuştur. Bu etkilerinin dışında özellikle gıda sektöründe de aromalar içerisinde tat ve koku vermek amacıyla aromaların ilk keşfedilmeye başlandığı zamanlardan beri kullanılmaktadırlar [6].

Esansiyel yağların büyük bir çoğunluğu farklı bitki türlerinin, çiçeklerin, yaprakların, köklerin, reçinelerin, kabukların, ağaç kabuklarının ekstrakte edilmeleri sonucu elde edilmektedirler. Çeşitli destilasyon yöntemleriyle bitkiler içerisindeki su ile yağın birbirinden ayrıştırılması şeklinde de elde edilmektedirler. Esansiyel yağlar yüksek konsantrasyonda ki yağlar olarak güçlü aromalar içerirler. Aslında bazen onlar aromatik bileşenler içerisindeki yüksek konsantrasyonları sebebiyle uçucu aromatik yağlar olarak da tarif edilirler [6].

2.2.1. Esansiyel Yağların Faydaları

- Hormonları dengeler. Ör: Sardunya Yağı [7].
- Bağışıklık sistemini harekete geçirip güçlendirirler. Ör: Nane Yağı [8].
- Sindirimi desteklerler. Ör: Zencefil Yağı [9].
- Enerji vericidirler. Ör: Nane Yağı [10].
- Beyin fonksiyonlarını geliştirirler. Ör: Nane Yağı [11].
- Stresi düşürür ve anksiyeteyi giderirler. Ör: Portakal Yağı, bergamot yağı [12].
- Ağrıları azaltırlar. Ör: Kekik Yağı [13].
- Deri ve saç sağlığı için etkilidirler. Ör: Buhur Yağı [14].
- Toksikiteyi azaltırlar. Ör: Limon Yağı [15].
- Baş ağrılarını ve migreni ortadan kaldırırlar. Ör: Lavanta Yağı [16].

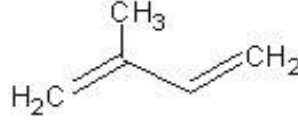
Tüm bu yararlı etkileriyle beraber burada sayamadığımız sayısız faydaların dışında esansiyel yağlar özellikle kozmetik sektöründe de çok farklı son ürün kullanım alanlarında koku verici olarak kullanılmaktadırlar.

2.3. TERPENOİDLER

Terpenler, doğal ürünlerin en yaygın gruplarından biridir. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda da aroma bileşenleri olarak önemlidirler. Örneğin turunçgiller, tarçın ve diğer baharat aromaları birkaç terpen ile karakterize edilir. Limonen ve sitral (her ikisi de limonda bulunur), kamfor, pinen (çam ağaçları), eugenol (karanfil), anetol, timol, geraniol (gül) ve mentol en yaygın bilinen terpenlerdir [5].

Terpenler, çoğunlukla esansiyel yağlarda bulduklarından, eski Mısır'da çeşitli dini amaçlar için kullanılıyorlardı. Kamfor, Avrupa'ya ilk kez Doğu'dan Araplar tarafından 11.yüzyıl civarında getirildi.

Kimyasal anlamda terpenler, yapısı çeşitli fakat belli sayıda izopren birimlerine sahip olan bir moleküller grubu olarak tanımlanır (metilbüta-1,3-dien, hemiterpen olarak isimlendirilen 5 karbonlu atomdur) [5].



Şekil 2.1: İzoprenin yapısı.

Bu tanım, temel moleküler iskelette izopren sayılarına dayanan terpenlerin rasyonel bir şekilde sınıflandırılmasını sağlar.

Tablo 2.3: Terpenlerin yapılarındaki izopren birimlerine ve karbon atomlarına göre sınıflandırılmaları.

	Terpenler	İzopren birimleri	Karbon atomları
1	Monoterpenler	2	10
2	Seskiterpenler	3	15
3	Diterpenler	4	20
4	Sesterpenler	5	25
5	Triterpenler	6	30
6	Karotenoidler	8	40
7	Kauçuk	>100	>500

Mono-, sesqui-, di-, ve sesterpenler baş-kuyruk şeklinde bağlanmış izoprenlerden meydana gelmiştir. Triterpenler iki C15 ve Karotenoidler (tetraterpenler) iki C20 biriminin kafa kafaya bağlandıkları yapılardır [5].

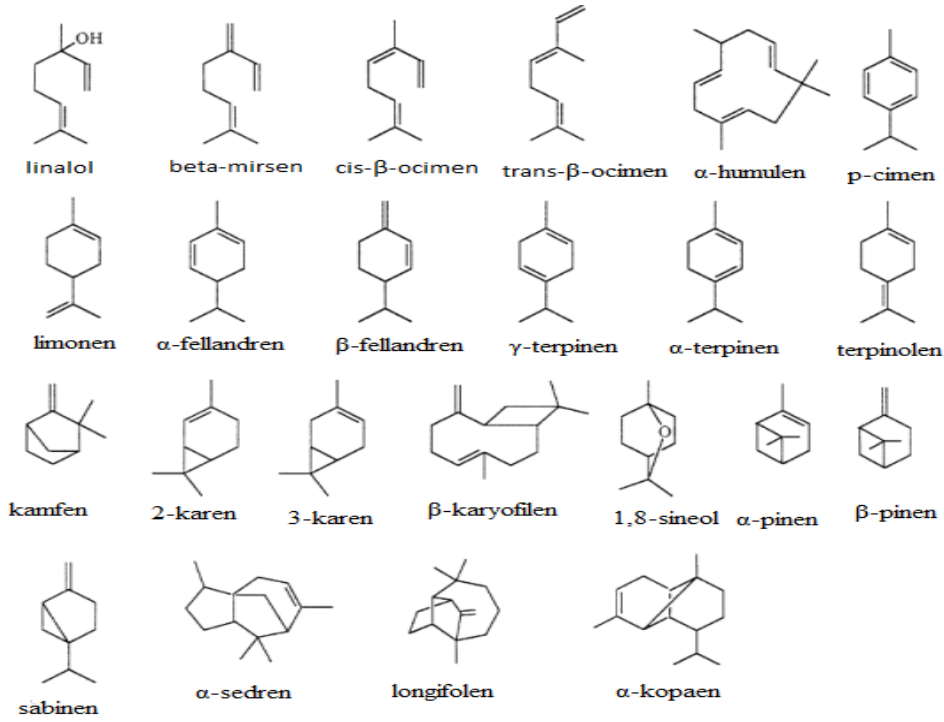
Terpenlerin çoğu hidrokarbonlardır; ancak alkoller, ketonlar veya aldehitler gibi oksijen içeren bileşiklerde olabilirler. Bu türevler çoğunlukla terpenoitler olarak adlandırılırlar. Mono- ve seskiterpenler esansiyel yağların temel bileşenleridir. Diğer terpenler ise reçine, mum ve kauçuğun ana bileşenleridirler [5].

Uçucu yağlarda genellikle bulunan monoterpenler ve seskiterpenlerdir. Bu yağlar sıklıkla lezzet veya koku özellikleri için kullanılır. Geniş kullanım alanlarından bazıları gıdalar, ilaçlar ve kozmetik ürünleri olarak söylenebilir [17].

2.3.1. Terpenlerin Reaksiyonları ve Oksidasyonları

Terpenler yapıları izopren birimlerine dönüşebilen biyogenik kökenli organik bileşikleridir. Daha uçucu olan mono- (C10) ve seskiterpenler (C15) bitki örtüsünden büyük miktarlarda yayılırlar [18]. Bir veya daha fazla C=C çifte bağı içeren doymamış hidrokarbonlar olan

terpenler ozon, nitrat ve hidroksil radikalleri gibi çeşitli oksidasyon ürünleri ile yüksek oranda reaksiyona girebilirler. Fotokimyasal ozon oluşumu için terpenler önemli öncüler olarak kabul edilmişlerdir [19]. Son yirmi yıl içinde gaz fazındaki terpenlerin reaksiyonları büyük ilgi çekmiştir. Çalışmaların odak noktası çeşitli reaktif türlere karşı reaksiyon ürünlerinin belirlenmesi ve miktarlarının tanımlanabilmesi üzerine olmuştur. Yapılan son çalışmalarda özellikle terpenlerin atmosferik ortamdaki oksidasyon mekanizmalarının üzerinde durulmuştur [20]. Bu konu ile alakalı ağırlıklı olarak düşük molekül ağırlıklı aldehytler, karboksilik asitler, CO₂, CO terpen oksidasyon ürünleri olarak bildirilmektedir. Terpenlerin genel olarak türlerine veyapılarına değinecek olursak;



Şekil 2.2: Terpenlerin en çok bilinen türlerinin görünümü.

Alkenlerin, sikloalkenlerin ve konjuge dienlerin OH radikali, O₃ ve NO₃⁻ ile troposferik koşullar altındaki reaksiyon kinetiği ve mekanizması üzerine daha önce detaylı bir şekilde çalışılmış ve konu büyük ölçüde açıklığa kavuşturulmuştur. Alkenlerin OH radikali ile reaksiyonlarının anlaşılmasının yanında hala O₃ ve NO₃⁻ ile olan reaksiyonlarında açıklığa kavuşturulması gereken konular vardır [21]. Bununla birlikte terpenler için ise durum daha karmaşıktır. Terpenler özelinde doğrudan mekanizmaların açıklandığı çalışmaları bulmak çok güçtür. Uzun çalışmalar sonucunda terpenlerin yapıları gereği alkenlere (beta pinen, kamfen), sikloalkenlere (alfa pinen, 3-karen), dienlere (beta fellandren, alfa terpinen) veya bu grupların

kombinasyonlarına (limonen, o-cimen) dahil edilmesine karar verildi. Ozon ile kıyaslandığında NO_3^- ve OH radikali için daha fazla ürünün ortaya çıktığı tespit edilmiştir [21].

Terpenleri genellikle incelenen hidrokarbonlardan ayıran iki karakteristik özellik vardır.

- P-mentan gibi monosiklik terpen ile 2,6-dimetil oktadien asiklik monoterpen türevinin bir arada bulunduğu yapı.
- 3-karen ve sabinen, alfa pinen, beta pinen, beta karyofilen, alfa longifolen..vb gibi fazla sayıda halkalı yapılar.

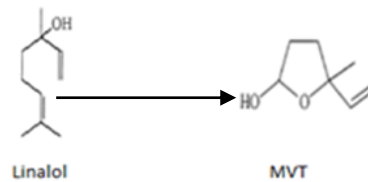
Bu yapılar sebebiyle özellikle moleküller arasında meydana gelen düzenlemelerin beklenmedik reaksiyonları sonucunda yine beklenmedik son ürünler (kamfen, izo borneol vb.) oluşmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında diyebiliriz ki terpenlerin reaksiyonları ve onların oksidasyon ürünleri yine basit alken bileşiklerini oluşturmaktadır [21].

2.3.2. Bazı Terpenoit Bileşiklerinin Oksidasyon Ürünleri

Şu ana kadar yapılan çalışmalarda terpen oksidasyon ürünleri genellikle karboniller ve karboksilik asitler olarak tanımlanmışlardır. Ancak aynı zamanda alkoller, epoksitler, esterler, nitratlar ve peroksinitratlar daha minör ürünler olarak görülmüşlerdir [21]. Bazı terpenoit bileşiklerinin oksidasyon ürünlerinden bahsedecek olursak;

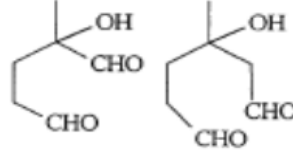
2.3.2.1. Linalol

Linalol özellikle esans ve aroma sektöründe kullanılan önemli bir terpenoit bileşik türüdür. 5-metil-5-vinil-tetrahidrofuran-2-Ol (MVT) linalol oksidasyon ürünlerinden biri olarak karşımıza çıkar. Özellikle gün ışığı ile linalol bileşeninin karşılaşması sonucu açığa çıkan bir üründür.

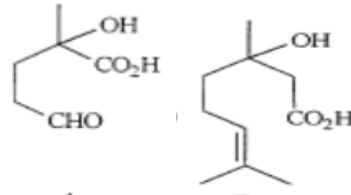


Şekil 2.3.: Linalol bileşiğinin gün ışığıyla oksidasyon mekanizması.

Asetonun yanında formaldehit ve asetaldehit de hidroksialdehidler (Şekil 2.4) hidroksikarboksilik asitler (Şekil 2.5) gibi ortaya çıkan minör ürünlerdir [22].

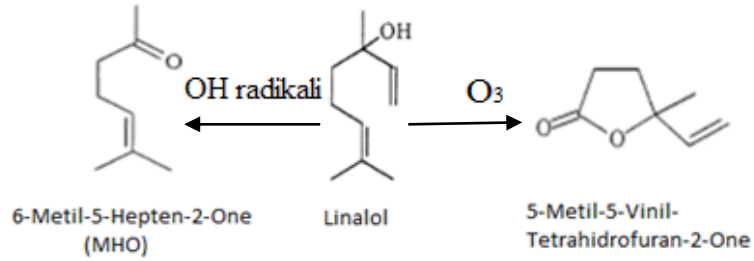


Şekil 2.4: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden hidroksialdehit örnekleri.



Şekil 2.5: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden hidroksikarboksilik asit örnekleri.

Linalol'ün OH radikaliyle reaksiyonu sonucu (Şekil 2.6) 6-metil-5-hepten-2-one bileşeni meydana gelmektedir [22].

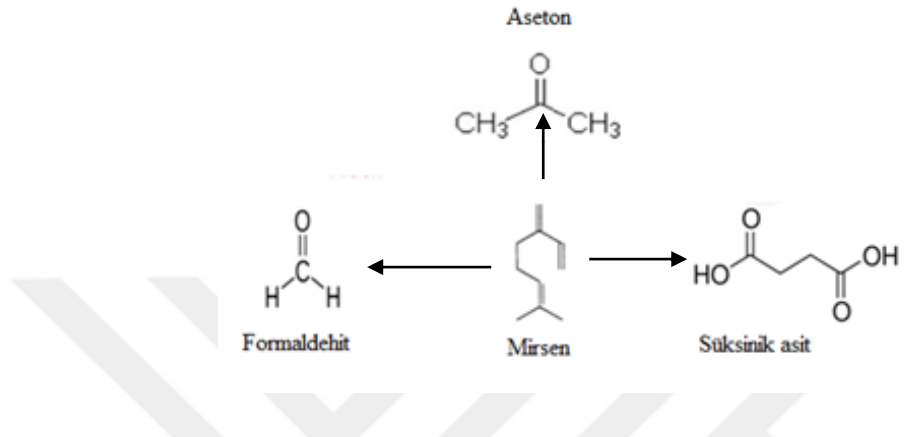


Şekil 2.6: Linalol'ün oksidasyon ürünlerinden 6-Metil-5-Hepten-2-One ve 5-Metil-5-Vinil-Tetrahidrofuran-2-One yapısı.

Linalol'ün ozonla reaksiyonu sonucunda ise (Şekil 2.6) 5-metil-5-vinil-tetrahidrofuran-2-one bileşiği meydana gelmektedir [22].

2.3.2.2. Mirsen

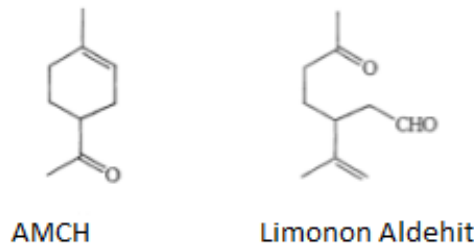
Mirsen özellikle bitkilerden elde edilen bir bileşen olarak karşımıza çıkar. Süksinik asit mirsen hammaddesinin ozon ile olan reaksiyon ürünüdür. Son çalışmalarda ise hidroksi aseton, formaldehit ve aseton diğer tespit edilen ürünler arasında olmuştur [19, 23].



Şekil 2.7: Mirsen'in bazı minör ve majör oksidasyon ürünleri.

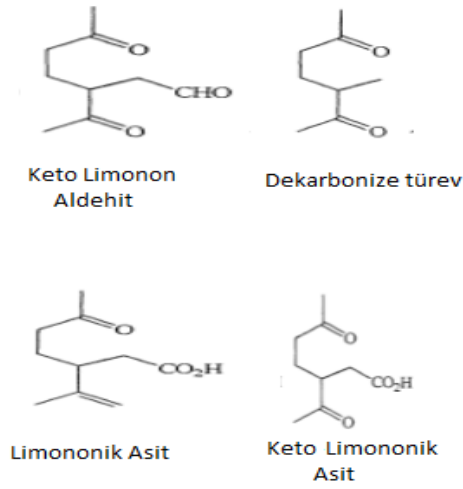
2.3.2.3. Limonen

Limonen bitkilerden elde edilen en geniş kullanımlı terpenoit türevlerinin başında gelir. Limona keton (4-asetil-1-metilsikloheksen) (AMCH) (Şekil 2.8) ve limonon aldehit (3-izopropenil-6-okso-heptanal) (Şekil 2.8) Limonen' in OH radikali ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkmış ürünler olarak tespit edilmiştir [19].



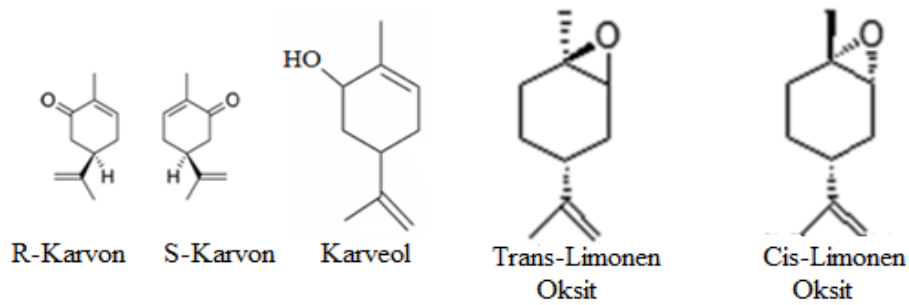
Şekil 2.8 : Limonen'in oksidasyon ürünlerinden bazıları.

Limonon aldehit aynı zamanda Limonen' in ozon ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan temel ürünlerden biridir [24]. Açığa çıkan diğer ürünler ise sırasıyla keto-limonon aldehit (3-asetil-6-okso-heptanal) (Şekil 2.9), dekarbonize türev (Şekil 2.9), limononik asit (3-izopropenil-6-okso-heptanoik asit) (Şekil 2.9), keto limononik asit (3-asetil-6-okso-heptanoik asit) (Şekil 2.9) [24].



Şekil 2.9: Limonen'in oksidasyon ürünleri.

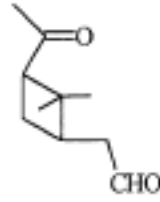
Bu ürünlerin dışında limonenin hava ile teması sonrasında açığa çıkan diğer oksidasyon ürünleri karvonlar, limonen oksit (cis ve trans izomerleri de dahil olmak üzere) ve karveol olarak bilinir [25].



Şekil 2.10: Limonen'in diğer oksidasyon ürünleri.

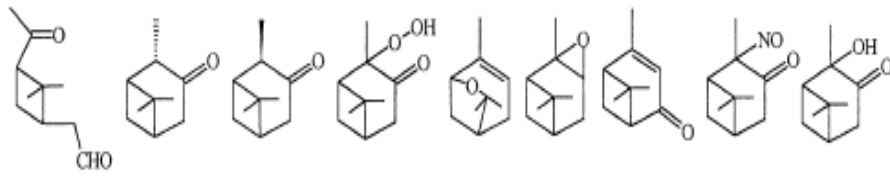
2.3.2.4. Alfa Pinen

Bu terpenoit çeşidi belki de atmosferik ortamda en fazla bulunanı diyebiliriz. Özellikle dünyanın birçok bölgesindeki orman alanlarından atmosfere yayılan havanın içerisinde yüksek oranda bulunmaktadır. Beta pinen ile beraber en çok çalışılan terpenoit türevlerinin başını çekerler. Alfa pinen'in OH radikali ile reaksiyonu sonucu pinon aldehit (cis-3-asetil-2,2-dimetil-siklobütül-etanal) bileşimini oluşturur (Şekil 2.11) [19].



Şekil 2.11: Pinon aldehit (cis-3-asetil-2,2-dimetil-siklobütül-etanal) bileşiğinin yapısı.

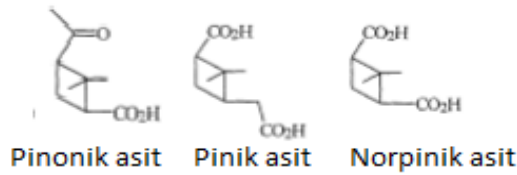
Bu bileşenlerin dışında da tespit edilmiş olan bazı reaksiyon ürünleri vardır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12: Alfa Pinen'in literatürde tespit edilmiş bazı oksidasyon ürünlerinin yapısı.

Özellikle hava ile temasından sonra alfa pinenden meydana gelen bir diğer oksidasyon ürünü pinen oksit ve pinokarveol olarak bilinmektedir [19].

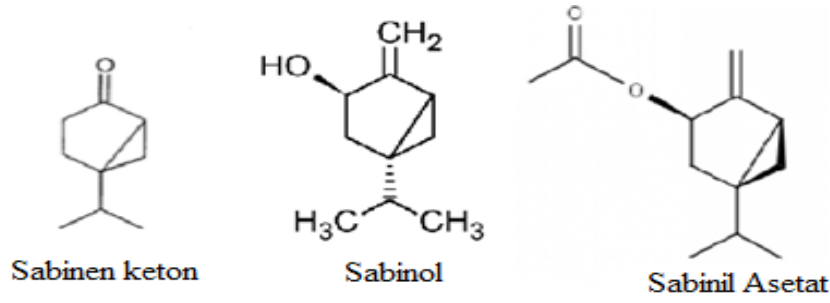
Alfa pinen'in ozon ile oluşturduğu ikincil ürünler sınıfında öncelikle karboksilik asit türü olan pinonik asit (cis-3-asetil-2,3-dimetil-siklobütül-metanoik asit) (Şekil 2.13), pinik asit (cis-3-karboksi-2,2-dimetil-siklobütiletanoik asit) (Şekil 2.13) ve norpinik asit (cis-3-karboksi-2,2-dimetil-siklobütülmetanoik asit) (Şekil 2.13) gösterilir [26].



Şekil 2.13: Alfa Pinen'in ozon ile oluşturduğu reaksiyonun oksidasyon ürünleri.

2.3.2.5. Sabinen

Bu terpen türü hakkında çok fazla çalışma ve bilgi bulunmamakla birlikte sabinen keton ismiyle bilinen (5-izopropil-bisiklo[3.1.0] heksan-2-one) bileşiğin bu türün oksidasyon ürünü olduğu bilinmektedir [27]. Bunun yanında diğer türlerde olduğu gibi hava ile temasından sonra açığa çıkan bileşen sabinol ve sabinil asetat olarak iki farklı türde söylenebilir [28].



Şekil 2.14: Sabinen keton (5-izopropil-bisiklo[3.1.0] hekzan-2-one, sabinol ve sabinil asetat bileşiklerinin kimyasal yapıları.

2.3.3 GC-MS Cihazı ile Terpenoit Türevi Bileşiklerin Analizi

Aromatik bitkiler uçucu C_{10} ve C_{15} terpenleri üretir ve bunlar izopren biriminden türeyen bileşiklerdir. Bu maddeler uçucu yağlar olarak bilinen, bitkilerin çeşitli kısımlarından buhar damıtma veya başka modifiye edilmiş usullerle izole edilebilir. Çok çeşitli terpen hidrokarbonları, siklik veya siklik olmayan ve bunların oksijenli izoprenoid bileşikleri, esans yağlarında karışım halinde bulunur [29]. Bir bitki esansiyel yağının kimyasal bileşimi, çevre koşulları, aromatik bitkilerin toplandığı mevsim, dehidrasyon prosedürü, toplanan bitkilerin esansiyel yağ ekstraksiyonuna kadar tutulduğu depolama koşulları gibi bir dizi parametreye bağlıdır [29].

Doğal ve sentetik terpenlerin, bunların karışımlarının ve türevlerinin kalitatif ve kantitatif analizleri zor ve zaman harcayan süreçlere sahiptir. Doğal ve sentetik terpen karışımlarının çoğu birçok bileşik içerir ve bu bileşiklerin büyük grupları benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip geometrik, konumsal ve optik izomerler içerir. Ek olarak, birçok terpen kolayca izomerleşir veya oksitlenir [30].

Gaz kromatografisi, terpen karışımlarının karakterizasyonu ve kantitatif analizi için doğal avantajlara sahiptir. Bunlar arasında yüksek ayırma verimleri, kromatografik kolonda kısa kalma süreleri, analiz sırasında inert bir atmosfer kullanımı, azeotroplardan serbest kalma ve çok küçük numunelere uygulanabilirlik yer alır. Birçok terpen karışımı için doğrudan bir analiz yöntemi sağlamanın yanı sıra, gaz kromatografisinin ultraviyole, kızılötesi ve kütle spektroskopik tekniklerine güçlü bir katkı olduğu kanıtlanmıştır [30].

Geçmişten örnekler verecek olursak; Bernhard [31, 32] limon yağlarını karakterize etmek için GC ve diğer teknikleri kullanmıştır. Bir başka çalışmada Naves ve diğ. [33, 30] toksisite çalışmaları yapmak üzere anetol bileşiğini analiz etmişler ve uçucu yağlardan ayırmışlardır. Liberti ve Cartoni [34] ise gaz kromatografyi kullanarak diğer fiziksel ve kimyasal metotlardan ayrı bir şekilde uçucu yağların karakterizasyonu ifade eden bir şema önermişlerdir. Stanley ve Mirov [35] çam terebentin analizinde gaz kromatografisinin kullanıldığını bildirmiştir. Groth [36], İsveç terebentin kompozisyonunun kapsamlı bir araştırmasında gaz kromatografisini ve infrared tekniklerini uygulamıştır.

GC-MS cihazının temel amacı uçucu bileşenlerin analizleri olarak bilinmektedir. Organik, inorganik ve biyolojik örneklerin nitel-nicel çalışmaları ve bunların moleküler yapı tayinleri bu cihazla yapılmaktadır. GC-MS iki analitik tekniğin kombinasyonu olarak görev yapar. Gaz kromatografisi karışımdaki bileşenlerin birbirinden ayrılmasını ve tanımlanmasını sağlarken kütle spektroskopisi ise her bileşeni yapısal olarak tanımlamakta ve kantitatif olarak tayin etmeye yardımcı olmaktadır.

Özellikle aroma ve esans sektöründe kullanılan uçucu yağlarda başta olmak üzere bugün limonen, alfa pinen, sabinen, mirsen, beta pinen başta olmak üzere çok sayıda terpenoit bileşiğinin analizi GC-MS cihazı ile yapılmaktadır. Bu analizler yapılırken uçucu yağlar içerisindeki bileşenlerin kantitatif tayinleri yapılarak yağlar hakkında daha ayrıntılı bilgilerin elde edilmesi mümkün olduğu gibi standartlar bazında her bir terpenoit bileşeninin saflık kontrollerinde de yine GC-MS cihazı aktif rol almaktadır. Uygun metot sıcaklık aralıklarının denenerek tespit edilmesiyle birlikte aromalarda kullanılan yağların ve diğer bileşenlerin bileşimlerini kalitatif ve kantitatif olarak kolonda farklı sıcaklık aralıklarında ki alıkonma zamanlarının farklılığından ve kütle spektrometresi yardımıyla da bu bileşenlerin miktarları hakkında bilgi edinilmektedir. Tüm bunların yanında yağların gerek parçalanmaları sonucu ortaya çıkan bileşenler gerekse oksidasyonları ile ilgili olarak kromatogram sonuçlarına ait raporlar incelenerek kesin veriler elde edilmesi mümkündür.

Gaz kromatografisinden özellikle başlangıçtan beri terpenoitlerin ve onların uygulandıkları materyaller üzerindeki kalitatif ve kantitatif analizlerinde, formülasyonların içeriğindeki terpenoit türlerinin incelenmesinde ayrıca yeni esansiyel yağların yapılarının ve içeriklerinin incelenmesinde de yararlanılmaktadır. Şu anda doğal kökenli bu terpenlerin çoğu bir dizi

atmosferik ve çevresel matriste tespit ediliyor ve bu terpenlerin büyük ekolojik önemi vardır [17].

GC tek başına bu terpenlerin analizinde uygun bir yöntem olsada, uçuculuklarından dolayı şimdiye kadar en yararlı bilgiler daha çok kromatografi veya spektroskopi içeren tandem teknikler kullanılarak elde edilmiştir. Terpenlerin bir başka analiz edilme yöntemi HPLC olsada bu yöntem uçucu olmayan terpenoit glikozid türleri için daha uygundur [17].

2.4. PORTAKAL YAĞI VE İÇERİĞİ

Portakal yağı özellikle dünya genelinde birçok farklı çeşidi olan (Orange Oil Valencia, Orange Oil Brazil vb.) ve içerisindeki terpenoit içeriklerinin çok yüksek olduğu bilinen bir yağ çeşididir. Bölgelere göre ve yetiştirme koşullarına göre portakallardan elde edilen yağlarda da farklılıklar görülmektedir. Orange Oil Brazil özelinde örnek verecek olursak, bu türdeki portakal yağının içerisindeki bileşenleri malzeme güvenlik bilgi formlarında ki (MSDS) ve literatürdeki bilinen şekliyle tabloda sıralarsak [37].

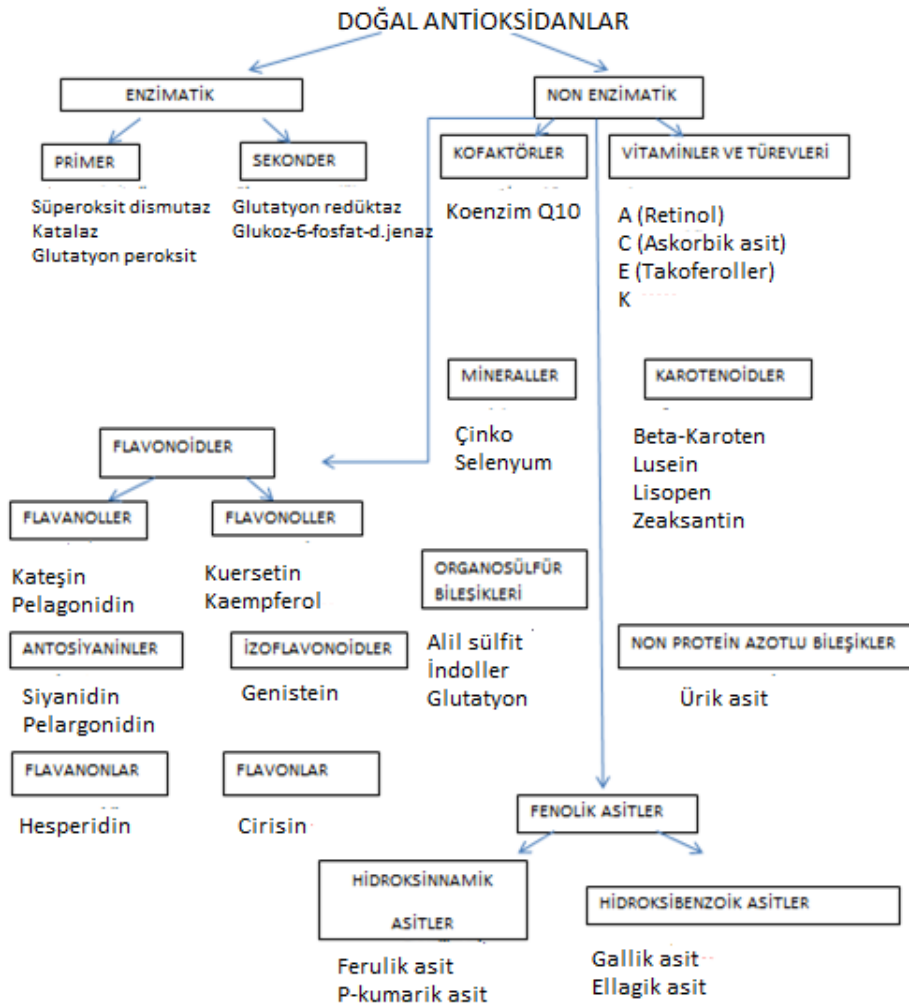
Tablo 2.4 :Portakal yağının içeriği.

Bileşen Adı	Bileşen Yüzdesi
Limonen	%80 - %90
Sabinen	%0 - %5
Alfa Pinen	%0 - %5
Mirsen	%0 - %5
Linalol	%0 - %5
Beta Pinen	%0 - %5
Delta-3-Karen	%0 - %5

Bu miktarlar yağın çeşidine göre farklılık gösterebilmektedir.

2.5. GIDA KORUYUCULARI OLARAK KULLANILAN BAZI ANTIOKSİDAN TÜRLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

Bu bölümde gıdalarda koruyucu olarak en fazla kullanılmış ve kullanılmakta olan ve bunun yanında aynı zamanda bu çalışmamızda da kullanmakta olduğumuz koruyucu görevindeki antioksidanlar ele alınacaktır. Antioksidanlar türler olarak doğal olanlar ve sentetik olanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. En çok kullanılan sentetik antioksidanları sıralayacak olursak; BHA (Bütıl Hidroksi Anisol), BHT (Bütıl Hidroksi Toluen), TBHQ (Tert-Bütıl Hidrokinon), propil gallat, dodesil gallat, oktil gallat. Tüm bunların yanında doğal antioksidanları şematik olarak gösterecek olursak;

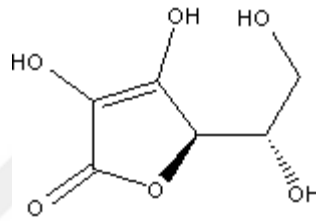


Şekil 2.15: Doğal antioksidanların sınıflandırılmaları.

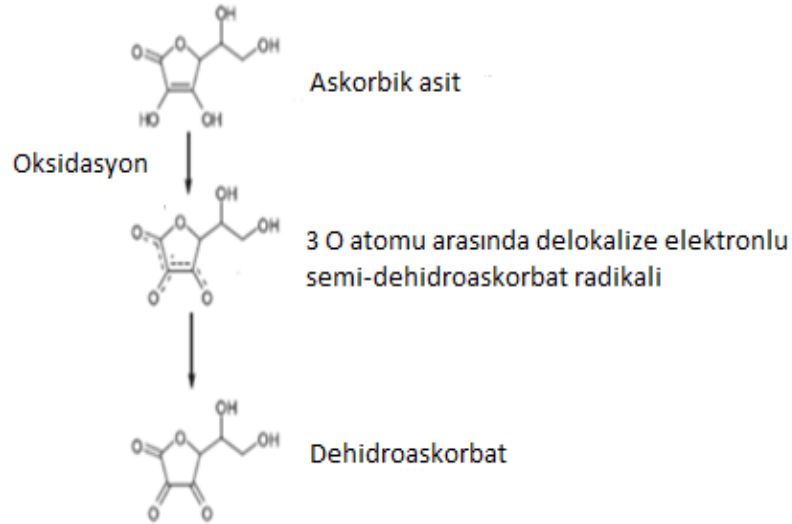
2.5.1. Bazı Antioksidan Türleri

2.5.1.1. C Vitamini (Askorbik Asit)

Vücutta en fazla ihtiyaç duyulan vitaminlerden biri olan C vitamini (Şekil 2.16) ağırlıklı olarak meyve ve sebzelerde bulunur. Bunun yanında suda çözünür ve serbest radikalleri direkt olarak etkisiz hale getirebilen çok etkili bir antioksidandır. Ayrıca farklı gıda çeşitlerinde acılaşmayı ve renk değişimlerini önleyici olarak kullanılır. Doğal ve sentetik olarak iki farklı şekilde elde edilebilir [38].



Şekil 2.16: Askorbik asidin yapısı.

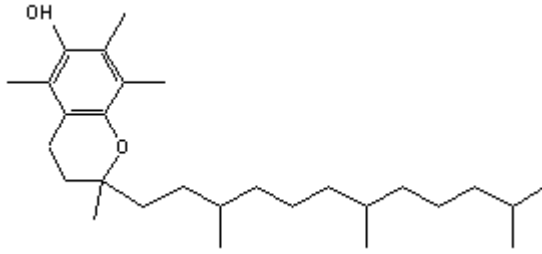


Şekil 2.17: Askorbik asidin oksidasyon mekanizması [39].

Bu çalışmamızda askorbik asidin yağda çözünen türevi olan askorbil palmitat çözünürlükten ötürü tercih edilmiştir.

2.5.1.2. E Vitamini (Tokoferol)

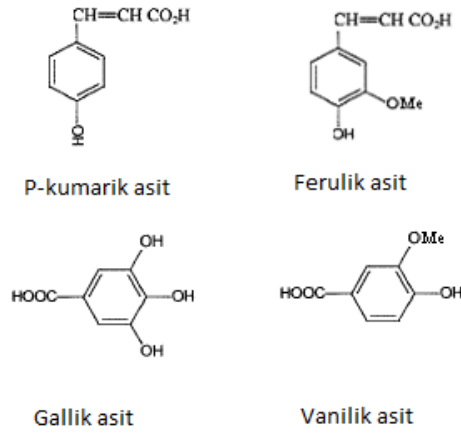
Genellikle bitkilerde bulunan E vitaminlerinin doğa içerisinde yedi ayrı izomeri vardır. Bulunduğu temel kaynakları sıralayacak olursak baklagiller, ceviz, süt, yumurta, yeşil yapraklı sebzeler ve bitkisel yağlar olarak söyleyebiliriz. Yedi farklı izomerin yapıları birbirine benzese de biyolojik etkileri olarak birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Vitamin görevinde en etkili olan üç metil grubu içeren türüdür ve α -tokoferol denildiğinden E vitamini olarak anlaşılır. Tokoferoller yapılarında tek fenolik grup içeren doğal antioksidanlardır [40].



Şekil 2.18 : α -tokoferol'ün yapısı.

2.5.1.3. Fenolik Asitler

Bitkisel kaynaklar olarak oldukça zengin olan bu türler, hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitleri içinde barındıran 2 farklı gruptan meydana gelir. Hidroksisinnamik asit fenolik asitlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır [41]. Yapılarında var olan $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ grupları sebebiyle radikalleri kararlı hale getirebilme özelliği konusunda benzoik asitlerden daha etkilidirler. Hidroksibenzoik asit türleri ise yapılarında bulunan metoksi ve hidroksi (OH^-) gruplarının konumları ve sayılarına göre birbirlerinden farklılaşırlar. Birkaç örnek verecek olursak gallik asit, şiringik asit ve vanilik asidi verebiliriz. Bu türler etkin radikal süpürücüler olarak hidroksillenmeye ve OH radikallere yüksek reaktivite göstermektedirler. Fenolik halka ve karboksilat grubu arasına metilen grubunun girmesiyle meydana gelen fenil asetik asitlerin orto ve meta hidroksi anyonu türleri 1 mM civarında antioksidan etkinliği gösterirler [42].

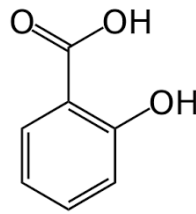


Şekil 2.19: Bazı fenolik asit türleri.

Özellikle bu çalışmada kullanılan salisilik asit ve gallik aside kısaca değinmemiz gerekmektedir.

Salisilik asit özellikle bazı bitkilerde büyümeyi ve verimi arttıran bir fenolik bileşiktir. Salisilik asit antioksidan türleri içerisinde non-enzimatik antioksidan türlerine girmektedir. Bunların yanında bitkilerin gelişimindeki olumlu etkisinin yanında bitkilerin sayısız fizyolojik proseslerinde önemli rol alması ve biyoaktif bileşiklerin üretimindeki rolü gibi çok önemli görevler üstlenmiştir [43].

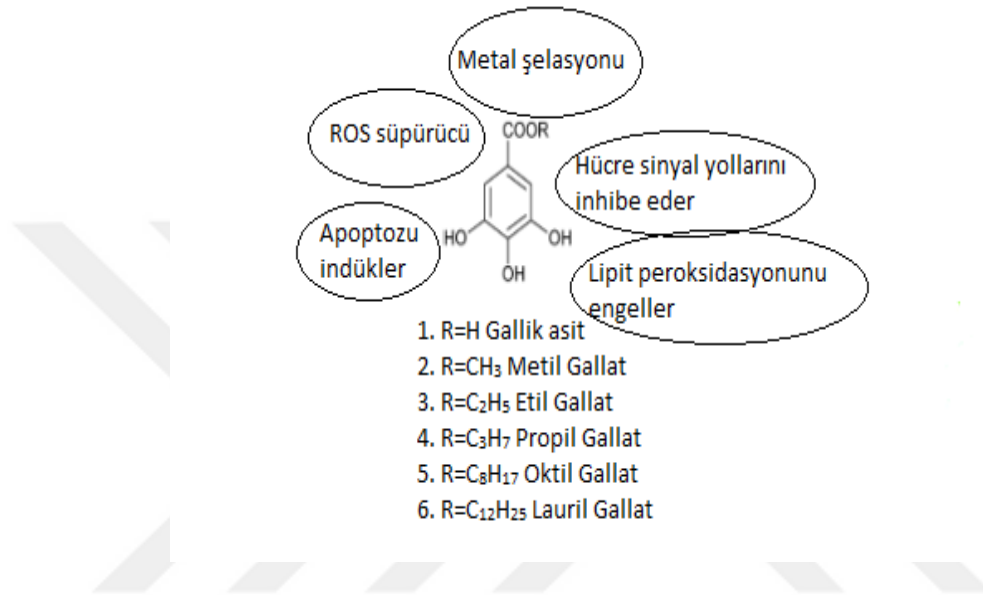
Salisilik asit insan vücudunda cilt sağlığından, akne sorununa, kolon kanserine kadar bir çok rahatsızlıkla mücadelede önemli katkılar sağlar. Kullanım alanlarına baktığımızda özellikle aspirin yapımında, ilaç sektöründe, kozmetik sektöründe ve parfümeri alanları başta olmak üzere birçok farklı kullanım alanında karşımıza çıkmaktadır [44].



Şekil 2.20: Salisilik asidin kimyasal yapısı.

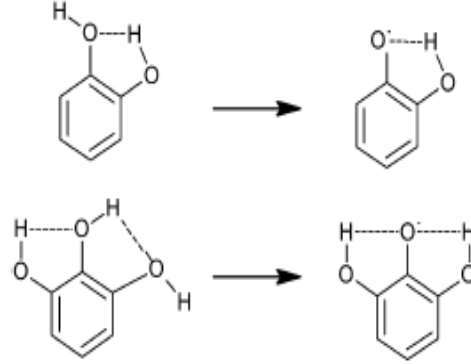
Polifenolik bileşikler arasında yapılan çalışmalar sonucu doğal oluşumlu ve düşük molekül ağırlıklı trifenolik bir bileşik olan gallik asidin (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) çok güçlü bir antioksidan olduğu bilinmektedir [45]. Reaktif oksijen türleri tarafından gerçekleştirilen

oksidatif hasara karşı etkili bir koruma sağlar. Bunun yanında GA bir dizi bitki özünün etkili antiradikal ve antikanser özelliklerinden sorumlu baş antioksidan bileşen olarak gösterilmiştir [46]. Gallik asidin büyük bir çoğunluğu bitkilerden ve mantarlardan elde edilmektedir [47]. Gallik asidin çoğu ester türevi de özellikle kozmetik ve gıda sektöründe geniş anlamda kullanılmaktadır.



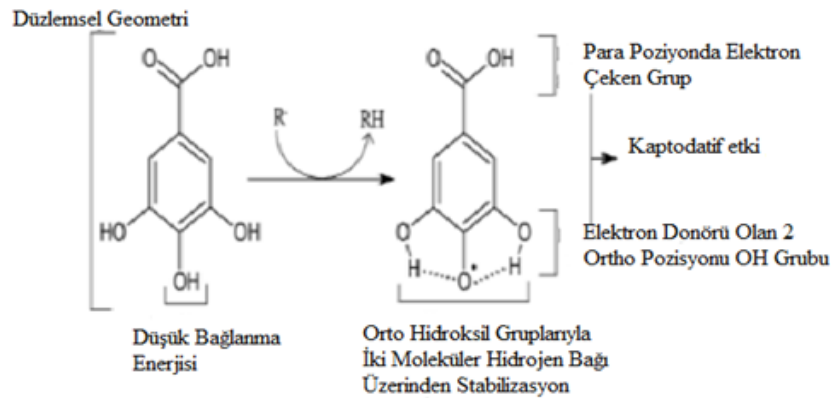
Şekil 2.21: Gallik asidin kimyasal yapısı, türevleri ve görevleri.

Yapı-aktivite ilişkisiyle ilgili çalışmalar göstermektedir ki gallik asidin süpürücülük özelliği yapısındaki sterik olarak bağımsız hidroksil (OH⁻) gruplarından ileri gelmektedir [48]. Özellikle para konumundaki OH⁻ grubu radikal süpürücülükte en etkili faktör olarak tespit edilmiştir. Trihidroksi fenolik asit içindeki ekstra hidroksil (OH⁻) grubu, daha yüksek antioksidan aktivite ile birlikte daha fazla stabilite sağlar. Hidroksil (OH⁻) grupları sadece moleküller arası hidrojen bağlanmasını sağlayarak antioksidan kapasiteyi etkilemezler aynı zamanda oluşan antioksidan radikalinin stabil olmasını sağlarlar [49] (Şekil 2.22).



Şekil 2.22: Üstte kateşol ve altta pirogalloldeki moleküller arası hidrojen bağlanması ve radikal stabilizasyonu.

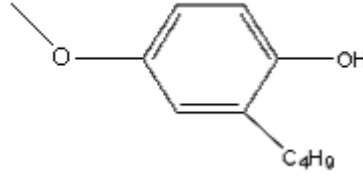
Wright ve diğ. göre [49] orto pozisyonundaki -OH grubu, oluşan radikali stabilize etme eğiliminde olup, daha düşük bir hidrojen bağı ayrışma entalpisi ve dolayısıyla artan bir antioksidan kapasitesi ile sonuçlanır. Sübstitüentlerin hidroksil (OH⁻) grubuna göre doğası ve konumu da polifenollerin aktivitesini etkiler. Örneğin, kolayca iyonlaşabilen karboksilik grup, fenolik asitlerin verimli hidrojen bağlanma eğilimine katkıda bulunur [50]. Gallik asit, pirogallol göre daha yüksek bir antioksidan aktivite gösterir. Bu da, fenolik asitlerin antioksidan aktivitesi üzerinde karboksilatların yararlı bir etkisi olduğunu gösterir. Bununla birlikte Sroka ve Cisowski [51] yaptığı çalışmalarda karboksilatın, gallik asidin antioksidan veya antiradikal aktiviteleri üzerindeki herhangi bir etkisini gözlemlememişlerdir. Bu nedenle, çeşitli çalışmaların bulgularını kullanarak, gallik asidin yüksek antioksidan aktivitesini, aşağıda gösterildiği gibi çoklu faktörlerin bir karışımına bağlayabiliriz (Şekil 2.23).



Şekil 2.23: Gallik asit molekülünün antioksidan aktivitesinin etkinliğinden sorumlu faktörler [50].

2.5.1.4. Sentetik Antioksidanlar

BHA hem bitkisel hem hayvansal kaynaklı yağlarda kolay çözünebilme özelliği olan etkili bir sentetik antioksidan çeşididir. Şu an dünya genelinde iki farklı izomerinin karışımı olarak bulunmakta ve satılmaktadır. Herhangi bir kokusu ve tadı yoktur. Bu antioksidan türünün ürünler içerisinde ki davranış biçimi E vitamini ile aynıdır. Bu özelliği sebebiyle özellikle aroma sektöründe koruyucu olarak şu an alternatifsiz biçimde kullanılmaktadır. Sağlık açısından etkileri konusunda birçok farklı görüş vardır. Olası zararları üzerinde halen araştırmalar yapılmakla birlikte şu an gıdalarda kullanımı sınırlandırılmıştır. Bu antioksidanın koruyucu özelliği anisol grubundaki benzen halkasındaki yer değiştiren bileşenlerden ileri gelir. Hidroksil (OH⁻) grubunun 5 ve 6.karbonda bulunduğu bileşikler antioksidan karakter göstermezken 4. karbon üzerinde olanlar antioksidan karakter gösterirler. BHA gıdalar içerisinde kodekste belirlenen sınırlar içerisinde kullanılır [40].

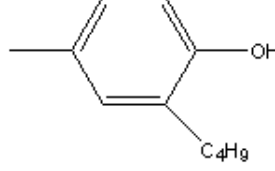


Şekil 2.24: BHA'nın kimyasal yapısı.

BHA'nın kullanıldığı bazı ürün grupları şu şekildedir; kuru maya, esansiyel yağların dışında ki aroma vericiler, kızartma yağları, prina yağı dışında kullanılan kızartma yağları, tahıl türevi atıştırmalık yemekler, sakızlar, domuz yağı, balık yağı, kuzu yağı, kümes hayvanlarının eti ve sığır eti, süt tozları, işlenmiş kabuklu yemişler, atıştırmalık gıdalar, soslar, sosis ve diğer et ürünleri, içecekler ve tatlılar için kuru karışımlar, önceden pişirilmiş tahıllar, patates püresi ve patates ürünleri.

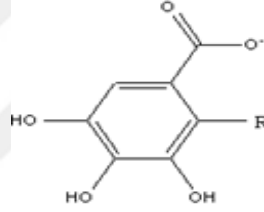
BHA ve BHT bazen ürünler içerisinde yalnız kullanılmakla birlikte diğer koruyucularla beraber kullanıldığı durumlarda vardır. Özellikle propil gallat (E310), sitrik asit, fosforik asit ve askorbik asit (E300) vb [52]. Hayvansal yağlar ve bunların türevlerinde eğer BHA tek başına kullanılırsa BHT ve gallatlardan daha az etki göstermektedir. Ancak sitrik asit, fosforik asit, lesitin veya metiyonin gibi sinerjistlerin etkisiyle de beraber etkinliklerinin arttığı görülmüştür [52]. BHT hayvansal yağlar içerisinde çok iyi çözünmekle birlikte bitkisel kaynaklı yağlarda az çözünür. BHA ile benzer özelliklere sahip olmakla birlikte zaman

içerisinde kanserojen olduğu tespit edildiğinden dolayı aromalar içerisinde kullanımı tamamıyla yasaklanmıştır [40].



Şekil 2.25: BHT'nin kimyasal yapısı.

Gallatlar özellikle mevcut durumda propil gallat (E310), oktil gallat(E311) ve dodesil gallat (E312) formlarında kullanılmaktadır. Propil gallat (E310) gallik asidin propil esteridir. Özellikle meşe palamutlarının Tanin ekstraktlarından veya tannas enziminin hidroliziyle elde edilir. Oktil gallat (E311) ve dodesil gallat (E312) gallik asidin propil gallat türeyle benzerlik gösteren üretim prosesine sahiptir [52].



Şekil 2.26: Propil, dodesil ve oktil gallatın kimyasal yapıları (R: C₃H₇, C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇).

Gallatların kullanıldığı başlıca ürünler; kek karışımları, yağlar ve sıcak işlenmiş yemeklerin üretiminde kullanılan sıvı yağlar, şekerlemeler, esansiyel yağların dışında ki aroma vericiler, atıştırma gevrekler, kızartma yağları, süt tozları, suyu çıkarılmış, et, çorba, patates ve balık, işlenmiş kabuklu yemişler, önceden pişirilmiş gevrekler, yemek sosları, zenginleştirilmiş pirinç, esansiyel yağlar, çeşniler, baharatlar ve lezzetlendiriciler.

Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidan tersiyer butil hidrokinon (TBHQ)'dur. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Avrupa'da kullanımı yasaklanmıştır [40].

2.5.1.5. Sentetik Antioksidanların Yol Açtığı Sağlık Sorunları

Özellikle BHA ile yapılan çalışmalar devam etmekle birlikte gıdalarda BHT ve TBHQ kullanımı yasaklanmıştır. Bu bölümde temel olarak bu antioksidanların sağlık üzerine olumsuz etkileri incelenecektir.

Genel olarak bu üç sentetik antioksidan çeşidinin vücutta yarattığı bazı sağlık sorunlarını açıklayacak olursak;

BHA ve BHT üzerinde yapılan bir çalışmada vazomotor rinit, baş ağrısı, cilt kızarması, astım, göz kapağı kızarıklığı, göğüs kafesinin arkasından sırtta doğru yayılan şiddetli ağrı, aşırı terleme vb. rahatsızlıklara sebep oldukları tespit edilmiştir [53].

1977 de yapılan bir çalışmaya göre bazı insanlarda BHA'nın yağ metabolizmasında yarattığı bir komplikasyon sebebiyle alerjiye sebep olduğu görülmüştür [54].

BHA'nın Malzeme Güvenlik Bilgi Formuna bakıldığında ise şu sağlık sorunlarına sebep olabileceği yazmaktadır;

- Depigmentasyonla birlikte cilt tahrişine sebep olur. Uzun süreli veya tekrarlanan cilt teması dermatite yol açar.
- Göz tahrişi, kimyasal konjunktivite neden olabilir.
- Solunması halinde solunum yolu enfeksiyonuna neden olabilir.
- Yutulması halinde mide bulantısı, kusma, ishal ile birlikte irritasyona neden olabilir. Davranışları ve merkezi sinir sistemini etkileyebilir.
- Uzun süreli veya tekrarlı yutma, kan, metabolizma, solunum sistemi, karaciğer, tiroit ve adrenal bezleri etkileyebilir [55].

Yapılan çalışmalarda BHA için yüksek dozlarda karşılaşılan en büyük sağlık sorunlarından bir tanesi fareler ve hamsterlarda ön mide kanseri gözlemlenmiştir [52]. Çalışmaya devam edilen süreçte insanlarda bu organın olmamasıyla birlikte benzer hücrelerin ağızda, boğazda ve boğaz çeperlerinde bulunduğu tespit edilmiştir [54].

Amerikan Sağlık Bakanlığı'nın açıklamış olduğu bir raporda BHA' nın deney hayvanlarında göstermiş olduğu etkiler sebebiyle kanserojen sınıfına dahil edilebileceğini vurgulamıştır [57]. Bu sonuçlara göre BHA' nın kesin olarak kanserojen olduğunu söylememiz mümkün olmasa da bu konuda sağlam bulguların olduğu birçok çalışmada vurgulanmıştır.

BHT konusunda ise diğer bileşenleri kanserojen hale getirdiğine dair endişeler var. Örneğin; BHT'nin bir dönüşüm ürünü olan hiperoksit formunun hücreden hücreye gönderilen kimyasal sinyalleri bozduğu görülmüştür [58].

TBHQ ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada ürünlerin içerisinde 5 gram kadar tüketildiğinde ölümlere sebep olduğu tespit edilmiştir. Tek bir gramın tüketilmesinde ise bulantı, kusma, kulak çınlaması, deliryum, nefes darlığı hissi gözlemlenmiştir. Buharlara maruz kalan sanayi işçilerinde, açık sistemik etkileri olmadan, göz merceğinin bulanıklaşmasına neden olmuştur [56].

Gharavi ve diğer. yaptığı [59] çalışma da dahil olmak üzere yapılan birçok çalışma TBHQ'nun kanserojen olduğunu göstermiştir.

Tüm bu çalışmalar ve veriler ışığında sentetik antioksidan türlerin kullanım alanlarının çok geniş olmalarıyla birlikte aslında insan sağlığı için o kadar da masum olmadıkları görülmekte ve belki de yakın gelecekte doğal, insan sağlığı için zararlı olmayan kaynaklara yönelme ihtiyacı oluşacaktır.

|

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Kimyasalların tartımı için AX200 SHIMATZU markalı hassas terazi ve Radwag marka was/220x analitik terzi kullanılmıştır. Deney esnasında Bandelin Sonorex ultrasonik su banyosu, ZX3 Velp Scientifica marka vorteks, IKA RCT marka standart manyetik karıştırıcı ve Milipore Synergy marka ultra saf su cihazı kullanılmıştır. Absorbans ölçümlerinde Agilent (Cary Series) marka UV-VIS Spektrofotometre cihazından yararlanılmıştır. Oksidasyon ürünlerinin, bileşenlerin içeriklerinin belirlenmesinde ve test edilmesinde Agilent marka 7890A model GC ve 5975C-inert MSD model MS cihazı kullanılmıştır. Bunların yanında yine Agilent marka 7693 model autosampler ve G4513A model autoinjectörden yararlanılmış olup vakum sistemi olarak Pfeiffer marka vakum pompasından yararlanılmıştır. Bileşenlerin yaşlandırılmasında ve stabilite testlerinde Nüve marka, TK120 modeli iklimatik test kabini kullanılmıştır.

3.2. KİMYASAL MADDELER

Bu çalışma esnasında kullanılan kimyasal maddeler; portakal aroması, portakal yağı (Orange Oil Brazil), limonen standardı, alfa pinen standardı, sabinen standardı, mirsen standardı, BHA, gallik asit, salisilik asit, askorbil palmitat, bakır (II) klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), amonyum asetat, etil alkol (%96), metil alkol, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması

3.2.1.1. CUPRAC Reaktifinin Hazırlanışı

CUPRAC reaktifini hazırlarken öncelikle bakır (II) klorür dihidratdan ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.4262 g tartım alınıp etanol ile 250 mL'ye tamamlanarak 10^{-2} M lık Cu(II)klorür çözeltisi hazırlandı. Amonyum asetat 19.27 g tartılarak etanol ile 250 mL'ye tamamlanıp 1 M'lık amonyum asetat tamponu (NH_4Ac) hazırlandı. Son olarak neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)'den 0.039 g tartılarak etil alkolle 25 mL'ye tamamlanarak $7,5 \times 10^{-3}$ M lık neokuproin çözeltisi hazırlandı.

3.2.1.2. DPPH Reaktifinin Hazırlanışı

1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazilin 10^{-3} 'lük çözeltisi, 0.0197 g tartılarak 50 mL'ye etil alkolle tamamlanıp oluşturulur. Ardından bu çözelti 1'e 10 oranla etil alkolle tamamlanarak 10^{-4} M'a getirilir.

3.2.1.3. Portakal Aromasının Hazırlanışı

Çalışmada kullanılan portakal aroması birden fazla terpenoit türevi bileşenin ve aldehitler gibi değişen çeşit ve miktarlarda bileşenin bir araya getirilmesiyle elde edilmiştir. Portakal aromasına ait bir içeriği Tablo 3.1'de görülmektedir. Formülasyon yaklaşık 20 farklı bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenlerden en çok bulunanlar ve bazıları şu şekilde sıralanmaktadır;

Tablo 3.1 : Portakal aromasının içeriği.

Bileşen Adı	% Bileşim
Orange Oil Brazil	%75,00- %85,00
Aldehit C-10	%3,00- %7,00
Mentol Kristal	%1,00- %5,00
Aldehit C-9	%3,00- %5,00
Aldehit Asetik	%2,00- %4,00
Diğer Bileşenler	%5,00- %10,00

Görüldüğü üzere aromanın büyük bir kısmı portakal yağından oluşmaktadır. Esasen turunçgil ve türevi aromaların daha kolay okside olmalarının sebebi de tam olarak bu yağları veya bu yağların içeriğindeki terpenoit türevi bileşenleri fazlaca içermelerinden ileri gelir [37].

Yukarıda belirtilen portakal aromaları kodeksteki sınır kullanım değeri baz alınarak %10'luk ve %4'lük antioksidan çözeltileriyle katkılandırılmıştır. Kullanılan antioksidanlar BHA, gallik asit, salisilik asit ve askorbil palmitattır.

3.2.1.4. Kütlece %4'lük ve %10'luk Antioksidan Katkılı Aroma Çözeltilerinin Hazırlanışı ve Aromaya Uygulanışı

Daha önceden hazırlanan portakal aromasının üzerine etil alkol ile hacimce %10'luk ve %4'lük hazırlanan BHA, GA, SA ve AP çözeltileri ilave edilmiştir. Bu ilaveler yapılırken 1.9 g aroma üzerine 0.02 g antioksidan katkıli çözeltilerin ilave edilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Bu miktarlar Türk Gıda Kodeksi'nde belirlenen sınırlara göre ilave edilmiştir. Askorbil Palmitat'ın %10'luk çözeltisi portakal aroması içerisinde çözünürlüğü az olduğundan değerlendirmeye alınmamıştır. %4'lük konsantrasyon ise askorbil palmitatın çözünebildiği maksimum konsantrasyona göre belirlenmiştir. Manyetik karıştırıcıda karıştırılmasının ardından çözeltiler iklimik test kabineye yerleştirildi.

3.3. UYGULANAN YÖNTEMLER

3.3.1. CUPRAC Yöntemi [60]

Bu yöntemde ilk olarak önceden hazırlanan bakır (II) klorür çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponu bir cam tüp içerisine birer mL eklenir. Daha sonra bu reaktif üzerine önceden 0.1 mL alınarak 1:50 oranında seyreltilip etil alkolle 5 mL'ye tamamlanan örnek çözeltisinden $x=0.2\text{mL} - 0.4\text{mL}$ aralığında değişen miktarlarda alınıp 4.1 mL'ye etil alkol ile tamamlanmıştır. Gallik asit örneklerinde ise alınan örnek miktarı $x=0.2\text{mL}$ olarak uygulanmıştır. Bu çalışmada çalışılan örneğin çözünürlüğü göz önünde bulundurularak su yerine etil alkol kullanılmıştır. Son olarak bu şekilde 4.1 mL hacim oluşacak şekilde çözeltiler hazırlanmış olur. Bunun ardından hazırlanan tüpler oda şartlarında ağzı kapatılarak 30 dk boyunca bekletilirler. Bu sürenin sonunda içinde örnek bulunmayan ve toplamı 4.1 mL hacimde olan CUPRAC reaktifi ve etil alkolden oluşan referans çözeltiye karşı 450 nm'de absorbans değerleri ölçülür.



Vtoplam: 4.1 mL

Bunun yanında aroma içerisindeki portakal yağının içeriğinde en fazla bulunan bileşenlerin absorbansları da yine 3 mL'lik CUPRAC reaktifinin üzerine 0.4 mL aroma standart maddesi eklenip toplam hacim 4.1 mL'ye etil alkolle tamamlanıp referans çözeltiye karşı 450 nm de okundu.

3.3.2. DPPH Yöntemi [61]

Esas olarak bu yöntem; kararlı bir serbest radikal türü olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) bileşiğinin antioksidanlar tarafından süpürülme etkilerini ölçmeye ve bu ölçümleri farklı türler arasında karşılaştırmaya dayanır. Bu radikalın indirgenmesi sonucu hidrazin oluşur. Kırmızı renkli DPPH radikali 517 nm'de maksimum absorpsiyon verir. DPPH radikali çözeltilerinin antioksidanlar varlığında absorbansı düşer ve rengi sarıya döner. İnkübasyon sonunda da antioksidanın kuvvetine bağlı olarak tamamen renksiz hale gelir. Bu yöntem antioksidanlara ait radikal süpürme aktivitelerini incelemeye olanak sağlayan basit ve etkili bir yöntem olarak literatürdeki yerini almıştır. Yöntemde öncelikle 0.1 ml alınan örnekler 4.9 ml etil alkol eklenerek 5 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bir tüpe 2 ml 10^{-4} M DPPH + 1 ml örnek + 1 ml etil alkol olacak şekilde 4 mL'lik çözeltiler hazırlanır. Gallik asit katkılı örnekler için bu çözelti 2 mL DPPH + 0.5 mL örnek ve 1.5 mL etil alkol olacak şekilde hazırlandı. Yaklaşık yarım saatlik inkübasyon süresinin ardından örneklerin 515 nm'de metil alkole karşı absorbans değişimleri gözlemlendi.

2 mL DPPH + x mL örnek + (1-x) mL EtOH

Vtoplam:4 mL

Bunun yanında aroma içerisindeki portakal yağının içeriğinde bulunan terpen bileşenlerinin çözeltileri hazırlanırken yine 2 mL'lik DPPH reaktifinin üzerine 1 mL aroma standart maddesi ve 1 mL etil alkol eklenerek toplam hacim 4 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 515 nm de metil alkole karşı (2 mL DPPH reaktifi + 2 mL metil alkol) absorbans okumaları yapıldı.

3.3.3. GC-MS Cihazı ile Oksidasyon Ürünlerinin Belirlenmesi

GC-MS cihazı bu çalışmada antioksidan katkılı örneklerin zaman içerisindeki değişimini ortaya koymak, aromalar içerisinde oksidasyona sebep olan bileşenleri belirlemek ve ortaya çıkan sonuçları duyuşal sonuçlarla karşılaştırabilmek amacıyla kullanılmıştır. Bu çalışma esnasında kullanılan portakal aroması, portakal yağı ve standart maddelerin içeriğindeki bileşenleri ve değişimleri tespit etmek için şu metotlar kullanılmıştır:

Tablo 3.2 : Portakal yağının ve standart maddelerin içeriğindeki bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GC-MS metodu.

Sıcaklıktaki artış miktarı (°C/dk)	Kolon sıcaklığı °C	Bekleme süresi (dk)
	40	0
5	70	3
5	100	3
5	140	3
5	180	10
5	220	5
5	240	5

Uygulanan metotta enjeksiyon hacmi 0.2 µl olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak He gazı kullanılmış olup gaz akış hızı 1 mL/dk, ortalama hızı 26 cm/saniye olarak ayarlanmıştır. Kolon olarak HP-INNOWax kolonu kullanılmıştır. Kolon ölçüleri 60m x 250 µm x 0.25 µm 'dir. Split modunda split oranı olarak 50:1 kullanılmıştır. 40°C de başlayan metot sıcaklığı bu sıcaklıkta hiç bekletmeksizin 70°C 'ye 5'er °C/dk'lık aralıklarla yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta 3 dk bekletildikten sonra 100°C'ye 5'er °C/dk'lık aralıklarla yükseltilerek bu sıcaklıkta 3 dk bekletilmiştir. Daha sonra 140°C'ye 5'er °C/dk'lık aralıklar şeklinde yükseltilerek bu sıcaklıkta 3 dk bekletilmiştir. Ardından 180°C'ye 5'er °C/ dk'lık aralıklarla yükseltilerek bu sıcaklıkta 10 dk bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra 220°C'ye 5'er °C/dk'lık aralıklar şeklinde yükseltilerek bu sıcaklıkta 5 dk bekletilmiştir. Son olarak 240°C'ye 5'er °C/ dk'lık aralıklarla yükseltilerek bu sıcaklıkta da 5 dk bekletilerek metot sonlandırılmıştır.

Tablo 3.3 : Portakal aromasının içeriğindeki bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GC-MS metodu.

Sıcaklıktaki artış miktarı (°C/dk)	Kolon sıcaklığı °C	Bekleme süresi (dk)
	40	0
3	190	4
2	220	12

Uygulanan metotda enjeksiyon hacmi 0.2 µl olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak He gazı kullanılmış olup gaz akış hızı 1 mL/dk, ortalama hızı 26 cm/saniye olarak ayarlanmıştır. Kolon olarak HP-INNOWax kolonu kullanılmıştır. Kolon ölçüleri 60 m x 250 µm x 0.25 µm 'dir. Split modunda split oranı olarak 50:1 kullanılmıştır. 40°C de başlayan metot sıcaklığı bu sıcaklıkta hiç bekletmeksizin 190°C 'ye 3'er °C/ dk'lık aralıklarla yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta 4 dk bekletildikten sonra 220°C'ye 2'er °C/ dk'lık aralıklarla yükseltilerek bu sıcaklıkta 12 dk bekletilerek metot sonlandırılmıştır.

3.3.4. Klimatik Test Kabininde Yaşlandırma Tekniği ile Aromaların Son Kullanma Tarihlerinin Belirlenmesi

Klimatik test kabini antioksidan katkılı aroma bileşenlerinin son kullanma tarihlerine etkilerinin araştırılması için önemli bir rol oynamıştır. UV ışık altında, nemsiz ortamda, 45 °C'lik ortam sıcaklığına sahip bir metod uygulanarak bozundurulmuş örneklerin zaman içerisindeki değişimleri incelenmiştir.

Öncelikle portakal aromasının içerisine eklenmek üzere BHA, GA, SA ve AP antioksidan katkılarının %4 ve %10'luk çözeltileri hazırlandı. Daha sonra 1.9 g örneğe 0.02 g antioksidan katkısı ilavesi olacak şekilde eklemeler yapıldı. %4 ve %10'luk BHA, %4 ve %10'luk GA, %4 ve %10'luk SA, %4'lük AP ve bir tanesi de katkısız örnek olmak üzere toplamda sekiz adet örnek oluşmuştur. Bu örnekler içerisinde yaklaşık 45°C sıcaklık, nemsiz ortam ve UV ışık olan bir metoda sahip klimatik test kabin cihazına yerleştirildi. Bu test kabininde geçen her 5 gün ürün ömründeki 3 aya tekabül etmektedir. Her hafta bu örnekler çıkartılarak başta GC-MS, CUPRAC ve DPPH analizleri, 5 farklı panelist tarafından tadım uygulamaları ve olfaktif (koku) analizleri yapıldı. Tadım uygulamaları yapılırken 0.20 g Gum Arabik alınarak üzerine 0.02 g katkılı aroma veya katkısız aroma ilavesi yapıldı. Ardından aroma, gum içerisinde iyice karıştırıldıktan sonra su ile 100 g'a tamamlandı.

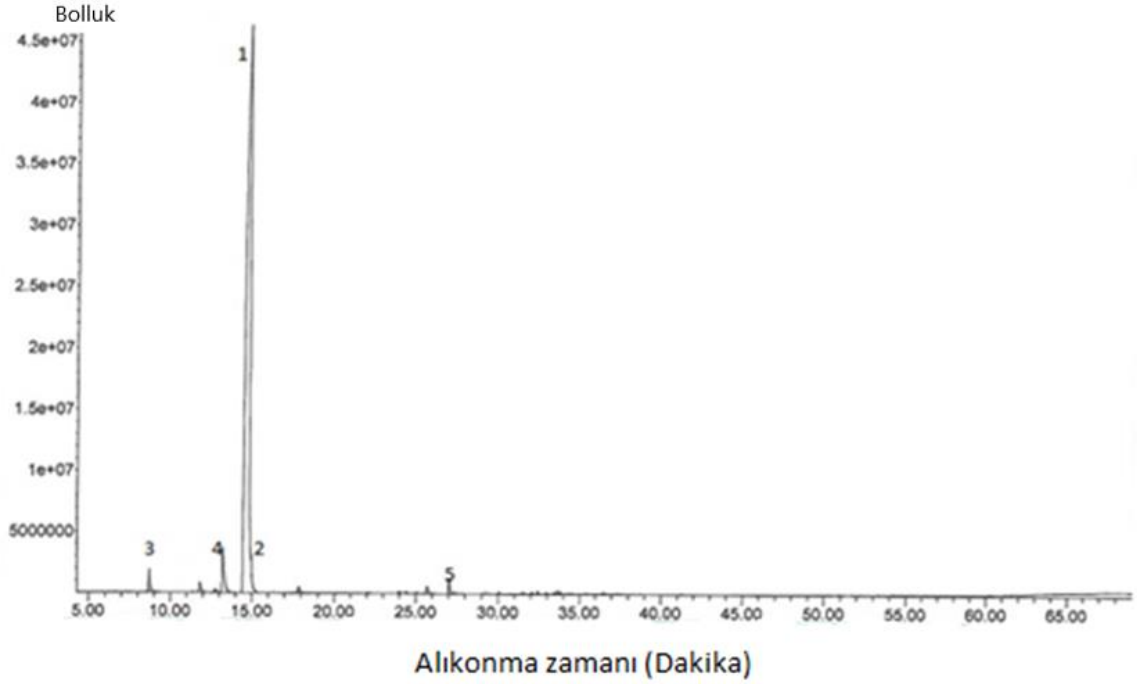
4. BULGULAR

4.1. Portakal Yağının Terpen İçeriklerinin GC-MS ile % Pik Alanlarının Belirlenmesi

Mevcut çalışmada kullanılan portakal aroması karışımının büyük bir çoğunluğunu oluşturan ve bu aromanın oksidasyonunda en önemli etkiye sahip olan portakal yağının GC-MS analizi yapılmıştır. Uygulanan yöntemle göre (Tablo 3.2) yapılan GC-MS analizi sonucunda portakal yağına ait kromatogram ve bileşenlerin deneysel yüzde pik alanlarını Şekil 4.1 ve Tablo 4.1’de görülmektedir.

Tablo 4.1 : Portakal Yağı'nın GC-MS analizi.

Bileşen Adı	% Bileşim (GC-MS Pik Alanı)	Pik Numarası
Limonen	%89.00	1
Sabinen	%1.96	2
Alfa Pinen	%1.24	3
Mirsen	%3.84	4
Linalol	%1.12	5
Diğer Bileşenler	%3.00	-

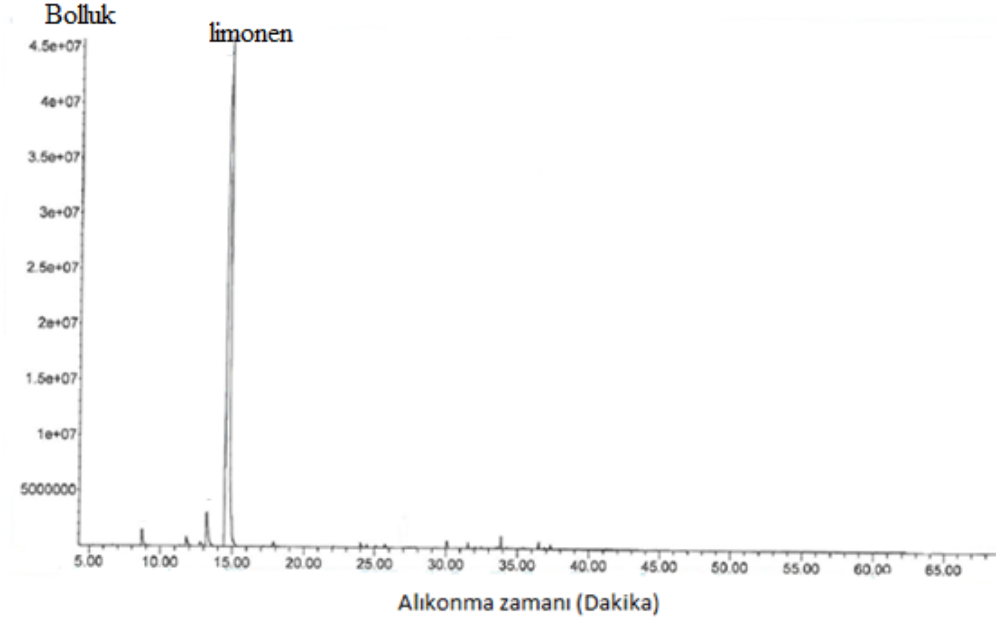


Şekil 4.1 : Portakal Yağı'na ait GC-MS kromatogramı.

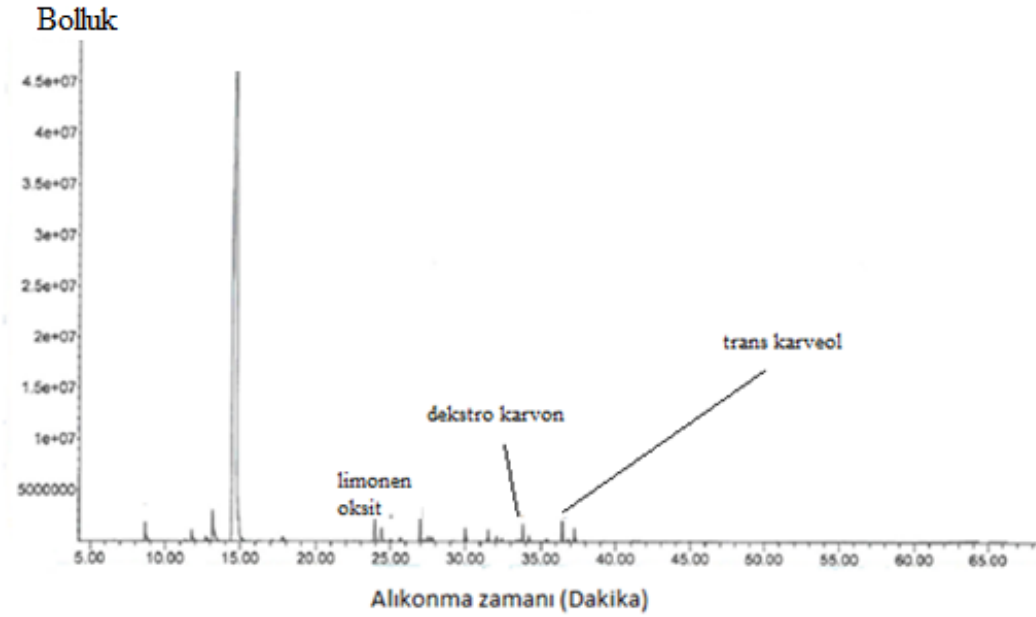
Burada görüldüğü üzere portakal aromasının içinde bulunan portakal yağı türünün (Orange Oil Brazil) içeriğinde terpenoit türevi bileşenler (Limonen, Alfa Pinen, Mirsen, Sabinen) en fazla yüzdeye sahip bileşenlerdir. Bundan önceki bölümlerde de açıklandığı üzere bu bileşenlerin oksidasyon ürünleri GC-MS analizleri sonucunda incelenmiş ve elde edilen bulguların ardından antioksidan ilavesi ile portakal yağının da içeriğinde olan portakal aromasının vermiş olduğu deneysel sonuçlar irdelenmiştir. Kullanılan GC-MS metodu ile (Tablo 3.3) portakal aromasının içeriğinde bulunan portakal yağının bileşiminin belirlenmesi ve oksidasyon ürünlerinin tespit edilmesi sağlanmıştır.

4.2. Portakal Yağı İçerisindeki Terpenoid Türevi Bileşiklerin Oksidasyon Ürünlerinin Belirlenmesi

Portakal yağında yukarıda da belirtilen en fazla geçtiği tespit edilen başta Limonen olmak üzere Sabinen, Mirsen ve Alfa Pinen bileşikleri klimatik yaşlandırma test kabine konularak yaşlandırma tekniğiyle yapıları oksidasyona uğrattırılıp, oluşan oksidasyon ürünleri incelenmiştir. Ortaya çıkan kromatogramlar incelendiğinde pik alanlarının, oksidasyon ürünlerinin artışına bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir.

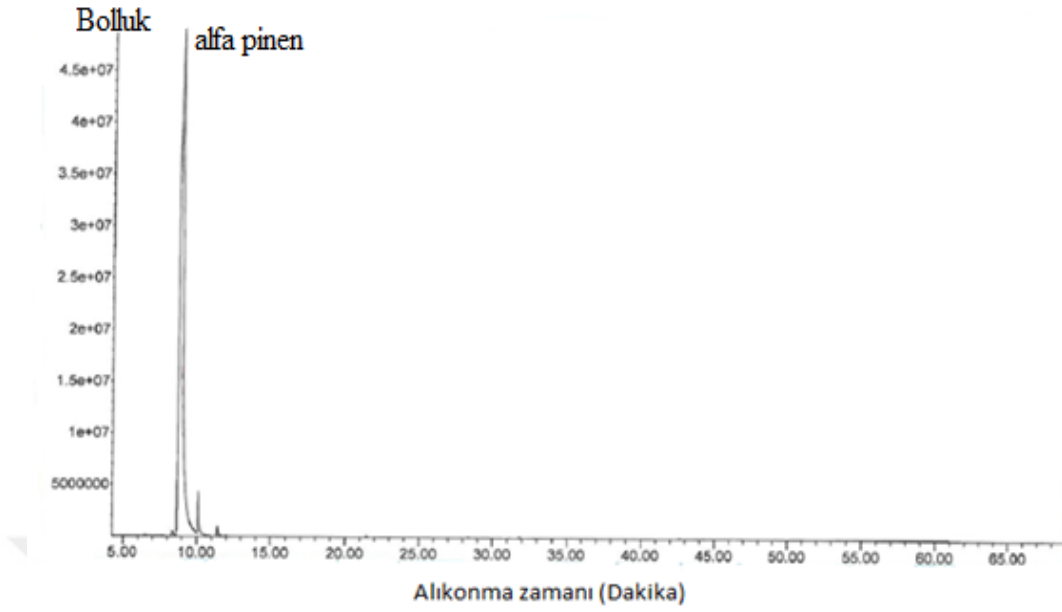


Şekil 4.2 : Limonen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.

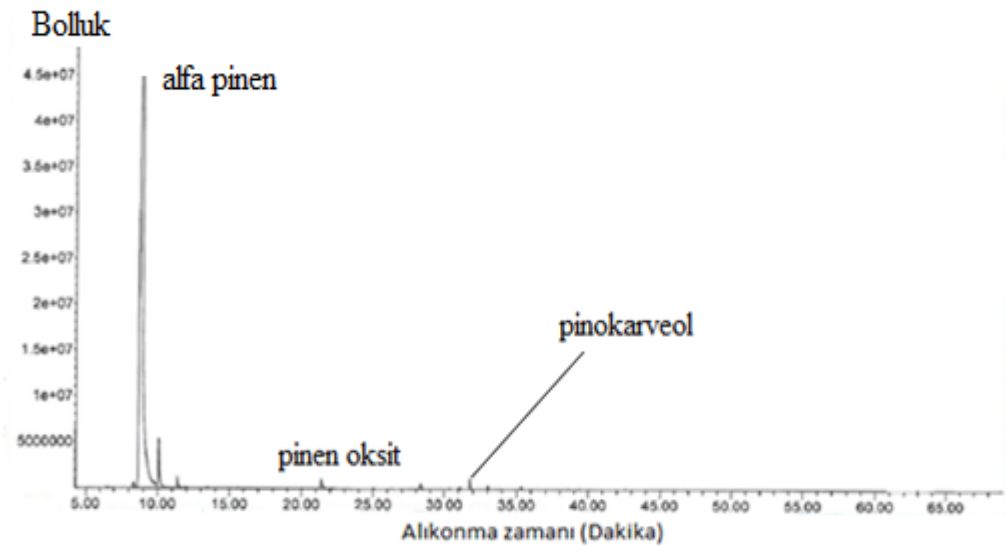


Şekil 4.3: Limonen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.

Limonen'in zamanla kromatogramındaki değişimler incelendiğinde Limonen'e ait olan piklerin haricinde zamanla üç farklı pikin oluştuğu ve pik boylarının arttığı gözlemlenmiştir. Bu pikler ise limonen oksit, dektro karvon ve trans karveol olarak karşımıza çıkmaktadırlar [25]. Bunlar Limonen bileşiğinin oksidasyon ürünlerindedir.

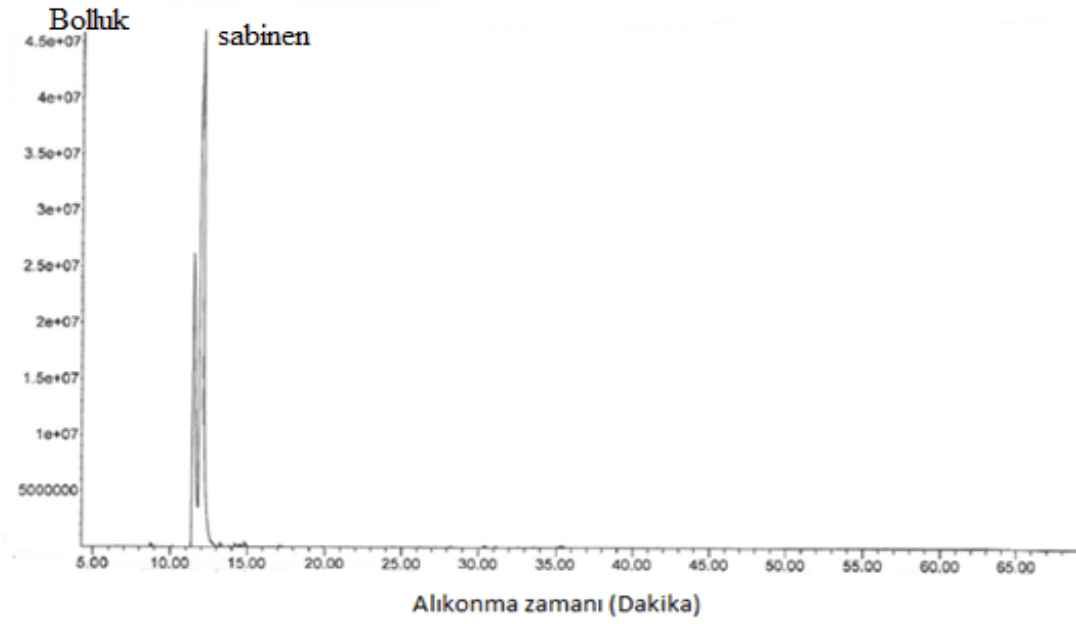


Şekil 4.4 : Alfa Pinen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.

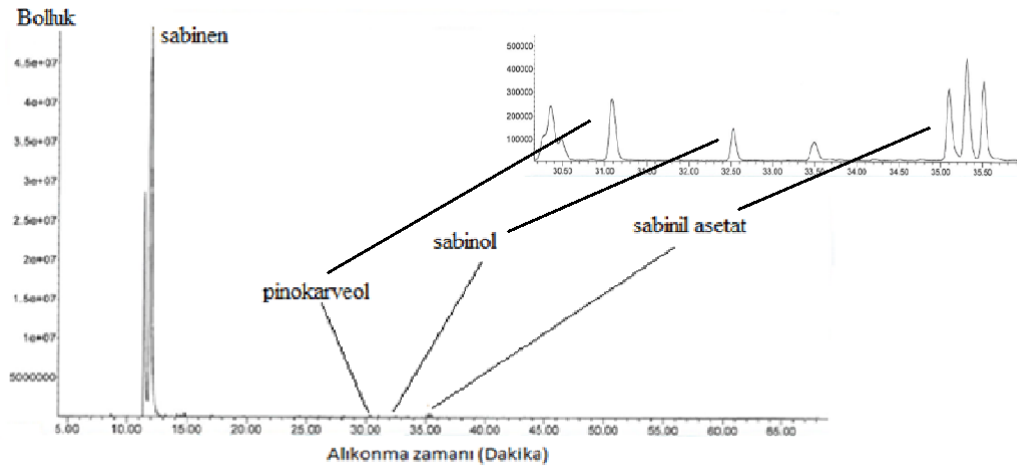


Şekil 4.5: Alfa Pinen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.

Alfa Pinen'in zamanla kromatogramındaki değişimler incelendiğinde ise bileşiğin bozunmamış halindeki alfa pinen pikinin aksine bozunmaya başladıktan sonra pinen oksit piki ve pinokarveol isimli piklerle net şekilde görülen iki farklı oksidasyon ürünü belirlendi [19].

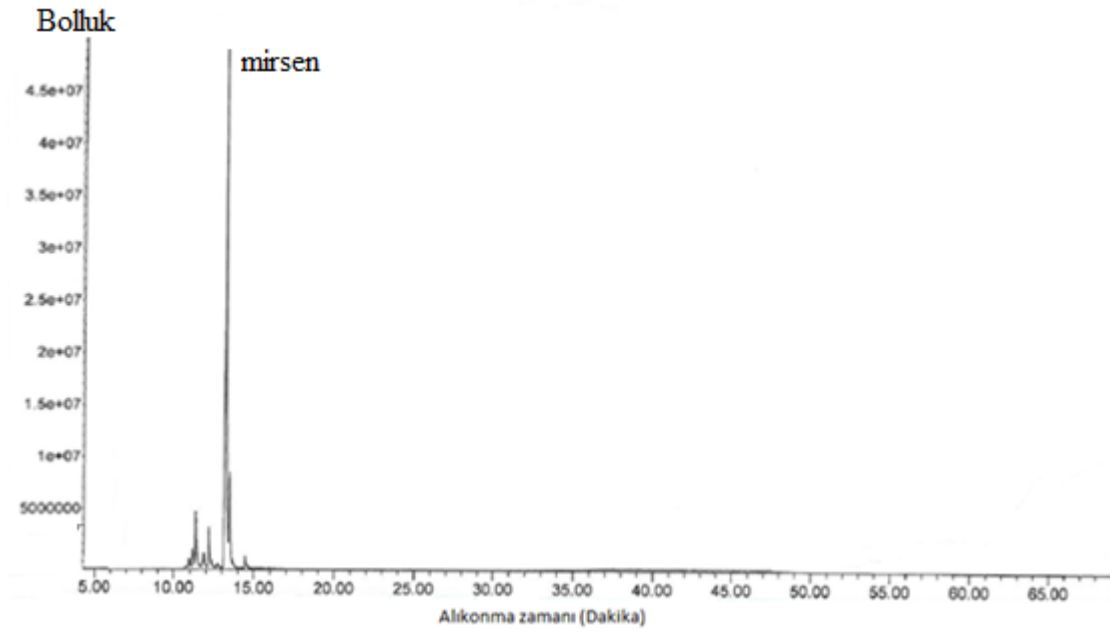


Şekil 4.6: Sabinen bileşiğinin oksidasyon öncesi kromatogramı.

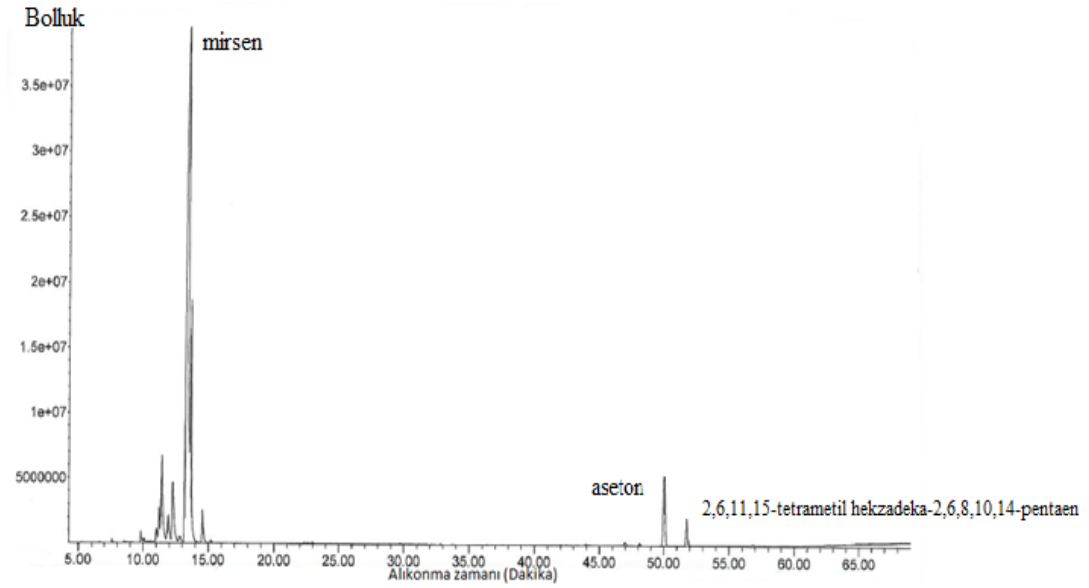


Şekil 4.7: Sabinen bileşiğinin oksidasyon sonrası kromatogramı.

Sabinen bileşiğindeki değişimler incelendiğinde sabinen pikine ait kromatogramdan daha sonra pinokarveol, sabinol ve sabinil asetat bileşiklerinin oluştuğu gözlemlenmiştir [28].



Şekil 4.8: Mirsen bileşiminin oksidasyon öncesi kromatogramı.

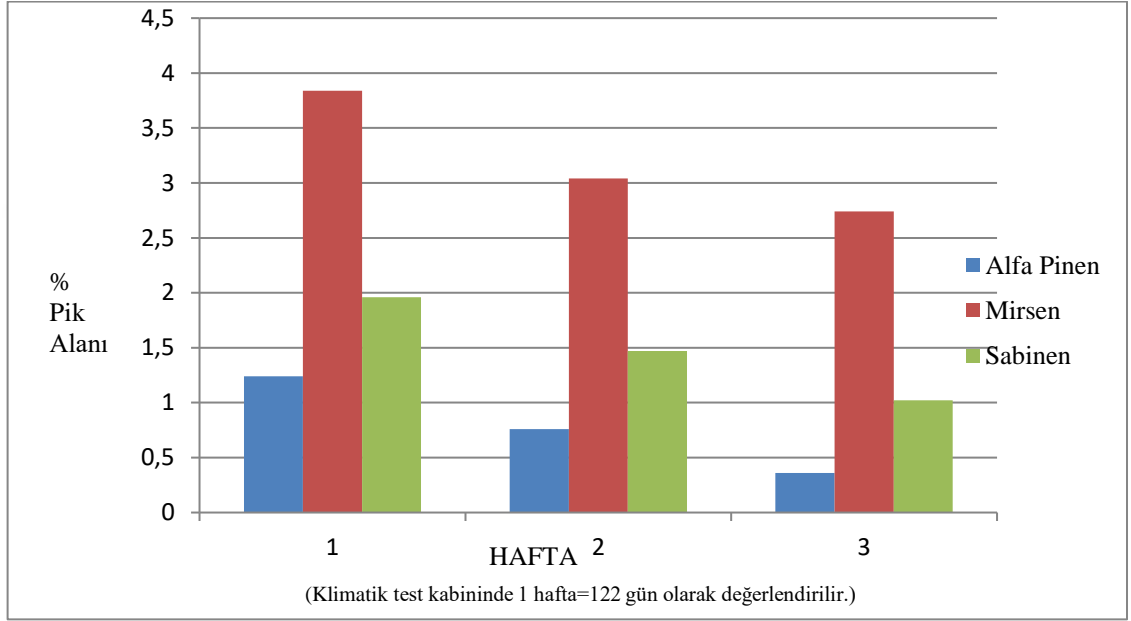


Şekil 4.9 : Mirsen bileşiminin oksidasyon sonrası kromatogramı.

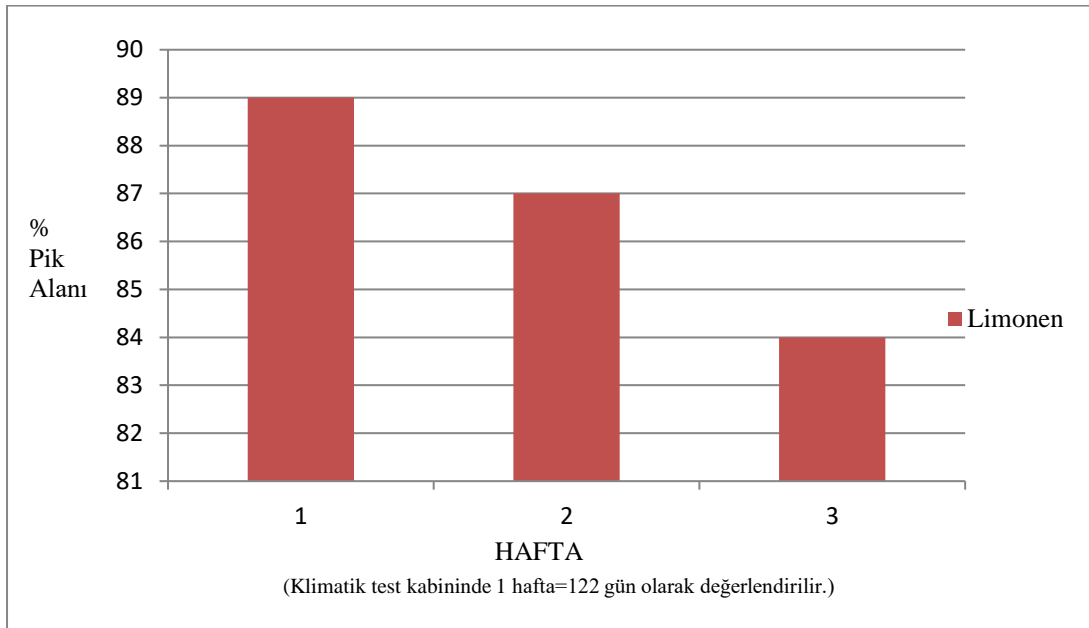
Kromatogram incelendiğinde aseton [23] ve 2,6,11,15-tetrametil hegzadeka-2,6,8,10,14-pentaen bileşiği olarak iki farklı oksidasyon ürününe ait pik tespit edildi.

4.3. Portakal Yağının İçeriğinde Bulunan Terpenlerin GC-MS Analizi İle %Pik Alanlarındaki Değişimin İncelenmesi

Portakal yağının içerisindeki 4 bileşenin iklimatik test kabini vasıtası ile yapılarında meydana getirilen yaşlandırma GC-MS cihazıyla incelenerek, % pik alanlarının 3 farklı zamanda alınan numunelerde ki değişimleri grafik haline getirilmiştir.



Şekil 4.10: 3 farklı bileşenin zaman içerisinde portakal yağındaki % pik alanı değişim grafikleri.

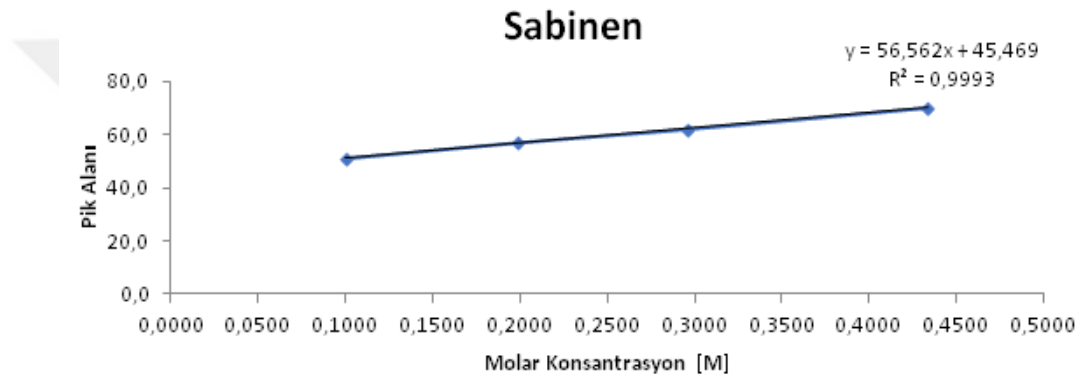


Şekil 4.11 : Limonen bileşinin zaman içerisinde portakal yağındaki % pik alanı değişim grafikleri.

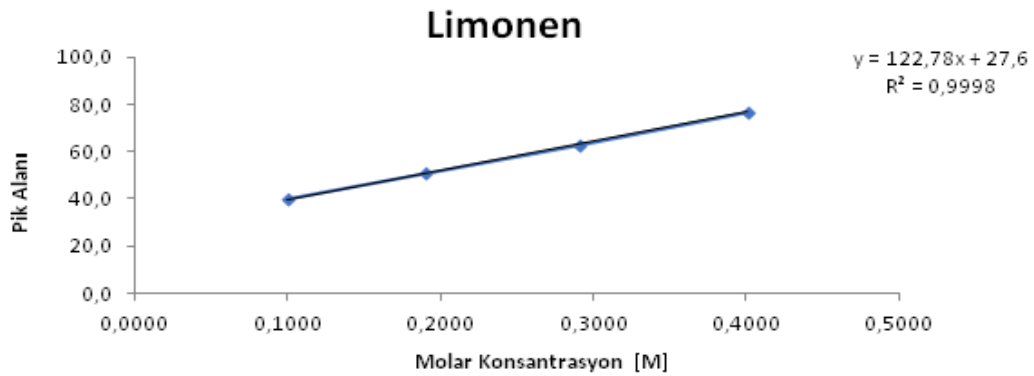
Şekillerde de görüleceği üzere portakal yağının içeriğinde ki 4 bileşen test kabiniinde bekletilerek yaşlandırıldığında elde edilen GC-MS analizlerinin sonucunda pik alanlarının azaldığı görülmektedir (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11).

4.4. Portakal Yağının İçerisindeki Terpenlerin Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması

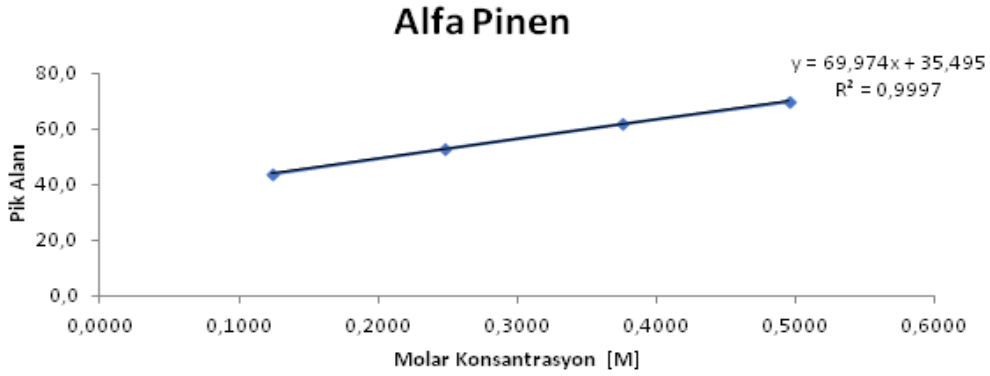
Portakal yağında en fazla bulunan terpenler; limonen, alfa pinen, sabinen ve mirsene ait farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin GC-MS yöntemiyle elde edilen sonuçlarına göre kalibrasyon grafikleri çizildi.



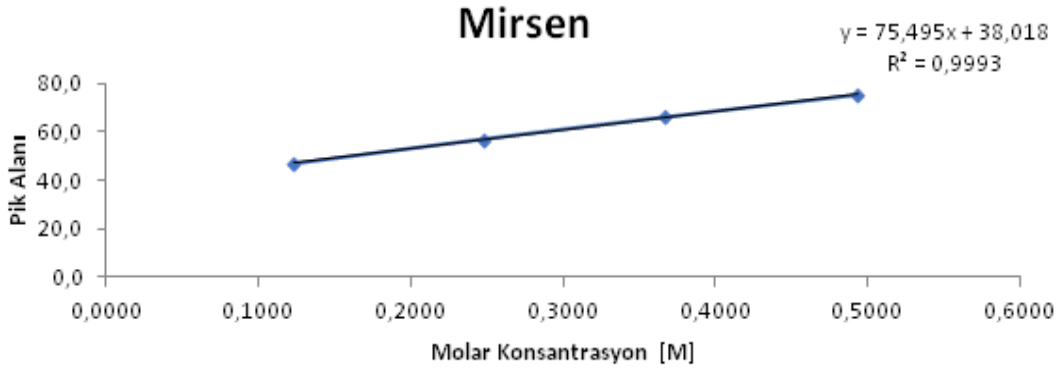
Şekil 4.12 : GC-MS yöntemi ile elde edilen sabinen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.



Şekil 4.13: GC-MS yöntemi ile elde edilen limonen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.



Şekil 4.14 : GC-MS yöntemi ile elde edilen alfa pinen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.



Şekil 4.15: GC-MS yöntemi ile elde edilen mirsen bileşiğine ait kalibrasyon doğrusu.

Oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin ardından farklı zamanlarda alınan örneklerin GC-MS pik alanı yüzdeleri de göz önünde bulundurularak molar konsantrasyonlarında ki değişim incelendiğinde ise molaritelerin değişen oranlarda azaldığı görülmüştür (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 : Terpenlerin molaritelerinin ve %pik alanlarının zaman içerisindeki değişimi.

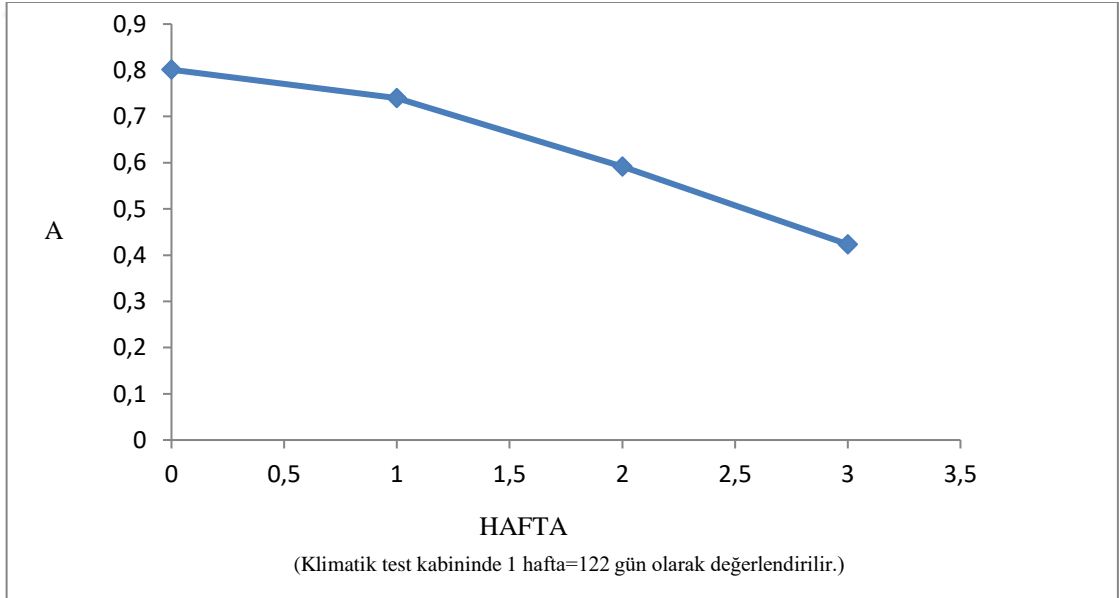
	Başlangıç Molaritesi	Bozunmaya Başladıktan 9 ay sonraki molaritesi	GC-MS % Alan Değişimleri
Limonen	0.2 M	0.15 M	%52 - %47
Alfa Pinen	0.2 M	0.17 M	%53 - %48
Sabinen	0.2 M	0.11 M	%56 - %52

Tablo 4.2 (devamı) : Terpenlerin molaritelerinin ve %pik alanlarının zaman içerisindeki değişimi.

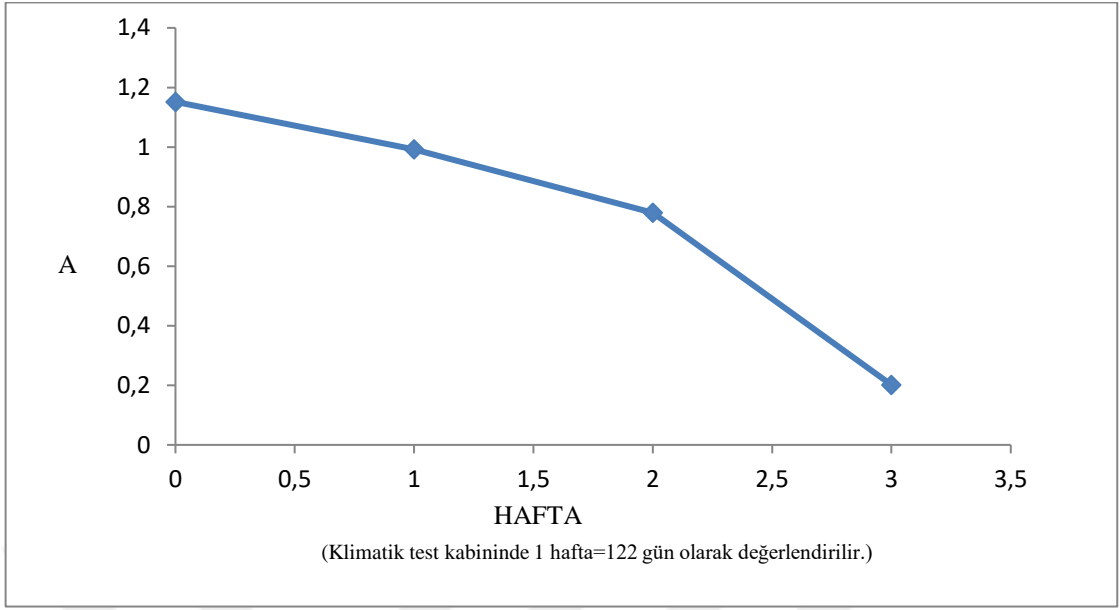
Mirsen	0.2 M	0.14 M	%57 - %49
--------	-------	--------	-----------

4.5. Portakal Yağının İçerisinde En Fazla Bulunan Terpen Bileşiklerinin CUPRAC Yöntemiyle Oksidasyona Bağlı Olarak Antioksidan Kapasitelerinin İncelenmesi

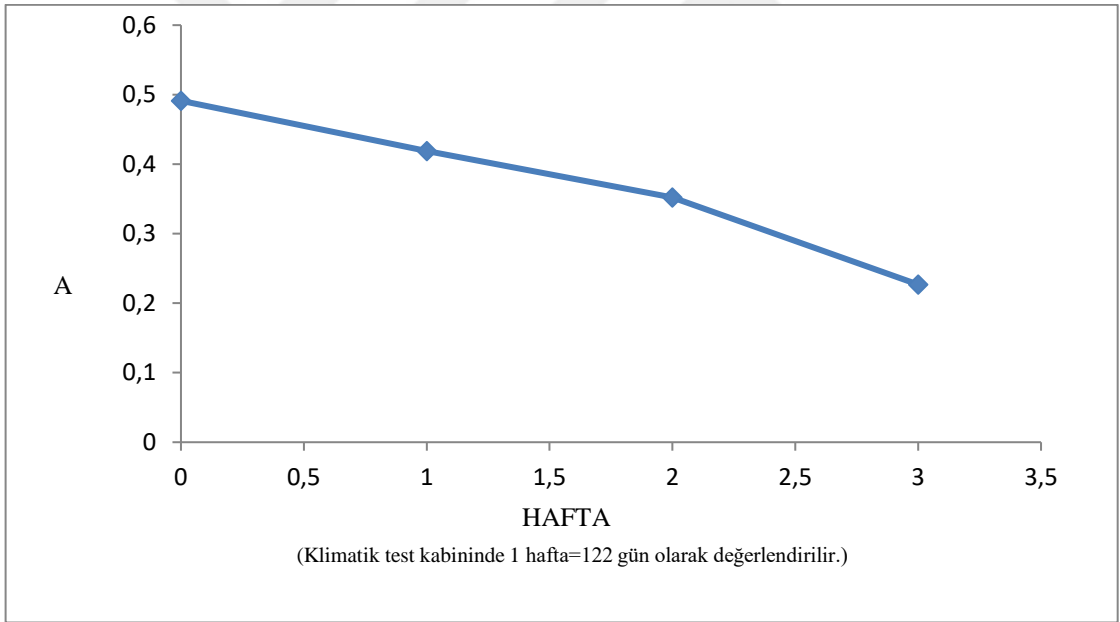
Bu çalışmada incelenen terpen bileşikleri limonen, alfa pinen, sabinen ve mirsen olup bu bileşiklerin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbands değişimi Şekil 4.16, Şekil 4.17 Şekil 4.18 ve Şekil 4.19'da görülmektedir.



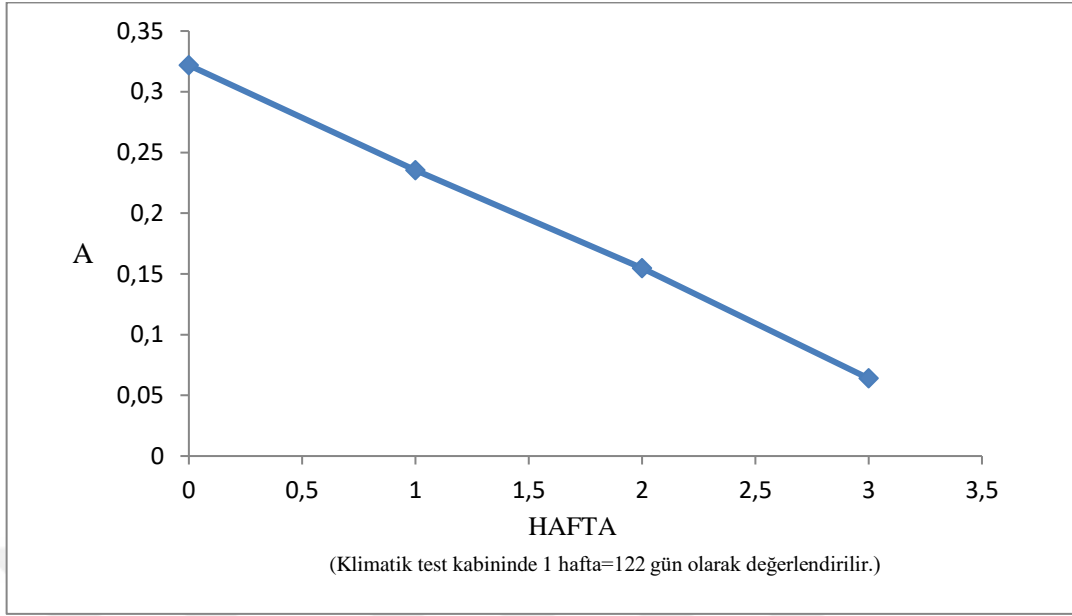
Şekil 4.16: Limonen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbands değişimi.



Şekil 4.17: Alfa Pinen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.



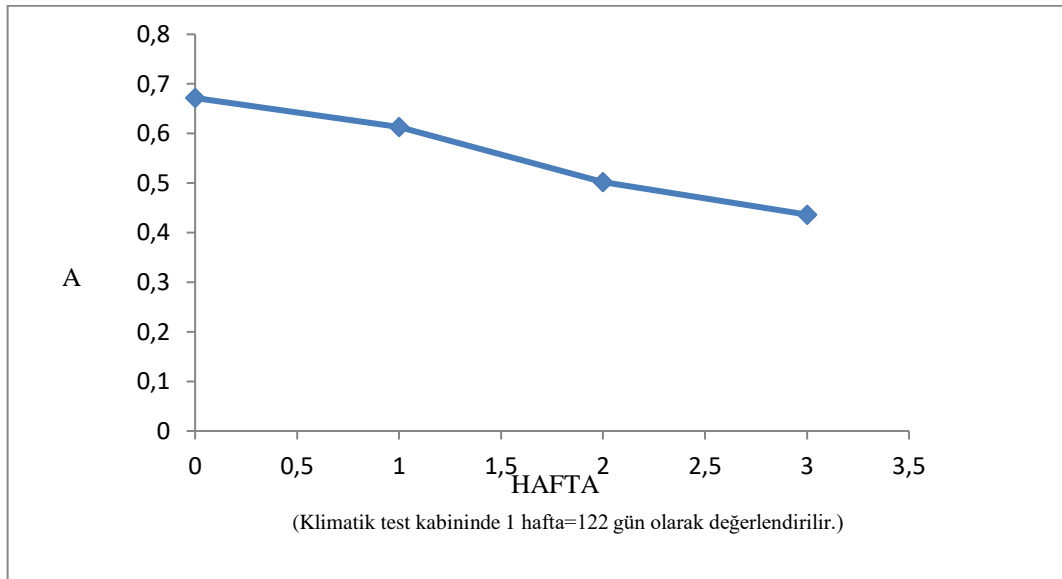
Şekil 4.18: Sabinen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.



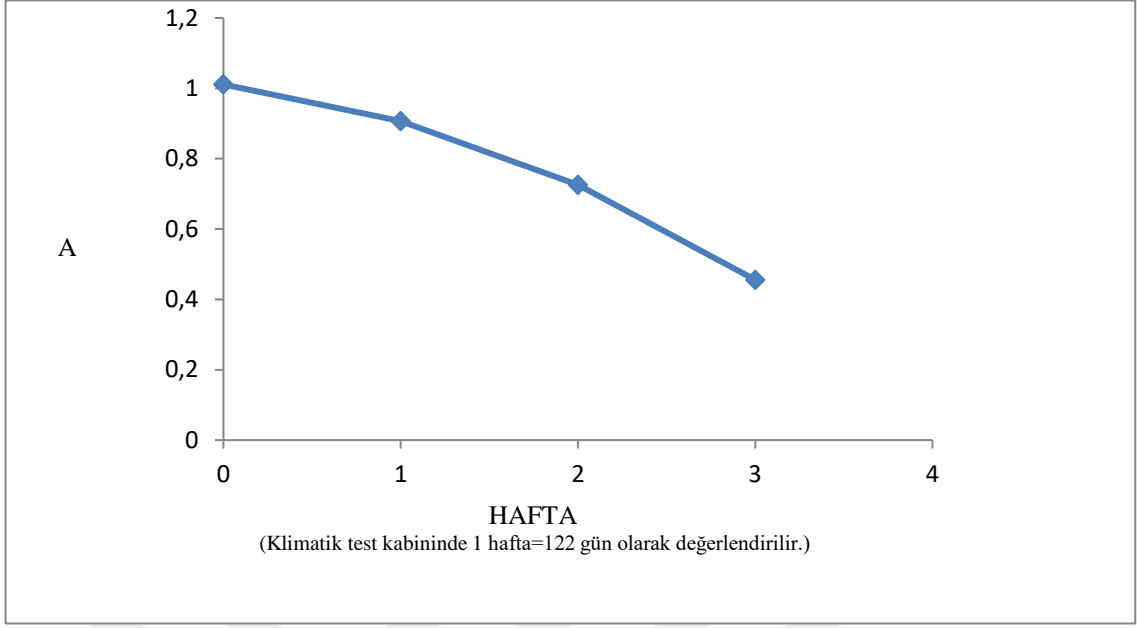
Şekil 4.19: Mirsen bileşiğinin CUPRAC yöntemine göre zamanla absorbans değişimi.

4.6.Portakal Yağının İçerisinde En Çok Bulunan Terpen Bileşiklerinin DPPH Yöntemiyle Oksidasyona Bağlı olarak Antioksidan Süpürme Aktivitelerinin İncelenmesi

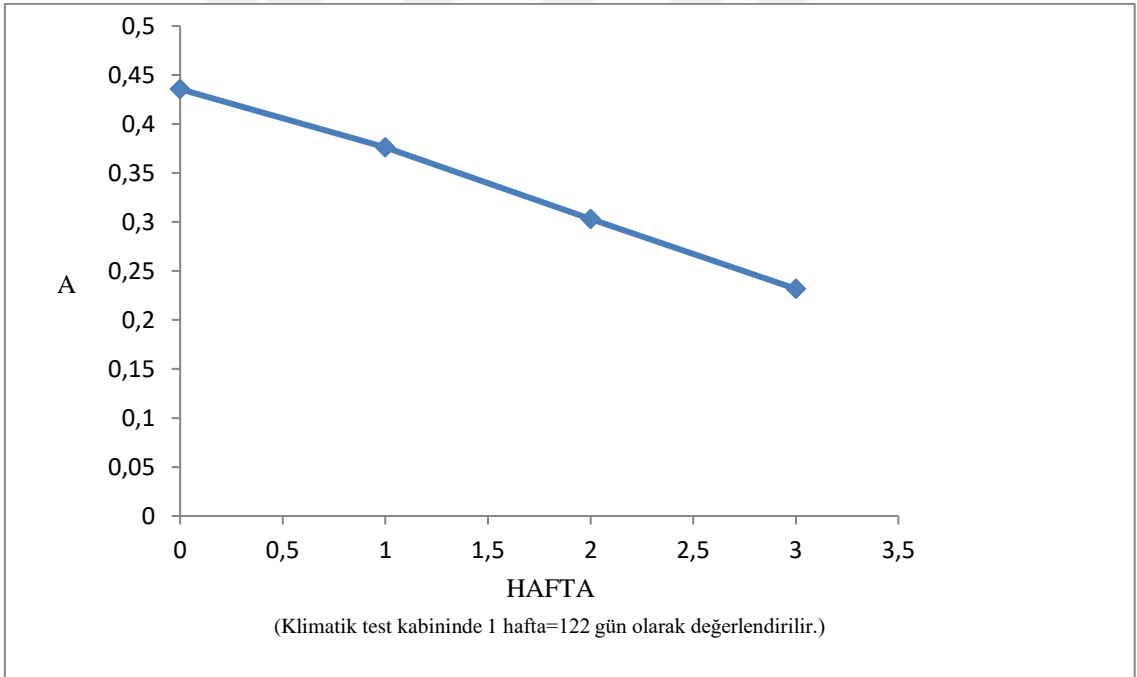
Bu çalışmada incelenen terpenler limonen, alfa pinen, sabinen ve mirsendir. Bu bileşiklere ait DPPH absorbans grafikleri şu şekildedir.



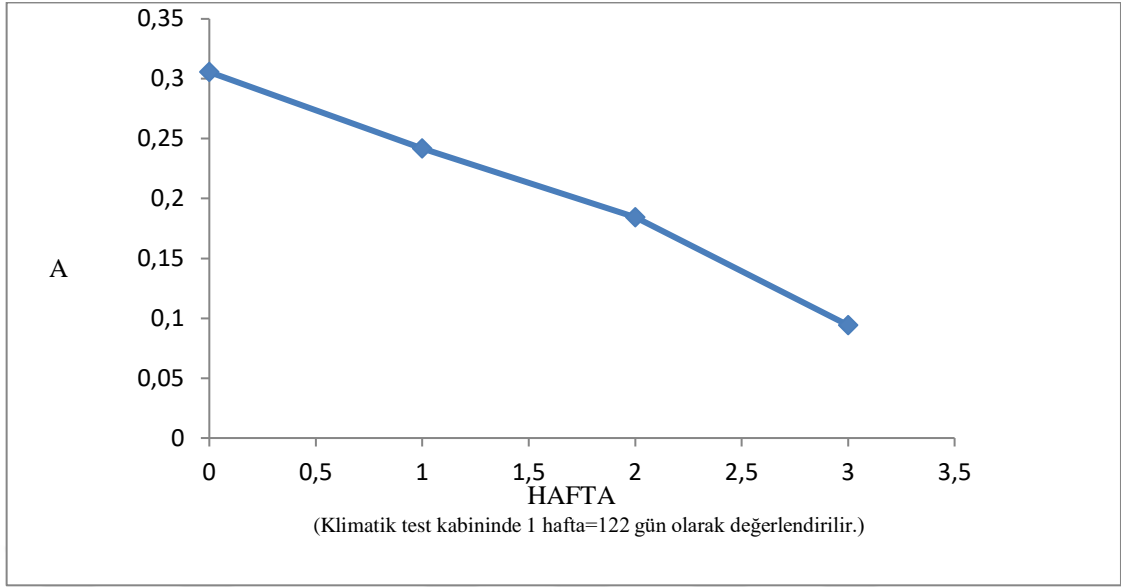
Şekil 4.20 : Limonen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.



Şekil 4.21: Alfa pinen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.



Şekil 4.22 : Sabinen bileşiği için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.

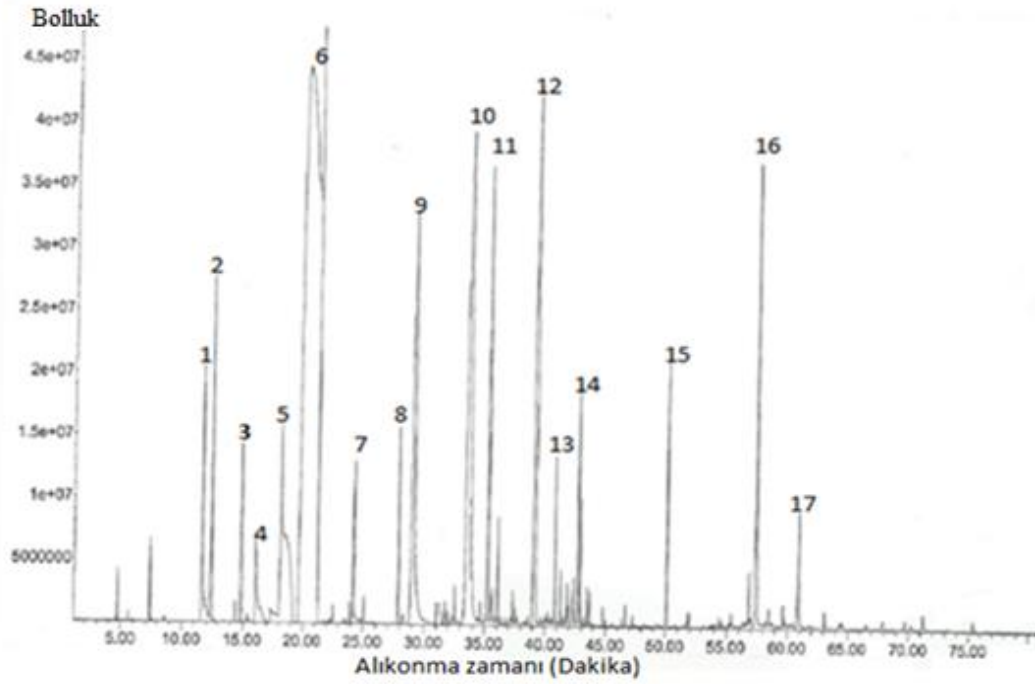


Şekil 4.23: Mirsen bileşigi için DPPH yöntemi ile elde edilen absorbans-zaman grafiği.

Tüm bu sonuçlardan yola çıkarak elde edilen veriler bize portakal yağının içerisindeki bozunmanın antioksidan kapasite yöntemleri kullanılarak izlenebileceğini göstermektedir. Özellikle oksidasyon ürünlerinin artmasına bağlı olarak absorbanslarda meydana gelen düşme bu durumun en temel kanıtıdır. Dolayısıyla bu aşamada aromanın %80'ini oluşturan yağdan ve yağın yapısındaki standartlardan yola çıkarak portakal aromasının yapısındaki bozunmayı ve katkıların ilavesi ile meydana gelen değişimleri CUPRAC, DPPH, GC-MS gibi kimyasal analizler ve aroma sektöründe yapılan diğer duyuşal testler yapılarak izlendi.

4.7. Katkısız Portakal Aromasının GC-MS Analizi ve Kromatogramdaki Bileşiklerin Tanımlanması

Daha önceden belirtilen metodun uygulanmasıyla (Tablo 3.3) portakal aromasının içerisindeki bileşenler % pik alanlarına göre sıralandırılmışlardır.



Şekil 4.24: Portakal aromasının GC-MS kromatogramı.

Bu kromatogramdan da anlaşılacağı gibi aromanın içeriğinde portakal yağının içeriğindeki bileşenlerde dahil olmak üzere çok sayıda bileşen vardır. Bu safhada, portakal aromasının içerisinde en çok geçen 17 adet bileşeni numaralandıracak olursak;

Tablo 4.3 : Portakal aromasının kromatogramda görünen içeriği.

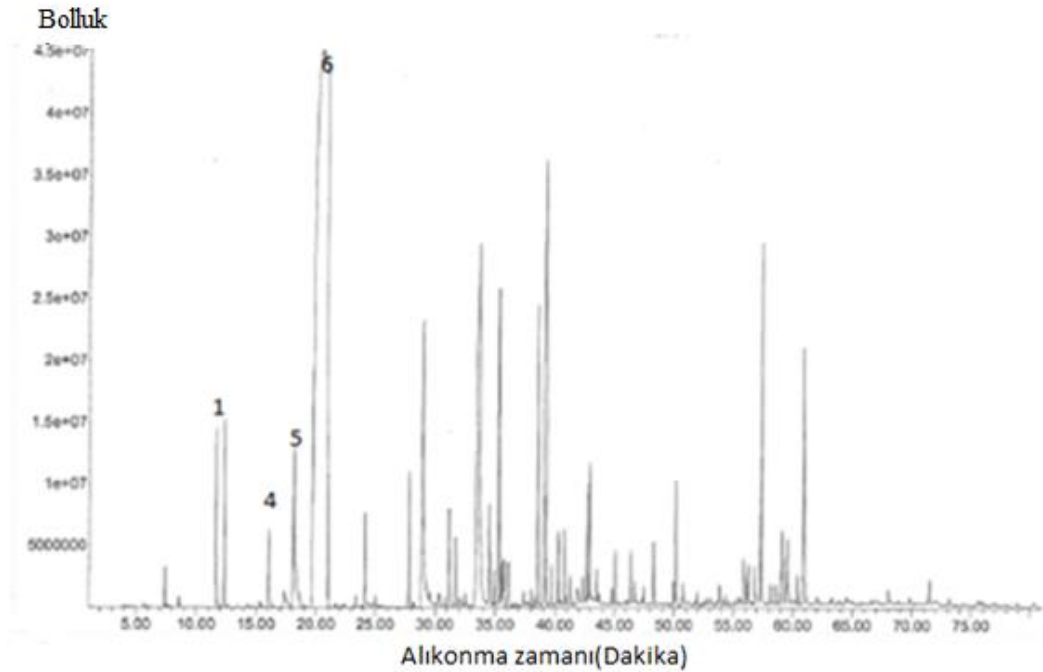
Numara	Bileşen Adı	%Pik Alanı	Numara	Bileşen Adı	%Pik Alanı
1	Alfa Pinen	1.60	10	Aldehit C-10	10.20
2	Etil Butirat	1.70	11	Linalol	3.02
3	Asetaldehit	1.92	12	Mentol Kristal	6.63
4	Sabinen	1.18	13	Sitral(1)	0.63
5	Mirsen	3.36	14	Sitral(2)	0.97
6	Limonen	45.16	15	Beta İyonon	1.08
7	Oktanal	0.91	16	Nonanoik Asit	2.86

Tablo 4.3 (devamı): Portakal aromasının kromatogramda görünen içeriği.

Numara	Bileşen Adı	%Pik Alanı	Numara	Bileşen Adı	%Pik Alanı
8	Alil Kaproat	0.96	17	Kaprik Asit	0.65
9	Aldehit C-9	6.40			

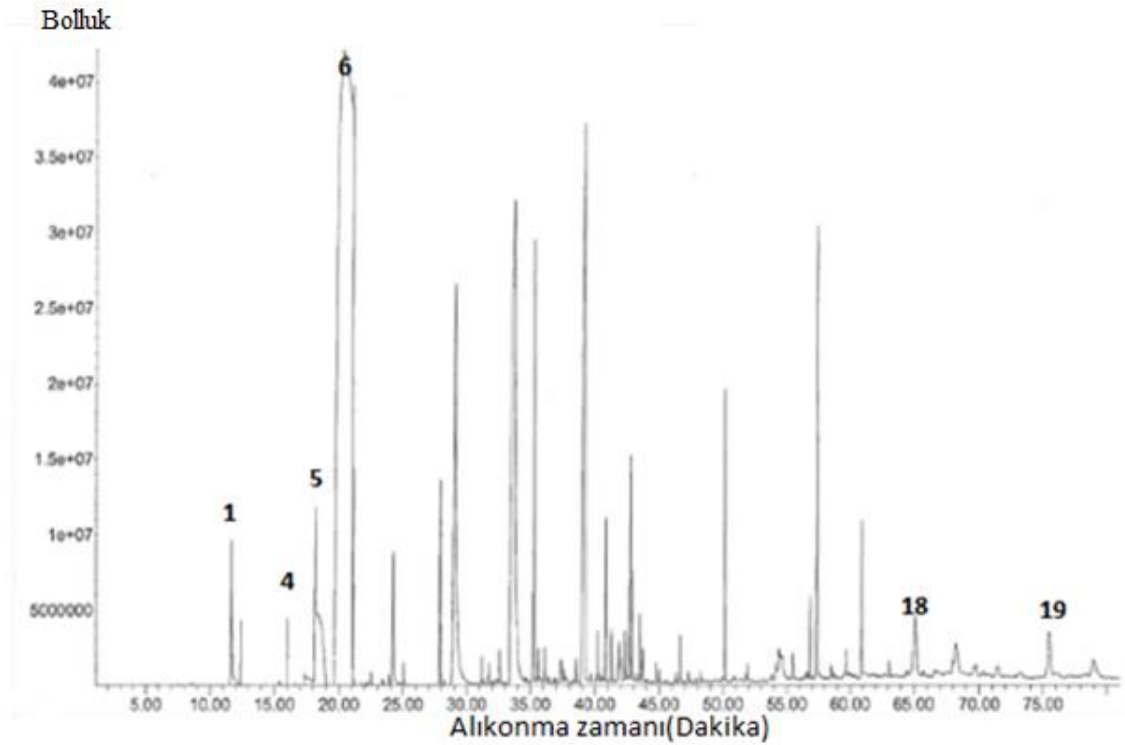
4.8. Portakal Aromasının Haftalara Göre GC-MS Kromatogramındaki Değişimler ve Oksidasyon Ürünleri

Klimatik test kabininde bekletilen aroma numunelerinden haftalık olarak örnekler alınmış ve GC-MS analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulguların değerlendirilmesi kromatogramlarının çakıştırılarak görülen pik farklılıkları dikkate alınarak yapılmıştır.

**Şekil 4.25 :** Portakal aromasının 1. hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.

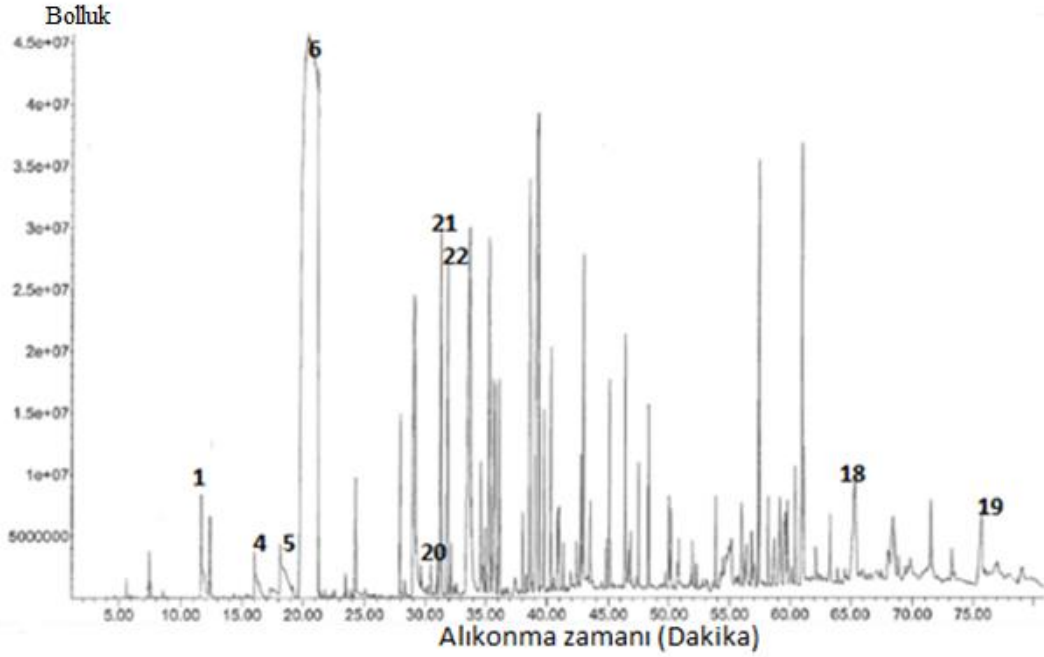
1.hafta alınan portakal aroması örneklerinin analizi yapıлып oluşan GC-MS kromatogramı incelendiğinde kesin olarak oksidasyona sebep olduğu belirlenen bir farklılık görülmemekle birlikte yinede portakal yağının içeriğinde ki terpenoitlere ait piklerin hem boylarında kısalma olduğu hemde pik alanlarında azalma olduğu görülmüş olup özellikle 50. dakikadan sonra

baselinesında ufak bir yükselmenin başladığı göze çarpmaktadır. 1.haftada iklimik test kabininden çıkartılarak antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemleri [60, 61] kullanılıp kimyasal analizleri yapıldığında, örneklerde bir miktar absorban düşüşü gözlemlenmekle birlikte (Şekil 4.33), bazı örneklerde Şekil 4.25'de görünen kromatogramda olduğu gibi oksidasyon başlangıcı olarak nitelendirebileceğimiz baseline yükselmesi ve bunun yanında duyu analiz farklılıkları tespit edilmiştir.



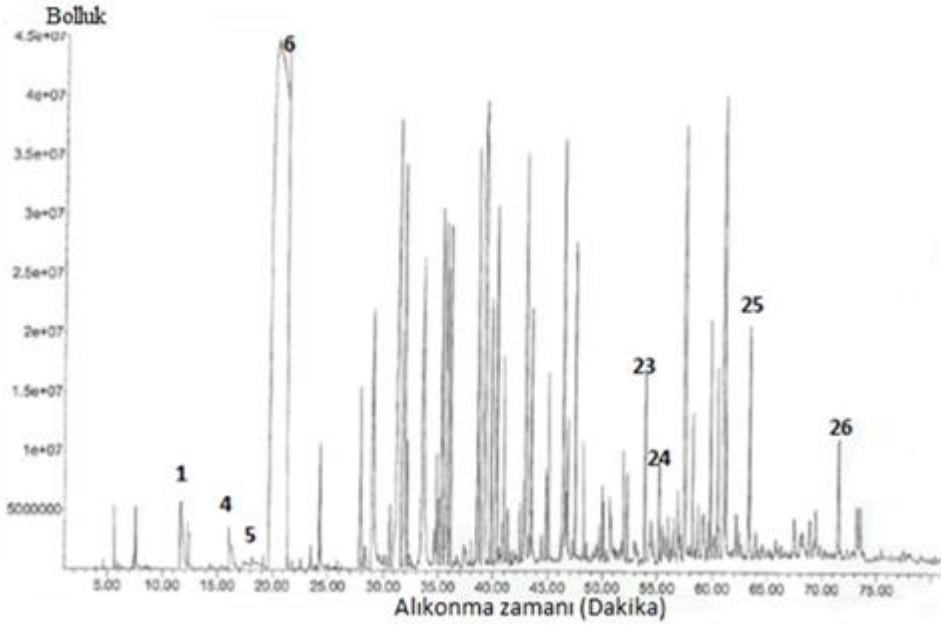
Şekil 4.26 : Portakal aromasının 2. hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.

2.hafta alınan kromatogramda ki pikler incelendiğinde özellikle 50. dakikadan sonra gerçekleşen baseline yükselmesinin daha belirgin bir şekilde ortaya çıktığı ve bu bölgedeki bazı piklerin ise daha belirgin hale gelecek ölçüde boylarının uzadığı ve alanlarının genişlediği görülmektedir. Özellikle 65. dakikada görülen 18 numaralı 4-asetil-1-metilsikloheksen [19], 75. dakikada ortaya çıkan 19 numaralı 5-izopropil-bisiklo [3.1.0] heksan-2-one [27] bileşiklerini söyleyebiliriz.



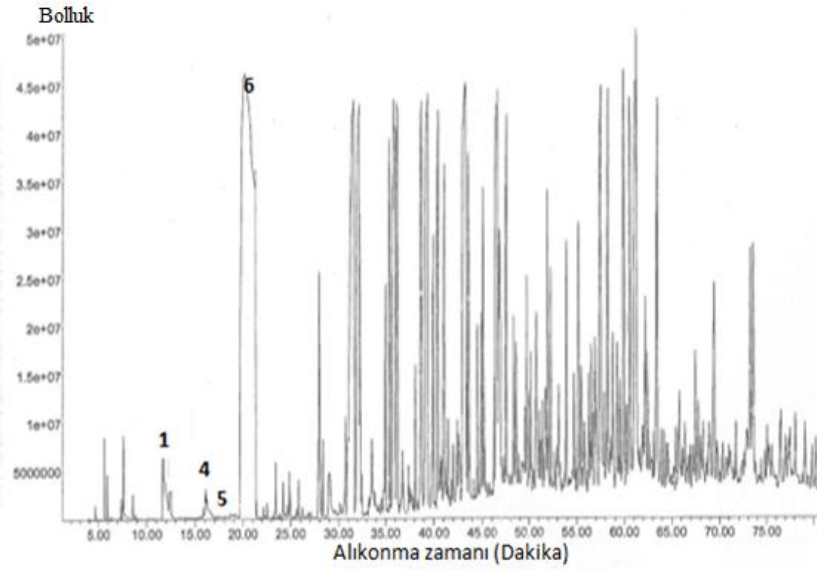
Şekil 4.27: Portakal aromasının 3.hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.

3.haftada alınan örnek özellikle aromanın oksidasyon ürünlerinin daha belirgin bir şekilde gözle görülmesi açısından adeta bir kırılma noktası olmuştur. Diğer haftalarda 50. dakikadan itibaren görülen baseline yükselmesi burada daha belirgin bir şekilde artarak devam etmiştir. Temel olarak görülen bazı oksidasyon ürünlerine örnek verecek olursak 18. dakika civarında ortaya çıkan ve portakal aromasının içerisinde de gözlemlenen alfa pinen pikinin alanında azalma ve bu pikte parçalanma görülmüştür. Bununla birlikte özellikle 30 ile 35.dakikalardan itibaren pik boylarında artış görüldüğü gözlemlenmiştir. Bunlar incelendiğinde 21 numaralı ve 22 numaralı pinen oksit isimli bir bileşiğe ait büyük bir pik gözlemlenmiştir. Bu bileşik alfa pinenin temel oksidasyon ürünlerindedir [19]. Bir başka örnekte portakal aromasının içeriğinde ki portakal yağının yüzde olarak en fazla geçen bileşiği olan limonenin 20.dakikadan hemen önce dedekte edilen pik alanında ki azalma incelendiğinde buna karşılık 22 numaralı Limonen Oksit isimli bir bileşiğe ait pik alanında artış olduğu görülmüştür [25]. Bu bileşik limonenin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkan en temel ürünlerdendir.



Şekil 4.28: Portakal aromasının 4.hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.

Oksidasyonun hem duyuşal testlerde hem de kimyasal analiz sonuçlarında ciddi oranlarda görüldüğü 4.haftada ise kromatogramdaki baseline yükselmesine bağılı gürültünün 40. dakikalara kadar geldiğini görmekteyiz. Yine diğer haftalardan bağımsız olmamak üzere bu hafta görülen oksidasyonlara örnek verecek olursak özellikle 53.dakikalardan sonra 54, 55, 63 ve 71.dakikalardaki pik alanlarında artışlar gözlemlenmiştir. Pik alanlarında artış olanlara bakıldığında 23 ve 24 numaralı dekstro karvon [25] ve trans karveol [25], 25 numaralı pikin olduğu 3,7-dimetil-1,5-oktadien-3,7-diol [62] ve 26 numaralı pikin olduğu 6-metil-5-hepten-2-one [22] bileşikleri karşımıza çıkan onlarca oksidasyon ürünü bileşikten sadece dört tanesidir. Bunun yanında incelenen standartların dışında aromanın içerisinde bulunan 24.dakikada kolonda alıkonulan aldehit C-8 (oktanal), 29. dakikada karşılaştığımız aldehit C-9 (nonanal) ve 33. dakikada karşılaştığımız aldehit C-10 (dekanal) pik alanlarında ciddi oranda azalma görülen bileşiklerden sadece bazılarıdır. Bunların yanında oktanoik asit, dekanolik asit, nonanoik asit gibi bileşiklerin oluştuğu gözlemlenmiştir. Ancak bunlar daha önceden de bahsedildiği gibi literatürde belirtilen terpenlerin oksidasyon ürünlerinden olmadıklarından dikkate alınmamışlardır.



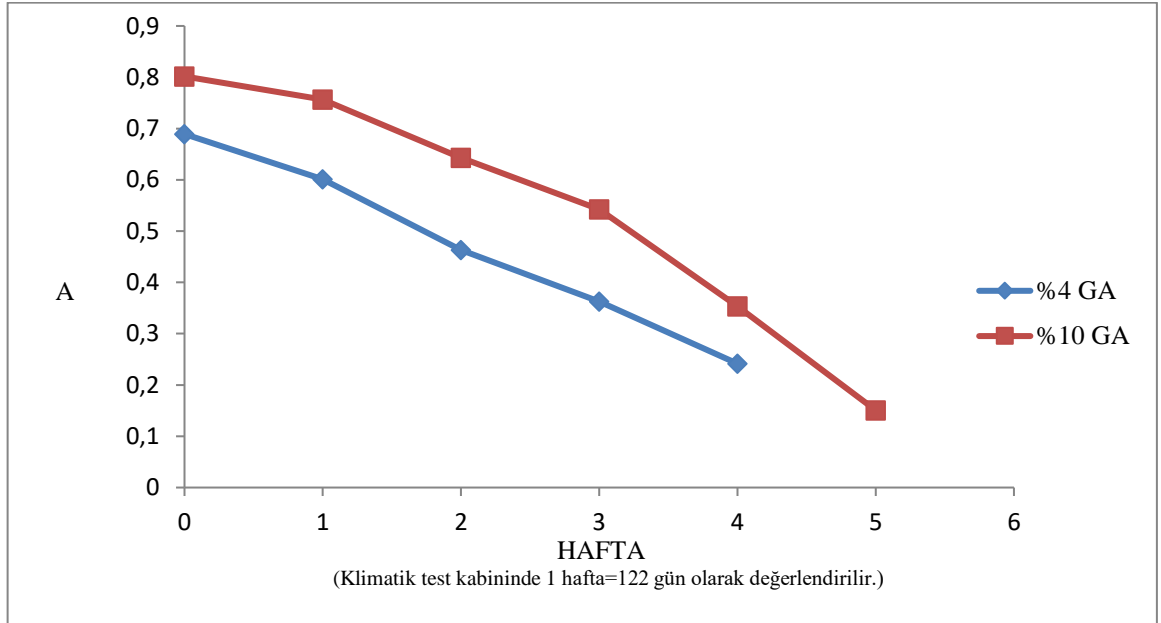
Şekil 4.29 : Portakal aromasının 5.hafta sonunda ki GC-MS kromatogramı.

5.haftaya gelindiğinde artık tamamen bozunmuş, seçimliliğin çok az, gürültünün çok fazla olduğu bir kromatogram elde edilmiştir. Bu hafta örneklerin hepsi tamamen okside olmuş ve test kabiniinde ki deneme sonlandırılmıştır. Ortaya çıkan sayısız oksidasyon ürünü ve bileşikden özellikle bizim literatürde karşılaştığımız ve bu kromatogramların raporlarında gözlemlediğimiz ürünlerden bazıları ise şunlardır: limonen bileşiğinin oksidasyon ürünlerinden izopropenil-6-okso-heptanal [19], 3-asetil-6-okso-heptanoik asit [24] ve 4-asetil-1-metil siklohekzen [19], mirsen bileşiği için aseton [23], sabinen bileşiği için 5-izopropil-bisiklo-hekzan-2-one [27] tespit edilmiştir. Belirlenen bu oksidasyon ürünlerinin dışında gözlemleyebildiğimiz diğer oksidasyon ürünleri; dipenten oksit, limonen epoksit, 1-metil-2-metilen-4-izopropenil, 1-trans-izopropenil-4-metil-2-metilen, oksepin (2,7-dimetil), oktanoik asit metil ester, fosfonokloridus asit, para menta-1,8-dien-4-hidroperoksitdir. Kromatogramdaki gürültü çok fazla olduğu için bu ürünler şekil üzerinde gösterilememiştir.

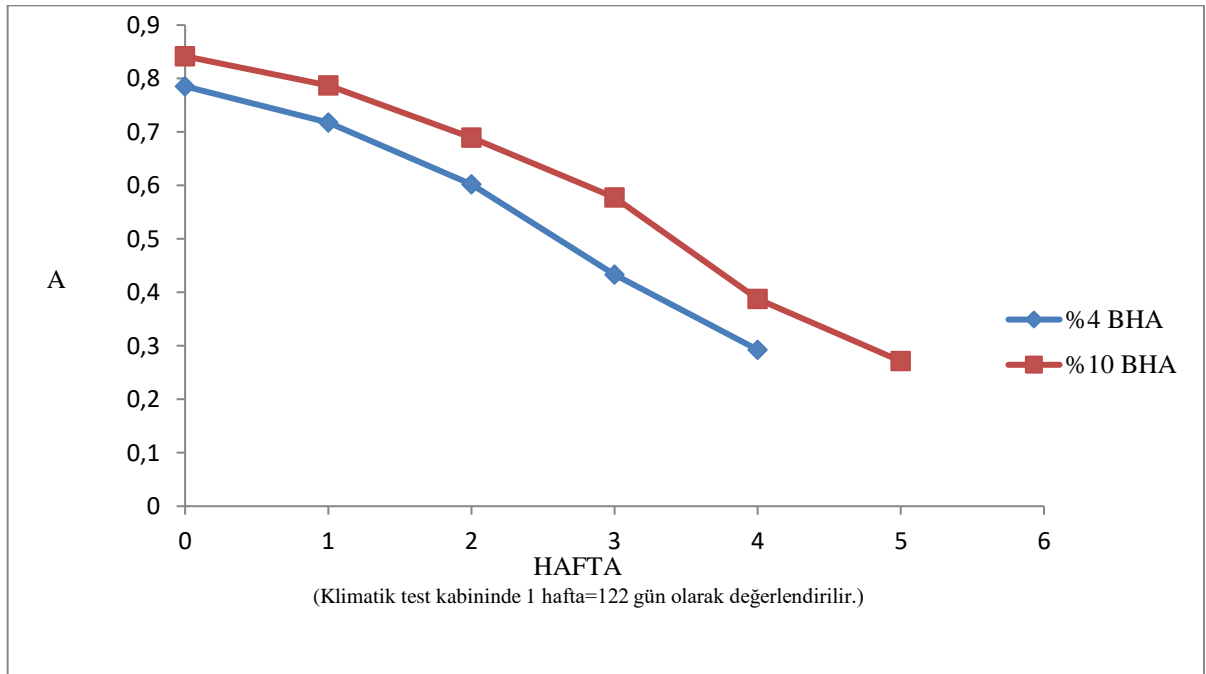
4.9. Portakal Aromasının CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi

CUPRAC antioksidan kapasite tayin yönteminde klimatik test kabiniine konulan portakal aromalarının %4 ve %10'luk BHA, GA, SA ve AP katkıli hallerinin haftalara göre absorbanlarında ki değişimlerle antioksidan kapasiteleri yorumlanmıştır.

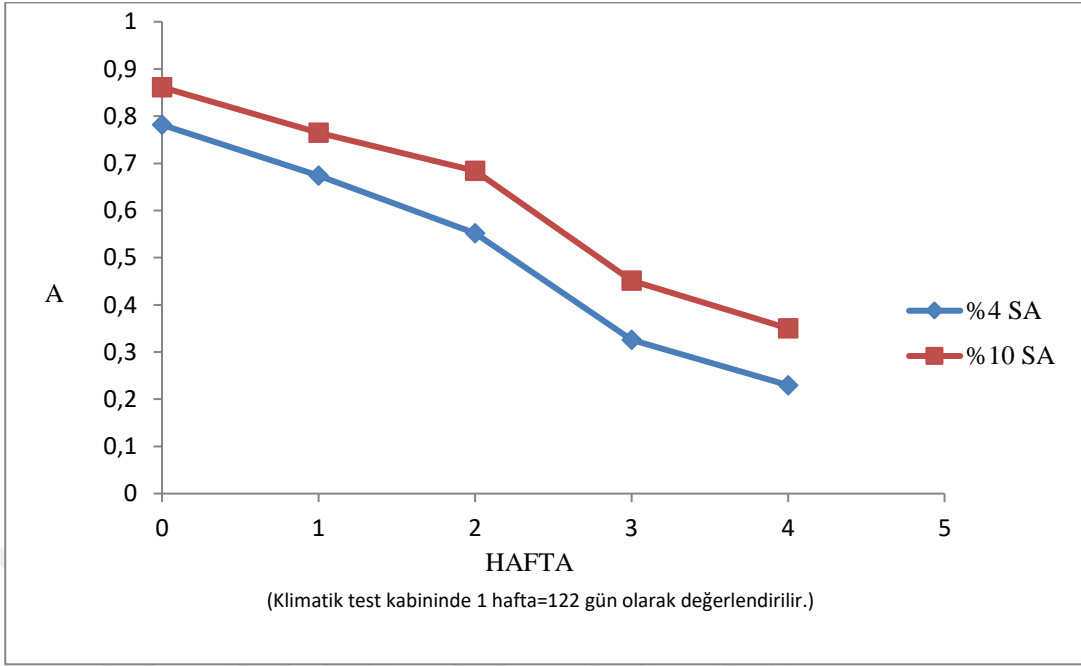
Bu ölçümler sonucunda elde edilen grafikler şu şekildedir:



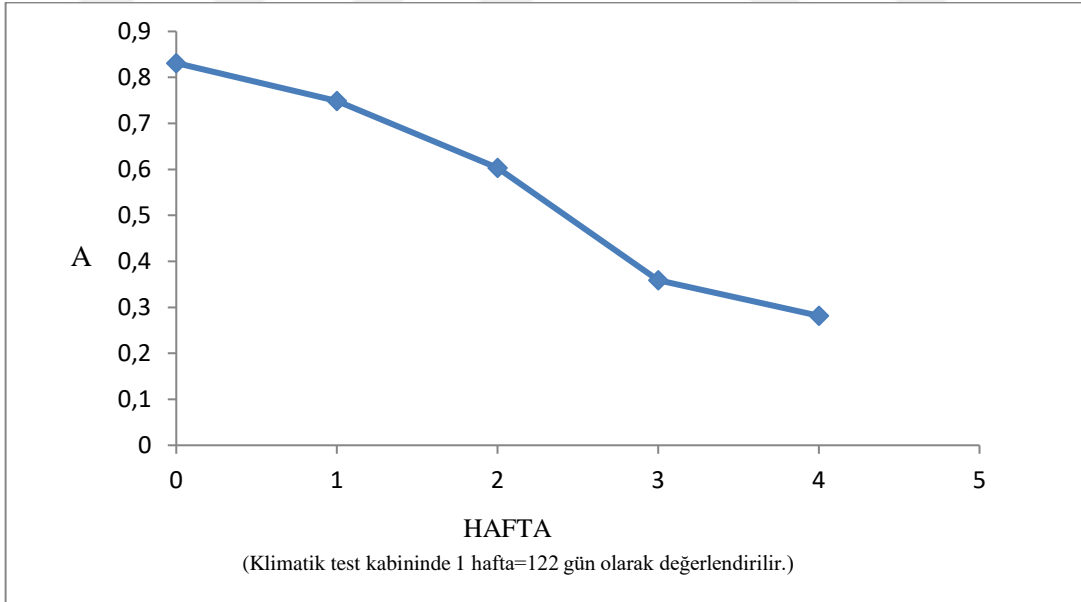
Şekil 4.30 : GA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.



Şekil 4.31: BHA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.



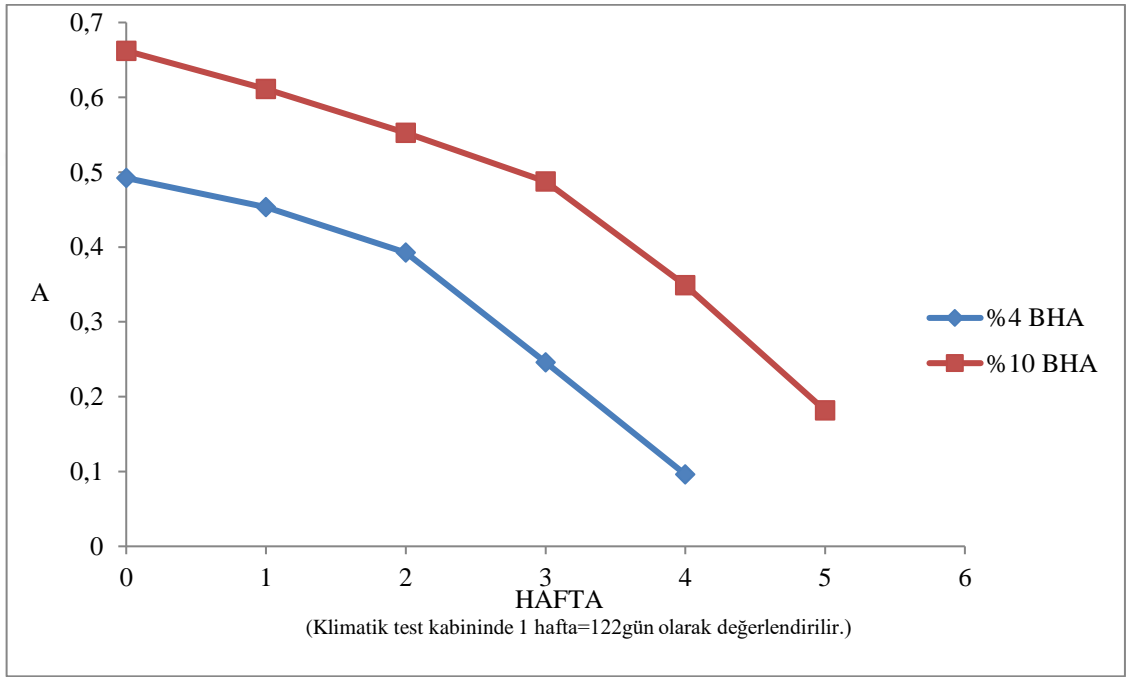
Şekil 4.32: SA katkılı portakal aromasının %4 ve %10'luk konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.



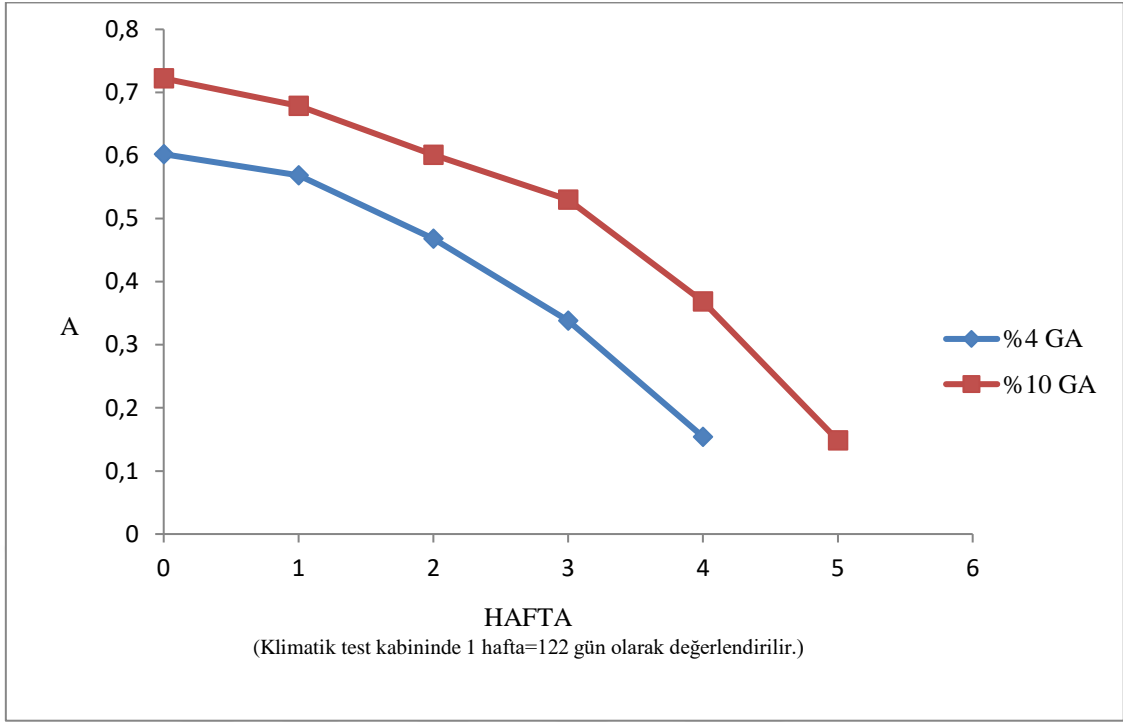
Şekil 4.33 : AP katkılı portakal aromasının %4 lük konsantrasyonlarının haftalara göre değişen absorbanları.

4.10. Portakal Aromasının DPPH Yöntemi ile Antioksidan Süpürme Kapasitesinin İncelenmesi

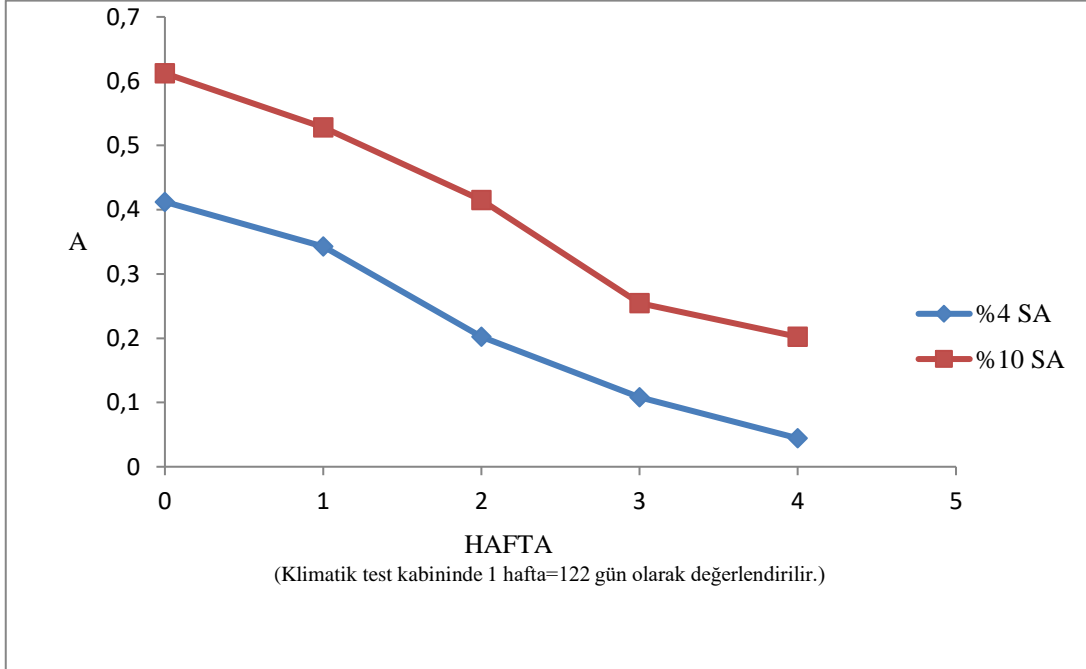
Bu yöntemde iklimatik test kabininde bulunan %4 ve %10'luk koruyucu içeren portakal aroması örneklerinden alınan numunelerin antioksidan süpürme aktiviteleri DPPH yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu sonuçlar eşliğinde aşağıdaki Absorbans/Hafta grafikleri oluşturuldu.



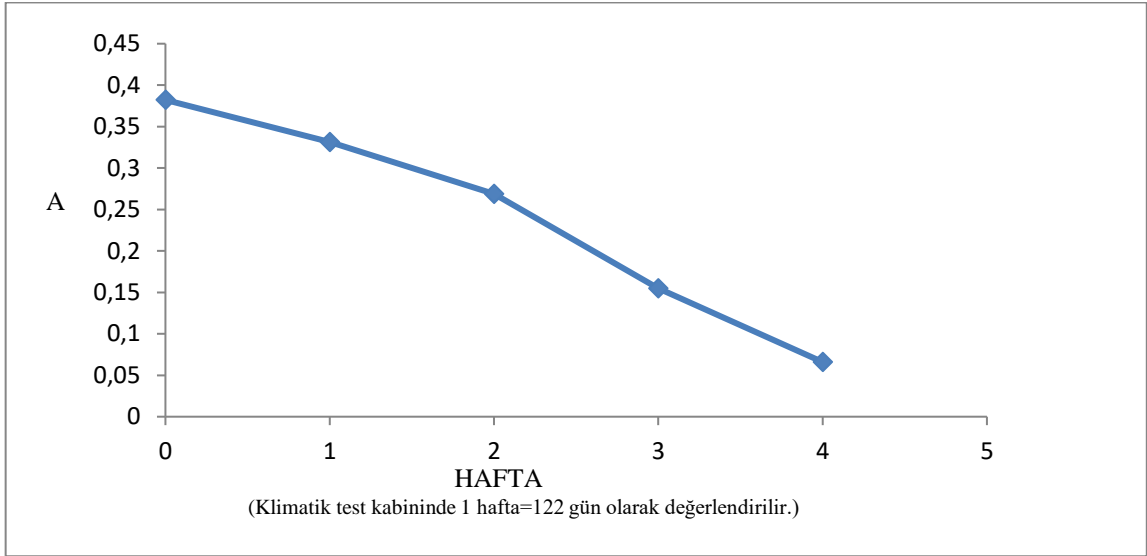
Şekil 4.34: %4 ve %10'luk BHA katkılı portakal aromalarının haftalara göre değişen absorbans değerleri.



Şekil 4.35: %4 ve %10'luk GA katkıli portakal aromalarının haftalara göre değişen absorbans değerleri.



Şekil 4.36: %4 ve %10'luk SA katkıli portakal aromalarının haftalara göre değişen absorbans değerleri.



Şekil 4.37: %4'lük AP katkıli portakal aromasının haftalara göre değişen absorbans değerleri.

4.11.Klimatik Test Kabini Kullanılarak Portakal Aromasının Yaşlandırılması ve Bunun Sonucunda Gerçekleştirilen Duyusal Aplikasyon Testleri

Klimatik test kabiniinde bekletilen katkıli ve katkısiz aromalar belirli zaman aralıklarıyla çıkartılarak son ürün haline getirildiler. Aromanın bulunduğu sıvı karışımlar tat, koku ve rengin incelenmesi için panelistlere sunuldu. Elde edilen veriler toparlanarak haftalara göre aşağıdaki tablolar oluşturuldu. Bu tablolarda K: Koku, T: Tat, R: Rengi temsil etmektedir. Her tabloda örnekler kendi kategorilerinde 1'den 4'e kadar panelistlerce bu kriterlere göre sınıflandırılmışlardır. 1 panelistlerce en çok uygun bulunan örneği 4 ise en az uygun bulunanı ifade etmektedir.Tablodaki değerlendirmeler yapılırken % olarak aynı olan koruyucular arasındaki sonuçlar dikkate alınmalıdır. Her bir sekmede 5 farklı panelist tarafından değerlendirilen örneklerin sonuçlarının ortalamaları bulunmaktadır.

Tablo 4.4: Test kabiniinin dışında geçen 12. Ay'a eşdeğer sürede klimatik test kabiniinden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.

12.AY	%4 BHA	%4 SA	%4 GA	%4 AP	%10 BHA	%10 SA	%10 GA
Koku Skorlarının Ortalaması	K:1	K:3	K:2	K:4	K:2	K:3	K:1

Tablo 4.4 (devamı): Test kabini dışında geçen 12. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabini içinde alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.

Tat Skorlarının Ortalaması	T:1	T:2	T:3	T:4	T:1	T:3	T:2
Renk Değerlendirmelerinin Ortalaması	R:AYNI	R:AÇIK	R:KOYU	R:AÇIK	R:AYNI	R:AYNI	R:KOYU

Katkısız portakal aroması örneğiyle ilgili genel değerlendirme renginin oldukça açıldığı, tadının yavaş yavaş portakal kabuğu şeklinde gelmeye başladığı ve kokusunun da okside olmaya başladığı yönünde olmuştur.

Katkılı örneklerle ilgili genel değerlendirme ise; panelistlerin bu sürede yapmış olduğu genel yorumlara göre %4 lük koruyucu konsantrasyonlu örneklerin %10'luklara göre daha zayıf koktuğu ve tat olarak bozulma olmasa da zayıflama olduğu yönündedir. Gallik asit için özellikle ekstra keskin bir tat geldiği söylenmektedir. Genel anlamda BHA'lı örneğin bozulmayan örneğe en yakın olduğu söylenmiştir.

Tablo 4.5: Test kabini dışında geçen 16. Ay'a eşdeğer sürede iklimik test kabini içinde alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.

16.AY	%4 BHA	%4 SA	%4 GA	%4 AP	%10 BHA	%10 SA	%10 GA
Koku Skorlarının Ortalaması	K:1	K:4	K:2	K:3	K:1	K:3	K:2
Tat Skorlarının Ortalaması	T:1	T:4	T:2	T:3	T:1	T:3	T:2
Renk Değerlendirmelerinin Ortalaması	R:AÇIK	R:AÇIK	R:KOYU	R:AÇIK	R:AYNI	R:AYNI	R:KOYU

Katkısız örnekle ilgili genel değerlendirme örneğın gerek tat olarak gerekse koku ve renk olarak tamamen bozulduğu ve oksidasyonu ifade eden koku karakteristiğine ve bozuk bir portakal tadına sahip olduğu yönünde olmuştur. Diğer katkılı örneklerle ilgili genel değerlendirme ise panelistlerin geneli %4 lük konsantrasyonlarda tat değişimleri rastlandığını söylemişlerdir. Özellikle gallik asit, salisilik asit ve askorbil palmitat örneklerinin portakal kabuğu tadında (daha acı karakterde), BHA örneğinin ise ürünün orjinaline en yakın örnek olduğunu söylemişlerdir. Bunun yanında %10'luk konsantrasyonlarda şu an için çok fazla fark olmamakla birlikte BHA ve gallik asit örneklerinin birbirine çok yakın olduğu söylenmiştir.

Tablo 4.6: Test kabininin dışında geçen 24. Ay'a eşdeğer sürede klimatik test kabininden alınan örneklerin aplikasyon sonuçları ve değerlendirmeleri.

24 AY	%4 BHA	%4 SA	%4 GA	%4 AP	%10 BHA	%10 SA	%10 GA
Koku Skorlarının Ortalaması	K:-	K:-	K:-	K:-	K:1	K:3	K:2
Tat Skorlarının Ortalaması	T:-	T:-	T:-	T:-	T:1	T:3	T:2
Renk Değerlendirmelerinin Ortalaması	R:-	R:-	R:-	R:-	R:AÇIK	R:AÇIK	R:KOYU

Katkısız aroma örneği için yapılan genel değerlendirme daha önceki haftalarda da olduğu gibi zaten bozulmakta olan ürünün karakterini tamamen kaybettiği yönünde olmuştur. Gerek tat gerekse koku olarak tamamen okside olmuştur.

Katkılı örnekler için ise yapılan değerlendirmeler; bu sürede %4'lük antioksidan katkılı aroma bileşenleri yapılarının çok bozulduğu görüldüğü için değerlendirmeye alınmamışlardır. %10'luk konsantrasyonlarda en uygun örnek olarak BHA algılanmakla birlikte, gallik asidin ağızda bıraktığı keskin tat dışında kuvvet ve karakter olarak farklı olmadığı, salisilik asidin ise yavaş yavaş ürün karakterinin kaybederek okside olmaya başladığı yorumları gelmiştir.

5.haftaya yani kabinde ki 28.aya denk gelen süreye gelindiğinde ise örneklerin geri kalanında da tamamen oksidasyonun başladığı panelistlerce gözlemlenmiş ve mevcut deney sonlandırılmıştır. Bunun sonucunda elde edilen son verilere göre tüm %10'luk koruyuculu örneklerdeki bozulmanın görülmesinin yanı sıra gallik asidin kuvvet olarak bir eksiğinin olmadığı ancak tat karakterinin oksidasyona uğramaya başladığı, salisilik asidin ise tamamen zayıfladığı ve okside bir tat bırakmaya başladığı söylenmiştir. Örneklerde en uygun antioksidanın BHA olduğu dile getirilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Portakal aromasının oksidasyon mekanizmasını anlayabilmek için öncelikle içerisinde terpen içeriği yüksek portakal yağının ve bu yağın içerisindeki yüzdece fazla olan terpenlerin belirlenerek oksidasyonları incelendi. Bu bağlamda öncelikle portakal yağının ve içeriğinde bulunan terpenlerin oksidasyon ürünleri GC-MS (Tablo 3.2) analizleriyle belirlenmiş olup, antioksidan kapasite analizleri ve radikal süpürme aktiviteleri CUPRAC [60] ve DPPH [61] yöntemleriyle incelendi.

Bu aşamada ilk olarak dört farklı terpen bileşiğinin (limonen, alfa pinen, sabinen, mirsen) oksidasyon ürünleri GC-MS cihazı ile tespit edildi. Bu yapılırken belirlenen standartlar iklimatik test kabiniinde 45°C de %0 nem oranında UV ışık altında yaşlandırılarak oksidasyona uğramaları sağlandı. Bunun sonucunda Limonen için limonen oksit [25], dekstro karveol [25] ve trans karveol [25] bileşiklerinin oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.3). Alfa pinen için pinen oksit ve pino karveol [19] bileşiklerinin oluştuğu görüldü (Şekil 4.5). Sabinen için pinokarveol, sabinol ve sabinil asetat [28] bileşiklerinin oluştuğu görüldü (Şekil 4.7). Bunun ardından limonen, alfa pinen, sabinen ve mirsen bileşenlerinin GC-MS % pik alanları incelenmiş olup bu pik alanlarının yüzdelerinde meydana gelen değişim incelendi (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11).

Pik alanlarının ardından 0.1M, 0.2M, 0.3M ve 0.4 M 'lık standart limonen, alfa pinen, sabinen ve mirsen bileşiklerinin kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Daha sonra eldeki kromatogramlar (Şekil 4.3, Şekil 4.5) kullanılarak molaritelerde meydana gelen azalmalar incelendi ve bunun pik alanları ile doğru orantılı olduğu tespit edildi (Tablo 4.2). Daha sonra bu bileşiklerin CUPRAC ve DPPH yöntemleriyle analizleri yapıldığında ise absorbanlarında hafta hafta ciddi düşüşler olduğu görüldü ve buradan yola çıkarak bu bileşiklerin içinde bulunduğu portakal aromasının BHA, GA, SA ve AP ilave ederek bu bozunma hızlarının yavaşlatılması hedeflendi.

Bu tezde yapılan çalışmalar sonucunda kolay okside olabilen aroma çeşitlerinden portakal aromasına ait bir örnek üzerinde dört farklı antioksidan türünün aromanın raf ömrünü ne kadar süre uzatabileceği CUPRAC [60], DPPH [61] ve GC-MS [63] yöntemleri karşılaştırmalı olarak kullanılarak incelendi. Bu çalışmayla aromaların toplam antioksidan

kapasite / aktivite değerlerindeki değişimler incelenerek yaygın olarak kullanılan sentetik koruyucu olan BHA'ya [40] alternatif olabilecek koruyucu türleri denendi. Bu yöntemler kullanılarak aromaların raf ömürleri üzerindeki fiziksel değişimlere ait parametrelerin dışında kimyasal değişimleri de incelenerek farklı türdeki koruyucuların aromaların raf ömrüne etkisi araştırıldı.

Koruyucu göreviyle halihazırda gıdaların içerisinde birden fazla madde kullanılabilmeyle birlikte bugün aroma sektöründe BHA en yaygın olarak kullanılan sentetik koruyucuların başında gelir. Bu çalışmada BHA' nın yanında GA, SA ve AP 'ın raf ömürlerine ne kadar etki edeceği ve BHA' ya alternatif olma konusunda ne ölçüde başarılı olabilecekleri de incelendi.

Kullanılan koruyucular Türk Gıda Kodeksi'nde ki sınır değerler göz önünde bulundurularak aromalara ilave edilmiştir ve ayrıca çözünürlük sorunlarından dolayı askorпил palmitat katkısının %10'luk konsantrasyonuyla çalışma yapılamamıştır. Değerlendirilen katkıların etkilerini eşit şartlarda karşılaştırabilmek için aynı oranda konsantrasyonlar kullanılmıştır. Sınırı bulunmayan antioksidanların sınırlı antioksidanlarla aynı konsantrasyonlarda bulunmasının sebebi budur.

Örneklerin üzerinde uygulanan gerek CUPRAC [60], DPPH [61] yöntemlerinin sonuçları, gerek GC-MS analizi sonucunda elde edilen veriler ve gerekse yapılan tadım ve diğer aplikasyon testleri sonuçlarına göre iklimik test kabininin 1. haftasından çıkan numunelerde özellikle BHA ve GA koruyucularının diğer türlere göre daha etkin oldukları görülmüştür. Ancak tat olarak henüz hiçbir örnekte bir uygunsuzluk tespit edilmemekle birlikte (Tablo 4.4) bu haftada herhangi bir katkı uygulanmayan örneğin bozulmaya başladığı, tadı ve renginde değişimler başladığı tespit edilmiştir.

Bu zamanda alınan örneklerin CUPRAC ve DPPH yöntemleri ile analizleri yapıldığında ise %4'lük konsantrasyonlarında meydğöz önünde bana gelen absorbans düşüşünün %10'luk konsantrasyonlara göre daha keskin olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte katkısız portakal aromasında da meydana gelen absorbans düşüşünün %4 lük konsantrasyonlara yakın olmakla birlikte daha keskin olduğu görülmektedir (Şekil 4.34).

GC-MS analizine bakıldığında ise uygulanan metot sonucunda (Tablo 3.3) elde edilen kromatogramlarda bu zamanda elde edilen verilerde oksidasyonla ilişkilendirilebilecek piklerin ve baseline da yükselmenin en düşük düzeyde olduğu görülmektedir (Şekil 4.25).

Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında özellikle BHA ve GA özelinde antioksidan özelliklerinin yanında antimikrobiyal özellikte oldukları da tespit edilmiştir [64]. Ayrıca bu bileşiklerden gallik asidin doğal olarak bazı gıda bileşenlerinin içinde bulunduğu ve bu ürünlerde koruyucu etki yaptığı da bilinmektedir [65, 66, 67].

Sentetik antioksidanlar ucuz olmaları, yüksek düzeyde stabilite ve güçlü antioksidan aktivite göstermelerinden dolayı tercih edilmektedirler [68]. Ancak, son yıllarda bunların kızartılmış ürünlerde tam etki göstermediği, hoş olmayan tat ve kokulara sebep olduğu ve en önemlisi kanserli hücre oluşumunu uyararak insan sağlığını olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Bu yüzden bazı ülkelerde kullanımı sınırlanırken bazılarında yasaklanmıştır [69].

Daha önce yapılan birçok çalışmada BHA'nın antioksidan aktiviteleri BHT, TBHQ, α tokoferol gibi antioksidan karakterli bileşiklerle kıyaslanmıştır [70]. Ancak gallik asit, salisilik asit özelinde bakıldığında bu tarz bir karşılaştırma ile ilgili çok az literatür çalışması bulunmaktadır. Gallik asit temelli çalışmaların çoğu yine sentetik türevleri olan propil gallat, oktil gallat ve dodesil gallatların incelenmesi şeklinde olmuştur [71, 72].

Gallik asidin antioksidan etkinliği üzerine yapılan birçok çalışmada diğer fenolik türlerle kıyaslandığında öne çıkan bir etkinliğinin olduğu görülmüştür. Yine daha önce yapılmış birçok çalışmada gallik asit gibi doğal bir antioksidanın BHA, BHT gibi sentetik antioksidanlarla kıyaslandığında daha etkin koruma yaptığına dair bulgulara da rastlanılmıştır. Bunun yanında askorbik asidin bunların yanında daha az etkin olduğu görülmüştür [73]. Bu veriler mevcut çalışmamızı da doğrular niteliktedir.

Raf ömrü olarak 16 ve 17 aylara tekabül eden zamanlara gelindiğinde BHA, GA, SA ve AP örneklerinin %4'lük konsantrasyonlarının okside olmaya başladığı görülmüştür. Bu durum CUPRAC ve DPPH sonuçlarında ki keskin bir absorbans düşüşüyle de (Şekil 4.30) tespit edilmekle birlikte GC-MS sonuçlarında da kromatogramda ki oksidasyon ürünlerindeki artış olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 4.26). Esasen CUPRAC ve DPPH yöntemlerindeki keskin absorbans düşüklüğünün sebebinin 4-asetil-1-metilsikloheksen [19], 5-izopropil-bisiklo[3.1.0]hekzan-2-one [27], limonen oksit [25] gibi oksidasyon ürünlerinde ki artıştan ileri geldiği görüldü.

Dört koruyucu bileşen arasında aplikasyon testleri sonucunda sıralama yapılacak olursa sırasıyla korumanın en etkin olduğu bileşenler BHA, GA, SA ve AP olarak görülmektedir

(Tablo 4.5). Ancak %4'lük konsantrasyonlar arasında BHA için maksimum 17. ayda oksidasyonun tamamlandığını söylememiz mümkündür.

Gallik asit özelinde konuya bakacak olursak %4'lük konsantrasyonu BHA gibi 16 ve 17. aylara kadar koruma sağlamaktadır. Ancak gallik asidin karakterinden dolayı örneklerde rengi bir miktar koyulaştırdığı ve tadı biraz daha keskin hale getirdiği görülmüştür (Tablo 4.5). Deneysel veriler anlamında ise BHA ya en yakın sonuçlar elde edilen antioksidan çeşidi olarak karşımıza GA çıkmaktadır.

GC-MS sonuçlarına bakıldığında 3. ve 4. haftalardan itibaren alınan örneklerde başta limonen oksit olmak üzere [25], pinen oksit [19], pino karveol [25], dekstro karvon [25], 6-metil-5-hepten-2-one [22] vb. limonenin, alfa pinenin, sabinen ve mirsenin oksidasyon ürünlerinden olan bileşiklerin piklerinin ortaya çıktığı ve pik alanlarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum özellikle CUPRAC ve DPPH yöntemlerinde Şekil 4.32, Şekil 4.36'da görüleceği üzere bu haftalarda alınan örnek absorbanlarında keskin bir düşüş olarak karşımıza çıkmıştır. %10'luk konsantrasyonlar ayrı olarak incelendiğinde ise salisilik asidin 18. aydan itibaren bozulmaya başladığı GA ve BHA örneklerinin ise 20 ayın üzerine çıktıkları görülmüştür (Tablo 4.6).

GA ve BHA örneklerinin %10'luk konsantrasyonlarının 20 ile 24 ay arasında koruma yaptıkları ve bu süre sonucunda oksidasyonun tamamen gerçekleştiği görülmüştür (Şekil 4.29), (Tablo 4.6). Tüm bu sonuçlar CUPRAC, DPPH yöntemleri ve bunun yanında GC-MS analizleri ve tadım uygulamaları ile de doğrulanmıştır. Yapılan uygulamalar değerlendirilirken 5 farklı panelistin katkılı aromalar üzerine verdikleri skorların ortalaması alınarak sonuçlar kayda geçirildi.

Bu çalışmaların neticesinde panelistlerce yapılan testler göstermektedir ki %4 lük BHA, GA, AP ve SA örnekleri normal raf ömrü 12 ay olan portakal aromasını 15 ila 17 ay arasında değişen sürelerde koruyabildiği, %10'luk BHA, GA ve SA örneklerininse aynı aromanın raf ömrünü 24 ile 26 aya kadar çıkarabildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Bu sonuçlara göre özellikle sağlığa zararlı etkileri birçok literatür çalışmasında belirtilen BHA'nın önümüzdeki senelerde muhtemel bir yasaklanma durumunda alternatifi olarak, belirlenen oranlarda GA antioksidanının kullanımının bu alanda alternatif olabileceği bu çalışmanın sonucunda tespit edilmiştir. Bunların yanında aynı etkiyi göstermese de SA ve AP

özellikle daha düşük kapsamlı raf ömrü hedeflerinin olduğu çalışmalarda çözüm olarak kullanılabilir. |



KAYNAKLAR

- [1]. Bauer, K., Garbe, D., Surburg, H., 2008, Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses, 3rd Completely Revised Edition, New York, ISBN: 978-3-527-61237-6.
- [2]. Choi, N.E., Han, J.H., 2014, Technological Advancements Brought about by the Love of Flavors, How Flavour Works: The Science of Taste and Aroma, In: Choi, N.E, Chapter 6, John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, UK, ISBN: 978-1-118-86547-7, 112-113.
- [3]. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği Resmi Gazete: 30.06.2013. [4]. Lawrence, L., Buckholz, JR., Daun, H., 1978, Instrumental And Sensory Characteristics Of Orange Oil Oxidation, *Journal of Food Science*, 43(2), 535-543.
- [4]. Lawrence, L., Buckholz, JR., Daun, H., 1978, Instrumental And Sensory Characteristics Of Orange Oil Oxidation, *Journal of Food Science*, 43(2), 535-543.
- [5]. <http://www.food-info.net/tr/qa/qa-fi69.htm> [Ziyaret tarihi: 1 Haziran 2018]
- [6]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMHT0025082/> [Ziyaret tarihi: 3 Haziran 2018]
- [7]. Shinohara, K., Doi, H., Kumagai, C., Sawano, E., Tarumi, W., 2017, Effects of essential oil exposure on salivary estrogen concentration in perimenopausal women, *Neuro Endocrinol Letters*, 37(8), 567-572.
- [8]. Kuriyama, H., Watanabe, S., Nakaya, T., Shigemori, I., Kita, M., Yoshida, N., Masaki, D., Tadai, T., Ozasa, K., Fukui, K., Imanishi, J., 2005, Immunological and Psychological Benefits of Aromatherapy Massage, *Evid Based Complement Alternative Medicine*, 2(2), 179-184.
- [9]. Hu, M.L., Rayner, C.K., Wu, K.L., Chuah, S.K., Tai, W.C., Chou, Y.P., Chiu, Y.C., Chiu, K.W., Hu, T.H., 2011, Effect of ginger on gastric motility and symptoms of functional dyspepsia, *World J Gastroenterol*, 17(1), 105-10.
- [10]. Meamarbashi, A., Rajabi, A., 2013, The effects of peppermint on exercise performance, *Journal of International Society of Sports Nutrition*, 10(1), 15.
- [11]. Ayaz, M., Sadiq, A., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Ahmed, J., 2017, Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants, *Front Aging Neuroscience*, 9, 168.
- [12]. Barati, F., Nasiri, A., Akbari, N., Sharifzadeh, G., 2016, The Effect of Aromatherapy on Anxiety in Patients, *Nephro-Urology Monthly*, 8(5), e38347.

- [13]. Lakhan, E.S., Sheaffer, H., Tepper, D., 2016, The Effectiveness of Aromatherapy in Reducing Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Pain Research and Treatment*, 8158693, 13.
- [14]. Orchard, A., Vuuren, S.V., 2017, Commercial Essential Oils as Potential Antimicrobials to Treat Skin Diseases, *Evid Based Complement Alternative Medicine*, 2017:4517971, doi: 10.1155/2017/4517971.
- [15]. Guan, Y.S., He, Q., 2015, Plants Consumption and Liver Health, *Evid Based Complement Alternative Medicine*, 824185, 10.
- [16]. Sasannejad, P., Saeedi, M., Shoeibi, A., Gorji, A., Abbasi, M., Foroughipour, M., 2012, Lavender essential oil in the treatment of migraine headache: a placebo-controlled clinical trial, *European Neurology*, 67(5), 288-91.
- [17]. Lockwood, G.B., 2001, Techniques for gas chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices, *Journal of Chromatography A*, 936(2001), 23-31.
- [18]. Glasius, M., Calogirou, A., Jensen, N.R., Hjorth, J., Nielsen, C.J., 1997, Kinetic Study of Gas-Phase Reactions of Pinonaldehit and Structurally Related Compounds, *International Journal of Chemical Kinetics*, 29(7), 527-533.
- [19]. Calogirou, A., Larsen, B.R., Kotzias, D., 1999, Gas-phase terpene oxidation products: a review, *Atmospheric Environment*, 33(9), 1423-1439.
- [20]. Pandis, S.N., Paulson, S.E., Seinfeld, J.H., Flagan, R.C., 1991, Aerosol formation in the photo-oxidation of isoprene and b-pinen, *Atmospheric Environment*, 25A, 997-1007.
- [21]. Nakazaki, M., Naemura, K., Kadowaki, H., 1978, Stereochemistry of the Wagner-Meerwein rearrangement of (-)-endo- and (+)-exo-5-bisiklo [2.2.1] heptene-2-carboxylic asids, *Journal of Organic Chemistry*, 43(26), 4947-4951.
- [22]. Shu, Y., Kwok, E.S.C., Tuazon, E.C., Atkinson, R., Arey, J., 1997, Products of the Gas-Phase Reactions of Linalol with OH Radicals, NO₃-, and O₃, *Environmental Science and Technology*, 31(3), 896-904.
- [23]. Reissell, A., Harry, C., Aschmann S.M., Atkinson, R., Arey, J., 1999, Formation of acetone from the OH radical and O₃ initiated reactions of a series of monoterpenes, *Journal of Geophysical Research*, 104(D11), 13869-13879.
- [24]. Larsen, B.R., Lahaniati, M., Calogirou, A., Kotzias, D., 1998, Atmospheric oxidation products of terpenes: A new nomenclature, *Chemosphere*, 37(6), 1207-1220.
- [25]. Karlberg, A.T., Magnusson, K., Nilsson, U., 1992, Air oxidation of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens, *Contact Dermatitis: Environmental and Occupational Dermatitis*, 26(5), 332-340.
- [26]. Jang, M., Kamens, R.M., 1999, Newly characterized products and composition of secondary aerosols from the reaction of α -pinen with ozone, *Atmospheric Environment*, 33(3), 459-474.

- [27]. Hakola, H., Arey, J., Aschmann, S.M., Atkinson, R., 1994, Product formation from the gas-phase reactions of OH radicals and O₃ with a series of monoterpenes, *Journal of Atmospheric Chemistry*, 18(1), 75-102.
- [28]. Karp, F., Croteau, R., 1982, Evidence that sabinene is an essential precursor of C(3)-oxygenated thujane monoterpenes, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 216(2), 616-624.
- [29]. Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G., 2000, GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48(6), 2576-181.
- [30]. Analysis of Terpene Hydrocarbons and Related Compounds by Gas Chromatography Zubyk, W.J., Conner, A.Z., 1960, Analysis of Terpene Hydrocarbons and Related Compounds by Gas Chromatography, *Analytical Chemistry*, 32(8), 912-917.
- [31]. Klouwen, M.H., Heide, R.T., 1962, Studies on terpenes: I. A systematic analysis of monoterpene hydrocarbons by gas-liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 7, 297-310.
- [32]. Katague, D.B., Kirch, E.R., 1963, Analysis of the Volatile Components of Ylang-Ylang Oil by Gas Chromatography, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(3), 252-258.
- [33]. Linskens, H.F., Tracey, M.V., 1962, *Modern Methods of Plant Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, ISBN:978-3-642-45995-5.
- [34]. Littlewood, A.B., 1970, *Gas Chromatography: Principles, Techniques, and Applications*, Academic Press, New York. Stanley, R.G., Mirov, N.T., 1958, The Pine Tree, *Division of Agricultural and Food Chemistry*,
- [35]. Stanley, R.G., Mirov, N.T., 1958, The Pine Tree, *Division of Agricultural and Food Chemistry*, 16, 133.
- [36]. Groth, A.B., Papperstidn, S., 1958, The chemistry of the natural order cupressales—XXI: Cuparene and cuparenic acid, two sesquiterpenic compounds with a new carbon skeleton, *Tetrahedron*, 4(4), 361-368.
- [37]. Dugo, G., Verzera, A., D'Alcontres, I.S., Cotroneo, A., Ficarra, R., 1993, On the genuineness of citrus essential oils. Part XLI. Italian bitter orange essential oil: Composition and detection of contamination and additions of oils and terpenes of sweet orange and of lemon, *Flavour and Fragrance Journal*, 8(1), 25-33.
- [38]. Hudson, B.J., 1990, *Food Antioxidants*, Elsevier Science, USA.
- [39]. Diplock, A.T., 1994, *Antioxidants and Free Radical Scavengers*, New Comprehensive Biochemistry, In: Catherine, A.R.E., Roy E.B., Chapter 4, Elsevier, 122.
- [40]. Keskin, H., Erkmen, G., 1987, *Besin Kimyası*, Guryay Matbaacılık, İstanbul.

- [41]. Cadenas, E., Packer, L., 2002, *Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York, ISBN:0-8247-0547-5.
- [42]. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- [43]. Amanullah M.M., Sekar S., Vincent S., 2010, Plant growth substances in crop production, *Asian Journal of Plant Science*, 9(4), 215–222.
- [44]. Arif, T., 2015, Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 8, 455-461.
- [45]. Khan, N.S., Ahmad, A., Hadi, S.M., 2000, Anti-oxidant, pro-oxidant properties of tannic acid and its binding to DNA, *Chem.-Biol. Interact.*, 125(3), 177–189.
- [46]. Veluri, R., Singh, R.P., Liu, Z., Thompson, J.A., Agarwal, R., Agarwal, C., 2006, Fractionation of grape seed extract and identification of gallic acid as one of the major active constituents causing growth inhibition and apoptotic death of DU145 human prostate carcinoma cells, *Carcinogenesis*, 27(7), 1445–1453.
- [47]. Werner, I., Bacher, A., Eisenreich, W., 1997, Formation of Galllic Acid in LPlants and Fungi, *J. Biol. Chem.*, 272, 25474–25482.
- [48]. Lu, Z., Nie, G., Belton, P.S., Tang, H., Zhao, B., 2006, Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives., *Neurochem. Int.*, 48(4), 263-274.
- [49]. Wright, J.S., Johnson, E.R., DiLabio, G.A., 2001, Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects and Application to Major Families of Antioxidants, *J. Am. Chem. Soc.*, 123(6), 1173–1183.
- [50]. Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., Toscano, M., 2004, Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism, *J. Phys. Chem. A*, 108(22), 4916-4922.
- [51]. Sroka, Z., Cisowski, W., 2003, Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids, *Food Chem. Toxicol.*, 41(6), 753-758.
- [52]. Weber, R.W., 2013, *Adverse reactions to the Antioxidants Butylated Hydroxytoluene and Butylated Hydroxyanisole*, Food Allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives, Fifth Edition, In: Metcalfe, D., Chapter 32, John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, UK, 360-368.
- [53]. Fisherman, F.W., Cohen, G., 1973, Chemical intolerance to butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene and (BHT) and vascular response as an indicator and monitor of drug intolerance, *Ann Allergy*, 31. 126-133.
- [54]. Hanssen, M., 1991, *E for Additives*, FSC, Thorsons, ISBN: 978-0-7225-1562-4

- [55]. Material Safety Data Sheet on BHA, <http://sciencelab.com>, [Ziyaret Tarihi: 12 Haziran 2018]
- [56]. Winter, R.A., 1999, *Food Additives: A consumer's dictionary*, Three Rivers Press, UK.
- [57]. <https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/index-1.html> [Ziyaret Tarihi: 9 Temmuz 2018]
- [58]. Haas, E., Levin, B., 2006, *Staying healthy with nutrition: the complete guide to diet and nutritional medicine*, Celestial Arts, UK.
- [59]. Gharavi, N., El-Kadi, A.O., 2005, tert-Butylhydroquinone is a novel aryl hydrocarbon receptor ligand, *Drug Metabolism and Disposition*, 33(3), 365-372.
- [60]. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004, Novel Total Antioxidant Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neokuproin: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
- [61]. Sanchez, M.C., Larrauri, J.A., Saura, C.F., 1998, A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
- [62]. Krings, U., Hapetta, D., Berger, R.G., 2009, Bioconversion of β -myrcene to perillene by *Pleurotus ostreatus*, *Biocatalysis and Biotransformation*, 26(4), 288-295.
- [63]. Jiang, Z., Kempinski, C., Chappell J., 2016, Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids, *Curr Protoc Plant Biol.*, 2016(1), 345-358.
- [64]. Shahidi, F., Naczk, M., 1995, *Food Phenolics: Chemistry, Effects, Applications*, Technomic, USA.
- [65]. Cornelli, U., 2009, Antioxidant use in nutraceuticals, *Clin Dermatol*, 27(2), 175-194.
- [66]. Moure, A., Cruz, J.M., Franco, J.D., 2001, Natural antioxidants from residual sources, *Food Chem* 200(172), 145-71.
- [67]. Akin, E.B., Karabulut I., Topcu, A., 2008, Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties, *Food Chem*, 107, 939-948.
- [68]. Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, R., 2002, Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods, *European Food Research and Technology*, 214(2), 143-147.
- [69]. Akgül, A., Ayar, A., 1993, Yerli baharatların antioksidan etkileri, *DoğaTR. J. of Agriculture and Forestry*, 17, 1061-1068.
- [70]. Gadow, A.V., Joubert, E., Hansmann, C.F., 1997, Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 632-638.

- [71]. Sherwin, E.R., 1990, *Food Additives*, MarcelDekker, NewYork.
- [72]. Barlow, S.M., 1992, *Toxicological Aspects of Antioxidants Used as Food Additives*, Food Antioxidants, In: Hudson, B.J.F., Chapter 7, Elsevier, Amsterdam, 253-307.
- [73]. Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T., 2005, Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579(1), 200-213.

|



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Muhammet Onur YAKAK
Doğum Yeri	Bakırköy/İSTANBUL
Doğum Tarihi	11.10.1991
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05340878785
E-Posta Adresi	onuryakak91@gmail.com
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	18.06.2014

Yüksek Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Analitik Kimya Programı

Makale ve Bildiriler

|
|

|