



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Fındık Yağının Oksidatif Stabilitesi: Yağın Kalitatif ve Kinetik  
Parametreleri Üzerine Antioksidanların Etkileri**

**Özge GÜLMEZ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ**

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Temel İşlemler ve Termodinamik Programı**

**İSTANBUL-2018**

Bu çalışma 08.01.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından  
Kimya Mühendisliğı Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Programı Yüksek  
Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ



Doç. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Şahika Sena BAYAZİT  
Beykent Üniversitesi  
Mühendislik-Mimarlık 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 aboneliği olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 29393 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve sonrasında tüm sevecenliği ve yardımseverliği ile bana destek olan, sahip olduğuengin bilgi birikimini benimle paylaşmaktan hiç gocunmayan, eğitimin, öğrenciyi ve öğretmeyi sevmekle başladığını bana her fırsatta gösteren, üzerimde büyük emeği olan çok değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Selin Şahin SEVGİLİ' ye tüm kalbi duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında benden yardım ve desteğini esirgemeyen ve tez çalışmalarım süresince ihtiyaç duyduğumda her zaman yanımda olan çok kıymetli arkadaşım Ar. Gör. Ebru Kurtulbaş'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen aileme, sorduğum her soruda güler yüzlülikle cevap veren bütün hocalarıma ve çalışmamı destekleyen İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa'ya teşekkürü borç bilirim,

Aralık 2018

Özge GÜLMEZ

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	xii
ÖZET .....	xv
SUMMARY .....	xvii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>	<b>3</b>
2.1. FINDIK .....	3
2.1.1 Fındık Yağı.....	4
2.2. BİTKİSEL YAĞLARIN OKSİDASYONU (LİPİD OKSİDASYONU) VE ANTIOKSİDAN MEKANİZMASI .....	5
2.3. DOĞAL/SENTETİK KATKI MADDELERİNİN ÖNEMİ .....	7
2.3.1. Doğal Katkı Maddeleri .....	7
2.3.1.1. Zeytin yaprağı.....	8
2.3.1.2. Gallik Asit .....	9
2.3.1.3 Karotenoidler.....	10
2.3.2 Sentetik Katkı Maddeleri.....	11
2.3.2.1 Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT).....	11
2.3.2.2 Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ).....	11
2.4. YAĞLARIN KALİTE PARAMETRELERİ .....	12
2.4.1. Oksidatif Stabilite .....	12
2.4.2. Peroksit Değeri .....	13
2.4.3. Antioksidan Aktivite .....	13
2.4.4. Fenolik Madde İçeriği .....	14
2.5. KATI – SIVI EKSTRAKSİYONU .....	14
2.5.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon .....	15
2.6. OPTİMİZASYON .....	15
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>18</b>

3.1. MALZEME.....	18
3.2. CİHAZLAR.....	18
3.3. EKSTRAKT ELDESİ.....	19
3.3.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon.....	19
3.4. EKSTRAKT İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ.....	20
3.4.1. Spektrofotometrik Yöntemler.....	20
3.4.1.1. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	20
3.4.1.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	21
3.4.1.3. DPPH Yöntemi ile AA Tayini.....	22
3.4.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	23
3.5. BİTKİSEL YAĞLARIN EKSTRAKSİYON İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ.....	24
3.5.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon.....	25
3.6. BİTKİSEL YAĞLARIN STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ.....	26
3.6.1. Toplam Fenolik Madde.....	26
3.6.2. ABTS Yöntemi ile AA Tayini.....	27
3.6.3. Peroksit Değeri.....	29
3.6.4. Oksidatif Stabilite (Ransimat Metodu).....	30
3.6.5 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi.....	33
3.7. MERKEZİ KOMPOZİT TASARIM.....	33
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	35
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>36</b>
4.1. ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ HAZIRLANMASI.....	36
4.1.1. Modelleme ve Optimizasyon.....	37
4.2. SAF VE İŞLENMİŞ FINDIK YAĞLARININ KALİTE PARAMETRELERİ.....	52
4.2.1. Fındık Yağı İçerisindeki Katkı Maddelerinin Yağa Kazandırdıkları Kalite Parametrelerine Göre Karşılaştırılması.....	59
4.2.2. Fındık Yağlarının İnfrared Spektrumları.....	60
4.3. LİPİD OKSİDASYONUNUN KİNETİK VE TERMODİNAMİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ.....	60
4.3.1 Kinetik Çalışmalar.....	61
4.3.2 Termodinamik Çalışmalar.....	71
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>77</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>78</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>87</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Gallik Asit'in kimyasal yapısı. ....	9
Şekil 2.2: $\beta$ -karoten 'in kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.3: Likopenin'in kimyasal yapısı. ....	10
Şekil 2.4: Bütillenmiş hidroksi toluen'in kimyasal yapısı. ....	11
Şekil 2.5: Tersiyer Butil Hidrokinon'un kimyasal yapısı. ....	12
Şekil 2.6: Oksidatif stabilite ölçümünde kullanılan ransimat cihazının çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi.....	13
Şekil 3.1: PG INSTRUMENT- T60 UV-Visible Marka Spektrofotometre.....	21
Şekil 3.2: DPPH radikalinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 3.3: DPPH radikalinin indirgenme reaksiyonu .....	22
Şekil 3.4: DPPH radikalinin indirgenmesi sırasında renk değişimi.....	23
Şekil 3.5: IKA T25 Digital- ULTRA TURRAX marka dijital homojenizatör .....	25
Şekil 3.6: ABTS'nin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 3.7: ABTS radikalinin indirgenmesi sırasında renk değişimi.....	28
Şekil 3.8: Peroksit değeri tayini şematik gösterimi.....	30
Şekil 3.9: Metrohm marka Ransimat cihazı.....	31
Şekil 3.10: 140 °C'de oksidasyona maruz bırakılan fındık yağlarının örnek ransimat grafikleri a) katkısız fındık yağı b) gallik asit ile müdahale edilmiş fındık yağı c) TBHQ ile müdahale edilmiş fındık yağı .....	33
Şekil 3.11: Optimizasyon için merkezi kompozit tasarımlar: (a) iki değişken ( $\alpha = 1,41$ ) ve (b) üç değişken ( $\alpha = 1,68$ ). (●) Faktöriyel tasarım noktaları, (○) aksenal noktalar ve (□) merkezi nokta. ....	34
Şekil 4.1: Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	42
Şekil 4.2: Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	43

<b>Şekil 4.3:</b> Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının toplam fenolik madde miktarına etkisi .....	44
<b>Şekil 4.4:</b> Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun toplam flavonoid madde miktarına etkisi .....	45
<b>Şekil 4.5:</b> Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun toplam flavonoid madde miktarına etkisi .....	46
<b>Şekil 4.6:</b> Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının toplam flavonoid madde miktarına etkisi .....	47
<b>Şekil 4.7:</b> Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun antioksidan aktiviteye etkisi.....	48
<b>Şekil 4.8:</b> Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun antioksidan aktiviteye etkisi.....	49
<b>Şekil 4.9:</b> Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının antioksidan aktiviteye etkisi .....	50
<b>Şekil 4.10:</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilmiş olan zeytin yaprağı ekstraktının HPLC kromatogramı .....	52
<b>Şekil 4.11:</b> Saf ve farklı katkı maddeleri ile işlenmiş fındık yağlarının zamanla peroksit değerindeki değişim.....	55
<b>Şekil 4.12:</b> Zeytin yaprağı içerisindeki başlıca fenolik bileşiklerin molekül yapıları (a) verbaskozit (b) rutin (c) oleuropein.....	58
<b>Şekil 4.13:</b> Saf fındık yağı ve gallik asit ve $\beta$ -karoten ile zenginleştirilmiş fındık yağlarının kızılötesi spektrumları .....	60
<b>Şekil 4.14:</b> Saf fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.....	62
<b>Şekil 4.15:</b> Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	63
<b>Şekil 4.16:</b> $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	63
<b>Şekil 4.17:</b> Gallik asit+ $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	64
<b>Şekil 4. 18:</b> Zeytin yaprağı ekstraktı katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	64
<b>Şekil 4.19:</b> TBHQ katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	65



<b>Şekil 4.20:</b> BHT katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	65
<b>Şekil 4.21:</b> Saf fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.....	67
<b>Şekil 4.22:</b> Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	67
<b>Şekil 4.23:</b> $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	68
<b>Şekil 4.24:</b> Gallik asit+ $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.....	68
<b>Şekil 4.25:</b> Zeytin yaprağı ekstraktı katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.....	69
<b>Şekil 4.26:</b> TBHQ katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki .....	69
<b>Şekil 4.27:</b> BHT katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.....	70
<b>Şekil 4.28:</b> Saf fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği .....	72
<b>Şekil 4.29:</b> Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği .....	72
<b>Şekil 4.30:</b> $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği .....	73
<b>Şekil 4.31:</b> Gallik asit+ $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği.....	73
<b>Şekil 4.32:</b> Zeytin yaprağı ekstraktı katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği.....	74
<b>Şekil 4.33:</b> TBHQ katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği.....	74
<b>Şekil 4.34:</b> BHT katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık $\ln(k/T)$ grafiği.....	75

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 3. 1:</b> Zeytin yapraklarının homojenizatör ile ekstraksiyonunda uygulanan proses parametreleri, birimleri, sembolleri ve seviye değerleri.....	20
<b>Tablo 3.2:</b> HPLC’de uygulanan gradient programı ve analiz şartları.....	24
<b>Tablo 4.1:</b> Zeytin yapraklarının homojenizatör ile ekstraksiyonunda YYY vasıtasıyla YMK tasarımı ile elde edilen deneysel tasarım ve elde edilen bulgular* .....	36
<b>Tablo 4.2:</b> YYY vasıtasıyla YMK tasarımı ile türetilmiş model eşitlikleri ve modellerin uyumluluk göstergeleri.....	38
<b>Tablo 4.3:</b> Toplam fenolik madde için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	39
<b>Tablo 4.4:</b> Toplam flavonoid madde için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	40
<b>Tablo 4.5:</b> Antoksidan aktivite için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi.....	41
<b>Tablo 4.6:</b> YYY ile hesaplanan optimum ekstraksiyon koşulu ve bu koşullarda elde edilen maksimum cevap değerleri .....	51
<b>Tablo 4.7:</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilmiş olan zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşenlerinin karşılaştırılması* .....	51
<b>Tablo 4.8:</b> Farklı katkı maddeleri ile muamele edilen fındık yağının kalitatif parametrelerindeki değişimler* .....	53
<b>Tablo 4.9:</b> Karanlık ortam koşullarında depolanmış olan işlenmiş ve işlenmemiş fındık yağlarının peroksit değerlerindeki (meq-O <sub>2</sub> /kg-yag) değişim* .....	54
<b>Tablo 4.10:</b> Farklı katkı maddeleri ile muamele edilmiş fındık yağının indüksiyon sürelerine göre karşılaştırmalı sonuçları* .....	56
<b>Tablo 4.11:</b> Bu çalışmada fındık yağına uygulanan sentetik ve doğal katkı maddeleri .....	57
<b>Tablo 4.12:</b> Çeşitli katkı maddeleri ile muamele edilmiş fındık yağlarının kalite parametrelerindeki artış* .....	59
<b>Tablo 4.13:</b> Saf ve işlenmiş fındık yağında gerçekleşen lipid oksidasyonunda kinetik parametreler .....	71

**Tablo 4.14:** Saf ve işlenmiş fındık yağında gerçekleşen lipid oksidasyonunda termodinamik parametreler .....76



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler Açıklama

%	: Yüzde oran
~	: Yaklaşık
μ	: Mikro
°C	: Santigrat Derece
X	: Değişken Değer
<	: Küçük
>	: Büyük
$\Delta G^{++}$	: Gibbs Serbest Enerjisi Değişimi
$\Delta H^{++}$	: Entalpi Değişimi
$\Delta S^{++}$	: Entropi Değişimi

### Kısaltmalar Açıklama

μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
A	: Absorbans
ν	: Frekans faktörü
AA	: Antioksidan Aktivite
ABTS	: 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazoline-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu
AlCl <sub>3</sub>	: Alüminyum Klorür
ANOVA	: One-way Analysis of Variance
AOM	: Aktif Oksijen Metodu
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
cm	: Santimetre
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

<b>E<sub>a</sub></b>	: Aktivasyon enerjisi
<b>EtOH</b>	: Etilalkol
<b>FTIR-ATR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi-Zayıflatılmış Toplam Yansıma
<b>GA</b>	: Gallik Asit
<b>GAE</b>	: Gallik Asit Eşdeğeri
<b>h</b>	: Planck sabiti
<b>HDE</b>	: Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon
<b>HPLC</b>	: High Performance Liquid Chromatography
<b>IT</b>	: Induction Time
<b>İS</b>	: İndüksiyon süresi
<b>k</b>	: Reaksiyon Hız Sabiti
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	: Potasyum Tiyosülfat
<b>k<sub>B</sub></b>	: Boltzmann sabiti
<b>KE</b>	: Kateşin Eşdeğeri
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>KI</b>	: Potasyum İyodür
<b>MeOH</b>	: Metilalkol
<b>mEq</b>	: Miliequivalent
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>N</b>	: Normalite
<b>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	: Sodyumtiyosülfat
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	: Sodyum Nitrit
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>OFAT</b>	: One-Factor At A Time
<b>OH</b>	: Hidrosil
<b>PD</b>	: Peroksit Değeri
<b>ppm</b>	: Part Per Million
<b>R</b>	: Evrensel gaz sabiti
<b>R<sup>2</sup></b>	: Korelasyon Katsayısı
<b>rpm</b>	: Revolutions Per Minute
<b>s</b>	: Saniye
<b>T</b>	: Mutlak sıcaklık

<b>TBHQ</b>	: Tersiyerbütül Hidrokinon
<b>TEAC</b>	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
<b>TFM</b>	: Toplam Flavonoid Madde
<b>TPM</b>	: Toplam Fenolik Madde
<b>Trolox</b>	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>V</b>	: Hacim
<b><math>\alpha</math>-TE</b>	: Alfa Tokoferol Eşdeğeri
<b>YMK</b>	: Yüzey Merkezli Kompozit
<b>YYY</b>	: Yanıt Yüzey Yaklaşımı



## ÖZET

### Fındık Yağının Oksidatif Stabilitesi: Yağın Kalitatif ve Kinetik Parametreleri Üzerine Antioksidanların Etkileri

#### YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge GÜLMEZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Yağ endüstrisinde ürün kalitesini etkileyen en önemli sorunlardan birisi *lipid oksidasyonudur*. Lipid oksidasyonunun kinetik ve termodinamik özellikleri uygun şekilde anlaşılırsa, gıda ürünlerinin formülasyonu, bir gıda sisteminde mevcut olan yağın kalitesini arttırmak ve istenmeyen bozunma ürünlerinin görünümünü azaltmak için ayarlanabilir. Bu çalışmada, fındık yağı *Rancimat* yöntemi ile dört farklı sıcaklıkta (110, 120, 130 ve 140 °C) hızlandırılmış koşullar altında oksitlenmiştir. Lipid oksidasyonunun kinetik parametrelerini belirlemek, yağın kökenini ayırt etmek, yağlardaki farklılıkları ve benzerlikleri karakterize etmek açısından önemlidir. Dolayısıyla katkısız ve çeşitli sentetik ve doğal antioksidanlar ile zenginleştirilmiş fındık yağlarında hızlandırılmış koşullarda meydana gelen oksidasyona ait kinetik veriler elde edilmiştir. Ayrıca, yağın oksidatif stabilitesi için aktivasyon enerjisi, entalpi ve entropi gibi termodinamik parametreleri de tayin edilmiştir. Oksidasyon reaksiyonunun sıcaklık bağımlılığı *Arrhenius* denklemiyle ifade edilmiştir. Fındık yağının

oksidatif kararlılığı için reaksiyon hız sabiti ( $k$ ), aktivasyon enerjisi ( $E_a$ ), entalpi değişimi ( $\Delta H^{++}$ ), entropi değişimi ( $\Delta S^{++}$ ) ve Gibbs serbest enerjisi ( $\Delta G^{++}$ ) Arrhenius ve *Aktifleşmiş Kompleks* yaklaşımlarına göre hesaplanmıştır.

Diğer taraftan, gıda endüstrisinde bilinen bu kalite problemi antioksidanlar gibi katkı maddeleri ile elimine edilebilmektedirler. Sağlığa olan etkileri hala kanıtlanmamış olduğu halde, bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) sıkça kullanılan sentetik antioksidanlardır. Bu nedenle, fenolik bileşikler, karotenoidler, tokoferoller, pigmentler, vitaminler ve bitkisel ekstraktlar dahil olmak üzere fitokimyasal maddeler gibi doğal kaynaklardan türetilmiş katkı maddeleri uygulamasına giderek daha fazla ilgi söz konusudur. Bu çalışmada fındık yağı oksidatif stabilite ve antioksidan aktivite parametrelerine göre de değerlendirilmiştir. Söz konusu yağ gallik asit,  $\beta$ -karoten, gallik asit ve  $\beta$ -karoten karışımı ve zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilmiştir. Kontrol maksadıyla BHT ve TBHQ de sentetik katkı maddesi olarak fındık yağına ilave edilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Son olarak, işlem görmüş ve işlem görmemiş yağın fenolik içeriği, antioksidan aktivite, peroksit değeri ve indüksiyon süresi gibi kalite parametreleri de karşılaştırılmıştır.

Aralık 2018, 106 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Gıda güvenliği, fındık yağı, oksidatif stabilite, lipid oksidasyonu, kinetik, termodinamik.



## **SUMMARY**

### **Oxidative Stability Of Hazelnut Oil: Effects Of Antioxidants On The Qualitative and Kinetic Parameters Of The Oil**

#### **M.Sc. THESIS**

**Özge GÜLMEZ**

**Istanbul University-Cerrahpasa  
Institute of Graduate Studies  
Department of Chemical Engineering**

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ**

*Lipid oxidation* is one of the major concerns to product quality in oil industry. If the kinetic and thermodynamic properties of lipid oxidation are understood properly, formulations of food products can be adjusted to enhance the quality of the product and to prevent the degradation problems. In this study, hazelnut oil was oxidized at four different temperature values (110, 120, 130 ve 140 °C) under accelerated conditions through *Rancimat* method. It is important to determine the kinetic parameters of lipid oxidation, to distinguish the origin of oil, to characterize differences and similarities in fat-containing food products. Therefore, kinetic data for oxidation in accelerated conditions were obtained in pure and enriched (with various synthetic and natural antioxidants) hazelnut oils. Additionally, thermodynamic parameters such as activation energy, enthalpy and entropy were determined for the oxidative stability of the oils. The temperature dependence of the oxidation reaction was expressed by

the *Arrhenius* equation. For the oxidative stability of hazelnut oil, the reaction rate constant ( $k$ ), activation energy ( $E_a$ ), enthalpy change ( $\Delta H^{++}$ ), entropy change ( $\Delta S^{++}$ ) and Gibbs free energy ( $\Delta G^{++}$ ) were calculated according to *Arrhenius* and *Activated Complex* approaches. On the other hand, this quality problem in the food industry can be eliminated with additives such as antioxidants. Although the health effects are still unproven, butylated hydroxy toluene (BHT) and tertiary butylhydroquinone (TBHQ) are frequently used as synthetic antioxidants. Therefore, there is increasing interest in the application of additives derived from natural sources such as phytochemicals including phenolic compounds, carotenoids, tocopherols, pigments, vitamins and plant extracts. In this study, hazelnut oil was evaluated according to the parameters of oxidative stability and antioxidant activity. The oil was enriched with gallic acid,  $\beta$ -carotene, a mixture of gallic acid and  $\beta$ -carotene and olive leaf extract, respectively. BHT and TBHQ were also added to hazelnut oil as a synthetic additive in order to compare the results. Consequently, quality parameters such as phenolic content, antioxidant activity, peroxide value and induction time of the treated and untreated oils were compared.

December 2018, 106 pages.

**Keywords:** Food safety, hazelnut oil, oxidative stability, lipid oxidation, kinetic, thermodynamics.

## 1. GİRİŞ

Yağlar, temel besin maddelerinden biri olup; insan beslenmesinde ve insanların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesinde önemli bir yere sahiptir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklardan elde edilen yağlar; enerji kaynağı olmalarının yanında, A, D, E ve K gibi vitaminleri içermeleri, vücut için gerekli olan fakat vücut tarafından sentezlenemeyen temel yağ asitlerinin kaynağı olmaları, tokluk hissini artırarak acıkmayı geciktirmeleri, yemeklere lezzet ve tat vermeleri açısından insan hayatında önemli bir yere sahiptir (Gül ve ark., 2016). Gıda sektöründe bitkisel yağa duyulan bu ihtiyacın artması sonucunda bitkisel yağların üretiminden tüketiciye ulaşana kadar var olan besin değerini koruması ve daha uzun süre bozunmadan kalabilmesi amaçlanmaktadır (Bodoira ve diğ., 2017).

Lipid oksidasyonu, bitkisel yağın kalite özelliklerini ve raf ömrünü belirleyen kritik faktörlerden biridir (Da Silva and Jorge, 2014). Bu faktör yağın tat, koku, doku, lezzet ve görünümünde istenmeyen değişikliklere sebep olur. Ayrıca lipid oksidasyonu yağda çözünen vitaminleri de yok eder (Gallego ve diğ., 2013). Yağ ve yağlı gıdalarda meydana gelen otooksidasyonların mevcut yöntemlerle engellenemediği durumlarda, antioksidanlar ve sinerjistler bu görevi yerine getirmek amacıyla devreye girer. Antioksidanlar, gıdalarda tatsızlığın ve oksidasyon sonucu oluşan toksik bileşiklerin oluşumunun önüne geçmek için kullanılabilir etkili katkı maddeleridir. Sinerjistler ise antioksidanların etkinliğini arttırmak için kullanılabilir destekleyici maddelerdir (Keskin, 1981).

Antioksidanlar, gıdalarda çeşitli etkilerle meydana gelen otooksidasyonun başlama ve yayılma aşamalarında, yapılarında bulunan hidrojenleri oksidasyon sonucu oluşan serbest radikallere vererek oksidasyonu engelleyen ve bunun sonucu olarak gıdada oluşabilecek zararları önleyen bileşenlerdir. Bu maddelerin en önemli özellikleri az miktarlarının bile oldukça etkili olmasıdır. Yenilebilir yağlara eklenen antioksidanlar, yağın termal kararlılığını arttırmalı ve ısıl bozunmaya karşı doymamış yağ asitlerini de korumalıdır. Sentetik antioksidanların güvenliği, uzun süreli alım sırasında olası toksik etkilerinden dolayı tartışmalı bir konu olduğundan bunları, insan doğasıyla daha uyumlu olan doğal antioksidanlarla değiştirmeye çalışmak mantıklı görünmektedir. Sağlıklı beslenme konusunda insanların giderek bilinçlenmesiyle önceden kullanımına daha çok başvuru olan sentetik

antioksidanlar yerini doğal antioksidanlara bırakmaya başlamıştır. Bu durumun sonucu olarak; araştırmacılar, doğal antioksidanlar konusunda yoğun bir araştırma yapmaya başlamıştır (Sherwin, 1990; Fernandez-Lopez ve diğ., 2005).

Fenolik bileşikler, gıdaların antioksidan potansiyellerinin önemli bir belirleyicisi olduğundan doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir. Bu özelliklerinin yanı sıra fenolik bileşiklerden elde edilen faydalı etkilerin onların antioksidan aktivitelerine bağlanmış olması, fenolik bileşiklere olan ilgisi arttırmış ve bu bileşikler üzerinde yapılan araştırma sayısı giderek artmıştır (Balasundram ve diğ., 2006). Kekik, biberiye, adaçayı, zeytin yaprağı, yeşil çay, susam gibi bitkisel kaynaklardan elde edilen ekstraktlar doğal antioksidan kaynağıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda doğal antioksidanların çoğunun, farklı yemeklik yağlarda sentetik antioksidanlara nazaran daha fazla antioksidatif aktivite ve termal stabiliteye sahip olduğu gösterilmiştir ( Taghvaei ve Jafari, 2013; Kozłowska ve Gruczyńska, 2018).

Fındık bademden sonra dünyada en yaygın yetiştiriciliği yapılan sert kabuklu meyvedir. Türkiye de dünyanın en önemli fındık üretici ülkesi olup, dünya fındık üretiminin yaklaşık %70'i, ülkemiz tarafından gerçekleştirilmektedir (Anon. 2017, syf. 4). Bu tez kapsamında, ülkemiz ve dünya açısından tüketimi ve önemi yüksek olan fındıktan elde edilen fındık yağı araştırma materyali olarak seçilmiştir. Bu çalışmada fındık yağı oksidatif stabilite ve antioksidan aktivite parametrelerine göre de değerlendirilmiştir. Söz konusu yağ gallik asit ve karoten ile zenginleştirilip, zeytin yaprağı da doğal bir antioksidan kaynağı olarak yağın kalitesini arttırmaya yönelik olarak kullanılmıştır. Kontrol maksadıyla bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) da sentetik katkı maddesi olarak fındık yağına ilave edilip ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Son olarak, işlem görmüş ve işlem görmemiş yağın fenolik, karoten içerikleri, antioksidan aktivite ve indüksiyon süresi gibi kalite parametreleri de karşılaştırılmıştır.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. FINDIK

Fındık, Fagales takımının Betulaceae familyasının Coryleae alt familyasının, *Corylus* cinsine girer. Fındık yetiştiriciliği, dünyada yaygınlık açısından bademden sonra ikinci sırada gelmektedir. Fındık, en yaygın olarak Türkiye olmak üzere, İtalya, İspanya, Amerika Birleşik Devletleri, Çin, İran, Yunanistan, Fransa, Azerbeycan, Rusya, Kırgızistan, Portekiz, Beyaz Rusya, Moldova, Tacikistan, Gürcistan, Ukrayna, Tunus, Macaristan, Kıbrıs ve Kamerun gibi ülkelerde de yetiştirilmektedir. Türkiye, toplam fındık üretiminin % 65'ini gerçekleştirerek dünyanın en büyük fındık üreticisi konumundadır. 2017-2018 döneminde, Türkiye 120 ülkeye 287 milyon ton fındık ihraç ederek yaklaşık 1,78 milyar ABD doları elde etmiştir. Bunu yanı sıra tarımsal ürün ihracatımızda yaklaşık % 15-20'lik payı olan fındığın en önemli özelliklerinden birisi, ülkemize getirdiği döviz girdisinin tamamını milli kaynaklardan sağlamasıdır (Anon. 2017, syf. 3, Ermiş ve diğ., 2018).

Türk fındığı kaliteye göre “Giresun” ve “Levant” olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Şekline ve aromatik özelliğine göre başka bir sınıflandırma grubu, “yuvarlak” ve “sivri” olmak üzere iki türü içerir. Giresun kalite fındıkları Giresun ilinin tamamında ve Trabzon ilinin bazı ilçelerinde yetiştirilmektedir. Bu türler arasında bulunan Tombul fındık dünya çapında bilinir. Türk Levant çeşitlerinin yağ içeriği, Giresun kalite fındıklarından daha düşük olmasına rağmen diğer ülkelerde yetişen benzer türlerden daha yüksektir (Anon. 2018 syf. 1; Altun ve diğ., 2011).

Fındık, eşsiz lezzeti, dokusu ve fındık içinin %60'ını oluşturan lipid bileşikleri nedeniyle oldukça değerlidir. Fındık meyvesi yemiş olarak tüketildiği gibi pastacılıkta, helvacılıkta, tatlıcılıkta ve özellikle çikolata endüstrisinde oldukça fazla kullanılmaktadır. (Savage ve diğ., 1997). Lezzetli ve besleyici olmasının yanı sıra fındık, insan sağlığı üzerinde yararlı etkilere sahiptir. İçeriğinde bulunan tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri, (başlıca oleik asit), protein, karbonhidrat, diyet lifi, vitaminler (E vitamini), mineraller, fitosteroller (esas olarak â-sitosterol) ve antioksidan fenolikler maddeler sebebiyle, kalp sağlığını korumaya ve yüksek kolesterol değerlerini düşürmeye yardımcı olmaktadır (Parcerisa ve diğ., 1998; Sabaté ve Ang, 2009; Alaşalvar ve diğ., 2003; Ghirardello ve diğ., 2016).

Fındık, diğer kabuklu yemişler arasında en iyi E vitamini ve iyi bir doğal antioksidan kaynağı olarak önemli bir yere sahiptir. Vitamin E veya R-tokoferol, bir lipid çözülebilir fenolik antioksidan olma özelliğine sahiptir. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri serbest radikallere bir hidrojen atomu bağlanma yeteneğidir (Alaşalvar ve diğ., 2003). Çünkü doğal antioksidan içeren gıdaların tüketilmesi, serbest radikal etkisi ile oluşan oksidatif stres koşullarından kaynaklı istenmeyen durumları ve sağlık risklerini en aza indirmeye kullanılacak kabul edilebilir bir seçenektir (Nijveldt ve diğ., 2001). Fındıkta fenolik ve hidroksisinnamik asitler (gallik asit, kafeik asit, protokansik asit, vanilin asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit), flavonoidler (kateşin, kuersetin, mirisetin, kaempferol) ve vitaminler (vitamin E:  $\alpha$ - tokoferol) gibi çeşitli fenolik antioksidanların varlığı bilinmektedir. Bu bileşikler fındığa, serbest radikallerin vücutta meydana getirdiği hasarı azaltabilecek doğal antioksidan kaynağı olma özelliği sağlamıştır (Alaşalvar ve diğ.,2006; Altun ve diğ., 2011). Fındığın fenolik içeriği fındık kalitesini değerlendirmede önemli bir ölçüt olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, depolama stabilitesini de etkileyebilen bir faktördür (Yurttaş ve diğ., 2000).

### 2.1.1 Fındık Yağı

Yağlar; insan vücudunda, enerji kaynağı, yapısal bir bileşen ve güçlü biyolojik düzenleyici olmak üzere üç şekilde tüketilmektedir (Mendil ve diğ., 2009). Ayrıca, yağlar insan vücudunda meydana gelen metabolik reaksiyonlarda önemli bir role sahiptir. Özellikle de bitkisel yağlar kolesterol azaltıcı etkileri sebebiyle son derece faydalı ve bir o kadar da popülerdir. Bitkisel yağlar, doymuş olan ve diğer kimyasallarla (özellikle oksijen) kolayca reaksiyona girmeyen hayvansal yağların aksine, daha reaktiftir (Llorent-Martinez ve diğ., 2011). Yağlı tohumlarda, yapıdaki mevcut enerjinin büyük bir kısmı yağ olarak depolanmıştır. Fındık, yer fıstığı, ayçiçeği gibi doğrudan yiyecek olarak tüketilebilen yağlı tohumlarının yanı sıra, spesifik olarak yağ ve küspe eldesi için işlenen yağlı tohumlar da mevcuttur. Bitkisel yağlar, çeşitli bitkilerin yağlı tohumlarından veya meyve kısımlarından presleme, çözücü ekstraksiyonu veya her ikisinin bir arada kullanıldığı yöntemlerle elde edilmektedirler (Saraç, 2011).

Fındık çeşitli şekillerde tüketilmektedir. İç fındığın %80'i çikolata sanayinde (kıyılmış, dilimlenmiş, öğütülmüş olarak) bisküvi, şekerleme, tatlı, pasta ve dondurma yapımında kullanılmaktadır. Ülke içerisinde bu şekilde tüketilemeyen veya ihraç edilerek değerlendirilemeyen fındıklar ise yağlık olarak kullanılmaktadır. İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan fındık yağı, içerdiği yağ asidi bileşimi bakımından zeytinyağına benzediği için

beslenmede önemli bir yağ çeşidi olarak düşünülmektedir ve bu yüzden kullanımının yaygınlaştırılması amaçlanmaktadır (Tunç ve diğ., 2014).

Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı verilerine göre, 100 gram fındık yağı içerisinde, 66,04 g tekli doymamış yağ asidi (oleik asit), 21,78 g çoklu doymamış yağ asidi, 7,65 g doymuş yağ asidi (palmitik asit, stearik asit, araşidik asit, behenik asit, lignoserik asit, palmitoleik asit) bulunmaktadır. Yine veri tabanında bulunan toplam tekli doymamış yağ asidi miktarı verilerine göre, sıvı ve katı yağlar grubunda fındık yağı sırasıyla sızma, riviera, rafine zeytinyağından sonra en yüksek tekli doymamış yağ asidi içeriğine sahip olan yağdır. Bu sırayı aynı grupta kanola yağı, ayçiçeği ve mısır yağı takip etmektedir.

Bunların yanı sıra 100 gram fındık yağının içerisinde, insan sağlığı açısından oldukça önemli olan E vitamini 37,08  $\alpha$ -TE (Alfa Tokoferol Eşdeğeri) miktarında bulunmaktadır. Sıvı ve katı yağlar grubunda 47,83  $\alpha$ -TE miktarında E vitamini içeren Ayçiçek yağı başı çekmekteyken, fındık yağı içerdiği E vitamini miktarı ile ikinci sırada yer almaktadır. Rafine zeytinyağı ise 11,96  $\alpha$ -TE E vitamini miktarı ile grupta daha alt sıralarda yer almaktadır. Yine bu verilere göre 100 g fındık yağı içerisinde 37,1 mg alfa tokoferol bulunmaktadır (Anon. 2018; Ermiş ve diğ. 2018).

## **2.2. BİTKİSEL YAĞLARIN OKSİDASYONU (LİPİD OKSİDASYONU) VE ANTİOKSİDAN MEKANİZMASI**

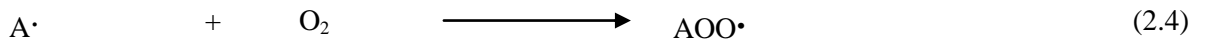
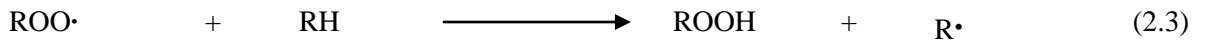
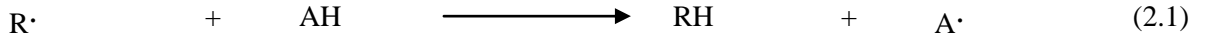
Lipidler gıdaların en önemli yapısal ve fonksiyonel bileşenleridir. lipidler gıdaların içersinde az miktarda bulunsalar bile önemli derecede etki gösterirler (Frankel, 2012).

Lipid oksidasyonu, doğal ve işlenmiş gıdaların kalitesindeki azalmanın en önemli nedenlerinden biridir. Lipid oksidasyonu gıdaların lezzet, doku, besin değeri, renk gibi birçok kalite özellikleri önemli ölçüde etkilemektedir. Bu durum ise gıda endüstrisinde büyük bir ekonomik endişeye sebep olmaktadır (Chaiyasit ve diğ., 2007).

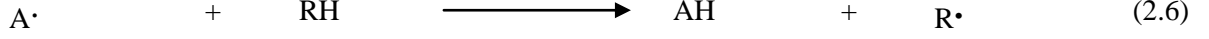
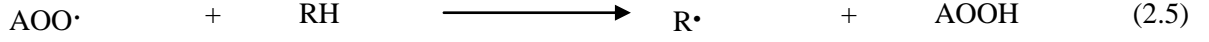
Lipid oksidasyonu; çoklu doymamış yağlarda, çeşitli katalizörlerin etkisiyle meydana gelen oktet açıklarına oksijenin bağlanmasıyla oluşan ve kendi kendini katalizleyerek devam eden bir reaksiyon zinciridir. Bu olay sonucu esansiyel yağ asitleri bozularak, gıdalarda meydana gelen acılaşıma sonucunda kötü tat, koku ve aroma oluşturur buna ek olarak gıda maddesinin

besin değeri olumsuz etkilenir (Özçelik ve Evranuz, 1998). Lipid oksidasyonu aynı zamanda yağın içinde bulunan esansiyel yağ asitlerini de yok eder ve zehirli bileşikler ile oksitlenmiş polimerlerin oluşmasına sebep olur (Choe ve Min, 2006). Sıcaklık, oksijen varlığı, ışık, nem, ağır metaller yağın doymamışlığı (en önemli faktör), lipid oksidasyonunu yol açan başlıca etmenler olarak sayılabilir. Genel olarak bu etmenlerin tümü gıdaya aynı anda etki ettiği için hangi etmenin ne zaman ve ne şiddetle etki ettiğinin kestirilmesi güçtür. (Merrill ve diğ., 2008; Yu, S.H. ve diğ., 2013).

Antioksidan maddeler, bitkisel ve hayvansal yağ içeriğine sahip gıda maddelerinin üretimi, depolanması ve sevkiyatı sırasında meydana gelebilecek oto-oksidasyon kaynaklı zararların önlenmesinde kullanılan en önemli katkı maddelerdir. Yağ içeriğine sahip gıdalarda tat kaybının ve lipid oksidasyonundan ileri gelen toksik bileşenlerin oluşumunun önüne geçilmesi, oluşabilecek hücre ve biyolojik hasarlarının engellenmesi için ilave edilmektedir (Bilgin ve diğ., 2013; Taghvaei ve Jafari, 2013). Bu biyoaktif maddeler hidrojen donörü olarak davranırlar ve toksik maddeleri daha az toksik etkiye sahip türlere dönüştürürler. Başlatma (1), çoğaltma (2 ve 3) ve sonlandırma (4, 5 ve 6) basamaklarını içeren zincir reaksiyonu şu şekilde özetlenebilir (Yanishlieva ve Marinova, 2001; Aluyor ve Ori-Jesu, 2008):







Reaksiyon 2.1-2.6'da da görüldüğü gibi, bu şekilde oluşturulan antioksidan radikali ( $\text{A}\cdot$ ), eşlenmemiş elektronun, aromatik halka üzerindeki oksijen atomu ile yer değiştirmesiyle dengelenir.

## 2.3. DOĞAL/SENTETİK KATKI MADDELERİNİN ÖNEMİ

### 2.3.1. Doğal Katkı Maddeleri

Bitkiler çok eski tarihlerden bu yana hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tıbbi açıdan önemli bulunan bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında oldukça yaygındır. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapıli ilaçların bazen yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanımına olan ilgiyi arttırmış ve bu amaçla birçok bitki mikrobiyolojik farmakolojik yönlerden çok yönlü olarak araştırılmaya başlanmıştır (Kırbağ ve Zengin, 2006). Bitkiler antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip fenolik bileşikler içerdiğinden oldukça değerlidir. Söz konusu olan bu maddelerin elde edilmesi ve kullanımı çok önemlidir. Bu değerli biyoaktif maddeler bitkinin kendisi tarafından üretilirken mikroorganizma ve radyasyona karşı bir savunma mekanizması olarak kullanılmaktadır. Bu maddeler bitkiye, antioksidan, antihipertansif, antimikrobiyal ve antitümör aktivitelerine sahip olma özelliği kazandırmaktadır. Böylece bitki; virüslere, bakterilere, mantarlara ve çeşitli enfeksiyonlara karşı yararlı etkilere sahip hale gelirken, tansiyonu düşürmek, kardiyovasküler rahatsızlıkların önüne geçmek, kanser ve çeşitli virüslerin sebep olduğu hastalıkları tedavi etmek gibi pek çok sağlığa faydalı özelliğın de sorumlusu olur. Dolayısıyla gıda, ilaç ve kozmetik endüstrinde söz konusu bitkilerden elde edilen ekstraktları çeşitli uygulamalarda kullanmak için artan bir ilgi vardır (Cordell, 2000; Balasundram ve diğ., 2006; Hayouni ve diğ., 2007; Lee ve diğ., 2009; Berber ve diğ., 2013; Rahaiee ve diğ., 2015).

Bitkisel ekstraktlar, çok eski tarihlerden bu yana hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve tıbbi özellikleri bilinen bitkilerin meyvelerinden, yapraklarından, çiçeklerinden, ağaçlarından, köklerinden, reçinelerinden veya tohumlarından elde edilen karmaşık yapılu karışımlardır (Şahin ve Bilgin, 2017). Bitkinin farklı kısımlarından elde edilen bu ekstraktların özellikleri birbirinden farklıdır. Bitki tohumlarından elde edilen ekstraktların yağ asidi içerikleri yaprak ve kökten elde edilen ekstraktlara göre daha fazladır. Kurutulmuş, boyutu küçültülmüş ve toz haline getirilmiş her bitki veya bir sıvı kullanılarak kaynatma sonucu elde edilen bitki suyu ekstrakt değildir. Ekstrakt eldesinde en önemli husus istenilen bitki etken maddesinin bozunmadan kazanımıdır. Bu sebeple etken maddeyi elde etmek için yapılabilecek işlemler düşük sıcaklık ve alçak basınçta yapılmalıdır (Karakaş, 2003). Bitkilerden ekstrakt elde etmek için kullanılan başlıca yöntemler çözücü ekstraksiyonu, buhar distilasyonu, Soxhlet ekstraksiyonu, Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon, Ultrason Destekli Ekstraksiyon, Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon ve Süperkritik CO<sub>2</sub> Ekstraksiyonu şeklinde sıralanabilir (Şahin ve diğ., 2011; Bilgin ve diğ., 2013; Şahin ve diğ., 2017)

Bu tez kapsamında fındık yağı, gallik asit ve karoten ile zenginleştirilecektir. Ayrıca zeytin yaprağı da doğal bir antioksidan kaynağı olarak yağın kalitesini arttırmaya yönelik olarak değerlendirilmiştir.

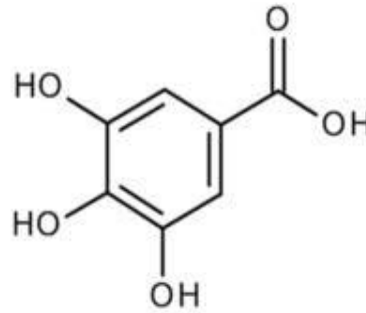
### **2.3.1.1. Zeytin yaprağı**

Zeytin yaprağı, zeytin meyvelerinin hasat sürecinde elde edilen bir tarımsal atık yan ürünü olup, zeytin ağacının diğer kısımları gibi önemli biyofenoller içerir. Yaprakların rengi, doğanın ve konsantrasyonun etkisine bağlı olarak meyvenin rengine ve tadına katkıda bulunur. Yapraklardaki biyofenoller meyve ve dallardan farklıdır. Halkbilimciler yüzlerce yıldır Orta Doğu kültüründe zeytin yapraklarından yapılan çayın öksürük, boğaz ağrısı, feverand sistit gibi hastalıklara karşı tedavi edici etkilerini anlatmaktadır. Buna ek olarak yapraklar, dermatolojik hastalıkların tedavisi için de kullanıldığından bahsedilmiştir. Zeytin yaprağı ilk olarak eski Mısır'da tıbbi olarak kullanılmış ve göksel gücün sembolü olmuştur. Yapraktan çıkarılan yağ mumyalama törenlerinde kullanılmıştır. Zeytin yaprağı, özellikle Akdeniz kültürlerinde de, soğuk algınlığı, sıtma, dang, şiddetli ishal ve diş, kulak, idrar yolları ve cerrahi enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Zeytin yaprağından elde edilen sıvı veya tablet şeklindeki ekstraktlar; diyabet, yüksek kan basıncı, kardiyovasküler hastalıklar, soğuk algınlığı, idrar yolu enfeksiyonları, kronik yorgunluk sendromu, gibi hastalıklara karşı ve

bağışıklık sistemini desteklemeye yönelik kullanılmıştır. Bunun yanı sıra kozmetik endüstrisinde yaşlanma karşıtı aktiviteleri için kullanılan zeytin yaprağı ekstraktı içeren ürünler mevcuttur. Zeytin yaprağı ekstresinden yapılan ilaçlar sadece insan sağlığı için değil, aynı zamanda antibiyotik ve antiparaziter özelliklerinden dolayı hayvan sağlığı için de kullanılmaktadır (Şahin ve Bilgin 2017; Marsilio ve diğ., 2001; Gao ve diğ., 2008)

### 2.3.1.2. Gallik Asit

Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) (Şekil 2.1), bitkilerde en önemli polifenolik bileşiklerden biridir ve tanen aktif olarak var olduğu bilinir. Gallik asit ve türevleri üzümde, mangoda, cevizde, yeşil çayda, birçok meyvede ve buna ilaveten üzümde elde edilen şarapta bulunan ana polifenolik bileşikler olarak kabul görmektedir (Isuzugawa ve diğ., 2001).

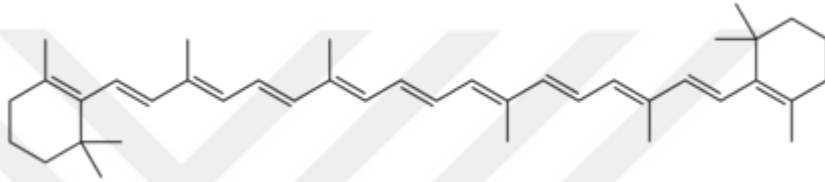


Şekil 2. 1: Gallik Asit'in kimyasal yapısı.

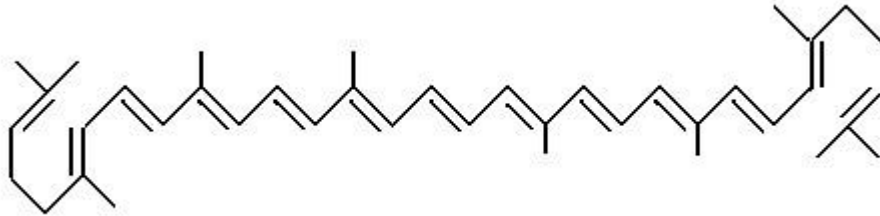
Bu bileşikler normal hücrelerden daha yüksek duyarlılığa sahip tümör hücrelerinde farklı ve yararlı biyolojik aktiviteler göstermektedir. Bunun sebebi olarak bu bileşiklerin mükemmel bir serbest radikal süpürebilme özelliği gösterilebilir. Bu antioksidan etkisinden dolayı, GA içeren bitki ekstraktları antidiyabetik, antianjiyogenik antimelanojenik özelliğe sahiptir. Bunun yanı sıra kalp damarlarında meydana gelen tıkanıklıklarda ve oksidatif etki sebebiyle oluşan karaciğer ve böbrek hasarlarında engelleyici etki göstermiştir. GA ayrıca gıdada, kozmetikte ve farmasötikte bir antioksidan olarak kullanılmaktadır ve farmakolojik dozlarda memeliler için toksik etki göstermemektedir (Isuzugawa ve diğ., 2001; Singh ve diğ., 2004; Bastianetto ve diğ., 2006; Zhao ve diğ., 2011).

### 2.3.1.3 Karotenoidler

Karotenoidler, genişletilmiş bir konjuge çift bağ sistemi içeren bir lipofilik bitki renklendiricileri sınıfıdır ve  $\beta$ -karoten (Şekil 2.2) ile likopen (Şekil 2.3), bu sınıfın en önemli bileşikleridir.  $\beta$ -karoten lipit çözebilir bir provitamindir. Reaktif oksijeni süpürme ve lipit oksidasyonunu önleme kabiliyetine sahip en güçlü antioksidanlardan biridir. İnsan kanında ve dokularında en fazla bulunan karotenoidler;  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, likopen,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein ve zeaksantindir (Condrón ve diğ., 2014; Weber ve Grune, 2012; Samaniego-Sánchez ve diğ., 2010).



Şekil 2. 2:  $\beta$ -karoten 'in kimyasal yapısı.



Şekil 2. 3: Likopenin'in kimyasal yapısı.

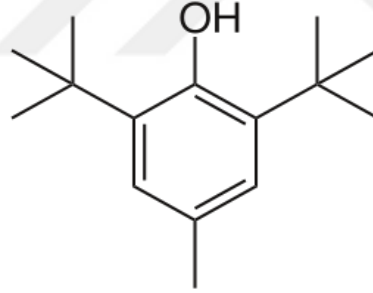
Yapısal özellikleri nedeniyle karotenoidler, reaktif oksijen türlerinin, özellikle singlet moleküler oksijen ve peroksil radikalleri çok iyi bir şekilde süpürücü etkiye sahiptirler. Bu işlemden, karotenoid kimyasal olarak radikal ile reaksiyona girer ve yapıdaki konjuge çift bağ sistemi doğrudan tahrip olur. Karotenoidler bu süreçte tokoferol ile sinerjistik olarak etki gösterirler. Ayrıca, karotenoidlerin karışımları; tek başına olan bileşiklerden daha etkilidir. Karotenoidlerin kanser, metabolik hastalık ve kardiyovasküler hastalık gibi insan sağlığı açısından tehdit oluşturan bir dizi hastalığa karşı koruma sağlamaktadır (Jomova ve Valko, 2013). Karotenoidler, gıda renklendiricileri, yem takviyeleri olarak kullanılırken daha yakın zamanlarda nutrasötik, kozmetik ve farmasötik amaçlı olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Mikroorganizmalar ve bitkiler 600'den fazla farklı karotenoid yapıyı sentezlemelerine

rağmen, yararlı miktarlarda sadece birkaç karotenoid yapı üretilebilir. Karotenoidlerin önemli antikanserojenik aktiviteler sergilediği ve kronik hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadığının keşfedilmesi, yeni karotenoid türlerinin sentezi ve bu bileşiklerin mühendislik hücrelerinde ekonomik üretimi üzerine çalışmaları tetiklemiştir (Oroian ve Escriche, 2015).

### 2.3.2 Sentetik Katkı Maddeleri

#### 2.3.2.1 Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT)

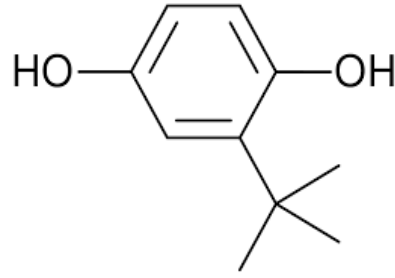
Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (Şekil 2.4) yağ ve yağlı gıdalarda oksidatif bozulmayı önlemek için kullanılan sentetik bir antioksidandır. BHT'nin yanı sıra bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) da 1950'lerden beri kullanılan en yaygın iki sentetik antioksidandan biridir. BHA ve BHT, birçok ticari gıdada az miktarda bulunurlar ve bu nedenle birçok insanın beslenmesinin küçük bir kısmını oluştururlar. Fakat gıda ürünlerinde BHA ve BHT' nin yaygın kullanımı ve dolayısıyla insanların bu sentetik katkı maddelerine uzun süreli ve yaygın olarak maruz kalması nedeniyle, potansiyel sağlık risklerinin araştırılması önemlidir (Botterweckve diğ., 2000).



Şekil 2. 4: Bütillenmiş hidroksi toluen'in kimyasal yapısı.

#### 2.3.2.2 Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ) (Şekil 2.5), doymamış bitkisel yağlar hayvansal yağlar ve et ürünleri için % 0,02'den az konsantrasyonlarda etkili bir koruyucu olarak kullanılan sentetik bir katkı maddesidir. Gıdanın lezzetini, kokusunu, dokusunu değiştirmeyen ve demirin varlığında bile gıdada renk bozulmasına yol açmayan bu katkı maddesi aynı zamanda kozmetik ürünlerinde de % 0,1'den az konsantrasyonlarda kullanılır (Eskandani ve diğ., 2014).



Şekil 2. 5: Tersiyer Butil Hidrokinon'un kimyasal yapısı.

## 2.4. YAĞLARIN KALİTE PARAMETRELERİ

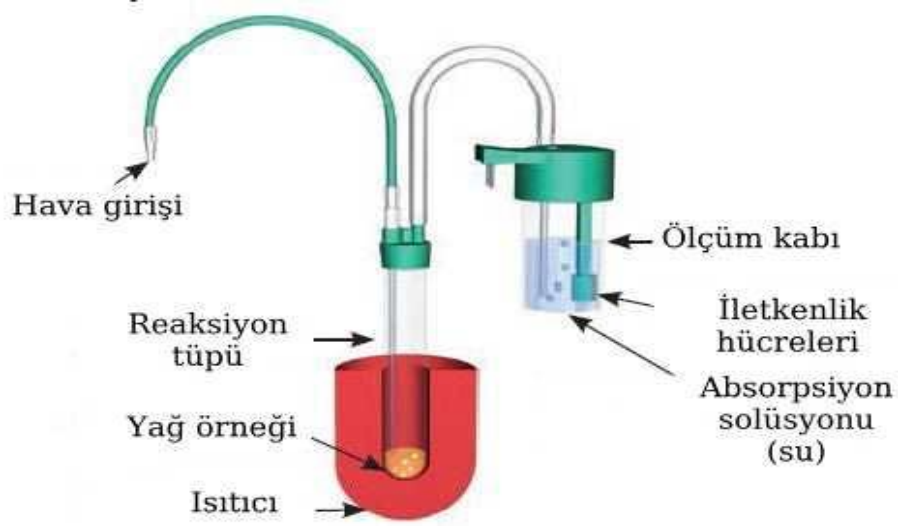
### 2.4.1. Oksidatif Stabilité

Yenilebilir yağların kalitesi ve stabilitesi, yağın tüketici tarafından kabul edilebilirliğini ve piyasa değerini etkileyen başlıca parametrelerdendir. Bu nedenle, yağ endüstrisinde tüketici tarafından kabul edilebilir yağın üretilmesi ve yağ kalitesinin korunması için yağın kalite kontrolünün gerçekleştirilmesi çok önemlidir.

Oksidatif stabilite, yenilebilir yağların kalitesini belirleyen en önemli parametrelerden biridir. Yenilebilir yağların oksitlenmesi, zincirleme reaksiyonu yoluyla gerçekleşmektedir (Frankel, 1993; Coppin ve Pike, 2001). Yüksek oranda oksitlenmiş katı ve sıvı yağlarda, aldehitler, ketonlar, furanonlar, laktonlar, hidrokarbonlar, organik asitler ve polimerik bileşikler meydana gelir. (Ostrowska-Ligeza ve diğ., 2010). Bu nedenle, lipid oksidasyonu reaksiyonu, yağ veya yağ ihtiva eden gıdaların kokusunda ve karakteristik özelliklerinde giderek kötüleşen ve hoş olmayan kokuların, tadın ortaya çıkmasıyla karakterize edilebilir. Lipid oksidasyonunun hızla artışından önceki zaman, oksidatif stabilitenin bir ölçüsüdür ve indüksiyon zamanı olarak adlandırılır. (Souza ve diğ., 2004)

Bu parametrenin Aktif Oksijen Metodu (AOM; AOCS Metodu Cd 12-57) ile belirlenmesi, peroksit değerinin sürekli olarak tayin edilmesi nedeniyle zaman ve maliyet açısından kullanıma elverişli değildir. Bu nedenle yenilebilir yağın oksidatif stabilitesini değerlendirmek için bir takım yöntemler geliştirilmiştir ( Tan ve diğ., 2002 ; Polavka ve diğ., 2005; Ostrowska-Ligeza ve diğ., 2010). Alternatif, hızlandırılmış yöntemlerden biri de Ransimat metodudur. Ransimat, titrasyon gibi ekstra bir analitik analiz gerektirmeden ölçümlerin sürekli yapıldığı basit ve kullanışlı bir yöntemdir. Kullanılan örnek miktarı, ürünün içerisinde geçirecek havanın akış hızı ve sıcaklığı olmak üzere sadece üç parametre

ile yağ içeriğine sahip ürünün oksidatif stabilitesini tayin etmek mümkündür. Bu yöntem uçucu bozunma ürünlerinin kondüktometrik tayinine dayanmaktadır (Kurtulbaş ve diğ., 2018).



**Şekil 2. 6:** Oksidatif stabilite ölçümünde kullanılan ransimat cihazının çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi.

Burada iletkenliğin zamana karşı değeri otomatik olarak çizilir ve değerlendirme, deneyin bitmesinden sonra grafiksel olarak yapılır. Bu yöntemde belli periyotlarla titrasyonların yapılması için gerekli olmadığı için harcanan çaba, oldukça azdır (Läubli ve Bruttel, 1986).

#### 2.4.2. Peroksit Değeri

Peroksitler yağın oksidasyonu sırasında oluşan bileşiklerdir. Bu sebeple peroksit sayısı ile yağın bozunması arasında doğru orantı bulunmaktadır. Yağlar rafta bekleme süreleri boyunca bazı etkiler sonucu değişime uğrayabilir. Depolama ortamında bulunan oksijen miktarı, metal iyonu ve sıcaklık gibi etkiler yağın bozulmasına yol açar. İşte peroksit sayısının tayini bize bu bozunmalar hakkında bilgi alma şansı sağlar. (Bozan, 2006)

#### 2.4.3. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar yağlarda, oluşan oto-oksidasyon reaksiyon mekanizmalarına etki ederek acılaşıma, tat, renk bozulması ve kötü koku gibi olayların meydana gelmesini geciktirir veya tümüyle engeller. Bu sayede hem yağın kalitesi korunmuş, hem ekstra bir besleyici katkı sağlanmış hem de yağın raf ömrü uzatılmış olur (Şahin ve diğ., 2016)

#### 2.4.4. Fenolik Madde İçeriği

Fenolik bileşikler veya diğer adıyla polifenoller, bitkiler aleminde en yaygın var olan madde grubudur. Bu bileşiklerin “polifenol” olarak da bilinmesinin sebebi yapılarında fonksiyonel türevler içeren hidrosil (-OH) gruplarıyla, dallanmış aromatik benzen halkaları içermesidir. Fenolik bileşikler sahip oldukları bu özellikleri sonucunda bir hidrojenini vererek hidrojen vericisi olarak görev alabilir ve bu durum fenolik bileşiğin antioksidan olarak etki göstermesini sağlar (Vermerris ve Nicholson, 2006).

Fenolik bileşikler gıda için tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar. Ayrıca, fenolik bileşiklerin kronik hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynadığını kanıtlayan birçok çalışma mevcuttur. Bu bileşiklerin olumlu sağlık etkilerinin başında kalp damar hastalığı riskini azaltmaları bunun yanı sıra antikanser ve antiviral özellikleri gelmektedir (Lee, 2004).

#### 2.5. KATI – SIVI EKSTRAKSİYONU

Ekstraksiyon; katı veya sıvı fazda bulunan ve farklı çözünürlüğe sahip bileşenlerin, bu farklı çözünürlük özellikleri yardımı ile sıvı faza alınması işlemidir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve katı-sıvı ekstraksiyonu olarak iki şekilde gerçekleşir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; birbirine karışmayan iki sıvının yoğunluk farkından yararlanılarak ayırma gerçekleşir. Katı - sıvı ekstraksiyonunda, katı içinde bulunan bir maddenin bu maddeyi büyük ölçüde çözebilen sıvı bir çözücü ile muamele edilmesiyle katı içerisindeki istenilen maddenin sıvı çözücüye geçmesi sağlanır. Katı - sıvı ekstraksiyonun temel basamakları şu şekildedir;

1. Çözücünün katı matris içine girişi,
2. Katı içerisindeki istenilen bileşenin çözünmesi
3. Çözünen bileşenin katı matrisin dışına aktarılması
4. Ekstakte edilen çözünen bileşenlerin katı matriksin dış yüzeyinden çözeltilmeye geçmesi
5. Ekstraktın katıya göre hareketi
6. Ekstrakt ve katının ayrılması (Yağcıoğlu, 2015).

Biyoaktif bileşiklerin, çözücü yardımıyla katı bitki materyallerinden ekstraksiyonu, fitokimyasal açıdan zengin ürünlerin üretiminde önemli bir adımdır. Maserasyon ve soxhlet



ekstraksiyonu gibi ekstraksiyon yöntemleri ile çeşitli bitkilerden önemli birçok fenolik bileşik elde edilebilir. Fakat, bu geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin genellikle zaman alıcı ve düşük verime sahip olması nedeniyle son yıllarda otomasyona imkan veren, ekstraksiyon sürelerini kısaltan ve organik çözücünün tüketimini azaltan yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir (Prakash Maran ve diğ., 2017).

Biz çalışmalarımızda ileri ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemini inceledik.

### **2.5.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon**

Homojenizatör destekli ekstraksiyon, klasik çözücü ekstraksiyonunun gelişmiş bir versiyonu olup kısabir zaman diliminde yüksek verim sağlayan yeni nesil bir metottur. Homojenizasyonda ekstraksiyon işlemine tabii tutulacak katı materyal, küçük boyutlara ufalandıktan sonra belirli bir miktar çözücü içine alınır ve aynı zamanda homojenizatör ile yüksek devirde karıştırma sağlanır. Homojenizasyon sonrasında katı madde partikül boyutuna parçalanmış olur. Bu şekilde hem daha homojen dağılmış bir bir ekstrakt hazırlanırken hem de ekstraktın çözücü sıvı ile temas yüzeyi de artırılarak ekstraksiyon performansı iyileştirilmiş olur. Homojenizasyon işlemi sonrası katı materyal yüzeyindeki gözeneklerin sıvıyla teması arttığından çok kısa sürede yüksek verimde ekstraksiyon sağlanır (Bilgin ve diğ., 2013).

## **2.6. OPTİMİZASYON**

Optimizasyon bir sistem, proses veya üründen maksimum fayda elde etmek için performansını iyileştirmek anlamına gelmektedir (Bezerra ve diğ., 2008). Optimizasyon terimi, mümkün olan en iyi yanıtı üreten bir prosedürün uygulanacağı koşulları keşfetme yöntemleri olarak kimyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Araujo ve Brereton, 1996)

Analitik kimyadaki geleneksel optimizasyona bakıldığında, bir faktörün deneysel bir tepki üzerindeki etkisini izleyerek gerçekleştirildiği görülmektedir. Geleneksel yöntemde, sadece bir parametre değiştirilirken, diğerleri sabit bir seviyede tutulmaktadır. Bu optimizasyon tekniği, her seferinde tek değişken (one-variable-at-a-time) yaklaşımı olarak bilinir. Bu yaklaşımın başlıca dezavantajı, incelenen değişkenler arasındaki etkileşim etkilerini göz ardı etmesidir. Sonuç olarak, bu teknik parametrenin yanıt üzerindeki tüm etkilerini göstermemektedir (Lundstedt ve diğ., 1998). Tek faktörlü optimizasyonun bir diğer

dezavantajı, araştırmayı yürütmek için gerekli olan deney sayısındaki artıştır, bu da zaman ve giderlerin artmasına ve ayrıca reaktif maddelerin ve malzemelerin tüketiminde bir artışa yol açmaktadır. İşte bu tür problemlerin önüne geçebilmek için çok değişkenli istatistiksel teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerden birisi de *Yanıt Yüzey Yaklaşımı* (YYY). YYY, bir veri setinin istatistiksel öngörülerini yapabilme amacı ile davranışını tanımlayan, deneysel verilere bir polinom denkleminin uymasına dayanan matematiksel ve istatistiksel tekniklerin bir araya getirilmesidir. Bu yöntem, özellikle bir cevap değişkeninin (bağımlı değişkenin) birden fazla sayıda bağımsız değişken tarafından etkilendiği durumlarda uygulanabilmektedir. Amaç, en iyi sistem performansını elde etmek için söz konusu değişkenlerin seviyelerini aynı anda optimize etmektir (Bezerra ve diğ., 2008).

YYY metodolojisini uygulamadan önce, öncelikle üzerinde çalışılan deneysel bölgede hangi deneylerin gerçekleştirilmesi gerektiğini tanımlayan deneysel bir tasarım seçilmelidir. Bu amaçla bazı deneysel matrisler vardır. Birinci mertebeden modeller için deneysel tasarımlar (mesela faktöriyel tasarımlar), veri seti eğriliği göstermediğinde kullanılabilir (Hanrahan ve Lu, 2006). Ancak, lineer fonksiyonlarla tanımlanamayan deneysel verilere cevap fonksiyonunu yaklaşık olarak tahmin etmek için, üç seviyeli faktöriyel, Box – Behnken, merkezi kompozit ve Doehlert tasarımları gibi ikinci dereceden tepki yüzeyleri için deneysel tasarımlar kullanılmalıdır.

YYY, Box ve çalışma arkadaşları tarafından 50'li yıllarda geliştirilmiştir (Gilmour, 2006). Bu terim, matematiksel modelin uygunluğundan sonra oluşturulan grafiksel perspektiften ortaya çıkmıştır ve kullanımı, kemometriye ilişkin metinlerde yaygın olarak benimsenmiştir. Bu terim, deneysel tasarıma ilişkin elde edilen deneysel verilere ampirik modellerin uyumunu temel alan bir matematiksel ve istatistiksel teknikler grubundan oluşur. Bu amaca yönelik olarak, incelenen sistemi tanımlamak için doğrusal veya 2. dereceden polinom fonksiyonlar kullanılır ve sonuç olarak, deney koşullarının optimizasyonuna kadar araştırır (Teófilo ve Ferreira, 2006).

Bir optimizasyon tekniği olarak YYY uygulamasında söz konusu olan aşamalar şu şekilde sıralanabilir:

- Çalışmanın amacına göre, sistem üzerinde ana etkileri olduğu düşünülen bağımsız değişkenlerin seçimi.
- Deney tasarımının seçimi ve seçilen deney matrisine göre deneylerin gerçekleştirilmesi.

- Elde edilen deneysel verilerin bir polinom fonksiyonunun uyumu aracılığıyla matematik-istatistiksel analizi.
- Modelin uygunluğunun değerlendirilmesi.
- Optimal bölgeye doğru bir yer değiştirme gerçekleştirme olasılığının gerekliliğinin doğrulanması.
- Çalışılan her bir değişken için optimum değerlerin elde edilmesi (Bezerra ve diğ., 2008).



### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. MALZEME

Bu çalışmada kullanılan fındık yağı örnekleri tüm çalışmalarda aynı örneğin kullanılmasını sağlamak için tek seferde yerel bir marketten alınmış olup ticari bir markanın ürünüdür. Zeytin yaprağı örnekleri Marmara Bölgesi'nde bulunan Avşa Adası'dan toplanmıştır. Yapraklar Gemlik türü zeytinlere aittir. Hasat dönemi zeytin yaprağının fenolik seviyesini önemli oranda değiştirdiği için (Şahin ve diğ 2012), yaprakların fenolik madde açısından en yüksek döneme sahip olduğu Kasım (2016) ayında toplanan örnekler katkı maddesi olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmalarımızda kullandığımız etanol, metanol ve asetonitril Merck firmasından temin edilmiş olup, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazoline-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (trolox), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin), Folin-Cioacaltea reaktifi, sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), gallik asit, hidroklorik asit, sodyum hidroksit, oleuropein, verbaskozit ve lutein-7-glukozit Sigma-Aldrich'den temin edilmiştir. Kloroform, hekzan, asetik asit ve nişasta, potasyum persülfat, sodyum nitrit ve alüminyum klorür de yine Merck firmasından temin edilmiştir. Potasyum iyodür Sigma-Aldrich'ten ve  $\beta$ -karoten ise Fluko'dan temin edilmiştir.

#### 3.2. CİHAZLAR

Yağların stabilitesi Ransimat (Metrohm) 892 cihazı ile gerçekleştirilirken, cihazda yapılan tayinler esnasında kullanılan saf su için Human Power I markalı su arıtma cihazı kullanılmıştır. Homojenizatör destekli ekstraksiyon işlemi için IKA T25 Digital- ULTRA TURRAX marka dijital homojenizatör, sıvı ekstraktların kurutulması için döner buharlaştırıcı (BUCHI, R-215) kullanılmıştır. Spektrofotometrik analiz sonuçlarının okunması için PG INSTRUMENT- T60 UV-Visible Spectrophotometer marka UV Spektrofotometresi kullanılmıştır. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ise Agilent 1260 (Agilent, Waldbronn, USA) marka ve modeldir. HPLC ile birlikte kullanılan kolon ise Agilent Eclipse

Plus C18 RRHD 18 (3 mm x 5 mm; 1,8  $\mu$ m)'dir. Ayrıca santrifüj işlemleri için Nüve (CN 180) marka santrifüj, örnek hazırlamak için ise Heidolph marka vorteks ve SHIMADZU marka terazi gibi araç-gereçlerden de faydalanılmıştır.

Çalışmalarımız,

- I. Zeytin yaprağından optimum koşullarda ekstrakt eldesi
- II. Zeytin yaprağı ekstraktının içeriğinin incelenmesi
- III. Fındık yağının zeytin yaprağı ekstraktı ve diğer doğal/sentetik katkı maddeleri ile zenginleştirilmesi
- IV. Fındık yağının oksidatif stabilitesinin incelenmesi olmak üzere 4 ayrı araştırma üzerinden yürütülmüştür.

### 3.3. EKSTRAKT ELDESİ

#### 3.3.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon

Klasik çözücü ekstraksiyonunun gelişmiş bir versiyonu olan homojenizatör destekli ekstraksiyon; yüksek devirde homojenizasyon sırasında aşırı ısınmadan kaynaklı bitkide meydana gelebilecek bozunmayı engellemek için sistem, 15 saniye açık 5 saniye kapalı olmak üzere toplam 45 sn 7000 rpm'de çalıştırılarak kullanılmıştır.

Çalışmalar sırasında 50 mL'lik polietilen satrifüj tüpleri içerisine belirli miktarlarda örnek konulup üzerine yine belirlenen miktarda çözücü ilave edilmiştir. Hazırlanan bu ekstraktlar gıda sektöründe kullanılması amaçlandığından çözücü olarak su ve çevre dostu alkol olarak da bilinen etil alkolün (EtOH) farklı oranlardaki karışımları kullanılmıştır. Sıcaklık, EtOH konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızı teker teker kontrol değişkeni olarak seçilmiş, optimum sonuçlar bulunmaya çalışılmıştır.

3 faktörlü ve 3 seviyeli Yüzey Merkezli Kompozit (YMK) tasarımı uygulanarak deneysel tasarım yapılmıştır (Tablo 3.1).

**Tablo 3. 1:** Zeytin yapraklarının homojenizatör ile ekstraksiyonunda uygulanan proses parametreleri, birimleri, sembolleri ve seviye değerleri.

Parametre	Birim	Sembol	Kod ve seviye		
			-1	0	1
EtOH konsantrasyonu	%, v/v	A	30	50	70
Ekstraksiyon süresi	dak	B	0,5	1,0	1,5
Karıştırma hızı	rpm	C	4000	7000	10000

### 3.4. EKSTRAKT İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ

#### 3.4.1. Spektrofotometrik Yöntemler

Homojenizatör ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntemler kullanılmıştır. Toplam fenolik madde (TPM) tayini (Bilgin ve Şahin, 2013) ve toplam flavonoid madde (TFM) ile fenolik madde profili; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodu ile antioksidan aktivite (AA) belirlenmiştir.

##### 3.4.1.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, yapıdaki hidroksil grupları ve dolayısı ile bitki ekstraktının serbest radikallere karşı sahip olduğu antioksidan aktivite hakkında fikir oluşturmak açısından oldukça önemlidir. Çünkü bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi arasındaki ilişki doğrusaldır (Öztaş, 2006; Şahin, 2011).

Tayinler, sonuçların kesinliğinin kanıtlanabilirliği açısından 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Bunun için 3 ayrı küvete aynı örnekten alınıp 3 ayrı deneme yapılması sağlanmıştır. Tayin sonucu olarak bu 3 değerlerin ortalaması kullanılmıştır.

4 mL'lik plastik küvetlere;

- I. 20 µL örnek
- II. 380 µL destile su
- III. 2000 µL %10'luk folin çözeltisi
- IV. 1600 µL 0,1 N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi

Yukarıda verilen sıraya göre eklenerek her küvet karıştırılmıştır. 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilen örnekler 765 nm dalga boyuna ayarlanıp örnek içerisinde kullanılmış olan saf çözücü ile sıfırlanmış UV-spektrofotometre cihazında (Şekil 3.1) tayin edilir ve sonuçlar kaydedilir. Kaydedilen bu sonuçlar gram kuru madde başına gallik asit eş değeri (mg-GAE/g-kuru madde) cinsinden hesaplanmıştır.



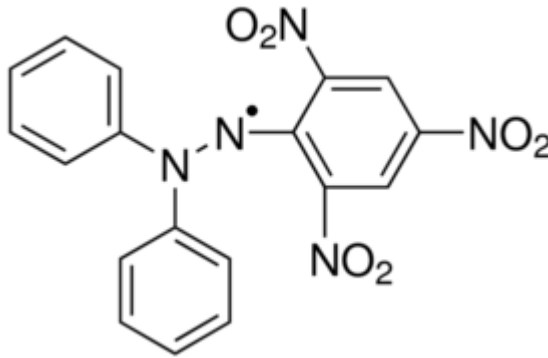
**Şekil 3. 1:** PG INSTRUMENT- T60 UV-Visible Marka Spektrofotometre.

#### **3.4.1.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini**

Zeytin yaprağı ekstraktının toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesinde Sakanaka ve arkadaşları tarafından belirtilmiş olan kalorimetrik bir yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır (Sakanaka ve diğ., 2005). Kısaca bu yöntemde 0,125 mL ekstrakt içine 1,375 ml destile su ilave edilir. Daha sonra karışıma, 75 µL %5'lik sodyum nitrit ( NaNO<sub>2</sub> ) çözeltisi eklenerek 6 dak bekletilir ve sonrasında 150 µL %10 alüminyum klorür (AlCl<sub>3</sub>) klorür eklenerek 5 daha bekletilir. Süre sonunda karışım üzerine 0,5 mL 1 M sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ve 275µL destile su eklenir ve karıştırılır. Absorbans değeri, 510 nm'de UV-spektrofotometre cihazında ölçülür. Belirlenen bu sonuçlar gram kuru madde başına mg (+) - kateşin eşdeğeri (mg-KE/ g-KM) cinsinden ifade edilmiştir (Şahin, 2015).

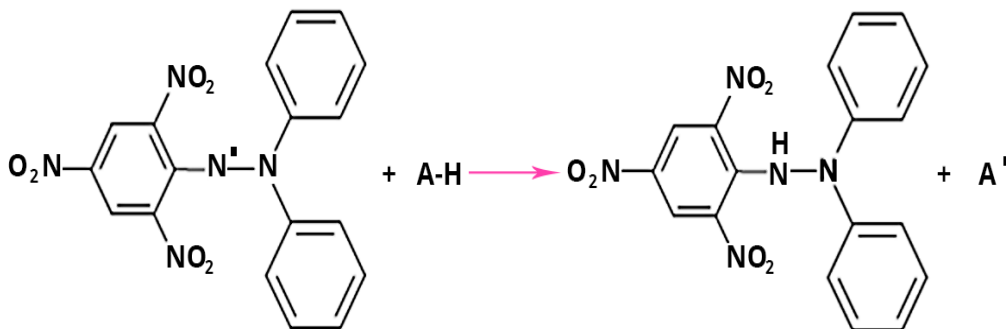
### 3.4.1.3. DPPH Yöntemi ile AA Tayini

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürme yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH (Şekil 3.2) kullanılır ve antioksidanın DPPH tarafından oluşan bu serbest radikali süpürebilme miktarı ölçülerek antioksidan aktivite tayin edilir (Pokorny ve diğ., 2001).



Şekil 3. 2: DPPH radikalının kimyasal yapısı.

DPPH, koyu mor renkte bir radikaldir. Bu radikal antioksidan maddeden bir proton aldığında, yani antioksidan madde tarafından indirgendiğinde (Şekil 3.3)  $\alpha,\alpha$ - difenil- $\beta$ -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür bunun sonucunda koyu mor renkli çözelti açık sarı hale gelir (Şekil 3.4) (Pokorny ve diğ., 2001; Huang ve diğ., 2005).



Şekil 3. 3: DPPH radikalının indirgenme reaksiyonu.





**Şekil 3. 4:** DPPH radikalinin indirgenmesi sırasında renk değişimi.

DPPH radikalinin 500  $\mu\text{M}$ 'lik çözeltisi hazırlanıp, 100  $\mu\text{M}$ 'a seyreltilmiştir. Bitkisel ekstraktlar seyreltik çözeltiliye karıştırılıp, 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta muhafaza edilerek 517 nm'de ölçüm yapılmıştır (YU ve diğ., 2005). Sonuçlar yine trolox eş değeri cinsinden sunulmuştur.

### 3.4.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Zeytin yaprağı ekstraktının sahip olduğu fenolik madde içeriğinin incelenmesi için HPLC metodu kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılan gradient elüsyon programı Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Örnekteki fenolik bileşiklerin belirlenmesi ve tanımlanması için, bileşiklerin kolondaki alıkonma süresi ve UV-spektrumlarının ilgili standart maddelere ait süre ve spektrumlarının karşılaştırılmıştır. Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve büyüklüklerinin hesaplanması, bileşiklerin maksimum absorbanans değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Bu sebeple ekstraktın fenolik madde içeriğinin analizi için 276 nm dalga boyu seçilmiştir. Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Bireysel fenolik bileşenler Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile gerçekleştirilmiştir. Şartlar ve uygulanan gradient programı Tablo 3.2 ile sunulmuştur.

**Tablo 3. 2:** HPLC’de uygulanan gradient programı ve analiz şartları.

Şartlar	Program		
	Süre (dak)	A (%)	B (%)
Agilent 1260 (Agilent, Waldbronn, ABD) (model)			
Agilent Eclipse Plus C18 RRHD 18 (3 mm x 5 mm; 1,8 µm) (kolon)	0,0	100	0
Mobil faz A: Su+% 0,1 formik asit (v/v)	0,5	100	0
Mobil faz B: Asetonitril+% 0,1 formik asit (v/v)			
276 nm (tespit dalga boyu)	7,0	60	40
1 mL/dak (akış hızı)	7,1	0	100
40°C (kolon sıcaklığı)	8,6	0	100
20 µL (enjeksiyon hacmi)	8,7	100	0

### 3.5. BİTKİSEL YAĞLARIN EKSTRAKSİYON İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

Zenginleştirme işlemlerinde fındık yağı; HDE ile ekstrakte edilmiş zeytin yaprağı ve doğal/sentetik katkı maddeleri ile katı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Çözücüsü uçurulmuş zeytin yaprağı ekstraktı ve doğal/sentetik katkı maddeleri toz halinde yağın içerisine ilave edilmiştir. Çalışmanın bu kapsamında homojenizatörden yararlanılarak HDE yöntemi uygulanmıştır çünkü bu yöntemde; yüksek sıcaklık veya yüksek basınç gibi parametrelere ihtiyaç duyulmadığından özellikle sıcaklığa duyarlı doğal ürünlerin korunmasında sağlanmıştır.

### 3.5.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon

Ekstrakte edilmiş zeytin yaprağının ve diğer doğal/ sentetik katkı maddelerinin, fındık yağına uygulanması işlemi ile zenginleştirme gerçekleştirilir.

Bu yöntemde belirli bir miktar fındık yağının içerisine optimum miktarlarda zeytin yaprağı ekstraktı ve doğal/ sentetik katkı maddeleri eklenmiş ve optimum sürede homojenizasyona tabi tutulmuştur. Bu optimum değerlere çeşitli ön denemeler gerçekleştirilerek karar verilmiştir. Ekstraksiyon işlemi de her bir örnek için 3 kez uygulanmış olup 3 tekrarlı ölçüm yapılması sağlanmıştır. Denemeler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Karıştırma işlemi sırasında açığa çıkacak ısının fenolik bileşikleri bozmasını engellemek için ekstraksiyon işlemi periyotlar halinde tamamlanmıştır. Bu sırada örneğin ışık ile oksidasyonunu engellemek için polietilen santrifüj tüpleri alüminyum folyo ile sarılmış ve örnek için gerekli olan karanlık ortam bu şekilde sağlanmıştır Oda koşullarında çalışan ve son derece basit bir cihaz olan homojenizatörü etkileyecek bağımsız değişkenler karıştırma hızı, süresi ve eklenecek olan katı ekstrakt miktarı ile sınırlıdır (Şekil 3.5)



Şekil 3. 5: IKA T25 Digital- ULTRA TURRAX marka dijital homojenizatör.

### 3.6. BİTKİSEL YAĞLARIN STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ

Çeşitli katkı maddeleri ile zenginleştirilmiş olan fındık yağlarına toplam fenolik, serbest radikalleri süpürme etkisi, peroksit değeri ve oksidatif stabilite gibi çeşitli testler yapılarak yağlarda meydana gelen kalite iyileştirilmeleri, müdahale edilmemiş olan fındık yağı ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

#### 3.6.1. Toplam Fenolik Madde

Tayinde kullanılacak örneğin hazırlanması için sırasıyla aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

- ✓ 5,1 g yağ 50 ml'lik santrifüj tüpüne tartılır.
- ✓ Belirlenmiş olan ekstrakt miktarı tartımın üzerine eklenir.
- ✓ Homojenizatörde uygun süre ve devirde karıştırılır.
- ✓ Karışımdan 2 gram örnek başka bir santrifüj tüpüne tartılır.
- ✓ Yeni tartımın üzerine belirlenen miktarda %100 hekzan eklenir.
- ✓ Karışım 7000 rpm / 30 sn boyunca homojenizatöre tabi tutulur.
- ✓ Üzerine belirlenen miktarda %100 metanol (MeOH) eklenir.
- ✓ Karışım 7000 rpm / 60 saniye boyunca homojenizatöre tabi tutulur ve 15 mL'lik santrifüj tüplerine alınır.
- ✓ 3500 rpm / 15 dakika boyunca santrifüj cihazında fazlara ayrılması için karıştırılır.
- ✓ Fazlara ayrılmış olan karışımın üst fazı temiz bir şırınga yardımıyla çekilerek yine temiz bir santrifüj tüpüne konur.
- ✓ Alt faza belirlenen miktarda %100 MeOH eklenir.
- ✓ 7000 rpm / 60 saniye boyunca homojenizatöre tabi tutulur.
- ✓ 3500 dev / 15 dakika boyunca santrifüj cihazında fazlara ayrılması için karıştırılır.
- ✓ Fazlara ayrılmış olan karışımın üst fazı şırıngayla çekilerek daha önceden ayrılmış olan üst fazla birleştirilir.
- ✓ Birleşen üst fazlar vorteks yardımıyla karıştırılır ve filtreden geçirilerek viyallere alınır.

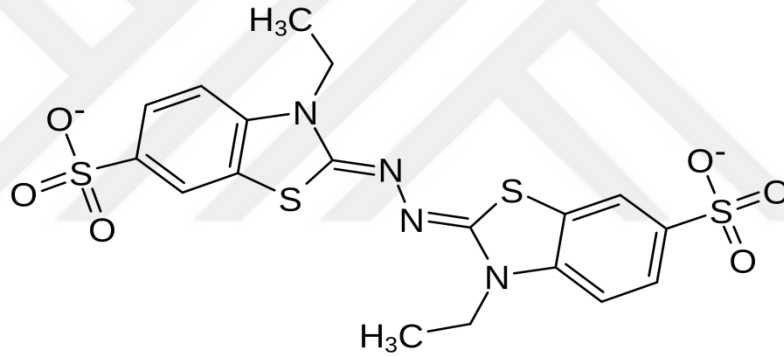
4 mL'lik plastik küvetlere sırasıyla;

- 20 µL örnek
- 380 µL destile su
- 2000 µL %10'luk folin çözeltisi

- 1600  $\mu\text{L}$  0,1 N  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi eklenerek her küvet karıştırılmıştır. 30 dakika boyunca karanlıkta beklemeye alınıp, 765 nm'de MeOH ile sıfırlanarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar litre yağ başına mg gallik asit eş değeri (ppm) cinsinden verilmiştir.

### 3.6.2. ABTS Yöntemi ile AA Tayini

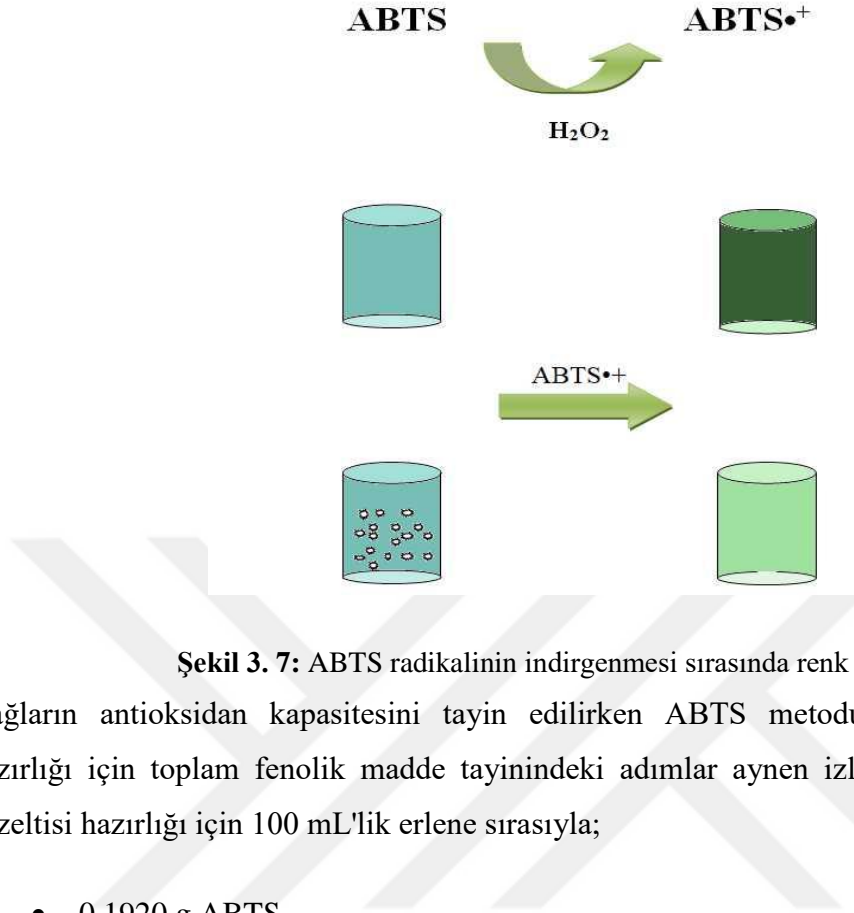
Bu metod ile ABTS (Şekil 3.6) [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat] peroksil veya diğer oksidanlara okside olur ve radikal katyonu ( $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ) oluşur. Oluşan radikal katyonu oldukça koyu bir renge sahiptir. Antioksidan kapasitesi ölçülecek test bileşenin ABTS radikal katyonu ile direkt olarak reaksiyona girmesi ve yapısında bulunan antioksidanlar ile radikal katyonun meydana getirdiği bozucu etkiyi azaltır. Bu azalma, renk şiddetindeki azalma ölçülerek belirlenir (Şekil 3.7) (Prior ve diğ., 2005).



Şekil 3. 6: ABTS'nin kimyasal yapısı.

Deney 3 tekrarlı olarak yapılır. Bunun için aşağıda verilen miktarlar her örnek için 3 ayrı küvete doldurulur. Tayinde 4 mL'lik plastik tek kullanımlık küvet kullanılmıştır.

Bu yöntem ile AA tayininde, 2850  $\mu\text{L}$  seyreltik ABTS çözeltisine 150  $\mu\text{L}$  örnek ilave edilmiştir (RE ve diğ., 1999) 10 dakika sonra çözeltilerin absorbansı 734 nm'de okunmuştur. Absorbans ile referans olarak alınan trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) bileşiğinin konsantrasyonu arasındaki kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak bilinmeyen konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Sonuçlar % inhibisyon cinsinden verilmiştir.



**Şekil 3. 7:** ABTS radikalinin indirgenmesi sırasında renk değişimi.

Yağların antioksidan kapasitesini tayin edilirken ABTS metodu uygulanmıştır. Örnek hazırlığı için toplam fenolik madde tayinindeki adımlar aynen izlenmiştir. Derişik ABTS çözeltisi hazırlığı için 100 mL'lik erlene sırasıyla;

- 0,1920 g ABTS
- 50 mL destile su
- 0,0331 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (potasyum tiyosülfat) eklenir ve kuvvetlice çalkalanır. Alüminyum folyoya sarılan derişik ABTS deney öncesinde 1 gece (16 saat) karanlıkta bekletilir.

Tayinde seyreltik ABTS çözeltisi kullanılmıştır. Çözeltiyi seyreltmek için 1 gece önceden hazırlanmış derişik ABTS çözeltisine uygun miktarda (genellikle 800 µL derişik ABTS'ye 80 mL %80'lik MeOH çözeltisi uygun bulunmuştur.) %80'lik MeOH çözeltisi eklenir. 734 nm'de %80 MeOH ile sıfırlanmış UV cihazında yaklaşık olarak 0,7 absorbans değerine karşılık gelen ABTS çözeltisi kullanılır.

Deneyle yine 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. 4 mL'lik plastik küvetlere sırasıyla;

- 30 µL örnek
- 3 mL seyreltik ABTS eklenir.

X<sub>1</sub> değeri (kontrol değeri) için kullanılacak küvetlere 30 µL örnek yerine 30 µL %100'lük MeOH konur.

Küvetler 5 saniye boyunca ultrasonik banyoda karıştırılır, ardından 5 dakika boyunca karanlıkta bekletilir. 734 nm'de %80'lik MeOH ile sıfırlanarak spektrofotometrik olarak ölçülür. Yağların antioksidan aktivitesi ABTS radikalini süpürme kabiliyeti (%inhibisyon) olarak ifade edilmiştir. Serbest radikali inhibe etme kabiliyeti aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA(\%inhibisyon) = (AKontrol - Aörnek) / AKontrol \times 100 \quad (3.1)$$

*AKontrol*, seyreltik ABTS çözeltisinin absorbansını, *Aörnek* ise örneğin absorbansını temsil etmektedir.

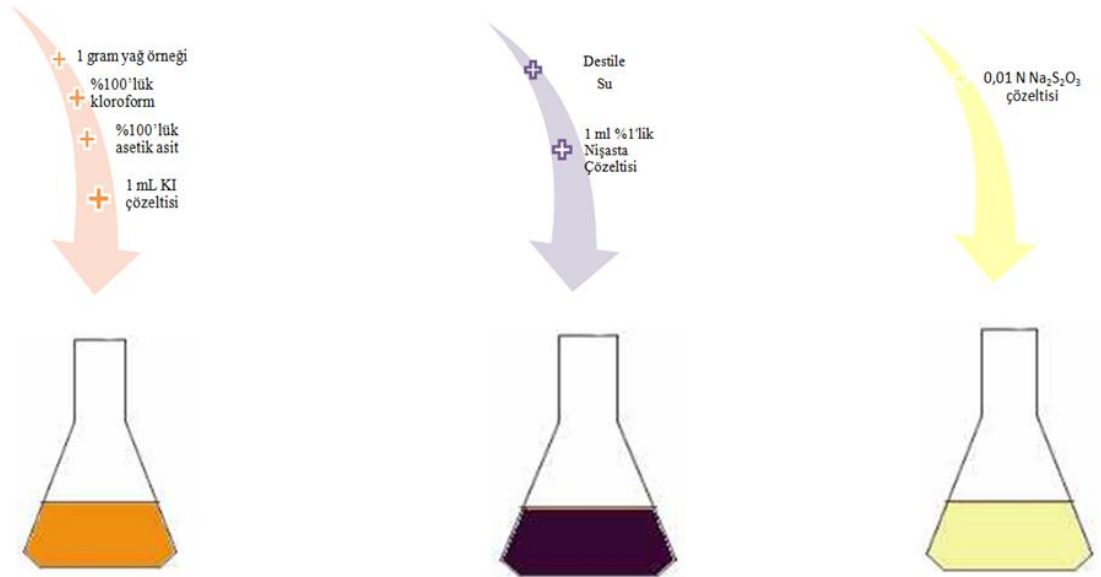
### 3.6.3. Peroksit Değeri

1 kg yağın içerisinde bulunan aktif oksijenin miligram cinsinden değeri peroksit miktarı olarak ifade edilir (meq-O<sub>2</sub>/kg-yağ). Kloroform ve asetik asit ile muamele edilmiş yağ karışımının üzerine potasyum iyodür (KI) çözeltisi de ilave edilerek bir süre karanlıkta reaksiyona tabi tutulur. Açığa çıkan iyot, sodyum tiosülfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) çözeltisine karşı titre edilir (Elhussein ve diğ., 2018).

Peroksit değerinin tayininde sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır (Şekil 3.8):

- ✓ %1'lik nişasta çözeltisi hazırlanır.
- ✓ Çözelti bir ısıtıcı yardımıyla rengi berraklaşınca kadar kaynatılır.
- ✓ KI çözeltisi hazırlanır.
- ✓ 0,01 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisi hazırlanır.
- ✓ 250 mL'lik erlene ekstrakt ile optimum koşullarda homojenizasyona tabi tutulmuş 1 gram yağ örneği tartılır. Tartım not edilir.
- ✓ Yağ örneği üzerine belirlenen miktarda %100'lük kloroform eklenir, çokça çalkalanır.
- ✓ Karışıma belirlenen miktarda %100'lük asetik asit eklenir ve tekrar çalkalanır.
- ✓ 1 mL KI çözeltisi eklenir. 1 dakika boyunca kuvvetlice çalkalanır.
- ✓ Karışım bir süre karanlıkta bekletilir.
- ✓ Bekletilen karışım üzerine belirlenen miktarda destile su eklenerek çalkalanır.
- ✓ 1 mL %1'lik nişasta çözeltisi eklenir (sarıdan mora renk değişimi gözlenir.).
- ✓ Temiz bir şırınga 0,01 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisi ile doldurulur. Tartı, dolu şırıngayla sıfırlanır.

- ✓ Karışım 0,01 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisi ile titre edilir. Mor renkten sarıya/şeffafa ilk geçiş anında titrasyon durdurulur.
- ✓ Sıfırlanmış tartı üzerinde şırınga yeniden tartılır ve sarfiyat not edilir.
- ✓ Kontrol değişkeni olarak seçilen herhangi bir zenginleştirme işlemine uğramamış yağa da aynı işlemler uygulanır.



**Şekil 3. 8:** Peroksit değeri tayini şematik gösterimi.

Peroksit değerini hesaplariken aşağıdaki eşitlikten faydalanılmıştır:

$$PD = [(V_1 - V_0) \times N] / M \quad (3.2)$$

*PD*: Peroksit değeri (meq-O<sub>2</sub>/kg-yağ)

*V*<sub>1</sub>: Örnek için harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (mL)

*V*<sub>0</sub>: Tanık için harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (mL)

*N*: Sodyum tiyosülfatın normalitesi

*M*: Örnek miktarı (g)

#### 3.6.4. Oksidatif Stabilite (Ransimat Metodu)

Analiz edilecek yağların oksidasyon kararlılığı Ransimat cihazı ile belirlenir (Şekil 3.9). Cihazın tüplerine yağ örneklerinden yaklaşık 3 g konularak, belirli sıcaklıkta yağ örneğinin



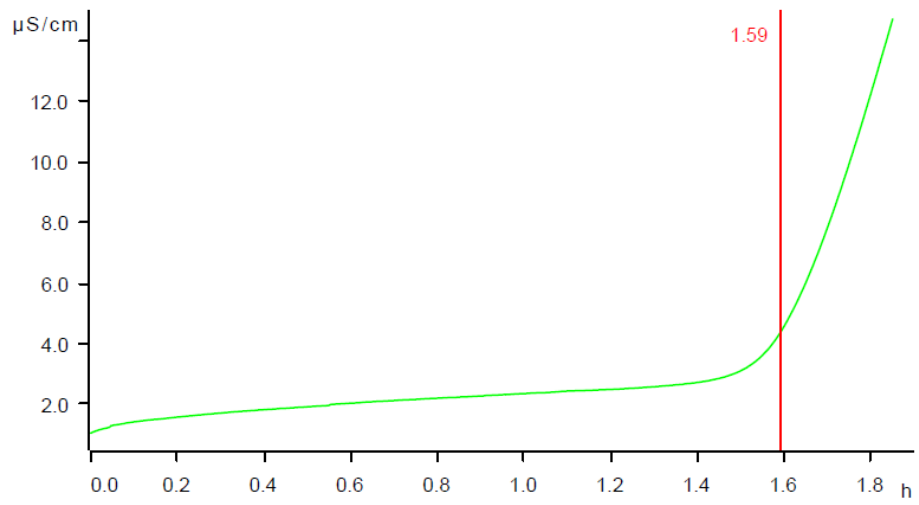
içerisinden saatte 20 L hava geçirilir. Yüksek sıcaklığa maruz kalan yağ örneğinden ayrılan uçucu organik asitler yağ numunesinden geçen ince kapiler borular yardımıyla ultra saf su içeren kaplara taşınır. Yağ örneğinin oksidasyonu ile ultra saf suyun iletkenliği arasında doğrusal bir ilişki gözlenir. (Duman ve diğ., 2015).



Şekil 3. 9: Metrohm marka Ransimat cihazı

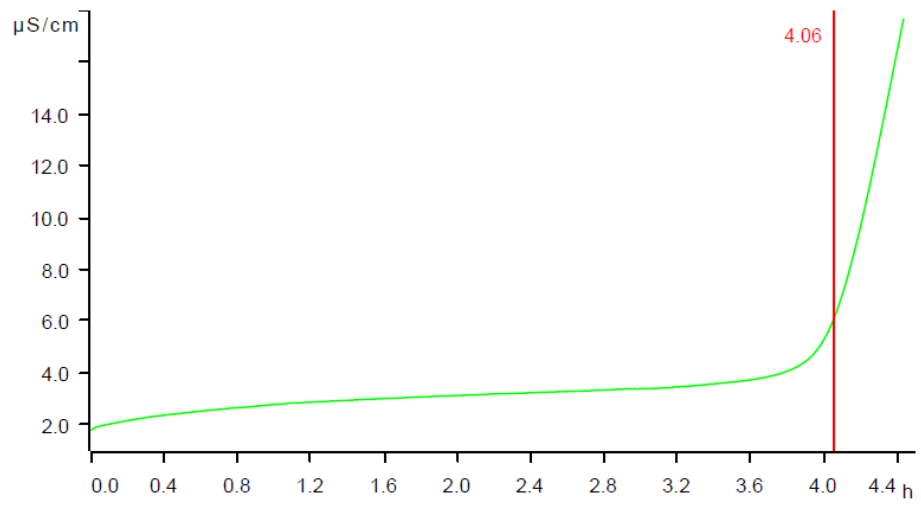
Hızlandırılmış oksidasyon şartlarına (110, 120, 130 ve 140 °C) getirilen cihazda, iletkenliğe karşı zaman grafiğindeki ani değişimin olduğu dönüm noktası otomatik olarak tayin edilir ve indüksiyon süresi ( $I_S$ ) olarak kaydedilir. Şekil 3.10 a, b, c, saf ve zenginleştirilmiş yağ örneklerinin oksidasyona karşı dirençlerini ve  $I_S$ 'lerini temsil etmektedirler.

Curve

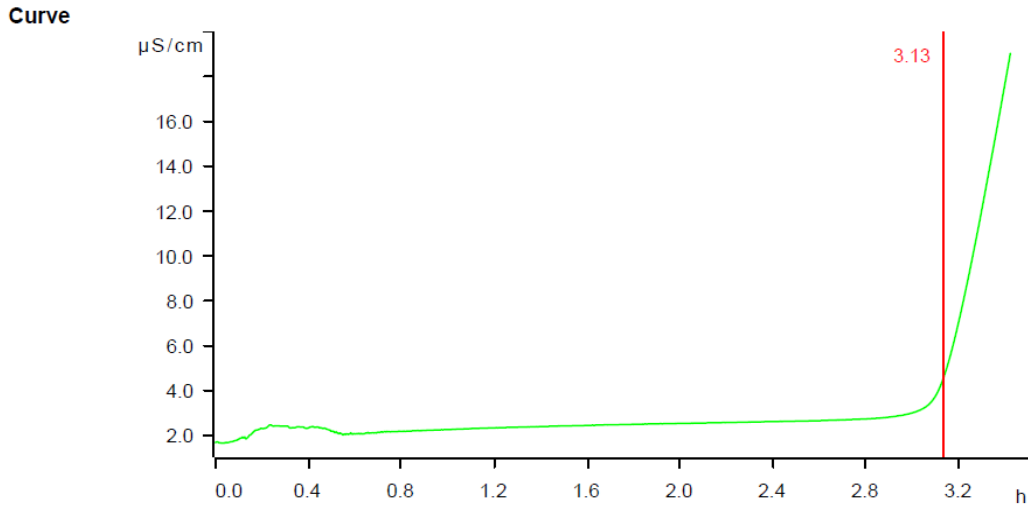


(a)

Curve



(b)



(c)

**Şekil 3. 10:** 140 °C’de oksidasyona maruz bırakılan fındık yağlarının örnek ransimat grafikleri a) katkısız fındık yağı b) gallik asit ile müdahale edilmiş fındık yağı c) TBHQ ile müdahale edilmiş fındık yağı.

### 3.6.5 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

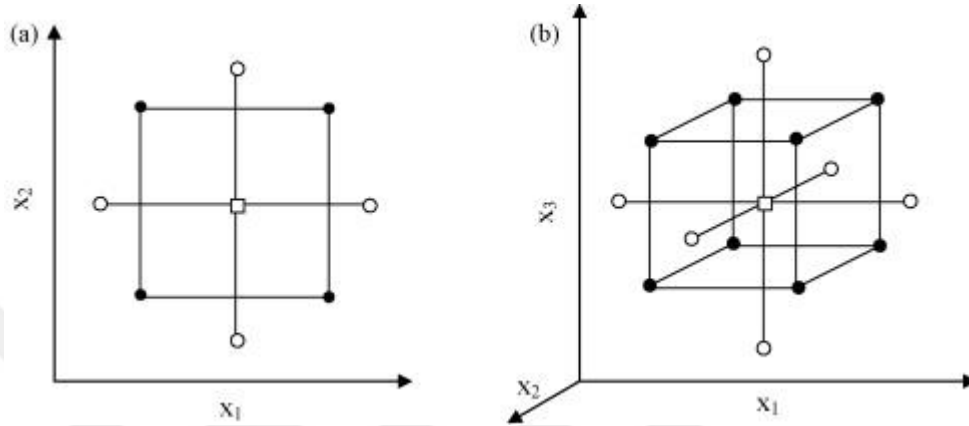
Yağların yapısının aydınlatılması için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi-Zayıflatılmış Toplam Yansıma (FTIR-ATR) spektroskopisi, bir Bruker Alpha FTIR spektrometresi (Bruker Optic GmbH, Ettlingen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 3.7. MERKEZİ KOMPOZİT TASARIM

Merkezi kompozit tasarım ilk olarak Box ve Wilson tarafından sunulmuştur (Box ve Wilson, 1951). Bu tasarım aşağıdaki kısımlardan oluşmaktadır:

- Tam faktöriyel veya kesirli faktöriyel tasarım
- Ek bir tasarım, genellikle deneysel noktaların merkezden uzaklığı olan ( $\alpha$ ) bir yıldız tasarımı
- Merkezi bir nokta.

Şekil 11 a ve b iki ve üç değişkenin optimizasyonu için tam merkezi kompozit tasarımı göstermektedir (Bezerra ve diğ., 2008).



**Şekil 3. 11:** Optimizasyon için merkezi kompozit tasarımlar: (a) iki değişken ( $\alpha = 1,41$ ) ve (b) üç değişken ( $\alpha = 1,68$ ). (●) Faktöriyel tasarım noktaları, (○) aksenal noktalar ve (□) merkezi nokta.

Merkezi kompozit tasarımlar aşağıdaki özellikleri sergilemektedirler:

1.  $N = k^2 + 2k + c_p$  ile deneysel çalışma sayısı hesaplanır. Burada  $k$  faktör sayısını,  $c_p$  ise merkezi noktadaki tekrar sayısını göstermektedir.
2.  $\alpha$ -değerleri değişkenlerin sayısına bağlıdır ve
 
$$\alpha = 2^{(k-p)/4} \quad (3.3)$$
 ile hesaplanır. İki, üç ve dört değişken için sırasıyla, 1,41; 1,68 ve 2,00'dir.
3. Tüm faktörler beş seviyede ( $-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$ ) çalışılır.

Şekil 11 a ve b sırasıyla iki ve üç değişkenli optimizasyon için merkezi kompozit tasarımların gösterimlerini sergilemektedir.

Bu çalışmada, YYY aracılığıyla *Yüzey Merkezli Kompozit* (YMK) tasarımı uygulanmıştır. Bu yöntem için Design-Expert (Statease, Minneapolis, MN, USA) yazılımı (versiyon 11) kullanılmıştır. İkinci dereceden polinom modeli aşağıda verilen denklem ile ifade edilmektedir:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3.4)$$

$\beta_0$ : Sabit

$\beta_i$ : Lineer etki katsayısı

$\beta_{ii}$ : İkinci dereceden kuvvetin etki katsayısı

$\beta_{ij}$  (i ve j = 4): Etkileşim katsayısı

$X_i$  (i = 1-4): Kodlanmamış faktör

Y: Yanıt (bağımlı değişken)

### 3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Model uyumunu değerlendirmek ve değişkenler arasındaki etkileşimi belirlemek için yine aynı yazılımı kullanarak varyans analizi (ANOVA) testi kullanılmıştır. Ayrıca model uyumunun doğrulanması için bağımsız ve bağımlı değişkenlere *uyum eksikliği* (lack of fit) testi uygulanmıştır.

Diğer taraftan, üç tekrarlı ölçümlerin ortalamaları, InStat® yazılımı (GraphPad, San Diego, CA, ABD) kullanılarak ANOVA testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Yine aynı yazılım ile Tukey testi uygulanarak ortalamalar arasındaki farklılıkların önemi ölçülmüştür.

## 4. BULGULAR

### 4.1. ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRAKTININ HAZIRLANMASI

Zeytin yaprakları kurutulup öğütüldükten sonra homojenizatör desteği ile ekstrakte edilmiştir. Deneysel planı, Design Expert paket programı kullanılarak YYY yöntemi aracılığıyla YMK tasarım uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.1, deneysel çalışmalarda kullanılmış olan deneysel tasarımı sergilemektedir. Her bir koşulun toplam fenolik ve flavonoid madde miktarlarına ve ekstraktların serbest radikalleri süpürme aktivitesine etkisi üç tekrarlı ölçümlerin sonucu ( $\pm$ standart sapma) şeklinde verilmiştir.

**Tablo 4. 1:** Zeytin yapraklarının homojenizatör ile ekstraksiyonunda YYY vasıtasıyla YMK tasarımı ile elde edilen deneysel tasarım ve elde edilen bulgular\*.

No	A (%, v/v)	B (dak)	C (rpm)	TPM (mg-GAE/g-KM)	TFM (mg-KE/g-KM)	AA (%inhibisyon)
1	30	1	7000	41,12 $\pm$ 0,007	49,54 $\pm$ 0,002	93,55 $\pm$ 0,006
2	30	0,5	4000	39,5 $\pm$ 0,005	44,74 $\pm$ 0,001	93,5 $\pm$ 0,007
3	50	0,5	7000	38,77 $\pm$ 0,004	55,63 $\pm$ 0,003	94,1 $\pm$ 0,009
4	30	1,5	10000	44,71 $\pm$ 0,002	54,37 $\pm$ 0,002	93,4 $\pm$ 0,007
5	70	0,5	4000	37,73 $\pm$ 0,007	45,17 $\pm$ 0,004	94,3 $\pm$ 0,011
6	30	1,5	4000	44,95 $\pm$ 0,003	52,67 $\pm$ 0,001	93,55 $\pm$ 0,005
7	50	1	7000	38,45 $\pm$ 0,007	57 $\pm$ 0,001	94 $\pm$ 0,006
8	50	1	4000	38,19 $\pm$ 0,007	50,1 $\pm$ 0,003	93,85 $\pm$ 0,004
9	70	0,5	10000	34,31 $\pm$ 0,002	41,69 $\pm$ 0,002	94,2 $\pm$ 0,013
10	70	1	7000	37,72 $\pm$ 0,001	43,6 $\pm$ 0,003	94,1 $\pm$ 0,008
11	30	0,5	10000	39,69 $\pm$ 0,006	41,31 $\pm$ 0,004	93,5 $\pm$ 0,003

12	50	1,5	7000	40,7±0,008	59,09±0,003	94,1±0,008
13	50	1	7000	38,33±0,007	57,84±0,002	94±0,007
14	50	1	7000	38,47±0,005	56,98±0,003	94,1±0,002
15	50	1	7000	38,5±0,004	56,99±0,003	93,95±0,003
16	50	1	7000	38,62±0,003	57,21±0,002	93,95±0,003
17	70	1,5	10000	34,54±0,0017	48,05±0,004	94,3±0,006
18	70	1,5	4000	37,1±0,002	46,37±0,005	94,2±0,004
19	50	1	10000	37,47±0,008	61,01±0,003	93,95±0,009
20	50	1	7000	38,44±0,001	57,12±0,002	93,95±0,005

\* Veriler ortalama ± standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.1. Modelleme ve Optimizasyon

Design Expert paket programı, üstte bahsedilmiş olan deneysel tasarımın yanında her bir cevap değeri (TPM, TFM ve AA) için proses değişkenleri açısından (çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızı) söz konusu sistemin modellenmesi ve optimum proses şartlarının hesaplanması için de kullanılmıştır. Tablo 4.2, ilgili yaprak örneklerinden ekstrakte edilmiş ve sırasıyla TPM, TFM ve AA için türetilmiş olan kuadratik polinom modellerini göstermektedir.

**Tablo 4. 2:** YYY vasıtasıyla YMK tasarımı ile türetilmiş model eşitlikleri ve modellerin uyumluluk göstergeleri.

Bağımlı değişken	Eşitlik	$R^2$	$R^2_{adj}$
TPM	$38,61-2,86A+120B-0,6750C-1,36AB-0,7412AC+0,0538BC+0,5968A^2+0,9118B^2-0,9932C^2$	0,9658	0,9350
TFM	$56,94-1,78A+3,20B+0,7380C-1,68AB-0,0088AC+1,29BC-10,01A^2+0,7850B^2-1,02C^2$	0,9126	0,8339
AA	$93,99+0,355A-0,01B+0,00C+0,0125AB+0,0125AC+0,00BC-0,1545A^2+0,1205B^2-0,0795C^2$	0,9586	0,9214

Tablo 4.2’de de görüldüğü gibi, kodlanmış (değişkenleri yüksek seviyeleri +1, düşük seviyeleri ise -1 olarak) proses parametreleri ile oluşturulmuş olan denklemler her bir bağımsız değişkenin belirli seviyeleri için bağımlı değişken hakkında tahminde bulunmak için kullanılabilir. Diğer taraftan, söz konusu tasarım yöntemi ile türetilmiş olan denklemlerin  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin bire yakın olması da 3 cevap için hesaplanan denklemlerin bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklamaya yeterli olduğunu göstermektedir.

Sonuçların varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi yapılmış ve ilgili bilgiler her bir bağımlı değişken için sırasıyla Tablo 4.3, 4.4 ve 4.5 ile sunulmuştur.  $F$  değerlerinin yüksek olması ve  $p$  değerlerinin 0.05’ten küçük olması söz konusu üç denkleminde deneysel veri setleri için uygun ve istatistiksel olarak önemli bulunduğunu göstermektedir. Zaten bir önceki kısımda da  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin 1’e yakın olduğu belirtilmiş ve modellerin datalar ile uyumlu sonuçlar verdiği hatırlatılmıştı (Tablo 4.2).



**Tablo 4. 3:** Toplam fenolik madde için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri
<b>Model</b>	124,91	9	13,88	31,37	< 0,0001
A-EtOH konsantrasyonu	81,62	1	81,62	184,49	< 0,0001
B-Ekstraksiyon süresi	14,40	1	14,40	32,55	0,0002
C-Karıştırma hızı	4,56	1	4,56	10,30	0,0093
AB	14,77	1	14,77	33,38	0,0002
AC	4,40	1	4,40	9,94	0,0103
BC	0,0231	1	0,0231	0,0522	0,8238
A <sup>2</sup>	0,9795	1	0,9795	2,21	0,1676
B <sup>2</sup>	2,29	1	2,29	5,17	0,0463
C <sup>2</sup>	2,71	1	2,71	6,13	0,0328
<b>Kalıntı</b>	4,42	10	0,4424		
Uyum eksikliği	4,38	5	0,8752	90,79	< 0,0001
Saf hata	0,0482	5	0,0096		
Genel Toplam	129,34	19			

Varyasyon katsayısı (%) = 1,71

TPM'nin ekstraksiyonunda en etkili proses parametresi solvent konsantrasyonu ( $p < 0,0001$ ) olarak bulunmuş, bunu ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızı takip etmiştir (Tablo 4.3). EtOH konsantrasyonunun her iki değişken ile etkileşimi de önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4. 4:** Toplam flavonoid madde için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri
<b>Model</b>	693,28	9	77,03	11,60	0,0003
A-EtOH konsantrasyonu	31,51	1	31,51	4,74	0,0544
B-Ekstraksiyon süresi	102,46	1	102,46	15,43	0,0028
C-Karıştırma hızı	5,45	1	5,45	0,8202	0,3864
AB	22,55	1	22,55	3,40	0,0952
AC	0,0006	1	0,0006	0,0001	0,9925
BC	13,24	1	13,24	1,99	0,1884
A <sup>2</sup>	275,28	1	275,28	41,46	< 0,0001
B <sup>2</sup>	1,69	1	1,69	0,2552	0,6244
C <sup>2</sup>	2,86	1	2,86	0,4309	0,5264
<b>Residual</b>	66,40	10	6,64		
Lack of Fit	65,85	5	13,17	120,17	< 0,0001
Pure Error	0,5480	5	0,1096		
<b>Cor Total</b>	759,69	19			

Varyasyon katsayısı (%) = 4,97

TFM'nin ekstraksiyonunda en etkili proses parametresi solvent konsantrasyonunun ( $p < 0,0001$ ) ikinci dereceden kuvveti bulunmuş, bunu ekstraksiyon süresi takip etmiştir (Tablo 4.4). Etkileşimler bu proses için önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

AA'nin ekstraksiyonunda en etkili proses parametresi solvent konsantrasyonu ( $p < 0,0001$ ) olarak bulunmuş, bunu EtOH kompozisyonunun ve ekstraksiyon süresinin ikinci dereceden kuvveti takip etmiştir (Tablo 4.5). Etkileşimler bu süreç için de önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

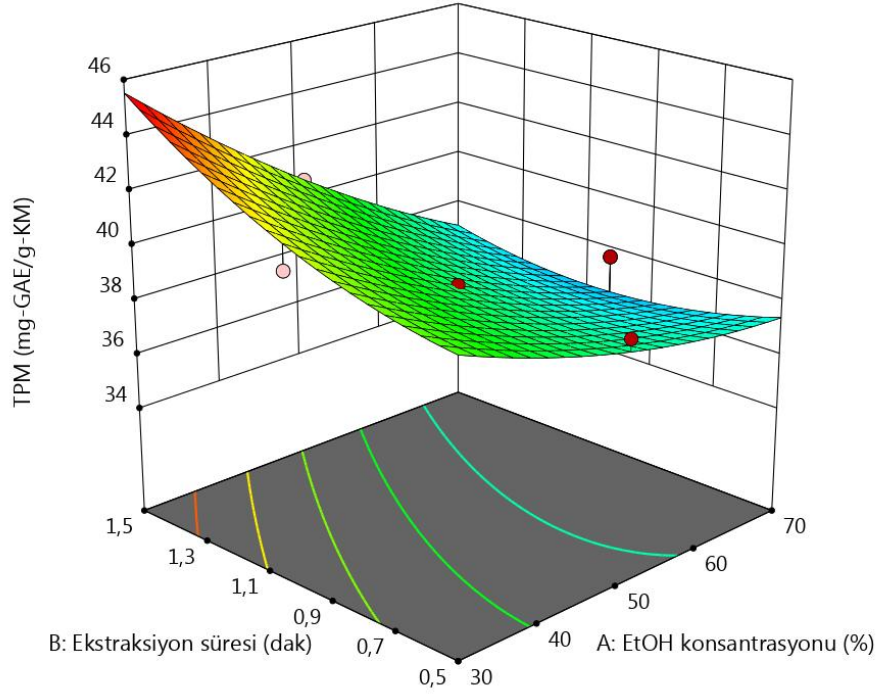
**Tablo 4. 5:** Antoksidan aktivite için türetilmiş olan ikinci dereceden model denklemin ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri
<b>Model</b>	1,39	9	0,1547	25,75	< 0,0001
A-EtOH konsantrasyonu	1,26	1	1,26	209,80	< 0,0001
B-Ekstraksiyon süresi	0,0010	1	0,0010	0,1665	0,6919
C-Karıştırma hızı	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000
AB	0,0012	1	0,0012	0,2081	0,6580
AC	0,0012	1	0,0012	0,2081	0,6580
BC	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000
A <sup>2</sup>	0,0657	1	0,0657	10,93	0,0079
B <sup>2</sup>	0,0399	1	0,0399	6,64	0,0275
C <sup>2</sup>	0,0174	1	0,0174	2,90	0,1196
<b>Residual</b>	0,0601	10	0,0060		
Lack of Fit	0,0430	5	0,0086	2,52	0,1670
Pure Error	0,0171	5	0,0034		
<b>Cor Total</b>	1,45	19			

Varyasyon katsayısı (%) = 0,083

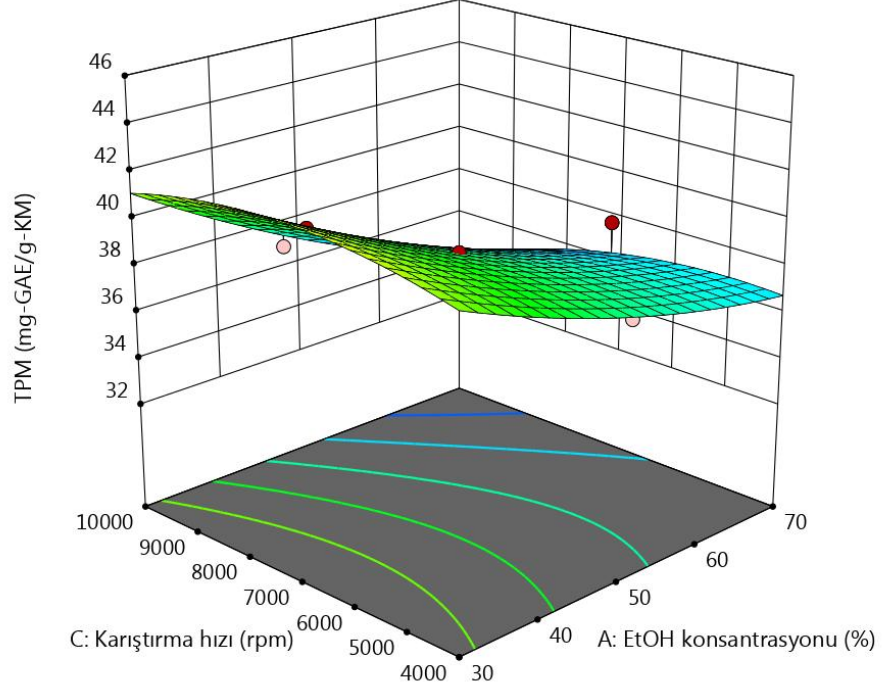
Tablo 4.2’de verilmiş olan denklem ile oluşturulmuş olan üç boyutlu tepki yüzeyleri Şekil 4.1-4.9 ile gösterilmiştir. Bu şekillerde her bir parametrenin cevap değişkenine ve birbirine olan etkisi de görsel olarak sunulmuştur.

Şek 4.1-4.3, fenolik madde miktarına ilgili değişkenlerin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.1, çözücü konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin TPM miktarına etkisini sergilemektedir. Ekstraksiyon süresinin artması ve EtOH konsantrasyonunun azalması ile ekstrakte edilen madde miktarı artmıştır.



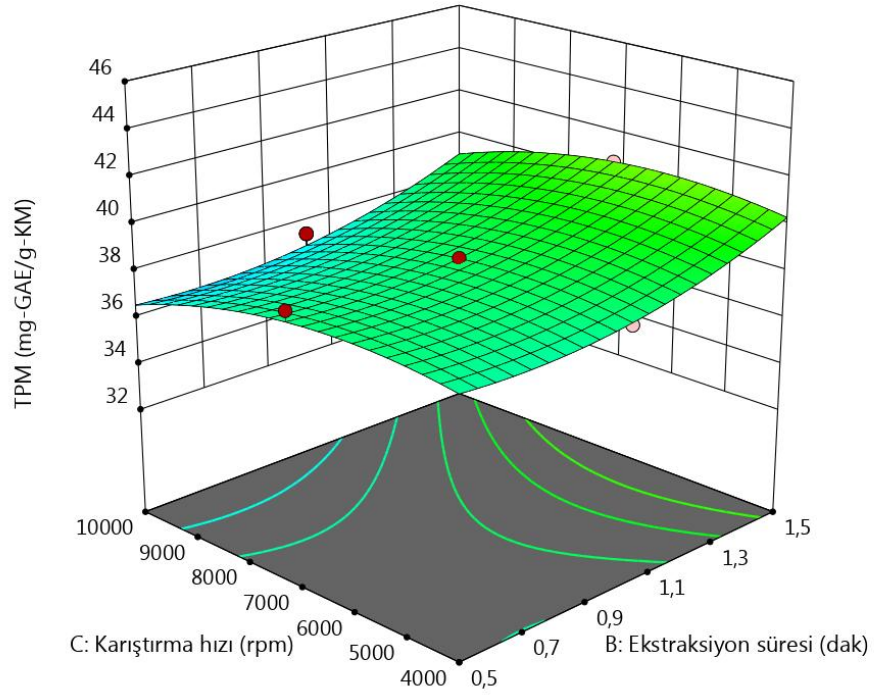
**Şekil 4. 1:** Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun toplam fenolik madde miktarına etkisi.

Şekil 4.2 ise karıştırma hızı ve EtOH oranının TPM miktarına etkisini sergilemektedir. Karıştırma hızının artması belirli bir değere kadar ekstrakte edilen TPM'yi arttırmış, ardından değişimde belirgin bir yükseliş gözlenmemiştir



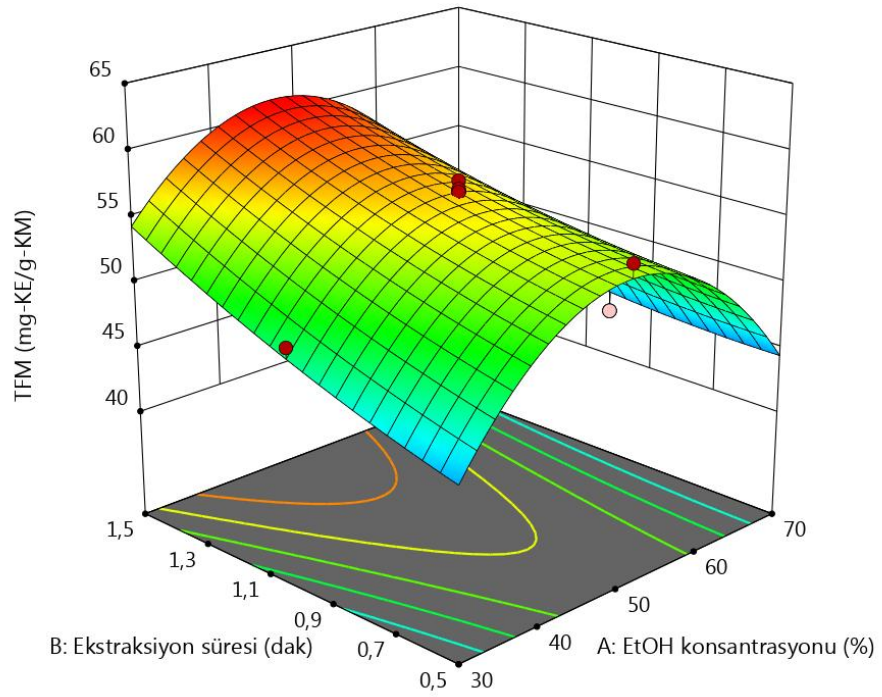
**Şekil 4. 2:** Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun toplam fenolik madde miktarına etkisi.

Şekil 4.3 ise karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresinin TPM miktarına etkisini sergilemektedir. Yukarıda bahsedilen etkiler bu grafikte de sergilenmiştir.



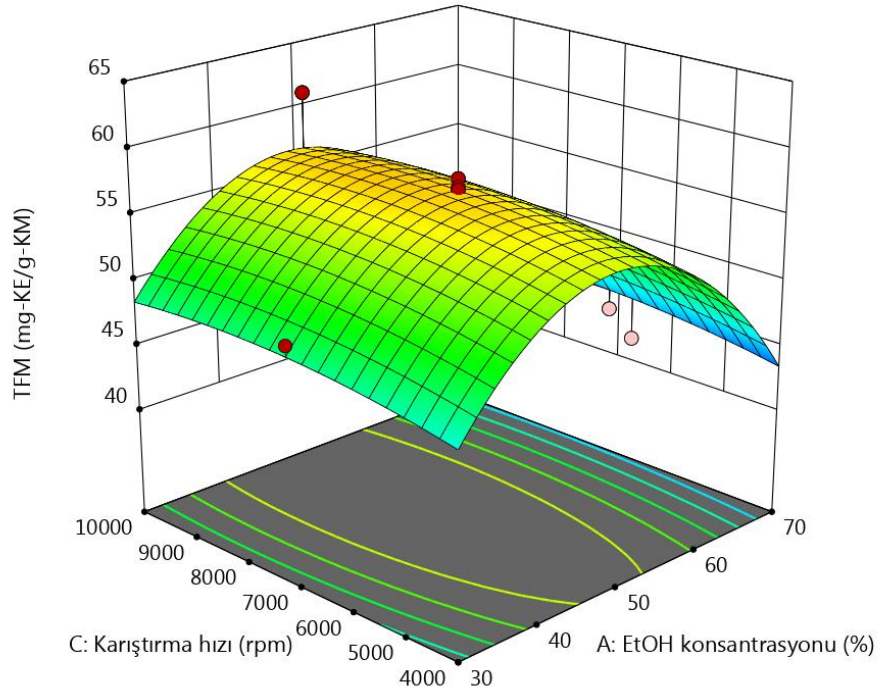
Şekil 4. 3: Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının toplam fenolik madde miktarına etkisi

Şekil 4.4, çözücü konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin TFM miktarına etkisini sergilemektedir. Ekstraksiyon süresinin artması ile verim artmıştır. EtOH konsantrasyonunun artması başlangıçta TFM verimini arttırmış, belirli bir seviyeden sonra ise (>%50) ekstrakte edilen fenolik madde miktarı düşmeye başlamıştır.



Şekil 4. 4: Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun toplam flavonoid madde miktarına etkisi.

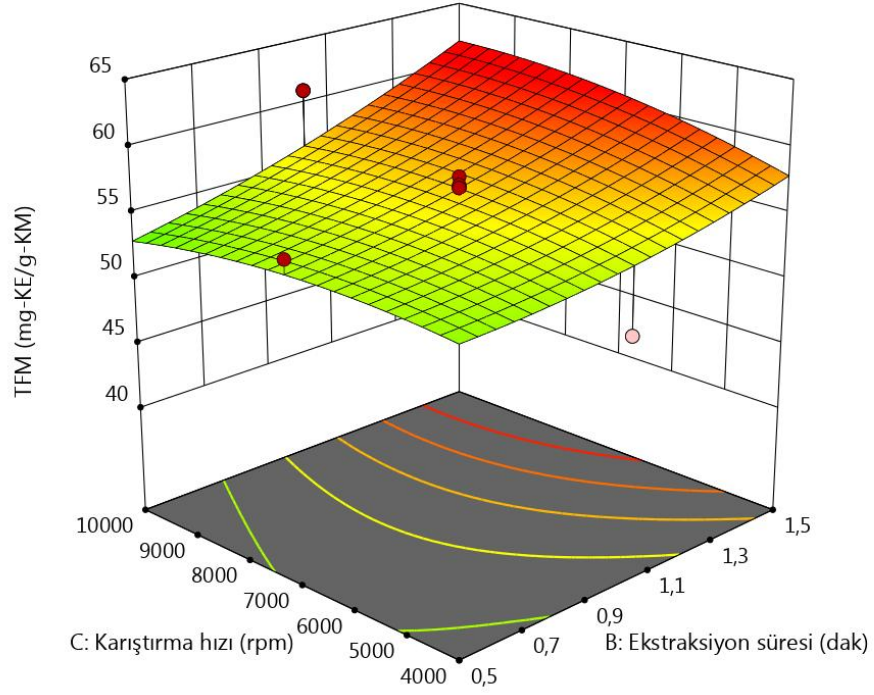
Şekil 4.5 ile karıştırma hızı ve EtOH oranının TFM miktarına etkisi görülmektedir. Karıştırma hızının artması ekstraksiyonda belirgin bir etki göstermemiştir.



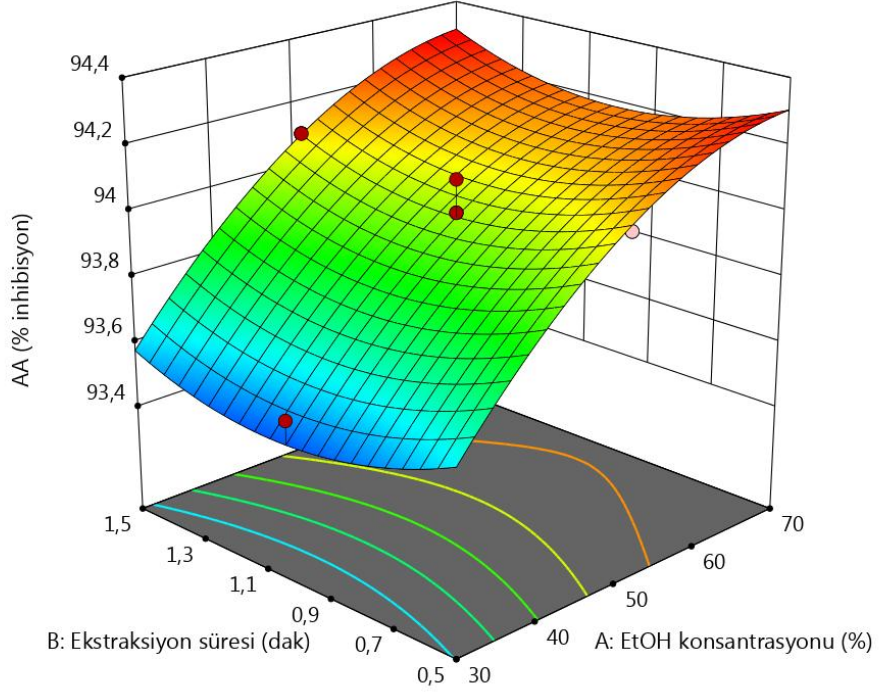
Şekil 4. 5: Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun toplam flavonoid madde miktarına etkisi.



Şekil 4.6 ise karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresinin TPM miktarına etkisini sergilemektedir. Ekstraksiyon süresinin artması TFM miktarını artırmıştır.

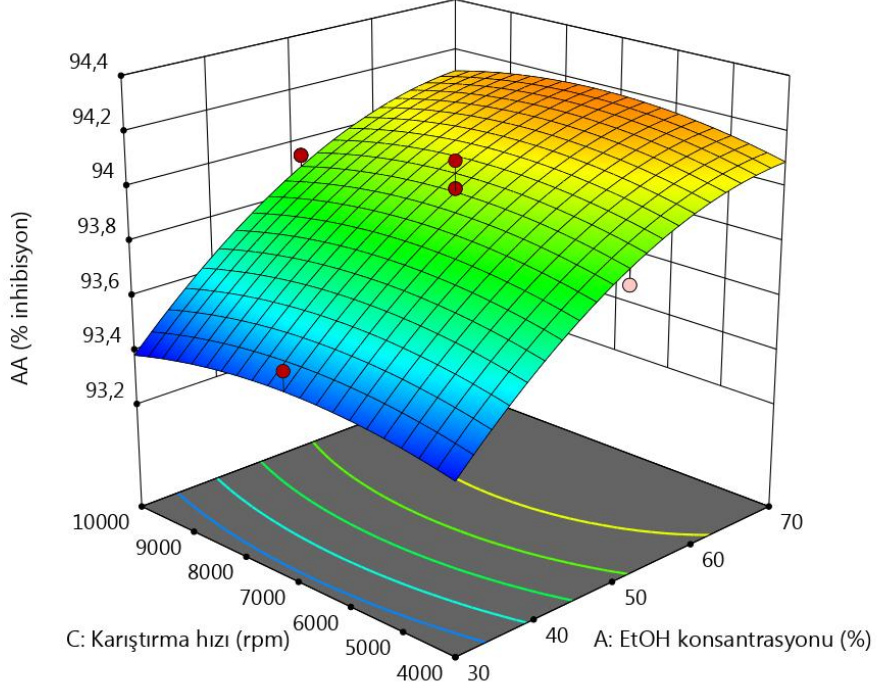


Şekil 4. 6: Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının toplam flavonoid madde miktarına etkisi.



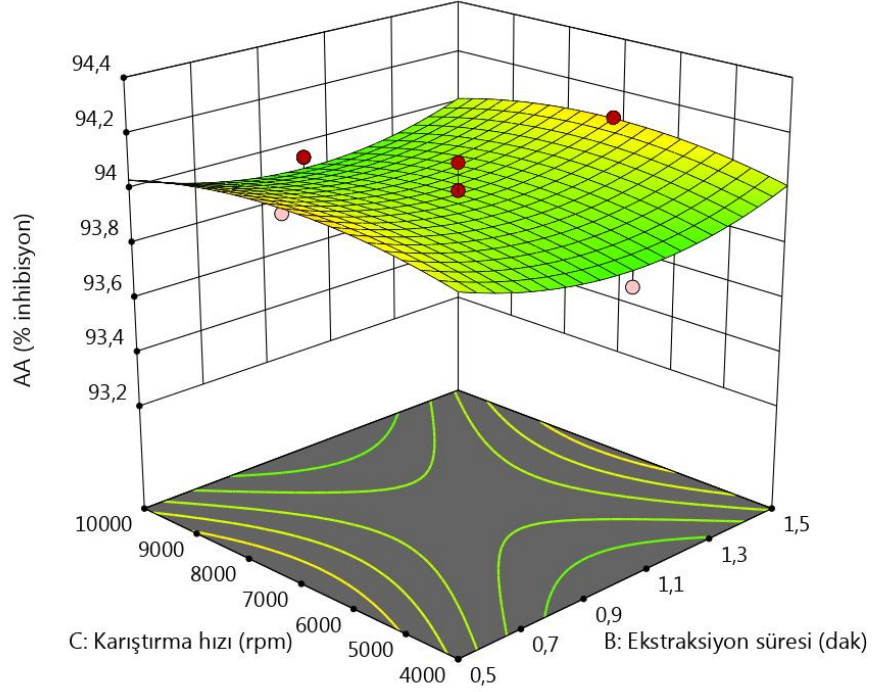
**Şekil 4. 7:** Sabit karıştırma hızında (7000 rpm) ekstraksiyon süresi ve EtOH kompozisyonunun antioksidan aktiviteye etkisi.

Şekil 4.7, çözücü konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresinin ekstrakte edilen ekstraktın antioksidan aktivitesine etkisini sergilemektedir. Ekstraksiyon süresinin artması ile verim önce azalmış, ardından bir artış gözlenmiştir. EtOH konsantrasyonunun artması ise AA'yi belirgin bir şekilde arttırmıştır.



**Şekil 4. 8:** Sabit ekstraksiyon süresinde (1 dak) karıştırma hızı ve EtOH kompozisyonunun antioksidan aktiviteye etkisi.

Şekil 4.8 ile karıştırma hızı ve EtOH oranının AA'ye etkisi görülmektedir. Karıştırma hızının artması ekstraksiyonda belirgin bir etki göstermemiştir.



**Şekil 4. 9:** Sabit EtOH konsantrasyonunda (%50, v/v) ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının antioksidan aktiviteye etkisi.

Şekil 4.9 ile karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresinin AA'ya etkisi görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin artması başlangıçta çok çok az miktarda verimi azaltmıştır. Belirli bir değerden sonra ise (>1 dak) ekstrakte edilen ürünün antioksidan aktivite etkisi çok hafif bir şekilde artmaya başlamıştır.

Tablo 4.6 ile YYY yaklaşımı kullanılarak hesaplanmış olan optimum ekstraksiyon koşulları ve bu koşullarda gözlenen en yüksek TPM, TFM ve AA değerleri verilmiştir

**Tablo 4. 6:** YYY ile hesaplanan optimum ekstraksiyon koşulu ve bu koşullarda elde edilen maksimum cevap değerleri.

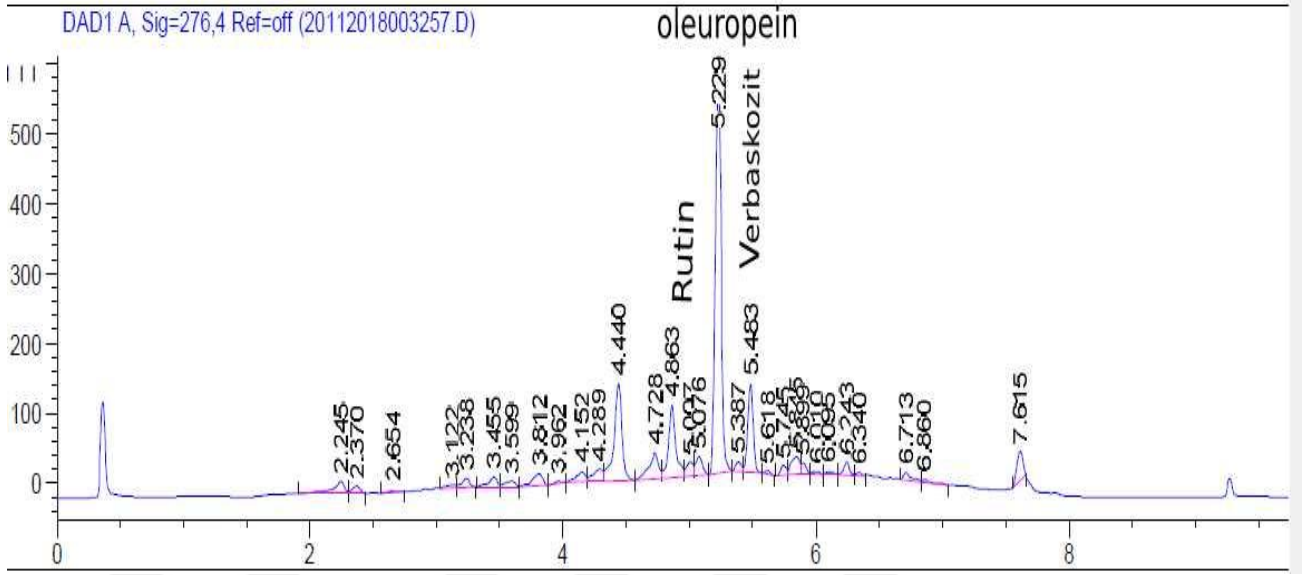
Optimum ekstraksiyon koşulları	Maksimum		
	TPM (mg-GAE/g-KM)	TFM (mg-KE/g-KM)	AA (%inhibisyon)
A (% v/v)	47,46		
B (dak)	1,5	41,30	61,01
C (rpm)	6721		94,05

Bu koşullarda elde edilmiş olan zeytin yaprağı ekstraktının başlıca fenolik bileşikleri HPLC ile analiz edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.7 ile verilmiştir. Söz konusu ekstrakt numunesine ait HPLC kromatogramı Şekil 4.10 ile gösterilmiştir. Görüldüğü gibi, zeytin yaprağı ekstraktının ana bileşeni oleuropeindir. Zeytin yaprağının pek çok farmakolojik etkisi de bu bileşene atfedilmektedir( Şahin ve Bilgin, 2017).

**Tablo 4. 7:** Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilmiş olan zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşenlerinin karşılaştırılması\*.

Oleuropein (mg-GAE/g-KM)	Verbaskozit (mg-GAE/g-KM)	Rutin (mg-GAE/g-KM)
257,49±10.11	57,08±1.10	5,26±0.80

\* Veriler ortalama ± standart sapmayı göstermektedir.



**Şekil 4. 10:** Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilmiş olan zeytin yaprağı ekstraktının HPLC kromatogramı.

#### 4.2. SAF VE İŞLENMİŞ FINDIK YAĞLARININ KALİTE PARAMETRELERİ

Polifenoller, flavonoidler, karotenoidler, tokoferoller ve biyolojik aktiviteye sahip klorofiller gibi fitokimyasallar, yenilenebilir yağların kalitesi açısından değerlendirilmesinde büyük rol oynamaktadır (Hrncirik ve Fritsche, 2005). Tablo 4.8, farklı doğal ve sentetik katkı maddeleri ile işlenmiş fındık yağının kalitatif parametrelerindeki (toplam polifenoller ve antioksidan aktivite) değişimleri göstermektedir. Fındık yağlarının içeriğindeki fenolik madde miktarının yağın serbest radikalleri süpürme aktivitesi ile ilişkili olduğu görülmektedir ( $R^2 > 0,75$ ). Bu tatmin edici korelasyon dikkate alındığında, fındık yağının polar fenolik bileşenlerinin çoğunlukla antioksidan kapasitesinden sorumlu olduğu sonucuna varabiliriz. Zira  $\beta$ -karoten gibi lipofilik bir katkının yağın antioksidan kapasitesine katkısı diğerlerine nazaran oldukça düşüktür (Tablo 4.8). Katkı maddeleri açısından değerlendirdiğimizde en yüksek zenginleşmenin gallik asitle gerçekleştiğini hatta sentetik bir katkı maddesi olan TBHQ'dan bile yüksek bir etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz. Bu iki maddeyi zeytin yaprağı ekstraktı takip etmektedir. Gıdalarda sık kullanılan diğer bir sentetik katkı maddeside BHT'dir. Bu madde fenolik madde miktarına bir katkıda bulunmamış ama antioksidan aktiviteyi arttırmıştır.

**Tablo 4. 8:** Farklı katkı maddeleri ile muamele edilen fındık yağının kalitatif parametrelerindeki değişimler\*.

Yağ örneği	TPM (mg/L)	AA (%inhibisyon)
Saf	60,50±0,001	2,05±0,001
Gallik asit	95,50±0,003	38,49±0,009
β-karoten	70,50±0,003a	4,18±0,001
Gallik asit+β-karoten	70,50±0,001a	8,65±0,001
Zeytin yaprağı ekstraktı	78,00±0,004	19,50±0,003
TBHQ	80,50±0,003	9,53±0,001
BHT	57,12±0,002	6,30±0,003

\*Veriler ortalama ± standart sapmayı göstermektedir. Ortak harfleri paylaşan satırlar istatistiksel olarak aynı sonuçları belirtmektedir ( $p>0,05$ ).

Yağın peroksit değeri (*PD*) de ürünün kalite parametresi olarak değerlendirilmektedir (Rafiee ve diğ., 2012; Taghvaei ve diğ., 2014). *PD*, yağda bulunan birincil lipid oksidasyon ürünlerini ifade etmektedir. Tablo 4.9, 80 gün boyunca ortam koşullarında karanlıkta tutulan örneklerin peroksit değerlerini göstermektedir. Beklenildiği üzere saf fındık yağı, biyoaktif içeriğinden dolayı oksidasyona karşı en az aktiviteyi göstermiştir (Tablo 4.8). Örnekler, 65. ve 80. günlerden sonra peroksit değerlerinde istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı değerler göstermiştir ( $p<0,001$ ).

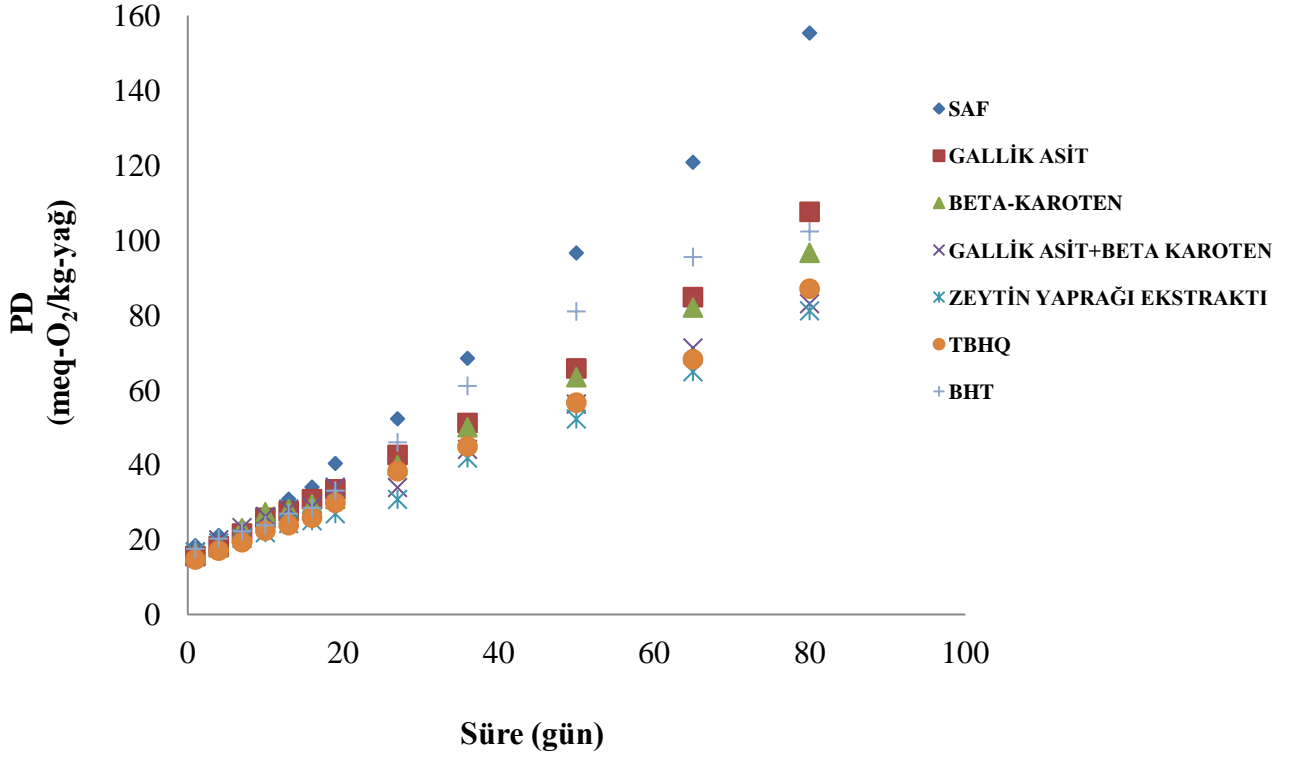
**Tablo 4. 9:** Karanlık ortam koşullarında depolanmış olan işlenmiş ve işlenmemiş fındık yağlarının peroksit değerlerindeki (meq-O<sub>2</sub>/kg-yağ) değişim\*.

Yağ örneği	Süre (gün)											
	0	4	7	10	13	16	19	27	36	50	65	80
<b>Saf</b>	18,43±0,40a	21,12±0,12	23,45±0,07a	27,17±0,01a	30,81±0,04	34,05±0,08	40,37±0,03	52,30±0,05	68,44±0,33	96,58±0,47	120,82±0,09	155,33±0,65
<b>Gallik asit</b>	15,65±0,83b	18,27±0,40a	21,64±0,06	25,84±0,61b	27,58±0,06	30,81±0,15	33,44±0,12a	42,63±0,91	51,17±0,03	65,74±0,32	84,79±0,05	107,58±0,99
<b>β- karoten</b>	16,49±0,06bc	17,95±0,30a	23,08±0,07a	27,36±0,08a	28,17±0,18a	29,48±0,24	30,90±0,02	39,90±0,02	50,04±0,13	63,42±0,04	82,02±0,13	96,64±0,22
<b>Gallik asit+β- karoten</b>	16,77±0,17cd	19,95±0,14b	23,23±0,03a	26,22±0,16b	28,16±0,13a	28,81±0,03a	34,04±0,11	33,93±0,52	44,13±0,00	56,23±0,20a	71,23±0,97	83,04±0,47
<b>Zeytin yaprağı ekstraktı</b>	16,64±0,20bc e	19,14±0,05	20,38±0,35	21,87±0,22c	24,30±0,12	25,06±0,01	26,93±0,22	30,76±0,18	41,80±0,01	52,22±0,02	64,86±0,18	81,12±0,18
<b>TBHQ</b>	14,71±0,03	17,07±0,04	19,32±0,35	22,40±0,24c	23,88±0,12	25,88±0,02a	29,85±0,05	38,29±0,26	44,92±0,31	56,59±0,15a	68,18±0,98	87,04±0,69
<b>BHT</b>	17,55±0,24ad e	20,28±0,12b	22,26±0,28	23,84±0,01	26,94±0,21	28,50±0,10	33,10±0,29a	46,00±0,55	61,07±0,01	80,97±0,10	95,50±0,61	102,32±0,49

\*Veriler ortalama (n=3) ± standart sapmayı göstermektedir. Ortak harfleri paylaşan satırlar istatistiksel olarak aynı sonuçları belirtmektedir ( $p>0,05$ ).



Birlikte, oksidasyona karşı aynı eğilime sahip oldukları Şekil 4.11 ile gösterilmiştir. PD ile depolama periyodu arasında doğrusal bir korelasyon ( $R^2>0,98$ ) gözlenmiştir.



**Şekil 4. 11:** Saf ve farklı katkı maddeleri ile işlenmiş fındık yağlarının zamanla peroksit değerindeki değişim.

Yenilebilir bir yağın kalitesi, biyoaktif bileşenlerinin yanında oksidatif stabilitesi ile de değerlendirilebilir (Şahin ve diğ., 2017). Saf ve işlenmiş yağların oksidatif stabilitesi, Tablo 4. 10 'da görüldüğü gibi ürünün kalite parametresi olarak değerlendirilmiştir. İndüksiyon süresi, oksidasyona karşı yağın dayanıklılığının karakterize edilmesinin bir göstergesidir. Yağ örneklerinin oksidasyona karşı stabilitesi, yükseltilmiş sıcaklık değerlerinde (24 saatten daha kısa bir süre boyunca 110-140°C' de) hızlı hidroperoksit ayrışması nedeniyle hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında ölçülmüştür.

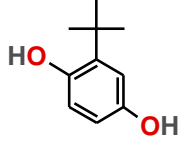
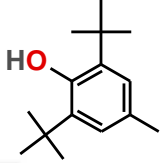
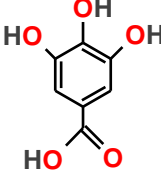
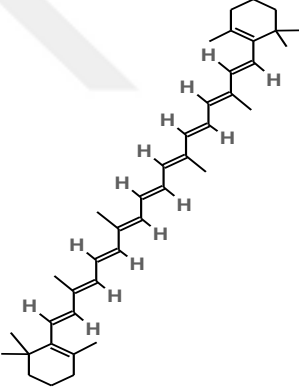
**Tablo 4. 10:** Farklı katkı maddeleri ile muamele edilmiş fındık yağının indüksiyon sürelerine göre karşılaştırmalı sonuçları\*.

Yağ örneği	İndüksiyon süresi (saat)			
	110°C	120°C	130°C	140°C
Saf	13,67±0,012	6,17±0,014	3,11±0,007	1,56±0,000
Gallik asit	42,60±0,007	19,44±0,000	7,85±0,000	3,90±0,000
β-karoten	12,47±0,004	5,76±0,003	2,76±0,001	1,40±0,000
Gallik asit+β-karoten	18,88±0,004	8,48±0,002	4,22±0,009	2,18±0,009
Zeytin yaprağı ekstraktı	17,44±0,003	7,40±0,004	4,01±0,014	2,00±0,011
TBHQ	21,35±0,014	12,89±0,001	5,92±0,004	3,10±0,010
BHT	13,15±0,024	6,05±0,008	2,88±0,001	1,52±0,004

\*Veriler ortalama ± standart sapmayı göstermektedir. Tüm veriler istatistiksel olarak farklı sonuçları belirtmektedir ( $p<0,001$ ).

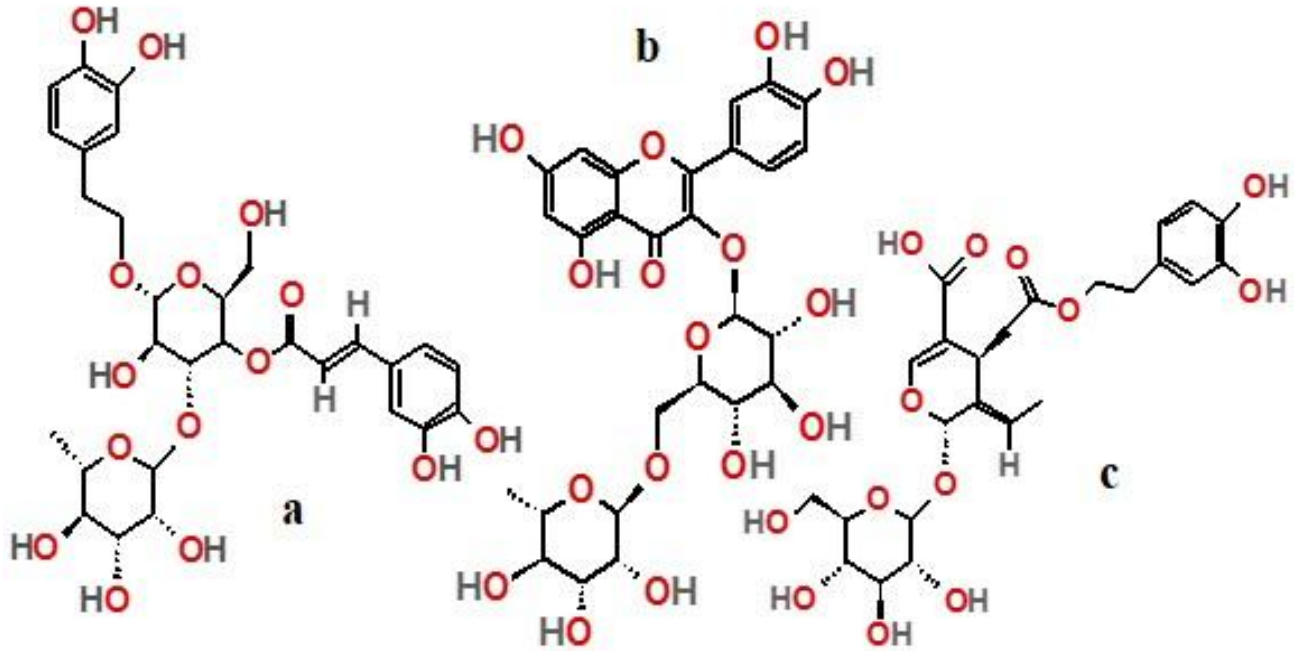
Tablo 4.10, doğal gallik asidin, yağların stabilitesini arttırmada sentetik olanlardan daha üstün olduğunu göstermektedir. İşlenmemiş numuneye göre yağın raf ömrünü yaklaşık 3 kat arttırmıştır. Benzer şekilde Artajo ve arkadaşları da zeytinyağının raf ömrünü arttırmada gallik asidin diğer fenolik bileşiklere göre için en iyi performansı gösterdiğini gözlemlemiştir (Artajo ve diğ., 2006). Bu durum, fenolik halka içindeki bir 3,4,5-trihidroksi fonksiyonel grubunun (Tablo 4.11), diğer katkı maddelerinden daha yüksek bir proton dislokasyonuna izin veren yapısı ile açıklanmaktadır.

**Tablo 4. 11:** Bu çalışmada fındık yağına uygulanan sentetik ve doğal katkı maddeleri

Katkı maddesi	Sentetik/Doğal	Molekül formülü	Molekül ağırlığı (g/mol)	Molekül yapısı*
<b>TBHQ</b>	Sentetik	$C_{10}H_{14}O_2$	166,22	
<b>BHT</b>	Sentetik	$C_{15}H_{24}O$	220,35	
<b>Gallik asit</b>	Doğal	$C_7H_6O_5$	170,12	
<b><math>\beta</math>-karoten</b>	Doğal	$C_{40}H_{56}$	536,89	
<b>Zeytin yaprağı**</b>	Doğal	-	-	-

\* ACD/ChemSketch 12,0 bilgisayar yazılımı ile çizilmiştir.

\*\* Zeytin yaprağı içerisindeki doğal antioksidan özellikteki başlıca fenolik bileşenler Şekil 4.12 ile gösterilmiştir.



**Şekil 4. 12:** Zeytin yaprağı içerisindeki başlıca fenolik bileşiklerin molekül yapıları (a) verbaskozit (b) rutin (c) oleuropein.

Gallik asidi TBHQ, gallik asidin karoten ile olan sinerjismi ve zeytin yaprağı ekstraktı takip etmiştir. Aslında, BHT seçilen bitkisel yağın oksidatif stabilitesini geliştirmek için yetersiz bulunmuştur. Bu, ilgili sentetik antioksidanın termal stabilitesine bağlanabilir. Santos ve arkadaşları ticari sentetik antioksidanların ısı direncinin TBHQ > BHA > BHT sırasına göre olduğunu göstermiştir (Santos ve diğ., 2012). Bu nedenle, bu tez kapsamında elde edilen bulgular TBHQ'nun genel olarak tüm yağ türlerinin dayanıklılığını arttırmak için yeterli olduğu söz konusu rapor ile tutarlıdır.

Diğer taraftan, litre yağ başına 200 mg karotenin (katkı maddesi konsantrasyonu üzerindeki yasal gıda ve sağlık komitelerinin kısıtlamalarından dolayı) oksidatif hasara karşı koruyucu olacak kadar etkili olmadığı görülmüştür. Ayrıca, daha yüksek seviyelerde karotenin eklenmesi, kalitatif (ayırt edici renk ve lezzet) bakış açısından pratik olmayacaktır (Warner ve Frankel 1987).

#### 4.2.1. Fındık Yağı İçerisindeki Katkı Maddelerinin Yağa Kazandırdıkları Kalite Parametrelerine Göre Karşılaştırılması

Tablo 4.12, farklı doğal ve sentetik fitokimyasallarla işlenen fındık yağlarının kalitatif parametrelerindeki artışları özetlemektedir.

Görüldüğü gibi tüm parametrelerde en yüksek artışı gallik asit göstermiştir. Ayrıca, tüm durumlarda en yüksek fenolik madde ve antioksidan kapasitesi en yüksek indüksiyon süresine sebebiyet vermemiştir. Bu, yağın oksidatif stabilitesinin sadece toplam biyofenoller ile değil, aynı zamanda seçilmiş ana bireysel bileşiklerin veya vitaminler, mineraller, asitler, şekerler ve bunların sinerjik etkileri gibi diğer maddelerin varlığıyla da ilişkili olduğu gerçeği ile açıklanabilir. Zira Folin testi genellikle örnekte bulunan moleküllerin toplam aromatik halka sayısını tanımlamaktadır (Corrales diğ., 2008).

**Tablo 4. 12:** Çeşitli katkı maddeleri ile muamele edilmiş fındık yağlarının kalite parametrelerindeki artış\*.

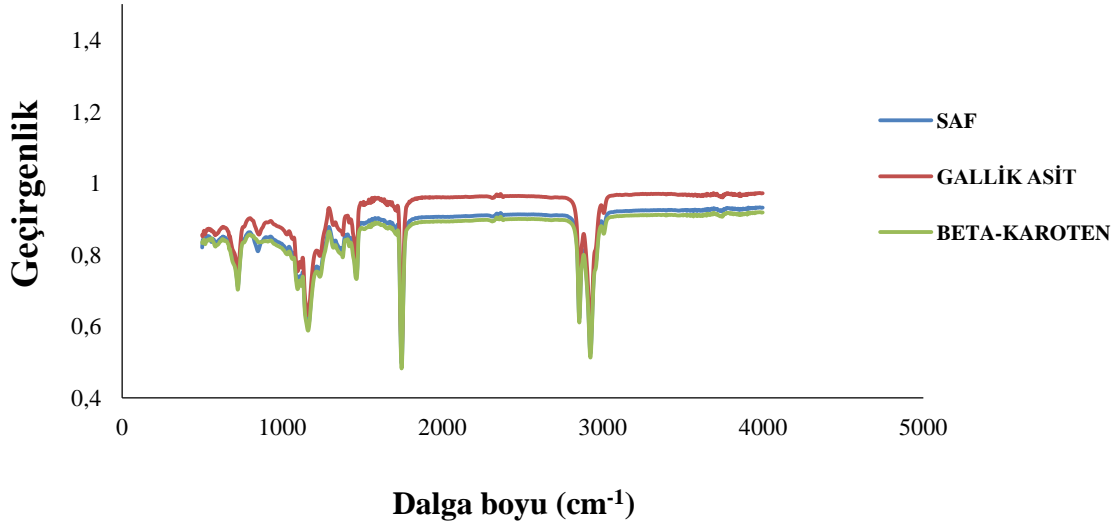
<b>Katkı maddesi</b>	<b>TPM (%)</b>	<b>AA (kat)</b>	<b>İndüksiyon süresi (kat)</b>
Gallik asit	57,85	18,78	≈3
β-karoten	16,53	2,03	T.E.
Gallik asit+β-karoten	16,53	4,22	≈1,4
Zeytin yaprağı ekstraktı	28,93	9,51	≈1,3
TBHQ	33,06	4,65	≈2
BHT	T.E.**	3,07	T.E.

\*Veriler ortalama ± standart sapmayı göstermektedir.

\*\*T.E.: Tespit edilmedi.

#### 4.2.2.Fındık Yağlarının İnfared Spektrumları

Saf ve işlenmiş fındık yağlarının (gallik asit ve  $\beta$ -karoten ile) kızılötesi spektrumları, Şekil 4.13 ile gösterilmiştir. Spektrumlar, 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki dalga boyu aralığını kapsamaktadır.



Şekil 4. 13: Saf fındık yağı ve gallik asit ve  $\beta$ -karoten ile zenginleştirilmiş fındık yağlarının kızılötesi spektrumları.

Zenginleştirilmiş fındık yağları, katkı maddesi bileşiminin IR spektrumunda tespit edilemeyecek kadar düşük olmasından dolayı, işlenmemiş yağ ile aynı bantları üretmiştir. Gallik aside ait 3010 ila 3670  $\text{cm}^{-1}$ 'da bulunan -OH fonksiyonel grubunu kapsayan pikler tespit edilmemiştir. 1750-1735  $\text{cm}^{-1}$  arasında görülen en keskin pik, esterlerin C=O gerilmesine karşılık gelmektedir. Ayrıca, 1150  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki orta bantlar, esterlerin C-O' sundan gelir. Yaklaşık 1450  $\text{cm}^{-1}$  deki bantlar, alkenlerin C-H gerilmesine katkıda bulunur. 2930 ve 2850  $\text{cm}^{-1}$ ' de bulunan iki keskin bölge -CH<sub>2</sub> grubuna tekamül eder (Focke ve diğ., 2012). 700-725  $\text{cm}^{-1}$  deki bant, yağ asitlerine ait uzun - (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- zincirlerine karşılık gelmektedir (Uluata ve Özdemir, 2012).

#### 4.3. LİPİD OKSİDASYONUNUN KİNİTİK VE TERMODİNAMİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Lipid oksidasyonu, yağ endüstrisindeki ürün kalitesini etkileyen en önemli sorunlardan biridir. Lipid oksidasyonunun kinetik ve termodinamik özellikleri uygun şekilde anlaşılırsa,

gıda ürünlerinin formülasyonu, bir gıda sisteminde mevcut olan yağın kalitesini arttırmak ve istenmeyen bozunma ürünlerinin görünümünü azaltmak için ayarlanabilir (Tan ve diğ., 2001). Ancak, bitkisel yağlardaki oksidatif stabiliteyi değerlendirmek için Rancimat yöntemiyle elde edilen kinetik ve termodinamik veri sayısı son derece azdır. Kowalski ve arkadaşları çeşitli sıcaklık değerleri altında (90-160 °C) kolza tohumu, ayçiçeği ve soya fasulyesi yağlarını hızlandırılmış koşullar altında oksitlemek için Rancimat aparatını kullanmıştır (Kowalski ve diğ., 2004). Arrhenius modeli ve aktifleşmiş kompleks teorisi ile her bir yağ için  $k$ ,  $E_a$ ,  $\Delta H^{++}$  ve  $\Delta S^{++}$  değerlerini hesaplamışlardır. Benzer şekilde Ostrowska-Ligeza ve arkadaşları aynı denklemleri Rancimat test koşulları (100-140 °C) altında birkaç ticari zeytinyağının lipid oksidasyonu için aynı parametreleri hesaplamak için uygulamıştır (Ostrowska-Ligeza ve diğ., 2010). Bazı bitkisel yağların (rafine edilmiş kanola, mısır, soya fasülyesi ve ayçiçeği yağları) oksidasyona karşı direnci de, 100, 110, 120 ve 130 °C sıcaklık değerlerinde Rancimat ile benzer kinetik parametrelere göre izlenmiştir (Farhoosh ve diğ., 2008). Farhoosh ve Hoseini-Yazdi, hızlandırılmış Rancimat koşulları (100-130 °C) altında elde edilen kinetik çalışmalarla ilgili olarak zeytinyağı oksidasyon sürecini bildirmişlerdir (Farhoosh ve Hoseini-Yazdi, 2014). Bitkisel yağlarda meydana gelen lipid oksidasyonu, her sistem için spesifiktir. Bu nedenle, her bir yağ sistemi için ilgili ürünlerin özelliklerini ayırt etmek maksadıyla Arrhenius denklemi yeniden üretilmelidir (Tan ve diğ. 2001). Bilindiği kadarıyla fındık yağı, Arrhenius kinetiği ve termodinamik parametreleri açısından incelenmemiştir.

#### 4.3.1 Kinetik Çalışmalar

Aşağıdaki model, indüksiyon zamanı (oksidasyona karşı yağın kararlılığı) ve sıcaklık arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır. Söz konusu denklem, sıcaklık ile oksidasyon periyodu arasındaki kuvvetli ilişkiyi belirtmektedir:

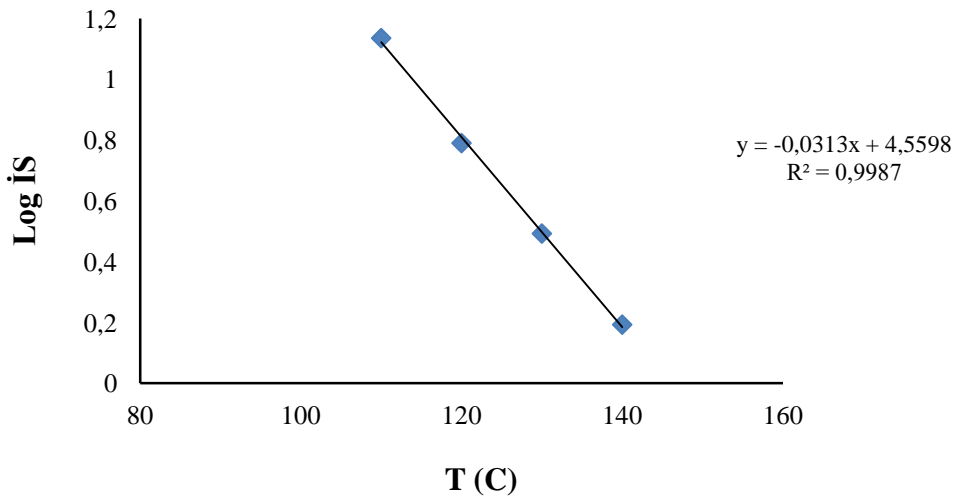
$$\log \dot{I}S = a(t) + b \quad (4.1)$$

$\dot{I}S$ : İndüksiyon süresi (saat)

t: Sıcaklık (°C)

a ve b: Denkleme ait katsayılar

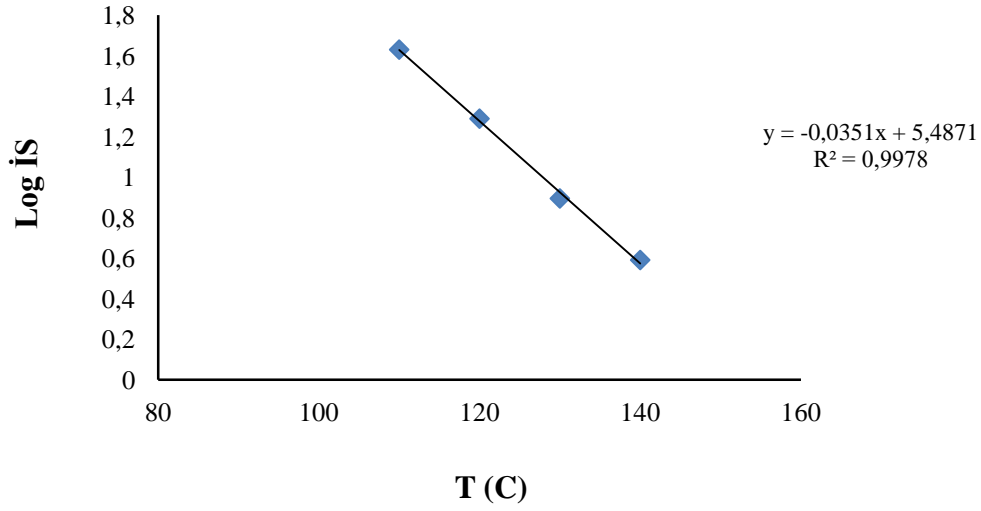
Şekil 4.14- 4.20 sırasıyla saf ve farklı katkı maddeleri ile işlenmiş olan fındık yağlarının sıcaklık-oksidasyon süresi arasındaki ilişkiyi sergilemektedir. Şekillerden de anlaşıldığı gibi korelasyon katsayılarının 1'e son derece yakın olması ( $R^2 > 0,98$ ) bu ürünlerin oda sıcaklığında raf ömürlerinin ilgili denklemlerden tahmin edilebileceğini göstermektedir. İlgili denklemler kullanılarak oda sıcaklığında (25°C) muhafaza edilen ürünlerin tahmini raf ömürlerinin 8 ile 57 ay arasında değiştiği söylenebilir.



**Şekil 4. 14:** Saf fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

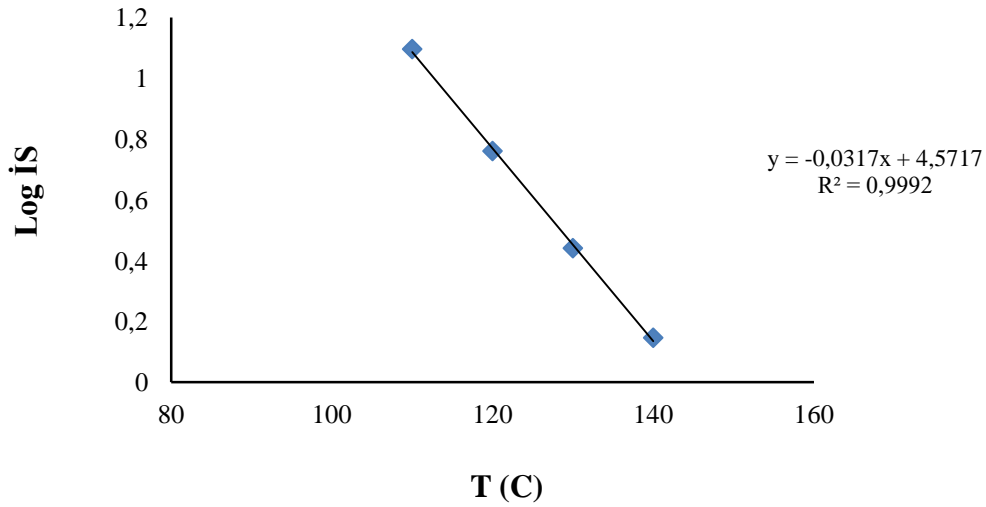
Şekil 4.14 ile hiçbir katkı maddesi ilave edilmemiş olan fındık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.





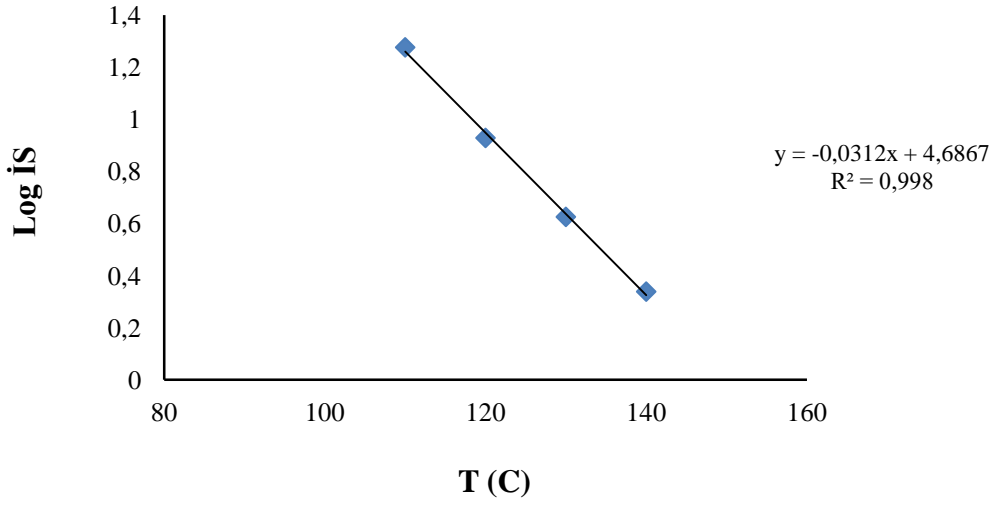
**Şekil 4. 15:** Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.15 ile gallik asit katkılı fındık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.



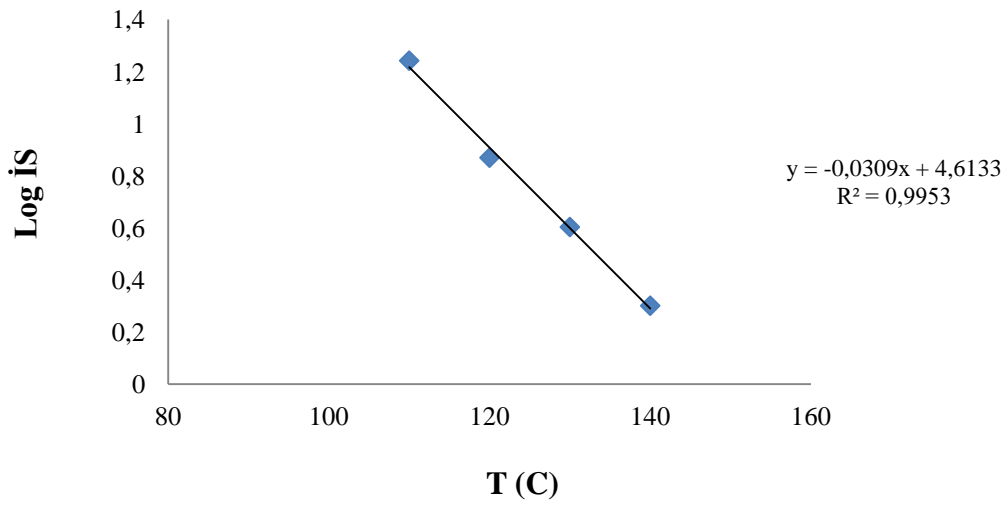
**Şekil 4. 16:**  $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.16 ile  $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.



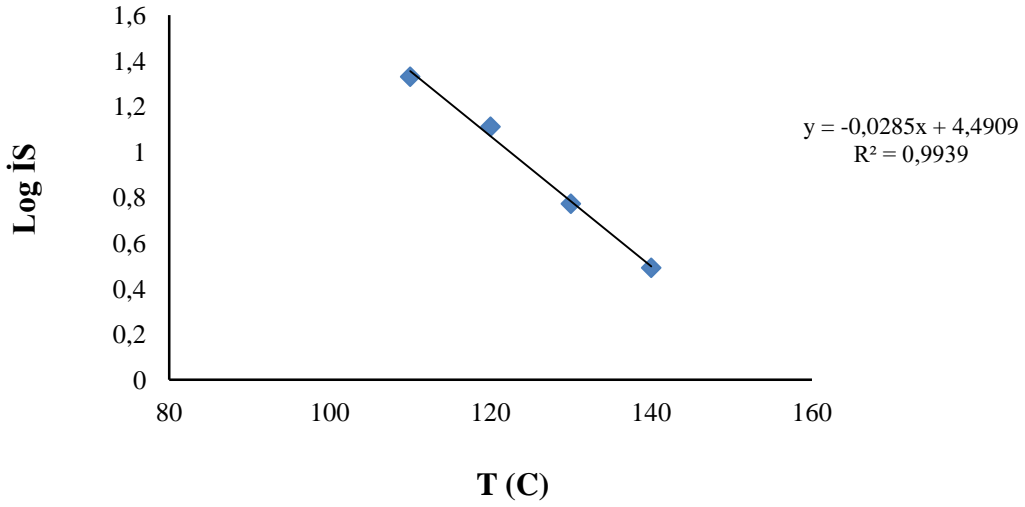
**Şekil 4. 17:** Gallik asit+β-karoten katkılı findık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.17 ile gallik asit+β-karoten katkılı findık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.



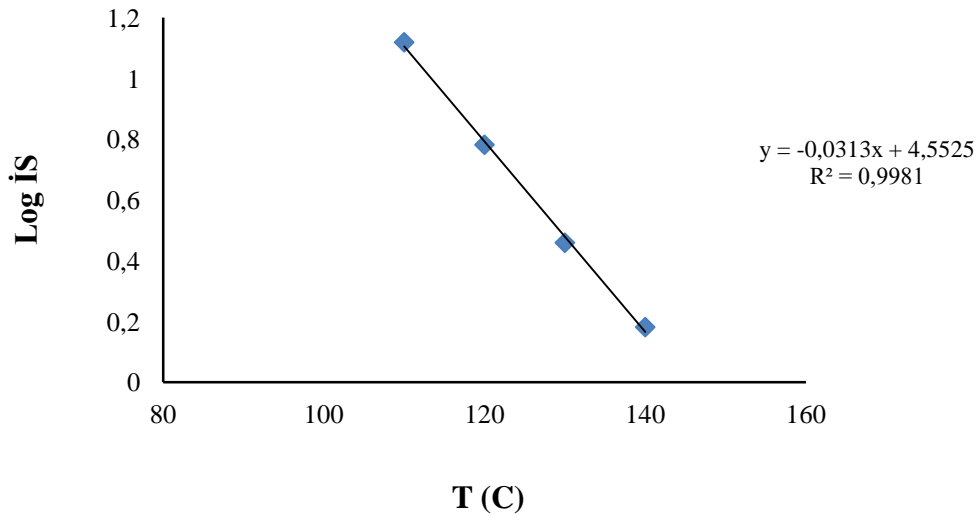
**Şekil 4. 18:** Zeytin yaprağı ekstraktı katkılı findık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.18 ile zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilmiş findık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.



**Şekil 4. 19:** TBHQ katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.19 ile sentetik bir antioksidan olan TBHQ katkılı fındık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.



**Şekil 4. 20:** BHT katkılı fındık yağının oksidasyonunda Rancimat indüksiyon süresi ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Şekil 4.20 ile yine sentetik bir antioksidan olan BHT katkılı fındık yağının sıcaklığa karşı oksidasyonu sergilenmektedir.

Yağ içeren gıda ürünlerindeki lipid oksidasyonu birinci dereceden kinetik reaksiyon olarak kabul edildiğinden, reaksiyon hızı sabiti ( $k$ ),  $\dot{I}S$  (saat<sup>-1</sup>) 'nin tersi ile belirtilir (Tan ve diğ., 2001). Hız sabitinin sıcaklığa olan güçlü bağımlılığı en iyi Arrhenius denklemi ile karakterize edilmektedir:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (4.2)$$

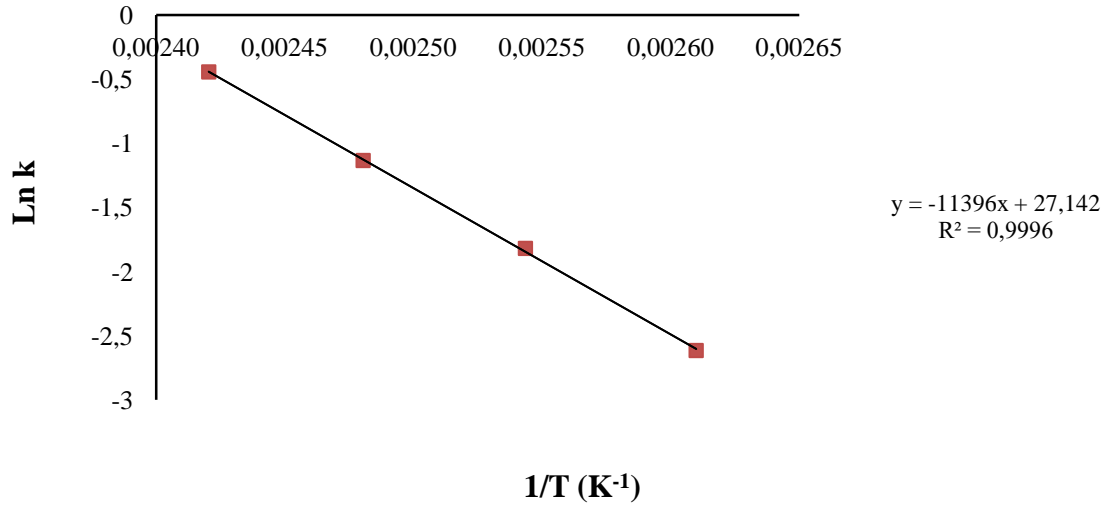
$E_a$ : Aktivasyon enerjisi (kJ mol<sup>-1</sup>)

A: Frekans faktörü

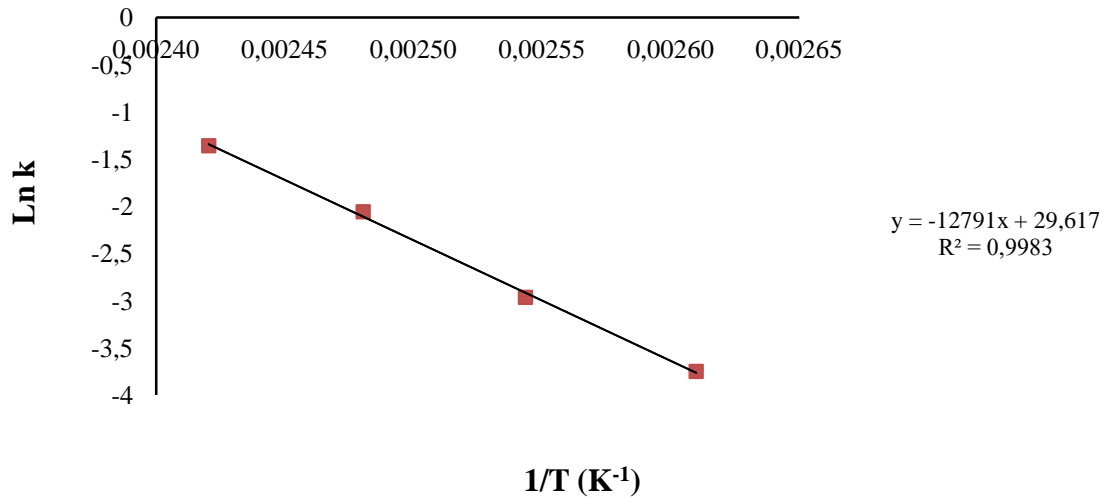
R: Evrensel gaz sabiti (J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>)

T: Mutlak sıcaklık (K)

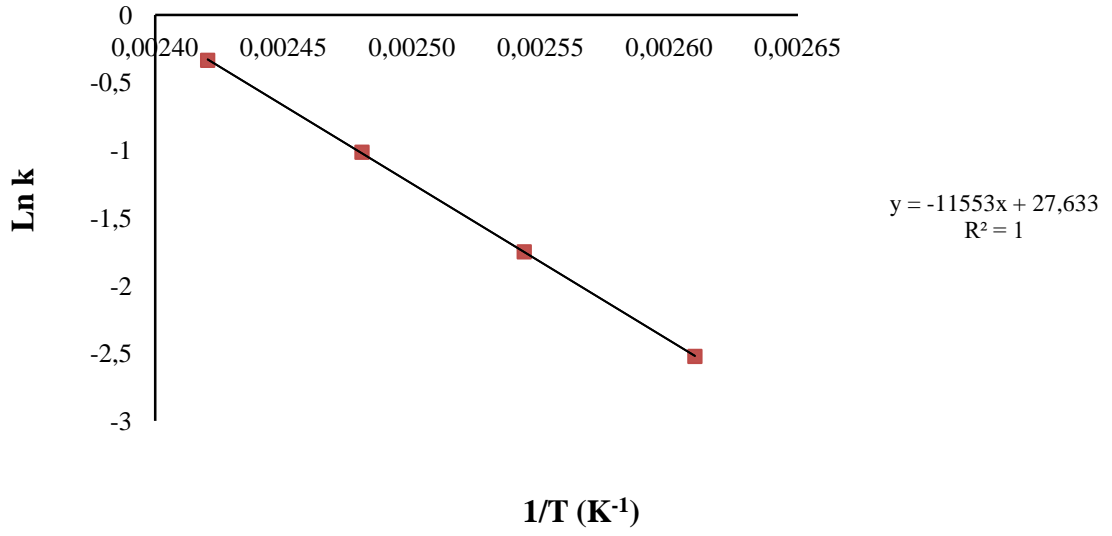
İşlem görmemiş ve zenginleştirilmiş tüm yağ örneklerine ait olan lipid oksidasyonuna ait reaksiyon hız sabitleri ile mutlak sıcaklık arasındaki ilişki Arrhenius eşitliğine dayanılarak oluşturulmuş ve sırasıyla Şekil 4.21 ile 4.27 ile gösterilen grafikler ile görsel olarak sunulmuştur.



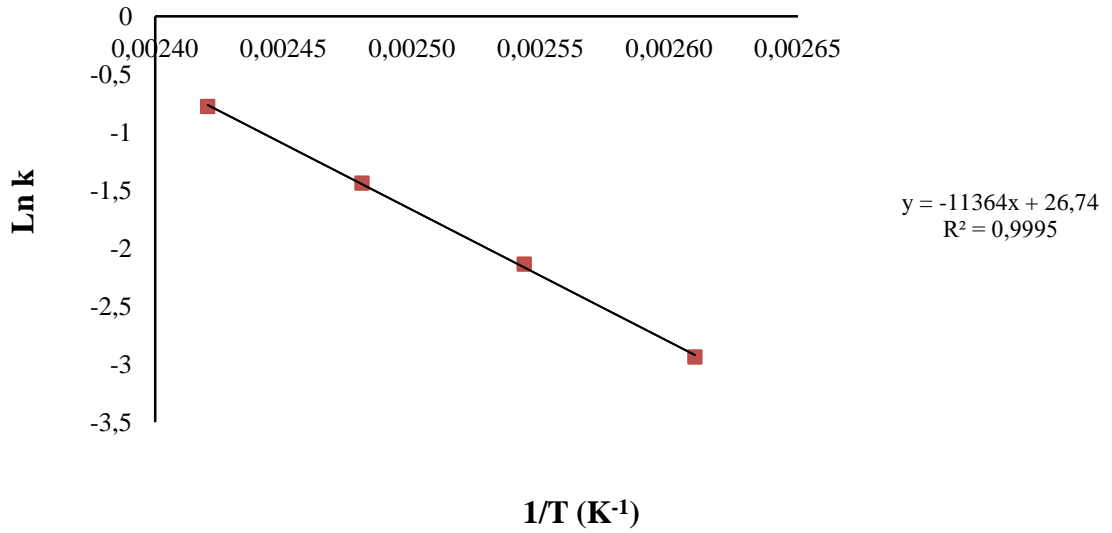
Şekil 4. 21: Saf fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



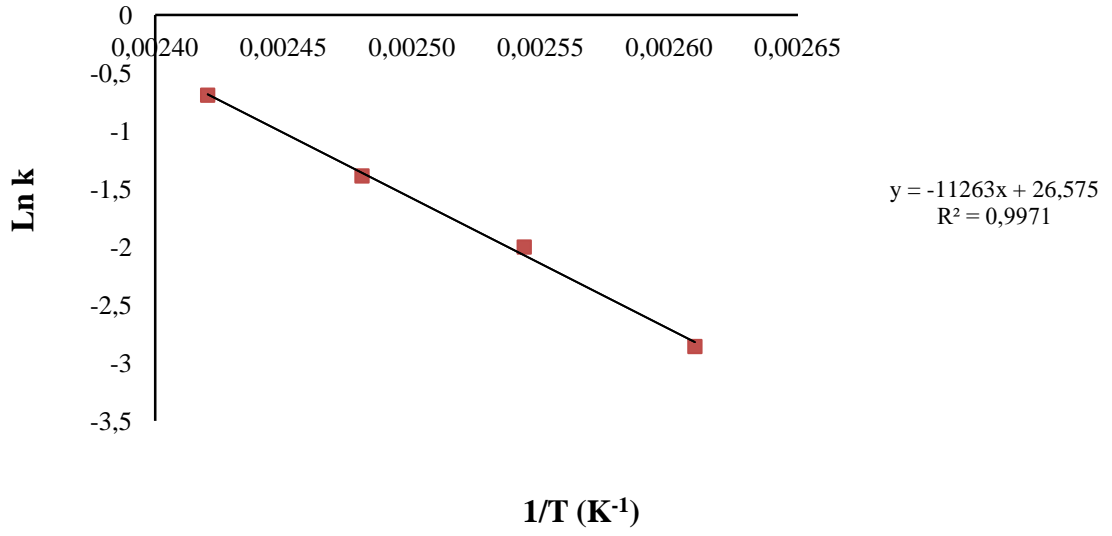
Şekil 4. 22: Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



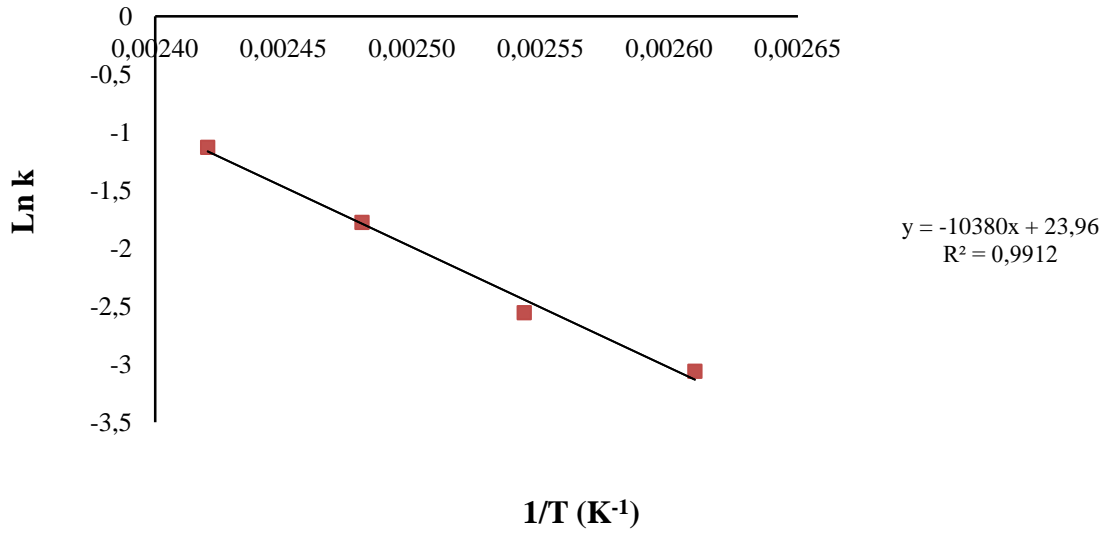
Şekil 4. 23:  $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



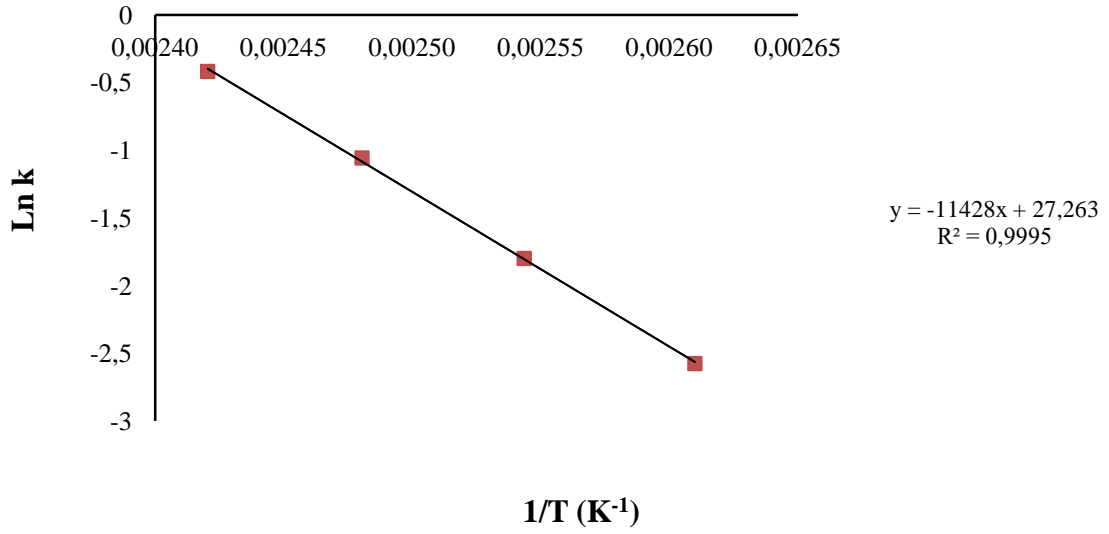
Şekil 4. 24: Gallik asit+ $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4. 25: Zeytin yaprağı ekstraktı katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4. 26: TBHQ katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.



**Şekil 4. 27:** BHT katkılı fındık yağının oksidasyonunda reaksiyon hız sabiti ile sıcaklık arasındaki ilişki.

Tablo 4.13, Rancimat ölçümlerinin ve Arrhenius modelinin regresyon analizi ile elde edilen kinetik parametreleri ve oksidasyon reaksiyon hızı sabitlerini özetlemektedir. Sıcaklık ve reaksiyon hızı sabiti arasındaki doğrusal ilişki hemen fark edilmektedir. Sıcaklığın artırılması, oksidasyon reaksiyonunun hız sabitinde artışa neden olmuştur.

Aktivasyon enerjisi, oluşacak kimyasal reaksiyonu karşılamak için gereken minimum enerji ihtiyacıdır (Farhoosh ve diğ., 2014). Daha önce yapılmış olan çalışmalar ile uyumlu olarak (Farhoosh ve diğ., 2008; Ostrowska-Ligeza ve diğ., 2010; Tan ve diğ., 2001), bu çalışmanın  $E_a$  değerleri 86,30 ile 106,34 kJ mol<sup>-1</sup> arasında değişmektedir. Antioksidan katkı maddesine bağlı olarak aktivasyon enerjisi ne kadar yüksek olursa, yüksek sıcaklık değerlerinde oksidasyona daha elverişlidir (Galvan ve diğ., 2013).



**Tablo 4. 13:** Saf ve işlenmiş fındık yağında gerçekleşen lipid oksidasyonunda kinetik parametreler.

Parametre	Saf	Gallik asit	$\beta$ -karoten	$\beta$ -karoten +Gallik asit	Zeytin yaprağı ekstraktı	TBHQ	BHT
$\log IT = a(t) + b$							
a	-0,0313	-0,0351	-0,0317	-0,0312	-0,0309	-0,0285	-0,0313
b	4,5598	5,4871	4,5717	4,6867	4,6133	4,4909	4,5525
R <sup>2</sup>	0,9987	0,9978	0,9992	0,9980	0,9953	0,9939	0,9981
k (h <sup>-1</sup> ) 110°C'de	0,0732	0,0235	0,0802	0,0530	0,0573	0,0468	0,0760
k (h <sup>-1</sup> ) 120°C'de	0,1621	0,0514	0,1736	0,1179	0,1351	0,0776	0,1653
k (h <sup>-1</sup> ) 130°C'de	0,3215	0,1274	0,3623	0,2370	0,2494	0,1689	0,3472
k (h <sup>-1</sup> ) 140°C'de	0,6410	0,2564	0,7143	0,4587	0,5000	0,3226	0,6579
E <sub>a</sub> (kJ mol <sup>-1</sup> )	94,75	106,34	96,05	94,48	93,64	86,30	95,01
R <sup>2</sup>	0,9996	0,9983	1	0,9995	0,9971	0,9912	0,9995

### 4.3.2 Termodinamik Çalışmalar

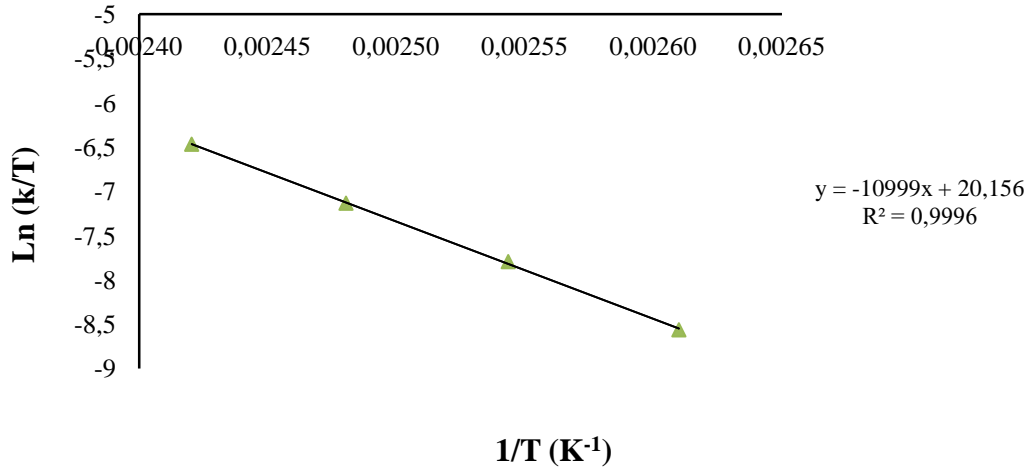
Bir oksidasyon prosesinin spontan/spontan olmayan ve endodermik/ekzotermik gibi karakteristikleri hakkında bilgi sahibi olabilmek için söz konusu sistemin termodinamik olarak incelenmesi gerekmektedir. Entalpi ( $\Delta H^{++}$ ) ve entropi ( $\Delta S^{++}$ ), *Aktifleşmiş Kompleks Teoremi* aracılığıyla Eyring denkleminde hesaplanır:

$$\ln \frac{k}{T} = \left[ \left( \frac{k_B}{h} \right) + \left( \frac{\Delta S^{++}}{R} \right) \right] - \left( \frac{\Delta H^{++}}{R} \right) \left( \frac{1}{T} \right) \quad (4.3)$$

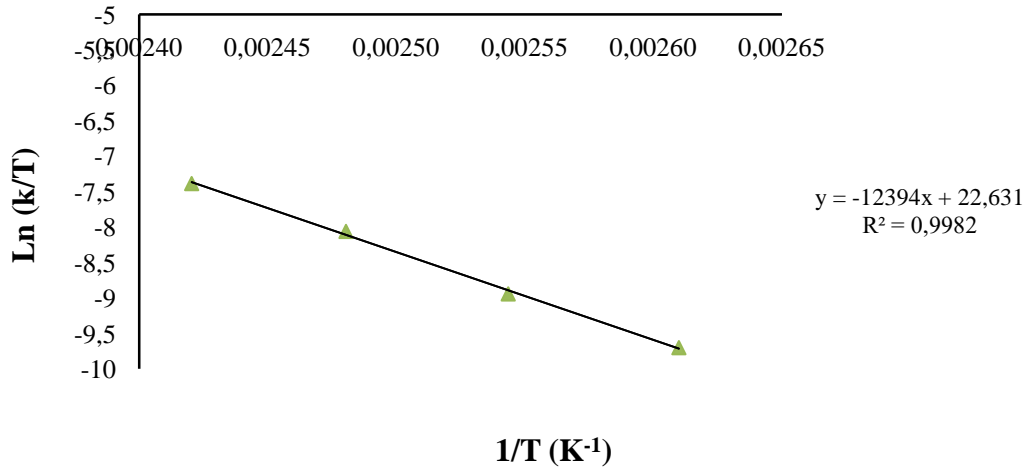
$k_B$ : Boltzmann sabiti ( $1.38065 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$ )

$h$ : Planck sabiti ( $6.62608 \times 10^{-34} \text{ J s}$ )

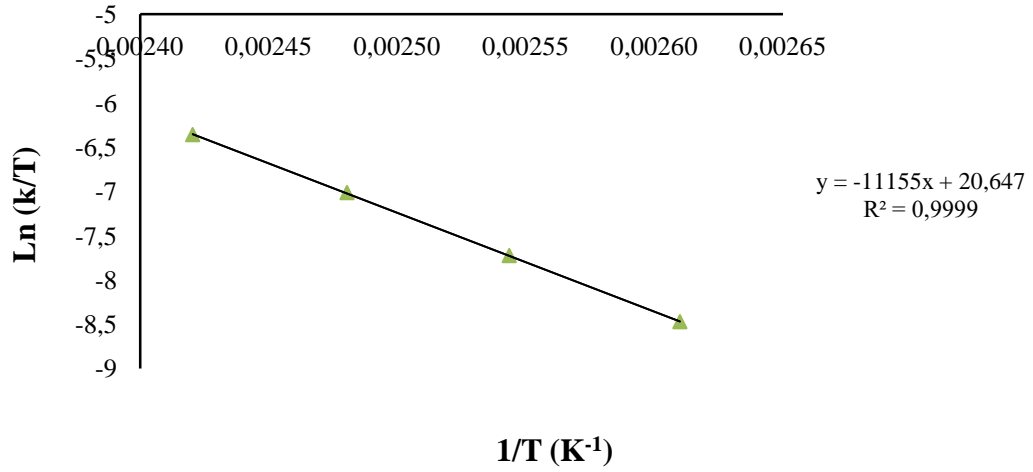
Her bir sistem için hesaplanan entalpi ve entropi değerleri  $\ln(k/T)$  ile  $1/T$  arasında çizilen grafiklerin eğim ve eksenlerini kestiği noktalardan hesaplanmıştır (Şekil 4.28-4.34).



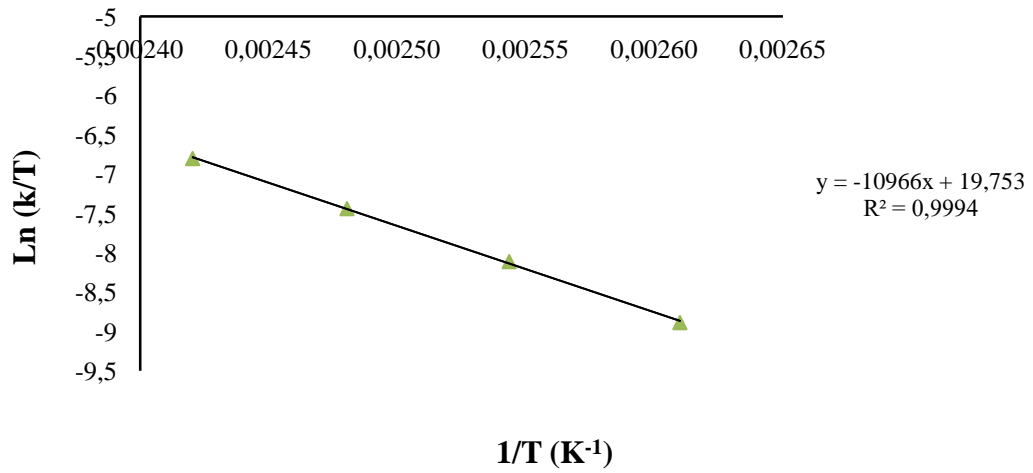
Şekil 4. 28: Saf fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



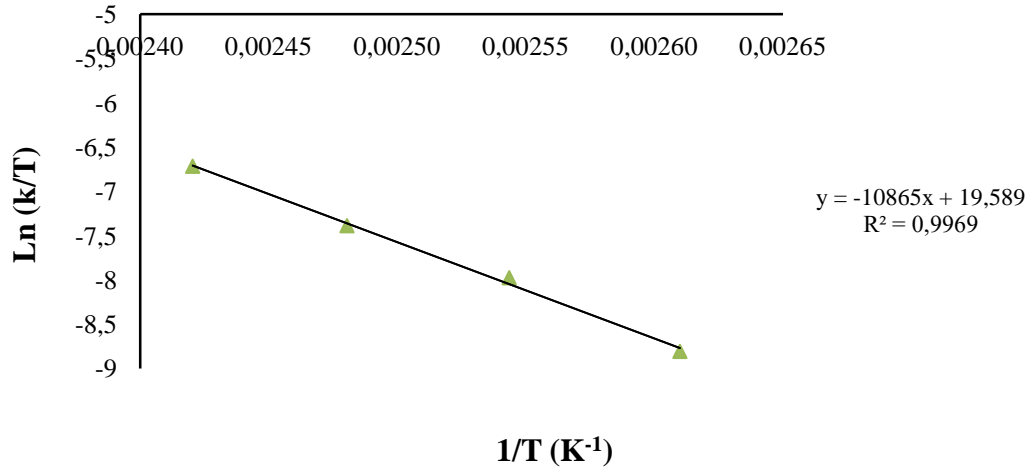
Şekil 4. 29: Gallik asit katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



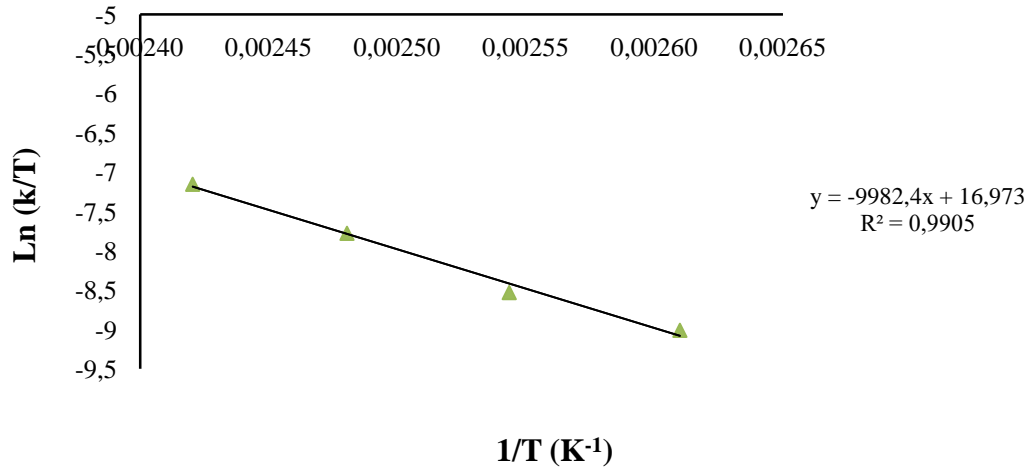
Şekil 4. 30:  $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



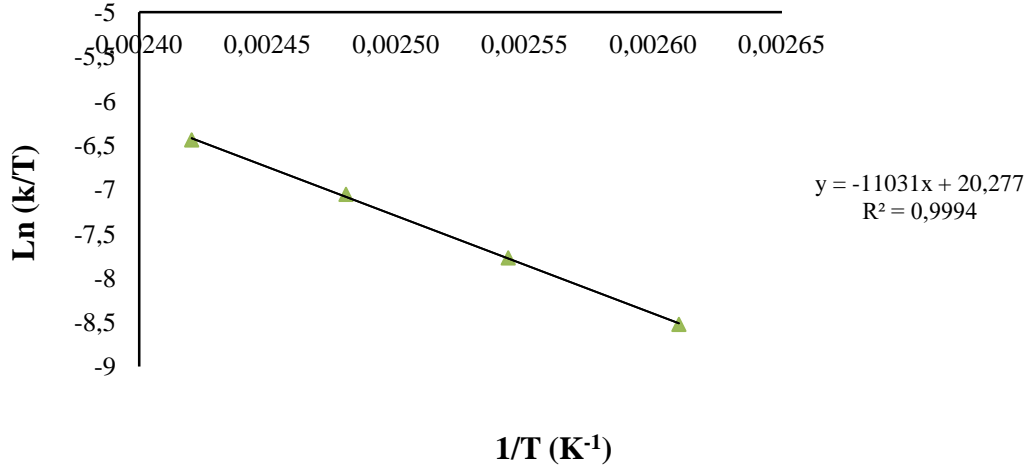
Şekil 4. 31: Gallik asit+ $\beta$ -karoten katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



Şekil 4. 32: Zeytin yaprağı ekstraktı katkıli findık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



Şekil 4. 33: TBHQ katkıli findık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.



**Şekil 4. 34:** BHT katkılı fındık yağının oksidasyon reaksiyonunda mutlak sıcaklığın tersine karşılık  $\ln(k/T)$  grafiği.

Gibbs serbest enerji değişimi ( $\Delta G^{++}$ ,  $\text{kJ mol}^{-1}$ ),  $\Delta H^{++}$  ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ),  $R$  ve  $T$  kullanılarak temel termodinamik eşitliği ile hesaplanır:

$$\Delta G^{++} = \Delta H^{++} - T\Delta S^{++} \quad (4.4)$$

Tablo 4.14, (4.3) ve (4.4) numaralı denklemler ile hesaplanan termodinamik parametreleri (tüm sıcaklık değerlerinde) sunmaktadır. Kimyasal reaksiyonun kendiliğinden mi yoksa kendiliğinden olmayarak mı ve ekzotermik veya endotermik olup olmayacağına karar vermek için ilgili bağımlı termodinamik faktörler gereklidir. İşlenmiş ve işlenmemiş fındık yağındaki oksidasyonda Gibbs serbest enerji değişiminin pozitif olduğu gözlenmiştir. Bu, yağın oksidasyon reaksiyonunun kendiliğinden ve enderjik yapısının bir göstergesidir (Galvan ve diğ., 2013; Ong ve di., 2013). Bu çalışma kapsamında edinilen bulgular, 100-130 °C'de zeytinyağı oksidasyonu sırasında pozitif Gibbs serbest enerji değişimlerinin gözlemlendiği Farhoosh ve Hoseini-Yazdi'ninki ile tutarlıdır (Farhoosh ve diğ., 2014).

Diğer taraftan, entalpi değişiminin pozitif büyüklüğü, lipid oksidasyonun tüm sistemler için endotermik olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, kinetik çalışmalarla da kanıtlanmış ve artan sıcaklık ile artan reaksiyon hızının sürecin endotermik olduğunu desteklemiştir. Bu bulgu Tan ve arkadaşlarının çeşitli bitkisel yağların lipid oksidasyonu sırasında gözlemlenmiş oldukları sonuç ile paralel bulunmuştur (Tan ve diğ., 2001). Dahası, en büyük antioksidan kapasiteye

sahip olan yağ (gallik asit ile muamele edilmiş) en yüksek entalpi değerini göstermiştir. Bu sonuç, antioksidatif katkı maddesinin oksidasyon reaksiyonunu daha yavaş hale getirme kabiliyeti ile açıklanabilir (Buosi ve diğ., 2016)

Ayrıca, entropinin pozitif entalpi ile birlikte negatif sonucu, spontan olmayan bir reaksiyonun belirtisidir. Gallik asit ile muamele edilen fındık yağı en düşük negatif entropiye sahip bulunmuştur. Bu durum, zenginleştirilmiş ürünün daha fazla katkı maddesini geçiş koşuluna karıştırarak daha karmaşık hale gelmesi ile açıklanabilir (Choi ve diğ., 2011; Spacino ve diğ., 2015).

**Tablo 4. 14:** Saf ve işlenmiş fındık yağında gerçekleşen lipid oksidasyonunda termodinamik parametreler.

Parametre	Saf	Gallik asit	$\beta$ -karoten	$\beta$ -karoten +Gallik asit	Zeytin yaprağı ekstraktı	TBHQ	BHT
$\Delta G^{++}$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) 383,15 K	102,93	106,64	102,66	103,93	103,62	104,61	102,81
$\Delta G^{++}$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) 393,15 K	103,23	106,73	102,91	104,27	103,97	105,18	103,10
$\Delta G^{++}$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) 403,15 K	103,53	106,83	103,17	10460	104,31	105,74	103,39
$\Delta G^{++}$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) 413,15 K	103,83	106,92	103,43	104,93	104,66	106,30	103,67
$\Delta H^{++}$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	91,45	103,04	92,74	91,17	90,33	82,99	91,71
$\Delta S^{++}$ (J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	-29,96	-9,39	-25,88	-33,31	-34,68	-56,43	-28,96
R <sup>2</sup>	0,9996	0,9982	0,9999	0,9994	0,9969	0,9905	0,9994

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

- Bu çalışmanın bulguları, fındık yağına doğal antioksidan olarak bir litre yağ başına 200 mg fitokimyasal ilave edilmesinin, yağın oksidatif stabilitesinin artmasına katkıda bulunmasının yanı sıra, kalite parametrelerinin büyük ölçüde artmasına da katkıda bulunduğunu göstermektedir.
- Genel olarak, fındık yağının doğal katkı maddeleri ile stabilizasyonu, özellikle BHT gibi sentetik olandan daha üstün bulunmuştur.
- Gallik asit çalışılan fitokimyasallar içerisinde en yüksek etkinliği göstermiştir.
- Oda sıcaklığında (25°C) muhafaza edilen ürünlerin tahmini raf ömürleri 8 ile 57 ay arasında değişecek şekilde hesaplanmıştır. Gallik asit, fındık yağının raf ömrünü 8 aydan 57 aya çıkarmıştır.
- Ayrıca, bu çalışmanın kinetik ve termodinamik bulguları, fındık yağındaki lipid oksidasyonunun, antioksidan aktiviteye daha fazla katkıda bulunan fitokimyasallardan büyük ölçüde etkilendiğini göstermiştir.
- Termodinamik faktörlere bağlı olarak, hem saf hem de işlenmemiş fındık yağlarında oksidasyon reaksiyonunun doğası, bunun endotermik, spontan olmayan ve enderjik bir süreç olduğunu kanıtlamaktadır.
- Sonuç olarak, bu doğal gıda katkı maddeleri, ekstra besinsel özellikler sağlamanın yanı sıra yağ içeren gıda ürünlerinin raf ömrünün uzatılmasında önemli bir rol oynayabilir.

## KAYNAKLAR

- Alaşalvar, C., Karamacã, M., Amarowicz, R., Shahıdı, F., 2006, Antioxidant and Antiradical Activities in Extracts of Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Green Leafy Cover, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (13), 4826-4832.
- Alaşalvar, C., Shahıdı, F., Lıyanapathırana, C.M., Ohshıma, T., 2003, Turkish Tombul Hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. *Compositional Characteristics*, 51 (13), 3790-3796.
- Altun, M., Çelik, S.E., Güçlü, K., Özyürek, M., Erçağ, E. Apak, R., 2011, Total antioxidant capacity and phenolic contents of Turkish hazelnut (*Corylus Avellana* L.) Kernels and Oils, *Journal of Food Biochemistry*, 37 (1), 53-61.
- Aluyor, E.O., Ori-Jesu, M., 2008, The use of antioxidants in vegetable oils – A review, *African Journal of Biotechnology*, 7 (25), 4836-4842.
- Anonim, 2017, T.C. Gümrük ve Tic Bakanlığı Koop. Gn. Md., 2017 Yılı Fındık Raporu, syf. 4.
- Anonim, 2018, Karadeniz İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, 01.01.2010-31.12.2010 tarihleri arasında kayda alınan Türkiye fındık ihracatı, syf. 1-2.
- Anonim, 2018, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı, Fındık yağı (Türkomp Gıda Kodu: 05.02.0004), Sıvı ve Katı Yağlar.
- Araujo, P.W., Brereton, R.G., Experimental design II. Optimization, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 15 (2), 63-70.
- Artajo, L.S., Romero, M.P., Morelló, J.R., Motilla, M.J., 2006, Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds: evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6079-6088.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Bastianetto, S., Yao, Z.X., Papadopoulos, V., Quirion, R., 2006, Neuroprotective effects of green and black teas and their catechin gallate esters against  $\beta$ -amyloid-induced toxicity, *European Journal of Neuroscience*, 23, 55-64.
- Berber, İ., Avşar C., Çine, N., Bozkurt, N., Elmas, E., 2013, Sinop’da Yetişen Bazı Bitkilerin Metanolik Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi, *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 3 (1), 10-16.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., Escaleira, L. A., 2008, Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, *Talanta*, 76 (5), 965–977.



- Bilgin, M., Şahin, S., Dramur, U., Sevgili, L.M., 2013, Obtaining Scarlet Sage (*Salvia Coccinea*) Extract Through Homogenizer- and Ultrasound-Assisted Extraction Methods, *Chemical Engineerin Communications*, 200 (9), 1197-1209.
- Bodoira, R.M., Penci, M.C., Ribotta, P.D., Martínez, M.L., 2017, Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants, *LWT - Food Sci. Technol.* 75 107-113.
- Botterweck, A.A.M., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., Kleinjans, J., Avan den Brandt, P., 2000, Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study, *Food and Chemical Toxicology*, 38 (7), 599-605.
- Box, G.E.P., Wilson, K.B., 1951, On the Experimental Attainment of Optimum Conditions, *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*, 13, 1-45.
- Bozan, B., 2006, Kırmızı Üzüm Ekstrelerinin Lipid Peroksidasyonunu Önleyici Etkileri, *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 7 (2), 337-341.
- Buosi, G.M., Silva, E.T., da Spacino, K., Silva, L.R.C., Ferreira, B.A.D., Borsato, D., 2016, Oxidative stability of biodiesel from soybean oil: Comparison between synthetic and natural antioxidants, *Fuel*, 181, 759–764.
- Chaiyasit, W., Elias, R.J., McClements, D.J., Decker, E.A., (2007) Role of Physical Structures in Bulk Oils on Lipid Oxidation, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (3), 299-317.
- Choe, E., Min, D.B., 2006, Mechanisms and factors for edible oil oxidation, *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 5 (4), 169-186.
- Choi, C.-S., Kim, J.-W., Jeong, C.-J., Kim, H., Yoo, K.-P., 2011, Transesterification kinetics of palm olein oil using supercritical methanol, *The Journal of Supercritical Fluids*, 58, 365–370.
- Condrón, K.N., Lemenager, R.P., Claeys, M.C., Lipkie, T.E., Schoonmaker, J.P., 2014, Supplemental  $\beta$ -carotene I: Effect on plasma vitamin A, growth, performance, and carcass characteristics of feedlot cattle, *Meat Science*, 98 (4), 736-743
- Coppin, E.A., Pike, O.A., 2001, Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 13-18.
- Cordell, G.A., 2000, Biodiversity and drug discovery a symbiotic relationship, *Phytochemistry*, 55, 463-480.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B., 2008, Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9 (1), 85–91.

- Da Silva, A., Jorge, N., 2014, Influence of *Lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts on the prevention of oxidation and retention of tocopherols in soybean oil in an accelerated storage test, *J. Food Sci. Tech.*, 51, 1208-1212.
- Duman, E., Türk Baydır, A., Duman, S., 2015, Ayçiçek Yağının Oksidasyon Kararlılığına Retinol Palmitat'ın Etkisinin Ransimat Metodu ile Tespiti, *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8 (1), 33-38.
- Elhoussein, E., Bilgin, M., Şahin, S., 2018, Oxidative stability of sesame oil extracted from the seeds with different origins: Kinetic and thermodynamic studies under accelerated conditions, *journal of food process engineering*, 12878, 1-10
- Ermiş, Ö., Kazma, C., Kıbıçcı, D., Kahveci, D., 2018, Sulu Enzimatik Ekstraksiyon ile Fındık Yağında Verim ve Kalitenin Geliştirilmesi, *Akademik Gıda*, 16 (3), 301-306.
- Eskandani, M., Hamishehkar, H., Ezzati, J., Dolatabadi, N., 2014, Cytotoxicity and DNA damage properties of tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive, *Food Chemistry*, 153, 315-320.
- Farhoosh, R., Hoseini-Yazdi, S.-Z., 2014, Evolution of Oxidative Values during Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in the Rancimat Test, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 281-293.
- Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., Sarabi, M., 2008, Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 587-592.
- Fernandez-Lopez, J., Zhi N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V., 2005, Antioxidant and antibacterial activities of natural extract, application in beef meatballs. *Meat Sci.*, 69 (3), 371-380.
- Focke, W.W., Van Der Westhuizen, I., Grobler, A.B.L., Nshoane, K.T., Reddy, J.K., Luyt, A.S., 2012, The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel, *Fuel*, 94, 227-233.
- Formanek, Z., Kerry, J.P., Higgins, F.M., Buckley, D.J., Morrissey P.A., Farkas J., 2001, Addition of synthetic and natural antioxidants to  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation, 58, 337-341.
- Frankel, E.N., 1993, In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids, *Trends in Food Science and Technology*, 4, 220-225.
- Frankel, E.N., 2012, Woodhead Publishing Science, Technology And Nutrition, 2nd ed., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, ISBN: 978-09531949-8-8.
- Gallego, M.G., Gordon, M., Segovia, F., Skowrya, M., Almajano, M., 2013, Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90, 1559-1568.

- Galvan, D., Orives, J.R., Coppo, R.L., Elisângela, T.S., Karina, G.A., Borsato, D., 2013, Determination of the Kinetics and Thermodynamics Parameters of Biodiesel Oxidation Reaction Obtained from an Optimized Mixture of Vegetable Oil and Animal Fat, *Energy & Fuels*, 27 (11), 6866–6871.
- Gao XH., Zhang L., Wei H., Chen HD., 2008, Efficacy and safety of innovative cosmeceuticals *Clin Dermatol*, 26, 367–374.
- Ghirardello, D., Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Giordano, M., Rolle, L., Gerbi, V., Antonucci, M., Spigolon, N., Zeppa, G., 2016, Phenolic composition, antioxidant capacity and hexanal content of hazelnuts (*Corylus avellana* L.) as affected by different storage conditions, *Postharvest Biology and Technology*, 112, 95-104.
- Gilmour, S.G., 2006, Response Surface Designs for Experiments in Bioprocessing, *Biometrics*, 62, 323-331.
- Gül, V., Öztürk, E., Polat, T., 2016, Günümüz Türkiye’inde bitkisel yağ açığını kapatmada ayçiçeğinin önemi, *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 30(B), 70-76.
- Hanrahan, G., Lu, K., 2006, Application of Factorial and Response Surface Methodology in Modern Experimental Design and Optimization, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36, 141-151.
- Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007, The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts, *Food Chemistry*, 105, 1126-1134.
- Hrcirik, K., Fritsche, S., 2005, Relation between the Endogenous Antioxidant System and the Quality of Extra Virgin Olive Oil under Accelerated Storage Conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 2103–2110.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Isuzugawa, K., Inoue, M., Ogihara, Y., 2001, Catalase contents in cells determine sensitivity to the apoptosis inducer gallic acid, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24, 249-253.
- Jomova, K., Valko, M., 2013, Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 102-110.
- Karakaş, S., 2003, Isırgan Otu Toprak Altı Ve Toprak Üstü Kısımlarından Isırgan Otu Ekstraktının Eldesi Ve Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Keskin, H. 1981, *Besin Kimyası*, T.C. İstanbul Üniversitesi Yayınları No:2888, Kimya Fak. No:47, Cilt: I, Fatih Yayınevi Matbaası (İstanbul)

- Kırbağ, S., Zengin, F., 2006, Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 16 (2) 77-80.
- Kowalski, B., Ratusz, K., Kowalska, D., Bekas, W., 2004, Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat measurements, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 165–169.
- Kozłowska, M., Gruczyńska, E., 2018, Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts, *Chem Zvesti*, 72 (10), 2607–2615.
- Kurtulbaş, E., Bilgin, M., Şahin, S., 2018, Assessment of lipid oxidation in cottonseed oil treated with phytonutrients: Kinetic and thermodynamic studies, *Industrial Crops and Products*, 124 (15), 593-599.
- Läubli, M.W., Bruttel, P.A., 1986, Determination of the oxidative stability of fats and oils: Comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the rancimat method, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63 (6), 792-795.
- Lee, H.S., 2004, Phenolic Compounds in Foods. In: Nollet, L.M.L. (eds.) “*Handbook of Food Analysis*”. Marcel Dekker Inc., 657- 715.
- Lee, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., et al, 2009, Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities, *Bioresource Technology*, 100, 6107-6113.
- Llorent-Martínez, E.J., Ortega-Barrales, P., Fernández-de Córdova, M.L., Domínguez-Vidal, A., Ruiz-Medina, A., 2011, Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain, *Food Chemistry*, 127 (3), 1257-1262.
- Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, A., Pertensen, J., Bergman, R., 1998, Experimental design and optimization, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 42, 3–40.
- Marsilio, V., Campestre, C., Lanza, B., 2001, Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing, *Food Chem*, 74, 55–60.
- Mendil, D., Uluözlü, O.D., Tüzen, M., Soylak., M., 2009, Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, 165 (1-3), 724-728.
- Merrill, L.I., Pike, O.A., Ogden, L.V., Dunn, M.L., 2008, Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils with Added Antioxidants, *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 85, 771-776.
- Nijveldt, R.J., Nood van, E., Hoorn van, D. EC., Boelens, P. G., Norren van, K., Leeuwen van, P. AM., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74 (4) 418-425.

- Ong, L.K., Kurniawana, A., Suwandi, A.C., Linb, C.X., Zhao, X.S., Ismadji, S., 2013, Transesterification of leather tanning waste to biodiesel at supercritical condition: Kinetics and thermodynamics studies, *The Journal of Supercritical Fluids*, 75, 11–20.
- Oroian, M., Escriche, I., 2015, Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis, *Food Research International*, 74, 10-36.
- Ostrowska-Ligeza, E., Bekas, W., Kowalska, D., Lobacz, M., Wroniak, M., Kowalski, B., 2010, Kinetics of commercial olive oil oxidation: Dynamic differential scanning calorimetry and Rancimat studies, *European Journal of Lipid Science Technology*, 112, 268-274.
- Özçelik, B., Evranuz, Ö., 1998, Yağlı Tohumlarda Lipid Oksidasyonu: Etkili Faktörler ve Ölçüm Yöntemleri, *Gıda*, 23 (3), 221-227.
- Öztan, T., 2006, Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi , Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Parcerisa, J., Richardson, D.G., Rafecas, M., Codonya, R., Boatella, J., (1998, Fatty acid, tocopherol and sterol content of some hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) harvested in Oregon (USA), *Journal of Chromatography A*, 805 (1-2), 259-268.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., 2001, Antioxidants in food, *CRC Press*, USA.
- Polavka, J., Paligová, J., Cvengroš, J., Simon, P., 2005, Oxidation stability of methyl esters studied by differential thermal analysis and rancimat, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 519-524.
- Prakash Maran, J., Manikandan, S., Vigna Nivetha, C., Dinesh, R., 2017, Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design, *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (1), 1145-1157.
- Prior, R.L., Wu, X., Scaich, K., 2005, Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113.
- Rafiee, Z., Jafari, S.M., Alami, M., Khomeiri, M., 2012, Antioxidant Effect of Microwave-assisted Extracts of Olive Leaves on Sunflower Oil, *Journal of Agricultural and Science Technology*, 14, 1497–1509.
- Rahaiee, S., Moini, S., Hashemi, M., Shojaosadati, S.A., 2015, Evaluation of antioxidant activities of bioactive compounds and various extracts obtained from saffron (*Crocus sativus* L.): a review, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1881-1888.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10), 1231-1237

- Sabaté, J., Ang, Y., 2009, Nuts and health outcomes: new epidemiologic evidence , *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89 (5), 1643S-1648S.
- Samaniego-Sánchez, C., Quesada-Granados, J.J., de la Serrana, H.L.G., López-Martínez, M.C., 2010,  $\beta$ -Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (7), 671-676.
- Sanaka, S., Tachibana, Y., Okada, Y., 2005, preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha), *Food Chemistry*, 89, 569-575.
- Santos, N.A., Cordeiro, A.M.T.M., Damasceno, S.S., Aguiar, R.T., Rosenhaim, R., Carvalho Filho, J.R., Santos, I.M.G., Maia, A.S., Souza, A.G., 2012, Commercial antioxidants and thermal stability evaluations, *Fuel*, 97, 638–643.
- Saraç, M., 2011, Enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile pamuk yağı eldesi, Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Savage, G.P., McNeil, D. L., Dutta, P.C., 1997, Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74 (6), 755-759.
- Sherwin, E.R., 1990, *Food Additives. Ed. by L. Branen*, Marcel Dekker, New York, 139–193.
- Singh, J., Rai, G.K., Upadhyay, A.K., Kumar, R., Singh, K.P., 2004, Antioxidant phytochemicals in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 74, 3-5.
- Souza, A.G., Santos, J.C.O., Conceição, M.M., Silva, M.C.D., Prasad, S., 2004, A thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 265-270.
- Spacino, K.R., Borsato, D., Buosi, G.M., Chendynski, L.T., 2015, Determination of kinetic and thermodynamic parameters of the B100 biodiesel oxidation process in mixtures with natural antioxidants, *Fuel Processing Technology*, 137, 366–370.
- Şahin, S., 2011, Zeytin Ağacı Yapraklarından Süperkritik-CO<sub>2</sub> Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropin Miktarının İncelenmesi, Doktora, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şahin, S., 2015, A novel technology for extraction of phenolic antioxidants from mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) leaves: Solvent-free microwave extraction, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32 (5), 950-957.
- Şahin, S., Bilgin, M., 2017, Olivetree (*Olea europaea* L.) leaf as a wasteby-product of table olive and olive oil industry:a review, *Science of Food and Agriculture*, 98 (4), 1271-1279.

- Şahin, S., Bilgin, M., Dramur, M.U., 2011, Investigation of Oleuropein Content in Olive Leaf Extract Obtained by Supercritical Fluid Extraction and Soxhlet Methods, *Separation Science and Technology*, 46, 1829-1837.
- Şahin, S., Bilgin, M., Sayım, E., Güvenilir, B., 2017, Effects of natural antioxidants in the improvement of corn oilquality: olive leaf vs. lemon balm, *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 374-380.,
- Şahin, S., Malik, N., Perez, J.L., Brockington, J.E., 2012, Seasonal Changes of Individual Phenolic Compounds in Leaves of Twenty Olive Cultivars Grown in Texas, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 1, 242-247.
- Şahin, S., Sayım, E., Bilgin, M., 2017, Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil, *Journal of Food Science and Technology*, 54 (6), 1721-1728.
- Taghvaei, M., Jafari, S.M., 2013, Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives, *Journal of Food Science and Technology*, 52 (3), 1272-1282.
- Taghvaei, M., Jafari, S.M., Assadpoor, E., Nowrouzieh, S., Alishah, O., 2014 Optimization of microwave-assisted extraction of cottonseed oil and evaluation of its oxidative stability and physicochemical properties, *Food Chemistry*, 160, 90–97.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., Selamat, J., Yusoff, M.S.A., 2001, Application of arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 1133.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., Selamat, J., Yusoff, M.S.A., 2002, Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods, *Food Chemistry*, 76 (3), 385-389.
- Teófilo, R.F., Ferreira, M.M.C., 2006, Chemometrics Iı: Spreadsheets For Experimental Design Calculations, A Tutorial, *Quim. Nova*, 29, 338-350.
- Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., Karacabey E., 2014, Mikrodalga Destekli Soxhlet Cihazı ile Fındık Yağı Ekstraksiyonunun Yanıt Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu, *Akademik Gıda*, 12 (1), 20-28.
- Uluata, S., Özdemir, N., 2012, Antioxidant Activities and Oxidative Stabilities of Some Unconventional Oilseeds, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 551–559.
- Warner, K., Frankel, E.N., 1987, Effects of  $\beta$ -carotene on light stability of soybean oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64, 213–218.
- Weber, D., Grune, T., 2012, The contribution of  $\beta$ -carotene to vitamin A supply of humans, *Molecular Nutrition & Food Research*, 56, 251-258.
- Yağcıoğlu, P., 2015, Farklı Ekstraksiyon Metotları İle Adaçayı (*Salvia Officinalis L.*) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu, Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

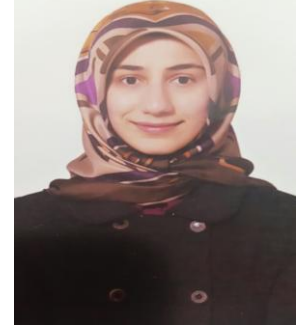
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E.M., 2001, Stabilisation of edible oils with natural antioxidants, *European Journal of Lipid Science Technology*, 103, 752-767.
- Yu, S.H., Hsieh, H.Y., Pang, J.C., et al, 2013, Active films from water-soluble chitosan/cellulose composites incorporating releasable caffeic acid for inhibition of lipid oxidation in fish oil emulsions, *Food Hydrocolloids*, 32 (1), 9-19.
- Yurttas, H.C., Schafer, H.W., Warthesen, J.J., 2000, Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus* spp.) phenolics, *Journal of Food Science*. 65 (2), 276-280.
- Zhao, J., Khan, I.A., Fronczek, F.R., 2011, Gallic acid, *Acta Crystallographica Section E*, 67, 316-317.





## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Özge Gülmez
Doğum Yeri	Giresun
Doğum Tarihi	18.06.1993
Uyruğu	x T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0531 490 97 93
E-Posta Adresi	glmz.ozge@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.

Yüksek Lisans	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Anabilim Dalı Adı
Programı	Program Adı

Makale ve Bildiriler	
<b><u>Uluslararası Kongre</u></b>	
<p>1. Selin Şahin, <b>Özge Gülmez</b>, Ebru Kurtulbaş, Elaf Abdelillah Ali Elhussein, Mehmet Bilgin (2017). <i>Investigation of the Quality Parameters of Vegetable Oils Treated with Phytochemicals</i>, Francavilla al Mare, İtalya.</p>	

**Bilimsel Projeler**

1. Zeytin Atık Sularındaki Hidroksitorozolce Zengin Biyofenollerin Geri Kazanımında Yüksek Seçimli Adsorban Olarak Grafen Oksidin İncelenmesi: Denge ve Kinetik Modelleri, **TÜBİTAK PROJESİ** (1002), Bursiyer, 2017-
2. Zeytin Yaprağı Ekstraktının Naturel Zeytinyağının Stabilitesine Etkileri ve Matematik Modelleme, **TÜBİTAK PROJESİ** (3001), Bursiyer, 2014-2016.
3. Ayçiçek Yağının Fındık Yağı Katkısı ile Raf Ömrünün Uzatılmasının İncelenmesi, **TÜBİTAK PROJESİ** (2209-A), Yürütücü, 2016.

