



**KABAK ÇEKİRDEĞİ YAĞINDAKİ AKTİF BİLEŞENLERİN  
HPLC VE GC-MS İLE TAYİNİ VE İNCELENMESİ**

**Gönül AKİN**

**Yüksek Lisans Tezi  
Kimya Anabilim Dalı  
Analitik Kimya Programı**

**Prof.Dr. İbrahim YILMAZ**

**Mayıs 2016**

**T.C  
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KABAK ÇEKİRDEĞİ YAĞINDAKİ AKTİF  
BİLEŞENLERİN  
HPLC VE GC-MS İLE TAYİNİ VE İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gönül AKİN**

**Anabilim Dalı : Kimya  
Programı : Analitik Kimya**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ**

**KARAMAN-2016**

## TEZ ONAYI

Gönül AKİN tarafından hazırlanan "**Kabak Çekirdeği Yağındaki Aktif Bileşenlerin HPLC ve GC-MS ile Tayini ve İncelenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafındanoy birliği/ oy çokluğu ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

*Prof. Dr. İbrahim YILMAZ*

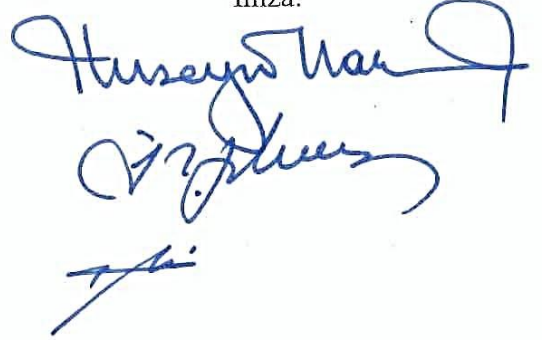
Juri Üyeleri

Prof. Dr. Hüseyin KARA

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

İmza:



Tez Savunma Tarihi: 27/ 05/ 2016

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**



**Enstitü Müdürü**

**Doç. Dr. Ahmet İPEK**  
Müdür

## TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**Gönül AKİN**

## ÖZET

**Yüksek Lisans**

### **KABAK ÇEKİRDEĞİ YAĞINDAKİ AKTİF BİLEŞENLERİN HPLC VE GC-MS İLE TAYİNİ VE İNCELENMESİ**

**Gönül AKİN**

**Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ**

**Mayıs, 2016, 127 sayfa**

Sunulan çalışma ile, avrupa farmakopesi monograflarında henüz yer almayan ve Türkiye'nin farklı bölgelerinden (Çumra, İçeri Çumra, Çeltik ve Polatlı) temin edilen kabak çekirdeği tohumlarından, herhangi bir ısıl işlem ve kimyasal madde uygulamasının söz konusu olmadığı soğuk pres (mekanik presleme) metodu ile, yenilebilir özellikte yağ numuneleri elde edilmiştir. Soğuk pres yöntemi ile üretilen kabak çekirdeği yağlarının, fizikokimyasal özellikleri ve biyoaktif bileşen içerikleri, kullanılarak incelenmiş ve bilimsel bir bakış açısı ile değerlendirilmiştir. Doğal özelliklerini koruyacak şekilde üretimi gerçekleştirilen kabak çekirdeği yağları üzerinde başlıca, trigliserit, tokol, yağ asit kompozisyonu, pestisit, antioksidan aktivite, aflatoksin, toplam fenolik madde, serbest yağ asidi, peroksit sayısı, iyot sayısı, sabun miktarı, sabunlaşmayan madde miktarı ve sabunlaşma sayısı tayinleri gerçekleştirilmiştir. Belirtilen tayinlerin yürütülmesinde, resmi kuruluşlar ve farklı araştırmacılar tarafından önerilen metotların yanı sıra tarafımızdan geliştirilen HPLC ve GC-MS yöntemleri uygulanmıştır.

Sonuç olarak, yağ, protein, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin bir besin kaynağı olan dört farklı bölgeye ait kabak çekirdeklerinin, yenilebilir özellikte, katma değeri yüksek ve kaliteli bitkisel yağ kaynağı olarak değerlendirilebileceği kanıtlanmıştır. Elde edilen veriler, dört farklı bölgeye ait bu yağların doymamış yağ asitleri ( $\sum$ PUFA+ $\sum$ MUFA= %81), tokol bileşenleri ( $977.930 \pm 7.610$  mg/kg yağ-  $942.920 \pm 3.360$  mg/kg yağ), fenolik madde içeriği ( $58.160 \pm 1.500$  mg GAE/kg yağ  $39.570 \pm 1.300$  mg GAE/kg yağ), toplam antioksidan kapasite ( $388.890 \pm 14.100$  mg GAE/kg yağ- $266.670 \pm 9.700$  mg GAE/kg yağ) ve değerli biyoaktif bileşenler bakımından oldukça zengin içeriğe sahip olduğunu göstermiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçların tümünün, literatürde yer alan ortalama değerler içinde yer aldığı, ayrıca Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde iyi kalitedeki natürel/soğuk pres yağlar için yer alan kalite özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kabak çekirdeği, Soğuk pres yağ, Biyoaktif bileşen, HPLC, GC-MS, Standardizasyon

## ABSTRACT

Ms Thesis

### DETERMINATION OF ACTIVE COMPONENTS IN PUMPKIN SEED OIL BY HPLC AND GC-MS AND IT'S EXAMINATION

Gönül AKİN

Karamanoğlu Mehmetbey University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

May, 2016, 127 pages

In this study, cold pressed edible pumpkin seed oils that are not in the European pharmacopoeia, were obtained by using mechanical pressing (cold-pressing) technique without any chemical and heat treatment from different pumpkin seed raw materials. These pumpkin seed materials were provided from different regions of Turkey (Çumra, Inside Çumra, Çeltik and Polatlı regions) and also not take place in European Pharmacopoeia monographs. The physicochemical properties and bioactive components of cold pressed pumpkin seed oils were evaluated carefully by using different analysis techniques and presented with a scientific approach. The cold pressed pumpkin seed oils were produced by protecting their natural properties and for these natural oils; the analyses of triglyceride, tocol, fatty acid composition, pesticide, antioxidant activity, aflatoxin, total phenolic compound, free fatty acid, peroxide value, iodine value, soap content, unsaponifiable matter and saponification number were carried out. In these analyses, the official methods, preferred methods in different literatures and optimized HPLC and GC-MS methods were applied.

As a results; the pumpkin seeds belonging to four different regions, which are a rich source of nutrients as well as fat, protein, vitamins and minerals and were widely consumed in pharmaceutical and cosmetics industries as a raw material, are proved to be assessed as a sources of high quality vegetable oil. The obtained results showed that these cold pressed pumpkin seed oils are a rich source of valuable bioactive compounds such as unsaturated fatty acids ( $\sum\text{PUFA}+\sum\text{MUFA}=\%81$ ), tocols ( $977.930\pm 7.610$  mg/kg oil-  $942.920\pm 3.360$  mg/kg oil), phenolic compound content ( $58.160\pm 1.500$  mg GAE/kg oil-  $39.570\pm 1.300$  mg GAE/kg oil) and total antioxidant capacity ( $388.890 \pm 14.100$  mg GAE/kg oil-  $266.670 \pm 9.700$  mg GAE/kg oil). It should be noted that all of the results obtained within the scope of work, which takes place in average values in the literature, as well as Turkish food codex plant name with the aforementioned oils are natural in good quality / cold pressed oils are determined to have the quality characteristics of the place.

**Keywords:** Pumpkin seed, Cold pressed oil, Bioactive compound, HPLC, GC-MS, Standardization

## ÖN SÖZ

Sunulan bu tez çalışması, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. İbrahim YILMAZ danışmanlığında tamamlanarak, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur. Çalışma, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından, 05-YL-15 nolu proje ile desteklenmiştir.

Sunulan tez çalışmasının, soğuk pres yağ üretimi ve biyoaktif bilşen içeriklerinin incelenmesi ile ilgilenen araştırmacılar için yeni ufuklar açması ve faydalı olması dilek ve temennisiyle, çalışmada emeği geçen ve aşağıda isimleri zikredilen hocalarıma ve arkadaşlarıma şükranlarımı sunmak isterim.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın hazırlanmasında danışmanlığımı üstlenen, tez çalışmam süresince akademik bilgisi ve tecrübesinden yararlanmaktan büyük onur duyduğum, değerli hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim YILMAZ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, bilgi, birikim ve tecrübesi ile çalışmamı yönlendiren, güler yüzü ve nezaketi bilgisini aktaran, özverili ve titiz çalışma disiplini ile birlikte çalışmaktan onur duyduğum Sn.Yrd. Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim ve tez dönemi içerisinde gösterdikleri ilgi ve destekleri için Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sn. Prof. Dr. Fevzi Kılıçel, Sn. Doç. Dr. Oktay Talaz ve Sn.Yrd. Doç Dr. Aysel Çimen'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince her koşulda yanımda olduklarını her an hissettiğim, sıkıntı ve sevinçlerimi paylaşarak arkadaşlığımızın bir kez daha pekiştiği güleryüzleri ile desteklerini ve dostluklarını esirgemeyen Sn. Arş. Gör. Dr. Hacer AZAK ve Sn. Arş. Gör. Ş. Nihan KARUK ELMAS'a sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca katkılarından dolayı Sn.Uzman Sibel KARAPINAR'a çok teşekkür ederim.

Destekleri ile yolumu aydınlatan, öngörülerini ile hayatıma anlam katan değerli kardeşlerime ve tüm sevdiklerime çok teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde asıl pay sahipleri olan, ilgi, sevgi ve merhametiyle verdiğim her kararda destek olan, bana her zaman inanan, güvenen, güç ve moral veren, değerli babam Cömert AKİN'a ve başta duaları, güzel ahlâkı ve dürüstlüğü miras bırakan, bugünüme şahit olamayan değerli annem Fatma AKİN'a bu naçizane çalışmamı özür ve teşekkür borcu ile armağan ediyorum.

Gönül AKİN  
Mayıs, 2016

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖN SÖZ</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>4</b>
2.1. Yağın Tanımı ve Önemi .....	4
2.2. Yenilebilir Yağların Üretim Prosesleri .....	9
2.2.1. Ön işlemler .....	9
2.2.2. Soğuk pres (mekanik pres) yöntemi .....	10
2.2.3. Süperkritik ekstraksiyon (SCFE) yöntemi .....	14
2.2.4. Çözücü ekstraksiyon yöntemi .....	14
2.2.5. Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi .....	15
2.2.6. Rafinasyon yöntemi .....	15
2.3. Kabak ve Kabak Çekirdeği Yağı Üretimi .....	19
2.3.1. Kabak bitkisi çeşitleri ve tarımı .....	19
2.3.2. Kabak çekirdeği yağı özellikleri ve mevcut aktif bileşenleri.....	20
2.3.3. Türkiye’de ve Dünya’da kabak bitkisi ve yağ üretim potansiyeli .....	22
2.3.4. Kabak çekirdeği yağının kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri.....	23
2.4. Kromatografi Tekniği.....	25
2.4.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) tekniği .....	26
2.4.2. Gaz kromatografi (GC) tekniği.....	27
2.5. Literatürde Kabak Çekirdeği Yağı, Özellikleri ve Biyoaktif Bileşenleri ile İlgili Çalışmalar .....	29
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>32</b>
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kolonlar .....	32



3.2. Kullanılan Cihazlar ve Analiz Sistemleri.....	36
3.3. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Numunelerinin Eldesi.....	36
3.4. Yağ Numuneleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler.....	38
3.4.1. Titrimetrik Analizler.....	38
3.4.1.1. Serbest yağ asidi (%FFA) tayini.....	38
3.4.1.2. Peroksit sayısı (PV) tayini.....	38
3.4.1.3. İyot sayısı (IV) tayini.....	39
3.4.1.4. Sabun miktarı tayini.....	40
3.4.1.5. Sabunlaşma sayısı tayini.....	40
3.4.1.6. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini.....	41
3.4.2. UV- Vis Spektrofotometre Analizleri.....	42
3.4.2.1. Konjuge dien ve trien tayini (özgül absorban).....	42
3.4.2.2. Toplam fenolik madde tayini.....	42
3.4.2.3. Serbest radikal yakalama aktivitesi tayini (DPPH Testi).....	43
3.4.2.4. Toplam antioksidan kapasite tayini.....	43
3.4.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) Analizleri.....	44
3.4.3.1. Tokol (Tokoferol – tokotrienol) tayini.....	44
3.4.3.2. Trigliserit tayini.....	45
3.4.3.3. Aflatoksin tayini.....	46
3.4.3.4. Pestisit tayini.....	47
3.4.4. Gaz Kromatografi (GC) Analizleri.....	49
3.4.4.1. Yağ asit kompozisyonu tayini.....	49
3.4.4.2. Pestisit tayini.....	50
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>52</b>
4.1. Kabak Çekirdeği Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler.....	52
4.1.1. Titrimetrik Analizler.....	52
4.1.1.1. Serbest yağ asidi (%FFA) tayini.....	52
4.1.1.2. Peroksit sayısı (PV) tayini.....	54
4.1.1.3. İyot sayısı (IV) tayini.....	56
4.1.1.4. Sabun miktarı tayini.....	56
4.1.1.5. Sabunlaşma sayısı tayini.....	57
4.1.1.6. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini.....	58
4.1.2. UV- Vis Spektrofotometre Analizleri.....	59
4.1.2.1. Konjuge dien ve trien tayini (özgül absorban).....	59
4.1.2.2. Toplam fenolik madde tayini.....	60
4.1.2.3. Serbest radikal yakalama aktivitesi tayini (DPPH testi).....	63
4.1.2.4. Toplam antioksidan kapasite tayini.....	65
4.1.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) Analizleri.....	67
4.1.3.1. Tokoferol – tokotrienol tayini.....	67
4.1.3.2. Trigliserit tayini.....	73
4.1.3.3. Aflatoksin tayini.....	77

4.1.3.4. Pestisit tayini.....	79
4.1.4. Gaz Kromatografi (GC) Analizleri.....	83
4.1.4.1. Yağ asit kompozisyonu tayini .....	83
4.1.4.2. Pestisit tayini.....	88
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>90</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>94</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>101</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>111</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1.	Bitkisel yağların rafinasyon prosesi .....	16
Çizelge 2.2.	Çiğ ve kavrulmuş çekirdek kabaklarının nem, protein, toplam yağ, E vitamini ve mineral madde içerikleri (Ermiş, 2010) .....	20
Çizelge 2.3.	Kabak çekirdeği tohumlarından elde edilen yağların fizikomimyasal özellikleri ( <i>cucurbita pepo subsp., pepo var., styriaca</i> ) (Ermiş, 2010).....	21
Çizelge 2.4.	Kabak çekirdeği tohumu yağlarının fizikomimyasal özellikleri (Stevenson, 2007).....	22
Çizelge 3. 1.	Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler .....	32
Çizelge 3. 2.	Kromatografik ayırmalarda kullanılan kolonlar.....	33
Çizelge 3. 3.	Deneylerde kullanılan standartlar .....	33
Çizelge 3. 4.	UHPLC/MS/MS ile gerçekleştirilen pestisit analizlerinde kullanılan standartlar .....	34
Çizelge 3. 5.	GC/MS ile gerçekleştirilen pestisit analizlerinde kullanılan standartlar .....	35
Çizelge 3. 6.	Deneylerde kullanılan cihazlar.....	36
Çizelge 3. 7.	Tokoferol ve tokotrienol tayini için kullanılan metot parametreleri .....	45
Çizelge 3. 8.	Trigliserit tayini için kullanılan metot parametreleri .....	45
Çizelge 3. 9.	Aflatoksin tayini için kullanılan metot parametreleri .....	47
Çizelge 3. 10.	Pestisit tayini için kullanılan U-HPLC-MS/MS metot parametreleri .....	48
Çizelge 3. 11.	Yağ asit kompozisyonu tayini için kullanılan metot parametreleri .....	50
Çizelge 3. 12.	Pestisit tayini için kullanılan GC/MS metot parametreleri .....	51
Çizelge 4. 1.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için serbest yağ asidi, peroksit sayısı, sabunlaşmayan madde miktarı, sabunlaşma sayısı, sabun miktarı ve iyot sayısı analiz verileri .....	53
Çizelge 4. 2.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için konjuge dien ve trien (özgül absorban) analiz verileri .....	60
Çizelge 4. 3.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numunelerine ait toplam fenolik madde, serbest radikal yakalama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasite tayini analiz verileri .....	62
Çizelge 4. 4.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağı numunelerine ait tokol madde (tokoferol ve tokotrienol) tayin sonuçları (mg/ kg yağ).....	72

<b>Çizelge 4. 5.</b>	Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait trigliserit kompozisyonu verileri (%) .....	77
<b>Çizelge 4. 6.</b>	Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için pestisit (Chlorpyrifos) tayini verileri .....	81
<b>Çizelge 4. 7.</b>	Soğuk pres kabak çekirdeği yağı numunelerine ait yağ asit kompozisyonu verileri.....	88



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1.	Soğuk pres üretiminde kullanılan üretim sistemi .....	11
Şekil 2. 2.	<i>Cucurbita pepo L.</i> kabak çekirdeği yağı .....	19
Şekil 2. 3.	<i>Cucurbita pepo L.</i> kabak çekirdeği yağı .....	20
Şekil 3. 1.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağı üretim şeması .....	37
Şekil 3. 2.	Soğuk pres yağ üretim sistemi .....	37
Şekil 3. 3.	Pestisit tayini için uygulanan AOAC 2007.01-QuEChERS metodu numune hazırlama prosedürü .....	48
Şekil 4. 1.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait toplam fenolik madde tayini kalibrasyon grafikleri .....	61
Şekil 4. 2.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait serbest radikal yakalama aktivitesi, DPPH tayini kalibrasyon grafikleri .....	65
Şekil 4. 3.	Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait toplam antioksidan kapasite tayinikalibrasyon grafiği .....	65
Şekil 4. 4.	Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı .....	68
Şekil 4. 5.	Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı .....	69
Şekil 4. 6.	İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı .....	70
Şekil 4. 7.	Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı .....	71
Şekil 4. 8.	Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı .....	74
Şekil 4. 9.	Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı .....	75
Şekil 4. 10.	İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı .....	75
Şekil 4. 11.	Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı .....	76
Şekil 4. 12.	25 ppb konsantrasyon seviyesindeki aflatoksin G2, G1, B2 ve B1 standart karışımına ait GC/MS kromatogramı .....	78

<b>Şekil 4. 13.</b>	100 ppb konsantrasyon seviyesindeki pestisit standart karışımına ait UHPLC-MS/MS kromatogramı.....	80
<b>Şekil 4. 14.</b>	Chlorpyrifos pestisitinin kimyasal yapısı .....	80
<b>Şekil 4. 15.</b>	Polatlı soğuk pres kabak çekirdeği yağında tespit edilen Chlorpyrifos pestisit türüne ait UHPLC-MS/MS kromatogramı.....	81
<b>Şekil 4. 16.</b>	Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarında tespit edilen Chlorpyrifos pestisit türüne ait UHPLC-MS/MS sisteminde elde edilen kalibrasyon grafiği .....	81
<b>Şekil 4. 17.</b>	Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı .....	84
<b>Şekil 4. 18.</b>	Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı.....	85
<b>Şekil 4. 19.</b>	İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı .....	86
<b>Şekil 4. 20.</b>	Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı.....	87

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

% v/v  
%  
C  
F  
M  
m  
N  
ppb  
ppm  
R  
T-  
TT-  
x  
α-  
β-  
γ-  
δ-

### Açıklama

Hacimce yüzde  
Yüzde  
Konsantrasyon (derişim)  
Formalite  
Molarite  
Molalite  
Normalite  
Milyarda bir kısım  
Milyonda bir kısım  
Rezolüsyon  
Tokoferol  
Tokotrienol  
Mol kesri  
Alfa  
Beta  
Gama  
Sigma

### Kısaltmalar

AF-B1  
AF-B2  
AF-G1  
AF-G2  
AOCS  
DAD  
DPPH  
FAO  
FFA  
FID  
FL  
FT  
FTIR  
GC  
GC/ FID  
GC/MS  
HPLC  
IR

### Açıklama

Aflatoksin B1  
Aflatoksin B2  
Aflatoksin G1  
Aflatoksin G2  
American oil chemists' society  
Diyot array dedektör  
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil  
Gıda ve tarım teşkilatı  
Serbest yağ asitleri  
Alev iyonlaşma dedektör  
Fluoresans  
Fourier transform  
Fourier transform infrared  
Gaz kromatografisi  
Gaz kromatografisi alev iyonlaşma  
Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi  
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi  
İnfrared

<b>IV</b>	İyot sayısı
<b>LC</b>	Sıvı kromatografisi
<b>LOD</b>	Tespit Limiti
<b>LOQ</b>	Tayin limiti
<b>MS</b>	Kütle spektroskopisi
<b>NIR</b>	Yakın infrared spektroskopisi
<b>NMR</b>	Nükleer magnetik rezonans
<b>Ph Eur</b>	European pharmacopoeia
<b>PV</b>	Peroksit sayısı
<b>RID</b>	Kırma indisi dedektörü
<b>RPC</b>	Ters faz kromatografisi
<b>RSD</b>	Bağıl standart sapma
<b>SCF</b>	Süper kritik akışkan
<b>SFC</b>	Süper kritik akışkan kromatografisi
<b>SFE</b>	Süper kritik akışkan ekstraksiyonu
<b>TSE</b>	Türk standartları enstitüsü
<b>U-HPLC-MS/</b>	Ultra performanslı sıvı kromatografi
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>WHO</b>	Dünya sağlık teşkilatı



## 1. GİRİŞ

Yağlar, insan vücudu için gerekli olan en önemli enerji kaynaklarından biri olup, karbonhidratlar ve proteinler gibi insanların beslenmesinde ve hayati fonksiyonlarının devamında önem arz eden temel ihtiyaç maddeleri arasında yer almaktadır. Hücre, doku ve organların yapılarında yer alan temel bileşen olan yağlar yüksek besin değerine sahip olmaları nedeniyle, hayati fonksiyonların sürdürülebilmesi ve vücuttaki değişik işlevlerin sağlıklı bir şekilde yerine getirebilmesi için alınması gerekli mutlak besin öğeleri olarak tanımlanmaktadır (Nas ve ark., 2001; Arslan, 2015).

Pek çok bilimsel araştırma sonucunun değerlendirilmesiyle hazırlanan, gıda ve tarım teşkilatı (FAO) ve dünya sağlık teşkilatı (WHO) ortak uzman grubunun "fonksiyonel gıdalar" a yönelik raporlarında, insan beslenmesinde yağların kullanımına dair önemli tavsiye ve öneriler yer almaktadır. Toplumlarda yağlarla ilgili olarak tüketici bilincinin artması, besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve kronik hastalık riskini azaltabilen fonksiyonel yağ ürünlerine olan talebin artmasına neden olmaktadır. Fonksiyonel yağ ürünlerinin öneminin bilimsel olarak da ortaya konulması "doğal" ya da "organik" olarak tanımlanan özelliklere sahip, yeni ürünlerinin eldesine yönelik endüstriyel üretimin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Endüstriyel olarak yaygın üretimi/ tüketimi gerçekleştirilen rafine bitkisel yağlara alternatif olarak son yıllarda üzüm çekirdeği, çörekotu tohumu, aspir yağı, nar çekirdeği yağı, keten tohumu yağı, susam yağı, kabak çekirdeği gibi fonksiyonel yağ üretimi üzerine yapılan çalışmalar büyük ilgi uyandırmaktadır. Herhangi bir ısıl işlem ve kimyasal uygulaması olmadan, doğal özelliklerini koruyarak üretimi gerçekleştirilen bu tür yağların üretiminde genellikle mekanik pres tekniği uygulanmakta ve elde edilen ürün "soğuk pres yağ" olarak tanımlanmaktadır (Nyama, 2009).

Soğuk pres yağlar tohumları doğrudan ortam sıcaklığında mekanik olarak presleme işlemine tabi tutulduğu, herhangi bir ısıl işleme ve kimyasala maruz bırakmadan (40-50°C) doğal biyoaktif bileşenlerini yüksek oranda koruyarak üretilen ve besin değerleri oldukça yüksek olan yağlar olarak tanımlanmaktadır. Soğuk pres tekniği ile üretilen yağlar proses esnasında yüksek sıcaklık değerlerine maruz kalmadıkları için istenmeyen ürünler oluşmamakta ve bünyesinde bulunan biyoaktif bileşikler zarar görmemektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar soğuk pres tekniği ile üretilen yağların, yapılarında doğal

olarak bulunan vitaminler, antioksidanlar, etken maddeler, elzem yağ asitleri gibi biyoaktif bileşenleri nedeni ile tüketilmesi gerekli değerli fonksiyonel ürünler olduğunu göstermektedir. Soğuk pres yağların içerdikleri biyoaktif bileşenleri sayesinde insan sağlığına olumlu katkıları hakkındaki bilinçlenme, tüketicilerin soğuk presleme ile üretilen ve rafine edilmeden tüketilen bitkisel yağlara olan ilgisinin giderek artmasına neden olmaktadır. Ayrıca soğuk pres tekniği ile üretilen yağların kolay uygulanabilir prosesler kullanılarak eldesi ve içermiş oldukları değerli biyoaktif bileşenlerin ilaç, kozmetik gibi alanlarda hammadde olarak değerli olması, bu alanda yapılan çalışmalara olan ilgiyi arttırmaktadır (Yu ve ark., 2005; Ramadan ve ark., 2012).

Gerek sağlık, gerekse gıdalardaki beslenme değeri açısından son derece önemli besin maddeleri olan soğuk pres yağlar, genellikle yağlı tohumlardan uygun prosesler sonucunda elde edilmektedir. Ülkemizde sıklıkla üretimi gerçekleştirilen ceviz yağı, çörek otu yağı, haşhaş tohumu yağı, aspir yağı, kenevir yağı, ruşeym yağı, ısırğan tohumu yağı, üzüm çekirdeği yağı, keten tohumu yağı, kayısı çekirdeği yağı, vişne çekirdeği yağı, yerfıstığı yağı, kabak çekirdeği yağı gibi yağlar soğuk pres yağlara örnek teşkil etmektedir. Bu yağların tümü yenilebilir özellikte ve yüksek besin değerlerine sahip yağlar olarak üretimi gerçekleştirilmektedir. Ülkemizin iklim ve toprak koşulları birçok yağlı tohum hammaddesi üretimine elverişli olmakla birlikte, soya, pamuk, kanola, yer fıstığı, mısır ve kabak çekirdeği en çok tarımı yapılan yağlı tohumlar olarak bilinmektedir.

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasının *Cucurbita* cinsine dahil olan kabak bitkisi, sakızkabağı (*Cucurbita pepo*), helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*) ve balbakabağı (*Cucurbita moschata*) çeşitlerine sahip bir bitkidir. Ülkemizde bitkisel yağ elde etmek amacıyla tohumları kullanılan kabak bitkisi türü, çoğunlukla *Cucurbita pepo L.* türüne aittir. Ülkemiz iklim ve toprak koşulları sayesinde, diğer kabak bitkisi türlerinin yetişmesine de sorunsuz imkân sağlanabilmektedir. Kabak çekirdeği tohumları Akdeniz ülkelerinde ve Orta doğu ülkelerinde, yağ kaynağı olmaktan ziyade daha çok çerezlik olarak tüketimi tercih edilmektedir. Gıda tüketiminin yanı sıra tıbbi ve kozmetik amaçlı kullanımı da mevcut olan kabak çekirdeği, içerdği mineral, vitamin, protein ve yağlar açısından zengin bir besin deposudur.

Kabakgiller familyasına ait bu türlerde çekirdeğin (tohumun) türüne bağlı olarak, 30-50% oranında yağ, 1% oranında steroid, 25-55% oranında protein, 6-10% karbonhidrat,

bunların yanında cucurbitasin etkeni, tokoller, iz elementleri, vitaminler ve diğer glikozidleri içermektedir. Birçok faydası ve kullanım alanı bulunan kabak çekirdeğinin iç kısmı, %45-50 civarında çoklu doymamış yağ asitleri ve antioksidan madde bakımından zengin, koyu yeşil renkli sabit bir yağ içermektedir. E vitamini (özellikle  $\gamma$ -tokoferol) bakımından çok zengin olan kabak çekirdeği yağı yüksek oranda A ve B vitaminleri ile fitosteroller ve cucurbitin adı verilen amino asiti içermektedir. Rengi ve kokusu nedeniyle yemeklerde tercih edilmeyen bu yağ önemli biyoaktif bileşenleri nedeniyle bazı ülkelerde salata yağı olarak tercih edilmektedir. Yağ oranlarının ve diğer belirtilen biyoaktif bileşen içeriklerinin kabak bitkisi türlerine göre değişiklik göstermesinin temel nedeni bitkinin yetiştirildiği bölgeye ait iklim değişiklikleri ve genetik faktörler olarak belirtilmektedir (Ardabili ve ark., 2011).

Sunulan çalışmanın ilk aşamasında Avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan ve Türkiye'nin dört farklı bölgesinden temin edilen kabak çekirdeği tohumlarından, herhangi bir ısı işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile, yenilebilir özellikte sabit yağlar elde edilmiştir. Farklı bölgelerden temin edilen ham kabak çekirdekleri prosese alınmadan önce fiziksel muayeneye tabi tutulmuştur. Yağ eldesi için kullanılan soğuk pres sisteminde, 8 mm'lik başlıklar kullanılmış ve pres sisteminin devir hızı 17 rpm olarak sabitlemiştir. Devir hızının sabitlemesiyle işlem sıcaklığının artması engellenmiş ve kabak çekirdeğinden sabit yağ eldesi için sistem optimize edilmiştir. Tamamen fiziksel yöntemler ile kabak çekirdeği tohumlarının bünyesinde bulunan sabit yağ ayrıştırılmış, dinlendirme işlemini takiben kağıt filtreler kullanılarak yağın içinde bulunan ve bulanık görüntüye sebep olan maddeler uzaklaştırılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise, mekanik presleme ile elde edilen kabak çekirdeği yağlarında mevcut biyoaktif bileşenlerin, farklı enstrümantal ve klasik analiz yöntemleri kullanılarak kalitatif & kantitatif tayinlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Biyoaktif bileşenlerin tayini ve yağların kalite-kontrol analizleri için numuneler üzerinde başlıca, trigliserit analizi, tokol (tokoferol ve tokotrienol) analizi, yağ asit kompozisyonu analizi, serbest yağ asidi analizi, peroksit sayısı analizi, iyot sayısı analizi, sabun miktarı tayini, sabunlaşmayan madde miktarı tayini, sabunlaşma sayısı tayini, pestisit tayini, antioksidan aktivite tayini, aflatoksin tayini ve toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Yağın Tanımı ve Önemi

Yağlar, insan beslenmesinde karbonhidrat ve proteinlerle birlikte diyetle alınması zorunlu olan temel besin öğeleri olarak ifade edilmektedir. Bitkisel sıvı yağlar hem vücuda sağladıkları yüksek enerji, hem de içerdikleri yağda çözünen vitaminler ile vücut tarafından sentezlenemeyen yağ asitleri bakımından insan beslenmesinde büyük önem taşımaktadır. Esansiyel niteliğe sahip çeşitli yağ asitlerini içermeleri, yemeklerden sonra tokluk hissine katkıda bulunmaları, gıdaların daha lezzetli olmasına katkıları ve yağda çözünen vitaminler için taşıyıcı fonksiyona sahip olmaları nedeniyle yağlar diyetin vazgeçilmez besin öğesi olarak kabul edilmektedir (Nas ve ark., 2001).

Yağların temel kimyasal bileşeni, üç değerlikli bir alkol olan gliserin ( $C_3H_5(OH)_3$ ) ile çift karbon sayılı yağ asitlerinin esterleşmesinden meydana gelen "trigliserit" molekülleridir. Gliserin ile yağ asitlerinin esterleşmesi sonucu oluşan trigliserit yapılar, yağların yaklaşık ~98-95%'lik kısmını oluşturmaktadır. Yağların ~5-2%'lik kalan kısmını ise digliseritler, monogliseritler, steroller, fosfatidler, vakslar, serbest yağ asitleri, vitaminler, pigmentler, pestisitler, iz metaller gibi ikincil bileşen olarak tanımlanan bileşenler oluşturmaktadır (Arslan, 2015). İkincil bileşen olarak tanımlanan bu türlerin önemli biyoaktif özellik gösterdikleri ve değerli bileşenler olarak pek çok araştırmaya konu oldukları bilinmektedir (Demirci, 2001, İbeto ve ark., 2012). Biyoaktif bileşenler yağın kalitesini koruma, raf ömrünü uzatma, yağın aromasını ve rengini iyileştirme, yağın besin değerini koruma, pişirilecek gıdanın yapısını ve pişme özelliğini geliştirme gibi birçok önemli fonksiyona sahiptirler. Ayrıca, belirtilen biyoaktif maddelerin sentetik türleri, gıda sanayinde, istenilen kalite parametrelerini ve rengi sağlamak, ürüne özgü lezzet değerini arttırmak, koruma veya modifikasyonda ve görünüşü standart kılabilecek ürünlerin oluşmasını sağlamak amacıyla yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Sunulan tez konusu kapsamında yer alması bakımından yağlarda mevcut temel bileşenler, minör bileşenler ve biyoaktif özellik gösteren bileşenlerin genel özellikleri hakkında kısaca bilgi verilmeye çalışılmıştır.

- **Trigliseritler.** Gliserinin organik asitlerle oluşturduğu esterler, gliseritleri meydana getirmektedir. Trigliseritler ise, gliserinle üç farklı ya da aynı yağ asitlerinin birleşmesi sonucu oluşan bileşikler olup, bitkisel ve hayvansal yağların ana bileşenidirler. Yağın yaklaşık 95-99%'luk kısmını trigliseridler oluşturmaktadır. Bu nedenle trigliseritler, yağların esas/ temel bileşeni konumundadır (Arslan, 2015).
- **Digliserit ve monogliseritler.** Mono- ve digliseridler yağ asitleri ile gliserolün oluşturduğu mono ve diesterlerdir. Mono- ve digliseridler, kıvam arttırıcı (emülsifler) olarak gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla mono- ve digliseridler, gliserol ile trigliseridlerin reaksiyonu ortamında, yağ asidi değişimi yoluyla veya gliserol ile yağ asitlerinin esterifikasyonu yöntemi ile ticari ölçekte üretilmektedir. Sindirim sisteminde trigliseridlerin normal parçalanması ile mono- ve digliseridler meydana gelmektedir. Hayvansal ve bitkisel yağlarda ise, çok az miktarlarda doğal olarak meydana gelmektedirler (Arslan, 2015).
- **Tokoller (tokoferoller ve tokotrienoller).** Tokoller, yağın bileşiminde bulunan ve antioksidan özelliği gösteren bileşiklerdir. Tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere iki guruba ayrılmakta, ve her iki grup için dört izomer ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - ve  $\delta$ -) bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, yağın oksidatif kararlılığı ile tokol içeriği arasında güçlü düzeyde bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Tokollerin, yağların tat kalitesinin düşmesinde önemli etkisi olan hidroperoksi ve serbest radikalleri stabilize ederek yağın oksidasyonunu engelleyici görevleri bulunmaktadır. Tokoferoller, hidroksil grubunun hidrojenini lipid peroksil radikaline vererek antioksidatif aktivite göstermektedirler.  $\alpha$ -Tokoferolün aynı zamanda hidroperoksitlerin dekompozisyonunu yavaşlattığı bilinmektedir (Arslan, 2009, Gülcü ve Demirci, 2008). Güçlü antioksidan özelliğine sahip olan tokollerin hücrede oksidasyonu önleme ve serbest radikal oluşumuna neden olan serbest oksijeni tutarak, çoklu doymamış yağ asitlerinin okside olarak parçalanmasına engel oldukları yapılan pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır (Çetintaş, 2005).
- **Steroller.** Steroller, steroid alkoller olarak da adlandırılmaktadır. Steroller, steroid iskeletine ek olarak 8-10 karbonlu bir yan zincir ve bir alkol grubu içeren bileşiklerdir. Birçok katı ve sıvı yağın sabunlaşmayan maddelerinin büyük bir kısmını oluştururlar. Steroller kimyasal yapı olarak polisiklik alkoller grubundan olup, kısaca 'steran halkası'

denilen siklopentanopenantren halkasını içerirler. Steroller sekonder alkol olmaları nedeniyle hem serbest, hem de yağ asitleri ile esterleşmiş olarak bağlı formda bulunurlar. doğal steroller sentezlendikleri kaynağa göre, hayvansal organizmada sentezlenenler (zoosteroller), bitkisel organizmada sentezlenenler (fitosteroller) ve küf kaynaklı olanlar (mikosteroller) olmak üzere üç sınıfta gruplandırılırlar (Arslan, 2009). Yüksek kaynama noktasına sahip, renksiz ve göreceli olarak inert yapıları bileşenlerdir. Sterollerin, yüksek sıcaklık uygulamalarında yağlarda polimerleşme önleyici etkisi olduğu tespit edilmiştir (Bemis ve ark., 1968; Stuart ve ark., 1983).

- **Yağ asitleri.** Yağ içerisinde, trigliserit yapının oluşumunda gliserol ile esterleşmemiş halde bulunan karboksilik asitleridir. Yağda, trigliserit iskeletinde bulunan yağ asitleri üç ana grupta incelenebilir. Bunlar doymuş yağ asitleri, doymamış yağ asitleri ve farklı kimyasal yapı gösteren yağ asitleridir. Yapılan araştırmalara göre, düşük doymuş yağ asidi ve yüksek tekli doymamış yağ asidi kan lipid seviyesinin kontrolünde önem taşımaktadır ve bu etki insanların kronik kalp hastalıklarından korunmasında büyük önem taşır. Ayrıca tekli doymamış yağ asitlerince zengin diyet, kan basıncını azaltmakta ve toplam kolesterol düzeyini azaltmaktadır. Böylece kan trigliserit seviyesinin azalması sonucu insan sağlığı olumlu olarak etkilenmektedir (Başoğlu, 2006). Gıda olarak kullanılan rafine katı ve sıvı yağlar genellikle çok az düzeyde serbest halde bulunan yağ asidi içermektedir. Rafine edilmemiş yağlarda serbest yağ asitleri (FFA), normalden birkaç kat daha fazla bulunmaktadır. Serbest halde bulunan yağ asitlerinin miktarı, rafinasyon işlemi ile istenilen düzeye getirilmektedir (Arslan, 2009).
- **Fosfolipitler.** Gliserin molekülüne fosfor içerikli bir yapının bağlanmasıyla oluşan ve doğal bileşimli yağ yapısında olan polihidrik alkol (gliserol) içeren bileşiklerdir. Yapılarında gliserole ilaveten, yağ asitleri, fosforik asit ve azot içeren bir bileşik bulunmaktadır. Yemeklik yağlarda yaygın olarak bulunan fosfatid türleri, lesitin ve sefalin türleridir. Fosfolipidler, emülsiyon oluşumunda yüzey aktif madde olarak rol almaktadırlar. Bitkisel yağlarda %0,1 ile 3 arasında değişen oranlarda bulunan fosfolipit yapıları, rafinasyon işlemi ile uzaklaştırılmaktadır (Arslan, 2009).
- **Vakslar (mumlar).** Yağ asitlerinin, uzun zincirli yağ alkolleriyle birleşiminden meydana gelen bitkisel ya da hayvansal kökenli yağ bileşikleridir. Rafine edilmemiş yağlarda doğal olarak meydana gelen mumsu yapılar, yağın doğal görünümüne

bulanıklık vermektedir. Küçük miktarlarda bulduklarında dahi, yağ içerisinde düşük sıcaklıklarda katılaştıkları için, rafinasyon işlemi ile uzaklaştırılmaktadır (Arslan, 2009).

- **Fenolik maddeler.** Fenolik maddeler, fonksiyonel türevleri de dahil olmak üzere hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip geniş bir bileşik sınıfını ifade etmektedir. Fenolik maddelerin tümü, basit fenol yapısındaki benzen halkasına farklı radikal gruplarının bağlanması ile oluşmaktadır. Fenolik maddeleri, denoller, fenolik asitler, fenil asetik asitler, sinamik asitler, kumarinler, izokumarinler ve kromanlar, lignanlar, flavonoidler, ligninler, taninler, benzofenonlar, ksantonlar ve stilbenler, kuinonlar, betasiyaninler olmak üzere sekiz gruba ayırmak mümkündür (Harborne ve Dey, 1989). Fenolik bileşikler antioksidatif etkiye sahip önemli yapılar olarak bilinmekte ve bu özellikleri fenol grubundaki –OH grubu sayısı arttıkça artmaktadır. Gıdalardaki lipid oksidasyonunu engellemek amacıyla antioksidatif etki gösteren bütillenmiş hidrokistoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi sentetik fenoliklerin kullanımı, gıda endüstrisinde oldukça yaygındır (Saldamlı, 1998).
- **Pigmentler.** Yağlar içerisindeki renk sağlayıcı maddeler olarak tanımlanmaktadır. Karoten pigmentinin yağa sarı ve kırmızı rengi, klorofil pigmentinin yeşilimsi renkleri, bozunmuş karbonhidrat ve proteinlerin kahverengi tonlarını, gossipol pigmentinin ise (pamuk yağına özgü pigment) sarı tonlarını sağladığı bilinmektedir (Arslan, 2009).
- **Hidrokarbonlar.** Yağların sabunlaşmayan kısımlarında, 1% oranından daha az miktarda bulunan doymamış karbon zinciri içeren yapılar olarak tanımlanmaktadır. Yağlarda alkan, skualen, karoten türü hidrokarbonlar bulunabileceği gibi, farklı nedenlerden dolayı ham yağa polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) da geçmesi mümkün olabilmektedir.
- **Pestisitler.** Pestisit, insan ve hayvan vücudu, bitkiler üzerinde veya çevresinde yaşayan, gıda ürünlerinin üretim, depolanma ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren veya zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formlarının yıkıcı etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelerin ortak adıdır. Tarımsal üretimi artırmak için kullanılan, kimyasal ya da mikroorganizma yapısındaki maddelerdir. Zararlı organizmaları engelleyerek kontrol altına almak gibi bazı yararları mevcut olsa da,

insan sağlığına zararları bulunduğundan yağın işlenmesi esnasında giderilmesi gerekmektedir (Çağdar, 2014).

- **Aflatoksin.** Küflerin metabolizma faaliyetleri sonucu meydana gelen iz miktarda ve organik yapıdaki toksik maddeler olarak tanımlanmaktadır (Davis ve Diener, 1978; Charles ve Hurburgh, 1995). Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* grubu kf mantarları tarafından gıdaların üzerinde yada içinde üretilen, kuvvetli toksik, kanserojenik, mutajenik ve bağışıklık sistemini okerten ikincil metabolitler olarak da tanımlanabilmektedir (Reddy ve Waliyar, 1994; Makaracı, 2006). Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığına olan zararlı etkilerinden dolayı, yağdaki miktarlarının tayini önem arz etmektedir.



## 2.2. Yenilebilir Yağların Üretim Prosesleri

### 2.2.1. Ön işlemler

Yağlı tohumlardan yenilebilir özellikteki yağ eldesindeki ilk aşamada, tohumlar birtakım ön işlemlerden geçirilmektedir. Ön işlemleri genel olarak tohumların temizlenmesi, tohumun yapısal farklılığından dolayı uygulanması gereken bazı işlemler ve uygulanacak yağ alma yönteminin gerektirdiği ön hazırlıklar oluşturmaktadır. Ön işlemler temelde, tohumların temizlenmesi, linterleme, tohumların nemlendirilmesi, kabuk kırma ve ayırma, pulcuk haline getirme ve kavurma işlemi gibi işlemleri kapsamaktadır.

Ham yağın verim ve kalitesini korumak, rafinasyonu sırasında oluşacak kayıpları minimuma indirmek ve makinelere zarar vermemek açısından hammaddenin işlenmeden önce temizlenmesi gerekmektedir (Kayahan, 2007). Yağlı tohumlardaki yabancı maddeleri etkili bir şekilde temizlemek amacıyla, irilik, şekil, yoğunluk ve manyetik özelliklerinden faydalanarak çalışan sistemler kullanılarak uzaklaştırılmaktadır. Temizlemede kullanılan başlıca sistemler elekler, triyörler, pnömatik (havalı) ayırıcılar, mıknaş sistemi, linterleme makineleri (kabak çekirdeği tohumunu liflerden ayırmak için) ve fırçalama makineleridir (Kayahan, 2003; Nasve ark., 2001). Ön işlemlerin ikinci aşamasında, yağlı tohumlardan kabukların uzaklaştırılması için kabuk kırma ve ayırma işlemi uygulanmaktadır. Kabuğun, düşük yağ ve protein içeriği nedeniyle tohumdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Aksi takdirde kabuğun dış yüzeyleri iç kısım ile uzun süre temas eder ve iç kısımdan kabuğa yağ geçişine neden olmaktadır. Çözücü ekstraksiyonu sırasında kabuğun renk, tat ve koku maddelerinin de çözünmesini sağlamakta, dolayısıyla yağın kalitesinin bozulmasına ve rafinasyonunun zorlaşmasına neden olmaktadır. Kabuk kırma işlemi sayesinde kalite ve verim kaybının azalması sağlanmaktadır. Tonlarca tohumun işlendiği ve çeşide göre tohumlardaki kabuğun %20-40 arasındaki oranda olduğu düşünülürse, bu yağ kaybının önemi daha iyi anlaşılmaktadır (Kayahan, 2007; Dalkıran, 2014).

Kabuk kırma ve ayırma işleminin ardından uygulanan tohum içinin ezilmesi aşamasında, yağı hapseden hücre ve dokular parçalanarak yağın kendiliğinden dışarı akışı sağlanmaktadır. Yağlı tohumlarda yağ zerrecikleri hücre sitoplazması içinde

olduğundan, dışarı çıkabilmeleri için tohum için mümkün olduğunca küçük parçalara ayrılması gerekmektedir. Pulcuklandırma işlemiyle hem boyut küçültülmesi sağlanır, hücre içindeki yağ partiküllerinin dışarıya sızma alanı genişletilir, hem de yağ çıkışına karşı tohum yapısının gösterdiği direncin azaltılması sağlanır. Bu işlem sayesinde çözücü ekstraksiyonunda çözücünün içe difüzyonu kolaylaşmakta, böylece ekstraksiyon hızı da artmaktadır. Diğer bir aşama olan tohumların kavrulması işlemi ise, yağlı tohumların yağ verimlerini artırmak ve küspenin daha iyi değerlendirilmesini sağlamak için uygulanmaktadır. Kavurma işlemi sayesinde, sıcaklığın etkisiyle yağın viskozitesi azaltılmakta ve akıcılığı artırılmaktadır. Hücre duvarında yer alan proteinler ısıyla denatüre olup sonra agregasyonları gerçekleştiği için, hücre içindeki yağ moleküllerinin hücreden kolayca çıkması sağlanmaktadır. Sıcaklığın etkisiyle ezilen tohum esneklik kazanmakta ve preslemenin etkinliği artırılmaktadır (Jacks ve ark., 1972) Tohumlara uygulanan son işlemde ise, tohumdaki su oranı düşürülmektedir. Kavurma işlemi küçük tesislerde doğrudan ateşle ısıtılan tek katlı tavalarda uygulanırken, büyük ve modern işletmelerde ise 4-5 katlı tavalarda yapılmaktadır. Tavalarda içindeki tohum önce 15-20 dakika ısıtılmakta, üzerine su buharı veya sıcak su püskürtülerek nemi %16-18'e çıkartılmaktadır. Daha sonra tohum sıcaklığı 80-90°C' ye çıkarılarak kavurma işlemine geçilmekte ve bu işlem yaklaşık 20-30 dakika devam ettirilmektedir. Daha sonra 110-115°C sıcaklıkta nem oranı %4-4,5' a düşürülmekte ve tohum pres veya ekstraktöre sevk edilmektedir (Ergönül ve Günç, 2003).

### **2.2.2. Soğuk pres (mekanik pres) yöntemi**

Soğuk pres yağlar, tohumların doğrudan ortam sıcaklığında mekanik olarak presleme işlemine tabi tutulduğu, herhangi bir ısıtma işlemi ve kimyasala maruz bırakmadan (40-50°C) doğal biyoaktif bileşenlerini yüksek oranda koruyarak üretilen ve besin değerleri oldukça yüksek olan yağlar olarak tanımlanmaktadır.

Endüstriyel olarak yaygın üretimi/ tüketimi gerçekleştirilen yenilebilir özellikteki rafine yağlara alternatif olarak son yıllarda üzüm çekirdeği, çörekotu tohumu, aspir yağı, nar çekirdeği yağı, keten tohumu yağı, kayısı çekirdeği yağı, susam yağı, kabak çekirdeği gibi fonksiyonel yağ üretimi üzerine yapılan çalışmalar büyük ilgi uyandırmaktadır. Son yıllarda yüksek miktarda besin maddelerini içermesi nedeni ile soğuk pres metoduna olan ilgi artmış, tüketicilerin doğal ve güvenli gıda arayışlarına cevap verdiği için ticari

anlamda da yaygınlaşan bir uygulama haline gelmiştir. Herhangi bir ısı işlem ve kimyasal uygulaması olmadan, doğal özelliklerini koruyarak üretimi gerçekleştirilen bu tür yağların üretiminde genellikle mekanik pres tekniği uygulanmakta ve elde edilen ürün "soğuk pres yağ" olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 2. 1 Soğuk pres üretiminde kullanılan üretim sistemi

Uluslararası düzeyde, yenilebilir yağların isimlendirilmesinde ve sınıflandırılmasında Kodeks Alimentarius Standardı ve Alman yönetmelikleri esas alınmaktadır. Alman Standardında yapılan sınıflandırmada, natürel, rafine edilmemiş ve rafine edilmiş yağlar olarak sınıflandırma yapılmış, soğuk pres yağlar ise ek bir kalite özelliği olarak belirtilmiştir. Kodeks Alimentarius Standardında yapılan sınıflandırmada ise, yenilebilir natürel yağ ve soğuk pres yağı olarak gruplandırma yapılmıştır (Matthaus ve Speener, 2008). Kodex Alimentarius Standardında yapılan bu sınıflandırmanın yanı sıra, her bir yağ türü için bazı tanımlamalar da yapılmıştır. Kodekste yapılan bu tanımlar şu şekildedir;

▪ **Natürel yağ**, yağın doğal yapısını değiştirmeden, presleme gibi mekanik prosedürlerle ve düşük ısı uygulaması ile elde edilen yağlardır. Natürel yağların eldesinde yağa, suyla yıkama, çöktürme, süzme ve santrifüjleme gibi ardı ardına saflaştırma işlemleri uygulanmaktadır. Tüm proses süresince yağda bulunan değerli bileşenlerin yapısını değişmesine neden olabilecek sıcaklık uygulamalarına sınırlaması getirilmiştir. Presleme süresince kendiliğinden olan ısı artışı için ise, herhangi bir sıcaklık sınırlaması getirilmemiştir. Soğuk pres yağların üretim prosesinde ise, yağın herhangi bir üretim basamağında ısıtma işlemine izin verilmemektedir. Sonuç olarak, ısıl işlem uygulamasındaki bu farklılık nedeniyle, soğuk pres yağlar, natürel yağlar sınıfında yer almakta, fakat natürel yağların tümü, soğuk pres yağ gurubuna dahil edilmemektedir (Matthaus ve Speener, 2008).

▪ **Rafine edilmemiş yağlar**, rafine edilmiş ve natürel yağların tanımlarına tam anlamıyla uymayan, bu iki grup arasında özelliklere sahip olan yağlar olarak tanımlanmaktadır. Presleme ile mekanik ekstraksiyonun yanında, hammaddeye ısı uygulanması ve santrifüjlemeye izin verilmiştir. Verimi arttırmak veya özel kavrulmuş bir tat elde etmek için, hammaddeye ısıl ön işlem yapılması yasaklanmamıştır. Rafine edilmemiş yağlar için serbest bırakılmış diğer bir proses basamağı ise, yağların raf ömrünün arttırılması için sadece gereken oranda sıcak su buharı (100-150°C) kullanılmasıdır. Bu işlemin beraberinde getirdiği problem istenmeyen kötü koku ve tat aromalarının yağda kalması, tipik tat ve kokudan sorumlu aroma bileşenlerinin ilk olarak uzaklaşmasıdır. Sadece daha yüksek sıcaklıklar bu istenmeyen bileşikler uzaklaştırabilir ve elde edilen yağ neredeyse tatsız bir yağ olur.

Alman Standartlarındaki soğuk pres yağı tanımında ise, natürel yağlar ve rafine edilmemiş yağların, herhangi bir ısıl uygulama olmaksızın, hammaddenin dikkatli ve hassas bir şekilde gerçekleştirilen mekanik ekstraksiyonu ile elde edilmesi durumunda yağın "soğuk pres yağ" olarak etiketlenebileceği belirtilmiştir. Soğuk pres terimi yönetmelik çerçevesinde ek bir kalite özelliği olarak nitelendirilmiştir (Matthaus ve Speener, 2008; Şeran, 2011).

Soğuk pres tekniği ile üretilen yağlar, proses esnasında yüksek sıcaklık değerlerine maruz kalmadıkları için istenmeyen ürünler oluşmamakta ve bünyesinde bulunan biyoaktif bileşikler zarar görmemektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar soğuk pres tekniği ile üretilen yağların, yapılarında doğal olarak bulunan vitaminler, antioksidanlar,

etken maddeler, elzem yağ asitleri gibi biyoaktif bileşenleri nedeni ile tüketilmesi gerekli değerli fonksiyonel ürünler olduğunu göstermektedir. Soğuk pres yağların içerdikleri biyoaktif bileşenleri sayesinde insan sağlığına olumlu katkıları hakkındaki bilinçlenme, tüketicilerin soğuk presleme ile üretilen ve rafine edilmeden tüketilen bitkisel yağlara olan ilgisinin giderek artmasına neden olmaktadır. Ayrıca soğuk pres tekniği ile üretilen yağların kolay uygulanabilir prosesler kullanılarak eldesi ve içermiş oldukları değerli biyoaktif bileşenlerin ilaç, kozmetik gibi alanlarda hammadde olarak değerli olması, bu alanda yapılan çalışmalara olan ilgiyi arttırmaktadır.

Gerek sağlık, gerekse gıdalardaki beslenme değeri açısından son derece önemli besin maddeleri olan soğuk pres yağlar, genellikle yağlı tohumlardan uygun prosesler sonucunda elde edilmektedir. Soğuk Pres yöntemi destilasyon işlemi gibi yüksek ısı gerektirmediği için uçucu yağ bileşenlerinin bozulma riski olmayan mekanik bir işlemdir. Soğuk pres geleneksel bir yöntemdir ancak günümüzde hala geçerliliğini koruyan ve geliştirilmeye devam eden bir yöntemdir (Raymo, 2012).

Soğuk presleme yöntemi ile yağ üretiminin en büyük dezavantajı, yağ veriminin çözücü ekstraksiyonu yöntemine göre çok daha az olması ve buna bağlı olarak yağ fiyatının yüksek olmasıdır. Soğuk pres yöntemi ile daha düşük verimliliklerde yağ elde ediliyor olsa da, çözücü ekstraksiyonu ile gerçekleştirilen proseslerde olduğu gibi son üründe çözücü kalıntısına rastlama riski bulunmamakta, böylelikle daha güvenli ve kullanıcıların daha çok tercih ettiği bir ürün haline gelmektedir (Alfawaz, 2004). Yağ elde etme verimini arttırmak üzere tohumlara ısı ön işlem uygulanması endüstriyel uygulamada sıkça karşılaşılan çözümlerden birisidir, ancak bu durum yağlarda kalitenin azalmasına ve bununla birlikte üretilen yağın soğuk pres yağı olarak kabul görmemesine neden olmaktadır. Soğuk pres yağ üretiminde, metodun yağ elde etme veriminin ve elde edilen yağın kalitesinin artırılması için ultrasonik etki ile tohumların ön işlemi, son yıllarda etkili bir yöntem olarak gösterilmektedir. Bu işlem sayesinde, tohum hücre duvarları çatlatılarak yağın daha kolay ayrılmasının, dolayısıyla verim artışının sağlanacağı, ayrıca işlemde sıvı ortam olarak kullanılacak olan etanolün, tohumların sterilizasyonu, içerdikleri enzimlerin deaktivasyonu gibi etkilerle yağ kalitesine de olumlu katkıları beraberinde getirdiği belirtilmektedir.

Ülkemizde sıklıkla üretimi gerçekleştirilen ceviz yağı, çörek otu yağı, haşhaş tohumu yağı, aspir yağı, kenevir yağı, ruşeym yağı, ısırgan tohumu yağı, üzüm çekirdeği yağı,

keten tohumu yağı, kayısı çekirdeği yağı, vişne çekirdeği yağı, yerfıstığı yağı, kabak çekirdeği yağı gibi yağlar soğuk pres yağlara örnek teşkil etmektedir. Bu yağların tümü yenilebilir özellikte ve yüksek besin değerlerine sahip yağlar olarak üretimi gerçekleştirilmektedir.

### **2.2.3. Süperkritik ekstraksiyon (SCFE) yöntemi**

Yağ üretim endüstrisi için pek çok ayırma ve fraksiyonlama yöntemi geliştirilmiştir. Kristalizasyon, filtrasyon, destilasyon ya da çöktürme gibi geleneksel yöntemlerin yerine yeni teknoloji membran ya da süperkritik akışkan ekstraksiyon teknikleri tercih edilmektedir. Ayrılması istenilen maddenin özel şartları olan kritik basınç ve sıcaklığın (süperkritik bölge) üstünde çözme gücünün modifiye edilebildiği bir akışkanda çözüldüğü procestir. SCFE tekniğı ile, spesifik bir bileşen seçilerek ayrılması veya karışımındaki bileşenler sıcaklık yada basınç değıştirilerek herhangi bir faz değışimi olmaksızın fraksiyonlandırılması sağlanmaktadır.

Süperkritik ekstraksiyon yöntemi, uygulama sıcaklığının düşük olması nedeniyle özellikle uçucu yağların eldesi için uygun bir metottur. Ekstraksiyon tamamıyla oksijensiz ortamda gerçekleştirildiğinden bir dizi olumsuz reaksiyonunda da meydana gelmesi engellenmektedir. Yağların eldesinde yaygın kullanılan çözücülerin aksine, üründe kirliliğe yol açmayan bir işlemdir ve tesis için büyük kurulum alanı gerektirmez. Bunun yanında üründe bulunan önemli bileşenlerin kaybına yol açmaz. Yüksek basınçlı ekipmanlar, diğcr sistemlere göre daha pahalı olmasına rağmen, proses optimum şartlarda ve yeterli büyüklükte bir ekstraktörle çalıştırılırsa toplam operasyon maliyeti düşük bir sistemdir (Gök, 2012).

### **2.2.4. Çözücü ekstraksiyon yöntemi**

Çözücü ekstraksiyon yöntemi, yağlı tohumlardan ham yağların ayrılması ve saflaştırılması amacıyla geniş ölçüde kullanılmaktadır. Kullanılan çözücünün çok büyük çoğunluğu uçurularak geri kazanılmasına rağmen, güvenlik ve çevresel kirlilikle ilgili endişeler devam etmektedir. Yağ ekstraksiyonunda en çok kullanılan çözücüler, petrol eteri, kloroform, benzol ve heksandır. Yağlı tohumlar, direkt olarak oda sıcaklığında çözücünün içerisine batırılabilceğı gibi bir sokslet düzeneğı içerisinde organik çözücü

ile de muamele edilebilmektedir. Ekstraksiyon sonunda, organik çözücü destilasyon ile ortamdan uzaklaştırılarak geri kazanılmaktadır. Kalan yağsı kısım içerisinde ise uçucu bileşikler bulunmaktadır. Ham yağ eldesinde en fazla tercih edilen yöntemlerinden, hekzan çözücü ekstraksiyon yöntemi en fazla tercih edilen yöntemdir. Hekzan ekstraksiyon yöntemi, yağ verimliliği açısından oldukça yüksek kalitededir (Dalkıran, 2014) .

### **2.2.5. Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi**

Enzimatik sulu ekstraksiyon prosesi, yağ elde edilecek tohumun öğütülmesi, sulu tampon çözeltisiyle karıştırılması, enzimle inkübasyonu, katı ve sıvı fazların santrifüjle birbirlerinden ayrılması ve sıvı fazdan yağın elde edilme aşamalarını kapsamaktadır. Sulu enzimatik ekstraksiyon, çözücü ekstraksiyonu yerine kullanılan çevresel açıdan zararsız çevre dostu bir prosestir. Ekstraksiyon işlemi sonrasında, yağın santrifüj ile alınması gerekmektedir. Ekstraksiyon sonrasında karışımlar santrifüj edilince yağ, krema, sulu ve katı faz tabakaları olmak üzere toplam dört faza ayrılmaktadır. Bu yöntemde karşılaşılan en büyük zorluklardan birisi, oluşan emülsiyonun yağ verimini düşürmesidir. Emülsiyon giderme, sulu ve enzimatik ekstraksiyonun uygulanabilirliğini belirlemektedir. Bu nedenle ekstraksiyon sırasında emülsiyon oluşursa, yağı ayırmak için emülsiyon kırılmaktadır. Emülsiyonlar, n-hekzan yardımıyla ekstrakte edilebileceği gibi, dondurma-eritme gibi yöntemlerle de kırılabilmektedir. Yağın ayrılması için ekstraksiyon karışımına sıcak su eklenerek sıcak suda yağ yüzdürülmekte, bu işlemde emülsiyon tabakası üst yüzeye çıkartılmakta, daha sonrasında biraz kaynatılarak emülsiyon kırılmakta ve son olarak yağ tabakası dekante edilmektedir.

Enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağın kalitesinin yüksek olduğu pek çok araştırma ile ortaya konmuştur. Araştırmalar, enzimatik sulu ekstraksiyon ile edilen ham yağ kalitesinin, endüstriyel yöntem olan çözücü ekstraksiyonu ile edilen yağın kalitesinden daha iyi olduğunu göstermektedir.

### **2.2.6. Rafinasyon yöntemi**

Yağların insanların tüketimine uygun özellikler kazanması için, çeşitli faktörler sebebiyle ham yağda bulunan safsızlıkların dikkatli bir şekilde uzaklaştırılması yani

rafine edilmesi gerekmektedir. Rafinasyon işlemi, yağın doğal haldeki trigliserit yapısını bozmadan ve antioksidan özellik gösteren E vitamininin sentezleyicisi tokol türlerine zarar vermeden, sadece tüketime engel olan safsızlıkların uzaklaştırılmasıdır (Arslan, 2015).

Bitkisel yağların rafinasyonu, trigliseridlerin, yağda çözünmeyen safsızlıklardan ayrılması olarak da ifade etmektedir. Ham yağ içerisinde bulunan trigliseritler dışındaki maddeler, hammaddenin yetiştirilme ve depolama koşulları ile tohuma uygulanan yağ elde etme yöntemine ve ham yağa uygulanan işlemlere bağlı olarak miktar ve çeşit bakımından büyük farklılıklar göstermektedir. Rafinasyon işlemlerinin, değişik özellikteki hammaddeden yüksek kalitede nihai ürün elde etmeye yönelik olması gerekmektedir (Taşan ve ark., 2011).

Yağlarda rafinasyon işlemi, kimyasal, fiziksel ve enzimatik rafinasyon olmak üzere üç farklı yöntemle gerçekleştirilebilmektedir (**Çizelge 2.1**).

**Çizelge 2.1** Bitkisel yağların rafinasyon prosesi

Kimyasal rafinasyon	Fiziksel rafinasyon	Enzimatik rafinasyon
Degumming	Degumming	Enzimatik degumming
Nötralizasyon	-	Nötralizasyon
Ağartma	Ağartma	Ağartma
Vinterizasyon	Vinterizasyon	Vinterizasyon
Deoderizasyon	Deoderizasyon/ Nötralizasyon	Deoderizasyon

▪ **Degumming (musilaj giderme)**. Rafinasyondaki ilk aşamadır. Bu aşama, ham yağda bulunan ve uzaklaştırılmadığı takdirde rafinasyonda kayıplara sebep olan fosfolipidler, proteinler ve gumlar gibi maddelerin hidratlaştırılarak, yağdan uzaklaştırılmalarını içerir. Bu maddeler anhidrat (susuz) yapıları nedeniyle ham yağda çözünen maddelerdir fakat hidratlandıkları zaman çözünürlükleri kaybolmaktadır. Hidratlanabilen fosfolipidler bu şekilde ham yağdan uzaklaştırılırken, hidratlanamayan fosfolipidler ise asitle muamele edilerek yağdan uzaklaştırılmaktadır (Arslan, 2009).

▪ **Nötralizasyon (asitlik giderme)**. Rafinasyondaki ikinci kademedir. Bu kademe, serbest yağ asitlerinin bazlarla nötralizasyonunu içerir. Asitlik giderme (nötralizasyon) işleminde yaygın olarak kullanılan yöntem, serbest yağ asitlerinin (FFA), NaOH ile



sabunlaştırılması sonucu oluşan sodyum sabunlarının soapstokla birlikte uzaklaştırılmasıdır. Soapstok, bitkisel ham yağların rafinasyonunda, serbest yağ asitlerinin NaOH ile nötralizasyonundan sonra yer alan yıkama işleminde ayrıştırılan yan üründür. Bu işlemde, bir ısı değiştirici vasıtasıyla ısıtılan yağ, mikserler vasıtasıyla gerekli miktarda (stokiyometrik oranda) alkali ile karıştırılmakta ve oluşan soapstok nötr yağdan yüksek devirli santrifüj seperatörler yardımı ile ayrılmaktadır. Nötr yağın bünyesinde kalan sabun ise ikinci bir seperatörde suyla yıkama yoluyla yağdan uzaklaştırılır. Yağda serbest halde bulunan yağ asitleri NaOH ile muamele edilince yağda erimeyen sabun meydana getirerek çöker. Meydana gelen sabun, asidik karakterde olan diğer bazı maddeleri de absorbe ederek, bu maddelerin de kendisiyle birlikte çökmelerini sağlamaktadır (Arslan, 2009).

▪ **Ağartma.** Rafinasyondaki üçüncü kademe olan ağartma kademesi, ham yağın doğal olarak içerdiği renk verici pigmentlerinin ve yağa koyu renk veren diğer çeşitli maddeler başta olmak üzere bu basamaktan önceki işlemlerde yeterince uzaklaştırılmamış fosfolipidler, oksidasyon ürünleri, iz metalleri, sabun kalıntıları gibi maddelerin uzaklaştırılmasını içermektedir. Ağartma işlemi, yağın oksidasyon kararlılığını azaltan ve tadını bozan bu maddelerin uygun bir adsorban madde üzerinde tutulması ve işlem tamamlandıktan sonra kullanılan adsorbanların filtrasyon yardımı ile yağdan uzaklaştırılmasını esas almaktadır. Ağartma işleminde adsorban madde olarak genellikle yüzey aktivasyonu yüksek topraklar kullanılmaktadır. Tonsil, Bentonit gibi çeşitli ticari adlar alan ve sanayide "ağartma toprağı" genel adı ile bilinen adsorban özellikteki bu toprakların yanı sıra, son yıllarda tabii killerin  $H_2SO_4$  veya HCl ile muamele edilip yüksek sıcaklığa ısıtılmasıyla aktif hale getirilen asit aktive topraklar da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Arslan, 2009).

▪ **Vinterizasyon.** Rafinasyondaki dördüncü kademedir. Vinterizasyon, kademeli olarak soğutulan ve düşük sıcaklıklarda yavaş bir karıştırma eşliğinde bekletilen yağda oluşan kristallerin süzülerek uzaklaştırılması işlemidir. Yağlarda bulunan doymuş trigliseritlerin, özellikle de stearinlerin, 8-10°C'de donarak yağa bulanık renk vermelerini önlemek amacıyla yapılır. Bazı yağlar yağı matlaştırır, görünüşündeki albeniyi azaltan ve düşük sıcaklıklarda çökme eğiliminde olan bileşenler içerirler. Bu bileşenler yağın cinsine bağlı olarak özellikle ayçiçek, mısır, pamuk, pirinç ve zeytinyağı gibi yağlarda waksar (uzun zincirli yağ alkolleri), stearinler ve erime noktası yüksek olan doymuş gliseridlerden oluşurlar. Vinterizasyonda kristallenmeyi başlatmak

ve süzmeyi iyileştirmek için vinterize toprağı (perlit) kullanılmakta ve bu toprak daha sonra süzme işlemi ile yağdan ayrılmaktadır. Ayırma işleminden sonra yağ soğutulmuş filtrelerden geçirilerek berrak kısım alınır. Vinterizasyon işleminin başarılı olabilmesi için ortamdaki serbest asitlik, yapışkan maddeler ve renk maddeleri gibi kristal oluşumunu güçleştiren maddelerin, diğer rafinasyon aşamalarında tamamen giderilmesi gerekmektedir (Arslan, 2009).

▪ **Deoderizasyon.** Rafinasyon işleminin son kademesidir. Bu işlemin amacı yağa koku, tat-aroma, asitlik ve renk veren maddelerin uzaklaştırılmasıdır. Deodorizasyon işlemi sırasında yağdan uzaklaştırılan maddeler, sabunlaşan maddeler (serbest yağ asitleri, kısmi gliseridler, metilik esterler, mumsu maddeler), sabunlaşmayan maddeler (parafinik hidrokarbonlar, olefinik ve poliolefinik maddeler, steroller, triterpenik alkoller) ve oksidatif tepkimeler sonucu oluşan ürünler (aldehitler, ketonlar, peroksitler) olmak üzere üç grup altında toplanır. Yağa istenmeyen tat ve koku veren maddeler trigliserid molekülündeki yağ asidi zincirlerine zayıf Van der Waals kuvvetleri ile bağlıdır. Bu maddeler yüksek sıcaklıklarda düşük buhar basıncına sahiptirler. Bu nedenle yüksek sıcaklık (220-300°C) ve düşük basınç (1-8 mm Hg) altında çalışarak bu maddelerin buhar basınçlarını destile edilebilecekleri basınca yaklaştırmak mümkündür. Ayrıca, yağa direk buhar enjekte ederek buharın sürükleyici etkisi ile bu maddelerin yağdan daha kolay uzaklaştırılmaları mümkün olmaktadır (Arslan, 2009).

## 2.3. Kabak ve Kabak Çekirdeği Yağı Üretimi

### 2.3.1. Kabak bitkisi çeşitleri ve tarımı

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasının *Cucurbita* cinsine dahil olan kabak bitkisi, sakızkabağı (*Cucurbita pepo*), helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*) ve balkabağı (*Cucurbita moschata*) çeşitlerine sahiptir (**Şekil 2.2**). *Cucurbita* türüne ait bu üç tür, farklı ilkim ve zirai bölgelerde yaygın olarak yetiştirilebilmektedir. Ülkemizde bitkisel yağ elde etmek amacıyla tohumları kullanılan kabak bitkisi türü, çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türüne aittir. *Cucurbita pepo* L. normalde kalın ve sert kabuklu tohumlara sahiptir. Bu sertlik tohum kabuğundaki tabakalarda meydana gelen odunlaşma nedeniyle meydana gelmektedir. Buna karşılık aynı türün mutant bir formu olan "styrian kabağı" ise odunlaşmış testa yapısı göstermektedir. Kabuksuzluk olarak adlandırılan bu özellik, tohumların herhangi bir kabuk soyma işlemine gerek duyulmadan, bitkisel yağ üretiminde veya başka endüstrilerde direkt olarak kullanımına olanak vermektedir. Ülkemiz iklim ve toprak koşulları sayesinde, diğer kabak bitkisi türlerinin yetişmesine de sorunsuz imkân sağlanabilmektedir (Bemis, 1968; Stuar, 1983).



Sakızkabağı (*Cucurbita pepo*)



Helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*)



Balkabağı (*Cucurbita moschata*)

**Şekil 2. 2** *Cucurbita pepo* L. kabak çekirdeği yağı

Gıda tüketiminin yanı sıra tıbbi ve kozmetik amaçlı kullanımı da mevcut olan kabak çekirdeği, içerdiği mineral, vitamin, protein ve yağlar açısından zengin bir besin deposudur. Kabakgiller familyasına ait bu türlerde çekirdeğin (tohumun) türüne bağlı olarak, 30-50% oranında yağ, 1% oranında steroid, 25-55% oranında protein, 6-10% karbonhidrat, bunların yanında *cucurbitasin* etkeni, tokoller, iz elementleri, vitaminler ve diğer glikozidleri içermektedir (Çizelge 2.2). Yağ oranlarının ve diğer belirtilen biyoaktif bileşen içeriklerinin kabak bitkisi türlerine göre değişiklik göstermesinin temel nedeni, bitkinin yetiştirildiği bölgeye ait iklim değişiklikleri ve genetik faktörler olarak belirtilmektedir.

**Çizelge 2.2** Çiğ ve kavrulmuş çekirdek kabaklarının nem, protein, toplam yağ, E vitamini ve mineral madde içerikleri (Ermiş, 2010)

Bileşim	Nem(%)	Protein (%)	Toplam Yağ (%)	Doymamış Yağ Asitleri		Doymuş Yağ Asitleri		E Vitamini (mg/100g)
				Linoleik Asit	Oleik Asit	Stearik Asit	Palmitik Asit	
Yaş	5-6	33-34	37-46	30-40	41-49	5.2-6.1	12.1-13.9	3.8-4.5
Kavurulmuş	2-4	35-38	38-47	33-40	39-48	5.4-5.9	12.5-14.4	13-18

### 2.3.2. Kabak çekirdeği yağı özellikleri ve mevcut aktif bileşenleri

Birçok faydası ve kullanım alanı bulunan kabak çekirdeğinin iç kısmı, %45-50 civarında doymamış yağ asitleri ve antioksidan madde bakımından zengin, koyu yeşil renkli sabit bir yağ içermektedir. E vitamini bakımından zengin olan kabak çekirdeği yağı, yüksek oranda A ve B vitaminleri ile fitosteroller ve *cucurbitin* adı verilen amino asit içermektedir.



**Şekil 2.3** *Cucurbita pepo L.* kabak çekirdeği yağı

Kabak çekirdeği yağı, çinko ve selenyum gibi sağlık bakımından önemli ve bağışıklık sistemi üzerinde etkili mineraller için de iyi bir kaynak olarak gösterilmektedir. Kabak çekirdeği yağının genel bazı karakteristik özellikleri **Çizelge 2.3**'de verilmiştir.

**Çizelge 2.3** Kabak çekirdeği tohumlarından elde edilen yağların fizikokimyasal özellikleri (*cucurbita pepo subsp., pepo var., styriaca*) (Ermiş, 2010)

Özellik	Değerler
Renk	Yeşilimsi Kahverengi
Oda sıcaklığı durumu	Sıvı
Isı Değeri	40.4±0.68MJ/kg
Özgül Ağırlık (30°C)	0.9151±0.0002g/cm <sup>3</sup>
Kırılma İndisi (30°C)	1.4662±0.0001
Dinamik Viskozite (30°C)	93.66±0.48Cp
Asit Değeri	0.78±0.02 mg KOH/g
Serbest Yağ Asidi (% Oleik asit)	0.39±0.01
Peroksit Değeri	10.85±0.62meqO <sub>2</sub> /kg yağ
İyot Miktarı	10.4±0.04g I <sub>2</sub> / 100 g
Sabunlaşma Değeri	190.69±1.40 mg KOH/g
Sabunlaşmayan Madde Miktarı	%5.73±0.82

Kabak çekirdeği yağına ait yağ asiti bileşimi, kabak bitkisinin yetiştiği bölge, iklim, olgunluk durumu gibi çeşitli faktörlere göre değişiklik göstermektedir (**Çizelge 2.4**). Doymamış yağ asitleri bakımından oldukça zengin olan kabak çekirdeği yağı (~%80), önemli besinsel değere sahip özelliktedir. Kabak çekirdeği yağının temel yağ asitlerini, oleik (%17.0-39.5), linoleik (%18.1-62.8), palmitik (%12.6-18.4) ve stearik 5.1-8.5) asit oluşturmaktadır. Yağ asit kompozisyonu içeriği bakımından kabak çekirdeği yağına ait en dikkat çekici özellik, toplam doymamış yağ asidi (%80.65) oranının, toplam doymuş yağ asidi (%19.35) içeriğine oranının oldukça yüksek olmasıdır. Bu yağ asitlerinin yanında daha düşük oranlarda miristik, palmitoleik, heptadekanoik, heptadesenoik, linolenik, araşidik ve eikosenoik asitler bulunmaktadır (Ardabili, 2011; Bonvehi, 2009).

**Çizelge 2.4** Kabak çekirdeği yağlarının fizikokimyasal özellikleri (Stevenson, 2007)

<b>Yağ asidi kompozisyonu</b>	<b>% İçerik</b>
Mistirik Asit (C14:0)	0.09-0.27
Palmitik (C16:0)	12.6-18.4
Palmitoleik (C16:1)	0.12-0.52
Stearik (C18:0)	5.1-8.5
Oleik (C18:1)	17.0-39.5
Linoleik (C18:2)	18.1-62.8
Linolenik (C18:3)	0.34-0.82
Araşidik asit (20:0)	0.26-1.12
Gadoleik (C20:1)	0.0-0.17
Behenik asit (22.0)	0.12-0.58

Yüksek oksidatif stabilite ve uzun raf ömrüne sahip olan kabak çekirdeği yağı, endüstriyel alanda ve beslenmede etkin biçimde kullanılabilir potansiyel bir üründür. Kabak çekirdeği yağı düşük kalori olup, vitaminler açısından zengin önemli antioksidan maddeler içermektedir. Flavonoid, fenolik madde, vitamin A, leutin, ksantin, karoten, mineral ve protein bakımından da zengin bir yağ olarak gösterilmektedir. Rengi ve kokusu nedeniyle yemeklerde tercih edilmeyen bu yağ, önemli biyoaktif bileşenleri nedeniyle bazı ülkelerde salata yağı olarak tercih edilmektedir (Ardabili ve ark., 2011).

### **2.3.3. Türkiye’de ve Dünya’da kabak bitkisi ve yağ üretim potansiyeli**

Kabak çekirdeği önemli bir sanayi hammaddesidir. Yağının yanında çekirdekleri ekmek, pastasos, şekerleme olarak gıda endüstrisinde, ilâç, kozmetik endüstrisinde, hayvan beslenmesinde kullanılabildiği gibi tohumları süs eşyası olarak da değerlendirilebilmektedir. Ülkemizde kabuksuz ve kabuklu kabak çekirdeklerinden yağ çıkarılmaktadır. Ancak miktarı konusunda istatistiki bir veri bulunmamaktadır.

Kabak çekirdeği üretimiyle ilgili ulusal istatistiklere ancak 2004 yılından itibaren daha sağlıklı olarak ulaşılmaya başlanmıştır. Çekirdek kabakçılığı ülkemizde uzun yıllardan beri yapılmakla birlikte 2004 yılından sonra üretim alanı ve miktarında daha hızlı bir artış olmuştur.

Bunun sonucu olarak çekirdek kabağı üretimi ülkemizde 2001 yılında, 2,5 ha alanda 1400 ton üretimimiz varken, yıllar içinde artış göstererek, 2013 yılında üretim alanımız

515.000 da'a üretimimiz de 36.000 ton'a yükselmiştir. Ülkemizde 500.000 ton civarında kuruyemiş tüketildiği belirtilmektedir. Kuruyemiş sektörünün 3,5-4 milyar dolar civarında bir pazar payı bulunmakta, ancak üretimin %90'ı ülkede tüketilmektedir. İhracatımız ise 1-2 milyar dolar civarında olduğu belirtilmiştir (Yanmaz ve Düzeltir, 2014; Tuik, 2014). Türkiye'nin kabak çekirdeği üretimi Orta Anadolu Bölgesi'ndeki illerde daha yüksek düzeydedir. Türkiye'de en önemli çekirdeklik kabak üretim merkezleri Nevşehir, Adapazarı, Kayseri, Edirne ve Aksaray'dır. Ülkemizde bitkisel yağ elde etmek amacıyla tohumları kullanılan kabak bitkisi çoğunlukla *Cucurbita pepo L.* türüne ait olduğu bilinmektedir (Yanmaz,1995).

Dünyada kabak çekirdeği üretiminin en fazla yapıldığı yerler arasında sırasıyla Çin, Hindistan, Rusya ve Amerika Birleşik Devletleri yer almaktadır. Yüksek protein ve enerji kaynağı olmasından dolayı Slovenya, Avusturya ve Macaristan gibi gelişmekte olan ülkelerde konsantre besin kaynağı olarak tüketimi de oldukça yaygındır. Bu ülkelerde ayrıca kabak çekirdeği yağı, nitelikli bir salata yağı olarak oldukça yüksek fiyatlarla satılmaktadır (Horvath ve Bedo, 1988).

#### **2.3.4. Kabak çekirdeği yağının kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri**

Kabak çekirdeği hem lezzet, hem de yağ, protein, doymamış yağ asitleri, diyet lifi, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin olduğundan değerli bir besin kaynağıdır. Tohumları yüksek kaliteli bitkisel yağ kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Kabak tohumları Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde genellikle kavrulmuş kuruyemiş olarak yaygın biçimde tüketilmektedir. Kabak çekirdeği içerdiği yüksek yağ oranı ile yalnızca gıda değil, aynı zamanda ilaç ve kozmetik endüstrilerinde de hammadde olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Sağlık sektöründe de geniş kullanım alanına sahip olan kabak bitkisi, özellikle ilaç üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda kabak çekirdeği yağı, gıda maddeleriyle temasta kullanılacak metal, kağıt, karton ve çeşitli plastiklere kesintisiz olarak tabaka halinde uygulanabilen ilkel reçine olarak da kullanım alanı bulmaktadır (Güler, 2009).

Kabak çekirdeğindeki yağın sağlık açısından faydaları oldukça fazladır. İçerisinde mevcut yağ asitleri nedeniyle, beyin fonksiyonu açısından gerekli olan Omega 3 ve

Omega 6 esansiyel yağ asitlerini beraber almayı sağlamaktadır. Kabak yağı, E vitamini, steroller ve madensel elementler açısından zengindir. Sahip olduğu bu özellikleri nedeniyle kabak çekirdeği yağının prostat büyümesine bağlı şikâyetlerin hafifletilmesinde de etkili olduğu bilimsel olarak ortaya konulmuştur. Yapılan araştırmalarda, testosterondan 5  $\alpha$ -redüktaz enziminin etkisi ile daha kuvvetli bir androjen olan dihidrotestosteronun meydana geldiği ve bu hormon da prostat bezinin büyümesine neden olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, kabak çekirdeği yağının, bu maddenin oluşumunu engellediği kanıtlanmıştır (Modommed ve ark., 2008). Prostat büyümesinde (iyi huylu prostat hiperplazisi, BPH) şikâyetlerin hafifletilmesinde kullanılan kabak çekirdeği yağının etkinliğinin kanıtlanması, bu tedaviye yönelik kabak çekirdeği yağı kapsüllerinin piyasaya konulmasına neden olmuştur (Modommed ve ark., 2008; Sabudak, 2007).

Genel olarak sağlık açısından faydalarını özetlemek gerekirse,

- Kabak çekirdeği yağının bilinen ve kanıtlanmış en önemli faydası, iyi huylu prostat büyümesi (BPH) ile ilgilidir. Kabak çekirdeği yağı içeriğindeki fitosterol ve karotenoit maddeleri nedeniyle prostat büyümesini azaltma ya da önlemede oldukça faydalıdır. Prostat büyümesiyle bağlantılı olarak ortaya çıkabilecek idrar yolları bozukluklarına karşı etkilidir.
- Kabak çekirdeği yağı, içeriğinde bulunan yüksek orandaki Omega-6 ve Omega 9 yağ asitleri, çinko, demir mineraller, A ve E vitaminleri nedeniyle, hücre sağlığı açısından önemlidir ve kanser riskine karşı koruyucudur. Vitamin E hücre zarının okside olarak bozulmasını ve dolayısıyla kanserli hücre oluşumunu engellemektedir.
- Kabak çekirdeği yağının kalın bağırsak kanseri riskine karşı da etkili olduğu belirtilmektedir. İçeriğinde bulunan *Arginin* adlı amino asit sayesinde nitrik oksit oluşumu sağlayarak damarların esnek yapısını korumasına yardımcı olmakta, kalp problemlerine karşı dolaşım sistemini korumaktadır.
- İçeriğindeki yüksek fosfor nedeniyle, hem kemik oluşumu ve erimesi hem de böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkilidir.
- Yüksek doymamış yağ oranı (>%80) içeriği nedeniyle, sağlık açısından kullanımı özellikle tavsiye edilmektedir.
- İçeriğindeki fitosterol nedeniyle, kandaki kolesterol oranının düşürülmesinde etkili olduğu, dolayısıyla kalp sağlığını koruyucu etki gösterdiği belirtilmektedir.



## 2.4. Kromatografi Tekniği

Kromatografi, bir karışımı oluşturan bileşenlerin hareketli bir faz yardımıyla sabit bir faz üzerinden, fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki farklılıklarından faydalanılarak değişik hızlarla hareket etmeleri esasına dayanan, etkin bir ayırma ve saflaştırma metodudur. Kromatografi, günümüzde birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılan etkili ve seçiciliği yüksek bir yöntem olup, farklı amaçlar için geliştirilen çok sayıda uygulaması bulunmaktadır. Kromatografik tekniklere olan bakış açıları doğru ve güvenilir şekilde yayınlandığı takdirde, ayırma, belirleme ve miktar tayini için oldukça güvenilir tekniklerdir (Skoog ve ark., 1998; Gezici, 2010).

Numunedeki bileşenler ile sabit faz arasında fiziksel ve kimyasal etkileşimler söz konusudur. Numunenin sabit faz üzerindeki yada içerisindeki hareket hızı, hareketli ve sabit faz arasındaki fiziksel ve kimyasal dengelerin dağılımına bağlı olarak değişmektedir (Skoog ve ark., 1998).

Kromatografi tekniği genel olarak, hareketli ve sabit fazlarının yapısına, hareketli ve sabit fazın fiziksel olarak temas getirilme şekline, kullanım amacına ve bileşenlerin ayrılmasında rol alan fiziksel ve kimyasal mekanizmaların türüne göre 4 temel başlık altında sınıflandırılmaktadır.

- **Hareketli ve sabit fazların yapısına göre yapılan sınıflandırmada**, sırasıyla hareketli ve sabit fazın fiziksel durumu belirtilerek sınıflandırma yapılmaktadır. Yapılan bu sınıflandırmada kromatografi, sıvı-sıvı kromatografisi, sıvı-bağlı faz kromatografisi, sıvı-katı kromatografisi, gaz-sıvı kromatografisi ve süperkritik akışkan kromatografisi olmak üzere beş farklı kategoride gruplandırılmaktadır.
- **Hareketli ve sabit fazın fiziksel olarak temas ettirilme şekline göre yapılan sınıflandırmada**, kolon ve düzlemsel kromatografi tekniği olmak üzere iki grupta incelenmektedir.
- **Analiz edilen numunedeki bileşenlerin ayrılmasında rol alan fiziksel/kimyasal mekanizmaların türüne göre yapılan sınıflandırmada**, adsorpsiyon, dağılma, iyon-değiştirme, boyut eleme kromatografi tekniği gibi farklı yöntemler şeklinde gruplandırılabilir.

- **Kullanım amacına göre yapılan sınıflandırmada ise**, analitik kromatografi (kalitatif ve kantitatif kromatografi), yarı-preperatif ve preparatif kromatografi (karışımlardan saf madde eldesi) tekniği olmak üzere üç grupta incelenmektedir.

Sunulan tez konusu kapsamında yer alması bakımından, güçlü ayırma kabiliyetine sahip yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve gaz kromatografisi (GC) tekniklerine dair uygulamalar, analiz sistemleri ve teorik bilgiler hakkında kısaca bilgi verilmeye çalışılmıştır.

#### **2.4.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) tekniği**

Yüksek performans sıvı kromatografisi (high performance liquid chromatography, HPLC) tekniği, en geniş uygulama alanına sahip analitik tekniklerden bir tanesidir. HPLC tekniği, sıvı haldeki hareketli faz/çözücü sistemlerinin kolonda yer alan sabit faz üzerinden yüksek akış hızlarında geçirilebilmesine imkân sağlamaktadır. Özel analiz sistemlerinde uygulanan modern bir teknik olup, hem analitik hem de preparatif amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998; Arslan, 2015).

Hareketli faz içerisinde çözülmüş halde bulunan analitler, kolon içerisinde bulunan ve genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile farklı etkileşmelere girerek, kolon içinde değişik hızlarda ilerlemektedir. HPLC sistemlerinde taşıyıcı faz olan çözücü sistemleri, pompalarla kolona yüksek akış hızlarında gönderilmektedir. Bu nedenle ayrımlar daha kısa sürede ve istenilen düzeyde gerçekleşmektedir. Sabit bileşimli tek bir çözücü ile yapılan elüsyon (ayırma) "izokratik elüsyon" olarak adlandırılırken, polarlıkları birbirlerinden farklı iki veya daha fazla çözücü sisteminin kullanıldığı elüsyon "gradient elüsyon" olarak tanımlanmaktadır. Kolonda ayrılan analitler, kolon çıkışına bağlanan uygun bir dedektör sistemi ile tespit edilip miktarıyla orantılı olarak kaydedilmektedir.

Standart HPLC sistemleri temel olarak 4 bileşenden/donanımdan oluşmaktadır,

**Pompa sistemleri**, temel olarak hareketli fazın yüksek basınçla, sistem içinde hareket etmesini sağlamaktadır. Degazörden hareketli fazın çekilip, kolon ünitesine gönderilmesini sağlamaktadır. Bu işlem, akış hızı ve basınç değeri ayarlayarak gerçekleştirilmektedir.

**Enjeksiyon bloğu**, analitin sabit faz (kolon) öncesinde hareketli faza enjekte edilmesi için kullanılmaktadır. Elle kumanda edilen manuel enjeksiyon bloğu yada oto-enjektörler olmak üzere iki farklı sistem kullanılmaktadır.

**Kolon (sabit faz)**, analitlerin adsorpsiyon, dağılma, iyon-değiştirme, boyut eleme gibi farklı mekanizmalara göre ayrımını sağlayan sistemlerdir. Kolon şartlarında yürütülen klasik sıvı kromatografisinde çapı ve uzunluğu incelendiğinde analitik uygulamalarda iç çapı (i.d.) 1.0 - 4.6 mm; uzunluğu 15 – 250 mm, preparatif uygulamalarda iç çapı > 4.6 mm; uzunluk 50 – 250 mm, kapiler uygulamalarda iç çapı: 0.1 - 1.0 mm; boyları, nano uygulamalarında ise iç çapı : < 0.1 mm, ya da < 100 µm olan kolonlar tercih edilmektedir. Hareketli faz bu kolonlardan yerçekiminin etkisiyle geçirilmektedir.

**Dedektör sistemleri**, Kolonda ayrılan analitler, kolon çıkışına bağlanan ve hareketli fazda meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikleri izleyerek kalitatif ve kantitatif analiz yapılmasına imkan sağlayan elektronik sistemlerdir (Skoog ve ark., 1998).

#### **2.4.2. Gaz kromatografi (GC) tekniği**

Gaz kromatografisi bir karışımda gaz halinde bulunan yada kolayca buharlaştırılabilen bileşenlerin birbirinden ayrılması ve analiz edilmesi amacıyla kullanılan kromatografi yöntemidir. Ayırma gücü, seçiciliği ve duyarlılığı yüksek olduğu için endüstriyel ve akademik laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Gaz kromatografisi, 1950'li yıllardan, HPLC tekniğinin gelişmesine kadar olan süreçte ayırma yöntemlerine öncülük etmiştir. Ölçmenin kısa sürede olması ve çok duyarlı bir şekilde yapılması metodun üstünlüğünü ortaya koymaktadır.

Sıvı numuneler içerisindeki bileşenlerin, kaynama noktası üzerindeki çalışma sıcaklıklarında gaz fazına geçirilmesi, katı örneklerin ise analize uygun bir başka çözücü içerisinde çözündürülmesi gerekmektedir. GC'de hareketli faz olarak inert bir gaz, hareketli faz olarak seçilmektedir. Gaz kromatografisinde kolon yüksek sıcaklıkta tutularak, ayrılacak analitler, gaz haline geçirilmekte, böylece kaynama noktası 500°C ye kadar olan bileşikler bu teknikte ayrılabilir. Tekniğin en önemli avantajlarından birisi, analiz süresinin çok daha kısa olmasıdır. Dedeksiyon limiti oldukça düşük olan bu yöntemde, ppm ve ppb mertebelerinde tespit yapabilmektedir.

Tekniğin en belirgin dezavantajı ise, uygulama alanının uçucu olan örneklerle sınırlı olmasıdır.

Teknik sabit fazın, sıvı veya katı oluşuna göre, gaz-sıvı ve gaz-katı kromatografisi olarak iki farklı şekilde gruplandırılmaktadır.

- **Gaz-katı kromatografi tekniği**, sabit faz yapısının aktif kömür, alüminyum oksit, silikajel gibi türlerin olduğu ve adsorpsiyon olayına göre ayrımların gerçekleştiği gaz kromatografi tekniğidir. Ayrımların adsorpsiyon tekniği ile gerçekleşmesi nedeniyle, analitlere ait piklerde kuyruklanma problemi meydana gelmektedir. Gaz kromatografi tekniği olarak bu tekniğin yaygın olarak tercih edilmeme nedeni, piklerde meydana gelen bu kuyruklanma problemidir.
- **Gaz-sıvı kromatografi tekniği**, yüzeyi geniş, gözenekli katı bir sabit faz yüzeyine özel bir sıvının bağlandığı kolon sisteminin kullanıldığı gaz kromatografi tekniğidir. Özel bu sıvı madde, katı maddenin gözenekleri dahil bütün yüzeyine dağılır ve sabit bir faz gibi davranmaktadır. Gaz-katı kromatografi tekniğinde ayırma mekanizması adsorpsiyon iken, bu türde dağılma mekanizması esastır. Gaz kromatografisinde analiz edilen numune içindeki maddeler, azot, helyum gibi özel bir gazla sabit faz içinden taşınmaktadır. Gazların sabit fazla hareketli faz arasında dağılmasında, çözünürlük, bağlanma, adsorplanma, moleküler süzülebilme gibi mekanizmalar etkin olabilmektedir.

## 2.5. Literatürde Kabak Çekirdeği Yağı, Özellikleri ve Biyoaktif Bileşenleri ile İlgili Çalışmalar

Birçok faydası ve kullanım alanı bulunan kabak çekirdeğinin iç kısmı, %45-50 civarında doymamış yağ asitleri ve antioksidan madde bakımından zengin, koyu yeşil renkli sabit bir yağ içermektedir. E vitamini (özellikle  $\gamma$ -tokoferol) bakımından çok zengin olan kabak çekirdeği yağı, yüksek oranda A ve B vitaminleri ile fitosteroller ve cucurbitin adı verilen amino asiti içermektedir. Rengi ve kokusu nedeniyle yemeklerde tercih edilmeyen bu yağ, önemli biyoaktif bileşenleri nedeniyle bazı ülkelerde salata yağı olarak tercih edilmektedir. Yağ oranlarının ve diğer belirtilen biyoaktif bileşen içeriklerinin kabak bitkisi türlerine göre değişiklik göstermesinin temel nedeni, bitkinin yetiştirildiği bölgeye ait iklim değişiklikleri ve genetik faktörler olarak belirtilmektedir (Ardabili ve ark., 2011).

Younisa ve ark. (2000) tarafından yapılan araştırmada, kabak çekirdeği yağında protein oranının %38,  $\alpha$ -tokoferol 3mg/100g, karbonhidrat içeriğinin yaklaşık %37 şeklinde tespit edilmiştir. Yağ asidi bileşenleri olarak da palmitik asit değeri (C16:0) %13.3, stearik asit değeri (C18:0) %8.0, oleik asit değeri (C18:1) %29.0 ve linoleik asit değeri (C18:2) %47.0 şeklinde tespit edilmiştir.

Sabudak (2007) tarafından yapılan çalışmada, kabak, ceviz, badem, mısır, ayçekirdeği ve kavun gibi farklı bitkisel kaynakların çekirdeklerinden ve yapraklarından elde edilen yağlar, GC'de incelemiştir. Araştırma sonucunda kabak çekirdeği yağının %18.19 doymuş, %79.84 doymamış yağ asitlerinden oluştuğunu, temel yağ asidi bileşeninin %42.49 oranında C18:1 ve %36.99 oranında C18:2 olduğunu tespit etmiştir. Yağın iyot indisi değerini ise 100.80 g I<sub>2</sub>/100 g olarak belirlemiştir.

Nyama ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, bitter melon, kalahari, kabak, kenaf, rosello tohumlarından elde edilen beş çeşit yağda kimyasal bileşimlerini incelenmiştir. İncelenen yağlarda yağ asidi kompozisyonlarında farklılıklar gözlenmiştir. Ekstre edilen yağların en kalitelisinin fizikokimyasal özelliklerinin iyot değeri 86.0-125.0 g I<sub>2</sub>/100g bulunmuştur. Sabunlaşma değeri 171.0-190.7 mg KOH/g, asit değeri 1.1-12.9 mg KOH/g, serbest yağ asidi 0.6-6.5 g/100 g ve peroksit sayısı 1.5-6.5 meqO<sub>2</sub>/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Bitter melon yağ asitlerinin haricinde diğer yağlı tohumlarda Palmitik, Oleik, Linoleik, Oleostearik olmak üzere başlıca yağ asitleri bulunmuştur. Ekstrakte edilen yağlar içinde gallik, prokatesuik, phidroksibenzoik,

vanilik, kafeik, siringik, pcoumarik asit, fellurik asitler tespit edilmiştir. Bunlar arasında vanilik asitin en baskın olduğu görülmüştür.

Raziga ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, *Cucurbita maxima* türündeki kabak çekirdeğinden elde edilen yağın kimyasal özellikleri incelenmiştir. Protein, lif, kül, yağ, toplam şeker içeriklerinin sırasıyla, %33.92, %3.97, %21.97, 32.57 tespit edilmiştir. Gaz kromatografisi ile yapılan yağ asit kompozisyon analizi sonucunda, oleik asit, linoleik asit, palmitik asit miktarları sırasıyla, %44.11, %34.77 ve %15.97 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen yağın tokoferol ve sterol içeriğinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (%42,27 tokoferol/toplam yağ ve %39,6 sterol/toplam yağ).

Yapılan bir çalışmada Olszan ve ark. (2013), kabak çekirdeğinin antioksidant özellikleri ve yağ asidi içerikleri araştırılmıştır. Çalışmada *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita pepo* türleri kıyaslamış, *Cucurbita pepo* türünün yüksek yağ asidi içeriği karakterize edilmiştir. *Cucurbita pepo*'nun doymamış yağ asitlerince zengin olduğunu bulunmuştur. Ayrıca antioksidant özelliklerini araştırırken kullanılan solvente dikkat çekilmiş ve %50 metanolle elde edilen antioksidan etkinlik değeri, %80 metanolle elde edilen antioksidan etkinlik değerinden daha yüksek tespit edilmiştir.

*Cucurbita pepo* türünün soğuk presle elde edilmiş yağın aktif bileşenlerinin GC ve GC-MS ile tayinleri yapılmıştır. Yağın bileşimindeki tokoferoller, fitesteroller ve toplam yağ içerikleri tespit edilmiştir. Toplam yağ asitleri 37.10±0.70- 43.60±0.69 g/100 g yağ, toplam tokoferoller 38.03±0.25- 64.11±0.07 mg/100 g yağ, steroller 718.10±6.10- 897.80±6.80 mg/100 g yağ, sequalen ise 583.20±23.60- 747.00±16.00 mg/100 g yağ şeklinde tespit edilmiştir (Robrenovi ve ark.2014).

Hernández-Santos ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, optimal ultrason destekli ekstraksiyon koşulları altında kabak çekirdeği yağı elde edilmiş ve yağın fizikokimyasal bazı özellikleri tayin edilmiştir. Elde edilen kabak çekirdeği yağı için, FFA değeri 2.75-4.93%, peroksit değeri (PV) 1.67-4.68 meq O<sub>2</sub>/kg yağ, anisidin değeri (AV) 1.94-3.69 abs.g<sup>-1</sup> ve Totox değeri 6.25-12.55 şeklinde tespit edilmiştir.

Avrupa farmakopesi monografin'da ve Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde iyi kalitedeki natürel & soğuk pres yağlar için yer alan bölümde kabak çekirdeği yağının henüz yer almadığı ve elde edilen sonuçların tümünün, literatürde yer alan ortalama değerler içinde bulunduğu tespit edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar

göstermiştir ki, cis- formunda olan doymamış yağ asidi içeriği bakımından oldukça yüksek olan yenilebilir özellikteki kabak çekirdeği yağların soğuk pres metodu ile içeriğindeki biyoaktif bileşenlerini kaybetmeden, düşük oksidatif stabilitesini koruması, fenolik madde içeriği bakımından zengin, ve analiz edilen tüm yağların oldukça yüksek kalitede, yenilebilir yağ özelliğine sahip olması, çalışmanın bu konuda yapılan diğer çalışmalardan farklılığı bakımından ileride yapılacak olan araştırmalar için fayda sağlayacağı düşünülmektedir.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kolonlar

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler kromatografik veya analitik saflıkta olup, Merck, Fluka, Sigma-Aldrich, Supelco ve LabScan firmalarından temin edilmiştir (**Çizelge 3.1**) . Kromatografik ayırmalarda kullanılan kolonlar ve özellikleri ise **Çizelge 3.2**'de yer almaktadır.

**Çizelge 3. 1.** Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

#### **FFA, POX, IV tayinleri**

Etanol  
Fenolftalein  
NaOH  
Asetik asit  
Kloroform  
KI  
Nişasta  
Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
Aseton Civa II Asetat  
Wijs Çözültisi

#### **Sabunlaşmayan madde tayini**

2 N Etanollü KOH  
0.5 N Etanollü KOH  
Dietil eter  
Fenolftalein

#### **Sabunlaşma sayısı tayini**

0.5 N Etanollü KOH  
0.5 N HCl  
Fenolftalein

#### **Sabun miktarı tayini**

Nötrleştirilmiş Aseton Çözültisi  
0.01 N Asetonlu HCl  
Fenolftalein

#### **Pestisit tayini**

Asetik asit  
Asetonitril  
Magnezyum sülfat  
Sodyum asetat  
Formik asit

#### **Konjuge dien trien tayini**

İzooktan

#### **Antioksidan kapasite tayinleri**

Metanol  
Ultra Saf Su  
Folin-Ciocalteu  
Amonyum molibdat  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

#### **Yağ asit kompozisyonu tayini**

Hekzan  
KOH  
NaOH  
Metanol  
Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Ultra Saf Su

#### **Tokoferol – tokotrienol tayini**

Hekzan  
İzopropil Alkol

#### **Trigliserit tayini**

Asetonitril  
Aseton

#### **Aflatoksin tayini**

NaCl  
Metanol  
Ultra saf su



**Çizelge 3. 2** Kromatografik ayırmalarda kullanılan kolonlar

<b>Yağ asit kompozisyonu tayini (GC/ FID)</b>	<b>Trigliserit tayini (HPLC/ DAD)</b>
<i>HP-5MS kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane</i>	<i>ACE 5 C18 kolon (250 x 4 mm, 5 µm)</i>
<b>Pestisit tayini (GC/ MS)</b>	<b>Tokoferol &amp; tokotrienol tayini (HPLC/ FLD)</b>
<i>TRB-5 MS kolon (30m x 0,25mm x 0,25µm) (95%) Dimethyl-(5%) diphenyl polysiloxane</i>	<i>LiChrospher 100A Diol kolon (5µm 75x4.0mm) ve LiChrospher 100A Diol kolon (5µm 250x4.0mm)</i>
<b>Pestisit tayini (UPLC MS/MS)</b>	<b>Aflatoksin tayini (UHPLC -MS/MS )</b>
<i>Hypersil Gold C18 kolon (1,9 µm x 2,1x50 mm)</i>	<i>Hypersil Gold C18 kolon (1,9 µm x 2,1x50 mm)</i>

Yapılan kromatografik ve spektrofotometrik analizlerde kullanılan standartlar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir (Çizelge 3. 3, 3.4 ve 3.5).

**Çizelge 3. 3** Deneylerde kullanılan standartlar

<b>Yağ Asit Kompozisyonu Tayini için</b>	
<i>cis-13,16-Docosadienoic acidmethyl ester</i>	Methylpentadecanoate
<i>cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acidmethyl ester</i>	Methyl <i>cis</i> -10-pentadecenoate
<i>cis-11,14-Eicosadienoic acidmethyl ester</i>	Methylstearate
<i>cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acidmethyl ester</i>	Methyltricosanoate
<i>cis-8,11,14-Eicosatrienoic acidmethyl ester</i>	Methyltetracosanoate
<i>cis-11,14,17-Eicosatrienoic acidmethyl ester</i>	Methyltridecanoate
<i>cis-11-Eicosenoic acidmethyl ester</i>	Methylundecanoate
Methyl <i>cis</i> -10-heptadecenoate	Methyl <i>cis</i> -15-tetracosenoate
Methylhexanoate	Methylheneicosanoate
Methyl $\gamma$ -linolenate	Methylheptadecanoate
Methylarachidate	Methyllinoleate
Methylarachidonate	Methylinolelaidate
Methylbehenate	Methylinolenate
Methylbutyrate	Methylmyristate
Methyldecanoate	Methylmyristoleate
Methyldodecanoate	Methyloleate
Methylelaidate	Methyloctanoate
Methylerucate	Methylpalmitate
Methylpalmitoleate	

<b>Tokoferol – Tokotrienol Tayini için</b>	<b>Antioksidan Kapasitesi Tayini için</b>
$\alpha$ -Tokoferol	Gallik asit
$\beta$ -Tokoferol	Folin-Ciocalteu
$\gamma$ -Tokoferol	
$\delta$ -Tokoferol	

**Çizelge 3. 4** UHPLC/MS/MS ile gerçekleştirilen pestisit analizlerinde kullanılan standartlar

<b>Pestisit Standart Maddeleri</b>			
1.	3-Hidroksicarbofuran	51.	Methidathion
2.	Acephate	52.	Methiocarb
3.	Acetamiprid	53.	Methomyl
4.	Aldicarb	54.	Metolachlor
5.	AldicarbSulfone	55.	Metribuzin
6.	AldicarbSulfoxide	56.	Molinate
7.	Amitraz+Metabolitleri (DMF+DPMF)	57.	Monocrotophos
8.	Atrazine	58.	Monolinuron
9.	Azadirachtin	59.	Myclobutanil
10.	Azoxystrobin	60.	Omethoate
11.	Benfurocarb	61.	Oxamyl
12.	Benomyl+Carbendazim	62.	Paraoxonethyl
13.	Boscalid	63.	ParathionEthyl
14.	Butocarboxim	64.	ParathionMethyl
15.	Carbaryl	65.	Phenhoate
16.	Carbofuran	66.	Phorate
17.	Carbosulfan	67.	Phosalone
18.	Chlorfenvinfos	68.	Phosmet
19.	Chlorpyrifos	69.	Phosphamidon
20.	Clofentezine	70.	Primicarb
21.	Cycloate	71.	Primiphos-ethyl
22.	Cymoxanil50.0	72.	Primiphos-methyl
23.	Cyproconazole	73.	Profenephos
24.	Cyprodinil	74.	Promecarb
25.	Diazinon	75.	Propamocarb
26.	Dicrotophos	76.	Propiconazole
27.	Difenoconazole16.0	77.	Propoxur
28.	Dimethoate	78.	Propyzamide
29.	Dimethomorph19.0	79.	Prothiophos
30.	Diniconazole	80.	Pymetrozine
31.	Dodine	81.	Pyridaben
32.	Epoxiconazole	82.	Pyridaphenthion
33.	Etrimfos 83 Pyriproxyfen2.0	83.	Pyriproxyfen
34.	Famoxadone	84.	Pyroazophos
35.	Fenazaquin	85.	Spinosad
36.	Fenhexamid	86.	Sulfotep
37.	Fenoxycarb	87.	Terbutryn
38.	Fensulfothion	88.	Thiacloprid
39.	Fonofos	89.	Thiamethoxam
40.	Furathiocarb	90.	Thiobendazole
41.	Heptenophos	91.	Thiodicarb
42.	Hexythiazox	92.	Thiophonate-methyl
43.	Imazalil	93.	Tolyfluanide
44.	Imidacloprid	94.	Triadimefon
45.	Iprodione	95.	Triadimenol
46.	Kresoxim-Methyl	96.	Triallate
47.	Malaoxon	97.	Triazophos18.0
48.	Malathion	98.	Trifloxystrobin
49.	Mecarbam	99.	Triflumizole14.0
50.	Metalaxyl	100.	Triflurosulfuronmethyl

**Çizelge 3. 5** GC/MS ile gerçekleştirilen pestisit analizlerinde kullanılan standartlar

<b>Pestisit Standart Maddeleri</b>			
1.	1-3 Hexachlorobutadiene	53.	Fenarimol
2.	2-4 DDD	54.	Fenclorphos
3.	2-4 DDE	55.	Fenitrothion
4.	2-4 DDT	56.	Fenson
5.	4-4 DDD	57.	Fenthion
6.	4-4 DDE	58.	Flamprophmethyl
7.	4-4 DDT	59.	Flusilazole
8.	Acetochlor	60.	Formothion
9.	Alachlor	61.	Heptachlor
10.	Aldrin	62.	Heptachlorendoepoxide(isomerA)
11.	Alpha BHC	63.	Heptachlorexoepoxide (isomerB)
12.	Alpha Endosulfan	64.	Hexachlorobenzene
13.	Azinphosmethyl	65.	Hexaconazole
14.	Azobenzene	66.	Iodofenphos
15.	Beta BHC	67.	Lindane (G-HCH)
16.	Beta Endosulfan	68.	Linuron
17.	Bitertanol	69.	Methacrifos
18.	BromophosEthyl	70.	Methamidophos
19.	BromophosMethyl	71.	Methoxychlor
20.	Bromopropylate	72.	Mevinphos
21.	Bupirimate	73.	Nuarimol
22.	Buprofezin	74.	Ofurace
23.	Captan+Folpet	75.	Oxadixyl
24.	Chlorfenapyr	76.	Oxy-Chlordane
25.	Chlorfenson	77.	Oxyfluorfen
26.	Chlorpropham	78.	Penconazole
27.	ChlorpyrifosMethyl	79.	Pendimethalin
28.	Chlorthalonil	80.	Pentachloraniline
29.	Cis-Chlordane(Alpha)	81.	PiperonylButoxide
30.	Cis-heptachloroepoxide	82.	Procymidone
31.	Coumaphos(Asuntol)	83.	Propargite
32.	Delta HCH	84.	Pyrimethanil
33.	Demeton-S-Methyl	85.	Quinalphos
34.	Dichlofluanid	86.	Quinomethionate
35.	Dichlorvos	87.	Quintozene ( PCNB)
36.	Dicofol	88.	Resmethrin
37.	Dieldrin	89.	Simazine
38.	Diethofencarb	90.	Sulprofos
39.	Dimefox	91.	Tebuconazole (Raxil)
40.	Dinobuton	92.	Tebufenpyrad
41.	Disulfotonsulfone	93.	Tecnazene
42.	Disulfotonsulfoxide	94.	Tetraconazole
43.	Ditalimfos	95.	Tetradifon
44.	Endrin	96.	Tetrasul
45.	Endrin Aldehit	97.	Thiobencarb(Benthiocarb)
46.	EndrinKetone	98.	Thiometon
47.	Ethiofencarb	99.	TolclofosMethyl
48.	Ethion	100.	TransChlordane(Gamma)
49.	Ethofumesate	101.	Trichlorfon
50.	Ethoprophos	102.	Trifluralin
51.	Etoxazole	103.	Vinclozolin
52.	Fenamiphos		

### 3.2. Kullanılan Cihazlar ve Analiz Sistemleri

Kabak çekirdeği yağı üzerinde gerçekleştirilen tokol ( tokoferol ve tokotrienol) ve trigliserit analizleri HPLC cihazında, yağ asit kompozisyonu analizleri GC/MS/FID cihazında, pestisit analizleri GC/MS ve UHPLC-MS/MS cihazlarında, aflatoksin analizleri UHPLC-MS/MS cihazında, konjuge dien, trien ve antioksidan kapasite tayinleri ise UV-Vis spektrofotometre cihazında gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalarda kabak çekirdeği yağı üzerinde gerçekleştirilen analizlerde kullanılan cihazlar, marka ve modelleriyle birlikte **Çizelge 3. 6** da verilmiştir.

**Çizelge 3. 6** Deneysel olarak kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka
▪ HPLC/ DAD/ FLDSistemi	Agilent 1200 Series
▪ GC/ FID Sistemi	Agilent 7890 Series
▪ GC/ MS Sistemi	Agilent 7890N-5975C Series
▪ GC/ MS Sistemi	Thermo marka ISQ GC-MSD
▪ UHPLC-MS/MS Sistemi	Thermo Quantum AccMax, UHPLC-MS/MS
▪ UV-Vis Spektrofotometre Sistemi	Perkin Elmer LAMBDA 25

### 3.3. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Numunelerinin Eldesi

Sunulan tez çalışmasında herhangi bir ısıl işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile, yenilebilir özellikte ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan kabak çekirdeği yağları elde edilmiştir (**Şekil 3.1**). Bu işlem için Türkiye'nin dört farklı bölgesinden Çumra, İçeri Çumra, Çeltik ve Polatlı bölgelerinden, uygun kalitede kabak çekirdeği numuneleri temin edilmiştir. Soğuk pres işlemi öncesinde temin edilen kabak çekirdeği numuneleri elenerek yabancı maddelerden arındırılmış ve serin, kuru ve doğrudan ışık ile temas etmeyen bir alanda muhafaza edilmiştir.

Farklı bölgelerden temin edilen ham kabak çekirdekleri prosese alınmadan önce fiziksel muayeneye tabi tutulmuştur. Yağ eldesi için kullanılan soğuk pres sisteminde 8 mm'lik başlıklar kullanılmış ve pres sisteminin devir hızı 17 rpm olarak sabitlenmiştir. Devir hızının sabitlenmesiyle, işlem sıcaklığının artması engellenmiş ve kabak çekirdeğinden sabit yağ eldesi için sistem optimize edilmiştir. Tamamen fiziksel yöntemler ile kabak çekirdeği tohumlarının bünyesinde bulunan sabit yağ ayrıştırılmış, dinlendirme işlemini

takiben kağıt filtreler kullanılarak yağın içinde bulunan ve bulanık görüntüye sebep olan maddeler uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3. 1 Soğuk pres kabak çekirdeği yağı üretim şeması



Şekil 3. 2 Soğuk pres yağ üretim sistemi

### 3.4. Yağ Numuneleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen fiziksel ve kimyasal analizler standart metotlar, literatür çalışmalarında yer alan metotlar ve tarafımızdan oluşturulan yeni metotlar kullanılarak yürütülmüştür. Analizlerin gerçekleştirilmesi sırasında kullanılan metotlar, her bir tayin için ayrıntılı olarak aşağıda yer almaktadır.

#### 3.4.1. Titrimetrik Analizler

##### 3.4.1.1. Serbest yağ asidi (%FFA) tayini

Yağ numunelerinin serbest yağ asidi (%FFA) içeriği, standart AOCS Ca-5a-40 metodu kullanılarak, % oleik asit cinsinden belirlenmiştir (AOCS, 1998). Kabak çekirdeklerinden elde edilen yağ numunelerinin 10 g numune 0,01 g hassasiyetle tartılmıştır ve üzerine 15 mL etilalkolde çözülerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Numune üzerine 2-3 damla fenolftalein indikatörü damlatılarak çözelti 0.01 N NaOH çözeltisi ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH sarfiyatı okunarak aşağıdaki formülden yağda bulunan serbest yağ asitlerinin yüzde değerleri hesaplanmıştır.

$$\%FFA = \frac{V \times N \times M}{G \times 10} \text{ (oleik asit cinsinden)}$$

V: Titrasyonda harcanan NaOH miktarı

N: Titrasyonda harcanan NaOH 'ın normalitesi ( 0.01 N )

M: Yağ asitleri molekül ağırlığı ( 282 g )

G: Numune ağırlığı ( 10 g )

Asit değeri /56.1 = V x N / g FFA% /28.2 = V x N / g

Asit değeri /56.1 = FFA% /28.2

(FFA% = 0.766t NaOH titrasyonları için, FFA% = 0.546t KOH titrasyonları için)

##### 3.4.1.2. Peroksit sayısı (PV) tayini

Yağ numunelerinin peroksit sayısı (PV), standart AOCS Cd-8b-90 metodu kullanılarak belirlenmiştir (AOCS, 1998). PV yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalent gram olarak miktarıdır. Kabak çekirdeklerinden elde edilen, hava ile teması önlenen numuneden 10 g numune

hassasiyetle tartılmıştır. 10 mL kloroform ve 15 mL asetik asit ilave edilerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından, 0.5 mL KI ilave edilmiş ve çözelti karanlıkta 3 dakika beklemeye bırakılmıştır. Karanlıkta bekletme sürecinde çözeltinin rengi (kahve) dönmüştür. Bekletme işlemi tamamlandıktan sonra, 30 mL saf su ilave edilmiş, 3 damla % 1 lik nişasta çözeltisi damlatılmış çözeltinin rengi (lacivert) dönmüştür ve 0.002 N ayarlı Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisi ile renk berraklaşınca kadar titre edilmiştir. Harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sarfiyatı okunarak, aşağıdaki formülden gerekli hesaplama yapılmıştır.

$$PV = \frac{N \times V \times 1000}{G} \text{meqO}_2/\text{kg yağ}$$

V: titrasyonda harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> miktarı (mL)

N: titrasyonda kullanılan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 'ın normalitesi

G: numune ağırlığı

#### 3.4.1.3. İyot sayısı (IV) tayini

Yağ numunelerinin iyot sayısı (IV), standart TS-894 metodu kullanılarak belirlenmiştir (TS-894, 1970). IV, 100 kısım yağın bağlayabileceği iyot miktarını gösterir ve yağın doymamışlığı hakkında bilgi verir. Kabak çekirdeklerinden elde edilen yağ numunesinden 0.2 g tartılarak 15 mL CCl<sub>4</sub> de çözülmüş, üzerine 10 mL % 5 lik civa II asetat ve 25 mL wijs çözeltisi ilave edilmiştir. Çözeltinin ağzı kapatılarak karanlıkta 3 dakika beklenmiş ve üzerine 1.990 g KI ilave edilmiştir. Daha sonra, çözelti üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş 0.1 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ile renk açık sarı renk oluncaya kadar titre edilmiştir. 1-2 damla nişasta çözeltisi ilave edilerek 0.1 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ile renk beyaz oluncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sarfiyatı okunmuştur (V<sub>1</sub>). Aynı işlem şahit numune içinde yapılarak harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> okunmuş ve kaydedilmiştir (V<sub>2</sub>). Aşağıdaki formülden yağda bulunan iyot sayısı değeri hesaplanmıştır.

$$\text{İyot Sayısı (IV)} = \frac{(V_2 - V_1) \times 12,69 \times N}{G}$$

V<sub>2</sub>: Şahit için harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> miktarı

V<sub>1</sub>: Numune için harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> miktarı

N: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisinin normalitesi (0,1 N)

G: Numune ağırlığı (0,2 g)

#### 3.4.1.4.Sabun miktarı tayini

Yağ numunelerinin sabun miktarı tayininde standart Wolf metodu kullanılmış, yağ numunelerindeki çözünmüş sabun miktarı, sodyum oleat olarak veya %NaOH cinsinden hesaplanmıştır. Kabak çekirdeklerinden elde edilen yağ numunelerinden 5 g numune 0.01 g hassasiyetle tartılmış ve üzerine 25 mL indikatör sabun çözeltisi (nötrleştirilmiş aseton) ilave edilmiştir. Kuvvetlice çalkalanmış ve renk durumu kontrol edilmiştir. Renkte yeşillenme varsa 0.01 N Asetonlu HCl ile titre edilmiştir. Renk sarıya dönünceye kadar titrasyon yapılmış ve harcanan HCl sarfiyatı okunmuştur. Aşağıdaki formülden yağda bulunan sabun değeri hesaplanmıştır.

$$\%Na \text{ Sabunu cinsinden} = V \times 0.06 \text{ (\% Sodyum oleat olarak)}$$

$$\text{ppm Na Sabunu} = V \times 60$$

V: 0.01 N Asetonlu HCl sarfiyatı.

#### 3.4.1.5. Sabunlaşma sayısı tayini

Sabunlaşma sayısı, 1 g yağın sabunlaşması için gerekli olan KOH'un mg cinsinden ağırlığıdır. Kabak çekirdeklerinden elde edilen yağ numunesinden 2 g numune 0.001 g hassasiyetle tartılmıştır. 25 mL 0.5 N etanollü KOH ilave edilmiştir. Balon, geri soğutucuya bağlanır ve zaman zaman karıştırılarak yavaş bir şekilde 60 dakika süre ile kaynatılmıştır. Geri soğutucunun üstünden pipet yardımıyla geri soğutucunun içi balona doğru yıkanmıştır. Kaynatıldıktan sonra 4-5 damla fenolftalein çözelti ilave edilip 0.5 N HCl ile renksiz nokta yakalanıncaya kadar titre edilir. Aynı işlemler bir de şahit deneme için yapılmıştır.

$$\text{Sabunlaşma Sayısı} = \frac{[(V_2 - V_1) \times 28.05 \frac{\text{mg KOH}}{\text{g yağ}}]}{M}$$

V<sub>1</sub>: Örnek için harcanan 0.5 N HCl çözeltisi (mL )

V<sub>2</sub>: Şahit için harcanan 0.5 N HCl çözeltisi (mL )

M: Numune ağırlığı (2 g)



### 3.4.1.6. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini

Sabunlaşmayan madde yağda çözülmüş halde olup sabunlaşmadan sonra suda çözünmeyen fakat tayinde kullanılan çözücüde çözünen maddeler toplamını ifade etmektedir. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini için, 5 g numune tartılmıştır. 50 mL 2N etanollü KOH ilave edilerek geri soğutucuya bağlanmıştır. 1 saat süre ile kaynatılıp, geri soğutucudan ayrılmıştır. Numune ayırma hunisine aktarılmıştır. Balon önce 100 su mL iyice yıkanmıştır. Daha sonra balon ve ayırma hunisi 100 ml dietileter de yıkayıp ayırma hunisine aktarılmıştır. Ayırma hunisinin ağzı kapatılarak kuvvetli bir şekilde çalkalanmıştır. Alkalilik nedeniyle 2-3 damla 1 N HCl çözeltisi ilave edilmiştir. Sulu ve etanollü sabun fazı deneyde kullanılan balona aktarılmıştır (Alt faz). Eter fazı ise (eter ekstraktı) içinde 40 ml su bulunan ikinci bir ayırma huniler aktarılmıştır (Üst faz). Balona aktarılan sulu ve etanollü sabun fazı 100 mL dietil eter kullanılarak 2 kez daha ekstrakte edilmiştir. Bunun fazları ayrılmıştır. Eter fazı (eter ekstraktı) üst fazı ikinci ayırma hunisine aktarılır (üst faz). Toplanan eter fazı (eter ekstraktı)'nda çözünmeyen katı madde varsa dikkatlice süzülür. Ayrılan süzüntü ayırma hunisine fazlarına bakılarak yıkama çözeltisi alt taraftan aktarılmıştır. Ayırma hunisine 2 defa 40 ml su ile yıkanmıştır. Yıkama sonunda sırayla 2'şer defa 40 ml 0.5N KOH ve 40 ml su yıkama yapılmıştır. Yıkama, fenolftalein ile pembe renk verinceye kadar su ile yıkamaya devam edilmiştir. Ayırma hunisindeki eter fazı (üst faz) darası alınıp 200 mL'lik bir balona aktarılmıştır. Balondaki eter fazına 6 ml aseton ilave edilerek su banyosuna yatay olarak konarak çözücülerin buharlaştırılması sağlanmıştır. Balon etüvde 100°C de 15 dakika bekletilerek kurutulmuştur. Desikatörde soğutulup tartılmıştır. İki tartım arasındaki fark % 0.1 den az oluncaya kadar devam edilmiştir.

$$\text{Sabunlaşmayan Madde} = \frac{M_1}{M} \times 100$$

Hesaplama: Sabunlaşmayan Madde =  $(M_1 \times 100) / M$

$M_1$ : Kalıntının Ağırlığı ( g )

M: Numune Ağırlığı ( g )

### 3.4.2. UV- Vis Spektrofotometre Analizleri

Kabak çekirdeği yağı numunelerindeki ikincil oksidasyon (bozunma) ürünlerinin yani konjuge dien ve trien tayinleri ve antioksidasyon kapasite tayinleri (toplam fenolik madde, serbest yakalama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasite tayinleri) için yürütülen analizlerde, UV-Visible spektrofotometre cihazı kullanılarak veriler elde edilmiştir. Gerçekleştirilen analizlere ait detaylı veriler aşağıda yer almaktadır.

#### 3.4.2.1. Konjuge dien ve trien tayini (özümlü absorbans )

Yağı numunelerindeki birincil ve ikincil oksidasyon (bozunma) ürünlerinin miktarlarını tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen özgül absorbans tayinleri, çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak (Alfa Laval, 1995) metoduna göre tespit edilmiştir. Öncelikle cihazının her iki hücreğine izooktan konularak sıfır ayarı yapılmıştır. Daha sonra, kabak çekirdeğinden elde edilen yağ numunesinden 0.05 g yağ alınıp 10 mL izooktanda çözülerek numune küvetine doldurulmuş ve spektrum taramasından geçirilmiştir. Spektrum taraması sonunda 232 ve 269 nm dalga boylarında okunan absorbans değerleri, birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarlarının hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$A_{232} = \frac{\text{Abs}_{232}}{10xm} \quad A_{269} = \frac{\text{Abs}_{269}}{10xm}$$

$A_{232}$ : birincil oksidasyon ürünlerine karşılık gelen absorbans değeri

$A_{269}$ : ikincil oksidasyon ürünlerine karşılık gelen absorbans değeri

m = numune ağırlığı (g)

#### 3.4.2.2. Toplam fenolik madde tayini

Gallik asit cinsinden hesaplanan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen analizlerde, 5 farklı konsantrasyonda gallik asit standardı hazırlanmış, hazırlanan standart çözeltileri yardımıyla elde edilen kalibrasyon grafiği, kabak çekirdeği yağı numunelerindeki toplam fenolik madde miktarını tespit etmede kullanılmıştır. Bunun için, hazırlanan gallik asit çözeltilerinin ve ekstraksiyon işleminden elde edilen yağ ekstraktlarının her birinden 200 µL alınarak, üzerine 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile %7.5`luk Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 2 mL eklenmiş ve toplam hacim saf su ilavesiyle 7 mL`ye tamamlanmıştır. Karışım, oda sıcaklığında ve

karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra 765 nm`de absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, yukarıda belirtilen kalibrasyon grafiği denkleminde yerine konulmuş ve yağların toplam fenolik madde içerikleri gallik asit cinsinden (mg GAE/g) hesaplanmıştır (Slinkard ve Singleton, 1977).

#### **3.4.2.3. Serbest radikal yakalama aktivitesi tayini (DPPH Testi)**

Toplam fenolik madde tayininde olduğu gibi, serbest radikal yakalama aktivitesi tayininde de gallik asit cinsinden hesaplama yapılmıştır. Bunun için, 5 farklı konsantrasyonda gallik asit standart çözeltileri hazırlanmış, hazırlanan çözeltiler yardımıyla elde edilen kalibrasyon grafiği, kabak çekirdeği yağı numunelerindeki serbest radikal yakalama aktivitesini tespit etmede kullanılmıştır. Tayinlerde, hazırlanan gallik asit çözeltilerinin ve ekstraksiyon işleminden elde edilen yağ ekstraktlarının her birinden 500 µL alınarak, üzerine  $6 \times 10^{-5}$  M konsantrasyondaki DPPH çözeltisinden 3 mL eklenmiştir. Kuvvetlice karıştırılan karışım, oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk bekletildikten sonra 517 nm`de absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, yukarıda belirtilen kalibrasyon grafiği denkleminde yerine konulmuş ve yağların serbest radikal yakalama aktivitesi gallik asit cinsinden (mg GAE/g) hesaplanmıştır (Molyneux, 2004).

#### **3.4.2.4. Toplam antioksidan kapasite tayini**

Kabak çekirdeği yağı numuneleri için toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde ve serbest radikal yakalama aktivitesi tayinlerinde olduğu gibi, gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Tayinlerde, yine 5 farklı konsantrasyonda gallik asit standart çözeltileri hazırlanmış, hazırlanan çözeltiler yardımıyla elde edilen kalibrasyon grafiği, kabak çekirdeği yağı numunelerindeki toplam antioksidan kapasitelerini tespit etmede kullanılmıştır. Hazırlanan gallik asit çözeltilerinin ve ekstraksiyon işleminden elde edilen yağ ekstraktlarının her birinden 300 µL alınarak, üzerine 25 mL 0.6 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi, 25 mL 28 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O çözeltisi ve 25 mL 4 mM amonyum molibdat çözeltisi karışımından oluşan reaktiften 3 mL eklenmiştir. Karışım kuvvetlice karıştırıldıktan sonra 95°C`de 90 dk inkübe edilmiş ve asidik ortamda Mo(VI)`nın Mo(V)`e indirgenmesi neticesinde oluşan yeşil renkli fosfat/Mo(V) komplekslerinin 695 nm`de absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, yukarıda belirtilen kalibrasyon grafiği denkleminde yerine konulmuş ve yağların toplam

antioksidan kapasitesi gallik asit cinsinden (mg GAE/g) hesaplanmıştır (Prieto ve ark., 1999).

### 3.4.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) Analizleri

Kabak çekirdeği yağı numunelerinde,

- Tokol tayini için Agilent 1200 Series HPLC/FLD analiz sistemi,
- Trigliserit tayini için Agilent 1200 Series HPLC/DAD analiz sistemi,
- Aflatoksin tayini için Thermo Quantum Access Max, U-HPLC-MS/MS analiz sistemi
- Pestisit tayini için ise Thermo Quantum Access Max, U-HPLC-MS/MS analiz sistemi kullanılarak veriler elde edilmiştir.

Gerçekleştirilen analizlere ait detaylı veriler aşağıda yer almaktadır.

#### 3.4.3.1. Tokol (Tokoferol – tokotrienol) tayini

Kabak çekirdeği yağında bulunan  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferol ve tokotrienol türlerinin kalitatif ve kantitatif tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, 10 mL heksanda çözülen 1 g yağ numunesinin NP-HPLC (normal faz-HPLC) tekniği ile tayin edilmesini içermektedir. Tokoferol ve tokotrienol analizleri heksanda çözülen kabak çekirdeği yağı kullanılarak, Agilent 1200 Series HPLC cihazında diol kolon ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde tokoferol-tokotrienol türlerinin kromatografik ayrımları için en uygun metot tespit edilmeye çalışılmıştır. Kromatografik ayrımlarda, yöntem optimizasyonu için yapılan ön deneylerde  $\beta$ - ve  $\gamma$ - tokoferol ayrımları özellikle dikkate alınmıştır. Kromatografik tayinlerde standart madde olarak ticari  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferol ve tokotrienol standartları kullanılmıştır. Sabit sıcaklıkta (20°C) ve floresans dedektör ( $\lambda_{exc}$ :295 nm,  $\lambda_{emi}$ :330 nm) kullanılarak gerçekleştirilen tokol tayini metotlarına ait parametre değerleri **Çizelge 3.7** de verilmiştir.

**Çizelge 3. 7** Tokoferol ve tokotrienol tayini için kullanılan metot parametreleri

<b>Tokoferol &amp; Tokotrienol Tayini için Yöntem Parametreleri</b>	
<b>Numune ön işlemleri</b>	1 g yağ numunesi 10 mL'lik kapaklı mezüre süzülerek tartılır. Hekzan ile 10 mL'ye tamamlanarak numune analize hazır hale getirilir ve enjekte edilir.
<b>Enjeksiyon</b>	5 µL
<b>Kolon</b>	LiChrospher 100A Diol kolon (5µm 75x4.0mm) + LiChrospher 100A Diol kolon (5µm 250x4.0mm)
<b>Hareketli faz</b>	2-propanol : hekzan (0.6: 99.4%, v/v )
<b>Akış hızı</b>	0.75mL/dk
<b>Kolon fırını</b>	20°C
<b>Dedektör</b>	Floresans dedektör, FLD $\lambda_{exc}$ :295 nm, $\lambda_{emi}$ :330 nm

#### **3.4.3.2. Trigliserit tayini**

Kabak çekirdeği yağında bulunan trigliserit türlerinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, 10 mL asetonda çözülen 1 g yağ numunesinin HPLC tekniği ile, C18 kolon üzerinde tespit edilmesini içermektedir. Trigliserit analizi, standart AOCS Ce 5b-89 metoduna göre gerçekleştirilmiş (AOCS, 1998), metot parametreleri **Çizelge 3.8`** de verilmiştir.

**Çizelge 3. 8** Trigliserit tayini için kullanılan metot parametreleri

<b>Trigliserit Tayini için Yöntem Parametreleri</b>	
<b>Numune ön işlemleri</b>	1 g yağ numunesi 10 mL'lik kapaklı mezüre süzülerek tartılır. Aseton ile 10 mL'ye tamamlanarak numune analize hazır hale getirilir ve enjekte edilir.
<b>Enjeksiyon</b>	5 µL
<b>Kolon</b>	ACE 5 C18 kolon, ( 250 x 4 mm,5 µm)
<b>Hareketli faz</b>	Aseton : Asetonitril (50:50 %, v/v )
<b>Akış hızı</b>	1.5mL/dk
<b>Kolon fırını</b>	30°C
<b>Dedektör</b>	Diyod Array Dedektör, DAD 205 nm

### 3.4.3.3. Aflatoksin tayini

Kabak çekirdeği yağında bulunan aflatoksin türlerinin tespiti amacıyla, Shi (2011) tarafından gıdalarda aflatoxin B1, B2, G1 ve G2 türlerinin tespiti için önerilen LC/MS/MS yöntemi, ekstraksiyon prosedüründe ise Yang ve ark. (2011) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Aflatoksin bileşenlerinin izole edilmesi amacıyla, immunoafiniti AflaTest P® kartuş kolonları kullanılmıştır.

**Ekstraksiyon prosedürü:** 5 g kabak çekirdeği yağı numunesi üzerine 5 g NaCl ilave edilir ve toplam hacim metanol: su (70:30, v/v) çözeltisi ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Karışım 2 dk süreyle kuvvetli şekilde karıştırılarak santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Ekstrakt whatman-1 kâğıdından geçirilip, beherde toplanmıştır. 15 mL ekstrakt alınmış ve 30 mL ultra saf su ile seyreltilmiştir. Numune ekstraktının 15 mL'si, vakumlu SPE manifold sisteme yerleştirilen immunoafiniti AflaTest P® kartuş kolonuna aktarılmış ve 6 mL/dk sabit akış hızı ile kartuş kolondan elue edilmiştir. Kolondan aynı sabit hızla 2 kez 10 mL ultra saf su geçirerek kolon yıkanmıştır. Kartuş kolona affinite özelliği ile tutunan aflatoksin türleri, 1 mL metanol ile elue edilmiştir. Elue edilen aflatoksin türleri, temiz bir HPLC vialde toplanmıştır. U-HPLC/MS/MS tayini öncesinde vialde bulunan aflatoksin eluentine 1 mL destile su ilave edilmiş ve 20 µL sisteme enjeksiyon gerçekleştirilmiştir.

Aflatoxin B1, B2, G1 ve G2 standartlarını içeren karışım çözelti ile hazırlanan 6 değişik konsantrasyon seviyesi, cihazda okutularak kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Hazırlanan karışım standart madde için konsantrasyon seviyeleri 0 µg/kg, 1 µg/kg, 2 µg/kg, 5 µg/kg, 10 µg/kg ve 25 µg/kg şeklindedir. Shi (2011) tarafından gıdalarda aflatoxin B1, B2, G1 ve G2 türlerinin tespiti için önerilen ve UHPLC-MS/MS sistemi kullanılarak yürütülen metot parametreleri **Çizelge 3.9'**da yer almaktadır.

**Çizelge 3. 9** Aflatoksin tayini için kullanılan metot parametreleri

Aflatoksin Tayini için U-HPLC-MS/MS Yöntem Parametreleri						
<b>Numune ön işlemleri</b>	Yang ve ark. (2011) tarafından önerilen ekstraksiyon prosedürü uygulanmıştır.					
<b>Enjeksiyon</b>	20 µL					
<b>Kolon</b>	Hypersil Gold C18 kolon (2,1x50 mm,1,9 µm)					
	A: Su B: Metanol					
	<u>Süre</u>	<u>%A</u>	<u>%B</u>	<u>Süre</u>	<u>%A</u>	<u>%B</u>
	0.dk	98	2	4,0.dk	2	98
<b>Hareketli faz</b>	0,45.dk	98	2	4,30.dk	2	98
	1,45.dk	20	80	4,45.dk	98	2
	2,30.dk	10	90	8. dk	98	2
	3,15.dk	2	98			
<b>Akış hızı</b>	0.4 mL/dk					
<b>Kolon fırını</b>	25°C					
<b>Dedektör</b>	MS: TSQ Vantage triple stage quadrupole mass spectrometer, MS Ionization Source: H-ESI, Spray Voltage: 4.5 kV, Sheath Gas Pressure (N2): 50 arbitrary units, Auxiliary Gas Pressure (N2): 20 arbitrary units, Vaporizer Temperature: 250 °C, Capillary Temperature: 270 °C, Collision Gas Pressure: 1.5 mTorr					

#### 3.4.3.4. Pestisit tayini

Kabak çekirdeği yağında bulunan pestisit türlerinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, standart AOAC2007.01-QuEChERS metoduna göre U-HPLC-MS/MS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Ekstraksiyon prosedürü:** QuEChERS metoduna göre, 4 farklı kabak çekirdeği yağı numunelerinden 15 g'lık analiz örnekleri tartılarak, üzerine 15 ml %1'lik asetik asitli asetonitril ilave edilip, 1 dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından falkon tüplerine 6 g susuz magnezyum sülfat (MgSO<sub>4</sub>) ve 1,5 g sodyum asetat (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O) ilave edilip, 1 dk daha çalkalanarak 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra, örneklerin üst fazından 4'er mL alınarak, temizleme aşaması için 15 mL'lik falkon tüplerine aktarılmış, üzerine 1,2 g susuz MgSO<sub>4</sub> ile 0,4 g PSA ilave edilerek 4000 rpm'de 5 dakika tekrar santrifüjlenmiştir. Daha sonra üst faz viallere aktarılarak cihaz okumalarına kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Son olarak UHPLC-MS/MS cihazına enjeksiyonlar yapılmış ve pestisit kalıntı miktarları tespit edilmiştir.

Gıda ürünlerinde aranan pestisitleri kapsayacak şekilde 100 adet pestisit standardı ile, her iki sistemde kalibrasyon grafikleri oluşturmuştur. Pestisit standartlarının tümünü içeren karışım çözelti ile hazırlanan 6 değişik konsantrasyon seviyesi, cihazlarda okutulmuş kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Hazırlanan karışım standart madde için

konsantrasyon seviyeleri 0 µg/kg, 10 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 100 µg/kg ve 250 µg/kg şeklindedir.



**Şekil 3. 3** Pestisit tayini için uygulanan AOAC 2007.01-QuEChERS metodu numune hazırlama prosedürü

Pestisit türlerinin tayini için UHPLC-MS/MS cihazı ile yürütülen yöntem parametreleri **Çizelge 3.10**'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Çizelge 3. 10** Pestisit tayini için kullanılan U-HPLC-MS/MS metot parametreleri

Pestisit Tayini için UHPLC-MS/MS Yöntem Parametreleri			
<b>Numune ön işlemleri</b>	AOAC 2007.01-QuEChERS metoduna göre yukarıda açıklanan prosedür uygulanmıştır.		
<b>Enjeksiyon</b>	3 µL		
<b>Kolon</b>	Hypersil Gold C18 kolon (2,1x50 mm,1,9 µm) A: Metanol B: 5mM formik asit çözeltisi		
<b>Hareketli faz</b>		<b>%A</b>	<b>%B</b>
	0. dk	25	75
	5.dk	90	10
	30. dk	90	10
<b>Akış hızı</b>	0.3 mL/dk		
<b>Kolon fırını</b>	25°C		
<b>Dedektör</b>	MS gaz sıcaklığı: 350°C, MS gaz akışı: 12 L/dk		
	Nebülizasyon basıncı: 40 psi , Kapiler: 400 V		
	MS1/MS2 sıcaklığı: 100°C/100°C		
	Kaba vakum: 2.3 Torr, Yüksek vakum: 8.79*10 <sup>-6</sup> Torr Delta EMV: 400		



#### 3.4.4. Gaz Kromatografi (GC) Analizleri

Kabak çekirdeği yağı numunelerinde,

- yağ asit kompozisyonu tayini için Agilent 7890-5975C Series GC/FID/MS
- pestisit tayini için ise Thermo Quantum Access Max, U-HPLC UHPLC-MS/MS analiz sistemi kullanılarak veriler elde edilmiştir.

Gerçekleştirilen analizlere ait detaylı veriler aşağıda yer almaktadır.

##### 3.4.4.1. Yağ asit kompozisyonu tayini

**Kromatografik analizler için yağ asitlerinin metil ester formuna dönüştürülmesi.**

**Esterleştirme prosedürü:** 0,1 gr yağ numunesi tüpe alınıp, üzerine 0,1 mL 2N metanollü KOH, 10 mL Hekzan çözeltisi ilave edilmiştir. İstenilen reaksiyonun meydana gelmesi için belirli bir süre çalkalanmıştır. Çalkalanan numune santrifüjde 1 dakika 2000 devirde santrifüjlenerek esterleşen kısmın ayrılması sağlanmış, esterleşen kısım dekantasyon ile ayrılarak vialde alınmış ve numune enjeksiyonu için kullanılmıştır.

**Gaz kromatografisi/alev iyonlaşma dedektörü (GC/FID) analizleri.** Metil esterlerine dönüştürülen kabak çekirdeği yağı numunelerinin yağ asit kompozisyonu analizleri, soğuk pres kabak çekirdeği yağı ile Agilent 7890 Gaz Kromatografi cihazı kullanılarak, HP-88 kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yağ asit kompozisyonu analizlerinde Gu ve ark. (2011) tarafından önerilen yöntem uygulanmış ve bu yöntemle ait parametre değerleri **Çizelge 3.11**'de verilmiştir.

**Çizelge 3. 11** Yağ asit kompozisyonu tayini için kullanılan metot parametreleri

<b>Yağ Asit Kompozisyonu Tayini için Yöntem Parametreleri</b>			
<b>Numune ön işlemi</b>	Metil ester türevlerinin hazırlanmasında, 0.1 gr numune santrifüj tüpüne alındıktan sonra üzerine 0.1 ml 2 N lik metanollü KOH ilave edilir, 10 ml n-heptan koyarak 1 dk iyice karıştırılır ve 10 dakika santrifüjlenir. İşlemler sonunda üst faz alınarak, otomatik injektör yardımıyla 1 µL'lik numune, gaz kromatografi cihazına enjekte edilir.		
<b>Enjeksiyon</b>	1 µL, split oranı 100:1		
<b>İnlet sıcaklığı</b>	230°C		
<b>Kolon</b>	HP-5MS kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)		
<b>Hareketli faz</b>	Helyum		
<b>Akış hızı</b>	1 mL/dk		
<b>Kolon fırını sıcaklık programlaması</b>	<u>Rampa</u>	<u>sıcaklık</u>	<u>bekletme süresi</u>
	-	60°C	-
	15°C /dk	175°C	-
	2°C/dk	240°C	10 dk
	Toplam analiz süresi: 50,2 dk		
<b>Dedektör</b>	Alev iyonlaşma dedektörü H <sub>2</sub> akış hızı 30 mL/dk, Hava akış hızı 300 mL/dk		

#### **3.4.4.2. Pestisit tayini**

Kabak çekirdeği yağında bulunan pestisit türlerinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, standart AOAC 2007.01-QuEChERS metoduna göre GC/MS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Ekstraksiyon prosedürü:** QuEChERS metoduna göre, 4 farklı kabak çekirdeği yağı numunelerinden 15 g'lık analiz örnekleri tartılarak, üzerine 15 mL %1'lik asetik asitli asetonitril ilave edilip, 1 dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından falkon tüplerine 6 g susuz Magnezyum Sülfat (MgSO<sub>4</sub>) ve 1,5 g sodyum asetat (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O) ilave edilip, 1 dk daha çalkalanarak 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra, örneklerin üst fazından 4'er mL alınarak, temizleme aşaması için 15 mL'lik falkon tüplerine aktarılmış, üzerine 1,2 g susuz MgSO<sub>4</sub> ile 0,4 g PSA ilave edilerek 4000 rpm'de 5 dakika tekrar santrifüjlenmiştir. Daha sonra üst faz viallere aktarılarak cihaz okumalarına kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Son olarak GC/MS cihazına enjeksiyonlar yapılmış ve pestisit kalıntı miktarları tespit edilmiştir.

Gıda ürünlerinde aranan pestisitleri kapsayacak şekilde 103 adet pestisit standardı ile, her iki sistemde kalibrasyon grafikleri oluşturmuştur. Pestisit standartlarının tümünü içeren karışım çözelti ile hazırlanan 6 değişik konsantrasyon seviyesi, cihazlarda okutularak kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Hazırlanan karışım standart madde için

konsantrasyon seviyeleri 0 µg/kg, 10 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 100 µg/kg ve 250 µg/kg şeklindedir. GC/MS cihazının metot parametreleri **Çizelge 3.12**'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Çizelge 3. 12** Pestisit tayini için kullanılan GC/MS metot parametreleri

<b>Pestisit Tayini için GC/MS Yöntem Parametreleri</b>			
<b>Numune ön işlemi</b>	AOAC 2007.01-QuEChERS metoduna göre yukarıda açıklanan prosedür uygulanmıştır.		
<b>Enjeksiyon</b>	8 µL splitless		
<b>İnlet sıcaklığı</b>	250°C		
<b>Kolon</b>	TRB-5 MS kolon, (30m x 0,25mm x 0,25µm)		
<b>Hareketli faz</b>	Helyum		
<b>Akış hızı</b>	1 mL/dk		
	<u>Rampa</u>	<u>Sıcaklık</u>	<u>Bekletme süresi</u>
<b>Kolon fırını sıcaklık programlaması</b>	-	75°C	-
	25°C /dk	150°C	-
	10°C/dk	280°C	10 dk
	Toplam analiz süresi: 26 dk		
<b>Dedektör</b>	MS dedektör		

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Kabak Çekirdeği Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Analizler

Sunulan tez çalışması kapsamında farklı tedarikçilerden temin edilen kabak çekirdeği numuneleri değerlendirilmiş, bu yağlı hammaddeler fizikokimyasal özellikleri açısından incelenmiştir. Bu numuneler arasında, Çeltik/ Konya, Çumra/ Konya, İçeri çumra/ Konya ve Polatlı/ Ankara bölgelerine ait kabak çekirdeği örnekleri, soğuk pres yağ üretimi açısından kaliteli bulunmuş ve tedarik edilmiştir. Soğuk pres işlemi öncesinde temin edilen kabak çekirdeği numuneleri elenerek yabancı maddelerden arındırılmış ve serin, kuru ve doğrudan ışık ile temas etmeyen bir alanda muhafaza edilmiştir.

Herhangi bir ısı işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile, yenilebilir özellikte ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan soğuk pres kabak çekirdeği yağları elde edilmiştir. Tarafımızdan üretilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler ve değerlendirmeleri, ilgili başlıklar altında detaylı bir şekilde yer almaktadır.

#### 4.1.1. Titrimetrik Analizler

##### 4.1.1.1. Serbest yağ asidi (%FFA) tayini

Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen serbest yağ asidi (%FFA) tayini, standart AOCS Ca-5a-40 metodunda önerilen prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler **Çizelge 4.1** 'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1**'de belirtildiği üzere oleik asit cinsinden FFA değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $0.270 \pm 0.010$ , Çumra kabak çekirdeği yağı  $0.260 \pm 0.005$ , İçeri çumra kabak çekirdeği yağı  $0.270 \pm 0.010$  ve Polatlı kabak çekirdeği yağı  $0.260 \pm 0.005$  şeklinde tespit edilmiştir. Asit değeri cinsinden elde edilen veriler ise, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $0.390 \pm 0.010$ , Çumra kabak çekirdeği yağı  $0.370 \pm 0.005$ , İçeri çumra kabak çekirdeği yağı  $0.390 \pm 0.010$  ve Polatlı kabak çekirdeği yağı  $0.370 \pm 0.005$  şeklinde tespit edilmiştir.

**Çizelge 4. 1** Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için serbest yağ asidi, peroksit sayısı, sabunlaşmayan madde miktarı, sabunlaşma sayısı, sabun miktarı ve iyot sayısı analiz verileri

<b>NUMUNE</b>	<b>Serbest yağ asidi miktarı (FFA, % oleik asit)</b>	<b>Asit değeri (mg KOH/ g yağ)</b>	<b>Peroksit sayısı (PV, meq O<sub>2</sub>/kg yağ)</b>	<b>İyot sayısı (IV)</b>	<b>Sabun miktarı (% sodyum oleat)</b>	<b>Sabunlaşma sayısı (mg KOH/ g yağ)</b>	<b>Sabunlaşmayan madde miktarı (g/kg yağ)</b>
<b>Numune -1 :</b> <b>Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.270±0.010	0.390 ±0.010	3.100±0.100	117.090 ±0.500	nd	235.140±1.000	7.840±0.150
<b>Numune -2 :</b> <b>Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.260±0.005	0.370 ±0.005	3.400±0.100	117.230 ±0.400	nd	201.910±1.490	7.400±0.160
<b>Numune -3 :</b> <b>İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.270±0.010	0.390 ±0.010	3.160±0.050	117.290 ±0.500	nd	290.780±1.260	8.700±0.250
<b>Numune -4 :</b> <b>Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.260±0.005	0.370 ±0.005	3.600±0.550	117.090 ±0.300	nd	290.680±1.090	8.600±0.040

Hidroliz reaksiyonu sonucu yağda meydana gelen ve miktarı üretim prosesi koşullarına bağlı olarak artış gösterebilen serbest yağ asitleri, yağların bozulması yani yağın acılaşması hakkında da fikir vermesi açısından önemli bir kalite göstergesidir. Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde (tebliğ no: 2012/29) maksimum FFA miktarı, rafine yağlar için 0.6 mg KOH/g yağ, natürel palm yağında 10 mg KOH/ g yağ ve soğuk pres & natürel yağlarda 4 mg KOH/g yağ değeri şeklinde belirtmektedir. Mekanik presleme yöntemi ile elde ettiğimiz soğuk pres yağlarda tespit edilen FFA değerlerinin tümü, kodekste soğuk pres & natürel yağlar için belirtilen maksimum 4 mg KOH/g yağ değerinin oldukça altında yer almaktadır.

Analiz edilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının FFA değerlerinde tespit edilen farklılıkların yağların elde edildiği tohumun tür ve çeşit farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi, ürünün yetiştirildiği bölge, depolama koşulları, olgunlaşma aşamaları, toplama zamanı, yetiştirme şartları ile de ilgili olabileceği düşünülmektedir. Bunların yanında, ham madde olarak kullanılan kabak çekirdeklerinin yetiştirildiği coğrafi koşulların ve iklim farklılıklarının da, elde edilen yağların fizikokimyasal özelliklerini etkileyebileceği düşünülmektedir.

Bilindiği üzere, mekanik presleme işlemine tabii tutulan çekirdeklerin ön işlemi ve yağın çekirdekten alınma prosedürlerindeki bazı uygulamalar, yağda insan tüketimine uygun olmayan FFA gibi çeşitli bileşenlerin oluşumuna sebep olmakta ve bu yağların tüketimini sınırlamaktadır. Sunulan tez çalışmasında özellikleri incelenen kabak çekirdeği yağlarında belirtilen bu durumun söz konusu olmadığı ve mekanik yöntemle üretimini gerçekleştirdiğimiz yağların oldukça yüksek kalitede oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, %FFA içerikleri bakımından elde edilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının tümünün, yüksek kalitede yenilebilir yağ özelliğinde ve güvenilir ürün özelliğinde oldukları kanaatine varılmıştır.

#### **4.1.1.2. Peroksit sayısı (PV) tayini**

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen peroksit sayısı (PV) tayini, standart AOCS Cd-8b-90 metodunda uygulanan prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler **Çizelge 4.1** 'de verilmiştir.

Yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olan peroksit değeri, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalent gram miktarı olarak tanımlanmaktadır.

Peroksit sayısı tayini hidroperoksitlerin KI ile reaksiyonu sonucu açığa çıkan iyodun, tiyosülfatla titre edilmesi temeline dayanmaktadır. Birincil oksidasyon ürünleri olarak tanımlanan hidroperoksitler, lipidoksidasyon mekanizmasının erken safhasında meydana gelmektedir. Yağlarda hidroperoksitlerin oluşumu ise, yağların depolanmaları sırasında oksijen, metal iyonları, sıcaklık, ışık gibi faktörlerin katalitik etki göstermesi sonucu meydana gelmektedir. Diğer taraftan bozulmanın (acılaşmanın) ilk ürünleri olan peroksitlerin, yağlardaki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesi sonucunda meydana gelebildiği bilinmektedir. Yağlarda peroksit sayısı değeri, belli bir oksidasyon düzeyinden sonra azalma göstermektedir. Bu durumun nedeni, hidroperoksit türlerinin (birincil oksidasyon ürünleri) yani peroksitlerin, ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşümü ile açıklanmaktadır.

Peroksit türlerinin yağların oksidasyonu esnasında meydana gelen bileşikler olması nedeniyle peroksit sayısı ve yağın bozulma (acılaşma) düzeyi arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Bu nedenle yağın gıda kalitesinin korunmasında önem arz eden oksidatif stabilitenin ve birincil oksidasyonun tahmin edilmesinde, peroksit sayısı tayini büyük önem arz etmektedir. Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde (tebliğ no: 2012/29) maksimum PV miktarını rafine yağlar için 10 meq O<sub>2</sub>/kg yağ, soğuk pres & natürel yağlarda ise 15 meq O<sub>2</sub>/kg yağ değeri şeklinde belirtmektedir.

**Çizelge 4.1**'de belirtildiği üzere meq O<sub>2</sub>/kg yağ cinsinden PV değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için 3.100±0.100 meq O<sub>2</sub>/kg, Çumra kabak çekirdeği yağı 3.400±0.100 meq O<sub>2</sub>/kg, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı 3.160±0.050 meq O<sub>2</sub>/kg ve Polatlı kabak çekirdeği yağı 3.600±0.550 meq O<sub>2</sub>/kg şeklinde tespit edilmiştir. Mekanik presleme yöntemi ile elde ettiğimiz soğuk pres yağlarda tespit edilen PV değerlerinin tümü, kodekste soğuk pres & natürel yağlar için belirtilen maksimum 15 mg KOH/g yağ değerinin oldukça altında yer almaktadır.

Sonuç olarak sunulan tez çalışmasında özellikleri incelenen kabak çekirdeği yağlarında belirtilen bu durumun söz konusu olmadığı ve mekanik yöntemle üretimini gerçekleştirdiğimiz yağların oldukça yüksek kalitede oldukları tespit edilmiştir. Peroksit sayısı değerleri bakımından, elde edilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının tümünün, yüksek kalitede yenilebilir yağ özelliğinde ve güvenilir ürün özelliğinde oldukları kanaatine varılmıştır.

#### 4.1.1.3. İyot sayısı (IV) tayini

İyot sayısı değeri yağların doymamışlık oranının bir ölçüsü olarak tanımlanan iyot sayısı, yağın acılaşması ile de doğrudan alakalı bir parametredir. Yağlarda mevcut yağ asitlerinin türü ve miktarı ile ilgili bir parametre olması nedeniyle, yağlardaki tahşişin belirlenmesi ya da yağın tanımlanması açısından da önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Yağların, iyot sayısı değerlerine bakılarak bozunma dereceleri hakkında fikir sahibi olunmaktadır. İyot sayısı değeri yüksek olan yağların oksidasyon meylinin, düşük olanlara nazaran daha fazla olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir.

Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen iyot sayısı (IV) tayini, standart TS-894 metodunda (Wijs yöntemi) önerilen prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler **Çizelge 4.1** 'de verilmiştir. **Çizelge 4.1**'de belirtildiği üzere İyot sayısı cinsinden IV değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $117.090 \pm 0.500$ , Çumra kabak çekirdeği yağı  $117.230 \pm 0.400$ , İçeri çumra kabak çekirdeği yağı  $117.290 \pm 0.500$  ve Polatlı kabak çekirdeği yağı  $117.090 \pm 0.300$  şeklinde tespit edilmiştir.

Bitkisel yağların iyot sayısı değerleri bitkinin yetiştiği toprağın cinsine, iklim şartlarına ve tohumun olgunluk dercesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu nedenle, bitkisel yağların iyot sayısı birbirinden farklılık göstermektedir. Sunulan tez çalışması kapsamında özellikleri incelen kabak çekirdeği yağlarına ait iyot sayısı değerleri, birbirine çok yakın tespit edilmiştir. Sonuç olarak, soğuk pres metodu ile üretilen ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan kabak çekirdeği yağı türlerinin, doymamışlık derecesi bakımından oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri kanaatine varılmıştır.

#### 4.1.1.4. Sabun miktarı tayini

Sabun miktarı tayini yağlarda çözünmüş olabilen sabunun, yağ asitlerine dönüştürülerek titrasyonla tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemle, sodyum sabunu içeriği ve HCl ile deneme şartları altında reaksiyona giren diğer bazik maddeler (magnezyum sabunu, bazik fosfatidler vb. gibi) tayin edilmektedir. 1 g yağın sabunlaşması için gerekli olan potasyum hidroksitin (KOH) mg olarak ağırlığı olarak tanımlanan



sabunlaşma sayısı, yağların ve yağ asitlerinin saflığının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir parametredir.

Doğal yağlar, işlemleri yada üretimleri esnasında kuvvetli asitlerle muamele edildiğinde veya basınç altında su ile ısıtıldığında, gliserinle serbest aside hidrolizlenmektedir. Kuvvetli alkalilerin etkisiyle bu serbest yağ asitleri ve alkali metal tuzları, yağ içerisinde "sabun" meydana getirmektedir. Yağ işleme prosedüründe (rafinasyon), sabunlaşma işlemi ile yağdaki serbest asitliğin giderilmesi sağlanmaktadır. Sabun miktarı analizi, nötralizasyon aşamasında serbest yağ asitlerinin sabun hâline çevrilerek yağdan uzaklaştırılmasının kontrolünde kullanılmaktadır. Böylece yağda kalan sabun miktarının kodekse uygun olup olmadığı anlaşılmaktadır.

Yağlarda tespit edilen sabunlaşma sayısı değeri, yağ asitlerinin zincir uzunlukları, dolayısıyla molekül ağırlıkları ile ters orantılıdır. Yani uzun zincirli yağ asitlerinin esterleri olan yağların sabunlaşma sayıları, kısa zincirli olanlardan daha düşük tespit edilmektedir. Bütirik, kaproik, kaprilik, laurik asit esterleri olan tereyağında sabunlaşma sayısı (225-250) yüksek iken, bitkisel yağların sabunlaşma sayısı 200'ün altında tespit edilmektedir. Dolayısıyla, sabunlaşma sayısı bilinen bir yağın yaklaşık molekül ağırlığı hesaplanabilmektedir.

**Çizelge 4.1'**de belirtildiği üzere sodyum oleat cinsinden sabun miktarı değerleri kabak çekirdeği yağlarının tümünde tespit edilememiştir. Türk Gıda Kodeksi "Bitki Adı ile Anılan Yemelik Yağlar Tebliği" ne göre, sabun miktarı rafine yağlarda en çok %0.005 m/m, soğuk pres & natürel yağlar için ise bulunmaması gerektiği belirtilmektedir.

**Çizelge 4.1'**de belirtildiği üzere % sodyum oleat cinsinden sabun miktarı tespit edilememiştir.

#### **4.1.1.5. Sabunlaşma sayısı tayini**

Sabunlaşma sayısı tayini 1 g yağın sabunlaşması için gerekli olan potasyum hidroksitin mg olarak ağırlığının bulunması ilkesine dayanmaktadır. Sabun miktarı tayininin tespitinin ardından uygulanan sabunlaştırma işlemi ile, sabunlaşma sayısı tayin edilmektedir.

Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen sabunlaşma sayısı tayini, standart yöntemde önerilen prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde

edilen veriler **Çizelge 4.1** 'de verilmiştir. **Çizelge 4.1**'de belirtildiği üzere mg KOH/ g yağ cinsinden sabunlaşma sayısı değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $235.140 \pm 1.000$  mg KOH/ g yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı  $201.910 \pm 1.490$  mg KOH/ g yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı  $290.780 \pm 1.260$  mg KOH/ g yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı  $290.684 \pm 1.090$  mg KOH/ g yağ şeklinde tespit edilmiştir. Soğuk pres metodu ile üretilen ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan kabak çekirdeği yağı türlerinin, sabunlaşma sayısı bakımından oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri kanaatine varılmıştır.

#### **4.1.1.6. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini**

Yağda sabunlaşmayan madde miktarı, yağda çözünmüş hâlde olup sabunlaşmadan sonra suda çözünmeyen, fakat analizde kullanılan petrol veya dietil eteri içinde çözünen maddelerin toplamı olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeler kostik alkali ile sabunlaşmayan çeşitli alifatik alkoller, steroller gibi lipid yapısındaki bileşikler, hidrokarbonları, karotenoidleri, ksantofilleri, yağda çözünen vitaminleri ve yağda çözünen benzer organik bileşikler ifade etmektedir. Sabunlaşmayan madde miktarı tayini, yağın alkolde hazırlanmış baz çözeltisi ile sabunlaştırılması, sabunun çözücü ile ekstraksiyonu ve yıkanan ekstraktın kuruyuncaya kadar buharlaştırılması esasına dayanmaktadır.

Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen sabunlaşmayan madde miktarı tayini, standart yöntemde önerilen prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler **Çizelge 4.1** 'de verilmiştir. **Çizelge 4.1**'de belirtildiği üzere g/ kg yağ cinsinden sabunlaşmayan madde değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $7.840 \pm 0.150$  g/ kg yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı  $7.400 \pm 0.160$  g/ kg yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı  $8.70 \pm 0.250$  g/ kg yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı  $8.600 \pm 0.040$  g/ kg yağ şeklinde tespit edilmiştir.

#### 4.1.2. UV- Vis Spektrofotometre Analizleri

Kabak çekirdeği yağı numunelerindeki konjuge dien & trien tayinleri ve antioksidasyon kapasite tayinleri (toplam fenolik madde, serbest yakalama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasite tayinleri) için yürütülen analizler UV-Visible spektrofotometre sistemi ile gerçekleştirilmiştir.

##### 4.1.2.1. Konjuge dien ve trien tayini (özümlü absorban)

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen konjuge dien & trien tayini, standart AOCS Cd-8b-90 metodunda uygulanan prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler **Çizelge 4.2** 'de verilmiştir.

Yağların, oksidasyon stabilitelerinin diğer bir ölçütü olarak değerlendirilen ve önemli bir kalite kriteri olan özümlü absorban tayin yöntemi, 232 nm ve 269 nm'de yapılan spektrofotometrik ölçüme dayanmaktadır. Aynı zamanda, 269 nm'de yapılan spektroskopik ölçümler, rafine yağlarda tahşiş varlığının tespitinde de kullanılmaktadır. Bu iki dalga boyunda yapılan ölçümlerin oranı olan R değeri ise, rafinasyon aşamasında yağın asit ağartma toprakları ile işlenip işlenmediğinin belirlenmesinde yada rafine ve prina yağı varlığının tespit edilmesinde esas alınan önemli bir kriterdir ( $R=K_{232}/K_{269}$ ).

Yağın oksidasyon reaksiyonu, çift bağ içeren bileşiklerde meydana gelmektedir. Yenilebilir yağların rafinasyon işlemi esnasında yüksek sıcaklık işlemlerine maruz kalması ile konjuge dien ve trien sistemleri oluşacak yönde oksidasyon gelişmektedir. 232 nm'de belirlenen özümlü absorban değeri oksidasyonun birinci basamağı olan hidroperoksitlerin ve konjugedienlerin, 269 nm'de belirlenen özümlü absorban değeri ise oksidasyonun ikinci basamağı olan karbonilik bileşikler ve konjuge trienlerin tayin edilmesini kapsamaktadır.

Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde  $R=K_{232}/K_{269}$  değeri, iyi kalitedeki natürel yağlar için 10-15 değeri, rafine yağ için ise 3 değeri şeklinde belirtmektedir. **Çizelge 4.2**'de belirtildiği üzere  $R=K_{232}/K_{269}$  özümlü absorban oranları bakımından değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için 1.91, Çumra kabak çekirdeği yağı 1.73, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı 1.73 ve Polatlı kabak çekirdeği yağı 1.67 şeklinde tespit edilmiştir. Mekanik presleme yöntemi ile elde ettiğimiz soğuk pres yağlarda tespit edilen özümlü absorban değerlerinin tümü, kodekste natürel yağlar için

belirtilen  $R=K_{232}/K_{269}$  özgül absorbands oranı olan maksimum 3 değerinin oldukça altında yer almaktadır.

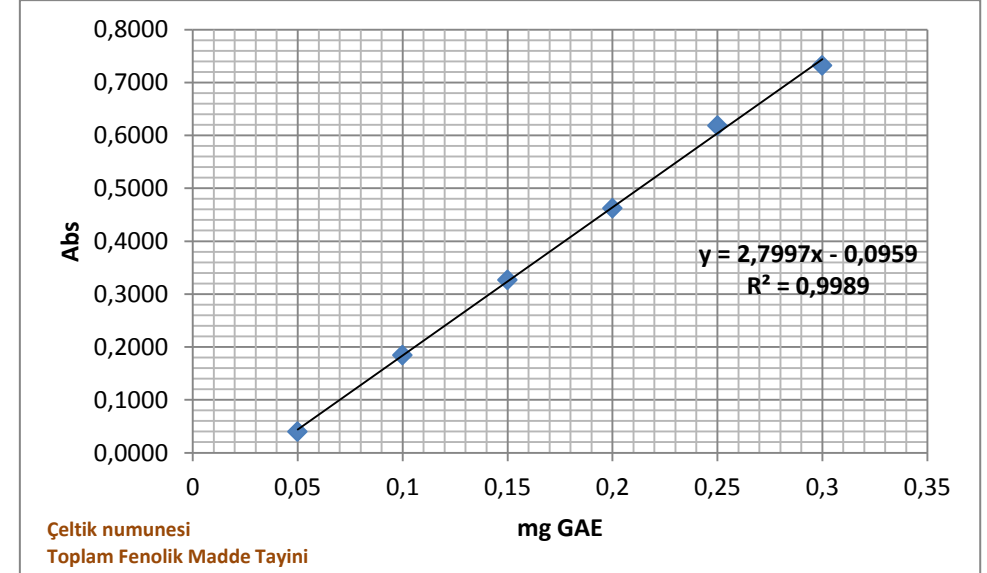
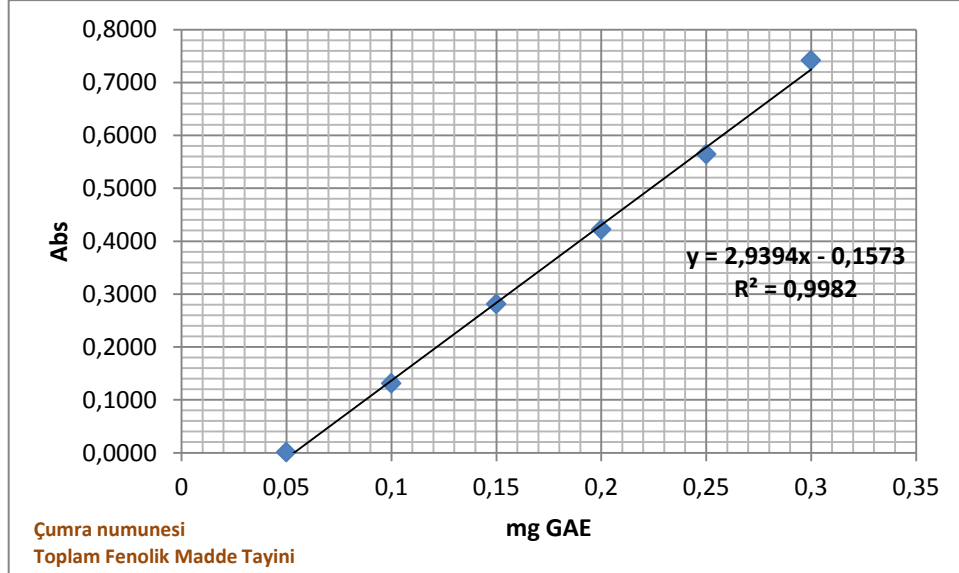
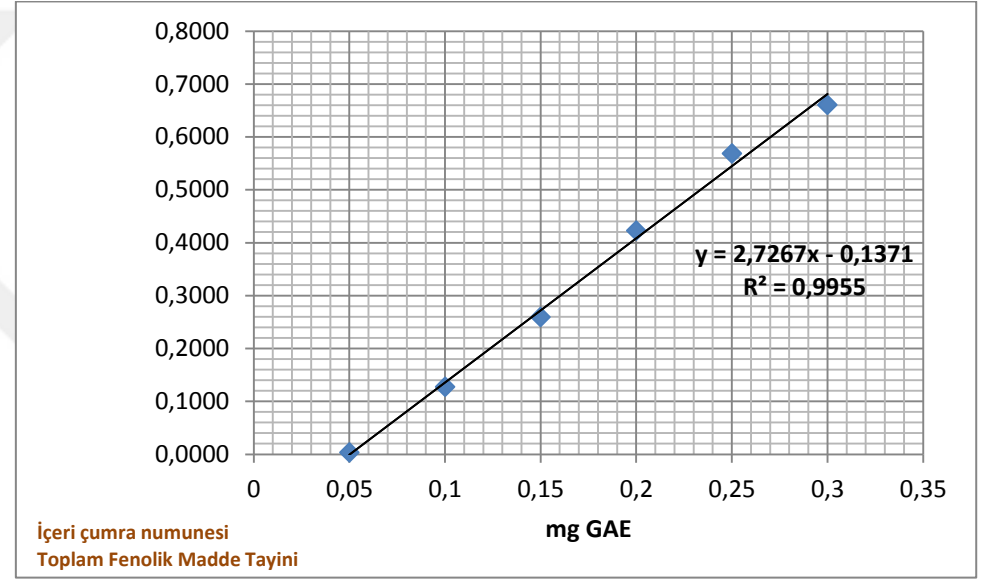
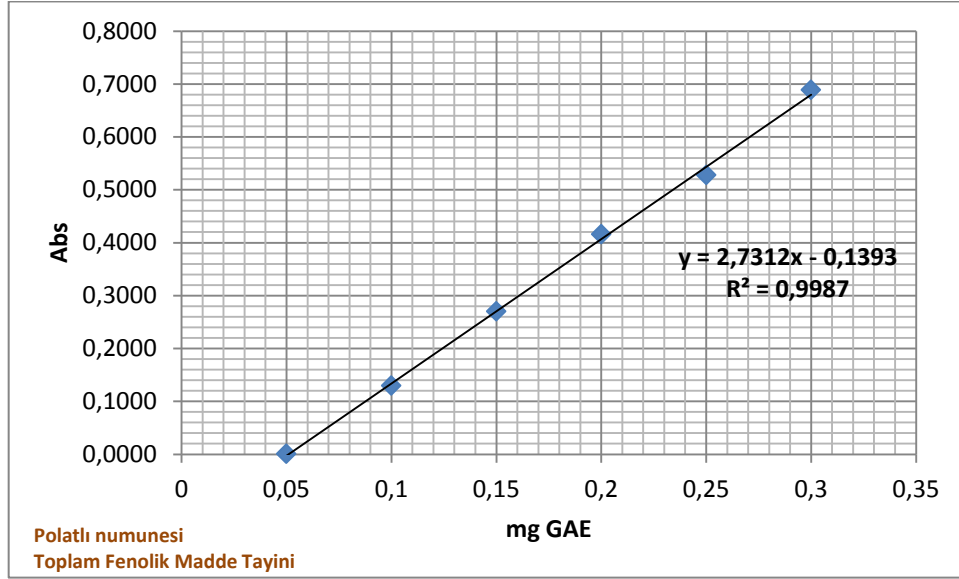
**Çizelge 4. 2** Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için konjuge dien ve trien (özgül absorbands) analiz verileri

<b>NUMUNE</b>	<b>Numune miktarı, mg</b>	<b>Konjuge dien miktarı, ppb 232 nm</b>	<b>Konjuge trien miktarı, ppb 269 nm</b>	<b><math>R=K_{232}/K_{269}</math></b>
<b>Numune -1 :</b> <b>Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.0548	4.100 ±0.020	2.150 ±0.010	<b>1.91</b>
<b>Numune -2 :</b> <b>Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.0576	3.590 ±0.010	2.070 ±0.010	<b>1.73</b>
<b>Numune -3 :</b> <b>İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.0354	3.590 ±0.010	2.070 ±0.020	<b>1.73</b>
<b>Numune -4 :</b> <b>Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	0.0548	4.020 ±0.010	2.410 ±0.020	<b>1.67</b>

#### 4.1.2.2. Toplam fenolik madde tayini

Yağlarda bulunan toplam fenolik miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları içeriği hakkında fikir vermesi açısından önem arz etmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, yağlardaki oksidasyon proseslerinde başlatıcı rol oynayan serbest radikalleri nötralize edebilmeleri nedeniyle önemlidir. Toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında genellikle Folin-Ciocalteu (FC) metodu tercih edilmektedir. Folin-Ciocalteu metodu yönteme adını veren reaktif vasıtasıyla oluşan renk yoğunluğunu göre 765 nm deki absorbands ölçümüne dayanmaktadır.

Yağlı tohum türü çerezlerden olan kabak çekirdeklerinden soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağların fenolik madde içerikleri, gallik asit cinsinden (mg GAE/kg yağ) **Çizelge 4.3'**de yer almaktadır. Toplam fenolik madde içerikleri, 765 nm de tespit edilen absorbands değerlerinin, **Şekil 4.1'**de yer alan ve her bir yağ türü için oluşturulan kalibrasyon grafiği denklemlerinde yerine konulması ile hesaplanmıştır.



**Şekil 4. 1** Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait toplam fenolik madde tayini kalibrasyon grafikleri

**Çizelge 4. 3** Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numunelerine ait toplam fenolik madde, serbest radikal yakalama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasite tayini analiz verileri

<b>NUMUNE</b>	<b>Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/kg yağ)</b>	<b>Serbest radikal yakalama aktivite miktarı, DPHH (mg GAE/kg yağ)</b>	<b>Toplam antioksidan kapasitesi (mg GAE/kg yağ)</b>
<b>Numune -1 :</b> <b>Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	43.160 ±0.900	57.020 ±1.300	277.780 ±11.200
<b>Numune -2 :</b> <b>Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	58.160 ±1.500	73.500 ±1.500	388.890 ±14.100
<b>Numune -3 :</b> <b>İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	39.570 ±1.300	63.190 ±1.100	266.670 ±9.700
<b>Numune -4 :</b> <b>Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi</b>	43.200 ± 1.200	66.670 ±1.400	311.110 ±10.300

**Çizelge 4.3'**de belirtildiği üzere toplam fenolik madde içerikleri değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için 43.160 ±0.900 mg GAE/kg yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı için 58.160 ±1.500 mg GAE/kg yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı için 39.570±1.300 mg GAE/kg yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için 43.200 ±1.200 mg GAE/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Elde edilen verilerden görüleceği üzere, 58.160 ±1.500 mg GAE/kg yağ fenolik madde içeriği ile Çumra kabak çekirdeği yağı en yüksek fenolik madde içeriğine sahip tür iken, 39.570±1.300 mg GAE/kg yağ fenolik madde içeriği ile İçeri çumra kabak çekirdeği yağı en düşük fenolik madde içeriğine sahip yağ türüdür. Analiz edilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının toplam fenolik madde içeriklerinde tespit edilen farklılıkların yağların elde edildiği tohumun tür ve çeşit farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi, ürünün yetiştirildiği bölge, depolama koşulları, olgunlaşma aşamaları, toplama zamanı, yetiştirme şartları ile de ilgili olabileceği düşünülmektedir.

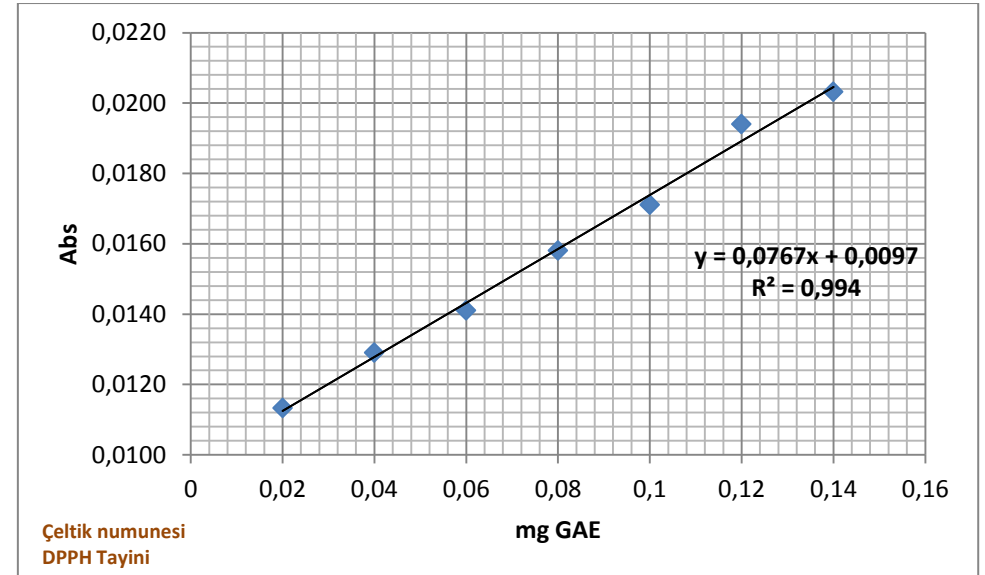
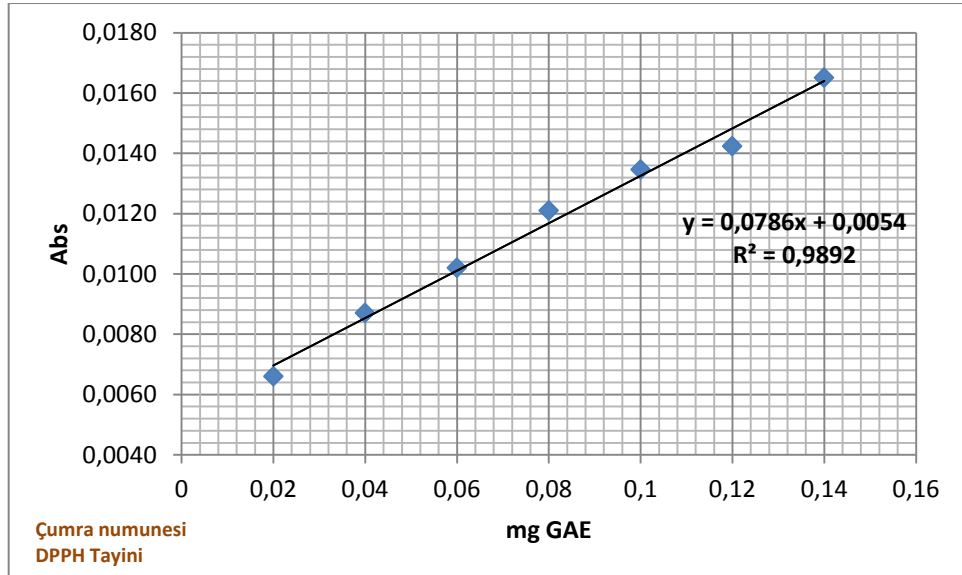
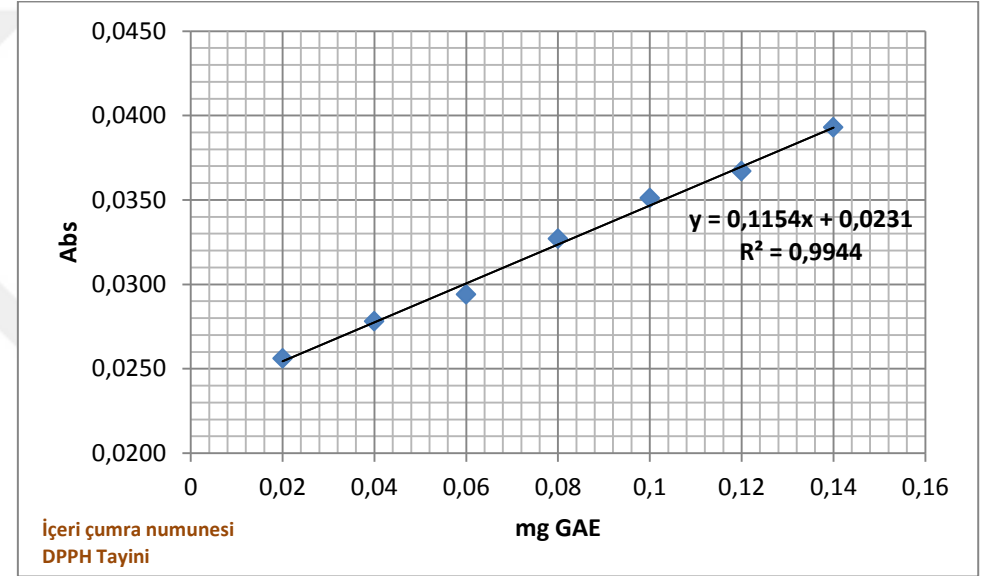
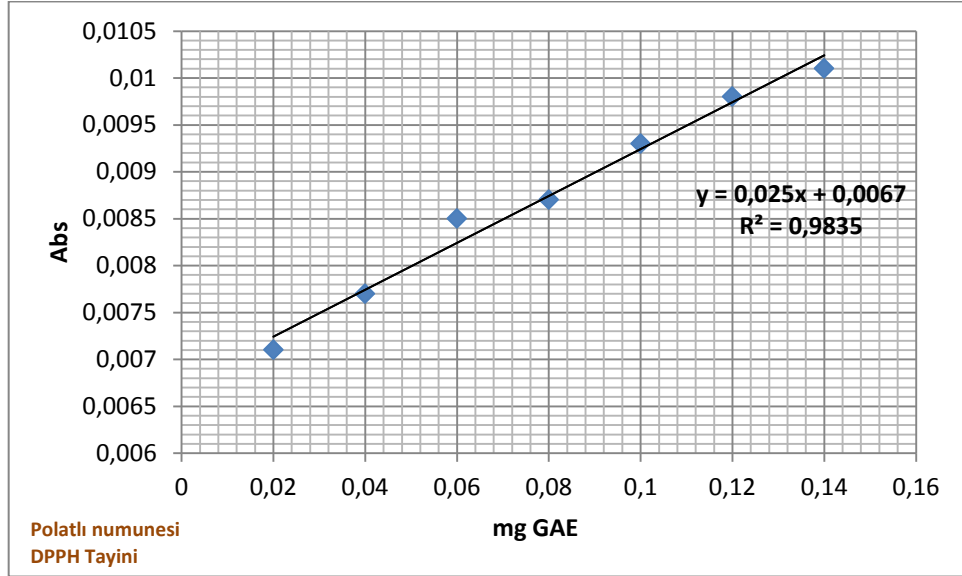
Sonuç olarak herhangi bir ısı işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile üretilen ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan bu türlerin fenolik madde içeriği bakımından oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri kanaatine varılmıştır.

#### 4.1.2.3. Serbest radikal yakalama aktivitesi tayini (DPPH testi)

Günümüzde antioksidan aktivitesi ölçümleri için birçok farklı yöntem mevcuttur. Bu yöntemler genellikle serbest radikalleri içermektedir. Reaktan olarak kullanılan serbest radikalın özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının ve standart maddelerin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal yakalama yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılmakta ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanmaktadır. Yöntemde, kararlı bir serbest radikal olan DPPH, antioksidan maddelerden elektron ve hidrojen radikallerini kabul ederek, kararlı moleküllere dönüşmektedir. Antioksidan maddelerin, DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme kapasiteleri, 517 nm'de ölçülen absorbanstaki düşüşle kendini göstermektedir. Kararlı bir serbest radikal olan DPPH kırmızı renklidir ve bu renk 517 nm de absorblanabilmektedir. DPPH serbest radikalleri, yağda mevcut bir antioksidan madde tarafından yakalandığında, rengi kırmızıdan sarıya doğru dönmektedir. Bu renk değişimi DPPH'ın antioksidan madde ile etkileşerek 1,1-difenil-2-pikril hidrazine dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. Kırmızı renkte meydana gelen değişimler, 517 nm de absorbans değerleri halinde okunarak maddelerin radikal yakalama kapasitesi belirlenmektedir.

Kabak çekirdeklerinden soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağların serbest radikal yakalama aktiviteleri, gallik asit cinsinden (mg GAE/kg yağ) **Çizelge 4.3**'de yer almaktadır. Serbest radikal yakalama aktiviteleri, 517 nm de tespit edilen absorbans değerlerinin, **Şekil 4.2**'de yer alan ve her bir yağ türü için oluşturulan kalibrasyon grafiği denklemlerinde yerine konulması ile hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, en yüksek DPPH giderim aktivitesini,  $73.500 \pm 1.500$  mg GAE/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağı gösterirken, en düşük DPPH giderim aktivitesini  $57.020 \pm 1.300$  mg GAE/kg yağ değeri ile Çeltik kabak çekirdeği yağı göstermiştir.

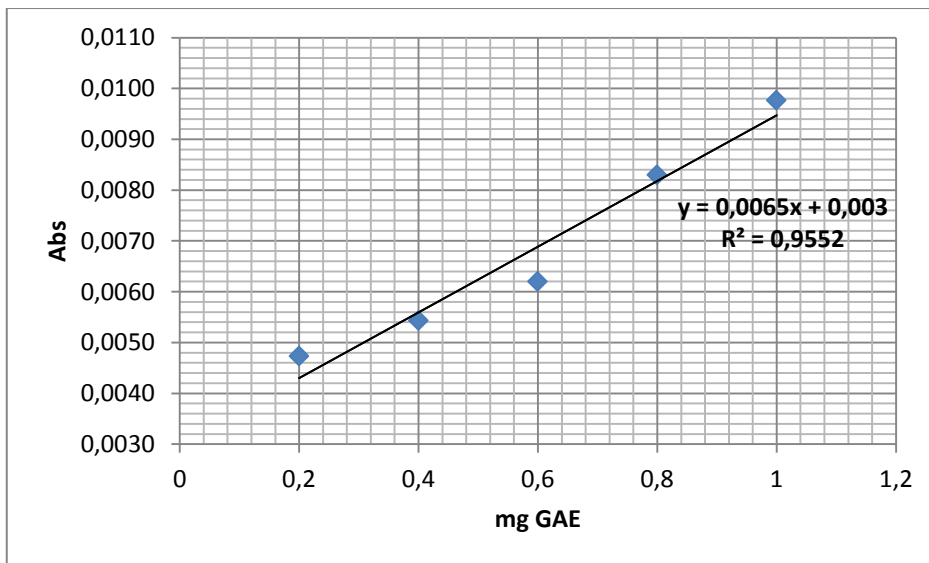




#### 4.1.2.4. Toplam antioksidan kapasite tayini

Toplam antioksidan kapasite tayin yöntemi, ortamda bulunan molibden (VI)'nın ortama konan indirgeyici ajan tarafından molibden(V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin, spektrofotometrik olarak 695 nm'de ölçümü esasına dayanmaktadır. Yağlarda mevcut antioksidan türü bileşenlerin, oksidasyonu engelleyerek indirgenmeye yol açmaları ve yeşil rengin meydana gelmesiyle tayin gerçekleştirilmektedir. Antioksidan maddeler, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküller olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasal bileşiklerin en önemli özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralizeetmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao, 1999). Doğal antioksidanlar, ekstrakte edilebilen yada gıda işlenmesi sırasında açığa çıkan bileşenlerdir. Tokoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller, selenyum, ... gibi bileşenler en önemli doğal antioksidanlardır.

Yağlı tohum türü çerezlerden olan kabak çekirdeklerinden soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağların toplam antioksidan kapasiteleri, gallik asit cinsinden (mg GAE/kg yağ) **Çizelge 4.3**'de yer almaktadır. Toplam antioksidan kapasite değerleri, 695 nm de tespit edilen absorbans değerlerinin, **Şekil 4.3**'de yer alan kalibrasyon grafiği denkleminde yerine konulması ile hesaplanmıştır.



**Şekil 4. 2** Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait toplam antioksidan kapasite tayin kalibrasyon grafiği

**Çizelge 4.3'**de belirtildiği üzere toplam antioksidan kapasite değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $277.780 \pm 11.200$  mg GAE/kg yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı için  $388.890 \pm 14.100$  mg GAE/kg yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı için  $266.670 \pm 9.700$  mg GAE/kg yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için  $311.110 \pm 10.300$  mg GAE/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Elde edilen verilerden görüleceği üzere,  $388.890 \pm 14.100$  mg GAE/kg yağ toplam antioksidan kapasite ile Çumra kabak çekirdeği yağı en yüksek antioksidan madde içeriğine sahip tür iken,  $266.670 \pm 9.700$  mg GAE/kg yağ toplam antioksidan kapasite ile İçeri çumra kabak çekirdeği yağı en düşük antioksidan madde içeriğine sahip yağ türüdür. Analiz edilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının toplam antioksidan madde kapasite değerleri ile, daha önceki kısımlarda yer alan fenolik madde içeriği ve DPPH testi verilerinin paralellik gösterdikleri açıkça görülmektedir.

Gıda maddelerinde bulunan doğal antioksidan maddelerin tür ve miktarları, gıda maddesinin elde edildiği hammaddenin tür ve çeşit farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi, ürünün yetiştirildiği bölge, depolama koşulları, olgunlaşma aşamaları, toplama zamanı, yetiştirme şartları ile de ilgili olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, herhangi bir ısı işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile üretilen ve avrupa farmakopesi monograflarında yer almayan bu türlerin, toplam antioksidan madde içeriği bakımından oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri kanaatine varılmıştır.

### 4.1.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) Analizleri

#### 4.1.3.1. Tokoferol – tokotrienol tayini

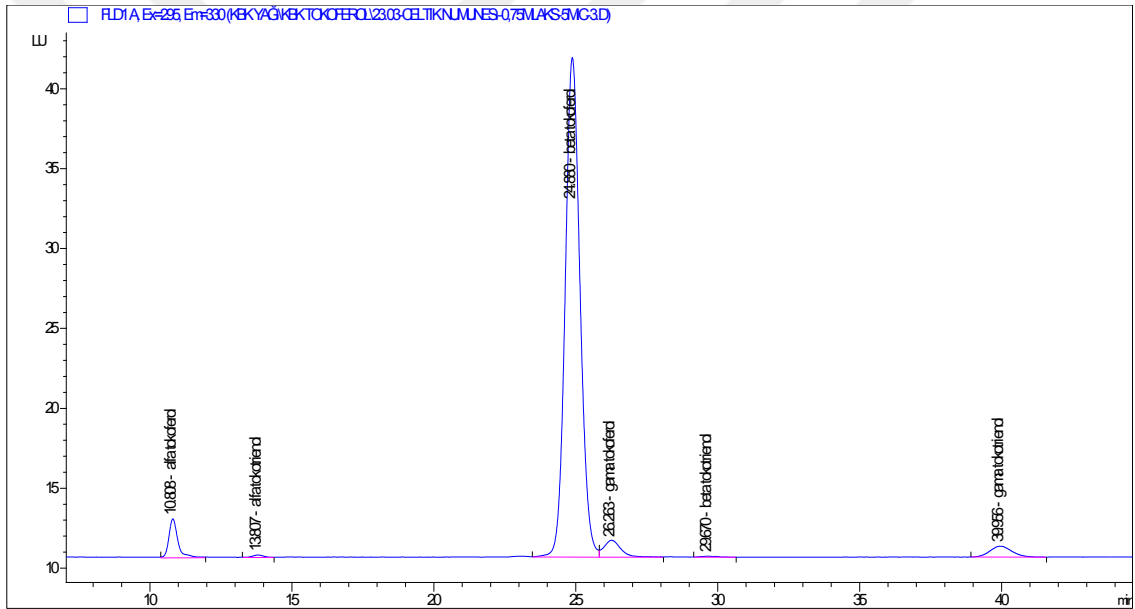
Tokoller (tokoferol & tokotrienoller), bitkisel kaynaklı yağlarda mevcut antioksidanların ve vitaminlerin sentezleyicisi olan doğal bileşenler olarak tanımlanmaktadır. Bu doğal antioksidanlar, hidroperoksitleri ve diğer serbest radikalleri stabil hale getirerek, yada kendileri oksitlenerek yağ içerisindeki diğer bileşenlerin oksidasyona maruz kalmasını önlemektedir. Tokoller, yağların oksidasyonunun ilk aşamalarında oksidasyon reaksiyonlarına karşı gösterdikleri etki bakımından fenolik bileşiklerle yarış halindedir (Berien, 2004; Gunstone, 2008; Arslan, 2015).

Yağlarda doğal antioksidan madde olarak tanımlanan tokoller, metil tokoferoller ve metil tokotrienoller olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Tokoferol ve tokotrienol bileşenlerinin her ikisinin de, alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ) ve sigma ( $\delta$ ) olmak üzere dörder adet izomer yapısı bulunmaktadır. Tokoferol molekülleri doymuş zincir yapısına sahipken, tokotrienoller doymamış zincir yapısına sahip moleküllerdir ve bu iki grubun temel farklılığı, tokotrienol molekülündeki 3'-4', 7'-8' ve 11'-12' karbonlar arasındaki çift bağların varlığıdır. Bu yapılardan alfa izomerinin biyolojik olarak en aktif tür olduğu, gama izomerinin ise en iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Sikorski ve ark., 2003; Psomiadou ve ark., 2000).

Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numunelerinde mevcut  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferol ve tokotrienol türlerinin kalitatif ve kantitatif tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, tarafımızdan optimize edilip geliştirilen NP-HPLC/FLD tekniği ile gerçekleştirilmiştir. HPLC analiz sisteminden elde edilen kromatogramlar, **Şekil 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7**'de, analizler sonucu herbir tokol türüne ait veriler ise **Çizelge 4.4** 'de yer almaktadır. Kromatografik analizlerde standart madde olarak, ticari  $\alpha$ -T,  $\beta$ -T,  $\gamma$ -T ve  $\delta$ -T (T=tokoferol) ve  $\alpha$ -TT,  $\beta$ -TT,  $\gamma$ -TT ve  $\delta$ -TT (TT=tokotrienol) standartları kullanılmıştır. Kullanılan bu standartlar yardımıyla tokol türlerinin kalitatif ve kantitatif tayinleri gerçekleştirilmiştir. Tarafımızdan üretilen soğuk pres kabak çekirdeği yağlarının, tokol türlerinin ve miktarlarının tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler ve değerlendirmeleri, her bir yağ türü için ilgili başlıklar altında detaylı bir şekilde yer almaktadır.

▪ **Celtik kabak çekirdeği yağı tokol ( tokoferol-tokotrienol) tayini verileri:**

Elde edilen veriler incelendiğinde, Çeltik kabak çekirdeği numunesinde mg /kg yağ cinsinden toplam tokol madde miktarı  $964.480 \pm 5.290$  mg/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Her bir tokol türü için tespit edilen veriler ise, **Çizelge 4.4**'de belirtildiği üzere,  $39.550 \pm 1.190$   $\alpha$ -T mg/kg yağ,  $858.810 \pm 7.070$   $\beta$ -T mg/kg yağ,  $32.260 \pm 1.120$   $\gamma$ -T mg/kg yağ,  $3.530 \pm 1.040$   $\alpha$ -TT mg/kg yağ,  $2.090 \pm 0.210$   $\beta$ -TT mg/kg yağ ve  $28.230 \pm 0.710$   $\gamma$ -TT mg/kg yağ şeklindedir. Diğer kabak çekirdeği yağları ile benzerlik göstermekle birlikte,  $\beta$ -T türünün en yüksek miktardaki tokol bileşeni olduğu belirlenmiştir.  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri ise çeltik kabak çekirdeği yağında tespit edilememiştir.

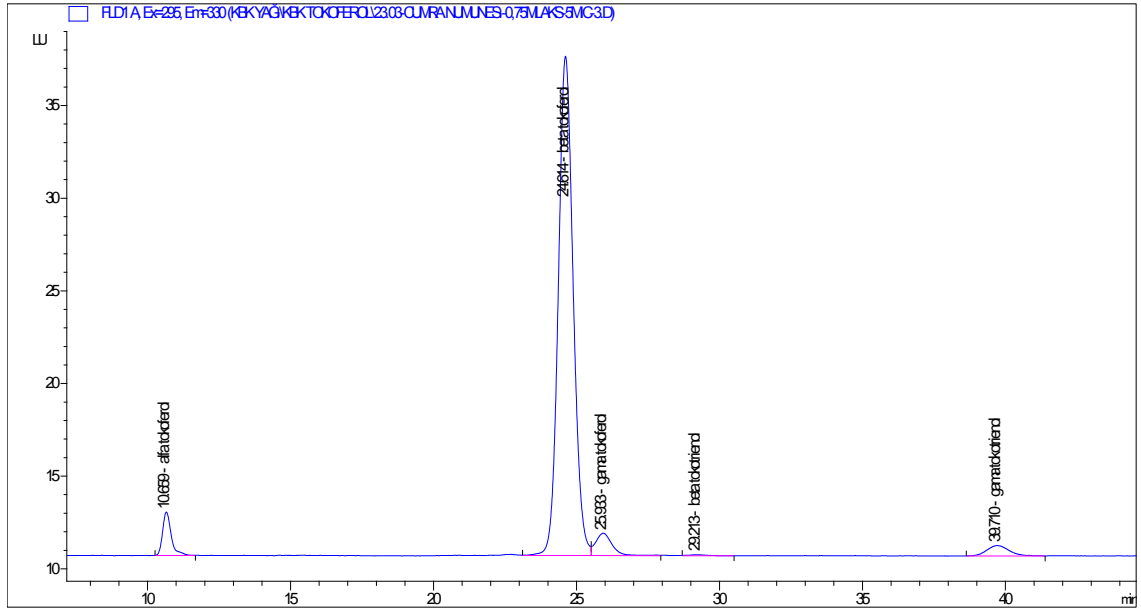


**Şekil 4. 3** Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine ( tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı

**Şekil 4.4**'de yer alan kromatogramdan görüleceği üzere, tokol türlerinin alıkonma süreleri (tR)  $\alpha$ -T için 10.808 dk,  $\alpha$ -TT için 13.807 dk,  $\beta$ -T için 24.808 dk,  $\gamma$ -T için 26.263 dk,  $\beta$ -T için 29.670 dk ve  $\gamma$ -T için 39.956 dk şeklinde tespit edilmiştir. NP-HPLC/FLD tekniğinde tokol türlerinin alıkonma süreleri,  $\alpha$ -T <  $\alpha$ -TT <  $\beta$ -T <  $\beta$ -TT <  $\gamma$ -T <  $\gamma$ -TT <  $\delta$ -T <  $\delta$ -TT şeklindedir.

#### **Çumra kabak çekirdeği yağı tokol (tokoferol-tokotrienol) tayini verileri:**

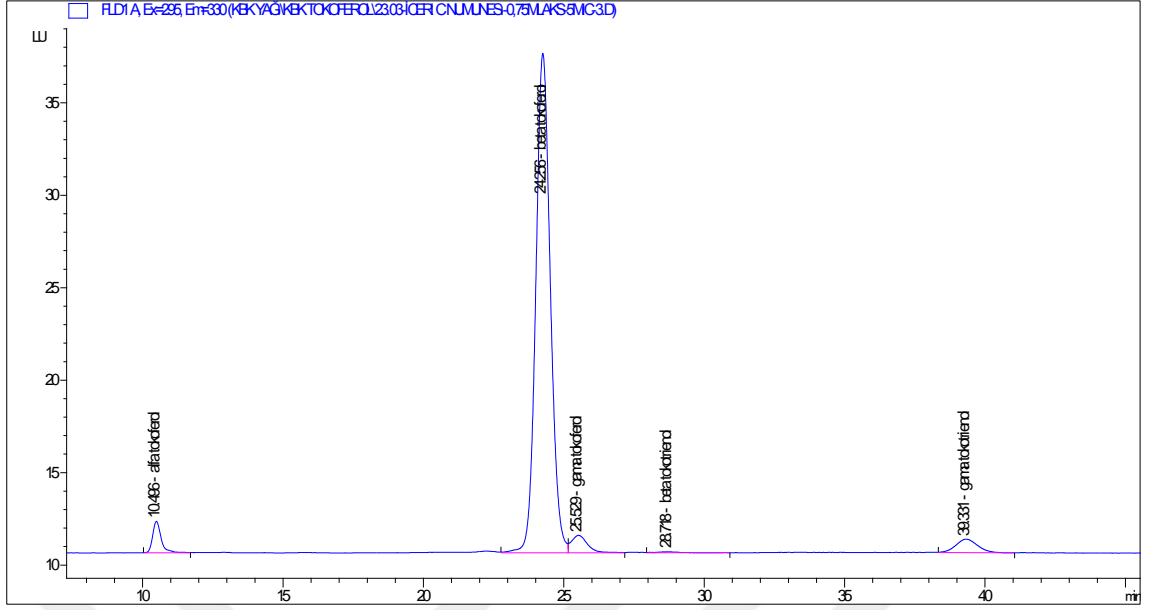
Elde edilen veriler incelendiğinde, Çumra kabak çekirdeği numunesinde mg /kg yağ cinsinden toplam tokol madde miktarı  $977.930 \pm 7.610$  mg/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Her bir tokol türü için tespit edilen veriler ise, **Çizelge 4.4**'de belirtildiği üzere,  $43.930 \pm 0.420$   $\alpha$ -T mg/kg yağ,  $862.310 \pm 8.700$   $\beta$ -T mg/kg yağ,  $42.690 \pm 1.090$   $\gamma$ -T mg/kg yağ,  $2.140 \pm 0.470$   $\beta$ -TT mg/kg yağ ve  $26.850 \pm 0.310$   $\gamma$ -TT mg/kg yağ şeklindedir. Diğer kabak çekirdeği yağları ile benzerlik göstermekle birlikte,  $\beta$ -T türünün en yüksek miktardaki tokol bileşeni olduğu belirlenmiştir.  $\alpha$ -TT,  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri ise çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilememiştir.



**Şekil 4. 4** Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı

#### **İçeri çumra kabak çekirdeği yağı tokol (tokoferol-tokotrienol) tayini verileri:**

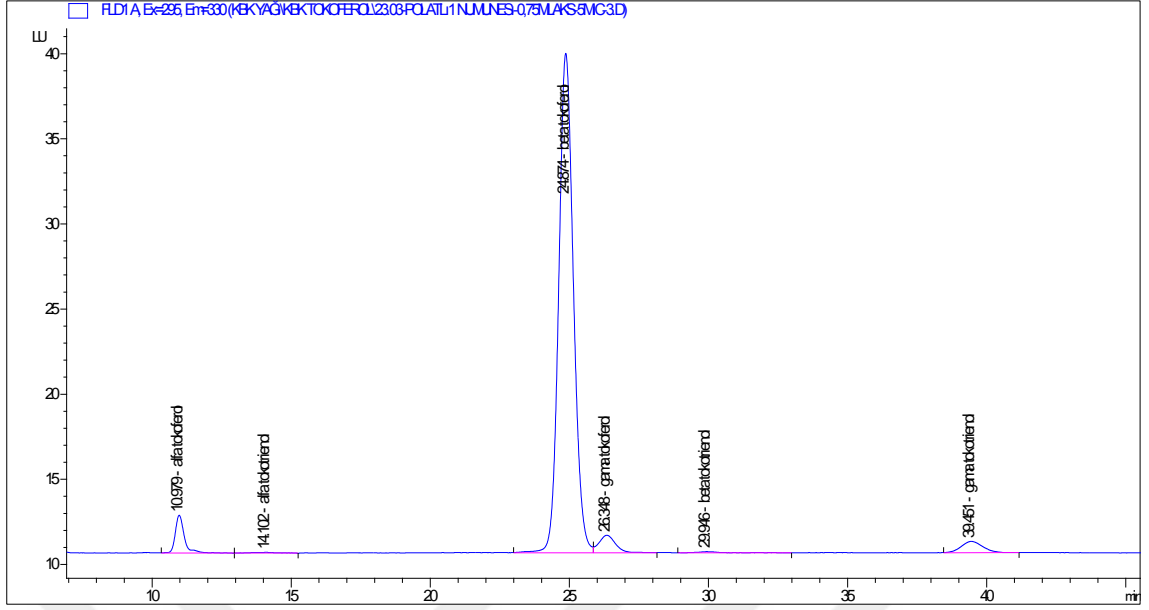
Elde edilen veriler incelendiğinde, İçeri çumra kabak çekirdeği numunesinde mg /kg yağ cinsinden toplam tokol madde miktarı  $942.920 \pm 3.360$  mg/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Her bir tokol türü için tespit edilen veriler ise, **Çizelge 4.4**'de belirtildiği üzere,  $36.640 \pm 0.310$   $\alpha$ -T mg/kg yağ,  $830.040 \pm 3.820$   $\beta$ -T mg/kg yağ,  $34.270 \pm 0.200$   $\gamma$ -T mg/kg yağ,  $7.770 \pm 0.180$   $\beta$ -TT mg/kg yağ ve  $34.210 \pm 0.480$   $\gamma$ -TT mg/kg yağ şeklindedir. Diğer kabak çekirdeği yağlarında olduğu gibi  $\beta$ -T türünün, en yüksek miktardaki tokol bileşeni olduğu belirlenmiştir.  $\alpha$ -TT,  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri ise içeri çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilememiştir.



**Şekil 4. 5** İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı

#### **Polatlı kabak çekirdeği yağı tokol (tokoferol-tokotrienol) tayini verileri:**

Elde edilen veriler incelendiğinde, Polatlı kabak çekirdeği numunesinde mg /kg yağ cinsinden toplam tokol madde miktarı  $964.370 \pm 1.570$  mg/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir. Her bir tokol türü için tespit edilen veriler ise, **Çizelge 4.4**'de belirtildiği üzere,  $40.690 \pm 0.230$   $\alpha$ -T mg/kg yağ,  $853.530 \pm 2.160$   $\beta$ -T mg/kg yağ,  $34.370 \pm 0.060$   $\gamma$ -T mg/kg yağ,  $4.270 \pm 0.390$   $\alpha$ -TT mg/kg yağ,  $2.680 \pm 0.05$   $\beta$ -TT mg/kg yağ ve  $28.840 \pm 0.06$   $\gamma$ -TT mg/kg yağ şeklindedir. Diğer kabak çekirdeği yağları ile benzerlik göstermekle birlikte,  $\beta$ -T türünün en yüksek miktardaki tokol bileşeni olduğu belirlenmiştir.  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri ise polatlı kabak çekirdeği yağında tespit edilememiştir.



**Şekil 4. 6** Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi tokol tayinine (tokoferol ve tokotrienol) ait analiz kromatogramı

Elde edilen tokol tayini verileri için genel bir değerlendirme yapıldığında, toplam tokol madde içeriği bakımından  $977.930 \pm 7.610$  mg/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek içeriğe sahip olduğu,  $942.920 \pm 3.360$  mg/kg yağ tokol içeriği ile İçeri çumra kabak çekirdeği yağının ise diğer yağlara kıyasla daha düşük tokol içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Kabak çekirdeği yağlarının tümünde,  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri tespit edilememiştir. En iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen  $\gamma$ -T türünün  $42.690 \pm 1.090$  mg/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağında en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tokol izomerlerinin yağ türleri için gösterdiği bu farklılıktan yararlanarak, yağlardaki taşışın varlığı kolaylıkla tespit edilebilmektedir.

**Çizelge 4. 4** Soğuk pres kabak çekirdeği yağı numunelerine ait tokol madde (tokoferol ve tokotrienol) tayin sonuçları (mg/ kg yağ)

<b>Tokol (tokoferol ve tokotrienol) izomer kompozisyonu verileri ortalama <math>\pm</math>SD (mg/ kg yağ)</b>									
	<i><math>\alpha</math>-T*</i>	<i><math>\beta</math>-T</i>	<i><math>\gamma</math>-T</i>	<i><math>\delta</math>-T</i>	<i><math>\alpha</math>-TT**</i>	<i><math>\beta</math>-TT</i>	<i><math>\gamma</math>-TT</i>	<i><math>\delta</math>-TT</i>	<b>Toplamtokol miktarı</b>
<b>Numune -1</b> Çeltik kabak çekirdeği yağı	39.550 $\pm$ 1.190	858.810 $\pm$ 7.070	32.260 $\pm$ 1.120	nd	3.530 $\pm$ 1.040	2.090 $\pm$ 0.210	28.230 $\pm$ 0.710	nd	<b>964.480 <math>\pm</math>5.290</b>
<b>Numune -2</b> Çumra kabak çekirdeği yağı	43.930 $\pm$ 0.420	862.310 $\pm$ 8.700	42.690 $\pm$ 1.090	nd	nd	2.140 $\pm$ 0.470	26.850 $\pm$ 0.310	nd	<b>977.930 <math>\pm</math>7.610</b>
<b>Numune -3</b> İçeri Çumra kabak çekirdeği yağı	36.640 $\pm$ 0.310	830.040 $\pm$ 3.820	34.270 $\pm$ 0.200	nd	nd	7.770 $\pm$ 0.180	34.210 $\pm$ 0.480	nd	<b>942.920 <math>\pm</math>3.360</b>
<b>Numune -4</b> Polatlı kabak çekirdeği yağı	40.690 $\pm$ 0.230	853.530 $\pm$ 2.160	34.370 $\pm$ 0.060	nd	4.270 $\pm$ 0.390	2.680 $\pm$ 0.050	28.840 $\pm$ 0.060	nd	<b>964.370 <math>\pm</math>1.570</b>

\* T, Tokoferol. \*\*TT, Tokotrienol



#### 4.1.3.2. Trigliserit tayini

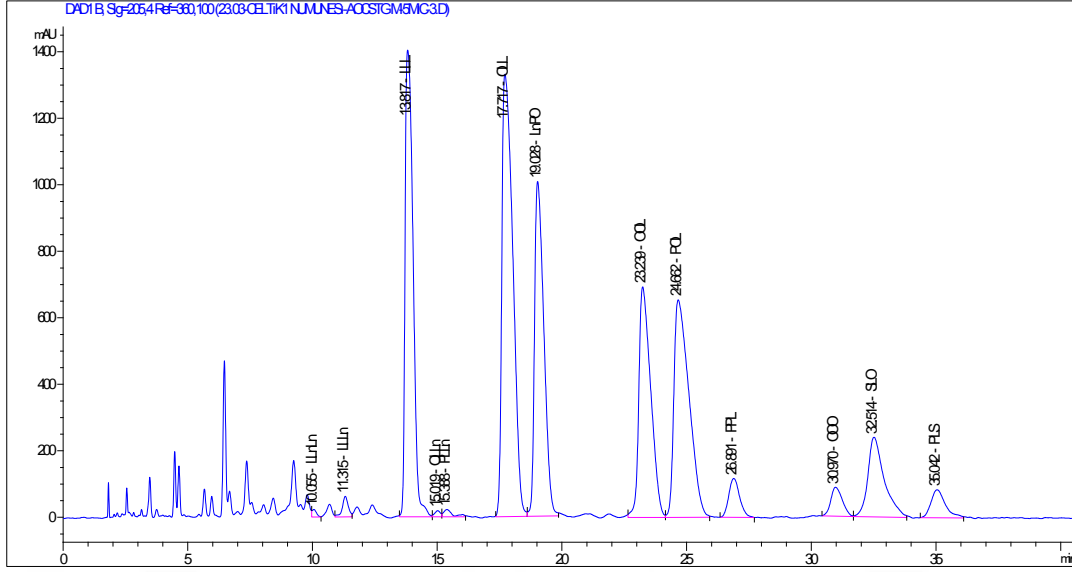
Trigliseritler, yapısında yer alan yağ asitlerinin türü ve gliserine bağlı bulunduğu pozisyonlar ile yağların kimyasal ve fiziksel karakteristiklerini belirleyen ve yağın temel bileşenleri olan yapılar olarak tanımlanmaktadır. Temel bileşen olan trigliseritler enerji verici ve depo edilebilen bileşenlerdir. Yağ asitlerinin gliserin üzerindeki yer değişimleri farklı trigliserit yapılarının oluşumuna neden olmaktadır. Yağ asitlerinin bu dağılımı rastgele olmamakla birlikte, yağın karakteristik özelliğini de değiştirmektedir. Doğal trigliseritlerde rastlanan yağ asitlerinin zincir uzunlukları 3 ila 22 karbon atomu uzunluğu arasında değişebilmekle beraber bitkisel kaynaklı yağlarda 16 ve 18 çift karbon sayısı en yaygın zincir uzunluğudur.

Trigliserit tayini yağların karakterizasyonu için yürütülen en önemli analizlerden birisi olarak kabul edilmektedir. Trigliserit türlerinin tayini, tohum yağı veya diğer bitkisel yağ türlerinin taşıdığı saptanması amacıyla yapılan analizlerdir. Soğuk pres kabak çekirdeği yağ numunelerinde mevcut trigliserit türlerinin kalitatif ve kantitatif tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler, standart AOCS Ce 5b-89 metoduna göre gerçekleştirilmiştir (AOCS 1998). RP-HPLC/DAD tekniği ile yürütülen analizlerden elde edilen kromatogramlar, **Şekil 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11**'de, analizler sonucu her bir trigliserit türüne ait veriler ise **Çizelge 4.5** 'de yer almaktadır.

Trigliserit türlerinin ve miktarlarının tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler ve değerlendirmeleri, her bir yağ türü için ilgili başlıklar altında detaylı bir şekilde yer almaktadır.

##### ▪ **Çeltik kabak çekirdeği yağı trigliserit tayini verileri:**

Elde edilen veriler incelendiğinde, Çeltik kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel trigliserit yapılar, LLL (linoleik, linoleik, linoleik)(%18.168), OLL (oleik, linoleik, linoleik) (%23.703), LnPO (linolenik, palmitik, oleik)(%15.321), OOL (oleik, oleik, linoleik)(%13.415) ve POL (palmitik, oleik, linoleik)(%16.078)trigliserit yapılarıdır. Bunların yanında düşük oranlarda LLnLn, LLLn, OLLn, PLLn, PPL, OOO, SLO ve PLS trigliserit yapıları tespit edilmiştir.

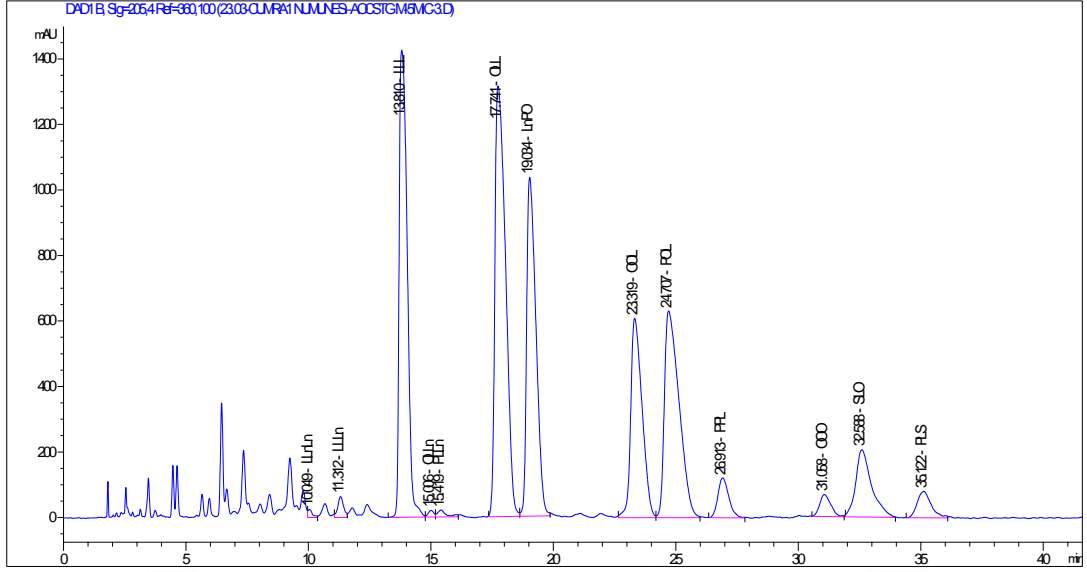


Şekil 4. 7 Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

Şekil 4.8'de yer alan kromatogramdan görüleceği üzere, trigliserit türlerinin alıkonma süreleri  $LLnLn < LLLn < LLL < OLLn < PLLn < OLL < LnPO < OOL < POL < PPL < OOO < SLO < PLS$  şeklinde tespit edilmiştir.

▪ **Çumra kabak çekirdeği yağı trigliserit tayini verileri:**

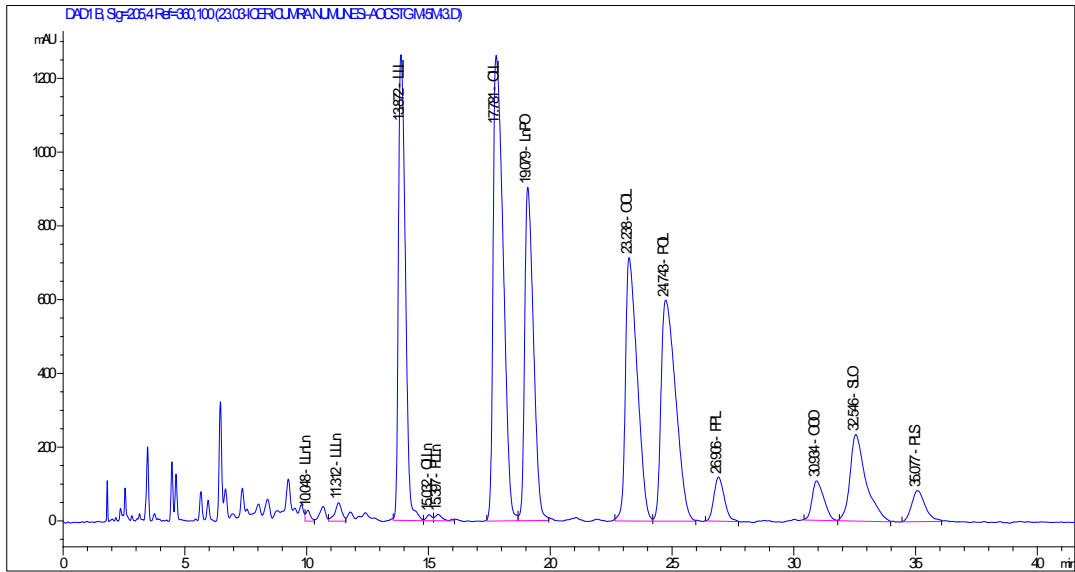
Elde edilen veriler incelendiğinde, Çumra kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel trigliserit yapılar, LLL (linoleik, linoleik, linoleik) (%19.553), OLL (oleik, linoleik, linoleik) (%23.895), LnPO (linolenik, palmitik, oleik) (%16.483), OOL (oleik, oleik, linoleik) (%11.824) ve POL (palmitik, oleik, linoleik) (%15.842) trigliserit yapılarıdır. Bunların yanında düşük oranlarda LLnLn, LLLn, OLLn, PLLn, PPL, OOO, SLO ve PLS trigliserit yapıları tespit edilmiştir.



Şekil 4. 8 Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

▪ **İçeri çumra kabak çekirdeği yağı trigliserit tayini verileri:**

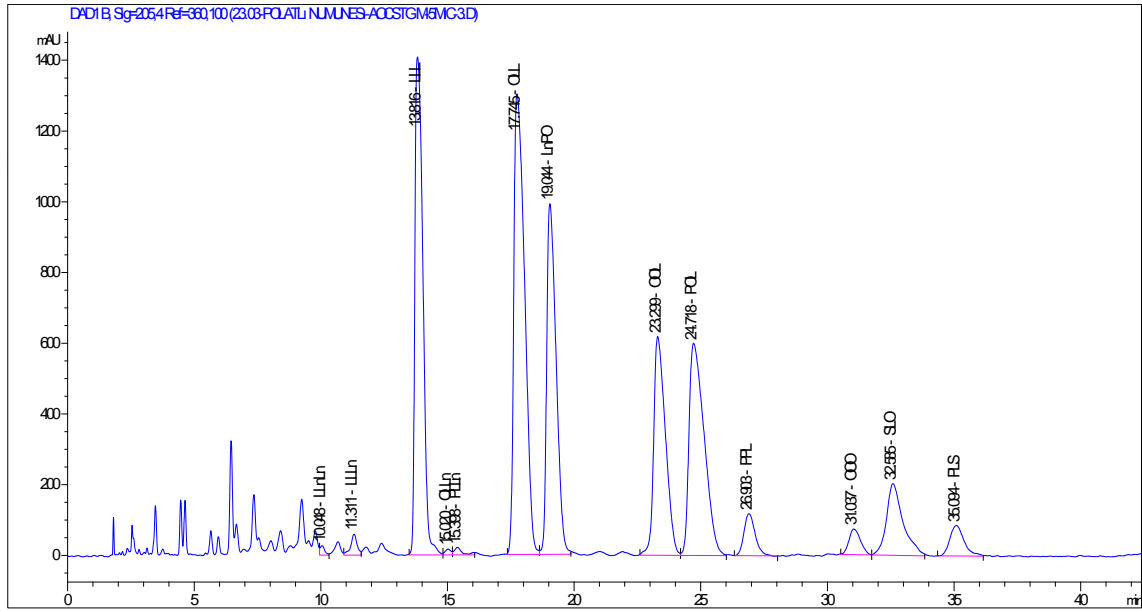
Elde edilen veriler incelendiğinde, İçeri çumra kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel trigliserit yapılar, LLL (linoleik, linoleik, linoleik) (%16.020), OLL (oleik, linoleik, linoleik) (%23.155), LnPO (linolenik, palmitik, oleik) (%14.552), OOL (oleik, oleik, linoleik) (%15.377) ve POL (palmitik, oleik, linoleik) (%16.088) trigliserit yapılarıdır. Bunların yanında düşük oranlarda LLnLn, LLLn, OLLn, PLLn, PPL, OOO, SLO ve PLS trigliserit yapıları tespit edilmiştir.



Şekil 4. 9 İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

▪ **Polatlı kabak çekirdeği yağı trigliserit tayini verileri:**

Elde edilen veriler incelendiğinde, Polatlı kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel trigliserit yapılar, LLL (linoleik, linoleik, linoleik) (%19.269), OLL (oleik, linoleik, linoleik) (%24.022), LnPO (linolenik, palmitik, oleik) (%15.926), OOL (oleik, oleik, linoleik) (%12.411) ve POL (palmitik, oleik, linoleik) (%15.537) trigliserit yapılarıdır. Bunların yanında düşük oranlarda LLnLn, LLLn, OLLn, PLLn, PPL, OOO, SLO ve PLS trigliserit yapıları tespit edilmiştir.



**Şekil 4. 10** Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

Elde edilen trigliserit tayini verileri için genel bir değerlendirme yapıldığında, doymamış yağ asidi içeriği yüksek olan LLL trigliserit yapısı %19.553 değeri ile en yüksek Çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. OLL trigliserit içeriği %24.022 değeri ile en yüksek Polatlı kabak çekirdeği yağında, LnPO trigliserit içeriği %16.483 değeri ile en yüksek Çumra kabak çekirdeği yağında, OOL trigliserit içeriği %15.377 değeri ile en yüksek İçeri çumra kabak çekirdeği yağında, POL trigliserit içeriği ise %16.088 değeri ile en yüksek İçeri çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4. 5** Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarına ait trigliserit kompozisyonu verileri (%)

Trigliserit yapısı (*)	Numune -1 Çeltik kabak çekirdeği yağı	Numune -2 Çumra kabak çekirdeği yağı	Numune -3 İçeri Çum.kabak çekirdeği yağı	Numune -4 Polatlı kabak çekirdeği yağı
LLnLn	0.158 ±0.001	0.187 ±0.001	0.255 ±0.001	0.213 ±0.001
LLLn	0.605 ±0.002	0.640 ±0.003	0.646 ±0.001	0.656 ±0.002
LLL	18.168 ±0.012	19.553 ±0.014	16.020 ±0.10	19.269 ±0.013
OLLn	0.168 ±0.001	0.193 ±0.002	0.161 ±0.003	0.164 ±0.001
PLLn	0.319 ±0.001	0.313 ±0.001	0.239 ±0.001	0.289 ±0.001
OLL	23.703 ±0.013	23.895 ±0.018	23.155 ±0.017	24.022 ±0.016
LnPO	15.321 ±0.011	16.483 ±0.010	14.552 ±0.014	15.926 ±0.012
OOL	13.415 ±0.015	11.824 ±0.012	15.377 ±0.011	12.411 ±0.011
POL	16.078 ±0.012	15.842 ±0.011	16.088 ±0.015	15.537 ±0.013
PPL	2.077 ±0.004	2.277 ±0.007	2.281 ±0.003	2.273 ±0.008
OOO	1.641 ±0.002	1.287 ±0.003	2.290 ±0.005	1.431 ±0.002
SLO	6.390 ±0.006	5.587 ±0.008	6.857 ±0.009	5.726 ±0.004
PLS	1.958 ±0.003	1.919 ±0.002	2.080 ±0.004	2.083 ±0.006

\* P, palmitik asit, St, stearik asit, O,oleik asit, L,linoleik asit, Ln, linolenik asit

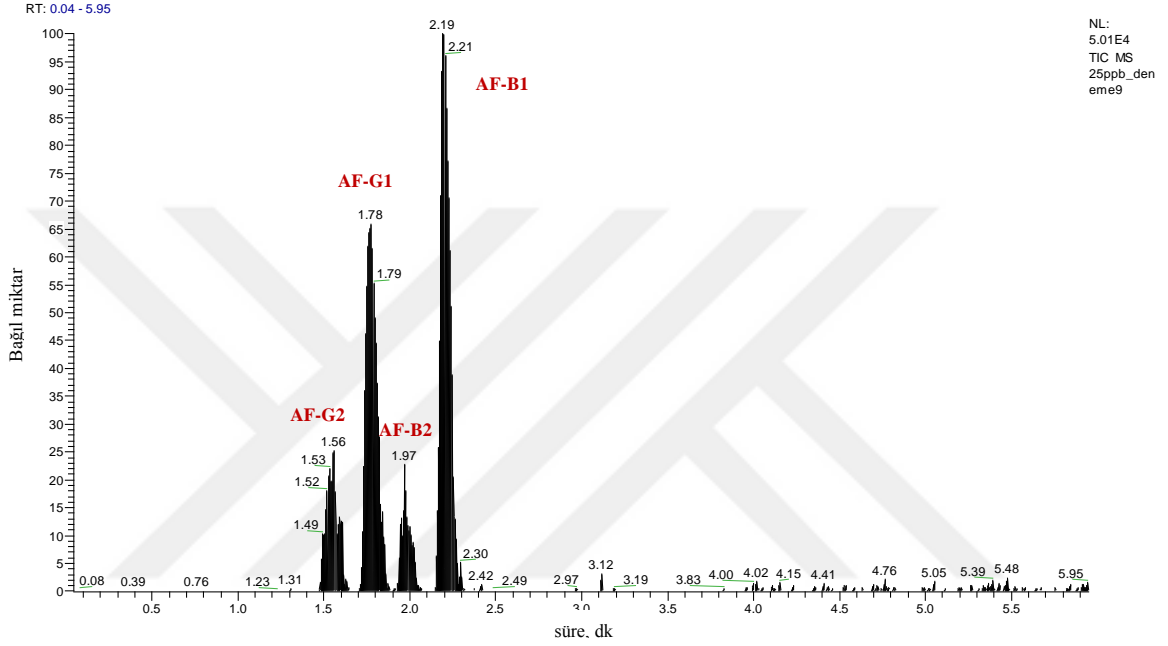
#### 4.1.3.3. Aflatoksin tayini

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* grubu küf mantarları tarafından gıdaların üzerinde yada içinde üretilen, kuvvetli toksik, kanserojenik, mutajenik ve bağışıklık sistemini çökerten ikincil metabolitler olarak tanımlanmaktadır. En çok bilinen ve üzerinde en çok araştırma yapılan mikotoksinler olan aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığına olan zararlı etkilerinden dolayı, soğuk pres yağların elde edildiği tohumlarda ve elde edilen yağda, miktarlarının tespiti büyük önem arz etmektedir.

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen aflatoksin tayini, UHPLC-MS/MS sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Kabak çekirdeği yağında bulunan aflatoksin türlerinin tespiti amacıyla, Shi (2011) tarafından gıdalarda aflatoxin B1, B2, G1 ve G2 türlerinin tespiti için önerilen UHPLC/MS/MS yöntemi, ekstraksiyon prosedüründe ise Yang ve ark. (2011) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır (Şekil 4.12). Şekil 4.12'de yer alan standart madde kromatogramından görüleceği üzere, aflatoksin

türlerinin polarite değerlerindeki farklılık esas alınarak ayrımları gerçekleştirilmiştir. Buna göre, alıkonma süreleri AF-B1>AF-B2>AF-G1>AF-G2 şeklinde tespit edilmiştir.

Shi (2011) tarafından farklı gıda maddelerindeki aflatoksin türlerinin tayini için önerilen UHPLC-MS/MS yöntemi ile yürütülen tayinlerde, analiz edilen kabak çekirdeği yağlarında herhangi bir aflatoksin kalıntısına rastlanmamıştır.



**Şekil 4. 11** 25 ppb konsantrasyon seviyesindeki aflatoksin G2, G1, B2 ve B1 standart karışımına ait GC/MS kromatogramı

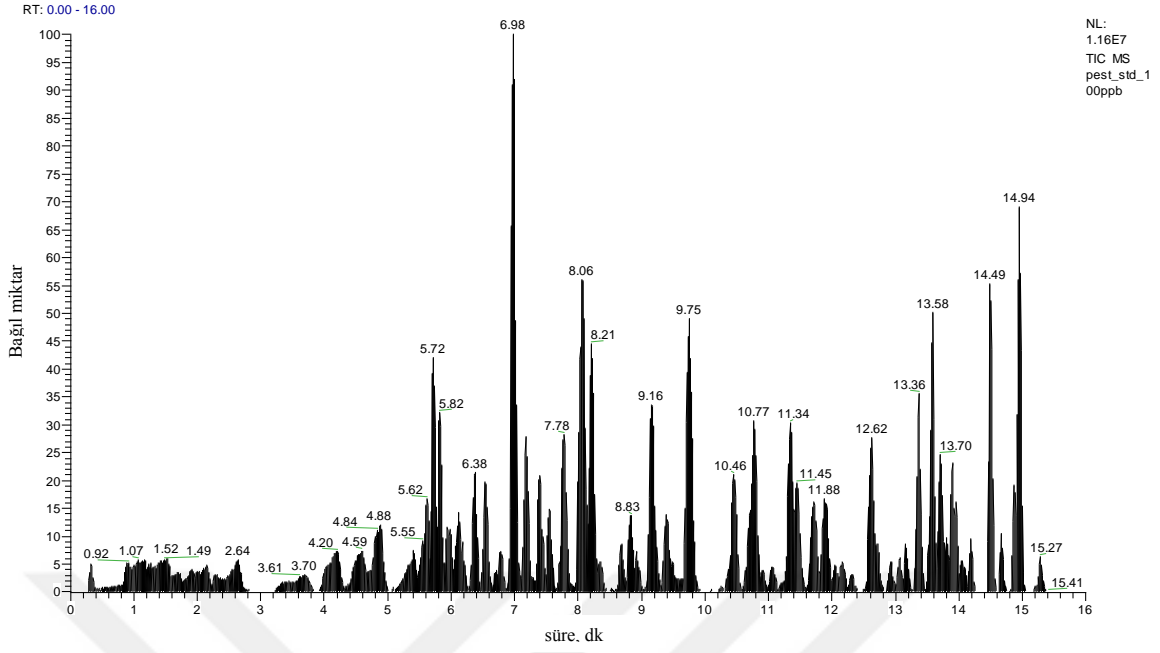
#### 4.1.3.4. Pestisit tayini

Pestisit terimi, zirai mücadele araştırma ve uygulamalarında kullanılan her türlü kimyasal madde ve preparatı tanımlamaktadır. Pestisit tüketiminin aşırı ve bilinçsiz kullanımının artması, çevre kirlenmesi ve insan sağlığı açısından çeşitli sorunların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda tarımsal ve gıda ürünlerinde pestisit kalıntı düzeylerinin araştırılması oldukça önem kazanmıştır.

Pestisitler kanser, doğum anormallikleri, sinir sistem zararları ve uzun dönemde oluşan yan etkilere neden olmaktadır. Pestisitler ve parçalanma ürünleri toksik maddeleri içermektedir. Parçalanma ürünlerinden bazıları ana pestisitten daha toksik ve kalıcı etki gösterebilmektedir. Uygulanan pestisite ve uygulama koşullarına bağlı olarak, çevre kirliliğine neden olmakta, aşırı buharlaşabilen türleri, hava kirliliğine neden olmaktadır. Aşırı kullanımı organizmalarda ilaca karşı direnç oluşturmakta, bu durumda pestisit uygulaması başarısız olabilmektedir. Pestisitler, hedef alınan ve alınmayan zararlıların doğal düşmanlarını ve faydalı organizmaları da öldürerek yeni salgınların oluşmasına neden olmaktadır.

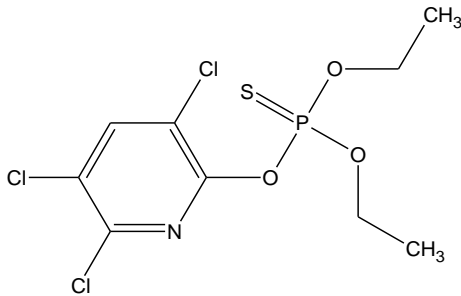
Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen pestisit tayini, yağ numunelerinden AOAC 2007.01-QuEChERS metoduna göre elde edilen ekstraktların, Hypersil Gold C18 kolon (2.1x50 mm, 1.9 µm) ve aynı yöntemde önerilen UHPLC - MS/MS prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Pestisit standart maddelerin karışımı ve Chlorpyrifos pestisit standardı için 0 µg/kg, 10 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 100 µg/kg ve 250 µg/kg konsantrasyon seviyelerinde çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart maddelerden 100 µg/kg konsantrasyon seviyesine sahip karışım çözeltinin, önerilen yöntem ile elde edilen UHPLC-MS/MS kromatogramı **Şekil 4.13**'de yer almaktadır.

Sunulan tez çalışması kapsamında pestisit kalıntı analizi için kullanılan numunelerden, İçeri Çumra kabak çekirdeği yağı haricindeki tüm numunelerde, Chlorpyrifos pestisit türü tespit edilmiştir (**Şekil 4.14**). Tespit edilen Chlorpyrifosun ait kromatogram, Polatlı kabak çekirdeği yağı örneği ile **Şekil 4.15**'de verilmiştir. Chlorpyrifos pestisit türünün kantitatif tayini için ise, UHPLC-MS/MS sisteminde elde edilen kalibrasyon grafiği kullanılmıştır (**Şekil 4.16** ve **Çizelge 4.6**).



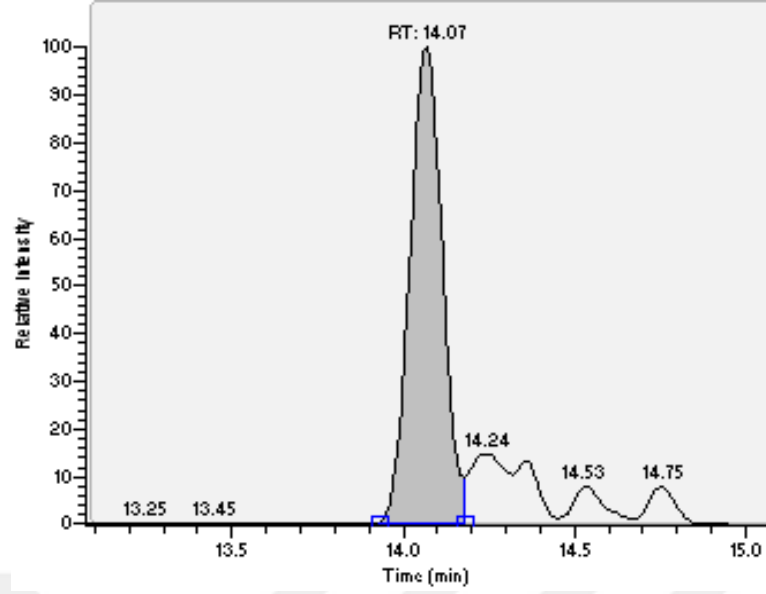
**Şekil 4. 12** 100 ppb konsantrasyon seviyesindeki pestisit standart karışımına ait UHPLC-MS/MS kromatogramı

Chlorpyrifos pestisiti, (*O,O*-diethyl *O*-3,5,6-trichloro-2pyridyl phosphorothioate) (ampirik formülü  $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ ) organik fosforlu pestisit grubunda yer alan, geniş spektrumlu bir pestisittir. Agrosban, korban, Lorsban, Priman, Terpan, Pyrinex, Empire, Pridane, Dowco 179, Paqeant, Scout, Stipend gibi ticari isimlerle de bilinmektedir. Organik fosforlu pestisitlerin heterosiklik alt türevleri grubunda yer alır. Hidrofobik özellikte, suda çözünürlüğü düşük, polar olmayan bir bileşiktir. Tarımda kullanılan pestisitlerin çevre ve kalıntı açısından en uygun kullanım koşulları ve dikkat edilmesi gereken noktalar açısından eksiklikler bulunması nedeniyle, tohum yağlarına geçebilen ve yağda çözünme eğilimi gösteren bir türdür.

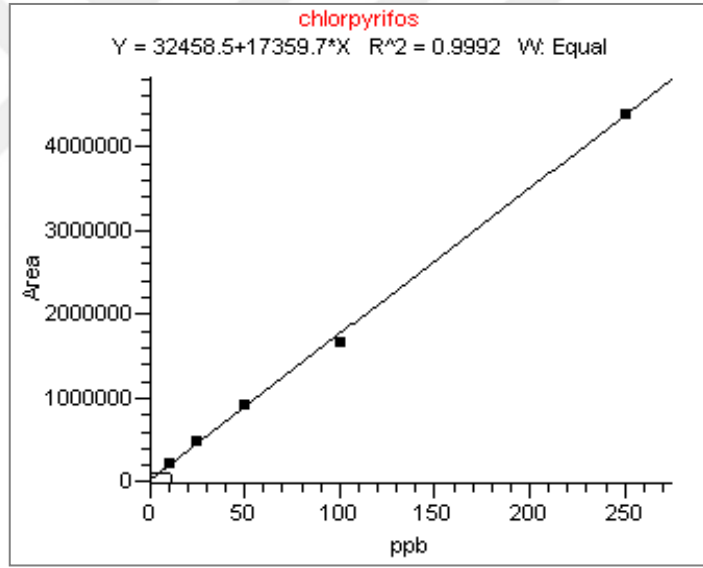


**Şekil 4. 13** Chlorpyrifos pestisitinin kimyasal yapısı





Şekil 4. 14 Polatlı soğuk pres kabak çekirdeği yağında tespit edilen Chlorpyrifos pestisit türüne ait UHPLC-MS/MS kromatogramı



Şekil 4. 15 Soğuk pres kabak çekirdeği yağlarında tespit edilen Chlorpyrifos pestisit türüne ait UHPLC-MS/MS sisteminde elde edilen kalibrasyon grafiği

Çizelge 4. 6 Soğuk pres kabak çekirdeği yağları için pestisit (Chlorpyrifos) tayini verileri

<u>NUMUNE</u>	Numune -1 Çeltik kabak çekirdeği yağı	Numune -2 Çumra kabak çekirdeği yağı	Numune -3 İ. çumra kabak çekirdeği yağı	Numune -4 : Polatlı kabak çekirdeği yağı
Chlorpyrifos miktarı (ppb)	18.050 ±0.470	7.430 ±0.620	nd	12.340 ±0.820

Sonuç olarak analiz edilen kabak çekirdeği yağları için, ppb düzeyinde Chlorpyrifos miktarları, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $18.050 \pm 0.470$  ppb, Çumra kabak çekirdeği yağı için  $7.430 \pm 0.620$  ppb ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için  $12.340 \pm 0.820$  ppb tespit edilmiştir. Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde Chlorpyrifos pestisit türü için maksimum kabul değerı,  $500 \mu\text{g/kg}$  (ppb) şeklinde belirtilmektedir. Yağ numunesinde tespit edilen Chlorpyrifos değerlerinin, kabul edilebilir düzeyde ve TGK limit değerlerinin oldukça altında yer aldığı görölmektedir.



#### 4.1.4. Gaz Kromatografi (GC) Analizleri

##### 4.1.4.1. Yağ asit kompozisyonu tayini

Gaz kromatografisi tekniği ile yağ asitlerinin miktarının ve niteliklerinin belirlenmesi, yağların kalitesi, doymuş, doymamış ya da esansiyel yağ asidi içerikleri hakkında fikir vermesi açısından büyük önem arz etmektedir. Yağ asitlerinin kompozisyonu, bitki türlerine özgü karakteristik farklılıklar göstermektedir. Her yağ bitkisinin kendine özgü yağ asidi kompozisyonu sabit olmayıp, birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yağ asitlerinin nitelik ve nicelikleri, yağların kullanım şeklini belirlemede, dolayısıyla kullanım amaçlarına göre yağ üretimlerinin gerçekleşmesine öncü olmaktadır.

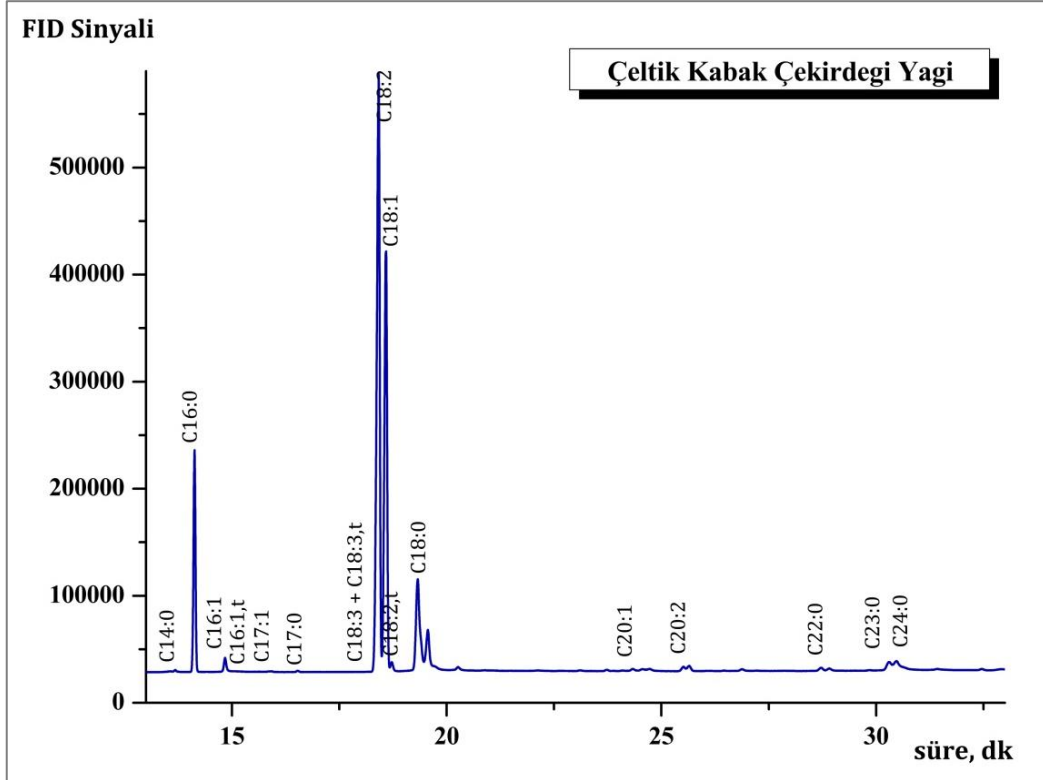
Yağ asit kompozisyonu analizlerinde, trigiliserit yapısında bulunan ve uçucu özellik taşımayan yağ numuneleri, uçuculuklarını artırmak ve polariteyi düşürmek amacıyla analiz öncesinde ester formuna dönüştürülmektedir. Bu nedenle, numuneler üzerinde uygulanan esterleştirme metotları, yağ asitlerinin tayin edilebilirliği açısından oldukça önem taşımaktadır. Yağ asidi metil esterlerinin oluşumu için asit veya alkali katalizörler kullanılabilir. Alkali katalizörler, esterleşme işlemi sonucunda oldukça az atık oluşturması ve trans-trans geometrik izomerlerinin oluşumuna izin vermesi gibi özellikleri sebebiyle asit katalizörlere nazaran daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sunulan bu tez çalışmasında kullanılan kabak çekirdeği yağının, oldukça fazla pozisyonel & geometrik yağ asit izomeri ihtiva etmesi sebebiyle, ön işlem olarak uygulanan esterleştirme basamağı, metanollü KOH çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen yağ asit kompozisyonu tayini, HP-5MS kolon (30 mx0.25 mmx0.25 µm) üzerinde, Gu ve ark. (2011) tarafından önerilen prosedür esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler **Çizelge 4.7** 'de, elde edilen GC kromatogramları ise **Şekil 4.17, 4.18, 4.19** ve **4.20** 'de yer almaktadır.

Yağ asit kompozisyonlarının tespiti amacıyla gerçekleştirilen analizler ve değerlendirmeleri, her bir yağ türü için ilgili başlıklar altında detaylı bir şekilde yer almaktadır.

▪ **Çeltik kabak çekirdeği yağı yağ asit kompozisyon tayini verileri:**

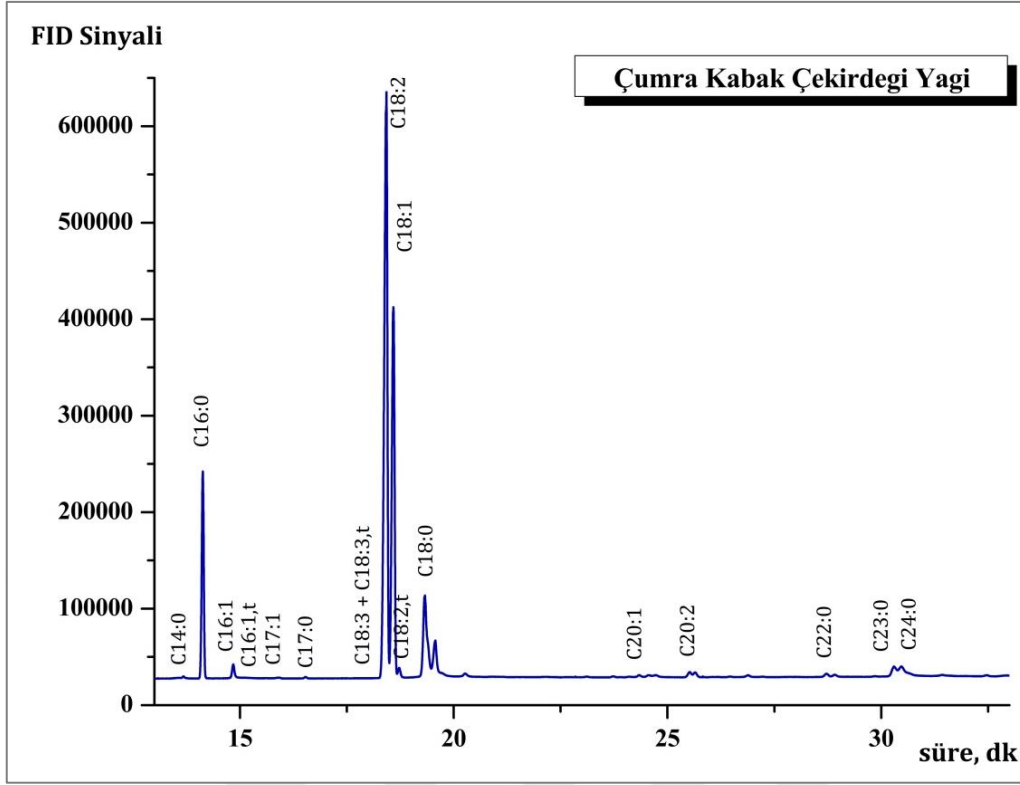
Elde edilen veriler incelendiğinde, Çeltik kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel yağ asidi yapıları, C16:0 (palmitik asit) (%11.950), C18:0 (stearik asit)(%5.260), C18:1<sup>A9</sup> (ω9) (oleik asit, omega-9)(%27.550) ve C 18:2<sup>A9,12</sup> (ω6) (linoleik asit, omega-6) (%53.210) şeklindedir.  $\Sigma$ SFA değeri %17.570,  $\Sigma$ MUFA değeri %27.800,  $\Sigma$ PUFA değeri %53.630, trans yağ asidi değeri ise %0.370 şeklinde tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16 Çeltik kabak çekirdeği yağı numunesine ait yağ asit kompozisyonu analiz kromatogramı

▪ **Çumra kabak çekirdeği yağı yağ asit kompozisyon tayini verileri:**

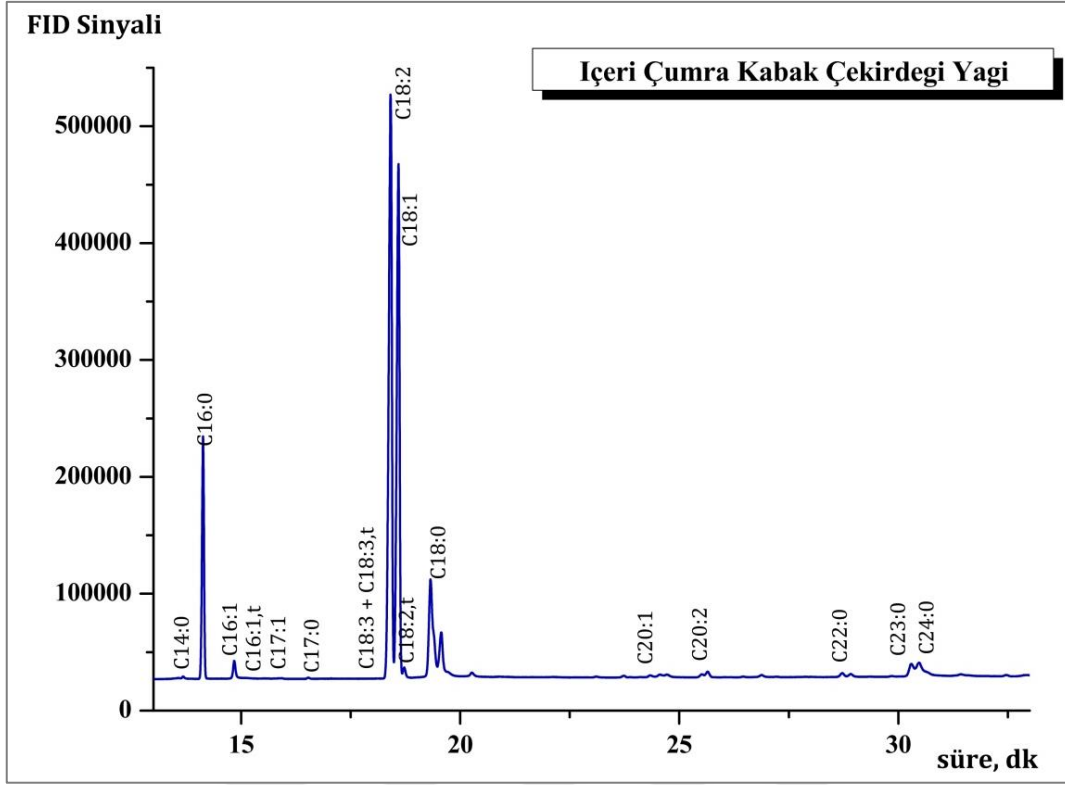
Elde edilen veriler incelendiğinde, Çumra kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel yağ asidi yapıları, C16:0 (palmitik asit) (%11.990), C18:0 (stearik asit)(%5.290), C18:1<sup>A9</sup> (ω9) (oleik asit, omega-9)(%27.590) ve C 18:2<sup>A9,12</sup> (ω6) (linoleik asit, omega-6) (%53.270) şeklindedir.  $\Sigma$ SFA değeri %17.580,  $\Sigma$ MUFA değeri %27.830,  $\Sigma$ PUFA değeri %53.680, trans yağ asidi değeri ise %0.400 şeklinde tespit edilmiştir.



Şekil 4. 17 Çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

▪ **İçeri çumra kabak çekirdeği yağı yağ asit kompozisyon tayini verileri:**

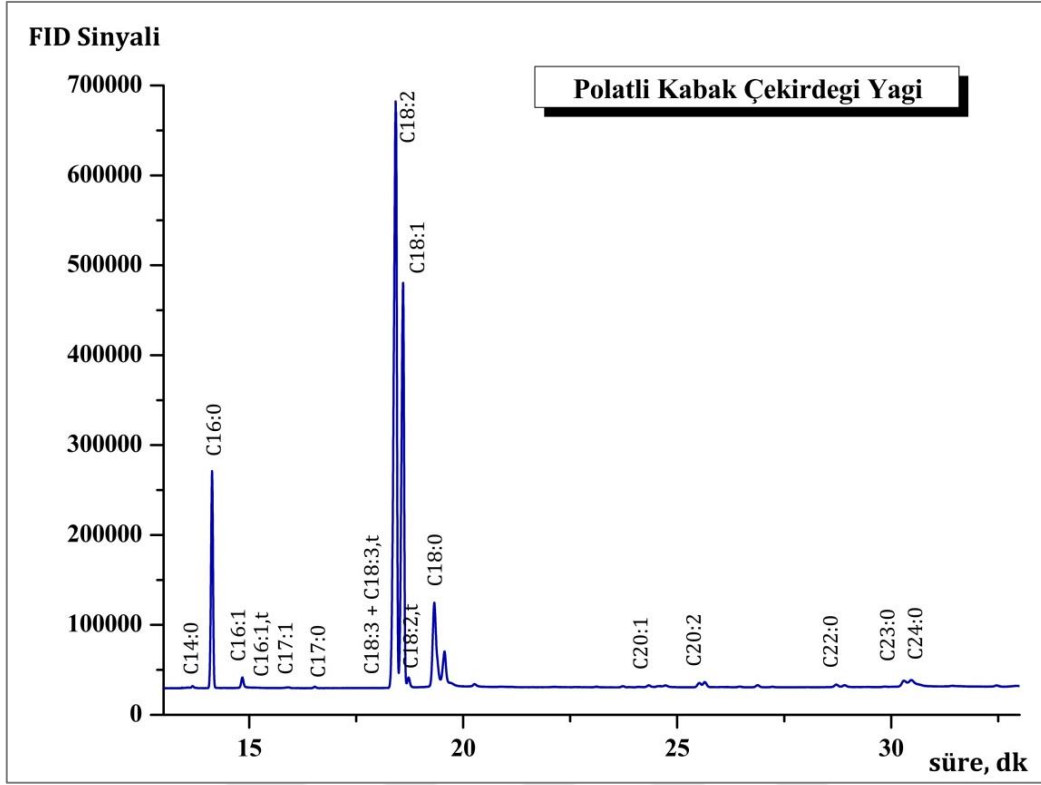
Elde edilen veriler incelendiğinde, İçeri çumra kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel yağ asidi yapıları, C16:0 (palmitik asit) (%11.900), C18:0 (stearik asit)(%5.270), C18:1<sup>Δ9</sup> (ω9) (oleik asit, omega-9)(%27.520) ve C 18:2<sup>Δ9,12</sup> (ω6) (linoleik asit, omega-6) (%53.270) şeklindedir. ΣSFA değeri %17.490, ΣMUFA değeri %27.770, ΣPUFA değeri %53.730, trans yağ asidi değeri ise %0.330 şeklinde tespit edilmiştir.



Şekil 4. 18 İçeri çumra kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

▪ **Polatlı kabak çekirdeği yağı yağ asit kompozisyon tayini verileri:**

Elde edilen veriler incelendiğinde, Polatlı kabak çekirdeği numunesinde tespit edilen temel yağ asidi yapıları, C16:0 (palmitik asit) (%11.970), C18:0 (stearik asit)(%5.280), C18:1<sup>A9</sup> ( $\omega$ 9) (oleik asit, omega-9)(%27.560) ve C 18:2<sup>A9,12</sup> ( $\omega$ 6) (linoleik asit, omega-6) (%53.190) şeklindedir.  $\Sigma$ SFA değeri %17.610,  $\Sigma$ MUFA değeri %27.860,  $\Sigma$ PUFA değeri %53.600 trans yağ asidi değeri ise %0.360 şeklinde tespit edilmiştir.



**Şekil 4. 19** Polatlı kabak çekirdeği yağı numunesi trigliserit tayinine ait analiz kromatogramı

Elde edilen yağ asidi kompozisyonu verileri için genel bir değerlendirme yapıldığında, toplam çoklu doymamış yağ asidi içeriği ( $\Sigma$ PUFA), %53.730 değeri ile en fazla İçeri çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. Toplam tekli doymamış yağ asidi içeriği ( $\Sigma$ MUFA), %27.860 değeri ile en fazla Polatlı kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. Toplam doymamış yağ asidi içeriği yani  $\Sigma$ PUFA+ $\Sigma$ MUFA değeri bakımından ise %81.510 ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Toplam doymuş yağ asidi içeriği ( $\Sigma$ SFA), %17.610 değeri ile en fazla Polatlı kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. Toplam trans yağ asidi içeri bakımından ise %0.400 ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir (**Çizelge 4.7**).

**Çizelge 4. 7** Soğuk pres kabak çekirdeği yağı numunelerine ait yağ asit kompozisyonu verileri

Yağ asidi	<u>Numune -1</u>	<u>Numune -2</u>	<u>Numune -3</u>	<u>Numune -4</u>
	Çeltik kabak çekirdeği yağı	Çumra kabak çekirdeği yağı	İçeri Çum.kabak çekirdeği yağı	Polatlı kabak çekirdeği yağı
14:0	0.080 ±0.002	0.050 ±0.001	0.070 ±0.002	0.060 ±0.002
16:0	11.950 ±0.012	11.990 ±0.011	11.900 ±0.010	11.970 ±0.013
16:1 trans	0.010 ±0.001	0.020 ±0.001	0.010 ±0.001	0.010 ±0.001
16:1	0.110 ±0.002	0.100 ±0.002	0.140±0.003	0.140 ±0.002
17:0	0.040 ±0.001	0.010 ±0.001	0.020 ±0.001	0.030 ±0.001
17:1	0.030 ±0.001	0.040 ±0.002	0.010 ±0.001	0.020 ±0.001
18:0	5.260 ±0.011	5.290 ±0.010	5.270 ±0.012	5.280 ±0.011
18:1 trans	nd	nd	nd	nd
18:1 (ω9)	27.550 ±0.021	27.590 ±0.024	27.520 ±0.023	27.560 ±0.022
18:2 trans	0.010 ±0.001	0.010 ±0.001	0.010 ±0.001	0.010 ±0.001
18:2 (ω6)	53.210 ±0.031	53.250 ±0.035	53.270 ±0.037	53.190 ±0.038
18:3 trans	0.35 ±0.001	0.370 ±0.001	0.310 ±0.001	0.340 ±0.001
20:0	nd	nd	nd	nd
18:3 (ω3)	0.400 ±0.001	0.420 ±0.001	0.440 ±0.002	0.390 ±0.001
20:1	0.110 ±0.002	0.100 ±0.001	0.100 ±0.001	0.140 ±0.003
20:2	0.020 ±0.001	0.010 ±0.001	0.020 ±0.001	0.020 ±0.001
21:0	nd	nd	nd	nd
22:0	0.100 ±0.002	0.130 ±0.003	0.110 ±0.002	0.140 ±0.002
22:1	nd	nd	nd	nd
23:0	0.060 ±0.003	0.040 ±0.001	0.050 ±0.003	0.040 ±0.002
24:0	0.080 ±0.002	0.070 ±0.002	0.070 ±0.003	0.090 ±0.004
ΣSFA*	<b>%17.57</b>	<b>%17.58</b>	<b>%17.49</b>	<b>%17.61</b>
ΣMUFA**	<b>%27.80</b>	<b>%27.83</b>	<b>%27.77</b>	<b>%27.86</b>
Σ PUFA***	<b>%53.63</b>	<b>%53.68</b>	<b>%53.73</b>	<b>%53.60</b>
Trans yağ asitleri	<b>%0.37</b>	<b>%0.40</b>	<b>%0.33</b>	<b>%0.36</b>

\* SFA, Doymuş yağ asidi (saturatedfattyacids),

\*\*MUFA, Tekli doymamış yağ asidi (mono unsaturateddattyacids),

\*\*\*PUFA, Çoklu doymamış yağ asidi (polyunsaturatedfattyacids)

#### 4.1.4.2. Pestisit tayini

Kabak çekirdeği yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen pestisit tayini, UHPLC-MS/MS sisteminin yanı sıra GC/MS sistemi ile de tekrarlanmıştır. Kabak çekirdeği yağ numunelerinden AOAC 2007.01-QuEChERS metoduna göre elde edilen ekstraktların, TRB-5 MS kolon, (30m x 0,25mm x 0,25µm) ve aynı yöntemde önerilen GC/MS prosedürü esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Pestisit standart maddelerin karışımı için 0 µg/kg, 10 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 100 µg/kg ve 250 µg/kg konsantrasyon seviyelerinde çözeltiler hazırlanmış ve kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir.



GC/MS sistemi ile yürütülen pestisit tayinlerinde, analiz edilen kabak çekirdeği yağlarının tümünde herhangi bir pestisit kalıntısına rastlanmamıştır. Bu durum, UHPLC-MS/MS sistemi ve GC/MS sisteminde yürütülen tayin yöntemlerindeki, dedeksiyon ve kantitatif tayin limit değerlerindeki farklılıktan kaynaklandığı kanaatine varılmıştır. Bunun yanında pestisit türlerinin Gaz kromotografisi tayini için MS dedektör yerine en uygun dedektör olan ECD (elektron yakalama dedektör) sistemi ile analiz edildiğinde var olan pestisit türlerinin kolaylıkla dedekte edilebileceği düşünülmektedir.



## 5. SONUÇ

Sunulan yüksek lisans tez çalışması ile, Avrupa farmakopesi monograflarında henüz yer almayan ve Türkiye'nin dört farklı bölgesinden temin edilen kabak çekirdeği tohumlarından, herhangi bir ısı işlem uygulanması ve kimyasal madde kullanımının söz konusu olmadığı soğuk pres metodu ile, yenilebilir özellikte sabit yağlar elde edilmiştir. Çumra, İçeri çumra, Çeltik ve Polatlı bölgelerinden temin edilen, uygun kalitedeki kabak çekirdeği numunelerinde mevcut biyoaktif bileşenlerin, farklı enstrümantal ve klasik analiz yöntemleri kullanılarak kalitatif & kantitatif tayinlerinin gerçekleştirilmesi sağlanmıştır.

Biyoaktif bileşenler bakımından yüksek kalite özelliğindeki kabak çekirdeği yağları üzerinde başlıca, trigliserit tayini, tokol (tokoferol ve tokotrienol) tayini, yağ asit kompozisyonu tayini, serbest yağ asidi tayini, peroksit sayısı tayini, iyot sayısı tayini, sabun miktarı tayini, sabunlaşmayan madde miktarı tayini, sabunlaşma sayısı tayini, pestisit tayini, antioksidan aktivite tayini, aflatoksin tayini ve toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir. Belirtilen tayinlerin yürütülmesinde, resmi kuruluşlar ve farklı araştırmacılar tarafından önerilen metotların yanı sıra, tarafımızdan geliştirilen yöntemler uygulanmıştır. Analizler sonucunda, kesinliği, tekrarlanabilirliği ve doğruluğu daha yüksek sonuçlar elde edilebilmiş ve sonuçlar literatürde yer alan kabak yağı analiz sonuçları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen analiz verilerinin tümünün, Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde iyi kalitedeki natürel & soğuk pres yağlar için yer alan değer aralıklarında oldukları belirlenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçların tümünün, literatürde yer alan ortalama değerler içinde bulunduğu tespit edilmiş, yüzde değerlerdeki farklılıkların kabak çekirdeklerinin yetiştiği coğrafi alan, iklim koşulları farklılıkları gibi faktörlerden kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.

Biyoaktif bileşenlerin kalitatif ve kantitatif tayinlerine yönelik yürütülen analiz sonuçları genel hatlarıyla özetlenecek olursa,

▪ **Toplam fenolik madde içeriği**, Antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları içeriği hakkında fikir vermesi açısından önem arz eden fenolik madde içeriği bakımından, analiz edilen tüm yağların oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde içerikleri, Çeltik kabak çekirdeği

yağı için  $43.160 \pm 0.900$  mg GAE/kg yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı için  $58.160 \pm 1.500$  mg GAE/kg yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı için  $39.570 \pm 1.300$  mg GAE/kg yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için  $43.200 \pm 1.200$  mg GAE/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir.

▪ **Serbest radikal yakalama aktivitesi**, Kabak çekirdeği yağındaki antioksidan maddelerin, DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme kapasitelerinin, 517 nm'de ölçülen absorbanstaki düşüşle tayin edildiği yöntem ile, en yüksek DPPH giderim aktivitesine  $73.500 \pm 1.500$  mg GAE/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağının, en düşük DPPH giderim aktivitesine ise  $57.020 \pm 1.300$  mg GAE/kg yağ değeri ile Çeltik kabak çekirdeği yağının sahip olduğu tespit edilmiştir.

▪ **Toplam antioksidan kapasitesi**, Molibden (VI)'nın ortama konan indirgeyici ajan tarafından molibden (V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin, spektrofotometrik olarak 695 nm'de ölçümü esasına dayanan tayin sonucunda, analiz edilen tüm yağların oldukça yüksek kalitede yağ özelliği gösterdikleri tespit edilmiştir. Toplam antioksidan madde kapasite değerleri ile, daha önceki kısımlarda yer alan fenolik madde içeriği ve DPPH testi verilerinin paralellik gösterdikleri gözlemlenmiştir. Toplam antioksidan kapasite değerleri, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $277.780 \pm 11.200$  mg GAE/kg yağ, Çumra kabak çekirdeği yağı için  $388.890 \pm 14.100$  mg GAE/kg yağ, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı için  $266.670 \pm 9.700$  mg GAE/kg yağ ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için  $311.110 \pm 10.300$  mg GAE/kg yağ şeklinde tespit edilmiştir.

▪ **Tokoferol-tokotrienol içeriği**, Bitkisel kaynaklı yağlarda mevcut antioksidanların ve vitaminlerin sentezleyicisi olan doğal bileşenler olarak tanımlan tokollerin (tokoferol ve tokotrienoller) tayini için gerçekleştirilen analizler sonucunda, toplam tokol madde içeriği bakımından  $977.930 \pm 7.60$  mg/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek içeriğe sahip olduğu,  $942.920 \pm 3.360$  mg/kg yağ tokol içeriği ile İçeri çumra kabak çekirdeği yağının ise diğer yağlara kıyasla daha düşük tokol içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Kabak çekirdeği yağlarının tümünde,  $\delta$ -T ve  $\delta$ -TT türü tokol bileşenleri tespit edilememiştir. En yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen  $\gamma$ -T türünün ise  $42.690 \pm 1.090$  mg/kg yağ değeri ile Çumra kabak çekirdeği yağında en yüksek olduğu tespit edilmiştir.

▪ **Trigliserit içeriği**, Bitkisel kaynaklı yağların kimyasal ve fiziksel karakteristiklerini belirleyen ve yağın temel bileşenleri olarak tanımlan trigliserit yapıları, kabak çekirdeği yağlarının tümü için belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen veriler, doymamış yağ asidi içeriği yüksek olan LLL trigliserit yapısı %19.553 değeri ile en yüksek Çumra kabak çekirdeği yağında bulunduğunu göstermiştir. OLL trigliserit içeriği %24.022 değeri ile en yüksek Polatlı kabak çekirdeği yağında, LnPO trigliserit içeriği %16.483 değeri ile en yüksek Çumra kabak çekirdeği yağında, OOL trigliserit içeriği %15.377 değeri ile en yüksek İçeri çumra kabak çekirdeği yağında, POL trigliserit içeriği ise %16.088 değeri ile en yüksek İçeri çumra kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir.

▪ **Yağ asit kompozisyonu**, Yağ asitlerinin miktarının ve niteliklerinin belirlenmesi, yağların kalitesi, doymuş, doymamış yada esansiyel yağ asidi içerikleri hakkında fikir vermesi açısından önem arz eden yağ asit kompozisyon analizleri sonucunda, toplam doymamış yağ asidi içeriği yani  $\sum\text{PUFA}+\sum\text{MUFA}$  değeri bakımından kabak çekirdeği yağının oldukça zengin ve değerli bir yağ olduğu kanaatine varılmıştır. Toplam çoklu doymamış yağ asidi içeriği ( $\sum\text{PUFA}$ ), %53.730 değeri ile en fazla İçeri çumra kabak çekirdeği yağında, toplam tekli doymamış yağ asidi içeriği ( $\sum\text{MUFA}$ ) ise, %27.860 değeri ile en fazla Polatlı kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. Toplam doymamış yağ asidi içeriği yani  $\sum\text{PUFA}+\sum\text{MUFA}$  değeri bakımından ise %81.510 ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Toplam doymuş yağ asidi içeriği ( $\sum\text{SFA}$ ), %17.610 değeri ile en fazla Polatlı kabak çekirdeği yağında tespit edilmiştir. Toplam trans yağ asidi içeri bakımından ise %0.400 ile Çumra kabak çekirdeği yağının en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir.

▪ **Aflatoksin içeriği**, İnsan ve hayvan sağlığına olan zararlı etkileri yapılan pekçok çalışma ile kanıtlanan AF-B1, AF-B2, AF-G1 ve AF-G2 aflatoksin türlerinin, tez çalışması kapsamında özellikleri incelenen kabak çekirdeği yağlarında analizleri yürütülmüştür. UHPLC-MS/MS sistemi ile yürütülen tayinlerde, analiz edilen kabak çekirdeği yağlarında herhangi bir aflatoksin kalıntısına rastlanmamıştır.

▪ **Pestisit kalıntı içeriği**, Aşırı ve bilinçsizce kullanılan çeşitli zirai ürünlerin neden olduğu pestisit kalıntıları ve parçalanma ürünlerinin, tarımsal ve gıda ürünlerindeki düzeylerinin araştırılması ürün kalitelerinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir. Tez çalışması kapsamında temin edilen kabak çekirdeği ürünlerinde mevcut olabilen ve yağa geçme olasılığı yüksek olan pestisit ürünlerinin tespiti için iki farklı teknik ile

analizler yürütülmüştür. UHPLC-MS/MS sistemi ile yürütülen tayinlerde, İçeri çumra kabak çekirdeği yağı haricindeki yağların tümünde Chlorpyrifos pestisit türü tespit edilmiştir. Analiz edilen kabak çekirdeği yağları için, ppb düzeyinde Chlorpyrifos miktarları, Çeltik kabak çekirdeği yağı için  $18.050 \pm 0.470$  ppb, Çumra kabak çekirdeği yağı için  $7.430 \pm 0.620$  ppb ve Polatlı kabak çekirdeği yağı için  $12.340 \pm 0.820$  ppb tespit edilmiştir. Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliğinde Chlorpyrifos pestisit türü için maksimum kabul değeri,  $500 \mu\text{g/kg}$  (ppb) şeklinde belirtilmektedir. Yağ numunesinde tespit edilen Chlorpyrifos değerlerinin, kabul edilebilir düzeyde ve TGK limit değerlerinin oldukça altında yer aldığı görülmektedir.

▪ **FFA, PV, IV, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde miktarı ve özgül absorbans değerleri,** Bitkisel yağların kalite ve saflığı hakkında bilgi veren FFA, PV, IV, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde miktarı ve özgül absorbans parametreleri değerlendirildiğinde, analiz edilen kabak çekirdeği yağlarına ait bu değerlerin, gıda kodeksinde iyi kalitedeki natürel & soğuk pres yağlar için yer alan değer aralıklarında oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, sunulan tez çalışması ile, ısıl işlem ve kimyasal muamele gerektirmeyen soğuk presleme yöntemi ile elde edilen kabak çekirdeği yağlarının üretimi ve yağların biyoaktif bileşen içerikleri, bilimsel bir bakış açısı ile değerlendirilmiştir. Avrupa farmakopesi monograflarında henüz yer almayan dört farklı bölgeye ait kabak çekirdeği yağlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri ayrıntılı bir şekilde irdelenmiş, elde edilen veriler bu yağların doymamış yağ asitleri, tokoferoller, tokotrienoller ve fenolik madde içeriği ve değerli biyoaktif bileşenler bakımından oldukça zengin içeriğe sahip olduğunu göstermiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışması ile, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde hammadde olarak yaygın şekilde tüketilen ve yağ, protein, diyet lifi, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin bir besin kaynağı olan dört farklı bölgeye ait kabak çekirdeklerinin, katma değeri yüksek ve kaliteli bitkisel yağ kaynağı olarak değerlendirilebileceği kanıtlanmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- AlfaLaval Separation, 1995. General Manual MA 0901, *Methods for Analysis/Application*.
- Alfawaz, M.A., 2004. Chemical Composition and Oil Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seed Kernels. *Food Science and Agriculture Research Center King Saud University*, 5-18.
- AOAC Official Method, AOAC2007.01-QuEChERS, 2007. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry., *First Action 2007*.
- AOCS, 1998. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th edition, Champaign, IL: AOCS Press.
- Ardabili, A.G., Farhoosh, R. ve Khodaparast, M.H., 2011. Chemical Composition and Physicochemical Properties of Pumpkin Seeds (*Cucurbita pepo* Subsp. *pepo* Var. *Styriaca*) Grown in Iran, *J. Agriculture. Science Thecnology*, 13, 1053-1063.
- Arslan, F.N., 2009. Ülkemizde Üretilen Pamuk Yağlarının Rafinasyonunun İyileştirilmesiyle Kullanım Verimliliklerinin Artırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya*.
- Arslan, F.N., 2015. Bitkisel Yağ Analizleri için Geciktirmeli ve Ön Deriştirmeli SPE Sistemlerinin FIA-HPLC Sistemlerine Entegrasyonu ve Uygulamalarının Geliştirilmesi. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya*.
- Bemis, P.W., Berry, W.J., Kennedy, J.M., Wood. D., Moran, M. ve Deutschman, J.A., 1968. Oil Composition of *Cucurbita*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 44, 429-430.

- Çağdar, M. G., 2014. Amik Ovası Topraklarında GC/MS ve LC/MS/MS Cihazı İle Pestisit Analizi. *Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Hatay.
- Çetintaş, G., 2005. Fındık Yağı İşleme Aşamalarında kalite Kriterlerinde ve Aflatoksin Konsantrasyonunda Olan Değişimler. *Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta.
- Charles, R. ve Hurburgh, J.R. 1995. Mycotoxins in the Grain Market. World Grain, <http://www.extension.iastate.edu/grain/topics/MycotoxinsintheGrainMarket.htm> (Erişim tarihi: 28.04.2016).
- Dalkıran, G.N., 2014. Kabak Çekirdeğinden Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesi ve Yüzey Aktif Madde Kullanımının Yağ Verimine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Davis, N.D. ve Diener, U.L. 1978. Mycotoxins: Food and Beverage Mycology, Ed: L.R. Beuchat, *AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut*, 397- 444
- Demirci, M., 2001. Gıda Kimyası. *Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Birinci Baskı*, 20 s, Edirne.
- Ergönül, B. ve Günç, P., 2003. Tüketilebilir Bitkisel Sıvı Yağ Üretim Hattında HACCP Sisteminin Uygulanması. 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitapları*, 311-320, Ankara.
- Ermış, S., 2010. Ekolojinin Kabuklu ve Kabuksuz Çekirdek Kabak (Cucurbita pepo L.) Hatlarında Tohum Verimi ve Çerezlik Kalitesine Etkisi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Gezici, O., 2010. Akış Enjeksiyon–Kromatografik Yöntemlerle İmmobilize Hümik Asidin Sabit Faz Özelliklerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi*, Konya.
- Gohari, A., Farhoosh, R. ve Khodaparast, H., 2011. Chemical Composition and Physicochemical Properties of Pumpkin Seeds (Cucurbita pepo Subsp. pepo

Var. Styriaca) Grown in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 1053-1063.

Gök, A., 2012. Turunçgillerden Farklı Yöntemlerle Uçucu Yağ Elde Edilmesi ve Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

Gu, Q., David, F., Lynen, F., Vanormelingen, P., Vyverman, W., Rumpel, K., Xu, G., Sandra, P., 2011. Evaluation of ionic liquid stationary phases for one dimensional gas chromatography–mass spectrometry and comprehensive two dimensional gas chromatographic analyses of fatty acids in marine biota. *Journal of Chromatography A*, 1218, 3056–3063.

Gülcü, M. ve Demirci, A.Ş., 2008. Zeytin ve Yaprağındaki Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, Edremit, Balıkesir.

Güler, G., 2009. Soğuk Presyon ve Kimyasal Rafinasyon Yöntemleri İle Üretilen Kanola (Kolza) Yağlarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi*, Tekirdağ.

Gunstone, F.D., 2008. Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses Second Edition, <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9781444339925>, (Son erişim tarihi: 28.04.2016)

Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., G. Torruco-Uco J., Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, J.M., Chávez-Zamudio ve R., Martínez-Sánchez, C.E., 2016. Effect of Oil Extraction Assisted by Ultrasound on The Physicochemical Properties and Fatty Acid Profile of Pumpkin Seed Oil (Cucurbita Pepo). *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 429–436.

Horvath, S. ve Bedo, Z., 1988. Another Possibility in Treatment of Hyperlipidaemin With Peponen of Natural Active Substance. *Mediflora*, 7-8, 89s.

Ibeto, C.N., Okoye, C.O.B. ve Ofoefule, A.U., 2012. Comparative Study of the Physicochemical Characterization of Some Oils as Potential Feedstock for



Biodiesel Production. *International Scholarly Research Network ISRN Renewable Energy*, 2012, 1-5.

Jacks, T.J., Hensarling, T.P. ve Yatsu, L.Y. 1972. Cucurbit Seeds: Characterizations and Uses of Oil and Proteins. A Review. *Economic Botany*, 26,135-141.

Kayahan, M. 2007. Yağlı Tohumlardan Ham Yağ Üretim Teknolojisi. *TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitapları Serisi*, 7, 244s, Ankara.

Kayahan, M., 2003. Yağ kimyası. *Ortadoğu Teknik Üniversitesi yayınları*, 220 s, Ankara.

Makaracı, A., 2006. Farklı Kurutma Yöntemlerinin Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne.

Matthaus, B. ve Speener, F., 2008. What we know and what we should know about virgin oils-a general introduction, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 597-601.

Molyneux. P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 26, 211-219.

Nas, S., Gökalp, H.Y. ve Ünsal, M., 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları*, Yayın No:005, Denizli.

Nawirska-Olszanska, A., Kita , A., Biesiada , A., Sokoł-Towska, A. ve Kucharska, A.Z., 2013. Characteristics of Antioxidant Activity and Composition of Pumpkin Seed Oils in 12 Cultivars. *Food Chemistry*, 139, 155–161.

Nyama, K.L., Tan, C.P., Lai, O.M, Long, K. ve Che Mana, Y.B., 2009. Physicochemical Properties And Bioactive Compoundsof Selected Seed Oils., *Lwt - Food Science and Technology*, 42 ,1396–1403.

Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M.,1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity throughthe formation of a phosphomolybdenum complex:

specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.

Psomiadou, E., Tsimidou, M. ve Boskou, D., 2000.  $\alpha$ -Tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 48, 1770-1775.

Qun, G., Frank, D., Frédéric, L., Pieter, V., Wim, V., Klaus, R., Guowang, X. ve Pat, S., 2011. Evaluation of ionic liquid stationary phases for one dimensional gas chromatography–mass spectrometry and comprehensive two dimensional gas chromatographic analyses of fatty acids in marine biota. *Journal of Chromatography A*, 1218, 3056–3063.

Rabrenovi, B.B., Dimi, E.B., Novakovi, M.M., Tesevi, V.V. ve Basi, Z.N., 2014. The Most Important Bioactive Components of Cold Pressed Oil From different Pumpkin (*Cucurbita Pepo* L.) Seeds., *Lwt - Food Science And Technology*, 55, 521-527.

Ramadan, M.F., Asker, M.M.S. ve Tadros, M., 2012, Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils, *European Food Research and Technology*, 234, 833–844.

Raymo, F., 2012. The Evolution of Citrus Technology in Italy in The Last Decades. *Journal of Essential oil Research*, 24, 213-216.

Reddy, S.V. ve Farid Waliyar., 1994. Properties of Aflatoxin and its producing fungi. *Journal of Pathology*, 154, 301-311.

Reziga, L., Chouaibia, M., Msaadab, K. ve Hamdi, S., 2012. Chemical Composition And Profile Characterisation Of Pumpkin (*Cucurbita Maxima*) Seed Oil. *Industrial Crops And Products*, 37, 82–87.

Sabudak, T., 2007. Fatty Acid Composition of Seed And Leaf Oils of Pumpkin, Walnut, Almond, Maize, Sunflower and Melon Temine. *Chemistry of Natural Compounds*, 43 (4), 465-467.

Saldamlı, İ., 1998. Gıda Kimyası. *Hacettepe Üniversitesi yayınları*, 527s, Ankara.

- Sedghi, M., Gholipouri, A. ve Sharifi, R.S., 2008.  $\gamma$ -Tocopherol Accumulation and Floral Differentiation of Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in Response to Plant Growth Regulators. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 80-84.
- Şeran, E.B., 2011. Yağlı Tohumlara Uygulanan Ultrasonik Destekli ön işlem ile Soğuk Pres Yağlarında Verim ve Kalitenin Arttırılması. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi, İstanbul*.
- Shi, Y., Lafontaine, C., Espourteille, F., 2011. Detection of Mycotoxins in Corn Meal Extract Using Automated Online Sample Preparation with LC-MS/MS. *Thermo Fisher Scientific, Franklin, MA, USA*.
- Skoog, D., Holler, J. ve Nieman, T.A., 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri. *Bilim Yayıncılık 5. Baskı*, 849 s, Ankara.
- Slinkard, K. ve Singleton, V.L., 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49–55.
- Stevenson, D. G., Eller, F. J., Wang, L., Jane, J. L., Wang, T. ve Inglett, G. E., 2007. Oil and Tocopherol Content and Composition of Pumpkin Seed Oil in 12 Cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 4005–4013.
- Stuart, S.G. ve Loy, J.B., 1983. Comparison of testa development in normal and hull-less seeded strains of *Cucurbita pepo* L. *Botanical Gazette*, 144, 491-500.
- Taşan, M., Geçgel, Ü. ve Demirci, M., 2011. Effects of storage and industrial oilseed extraction methods on the some quality and stability characteristics of crude sunflower oil (*Helianthus annuus* L.). *Grasasy Aceites*, 62 (4) 389-398.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 154-169.
- TS-894. 1970. Yemelik Bitkisel Yağlar-Muayene Metodları. *Türk Standartları Enstitüsü*. Ankara.

- TUİK, 2014. <http://Tuikapp.Tuik.Gov.Tr/Bitkiselapp/Bitkisel.Zul>, (Son erişim tarihi 28.04.2016).
- Yang, L., Liu, Y., Miao, M., Dong, B., Yang, N., Chang, F., Yang, L. ve Sun, J. 2011. Determination of aflatoxins in edible oil from markets in Hebei Province of China by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 4(4), 244-247.
- Yanmaz, R. ve Gülşen, O., 2014. *Çerezlik Kabak Çalıştayı*, Kayseri.
- Younisa, Y.M.H.C., Ghirmayb, S.S. ve Al-Shihryc S.S., 2000. African Cucurbita Pepo L.: Properties Of Seed And Variability in Fatty Acid Composition of Seed Oil *Phytochemistry*, 54(1), 71-75.
- Yu, L. L., Zhou, K. K. ve Parry, J., 2005. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry and hemp seed oil. *Food Chemistry*, 91, 723-729.
- Zdzislaw, Z. E. ve Sikorski, A. K., 2010. Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids, Second Edition <https://www.crcpress.com/Chemical-Biological-and-Functional-Aspects-of-Food-Lipids-Second-Edition/Sikorski-Kolakowska/9781439802373> (Son erişim tarihi 28.04.2016)

## EKLER

### EK-I. Türk gıda kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliği

2 Nisan 2012 PERŞEMBE

Resmî Gazete

Sayı : 28262

#### TEBLİĞ

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığında

#### TÜRK GIDA KODEKSİ BİTKİ ADI İLE

#### ANILAN YAĞLAR TEBLİĞİ

(TEBLİĞ NO: 2012/29)

#### Amaç

**MADDE 1 –** (1) Bu Tebliğin amacı, bu Tebliğ kapsamında yer alan bitki adı ile anılan yağların, tekniğine uygun ve hijyenik şekilde üretim, hazırlama, işleme, muhafaza, depolama, taşıma ve pazarlanmasını sağlamak üzere özelliklerini belirlemektir.

#### Kapsam

**MADDE 2 –** (1) Bu Tebliğ, 4 üncü maddenin ikinci fıkrasında tanımları yapılan bitki adı ile anılan yağları kapsar.

(2) Yağ asitlerinin bünyesini veya yağ kıvamını değiştirmek amacıyla esterleştirilmiş veya hidrojene edilmiş yağları ve karışım yağları kapsamaz.

#### Dayanak

**MADDE 3 –** (1) Bu Tebliğ, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3 üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine dayanılarak hazırlanmıştır.

#### Tanımlar

**MADDE 4 –** (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan,

a) Bitkisel yağ: Sadece bitkisel kaynaklardan elde edilen, temel olarak yağ asitleri gliseridlerinden oluşan, doğal yapısı gereği az miktarda fosfatidler gibi diğer lipidleri, sabunlaşmayan bileşenleri ve serbest yağ asitlerini içerebilen yağ,

b) Ham yağ: Çözücü ekstraksiyonu ve/veya mekanik yöntemle elde edilen, duyu ve karakteristik özellikleri bakımından doğrudan tüketime uygun olmayan, rafinasyon veya teknik amaçlı kullanıma uygun olan yağ,

c) Natürel yağ: Doğrudan tüketime uygun olan, yağın yapısını değiştirmeksizin, mekanik yöntemle ve ısı uygulaması ile elde edilen, saflaştırmak amacı ile sadece su ile yıkama, çöktürme, filtrasyon ve santrifüj işlemleri yapılan yağ,

ç) Rafine yağ: Doğal trigliserid yapısında değişikliğe yol açmadan rafine edilen yağ,

d) Soğuk preslenmiş natürel yağ: Doğrudan tüketime uygun olan, ısıtılmaksızın sadece mekanik yöntemle elde edilen yağ,

ifade eder.

(2) Bu Tebliğ kapsamında yer alan,

a) Aspir yağı: Aspir bitkisinin (*Carthamus tinctorius* L.) tohumlarından elde edilen yağ,

b) Ayçiçek yağı: Ayçiçek bitkisinin (*Helianthus annuus* L.) tohumlarından elde edilen yağ,

c) Babassu yağı: Çeşitli palm orbignya türlerinin meyve çekirdeklerinden elde edilen yağ,

ç) Fındık yağı: Fındık ağacının (*Corylus avellana* L., *Corylus maxima* ve *Corylus colbina*) meyvelerinden elde edilen yağ,

d) Hindistancevizi yağı: Hindistancevizi (*Cocos nucifera* L.) meyvesinden elde edilen yağ,

e) Kanola/Düşük erusik asitli kolza yağı: Düşük erusik asitli yağ içeren *Brassica napus* L., *Brassica campestris* L. ve *Brassica juncea* L.'nin tohumlarından elde edilen yağ,

f) Mısır yağı: Mısır bitkisi (*Zea mays* L.) tanelerinin embriyolarından elde edilen yağ,

g) Palm çekirdeği yağı: Palm (*Elaeis guineensis*) meyvesinin çekirdeğinden elde edilen yağ,

ğ) Palm çekirdeği olein: Fraksiyonlarına ayrılan palm çekirdeği yağının sıvı kısmını,

h) Palm çekirdeği stearin: Fraksiyonlarına ayrılan palm çekirdeği yağının katı kısmını,

ı) Palm olein: Fraksiyonlarına ayrılan palm yağının sıvı kısmını,

i) Palm stearin: Fraksiyonlarına ayrılan palm yağının erime noktası yüksek olan kısmını,

j) Palm süperolein: Kontrollü kristalizasyon işlemi ile iyot sayısı en az 60 olacak şekilde üretilmiş ve fraksiyonlarına ayrılmış palm yağının sıvı kısmını,

k) Palm yağı: Palm (*Elaeis guineensis*) meyvesinin etli mezokarbından elde edilen yağ,

l) Pamuk yağı: Çeşitli Pamuk (*Gossypium* spp.) kültürlerinin tohumlarından elde edilen yağ,

m) Soya yağı: Soya fasulyesinden (*Glycine max* (L.) Merr.) elde edilen yağ,

n) Susam yağı: Susam bitkisinin (*Sesamum indicum* L.) tohumlarından elde edilen yağ,

o) Üzüm çekirdeği yağı: Üzüm bitkisinin (*Vitis vinifera* L.) çekirdeklerinden elde edilen yağ,

ö) Yer fıstığı yağı: Yer fıstığından (*Arachis hypogaea* L.) elde edilen yağ,

ifade eder.

### **Ürün özellikleri**

**MADDE 5 – (1)** Bu Tebliğ kapsamındaki ürünlerin özellikleri aşağıda verilmiştir:

- a) Yabancı ve/veya ransit tat ve koku içermemesi, ham ve natürel yağların kendine has renk, tat ve kokuda olması gerekir.
- b) Yağ asitleri kompozisyonunun EK-1’de verilen tablodaki değerlere uygun olması gerekir.
- c) Diğer kalite kriterlerinin EK-2’de verilen tablodaki değerlere uygun olması gerekir.
- ç) Fiziksel ve kimyasal özelliklerin EK-3’te verilen tablodaki değerlere uygun olması gerekir.
- d) Sterol kompozisyonlarının EK-4’te verilen tablodaki değerlere uygun olması gerekir.
- e) Palm oleinin kayma noktası 24 °C’den fazla olamaz.
- f) Palm stearinin kayma noktası 44 °C’den az olamaz.
- g) Palm çekirdeği oleinin kayma noktasının 21 °C-26 °C aralığında olması gerekir.
- ğ) Palm çekirdeği stearinin kayma noktasının 31 °C-34 °C aralığında olması gerekir.
- h) Yer fıstığı yağı için, araşidik ve daha yüksek karbonlu yağ asitleri miktarı 48 g/kg’ı geçemez.
- ı) Üzüm çekirdeği yağının eritrodiyol içeriği toplam sterolün % 2’sinden az olamaz.
- i) Ağartılmamış palm yağı, ağartılmamış palm olein ve ağartılmamış palm stearinde, beta-karoten cinsinden toplam karotenoid miktarlarının sırasıyla, 500-2000, 550-2500 ve 300-1500 mg/kg olması gerekir.

(2) Bu Tebliğ kapsamında yer alan yağlara, mineral yağlar, sentetik yağlar, esterleştirilmiş yağlar veya diğer yağlar karıştırılamaz.

### **Katkı maddeleri**

**MADDE 6 – (1)** Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerde kullanılacak katkı maddeleri, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3 üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde yer alan hükümlere uygun olur.

(2) Bu Tebliğ kapsamında yer alan natürel ve soğuk preslenmiş bitkisel yağlara hiç bir katkı maddesi ilave edilemez.

### **Aroma vericiler ve aroma verme özelliği taşıyan gıda bileşenleri**

**MADDE 7 – (1)** Bu Tebliğ kapsamındaki ürünlerde kullanılacak, aroma vericiler ve aroma verme özelliği taşıyan gıda bileşenleri, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3 üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Aroma Vericiler ve Aroma Verme Özelliği Taşıyan Gıda Bileşenleri Yönetmeliğinde

yer alan hükümlere uygun olur.

### **Bulaşanlar**

**MADDE 8** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerdeki bulaşanların miktarları, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3  nc  mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde yer alan hükümlere uygun olur.

### **Pestisit kalıntıları**

**MADDE 9** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarları, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3  nc  mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği’nde yer alan hükümlere uygun olur.

### **Hijyen**

**MADDE 10** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünler, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3  nc  mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde yer alan hükümlere uygun olur.

### **Ambalajlama**

**MADDE 11** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerin ambalajları, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3  nc  mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemeler Yönetmeliğinde yer alan hükümlere uygun olur.

### **Etiketleme**

**MADDE 12** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünler, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3  nc  mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliğinde yer alan hükümler ile birlikte aşağdaki hükümlere de uygun olur:

a) 4  nc  maddenin ikinci fıkrasında yer alan tanımlar ürün adı olarak kullanılır. Ancak,  r nlerin adlandırılmasında, üretim teknolojisine uygun olarak, 4  nc  maddenin birinci fıkrasında yer alan ifadeler, “natürel ... yağı” veya “rafine ... yağı” olarak kullanılabilir. Uygun teknoloji ile üretilmesi koşulu ile “soğuk preslenmiş” ifadesi de kullanılabilir.

b) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ve EK-1’de belirtilen yağ asidi kompozisyonuna göre adlandırılan yağlar için, “yüksek oleik asitli” ifadesi de etikette ürün adı ile aynı görüş alanında kullanılır.

### **Numune alma ve analiz yöntemleri**

**MADDE 13** – (1) Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerden numune alınması ve analizleri, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine uygun olur.

### **İdari yaptırım**

**MADDE 14** – (1) Bu Tebliğe aykırı davrananlar hakkında 11/6/2010 tarihli ve 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun ilgili maddelerine göre idari yaptırım uygulanır.



### **Yürürlükten kaldırılan tebliğ**

**MADDE 15** – (1) 13/10/2001 tarihli ve 24552 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yemelik Yağlar Tebliği (Tebliğ No: 2001/29) yürürlükten kaldırılmıştır.

**GEÇİCİ MADDE 1** – (1) Bu Tebliğ kapsamında faaliyet gösteren gıda işletmecileri, 1/3/2013 tarihine kadar bu Tebliğ hükümlerine uymak zorundadır.

(2) Bu Tebliğin yayımından önce faaliyet gösteren gıda işletmecileri, bu Tebliğ hükümlerine uyum sağlayıncaya kadar, yürürlükten kaldırılan Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yemelik Yağlar Tebliği hükümlerine uymak zorundadır.

### **Yürürlük**

**MADDE 16** – (1) Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

### **Yürütme**

**MADDE 17** – (1) Bu Tebliğ hükümlerini Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanı yürütür.

**Bitkisel yağların gaz-sıvı kromatografi tekniği ile tespit edilen yağ asit kompozisyon verileri (% toplam yağ asidi)**

Yağ asitleri	Aspir Yağı	Aspir Yağı (yüksek oleik asitli)	Ayçiçek Yağı	Ayçiçek Yağı (yüksek oleik asitli)	Babassu Yağı	Fındık Yağı	Hindistan ceviz Yağı	Kanola/ Düşük Erusik Asitli Kolza Yağı	Mısır Yağı	Palm Yağı
<b>Kaproik</b> C6:0	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,7	TED	TED	TED
<b>Kaprilik</b> C8:0	TED	TED	TED	TED	2,6-7,3	TED	4,6-10,0	TED	TED	TED
<b>Kaprik</b> C10:0	TED	TED	TED	TED	1,2-7,6	TED	5,0-8,0	TED	TED	TED
<b>Laurik</b> C12:0	TED	TED-0,2	TED-0,1	TED	40,0-55,0	TED	45,1-53,2	TED	TED-0,3	TED-0,5
<b>Miristik</b> C14:0	TED-0,2	TED-0,2	TED-1,0	TED-0,1	11,0-27,0	TED-0,1	16,8-21,0	TED-0,2	TED-0,3	0,5-2,0
<b>Palmitik</b> C16:0	5,3-8,0	3,6-6,0	4,0-7,6	2,6-5,0	5,2-11,0	4,2-8,9	7,5-10,2	2,5-7,0	8,6-16,5	39,3-47,5
<b>Palmitoleik</b> C16:1	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,3	TED-0,1	TED	TED-0,5	TED	TED-0,6	TED-0,5	TED-0,6
<b>Margarik</b> C17:0	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,2	TED-0,1	TED	TED-0,1	TED	TED-0,3	TED-0,1	TED-0,2
<b>Heptadesenoik</b> C17:1	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1	TED	TED-0,1	TED	TED-0,3	TED-0,1	TED
<b>Stearik</b> C18:0	1,9-2,9	1,5-2,4	2,1-6,5	2,9-6,2	1,8-7,4	TED-3,2	2,0-4,0	0,8-3,0	TED-3,3	3,5-6,0
<b>Oleik</b> C18:1	8,4-21,3	70,0-83,7	14,0-71,8	75-90,7	9,0-20,0	71,0-91,0	5,0-10,0	51,0-70,0	20,0-42,2	36,0-44,0
<b>Linoleik</b> C18:2	67,8-83,2	9,0-19,9	18,7-74,0	2,1-17	1,4-6,6	5,2-22,3	1,0-2,5	15,0-30,0	34,0-65,6	9,0-12,0
<b>Linolenik</b> C18:3	TED-0,1	TED-1,2	TED-0,5	TED-0,3	TED	TED-0,3	TED-0,2	5,0-14,0	TED-2,0	TED-0,5
<b>Araşidik</b> C20:0	0,2-0,4	0,3-0,6	0,1-0,5	0,2-0,5	TED	TED-0,2	TED-0,2	0,2-1,2	0,3-1,0	TED-1,0
<b>Eikosenoik (Gadoleik)</b> C20:1	0,1-0,3	0,1-0,5	TED-0,3	0,1-0,5	TED	TED-0,2	TED-0,2	0,1-4,3	0,2-0,6	TED-0,4
<b>Eikosadienoik</b> C20:2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,1	TED-0,1	TED
<b>Behenik</b> C22:0	TED-1,0	TED-0,4	0,3-1,5	0,5-1,6	TED	TED-0,1	TED	TED-0,6	TED-0,5	TED-0,2
<b>Dokosenoik (Erusik)</b> C22:1	TED-1,8	TED-0,3	TED-0,3	TED-0,3	TED	TED-0,1	TED	TED-2,0	TED-0,3	TED
<b>Dokosadienoik</b> C22:2	TED	TED	TED-0,3	TED	TED	TED	TED	TED-0,1	TED	TED
<b>Lignoserik</b> C24:0	TED-0,2	TED-0,3	TED-0,5	TED-0,5	TED	TED	TED	TED-0,3	TED-0,5	TED
<b>Nervonik</b> C24:1	TED-0,2	TED-0,3	TED	TED	TED	TED-0,3	TED	TED-0,4	TED	TED

TED: Tespit edilemeyen düzey ( $\leq$  % 0,05)

Yağ asitleri	Palm Çekirdeği Yağı	Palm Çekirdeği Olein	Palm Çekirdeği Stearin	Palm Olein	Palm Stearin	Palm süperolein	Pamuk Yağı	Soya Yağı	Susam Yağı	Üzüm Çekirdeği Yağı	Yer Fıstığı Yağı
<b>Kaproik</b> C6:0	TED-0,8	TED-0,7	TED-0,2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED
<b>Kaprilik</b> C8:0	2,4-6,2	2,9-6,3	1,3-3,0	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED
<b>Kaprik</b> C10:0	2,6-5,0	2,7-4,5	2,4-3,3	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED
<b>Laurik</b> C12:0	45,0-55,0	39,7-47,0	52,0-59,7	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	TED-0,2	TED-0,1	TED	TED	TED-0,1
<b>Miristik</b> C14:0	14,0-18,0	11,5-15,5	20,0-25,0	0,5-1,5	1,0-2,0	0,5-1,5	0,6-1,0	TED-0,2	TED-0,1	TED-0,3	TED-0,1
<b>Palmitik</b> C16:0	6,5-10,0	6,2-10,6	6,7-10,0	38,0-43,5	48,0-74,0	30,0-39,0	21,4-26,4	8,0-13,5	7,9-12,0	5,5-11,0	8,0-14,0
<b>Palmitoleik</b> C16:1	TED-0,2	TED-0,1	TED	TED-0,6	TED-0,2	TED-0,5	TED-1,2	TED-0,2	TED-0,2	TED-1,2	TED-0,2
<b>Margarik</b> C17:0	TED	TED	TED	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,1
<b>Heptadesenoik</b> C17:1	TED	TED	TED	TED-0,1	TED-0,1	TED	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1	TED-0,1
<b>Stearik</b> C18:0	1,0-3,0	1,7-3,0	1,0-3,0	3,5-5,0	3,9-6,0	2,8-4,5	2,1-3,3	2,0-5,4	4,5-6,7	3,0-6,5	1,0-4,5
<b>Oleik</b> C18:1	12,0-19,0	14,4-24,6	4,1-8,0	39,8-46,0	15,5-36,0	43,0-49,5	14,7-21,7	17-30	34,4-45,5	12,0-28,0	35,0-69
<b>Linoleik</b> C18:2	1,0-3,5	2,4-4,3	0,5-1,5	10,0-13,5	3,0-10,0	10,5-15,0	46,7-58,2	48,0-59,0	36,9-47,9	58,0-78,0	12,0-43,0
<b>Linolenik</b> C18:3	TED-0,2	TED-0,3	TED-0,1	TED-0,6	TED-0,5	0,2-1,0	TED-0,4	4,5-11,0	0,2-1,0	TED-1,0	TED-0,3
<b>Araşidik</b> C20:0	TED-0,2	TED-0,5	TED-0,5	TED-0,6	TED-1,0	TED-0,4	0,2-0,5	0,1-0,6	0,3-0,7	TED-1,0	1,0-2,0
<b>Eikosenoik (Gadoleik)</b> C20:1	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,1	TED-0,4	TED-0,4	TED-0,2	TED-0,1	TED-0,5	TED-0,3	TED-0,3	0,7-1,7
<b>Eikosadienoik</b> C20:2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,1	TED-0,1	TED	TED	TED
<b>Behenik</b> C22:0	TED-0,2	TED	TED	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,2	TED-0,6	TED-0,7	TED-1,1	TED-0,5	1,5-4,5
<b>Dokosenoik (Erusik)</b> C22:1	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,3	TED-0,3	TED	TED-0,3	TED-0,3
<b>Dokosadienoik</b> C22:2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,1	TED	TED	TED	TED
<b>Lignoserik</b> C24:0	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,1	TED-0,5	TED-0,3	TED-0,4	0,5-2,5
<b>Nervonik</b> C24:1	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0,3

TED: Tespit edilemeyen düzey ( $\leq$  % 0,05)

**Diğer kalite kriterleri**

<b>Uçucu Madde (105° C)</b>	En çok % 0,2 (m/m)
<b>Çözünmeyen Safsızlıklar</b>	En çok % 0,05 (m/m)
<b>Sabun Miktarı</b>	Rafine yağlarda en çok % 0,005 (m/m) Soğuk preslenmiş ve natürel yağlarda bulunmamalı
<b>Asit Sayısı</b>	Rafine yağlarda en çok 0,6 mg KOH /g yağ Soğuk preslenmiş ve natürel yağlarda en çok 4,0 mg KOH/g yağ Natürel palm yağında en çok 10,0 mg KOH/g yağ
<b>Peroksit Sayısı</b>	Rafine yağlarda en çok 10 miliekivalen aktif oksijen / kg yağ Soğuk preslenmiş ve natürel yağlarda en çok 15 miliekivalen aktif oksijen / kg yağ

## Bitkisel yağların fiziksel ve kimyasal özellikleri

Bitkisel Yağlar	Bağıl Yoğunluk (X° C/su 20° C)	Yoğunluk (g/mL)	Kırılma İndisi	Sabunlaşma Sayısı (mg KOH/g yağ)	İyot Değeri (Wijs)	Sabunlaşmayan Madde (g/kg)
Aspir Yağı	0,922-0,927 X=20° C			186-198	136-148	≤ 15
Aspir Yağı (yüksek oleik asitli)	0,913-0,919 X=20° C 0,910-0,916 X=25° C	0,912-0,914 20° C'de	1,460-1,464 40° C'de 1,466-1,470 25° C'de	186-194	80-100	≤ 10
Ayçiçek Yağı	0,914-0,923 X=20° C		1,461-1,471 40° C'de	188-194	94-141	≤ 15
Ayçiçek Yağı (yüksek oleik asitli)	0,909-0,915 X=25° C		1,467-1,471 25° C'de	182-194	78-90	≤ 15
Babassu Yağı	0,914-0,917 X=25° C		1,448-1,451 40° C'de	245-256	10-18	≤ 12
Fındık Yağı	0,898-0,915 X=20° C		1,468-1,473 20° C'de	188-198	81-92	≤ 15
Hindistancevizi Yağı	0,908-0,921 X=40° C		1,448-1,450 40° C'de	248-265	6,3-10,6	≤ 15
Kanola/Düşük Erusik Asitli Kolza Yağı	0,914-0,920 X=20° C		1,465-1,467 40° C'de	182-193	105-126	≤ 20
Mısır Yağı	0,917-0,925 X=20° C		1,465-1,468 40° C'de	187-195	103-135	≤ 28
Palm Yağı	0,891-0,899 X=50° C	0,889-0,895 50° C'de	1,454-1,456 50° C'de	190-209	50,0-55,0	≤ 12
Palm Çekirdeği Yağı	0,899-0,914 X=40° C		1,448-1,452 40° C'de	230-254	14,1-21,0	≤ 10
Palm Çekirdeği Olein	0,906-0,909 X=40° C	0,904-0,907 40° C'de	1,451-1,453 40° C'de	231-244	20-28	< 15
Palm Çekirdeği Stearin	0,902-0,908 X=40° C	0,904-0,906 40° C'de	1,449-1,451 40° C'de	244-255	4-8,5	< 15
Palm Olein	0,899-0,920 X=40° C	0,896-0,898 40° C'de	1,458-1,460 40° C'de	194-202	≥ 56	≤ 13
Palm Stearin	0,881-0,891 X=60° C	0,881-0,885 60° C'de	1,447-1,452 60° C'de	193-205	≤ 48	≤ 9
Palm Süperolein	0,900-0,925 X=40° C	0,897-0,920 40° C'de	1,463-1,465	180-205	≥ 60	< 13
Pamuk Yağı	0,918-0,926 X=20° C		1,458-1,466 40° C'de	189-198	100-123	≤ 15
Soya Yağı	0,919-0,925 X=20° C		1,466-1,470 40° C'de	189-195	124-139	≤ 15
Susam Yağı	0,915-0,924 X=20° C		1,465-1,469 40° C'de	186-195	104-120	≤ 20
Üzüm Çekirdeği Yağı	0,920-0,926 X=20° C		1,467-1,477 40° C'de	188-194	128-150	≤ 20
Yer Fıstığı Yağı	0,912-0,920 X=20° C		1,460-1,465 40° C'de	187-196	86-107	≤ 10

**Bitkisel yağların toplam sterol yüzdesi (% toplam sterol)**

Bitkisel Yağlar	Sterol Kompozisyonu								Toplam Sterol (mg/kg)
	Kolesterol	Brassikasterol	Kampesterol	Stigmasterol	Beta-sitosterol	Delta-5-Avenasterol	Delta-7-Stigmastenol	Delta-7-Avenasterol	
Aspir Yağı	TED-0,7	TED-0,4	9,2-13,3	4,5-9,6	40,2-50,6	0,8-4,8	13,7-24,6	2,2-6,3	2100-4600
Aspir Yağı (yüksek oleik asitli)	TED-0,5	TED-2,2	8,9-19,9	2,9-8,9	40,1-66,9	0,2-8,9	3,4-16,4	TED-8,3	2000-4100
Ayçiçek Yağı	TED-0,7	TED-0,2	6,5-13,0	6,0-13,0	50-70	TED-6,9	6,5-24,0	3,0-7,5	2400-5000
Ayçiçek Yağı (yüksek oleik asitli)	TED-0,5	TED-0,3	5,0-13,0	4,5-13,0	42,0-70	1,5-6,9	6,5-24,0	TED-9,0	1700-5200
Babassu Yağı	1,2-1,7	TED-0,3	17,7-18,7	8,7-9,2	48,2-53,9	16,9-20,4	TED	0,4-1,0	500-800
Fındık Yağı	TED-0,6	TED	4,0-5,8	0,7-1,5	82,8-86,8	2,0-4,5	0,3-2,3	0,2-1,1	1147-2319
Hindistancevizi Yağı	TED-3,0	TED-0,3	6,0-11,2	11,4-15,6	32,6-50,7	20,0-40,7	TED-3,0	TED-3,0	400-1200
Kanola/Düşük Erusik Asitli Kolza Yağı	TED-1,3	5,0-13,0	24,7-38,6	0,2-1,0	45,1-57,9	2,5-6,6	TED-1,3	TED-0,8	4500-11300
Mısır Yağı	TED-0,6	TED-0,2	16,0-24,1	4,3-8,0	54,8-66,6	1,5-8,2	0,2-4,2	0,3-2,7	7000-22100
Palm Yağı	2,6-6,7	TED	18,7-27,5	8,5-13,9	50,2-62,1	TED-2,8	0,2-2,4	TED-5,1	300-700
Palm Çekirdeği Yağı	0,6-3,7	TED-0,8	8,4-12,7	12,0-16,6	62,6-73,1	1,4-9,0	TED-2,1	TED-1,4	700-1400
Palm Çekirdeği Olein	1,5-1,9	TED-0,2	7,9-9,1	13,4-14,7	67,1-69,2	3,3-4,6	TED-0,6	TED-0,5	816-1339
Palm Çekirdeği Stearin	1,4-1,7	TED-2,2	8,2-9,7	14,1-15,0	67,0-70,0	3,3-4,1	TED-0,3	TED-0,3	755-1086
Palm Olein	2,6-7,0	TED	12,5-39,0	7,0-18,9	45,0-71,0	TED-3,0	TED-3,0	TED-6,0	270-800
Palm Stearin	2,5-5,0	TED	15,0-26,0	9,0-15,0	50,0-60,0	TED-3,0	TED-3,0	TED-3,0	250-500
Palm Süperolein	2,0-3,5	TED	22,0-26,0	18,2-20,0	55,0-70,0	0-1,0	0-0,3	0-0,3	100
Pamuk Yağı	TED-2,3	0,1-0,3	6,4-14,5	2,1-6,8	76,0-87,1	1,8-7,3	TED-1,4	0,8-3,3	2700-6400
Soya Yağı	TED-1,4	TED-0,3	15,8-24,2	14,9-19,1	47,0-60	1,5-3,7	1,4-5,2	1,0-4,6	1800-4500
Susam Yağı	TED-0,5	0,1-0,2	10,1-20,0	3,4-12,0	57,7-61,9	6,2-7,8	0,5-7,6	1,2-5,6	4500-19000
Üzüm Çekirdeği Yağı	TED-0,5	TED-0,2	7,5-14,0	7,5-12,0	64,0-70,0	1,0-3,5	0,5-3,5	0,5-1,5	2000-7000
Yer Fıstığı Yağı	TED-3,8	TED-0,2	12,0-19,8	5,4-13,2	47,4-69,0	5,0-18,8	TED-5,1	TED-5,5	900-2900

TED: Tespit edilemeyen düzey ( $\leq 0,05$ )

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Gönül AKİN  
Doğum Tarihi ve Yer : 1984/ Konya  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
e-mail : gnlakin@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kimya Bölümü	2016
Lisans	Selçuk Üniversitesi Kimya Bölümü	2007
Lise	Erbil Kuru Lisesi	2001

### Yayımlar

1. AKIN, G., ARSLAN, F.N. ve YILMAZ, I., 2016. Identification and Quantitation of Triglycerides in Cold-pressed Pumpkin Seed Oil Cultivars by HPLC/DAD Method. *14th Euro Fed Lipid Congress Book of Abstract*, Ghent, Belgium.
2. ARSLAN, F.N., AKIN, G., YILMAZ, I. ve KARUK ELMAS, N., 2016. Identification and Quantitation of Tocols in Cold-pressed Pumpkin Seed Oil Cultivars by HPLC/FLD Method. *14th Euro Fed Lipid Congress Book of Abstract*, Ghent, Belgium