



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN NİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SOĞUK PRES YAĞ ÜRETİMİNDE SİTRİK
ASİT VE ENZİM İLAVESİNİN VERİM VE
YAĞIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
ETKİSİ

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Kasım-2017
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

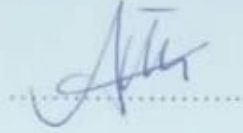
Sıddıka Yusra Özkılıç tarafından hazırlanan "Soğuk Pres Yağ Üretiminde Sitrik Asit ve Enzim İlavesinin Verim ve Yağın Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi" adlı tez çalışması 24/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÜNVER



Danışman

Doç. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU



Üye

Yrd. Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet COŞKUN

FBE Müdür

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 171319003 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

Tarih: 01/11/17

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SOĞUK PRES YAĞ ÜRETİMİNDE SİTRİK ASİT VE ENZİM İLAVESİNİN VERİM VE YAĞIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2017, 46 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

Yrd. Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Gıda endüstrisinde solvent ekstraksiyonu en yaygın kullanılan yöntemdir. Ancak bu yöntem, hem elde edilen yağ kalitesi hem de çevre ve çalışma güvenliği bakımından riskler içermektedir. Soğuk pres yöntemi ise ekonomik, kolay uygulanabilir olmasının yanında yağın kalite parametrelerini bozan işlemler içermediği için daha güvenli ve sağlıklıdır. Bu tez çalışmasında keten tohumu, kabak çekirdeği ve menengiç yağlı tohumlarına pektinaz kompleksi olan bir ticari enzim preparatı, elma çekirdeklerinden ekstrakte edilen β -glukozidaz enzimi ve sitrik asit olmak üzere belirlenen ön uygulamaların yapılmasının ardından soğuk pres yöntemi ile yağ elde edilmiştir. Soğuk preslenmiş yağ ve küspe numunelerine toplam yağ miktarı, verim, serbest asitlik (SYA), peroksit sayısı, renk değerleri, toplam fenolik bileşen miktarı (TFM), DPPH radikal tutucu aktivite ve oksidatif stabilite indeksi (OSI) analizleri yapılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda sitrik asit ve β -glukozidaz muamelesi kabak çekirdeği yağ veriminin daha yüksek olmasını sağlamıştır. Ticari enzim muamelesi keten tohumunda verimin yüksek olmasını sağlarken, menengiç tohumuna yapılan ilaveler verimde, kontrole göre benzer etki göstermiştir. β -glukozidaz muamelesi ile üç yağlı tohum numunesinde de daha düşük SYA değerleri elde edilmiştir. Peroksit sayısı, muameleler sonucu keten tohumu ve kabak çekirdeği yağında kontrole kıyasla daha fazla olurken, menengiç yağında sitrik asit ve ticari enzim ilaveleriyle daha az olmuştur. Renk değerlerine bakıldığında,

ticari enzim ilavesi kabak çekirdeği yağı kırmızılığının daha fazla ve sitrik asit ilavesi ise keten tohumu yağı yeşilliliğinin daha az olmasına sebep olmuştur. β -glukozidaz muamelesi ile L*, a*, b* değerleri daha yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik bileşen miktarlarında ticari enzim ve sitrik asit muamelesi kontrolden farklı ancak birbirine benzer sonuçlar vermiştir. Oksidatif stabilite indeksinde ticari enzim muamelesi menengiç yağı indüksiyon zamanının daha uzun olmasını sağlamıştır.

Sonuç olarak soğuk pres yağlı tohumlarda, pektolitik enzim ve sitrik asit kullanımının verim ve toplam fenolik bileşen miktarı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiş, elma çekirdeklerinden elde edilen β -glukozidaz enziminin ise etkisinin düşük kaldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Soğuk pres yağ, kabak çekirdeği, keten tohumu, menengiç, β -glukozidaz, enzim, asit hidrolizi



ABSTRACT

MS THESIS

EFFECT OF CITRIC ACID AND ENZYME ADDITION ON OIL YIELD AND SOME OIL PROPERTIES IN COLD PRESS OIL PRODUCTION

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN FOOD ENGINEERING**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2017, 46 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Asst. Prof. Ahmet ÜNVER

Asst. Prof. Fatma Nur ARSLAN

In the food industry, solvent extraction is the most common method. However, this method involves both the quality of the oil obtained and risks of environmental and operational safety. The cold press method is more economical, easier to apply, and safer and healthier because it does not involve processes that degrade oil quality parameters. In this thesis, oil was obtained by cold press method after pre-treatment application for flaxseed, pumpkin seed and terebinth oil seeds of a commercial enzyme preparation with pectinase complex, β -glucosidase enzyme extracted from apple seeds and citric acid. Percentage of total fat, yield, free acidity, peroxide and color values, total phenolic component (TFM), DPPH radical scavenging activity and oxidative stability index (OSI) analyzes were performed on the cold pressed oil samples and press cake. As a result of experimental studies citric acid and β -glucosidase treatment resulted in higher yield of pumpkin seed oil. While commercial enzyme treatment resulted in high yield in flaxseed, the additives to the terebinth seed had a similar effect on yield in comparison to the control. With the treatment of β -glucosidase, lower SYA values were also obtained in the three oil seed samples. The number of peroxides was less in the terebinth oil with citric acid and commercial enzyme

additions, while the treatments resulted in more flaxseed and pumpkin seed oil than in control. Given the color values, the addition of commercial enzyme resulted in more pumpkin seed redness and the addition of citric acid resulted in less flaxseed oil grease. L *, a *, b * values were found higher by β -glucosidase treatment. In total phenolic component amounts, the commercial enzyme and citric acid treatment differed from the control but gave similar results. In the oxidative stability index, commercial enzyme treatment resulted in longer induction time for terebinth oil.

As a result, it was observed that the use of pectolytic enzyme and citric acid had a positive effect on the yield and the total amount of phenolic component in cold pressed oil and the effect of β -glucosidase enzyme obtained from apple seeds was low.

Keywords: Cold press oil, pumpkin seed, flaxseed, terebinth, β -glucosidase, enzyme, acid hydrolysis



ÖNSÖZ

Tezimi hazırlama sürecinde engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, zaman ve mekân gözetmeksizin tüm samimiyetiyle yardımcı olup yoluma ışık tutan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU'na tüm içtenliğimle minnet ve şükranlarımı sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Mine ASLAN, Ümmügülsüm KARA ve Merve AYDIN'a, özellikle tecrübelerinden yararlandığım sevgili arkadaşım Ayşenur ACAR'a yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen aileme ve özel olarak, sonsuz sevgisiyle her zaman yanımda olup beni cesaretlendiren, bilgisiyle yönlendiren ve destekleyen kıymetli eşim Yasin Onuralp ÖZKILIÇ'a yaptığı fedakârlıklardan dolayı kalpten teşekkür ederim.

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ
KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çalışmanın Amacı ve Önemi.....	2
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Soğuk Pres Yağlar Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.2. Menengiç (<i>Pistacia terebinthus</i> L.) Tohumu ve Yağı Hakkında Bilgiler	7
2.3. Kabak Çekirdeği (<i>Cucurbitaceae pepo</i> L.) ve Yağı Hakkında bilgiler	10
2.4. Ketan Tohumu (<i>Linum usitatissimum</i>) ve Yağı Hakkında Bilgiler.....	13
2.5. β -glukozidaz Enzimi	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Kullanılan yağlı tohumlar ve elma çekirdekleri	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar	17
3.2.2. Örnek hazırlama.....	17
3.2.3. Örneklerin analizlere hazırlanması	18
3.2.3.1. Tohumların öğütülmesi	18
3.2.3.2. Enzim uygulaması.....	19
3.2.3.3. Asit uygulaması.....	19
3.2.3.4. β -glukozidaz uygulaması	19
3.2.3.5. Soğuk pres ile yağ elde edilmesi.....	20
3.2.4. Analizler	22
3.2.4.1. Yağ verimlerinin belirlenmesi	22
3.2.4.2. Toplam yağ miktarı tayini	23
3.2.4.2. Renk analizi (L^* , a^* , b^*)	23
3.2.4.3. Serbest yağ asitliği analizi	23
3.2.4.4. Peroksit sayısı analizi	24
3.2.4.5. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	25
3.2.4.6. DPPH serbest radikal tutucu etkinin belirlenmesi	26
3.2.4.7. Oksidatif stabilitenin ransimat metoduyla belirlenmesi	27
3.2.5. İstatistiki analizler.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	30
4.1. Toplam Yağ Miktarı Tayinine İlişkin Bulgular	30

4.2. Verim, Serbest Yağ Asitliği ve Peroksit Sayısına İlişkin Bulgular.....	31
4.3. Renk Analizine İlişkin Bulgular	35
4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteye İlişkin Bulgular.....	37
4.5. Oksidatif Stabiliteye İlişkin Bulgular	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ.....	55



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3. Tohum yağlarının ekstraksiyonu aşamasında tohumlara uygulanan işlem basamakları

Çizelge 4.1. Kabak çekirdeği, keten tohumu ve menengiç yağlı tohumlarının toplam yağ miktarı değerleri

Çizelge 4.2. Ticari enzim, β -glukozidaz ve sitrik asit uygulamaları ile elde edilen tohum yağlarında verim, serbest asitlik ve peroksit sayısı değerleri

Çizelge 4.3. Farklı uygulamalar sonucu renk değerleri ölçümleri

Çizelge 4.4. Soğuk pres ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağ numunelerinde toplam fenol ve DPPH radikal tutucu aktivite değerleri

Çizelge 4.5. Soğuk pres ekstraksiyonu sonucu elde edilen küspe numunelerinde toplam fenol ve DPPH radikal tutucu aktivite değerleri

Çizelge 4.6. Yağ örneklerinin ransimat cihazıyla ölçülmüş indüksiyon zamanı değerleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1. β -glukozidaz ekstraksiyonunda kullanılan elma çekirdekleri

Şekil 3.2. Soğuk pres yağ ekstraksiyonunda kullanılan cihaz.

Şekil 3.3. Çalışma elde edilen soğuk pres keten tohumu yağı ve küspesi

Şekil 3.4. Kabak çekirdeği ve menengiç tohumu soğuk pres yağ ekstraksiyonu

Şekil 3.5. Serbest asitlik analizi için hazırlanmış soğuk pres yağ örnekleri

Şekil 3.6. Toplam fenol miktarının belirlenmesinde kullanılan yöntem şeması

Şekil 3.7. Ransimat metoduna ait şematik ölçüm sistemi

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- a* : (+) kırmızı, (-) yeşil renk değeri
b* : (+) sarı, (-) mavi renk değeri
L* : Parlaklık renk değeri
sa : Saat
kg : Kilogram
g : Gram
mg : Miligram
mL : Mililitre
µl : Mikrolitre
meq : Mili-equivalent (mili eşdeğer)
° C : Santigrad derece

Kısaltmalar

- ALA : α -Linoleik asit
AOCS : American oil chemical society
DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
HPLC : High Performance Liquid Chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
MUFA : Monounsaturated fatty acid (Tekli doymamış yağ asitleri)
PUFA : Polyunsaturated fatty acid (Çoklu doymamış yağ asitleri)
SFA : Saturated fatty acid (Doymuş yağ asitleri)
SYA : Serbest yağ asitliği
TFM : Toplam fenolik bileşen miktarları
OSI : Oksidatif stabilite indeksi

1. GİRİŞ

Son yıllarda, kanser ve kalp rahatsızlıkları dâhil birçok hastalığın önlenmesinde ve yaşlanmayı geciktirmede etkisi olduğu bilinen fenolik bileşen ve antioksidanlar birçok araştırmaya konu olmuştur. Fenolik bileşenler; fenolik asitler, kumarinler, flavonoid bileşikler, lignin ve lignanları içerir. Hidroksisünamik ve hidroksi benzoik asit yapılarına OH ve OCH₃ gruplarının bağlanması ile önemli türevleri olan fenolik asitler oluşur. Antioksidanlar ise vücudu reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi radikallere karşı koruyan bileşenlerdir. Antioksidanların en önemli kaynağı bitkisel besinlerdir. Bitkisel besinler içinde bulunan antioksidanlar fitokimyasallar olarak da bilinir (Güleşçi ve Aygül, 2016). Gıdaların içindeki bu biyoaktif bileşenler, gıdanın cinsine hasat zamanı ve şekline, depolama koşullarına bağlı olarak farklılaşmaktadır (Cornelli, 2009). Gıdalara uygulanan prosesler de kalite, fenolik bileşenler ve antioksidanlar üzerinde etki yapmaktadır. Özellikle bitkisel yağlara uygulanan rafinasyon aşamalarında bu bileşikler büyük oranda zarara uğramaktadır.

Yağlı tohumlar biyoaktif bileşenlerce oldukça zengin olan bir diğer besin kaynağıdır. Direk tüketimleri yaygın olduğu gibi son yıllarda bu tohumların yağları da koruyucu, onarıcı etkileri ve lezzetleri sayesinde ilgi çekmektedir. Yağlı tohumlardan yağ elde etmede kullanılan proseslerin, yağın kalitesi üzerine etkili olduğu bilinmektedir (Siger ve Józefiak, 2016). Uçucu yağ üretiminde ülkemiz üretim açısından elverişli bir konumdadır. Yağ ekstraksiyonunda kullanılan çeşitli yöntemler vardır. Bunlar genel olarak; destilasyon, çözücü-süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve pres yöntemidir. Pres yönteminde, verim diğer yöntemlere göre daha düşüktür, fakat elde edilen yağın kalitesi oldukça yüksektir (Çalikoğlu vd., 2006). Soğuk pres yönteminde tohum yağının elde edilme sıcaklığı 50 °C altında olmalıdır. Düşük verim dezavantajına sahip bu yöntem alınan yağ kalitesi açısından bakıldığında oldukça değerlidir. Alınan verimi artırmak için yağ ekstraksiyonundan önce, yağı alınacak numunelere bazı ön işlemler uygulanması, birçok kombinasyon ile çalışmalarda değerlendirilmiştir. García vd. (2001) yaptıkları çalışmada yağ

ekstraksiyon proseslerine enzim ilavesi, zeytinyağına geçen antioksidan bileşen miktarını artırmıştır.

Yapılan literatür araştırması sonucunda çeşitli ekstraksiyon yöntemlerinde verim ve antioksidan bileşik miktarının artırılmasına yönelik yapılmış ön işlemlerle çalışmalar fazla iken soğuk pres yağların elde edilmesinde ticari enzim ilavesine yönelik yapılmış çalışma yok denecek kadar azdır. Bu tez çalışmasında yapıldığı gibi bitkisel kaynaktan ekstrakte edilen, glikozitleri ve polifenollerin aglikonlarını hidroliz eden enzim desteğinin kullanımına yönelik ise literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması ile literatürdeki boşluğun kapatılarak tüketicilere daha yüksek kalitede soğuk pres yağlarının ulaştırılması aynı zamanda da üreticilerin daha yüksek verimde yağ elde edebilmelerini sağlamak hedeflenmektedir.

1.1. Çalışmanın Amacı ve Önemi

Bu çalışmada, ülkemizde yoğun olarak bulunan kabak, keten ve menengiç yağlı tohumları çalışılmıştır. Kabak çekirdeği yaygın üretimi yapılan ticari değeri yüksek bir yağlı tohumdur. Özellikle kabuksuz kabak çekirdeğinin çiğ hali, türleri arasında en yüksek biyoaktif bileşene sahip türüdür (Nakić vd., 2006). Yine ülkemizde geniş yayılım gösteren menengiç tohumları ekmek yapımından sabuna kadar tüketime açık olan bir yağlı tohumdur. En popüler tüketim şekli ise kahvesidir. Ketan tohumu, yağının yüksek ALA içeriğine sahip olmasıyla ön plana çıkan bir yağlı tohumdur.

Çalışmanın amacı; adı geçen yağlı tohumları bazı ön işlemlerden geçirerek verim ve yağa geçen fenolik miktarı üzerindeki etkisini incelemektir. Bu amaçla yağlı tohumlara ekstraksiyon öncesi, ticari enzim, elma çekirdeklerinden elde edilmiş β -glukozidaz enzimi ve sitrik asit muameleleri yapılmıştır. Bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerden isoflavonlar, şeker fonksiyonel grupları ile konjuge formda bulunurlar. İşlem veya metabolizma sürecinde bu glikozit formlar enzimatik veya kimyasal yol ile aglikonlara dönüşürler. Bu dönüşüm serbest formdaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonunu ve biyoaktifliğini artırabilmektedir (Küçüküseyin, 2012). Bu amaçla yağlı tohum numunelerine sitrik asit ve elma çekirdeklerinden ekstrakte

edilen β -glukozidaz hidrolaz enzimi kullanılmıştır. Hücre duvarını bozan pektinaz kompleksi ticari enzim muamelesi ile de hücre sitoplazmasında bulunan yağ moleküllerinin eldesini kolaylaştırmak amaçlanmıştır.

Yapılan muameleler sonrasında elde edilen yağlar, hiçbir işleme tabi tutulmayan çiğ (kontrol) numuneler ile karşılaştırılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Soğuk Pres Yağlar Hakkında Genel Bilgiler

Sağlıklı beslenme konusunda giderek artan bilinç sayesinde, tüketicilerin soğuk pres yağlara karşı ilgisi oldukça yoğundur. Rafinasyon işlemleri veya herhangi bir ısı işleme tabi tutulmayan bu yağlar biyoaktif bileşenlerce oldukça zengin ve sağlığa faydalı olarak araştırmacılar ile tüketicilerin dikkatini çekmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği'nde “soğuk preslenmiş natürel yağ” ın tanımı; doğrudan tüketime uygun olan, ısı işlem olmaksızın sadece mekanik yöntemle elde edilen yağ şeklindedir (Türk Gıda Kodeksi, 2012). Bu tanıma göre bütün soğuk pres yağlar natürel dir ancak tüm natürel yağlar soğuk pres olma özelliği taşımaz (Matthäus ve Özcan, 2006).

Endüstride yağlı tohumlardan soğuk pres yöntemi ile yağ eldesinde temizleme, kurutma, öğütme ve pres aşamaları uygulanır. Harcanan enerji miktarının az olması, uygulamanın kolay olması, kimyasal ve ısı işlem uygulanmıyor olması, yağ kalitesinin oldukça yüksek olması soğuk pres yönteminin avantajlarıdır. Ancak çözücü yardımıyla yapılan ekstraksiyonlara göre göre verimi oldukça düşüktür (Maier vd., 2009).

Yağın en önemli kalite parametrelerinden biri olan yüksek polifenol içeriği, soğuk pres yöntemiyle, tohumdan yağa bozulmadan geçebilmektedir. Bu yöntem ile yağ çıkarmada, mekanik presleme, hidrolik presleme veya dişli öğütücülerle presleme gibi farklı uygulamalar yapılmaktadır (Sevindik ve Selli, 2016).

“Soğuk pres yağlar” ifadesi genel olarak rafine edilmemiş ve ısı işlem görmemiş yağlar olarak düşünülse de aslında, “ek olarak veya kasten” ısı işleme tabi

tutulmamış demek daha doğru olacaktır. Çünkü uygulama esnasında, yüksek çalışma basınçlarından ve sürtünmeden kaynaklanan ısı oluşumu meydana gelmektedir. Bu nedenle Kodeks Alimentarius “soğuk pres yağlar” için maksimum üretim sıcaklığı belirlememiştir. Ancak yurtdışı mevzuatlara göre “soğuk pres yağlar” için üst limit 50 °C’dir. Bu yağların asıl avantajı biyoaktif bileşenlerin bozulmadan yağa geçmesidir, fakat bununla birlikte verimin düşük olduğu unutulmamalıdır (Nederal vd., 2012).

Endüstride yağlı tohumlardan yağ eldesinde uygulanan ön işlemlerden sonra soğuk pres veya çözücü ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem ile yağlı numuneden pres (basınç) yardımı ile yağ elde edilir. Bazı yağlı tohumlarda birden fazla pres uygulanabilir. İlk preslemede az miktarda fakat en iyi kalitede yağ alınır. Presleme ile bütün yağı almak güçtür, küspe de kayda değer miktarda yağ kalabilir. Verimin yanı sıra, hem insan vücudunda hem de buldukları yağ içerisinde antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşiklerin, büyük kısmı küspede kalmaktadır. Bu bileşiklerin daha yüksek oranda yağa geçişini sağlamak yağın raf ömrünü uzatacağı gibi biyolojik aktivitelerinden dolayı beslenme açısından da yağın değerini artıracaktır (Arslan vd., 2017).

Yağlı tohumlardan yağ elde etmede kullanılan proseslerin, yağın kalitesi üzerine etkili olduğu bilinmektedir (Siger ve Józefiak, 2016). Çörek otu yağının stabilitesi ve randımanı üzerine ekstraksiyon yöntemlerinin etkisinin incelendiği bir araştırmada, soğuk presleme yöntemiyle üretilen çörek otu yağının kalite özelliklerinin durultulma işleminden sonra elde edilen yağa göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bundan dolayı soğuk presleme yöntemine göre üretilen çörek otu tohumu yağının antioksidan özelliklerinin yüksek olduğu, gıdalarda oksidatif stabiliteyi geliştirdiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, soğuk presleme yöntemine göre üretilen çörek otu tohumu uçucu yağının geleneksel olarak üretilen yağa göre daha doğal ve sağlığa faydalı olduğunu göstermiştir (Bulca, 2014).

Yağ verimini ve yağın kalitesini artırmak için ekstraksiyon öncesinde yağlı tohumlara uygulanan bazı ön işlemler mevcuttur. Bunlardan en yaygın olanı ısıl işlem uygulamasıdır. Ancak ısıl işlem bazı yağlarda kalitenin düşmesine ve yağın soğuk pres yağ kapsamından çıkmasına sebep olmaktadır. Uygulanan diğer yöntemlerden bazıları; kavurma, ultrason, mikrodalga, maserasyon ve ışınlamadır

(Şeran, 2011). Yağ kalitesinin artırılmasında etkili olacağı düşünülen bir diğer yöntem ise enzim ilavesidir. Enzimler, gıda endüstrisinde genellikle hücre duvarındaki polimerlere etki ederek meyve suyu, yağ ve şeker yapımında verimi artırmak amacıyla kullanılır. Bunun yanında, enzim kullanımının yüksek fiyatlı bir proses olması önemli bir dezavantajdır. Fakat artık biyoteknoloji alanındaki gelişmeler sayesinde düşük fiyat ve yüksek nitelikli enzim formülasyonları elde edilebilmektedir. Yayımlanan az sayıdaki çalışmada, bitkisel örneklerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda organik çözücüler veya su kullanılan süreçlerde fenolik üretimini arttırmak için enzimlerin uygulanması bildirilmiştir (Laroze vd., 2010). Yağ ekstraksiyon proseslerinde enzim kullanımı, bitkisel hücre duvarını bozarak yüksek miktarda antioksidan bileşik elde edilmesi ve verim artışı sağlamaktadır (García vd., 2001).

Ahududu küspesinden enzimatik hidroliz ile fenolik antioksidanların ekstraksiyonunun çalışıldığı bir çalışmada; uygun fiyatlı, sentetik olmayan ve güvenli antioksidan kaynağı elde etme amacıyla, kullanılmış ahududu katı atıklarından enzim desteği ile antioksidanların alınması amaçlanmıştır. 12 adet ticari enzim kullanılan bu çalışmada ahududu atıklarından elde edilen ekstraktların radikal temizleme ve demir azaltma kabiliyeti sayesinde, gıda, kozmetik ve eczacılık ürünlerinin korunması için kullanılabileceği ifade edilmiştir (García vd., 2001).

Soto vd. (2008) Hodan (borage) tohumlarının soğuk pres yağlarında, antioksidan oranının artırılması için enzim muamelesi yaptıkları bir çalışmada; 45 °C'de, %20 nem koşullarında, enzim karışımı %0.25 olarak (Olivex:Celluclast) 1:1 oranında uygulanmış ve soğuk pres yöntemi ile yağı alınmıştır. Hodan tohumu polifenol içeriği oldukça yüksek bir tohumdur. Çalışma sonucunda, enzim uygulamasının elde edilen biyoaktif bileşenlerin miktarını üç katı oranında artırdığı gözlenmiştir.

Soto vd. (2004) yaptığı bir başka çalışmada ise yine hodan tohumlarından soğuk pres yöntemiyle yağ elde edilmiştir. Soğuk pres yöntemi ile sonda elde edilen ürün değişmeden kalitesini korumaktadır ancak verimi düşük olmaktadır. Geleneksel çözücü yöntemiyle yağ elde etmede %100 oranında yağ verimi sağlanırken soğuk preste %77 verim alınabilmektedir. Bu bağlamda presleme aşamasından önce kullanılan enzimler sayesinde yağ verimini artırmak amaçlanmıştır. 9 farklı ticari enzimin

bireysel ve kombine şekilde uygulanması denenmiştir. Ekstraksiyon sonrası küspede kalan yağ miktarı Soxhlet metodu ile tayin edilmiştir. En iyi sonuçlar Olivex:Celluclast 1:1 oranında karışımının %0.5 E/S uygulanması ile sağlanmış olup %84 verim elde edilmiştir.

Kavurma ve enzim ön muamelelerinin soğuk pres haşhaş tohumları yağının verimi ve bazı özellikleri üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada; 3 tip haşhaş tohumu ile kontrol, kavurma ve enzim muamelesi olarak 3 grup oluşturulmuştur. Enzim ön muamelesi inkübasyon yoluyla uygulanmıştır. Sonuç olarak yağ verimine kavurma ve enzim desteğinin önemli katkısı gözlenmiştir. Ancak enzim ile muamelede serbest asitlik ve peroksit değerinin artması gibi bazı problemler gözlenmiştir (Emir vd., 2015).

Hücre duvarının yapısını bozan enzim kokteylini, üzüm çekirdeği yağı ekstraksiyonunda kullandıkları çalışmalarında; reaksiyon süresinin, pH'ın, sıcaklığın, parçacık boyutunun ve kullanılan enzimlerin uygulama üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimum değerlerin; 24 saat, pH 4, sıcaklık 30-40 °C, parçacık boyutu 1.0-1.4 mm ve enzim konsantrasyonlarının selüloz: 29, proteaz: 1191, ksilanaz: 21, pektinaz: 569 U/g olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak ise, uzun süreli enzim ön muamelesinin yağ ekstraksiyonunu geliştirdiği saptanmıştır (Passos vd., 2009).

Domates püresi üretimi sonucu, kullanılmadan uzaklaştırılan domates kabukları ve çekirdekleri için geri kazanım çalışması yapılan bir araştırmada; domates tohumu yağındaki, önemli bir antioksidan olan likopen içeriğini artırmak için domates kabuklarına enzim destekli ekstraksiyon uygulanmıştır. Soğuk pres domates tohumu yağına, enzim muamelesi yapılmış domates kabuklarından elde edilen oleoresin eklenmiştir. Enzim 25 °C'de 4 saat süren inkübasyon şeklinde uygulanmıştır. Bu uygulama sayesinde düşük sıcaklıkta kısa sürede likopen içeriği yüksek oleoresin ve daha nitelikli tohum yağı elde edilmiştir (Zuorro vd., 2013).

Sulu proseslerin verimini arttırmak amacıyla, yağ salınmasını kolaylaştırmak için enzimler kullanılmıştır. Seçilen enzimler farklı yağlı tohum türleri üzerinde denenmiş, ekstraksiyon verimleri orijinal sulu prosese göre daha yüksek olmuştur (bazı durumlarda % 90'ın üzerinde). Bu enzimler ağırlıklı olarak yağlı tohumların hücre duvarını oluşturan yapısal polisakkaritleri veya hücreyi ve lipit hücre zarını oluşturan proteinleri hidrolize eder (Rosenthal vd., 1996).

Mısır özü örneklerinden elde edilen yağın verimini artırmak için üç farklı ticari enzim (selülaz) kullanılan bir araştırmada; mısır özü numunelerine selülaz enzimleriyle 4 saat boyunca 50 °C sıcaklıkta ve 16 saat boyunca 65 °C sıcaklıkta muamele yapılmıştır. Sonuç olarak enzim uygulanan numunelerden %80 verimle yağ elde edilebilmiştir. Kullanılan numunenin 4 katı oranında madde kullanıldığında ise verim %90'a çıkmıştır. Enzim muamelesi olmadan yalnızca sulu ekstraksiyon yapılan numuneden ise %37 verimle yağ alınabilmiştir. Ayrıca hekzan ile ekstrakte edilmiş mısır özü yağının kalite özelliklerinin enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağla oldukça benzer olduğu ifade edilmiştir (Moreau vd., 2004).

Tobar vd. (2005) yaptıkları Şili şarap enstitüsünün atıklarının değerlendirilmesini amaçlayan çalışmalarında; soğuk pres yöntemi ile yağ eldesinden önce yapılan enzimatik ön işlemin yağ verimine ve küspeden antioksidan kazanılmasına olan etkisi incelenmiştir. Bu işlem için üzüm çekirdeklerine, 3:1 oranında karıştırılan Ultrazyme ve Celluclast enzimleri 45 °C'de 9 saat süresince uygulanmış, daha sonra soğuk pres yöntemiyle yağı alınmıştır. Çalışma sonucunda yağ veriminin %59.4 oranında arttığı saptanmıştır.

2.2. Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Tohumu ve Yağı Hakkında Bilgiler

Menengiç, ormanlık sahalarda doğal olarak yayılış gösteren *Anacardiaceae* familyasından *Pistacia* cinsinin *Pistacia terebinthus* L. türüne ait olan ve tıbbi aromatik özellik gösteren bitki türlerinden birisidir. Bu türün ülkemizde geniş dağılım gösteren alt türlerinden *P. terebinthus* L. subsp. *palaestina* (Boiss.) Engler taksonu, özellikle güney kesimlerde çokça bulunmakta ve “menengiç” adıyla bilinmektedir (Gülsoy vd., 2013).

Pistacia terebinthus L. ağacı, kırmızı-pembe renkte olan olgunlaştığında ise mavi-yeşil renge dönen 4-6 mm büyüklüğünde küre şekilli meyvelere sahiptir. Buldukları yöre halkı tarafından menengiç, melengiç, çedene, çıtlık, bittim gibi farklı isimlerle ifade edilir. Ticari ürün olarak en popüler kullanımı menengiç kahvesi ve bittim sabunudur.

Pistacia cinsinin türleri, kimyasal yapılarında monoterpenler, triterpenoitler, tetrasiklik triterpenoitler, flavonoitler, gallik asit bulunduran diğer fenolikler, sabit ve uçucu yağlar bulundururlar. Bu türler sahip oldukları aromatik kokuları, antimikrobiyal özellikleri, fenolik ve antioksidan bileşiklerce zengin olmaları sayesinde araştırmacıların ilgisini çekerek birçok çalışmaya konu olmuştur (Dalgıç vd., 2011).

14 farklı örnek terebentin (*Pistacia terebinthus* L.) meyvesinden elde edilen yağların kimyasal bileşimlerinin (yağ asitleri, tokoferoller ve steroller) incelendiği bir çalışmada; numunelerin yağ içeriğinin 38.4 g/100 g ile 45.1 g/100 g arasında küçük bir aralıkta değiştiği saptanmıştır. En fazla oranda bulunan yağ asidi %43 ile %51.3 oranıyla oleik asit olmuştur. Aktif bileşik olarak E vitamini miktarı 396.8 ile 517.7 mg/kg arasında değişmiştir. Başlıca izomerler alfa ve gama tokoferolü olup yaklaşık 110 ile 150 mg/kg olarak eşit miktarda bulunmuştur. *P. terebinthus*'un tohum yağı ayrıca bu grubun en çok bulunan bileşeni olan gama-tokotrienol'u içeren farklı tokotriyenleri içerdiği gözlenmiştir. Baskın sterol olarak, yağların sterollerinin toplam miktarının %80'inden fazlasını oluşturan beta-sitosterol tespit edilmiştir. Dikkat çekici miktarlarda bulunan diğer steroller; kampesterol, d-5-avenasterol ve stigmasterol olmuştur (Matthäus ve Özcan, 2006).

Özcan (2004) dietil eterle ekstrakte edilen menengiç yağı bileşenlerini incelediği bir çalışmada, yağ asitleri oranları; laurik, miristik ve araşidik asit %0.1, eikosenoik asit %0.2, linolenik asit %0.6, stearik asit %2, palmitoleik asit %3.4, linoleik asit %19.7, palmitik asit %21.3 ve oleik asit %52.3 olarak verilmiştir.

Elazığ-Harput bölgesinden temin edilen menengiç tohumlarının incelendiği bir çalışmada Soxhlet metoduna göre farklı çözücü türleri kullanılarak tohumların yağ içeriği saptanmıştır. Elde edilen yağın kalitesi üzerinde oldukça belirleyici olan, yağın fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Tohumların yağ içeriği %47 olarak bulunmuştur. GC-FID kullanmak sureti ile yağ asidi bileşimi belirlenmiş ve menengiç yağının %74 oranında doymamış, %26 oranında ise doymuş yağ asidi içerdiği saptanmıştır. Ortalama değer olarak yağın %45.8 oleik, %23.93 linoleik (ω -6), %0.47 linolenik (ω -3), %3.78 palmitoleik, % 24.27 palmitik ve % 1.7 stearik asit

içerdiği tespit edilmiştir. Oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit menengiç yağının ana yağ asitleri olarak belirlenmiştir (Kaya, 2015).

Topçu vd. (2007) menengiç meyvesinin aseton ve metanol ekstraktlarını antioksidan aktivite ve fenolik bileşenler yönünden incelemiş ve DPPH tahlilinde en aktif bileşenlerin apigenin, luteolin, luteolin 7-O-glukozid, quercetin, quercetagenin 3-methyl ether 7-O-glukozid, izoscutelazin 8-O-glukozid ve yeni bir flavon olarak 6'-hidroksihaloetin 3'-metil eter olduğunu tespit etmiştir.

Menengiç meyvesinin yöresel farka bakılmaksızın çekirdeğinin ve kabuğunun ham yağ içeriğinin ve biyoaktif bileşenlerinin incelendiği bir çalışmada, belirgin bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Buna göre; en fazla yağ asidi içeriği 51.2-67.5 g / 100 g aralığında olan tekli doymamış oleik asit olarak bulunmuştur. Başlıca bulunan sterol ise β -sitosterol'dür. Çekirdek ve kabukta tespit edilen farklı tokoller (tokoferoller ve tokotriyoller) ile ilgili olarak, çekirdeğin total sterol ve tokoferol içeriğinin kabuktan daha fazla olduğu ancak kabuğun da çekirdekten daha fazla miktarda total tokotrienol içerdiği saptanmıştır. Bu bulgulara dayanarak hem çekirdek hem de kabuğun biyoaktif bileşikler açısından oldukça değerli olduğu kanısına varılmıştır (Ertaş vd., 2013).

Menengiç, vitamin ve uçucu yağ bileşimi ile antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan nitelikleri sebebiyle halk arasında sağlığa faydalı olarak kullanımı oldukça yaygındır. Araştırmacıların *Pistacia terebinthus* üzerinde yaptığı çalışmalar ile menengicin bir gıda maddesi olarak tüketilmesine olan ilgi artmıştır. Farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen sabit yağların fiziksel ve kimyasal özellikleri, yağ asidi bileşenleri yapılan birçok araştırma ile incelenmiştir.

Menengiç yağ içeriğinin yüksek olmasıyla menengiç tohumları, bitkisel yağ üretiminde önemli bir kaynaktır. Ülkemizde üretim potansiyeli yüksek olan bu yağlı tohumun ticari değerinin yükselmesi için çeşitli tüketim alanları sunulmalıdır. Besin değerinin en az bozulmaya uğradığı uygulama olan soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağının, endüstride kullanılan palm olein gibi yağlara karşı birçok üstünlüğü vardır. Yüksek oleik asit ile protein içeriği hoş koku ve aromasıyla doğrudan

tüketime uygun olmasının yanında, gıda sanayinde menengiç tohumları yağının kullanımı değerlendirilmelidir.

2.3. Kabak Çekirdeği (*Cucurbitaceae pepo* L.) ve Yağı Hakkında bilgiler

Kabak çekirdeği Cucurbitaceae familyasına ait bir türdür. Doku ve gövde şekillerine göre; *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita mixta* olarak sınıflandırılır.

Cucurbita pepo L. ülkemizde yaygın üretilen cins olmakla birlikte ekonomik bakımdan çok değerli olan pumpkin ve suquash türleri, yapısı, meyve rengi ve boyu itibarıyla farklılık gösterir (Paris vd., 2006).

Kabak çekirdeğinin kabuklu veya kabuksuz, tuzlu veya çiğ formda atıştırılabilir olarak tüketimi oldukça yaygındır. İçerdiği “piperazin” maddesi sayesinde antimikrobiyal etki göstererek bağırsak parazitleri üzerinde yok edici etki göstermektedir. Türüne göre %40-60 oranında yağ içerir. Doymamış yağ asitlerinden özellikle oleik ve linoleik asit bakımından zengin olan bu yağ (%50-80) içerdiği biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktivite sayesinde ilgi çeken bir yağ olmuştur.

Kabak çekirdeği ve yağı, içerdikleri birçok mikro ve makro element varlığından dolayı sağlık açısından oldukça değerlidir. Aynı zamanda proteinler, fitosteroller, doymamış yağ asitleri, antioksidan vitaminler (karotenoidler, tokoferoller vb.) ve iz elementleri (çinko vb.) içermesi sayesinde kabul görmüş değerli bir yağdır. Kabak çekirdeği yağının iyi huylu prostat hiperplazisinin tedavisinde destekleyici olarak kullanıldığı bilinen bir gerçektir (Xanthopoulou vd., 2009).

Kabak çekirdeği yağında baskın olarak bulunan yağ asidi esansiyel yağ asitlerinden %35.6-60.8 oranıyla linoleik asittir. Ayrıca bu yağ biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumunun önlenmesinde temel rol oynayan tokoferoller içerir. Ancak tokoferol miktarları yağ elde etme aşamasında uygulanan işleme göre farklılık gösterir. Tokoferol miktarı türden türe değişmekle birlikte 400-700 mg/kg olup en baskın izomer γ -tokoferoldür (Nakić vd., 2006). Tokoferollere ek olarak kabak çekirdeği yağının içerdiği en önemli doğal antioksidanlar polifenollerdir. Gallik asit eşdeğerine göre hesaplanan toplam polifenol içeriği 25-51 mg/kg'dır. HPLC ile

yapılan fenolik tayininde ise tirozol, vanilik asit, kafeik asit, o-kumarik asit ve trans-sinamik asit içerdiği saptanmıştır (Andjelkovic vd., 2010; Haiyan vd., 2007; Tuberoso vd., 2007).

Kavrulmuş ve çiğ olmak üzere kabuklu ve kabuksuz kabak çekirdeği soğuk pres yağlarının oksidatif stabilite ve kimyasal bileşenler bakımından araştırıldığı bir çalışmada; kavrulmuş olan tohumların yağ veriminin çiğ tohumlara nispeten oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca kabuksuz tohumların yağ verimi, kabuklu tohumlardan %9.7 daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Kavrulmuş tohumlardan elde edilmiş yağın, oksidatif stabilitesinin ve içerdiği toplam fenolik bileşenlerin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuca Maillard reaksiyonu sonucu oluşan antioksidanların etki ettiği düşünülmüştür (Neğeral vd., 2012).

Bir terpen türevidir olan skualen ($C_{30}H_{50}$), kabak çekirdeği yağı içinde yer alan önemli biyoaktif bileşenlerden birisidir. Asıl olarak köpek balıklarının karaciğerinde önemli miktarda bulunan bu bileşik ile ilgili kemirgenler üzerinde yapılmış deneysel çalışmalarda, skualen'in kimyasal olarak indüklenen kolon, akciğer ve deri tümör gelişimlerini etkili bir şekilde engelleyebildiği görülmüştür (Nakić vd., 2006).

Kabuksuz kabak çekirdeği türlerinde toplam yağ, toplam fenolik, antioksidan aktivite, mineral içerik ve yağ asidi bileşenlerinin incelendiği bir çalışmada; tohumların 400-540 g/kg oranında yağ içeriğine sahip olduğu bulunmuştur (Procida vd., 2013; Seymen vd., 2016). Koyu yeşil rengi ve güçlü aromasından dolayı yemeklikten ziyade genellikle salatalarda tercih edilen bu yağın, yağ asitleri arasında en büyük oran linoleik asit ve sırasıyla oleik, palmitik ve stearik asittir (Jafari vd., 2012).

Avusturya'nın güney kesimlerinde salata yağı olarak kullanımı yaygın olan kabak çekirdeği yağı yüksek miktarda tokoferol içeriğine sahiptir. Tohumun %50'sini oluşturan yüksek miktarda yağ ve E vitamini sayesinde ilgi çeken bir yağdır. Tokoferol olarak özellikle γ -tokoferol bakımından oldukça zengindir (Murkovic vd., 1996).

Sırbistan'da yetiştirilen 6 farklı kabak çekirdeği (*Cucurbita pepo* L.) numunesinden elde edilen soğuk pres yağların bazı biyoaktif bileşenlerinin içeriği GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Çalışmada yağ asitleri, tokoferoller ve fitosteroller'in miktarı ve içeriği ile skualen'in toplam miktarı belirlenmiştir. Elde

edilen sonuçlara göre; 37.1-43.6 g/100 g tekli doymamış yağ asitleri, 38.03-64.11 mg/100 g toplam tokoferol, 718-897 mg/100 g toplam sterol ve skualen'in 583.2-747 mg/100 g oranlarında bulunduğu tespit edilmiştir (Rabrenović vd., 2014).

Bardaa vd. (2016) yılında fareler ile yaptıkları bir çalışmada kabak çekirdeği yağının yaraları iyileştirme özelliğini incelemiş ve kontrol grubu, ilaç kullanılan ile kabak çekirdeği yağı kullanılan olmak üzere üç farklı grup oluşturmuşlardır. Kabak çekirdeği yağının, biyoaktif bileşen olarak yüksek miktarda tokoferol, yağ asitleri ve fitosterol içermesi sayesinde sağlığa faydalı özelliğinin olduğu düşünülmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden linoleik asit 50.88 g/100 g, tokoferol 280 ppm ve steroller 2086.5 ppm olarak hesaplanmıştır. Araştırma sonucunda kabak çekirdeği yağının tıbbi uygulamalarda kullanılabileceğine işaret etmişlerdir.

Kabak çekirdeği yağının içerdiği fenolik bileşenlerin ve bazı kalite parametrelerinin incelendiği bir çalışmada toplam fenolik içeriği 24.71- 50.93 mg GAE/kg olarak bulunmuştur. Fenoliklerin ayrıntılı analizinde ise tirozol, vanilik asit, vanilin, luteolin ve sinapik asit varlığı tespit edilmiştir. Oksidatif stabilite ortalama 4 saat olarak bulunurken, en kararlı yağ için 5 saat 43 dakika olmuştur. DPPH radikalinin indirgenmesi ile ölçülen maksimum antioksidan kapasitesi % 62, Troloks eşdeğeri ile karşılaştırıldığında 0.16 mM olarak hesaplanmıştır (Andjelkovic vd., 2010).

2.4. Keten Tohumu (*Linum usitatissimum*) ve Yağı Hakkında Bilgiler

Keten tohumu besinsel değerleriyle ön plana çıkan ve fonksiyonel gıda olarak değerlendirilen mavi çiçekli tek yıllık bir kültür bitkisidir. Tohumları 4-6 mm boyutunda, yassı damla şeklinde, kahverengi-kızıl renkte, yağlı ve lezzetlidir. Amerikan ulusal kanser enstitüsüne göre keten, kanser önleyici olarak seçilmiş 6 bitkisel gıdadan birisidir. Kaliteli protein açısından zengin olan keten tohumu flavonoid, lignan ve fenolik asitler gibi fitokimyasalların da doğal kaynağıdır. Keten tohumunun soğuk pres yağı %50 oranında, omega 3 yağ asitlerinden olan α -linolenik asit (ALA) içermektedir.

Keten tohumunun antioksidan, antimikrobiyal ve kanser önleyici gibi biyoaktif fonksiyonları, yapısında bulunan 8-10g/kg oranındaki fenolik asitlerden kaynaklanmaktadır. Bunlardan 5 g/kg'ı esterleşmiş, 3-5 g/kg'ı ise eterleşmiş fenolik asittir. Yapıda bulunan fenolik asit türleri; trans ve cis-sinapik asit (bağlı), trans ve o-kumarik asit (bağlı, yüksek), p-hidroksibenzoik asit (bağlı), vanilik asit (bağlı), transferulik (serbest, yüksek), trans-kafeik asittir (serbest). Yağsız keten tohumu ununda belirlenen fenolik asitler; ferulik asit (10.9 mg/g), klorojenik asit (7,5 mg/g), gallik asit (2,8 mg/g) ve 4-hidroksibenzoik (eser miktarda) asittir. (İşleroğlu vd., 2005; Özkaynak vd., 2017).

Keten tohumunda belirlenen flavonoidler glukozit formda ve 0.30-0.71 g/kg oranında bulunurlar. Bunlar; herbasetin 3,8-O-diglukopinanosit, herbasetin 3,7-O-dimetil eter, kaemferol 3,7-O-diglukopiranosit'dir. Tohum yağında belirlenen fenolik bileşikler ise; mirisetin, kateşin, genistein ve kafeik asit'tir. Bu fenoliklerden mirisetin'in oksidasyona duyarlı olan ALA'e karşı koruyucu olduğu yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur (Michotte vd., 2011).

Wangh vd. (2017) keten tohumunun, lif kısmı ile yağında bulunan sağlığa faydalı yapıları ve fitokimyasal profillerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; secoisolariciresinol diglucoside (SDG) en yüksek oranda bulunan lignan olmuştur. Lignan bileşiklerinin prostat ve meme kanseri riskini azaltabildiği bilinmektedir (Anwar vd., 2013). Toplam fenolik, flavonoid içeriğinde ve antioksidan aktivitesinde

kayda değer bir fark gözlenmemiş üstelik fiber kısmının hücresele antioksidan aktivitesi yağa göre daha yüksek olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında keten tohumu lifininde yağı kadar değerli bir fonksiyonel gıda olarak düşünölebileceği söylenmiştir. Keten tohumu sağlığa faydalı bir besin olması açısından birçok araştırmaya konu olmuştur. Deney hayvanları üzerinde yapılan bu araştırmalar sonucunda keten tohumunun, kolon, meme ve akciğer tümörlerinde azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır. Günlük alınan besin içerisinde 10 g keten tohumu tüketiminin meme kanseri riskini azaltabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca keten tohumu tüketiminin LDL-kolesterol seviyesi ve trombosit agregasyonunu azalttığı bilinmektedir (Coşkun, 2005; Hasler, 2002).

Preslenmiş keten tohumu yağının duyuşal ve oksidatif kalitesinin incelendiği bir çalışmada; keten tohumu gibi yüksek oranda α -linolenik asit içeren yağların, uzun raf ömrü ve yüksek kalitede kalması için en düşük sıcaklıklarda işlenmesi gerektiği ifade edilmiştir. Taze, rafine edilmemiş keten tohumu yağının cezbedici altın rengi, kavruk bir lezzeti ve hoş a giden kokusu vardır. Ancak bu istenilen duyuşal özellikler, düşük tohum kalitesi, uygunsuz işleme veya depolama süreci gibi sebeplerden dolayı oluşmayabilir (Wiesenborn vd., 2005).

Tanska vd. (2016) ticari soğuk pres keten tohumu yağının kalite ve oksidatif stabilitesinin raf ömrü başında ve sonunda incelenmek suretiyle araştırdıkları bir çalışmada; raf ömrü sonunda indüklenme süresinin %9-26 azaldığı, asitliğin %18-40 oranında arttığı ve peroksit değerinin %16-37 oranında arttığı gözlemlenmiştir. Keten tohumu yağı esansiyel yağ asitleri ve biyoaktif bileşenlerce zengin olmasının yanında yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi içermesi nedeniyle işleme ve depolama süreçlerinde oksidasyona oldukça yatkındır. Oksidasyona uğramayı kolaylaştıracak sıcaklık, ışık ve oksijen gibi faktörler bu süreci daha da hızlandırabilir. Oksidasyon sonucunda biyoaktif bileşenler, vitaminler değerini kaybederek toksik forma dönüşebilmekte ve kanserojen etki oluşturabilmektedir. İncelenen soğuk pres keten tohumu örneklerinin yağ asidi içerikleri; %59.34-62.10 oranında çoklu doymamış yağ asidi (PUFA), %27.35-25.01 oranında tekli doymamış yağ asidi (MUFA) ve %13.32-12.90 oranında doymuş yağ asidi (SFA) şeklindedir. Bunlardan ana tekli doymamış yağ asidi %17.39 ile oleik

asit, doymuş yağ asitleri %8.01 palmitik, %5.54 stearik, %0.51 araşidik, %0.22 miristik'tir.

2.5. β -glukozidaz Enzimi

Enzimler, değişikliğe uğramadan reaksiyonları hızlandıran protein yapıli molekülledir. Doğal buldukları ortamlar dışında da optimum ortam şartları sağlandığı sürece aktif etki gösterebilirler. Bu nedenle biyoteknolojinin gelişmesiyle birlikte, enzimlerin buldukları dokuların ve hücre kısımlarının saptanması, biyokimyasal reaksiyonlardaki rollerinin belirlenmesi önemli bulgular haline gelmiştir. Enzimler çeşitli saflaştırma metodlarıyla elde edilip çeşitli kimyasal reaksiyonların hızlandırılmasında kullanılmaktadır.

“Sistematik adı β -D-glukozid glukohidrolaz (EC 3.2.1.21) olan β -glukozidazlar, oligosakkaritlerdeki veya diğer glukoz bileşiklerindeki β -glukozid bağlarını hidroliz edebilen enzimlerdir” (Ergöçen, 2013).

β -glukozidazlar birçok organelde ve neredeyse bakterilerden memelilere, çeşitli fonksiyonlara sahip tüm canlı sistemlerde bulunur. Yapılan araştırmalar sonucu birçok meyve çekirdeğinde (incir, kayısı, üzüm, papaya gibi) ve ekmek mayasında yüksek oran ve aktifliğe sahip β -glukozidaz varlığı saptanmıştır (Sirilun vd., 2016).

β -glukozidazlar bitkilerde çeşitli temel biyolojik reaksiyonlarda rol alırlar. Bunlardan bazıları patojen ve otçullara karşı bitkiyi savunma, koku salma, konjuge fitohormon aktivasyonunu sağlama, çimlenme sırasında hücre duvarı bozunması gibi oldukça önemli görevlerdir. Gıda detoksifikasyon uygulamalarında, biyokütle dönüşümünde, şarap ve meyve sularındaki aromayı güçlendirmek için kullanılması sayesinde son yirmi yıldır β -glukozidaz'a olan ilgi oldukça artmıştır. Yüksek stabilite göstermelerinden dolayı oldukça yaygın kullanıma sahiptirler. Eczacılık, deterjan sektörü, gıda ve kozmetikte kullanılan ticari değeri yüksek çeşitli sentetik glikozitlerin üretiminde kullanılabilir. Bunlara ilaveten portakal suyundaki acılık veren bileşenlerin hidrolizinde ve üzüm suyundaki aromayı güçlendirmede kullanılırlar (Schmidt vd., 2011). Mikrobiyal β -glukozidaz, glukoz tarafından inhibe edilirken, bitki tohumlarından gelen bitkisel β -glukozidazlar, glikozitlerin sentezinde

veya biyokütle dönüşümünde oldukça kullanışlıdır. Çünkü bu enzimlerin yüksek glukoz toleransı vardır. Her yıl gıda endüstrisinde meyve tohumları çoğunlukla atık olarak veya hayvan yemi olarak uzaklaştırılmaktadır. Bu atıklardan elde edilecek β -glukozidazların biyokatalizör kaynağı olarak kullanımı sayesinde atıklar önemli bir değer kazanacaktır. Son yıllarda, çalışmalarda bir grup meyve tohumunda (prune) yüksek aktivite gösteren yeni β -glukozidazların varlığı tespit edilmiştir. Kuru erik (*Prune*) ve erik (*Prune domestica* L.) çekirdeklerinin içerdikleri β -glukozidaz'ın, saflaştırılması ve karakterizasyon çalışmalarının yürütüldüğü bu araştırma sonucunda prune çekirdeklerinin yeni ve yüksek aktivite gösteren bir β -glukozidaz kaynağı olduğu belirtilmiştir (Chen vd., 2012)

Birçok meyve çekirdeği arasından, yeni ve umut verici bir β -glukozidaz kaynağı olarak elma, şeftali, badem çekirdeklerinin ticari β -glukozidaz enzimine karşı çalışıldığı bir çalışmada; elma ve şeftali çekirdekleri kuru maddesi, en uygun enzim kaynağı olarak belirlenmiştir. Enzimlerin sentetik olarak üretilmesi, çok mekanizmalı zor bir süreç olmasının yanında maliyetinin de yüksek olması doğal yoldan elde edilebilecek enzim arayışını doğurmuştur. En yaygın kullanılan ticari β -glukozidaz'ın (almond β -glucosidase), uzun süreli kullanıma uygun olmama, düşük stabilite ve tekrar kullanılamama gibi bazı eksiklikleri vardır.

Çimlenme sırasında glikozitleri hidroliz eden bu enzim, glukoz oranı yüksek olan meyvelerin çekirdeklerinde oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Buradan yola çıkarak meyvelerin kullanıldığı proseslerden oluşan atıkların değerlendirilmesi için bir seçenek sunulmuş olmaktadır. Dünya genelinde yıllık meyve hasılatının oldukça yüksek olmasıyla birlikte elma üretimi 2002 yılında 56.2 milyon metrik ton olmuştur ve bu üretimin %20'si meyve suyu üretiminde kullanılmıştır. Bunun sonucu çekirdek ve meyve püresinin de içinde bulunduğu oldukça fazla miktarda atık ortaya çıkmaktadır. Eğer bu atıklar enzim kaynağı olarak kullanılabilirse, sadece atıklara bir değer kazandırılmış olmaz bunun yanında kataliz reaksiyonların maliyeti de oldukça azaltılmış olur. Elma çekirdeklerinden izole edilen β -glukozidaz, yüksek aktivite, geniş substrat etkinliği ve yüksek stabilite göstermiştir. Ayrıca ticari β -glukozidaz enziminden farklı olarak yüksek sıcaklıklardaki uygulamalarda stabilitesini koruması ve yaklaşık bir ay boyunca inhibe olmadan tekrar tekrar kullanılabilmesi önemli bir avantajıdır (Yu vd., 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan yağlı tohumlar ve elma çekirdekleri

Çalışmada yağlı tohum olarak menengiç, kabak çekirdeği ve keten tohumu kullanılmıştır. Menengiç ve keten tohumu Konya ilinin merkez aktar ve baharatçılar çarşısından, kabak çekirdeği ise Ürgüp yerli kabuksuz kabak hasatı olup Antik Kuruyemiş'ten (İstanbul) temin edilmiştir.

Elma çekirdekleri için Konya ilinin merkez toptancı meyve-sebze halinden 150 kg süper-golden cinsi elma alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

Santrifüj cihazı (Awel Industries, Centrifuge MF 20, France), hızlı yağ tayin cihazı (VELP SCIENTIFICA Ser 148 Series), renk analiz cihazı (Minolta Chromameter CR 400 Minolta Co., Osaka, Japan), spektrofotometre (Biochrom, Libra S22, Cambridge-İngiltere), öğütücü (Arsel endüstriyel mutfak öğütücüsü), soğuk pres ekstraktörü (Karaerler NF 500, Türkiye), Ransimat cihazı (Metrohm, model 892)

3.2.2. Örnek hazırlama

Yapılan ön denemeler sonucunda kullanılacak enzim, sitrik asit ve elma çekirdeği miktarları belirlenmiştir. Ticari enzim ve sitrik asit uygulaması %1 oranında, elma çekirdeği uygulaması ise %10 oranında tampon çözelti varlığında uygulanmıştır. Öğütücüde 2-4 mm boyutuna kadar öğütülen yağlı tohumlar 500'er gramlık 12 homojen gruba bölünerek numune partileri hazırlanmıştır. Numuneler 30-50 cm'lik metal plakalara 0.5 mm kalınlıkta yayılmış ve muameleler uygulanmıştır.

Daha sonra numuneler 60 °C’de 3 saat boyunca inkübe edilmiştir (Emir vd., 2015). İnkübatörden alınan numunelerin oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra soğuk pres cihazı ile yağı alınmıştır. Küspe ve yağ örnekleri hava almayacak şekilde kapatılıp analizlerin yapılacağı zamana kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3. Tohum yağlarının ekstraksiyonu aşamasında tohumlara uygulanan işlem basamakları

Uygulamalar	Uygulama isimleri	Yapılan işlemler
1	Kontrol	Soğuk pres
2	Ticari enzim*	Öğütme + Enzim (%1.0) + Tampon çözelti (NaH ₂ PO ₄) + inkübasyon (3 sa, 60 °C) + Soğuk pres
3	Sitrik asit	Öğütme + Asit (%1.0) + Tampon çözelti (NaH ₂ PO ₄) + inkübasyon (3 sa, 60 °C) + Soğuk pres
4	β-glukozidaz*	Öğütme + Elma ç. (%10) + Tampon çözelti (NaH ₂ PO ₄) + inkübasyon (3 sa, 60 °C) + Soğuk pres

*Ticari enzim: SEBMax Olive, β-glukozidaz: elma çekirdeğinden ekstrakte edilen enzim.

3.2.3. Örneklerin analizlere hazırlanması

3.2.3.1. Tohumların öğütülmesi

Yağlı tohumlar, yapılan uygulamaların etki yüzeyini artırmak amacıyla yaklaşık 2-4 mm boyutuna kadar öğütülmüştür. Öğütme işlemleri Arsel marka endüstriyel mutfak öğütücüsü (220 V, 0.8 kg kapasite, 0.3 kW 9000 d/9 dk motor gücü) ile yapılmıştır. Tohumlarda, sitoplazma içinde bulunan yağ zerrecilerinin çıkışını kolaylaştıracak, kütle transferi için yolun kısalmasını sağlayacak şekilde yüzey alanı ve şekli oluşturmak amacıyla öğütme yapılmıştır. Yağlı tohumlar, kabuklarıyla birlikte ekstraksiyona tabi tutulduğunda yağdan kabuğa migrasyon gerçekleşir. Bunu önlemek için yüksek miktarda tohumun işlendiği proseslerde kabuklar tohumdan ayrılmalıdır (Sidar, 2011). Bu çalışmada uygulama yapılan tohumlardan kabak çekirdeği, kabuksuz olarak işlenmiştir. Keten tohumları boyutu itibariyle kabukları ayrılmamış, menengiç tohumları ise uygulama miktarlarının az olması nedeniyle kabuğa geçen yağ göz ardı edilmiştir.

3.2.3.2. Enzim uygulaması

Yapılan literatür araştırması sonucu enzim destekli yağ ekstraksiyonunda enzim konsantrasyonlarının %0.01 ile %1.25 oranlarında değiştiği bulunmuştur. Buna göre optimum enzim miktarı %1 olarak belirlenmiştir. 500 g numune için 5 g enzim tartılıp tampon çözelti varlığında tohumlara ilave edilmiştir. Ticari enzim olarak SEBMax Olive (zeytin yağı ekstraksiyonu için kullanılan pektinaz kompleks enzimi) kullanılmıştır. Bu enzim *Aspergillus aculeatus* tarafından üretilen pektolitik, selülotik ve hemiselülotik bir enzim karışımıdır (Advanced Enzyme Technologies Ltd., India).

3.2.3.3. Asit uygulaması

Glikozitlerin ve fenoliklerin hidrolizinde asit kullanımı yaygındır. Genellikle bu işlem için HCl kullanılmaktadır (Watson vd., 2014). Bu çalışmada asit uygulamasında üretici için erişimi kolay, ekonomik ve gıdalarda kullanımı yaygın olan sitrik asit tercih edilmiştir. %1 ve %2 olarak yapılan ön denemeler ışığında %1 oranında asit ilavesinin yağa geçen fenolik miktarının artışında daha etkili olduğu görülmüştür. Bu nedenle 500 g için 5 g sitrik asit tartılarak 25 ml ultra saf suda çözülmüştür. Elde edilen sitrik asit çözeltisi öğütülmüş tohumlara tampon varlığında spreylenecek uygulanmıştır.

3.2.3.4. β -glukozidaz uygulaması

150 kg elmadan yaklaşık 326 g elma çekirdeği elde edilmiştir. Kahve öğütücüsünden geçirilen çekirdekler, 3 kez etil asetat ve 2 kez de aseton ile yıkanarak vakum altında süzlmüştür (Yu vd., 2007). Aseton ile birlikte bazı fenolik bileşen ve lipitlerin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Uygulama kolaylığı ve maliyetin yükselmemesi için β -glukozidaz eldesinde yalnızca izolasyon aşaması uygulanmıştır. İşlem sonucunda filtre kâğıdında kalan katı ekstrakt, asetonun buharlaşarak uzaklaşması için 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir (Ergöçen, 2013). Asetonu

uzaklaştırılan elma çekirdekleri, kullanım vaktine kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Uygulama miktarı, Yu vd. (2007) çalışmalarına göre, ticari β -glukozidaz enziminin 10 katı olacak şekilde hesaplanmıştır. Buna göre %10 oranında (500 g numune/50 g elma çekirdeği) Na_2HPO_4 tampon çözeltisi varlığında yağlı tohumlara direk karıştırmak suretiyle uygulanmıştır.



Şekil 3.1. β -glukozidaz ekstraksiyonunda kullanılan elma çekirdekleri

3.2.3.5. Soğuk pres ile yağ elde edilmesi

Soğuk pres yağ ekstraktörü (Karaerler NF 500, Türkiye), Vidal pres, nominal kapasitesi 1-30 kg tohum/saat'tir ve 1.5 kW, 220 Volt motor ile değişken hızda çalışmaktadır. Keten tohumu için uygun hız 20 Hz, kabak çekirdeği ve menengiç için uygun hız 10-15 Hz olarak belirlenmiştir. Cihaz başlığı ekstraksiyon öncesi rezistans ile ısıtılmış ve yağ çıkış sıcaklığının 50 °C'yi geçmemesi sağlanmıştır. Üç farklı yağlı tohum örneği yağa işlenmiştir. Elde edilen yağ ve pres keki +4 °C'de karanlıkta buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Soğuk pres yağ ekstraksiyonunda kullanılan cihaz.



Şekil 3.3. Çalışma elde edilen soğuk pres keten tohumu yağı ve küsesi



Şekil 3.4. Kabak çekirdeği ve menengiç tohumu soğuk pres yağ ekstraksiyonu

3.2.4. Analizler

3.2.4.1. Yağ verimlerinin belirlenmesi

Yağ verimi deneme planında yer alan her bir uygulama için, ekstraksiyon sonunda elde edilen yağ ağırlığının başlangıçta alınan tohum ağırlığına oranı şeklinde hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon verimi 100 kg yağlı tohumdan soğuk pres ile elde edilen yağın miktarıdır. Verim şu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\text{Ekstraksiyon verimi} = (A_{\text{yağ}} / A_{\text{tohum}}) \cdot 100$$

Burada $A_{\text{yağ}}$ ekstrakte edilen yağın kütlesi (kg), A_{tohum} ise uygulamadaki yağlı tohumun kütlesi (kg).

3.2.4.2. Toplam yağ miktarı tayini

Yağlı tohumların toplam yağ içerikleri, öğütülmüş örnekler kullanılarak Randall metoduna göre VELP SCIENTIFICA Ser 148 Series yağ tayin cihazı ile belirlenmiştir. Bu işlem için cihaz kartuşlarına 2.5 g öğütülmüş tohumlar tartılmış, 1 saat n-hekzan ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda ekstraksiyon kaplarındaki solvent uzaklaştırılarak tartılmış ve tohumdaki yağ içeriği yüzde olarak belirlenmiştir. Analiz 2 paralel olarak yapılmıştır.

3.2.4.2. Renk analizi (L^* , a^* , b^*)

Renk değerleri Minolta Chromameter CR 400 (Minolta Co., Osaka, Japan) cihazıyla ölçülmüştür. Cihaz standart beyaz renkli bir kalibrasyon yüzeyine karşı kalibre edilmiş ve CIE Standard Illuminant C'ye göre ayarlanmıştır. Elde edilen yağlar 4 mL'lik spektrofotometre küvetlerine konulmuş, renk değerleri cihazın başlığının küvete dokundurulması ile her örnek için en az üç ölçüm olacak şekilde kaydedilmiştir. L^* rengin parlaklık koordinatını verir ve 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişir. a^* koordinatı pozitif iken kırmızılık, negatif iken yeşillik derecesini, b^* koordinatı pozitif iken sarılık, negatif iken mavilik derecesini gösterir (Pomeranz ve Meloan, 1994).

3.2.4.3. Serbest yağ asitliği analizi

Serbest yağ asitliği, trigliserit yapıya bağlı olmayıp, serbest halde bulunan yağ asitlerini ifade eder. Bu tür yağ asitleri ham yağlarda fazla oranda bulunurlar ancak yağların rafine edilmeleriyle belirli bir düzeye indirgenirler. Serbest yağ asitliği; 1 g yağın nötralleşmesi için gerekli potasyum hidroksitin (KOH) mg olarak ağırlığı şeklinde ifade edilir. SYA değeri, yağ için önemli kalite parametrelerinden biridir.

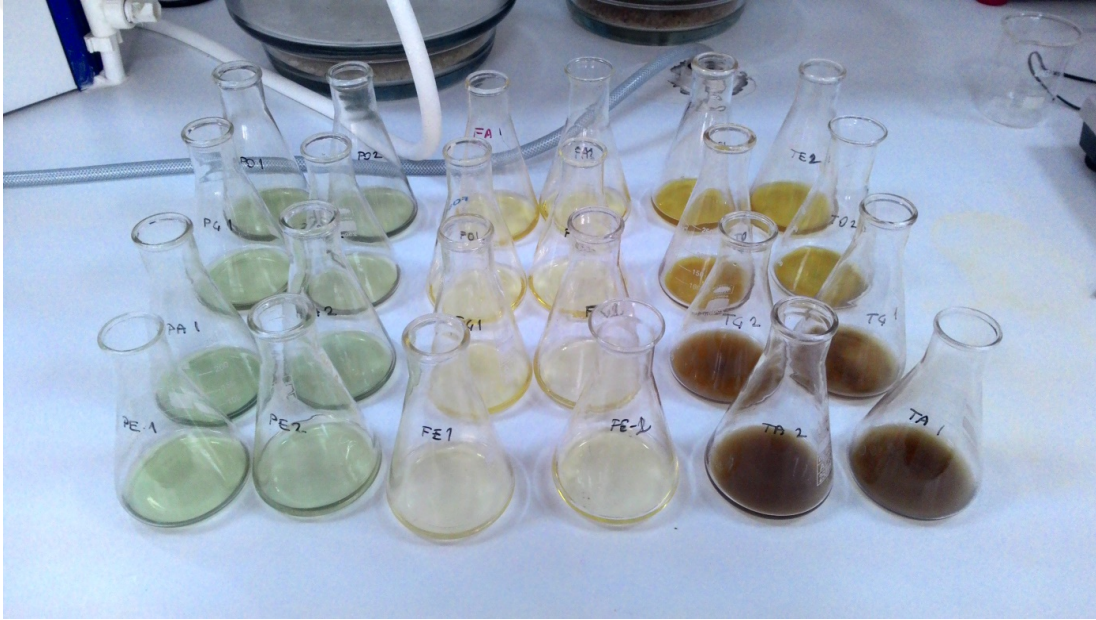
Bu çalışmada SYA analizi, Anonymous 1989 (AOCS Official Method Ca5a-40)'a göre yapılmıştır. Yağ örnekleri yaklaşık 2 g olarak erlenlere tartılmış ve 75 mL % 95'lik etil alkol-dietil eter karışımında (1:1 v/v) çözülmüştür. 3-4 damla

fenolfitalein indikatörü (belirteç) damlatılarak 0.1 N etanollü KOH çözeltisi ile renk pembe oluncaya kadar (30 saniye bu renk kalmalı) titre edilmiştir.

Örneklerin mg KOH cinsinden yağ asitliği şu formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$SYA = (V/M) \times 5.6 \text{ mg KOH/g yağ}$$

V: Titrasyonda harcanan KOH çözeltisinin mL'si, M: Tartılan örnek ağırlığı (g).



Şekil 3.5. Serbest asitlik analizi için hazırlanmış soğuk pres yağ örnekleri (P:kabak, F: keten, T: menengiç)

3.2.4.4. Peroksit sayısı analizi

Peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarı olup, yağın 1 kg'ında bulunan peroksit oksijeninin miliekivalen gram ($\text{meq}[\text{O}_2]\text{kg}^{-1}[\text{yağ}]$) olarak miktarıdır (EEC,1991). Yağlar depolanmaları sırasında; ışık, sıcaklık, metal iyonları ve oksijen varlığında bozulmaya uğrarlar. Oksijen etkisi ayrıca yağ asitlerini parçalayıp daha küçük molekül yapısındaki yağ asitlerinin miktarının artmasına da neden olur. Bu nedenle depolanan yağlarda, peroksit sayısı analizi yapılarak oksidasyon derecesi

hakkında bilgi sahibi olunur. Analiz, yağın asetik asit: kloroform varlığında ve karanlık ortamda potasyum iyodür çözeltisi ile reaksiyona girmesi temeline dayanır.

Peroksit değeri, Anonymous 1989 (AOCS Official Method Cd8-53)'a göre yapılmıştır. Örneklerden yaklaşık 2 g tartılıp 250 mL'lik erlenlere tartılmış, üzerine 25 mL asetik asit:kloroform (3:2 v/v) ilave edilmiştir. Kloroform ile yağın çözünmesi, asetik asit ile de reaksiyon ortamının uygun hale gelmesi sağlanmıştır. Ardından 1 mL doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi ilave edilerek, sürekli ve hızlı bir şekilde karıştırılmış ve 5 dk boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda 75 mL distile su ilave edilerek reaksiyon bitirilmiştir. İndikatör olarak nişasta çözeltisinden 3-4 damla ilave edilerek, örnekler 0.002 N sodyum tiosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir.

Peroksit değeri şu formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$(\text{meq O}_2/\text{kg yağ}) = [(S-B) \times N \times 1000] / M$$

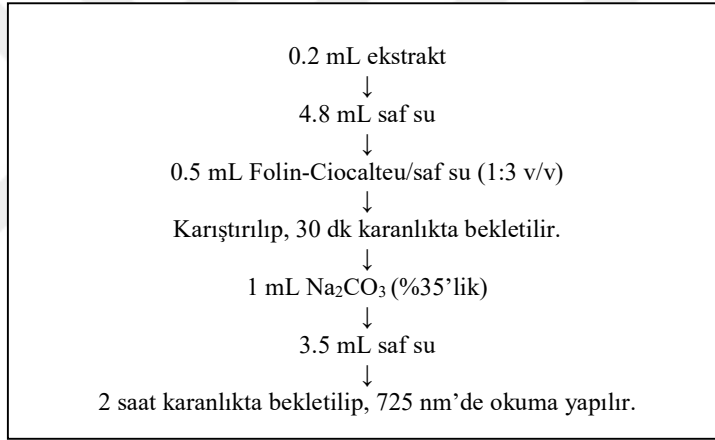
S: Titrasyonda harcanan sodyum tiosülfat çözeltisinin mL'si, B: Kör (şahit) için harcanan sodyum tiosülfat çözeltisinin mL'si, N: Sodyum tiosülfat çözeltisinin normalitesi, M: Tartılan örnek miktarı kütlesi (g)'dir.

3.2.4.5. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini için hem pres keki hem de yağlardan elde edilen metanolik ekstraktlar kullanılmıştır. Singleton and Rossi (1965)'e ait Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE) şeklinde toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Yağ örneklerinden 6 g tartılmış, 3 mL hekzanda çözülmüş ve fenolik maddelerin ekstraksiyonu için 6 mL metanol/su (80:20 v/v) ilavesi yapılarak 2 dk boyunca vortekslenmiştir. Hekzan ve metanol/su fazları birbirinden 3000 rpm'de 5 dk santrifüjleme ile ayrılmıştır. Ayırma hunisine alınarak faz ayrımı oluşması beklenmiştir. Hekzanlı kısım uzaklaştırılarak metanolik faz alınmıştır. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra elde edilen metanolik fazların solventi azot evaporatörü vasıtasıyla uçurulmuştur. 18 mL'den 2.5 mL'ye yoğunlaştırılan

metanolik fazlar analiz yapılma anına kadar buzdolabında saklanmıştır (Singleton vd., 1965).

Toplam fenolik madde miktarı tayini için ekstraktlardan uygun konsantrasyonlarda deney tüpüne alınmış, hacimleri ultra saf su ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. 0.5 mL Folin-Ciocalteu (FCR, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$)/saf su (1:3 v/v) ayracı eklenerek karıştırılmış ve 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda 1 mL sodyum karbonat çözeltisi (%35'lik) ve 3.5 mL saf su ilave edilerek 2 saat boyunca tekrar karanlıkta bekletilmiştir. 2 saat sonunda 725 nm'de spektrofotometrede okuma yapılmıştır.



Şekil 3.6. Toplam fenol miktarının belirlenmesinde kullanılan yöntem şeması

3.2.4.6. DPPH serbest radikal tutucu etkinin belirlenmesi

DPPH radikal tutucu etki analizinde stabil serbest radikallere karşı tohum pres keki ve yağı antioksidanlarının, zamana ve doza bağlı reaksiyon kinetikleri ölçülmüştür (Roginsky ve Lissi, 2005).

Küspe örneklerinden metanolik ekstrakt elde etmek için; küspe örneklerinden 10 g erlenlere tartılarak üzerlerine 100 mL metanol/su (80:20 v/v) çözeltisi eklenmiştir. 2 saat boyunca 250 rpm'de çalkalanmıştır. Çalkalama sonunda süpernatantlar alınarak 10000 rpm'de 10 dk santrifüje tabi tutulmuştur. Bu işlem 2 kez tekrarlanarak süpernatantlar filtre edilmiş ve 40 °C'de rotary evaporatörde 15 mL miktarına kadar yoğunlaştırılmıştır.

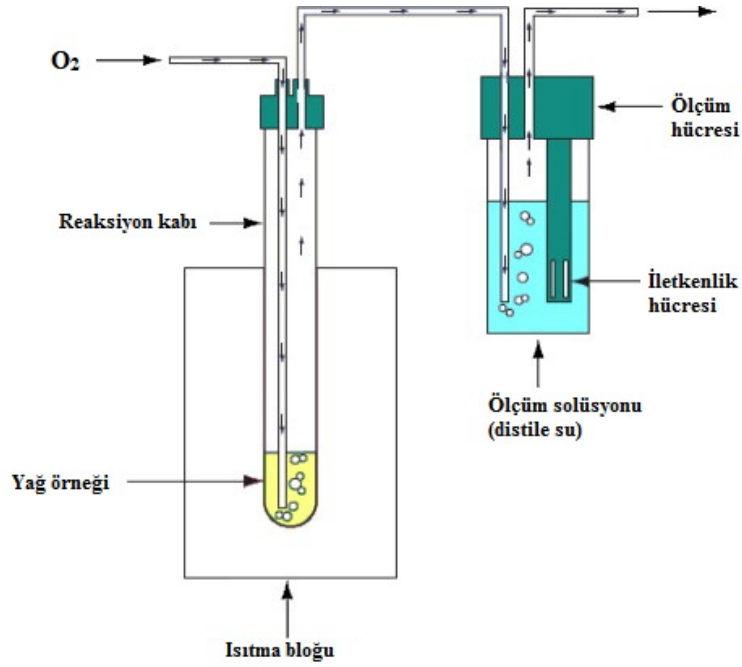
Yağ ve küspeden elde edilen metanolik ekstraktlar DPPH serbest radikal tutucu etkinin belirlenmesinde de kullanılmıştır. Bu analiz için ekstraktlar uygun konsantrasyonlarda deney tüpüne alınmış ve buffer çözeltisi (Tris-HCl) ile hacmi 1 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerlerine 2 mL metanollü DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 30dk bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbanlarındaki değişim 517 nm'de spektrofotometre vasıtasıyla okunmuştur. Analiz sonuçları DPPH radikalinin başlangıç konsantrasyonunun % azalması üzerinden hesaplanmıştır (Doğan vd., 2017).

$$\text{Yüzde inhibisyon (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

Burada; A_0 : kontrol absorbanı, A_1 : örnek absorbanı

3.2.4.7. Oksidatif stabilitenin ransimat metoduyla belirlenmesi

Ransimat metoduyla numune 50-220 °C arasında belirlenen bir sıcaklıkta hava akımına maruz bırakılır. Hava akımı sayesinde uçucu oksidasyon ürünleri (örneğin formik asit) ölçüm kabına aktararak ölçüm solüsyonuna (ultra saf su) absorbe olur. Ölçüm solüsyonunun iletkenliği probalar ile sürekli ölçülerek "oksidasyon periyodu" adıyla bilinen bir oksidasyon eğrisi elde edilir. Ölçülen veriler cihaza bağlı bulunan bir bilgisayar yazılımı ile veri tabanına kaydedilir. Yazılımın değerlendirme algoritması, ransimat eğrisinin infleksiyon noktasını, dolayısıyla da indüksiyon zamanını (oksidlenme stabilitesi indeksi, OSI) otomatik olarak belirler. Aynı zamanda iletkenlikte kesin bir değişim meydana gelene kadar geçen süre olan kararlılık zamanı da belirlenir.



Şekil 3.7. Ransimat metoduna ait şematik ölçüm sistemi (Jain ve Sharma, 2011)

Ölçümlerde kullanılan 892 Professional Rancimat cihazı ile hem saf formda katı ve sıvı yağların hem de yağ içeren gıda ve kozmetiklerin oksidasyon kararlılığı belirlenebilir. AOCS Cd 12b-92 ve ISO 6886 de dâhil olmak üzere standartlarla uyumludur. Cihaz kontrolü, sonuç değerlendirme ve veri yönetimi için StabNet 1.0 adlı yazılım kullanılır. Sekiz adede kadar eş zamanlı numune analizi yapılabilir ve her bir numune pozisyonu ayrı ayrı ve doğrudan başlatılabilir.

Ölçümler için belirlenen sıcaklık genellikle 120 °C'dir. Bu tez çalışmasında da ısıtma bloklarının sıcaklığı olarak belirlenen değer 120 °C olmuştur. 20 L/h gaz akış hızında 3 g numune ve 60 mL ultra saf su ile ölçüm yapılmıştır. Ölçümler 3 paralel olarak tamamlanmıştır (Gorjanović vd., 2011; Anwar vd., 2013).

3.2.5. İstatistiki analizler

Analizler, 12 örnekten üç tekerrür ve üç paralel halinde 108 numuneden yapılmış olup, sonuçlar ortalama değerleri ve standart sapmaları ile rapor edilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur; farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır (Zolman, 1993). İstatistik analizler İstatistik analizi parametrik ve non-parametrik metotlar uygulanarak yapılacaktır. "General linear model multivariate analysis" varyans analizi uygulanarak çeşite bağlı farklar ortaya konmuştur. Ortalamalar arası farklar önemli bulunduğu Duncan toplu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Analizler SPSS 10.0 SPSS for Windows (v.16) İstatistik programı kullanılarak yapılmış olup önem seviyesi $P \leq 0.05$ olarak verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmada yağlı tohumlara, ticari enzim (SEBMax Olive), β -glukozidaz (elma çekirdeğinden ekstrakte edilen enzim) ve asit (sitrik asit) ön muamele olarak uygulanmış olup elde edilen yağların verimi, kimyasal ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Bulunan sonuçlar ön muameleler uygulanmamış kontrol tohum numunelerinden alınan sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

4.1. Toplam Yağ Miktarı Tayinine İlişkin Bulgular

Hiçbir ön muamele yapılmamış kabak, keten ve menengiç yağlı tohumları ile yapılan toplam yağ miktarı tayininde elde edilen veriler Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol, kabak çekirdeği, keten tohumu ve menengiç yağlı tohumlarının toplam yağ miktarı değerleri

Numune (kontrol)	Toplam yağ (%)	Soğuk pres verim (%)
Kabak çekirdeği	46.97 \pm 0.76*	7.52 \pm 0.34
Keten tohumu	20.17 \pm 1.10	16.00 \pm 0.49
Menengiç	43.86 \pm 0.14	26.30 \pm 0.69

*ortalama \pm standart sapma

Kabak çekirdeği kontrol numunelerinden elde edilen toplam yağ miktarı %46.97 olurken, soğuk pres yöntemi ile verim %7.51 olmuştur. Nakić vd. (2006) yaptıkları çalışmada kabuksuz kabak çekirdeği için yağ miktarını %44.74 olarak vermişlerdir. Neđeral vd. (2012) ise çalışmalarında kabuksuz ve kabuklu kabak çekirdeği için yağ miktarını sırasıyla %44.6 ile %34.9 olarak bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada soğuk pres ile elde edilen kabak çekirdeği yağı veriminin önemli ölçüde düşük olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda bulunan sonuçlar bu verilere yakındır. Keten tohumu kontrol numunelerinden elde edilen toplam yağ miktarı %20.17 olurken, soğuk presten alınan yağ verimi %16.0 olmuştur. Anwar vd. (2013) çalışmasında solvent ile bulunan yağ miktarı %42.80 olurken soğuk pres ile %32.50

verim elde edilmiştir. Bu değerlerle kıyaslandığında keten tohumu açısından, mevcut çalışmada daha düşük verim değerleri elde edilmiştir.

Çalışmamızda, menengiç yağlı tohumunda tayin edilen toplam yağ miktarı %43.85'tir. Türkoğlu vd. (2017) yaptıkları çalışmada bu sonucu doğrulamıştır. Geçgel ve Arıcı (2009) 15 farklı lokasyonlu menengiç tohumunu inceledikleri çalışmada ortalama değer olarak %41.91 elde etmişlerdir. Bu çalışmada soğuk pres yöntemiyle alınan çiğ menengiç tohumu yağ verimi %26.29 olarak bulunmuştur.

4.2. Verim, Serbest Yağ Asitliği ve Peroksit Sayısına İlişkin Bulgular

Çizelge 4.2'de yağlı tohumlara uygulanan ön işlemlerin yağların verim, serbest asitlik ve peroksit sayısı değerleri üzerine etkileri verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ticari enzim, β -glukozidaz ve sitrik asit uygulamaları ile elde edilen tohum yağlarında verim, serbest asitlik ve peroksit sayısı değerleri

Ön muamele	Yağlı tohum		
	Kabak Çekirdeği	Keten Tohumu	Menengiç
Verim (%)			
Kontrol	7.52 \pm 0.34 ⁱ c C	16.00 \pm 0.49 c** B	26.30 \pm 0.69 a A*
Sitrik asit	22.58 \pm 0.80 a A	16.40 \pm 0.33 c C	20.46 \pm 0.44 b B
Ticari enzim	20.07 \pm 1.07 b B	24.23 \pm 0.20 a A	20.73 \pm 0.92 b B
β -glukozidaz	22.92 \pm 0.80 a A	20.44 \pm 0.36 b AB	19.39 \pm 1.80 b B
Serbest yağ asitliği (mg KOH/g)			
Kontrol	1.95 \pm 0.46 B	2.14 \pm 0.13 ab ⁱⁱ B	3.91 \pm 1.00 b A
Sitrik asit	1.58 \pm 0.27 B	2.13 \pm 0.52 ab B	7.05 \pm 0.47 b A
Ticari enzim	2.04 \pm 0.58 B	2.88 \pm 0.26 a B	11.98 \pm 2.77 a A
β -glukozidaz	1.58 \pm 0.35 B	1.77 \pm 0.35 b B	5.47 \pm 0.36 b A
Peroksit sayısı (meq O₂ kg⁻¹)			
Kontrol	2.35 \pm 0.26 c B	1.51 \pm 0.79 b B	4.79 \pm 0.23 a A
Sitrik asit	5.79 \pm 0.67 a A	1.99 \pm 0.59 ab C	3.68 \pm 0.39 b B
Ticari enzim	3.77 \pm 0.92 b	2.53 \pm 0.23 ab	3.49 \pm 0.24 b
β -glukozidaz	4.80 \pm 0.20 ab A	3.27 \pm 0.63 a B	4.61 \pm 0.41 a A

Ticari enzim: SEBMax Olive, β -glukozidaz: Elma çekirdeğinden ekstrakte edilmiş enzim

ⁱ ortalama \pm standart sapma

ⁱⁱ Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05).

*Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar tohumlar arasındaki farkı göstermektedir.

**Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar muameleler arasındaki farkı göstermektedir.

Uygulanan işlemlerin, kontrol numunelerine göre elde edilen yağ verimi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Sitrik asit muamelesi ile kabak çekirdeği yağı

verimi, kontrol numunesine kıyasla %15.06 oranında daha fazla bulunmuştur. Keten tohumu yağı verimi, sitrik asit muamelesiyle kontrol numunesine benzer değer gösterirken, menengiç tohumu yağında verim, kontrol numunesi göre %5.84 oranında daha az olmuştur. Ticari enzim muamelesi sonucu verim kabak çekirdeği yağında %12.55, keten tohumu yağında %8.23 daha yüksek oranda gerçekleşirken, menengiç yağı verimi kontrol numunesine kıyasla %6.91 daha az olmuştur. β -glukozidaz muamelesi ile verim kontrol numunesine kıyasla kabak çekirdeği yağında %15.40, keten tohumu yağında %4.44 daha fazla, menengiç yağında ise verim %6.91 daha az elde edilmiştir. Sitrik asit ve β -glukozidaz muamelesinin kabak çekirdeği yağı verimi için benzer etki gösterdiği bulunmuştur. Menengiç numunelerine yapılan ilavelerin verim üzerine etkileri benzer olmuştur. Kabak çekirdeği kontrol numunesinin oldukça düşük yağ verimi verdiği görülmüştür. Neğeral vd. (2012) işlem görmemiş kabak çekirdeği yağı veriminin düşük olduğunu çalışmalarında belirtmiştir. Anwar vd. (2013) çalışmalarında enzim destekli keten tohumu soğuk pres yağını incelemiş ve üç farklı enzim kullanmışlardır. Enzim eklenmiş soğuk pres verimi ortalama değeri %36.5 olarak verilmiştir. Literatürde menengiç tohumundan soğuk pres yağ elde edilmesine dair veri bulunamamıştır.

Çizelge 4.2'de yer alan diğer kalite parametrelerinden serbest asitliğe bakıldığında; mg KOH/g yağ cinsinden belirlenen asit sayısının ticari enzim uygulaması ile keten ve menengiç tohum numunelerinde en yüksek değerlerin alınmasına neden olduğu görülmüştür. Sitrik asit ve β -glukozidaz muamelesi kabak çekirdeği yağında aynı ve en düşük SYA miktarını vermiştir. Diğer muameleler sonucu elde edilen SYA değerleri kontrole benzer bulunmuştur. Gorjanović vd. (2011) yaptıkları çalışmada üç farklı lokasyondan toplanan çiğ kabuksuz kabak çekirdeği soğuk pres yağının SYA ortalama değeri 1.21 mg olarak verilmiştir. Bu tez çalışmasında söz konusu değer 2.1 mg (% oleik asit cinsinden 0.98) olarak bulunmuştur. Arslan vd. (2017) yaptıkları çalışmada ise çiğ numune değerini %0.26-0.27 şeklinde elde etmişlerdir. Enzim eklenmiş keten tohumu soğuk pres yağının incelendiği bir çalışmada SYA 1.0-1.15 % oleik asit aralığında olup en büyük değer enzim ilaveli numunede (%1.12) görülmüştür. Solvent ekstraksiyonu ile elde edilen numune (%1.0), çiğ numune (%1.0) ile eşit SYA oranı vermiştir (Anwar vd., 2013).

Literatürde solvent ekstraksiyonu ile elde edilmiş menengiç yağı için SYA miktarı 1.52-4.8 mg aralığında değişmektedir (Geçgel ve Arıcı, 2009).

Çalışmada elde edilen bulgular, Bitki Adı İle Anılan Yağlar Tebliği'ne göre incelendiğinde soğuk preslenmiş yağlarda asit sayısı için belirlenen 4.0 mg değerinin (%2 oleik asit) (Türk Gıda Kodeksi, 2012) bazı uygulamalar için aşıldığı görülmektedir. Menengiç uygulamasında yapılan sitrik asit, ticari enzim ve β -glukozidaz muameleleri sonucu SYA miktarının tebliğde belirtilen üst sınırı aştığı görülmüştür. Bu durumun oluşmasında, inkübasyon sıcaklığı ve süresinin menengiç tohumları üzerinde etkili olduğu düşünülmüştür.

Peroksit sayısı, sitrik asit ve ticari enzim muameleleri sonucu kabak çekirdeği yağı ve keten tohumu yağında kontrol numunesine göre daha yüksek, menengiç yağında daha az bulunmuştur. β -glukozidaz muamelesi ile peroksit sayısı, kontrol numunesine kıyasla kabak çekirdeği ve keten tohumu yağında daha yüksek, menengiç yağında kontrole yakın bulunmuştur.

(Türk Gıda Kodeksi, 2012) Peroksit değeri açısından bakıldığında, bütün numune sonuçlarının tebliğe uygun olduğu görülmüştür. Peroksit sayısının sınır değeri soğuk preslenmiş yağlarda en çok 15 miliekivalen aktif oksijen/kg yağ olarak yer almaktadır. Sonuçlar incelendiğinde en düşük ve en yüksek peroksit değerleri sırasıyla 1.51 ve 5.79 meqO₂/kg olarak bulunmuştur.

Literatürde çiğ kabuksuz kabak çekirdeği yağının peroksit sayısı için bulunan değer 1.91 meqO₂/kg'dır. Kabuklu için ise 2.27 meqO₂/kg'dır (Gorjanović vd., 2011). Vujasinovic vd. (2010) yaptıkları çalışmada ise kabuklu ve kabuksuz tohumlardan oluşturulan paçalın soğuk pres yağı için peroksit değeri 2.99 meqO₂/kg olarak verilmiştir. Bu tez çalışmasında peroksit değeri için daha yüksek değerler bulunmuştur. Soğuk pres kabak çekirdeği yağının fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi üzerine yapılmış bir diğer çalışmada, çiğ numuneden alınan yağın peroksit değeri 3.10 ile 3.60 meqO₂/kg aralığındadır (Arslan vd., 2017). Çiğ numune için olan bu değerler, çalışmada hesaplanan değerden (2.34 meqO₂/kg) daha yüksektir. Anwar vd. (2013) yaptığı çalışmada çiğ soğuk pres keten tohumu yağının peroksit değerini 2.35, solvent ekstraksiyonu yoluyla alınan yağın 3.34, enzim destekli soğuk pres yağının ise ortalama 2.1 meqO₂/kg değerinde olduğunu ifade etmiştir. Geçgel ve Arıcı (2008)'de yaptığı 15 farklı menengiç örneğinin incelendiği

Çalışmada rnekler n kurutma işlemine tabi tutularak soxhlet yöntemi ile yağları çıkarılmıştır. Aynı çalışmada peroksit değerinin 0.45-0.76 meqO₂/kg aralığında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada ise menengiç tohumunun soğuk pres uygulamaları için peroksit değeri 3.48-4.78 meqO₂/kg aralığında değişmiştir.

4.3. Renk Analizine İlişkin Bulgular

Çalışmada yağlı tohum örneklerinden elde edilen yağlarda tespit edilen renk (L*, a*, b*) değerleri izelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı uygulamalar sonucu renk değerleri ölçümleri

Ön muamele	Yağlı tohum		
	Kabak çekirdeği	Keten tohumu	Menengiç
L*			
Kontrol	25.64 ± 0.22 ⁱ B*	32.48 ± 0.22 A	26.00 ± 0.06 ab ⁱⁱ B
Sitrik asit	25.64 ± 0.22 B	32.19 ± 0.65 A	25.40 ± 0.27 b B
Ticari enzim	25.84 ± 0.24	32.92 ± 0.92	26.31 ± 0.58 ab
β-glukozidaz	25.64 ± 0.22 B	31.46 ± 1.67 A	26.68 ± 0.44 a B
a*			
Kontrol	1.78 ± 0.09 b** A	-1.09 ± 0.08 b C	1.14 ± 0.12 b B
Sitrik asit	1.78 ± 0.09 b A	-0.59 ± 0.04 a C	0.87 ± 0.05 c B
Ticari enzim	2.67 ± 0.04 a A	-0.96 ± 0.06 b C	1.00 ± 0.07 bc B
β-glukozidaz	1.78 ± 0.09 b A	-1.13 ± 0.15 b C	1.46 ± 0.08 a B
b*			
Kontrol	-3.52 ± 0.10 C	8.16 ± 0.46 A	-1.14 ± 0.52 a B
Sitrik asit	-3.52 ± 0.10 C	7.75 ± 0.42 A	-2.96 ± 0.12 b B
Ticari enzim	-3.62 ± 0.06 B	8.43 ± 0.12 A	-2.88 ± 0.03 b B
β-glukozidaz	-3.52 ± 0.10 C	7.90 ± 0.71 A	-1.00 ± 0.23 a B

Ticari enzim: SEBMax Olive, β-glukozidaz: Elma çekirdeğinden ekstrakte edilmiş enzim

□ ortalama ± standart sapma

□□ Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05).

*Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar tohumlar arasındaki farkı göstermektedir.

**Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar muameleler arasındaki farkı göstermektedir.

Tohumlara yapılan ön muameleler kabak çekirdeği ve keten tohumu için L* ve b* değerlerinde benzer sonuçlar vermiştir. Sitrik asit muamelesi ile kabak çekirdeği yağında kontrole göre bir değişim olmazken, keten tohumu yağı yeşillik değeri ve

menengiç yağı kırmızılık değeri daha az, menengiç yağı mavilik değeri daha fazla olmuştur. Ticari enzim muamelesinde kabak çekirdeği yağı rengi kontrole kıyasla kırmızılaşmıştır (a^*), keten tohumu ve menengiç yağı a^* değerleri kontrol numunesiyle benzer değerler vermiştir. Menengiç yağı mavilik değeri ise ticari enzim ilavesiyle artmıştır. β -glukozidaz muamelesinde kabak çekirdeği ve keten tohumu L^* , a^* ve b^* değerlerinde kontrole göre değişim olmazken, menengiç yağı L^* ve a^* değerleri daha yüksek bulunmuştur.

4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteye İlişkin Bulgular

Tohum yağlarının toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/kg ekstrakt) ve DPPH radikal tutucu aktiviteleri (% inhibisyon) analizler bölümünde belirtilen metotlara göre incelenmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Soğuk pres ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağ numunelerinde toplam fenol ve DPPH radikal tutucu aktivite değerleri

Ön muamele	Yağ		
	Kabak çekirdeği	Keten tohumu	Menengiç
Toplam Fenolik (mg GAE/kg)			
Kontrol	77.87 ± 1.17 a** B	12.03 ± 2.66 b C	91.67 ± 6.72 b A
Sitrik asit	36.97 ± 10.27 b B	36.53 ± 5.23 a B	316.40 ± 41.06 a A
Ticari enzim	44.03 ± 12.62 b B	40.47 ± 11.45 a B	319.33 ± 15.13 a A
β-glukozidaz	37.87 ± 8.64 b	11.83 ± 2.46 b	61.07 ± 4.00 b
DPPH (% inhibisyon)			
Kontrol	61.58 ± 0.43 ⁱ a B*	30.84 ± 0.63 ab ⁱⁱ C	74.55 ± 7.83 b A
Sitrik asit	31.09 ± 0.49 b B	31.09 ± 1.87 ab B	100.15 ± 0.14 a A
Ticari enzim	30.55 ± 1.17 b B	32.04 ± 1.69 a B	91.10 ± 5.24 a A
β-glukozidaz	31.79 ± 2.14 b B	28.01 ± 0.86 b C	61.12 ± 1.07 c A

Ticari enzim: SEBMax Olive, β-glukozidaz: Elma çekirdeğinden ekstrakte edilmiş enzim

□ ortalama ± standart sapma

□□ Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05).

*Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar tohumlar arasındaki farkı göstermektedir.

**Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar muameleler arasındaki farkı göstermektedir.

Çizelge 4.5. Soğuk pres ekstraksiyonu sonucu elde edilen küspe numunelerinde toplam fenol ve DPPH radikal tutucu aktivite değerleri

Ön muamele	Küspe		
	Kabak çekirdeği	Keten tohumu	Menengiç
Toplam Fenolik (mg GAE/kg)			
Kontrol	826.07 ± 63.88 ⁱ a B*	1081.92 ± 13.16 b B	2407.99 ± 254.04 a A
Sitrik asit	596.85 ± 111.71 b** C	1223.16 ± 87.17 b B	1724.37 ± 293.16 b A
Ticari enzim	834.14 ± 22.45 a B	1703.39 ± 87.43 a A	1748.59 ± 102.39 b A
β-glukozidaz	667.88 ± 34.82 b B	1580.71 ± 41.90 a A	1524.21 ± 73.46 b A
DPPH (% inhibisyon)			
Kontrol	75.2 ± 4.04 B	52.77 ± 1.93 C	98.24 ± 1.59 A
Sitrik asit	65.69 ± 8.55 B	50.64 ± 4.25 C	97.92 ± 2.66 A
Ticari enzim	64.23 ± 6.68 B	53.37 ± 2.22 C	98.18 ± 1.08 A
β-glukozidaz	63.43 ± 7.22 B	49.53 ± 4.48 C	99.33 ± 1.02 A

Ticari enzim: SEBMax Olive, β-glukozidaz: Elma çekirdeğinden ekstrakte edilmiş enzim

□ ortalama ± standart sapma

□□ Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05).

*Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar tohumlar arasındaki farkı göstermektedir.

**Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar muameleler arasındaki farkı göstermektedir.

Esterlerin, bitkisel glikozitlerin ve polimerik doğal bileşenlerin hidrolizi, analizleri basitleştirmek için uygulanması gereken bir işlemdir. Hidroliz için asit kullanımı, fenolik asit esterlerinden, fenolik asitlerin ve flavonoidlerden glikozitlerin analizi için geleneksel bir yaklaşımdır. Asidik hidroliz farklı koşullar, farklı reaksiyon süreleri ve farklı sıcaklıklarda çalışılmıştır. Genellikle bu işlem için gıda örneklerine metanol veya sulu metanol ortamında HCl uygulanır. Reaksiyon süreleri 30 dakika ile 1 saat aralığında değişmektedir. Bitkisel gıdalarda konjuge formda oldukça fazla fenolik bileşen bulunur. Bu fenolikler alkali hidrolizi sonucu serbest forma geçerler.

Enzimatik hidroliz ise asit hidrolizasyonuna alternatif olarak uygulanan bir diğer yöntemdir. Karbonhidrat bağlarını hidroliz eden enzimler olan; glukozidazlar, pektinazlar, selülozlar ve amilazlar enzimatik hidroliz için kullanılan enzim türlerinden bazılarıdır (Adlard vd., 2011). Bu bağlamda Çizelge 4.4’de görülen sitrik asit ve ticari enzim muameleleri sonucu daha fazla alınan toplam fenolik bileşen miktarının, serbest forma geçen biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bulunan değerleri, ön muamele türüne göre ayrı ayrı inceleyecek olursak, sitrik asit ve ticari enzim muamelelerinde değerler kontrol numunesine kıyasla benzer olup kabak çekirdeğinde 40.9 mg GAE/kg daha az, keten tohumu ve menengiç numunelerinde sırasıyla 24.5-224.7 mg GAE/kg daha fazladır. Andjelkovic vd. (2010) çiğ kabak çekirdeği yağını inceledikleri çalışmalarında toplam fenol içeriğini 24.71-50.93 mg GAE/kg olarak bulmuşlardır. Kontrol numunesine göre daha düşük TFM görülmesinin nedeni uygulama sırasında tohumun geçirdiği işlemler düşünülmüştür. β -glukozidaz muamelesi ile kabak çekirdeğinde kontrole göre daha az TFM, keten tohumu ve menengiçte kontrol ile benzer değerler alınmıştır.

Üç ticari enzim muamelesi ile soğuk pres keten tohumu yağının çalışıldığı araştırmada toplam fenol miktarları şu şekildedir; solvent çözücü ile 5.20, Viscozyme L ile 10.50, Feedzyme ile 9.70, Kemzyme ile 8.61 ve kontrol numunesi 6.21 mg GAE/100 g (Anwar vd. 2013).

Menengiç yağı numunelerinden sitrik asit ve ticari enzim muamelesi benzer yüksek fenol içeriği göstererek, sırasıyla 316.40 ile 319.33 mg GAE/kg değerlerini vermiştir. Durmaz ve Gökmen’in (2011) yaptıkları çalışmada menengiç tohumlarından solvent ekstraksiyonu ile yağ örnekleri hazırlanmış ve kavurma sürelerinin antioksidan ve fenolik bileşen miktarına etkisi incelenmiştir. Kavrulmamış menengiç tohumlarından elde edilen yağın toplam fenol içeriği 7.01 μ g GAE/mL olarak verilmiştir.

DPPH radikal tutucu etkinin izlendiği antioksidan analizi sonucu %inhibisyon değerleri sitrik asit ilavesi ile kabak çekirdeğinde kontrole kıyasla %30.49 daha düşük aktivite gösterirken, keten tohumunda kontrole benzer, menengiçte ise kontrolden %25.6 daha yüksek inhibisyon değeri vermiştir. Ticari enzim muamelesiyle, kontrol numunesine göre kabak çekirdeğinde daha az, keten ve

menengiç tohumunda sırasıyla %1.2-16.55 daha fazla aktivite görülmüştür. β -glukozidaz ilavesi ile üç yağlı tohum DPPH değerlerinde kontrole kıyasla daha düşük radikal tutucu aktivite ölçülmüştür.

Literatürde kabuksuz kabak çekirdeği soğuk pres yağı için DPPH aktivite değeri %38.25 ile 57.39 arasında yer almaktadır (Gorjanović vd., 2011). Çalışmada bulunan değerler bu bilgileri doğrular niteliktedir. Keten tohumu için enzim destekli soğuk pres çalışmasında DPPH %inhibisyon değerleri enzim çeşidine göre %43.01 ile 50.01 aralığında değişmektedir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan enzim Viscozym L olmuştur. Bu tez çalışmasında da ticari SEBMax Olive enziminin uygulandığı numunenin DPPH değeri keten uygulamaları arasında en yüksek değere sahiptir.

Menengiç numunelerine bakıldığında sitrik asit muamelesinin 30 dk sonunda bütün DPPH radikallerini tutucu etki gösterdiği görülmüştür. Aynı şekilde ticari enzim kullanılan muamele de %91.09 etki ile yüksek antioksidan etki göstermiştir. En düşük değer ise %61.12 ile β -glukozidaz muamelesi olmuştur. Menengiç metanolik ekstraktlarının antioksidan ve toplam fenol değerlerinin incelendiği çalışmada DPPH değeri 4.90 μ g trolox eşdeğeri/ mL olarak verilmiştir (Durmaz ve Gökmen, 2011).

4.5. Oksidatif Stabiliteye İlişkin Bulgular

Oksitlenme stabilite indeksi (OSI) olarak da bilinen indüksiyon zamanının belirlendiği ransimat metodu sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.6'da yer almaktadır.

Çizelge 4.6. Yağ örneklerinin ransimat cihazıyla ölçülmüş indüksiyon zamanı değerleri

Ön muamele	İndüksiyon Zamanı (saat)		
	Kabak çekirdeği	Keten tohumu	Menengiç
Kontrol	6.05 ± 1.22 ⁱ B*	0.44 ± 0.31 C	8.27 ± 0.57 b** A
Sitrik asit	5.34 ± 0.53 B	0.46 ± 0.26 C	9.12 ± 0.39 b A
Ticari enzim	4.85 ± 0.30 B	0.50 ± 0.31 C	11.12 ± 0.79 a A
β-glukozidaz	5.00 ± 0.37 B	0.75 ± 0.38 C	6.18 ± 0.32 c A

Ticari enzim: SEBMax Olive, β-glukozidaz: Elma çekirdeğinden ekstrakte edilmiş enzim

ⁱ ortalama ± standart sapma

^{□□} Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05).

*Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar tohumlar arasındaki farkı göstermektedir.

**Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar muameleler arasındaki farkı göstermektedir.

Yağların oksidatif stabilitesi içerdikleri yağ asitleriyle ilişki gösterir; oleik asit içeriği ile pozitif, linolenik ve linoleik asit içeriği ile de negatif bir korelasyona sahiptir. Kabak, keten ve menengiç yağlı tohumları arasından en yüksek indüksiyon zamanına sahip olan tohum yağı 11.12 sa ile menengiç olmuştur. En düşük bulunan değer ise 0.45 sa ile keten tohumu yağıdır. Bu sonucun görülmesinde keten tohumunun yüksek linolenik, menengicin ise yüksek oleik asit içeriği etkili olmuştur.

Ön muameleler sonucu OSI değerleri üzerinde görülen etkiler kabak çekirdeği ve keten tohumu yağları için benzer olmuştur. Menengiç tohumu yağında ise sitrik asit muamelesi kontrole benzer sonuç verirken, ticari enzim muamelesinde indüksiyon zamanı daha fazla, β-glukozidaz muamelesinde daha az olmuştur.

Çalışmada kabak çekirdeği yağı indüksiyon zamanları 4.85-5.00-5.34-6.05 sa olmuştur. Kabak çekirdeği yağı OSI için yapılan literatürde ki çalışmalarda kabuksuz

tohum yağlarının kabuklu tohumlara göre daha yüksek indüksiyon zamanına sahip olduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada kabuksuz tohum soğuk pres yağı için OSI 100 °C’de 24.1 sa olarak verilmiştir (Neğeral vd., 2012). Arslan vd. (2017) yaptıkları bir çalışmada ise 120 °C’de 20 L/h(sa) gaz akışında çiğ kabak çekirdeği soğuk pres yağı için OSI değerleri 6.46 ile 7.71 sa aralığında değişmektedir. Bu değerler ile mevcut çalışmada yapılan kontrol numunesi sonuçları uyusmaktadır.

Keten tohumu soğuk pres yağında yapılan uygulamada OSI değerleri 0.44-0.46-0.50-0.75 sa olarak elde edilmiştir. Enzim eklenmiş keten tohumu yağının özelliklerinin incelendiği Anwar vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada indüksiyon zamanları solvent ile (1.0 sa)< Çiğ (1.22 sa)< Feedzym ile (1.25 sa)< Kenzyme ile (1.30 sa)< Viscozyme L ile (1.44 sa) olarak sıralanmıştır. Bu çalışmada olduğu gibi mevcut tez çalışmasında da enzim kullanılarak (β -glukozidaz ve ticari enzim) yağı alınan keten tohumu numuneleri daha uzun sürede indüklenmiştir.

Menengiç yağı numunelerinde OSI değerleri 6.18-8.27-9.12-11.12 saattir. İndüksiyon zamanı (saat) büyükten küçüğe doğru ticari enzim (11.2)> sitrik asit (9.12) \approx kontrol (8.27)> β -glukozidaz (6.17) şeklinde sıralanmaktadır. Literatürde menengiç yağı için kıyaslama yapılabilecek tayin edilmiş OSI değerleri bulunmamaktadır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Muameleler kontrol numuneleriyle kıyaslandığında;

Asit muamelesi: kabak çekirdeği yağı verimini %15.6 oranında daha fazladır. Keten tohumu verimi kontrol ile benzer değer verirken, asit muamelesi ile menengiç tohumu yağı verimi diğer muamelelerde de olduğu gibi kontrol numunesine kıyasla daha azdır.

Serbest yağ asitliği değerlerine bakıldığında sitrik asit muamelesiyle yağ numunelerinde kontrole göre bir değişim görülmemiştir.

Peroksit sayısı ise asit muamelesiyle kabak çekirdeğinde daha fazla, menengiç tohumunda daha azdır. Keten tohumu yağının peroksit değerleri kontrole yakındır.

Sitrik asit muamelesi kabak çekirdeği renk değerleri üzerinde bir değişime neden olmazken, keten tohumu a* değerinde ve menengiç tohumu L*, a*, b* değerlerinde farklı sonuçlar vermiştir.

Toplam fenolik madde tayini ve antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında asit muamelesiyle değerler kabak çekirdeğinde daha düşük görülürken, keten tohumu ve menengiç numunelerinde daha yüksek gözlenmiştir. İçerdiği fenolik bileşen yapılarına göre muamele etkilerinin değişebileceği göz önünde bulundurulursa daha sonraki çalışmalarda kabak çekirdeği yağının içerdiği fenolik bileşenler HPLC ile incelenip sitrik asit muamelesinin etkisi daha ayrıntılı ortaya konabilecektir. Keten tohumu ve menengiç yağlarında asit ile hidroliz kontrole göre fenolik bileşenlerin daha yüksek oranda alınmasını sağlamıştır. Hidrolize uğrayan glikozit formdaki polifenollerin yağa geçişi kolaylaştığı için sitrik asit muamelesi sonucu TFM'da artış görüldüğü düşünülmüştür.

Sitrik asit muamelesiyle DPPH radikal tutucu aktivite kabak çekirdeğinde kontrol numunesine göre daha az olurken diğer muamele örnekleriyle benzer değerler vermiştir. Keten tohumunda kontrol numunesine benzer sonuçlar alınmıştır. Menengiç tohumu yağında ise radikal tutucu aktivite sitrik asit ilavesiyle kontrole göre daha fazladır.

Oksidatif stabilite üzerine sitrik asit muamelesinin etkisi incelendiğinde; menengiç yağı indüksiyon zamanı kontrole göre daha yüksektir. Kabak ve keten tohumunda değerler kontrole numunesine benzerdir.

Ticari enzim muamelesi: Pektolitik bir enzim kompleksi olan SEBMax Olive ticari enzimi kullanımı ile kabak çekirdeği ve keten tohumunda kontrole göre daha yüksek verim sağlanmıştır. Hücre duvarını parçalayarak yağ geçişini kolaylaştıran bu enzim sayesinde yüksek verim ve fenolik madde içeriğine sahip soğuk pres yağlar elde edilmiştir. Menengiç tohumu için ise verim kontrole kıyasla daha az olmuştur. Bu durumun nedeni olarak işlem gören yağlı tohum numunesinin kontrol numunesine göre proses sırasında yağ kaybı geçirmesi olarak düşünülmektedir. Serbest yağ asitliği değerleri ticari enzim ilavesiyle keten tohumunda bir fark oluşturmazken, menengiç ve keten tohumu yağının SYA oranı daha fazla olmuştur. Peroksit sayısında keten tohumu ve kabak çekirdeği yağında kontrole göre daha yüksek, menengiç yağında ise daha düşük peroksit değerleri alınmıştır. Renk analizine bakıldığında ticari enzim ilavesi ile kabak çekirdeği yağı kırmızılık derecesi daha yüksektir. Menengiç yağında ise kontrole göre kırmızılık daha az, mavilik daha fazladır.

Toplam fenolik madde miktarlarında genel olarak daha yüksek değerler alınmasını sağlasa da kabak çekirdeği için, kontrole göre diğer muamelelerde de olduğu gibi düşük değerler gözlenmiştir. Ancak keten tohumu ve menengiç için en yüksek TFM görülen muameleler ticari enzim ve sitrik asit ilaveleridir. Hem hücre duvarını parçalayıcı hem de pektinaz özelliği ile glikozitleri hidroliz edici olmasıyla verim ve kalite üzerinde olumlu etkiler ortaya çıkarmıştır. DPPH radikal tutucu aktivite artan fenolik bileşenlerle uyumlu olarak ticari enzim numunelerinde nispeten daha yüksektir. Oksidatif stabilite değerleri için menengiçte ticari enzim kullanımı yağı daha kararlı hale getirmiştir.

Ticari enzim kullanımı verim ve toplam fenolik madde içeriği gibi yağda istenen önemli özelliklere olumlu yönde etki etmesine rağmen yağ numunelerinde serbest yağ asidi oranının yükselmesine neden olmuştur. Aynı zamanda sitrik asit ilavesi de verim ve fenolik bileşenler üzerinde etkili olurken serbest asitlik ve peroksit değerlerini nispeten daha az etkilemiştir. İlerde yapılacak çalışmalar için asit

ve enzimin kombine kullanımı veya farklı substrat etkinliğindeki enzimlerin kullanımı ile soğuk pres yağların fonksiyonel özellikleri geliştirilmeye çalışılabilir.

β -glukozidaz muamelesi: kabak çekirdeği ve keten tohumunda verim kontrole göre daha yüksektir. Serbest yağ asitliği kontrol numunesine göre kabak çekirdeği ve keten tohumu yağında daha azdır. Peroksit sayısı kabak çekirdeği ve keten tohumu yağında daha fazla olurken menengiç yağında kontrole göre önemli bir değişim göstermemiştir. β -glukozidaz muamelesinin renk analizine olan etkisine bakıldığında kabak çekirdeği ve keten tohumu için kontrol ile benzer değerler bulunmuş, menengiç yağında ise parlaklık ve kırmızılık değerleri daha fazla olmuştur. Yağda bulunan toplam fenolik madde miktarına hidrolaz grubu enzimi olan β -glukozidaz muamelesinin etkisi keten tohumu ve menengiç yağları için kontrole benzer, kabak çekirdeği yağı için daha düşük bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Adlard, E, Waksmundzka, H, Sherma J (2011). *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis* (74). Complementary Index.
- Andjelkovic, M., Van Camp, J., Trawka, A. ve Verhé, R. (2010). Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(2), 208–217. doi:10.1002/ejlt.200900021
- Anwar, F., Zreen, Z., Sultana, B. ve Jamil, A. (2013). Enzyme-aided cold pressing of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): Enhancement in yield, quality and phenolics of the oil. *Grasas y Aceites*, 64(5), 463–471. doi:10.3989/gya.132212
- Arslan, F. N., Akin, G. ve Yılmaz, İ. (2017). Physicochemical characteristics, pesticide residue and aflatoxin contamination of cold pressed pumpkin seed (*cucurbita pepo* L.) oils from central Anatolia region of Turkey. *Anadolu university journal of science and technology a - Applied Sciences and Engineering*, 1–1. doi:10.18038/aubtda.286649
- Bardaa, S., Ben Halima, N., Aloui, F., Ben Mansour, R., Jabeur, H., Bouaziz, M. ve Sahnoun, Z. (2016). Oil from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds: evaluation of its functional properties on wound healing in rats. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 73. doi:10.1186/s12944-016-0237-0
- Bulca, S. (2014). Çörek otunun bileşenleri ve bu yağın ve diğer bazı uçucu yağların antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanımı, 11(2), 29–36.
- Chen, L., Li, N. ve Zong, M. H. (2012). A glucose-tolerant β -glucosidase from *Prunus domestica* seeds: Purification and characterization. *Process Biochemistry*, 47(1), 127–132. doi:10.1016/j.procbio.2011.10.023
- Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27(2), 175–194. doi:10.1016/j.clindermatol.2008.01.010
- Coşkun, T. (2005). Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 69–84.
- Çalikoğlu, E., Kıralan, M. ve Bayrak, A. (2006). Uçucu yağ nedir, nasıl üretilir ve Türkiye'deki durumuna genel bir bakış. *Türkiye 9. Gıda Kongresi ; 24-26 Mayıs 2006, Bolu*, 569–570.

- Dalgiç L., Selmet O.S., Özkan G., 2011. Farklı kavurma sıcaklıklarının menengiç yağ kalite parametreleri üzerine etkisi, *Akademik Gıda* 9(3) (2011) 26-36.
- Doğan, C., Çelik, Ş. ve Doğan, N. (2017). Siirt bölgesi melengiçlerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, 293–298.
- Durmaz, G. ve Gökmen, V. (2011). Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting. *Food Chemistry*, 128(2), 410–414. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.044
- Dündar Emir, D., Aydeniz, B. ve Yılmaz, E. (2015). Effects of roasting and enzyme pretreatments on yield and quality of cold-pressed poppy seed oils. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(2), 260–271. doi:10.3906/tar-1409-34
- Ergöçen, G. (2013). *β-glukozid enziminin kayısı (Prunus armeniaca) çekirdeklerinden saflaştırılması ve karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Ertaş, E., Bekiroğlu, S., Özdemir, İ. ve Demirtaş, İ. (2013). Comparison of fatty acid, sterol, and tocol compositions in skin and kernel of turpentine (*Pistacia terebinthus* L.) fruits. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(2), 253–258. doi:10.1007/s11746-012-2168-x
- European Union Commission Regulation EEC 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive pomace and their analytical methods. Official European Commission. L248, 1991.
- García, A., Brenes, M., José Moyano, M., Alba, J., García, P. ve Garrido, A. (2001). Improvement of phenolic compound content in virgin olive oils by using enzymes during malaxation. *Journal of Food Engineering*, 48(3), 189–194. doi:10.1016/S0260-8774(00)00157-6
- Geçgel, Ü. ve Arıcı, M. (2009). Studies on physico-chemical properties, fatty acid composition of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) oil and presence of anatoxins in fruits. *Asian Journal of Chemistry*, 21(2), 1559–1564.
- Gorjanović, S. Ž., Rabrenović, B. B., Novaković, M. M., Dimić, E. B., Basić, Z. N. ve Sužnjević, D. Ž. (2011). Cold-pressed pumpkin seed oil antioxidant activity as determined by a DC polarographic assay based on hydrogen peroxide scavenge. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(12),

1875–1882. doi:10.1007/s11746-011-1863-3

- Güleşçi, N. ve Aygül, İ. (2016). Beslenmede Yer Alan Antioksidan Ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 109–129.
- Gülsoy, S., Özkan, G., Özkan, K. ve Genç, M. (2013). Menengiç (*Pistacia terebinthus* L. subsp. *palaestina* (Boiss.) Engler) meyvelerinin bazı fiziksel ve fizikokimyasal özellikleri üzerine ekolojik faktörlerin etkisi, Effects of ecological factors on some physical and physicochemical fruit characteristic, 15–23.
- Haiyan, Z., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D. ve Robards, K. (2007). Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chemistry*, 100(4), 1544–1551. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.039
- Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges-a position paper from the american council on science and health. *The Journal of nutrition*, 132(12), 3772–81. doi:10.1002/mus.20330
- İşlereroğlu, H., Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M. (2005). Fonksiyonel bir gıda olarak keten tohumu. *Goü.ZiraatFakültesiDergisi*, 22(2), 23–30.
- Jain, S., & Sharma, M. (2011). Thermal stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 15438-448. doi:10.1016/j.rser.2010.08.022
- Jafari, M., Goli, S. A. H. ve Rahimmalek, M. (2012). The chemical composition of the seeds of Iranian pumpkin cultivars and physicochemical characteristics of the oil extract. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(2), 161–167. doi:10.1002/ejlt.201100102
- Kaya, F. (2015). Characterization of extracted oil from seeds of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey, Türkiye’de yabani olarak yetişen menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) tohumlarından ekstrakte edilen yağın karakterizasyonu, 10(1), 49–57.
- Küçük Hüseyin, B. E. (2012). *Domates, biber ve havuçta meyvelerin fitoöstrojen içeriklerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi. ANKARA ÜNİVERSİTESİ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Laroze, L., Soto, C. ve Zúñiga, M. E. (2010). Phenolic antioxidants extraction from

- raspberry wastes assisted by-enzymes. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(6). doi:10.2225/vol13-issue6-fulltext-12
- Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R. ve Carle, R. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 112(3), 551–559. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.005
- Matthäus, B. ve Özcan, M. M. (2006). Quantitation of fatty acids, sterols, and tocopherols in turpentine (*Pistacia terebinthus* Chia) growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7667–7671. doi:10.1021/jf060990t
- Michotte, D., Rogez, H., Chirinos, R., Mignolet, E., Campos, D. ve Larondelle, Y. (2011). Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds. *Food Chemistry*, 129(3), 1228–1231. doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.108
- Moreau, R. a., Johnston, D. B., Powell, M. J. ve Hicks, K. B. (2004). A comparison of commercial enzymes for the aqueous enzymatic extraction of corn oil from corn germ. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(11), 1071–1075. doi:10.1007/s11746-004-1023-3
- Murkovic, M., Hillebrand, A., Winkler, J. ve Pfannhauser, W. (1996). Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 202(4), 275–278. doi:10.1007/BF01192866
- Nakić, S. N., Rade, D., Škevin, D., Štrucelj, D., Mokrovčak, Ž. ve Bartolić, M. (2006). Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(11), 936–943. doi:10.1002/ejlt.200600161
- Nederal, S., Škevin, D., Kraljić, K., Obranović, M., Papeša, S. ve Bataljaku, A. (2012). Chemical composition and oxidative stability of roasted and cold pressed pumpkin seed oils. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(9), 1763–1770. doi:10.1007/s11746-012-2076-0
- Özcan, M. (2004). Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(6), 517–520. doi:10.1002/jsfa.1632

- Özcan, M. M., Tzakou, O. ve Couladis, M. (2009). Essential oil composition of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) fruits growing wild in Turkey. *Food Chemistry*, 114(1), 282–285. doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.094
- Özkaynak Kanmaz, E. (2017). The effect of roasting process on fatty acid composition and phenolic content of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour. *Gida / the Journal of Food*, 42(4), 382–391. doi:10.15237/gida.GD16081
- Paris, H. S., Burger, Y. ve Schaffer, A. A. (2006). Genetic variability and introgression of horticulturally valuable traits in squash and pumpkins of *Cucurbita pepo*. *Israel Journal of Plant Sciences*, 54(3), 223–231. doi:10.1560/IJPS_54_3_223
- Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M. ve Coimbra, M. A. (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*, 115(1), 48–53. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.064
- Pomeranz Y, Meloan CE (1994). Food analysis: theory and practice. New York, NY, USA: Chapman & Hall Publishing.
- Procida, G., Stancher, B., Cateni, F. ve Zacchigna, M. (2013). Chemical composition and functional characterisation of commercial pumpkin seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5), 1035–1041. doi:10.1002/jsfa.5843
- Rabrenović, B. B., Dimić, E. B., Novaković, M. M., Tešević, V. V. ve Basić, 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(2), 521–527. doi:10.1016/j.lwt.2013.10.019
- Roginsky, V. ve Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.004
- Rosenthal, A., Pyle, D. L. ve Niranjan, K. (1996). Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology*. doi:10.1016/S0141-0229(96)80004-F
- Schmidt, S., Rainieri, S., Witte, S., Matern, U. ve Martens, S. (2011). Identification of a *Saccharomyces cerevisiae* glucosidase that hydrolyzes flavonoid glucosides. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1751–1757.

doi:10.1128/AEM.01125-10

- Sevindik, O. ve Selli, S. (2016). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri. *Gıda / the Journal of Food*, 42, 95–103. doi:10.15237/gida.GD16052
- Seymen, M., Uslu, N., Türkmen, Ö., Al Juhaimi, F. ve Özcan, M. M. (2016). Chemical compositions and mineral contents of some hull-less pumpkin seed and oils. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(8), 1095–1099. doi:10.1007/s11746-016-2850-5
- Sidar, H., (2011). *Menengiç tohumlarından yağ eldesi: sulu ekstraksiyona enzim ve yüzey aktif madde etkisi*, Yüksek Lisans Tezi. İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Siger, A. ve Józefiak, M. (2016). The effects of roasting and seed moisture on the phenolic compound levels in cold-pressed and hot-pressed rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(12), 1952–1958. doi:10.1002/ejlt.201500249
- Singleton, V. L., Rossi Jr., J. A. ve Rossi J A Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. doi:10.12691/ijebb-2-1-5
- Sirilun, S., Chaiyasut, C., Pengkumsri, N., Peerajan, S., Chaiyasut, K., Suwannalert, P. ve Sivamaruthi, B. (2016). Screening and characterization of beta-glucosidase production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(5), 029–035. doi:10.7324/JAPS.2016.60505
- Soto, C., Concha, J. ve Zuniga, M. E. (2008). Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic-aided cold pressing process. *Process Biochemistry*, 43(6), 696–699. doi:10.1016/j.procbio.2008.02.006
- Soto, C. G., Chamy, R. ve Zuniga, M. E. (2004). Effect of enzymatic application on borage (*Borago officinalis*) oil extraction by cold pressing. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 37(2), 326–331. doi:10.1252/jcej.37.326
- Şeran, E. B., (2011). *Yağlı tohumlara uygulanan ultrasonik destekli ön işlem ile soğuk pres yağlarında verim ve kalitenin artırılması*, Yüksek Lisans Tezi. İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Tanska, M., Roszkowska, B., Skrajda, M. ve Dabrowski, G. (2016). Commercial

- cold pressed flaxseed oils quality and oxidative stability at the beginning and the end of their shelf life. *J Oleo Sci*, 65(2), 111–121. doi:10.5650/jos.ess15243
- Tobar, P., Moure, A., Soto, C., Chamy, R. ve Zúñiga, M. E. (2005). Winery solid residue revalorization into oil and antioxidant with nutraceutical properties by an enzyme assisted process. *Water Science and Technology*, 51(1), 47–52.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkçü, C., Öztürk, M. ve Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816–822. doi:10.1016/j.foodchem.2006.09.028
- Tuberoso, C. I. G., Kowalczyk, A., Sarritzu, E. ve Cabras, P. (2007). Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*, 103(4), 1494–1501. doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.014
- Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı İle Anılan Yağlar Tebliği. TEBLİĞ NO: 2012/29.
- Türkoğlu, S., Çelik, S., Keser, S., Türkoğlu, İ. ve Yılmaz, Ö. (2017). The effect of *Pistacia terebinthus* extract on lipid peroxidation, glutathione, protein, and some enzyme activities in tissues of rats undergoing oxidative stress. *Turkish Journal of Zoology*, 41, 82–88. doi:10.3906/zoo-1508-41
- Vujasinovic, V., Djilas, S., Dimic, E., Romanic, R. ve Takaci, A. (2010). Shelf life of cold-pressed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil obtained with a screw press. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(12), 1497–1505. doi:10.1007/s11746-010-1630-x
- Wang, H., Wang, J., Qiu, C., Ye, Y., Guo, X., Chen, G., ... Liu, R. H. (2017). Comparison of phytochemical profiles and health benefits in fiber and oil flaxseeds (*Linum usitatissimum* L.). *Food Chemistry*, 214, 227–233. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.075
- Watson, R, Ross, R (2014). *Polyphenols in plants : isolation, purification and extract preparation* (2014). Amsterdam: Elsevier, Academic Press.
- Wiesenborn, D., Kangas, N., Tostenson, K., Hall, C. ve Chang, K. (2005). Sensory and oxidative quality of screw-pressed flaxseed oil. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(12), 887–892. doi:10.1007/s11746-005-1160-8
- Xanthopoulou, M. N., Nomikos, T., Fragopoulou, E. ve Antonopoulou, S. (2009).

Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *Food Research International*, 42(5–6), 641–646. doi:10.1016/j.foodres.2009.02.003

Yu, H. L., Xu, J. H., Lu, W. Y. ve Lin, G. Q. (2007). Identification, purification and characterization of β -glucosidase from apple seed as a novel catalyst for synthesis of O-glucosides. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2), 354–361. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.05.004

Zolman, J., 1993, Biostatistics. Experimental Design and Statistical Inference. Oxford University Press, Inc., New York.

Zuorro, A., Lavecchia, R., Medici, F. ve Piga, L. (2013). Enzyme-assisted production of tomato seed oil enriched with lycopene from tomato pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3499–3509. doi:10.1007/s11947-012-1003-6

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sıddıka Yusra Özkılıç
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Leicester/ İngiltere 29.05.1991
Telefon : -
Faks : -
e-mail : yusraydn@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Özel Enderun Fen Lisesi,Karatay,Konya	2009
Lisans	: Hacettepe Üniversitesi,Çankaya,Ankara	2015
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniversitesi,Meram,Konya	devam
Doktora	: -	

YABANCI DİLLER: İngilizce, Almanca

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

Ergönül B., Top V., Özkılıç S. Y., (2017), Diyet Lifler ve Sağlığımız, 4. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 3-5 Kasım 2017, Ankara. (poster sunum)

Arslan D., Özkılıç S. Y., Top V., (2017), Soğuk Pres Yağlar ve Fonksiyonel Etkileri, 4. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 3-5 Kasım 2017, Ankara. (poster sunum)