



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**MOLEKÜLER MODİFİKASYON
YÖNTEMLERİ İLE ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ
GELİŞTİRİLEN PATATES KABUĞU,
AYÇEKİRDEĞİ KÜSPESİ VE KAHVE POSASI
EKSTRELERİNİN ANTİOKSİDAN
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

**DOKTORA TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Temmuz-2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ tarafından hazırlanan “Moleküler modifikasyon yöntemleri ile çözünürlüğü geliştirilen patates kabuğu, ayçekirdeği küspesi ve kahve posası ekstrelerinin antioksidan etkinliklerinin belirlenmesi” adlı tez çalışması 08/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

.....

Danışman

Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

.....

Üye

Prof. Dr. Gökâl Özman GÜLER

.....

Üye

Doç. Dr. Erman DUMAN

.....

Üye

Doç. Dr. İsmail TONTUL

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 23DR19003 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:

ÖZET

DOKTORA TEZİ

MOLEKÜLER MODİFİKASYON YÖNTEMLERİ İLE ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ GELİŞTİRİLEN PATATES KABUĞU, AYÇEKİRDEĞİ KÜSPESİ VE KAHVE POSASI EKSTRELERİNİN ANTIOKSİDAN ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2025, 186 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

Prof. Dr. Gökcalp Özmen GÜLER

Doç. Dr. Erman DUMAN

Doç. Dr. İsmail TONTUL

Bu çalışmada, kahve posası (KP), ayçekirdeği küspesi (AÇ) ve patates kabuğu (PK) gibi klorojenik asit açısından zengin üç farklı atıktan elde edilen fenolik ekstraktların, üç farklı modifikasyon yöntemi (moleküler hibridizasyon, metilasyon ve dekarboksilasyon) ile yapısal olarak değiştirilmesi ve bu ekstraktların çeşitli model lipit ortamlarında (linoleik asit, keten tohumu yağı, tereyağ ve emülsiyon aspir yağı) antioksidan etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan modifikasyon işlemleriyle ekstraktların çözünürlükleri artırılmış ve lipit ortamlarında kullanım potansiyelleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, modifiye ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) içerikleri, UHPLC ile fenolik bileşik profili, lipofilite derecesi ve DPPH radikal giderici etkisi analiz edilmiştir. Ek olarak, ekstraktların dört farklı lipit modelinde oksidasyonu geciktirici etkileri peroksit değeri, K_{232} ve K_{270} özgül absorpsiyon katsayıları, linoleik asit/ β -karoten ağartma yöntemi ve Rancimat cihazı ile ölçülen indüksiyon süresi gibi parametrelerle detaylı olarak incelenmiştir. Sonuçlar, moleküler modifikasyon işlemlerinin ekstraktların lipofilitesini artırarak yağ sistemlerine uyumunu ve antioksidan aktivitesini anlamlı düzeyde geliştirdiğini ortaya koymuştur. Özellikle moleküler hibridizasyon yöntemi ile modifiye edilen ekstraktların, hem emülsiyon hem de doymamış yağ asitleri içeren sistemlerde en yüksek oksidasyon geciktirme performansını gösterdiği belirlenmiştir. Tüm ekstraktlar arasında, PK kaynaklı ekstraktların modifikasyona en iyi yanıt verdiği ve linoleik asit ortamında en uzun indüksiyon süresi ile oksidatif stabilite sağladığı gözlemlenmiştir. Metilasyon işlemiyle elde edilen ekstraktların özellikle keten tohumu yağı ve tereyağ gibi sistemlerde daha iyi çözünebildiği ve bu ortamlarda daha dengeli bir antioksidan etkinlik sergilediği tespit edilmiştir. Dekarboksilasyon ise, fenolik bileşiklerin yapısında karboksil gruplarının

uzaklaştırılmasıyla lipofilikliği artırmış; ancak bazı sistemlerde antioksidan etkide moleküler hibridizasyona kıyasla daha sınırlı başarı göstermiştir. Öte yandan, β -karoten ağartma analizlerinde, özellikle emülsiyon sistemlerinde hibridizasyonla modifiye edilen ekstraktlar en düşük renk kaybını göstererek serbest radikal gideriminde daha etkili olmuştur. Bu bulgular, fenolik bileşiklerin yalnızca içeriğiyle değil, kimyasal yapıları ve içinde buldukları ortamlarla etkileşimleriyle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Çalışma sonucunda, modifiye edilmiş ekstraktların doğal antioksidan olarak kullanımını açısından özellikle yağ içeren gıda ürünlerinde, işlevsel katkı maddesi olarak güçlü bir potansiyele sahip olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, tarımsal atıkların katma değerli ürünlere dönüştürülmesi yoluyla hem ekonomik hem de çevresel sürdürülebilirliğe katkı sağlanmıştır. Bu yönüyle çalışma, doğal antioksidan üretiminde yeni bir yol haritası sunmakta ve modifiye fenolik bileşiklerin fonksiyonel gıdalardaki kullanımına bilimsel dayanak oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fenolik ekstraktlar, klorojenik asit, lipofilizasyon, model lipit ortamları, oksidasyon.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF POTATO PEEL, SUNFLOWER SEED MEAL AND SPENT COFFEE GROUND EXTRACTS WITH IMPROVED SOLUBILITY VIA MOLECULAR MODIFICATION METHODS

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ

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

Advisor: Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2025, 186 Pages

Jury

Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER

Doç. Dr. Erman DUMAN

Doç. Dr. İsmail TONTUL

This research aimed to evaluate the antioxidant potential of phenolic extracts derived from three chlorogenic acid-rich agri-food by-products spent coffee grounds (KP), sunflower meal (AÇ), and potato peel (PK) after undergoing structural improvement through three different molecular modification techniques: molecular hybridization, methylation and decarboxylation. The modified extracts were tested across four different lipid model systems (linoleic acid, flaxseed oil, butter and emulsified safflower oil) to determine their antioxidant performance in lipid-rich environments. Analytical assessments included total phenolic content (TPC), phenolic composition via UHPLC, lipophilicity measurements, and DPPH radical scavenging activity. The antioxidant effectiveness was further evaluated through peroxide value, specific UV absorbance (K_{232} and K_{270}), β -carotene bleaching assay, and induction period (Rancimat) analyses. The findings revealed that structural modifications significantly enhanced the lipophilicity and lipid compatibility of the extracts, leading to improved antioxidant function in different lipid matrices. Among all the tested extracts, those modified via molecular hybridization demonstrated the highest antioxidant activity, particularly in emulsified and polyunsaturated lipid systems, indicating strong interfacial activity and enhanced radical inhibition. Potato peel (PK) extracts responded most positively to modification, showing the longest induction times and highest oxidative stability in linoleic acid environments. Extracts modified via methylation showed moderate-to-high antioxidant activity and exhibited better solubility in flaxseed oil and butterfat systems, contributing to consistent antioxidative behavior. Decarboxylated extracts, though improved in lipophilicity, showed slightly lower radical scavenging capacity in certain

systems compared to hybridized forms. In β -carotene bleaching assays, hybridized extracts again outperformed others, particularly in emulsified oil systems, by exhibiting the least discoloration and strongest inhibition of lipid peroxidation. These results underscore the importance of considering not only the phenolic content of an extract but also its structural configuration and interaction with lipid environments. Overall, this study demonstrates that chemically modified phenolic extracts especially those processed through molecular hybridization hold significant potential as natural antioxidants in fat-based food systems. The work also contributes to the valorization of agricultural by-products, offering a sustainable, cost-effective approach for clean-label functional ingredient development. By linking molecular structure to functional behavior, the study provides new insight into the design of bioactive compounds suitable for food, cosmetic, and pharmaceutical applications.

Keywords: Phenolic extracts, chlorogenic acid, lipophilization, model lipid systems, oxidation.

ÖNSÖZ

Günümüzde doğal antioksidanlara olan ilgi, gıda endüstrisinde hem sağlık hem de raf ömrü açısından önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu bağlamda, atıkların değerlendirilmesi ve katma değerli bileşiklerin kazanımı sürdürülebilir üretim ile bütünleşmektedir. Bu çalışma, kahve posası, ayçekirdeği küspesi ve patates kabuğu gibi atıklardan elde edilen fenolik ekstraktların lipofilize edilerek farklı model lipit ortamlarında antioksidan etkinliklerini incelemektedir. Sürdürülebilirlik potansiyeliyle daha sağlıklı üretim modellerine katkı sunmayı hedefleyen bu çalışmanın, alanda yapılacak yeni araştırmalar için bir basamak oluşturması temennimdir.

Bu çalışmanın gerçekleşmesini sağlayan, bilimsel titizliği ve araştırmaya olan tutkusuyla bana ilham kaynağı olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU'na; derin bilgi birikimi, yapıcı yönlendirmeleri ve bilimsel öngörüsüyle verdiği destek için sonsuz teşekkür ederim. Çalışmam boyunca anlayışlı yaklaşımıyla rehberlik ettiği ve bana sabırla yol gösterdiği için minnettarım.

Araştırmamı maddi olarak destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve analizler konusunda yardımcı olan Bilim ve Teknoloji Araştırma Uygulama Merkezi çalışanlarına; özellikle Fatıma Betül ŞUBUL Hanım'a,

Çalışmamın hammadde temini ve hazırlığında yardımları olan Mustafa AKIL ve Kaan ÇAĞLAYAN'a, laboratuvar analizlerim sırasında yardımına koşan Nagihan DAĞ'a, çalışmalarım boyunca yardımlarını ve dostluklarını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Mine ASLAN ve Dr. Ayşenur ACAR'a,

Eğitim hayatım boyunca beni her zaman destekleyen aileme, özellikle hayatımın her anında yanımda olup beni cesaretlendiren, bilgisiyle yönlendiren, maddi ve manevi büyük fedakârlıklar yapan kıymetli eşim Doç. Dr. Yasin Onuralp ÖZKILIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, çalışmam boyunca en büyük fedakârlığı gösteren ve sabırla bana bu süreçte destek olan biricik oğlum Taha Mete ÖZKILIÇ'a kalpten teşekkür ederim.

Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	8
2.1. Fenolik Bileşikler.....	8
2.2. Klorojenik Asit	10
2.3. Fenolik Bileşiklerin Çözünürlüğü.....	13
2.4. Lipit Oksidasyonu.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal	29
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Deneysel tasarım.....	30
3.2.2. Atık niteliğindeki hammaddelerden ekstraktların üretimi	31
3.2.3. Ekstraktların modifikasyonu	32
3.2.4. Model lipit ortamlarının oluşturulması	35
3.2.5. Analiz Yöntemleri.....	36
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	41
4.1. Ekstraksiyon verimi	42
4.2. TFM miktarı ve DPPH radikali giderici etki analizi sonuçları	43
4.3. UHPLC (Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile fenolik bileşiklerin ayrıntılı analizi	48
4.4. Lipofilisite ölçüm sonuçları	57
4.6. Lipit Ortam Analizleri	70
4.6.1. Peroksit değerlerine ait bulgular	70
4.6.2. Lipit ortamlarının Ransimat cihazında belirlenen indüksiyon süreleri.....	84
4.6.3. Serbest radikal (DPPH) giderici etki analizi sonuçları	98
4.6.4. Linoleik asit/β-karoten ağartma yöntemi ile antioksidan aktivite tayinine ait sonuçlar.....	111
4.6.5. UV özgül absorpsiyon değerlerine (K ₂₃₂ ve K ₂₇₀) ait bulgular	123
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	143
6. KAYNAKLAR	150

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

AÇ: Ayçekirdeği küspesi

AÇD: Dekarboksilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş ayçekirdeği küspesi ekstraktı

AÇM: Metilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş ayçekirdeği küspesi ekstraktı

AÇMH: Moleküler hibridizasyon yöntemiyle modifiye edilmiş ayçekirdeği küspesi ekstraktı

BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol

BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen

KP: Kahve posası

KA: Klorojenik asit

KPD: Dekarboksilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş kahve posası ekstraktı

KPM: Metilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş kahve posası ekstraktı

KPMH: Moleküler hibridizasyon yöntemiyle modifiye edilmiş kahve posası ekstraktı

KKA: Kafeoilkuinik asit

3-KKA: 3-*O*-kafeoilkuinik asit

4-KKA: 4-*O*-kafeoilkuinik asit

5-KKA: 5-*O*-kafeoilkuinik asit

DBU: 1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undek-7-en

DMC: Dimetil karbonat

DMF: Dimetilformamid

DPPH: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil

EGCG: Epigallokateşin gallat

FTIR: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

GAE: Gallik asit eşdeğeri

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

K: Kontrol (ekstrakt ilave edilmemiş model lipit ortamı)

KOH: Potasyum hidroksit

K₂₃₂: Konjuge dien değerleri

K₂₇₀: Konjuge trien değerleri

NaCl: Sodyum klorür

NaOH: Sodyum hidroksit

NMR: Nükleer manyetik rezonans

Ph-OH: Fenolik hidroksil

PG: Propil gallat

PK: Patates kabuğu

PKD: Dekarboksilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş patates kabuğu ekstraktı

PKM: Metilasyon yöntemiyle modifiye edilmiş patates kabuğu ekstraktı

PKMH: Moleküler hibridizasyon yöntemiyle modifiye edilmiş patates kabuğu ekstraktı

TBHQ: Tert-bütillhidrokinon

UHPLC: Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi

UV-Vis: Ultraviyole-görünür bölge

1. GİRİŞ

Tarımsal ürünlerin sanayiye yönelik işlenmesi sürecinde önemli miktarda yan ürün ortaya çıkmaktadır. Geçmişte bu yan ürünler genellikle sadece hayvan yemi veya tarım gübresi olarak değerlendirilirken, günümüzde biyoteknoloji alanında (enzim, etanol, biyogaz, gıda tatlandırıcısı ve pektin üretimi gibi) farklı amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Ancak çoğu zaman bu yan ürünler herhangi bir ön işlem yapılmadan doğrudan gübre olarak kullanmakta ya da çevreye bırakılmaktadır. Birçok ülkede bu konuda çeşitli yasal düzenlemeler getirilmiş olsa da, bu atıkların katma değerli ürünlere dönüştürülmesi sorunun çözümünde kritik bir rol oynamaktadır. Özellikle son yıllarda, fenolik bileşikler açısından zengin bu yan ürünlerin doğal antioksidan kaynakları olarak değerlendirilmesine yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Uzun yıllar boyunca hem gıda hem de yem sektöründe yapay antioksidanlar yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak yapılan araştırmalar, yapay antioksidanların kanserojen etkileri olabileceğini ortaya koymuş ve bunun sonucunda bu maddelerin kullanımına sınırlamalar veya yasaklamalar getirilmiştir (Gülçin, 2025; Esazadeh ve ark., 2024; Tauchen ve ark., 2025). Ayrıca, gıda güvenliği konusunda bilinçlenen tüketici kitlesinin talebi doğrultusunda, sektörler doğal alternatif kaynaklara yönelmiştir. Elma, nar, turunçgiller (portakal, limon, mandalina, greyfurt, turunç, bergamot), siyah üzüm, zeytin, domates, patates ve çay yaprağı gibi tarımsal ürünlerin işlenmesiyle elde edilen yan ürünler, içeriklerindeki yüksek fenolik bileşik miktarı nedeniyle önemli bir potansiyel sunmaktadır.

Polifenoller, bitki savunma mekanizmasının önemli bir parçasını oluşturan ve antioksidan, antifungal gibi fonksiyonel özelliklere sahip ikincil metabolitlerdir. Bir veya daha fazla benzen halkasına bağlı birden fazla hidroksil grubuna sahiptirler. Vitaminlerle birlikte fenolik bileşikler, örneğin meyveler, sebzeler, kökler ve tahıllarda önemli diyet antioksidanları olarak kabul edilir. Fenolik bileşikler bitkilerde, dış strese karşı bitkiyi korumada bir dizi metabolik rol oynamakla birlikte renk ve duyu özelliklerinden de sorumludurlar (Peñarrieta ve ark., 2014).

Bitkisel gıdaların işlenmesi, fenolik bileşikler de dahil olmak üzere zengin biyoaktif bileşik kaynakları olan yan ürünlerin üretilmesiyle sonuçlanır (Schieber ve ark., 2001). Bu yan ürünlerden bazıları araştırmalara konu olmuş ve etkili fenolik antioksidan kaynakları oldukları kanıtlanmıştır. Yenilebilir yağlarda ve balık, et ve kümes hayvanı ürünlerinde test edildiğinde, fenolik bileşikler bakımından zengin özütler sentetik antioksidanlarla karşılaştırılabilir antioksidan aktiviteler göstermiştir. Bu kaynakların

çoğundan yeterli miktarda doğal antioksidan elde etmenin ve üretmenin pratik yönleri hala aydınlatılmayı beklemektedir (Alexandrino ve ark., 2021).

Tarımsal ve endüstriyel artıklardan fenolik bileşiklerin elde edilebilirliği, bunların ekstraksiyonu ve antioksidan aktiviteleri Moure ve ark. (2001) tarafından bir incelemenin konusu olmuştur. Pirinç kabuğu, kara buğday kabuğu ve badem kabuğu gibi çeşitli tarımsal yan ürünlerde antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler tespit edilmiştir (Balansundram ve ark., 2006). İsvaç yulafı (*Avena sativa* L.) kabuklarının toplam sinnamik asit içeriğinin kabuksuzlardan daha yüksek (23,6'ya kıyasla 3,6 mg/kg kuru madde) olduğu bildirilmiştir (Bryngelsson ve ark., 2002). Antep fıstığı kabukları bir başka fenolik antioksidan kaynağıdır ve 34 mg tannik asit eşdeğeri fenolik/g kuru ağırlık içermektedir (Goli ve ark., 2005). Narenciye endüstrisi, toplam meyve ağırlığının %50' sine kadar çıkabilen büyük miktarlarda kabuk ve tohum kalıntısı üretmektedir (Bocco ve ark., 1998). Narenciye endüstrisi yan ürünleri, en iyi şekilde kullanıldıkları takdirde, özellikle kabukların yenilebilir kısımlara kıyasla daha yüksek miktarlarda toplam fenolik madde (TFM) içerdiği tespit edildiğinden, önemli fenolik bileşik kaynakları olabilir. Gorinstein ve ark. (2001) limon, portakal ve greyfurt kabuklarındaki TFM içeriğinin meyvelerdekenden %15 daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Diğer bazı meyvelerin kabuklarının da yenilebilir etli kısımlardan daha yüksek miktarda TFM içerdiği bulunmuştur. Örneğin, elma, şeftali ve armut kabuklarının, soyulmuş meyvelerde bulunan TFM miktarının iki katını içerdiği bulunmuştur (Gorinstein ve ark., 2002). Benzer şekilde, sarı ve beyaz etli nektarinlerin kabuklarının meyve etinden en az iki kat daha fazla fenolik içerdiği bildirilmiştir (Gil ve ark., 2002). Chang ve ark. (2000) seçilmiş sekiz clingstone şeftali çeşidi üzerinde çalışmış ve kabukların yenilebilir etin içerdiğinin 2-2,5 katı kadar TFM içerdiğini bildirmiştir. Muz meyvesinin yenilebilir posası 232 mg/100 g kuru ağırlık fenolik içerirken, bu miktar kabukta bulunanın yaklaşık %25'i kadardır (Someya ve ark., 2002). Benzer şekilde, Li ve ark. (2006) nar kabuklarının 249,4 mg/g fenolik içerdiğini, buna karşılık posada sadece 24,4 mg/g fenolik bulunduğunu bildirmişlerdir. Zeytin endüstrisinin yan ürünleri, fenolik bileşiklerin kaynağı olarak büyük ilgi çekmiş ve dikkatler zeytin değirmeni atıklarına odaklanmıştır. Zeytin meyvelerinde bulunan fenolik bileşikler zeytinyağına, sulu faz atık suya veya katı faz prinaya dağılmakta ve sadece %1-2'si yağa geçmektedir (Rodis ve ark., 2002). Bu nedenle zeytin değirmeni atıkları, özellikle yıllık üretimin 7 milyon tonu aştığı düşünüldüğünde, önemli bir potansiyel fenolik kaynağıdır (Ranalli ve ark., 2003). Zeytin yaprakları da, daha az ölçüde de olsa, fenolik kaynağı olarak araştırılan zeytin endüstrisinin bir başka

yan ürünüdür. Üzüm çekirdeği ve kabuğu, üzüm suyu ve beyaz şarap üretiminin yan ürünleri de başta mono-, oligo- ve polimerik proantosiyanidinler olmak üzere çeşitli fenolik bileşiklerin kaynağıdır (Shrikhande, 2000; Torres ve Bobet, 2001). Soong ve Barlow (2004), mango, longan, avokado ve jak gibi çeşitli meyvelerin tohumlarının toplam fenolik içeriğinin yenilebilir etten daha yüksek olduğunu, bu nedenle bu tohumların değerli bir antioksidan fenolik kaynağı olabileceğini bildirmiştir. Domates kabukları ve tohumlarının etli posaya göre daha zengin fenolik bileşik kaynakları olduğu bulunmuştur. Bazı biyoprosesler tarımsal-endüstriyel bu atıklardan fenolik bileşiklerin geri kazanımını artırabilir (Correia ve ark., 2004).

Kahve 50'den fazla ülkede üretilen ve dünyada en çok tüketilen içeceklerden biridir. Kahve çekirdeği üretiminin 2021/2022 yılında yaklaşık 10 milyon ton olduğu ve yıllık olarak benzer bir miktarda tüketildiği ifade edilmiştir (Yusufoğlu ve ark., 2024). Kahve posasının (KP) atık olarak ayrışması, fazla oksijene ihtiyaç duyulmasından dolayı zordur. Endüstride genellikle biyoyakıt, hayvan yemi ve biyo-kompozit şeklinde kullanılır (Wu ve ark., 2016). Ayrıca gıda kozmetik ve ilaç sanayisi için de önemli bir kaynaktır (Okur ve ark., 2021). Ana fenolik bileşiği, klorojenik asit (KA) olan KP ekstraktı yaklaşık 85 mg/kg KA içeriğine sahiptir (Okur ve ark., 2021). TFM miktarının 21560 mg GAE/kg olduğu bulunmuştur (Zuorro ve Lavecchia, 2012).

Ayçiçeği, 2023/2024 yıllarında 55,93 milyon üretim miktarıyla bitkisel yağ üretiminde önemli bir üründür (USDA, 2024). 1 ton ayçiçeği tohumunun yağa işlenmesi sonucu yaklaşık 570 kg posa açığa çıkmaktadır (Kocabaş, 2021). Ayçiçeği posası, yağ sanayisi için atık bir ürün olurken yüksek protein içeriği sayesinde değerli bir hammaddedir. Ana fenolik bileşiği KA ve kafeik asit olup TFM miktarı 2500,44 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur (Cerit, 2025).

Patates (*Solanum tuberosum* L.) 383 milyon ton üretime sahip olmasıyla dünya piyasasında önemli bir üründür (FAOSTAT, 2023). İşlenmesi sırasında çoğu prostepte patatesin soyulması gerekir bu da büyük miktarda patates kabuğu (PK) atığının oluşmasına neden olur. 2030 yılında yaklaşık 8 milyon ton PK atığının oluşması beklenmektedir (Khanal ve ark., 2023). Kabuğun TFM içeriği 29,24 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. En fazla bulunan fenolik asit ise 1-4 mg GAE/g ile KA'dır (Khanal ve ark., 2023).

Endüstride önemli bir paya sahip bu üç ürün (KP, ayçekirdeği küspesi (AÇ) ve PK), yüksek fenolik bileşen miktarı ve yüksek KA içeriğine sahip olduğu için seçilmiştir.

Yüz yılı aşkın süredir yapılan çalışmalara rağmen, gıda ürünlerinin karmaşıklığı ve oksidasyonun bağlı olduğu birçok unsur nedeniyle lipit oksidasyonu gıda endüstrisi için sorun olmaya devam etmektedir. Lipit oksidasyonunun, gıda kalitesi üzerinde bir dizi olumsuz etkisi olduğu için kontrol altına alınması oldukça önemlidir. Oksidasyon reaksiyonları sonucu, acılaşmaya neden olan aldehitler, ketonlar ve alkoller gibi uçucu kimyasallar oluşur (Bayram ve Decker, 2023). Bu oksidasyon ürünleri özellikle proteinler, vitaminler ve pigmentler olmak üzere diğer moleküllerin oksidasyonunu teşvik ederek gıda ürünlerinin besin kalitesini, dokusunu ve görünümünü etkiler (Decker ve ark., 2010). Ayrıca gıdanın raf ömrünün kısalmasına ve büyük ekonomik kayıplara neden olur (Barden ve Decker, 2016). Gıda kalitesine olumsuz etkilerin yanında, bazı oksidasyon ürünlerinin biyolojik dokular için toksik etkisi olduğu da ifade edilmektedir (Vieira ve ark., 2017). Bu nedenle gıda endüstrisinde lipit oksidasyonunu yavaşlatmak ve lipitlerin stabilitesini artırmak, besin güvenliği ve insan sağlığı için çok önemlidir.

Gıdalardaki lipit oksidasyonunu kontrol etmek için kullanılan yöntemler arasında antioksidanların kullanımı, en etkili ve ekonomik yoldur. Antioksidanlar, lipit oksidasyonunu en aza indirerek gıda ürünlerini koruyan moleküllerdir. Gıdalarda serbest radikalleri gidermek, metal iyonlarını şelatlamak, pro-oksidaz inhibisyonu ve singlet oksijenini (1O_2) söndürmek gibi farklı şekillerde antioksidan etki gösterirler. Etki biçimlerine göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılabilirler. Birincil antioksidanlar radikal ara ürünlerini temizleyerek oksidasyon zincir reaksiyonunu yok ederken, ikinciller oksidasyon başlatıcısının rejenerasyonunu inhibe ederek oksidasyonu önler (Ribeiro ve ark., 2019). Birçok gıda işleme sürecinde gıdalardaki endojen antioksidanlar yok olur veya parçalanır. Bu nedenle özellikle gıda üreticileri doymamış yağ asitleri açısından zengin ve sağlıklı ürünler üretmeye çalıştıkça, gıda sistemlerine ekzojen antioksidanların dâhil edilmesi gereklidir (Bayram ve Decker, 2023).

Yapay antioksidanlardan biri olan tert-bütül-4-hidroksianisolün (BHA) oksidasyonu yavaşlatıcı etkiye sahip olduğu ve birkaç gallik alkil esterinin antioksidan etkilerini ortaya çıkardığı 1940'larda gıda endüstrisine tanıtılmıştır (Augustyniak ve ark., 2010). Günümüzde gıda endüstrisinde yaygın kullanılan yapay antioksidanlar BHA, 2,6-di-tert-bütül-4-metilfenol (BHT), tert-bütülhidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG) bulunur. Ancak yapay antioksidanların kullanımı, potansiyel kanserojen etkileri konusundaki artan endişeler nedeniyle artık kısıtlanmıştır ve kullanımları ülkeden ülkeye değişen düzenlemelere tabidir (Tauchen ve ark., 2025). Yapay antioksidanlara alternatif olarak gıda, kozmetik ve farmasötik uygulamalarda öne çıkan doğal antioksidanlar önem

kazanmıştır. Bunlar bitkilerden, hayvansal kaynaklardan ve mikroorganizmalardan elde edilen fenolik bileşiklerdir (Abeyrathne ve ark., 2022; Rathee ve ark., 2023). Fenolik bileşikler, gallik ve sinnamik asit gibi benzoik asit türevlerinin bulunabildiği flavonoidler ve fenolik asitlerden oluşur. Kumarik, kafeik ve ferulik asitlerin sinnamik asitten türediği düşünüldüğünde bitkisel kaynaklarda en bol bulunan fenolik bileşik, sıklıkla KA olarak adlandırılan esterleşmiş formda bulunan kafeik asittir (D'Archivio ve ark., 2007). Bu metabolitlerin, yapay antioksidanlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda dahi kullanımının zararsız olması en büyük avantajlarıdır (Hadidi ve ark., 2022). Ancak fenolik bileşiklerin yüksek polariteye sahip olmaları, lipit bazlı sistemlerde çözünürlüklerini ve dolayısıyla biyoyararlanımlarını sınırlandırmaktadır. Bu durum, söz konusu bileşiklerin ticari ve endüstriyel uygulamalarda kullanımını zorlaştırmaktadır. Fenoliklerin yapısal modifikasyonu, hidrofilik segmentlerin kesilmesi veya hidrofobik yan grupların eklenmesi, çözünürlük ve biyo-absorptivite gibi fiziksel özelliklerin değiştirilmesi, lipofilik sistemlerdeki uygulamalarının genişletilmesinde yararlı bir araç olarak bildirilmiştir (Lei ve ark., 2020). Bu bağlamda, fenolik bileşiklerin lipofilizasyon ve diğer yapısal modifikasyon yöntemleriyle çözünürlüklerinin ve biyoyararlanımlarının artırılması, bilimsel ve endüstriyel açıdan büyük önem taşımaktadır. Literatürde yer alan lipofilizasyon yöntemlerinden moleküler hibridizasyon, metilasyon ve dekarboksilasyon bu çalışma için belirlenen modifikasyon yöntemleridir.

Moleküler hibridizasyon teknikleri yeni biyoaktif bileşikler oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknikte genel olarak farmakolojik etkiye sahip iki veya daha fazla grup, kimyasal reaksiyonlar ile birbirine bağlanır. Bunun amacı her bir biyoaktif grubun aktivitesini artırmak veya sinerjik bir aktivite gösterebilecek yeni bir bileşik oluşturmaktır (Marinho ve ark., 2021). Valverde Sancho ve ark. (2023) tarçın ve kekikten elde ettikleri organik ekstraktların modifikasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. Kimyasal ve enzimatik hibridizasyon sonucunda 6 adet yeni ürün sentezlemişlerdir. Elde edilen hibritlerin antifungal özelliklerinin substrat olan yapılardan daha aktif olduğunu tespit etmişlerdir. Hibritlerin bazılarının da potansiyel olarak antikanser ilaçlarının aktif bileşenlerini temsil edebileceği gösterilmiştir. Günther ve ark. (2023) çalışmalarında ise flavonoid-fenolik asit esterleri oluşturulmuş ve bu yeni bileşiklerin ferroptosis adı verilen hücre ölümüne karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak hibrit bileşiklerin mitokondride reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellediği gösterilmiştir.

Metilasyon tekniği, fenolik bileşiklerin hidroksil gruplarını metilleyerek metoksi türevlerinin oluşmasını sağlar. Kimyasal (Selva ve Perosa, 2008), enzimatik veya mikroorganizmalar yoluyla (Kim ve ark., 2005) metilasyon yöntemi uygulanabilmektedir. Metilasyon süreçleri, bileşiğin polaritesini azaltarak lipit ortamlarındaki aktifliğini dolayısıyla da molekülün biyoaktifliğini artırır.

Fenolik bileşiklerin dekarboksilasyonu, aromatik bir halkaya bağlı karboksil grubunun koparılmasıyla ilerleyen ve biyolojik sistemlerde doğal olarak gözlenen bir reaksiyondur. Hidroksisinnamik asitlerden *p*-kumarik, ferulik, sinapik ve kafeik asit gibi fenolik asitlerin vinil türevlerine dönüşümü bu reaksiyon ile gerçekleşir (Tran ve ark., 2008). Dekarboksilasyon reaksiyonu hem kimyasal yollarla hem de mikroorganizmalar aracılığıyla yapılabilir. Bu dönüşüm sonucunda yüksek biyolojik etkiye sahip antioksidan aktivitesi yüksek aroma özelliği iyi olan ürünler elde edilir (Couto ve ark., 2006). Ayrıca sıcaklık ile kimyasal dekarboksilasyon süreçlerinde KA gibi bileşiklerin parçalanarak kafeik asit ve kateşol türevlerini oluşturduğu gösterilmiştir (Sharma ve ark., 2000).

Fenolik bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisinin yanında bir diğer dikkat edilmesi gereken unsur da bu bileşiklerin kullanıldıkları ortamın özellikleridir. Fenolik ekstraktların farklı lipit ortamlarında gösterdiği etkiler lipit ortamının doymuşluk derecesi, emülsiyon durumu ve oksidatif duyarlılığı gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Ekstraktın içerdiği bileşenlerin polarite ve lipofilite uyumu antioksidan etkinliğini değiştirir. Bitkisel kaynaklardan elde edilen ekstraktlar genellikle orta düzeyde polar olan bileşiklerdir. Bu nedenle, gallik asit ve KA gibi fenolik asitler emülsiyon sistemlerde daha yüksek etki gösterirken tokoferoller ve metillenmiş fenolikler özellikle bitkisel yağlarda daha yüksek antioksidan etki gösterir (Farooq ve ark., 2021).

Soğuk pres yağ ortamının yağ asiti bileşimine (doymuş/doymamış yağ asitleri) göre fenolik bileşiğin etkinliği değişmektedir. Doymamış yağ asiti oranı yüksek olan yağlarda (zeytinyağı ve ayçiçek yağı) fenolik bileşikler serbest radikal oluşum zincirini kırarak oksidasyonunu yavaşlatır (Farooq ve ark., 2021). Doymuş yağ asiti oranı yüksek olan yağlar ise oksidasyona daha dayanıklı olduğundan bu ortamlarda fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi nispeten daha düşük kalabilir. Ayrıca emülsiyon sistem içinde fenolik antioksidanlar, yağ damlacıkları yüzeyinde konumlanarak oksidasyon sürecini baskılayabilir. Bu durum kullanılan fenolik bileşiğin antiradikal etkinliğini artırır (Hennebelle ve ark., 2024).

Bu çalışmada, KA bakımından zengin KP, AÇ ve PK gibi atıklardan elde edilen ekstraktların bazı kimyasal yöntemlerle modifiye edilmesi hedeflenmiştir. Çalışmada üç

farklı modifikasyon yöntemi uygulanmıştır; metilasyon (DMC/DBU (dimetil karbonat/1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undek-7-en) yöntemi), dekarboksilasyon ve moleküler hibridizasyon. Modifiye ekstraktların fizikokimyasal özellikleri ve antioksidan etkinlikleri, dört farklı model lipit ortamında (keten tohumu yağı, emülsiyeli aspirin yağı, tereyağ ve linoleik asit) test edilmiştir. Çalışmanın temel amacı, ekstraktların yağda çözünürlüğünü ve etkinliğini artırarak yağlı gıda matrislerinde kullanım potansiyellerini değerlendirmektir.

Söz konusu modifikasyon yöntemlerinin KA bakımından zengin ekstraktlar üzerinde doğrudan uygulanması yaygın olmayıp, genellikle saf bileşen üzerinde yapılmış araştırmalar görülmektedir. Çalışmanın öne çıkan yenilikçi yönleri şunlardır:

- KA bakımından zengin üç farklı ekstraktın (KP, AÇ, PK) karşılaştırılması.
- Modifikasyon yöntemleri uygulanan ekstraktların fenolik bileşen içeriği, lipofilisite ve antioksidan etkinlikleri gibi özelliklerinin farklı lipit ortamlarında etkilerinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fenolik Bileşikler

Polifenoller doğadaki en yaygın metabolit sınıfı arasında yer alır ve geniş bir dağılım gösterir. Yaklaşık 100,000-200,000 ikincil metabolitin var olduğu düşünülmektedir (Pereira ve ark., 2009).

Yapısal olarak, fenolik bileşikler bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halka içerir ve basit fenolik moleküllerden yüksek oranda polimerize bileşiklere kadar çeşitlilik gösterir (Bravo, 1998). Bu yapısal çeşitliliğe rağmen, bileşikler grubu genellikle polifenoller olarak adlandırılır. Polifenoller doğada bol miktarda ve farklı şekillerde bulunur. Yapılarına, kaynaklarına ya da fizikokimyasal işlevlerine göre sınıflandırma yapılabilir. Yapılarına göre bakıldığında, fenolik halkaların sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal unsurlara göre aşağıdaki şekilde gruplandırılabilirler:

1. Fenolik asitler

- a. Hidroksibenzoik asit türevleri (örn. gallik asit)
- b. Hidroksisinnamik asit türevleri (örn. kafeik asit, KA)

2. Flavonoidler

- a. İzoflavonlar, neoflavonoidler ve kalkonlar (örn. genistein, diadzein)
- b. Flavonlar, flavonoller, flavanonlar ve flavanoller (örn. luteolin, kuersetin, tangeretin, hesperedin, taksifolin)
- c. Flavanoller ve proantosiyanidinler (örn. kateşin, epigallokateşin gallat (EGCG), yoğunlaştırılmış tanenler)
- d. Antosiyanidinler (örn. malvidin, siyanidin)

3. Stilbenler (örn. resveratrol)

4. Lignanlar (örn. sekoizolarikiresinol)

5. Diğerleri (örn. kurkumin, hidroksitirosol)

Bu bileşikler gıdalarda serbest, glikozillenmiş veya esterleştirilmiş formda bulunur. Farklı formlarda bulunmaları vücuttaki geçişlerini, emilimlerini ve biyoyararlanımlarını belirler (Gupta ve ark., 2013).

Hidroksibenzoik asitler, ortak olarak C6-C1 yapısına sahip olan gallik, *p*-hidroksibenzoik, protokatekuik, vanilik ve sirinjik asitleri içerir. Hidroksisinnamik asitler ise üç karbonlu yan zincire (C6-C3) sahip aromatik bileşiklerdir ve kafeik, ferulik, *p*-kumarik ve sinapik asitler en yaygın olanlarıdır (Bravo, 1998). Kafeik asit daha baskın

bulunarak meyvelerdeki toplam hidroksisinnamik asitlerin %70'ini oluşturur (Lafay ve Gil-Izquierdo, 2008). Bu asitler nadiren serbest formda bulunur ve genellikle kuinik asit, tartarik asit veya karbonhidrat türevleri ile esterleşir. Hidroksisinnamik asitlerin kuinik asit esterleri KA'lar olarak adlandırılır. Aynı zamanda en yaygın bulunan 5-*O*-kafeoilkuinik asit (5-KKA), KA olarak da isimlendirilir. Birçok meyve ve sebze de bulunan hidroksisinnamik asitler, toplam benzoik asit türevleri veya flavonoidler açısından bakıldığında önemli ölçüde daha büyük bir grubu kapsar. Yapılmış çalışmaların çoğu kafeik asit, ferulik asit ve ana KA olan 5-KKA asit ile ilgilidir (Lafay ve Gil-Izquierdo, 2008).

Polifenollerin, antioksidan (Rice-Evans ve ark., 1997), antimikrobiyal (Mellou ve ark., 2005), antikanser (Fuggetta ve ark., 2006; Kunnumakkara ve ark., 2008; Schwarz ve Roots, 2003), antiinflamatuar (Kanda ve ark., 1998) ve antiülser aktiviteleri (Moharrem ve ark., 2018; Parmar ve Parmar, 1998) bulunmaktadır. Ayrıca Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif bozukluklar üzerinde de olumlu etkileri vardır (Butterfield ve ark., 2002). Yapıları nedeniyle, en önemli aktiviteleri antioksidan, yani serbest radikalleri gidermektir. Fenolik bileşikler bunun dışında hidrojen atomlarını, elektronları veya metal katyonlarını şelatlayarak antioksidan özellik gösterebilir. Fenoliklerin antioksidan aktivitelerinin önemli bir belirleyicisi de yapılarıdır. Bu durum yapı-aktivite ilişkisi olarak adlandırılır. Örneğin fenolik asitler söz konusu olduğunda, antioksidan aktivite hidroksil gruplarının karboksil fonksiyonel grubuna göre sayılarına ve konumlarına bağlıdır (Robards ve ark., 1996). -COOH'a orto veya para pozisyonunda -OH parçası bulunan monohidroksi benzoik asitler antioksidan aktivite göstermezken, aynı durum m-hidroksibenzoik asit için geçerli değildir (Rice-Evans ve ark., 1996). Fenolik asitlerin antioksidan aktivitesi, yüksek antioksidan aktivite gösteren trihidroksillenmiş gallik asitte olduğu gibi, artan hidroksilasyon derecesi ile artar. Bununla birlikte, şirinjik asitte olduğu gibi 3- ve 5- pozisyonundaki hidroksil gruplarının metoksil grupları ile yer değiştirmesi aktiviteyi azaltır (Rice- Evans ve ark., 1996). Hidroksisinnamik asitler, karşılık gelen hidroksibenzoik asitlere kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite sergilemektedir (Andreasen ve ark., 2001). Hidroksisinnamik asidin daha yüksek aktivitesi, hidroksibenzoik asitlerdeki -COOH grubuna kıyasla daha fazla H-bağ donörü yeteneği ve radikal stabilizasyonu sağlayan CH=CH-COOH grubundan kaynaklandığı düşünülmüştür (Rice-Evans ve ark., 1996).

Fenolik bileşiklerin gıda matrisi içinde bağlı olması, glikozitlerin hücrelerdeki konumu ve hücre duvarı yapılarındaki farklılıklar bu bileşiklerin biyoyararlanımını

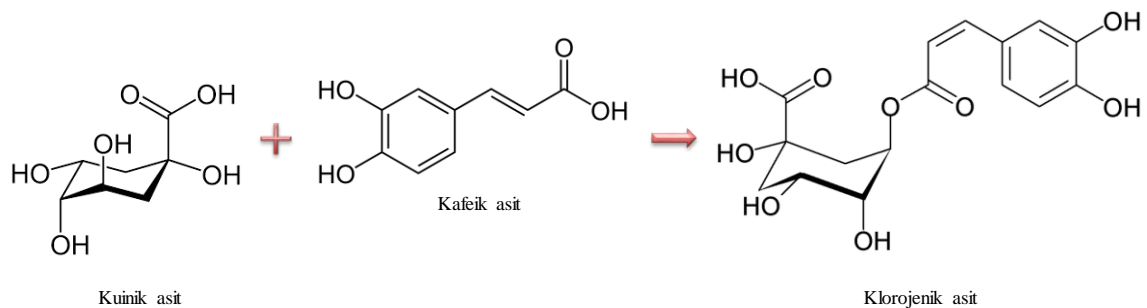
etkileyebilir. Fenolik bileşikler vücutta çeşitli reaksiyonlar sonucu ince bağırsaklarda, karaciğerde veya böbrekte metabolize olurlar. Genellikle hidroksil gruplarının konjugasyonu ile sonuçlanan bu enzimatik biyotransformasyonlar, antioksidan aktivitesi azalmış metabolitlerin oluşmasına neden olmaktadır (Hollman, 2001; Manach ve ark., 2004).

Polifenollerin sahip oldukları özellikleri ortaya koyması, karakteristik yapılarıyla ve karşılaştıkları matrisin bileşenleriyle doğrudan ilişkilidir. Fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı, biyoyararlanımları üzerinde etkilidir. Bu bileşikler genel olarak kararsızdır ve çevresel koşullara bağlı olarak bozunmaya yatkındır (De Camargo ve ark., 2018). Diğer yandan, fenolik ekstraktlar yüksek polariteye sahiptir ve bu da lipit bakımından zengin sistemlerde dağılımlarını ve dolayısıyla katkı maddesi olarak kullanımlarını sınırlamaktadır (Laguerre ve ark., 2010; Bayrasy ve ark., 2013).

Fenolikler, fizikokimyasal yöntemlerle test edildiklerinde çeşitli farmakolojik özellikler gösterir. Ancak hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda, yüksek polariteye sahip olmaları nedeniyle hücrelere daha zor nüfuz etmeleri, fenolik bileşiklerin biyoaktivitelerinin azalmasına sebep olur (Hammami ve ark., 2023).

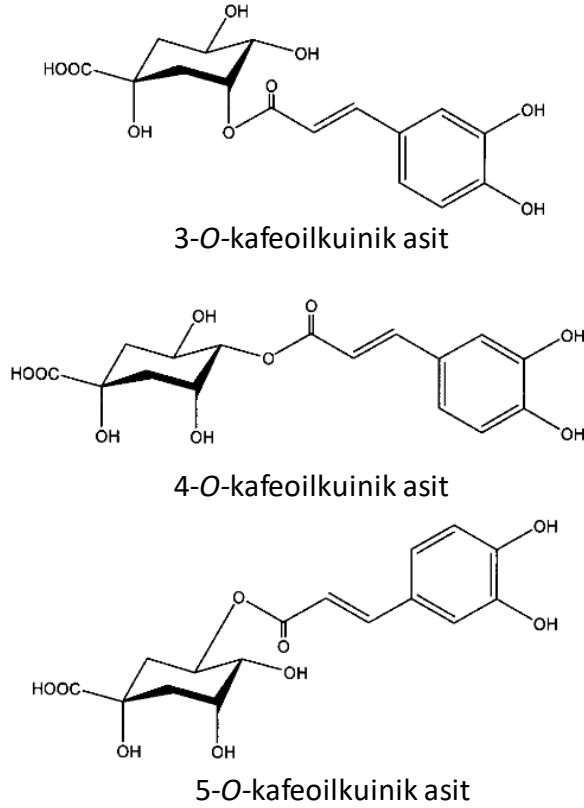
2.2. Klorojenik Asit

Biyolojik olarak aktif ve önemli bir diyet polifenolu olan KA, çoğu bitki türü tarafından üretilir. Kahve çekirdeği, bu bileşiği en fazla bulunduran bitkisel kaynaktır (Nardini ve ark., 2002). KKA'lar, birçok yenilebilir bitkide bulunan büyük bir fenilpropanoid grubudur ve bu nedenle bitki alemindeki en yaygın fenolik bileşiklerdendir (Woźniak ve ark., 2021).



Şekil 2.1. Kuınik asit, kafeik asit ve KA'nın yapısı

Genellikle KA terimi, kafeik asit ile kuinik asitin esterini ifade etmektedir (Clifford, 2000). Ancak kafeoil-, feruloil-, dikafeoil- ve kumaroilkuinik asitler dahil olmak üzere kuinik asitli hidroksisinamik esterlerinin tamamı KA olarak kabul görmektedir. Ayrıca, alt grupların her biri için KA'nın çeşitli izomerik formları vardır ve farklı bitki ekstraktları genellikle farklı KA'lar içerir. En yaygın bulunan izomerleri 3-*O*-kafeoilkuinik asit (3-KKA), 4-*O*-kafeoilkuinik asit (4-KKA) ve 5-KKA'dır (Clifford ve ark., 2017).



Şekil 2.2. KA izomerlerinin kimyasal yapısı

Yeşil kahve çekirdeklerinde (toplam KKA'nın %76-84'ü) ve diğer bitki kaynaklarında en yaygın bulunan izomer 5-KKA'dır (Clifford, 2000; Perrone ve ark., 2012).

Kahve, dünyada petrolden sonra ikinci en büyük ticaret ürünü olmakla birlikte büyük miktarda atığı olan bir üretime sahiptir (Nabais ve ark., 2008). Kahve zarı ve KP kahve endüstrisinin ana atıklarıdır. Dünya çapındaki kahve üretiminin (yıllık 6 milyon ton) neredeyse yarısı çözünen kahve hazırlamak için kullanılır (Tokimoto ve ark., 2005). Bu posanın kimyasal bileşimi çeşitli çalışmalarda detaylı olarak incelenmiş ve özellikle TFM içeriğinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Ekstraktlarda baskın olan fenolik

bileşiğın KA ve türevleri olduğu, bu bileşiklerin KP'nin antioksidan özelliğinden sorumlu olduğu bilinmektedir (Mussatto ve ark., 2011). Aynı şekilde Murthy ve Naidu (2012) çalışmalarında KP ekstraktlarının gıdalarda, yağların oksidasyonunu önleyici etki gösterdiğini bulmuşlardır. Elde edilen KP ekstraktının başlıca fenolik bileşenlerinin gallik asit, KA, protokateşik asit, vanilik asit, kafeik asit ve ferulik asit olduğu ve ekstraktların özellikle et ürünlerinde bozulmayı geciktirdiğı, unlu mamullerde raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir (Bessada ve ark., 2018).

Ayçiçeğı (*Helianthus annuus* L.) dünyadaki en büyük yağlı tohum kültürlerinden biridir ve yağ çıkarma işlemi, yüksek protein içeriğine sahip, fenolik bileşikler açısından zengin bir yan ürün (küspe) üretir. Bu küspe, buruk bir tada sahip istenmeyen yeşilimsi bir renk veren yüksek kabuk ve fenolik bileşik içeriğinden dolayı insan tüketimi için kullanılmamaktadır. Büyük bir kısmı hayvan yemi olarak kullanılan küспенin fenolik bileşen içeriğı çoğunluğu KA olmak üzere 1 ila 4 g/100 g arasında değişmektedir (Weisz ve ark., 2009). Alexandrino ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, yağı alınmış ayçiçeğı küspesinden fenolik bileşikleri ekstrakte etmişlerdir. Ham ekstraktların antioksidan, antimikrobiyal, anti-proliferatif ve DNA koruyucu aktiviteleri analiz edilmiştir. Fenolik bileşik içerikleri KA eşdeğeri olarak belirlenmiş ve sodyum bisülfid ekstraktı ve etanolik ekstrakt için sırasıyla 11,57 ve 15,44 g KA/100g olarak bulunmuştur. Bu bulgular, AÇ'den elde edilen ekstraktların gıda endüstrisinde doğal katkı maddesi olarak potansiyel kullanımını ortaya koymuştur. AÇ'den fenolik bileşiklerin alınmasını ve aynı zamanda bitkisel doğal bileşiklerinin gıda ve ambalaj yapılarında antioksidan ve antimikrobiyal olarak kullanılmasını içeren iki önemli konu literatürde çalışılmaktadır. Ayçiçek tohumlarındaki fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan kapasitesi de literatürde pekiştirilmiş bir konudur (Alexandrino ve ark., 2021).

Patates endüstride özellikle nişasta, pudra, çocuk maması, tutkal, glikoz, dekstrin, lens üretiminde kullanıldığı gibi gıda sanayisinde cips, gevrek, çubuk kızartma, lapa, un ve makarna üretiminde kullanılmaktadır. Son yıllarda patates işleme yan ürünü olan kabuğun enzim üretiminde ve diyet lifi ile doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesi gündeme gelmiştir. Yapılan bir çalışmada PK ekstraktının BHA-BHT'den yüksek, TBHQ ve biberiye ekstraktından ise düşük antioksidan aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Onyeneho ve Hettiarachchy, 1993). Singh ve Rajini (2004) tarafından sıçan karaciğer homojenatı kullanılarak yapılan in vitro bir çalışmada ise PK ekstraktı antioksidan etki göstererek serbest radikalleri/reaktif oksijen türlerini temizleme de etkili olmuştur. Yapılan diğer in vitro çalışmalarda PK ekstraktı soya yağı (De Sotillo

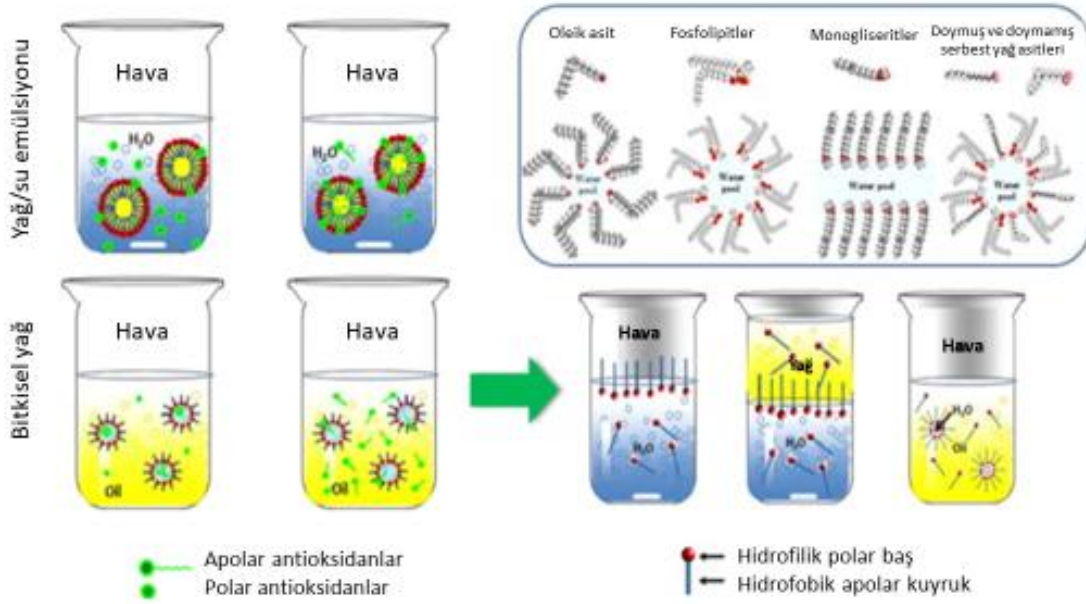
ve ark., 1994), ayçiçek yağı (Yalçın ve ark., 2011), sığır köftesi (Mansour ve Khalil, 2000) ve kuzu etinde (Kanatt ve ark., 2005) lipit oksidasyonunu önlemiştir. PK ekstraktı ile yapılan çalışmalarda, ana antioksidan bileşikler; klorojenik (%50,3), gallik, sinnamik ve ferulik asit olarak tanımlanmıştır. Bu ekstraktın, fenolik profili sayesinde soya yağının depolanmasında güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Habib ve Shah, 2004). Daha önce laboratuvarımızda PK ekstraktı soğuk pres yağda antioksidan olarak kullanılmış ve antioksidan aktivitesi çeşitli yapay antioksidanlarla karşılaştırılmıştır (Bozyokuş ve Arslan, 2022). Ancak ekstraktın yağdaki çözünürlüğü sınırlı olduğu için daha sonra yürüttüğümüz çalışmada çeşitli lipofilizasyon yöntemleri üzerinde çalışılmıştır (Taweel, 2022).

2.3. Fenolik Bileşiklerin Çözünürlüğü

Fenolik bileşiklerin sahip olduğu çok çeşitli özellikler, spesifik yapıları ve karşılaştıkları matrisin diğer bileşenleri arasındaki etkileşimleri ile doğrudan ilişkilidir (Cheynier, 2005). Polifenollerin orijinal karmaşık matrislerinden en uygun şekilde ekstraksiyonu zordur. Ayrıca, polifenolün optimum ekstraksiyonunun zorluğu dışında, polariteleri lipit bakımından zengin sistemlerde dağılımları ve dolayısıyla örneğin gıdalarda ve kozmetik formülasyonlarda katkı maddesi olarak kullanımları sınırlıdır (Figuroa-Espinoza ve Villeneuve, 2005; Laguerre ve ark., 2010; Bayrasy ve ark., 2013). Buna göre, lipofilizasyon, genel olarak polifenoller gibi yağda zayıf çözünürlüğe sahip moleküllerin lipit bazlı sistemlerde stabilitesini ve dağılımını iyileştirmek için bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Grajeda-Iglesias ve ark., 2022). Lipofilizasyon, daha yüzey aktif hale getirmek için belirli bir moleküle lipofilik kısım (lar) kazandırılmasıyla oluşur (Figuroa-Espinoza ve Villeneuve, 2005). Bu reaksiyon sonucunda ortaya çıkan moleküllerin (Laguerre ve ark., 2010), ana bileşiklerine kıyasla uygulama alanlarını ve biyoyararlanımlarını etkileyecek şekilde gelişmiş lipofilite göstermesi beklenmektedir (Bayrasy ve ark., 2013; Cruz ve ark., 2018).

Ancak lipofilite araştırmalarında, özellikle suda yağ emülsiyonlarında antioksidan bileşiklerin kullanıldığı araştırmalara bakıldığında “polar paradoks” kavramıyla sıkça karşılaşılmaktadır (Özdemir, 2022). Bu kavram, Porter (1980)’ın çalışmasıyla kullanılmaya başlanan bir teoridir. Teoride, yağlarda kullanılan polar özellikteki antioksidanların aktivitesinin polar olmayan antioksidanlardan daha yüksek olduğu, aynı şekilde suda yağ emülsiyonlarında kullanılan apolar antioksidanların, polar

özelliktekilerden daha aktif olduğu öne sürülmektedir (Şekil 2.3). Bu durum daha sonraki yapılmış çalışmalarda, yağ/su emülsiyonlarında oksidasyonun başladığı yer olarak kabul edilen ara yüzeyde apolar antioksidanların yerleşmesinin daha yüksek oranda olmasıyla açıklanmıştır. Ancak ilerleyen dönemlerde yapılan çalışmalarda bütün antioksidanların yağ ve emülsiyon ortamlarında bu teoride ifade edildiği şekilde aktivite göstermediği bulunmuştur (Laguerre ve ark., 2015).



Şekil 2.3. Emülsiyon ortamlarında polar paradoks teoremi (Li ve ark., 2015)

Bu araştırmalar, yığın yağ ve emülsiyon ortamlarında farklı antioksidan bileşiklerin kullanılmasıyla yapılacak çalışmaların önemini ortaya koymaktadır.

Polifenoller bitkilerde genellikle glikozillenmiş (polifenol iskeletine bağlı bir şeker), aglikon (şeker içermeyen) veya esterleşmiş formlarda bulunur. Glikozile formlar lipofilik formülasyonlarda zayıf çözünürlüğe sahiptir ve polar çözücülerde çözünür. Aglikonlar suda zayıf çözünürlük gösterirken, esterleşmiş formlar daha büyük molekül yapısına sahiptir ve lipit ortamında çözünür. Polifenollerin bitkilerde bulunduğu form, farklı çözücülerdeki davranışlarını belirler. Dolayısıyla, biyoyararlanımın önündeki engeller çözünürlük, geçirgenlik, metabolizma, atılım ve hedef doku alımını içerir. Zayıf biyoyararlanımın yanı sıra, polifenoller ticari preparatlarda düşük çözünürlük ve stabilite sergilemekte, bu da birçok uygulamada kullanımlarını kısıtlamaktadır (Chebil ve ark., 2006; Ishihara ve Nakajima, 2003). Polifenollerin biyotransformasyonu, orijinal biyoaktivitelerini korurken polifenollerin yapısını değiştirerek bu sorunları ele alır. Bir

polifenolün yapısı, doğal yapısına hidrofobik/hidrofilik bir grubun dahil edilmesiyle değiştirilebilir. Ortaya çıkan bileşik, ticari uygulamasını büyük ölçüde genişletecek amfifilik özelliklere sahip olabilir. Bugüne kadar araştırmacılar polifenollerini kimyasallar, enzimler, mikroorganizmaların yanı sıra bitki hücre kültürlerini kullanarak modifiye etmeye çalışmışlardır. Polifenollerini esterleştirmek için en yaygın kullanılan enzim olarak ortaya çıkan lipaz ile bu alanda çok ilerleme kaydedilmiştir. *Streptomyces* sp. ve *Aspergillus* sp. en yaygın kullanılan mikroorganizmalar, *Eucalyptus perriniana* ve *Capsicum frutescens* ise en yaygın kullanılan bitki türleridir. Günümüzde araştırmacılar, verimli çözücü sistemlerinin geliştirilmesine ve polifenol türevlerinin üretimini en üst düzeye çıkarmak için farklı kaynakların tanımlanmasına odaklanmaktadır. Ayrıca, bu türevlerin biyoaktivitesi, biyoyararlanımı ve güvenliğine ilişkin bir değerlendirme yapılmalıdır (Gupta ve ark., 2013).

Fenolik maddelerin moleküler yapısı ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyon Cuvelier ve ark. (1992) tarafından tanımlanmıştır. Buna göre monofenollerin polifenollerden daha az etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca *orto* veya *para* pozisyonundaki ikincil hidroksil grubunun antioksidan aktiviteyi arttırdığını ve monofenollerin aktivitesinin bir veya iki metoksilik substitüent ile önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Söz konusu araştırmada, çalışılan alkil esterler, nihai maddelerin polaritesini azaltmak için fenolik asitlerden sentezlenmiştir, bu da yağdaki çözünürlüğü artırır ve ayrıca lipofilik hücre duvarına erişimi kolaylaştırır.

Fenolikler doğal olarak yapılarında hidroksil grubu içerirler. Polihidroksil yapıları onlara yüksek hidrofilisite sağlar. Öte yandan, hidroksil gruplarının sayısının fazlalığı ve dizilimi fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri üzerinde etkilidir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Aynı zamanda hidroksil gruplarının aromatik halkalardaki substitüsyon durumları da bileşiğin aktivitesi üzerinde etkilidir (Balasundram ve ark., 2006; Rice-Evans ve ark., 1996). Bu nedenle yapıdaki bir değişiklik biyolojik özelliklerini büyük ölçüde değiştirebilir. Céliz ve Daz (2011) çalışmalarında prunun molekülüne alkil zincirlerinin eklenmesinin antiradikal aktiviteyi nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Sonuç olarak türetilen bileşiklerin, ana aglikonun aktivitesine çok yakın bir değer verdiğini belirtmişlerdir. Purinine hidrofobik zincirin eklenmesi serbest radikalleri giderme kapasitesini korumakla birlikte, hidrofobik ortamda (1-oktanolde) çözünürlüklerini önemli ölçüde artırmıştır. Elde edilen açıl türevleri ana pruninden daha lipofildir, bu da onları hidrofobik matrislerde antioksidan özelliklerinden yararlanmak için uygun hale getirir.

Fenolik bileşiklerin lipofilizasyonu, bazı durumlarda biyoyararlanımlarını artırarak hücre hedeflerine taşınmalarını ve hücre alımını kolaylaştırır (Grajeda-Iglesias ve ark., 2022). Grajeda-Iglesias ve ark. (2022), fenolik bileşiklerin düşük hidrofobikliklerini dikkate alarak, bu bileşiklerin doğal özelliklerini geliştirmek amacıyla lipofilizasyon uygulamıştır. Yaptıkları çalışmada, nar kabuğundan elde edilen ellagitanninler ilk kez lipofilize edilmiş; ayrıca önceki araştırmalara dayanarak, ebegümeçi çiçeklerinden elde edilen bir antosiyanin ve bir fenolik asit de başarıyla lipofilize edilmiştir. Lipofilizasyonun bu bileşiklerin temel özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla, farklı alkil zincir uzunluklarına sahip protokatekuatlar, antifungal kapasiteleri açısından değerlendirilmiş ve yeni sentezlenen ellagitannin esterleri *in vitro* antiradikal aktiviteleri açısından incelenmiştir. Sonuçlar, zincir uzunluğuna bağlı olarak, lipofilizasyonun orijinal fenoliklerin fonksiyonel özelliklerini geliştirdiğini göstermiştir. Modifikasyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan moleküllerin, uygulama alanlarını ve ana bileşiklerine kıyasla biyoyararlanımlarını etkileyecek gelişmiş lipofilisite göstermesi amaçlanmıştır (Cruz ve ark., 2018). Bunun, gıda, kozmetik veya ilgili ürünlerde antioksidan olarak gelişmiş bir potansiyele sahip molekülleri sentezlemek için yenilikçi bir yol olabileceği ifade edilmiştir.

Fenolik bileşiklerin lipofilisitesi ve yapı-aktivite ilişkisi ile ilgili olarak Pizzolitto ve ark. (2015) bileşiklerin antifungal aktivitesinin, lipofilisiteleri, bileşenlerin reaktivitesi ve sterik yönleri ile pozitif ilişkisi olduğunu belirtmiştir. Bu, fenolik bileşiklerin mikrobiyal büyüme üzerindeki inhibitör etkilerinin moleküler yapılarıyla ilişkili olabileceği anlamına gelir. Delokalize elektron sistemi ile birleştirilmiş bir hidroksil grubu, bileşiğe lipoprotein membranlarının işlevini etkileme özelliği kazandırır. Voda ve ark. (2004), fenolik bileşiklerin antifungal aktivitesindeki varyasyonun %80'inin lipofilisiteleri ile açıklanabileceğini göstermiştir. Ancak bu, bir fenolik bileşiğin zincir uzunluğundaki artışın antifungal aktivitesi için her zaman olumlu olacağı anlamına gelmez. Buna göre, birçok araştırmacı, bir dizi esterleştirilmiş fenolik bileşiğin antimikrobiyal aktivitesinin, belirli bir karbon sayısına kadar arttığını bulmuştur (Kubo ve ark., 1995; Fujita ve Kubo, 2002). Bunun başlıca nedeni, polar hidrofilik grup ile molekülün polar olmayan hidrofobik kısmı arasındaki denge olabilir. Bu bileşiklerin maksimum aktivitesi, spesifik alkil zinciri uzunluğu, test edilen mikroorganizmalar ve her bir bileşik arasında değişmektedir (Kubo ve ark., 1995). Bu nedenle, antifungal bileşiklerin hidrofobik özellikleri, polifenollerin antifungal aktivitesinde rol oynayan temel özellik olup, hedef bölgeye ulaşmalarını sağlar (Rasooli ve Owlia, 2005;

Dambolena ve ark., 2012). Bu bulgu, antioksidanlar, antifungaller ve pigmentler olarak potansiyel kullanımı olan bu bileşiklerin lipofilitesini ve belki de stabilitesini iyileştirmenin bir yoludur.

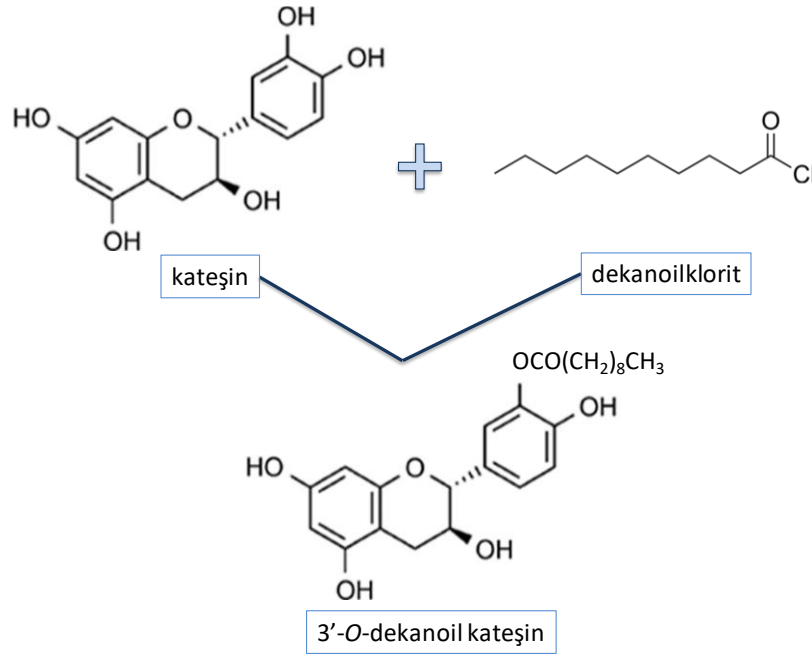
Daha yakın zamanda, Cruz ve ark. (2018) doğal bir antosiyaninin ilk enzimatik lipofilizasyonunu rapor etmiş ve yeni bileşiğin renk özelliklerini (kırmızı-mor renk) ve antioksidan aktivitesini koruduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, (Marquez-Rodriguez ve ark., 2021), *Hibiscus sabdariffa*'dan enzimatik olarak lipofilize edilmiş bir antosiyaninin, öncüsünden önemli ölçüde farklı renk özellikleri sunduğunu göstermiştir. Bu nedenle, lipofilik özellik kazandırılmış fenolik bileşiklerin, esterleşmemiş moleküllere kıyasla heterojen ortamda gelişmiş fonksiyonel özellikler göstermesi beklenebilir.

Gıdalarda bulunan serbest çoklu doymamış yağ asitleri oksidasyona yatkındır ve serbest radikaller oluşturarak sağlık riskleri oluşturabilir. Bu yağ asitleri kullanılarak polifenollerin esterleştirilmesiyle, kolayca oksitlenebilen asitlerin stabilize edilebileceği düşünülmüştür (Speranza ve Macedo, 2012; Viskupičová ve ark., 2010). Askorbik asidin lipofilik alternatifi olarak gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan askorbil palmitat, enzimatik esterifikasyon yöntemiyle elde edilmektedir. Ferulik, klorojenik, sinnamik, sinapik, *p*-kumarik ve kafeik asitler de dahil olmak üzere bir dizi fenolik antioksidan da benzer şekilde lipofilize edilmiştir (Zhong ve Shahidi, 2012). Bu tür modifikasyonlar, yeni yapıların oluşması nedeniyle polifenollerin çeşitliliğini de artırır.

Polifenollerin doymuş veya doymamış yağ asidi ile esterleştirilmesi, onları lipofilik hale getirir ve bu da yağ bazlı gıdalarda uygulanmalarına yardımcı olur (Gupta ve ark., 2013). Lipofilizasyon için fenolik bileşiklere uygulanan en yaygın yöntem, yağ asitleri ile ester türevlerinin kimyasal veya enzimatik oluşumudur. Ancak seçici olmamaları ve olumsuz çevresel etkileri gibi dezavantajları vardır. Kimyasal yöntemler ile yapılan esterleşme reaksiyonlarında enzimatik yöntemlere göre daha yüksek bir substitüsyon derecesi elde edilmiştir. Ayrıca kimyasal yöntemler sonucu moleküllerin radikal giderme aktivitesi ve türevlerin lipofilitesinin arttığı görülmüştür. Bu sonuç radikal erişilebilirliği/afinitesindeki değişikliklere veya olası elektronik ve sterik etkilere bağlanmıştır (Lei ve ark., 2020; Wang ve ark., 2016; Zhong ve Shahidi, 2011). Kimyasal yöntemler maliyet ve kullanım kolaylığı açısından caziptir, ancak bazı toksik kimyasalların kullanımıyla ilgili tehlikeler, özellikle de son ürün insan kullanımına yönelikse çok yüksektir. Polifenol yapısında bulunan çok sayıda hidroksil grubunun

varlığı, kısmi ve/veya seçici modifikasyonu oldukça zorlaştırmaktadır (Zhong ve Shahidi, 2011).

Fenolik bileşiğin bir açıl donörü ile esterleştirilmesi, fenoliklerin polaritesini azaltmak ve yağdaki çözünürlüğünü artırmak (daha yüzey aktif hale getirmek) için son yıllarda en çok uygulanan yöntemdir. Stevenson ve ark. (2006) flavonoid glikozitlerin palmitik, sinnamik ve propiyonik asitlerle doğrudan açilasyonunu ve hidrosillenmiş türevlerini çalışmışlardır. Lipofilizasyon olarak adlandırılan bu işlem kimyasal, enzimatik ve kemo-enzimatik yöntemlerle yapılabilmektedir. Ayrıca, yeni bir yaklaşım olarak, fenolik bileşikler moleküler hibridizasyon ile yapılandırılabilir. **Moleküler hibridizasyon işlemi**, önceden karakterize edilmiş bir öncü bileşiğin çeşitli amaçlar için kimyasal modifikasyon yöntemidir. Orjinal yapıların moleküler modifikasyonları, farmakolojik etkide çeşitli düzeylerde iyileştirmelerle sonuçlanmıştır. Yöntemin, belirli bir vücut hedef bölgesi için bir öncü bileşiğin özgülüğünü ve gücünü arttırdığı, emilim oranını iyileştirdiği, toksisiteyi azalttığı ve öncü bileşiğin fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirdiği bildirilmiştir (Sunil ve ark., 2019). Lei ve ark. (2020) çalışması, üzüm çekirdeği ekstraktlarının modifikasyonunda bu sürecin uygulanmasına benzersiz bir örnek olarak verilebilir. Hibridize üzüm çekirdeği ekstraktlarının daha yüksek antioksidan aktivite ve biyolojik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu yöntem, lipofiliklik kazandırmak ve antioksidan aktivitelerini artırmak için farklı alifatik yağ asitlerinin fenoliklere aşılması yoluyla benzer bir yapısal modifikasyon yöntemidir (Şekil 2.4). Örneğin EGCG, yeşil çayda bulunan baskın kateşindir ve hidrofilik sistemlerde iyi çözünür. Bu nedenle lipofilik sistemlerde koruyucu etki göstermesi sınırlıdır. EGCG'nin stearik asit, eikosapentaenoik asit ve dokosaheksanoik asit gibi farklı açıl donörleri ile esterleştirilmesi, elde edilen esterlerin ana EGCG molekülüne göre antioksidan aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Zhong ve Shahidi, 2011).



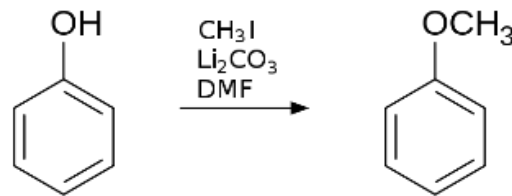
Şekil 2.4. Kateşin bileşiğinin dekanoyik asit ile hibridizasyonu

Yüksek iyonik potansiyele sahip metaller ile fenolik bileşiklerin hibridizasyonu yeni antioksidan bileşiklerin tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Elektron yükünü stabilize eden metal iyonlarının, kompleks oluşumu sonucu elde edilen hibrit molekülün antioksidan özelliklerini artırdığı bulunmuştur (Chen ve ark., 2024).

Jin ve Yoshioka (2005), kateşin bileşiğinden polimerizasyon ile yeni bir bileşik sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiğin lipid fazında kateşinden daha iyi bir antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda KA bakımından zengin ekstraktların etkinliğini artırmak için bu yöntem denenmiştir.

Uygulanabilecek bir diğer yöntem ise metilasyondur. **Metilasyon işlemi**, bir bileşiğe bir metil grubunun ($-\text{CH}_3$) aktarılmasıdır. Fenolik bileşiklerin yapısındaki metoksi gruplarının artması antioksidan aktiviteyi oldukça artıran bir durumdur (Chen ve ark., 2020). Bu işlem lipit ortamda çözünürlüğü de artırır. Ancak fenoliklerin *o*-metilasyonunda antioksidan aktivitenin azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Dueñas ve ark., 2010). Yine de çözünürlük açısından sağlayacağı faydaları ve özellikle su varlığında (emülsiyeye ortam gibi) oluşturacağı etkiyi görmek için ekstraktların bu şekilde modifikasyonuna da yer verilmiştir. Metilasyonda, normalde kullanılan toksik reaktifler (diazometan, dimetil sülfat (DMS), metil iyodür yerine çevre dostu ve toksik olmayan bir bileşen olan dimetil karbonat (DMC) reaktifinin 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) katalizörü ile kullanımı son yıllarda literatürde

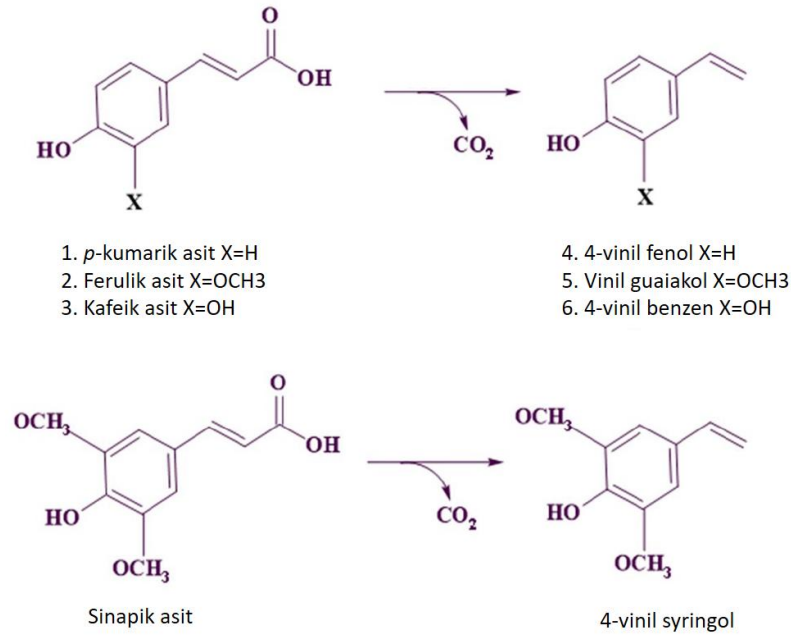
yer bulmaktadır. DMC bu amaçla çeşitli çalışmalarda denenmiş ve başarılı sonuçlar vermiştir (Bernini ve ark., 2013; Shieh ve ark., 2001). Ayrıca Lui ve ark. (2016) dihidroksi benzen türevleri üzerinde yaptıkları çalışmada DMC ile metilasyonda mikrodalga desteği kullanmışlardır. Çeşitli katalizörlerin etkisini inceledikleri bu çalışmada DBU kullanımını %93,2 verim sağlamıştır. Aynı şekilde Rajabi ve Saidi (2004) de çalışmalarında fenolik bileşiklerin DMC/DBU metilasyonunda %81-95 oranında verim olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle DMC/DBU sistemi kullanılarak KA açısından zengin ekstraktların metilasyon reaksiyonunun hızlı ve yüksek verimli olması hedeflenmiştir. Metilleme aracı olarak kullanılan DMC, DMS, metil iyodür ve metanol kıyaslamasının yapıldığı çalışmada DMC ve metanol benzer uygulama sonuçları vermiştir. Ancak DMC, metanole göre kompleks katalizör gereksinimi olmaması, toksik olmaması, daha düşük sıcaklıklarda aktif olması yönleriyle avantajlı sayılmıştır (Selva ve Perosa, 2008). Kuersetin, kateşin ve epikateşin gibi flavonoidlerin katekol halkasında bulunan hidroksillerinin *o*-metilasyonu çalışılmıştır. Metillenmiş metabolitler ortamın pH değerine bağlı olarak ana bileşiklerden daha düşük antioksidan aktivite göstermiştir. Ancak pH 7.4’de önemli antioksidan aktivite göstermeye devam etmiştir. Bu sonuç da metilasyon ile oluşan bileşiklerin fizyolojik koşullarda potansiyel antioksidanlar olarak hareket edebileceklerini göstermektedir (Dueñas ve ark., 2010). N,N-dimetilformamid (DMF) ve dimetilasetal kullanılarak fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli *p*-metilasyonu gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga destekli metilasyon yöntemleri, yüksek verim ve kısa reaksiyon süresi nedeniyle dikkat çekmektedir (Belov ve ark., 2011). Ekstraktlarda bu işlemin uygulandığı çalışmalara da rastlamak mümkündür (Zeljko ve ark., 2015).



Şekil 2.5. Metilasyon reaksiyonu (Selva and Perosa, 2008)

Dekarboksilasyon işlemi, dekarboksilaz enziminin etkisiyle bitki materyalindeki fenolik bileşende doğal bir dönüşüm olarak gerçekleşir. Fenolik bileşiklerin yapısal modifikasyonunda kullanılan yöntemlerden biridir. Sutor-Świeży ve ark. (2022), üretilen betanin türevlerinin *Beta vulgaris* L. ürünlerinin biyoaktiviteleri üzerinde güçlü bir etkiye

sahip olabileceğini ve sağlık üzerinde potansiyel olumlu etkileri ve renklendirici özellikleri ile çeşitli gıda uygulamalarında kullanılabileceğini bildirmiştir. Kanola küspesinden kanolol üretiminde yaygın olarak kullanılan bir sentez yöntemi olan dekarboksilasyon işlemi (Khatab ve ark., 2014), bu çalışmada ilk kez KA zengin ekstraktlar üzerinde test edilmiştir.



Şekil 2.6. Fenolik asitlerin dekarboksilasyon reaksiyonları (Li ve ark., 2021).

Bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimi ile yürüttükleri bir detoksifikasyon sistemleri vardır. Bu enzim ile fenolik bileşikler parçalanarak karbondioksit oluştururlar ve türev bileşikler üretilir (Li ve ark., 2021). Fenolik asitlerin dekarboksilasyonu yağda çözünürlük sağlar ve antioksidan aktiviteyi artırır. Hidroksisinnamik asit dekarboksilasyona uğradığında, lipofilitesi artacak ve yağlardaki antioksidan kapasitesi değişecektir, çünkü hidroksil grubu ile birlikte karboksilin varlığı yağlardaki çözünürlüğü azaltır (Shin ve ark., 2018). Bunun en yaygın bilinen örneği, kenevir tohumundan elde edilen sinapik asitin dekarboksilasyonu ile açığa çıkan 4-vinilsiringol (kanolol) bileşiğidir. Ferulik ve sinapik asitin dekarboksilasyonu yağlardaki çözünürlüğü artırmıştır (Wang ve ark., 2014). Aynı şekilde sinapik asit ve türevlerinin incelendiği bir çalışmada, dekarboksilasyon ile elde edilen 4-vinilsiringol bileşiğinin hidroperoksil radikalini giderme hızının sinapik asitten daha fazla olduğu bulunmuştur. Dahası 4-vinilsiringol'ün polar olmayan bir sistemde sinapik asitten %15 daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Chen, 2016). Petrovici ve ark. (2021)'nin

yaptığı bir çalışmada kenevir yağındaki kannabidiol miktarını artırmak amacıyla kannabidiol bileşiğinin dekarboksilasyonu yapılarak kenevir yağına ilave edilmiştir. Elde edilen yağın antioksidan özellikleri ve kanser hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kannabidiol bileşiğinin dekarboksilasyonu için en uygun koşulların 90 °C sıcaklık, 1 saat olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak dekarboksile kannabidiol bakımından zenginleştirilmiş kenevir yağı, daha güçlü antioksidan özelliğın yanında kanser hücreleri üzerinde seçici sitotoksik etkiler sergilemiştir. Benzer bir çalışmada farklı sıcaklıkların etkisiyle kannabidiolik asitten karboksil grubununun uzaklaşıp nötr kannabinoitlerin oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca kenevir ekstraktı da dekarboksilasyona tabi tutulup sonuçlar kıyaslanmıştır (Wang ve ark., 2016). Kahve ekstraktından mikroorganizmaların yardımıyla fenolik asitlerin dekarboksilasyonu yapılarak yeni ve değerli fenolik türevlerin elde edilmesi hakkında bir patent bulunmaktadır. KP'den hazırlanan ekstraktın fermentasyona bırakılması sonucu, fenolik asitler dekarboksilaz enzimleri sayesinde 4-vinilkatekol gibi polar türevlere dönüşürler (Bel-Rhıid ve ark., 2011). Bu bilgiler ışığında, dekarboksilasyon yöntemi çalışmamızda yüksek KA içeren ekstraktlara uygulanmıştır.

Antioksidanların lipit ve lipit bazlı ortamlardaki etkinliğı yağın doğası, antioksidanın hidrofilik-lipofilik dengesi ve ara yüzey etkileşimleri gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu nedenle, bir sistemde etkili olan antioksidan bileşikler diğeri sistemler için uygun olmayabilir. Ayrıca polarite ve moleküler özellikler, antioksidan bileşiklerin farklı gıda sistemlerinde farklı etkilere sahip olmasına neden olur. Örneğın, hidrofilik antioksidanlar yığın yağın oksidasyonunu önleyebilirken, hidrofobik antioksidanlar yağ/su emülsiyonunda lipit oksidasyonunu etkili bir şekilde geciktirir. Bu nedenle, bir antioksidanın en iyi çalıştığı ortamı bulmak için farklı model sistemleri karşılaştırmak gerekir (Pokorný, 2007; Decker ve ark., 2017).

Polifenollerin çoğunluğu bitkilerde glikolize formlarda bulunurken, bazıları aglikon ve esterleşmiş formdadır. Glikolize formlar lipofilik formülasyonlarda zayıf çözünürlüğe sahiptir ve polar çözücülerde iyi çözünürler. Aglikonlar suda az çözünürken, esterleşmiş formlar yağda sudan daha iyi çözünür. Bu nedenle, fenolik bileşiklerin katı ve sıvı yağlar ile emülsiyonlarda antioksidan bileşenler olarak kullanılabilirliğini artırmak için çözünürlüklerini iyileştirmek önemlidir (Manach ve ark., 2004; Tsao, 2010; De Rijke ve ark., 2006).

Polifenollerin biyotransformasyonu bilimsel ve endüstriyel açıdan oldukça ilgi çekmektedir. Polifenollerin yapısındaki değışim, biyolojik özelliklerinin yanı sıra fizikokimyasal özelliklerinde de değışikliklere neden olur. Bu tür değışiklikler,

polifenollerin kullanım alanını büyük ölçüde genişleten artan lipofilisite, biyoyararlanım, gelişmiş stabilite, çözünürlük ve antioksidan aktiviteye sahip polifenoller üretilmesini sağlar. Bununla birlikte, modifikasyonun başarısı polifenollerin dönüştürülmesi için kullanılan yöntemle bağlıdır.

Polifenoller lipofilize edilebilirse, lipid içeren hücre zarına nüfuz etme kabiliyetlerinin artacağı varsayılmaktadır. Bu nedenle, polifenollerin lipofilisitesini artırmaya yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır, ancak *in vivo* çalışmalar hala yetersizdir. Saf bileşiklerin veya polifenol içeriği bilinen gıda maddelerinin alımından sonra plazma ve idrardaki konsantrasyon miktarları ölçülerek daha doğru kanıtlar elde edilebilir. Kodelia ve ark. (1994) sentezlenen lipofilik polifenolün (rutin ester) hücre membranına daha etkili bir şekilde nüfuz edebildiğini göstermiştir. İşlenmiş hücrelerde mikronükleus oluşumunun indüklenmiş sıklığının, benzer dozlar için rutin ester (%8) için rutinden (%3,5) çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Lipofiliziteyi artırmak için hidroksisinnamik asitlere esterleşme ve amidasyon reaksiyonları yoluyla alkil zincirlerinin eklenmesi de uygulanmıştır (Razzaghi-Asl ve ark., 2013). KA'nın lipofilize edildiği az sayıda çalışma mevcuttur (Laguerre ve ark., 2011).

Yukarda belirtilen literatür verilerinden de görülebileceği gibi, fenolik bileşiklere lipofilizasyon da dahil olmak üzere yapısal modifikasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Ancak bu türevlendirmelerin doğrudan ekstraktlar üzerinde gerçekleştirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır (Aladedunye ve ark., 2015; Lei ve ark., 2020). Tek tek fenolik bileşen yerine ekstraktlar üzerinde çalışmak, sonuçları endüstriyel ve ticari açıdan daha uygulanabilir hale getirecektir. Modifikasyon yöntemleri doğrudan ekstraktlara uygulanarak iş yükü ve maliyetin azaltılması hedeflenmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında KA bakımından zengin üç farklı kaynaktan elde edilen ekstraktlar üzerinde modifikasyonlar yapılmıştır. Uygulanan modifikasyon yöntemleri; DMC/DBU-metilasyon, dekarboksilasyon ve moleküler hibridizasyondur. Literatürde bu yöntemlerin KA ve KA bakımından zengin ekstraktlar üzerinde test edildiği yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır.

2.4. Lipit Oksidasyonu

Lipit oksidasyonu, yağ ve yağ bazlı emülsiyonların kalitesini etkileyebilecek en zararlı reaksiyonlardan biridir. Lipit oksidasyonu, genellikle birincil ve ikincil oksidasyon

olarak ikiye ayrılan bir serbest radikal zincir reaksiyonudur (Frankel, 2006). Birincil oksidasyon sırasında, lipit radikalleri ($L\bullet$) oksijenle (O_2) reaksiyona girerek diğer lipitlerden (LH) hidrojen çekebilen peroksi-radikaller ($LOO\bullet$) oluşturur ve hidroperoksitler ($LOOH$) meydana getirir. İkincil oksidasyon genellikle bu hidroperoksitlerin aldehitlere, epoksitlere ve diğer ikincil oksidasyon ürünlerine bozunması olarak tanımlanır.

Oksidasyon ürünleri yağın yağların niteliklerinin bozulmasına neden olduğundan ve sağlığı olumsuz etkileyebildiğinden, sentetik antioksidanlar oksidasyon süreçlerini geciktirmek için gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların sağlığa zararlı etkileri nedeniyle doğal antioksidanlar üzerinde uzun süredir birçok çalışma yürütülmektedir. Doğal antioksidanların düşük stabilite, duyu ve fiziksel özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde kullanımları hala yaygınlaşmamıştır. Bu çalışmada, yüksek miktarda açığa çıkan atıklardan elde edilen KA bakımından zengin ekstraktlar çeşitli yöntemlerle yapılandırılarak yağlarda ve yağlı gıdalarda kullanımı açısından incelenmiştir. Elde edilen modifiye ekstraktların antioksidan aktiviteleri farklı lipit matrislerinde (soğuk pres yağ, emülsiyon, tereyağ, yağ asitleri) ortaya konulmuştur. Antioksidanların etki mekanizmaları yağ sistemlerinde iyi tanımlanmıştır. Diğer karmaşık ve heterojen yağ ve benzeri ortamlarda antioksidanların davranışı değişmektedir. Modifiye ekstraktların doymuş yağ asiti oksidasyonu üzerindeki etkilerini aydınlatmak için bu ortamı simüle eden tereyağ model sistemi kullanılmıştır. Yağ/su emülsiyonlarında, arayüzey tabakası ve ara ürünlerin taşınması, lipit oksidasyon süreçlerine ek bir karmaşıklık getirmektedir (Berton-Carabin ve ark., 2014; Laguerre ve ark., 2020). Mayonez gibi yüksek miktarda doymamış yağ asiti içeren gıda emülsiyonları lipit oksidasyonuna eğilimlidir. Bu gibi gıda emülsiyonlarının yüksek miktarda doymamış lipit içeriğinin oksidasyona meyilli olması endişe kaynağıdır. Oksidasyon başladıktan sonra aldehitlere, epoksitlere ve diğer ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşebilen hidroperoksitlerin oluştuğu serbest radikal reaksiyonu meydana gelir. Bu reaksiyonlar otokatalitik reaksiyonlardır. Ancak başlangıç aşaması birincil antioksidanların varlığı veya oksidanların eksikliği sayesinde engellenebilir. Reaksiyonlar başladıktan sonra doymamış çift bağların ve oksijenin fazlaca bulunması nedeniyle oluşan oksidasyon ürünleri ani bir artış gösterir. Antioksidanlar, büyük ölçüde yağ matrisinin türüne bağlı olarak bu sürece engel olmak için kullanılabilir. Bu mekanizmaların aydınlatılması ideal olarak hem birincil hem de ikincil oksidasyon ürünleri üzerinde nicel ölçümler gerektirir.

Gıda maddelerinde, peroksidasyonu geciktirmenin veya önlemenin yolu antioksidan bileşiklerin ilavesidir. BHA, BHT ve TBHQ gibi yapay antioksidanlar yıllardan beri gıdalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak kullanım güvenliğine ilişkin endişeler doğal antioksidanlara olan ilgiyi ortaya çıkarmıştır (Wanasundara ve Shahidi, 1998). Doğal antioksidanlar üzerine yapılan araştırmaların çoğu fenolik bileşiklere, özellikle de flavonoidlere ve hidrokisisinnamik asitlere odaklanmıştır (Martínez-Valverde ve ark., 2002). Literatürde farklı kaynaklardan elde edilen fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri çeşitli gıdalarda ve gıda model sistemlerinde incelenmiştir. Frankel ve ark. (1996) biberiye ekstraktlarının (karnosol ve karnosik asit) dökme sistemlerde test edilen mısır, soya fasulyesi, yer fıstığı ve balık yağlarında etkili antioksidanlar olduğunu, ancak ilgili bitkisel yağ-su emülsiyon sistemlerinde ya etkisiz olduklarını ya da prooksidan olarak hareket ettiklerini bildirmiştir. Bu durum, hidrofilik biberiye antioksidanlarının oksijen-yağ ara fazında yönlendirilmiş olarak kaldığı ve böylece oksidasyona karşı daha iyi koruma sağladığı ara yüzey olaylarına bağlanmıştır. Biberiye ekstraktları, BHT ile birlikte 75:25, 50:50 veya 25:75 karışım oranlarıyla kullanıldığında, soya yağının oksidasyonuna karşı tek başına kullanılmasından daha etkili koruma sağlamıştır (Basaga ve ark., 1997). Wanasundara ve Shahidi (1998), yeşil çay ekstraktının 65 °C'deki Schaal fırın testi koşullarında incelenen deniz ürünlerinde izole edilen yağların oksidasyonu üzerinde prooksidan bir etkiye sahip olduğunu bulmuş ve bunu klorofil varlığına bağlamıştır. Klorofilden arındırılmış yeşil çay özütü kullanılarak yapılan sonraki çalışmalar, yeşil çay ekstraktının BHA, BHT ve α - tokoferolden daha yüksek, ancak TBHQ'dan daha az bir antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir.

Yanishlieva ve Marinova (2001) bitkisel kaynaklardan elde edilen fenolik bileşiklerin mısır, pamuk tohumu, balık, zeytin, yer fıstığı, kolza tohumu, soya ve ayçiçek yağları gibi bir dizi yenilebilir yağda doğal antioksidan olarak kullanımını gözden geçirmiştir. Goli ve ark. (2005), %0,06 (w/w) konsantrasyonda kullanılan Antep fıstığı kabuğu ekstraktlarının, soya yağının 60 °C'de oksidasyonunu engellemede %0,02'lik BHA ve BHT kadar etkili olduğunu bildirmiştir. Pazos ve ark. (2005) üzüm posasından elde edilen fenoliklerin balık yağı/su emülsiyonlarında PG kadar etkili bir antioksidan olduğunu bildirmiştir.

KA yeni doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmekte ve et ürünlerinde kullanımına ilişkin çalışmalar yapılmaktadır (Zhang ve ark., 2024; Liu ve ark., 2018; Cao ve Xiong, 2015).

Soğuk pres keten tohumu yağı özellikle çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin bir yağdır. Yağ asiti bileşimi yüksek oranda %51,9-55,2 oranında α -linolenik asit, %22,6-18,5 oranında oleik asit ve %17-14,2 linoleik asitten oluşmaktadır. Bu bileşim keten tohumu yağını bitkisel kaynaklı yağlar arasında omega-3 yağ asiti bakımından en zengin kaynak yapmaktadır (Al-Madhagy ve ark., 2023). Başlıca fenolik bileşikleri fitoöstrojen özellik gösteren lignanlar, antioksidan özellik gösteren fenolik asit ve türevleridir (Kajla ve ark., 2015). Baskın bulunan fenolik asitler 7,5 mg/g KA, 10,9 mg/g ferulik asit ve 2,8 mg/g gallik asittir (Arslan ve ark., 2024).

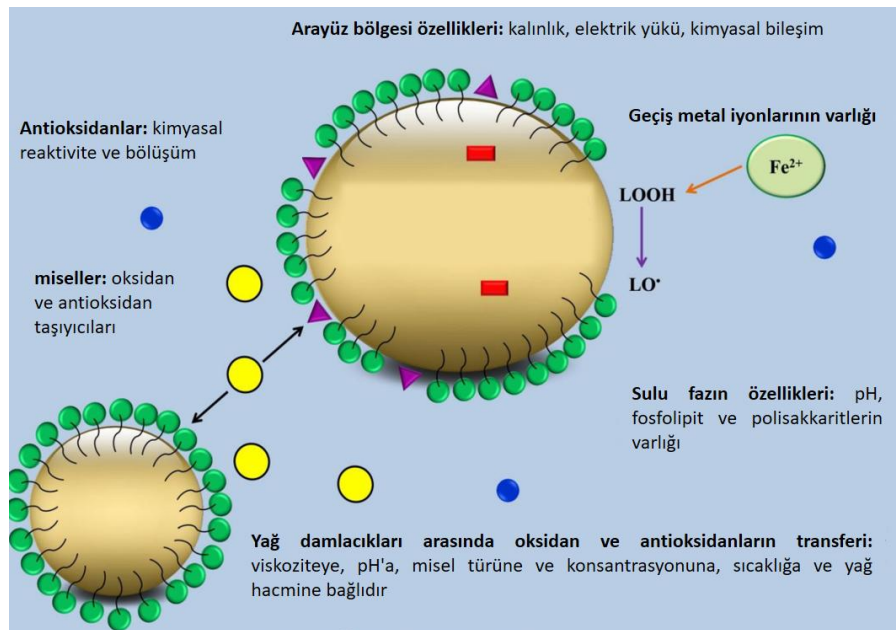
Keten tohumu yağı yüksek doymamış yağ asiti bileşimi nedeniyle oksidasyona yatkındır. Bunu önleyici bir etki olarak farklı oranlarda tarçın ekstraktı katılan keten yağlarının oksidatif stabilitesi incelenmiştir. 28 günlük depolama sonunda tarçın ekstraktının peroksit ve tiyobarbitürik asit değerlerini azaltarak oksidatif stabilitenin arttığı görülmüştür (Rizwan ve ark., 2025).

Mikołajczak ve ark. (2023), ferulik asit ve türevlerinin soğuk pres keten tohumu yağının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yağa ilave edilen bu bileşiklerin, oksidatif stabiliteyi ve biyoaktif bileşiklerin korunmasını farklı şekilde etkilediğini bulmuşlardır. Sadece eklenen fenolik bileşiğin türü değil aynı zamanda yağın yapısı ve işleme sıcaklığının da önemini ortaya koymuşlardır. Özellikle vanilik asitin eklenmesi, sıcaklık 60 °C üzerine çıktığında iyi bir antioksidan değildir ve soğuk preslenmiş keten tohumu yağının indüksiyon süresini azalttığı görülmüştür.

Dökme yağlar, monoaçilgliseroller, diaçilgliseroller, fosfolipitler, steroller ve serbest yağ asitleri gibi yüzey aktif maddelerin yanında lipit oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içerir. Ayrıca dökme yağların içinde bulunan mikroemülsiyonlar farklı birleşme kolloitleri üretir. Yüzey aktif hidroperoksitler arayüz bölgesinde bu yapılarla birleşerek suda çözünen metal iyonları tarafından serbest radikallere ayrışabilir. Ayrıca lipit hidroperoksitleri, ters misellerin arayüz bölgesinde birikerek oksidasyonu artırır. Dökme yağ, su moleküllerini hapsedebilen ve yağda ters misel oluşturabilen çeşitli amfifilik bileşikler içerir. Birleşme kolloitleri olarak adlandırılan bu yapılar lipit oksidasyonunu farklı şekillerde etkiler. Birleşme kolloitlerin bulunduğu arayüz bölgesine daha yüksek miktarda antioksidan molekül dahil etmek, dökme yağların oksidasyonunu önemli ölçüde azaltabilir (Keramat ve ark., 2023). Sesamol ve poligliserol polirisinoleat kombinasyonu ilave edilen ayçiçek yağının, sadece sesamol ilave edilmiş yağdan daha yüksek oksidatif stabilite gösterdiği bulunmuştur. Bu sonucun poligliserol polirisinoleat

varlığında sesamolün daha yüksek performans göstermesiyle ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Keramat ve ark., 2022).

Yağ/su emülsiyonlarında ise oksidasyonun, yağ fazındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin su fazındaki prooksidanlarla temas ettiği arayüz alanında olduğu öne sürülmektedir (Mansouri ve ark., 2020). Emülsiyon sistemlerde, arayüzün kalınlığı, yükü ve bileşimi bu bölgede gerçekleşen oksidasyonu etkileyen en önemli etmenlerdir. Literatürde arayüz bölgesinin özelliklerini değiştirerek oksidasyonda düşüş sağlayan çalışmalar mevcuttur (Zhu ve ark., 2020). Emülsiyon içindeki serbest yağ asitleri metal iyonlarını yağ fazının üzerine çekerek bağlayabilir. Buda onları daha pro-oksidatif hale getirerek lipid hidroperoksitlerinin ayrışmasını hızlandırır. Ek olarak, serbest yağ asitleri yüzey gerilimini azaltarak oksijenin yağa difüzyon hızını artırarak oksidasyonu hızlandırıcı bir etki gösterir (Kittipongpittaya ve ark., 2014). Yağ/su emülsiyonlarının oksidasyona karşı duyarlılığı dökme yağlardan genellikle daha yüksektir. Buna sebep olan faktörlerden biri emülsiyon sistemindeki arayüz bölgesinin, su fazında bulunan prooksidan bileşikler ile doymamış yağ asitleri arasındaki teması desteklemesidir (Keramat ve ark., 2023). Arayüz bölgesinin fizikokimyasal özellikleri, yağ damlacıklarının boyutu, yağ ve su fazının bileşenleri arasındaki oksidan ve antioksidan transferi, pH, oksijen konsantrasyonu yağ/su emülsiyonlarının oksidasyonu sürecinde etkili olan faktörlerdir (Laguerre ve ark., 2017; McClements ve Decker, 2000).



Şekil 2.7. Yağ/su emülsiyonunda oksidasyonu etkileyen faktörler (Villeneuve ve ark., 2021) (hidrofobik antioksidanlar: kırmızı dikdörtgen, hidrofilik antioksidanlar: mavi daire, amfifilik antioksidanlar: mor üçgen ve miseller: sarı daire ile gösterilmiştir).

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), yenilebilir yağ üretimi için büyük bir potansiyele sahip olan protein oranı yüksek bir yağlı tohumdur. Tohumlar yaklaşık %38-48 oranında yağ içerir ve bitkisel yağlar içinde linoleik asit oranı (%70) en yüksek olan yağ elde edilir. Soğuk pres aspir yağının fenolik bileşen içeriği; tirozol, rutin, vanilin, ferulik asit ve sinapik asit olarak belirlenmiştir (Khan ve ark., 2024). Farklı oranlarda soğuk pres aspir yağı ilave edilmiş mayonez örneklerinin incelendiği bir çalışmada kontrole göre TFM içeriğini yükseltmesinden dolayı aspir yağı katkılı örneklerin antiradikal aktivite ve oksidatif stabilite değerlerinin arttığı görülmüştür (Gülen ve ark., 2025).

Aspir yağında yaklaşık %70 oranında bulunan linoleik asit (9,12- oktadekadienoik asit) vücutta sentezlenmediğinden dolayı insanlar için esansiyel yağ asitlerinden biridir ve omega-6 (ω -6) olarak sınıflandırılır. Yüksek oranda bulunan linoleik asitin aspir yağından ayrılması için literatürde fraksiyone kristalizasyon yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem aspir yağının sabunlaştırılıp hidroliz edilmesi ve oluşan linoleat gibi potasyum tuzlarının sülfirik asit ile serbest yağ asitlerine (linoleik asit) dönüşmesi prensibine dayanır (Erinç ve ark., 2019). Yüksek linoleik asit içeriğine sahip yağların oksidatif stabilitesinin artırılması için antioksidan kullanımlarının incelendiği birçok çalışma vardır (Xu ve ark., 2022; Morovati ve ark., 2010; Fathi ve ark., 2013).

Bu çalışmada kullanılan bir diğer lipit ortamı doymuş yağ asiti bakımından zengin tereyağıdır. Tereyağ, %80-90 oranında süt yağı, %10-20 oranında sudan oluşan bir gıda ürünüdür (Demirkol ve ark., 2016). Yağ asiti bileşimi, %27-36 oranında palmitik asit, %14-19 oranında oleik asit ve %10-21 oranında stearik asittir. Ayrıca tekli doymamış yağ asiti oranı yaklaşık %20 çoklu doymamış yağ asiti ise %5 civarındadır. Kısa zincirli yağ asitleri olan bütirik asit ve kaprik asit tereyağının karakteristik aromasına katkıda bulunarak sindirim sistemine olumlu etki yapar (Vioque-Amor ve ark., 2023). Tereyağda genellikle %0,2-0,5 oranında kolesterol bulunur (Tamime, 2009). Kolesterol genel olarak çok kararlı bir moleküler yapıya sahiptir. Ancak termal, foto katalizli veya enzimatik oksidasyona maruz kalırsa sağlığa zararlı farklı bileşiklere dönüşebilen hidroperoksit izomerleri üretir. Bunlara kolestrol oksidasyon ürünleri adı verilir (Guardiola, 2002). Ancak tereyağına yapay yada doğal antioksidanların ilavesi oksidatif stabilitelerini oldukça artırıcı etki gösterir. Teklehaymanot ve ark. (2024) yaptıkları çalışmada tereyağına %0,2 ve %0,3 oranında PK ekstraktı eklenmiş ve iki farklı sıcaklıkta 21 gün depolanmıştır. Süre sonunda yapılan kimyasal ve mikrobiyolojik analizler, 20 °C'de %0,3

ekstrakt içeren örneğin kontrole göre daha düşük oksidasyon ve mikrobiyal büyüme gösterdiğini ortaya koymuştur.

Özet olarak, bu tez çalışması kapsamında endüstride fazla miktarda açığa çıkan atıklardan elde edilen KA bakımından zengin ekstraktlara moleküler hibridizasyon, DMC/DBU metilasyon ve dekarboksilasyon yöntemleri gibi yapısal modifikasyonlar uygulanmıştır. Ayrıca bu yöntemler sonucunda elde edilen modifiye ekstraktların farklı lipit ortamlarında (soğuk pres yağ, emülsiyon, tereyağı ve linoleik asit) çözünürlükleri ve etkinlikleri çeşitli oksidasyon testleri ve antioksidan aktivite analizleri ile ortaya konmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Ekstraktları hazırlamak için KP, AÇ ve PK kullanılmıştır. KP, *Coffea arabica* L. çekirdeklerinin demlenip süzülmesiyle elde edilmiştir. AÇ, ham tohum yağı üreten yerel bir şirketten alınmıştır. Patates kabukları, elle soyum yapan hazır yemek üreticisi bir firmadan temin edilmiştir.

Modifiye edilmiş ekstraktlar; keten tohumu yağı, aspir yağı/su emülsiyonu, tereyağ ve linoleik asit model lipit ortamlarında antioksidan olarak kullanılmıştır. Keten tohumu yağı ve aspir yağı soğuk sıkım olarak yerel yağ üreticilerinden alınmıştır. Tereyağ, açık yığın olarak yerel bir satıcıdan alınmış ve saf kolestrol (Sigma Aldrich, Almanya) ilavesi yapılarak çalışmada kullanılmıştır. Yağ asiti model ortamı ise aspir yağından elde edilmiştir.

Analizlerde kullanılan kimyasallar, ticari şirketlerden analitik saflıkta tedarik edilmiştir.

3.2. Yöntem

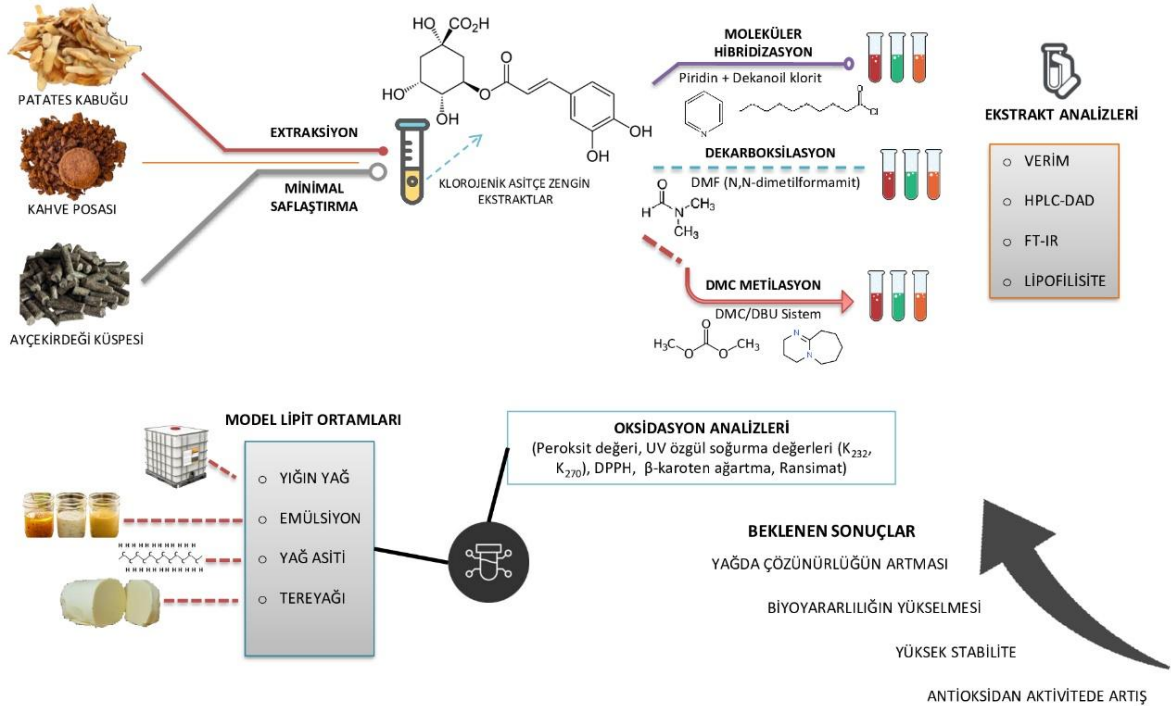
3.2.1. Deneysel tasarım

Çalışmanın ilk aşamasında ekstraktlar elde edilmiştir. Ekstraktların üretimi için hammadde olarak KP, AÇ ve PK kullanılmıştır.

İkinci aşamada ekstraktlar kimyasal yöntemler ile modifiye edilmiştir. İşlem görmemiş (ham) ve metilasyon, moleküler hibridizasyon, dekarboksilasyon yöntemleri ile modifiye edilmiş ekstraktların kimyasal analizlerle çeşitli özellikleri ortaya konmuştur.

Çalışmanın üçüncü aşamasında model lipit ortamları hazırlanmıştır. Soğuk sıkım keten tohumu yağı, yığın yağ ortamı olarak kullanılmıştır. Soğuk sıkım aspir yağından emülsiyon ortam hazırlanmıştır. Doymuş yağ asiti oranı yüksek lipit ortamı olarak tereyağ kullanılmıştır. İzole yağ asiti ortamı için aspir yağından hidrolize edilerek saflaştırılan linoleik asit kullanılmıştır.

Dördüncü ve son aşamada, model lipit ortamlarına belirlenen ppm oranında ekstraktlar eklenerek kimyasal analizler yapılmıştır. Ekstrakt içermeyen her bir lipit ortamı kontrol numunesi olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Deneysel tasarım şematik gösterimi

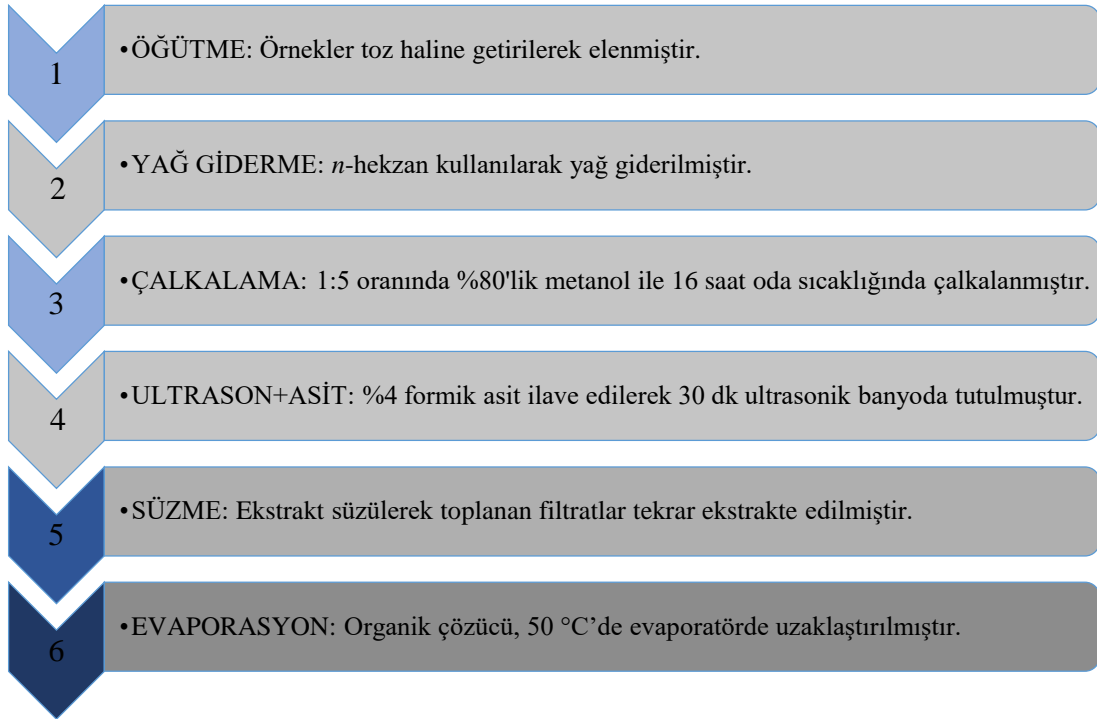
3.2.2. Atık niteliğindeki hammaddelerden ekstraktların üretimi

Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu, hammaddeler (Şekil 3.2) için gerekli ön işlemlerin tamamlanmasının ardından aşağıdaki prosedüre göre yapılmıştır (Şekil 3.3). KP'yi elde etmek için Bravo ve ark. (2013) metoduna göre, 24 g öğütülmüş kahve çekirdekleri 400 mL kaynamış su ile 6 dk demlenmiştir. Süzildükten sonra filtre kâğıdında kalan posa, neminin uzaklaşması için etüvde kurutulmuştur (50 °C, 5 saat). Kurutulmuş posaya fenolik bileşen ekstraksiyon metodu uygulanmıştır. AÇ, işlem uygulanmadan direk kullanılmıştır. PK için, patates kabukları yabancı maddelerden temizlenerek yıkanmış ve etüvde 55 °C'de kurutulmuştur.



Şekil 3.2. Kurutulmuş ve öğütülmüş hammaddeler; PK, AÇ, KP (soldan sağa)

Öğütülmüş hammaddeler, 1:5 oranında 3 saat ve 1:3 oranında 1.5 saat olmak üzere *n*-hekzan ile çalkalanmıştır. Çalkalama sonunda *n*-hekzanın uçması için 4 saat 30 °C'de bekletilmiştir (Kumari ve ark., 2017). Daha sonra %80'lik metanol: su çözeltisi ile çalkalamalı su banyosunda oda sıcaklığında 16 saat muamele edilmiştir (De Leonardis ve ark., 2003; Habib ve Shah, 2004). Süre sonunda %4 oranında formik asit eklenerek ultrasonik banyoda (Elmasonic, S10H, 60 Hz, 25 °C) 30 dk tutulmuştur. Ardından vakum ile metanolik fazlar süzölmüş ve filtratlar toplanarak ekstraksiyon tekrarlanmıştır. Süzölen fazlar, 50 °C'de evapore edilerek çözücü uzaklaştırılmıştır.

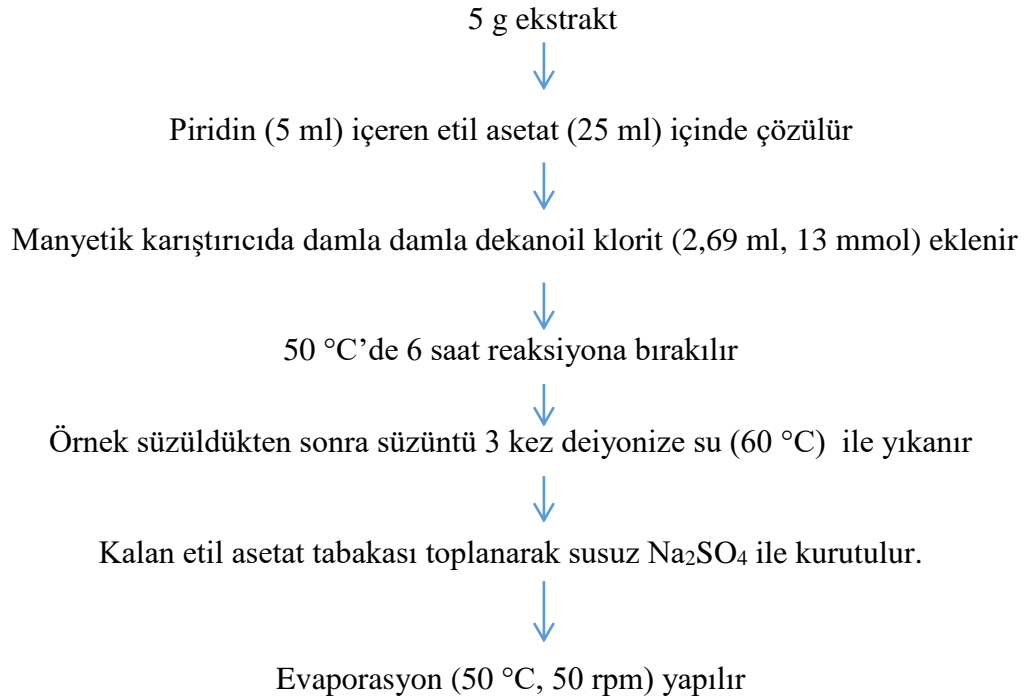


Şekil 3.3. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu akım şeması

3.2.3. Ekstraktların modifikasyonu

3.2.3.1. Moleküler hibridizasyon yöntemi

Elde edilmiş olan KP, AÇ ve PK ekstraktlarına moleküler hibridizasyon işlemi için Lei ve ark. (2020)'nin yöntemi uygulanmıştır (Şekil 3.4).



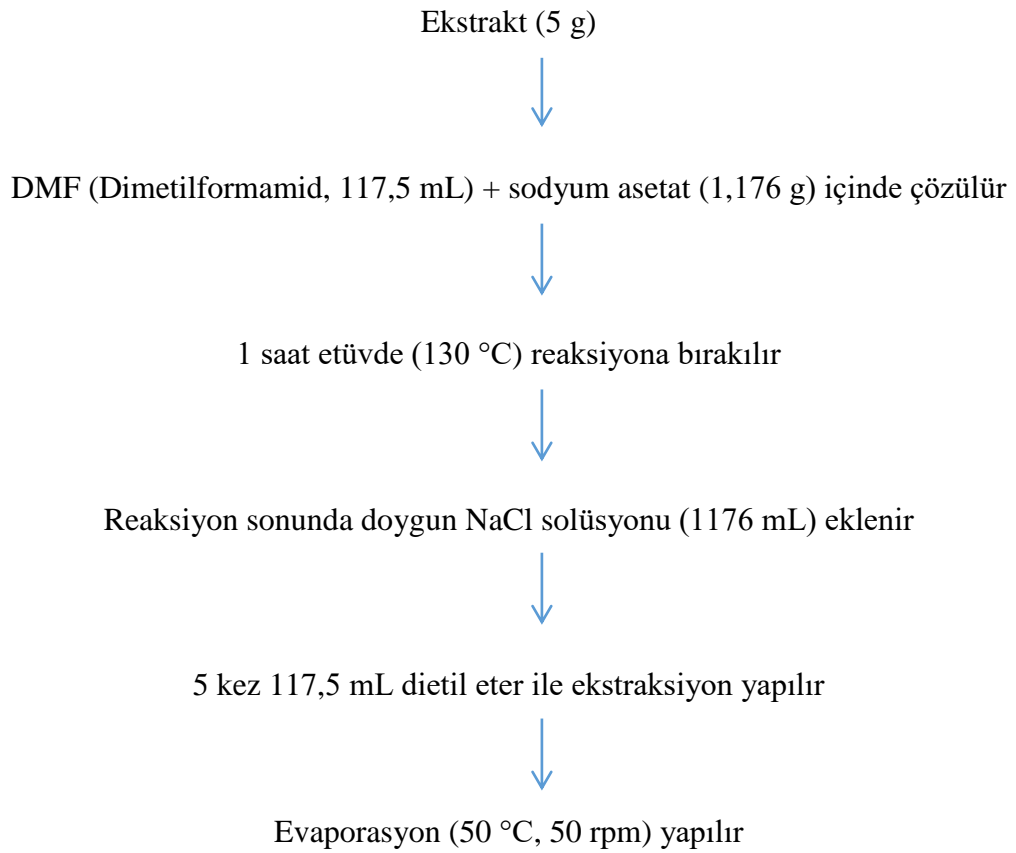
Şekil 3.4. Moleküler hibridizasyon yöntemi akım şeması



Şekil 3.5. Moleküler hibridizasyon yöntemi uygulama aşaması

3.2.3.2. Dekarboksilasyon yöntemi

Ekstraktların dekarboksilasyonu için Shin ve ark. (2018)'nin metodu uygulanmıştır. Yönteme ait aşamalar Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



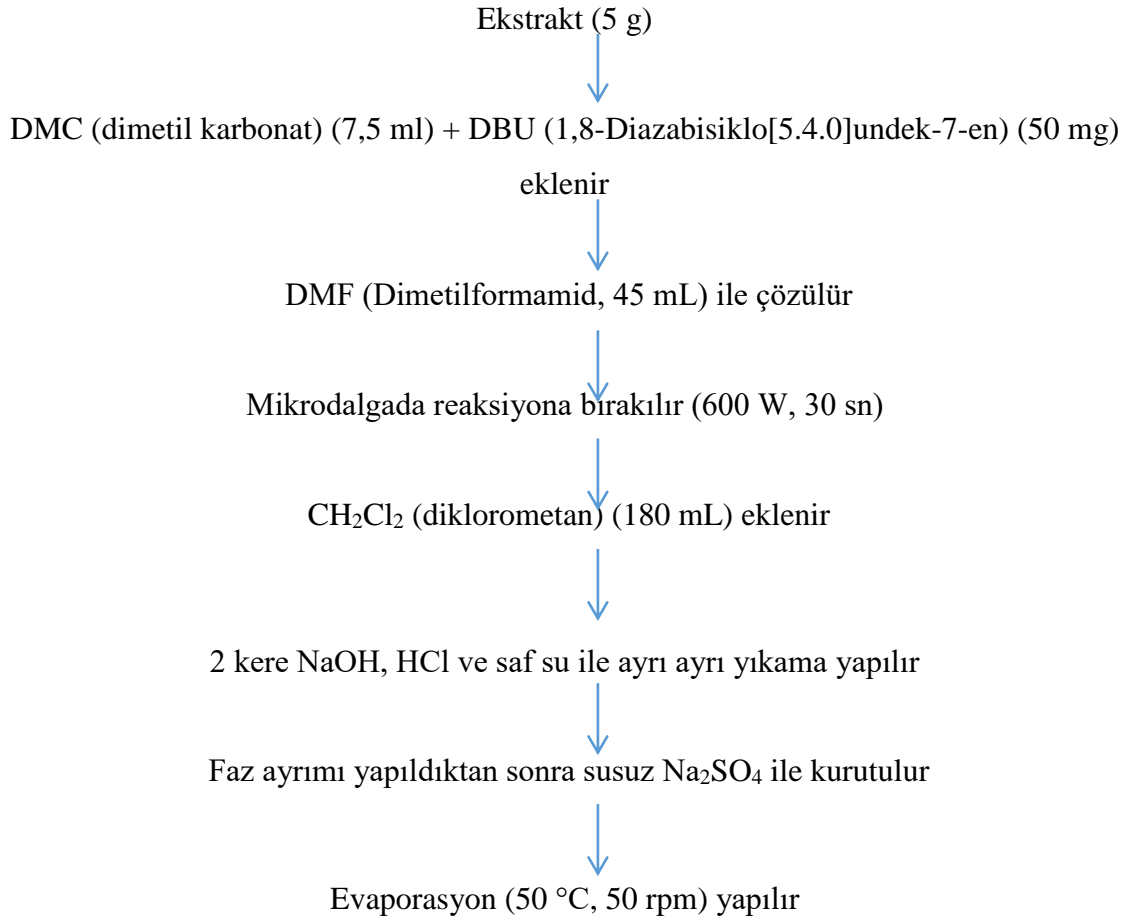
Şekil 3.6. Dekarboksilasyon yöntemi uygulama şeması



Şekil 3.7. Dekarboksilasyon uygulanan ekstraktların görünümü (soldan sağa KP, PK ve AÇ ekstraktı)

3.2.3.3. DMC/DBU metilasyon yöntemi

Metilasyon yöntemi Rajabi ve Saidi (2004)'nin metoduna göre yapılmıştır. Yöntemin uygulama aşamaları Şekil 3.8'da gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Metilasyon yöntemi uygulama şeması



Şekil 3.9. Metilasyon yöntemi uygulama aşamaları



Şekil 3.10. Modifiye ekstraktların azot evaporatörde çözücüsünün uzaklaştırılması

3.2.4. Model lipit ortamlarının oluşturulması

Yağ ve yağlı gıda ortamlarını simüle etmesi için dört farklı model ortam kullanılmıştır. Bu ortamlar yığın yağ, emülsiyon, doymuş yağ asiti ortamı ve izole edilmiş yağ asiti ortamı olarak belirlenmiştir.

Yığın yağ ortamı: Yığın yağ ortamı için soğuk sıkım keten tohumu yağı kullanılmıştır.

Emülsiyon ortamı: Soğuk sıkım aspir yağı ile yağ/su emülsiyonu oluşturulmuştur. Maqsood ve Benjakul (2010) metodu uyarlanarak 1500 mL emülsiyon için 900 mL tampon çözelti (0,1 M asetat tamponu, pH: 5.4) + su fazının %2'si oranında lesitin

(ayçiçek lesitini) ve 600 mL soğuk sıkım aspir yağı birleştirilmiştir. Oluşturulan yağ/su karışımı buz banyosu içinde 13.500 rpm'de 5 dk homojenize (Ultra-Turrax T25) edilmiştir. Daha sonra emülsiyona, buz içinde 5 dk ultrasonik banyo uygulanmıştır. Hazırlanan emülsiyon örnekleri çalışma boyunca +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tereyağ ortamı: Doymuş yağ asiti ortamı için tereyağ kullanılmıştır.

Linoleik asit ortamı: Soğuk sıkım aspir yağından Erinç ve ark. (2019) metoduna göre hidrolizasyon ve kısmi saflaştırma yapılarak elde edilmiştir. Hidroliz işlemi için; 500 g aspir yağına 400 mL etanol + 125 mL distile su içinde çözülmüş 150 g KOH çözeltisi ilave edilerek 1 saat geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Süre sonunda soğutma için 0,5 L buz eklenmiştir. 600 mL H₂SO₄ (4 M) eklenerek pH 2-3 arasına indirilmiştir. Ayırma hunisine alınıp faz ayrımı oluşturulmuş ve 2 kere 100 mL eter ile ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon sonrasında 50 °C'de evapore edilmiştir. Kısmi saflaştırma için; hidrolize edilmiş yağ asitleri karışımı, 50 g/L *n*-hekzan içinde çözüldürüldükten sonra -80 °C'de yavaş şekilde karıştırılarak doymuş yağ asitlerinin kristalleşmesi sağlanmıştır. Yağ süzülerek katı-sıvı faz birbirinden ayrılmıştır. Elde edilen sıvı faz linoleik asit ortamı olarak kullanılmıştır.

Ham ve modifiye ekstraktlar, hazırlanan lipit ortamlarına 5000 ppm oranında ilave edilerek karıştırılmıştır. Analizlere kadar emülsiyon ve tereyağ ortamları +4 °C'de, linoleik asit ve keten tohumu yağı ortamları ise oda koşullarında bir hafta süre ile saklanmıştır.

3.2.5. Analiz Yöntemleri

3.2.5.1. Ekstraksiyon verimi

Kütlece ekstraksiyon verimi, kullanılan hammaddeden istenilen bileşenlerin ekstraksiyonu için uygulanan yöntem ve çözücünün etkinliğinin görüldüğü bir ölçüttür. Hammaddenin ekstraksiyon öncesindeki kuru madde miktarının işlemler sonucunda elde edilen ekstrakt miktarına kütlece yüzdesi olarak ifade edilir (Zhang ve ark., 2007).

KP, AÇ ve PK hammaddelerinin ekstraksiyon verimi, elde edilen ekstrakt ağırlığının, öğütülmüş kuru madde ağırlığına oranı olarak Eşitlik 3.1'e göre hesaplanmıştır. Sonuçlar %verim şeklinde ifade edilmiştir (Özkılıç ve Arslan, 2022).

$$\text{Ekstraksiyon verimi (\%)} = \frac{\text{Ekstrakt ağırlığı (g)}}{\text{Öğütülmüş hammadde ağırlığı (g)}} \quad (3.1)$$

Modifikasyon işlemleri uygulandıktan sonra elde edilen verim ise aynı eşitlik yoluyla modifiye ekstrakt ağırlığının, işlem görmemiş ekstrakt ağırlığına oranı hesaplanarak verilmiştir.

3.2.5.2. Toplam fenolik madde (TFM) miktarı analizi

Ekstraktların içerdiği TFM miktarını belirlemek için Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmıştır. Difonzo ve ark. (2017) metoduna göre 0,2 mL ekstrakt saf su ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerine 0,5 mL 0,5 N Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 1 mL %35'lik Na₂CO₃ ve 3,5 mL saf su eklenmiştir. Tekrar 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra 725 nm'de spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) şeklinde verilmiştir.

3.2.5.3. DPPH serbest radikal giderici etkinin belirlenmesi

Antioksidan aktiviteyi gösteren radikal giderici etki analizinde, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali, antioksidan bileşikler tarafından elektron transferi sonucu indirgenerek mor renkten soluk sarı renge dönüşmektedir. Analiz için hazırlanan metanolik ekstraktlar, uygun hacimlerde bir test tüpüne alınarak tampon çözelti (Tris-HCl) ile hacmi 1 mL'ye tamamlanmıştır. 2 mL DPPH çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda, numunelerin absorbansındaki değişiklik spektrofotometre ile 517 nm'de okunmuştur. Analiz sonuçları, DPPH radikalinin başlangıç konsantrasyonundaki % azalmaya göre hesaplanmıştır (Eşitlik 3.2) (Kumar ve Sharma, 2021).

$$\text{İnhibisyon yüzdesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100 \quad (3.2)$$

Burada; A₀: Kontrol absorbansı, A₁: Numune absorbansı

3.2.5.4. Lipofilite Ölçümü

Fiziksel çözünürlük tayini: Modifikasyon yöntemleri sonucunda elde edilen örneklerin yağ içindeki çözünürlüklerini test etmek amacıyla yapılmıştır. Bunun için eppendorf tüplere 1,5 mL katkısız rafine ayçiçek yağı koyularak üzerine yaklaşık 0,2-0,4 g ekstrakt ilave edilmiştir. Vorteksenerek görsel olarak ekstraktın yağ içindeki dağılımı gözlenmiştir.

Oktanöl/su bölüşüm katsayısı analizi: İşlem görmemiş ve modifiye ekstraktların yağ ortamındaki çözünürlüklerini belirlemek için oktanöl/su bölüşüm katsayısı analizi yapılmıştır. Bu analiz bir maddenin oktanöl ve su fazları arasındaki dağılım dengesini ortaya koyar. Chen ve Yu (2017)'nin bildirdiği metot kullanılarak ekstraktlardan 50 mg, 5 mL oktanöl/su (1:1, v:v) karışımına eklenmiştir. Karışım 35 °C'de su banyosu içinde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından alt ve üst fazdan numune alınıp TFM miktarı tayin edilmiştir. Bölme katsayıları kütle dengesi ile hesaplanmıştır. Oktanöl/su bölme katsayısı (logP) şu şekilde tanımlanır:

$$\text{LogP} = \log(\text{Co}/\text{Cw}) \quad (3.3)$$

Burada Co, dengede oktanöl fazındaki numunenin konsantrasyonu ve Cw, dengede sulu fazdaki numunenin konsantrasyonudur.

3.2.5.5. FTIR (Fourier dönüşümlü kızılötesi) spektrometresi ile yapı analizi

FTIR spektrometresi bir maddenin bağ etkileşimlerini ve bu etkileşimlerin fenolik bileşiklerin spektroskopik özellikleri üzerine etkisini ortaya koymaktadır. Bu analiz fenolik bileşiklerin yapısını incelemek için kullanılan yaygın bir yöntemdir. Maddenin kızılötesi absorpsiyon veya emisyon spektrumu elde edilir. Fenolik bileşiklerin fonksiyonel gruplarını belirlemek için numune ince bir tabaka şeklinde KBr (potasyum bromit) diskleri içine yerleştirilir ve 4000-500 cm⁻¹ aralığındaki IR spektrumları kaydedilir. 3200-3600 cm⁻¹ aralığındaki gerilme titreşimleri karakteristik O-H bağı, 1500-1600 cm⁻¹ aralığındaki titreşimler C-H aromatik yapılara ait piklerle tanımlanır. FTIR analizi ekstraktlardaki fenolik yapılar hakkında hızlı bir şekilde bilgi edinilmesini sağlamaktadır.

Analiz, Thermo Scientific-Nicolet iS20 (CA, ABD) cihazı ile 4000-500 cm⁻¹ dalga boyu aralığında 2 cm⁻¹ çözünürlük ve 1 cm/s tarama hızında spektrum grafiği alınarak uygulanmıştır.

3.2.5.6. UHPLC (Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile fenolik bileşiklerin ayrıntılı analizi

UHPLC, yüksek ayırıcılığı ve hassasiyetinin yanında hızlı olması sayesinde fenolik bileşenlerin tanımlanması ve kantitatif analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Analiz için numuneden organik bir çözücü (genellikle metanol veya asetonitril) ile ekstraksiyon yapılır. Polifenollerin analizinde yaygın olarak ters faz (C18) kolonlar kullanılmaktadır. Metanol-su, asetonitril-su veya asetonitril-metanol mobil faz amacıyla yürütülür. Dedeksiyon, 280-320 nm dalga boyunda ve genellikle DAD dedektörü ile yapılır. Metot validasyonu için standart maddeler kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulur (Vermerris ve Nicholson, 2007).

Analizde The Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 cihazı kullanılmıştır. Sistem kontrolü, veri toplama ve veri değerlendirmesi Dionex-Chromeleon™ 7.2 kromatografi veri sistemi (Thermo Fisher Scientific, CA, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Cihazın çalışma şartları şöyledir:

Enjeksiyon hacmi: 20 µL,

Kolon: BlueOrchid C18

Mobil faz: Solvent A (%0,1 formik asit), solvent B (metanol), Akış hızı: 0.45 mL/min

Dedektör: DAD (280 nm: fenolik asitler, 320 nm: flavanoitler)

Sıcaklık: 25 °C

Mobil faz sistemi için hazırlanan gradient çalışma programı: Süre (t): 0,01 dk A=%88,5 B=%11,5, t: 4,10 dk A=%50 B=%50, t: 20,1 dk A=%11,5 B=%88,5 şeklindedir.

3.2.5.7. Peroksit değeri

Yağlardaki oksidasyon seviyesini belirlemek için yapılan peroksit değeri analizi AOAC 965.33 (2007) metoduna göre yapılmıştır. Analiz için 2 g yağ örneği erlen içine alınarak üzerine 15 mL asetik asit ve 10 mL kloroform ile yağın çözülmesi sağlanmıştır. Karışıma 1 mL doymuş KI çözeltisi ilave edilerek, karıştırılmış ve karanlıkta 5 dk süreyle reaksiyona bırakılmıştır. Süre sonunda 75 mL saf su eklenmiş ve reaksiyon durdurulmuştur. 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. İndikatör olarak iyot ile mor-siyah renk oluşturan %1'lik nişasta çözeltisi kullanılmıştır. Titrasyona

mor-siyah renk kaybolana kadar devam edilmiştir. Harcanan hacim aşağıdaki formülde yerine koyularak hesaplama yapılmıştır.

$$\text{Peroksit değeri (meq O}_2\text{/kg yağ)} = [(V-B) \times N \times 1000] / M \quad (3.4)$$

V: Titrasyonda harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin mL'si

B: Kör (şahit) için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin mL'si

N: Sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi

M: Örnek miktarı, g

3.2.5.8. UV özgül absorbans değerleri

K_{232} (konjuge dien) ve K_{270} (konjuge trien) değerleri, yağ ve yağlı maddelerin oksidasyon durumunu ve kalite parametrelerini incelemek için kullanılır. AOCS Ch5-91 (2006) metoduna göre yağ örnekleri deney tüplerine belirli miktarda tartılarak izooktan ile seyreltilmiştir. Spektrofotometrede 232 ve 270 nm dalga boylarında absorbans ölçümü yapılmıştır. Analiz sonuçları örneklerle ait birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin varlığını gösterir.

3.2.5.9. Lipit ortamlarının antioksidan aktivite analizleri

DPPH radikal giderici etkinin belirlenmesi: Ekstraktların antioksidan aktivitesi DPPH radikalinin tutulması ile %inhibisyon olarak belirlenmiştir. Ramadan ve ark. (2006) metodu bazı farklılıklar yapılarak uygulanmıştır. Bu metoda göre numunelerden 0,2 g örnek deney tüpüne tartılmış ve çözücü (*n*-heptan: tert-bütül metil eter, 1:1) ile 2 mL'ye tamamlanmıştır. Oluşan karışımdan uygun konsantrasyonlarda örnek alınarak üzerine 3 mL DPPH reaktifi eklenmiştir. 20 dk karanlıkta bekletildikten sonra 515 nm'de spektrofotometrede absorbansları okunmuştur.

Linoleik asit/β-karoten ağartma yöntemi: Bu yöntem linoleik asitin termal oksidasyonuna ve bu oksidasyon sonucu oluşan peroksil radikalinin β-karoten molekülündeki hidrojen atomlarını etkileyerek renk dönüşümü oluşturması prensibine dayanmaktadır. Absorbans azalması ile hesaplanan antioksidan aktivite değeri %inhibisyon olarak verilmiştir.

2 mg β-karoten 20 mL kloroform içinde çözülmüştür. Bu çözeltiden 4 mL alınıp 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween-40 içeren balona eklenmiştir. Balon 50 °C'de

evapore edilerek 100 mL oksijenli su β -karoten emülsiyonuna eklenmiştir. Hazırlanan karışımdan 3 ml bir deney tüpüne aktarılıp 0,2 mL örnek tüpe ilave edilmiştir. Tüpler vortekslenerek 470 nm’de ilk okuma yapılmıştır. 50 °C su banyosunda 120 dk boyunca inkübe edilmiş ve her 40 dk süre sonunda 470 nm’de absorbanslar ölçülmüştür. %0,01’lik BHA çözeltisinden yukardaki metoda göre örnek alınarak kontrol numunesi oluşturulmuştur (Ben Taârit ve ark., 2012).

$$\text{Antioksidan aktivite (\%inhibisyon)} = [(Ab_{\text{Skontrol}} - Ab_{\text{Sörnek}}) / Ab_{\text{Skontrol}}] \times 100 \quad (3.5)$$

3.2.5.10. Ransimat metoduyla oksidatif stabilite tayini

Ransimat metodu yağ ve yağlı gıda örneklerinin oksidatif stabilitesini belirlemek için kullanılır. Sabit bir hava akışı altında belirli bir sıcaklıkta oksidasyona bırakılan yağda oluşan yan ürünlerin (birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri) ultra saf suyun iletkenliğinde yaptığı değişim sonucu ölçülmektedir. Ransimat cihazı (Metrohm, 892) StabNet 1.0 adlı yazılım ile birlikte kullanılmaktadır.

Ölçümler için belirlenen normlar; sıcaklık 100 °C, gaz akış hızı 20 L/h ve yağ numune miktarı 3 g olmak üzere 60 mL ultra saf su şeklindedir (Anwar ve ark., 2013).

3.2.5.11. İstatistiksel analiz

Analiz sonuçları 2 tekerrür ve 3 paralelin ortalama değerleri ve standart sapmaları olarak verilmiştir. İstatistiksel analizler, SPSS istatistik programı (IBM SPSS Statistics 26.0, NY, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Varyans analizi için sabit etkili hipotez modeli (ANOVA) uygulanmış ve parametreler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi amacıyla çok değişkenli analizler (Multivariate) yapılmıştır. Analiz parametreleri ile üç faktörün; (1) “hammadde” (2), “modifikasyon yöntemi” ve (3) “lipit ortamı” arasındaki önemli etkileşimler belirlenmiştir. Ortalama değerler arasındaki fark Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile bulunmuştur. Etkileşim sonuçları önemli çıkan modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı parametreleri için interaksiyon grafikleri hazırlanmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Ekstrakt ilave edilmemiş lipit ortamları kontrol numunesi kabul edilerek toplam 52 örneğe oksidasyon ve antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır. Örneklere ait kodlar ve tanımları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada yer alan örnek tanımları ve kodları

Kod	Kontrol ve ekstraktlar
K	Kontrol (ekstrakt ilave edilmemiş model lipit ortamı)
KP	Kahve posası
KPM	Metilasyon yöntemi uygulanmış KP
KPMH	Moleküler hibridizasyon yöntemi uygulanmış KP
KPD	Dekarboksilasyon yöntemi uygulanmış KP
AÇ	Ayçekirdeği küspesi
AÇM	Metilasyon yöntemi uygulanmış AÇ
AÇMH	Moleküler hibridizasyon yöntemi uygulanmış AÇ
AÇD	Dekarboksilasyon yöntemi uygulanmış AÇ
PK	Patates kabuğu
PKM	Metilasyon yöntemi uygulanmış PK
PKMH	Moleküler hibridizasyon yöntemi uygulanmış PK
PKD	Dekarboksilasyon yöntemi uygulanmış PK

4.1. Ekstraksiyon verimi

Hammaddelerden elde edilmiş ultrason destekli metanolik ekstraktların ve modifikasyon uygulanmış ekstraktların verimleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Örneklerin ekstraksiyon verimleri

Örnek	Başlangıç miktarı (g)	Ekstrakt ağırlığı (g)	Verim (%)
KP	5	2,38	47,79
KPM	5	0,37	7,39
KPMH	5	2,51	50,22
KPD	5	2,71	54,39
AÇ	5	2,95	59,18
AÇM	5	0,61	12,24
AÇMH	5	2,48	49,55
AÇD	5	3,59	71,77
PK	5	2,22	44,49
PKM	5	0,75	14,96
PKMH	5	2,49	49,86
PKD	5	2,84	56,85

Fenolik bileşen ekstraksiyonu sonucu en yüksek ekstraksiyon verimi AÇ'de (%59,18) olmuştur. Bunu %47,79 ile KP ekstraktı takip ederken PK'den diğer hammaddelere göre daha düşük verim (%44,49) elde edilmiştir. Dolayısıyla %verim sıralaması AÇ > KP > PK şeklindedir.

Modifikasyon yöntemlerinin uygulandığı ekstraksiyonların verimlerine bakıldığında ise dekarboksilasyon yöntemi en yüksek verimi sağlamıştır. Bu işlemin uygulandığı ekstraktlar arasında en yüksek verim elde edilen örnek ise ham örneklerde olduğu gibi %71,77 ile AÇD örneği olmuştur. Daha sonra %56,85 ve %54,39 verimle sırasıyla PKD ve KPD örnekleri elde edilmiştir. Metilasyon yöntemi, modifikasyon yöntemleri arasında en düşük %verim alınan uygulama olmuştur ve %7,39 ile en düşük değer KPM'ye aittir. Moleküler hibridizasyon yönteminin %verimleri üç hammadde için de birbirine oldukça yakın olup en yüksek verim KPMH örneğindedir. Hammaddelerden bağımsız olarak yöntemler arasında ekstraksiyon verimi sırasıyla dekarboksilasyon > moleküler hibridizasyon > metilasyon şeklinde olmuştur. Ham ekstraktların içerdiği polar ve apolar yapıların miktar olarak farklılığı işlemler sonucunda elde edilen ekstrakt miktarlarının da farklı olmasına neden olmuştur. Ayrıca fenolik bileşen ekstrakt veriminin yüksek olduğu uygulamalarda fenolik bileşen konsantrasyonunun da her zaman yüksek olmayabileceği ifade edilmiştir (Aspé ve Fernández, 2011). Çünkü ekstraksiyonda kullanılan çözücünün polaritesine bağlı olarak ekstraktlar içinde ikincil metabolitler dışında pek çok bileşik bulunur. Fitokimyasal taramalar ile tespit edilen bu bileşikler genellikle; alkaloidler, tanenler, saponinler, steroller, terpenler, kardiyak glikozitler, proteinler, karbonhidratlar ve yağlardır (Pandey ve Tripathi, 2014; Beena ve ark., 2016; Abubakar ve Haque, 2020). Alkol kullanılan ham ekstraktların içeriğinde ise, terpenler, flavonoidler, steroidler, tanenler, fenolik bileşikler, proteinler, kardiyak glikozitler, indirgen şekerler ve karbonhidratların bulunduğu tespit edilmiştir (Khelawan, 2023).

4.2. TFM miktarı ve DPPH radikali giderici etki analizi sonuçları

Ham ve modifiye edilmiş ekstraktların TFM miktarı Çizelge 4.3'de verilmiştir. Ekstrakt örneklerinin TFM miktarı 406,34 mg GAE/g ile 118,77 mg GAE/g arasında farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında en yüksek TFM miktarı 406,34 mg GAE/g değeriyle KP'den elde edilen ham ekstrakt (KP) ve 386,00 mg GAE/g değeriyle AÇ'den alınan ham ekstraktın (AÇ) olmuştur. KP ve AÇ örneklerinin TFM değerleri arasındaki

fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). PK ham ekstraktı KP ve AÇ örneklerine göre daha düşük TFM değeri vermiştir. Ancak atık materyallerin üçünde de işlem görmemiş ham ekstraktın TFM değeri anlamlı şekilde yüksek (KP: 406,34 mg GAE/g, AÇ: 386,00 mg GAE/g, PK: 282,20 mg GAE/g) olmuştur.

KP ekstraktlarına yapılan modifikasyonlar sonucu elde edilen KPM, KPMH ve KPD örneklerinin TFM değerleri, AÇ ve PK ekstraktlarının modifikasyonlu örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. AÇ ekstraktının metilasyon ve dekarboksilasyon uygulanmış örnekleri, PK'nın modifikasyon yapılmış ekstraktlarıyla benzer TFM değerleri vermiştir. İstatistiki açıdan anlamlı olarak en düşük TFM değeri ise 60,12 mg GAE/g ile AÇMH örneği olmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.3. Ekstraktlara ait TFM miktarı ve DPPH radikal giderici etki analizlerine ait değerler¹

Ekstrakt	Modifikasyon	TFM miktarı (mg GAE/g)	DPPH radikal giderici etki (%inhibisyon)
Kahve posası	KP	406,34±0,26 ^a A**	93,12±0,54 ^a A
	KPM	263,72±0,02 ^c A	72,96±0,12 ^d A
	KPMH	311,74±0,17 ^b A	90,84±0,24 ^b A
	KPD	286,08±0,19 ^{bc} A	79,11±0,42 ^c A
Ayçekirdeği küspesi	AÇ	386,00±0,08 ^a A	92,51±0,27 ^a A
	AÇM	179,06±0,11 ^b B	51,05±0,24 ^c B
	AÇMH	60,17±0,10 ^c C	15,30±0,28 ^d C
	AÇD	212,39±0,41 ^b B	72,51±0,39 ^b B
Patates kabuğu	PK	282,20±0,14 ^a B	84,12±0,15 ^a B
	PKM	184,46±0,01 ^b B	51,03±0,25 ^c B
	PKMH	118,77±0,14 ^c B	38,96±0,10 ^d B
	PKD	204,40±0,33 ^b B	55,38±0,31 ^b C

¹ Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ($p>0,05$). *Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar modifikasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. **Büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar aynı modifikasyon uygulanmış hammaddeler arasındaki farkı göstermektedir.

Çözünebilir kahve üretiminde açığa çıkan kahve posasının biyoaktif bileşen kaynağı olarak tekrar kullanımının değerlendirildiği bir çalışmada, etanolik KP ekstraktlarının TFM miktarları 255-273 mg GAE/g olarak bulunmuştur (Acevedo ve ark., 2013). Kahve posalarının gıda endüstrisinde potansiyel kullanımlarını inceleyen bir diğer çalışmada ise elde edilen ekstraktların TFM değeri 291,86 mg GAE/g'dır (Franca ve Oliveira, 2022).

Ayçekirdeği ile yapılmış literatürdeki çalışmalara bakıldığında Cerit (2025), ayçiçek posasının mikrodalga destekli ekstraksiyonunda TFM miktarını 2500,44 mg GAE/100 g olarak bulmuştur. Benzer şekilde Žilić ve ark. (2010) ayçekirdeği ve tohumu üzerine çalışmış ve TFM değerinin 200-267,49 mg GAE/g aralığında değiştiğini bildirmiştir. Yağı alınmış ayçiçek küspesinin kullanıldığı bir diğer çalışmada TFM değeri 4200 mg/100 g olarak belirtilmiştir (Weisz ve ark., 2009).

Patates atıklarının sürdürülebilir kullanımı ve değerlendirilmesi üzerine yapılmış bir çalışmada farklı patates türlerinden alınan ekstraktların TFM içeriklerinin 8,71- 9,11 mg kafeik asit eşdeğeri/g olduğu belirtilmiştir (Khanal ve ark., 2024). Patates kabuklarının ekstraksiyonunda ise TFM değeri 81,3-46,59 mg/100 g arasında değişmiştir (Sing ve Saldaña, 2011). Helal ve ark. (2020) PK'den %80 metanol ile ekstraksiyon yapmış ve TFM değerini 3,78 mg GAE/g bulmuşlardır. Ultrason destekli ekstraksiyon sonunda ise maksimum TFM miktarı 10,29 mg GAE/g çıkmıştır (Xu ve ark., 2022).

İkincil metabolitler olan fenolik bileşiklerin biyosentezi, genellikle bitki materyalinin genetik yapısı, çevresel koşullar, fizyolojik özellikler gibi çok sayıda faktöre bağlı olan dinamik bir süreçtir (Feduraev ve ark., 2019). O nedenle farklı kaynaklardan elde edilmiş ekstraktlarda, hatta aynı bitki materyalinin farklı kısımlarının ekstraktlarında bulunan TFM değerleri farklılık gösterebilir. Diğer yandan organik çözücülerle yapılan ekstraksiyonlarda alınan serbest fenolik bileşenler yapıda kalan bağlı formdaki fenoliklerin göz ardı edilmesine neden olmaktadır. TFM'nin yaklaşık %20'sine denk gelen bağlı formdaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyon kalıntısında kaldığı ifade edilmiştir (Karabulut ve Yemiş, 2019). PK örneğinde KP ve AÇ ekstraktlarından daha düşük TFM miktarı bulunmuş olması bu durumla açıklanabilir.

Yapılan modifikasyon işlemlerinin TFM miktarına etki ettiği görülmüştür. Kahve posasından elde edilen örnekler arasında TFM değeri en yüksek KP örneğinde (406,34 mg GAE/g) daha sonra 311,74 mg GAE/g ile KPMH örneğinde bulunmuştur. KPMH ile KPD örnekleri ve KPD ile KPM örnekleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir ($p>0,05$). KP ekstraktları arasında en düşük TFM miktarı ise 263,72 mg GAE/g değeriyle KPM ekstraktıdır.

Ayçekirdeği posası ekstraktlarında en yüksek TFM değeri 386,00 mg GAE/g ile AÇ örneğine aittir. AÇMH örneği ise 60,17 mg GAE/g ile ayçekirdeği örnekleri arasında en düşük değeri vermiştir. PK ekstraktları AÇ'de olduğu gibi metilasyon ve dekarboksilasyon işlemleri sonucu ekstraktların TFM değerleri benzer olmuştur. En

yüksek TFM miktarı 282,20 mg GAE/g ile PK örneği olup en düşük değer ayçekirdeği grubunda olduğu gibi MH işlemi yapılmış ekstrakta (PKMH; 118,77 mg GAE/g) aittir.

Folin–Ciocalteu (F-C) metoduyla belirlenen TFM değeri yapıdaki serbest hidroksil gruplarıyla (-OH) ilişkilendirilir. Çünkü F-C reaktifi fenolik bileşiklerle reaksiyona girerek indirgenir ve mavi renkli kompleks oluşturur (Pérez ve ark., 2023). Metilasyon yöntemi uygulanan ekstraktlarda yapıdaki hidroksil gruplarının yerini metil gruplarının aldığı düşünülürse metilasyon uygulanmış ekstraktların TFM değerinde düşüş olması olağan karşılanır. Aynı şekilde moleküler hibridizasyon yönteminde -OH grubunun yerini alifatik bir zincir olarak yine hidroksil grubunun azalması yönünde etki eder. Bu nedenle metilasyon, esterifikasyon, glikozilasyon gibi işlemler TFM miktarını analitik olarak azaltabilir. Metillenmiş gallik asit bileşiklerinin F-C reaktifi ile reaksiyonu, serbest gallik asite göre çok daha zayıf gerçekleşmiştir. Bu durumun metil grubunun, redoks kapasitesini azaltıcı etki yapmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Pérez ve ark., 2023). Dekarboksilasyon yapılan ekstraktlardaki TFM miktarının azalması, reaksiyonun 130 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesi sonucu olabilir. *Moringa oleifera* tohumlarında farklı kavurma sıcaklıklarının TFM miktarı üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, kavurma sıcaklığının artmasıyla özellikle 120-150 °C sıcaklıklarda TFM değerlerinin önemli ölçüde azaldığı ifade edilmiştir (James ve ark., 2022).

Ham ekstraktlara ait TFM değerleri arasındaki farklılığın elde edildikleri materyallerin içerdiği serbest fenolik bileşik miktarlarının farkından kaynaklandığı düşünülmektedir. Modifikasyon yöntemleri arasındaki farklılıklar ise uygulanan yöntemlerin fenolik bileşiklerin yapısında meydana getirdiği değişiklikten, uygulama sıcaklıklarından ve farklı pH değerlerinden kaynaklanmaktadır.

Ekstraktlara ait DPPH radikal giderici aktivite analizi sonuçları

Ham ve modifiye ekstraktların antioksidan aktivite değerleri DPPH radikalini indirgeme düzeylerine göre %inhibisyon olarak Çizelge 4.3’de verilmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivite değerleri %15,30 ile %93,12 arasında bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek değer %93,12 ile KP ve %92,51 ile AÇ örneklerine, en düşük değer ise %15,30 ile AÇMH örneğine ait olduğu görülmektedir. KP ve AÇ ham ekstraktlarının arasındaki fark önemsiz olurken PK örneğinin antioksidan aktivitesi (%84,12) daha düşük bulunmuştur.

Kullanılan materyallerin aynı modifikasyon uygulanmış ekstraktları karşılaştırıldığında ham ekstrakt dâhil bütün modifikasyonlarda KP ekstraktları (KP-KPM-KPMH-KPD) önemli derecede daha yüksek inhibisyona sahip olmuştur ($p < 0,05$). AÇ ve PK'den elde edilen ham ve modifiye ekstraktlar karşılaştırıldığında AÇM ve PKM örneklerine ait sonuçlar arasındaki fark önemsizdir ($p > 0,05$). Ancak moleküler hibridizasyon yöntemi PKMH ekstraktında (%38,96), dekarboksilasyon yöntemi ise AÇD ekstraktında (%72,51) daha yüksek inhibisyon sağlamıştır.

Hammaddeler, uygulanan modifikasyon yöntemlerine göre kendi içinde karşılaştırıldığında, KP ekstraktları, KP (%93,12) > KPMH (%90,84) > KPD (%79,11) > KPM (%72,96) olarak sıralanmıştır. AÇ'den alınan ekstrakt KP örneğine benzer ve ayçekirdeği örnekleri arasında en yüksek antioksidan aktivite değerini (%92,51) vermiştir. Modifikasyon uygulanan örnekler ise AÇD (%72,51) > AÇM (%51,05) > AÇMH (%15,30) şeklinde sıralanmaktadır. PK ekstraktlarına ait antioksidan aktivite değerleri ise; PK (%84,12) > PKD (%55,38) > PKM (%51,03) > PKMH (%38,96) olmuştur.

DPPH radikalini indirgeme gücü ve TFM miktarı arasındaki ilişki birçok parametreye bağlıdır. Antioksidan aktivitenin tayin edilmesinde etkili olan en önemli faktörün fenolik bileşikler olduğu söylenmektedir. Fenolik bileşenlerin yapıları, antioksidan aktivitenin tayini için hangi yöntemin seçileceği konusunda da önemli bir rol oynamaktadır (Zeng ve ark., 2023; Yamauchi ve ark., 2024). Ekstrakt içindeki fenolik bileşiklerin yapısına bağlı olarak antioksidan aktivite değerinin değişebildiği gözlene de yapılan çalışmalar genel olarak TFM değerleriyle antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ifade etmektedir (Molole ve ark., 2022). Çalışmamızda alınan sonuçlar incelendiğinde yüksek TFM değeri veren ekstraktlardaki antioksidan aktivitenin de yüksek olduğu görülmektedir.

DPPH radikalinin kullanıldığı antioksidan aktivite tayini elektron transferi mekanizmasıyla reaksiyona giren bileşikler için uygundur, ancak hidrojen atomu transferi mekanizmasıyla çalışan bileşikler için farklı sonuçlar verebilir. Aromatik halkalardaki hidroksil grubu sayısı ve konumu DPPH ile etkileşim üzerinde etkilidir. Metoksilasyon gibi yapısal modifikasyonların, antioksidan aktiviteyi azaltabileceği ifade edilmiştir (Yamauchi ve ark., 2024). KP ekstraktının metilasyon uygulanan örneği kahve ekstraktları arasında en düşük antioksidan aktiviteyi vermiştir. Panusa ve ark. (2013) KP'den doğal antioksidanların geri kazanımı üzerine yaptıkları bir çalışmada ekstraktın DPPH radikalini indirgeme yüzdesini %90 olarak bulmuşlardır. KP'den çevre dostu

ekstraksiyon yöntemleriyle fenolik bileşiklerin kazanımı üzerine yapılmış bir çalışmada, ultrason destekli ekstraktların DPPH antioksidan aktivitesi %86-90 aralığında bulunmuştur (Okur ve ark., 2021). Çalışmamızda bulunan antioksidan aktivite değerleri de literatürle uyumlu olarak %90,84-93,12 olmak üzere yüksek inhibisyona sahiptir. Metilasyon ve dekarboksilasyon örneklerine ait değerler nispeten daha düşük olmak üzere sırasıyla %72,96 ve %79,11'dir. Metilasyon reaksiyonlarında hidroksil gruplarının belirli pozisyonlarda metillenmesi bileşiğin konformasyonel esnekliğinin kaybolmasına neden olmaktadır. Bileşiğin yapısında meydana gelen böyle bir değişimin aktiviteyi artırmaya engel olduğu ifade edilmektedir (Rawel ve ark., 2006). Dekarboksilasyon işleminde ise ulaşılan yüksek sıcaklıkların fenolik bileşen kaybına sebep olmasıyla aktiviteyi düşürebileceği bilinmektedir.

Ayçiçeği küspesinin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktların TFM ve DPPH antioksidan aktivite değerleri incelenmiştir. En yüksek DPPH radikal indirgeme gücü 2318,49 mg Trolox/100 g olarak bulunmuştur (Cerit, 2025). Ayçiçeği fenolik ekstraktlarının *in vitro* biyoaktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada etanol ile elde edilen ekstraktın 40 µg/mL konsantrasyonda %75,16 DPPH radikalini inhibe ettiği gösterilmiştir (Alexandrino ve ark., 2021).

Farklı çözücüler ile (su, %80 metanol, %100 metanol ve %100 etanol) hazırlanan PK ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri bir çalışmada değerlendirilmiş ve DPPH serbest radikalini giderme gücünün %58,22 ile %80,68 aralığında değiştiği bulunmuştur. En yüksek inhibisyon oranı %80,68 olarak %80 metanol kullanılan örnekte tespit edilmiştir (Helal ve ark., 2020). Çalışmamızda da aynı çözelti kullanılarak PK'den elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesi %84,12 bulunarak benzer bir sonuç vermiştir. Zhu ve ark. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise PK ekstraktının antioksidan aktivitesi %36,38 ile %58,62 oranları arasında değişmektedir.

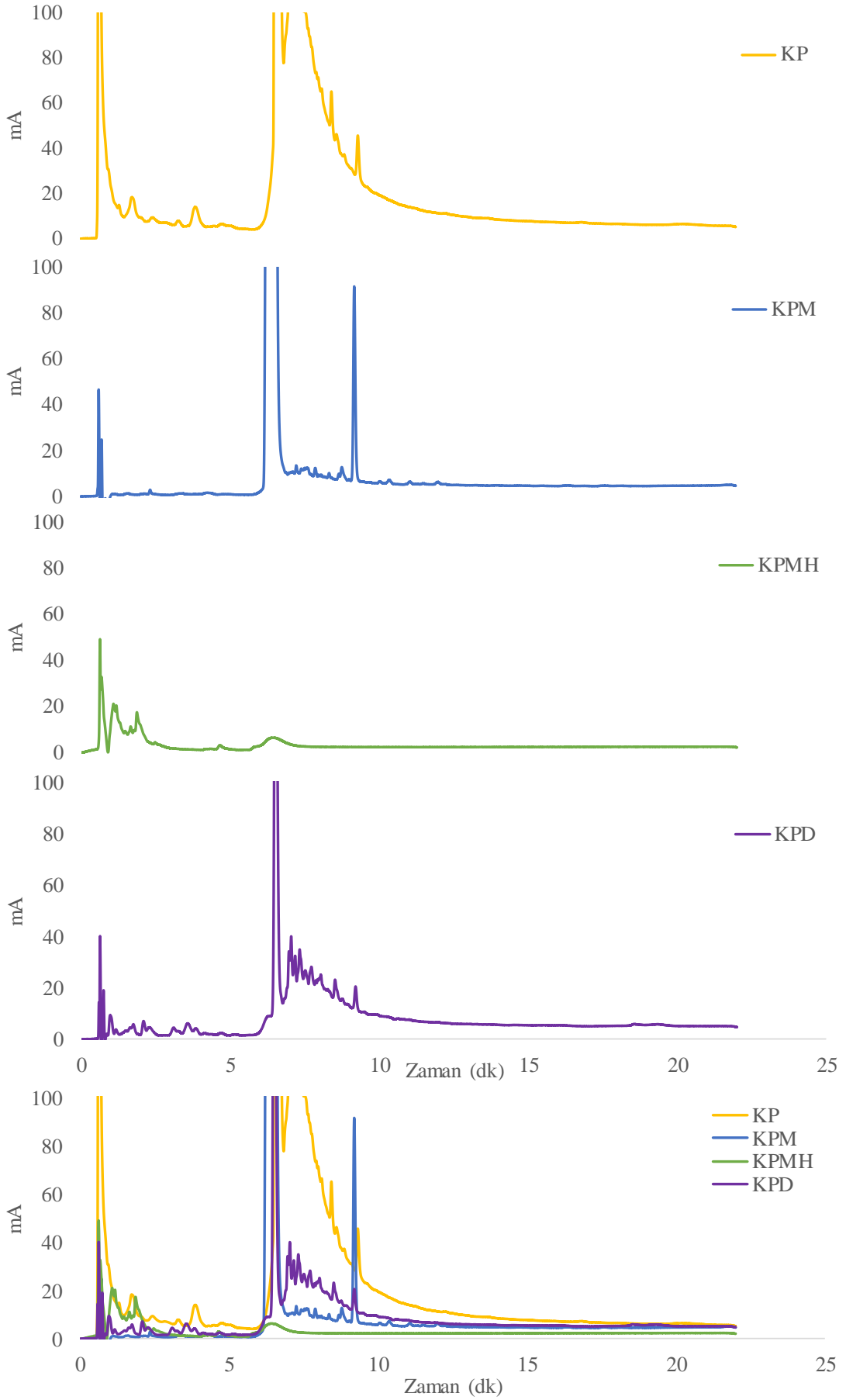
4.3. UHPLC (Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile fenolik bileşiklerin ayrıntılı analizi

Fenolik bileşikler, lipit matrisleri oto-oksidasyondan ve oksijen radikallerinden koruyan antioksidan özelliğe sahip yapılardır. Ekstraktlarda ayrıntılı fenolik bileşen tanımlaması ve KA varlığı UHPLC cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Tayin edilen bileşen miktarları standart maddelerin tutulma zamanları ile kıyaslanarak verilmiştir.

KP'den elde edilmiş ham ve modifiye ekstraktların UHPLC cihazından alınan kromatogramları ve bazı fenolik bileşenlerine ait veriler Şekil 4.1 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelgede miktarı verilen fenolik bileşikler dört kahve ekstraktında da ortak bulunan bileşikler olarak belirlenmiştir. Kahve posasından elde edilen ekstraktlarda en baskın fenolik bileşik KA'dır.

Çizelge 4.4. KP'den elde edilen ham ve modifikasyonlu ekstraktların fenolik bileşenleri ($\mu\text{g}/100\text{ mg}$)

Fenolik bileşik	KP	KPM	KPMH	KPD
4-KKA	624,26	250,00	359,93	429,14
5-KKA	77924,83	44435,77	1236,58	6686,52
Epikateşin	22,60	5,22	59,20	59,25
Ferulik asit	24,56	2,42	-	3,94



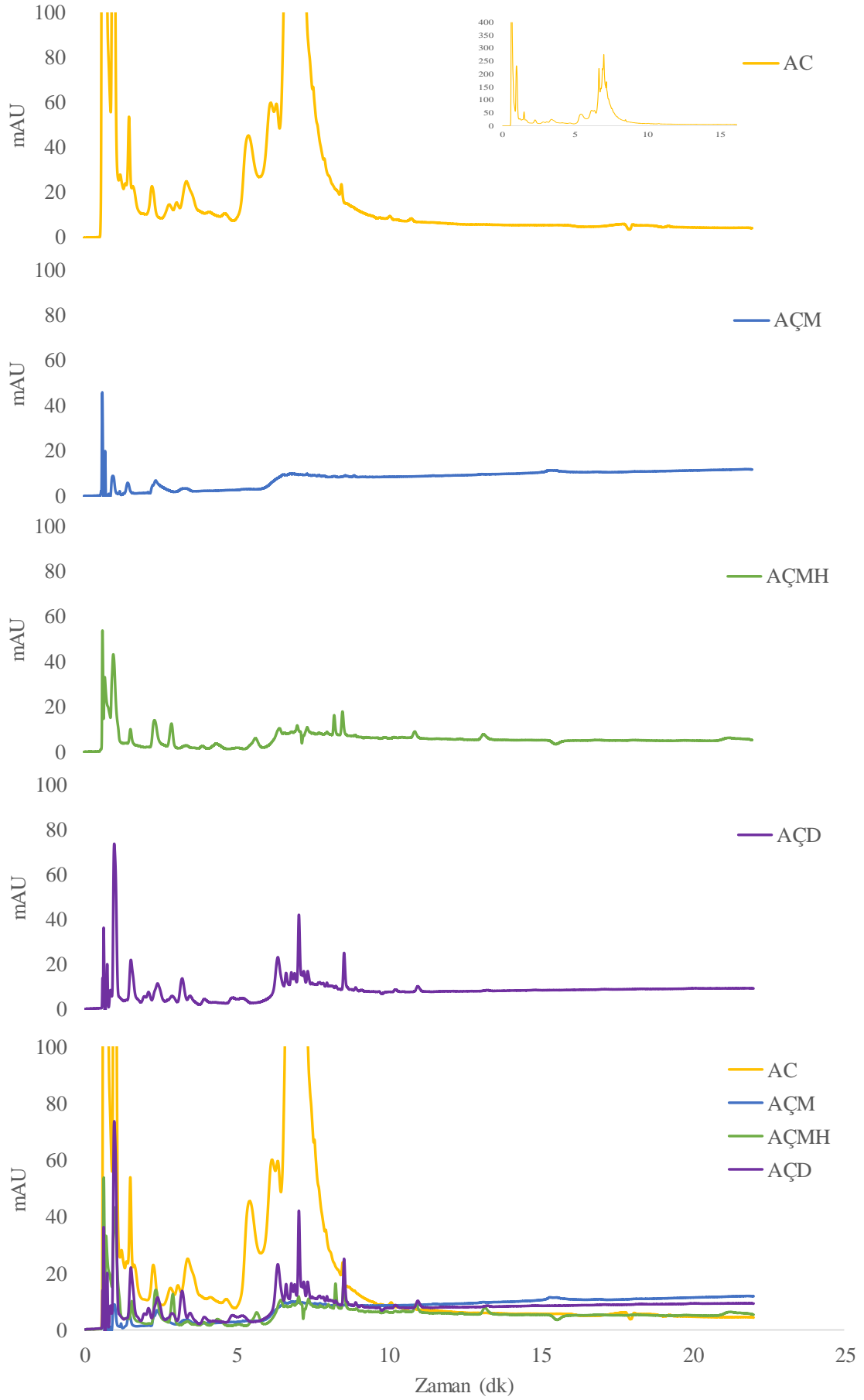
Şekil 4.1. KP ham ve modifiye ekstraktların UHPLC analizlerine ait kromatogramlar

Bessade ve ark. (2018) KP ekstraktının başlıca fenolik bileşiklerinin gallik asit, KA, protokateşik asit, vanilik asit, kafeik asit ve ferulik asit olduğunu bulmuşlardır. Okur ve ark. (2021) ana fenolik bileşiğin yaklaşık 85 mg/kg ile KA olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmamızda analiz edilen KA türevlerinden 4-KKA ve 5-KKA, KP örneğinde en yüksek değerdedir (sırasıyla 624,26 - 77924,83 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$). Modifikasyon yapılan örneklerde daha düşük miktarda KA türevleri bulunmuştur. 4-KKA bileşiği için KP örneğinden sonra en yüksek miktar KPD (429,14 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) örneğinde olup, diğer örnekler KPMH (359,93 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) > KPM (250 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) olarak sıralanmaktadır. 5-KKA bileşiği miktarlarına bakıldığında ise en düşük miktar, KP ekstraktı için MH uygulanmış örnektir. KA'nın izomerleri arasında, aynı modifikasyon uygulanmasına rağmen görülen bu farkın 4-KKA bileşiğinin daha reaktif ve termal bozunmasının hızlı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Clifford ve ark., 2003).

Epikateşin bileşiğinin KP içindeki miktarı 22,60 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ bulunurken, KPM örneğinde azalarak 5,22 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ değerine inmiştir. MH ve D modifikasyonları sonucunda ise yaklaşık %59'luk bir artış göstererek sırasıyla 59,20 ve 59,25 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ olmuştur. Bu modifikasyonlar epikateşinin serbest hale geçmesini ya da tespit edilebilir hale gelmesini sağlamış olabilir (Makris ve ark., 2021).

Ferulik asitin KP örnekleri içinde tespit edilen en yüksek miktarı 24,56 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ 'dir. Modifikasyonlar sonucu bu bileşiğin miktarında belirgin bir azalma görülmüş, dahası KPMH örneğinde tespit edilemeyecek bir seviyeye inmiştir. Ferulik asidin esterleşmeye yatkın olması modifikasyonlar sonucu oluşan azalmadan sorumlu olabilir.

AÇ'den elde edilmiş ham ve modifiye ekstraktların UHPLC kromatogramları ve bazı fenolik bileşenlerine ait veriler Şekil 4.2 ve Çizelge 4.5'de gösterilmiştir. Diğer hammaddelerde olduğu gibi literatürde baskın olarak yer verilen ve tüm AÇ küspesi ekstraktlarında ortak bulunan bileşiklerin miktarlarına bakılmıştır. Yine bu örneklerde de en yüksek oranda tespit edilen fenolik bileşik, KA türevleridir.



Şekil 4.2. AÇ ham ve modifiye ekstraktların UHPLC analizlerine ait kromatogramlar

Çizelge 4.5. AÇ'den elde edilen ham ve modifikasyonlu ekstraktların fenolik bileşenleri ($\mu\text{g}/100\text{ mg}$)

Fenolik bileşik	AÇ	AÇM	AÇMH	AÇD
4-KKA	1536,90	391,10	371,85	349,45
5-KKA	4034,46	631,70	1248,09	1014,60
Epikateşin	302,10	1,84	11,25	11,66
Vanilik asit	37,89	0,40	8,75	4,06

KP ekstraktında olduğu gibi AÇ örneğinde de 4-KKA ve 5-KKA için en yüksek değerler (sırasıyla 1536,90 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ ve 4034,46 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) elde edilmiştir. Zardo ve ark. (2019) AÇ'nin ekstraktını incelemiş ve KA miktarının 609-1635 $\text{mg}/100\text{ g}$ arasında değiştiğini bulmuşlardır. Küspenin içerdiği fenolik bileşiklerin dört gruba ayrılarak incelendiği bir çalışmada esterleşmemiş fenolik asit yüzdesi 1,2, kumarik ve ferulik asit türevlerinin yüzdesi 0,9, monokafeoilkuinik asitler %84 ve dikafeoilkuinik asitler %14 olarak verilmiştir (Weisz ve ark., 2009). Başka bir çalışmada, AÇ'nin sulu ekstraktında, pH'nın yükselmesinin KA izomerlerinin ekstrakt içindeki miktarları üzerinde etkisinin olduğu görmüşlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre pH 7'nin üzerinde 5-KKA'nın azaldığı, 3-KKA ve 4-KKA izomerlerinin arttığı görülmüştür (Albe Slabi ve ark., 2019).

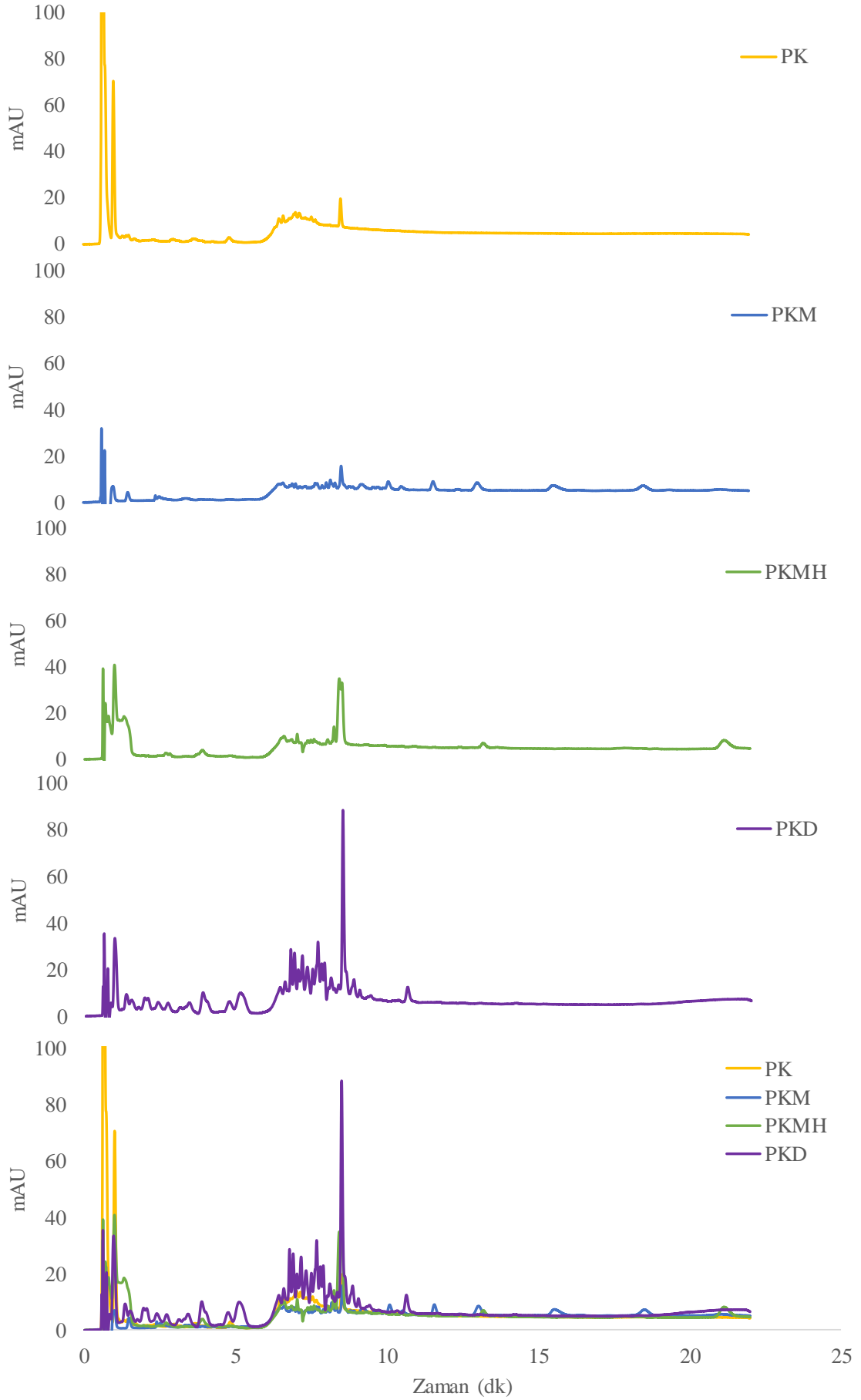
Çalışmamızda iki KA türevinin de modifikasyonlar sonucu azaldığı görülmüştür. 4-KKA bileşiminde en düşük değer AÇD örneğinde (349,45 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$), 5-KKA bileşiminde ise en düşük değer metilasyon uygulanan örnektedir (631,70 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$). KA türevlerinde görülen bu azalma metilasyon ile fenolik bileşiklerin yapılarına metil gruplarının katılması sonucu polarlığın azalması ve tayin etmenin zorlaşması olabilir (Dai ve Mumper, 2010).

Epikateşin miktarı, AÇ'de 302,10 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ iken modifikasyonlarla azalarak AÇM örneğinde 1,84 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ ile en düşük değerine ulaşmıştır. Chen ve ark. (2020) fenolik bileşiklerin halka yapılarındaki konjugasyonun değiştiği durumlarda, analiz edilen miktarların da değişebileceğini ifade etmişlerdir.

Vanilik asit bileşimi 37,89 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ olarak en fazla AÇ örneğinde bulunmuştur. Uygulanan modifikasyonlar sonrası görülen azalmanın, özellikle metilasyon ve dekarboksilasyon örneklerinde görülmesi vanilik asitte bulunan karboksil grubunun reaktivitesi nedeniyle kolay parçalanması sonucu olabilir (Chow ve ark., 1999).

PK'den elde edilmiş ham ve modifiye ekstraktların UHPLC kromatogramları ve bazı fenolik bileşenlerine ait veriler Şekil 4.3 ve Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Çizelgede $\mu\text{g}/\text{mg}$ olarak miktarları verilen fenolik bileşikler PK ekstraktında en yaygın bulunan ve literatürde bahsi geçen genel bileşikler olması sebebiyle seçilmiştir. Buna göre PK

ekstraktlarının baskın fenolik bileşen içeriği 4-KKA, 5-KKA, vanilin, vanilik asit, gallik asit, *o*-kumarik asit ve ferulik asit olarak tespit edilmiştir. Mohdaly ve ark. (2010) PK metanolik ekstraktının içerdiği fenolik bileşenleri KA, gallik, *p*-kumarik ve kafeik asit olarak bulmuştur. Bir başka çalışmada PK fenolik içeriği kafeik, KA, gallik, ferulik ve az miktarda protokateşik asit bulunduğu belirtilmiştir (Saeed ve ark., 2024). Yüksek basınçlı homojenizasyon ile elde edilen PK ekstraktının fenolik asit bileşenleri; gallik, protokateşik, klorojenik, vanilik, sirinjik, *p*-kumarik, sinapik, ferulik ve kafeik asit olarak tespit edilmiştir (Zhu ve ark., 2016).



Şekil 4.3. PK ham ve modifiye ekstraktların UHPLC analizlerine ait kromatogramlar

Çizelge 4.6. PK'den elde edilen ham ve modifikasyonlu ekstraktların fenolik bileşenleri ($\mu\text{g}/100\text{ mg}$)

Fenolik bileşik	PK	PKM	PKMH	PKD
4-KKA	301,20	85,00	140,00	280,05
5-KKA	861,84	529,50	92,56	1293,70
Vanilin	314,05	1,87	248,95	50,95
Vanilik asit	2,88	1,40	4,00	3,94
Gallik asit	34,00	3,80	22,50	16,39
<i>o</i> -kumarik asit	2,66	0,92	5,66	4,91
Ferulik asit	1,94	1,71	2,60	11,70

Sonuçlar incelendiğinde 5-KKA'nın bütün PK ekstraktlarında baskın olan fenolik bileşen olduğu görülmektedir. Özellikle PKD örneğinde 5-KKA değerinin ham ekstrakta göre %50 oranında artarak 1293,70 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ olduğu tespit edilmiştir. PK, PKM ve PKMH örneklerinde ise sırasıyla 861,84 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$, 529,50 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ ve 92,56 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ 5-KKA bulunmuştur. PKMH'de belirlenen 5-KKA'nın önemli derecede azalması, dekanoylklorit ile esterleşmesi sonucu farklı bir forma dönüşmesinden kaynaklanıyor olabilir. Aksine PKD örneğinde ham ekstraktan daha yüksek miktarda 5-KKA bulunması dekarboksilasyonda bazı fenolik prekürsörlerin dönüşümü (Clifford ve Scalbert, 2000) veya bağlı formda bulunan formların ısı ve kimyasal etkiyle KA'ya dönüşmüş olmasıyla açıklanabilir (Dai ve Mumper, 2010).

Analizde tespit edilen diğer KA izomeri olan 4-KKA, 301,20 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ değeriyle en fazla PK örneğinde tespit edilmiştir. PKD ve PKMH örnekleri sırasıyla 280,05 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ ve 140 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ 4-KKA içermektedir. PKM'de bu izomerin miktarı önemli oranda azalarak 85 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ olmuştur. PKM örneğinde 5-KKA'ya göre 4-KKA bileşiğinin daha fazla oranda azalması bu iki izomerden 4-KKA'nın daha reaktif olmasından ve bozunma hızının daha yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir (Xu ve ark., 2012). Clifford ve ark. (2003) çalışmalarında 4-KKA bileşiğinin 5-KKA'ya göre termal stabilitesinin düşük olduğunu ve izomerine dönüşmeye yatkın olduğunu belirtmişlerdir.

Vanilin bileşiğine bakıldığında ham ekstraktın (PK) en yüksek miktarı (314,05 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) içerdiği tespit edilmiştir. Modifikasyon uygulanan örneklerde miktarı azalan vanilin bileşiği metilasyon uygulanmış örnekte en düşük değerine (1,87 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$) inmiştir. PKD ekstraktında ise vanilin bileşiği miktarı 50,95 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ 'dir. Metilasyon ve dekarboksilasyon uygulamaları sonrası vanilin miktarındaki azalmanın, yöntemlerdeki yüksek sıcaklık aşamalarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Rasoamandrary ve ark. (2013) ultrason destekli ve sıcak su banyolu ekstraksiyon sonuçlarını inceledikleri çalışmalarında vanilin bileşiğinin sıcaklık yükselmesiyle azaldığını görmüşlerdir.

Gallik asit bileşiği, PKM'de yaklaşık %89 kayıpla 3,80 µg/100 mg olmuştur. Aynı şekilde dekarboksilasyon yönteminin de, yapısında 3 OH grubu içeren gallik asit gibi bileşikler için olumsuz etkisi olduğu tespit edilmiştir. Gallik asidin termal özelliklerini inceledikleri çalışmada, 80 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ayrışmanın başladığı ve bazı yapısal değişikliklerin meydana geldiği doğrulanmıştır (Tsioptsias ve Tsivintzelis, 2022).

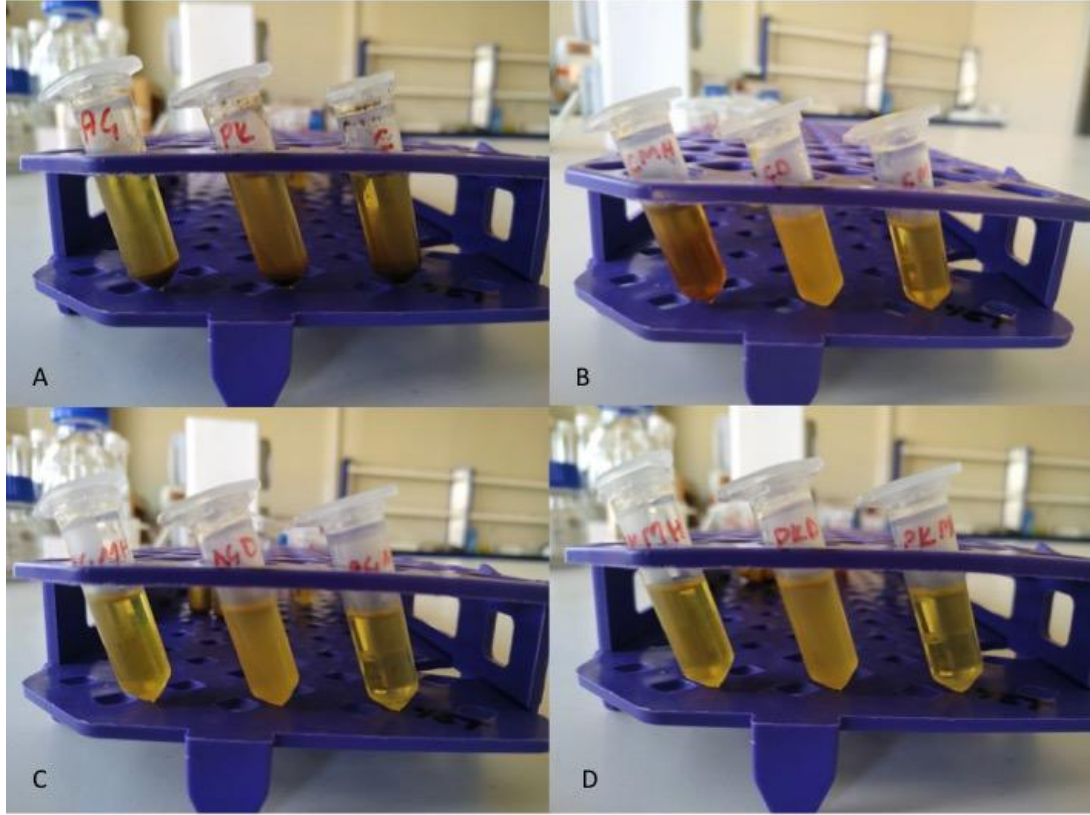
Daha düşük miktarda bulunan *o*-kumarik asit, ferulik asit ve vanilik asit sonuçları değerlendirildiğinde ham PK ekstraktında 2,66 µg/100 mg bulunan *o*-kumarik asitin hibridizasyon ve dekarboksilasyon yöntemleriyle miktarının arttığı (sırasıyla PKMH: 5,66 µg/100 mg ve PKD: 4,91 µg/100 mg) görülmüştür. Ferulik asit bileşiği PK'de 1,94 µg/100 mg gibi düşük miktarda bulunurken dekarboksilasyon yöntemi sonrasında yaklaşık 6 kat artarak 11,70 µg/100 mg olmuştur. PK içinde bulunan feruoilkuinik asit türevlerinin (Chong ve ark., 2013) ısı etkisiyle kendisini oluşturan ferulik ve kuinik asite dönüşmesinin buna yol açtığı düşünülmüştür. Ham ekstrakt içinde 2,28 µg/100 mg bulunan vanilik asitin miktarı ise PKMH ve PKD örneklerinde artmıştır. Bu artış, vanilin-vanilik asit dönüşümünden kaynaklanabilmektedir.

İncelenen bileşikler açısından modifikasyonlar değerlendirilecek olursa metilasyon işlemi, genellikle fenolik bileşik miktarlarının azalmasına sebep olmuştur. Dolayısıyla metilasyon yönteminin ekstrakt içindeki fenolik bileşiklerin yapısını değiştirmeye yönelik en etkili yöntem olduğu da yorumlanabilir. Ekstraktların içinde baskın olarak bulunan KA türevlerinin azalması, dolayısıyla ekstrakta polar özellik veren bileşik oranının azalması ve yağda çözünürlüğün artması ile sonuçlanmıştır. Bu azalmanın hangi türevlere dönüşme veya hangi prekürsörlere ayrışma gibi durumlardan kaynaklandığını belirleyecek çalışmalar, modifikasyon yöntemlerinin etkinliği hakkında daha doğru yorum yapmayı sağlayacaktır.

4.4. Lipofilisite ölçüm sonuçları

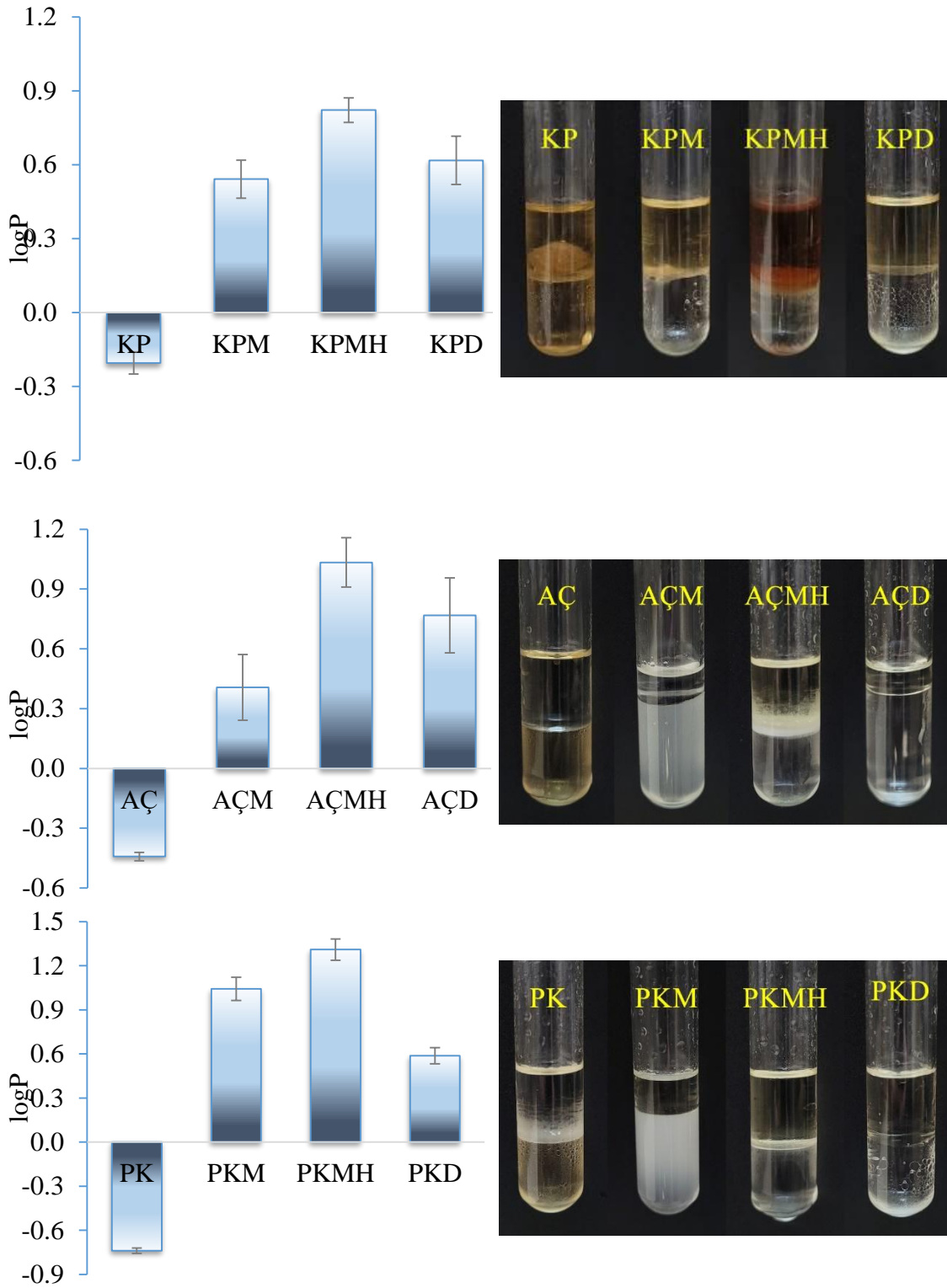
Fiziksel çözünürlük tayini: Modifiye edilmiş örnekler ham ekstraktlar ile kıyaslandığında yağdaki çözünürlük bakımından belirgin farklılıklar gözlenmiştir (Şekil 4.4). Modifikasyon yöntemi uygulanmış ekstraktların yağa ilave edilerek vortekslenmesi homojen bir görüntü sağlamıştır. A'da çökelti halinde görülen ekstraktlar, modifiye

edildiğinde yığın yağ ortamında tamamen çözülmüştür. Modifikasyonlar arası çözünürlük farklılıkları logP oktanol/su dağılım katsayısı analiziyle tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Fiziksel çözünürlük tayini için hazırlanan yağ + ekstrakt örnekleri (A: Ham ekstrakt ilaveli yağlar, B: KPMH- KPD- KPM ilaveli yağlar, C: AÇMH- AÇD-AÇM ilaveli yağlar, D: PKMH- PKD- PKM ilaveli yağlar)

LogP (oktanol/su dağılım katsayısı) değeri, bir bileşiğin oktanol-su sistemindeki madde dağılımının logaritmik katsayısıdır. Bir bileşiğin hidrofilik veya hidrofobik olduğunu yani lipofilitesini nicel olarak gösteren önemli bir parametredir (Kalinowska ve ark., 2024). KP, AÇ ve PK ekstraktlarının ve bu ekstraktlara uygulanan modifikasyon yöntemleri sonrası elde edilen ekstraktların logP değerleri Şekil 4.5’de verilmiştir. Sonuçlar, modifikasyon yöntemlerinin ekstraktların lipid sistemlerde çözünürlüğü üzerine etkilerini göstermektedir.



Şekil 4.5. Ham ve modifiye ekstraktlara ait logP değerleri

Sonuçlar incelendiğinde tüm ham ekstraktların negatif logP değerine sahip olduğu görülmektedir. Bu, ham ekstraktların yüksek oranda hidrofilik özellikte olduğunu göstermektedir. LogP değerlerine göre ham ekstraktların hidrofilisite sıralaması PK > AÇ > KP şeklindedir. PK'nın -0,740 ile en düşük logP sahip olması, polar çözücülerde daha

fazla çözünebildiğini göstermektedir. Metilasyon yöntemi uygulandıktan sonra ekstraktların lipofilite sıralaması $PKM > KPM > AÇM$ olmuştur. LogP değerlerindeki bu artış, ekstrakt içindeki OH gruplarının metil gruplarıyla esterleştiğinin kanıtı niteliğindedir. KP ekstraktının hidrofilitésinin en düşük olması, kahve posası elde etme prosesinde su ile demleme aşamasının olmasıyla açıklanabilir.

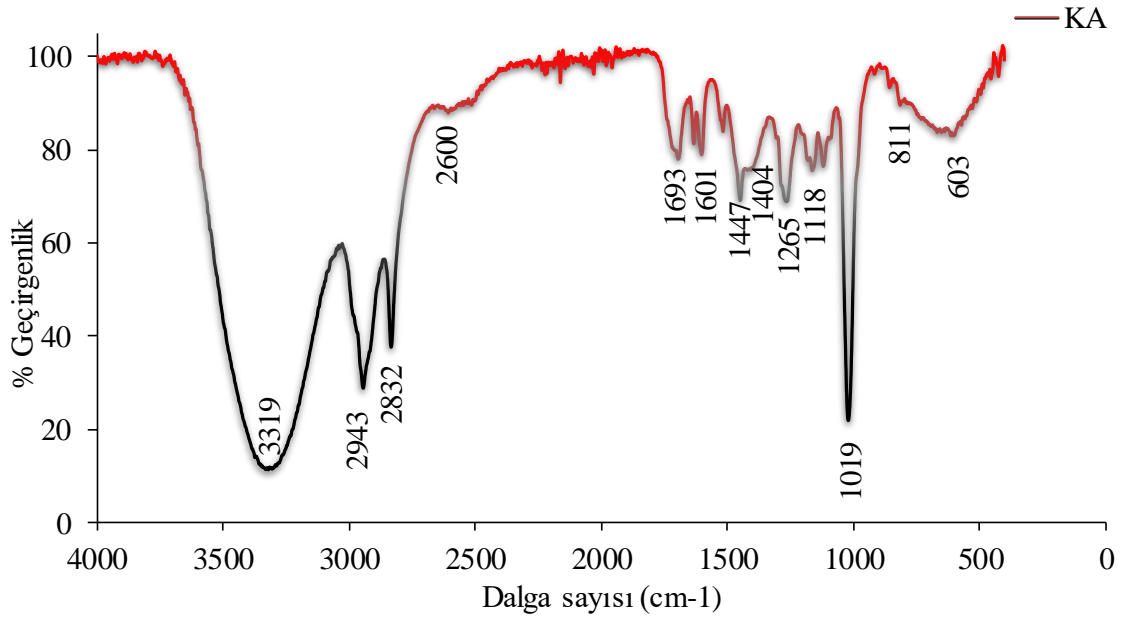
MH uygulaması sonrası ekstraktların logP değerleri PKMH: 1,310, AÇMH: 1,034 ve KPMH: 0,821 olmuştur. MH modifikasyonu 3 hammadde için de ekstrakt lipofilitesini en çok artıran uygulama olmuştur. Bu durum, MH uygulamasında kullanılan dekanoilklorit, ekstrakt yapısındaki fenolik bileşiklerle esterleşerek bileşiğın lipofilik karakterini artırmasından kaynaklanıyor olabilir

Dekarboksilasyonda yapıdaki karboksil grubunun uzaklaşması, bileşiğın kutupluluğunu azaltarak lipofilitesinin artmasını sağlar. Dekarboksilasyonun ekstraktlar üzerindeki etkisine bakıldığında logP değerleri AÇD: 0,768, KPD: 0,617, PKD: 0,588 'dir. Bu yöntem sonucunda ekstraktların lipofilitesindeki artış metilasyon uygulamasındaki artışa benzer olmuştur.

LogP değerlerine ait sonuçlar özetlenecek olursa uygulanan modifikasyon yöntemlerinin tümü ekstraktların lipofilik özelliğini artırmıştır. Moleküler hibridizasyon yöntemi, yapıya uzun karbon zinciri gibi hidrofobik yapıların eklenmesiyle lipofilik özelliği en çok artıran modifikasyon yöntemi olmuştur. Özellikle PK ekstraktına MH uygulanması lipofilik karakteri oldukça artırarak lipit sistemlerinde en yüksek çözünürlüğü sağlamıştır. PK ekstraktı için diğer modifikasyon yöntemlerinin etkinliğı metilasyon > dekarboksilasyon şeklindeyken AÇ ve KP için bu durum dekarboksilasyon > metilasyon olmuştur. Çalışmamızda incelenen üç hammadde için de lipofilik ortamlarda kullanım potansiyellerini artıracak olan en etkili yöntem moleküler hibridizasyon olmuştur.

4.5. FTIR spektroskopisi sonuçları

FTIR spektroskopisi, ekstraktların içerdiği fenolik bileşenler hakkında hızlı bir tanımlama yapmak ve kimyasal yapısını ortaya koymak için yapılmıştır. Modifikasyon yöntemleri sonucu ekstraktlar içinde bulunan hidroksisinnamik asit türevlerinin olası yapısal değişimleri tespit edilmiştir. KA standartına ait FTIR spektrumu Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. KA standart maddesine ait FTIR spektrumu

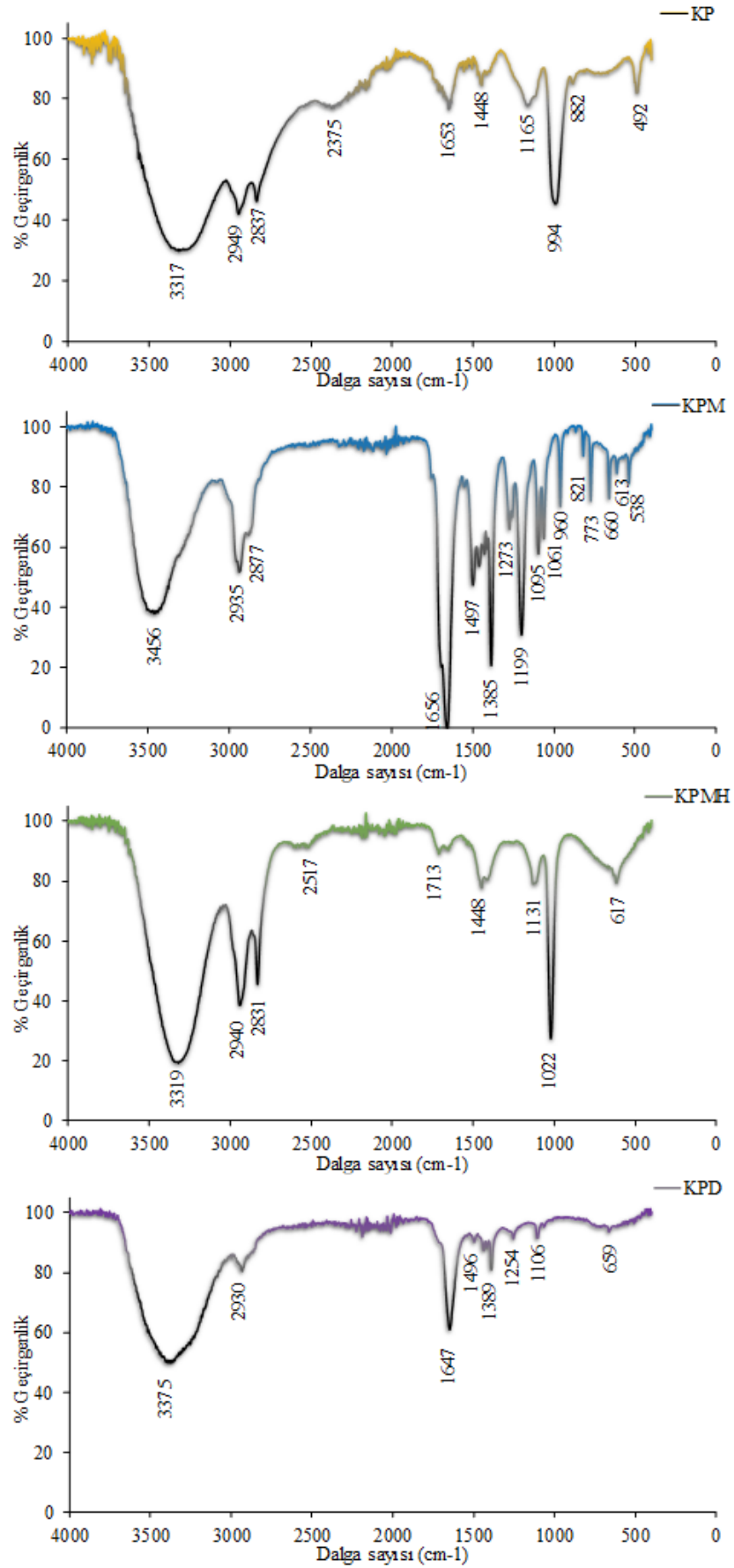
FTIR spektrumlarında parmak izi bölgesi adı verilen $1800\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ aralığında bulunan pikler genellikle bitkilerdeki fenolik bileşiklere işaret etmektedir. $3000\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bant ve 2800 cm^{-1} değerine kadar genişleyen bantların aromatik halkadaki C-H titreşimlerini gösterdiği belirtilmiştir (Okur ve ark., 2019). Ayrıca yapılan çalışmalarda $1715\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki piklerin hidroksibenzoik veya hidroksisinnamik asitlerde bulunan (C=O) titreşimleri sonucu oluştuğu ifade edilmektedir (Baltacıoğlu ve ark., 2024). Tejamukti ve ark. (2020) çalışmalarında 3317 cm^{-1} emilim bandının hidrojen bağının (-OH) gerilimini, 2953 cm^{-1} ve 2922 cm^{-1} piklerinin ise sırasıyla asimetrik metil grubu (CH_3) ve asimetrik metilen grubu ($-\text{CH}_2$) gerilimlerini ifade ettiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada 1700 cm^{-1} 'lerde görülen piklerin konjuge olmayan karbonil grubunu (C=O), 1650 cm^{-1} 'lerdeki bandın konjuge olmayan C=C grubunu temsil ettiği söylenmiştir.

Çalışmamızda farklı modifikasyon uygulanan ekstraktların FTIR spektrumları incelendiğinde ekstraktların içerdiği fenolik bileşiklerin belirgin değişimler geçirdiği gözlenmiştir.

Öncelikle KA standart maddesinin spektrumu incelendiğinde, 3319 cm^{-1} , 2943 cm^{-1} , 2832 cm^{-1} dalga sayısında pikler oluştuğu görülmüştür. $3300\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen pikler hidrojen bağının oluşum karakteristiğidir (Crew ve ark., 1998; Okur ve ark., 2021). KA spektrumunda 3319 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen geniş pik OH varlığını gösterir. Bu da fenolik yapıların karakteristiğidir. $1500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı

aralığındaki pikler C=C ve C=O bağlarının varlığını gösterir. KA spektrumundaki 1693 ve 1601 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler KA'nın karbonil gruplarına işaret eder. 1019 cm^{-1} dalga sayısındaki keskin pik C-O-C bağına ait olup KA'nın ester bağlarına karşılık gelmektedir.

KP ekstraktı ve ondan modifiye edilerek hazırlanan KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarına ait ayrıştırılmış FTIR spektrumları Şekil 4.7'de gösterilmiştir. KP örneğinden alınan spektrum, KP'de KA varlığını ispat etmektedir. Ham ekstraktın spektrumuna bakıldığında KA'daki OH bandına benzer bir pik görülmekte ancak yoğunluğu daha düşüktür. KP'deki diğer fenolik bileşen yapıları ve olası safsızlıkların etkisi OH bandının genişliğine ve yoğunluğuna etki etmiştir. Yine aynı sebepten C=O pikinin (1653 cm^{-1}) daha düzensiz olduğu görülmektedir. Saf KA bileşiğine ait spektrumla KP örneğinden alınan kıyaslandığında ester bağına işaret eden bandın da yoğunluğunun azaldığı görülmektedir. Bu yoğunluk azalmaları, ekstrakt matrisindeki farklı fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle beklenen bir durumdur.



Şekil 4.7. KP ham ve modifiye ekstraktların FTIR spektrumları

Zuluaga ve ark. (2024) KP'ye ait FTIR spektrumunda 3700-3027 cm^{-1} arasındaki geniş bandın fenolik bileşenlerde bulunan OH gruplarının oluşturduğu titreşim sonucu olduğu söylemişlerdir. 1736 cm^{-1} 'de görülen pikin C=O geriliminden olduğunu ve bunun kahvede bulunan klorojenik, kafeik ve p-kumarik asit gibi fenoliklerde bulunan ester bağını ifade ettiğini belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada 1470 cm^{-1} 'deki titreşimin fenolik bileşiklerin metil ve metilen gruplarındaki C-H bükülmesiyle bağlantılı olduğu bulunmuştur. 1122 cm^{-1} 'de görülen küçük tepenin KA'nın sikloheksan yapısındaki C-H bükülmesiyle görüldüğü söylenmiştir.

Metilasyon uygulamasının, KP ekstraktı üzerindeki etkileri incelendiğinde OH bandında daralma, C-H piklerinin belirgin olması ve 1700-500 cm^{-1} aralığında oluşan birçok pik görülmektedir. Bu durum, KP örneğindeki fenolik grupların metil esterine dönüştüğünü gösterebilir. OH bandındaki daralmanın ise metil gruplarının OH gruplarıyla yer değiştirmiş olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca parmak izi bölgesinde görülen pik artışı, metilasyon prosesinin bir sonucu olarak bağlı formdaki fenolik bileşenlerin ayrılmasından kaynaklı olabilir.

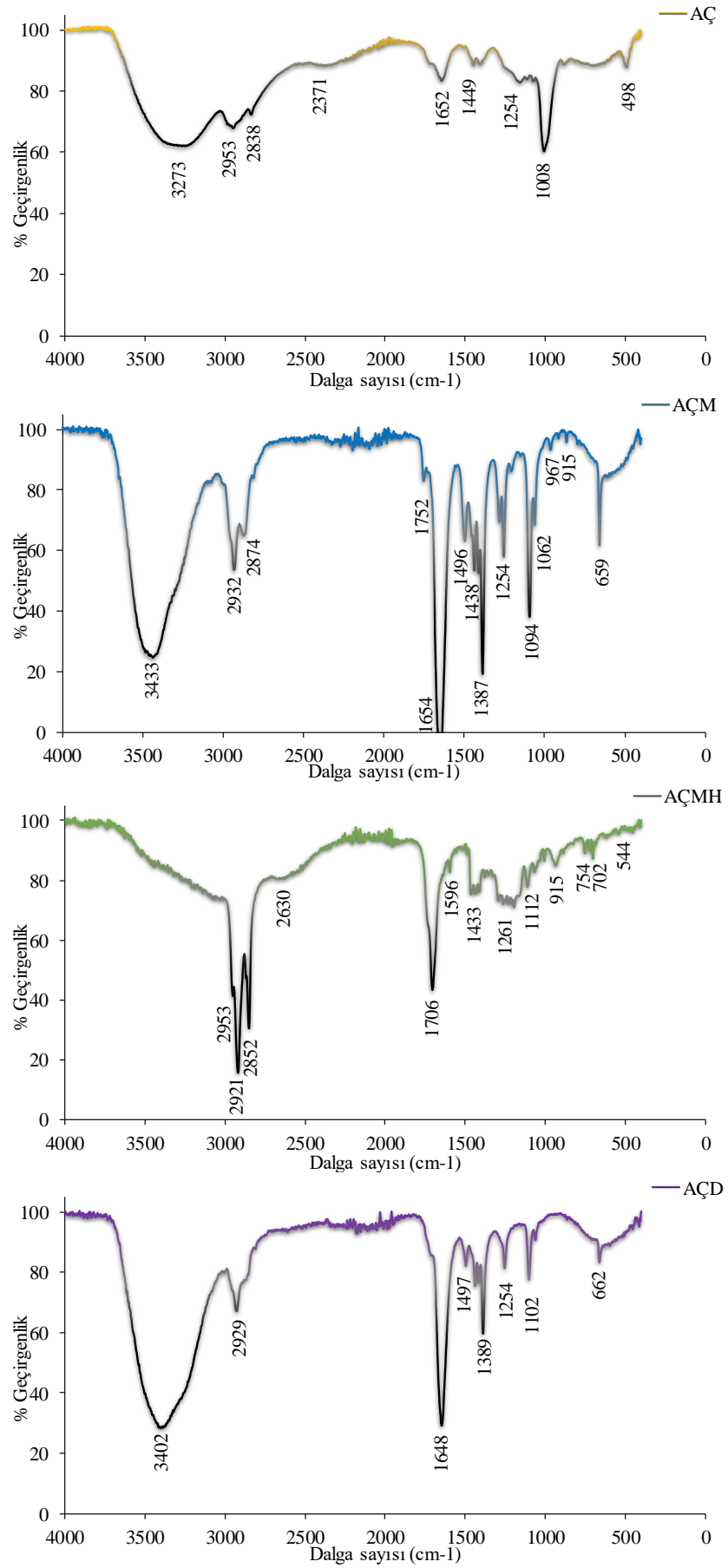
KPMH spektrumunda belirgin pikler 3319 cm^{-1} , 2940-2831 cm^{-1} ve 1022 cm^{-1} dalga sayısında görülmüştür. Moleküler hibridizasyon işlemi ekstrakt içinde bulunan fenolik bileşenlerin hem karbonil gruplarında hem de ester bölgelerinde değişikliklere neden olmuştur. Piklerin genişliği ve yoğunluğunun KP örneğine göre değişiklik göstermesinin, MH sonucu ekstrakta kazandırılmış olan yeni yapılar sonucu olduğu düşünülmektedir.

Dekarboksilasyon işlemi, asidik grupların karboksil grubu salarak ayrılması ile gerçekleşir. 1000-1500 cm^{-1} aralığındaki karbonil pikinde azalma veya kaybolma görülmesinin sebebi buna bağlanabilir. KPD örneğinin spektrumunda bu bölgedeki piklerin KP örneğine kıyasla kaybolduğu açıkça görülmektedir.

KP ekstraktlarının FTIR spektroskopisi sonuçları toparlanacak olursa, en geniş OH bandının görüldüğü örnek KP'dir. Metilasyonda bu bant azalmış ve daralmıştır, bu da fenolik hidroksil gruplarının metil gruplarıyla yer değiştirdiğinin bir kanıtı niteliğindedir. KPM örneğinin TFM sonuçlarına bakıldığında analizler arası tutarlılık olduğu görülmektedir. 2920-2850 cm^{-1} aralığındaki titreşimler metil ve metilen gruplarına aittir. KPM ve KPMH örneklerinde bu pikler belirgin olup yapıya katılan metil grubunu ve alifatik zincir uzamasını destekler. 1700-1730 cm^{-1} arasındaki bant KPM ve KPMH spektrumlarında daha yoğunken, KPD örneğindeki pikte daralma görülmektedir. Bu durum, dekarboksilasyonla karboksil grubunun uzaklaşmasına işaret etmektedir. 1600-

1500 cm^{-1} aralığında KPM, KPMH ve KPD spektrumlarında belirgin çift pik gözlemlenmiştir. Aromatik halkayı ifade eden bu piklerin tüm örneklerde oluşu, halka yapıların modifikasyonlar sonucu korunduğunu göstermektedir. Pik şiddetindeki farklılıklar fenolik bileşen yoğunluğunun farklı olmasından kaynaklanmaktadır. 1250-1000 cm^{-1} arasında C-O ve C-O-C titreşimleri KPM ve KPMH örneklerinde belirgin şekilde artarken, KPD örneğinde daha zayıftır. Bunun yapıdaki oksijenli grupların azalması sonucu olduğu düşünülmüştür.

AÇ ve ondan modifiye edilerek hazırlanan AÇM, AÇMH ve AÇD ekstraktlarına ait ayrıştırılmış FTIR spektrumları Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil. 4.8. AÇ ham ve modifiye ekstraktların FTIR spektrumları

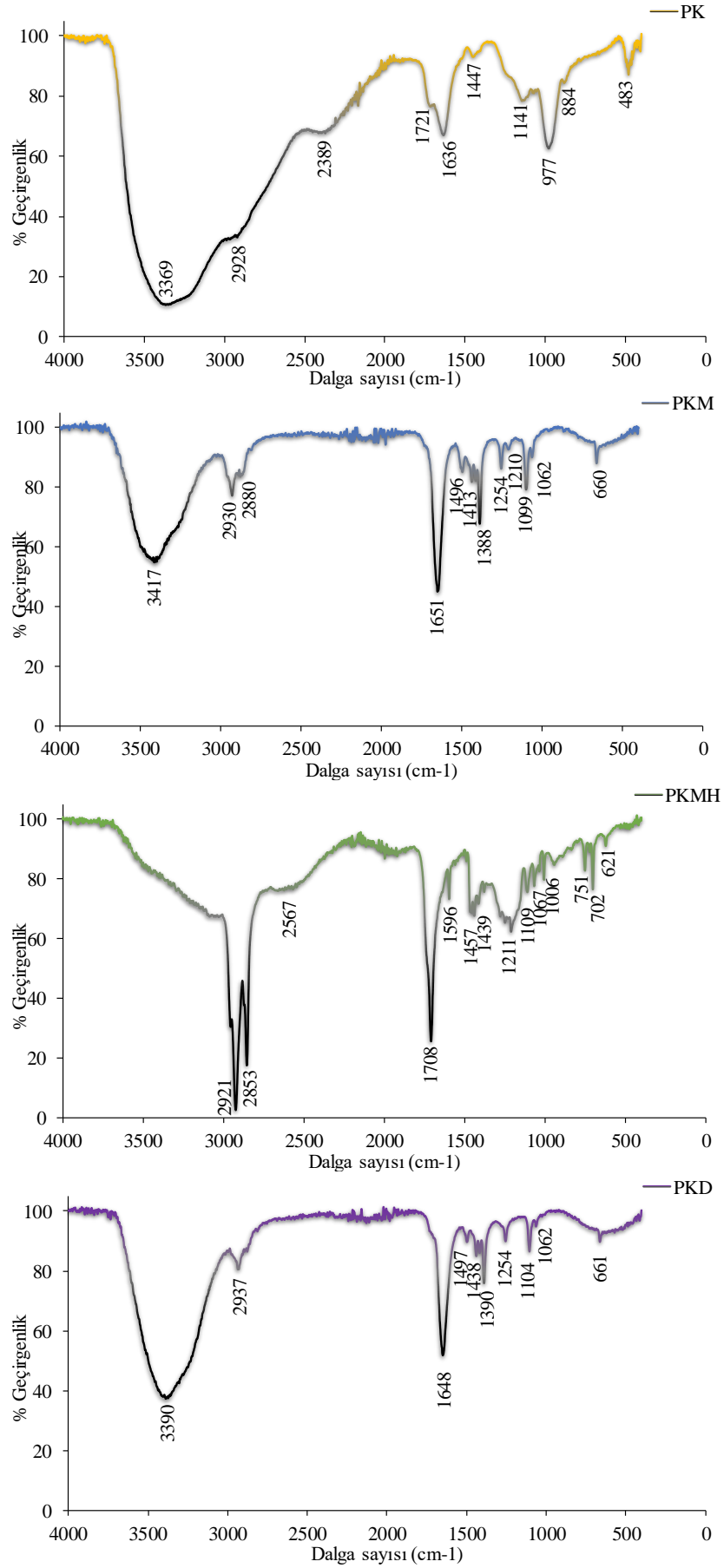
AÇ küspesinden elde edilen ekstraktlar arasında 3200-3500 cm^{-1} (OH gerilmesi) aralığında görülen absorpsiyon bandı AÇ örneğinde en geniş halindedir (Alara ve ark., 2018). Bu durum fenolik hidroksil gruplarının ve hidrojen bağlarının yoğun olduğuna işaret eder. AÇM'de bu bant daralırken AÇD örneğinde kısmen korunduğu görülmektedir. Metilasyon işleminin yapıdaki hidrojen bağı yapma kapasitesini etkileyerek azalttığı anlaşılmaktadır. AÇMH'de bu aralıktaki pikin kaybolduğu görülmektedir. Moleküler hibridizasyon işlemiyle yapıda azalan OH gruplarının polariteyi de etkilediği ve MH uygulanan örneklerin logP değerlerinin yüksekliği doğrulanmış olmaktadır. Ayrıca AÇ ve diğer modifikasyonlu örneklerin TFM ve HPLC sonuçları FTIR spektrumlarıyla paraleldir.

2950-2850 cm^{-1} (alifatik C-H gerilmesi) aralığında tüm AÇ örneği spektrumlarında orta yoğunlukta bantlar gözlenmiştir. AÇM'de belirginleşen bu pikler özellikle AÇMH örneğinde çok daha belirgindir. Bu durum yeni metil/alkil gruplarının yapıya katıldığını göstermektedir (Jain ve ark., 2016).

AÇ örneğinde 1650-1750 cm^{-1} (C=O ester/karboksilik grup gerilmesi) aralığında zayıf pikler görülmektedir. AÇD ve AÇMH'de bu pik belirginleşirken, AÇM spektrumunda daha yoğunluklu bir pik görülmektedir. Esterifikasyon veya yeni karbonil grubu oluşumuyla açıklanabilecek bu pikin emisyonu 1654 cm^{-1} 'dir.

1600-1500 cm^{-1} aralığındaki bant (C=C aromatik yapı gerilmesi) fenolik bileşiklerin (KA) yapısındaki aromatik yapıyı gösterir (Monje ve ark., 2018). AÇ ve modifiye AÇ ekstraktlarının spektrumlarındaki bu pikler uygulanan işlemlerle yoğunluk ve genişlik açısından değişikliğe uğramış ancak korunmuştur. AÇ spektrumunda olmayıp AÇM (1387 cm^{-1}), AÇMH (1376 cm^{-1}) ve AÇD (1388 cm^{-1}) örneklerinde belirginleşen 1370-1390 cm^{-1} arasındaki titreşimler metil grubunun salınımından dolayıdır (Cerit, 2025). 1250-1000 cm^{-1} aralığı (C-O ve C-O-C gerilme titreşimleri) incelendiğinde AÇM spektrumunda pik artışı görülmüştür. Bu artış yeni metil ester bağlarının oluştuğuna işaret edebilir (Agatonovic-Kustrin ve ark., 2021). AÇMH örneğinde de pik artışı mevcut ancak absorpsiyon derinliği açısından daha zayıftır. 900-600 cm^{-1} titreşimleri aromatik C-H bükülme titreşimlerinden kaynaklıdır (Batista ve ark., 2016) ve örnekler arasındaki farklılıklar düşünüldüğünde fenolik bileşiklerin farklı yönlerinden modifikasyona uğradığı sonucu çıkarılabilir.

Ham PK ekstraktı ve uygulanan üç modifikasyon sonrası elde edilen ekstraktların ayırıştırılmış FTIR spektrumları Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil. 4.9. PK ham ve modifiye ekstraktların FTIR spekturumları

PK ekstraktına ait spektrumda 3369 cm^{-1} 'de OH gerilmesine bağlı güçlü bir absorpsiyon bandı görülmektedir (Devi ve ark., 2018). OH bandıyla birleşmiş şekilde 2928 cm^{-1} 'de görülen tepe piki aromatik C-H gerilmesini göstermektedir (Liang ve McDonald, 2014). 1720 cm^{-1} 'deki küçük pik karbonil gruplarındaki C=O gerilme titreşimlerini (karbonil ya da karboksil grubu) temsil eder. $1600\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ arasında oluşan pik aromatik halkadaki C=C gerilimini temsil etmektedir (Stavrinou ve ark., 2018). $1635\text{-}1447\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik halka ve aril OH varlığını göstermektedir (Sing ve Saldaña, 2011). 1141 piki C-O gerilim titreşimine atfedilir (Devi ve ark., 2018). $977\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki zayıf emilim bantları fenolik bileşiklerdeki di- ve tri- ikamesine karşılık gelmektedir (Benitez ve ark., 2004).

PKM örneğinin spektrumunda OH bandı (3417 cm^{-1}) hem genişlik hem de yoğunluk bakımından azalmıştır. Polaritenin azalması ve metil gruplarının yapıya ilavesiyle metil ve metilen gerilmelerine işaret eden (2930 ve 2880 cm^{-1}) pikleri görülmektedir. $2880\text{-}1651\text{ cm}^{-1}$ aralığında PK'de görülen pikler kaybolarak C=C gerilmesi 1651 cm^{-1} 'de kendini göstermiştir. $1651\text{-}1062\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığındaki pikler (C=C, C-O gerilmesi) PK örneğine göre artış göstermiştir.

PKMH spektrumuna bakıldığında, alifatik karbon zincirinin ilavesiyle OH bandının kaybolduğu ve oluşan hidrofobik kısmın, $2920\text{-}2853\text{ cm}^{-1}$ 'de yüksek emilim absorpsiyonu yaptığı görülmektedir (Al-Moussawi, 2024). 1708 cm^{-1} 'de C=O ve C=C gerilmesi birleşerek PK'nın diğer modifiye ekstraktlarına göre daha keskin bir pik oluşturmuştur. $1708\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ aralığında, diğer modifiye ekstraktlardan farklı olarak PKMH spektrumuna yeni pikler eklenmiş ve mevcut pikler kayarak derinliği değişmiştir.

PKD örneği ise küçük farklılıklarla PKM örneğine benzer bir FTIR spektrumu vermiştir. OH gerilim bandının derinliği PKM'den daha fazla olarak 3390 'de pik vermiştir. $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ ve $1650\text{-}660\text{ cm}^{-1}$ arasındaki emilim absorpsiyonları oldukça benzerdir.

FTIR spektrumları üç hammadde içinde incelendiğinde TFM miktarı sonuçlarında görülen $KPMH > PKMH > AÇMH$ sıralamasının sebebi (OH gerilme bandı) açıkça görülmektedir. Ayrıca logP değerlerinde PK'nın en yüksek hidrofilitateye sahip olmasının nedeni de anlaşılmaktadır. Ham ekstraktlar arasındaki bant genişlik ve yoğunluk farklılıkları fenolik bileşen dağılımındaki ve konsantrasyonundaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Stavrinou ve ark., 2018). Sonuç olarak modifikasyon uygulamalarının ekstraktın içerdiği fenolik bileşenlerin kimyasal yapısı ve konfigürasyonları üzerinde oldukça etkili olduğu yorumu çıkarılabilir.

4.6. Lipit Ortam Analizleri

KP, AÇ ve PK ekstraktları ve bu ekstraktların yeniden yapılandırılması sonucu elde edilen modifiye ekstraktlar, dört farklı lipit ortamına 5000 ppm oranında ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler bir hafta depolama sonunda analiz edilmiştir.

4.6.1. Peroksit değerlerine ait bulgular

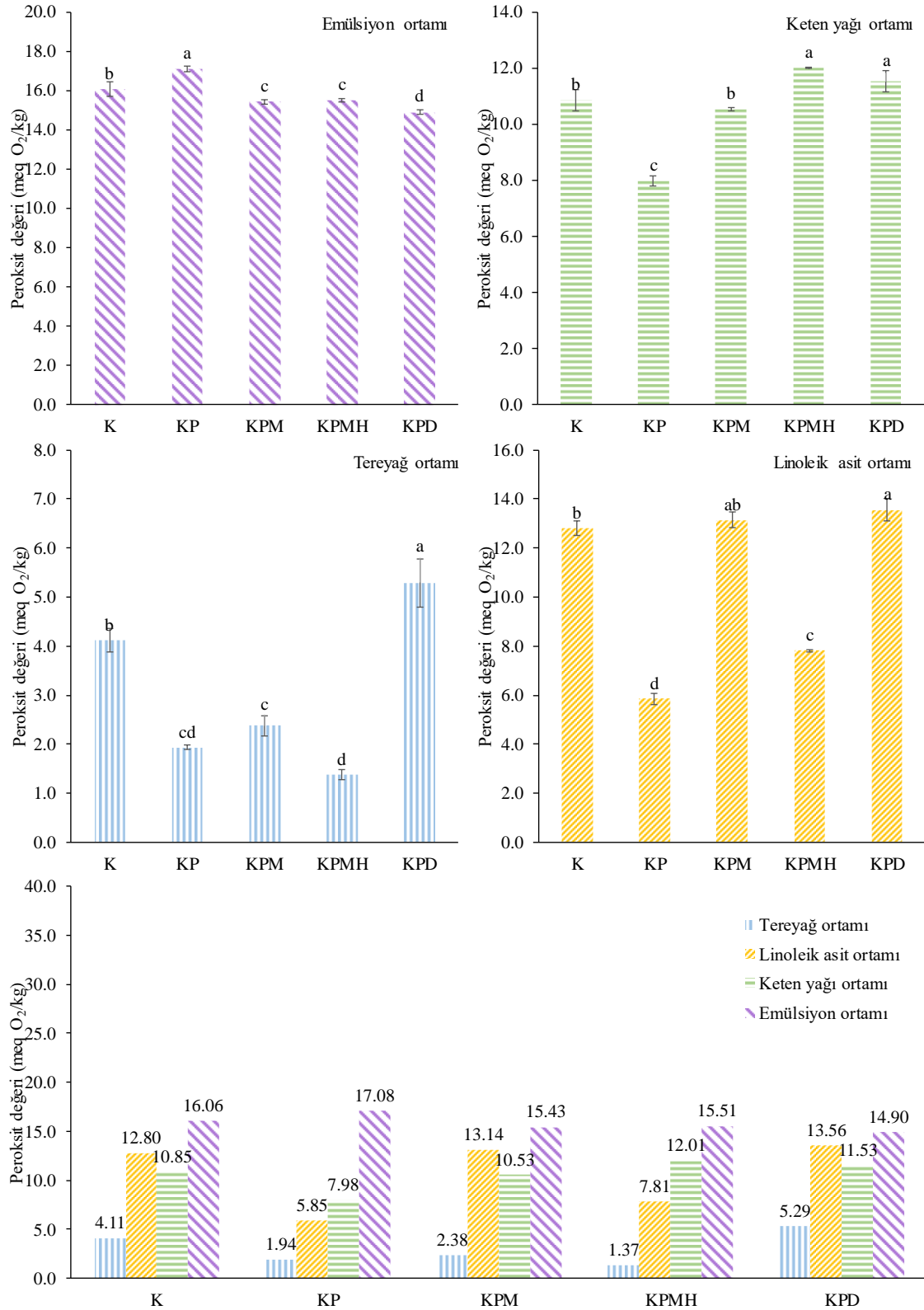
Peroksit değeri, lipit sistemlerinde özellikle yağ ve yağ içeren gıdaların oksidatif bozulma düzeyini gösteren önemli bir kalite parametresidir. Bu değer lipitlerde otooksidasyon sonucu oluşan hidroperoksitlerin miktarını aktif oksijen cinsinden ifade eder ve birincil oksidasyon ürünlerinin nicel bir göstergesidir. Düşük peroksit değerleri, yüksek oksidatif stabiliteyi ve dolayısıyla daha etkili bir antioksidan aktivite mekanizmasını ifade eder (Shahidi ve Zhong, 2005).

Ekstrakt ilaveli lipit ortamlarının peroksit değerleri 1,37-17,08 meq O₂/kg aralığında değişkenlik göstermiştir. Peroksit değerleri kontrol numuneleri bakımından kıyaslandığında en düşük değerler tereyağ ortamında (1,37-5,29 meq O₂/kg) görülürken en yüksek değerler emülsiyon ortamında (14,9-17,08 meq O₂/kg) bulunmuştur. Gıda emülsiyonları yığın yağ ve diğer lipit ortamlarına göre daha kolay okside olan lipit sistemlerdir (Merckx ve ark., 2021; Özdemir, 2022; Ghelichi ve ark., 2023). Emülsifiye gıdalarda, yağın yüzey alanının büyük bir kısmı çözülmüş oksijen içerebilen sulu bir faza temas etmekte ve karıştırma işlemiyle emülsiyonda hava kabarcıkları çıkarak ortamın oksidasyona duyarlılığı artmaktadır (Özdemir, 2022). Lipit sistemindeki doymamış yağ asiti oranı arttıkça oksidasyon hassasiyetinin arttığı bilinmektedir (Merckx ve ark., 2021). Bu nedenle büyük çoğunluğu doymuş yağ asitlerinden oluşan tereyağ gibi bir ortamın peroksit değeri düşük olmaktadır. Teklehaymanot ve ark. (2024) üç haftalık depolama sürecinde inceledikleri tereyağların peroksit değerlerinin 1,5 meq O₂/kg'dan 3,4 meq O₂/kg'a yükseldiğini bulmuştur.

Modifiye ekstraktlar peroksit değeri üzerinde önemli değişikliklere sebep olmuştur (p<0,05). Ayrıca lipit ortamları ayrı olarak ele alındığında modifiye ekstraktların etkisinin değiştiği görülmektedir. Bu da antioksidan bileşiklerin farklı ortamlarda etkilerinin farklı olduğunu ortaya koymaktadır (Pokorný, 2007; Decker ve ark., 2017).

KP ekstraktlarına ait bulgular

KP, KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarının lipit ortamlarındaki peroksit değerlerine ait bulgular Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının peroksit değeri sonuçları (meq O₂/kg)

Emülsiyon ortamına ait sonuçlar incelendiğinde KPD ilaveli örneğin (14,9 meq O₂/kg) en düşük peroksit değerine sahip olduğu görülmektedir. KPM ve KPMH ekstraktları peroksit değerini kontrole göre aynı oranda azaltmış ve sırasıyla 15,43-15,51 meq O₂/kg'dır. Ham ekstrakt ilaveli emülsiyon örneği ise kontrolden daha yüksek peroksit değerine (17,08 meq O₂/kg) sahiptir. Yağ/su emülsiyonlarında yağ oranı azaldıkça oksidasyonun arttığı bilinmektedir (Osborn ve Akoh, 2004). Khalid ve ark. (2017) aspir yağının farklı çeşitlerinin fizikokimyasal özelliklerini inceledikleri çalışmada peroksit değerlerini 3,78-4,10 meq O₂/kg arasında bulmuştur. Ancak aspir gibi yüksek oranda doymamış yağ asiti içeren yağların gıda emülsiyonlarında kullanımı lipit oksidasyonu nedeniyle istenmeyen tatların, toksik reaksiyon ürünlerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Bunun önüne geçmenin veya geciktirmenin en etkili yollarından biri de antioksidanların dahil edilmesidir (Zhao ve ark., 2018). Emülsiyon ortamı için KP ekstraktları arasında dekarboksile ekstraktın en düşük peroksit değerini sağladığı görülmüştür.

Soğuk pres keten tohumu yağının oksidatif stabilitesi üzerine çalışılan bir araştırmada peroksit değerleri 1,56-2,34 meq O₂/kg olarak bulunmuştur (Symoniuk ve ark., 2016). Benzer değerler farklı araştırmacıların sonuçlarında da bulunmuştur (Kasote ve ark., 2013; Özkılıç ve Arslan, 2022). Ticari olarak satılan soğuk pres keten yağlarının peroksit değeri ışık, depolama koşulları, yağın pres aşamasında maruz kaldığı ortam koşulları gibi faktörlerden etkilenerek artabilir (Choo ve ark., 2007).

Keten tohumu yağı ortamında peroksit değerleri 7,98-12,01 meq O₂/kg aralığında değişmektedir. Ham ekstrakt ilaveli keten tohumu yağı 7,98 meq O₂/kg ile en düşük peroksit değerini vermiştir. Modifiye ekstraktların katıldığı örnekler ise kontrol ile benzer veya daha yüksek peroksit değerine sahiptir. AÇ ve PK ekstraktlarında da aynı etki görülmüştür. Üç hammaddenin de işlemsiz ekstraktları keten tohumu yağının oksidasyonunu geciktirmede daha olumlu sonuçlar vermiştir. Ham ekstraktların yüksek TFM miktarı bunların ilave edildiği yağların düşük peroksit değerleriyle ilişkilendirilebilir. KPM ilavesi 10,53 meq O₂/kg değeriyle kontrole benzer bir sonuç vermiştir. KPMH (12,01 meq O₂/kg) ve KPD (11,53 meq O₂/kg) ilaveleri ise keten tohumu yağı oksidasyonunu geciktirmede başarılı olmamıştır.

Tereyağ ortamında bulunan en düşük ve en yüksek peroksit değerleri sırasıyla 1,37-5,29 meq O₂/kg'dır. Ekstrakt ilavesi yapılmayan kontrol örneği peroksit değeri, 4,11 meq O₂/kg'dır. Teklehaymanot ve ark. (2024) tereyağına PK ekstraktı ilave etmiş ve farklı sıcaklıklarda depolama ile peroksit değerlerindeki değişimi incelemiştir.

Çalışmalarında kontrol örneğinin peroksit değerini 1,5 meq O₂/kg bulmuşlardır. İnek ve koyun tereyağlarının lipit peroksidasyonlarının incelendiği bir çalışmada inek tereyağlarının peroksit değerleri 0,6-1,7 meq O₂/kg aralığında değişirken koyun tereyağlarına ait değerler 0,42-1,2 meq O₂/kg arasındadır (Akbarieh ve ark., 2022). Çalışmamızda kullandığımız tereyağının peroksit değeri literatüre göre daha yüksek bulunmuştur. Buna, tereyağının üretim ve depolama aşamalarının neden olduğu düşünülmektedir.

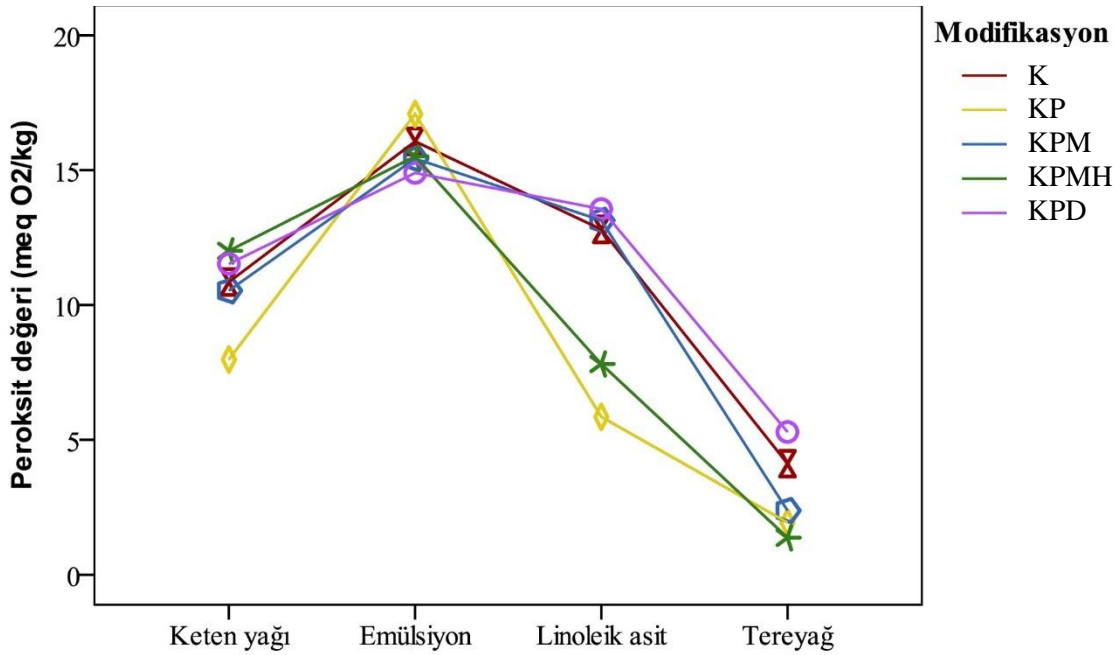
KPMH ilave edilen tereyağı örneği 1,37 meq O₂/kg ile en düşük peroksit değerini vermiştir. KP ilavesi de (1,94 meq O₂/kg) KPMH ilavesine benzer şekilde peroksit değerinin yükselmesini önlemiştir. KPM, peroksit değerinde (2,38 meq O₂/kg) kontrole göre önemli seviyede azalma sağlamıştır (p<0,05). KPD ilavesi ise tereyağının peroksidasyonunu artırıcı etki göstererek peroksit değerinin 5,29 meq O₂/kg'a yükselmesine sebep olmuştur. Ayrıca bu ekstraktların sadece antioksidan bileşikler değil, bazı hızlandırılmış oksitleyici etki gösterebilen diğer bileşenleri de içerdiğinden bahsedilerek peroksit değerinin kontrolden daha yüksek çıkması açıklanmıştır. Çalışmamızda KPD ilavesiyle görülen etki de bu şekilde açıklanabilir (Liu ve ark., 2025). Tereyağ ortamındaki peroksit değerleri özetlenecek olursa, MH uygulanmış ekstraktlar (KPMH, AÇMH ve PKMH) birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu önemli derecede geciktirici etki göstermiştir (p<0,05). Bu ekstraktların lipofilitesinin diğer ekstrakt örneklerinden daha yüksek olması tereyağ ortamında çözünürlüğünü artırarak etkinliğini yükseltmiş olabilir. Liu ve ark. (2025) çeşitli ekstraktlar ilave ettikleri *Idesia polycarpa* Maxim. yağının oksidasyonunu inceledikleri çalışmalarında bazı örneklerin peroksit değerlerinin kontrolden daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu sonucu veren ekstraktların yağ içinde tamamen çözünmemiş olmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Suda çözünen aktif bileşenlerin, lipitlerde antioksidan amacıyla kullanılacaksa, çözünür hale getirilmeleri için modifiye edilmeleri gerektiğini söylemişlerdir.

Doymamış yağ asitleri bir ya da daha fazla çift bağ içeren uzun karbon zincirleridir. En bilinen doymamış yağ asitleri 18 karbon içeren oleik, linoleik ve linolenik asittir. Yağ oksidasyonu, oksijen, ısı, ışık, metal iyon konsantrasyonu gibi oksidasyonu etkileyen faktörlere bağlı olarak dörde ayrılmaktadır; bunlar otoksidasyon, termoksidasyon, fotooksidasyon ve enzimatik oksidasyondur. Otoksidasyonun başlangıç aşamasında, doymamış yağ asitlerinden hidrojen koparılmasıyla alkil radikalleri meydana gelir. Bu radikallerin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu zincir reaksiyonu başlar

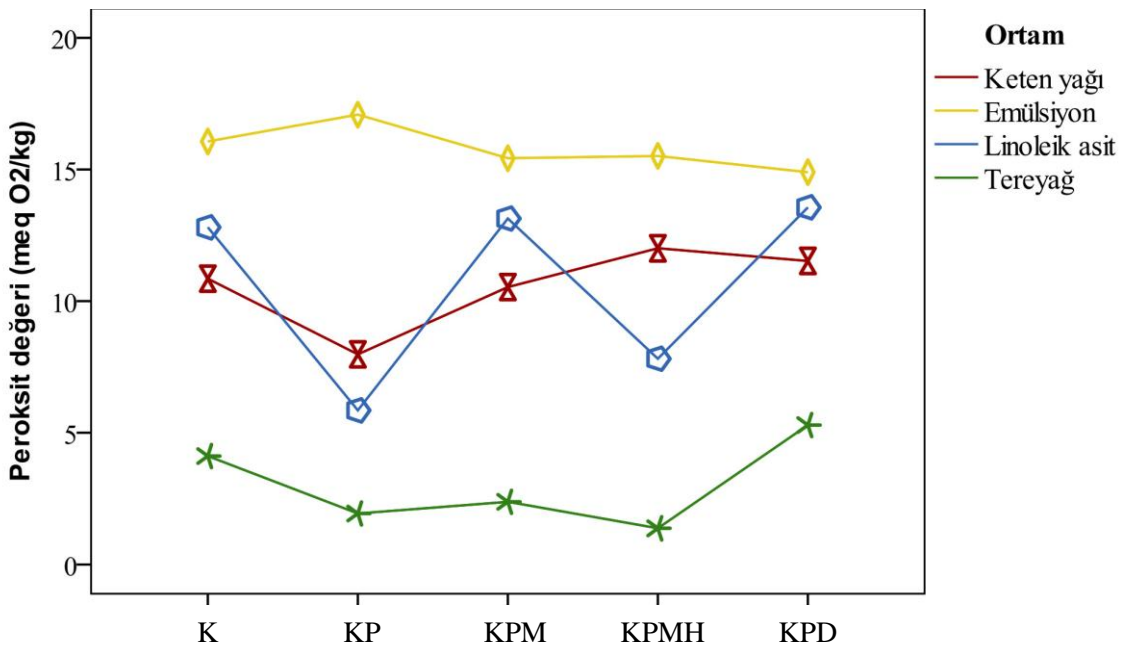
(Chabni ve ark., 2024). Aspir yağı %70 oranında linoleik asit içeriğine sahip olan oksidasyona duyarlı bir yağdır. Linoleik asitçe zengin bir başka yağ olan üzüm çekirdeği yağının peroksit değeri 2,6 meq O₂/kg olarak bulunmuştur (Maszewska ve ark., 2018). Bir başka çalışmada aspir yağı peroksit değeri 3,78-4,10 meq O₂/kg aralığındadır (Khalid ve ark., 2017). Çalışmamızda aspir yağından elde edilen linoleik asit ortamının peroksit değeri ise 12,80 meq O₂/kg'dır. Linoleik asitin aspir yağından elde edilmesi sırasında yapılan işlemler literatüre göre daha yüksek bir peroksit değerinin alınmasına sebep olmuştur. İnteresterifiye yağlarda linoleik ve linolenik asit oranlarının oksidasyon stabilitesine etkisi araştırılmış ve linoleik asitin 60 °C üzeri sıcaklıklarda linolenik asit kadar reaktif olduğu bulunmuştur. Yine aynı çalışmada linoleik asit ve linolenik asit oranının artması, beklendiği gibi oksidatif stabiliteyi oldukça düşürmüştür (Suzuki-Iwashima ve ark., 2024).

Çalışmamızda linoleik asit ortamına KP, KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarının ilave edilmesi sonucu peroksit değerleri sırasıyla 5,85 – 13,14 – 7,81 – 13,56 meq O₂/kg olmuştur. Hidroperoksitlerin oluşumunu önleyici etkisi en yüksek olan ekstrakt KP'dir. KPMH ekstraktı da linoleik asit ortamını önemli derecede oksidasyondan korumuştur (p<0,05). KPM ve KPD ekstraktlarının ilavesi ise kontrolden daha yüksek peroksit değeriyle sonuçlanmıştır. Dolayısıyla bu ekstraktların prooksidan etki gösterdiği düşünülebilir (Liu ve ark., 2025). Özellikle KPD ekstraktının emülsiyon hariç üç lipit ortamında (keten tohumu yağı, tereyağ ve linoleik asit) kontrolden önemli seviyede daha yüksek peroksit değeri verdiği bulunmuştur. Emülsiyon ortamında ise KPD ilavesi, diğer ortamların aksine en düşük peroksit değerini vermiştir. Bu sonuç, antioksidan etkisi görülen ekstraktların/bileşiklerin emülsiyon ortamındaki davranışlarının tamamen farklı olabileceğini göstermektedir (Kiokias ve Oreopoulou, 2022; Losada-Barreiro ve ark., 2024). Lipofilik hale gelen KPD ekstraktının, yağ fazında kolay ilerlemesi ve oksidasyonun meydana geldiği arayüz bölgesinde koruyucu etki göstermesi sayesinde peroksit değeri üzerinde etkili olduğu düşünülebilir (Zheng ve ark., 2020).

KP ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu Şekil 4.11'de ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. KP ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu



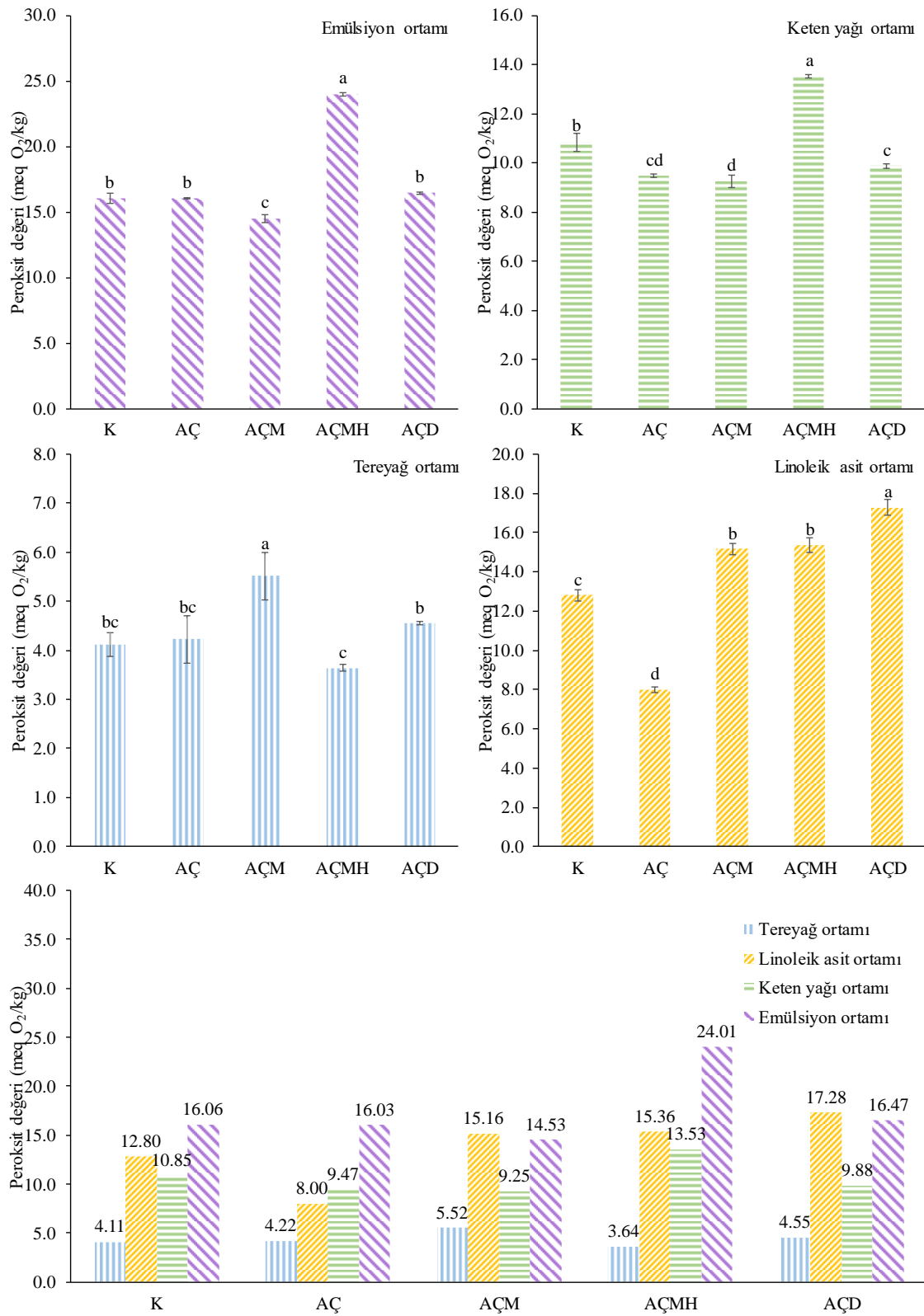
Şekil 4.12. KP ekstraktlarının peroksit değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

İnteraksiyon grafikleri incelendiğinde en yüksek peroksit değeri emülsiyon ortamlarında görülürken tereyağ ortamında değerler oldukça düşüktür. Bu durum emülsiyon ortamlarının oksidatif degradasyona daha yatkın olduğunu (Hennebelle ve ark., 2024), tereyağının ise daha oksidasyon açısından daha stabil olduğunu göstermektedir (Losada-Barreiro ve ark., 2024). Modifikasyon yöntemlerinin etkisi lipit

ortamına göre farklılık göstermiştir. Emülsiyon ortamında bütün modifikasyonlar peroksit değerini düşürmüştür. Keten tohumu yağı ortamında modifikasyon uygulanmış ekstraktların etkisi negatif olurken ham ekstrakt, peroksit değerinde etkili bir azalma sağlamıştır. Linoleik asit ortamında, KP ve KPMH kullanımı peroksit değerinde kontrole göre önemli düşüş sağlamıştır. Tereyağı ortamında KPD ekstraktı dışındaki örneklerin peroksit değeri kontrole göre daha düşüktür. KPD ekstraktı emülsiyon dışındaki lipit ortamlarında peroksit değerini kontrole göre yükseltmiştir.

AÇ ekstraktlarına ait bulgular

AÇ, AÇM, AÇMH ve AÇD ekstraktlarının lipit ortamlarındaki peroksit değerlerine ait bulgular Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının peroksit değeri sonuçları (meq O₂/kg)

AÇ ekstraktları ilave edilmiş emülsiyon örneklerinin peroksit değerleri AÇ, AÇM, AÇMH ve AÇD sırasıyla 16,03 – 14,53 – 24,01 – 16,47 meq O₂/kg'dır. AÇ ve AÇD ekstraktlarının ilavesi kontrole benzer peroksit değeri verirken AÇM ekstraktı

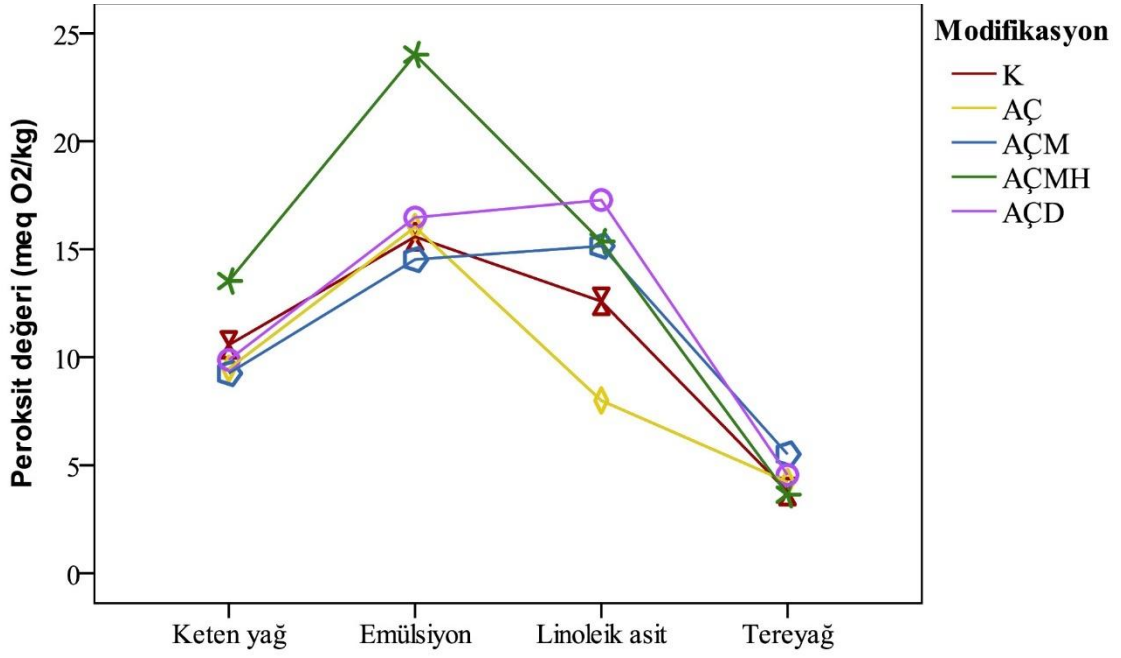
emülsiyon ortamında oksidasyonu önleyici etki göstermiştir. AÇMH ekstraktının emülsiyon ortamına eklenmesi peroksit değerini olumsuz yönde etkileyerek oldukça artırmıştır. AÇ'nin içerdiği fenolik bileşiklerin dekanoylchlorit ile hibridizasyonu, ekstraktın emülsiyon içindeki antioksidan davranışını değiştirmiştir. Benzer durum KPMH ekstraktlarının keten tohumu yağı ortamındaki davranışlarında da görülmüştür.

Keten tohumu yağı ortamında AÇ ekstraktlarının peroksit değerini azaltıcı etkileri sırasıyla AÇM (9,25 meq O₂/kg) > AÇ (9,47 meq O₂/kg) > AÇD (9,88 meq O₂/kg)'dir. Moleküler hibridize olanlar hariç diğer modifiye ekstraktlar keten tohumu yağında antioksidan aktivite göstermiştir. Peroksidasyonu baskılayan en etkili ekstrakt AÇM'dir. Yapıdaki metoksil gruplarının antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde artırdığı Chen ve ark. (2020) çalışmasında açıkça ortaya konmaktadır.

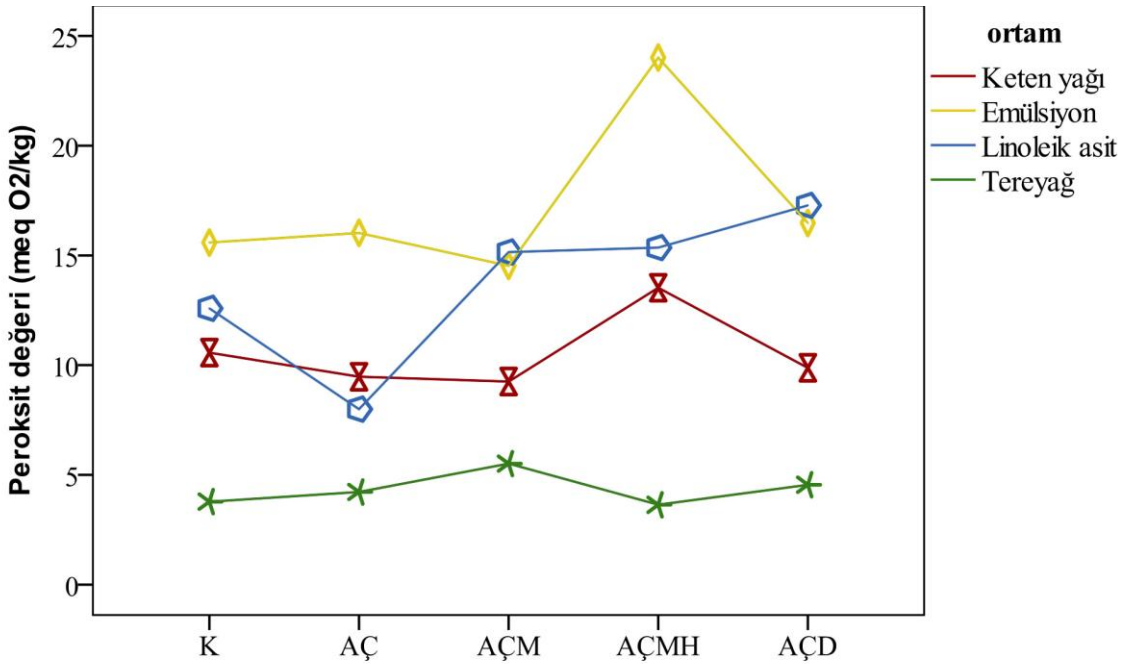
AÇ ekstraktlarıyla hazırlanan tereyağ ortamlarından alınan en düşük peroksit değeri 3,61 meq O₂/kg olup diğer tereyağ ortamlarında olduğu gibi MH uygulanan ekstrakt ile sağlanmıştır. Kontrol, AÇ ve AÇD örneklerine ait değerler arası farklar istatistiki açıdan önemsizken (p>0,05), AÇM ekstraktı (5,52 meq O₂/kg) peroksit değerinin kontrole göre yükselmesine neden olmuştur. Bu sonuç metilasyon işleminin, ekstraktın fenolik bileşen içeriğine ve lipit ortamlarına göre değişen etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2020). Ayrıca fenolik bileşiklerin metillenmiş türevleri kimyasal olarak daha düşük antioksidan aktivite gösterse de *in vivo* çalışmalarda metillenmiş bileşiklerin daha iyi sonuçlar verdiği bulunmuştur (Deng ve ark., 2006).

Linoleik asit ortamının kontrol peroksit değeri 12,80 meq O₂/kg'dır. AÇ işlemsiz ekstraktı oksidasyonu önleyici etki göstererek peroksit değerinin (8,00 meq O₂/kg) artışını engellemiştir. AÇM ve AÇMH ekstraktları ilave edilen örneklerde benzer ve kontrolden yüksek peroksit değerleri bulunurken AÇD ilavesi peroksit değerinin artışını önleyememiştir (17,28 meq O₂/kg). AÇD ekstraktının içerdiği fenolik bileşik birleşiminin antagonist bir etki oluşturduğu düşünülebilir (Peyrat-Maillard ve ark., 2003). Ayrıca dekarboksilasyon sırasında ulaşılan yüksek sıcaklık sonucu oluşan yapıların prooksidan etkisi görülmüş olabilir (Liu ve ark., 2025). Ham ekstraktlar (KP, AÇ ve PK) linoleik asit ortamında kontrole kıyasla oldukça düşük peroksit değeri sağlamıştır. Ancak modifikasyonlu ekstraktların etkileri kaynağına göre değişkenlik göstermiştir.

AÇ ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksyonu Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. AÇ ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipid ortamı etkisi



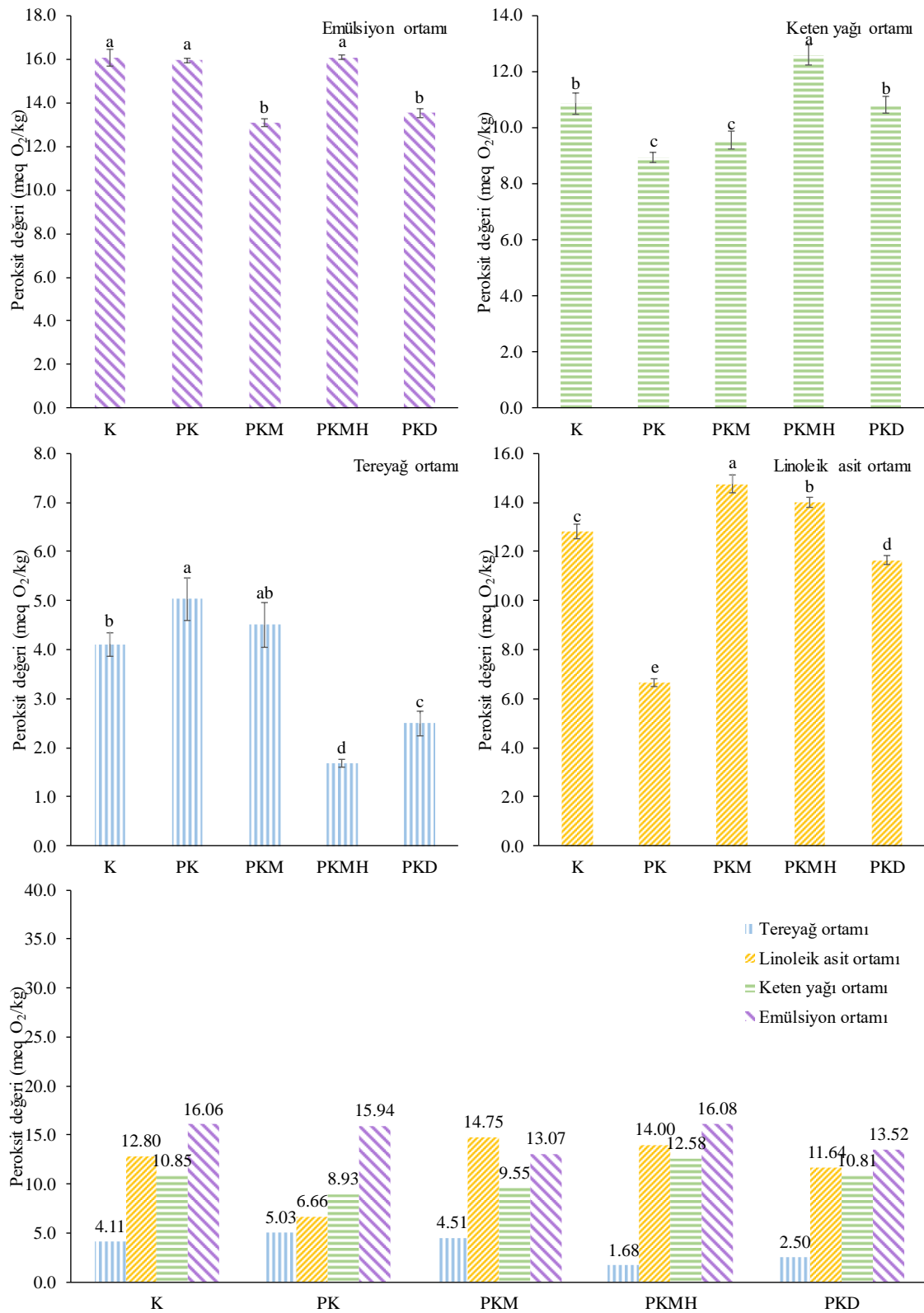
Şekil 4.15. AÇ ekstraktlarının peroksit değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi etkisi

AÇ ekstraktları ilave edilen örneklerde de emülsiyon ortamları en yüksek oksidatif bozulmayı göstermiştir. Özellikle AÇMH yaklaşık 24 meq O₂/kg değerine ulaşmıştır. Bu sonuç, en fazla lipofilik karakter kazanan antioksidanların emülsiyon sistemlerinde arayüze erişiminin azaldığını ve bu nedenle etkisiz kalabileceğini göstermektedir (Laguerre ve ark., 2015). Keten tohumu yağı ortamlarının peroksit

değerleri emülsiyon ve linoleik asit ortamına göre daha düşük kalmıştır. Doymamış yağ asitleri özellikle linoleik asit oksidasyona açıktır ancak antioksidanların kullanımıyla stabilize edilebilirler (Choe ve Min, 2009). AÇM ekstraktı ilavesiyle keten tohumu yağı peroksit değeri kontrole göre düşmüştür. Linoleik asit ortamında AÇ ekstraktı peroksit değerini oldukça düşürürken modifikasyon uygulanmış ekstraktlar kontrolden daha zayıf bir oksidatif stabiliteye neden olmuştur. Özellikle dekarboksilasyon yöntemi fenolik bileşiklerdeki serbest hidroksil gruplarını azaltarak radikal giderme kabiliyetini sınırlandırabilir (Zhong ve Shahidi, 2010).

PK ekstraktlarına ait bulgular

PK, PKM, PKMH ve PKD ekstraktlarının lipit ortamlarındaki peroksit değerlerine ait bulgular Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının peroksidit değeri sonuçları (meq O₂/kg)

PK'den elde edilen ekstraktlar lipit ortamlarına eklendiğinde en düşük ve en yüksek peroksidit değerleri 1,68-16,08 meq O₂/kg'dır. PK, PKM, PKMH ve PKD ekstraktlarının emülsiyon ortamındaki etkileri kıyaslandığında PKM ve PKD ekstraktları

aynı oranda peroksit değerini düşürmüştür (sırasıyla 13,07 – 13,52 meq O₂/kg) (Koduvayur Habeebullah ve ark., 2010). PK ve PKMH ekstraktları ise kontrol ile benzer değerler vermiştir (p<0,05).

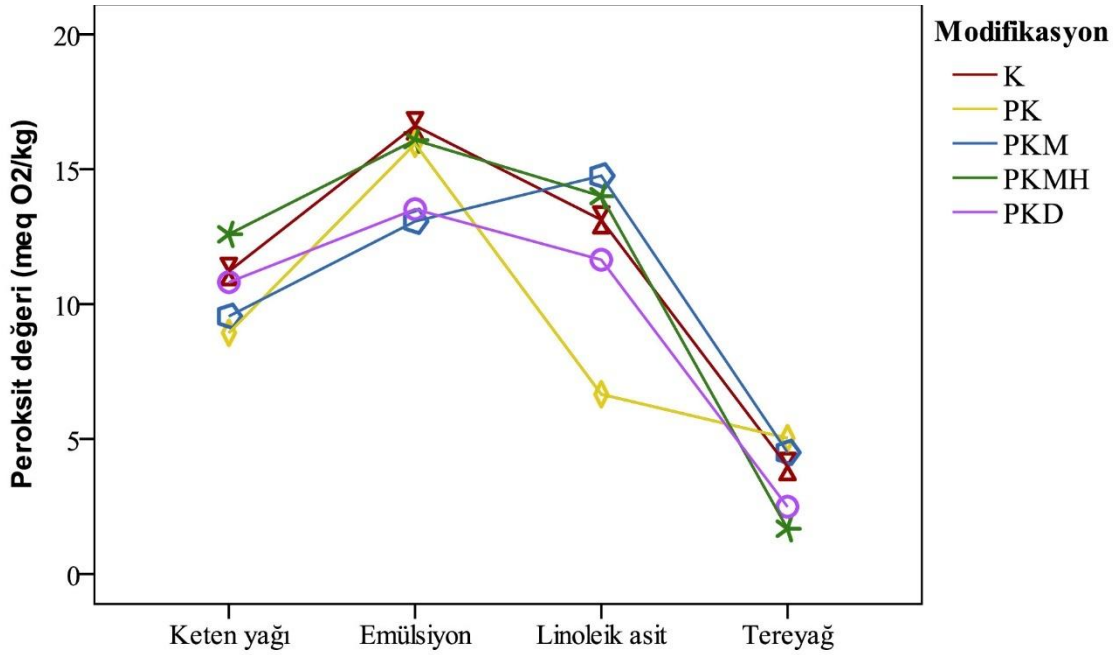
Keten tohumu yağı ortamında PK ham ekstraktı peroksit değeri artışını yavaşlatmıştır (kontrol 10,85 meq O₂/kg iken, 8,93 meq O₂/kg). Yalçın ve ark. (2011)'da ayçiçek yağıyla yaptıkları çalışmalarında PK ekstraktının lipit oksidasyonunu önlediğini bulmuşlardır. PKM ekstrakt ilavesi de aynı oranda düşüş sağlamış ve PK ile farkları istatistiki açıdan önemsizdir (p>0,05). Saeed ve ark. (2024) Ayçiçek yağına PK ekstraktı ilave ederek doğal antioksidan olarak kullanımını araştırmış ve peroksit değerini çalışmamızdaki sonuca benzer olarak 8,40 meq O₂/kg yağ bulmuşlardır. PKD ilavesi kontrole benzer olarak 10,81 meq O₂/kg bulunmuştur. PKMH ekstraktı ise antagonist bir etkiyle peroksit değerinin önemli düzeyde yükselmesine neden olmuştur (12,58 meq O₂/kg).

Tereyağ ortamında PK ilavesi peroksit değerini 5,03 meq O₂/kg'a yükseltmiştir. PKM ekstraktı kontrol ile yakın peroksit değeri verirken, PKMH ve PKD ekstraktları peroksit değerini kontrole göre oldukça azaltmıştır (Mahmoud ve ark., 2021). PKMH ekstraktı ilave edilen tereyağ örneğinin peroksit değeri 1,68 meq O₂/kg olarak en düşük değeri vermiştir (Teklehaymanot ve ark., 2024).

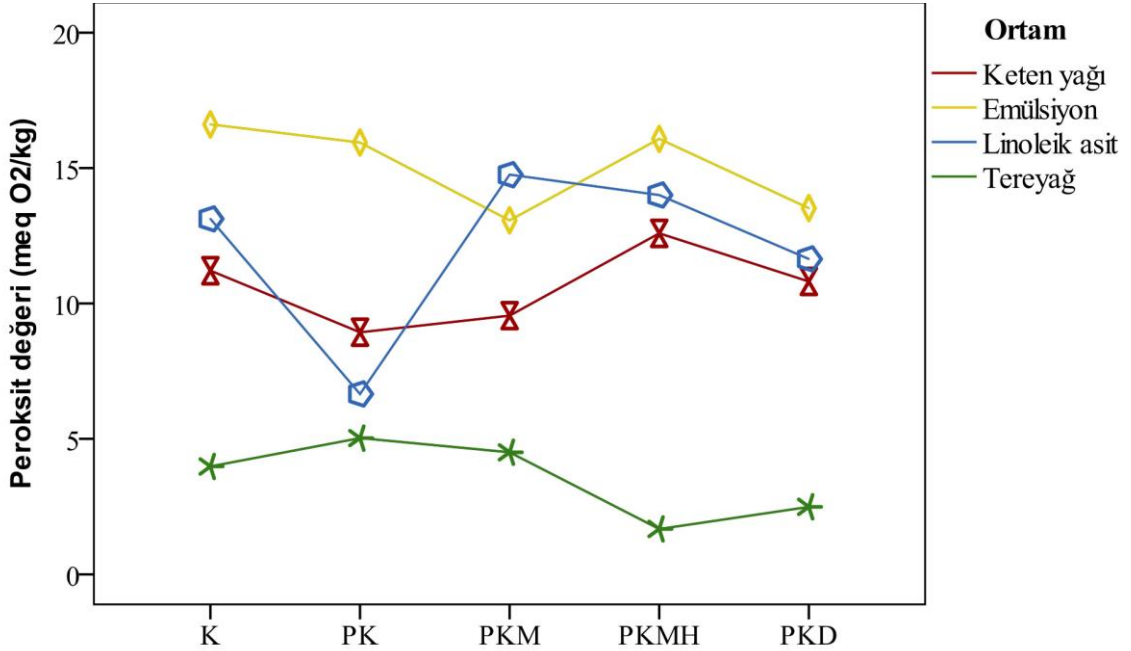
Linoleik asit ortamında PK ekstraktı en düşük peroksit değerini sağlayarak 6,66 meq O₂/kg olmuştur (Samotyja, 2019). PKM ve PKMH peroksit değerini kontrole göre yükseltirken PKD lipit oksidasyonunu az da olsa önleyici etki göstererek değeri 11,64 meq O₂/kg'a düşürmüştür. Linoleik asit oranı yüksek olan yağlardan biri olan soya yağının oksidatif stabilitesi üzerinde yapılan bir çalışmada PK ekstraktının antioksidan etkisi açıkça görülmüştür (Franco ve ark., 2016).

Peroksit değerinin azalmasını sağlayan ekstraktların yapısal modifikasyonlar sonucunda lipofilitesinin artması ve böylece lipit ortamındaki serbest radikaller üzerinde daha etkili olduğu söylenebilir (Makris ve ark., 2007). Ancak dikkat çekici olarak bazı modifiye ekstraktların ilave edildiği ortamların peroksit değeri kontrole göre daha yüksek çıkmıştır. Bu durum modifikasyon sonrası bazı fenolik bileşiklerin yapısal bütünlüklerini kaybetmeleri veya prooksidan özellik göstermeye başlamaları ile açıklanabilir (Chaiyasit ve ark., 2007). Yüksek konsantrasyonlardaki bazı fenolik bileşiklerin, ortamdaki metal iyonları ile etkileşime girmesi oksidatif reaksiyonları katalize edebilir (Yanishlieva ve ark., 2006).

PK ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksyonu Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. PK ekstraktlarının peroksit değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksyonu



Şekil 4.18. PK ekstraktlarının peroksit değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

İnteraksiyon grafikleri incelendiğinde diğer hammaddelerde olduğu gibi emülsiyon sistemi en yüksek peroksit değerlerini veren lipit ortamıdır. PK ekstraktının modifikasyonlara verdiği tepki, KP ve AÇ ekstraktlarına göre daha dengeli olmuştur.

PKM ve PKD ekstraktları emülsiyon ortamının peroksit değerini kontrole göre düşürmesiyle öne çıkmaktadır. Keten tohumu yağında PK ve PKM ekstraktları oksidasyonu geciktirmede etkili olmuştur. Linoleik asit ortamında PK, peroksit değerindeki en belirgin azalmayı sağlarken PKD ilavesinde de kontrole göre azalma olmuştur. Tereyağ ortamında PKMH en düşük değeri (~2 meq O₂/kg) vermiştir. Bunun nedeni doymuş yağ fazlarında lipofilik antioksidanların daha iyi çözünmesiyle serbest radikal reaksiyonlarının baskılanabilmesidir (Choe ve Min, 2009).

Peroksit değeri sonuçları göz önüne alındığında modifikasyon yöntemleri, farklı lipit ortamlarında farklı etkilere sahip olmuştur. Metilasyon yöntemi emülsiyon ortamında oksidasyonu geciktirirken, moleküler hibridizasyon yöntemi tereyağında etkili olmuştur. Keten tohumu yağında ve linoleik asit ortamında ise genel olarak ham ekstraktların kullanımı peroksit değerinin ilerlemesine karşı daha etkili bulunmuştur.

4.6.2. Lipit ortamlarının Ransimat cihazında belirlenen indüksiyon süreleri

Ransimat analizi, bir yağın ya da lipit ortamının oksidatif stabilitesi belirlemek için kullanılan hızlandırılmış bir oksidasyon testidir. Genel olarak gıda katkı maddelerinin kullanıldığı ve antioksidan aktivitenin değerlendirildiği çalışmalarda kullanılmaktadır. Analiz edilen örneğin belirli bir sıcaklıkta ve hava akışı altında oksidatif bozunmaya direnç gösterdiği süre hesaplanarak indüksiyon süresi (saat) olarak ifade edilir. Bu süre, yağın oksidasyonu sırasında oluşan uçucu bileşiklerin ani artış gösterdiği noktayı belirtmektedir. Uzun indüksiyon süresi örneğin daha stabil ve oksidasyona karşı dirençli olduğunu gösterirken kısa indüksiyon süresi oksidasyona karşı hassasiyetin olduğunu gösterir (Chabni ve ark., 2024).

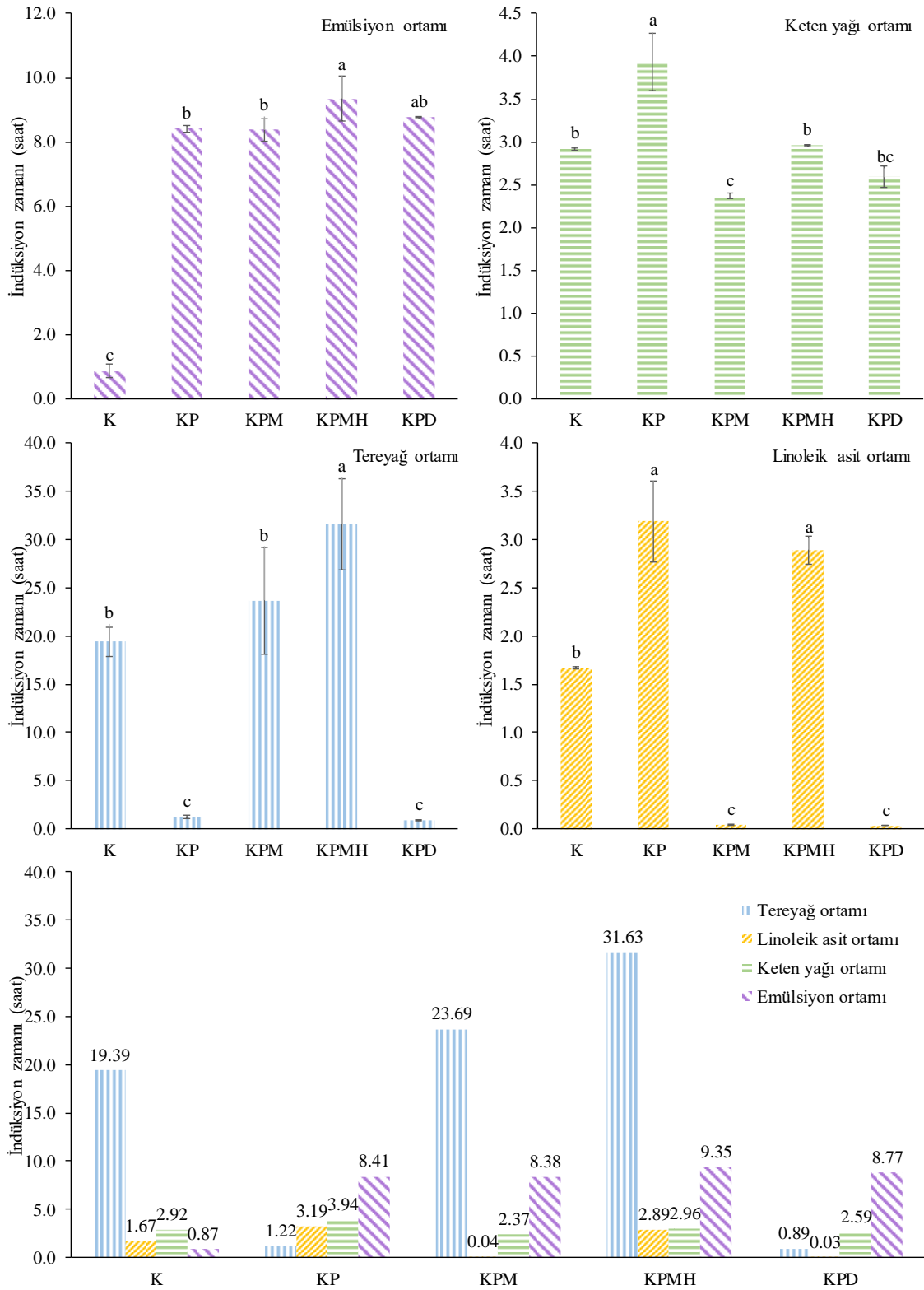
Yağ/su emülsiyonlarının oksidatif kararlılığının belirlenmesi, emülsiyonun formülasyonuna, türüne ve yapısına bağlı olarak karmaşıklık gösterebilir (O'Dwyer ve ark., 2013).

Çalışmamızda kontrol numuneleri indüksiyon süreleri incelendiğinde emülsiyon örneği 0,87 sa ile en düşük, tereyağ örneği ise 19,39 sa ile en yüksek değere sahiptir. Yağların su içinde emülsiyon halinde bulunması, oksidatif duyarlılığı artırabilir (Raikos ve ark., 2014). Kontrol numunelerine ait oksidatif stabilite indeksleri (OSI) kıyaslandığında düşükten yükseğe sıralama emülsiyon (0,87 sa) < linoleik asit (1,67 sa) < keten tohumu yağı (2,92 sa) < tereyağ (19,39 sa) şeklindedir. Bu sonuç peroksit değeri analiz sonuçlarını doğrular niteliktedir.

Emülsifiye ortamlara antioksidanların ilave edilmesi oksidatif stabiliteyi iyileştirmek için çok etkili bir yöntemdir (Gutteridge ve Halliwell, 2010). Shahidi ve Zhong (2011)'a göre bu antioksidanlar, lipit oksidasyonunu hızlandıran moleküllerin lipit fazına girişini bloke eden ve arayüz bölgesinde koruyucu bir bariyer oluşturan serbest radikal temizleyiciler olarak hareket eder. Emülsiyon ortamı için uygun olan antioksidanı seçmek zordur (Raikos ve ark., 2014). Çünkü antioksidan polar paradoksuna göre polar olmayan antioksidanlar emülsiyonlarda oksidasyonu önlemede daha etkili olurken polar antioksidanlar dökme yağlarda etkindir. Bu durum apolar antioksidanların serbest radikallerin etkisinin başladığı damlacık yüzeyinde, polar antioksidanların da sulu fazda daha yüksek konsantrasyonda birikme eğilimiyle açıklanmaktadır (Laguerre ve ark., 2010; Sørensen ve ark., 2011).

KP ekstraktlarına ait bulgular

KP ekstraktları (KP, KPM, KPMH ve KPD) ilave edilmiş lipit ortamlarının ransimat analizi sonuçları Şekil 4.19'da verilmiştir.



Şekil 4.19. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının ransimat analizi sonuçları

Emülsiyon ortamına ilave edilen tüm ekstraktlar OSI süresini ciddi düzeyde artırmıştır. Raikos ve ark. (2014) tarafından %20 oranında kanola yağı içeren emülsiyonunun oksidatif stabilitesi 100 °C'de incelenmiştir. Emülsiyona çeşitli bitki

kaynaklarından elde edilen tozlar eklendiğinde OSI sürelerinde kontrole göre belirgin artış olmuştur. Çalışmamızda emülsiyon ortamına eklenen KP ekstraktlarına ait sonuçlar incelendiğinde en yüksek OSI süresinin KPMH ekstraktı ile (9,35 sa) sağlandığı görülmüştür. Bu sonuç yukarıda bahsi geçen kutup paradoksunu destekler niteliktedir çünkü KPMH ekstraktı KP ekstraktları arasında apolar özelliği en yüksek ekstrakttır. KPD ekstraktı 8,77 sa ile KPMH'ye benzer OSI süresi verirken KP ve KPM ekstraktlarının etkisi nispeten daha azdır. Ancak KP ve KPM ekstraktları da birbirine benzer ve anlamlı seviyede OSI süresini artırmıştır (sırasıyla 8,41-8,38 sa) ($p < 0,05$).

Keten tohumu yağı, yüksek alfa-linolenik asit (ω -3) içeriği sebebiyle oksidasyona karşı oldukça hassastır (Muhović ve ark., 2025; Özkılıç ve Arslan, 2022; Mikołajczak ve Tańska, 2022). Keten tohumu yağı kontrol örneği OSI değeri 2,92 sa olarak bulunmuştur. Çalışmamızdaki sonuca benzer olarak Lu ve ark. (2020) antioksidan ilavesiz keten tohumu yağı kontrol örneğinin indüksiyon süresini 3,04 sa (100 °C'de) bulmuşlardır. Symoniuk ve ark. (2017)'da çalışmalarında keten tohumu yağının 100 °C'deki indüksiyon süresini 3,84-4,65 sa bulmuşlardır. Ekstrakt ilaveleri arasında yalnızca ham ekstrakt oksidatif stabiliteyi pozitif yönde etkilemiştir. KPMH ve KPD ekstraktları etkisiz kalırken KPM ekstraktı ilavesi OSI süresini azaltmıştır. Modifikasyon yapılan ekstraktlara kıyasla daha polar özellikte olan KP ekstraktının yüksek oksidatif stabilite sağlaması Laguerre ve ark. (2010) yaklaşımına göre beklenen bir durumdur. Ayrıca KP ilaveli örneğin peroksit değerinin diğer keten tohumu yağı örneklerinden daha düşük olması bu OSI yüksekliğini açıklamaktadır. Keten tohumu yağının raf ömrünü ve oksidatif stabilitesini artırmak için antioksidanların kullanıldığı çalışmada optimum antioksidan karışımı ifade edilerek bu karışımın ilave edilmesiyle keten tohumu yağının OSI süresinin 3,22 kat arttığı bildirilmiştir (Lu ve ark., 2020).

Tereyağ doymuş yağ asiti oranı yüksek olması sayesinde bitkisel yağlara kıyasla daha yüksek oksidatif stabilite göstermektedir. Ancak tereyağda bulunan su ve süt kalıntıları bazı durumlarda ransimat sonucunu etkileyebilir (Gramza-Michalowska ve ark., 2007). Çalışmamızda tereyağ kontrol numunesinin 100 °C'deki indüksiyon süresi 19,39 sa bulunmuştur. Sıcaklık, numune ağırlığı ve hava akış hızının sade yağ ransimat analizi sonuçlarına etkisinin incelendiği bir çalışmada 110 °C, 20 L/h akışta OSI değeri 24,35 sa olmuştur. Bu değer çalışmamızdaki süreden yüksek olmasının nedeni sade yağın su ve süt kalıntılarında arındırılmış bir örnek olması olabilir (Pawar ve ark., 2014a). Teklehaymanot ve ark. (2024) yaptıkları çalışmada inek sütünden üretilen tereyağının 100 °C'deki OSI değerini 8,5 sa bulmuşlardır. PK ekstraktı ilave ettikleri

tereyağının indüksiyon süresi ise aynı sıcaklıkta 46,3 saate çıkmıştır. Tereyağına ait indüksiyon sürelerinin literatürde farklılık göstermesi süt kaynağı, hayvanın beslenme mevsimi gibi birçok faktöre bağlanmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar yaz ve kış sütlerinden elde edilen tereyağ örneklerinin farklı OSI değerlerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bunun nedeni olarak hayvanın beslenmesi sonucu sütte bulunan β -karoten ve askorbik asit gibi bileşenlerin oransal farklılık göstermesini öne sürmüşlerdir (Gramza-Michalowska ve ark., 2007).

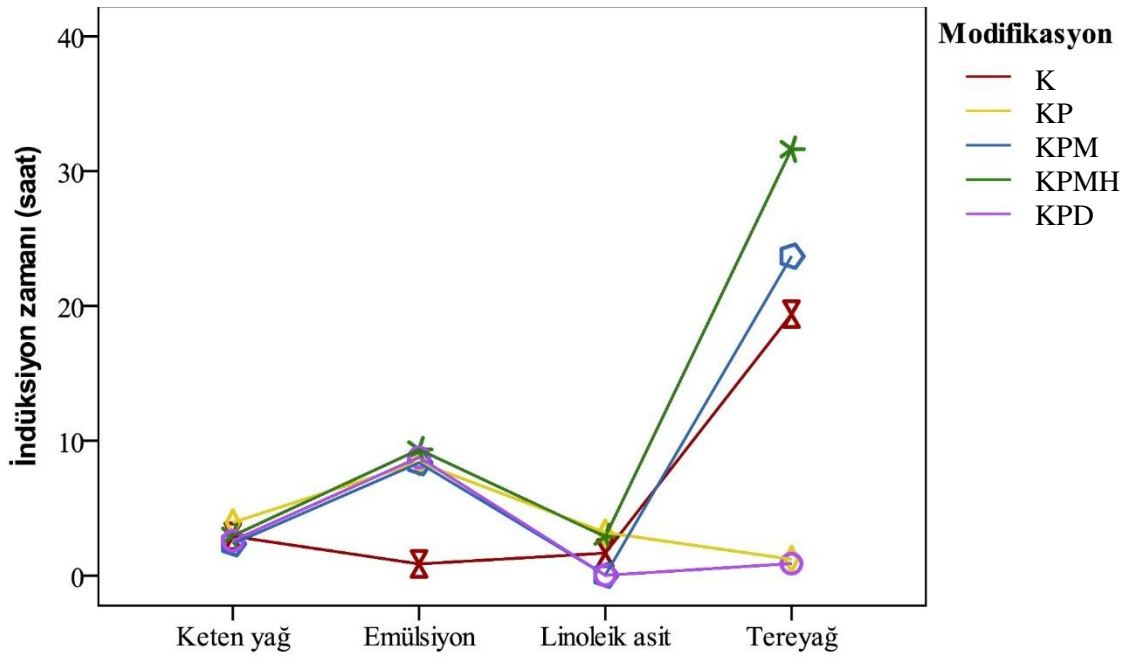
Çalışmamızda tereyağ ortamına MH uygulanmış ekstraktların (KPMH, AÇMH ve PKMH) ilave edilmesi oksidatif stabiliteyi oldukça artırmıştır. KPMH ilavesiyle 19.39 sa olan indüksiyon süresi 31,63 sa olmuştur. Sade yağ ile yapılan bir çalışmada fıstık zarı, nar kabuğu ve zeytin posasından elde edilen ekstraktlar ile yağın oksidatif stabilitesi artırılmaya çalışılmıştır. Doğal antioksidanların katıldığı örnekler BHA'nın etkisiyle kıyaslandığında düşük kalırken ekstrakt ilaveleri kontrole göre (130 °C'de 14,85 sa) OSI sürelerini artırmıştır (El-Shourbagy ve El-Zahar, 2014). KPM ekstraktı kontrol ile aynı OSI süresini vermiştir. KP ve KPD örnekleri ise dramatik bir şekilde indüksiyon sürelerini düşürmüştür (sırasıyla 1,22 – 0,89 sa). Bütün hammaddelerde aynı sonucun görülmesi bu ekstraktların oksidatif stabilite üzerine etkisinin ransimat metoduyla ölçülmesinin uygun olmadığını düşündürmüştür. Çünkü çalışmamızda yapılan peroksit ve diğer oksidasyon analiz sonuçları bu ekstraktlar için farklılık arz etmektedir.

Linoleik asit ortamına ait ransimat değerleri incelendiğinde kontrol örneği indüksiyon süresinin 1,67 sa olduğu görülmektedir. Linoleik asit, oksidasyona karşı linolenik asitten daha dayanıklı olmasına rağmen çalışmamızda keten tohumu yağının OSI değeri daha yüksektir. Bu duruma keten tohumu yağının doğal olarak içerdiği antioksidanların etkisi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca linoleik asitin trigliserit formundan ayrılıp serbest halde yağ matriksinden izole edilmesi, linoleik asiti radikal reaksiyonlarına açık hale getirmektedir (Shima ve Inada, 2024). %77,9 oranında linoleik asit içeren aspir yağı indüksiyon süresi yapılan bir çalışmada 6,2 sa (100 °C'de) bulunmuştur (Al Surmi ve ark., 2015). Bir başka çalışmada aspir yağının OSI değeri 110 °C'de 2,87 sa ölçülmüştür (Bozan ve Temelli, 2008). Görülen bu farklılığın aspir yağındaki oleik/linoleik asit oranına bağlı olarak değiştiği ifade edilmiştir (Al Surmi ve ark., 2015). Özellikle linoleik asitte bis-allilik pozisyonlarda bulunan hidrojenler oksidasyona karşı yüksek bir duyarlılığa sebep olur (Müller ve ark., 2022).

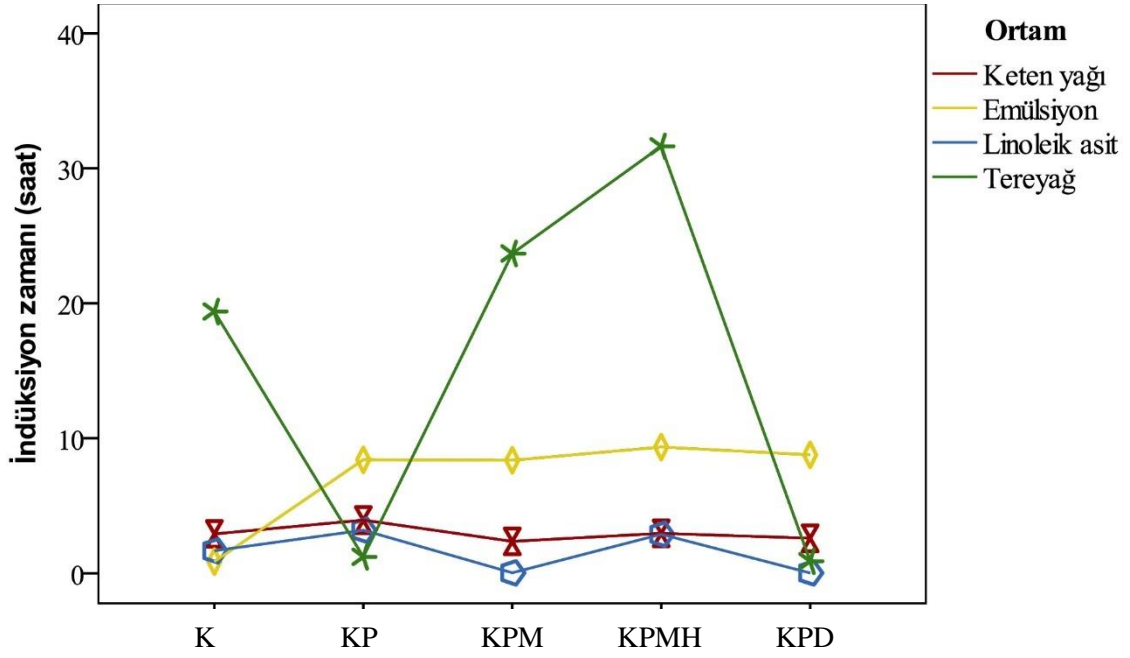
Ham ve modifiye KP ekstraktlarının linoleik asit ortamına ilave edilmesi sonucu ransimat değerleri 0,03 – 3,13 sa arasında değişiklik göstermiştir. Tereyağ ortamında

görülen duruma benzer bir şekilde linoleik asit ortamında üç hammaddeye ait metilasyon ve dekarboksilasyon uygulanan ekstraktların ilave edildiği yağlardan, anlamlı ölçümler alınamamıştır. Bu örneklerin oksidatif stabilite üzerine etkisini anlamak için diğer analizler bakımından kıyaslama yapmak daha doğru olacaktır. KP ve KPMH ekstraktlarıyla hazırlanan örneklerin OSI değerleri sırasıyla 3,19 – 2,89 sa olarak en yüksek indüksiyon zamanını vermiştir. Aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsiz olan bu ekstraktlar kontrole kıyasla indüksiyon süresini yaklaşık 2 katına çıkarmıştır ($p > 0,05$). KP ve KPMH ekstraktlı linoleik asit örneklerinin peroksit değerlerine bakıldığında kontrole göre oldukça düşük olması ransimat analizi sonuçlarıyla uyumludur.

KP ekstraktlarının ransimat değerlerine ait interaksiyon grafikleri Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. KP ekstraktlarının ransimat değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

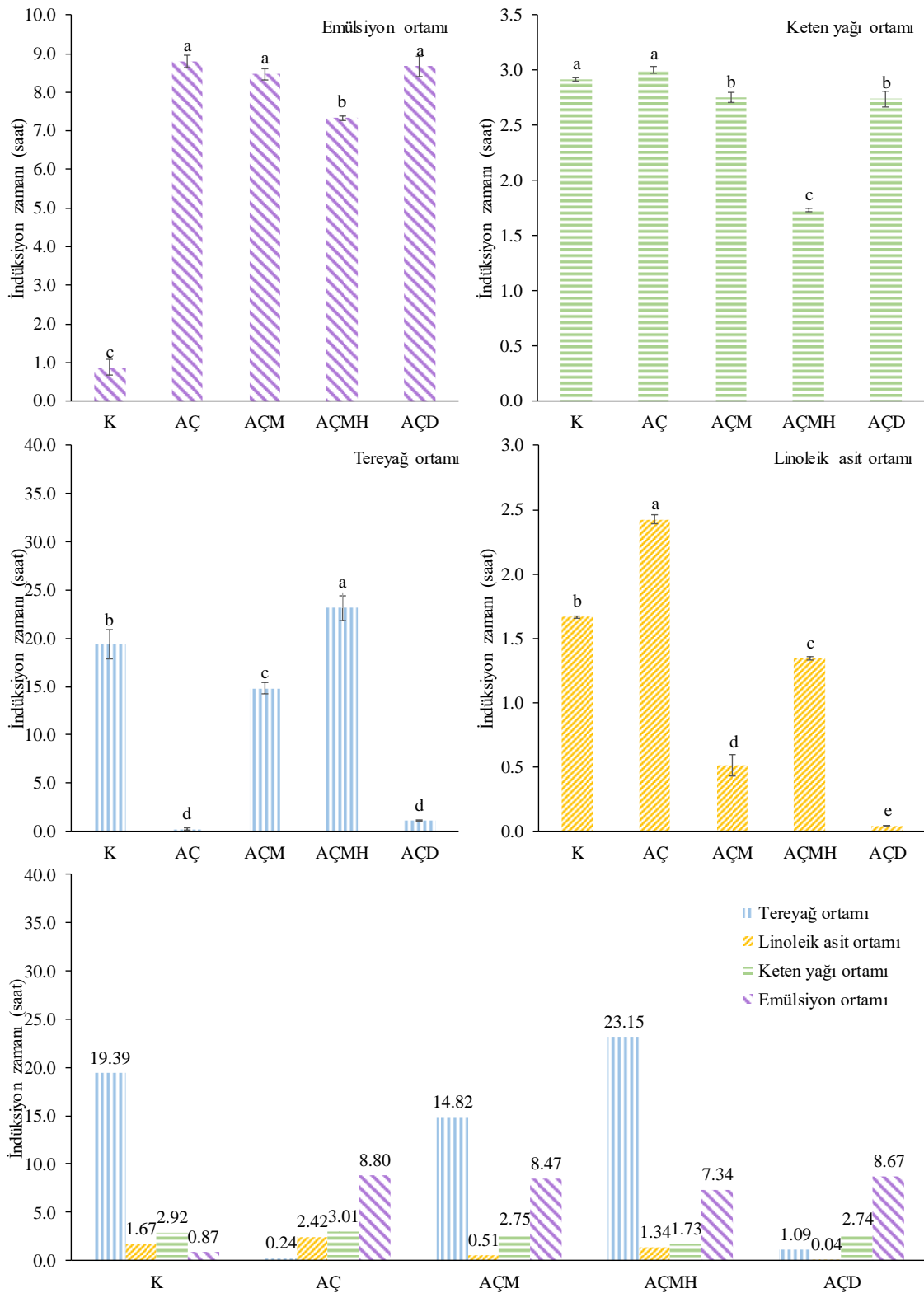


Şekil 4.21. KP ekstraktlarının ransimat değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

Lipit ortamları kıyaslandığında en düşük OSI değerleri linoleik asit ortamına aittir. Oksidatif stabilitenin en yüksek olduğu lipid ortamı ise tereyağdır. Metilasyon ve moleküler hibridizasyon yöntemleri ekstraktların yağ fazına dağılılırlığını artırarak tereyağ ortamında antioksidan etkinliklerini güçlendirmiştir (Laguerre ve ark., 2015). Emülsiyon ortamında ekstrakt ilavelerinin hepsi induksiyon süresini uzatmıştır ancak ekstraktların lipofilitesinin artması ransimat değerlerini etkilememiştir. Keten tohumu yağında değerler birbirine yakın olup KP ekstraktı OSI değerini kontrole göre artırmasıyla öne çıkmaktadır. Linoleik asit ortamında da değerler birbirine yakındır ancak KPM ve KPD ekstraktları, induksiyon süresi üzerindeki negatif etkileriyle dikkat çekmektedir.

AÇ ekstraktlarına ait bulgular

AÇ ham ve modifiye ekstraktların katıldığı lipid ortamlarına ait induksiyon süreleri Şekil 4.22’de verilmiştir. Tüm lipid ortamlarına bakıldığında değerler 0,04 sa (AÇD) – 23,15 sa (AÇMH) arasında değişmektedir.



Şekil 4.22. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının ransimat analizi sonuçları

Emülsiyon ortamında AÇ, AÇM, AÇMH ve AÇD sırasıyla 8,80 – 8,47 – 7,34 8,67 sa olarak bulunmuş ve kontrole kıyasla yaklaşık 8 kat daha uzun indüksiyon süresi göstermiştir. Ekstrakt ilaveli emülsiyon ortamları arasında AÇ, AÇM ve AÇD'nin etkisi

istatistiki açıdan benzer bulunurken AÇMH ekstraktı OSI değerini nispeten daha az yükseltmiştir. Çeşitli sebze tozlarının ilave edildiği su/kolza yağı emülsiyonunun fiziksel kararlılığı ve oksidatif stabilitesinin incelendiği bir çalışmada %2,5 oranında sebze tozu kullanımının indüksiyon sürelerini artırdığı tespit edilmiştir. Bu etkilerin, fenolik bileşiklerin arayüzdeki emülgatör molekülleriyle etkileşime girme yeteneğinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Raikos ve ark., 2014).

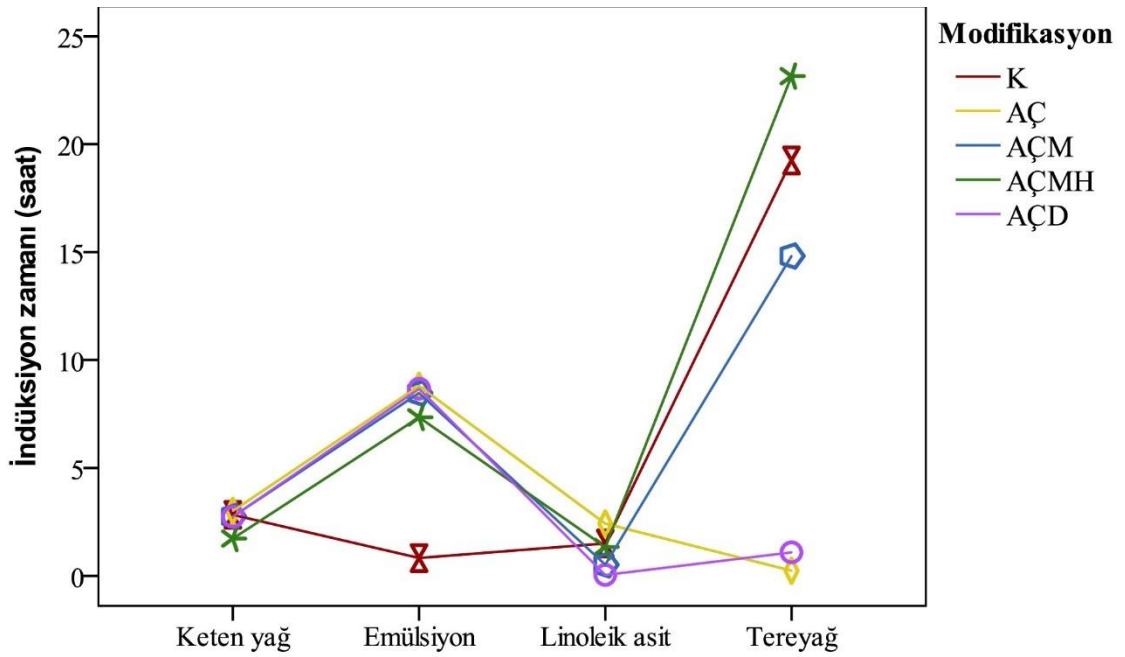
AÇ ham ve modifiye ekstraktları keten tohumu yağı üzerinde oksidatif stabiliteyi artırıcı etki göstermemiştir. AÇ ekstraktı kontrole göre sayısal olarak daha uzun indüksiyon süresine (3,01 sa) sahip olmasına rağmen istatistiki açıdan bu fark önemsizdir ($p>0,05$). AÇM ve AÇD ekstraktlarına ait OSI sonuçları birbirine yakın ve kontrolden daha düşüktür. AÇMH ekstraktının ilavesi ise indüksiyon zamanını neredeyse yarıya düşürmüştür. Bu negatif etkinin sebebi, ekstrakt içindeki fenolik bileşiklerin birbiri ile etkileşimi ve bazı bileşiklerin prooksidan olarak davranması olabilir. Raikos ve ark. (2014)'de yaptıkları çalışmada yüksek konsantrasyondaki α -tokoferol varlığının yapıdaki bileşiklerle etkileşiminin oksidasyon reaksiyonlarını teşvik edici olduğundan bahsetmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda, α -tokoferolün kritik konsantrasyonu aşıldığı zaman indüksiyon zamanının kısaldığını ortaya koymuştur (Naumov ve Vasil'ev, 2003; Kim ve ark., 2007). Çalışmamızda da ekstrakt ilave edilen bazı örneklerde oksidatif stabilitenin düşmesi bununla açıklanabilir.

Tereyağ ortamındaki ekstrakt ilavelerine ait indüksiyon zamanları 0,24 ve 23,15 sa aralığında dramatik farklılıklar göstermiştir. KP sonuçlarında görüldüğü gibi AÇ örneklerinde de AÇ ve AÇD ekstraktları ilave edilen tereyağları oldukça düşük kararlılığa sahiptir. AÇM ekstraktı 14,82 sa indüksiyon süresiyle kontrolden daha düşük bir oksidatif stabilite sağlamıştır. AÇMH ekstraktı ise bu ortamda diğer lipit ortamlarından farklı olarak OSI değerini artırmıştır (23,15 sa). MH uygulanan ekstraktlar, hammaddeden bağımsız olarak tereyağ ortamında oksidatif kararlılığı oldukça artırmıştır. Ekstrakt lipofilitesinin en yüksek olduğu yöntemin MH olmasının bu sonuç üzerinde etkili olduğu düşünülmüştür. Pawar ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada yeşil çay ve biberiye ekstraktlarının sade yağın oksidatif stabilitesine etkisini incelemişler ve kontrol OSI değerini 120 °C'de 10,33 sa bulmuşlardır. Sonuçta ise %0,25 oranında eklenen biberiye ekstraktlı sade yağın OSI değerinin 45,47 saate yükseldiği tespit edilmiştir (Pawar ve ark., 2012).

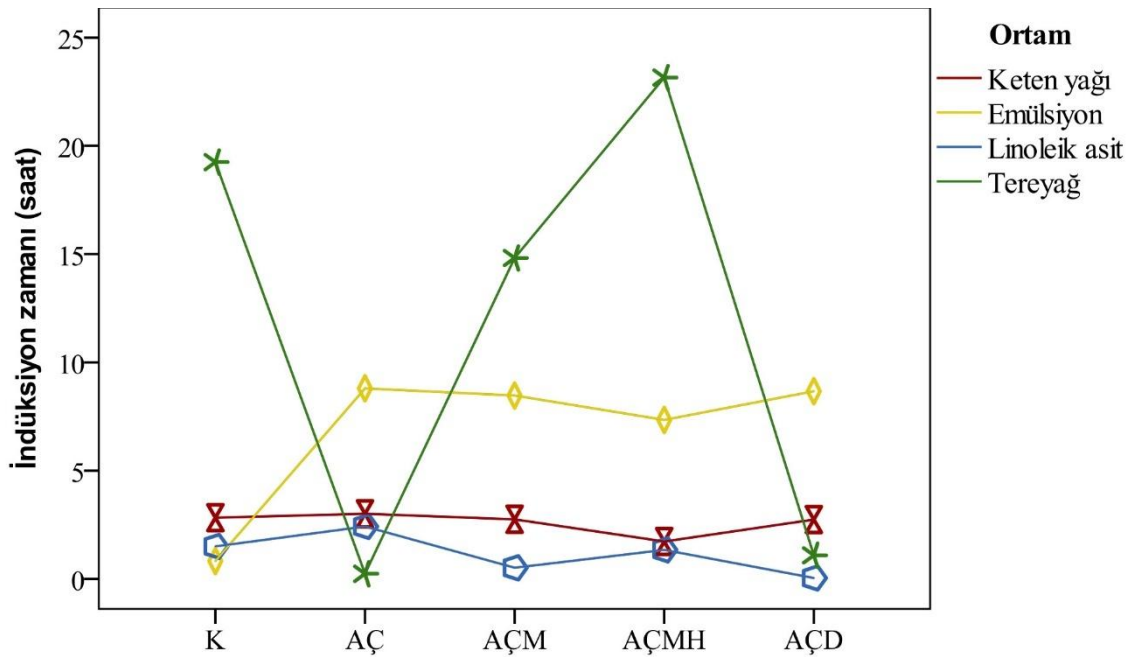
Linoleik asit ortamında kontrol değeri 1,67 sa olurken, AÇ ekstraktı ilavesi OSI değerini önemli ölçüde artırarak 2,42 sa yapmıştır ($p<0,05$). Modifikasyon uygulanmış

ekstraktların indüksiyon süreleri ise kontrole göre azalmıştır. AÇMH ekstraktının ilavesi linoleik asitin indüksiyon süresini 1,34 saate düşürürken, AÇM ve AÇD ekstraktlarındaki azalma daha dramatikdir. Ayrıca AÇM (0,51 sa) ve AÇD (0,04 sa) katılmış örneklerde, diğer hammadelerde olduğu gibi (PKM, PKD ve KPM, KPD) indüksiyon süresinin kontrole göre ciddi azalma göstermesi bu ekstraktların ransimat analiz şartlarına karşı duyarlı olabileceğini göstermiştir.

AÇ ekstraktlarının ransimat değerlerine ait interaksiyon grafikleri Şekil 4.23 ve Şekil 4.24’de gösterilmiştir.



Şekil 4.23. AÇ ekstraktlarının ransimat değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu



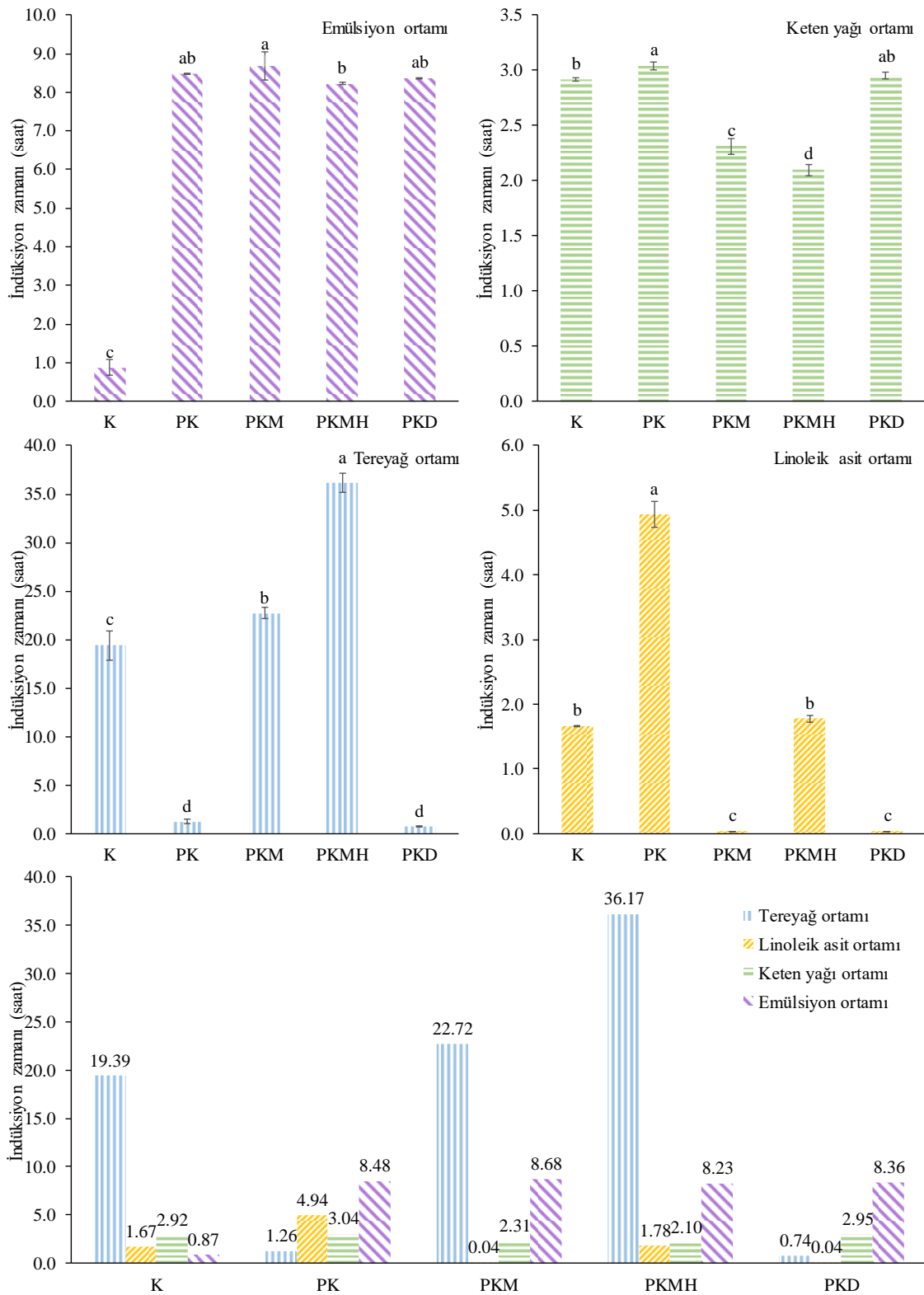
Şekil 4.24. AÇ ekstraktlarının ransimat değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

İndüksiyon zamanları interaksiyon grafikleri incelendiğinde tereyağ ortamında AÇMH ekstraktının etkisi dikkat çekicidir. Ekstrakt ilaveli emülsiyon ortamları OSI değerleri kontrole göre yüksektir. Keten tohumu yağı ortamında değerler birbirine yakınlık gösterirken AÇMH ekstraktı oksidatif stabiliteyi olumsuz etkilemiştir. AÇ ekstraktı en yüksek etkisini emülsiyon ortamında gösterirken tereyağ hariç diğer ortamlarda da en yüksek antioksidan özelliğe sahiptir. AÇM ilaveli ortamlar arasında en yüksek OSI değeri tereyağda olmasına rağmen kontrole göre en çok artışın sağlandığı ortam emülsiyondur.

Tereyağında ekstraktların lipofilitesi arttıkça indüksiyon süresi uzamıştır. Emülsiyonda ekstraktların lipofilitesi modifikasyonları ayırt edici bir sonuç vermemiştir. Keten tohumu yağında lipofilisitenin en yüksek olduğu ekstrakt prooksidan etki göstermiştir (Liu ve ark., 2025).

PK ekstraktlarına ait bulgular

PK, PKM, PKMH ve PKD ilave edilerek hazırlanan lipid ortamlarının ransimat analizi sonuçları Şekil 4.25’de sunulmuştur. Analiz sonucunda belirlenen indüksiyon süreleri 0,04 – 36,17 sa arasında değişkenlik göstermektedir. En düşük OSI değeri linoleik asit ortamındaki PKM ve PKD ekstraktlarının ilavesine aittir en yüksek değer diğer hammaddelerde de olduğu gibi tereyağ ortamına PKMH ilavesiyle sağlanmıştır.



Şekil 4.25. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının ransimat analizi sonuçları

Aspir yağı/su emülsiyonuna PK ekstraktlarının ilavesi kontrole göre önemli seviyede OSI değerini yükseltmiştir. En güçlü etki 8,68 sa ile PKM ekstraktında görülmüştür. PK, PKMH ve PKD ekstraktlarının etkileri kontrole göre yüksek (sırasıyla

8,48 – 8,36 – 8,23 sa) ancak birbirleri arasındaki fark istatistikî açıdan önemsizdir ($p>0,05$).

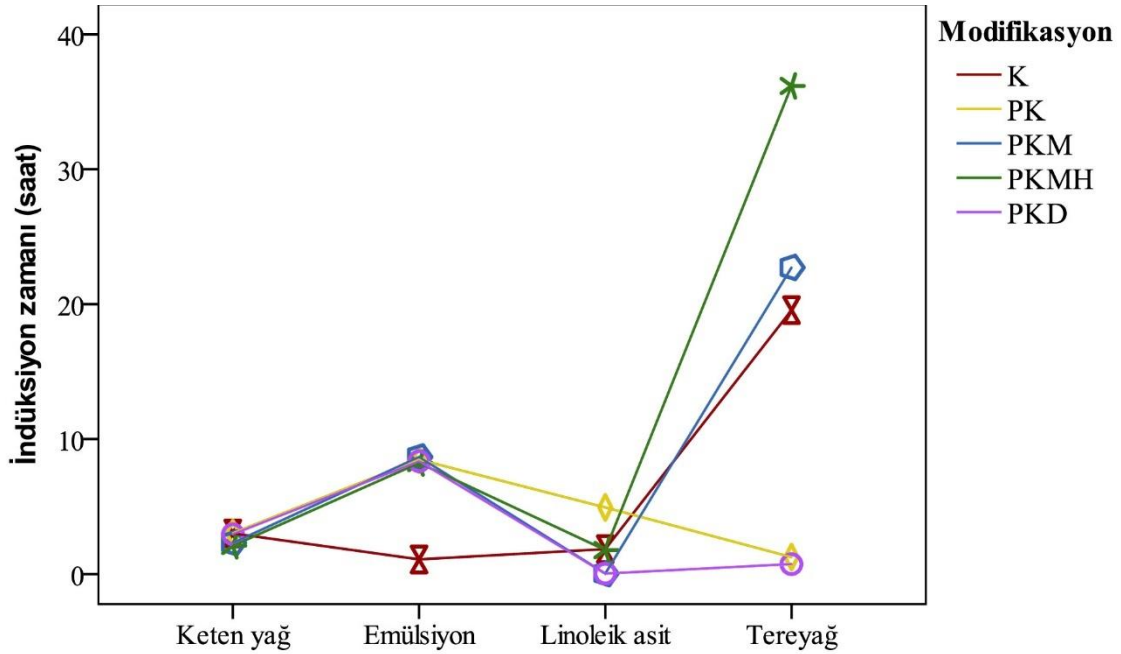
Soğuk pres keten yağlarına ekstraktların ilavesi sonucu PK ve PKD örneklerinde indüksiyon süresi uzarken, PKM ve PKMH örneklerinde stabilite azalmıştır. PK ile keten tohumu yağı OSI değeri 2,92 sa'den 3,04 saate yükselmiştir. Taweel (2022), çalışmasında PK ekstraktına çeşitli modifikasyon yöntemleri uygulamış ve ekstraktların ayçiçek yağının oksidatif stabilitesine etkisini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda kimyasal yöntemle modifiye edilmiş ekstraktın ilave edildiği ayçiçek yağının OSI değeri 120 °C'de 2,74 sa bulunmuştur. PKD örneğine ait OSI değeri (2,95 sa) sayısal olarak kontrolden yüksek olsa da aralarındaki fark istatistikî olarak önemsizdir ($p>0,05$). PKMH ekstraktının ilavesi indüksiyon süresini 2,10 saate düşürerek PK ekstraktları içeren keten tohumu yağı ortamlarındaki en düşük değeri vermiştir. Samarin ve ark. (2012), soya yağının stabilitesi üzerine yaptıkları bir çalışmada PK ekstraktının antioksidan etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda 1600 ve 2400 ppm PK ekstraktı içeren numunelerin OSI değerleri, 200 ppm BHA ilave edilmiş örnekten daha yüksek bulunmuştur.

Bir su/yağ emülsiyonu olan tereyağ ortamında oksidasyon kararlılığını en çok artıran ekstrakt diğer hammaddelerde de olduğu gibi PKMH'dir (36,17 sa). Diğer MH uygulanmış KPMH ve AÇMH ekstraktlarının ilave edildiği tereyağ ortamları arasında en yüksek OSI değeri PKMH'de görülmüştür. LogP değerlerine bakıldığında lipofilite, en yüksek PKMH ekstraktında görülecektir. Bu sonuç, MH uygulanan ekstraktların tereyağ ortamında oldukça iyi çözüldüğünü ve hammaddeler arasında en yüksek çözünürlüğün ve dolayısıyla en yüksek oksidatif stabilitenin PKMH ilaveli tereyağda olduğunu göstermektedir. PK ve PKD ekstraktları ise (sırasıyla 1,26 – 0,74 sa) diğer hammaddelerin sonuçlarında olduğu gibi ransimat analizine bir hassasiyet göstererek OSI değerini dramatik bir şekilde düşürmüştür.

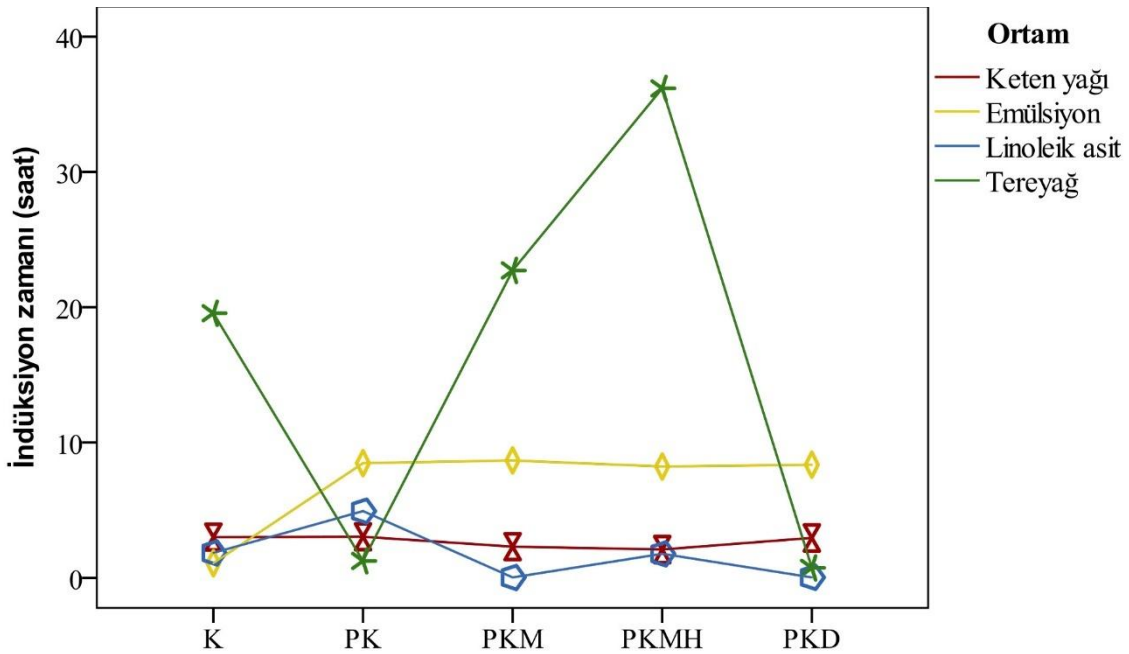
PK ekstraktı linoleik asit ortamına ilave edildiğinde, ransimat değeri 1,67 sa'den 4,94 saate yükselmiştir. Ham ekstraktın verdiği bu olumlu sonuç modifikasyonlu ekstraktlarda görülememiştir. PKMH ekstraktı 1,78 sa ile kontrole benzer bir indüksiyon süresi vermiştir. Ancak PKM ve PKD ekstraktları tahminen bir ölçüm hassasiyeti nedeniyle 0,04 sa olmak üzere aynı OSI değerini göstermiştir. Ölçümler, ekstrakt ilavesi yapılmış linoleik asit numunelerinden paralel yeni örnekler alınarak tekrarlanmış ancak sonuçlar 0,04 – 0,03 sa olmak üzere değişmemiştir. O nedenle metilasyon ve dekarboksilasyon uygulanmış ekstraktların linoleik asit ortamı için oksidatif stabilite

etkinliğinin değerlendirilmesinde ransimat metodunun kullanılmasının doğru olmadığı sonucu çıkarılmıştır.

PK ekstraktlarının ransimat değerlerine ait interaksyonları Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de gösterilmiştir.



Şekil 4.26. PK ekstraktlarının ransimat değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipid ortamı interaksyonu



Şekil 4.27. PK ekstraktlarının ransimat değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

Tereyağ ortamında PKMH ilavesi ile indüksiyon süresinin yaklaşık 40 saate ulaşması, bu ekstraktın doymuş yağ sisteminde üstün oksidatif stabilite sağladığını göstermektedir (Ziarno ve ark., 2023). Emülsiyon ortamında, ekstraktlar arasındaki farklar çok küçük ve indüksiyon zamanları ~8-9 saat olmak üzere benzer bulunmuştur. Emülsiyon ortamları arasında en yüksek değer PKM ekstraktı ilavesiyle sağlanmıştır. Medina ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada karbon zincir uzunluğunun artmasıyla antioksidan bileşiklerin emülsiyon ortamında daha yüksek etki gösterdiğini ifade etmiştir. Ketten tohumu yağı ve linoleik asit gibi doymamış sistemlerde indüksiyon süresi belirgin şekilde daha düşüktür (Medina ve ark., 2009).

TFM miktarı ve DPPH radikalini giderme gücü nispeten daha düşük olan ekstraktların ilave edildiği örneklerin yüksek OSI sürelerine sahip olması, yağın oksidatif stabilitesinin sadece fenolik bileşikler değil aynı zamanda ekstraktlarda bulunan antioksidan özellikteki diğer bileşenlerin (renk pigmentleri, steroller, vitaminler, organik asitler) varlığı ve bunların sinerjistik etkileşimiyle açıklanabilir (Pokorný, 2007; Olszowy-Tomczyk, 2020).

Kullanılacak antioksidanların seçiminde, moleküllerinin fizikokimyasal özellikleri, su-lipit faz arasındaki dağılım davranışları, pH, depolama koşulları, işleme sıcaklığı ve ilave edilen diğer bileşenlerin özellikleri gibi pek çok faktörün değerlendirilmesi gerekir (Raikos ve ark., 2014).

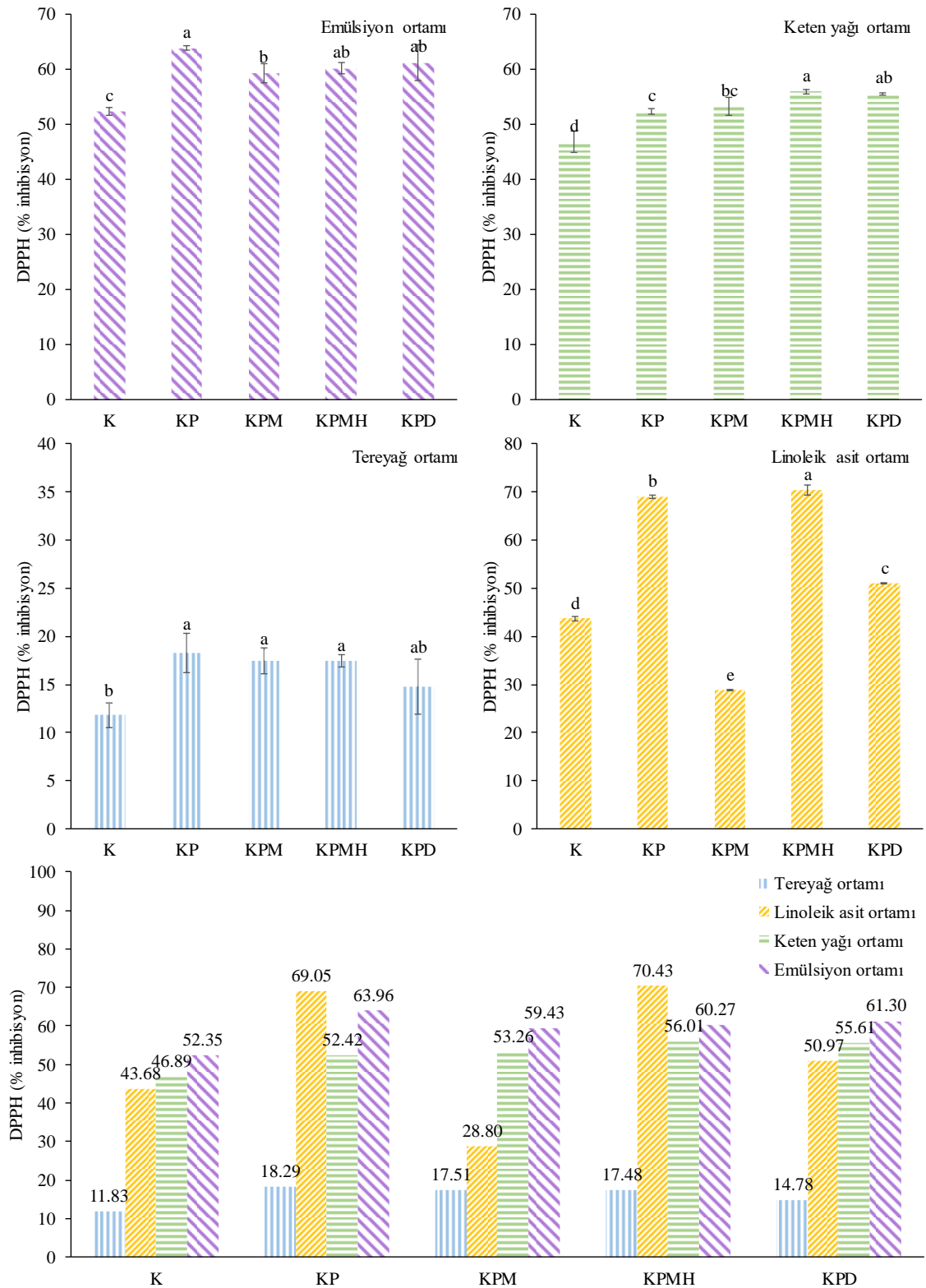
4.6.3. Serbest radikal (DPPH) giderici etki analizi sonuçları

DPPH radikal giderici aktivite analizinde elde edilen %inhibisyon değerleri, ekstraktların serbest radikalleri nötralize etme gücünü ortaya koymaktadır. Yüksek inhibisyon değeri, bileşiklerin güçlü bir hidrojen donörü olarak radikal stabilizasyonu sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla ekstraktların içerdiği fenolik bileşiklerin yapısı ve derişimi, antioksidan aktivite üzerinde belirleyicidir (Hussen ve Endalew, 2023).

Lipit ortamlarında yapılan radikal giderici etki analizinin sonuçları incelendiğinde, modifikasyon uygulanmış ekstraktların antioksidan aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Dolayısıyla fenolik bileşiklerdeki yapısal modifikasyonların radikal giderme kapasitesini artırabileceği ortaya konmuştur. Diğer taraftan bazı ekstraktların ilavesiyle görülen düşük DPPH giderici etki, ekstraktın içerdiği aktif bileşiklerin zarar görmüş olması ya da serbest radikal ile etkileşime girme kinetiklerinin zayıf olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Prior ve ark., 2005).

KP ekstraktlarına ait bulgular

KP ekstraktlarının ilave edildiği lipit ortamlarına ait DPPH radikal giderici aktivite değerleri Şekil 4.28’de verilmiştir.



Şekil 4.28. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının DPPH radikal giderici etki analizi sonuçları

Emülsiyon ortamında kontrolün radikal giderici aktivitesi %52,35'tir. Ekstraktların ilave edilmesiyle bu değer önemli ölçüde artmıştır ($p < 0,05$). En yüksek artış KP ekstraktının ilave edilmesiyle gözlenmiş olup %inhibisyon değeri 63,96'ya ulaşmıştır. KPM (%59,43), KPMH (%60,27) ve KPD (%61,30) ekstraktları birbirine benzer oranda %inhibisyon değerini artırarak DPPH radikali üzerinde aynı etkiyi göstermiştir. Bu ekstraktların ilavesi sonucu alınan %inhibisyon değerleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir ($p > 0,05$). Yağ/su emülsiyonları genellikle fonksiyonel yağlar (balık yağları, keten tohumu ve aspir yağı) ve yağda çözünen biyoaktif bileşenler (β -karoten, α -tokoferol ve koenzim Q10) için iyi bir taşıyıcı sistemdir. Bu emülsiyonlarda yağda çözünen bileşenler, yağ-su arayüzü ve su fazı tarafından dış ortamdan izole edilerek emülsiyonun kararlılığı artabilir. Dolayısıyla emülsiyon ortamındaki biyoaktif bileşenlerin antioksidan etkinliği yağ damlacıklarının boyutuna ve arayüz bölgesinin özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterir (Zheng ve ark., 2020). Polar paradoks teorisinde, lipofilik antioksidanların, yağ/su ara yüzüne daha yüksek afinite sağlamaları nedeniyle emülsiyonlarda yığın yağlardan daha etkili olduğu öne sürülür. Ancak bazı çalışmalarda tüm antioksidanların bu teoriyi doğrulamadığı ve antioksidan bileşiklerin emülsiyon ortamındaki davranışlarının daha fazla araştırılması gerektiği ifade edilmiştir (Zheng ve ark., 2020).

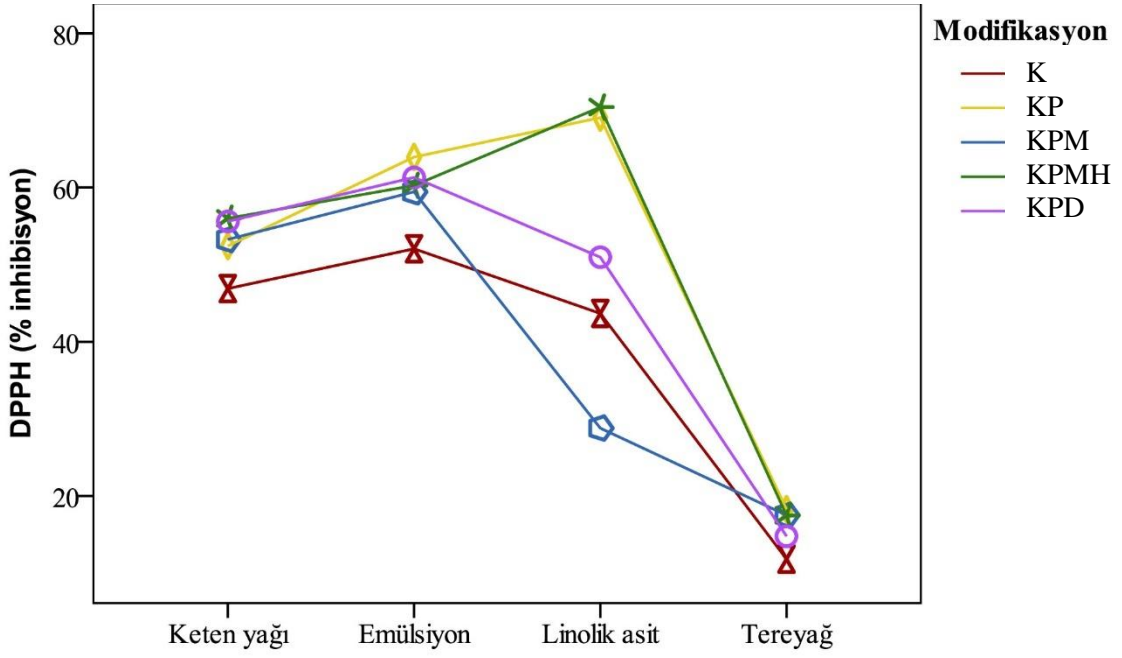
Keten tohumu yağı ortamına ilave edilen KP ekstraktlarının DPPH radikalini giderme güçleri kuvvetliden zayıfa doğru sıralanacak olursa KPMH (%56,01) > KPD (%55,61) > KPM (%53,26) > KP (%52,42) şeklindedir. Kontrol örneği ise ekstrakt ilaveli keten tohumu yağı örneklerinden daha düşük %inhibisyon değerine (%46,89) sahiptir. Özkılıç ve Arslan (2022), soğuk pres keten tohumu yağının oksidasyonunu inceledikleri çalışmada kontrol örneğinin inhibisyon değerini %30,84 bulmuşlardır. Ekstraktların logP değerleri ile DPPH radikal giderme etkileri arasında pozitif bir ilişki gözlenmiştir. Bu sonuçlar fenolik bileşiklerin lipofilisitelerinin artmasıyla lipit ortamlarındaki antioksidan etkinliklerinin yükseldiğini kanıtlar niteliktedir (Cruz ve ark., 2018).

Tereyağ ortamının kontrol örneğinde radikal giderme gücü %11,83 iken ekstrakt ilaveleriyle bu değer yükselmiş ve %14,78 ile %18,29 arasında değişmiştir. DPPH radikali üzerinde daha çok etkili olan ekstraktlar KP (%18,29), KPM (%17,51) ve KPMH (%17,48)'dir. Etki gücü sıralaması bu şekilde olup aralarındaki fark önemsizdir ($p > 0,05$). KPD ekstraktının katılması ise kontrole benzer olup nispeten daha yüksek %inhibisyon değeri (%14,78) vermiştir. Tereyağı gibi doymuş yağ asiti açısından zengin ortamlarda antioksidan bileşiklerin etkinliği sınırlı olmaktadır (McClements ve ark., 2008). Bulut ve

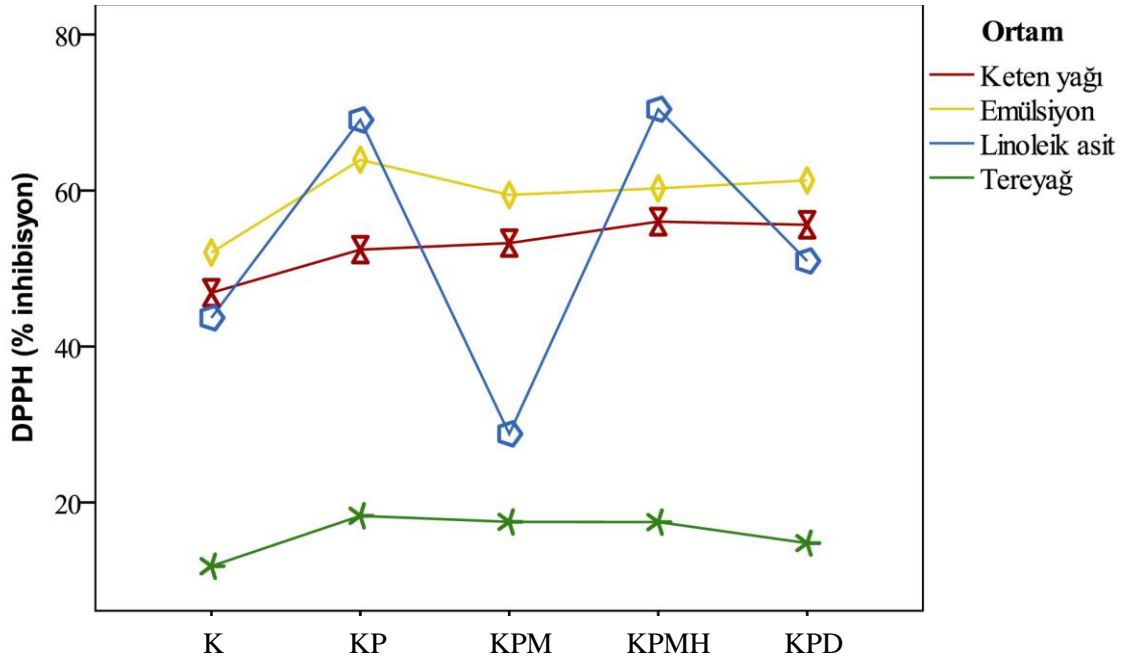
Gündoğdu (2024) alışmalarında tereyağ oksidasyonunu geciktirmek için kurutulmuş kayısı ilavesi yapmışlardır. Kontrol tereyağı örneğinin DPPH radikal giderici aktivitesini %23,12 bulmuşlardır. alışmalarının sonucunda 30 günlük depolama sonrasında %25 kayısı içeren tereyağının inhibisyon değeri %30 olarak en yüksek değeri vermiştir. Yine literatürdeki çalışmalarda çeşitli baharatların (Bule ve ark., 2022), uçucu yağların (akmakı ve ark., 2014), atık materyallerden elde edilen ekstraktların (Ebrahimian ve ark., 2023) tereyağ üzerindeki antioksidan etkisi ortaya konmuştur.

Emülsiyon, keten tohumu yağı ve tereyağı ortamlarında KP ham ve modifiye ekstraktları DPPH serbest radikal giderme gücünü artırırken linoleik asit ortamında ekstraktların davranışı farklı olmuştur. KPMH ekstraktının linoleik asit ortamına ilavesi %inhibisyon değerini yaklaşık 1,7 kat artırarak %70,43'e çıkarmıştır. KP ekstraktının ilavesi de yaklaşık 1,6 kat artış sağlayarak kontrolün %43,68 olan inhibisyon değerini %69,05'e yükseltmiştir. KPMH ve KP ekstraktları içeren örneklerin antioksidan aktivite sonuçları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$). KP ekstraktları katılan lipit ortamları arasında kontrole göre daha düşük inhibisyon değeri veren örnekler yalnızca KPM ve KPD olmuştur. KPD ilavesiyle serbest radikal giderici g %50,97 olurken, KPM ilavesiyle daha da düşük %28,80'e gerilemiştir. Bu ekstraktların içerdiği fenolik bileşiklerin modifikasyonlar ile değişiminin, linoleik asit ortamında antagonist etkiye neden olduğu düşünülebilir (şpitalniak-Bajerska ve ark., 2018).

KP ekstraktlarının radikal giderici etki değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonları şekil 4.29 ve şekil 4.30'da gösterilmiştir.



Şekil 4.29. KP ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksyonu



Şekil 4.30. KP ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

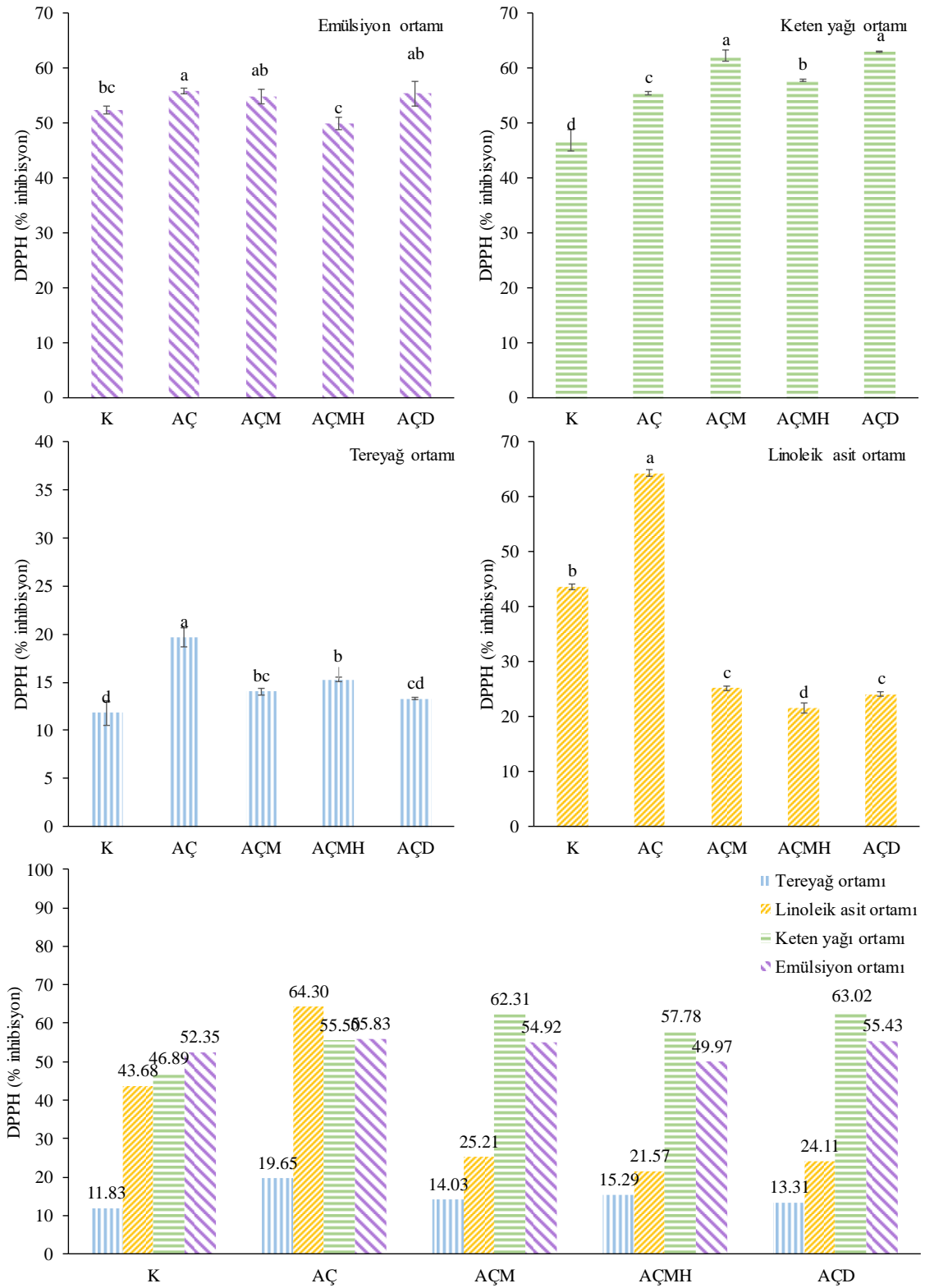
Sonuçlar incelendiğinde, DPPH radikal giderici aktivitenin hem ekstrakt türüne hem de lipit ortamına bağlı olarak değişiklik gösterdiği görülmüştür. Ekstraktların ilavesiyle en yüksek radikal giderme aktivitesi linoleik asit ortamında, en düşük aktivite ise tereyağ ortamında gözlenmiştir. Doymamış yağ asiti olan ve serbest formda bulunan

linoleik asitin oksidasyona yatkınlığı, antioksidan özellikteki ekstraktların diğer lipit ortamlarından daha aktif rol oynamasına yol açmıştır (Shahidi ve Zhong, 2015).

Emülsiyon ortamında, kontrole kıyasla tüm ekstraktlar radikal giderici etkiyi artırmıştır. Özellikle KP ilavesi %60'ın üzerinde inhibisyon sağlayarak en yüksek değeri vermiştir. Benzer şekilde keten tohumu yağı ortamına eklenen ekstraktlar da antioksidan etki göstermiş ve en yüksek etki KPMH ekstraktında görülmüştür. Tereyağ ortamında ise genel olarak lipit ortamları arasında düşük inhibisyon değerleri elde edilmesine rağmen ekstrakt ilavesi bu ortamda da DPPH radikal giderici etkiyi artırmıştır. Linoleik asit ortamında KP ve KPMH radikal giderici etkiyi oldukça artırırken KPM ilavesi dikkat çekici şekilde DPPH radikal giderici etkiyi düşürmüştür.

AÇ ekstraktlarına ait bulgular

AÇ ekstraktları ilave edilen lipit ortamlarına ait radikal indirgeme değerleri Şekil 4.31'de verilmiştir. En düşük inhibisyon sonuçları tereyağı ortamlarına ait olurken en yüksek DPPH radikali indirgeme gücü keten tohumu yağı ortamlarında görülmüştür.



Şekil 4.31. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının DPPH radikal giderici etki analizi sonuçları

Emülsiyon ortamlarından AÇ, AÇM ve AÇD ilaveli örnekler, kontrole (%52,35) göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. %inhibisyon değerleri büyükten küçüğe

doğru sıralandığında AÇ (%55,83) > AÇD (%55,43) > AÇM (%54,92) şeklindedir. AÇMH ekstraktı ise %49,97 ile kontrole benzer inhibisyon sağlamış ve aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Özdemir (2022), yaptığı çalışmasında fındık zarı ekstraktının bir yağ/su emülsiyonu olan mayonezde kullanılmasının oksidasyon üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda enkapsüle fındık zarı ekstraktlarının mayonez oksidasyonunu geciktirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada yüksek amfifilik özelliğe sahip olan antioksidanın, polar paradoks teorisinin aksine, en yüksek antioksidatif etkiyi göstermediği bulunmuştur. Mevcut çalışmada da AÇ ekstraktları arasında lipofilitesi en yüksek olan AÇMH ilavesinin emülsiyon ortamında radikal giderme kapasitesini artırmadığı görülmektedir.

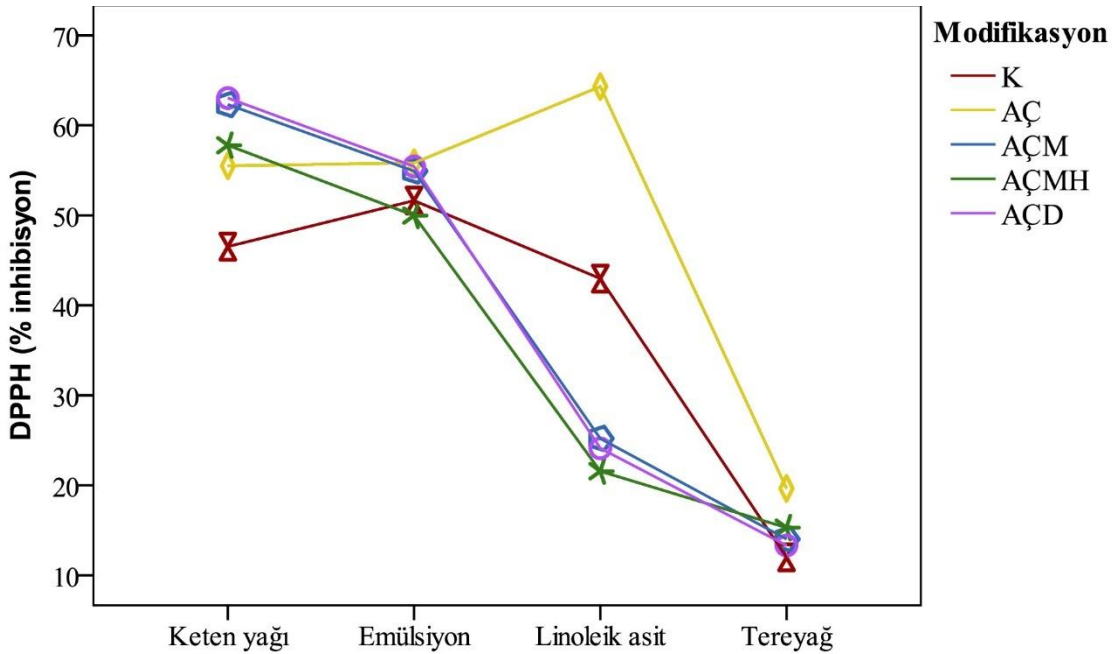
Keten tohumu yağı ortamına AÇ ekstraktlarının ilavesi KP ve PK ekstraktlarında da olduğu gibi kontrole göre (%46,89) radikal giderme gücünü artırmıştır. Keten tohumu yağı ortamı istisnasız ekstraktların hepsinin DPPH radikal giderme aktivite bakımından pozitif etkinin görüldüğü ortamdır. AÇ ekstraktlarının etkisi kıyaslandığında, keten yağlarında DPPH radikal giderme aktivitesini en çok artıran ekstraktlar AÇM (%62,31) ve AÇD (%63,02)'dir. Aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir ($p>0,05$). AÇMH ekstraktı kontrole göre %23'lük bir inhibisyon artışı sağlamıştır. AÇ ekstraktının ilavesiyle elde edilen sonuç ise keten tohumu yağı örnekleri arasında kontrolden daha yüksek ve %55,50'dir. Kurkumin ve esterlerinin çeşitli lipit ortamlarındaki (keten tohumu yağı, olejel ve emüljel) antioksidan etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, kurkumin asetat keten tohumu yağında yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Kurkumin ise olejel örneklerinde yüksek aktiflik göstermiştir. Çalışma sonucunda bu bileşiklerin etkinliğinin lipit ortamının radikal ve radikal olmayan bileşiklerin ortamdaki dengesine bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca kurkumin ve esterlerinin antioksidan etkinliği olejel ve emüljel ortamlarında keten tohumu yağından daha düşüktür. Bunun nedeni olarak, antioksidan bileşiklerin bu ortamlarda dağılımının daha yavaş olduğu öne sürülmüştür (Keramat ve Golmakani, 2024a).

Tereyağ ortamları arasında DPPH radikalini giderme gücü en yüksek olan örnek, AÇ ham ekstraktının ilave edildiği örnektir. Bu ekstraktın ilavesiyle kontrol ortamında %11,83 olan inhibisyon değeri %19,65'e yükselmiştir. Daha sonra %15,29 ile AÇMH ekstraktının ilave edildiği örnek gelmektedir. AÇM ilaveli tereyağ (%14,03), AÇMH'ye benzer sonuç verirken AÇD ilavesi de (%13,31), AÇM ekstraktlı tereyağına benzer inhibisyon yüzdesi vermiştir. AÇD ekstraktı kontrole benzer bir inhibisyon değeri vermesiyle tereyağ ortamında radikal giderme kapasitesi üzerinde etkisiz olmuştur.

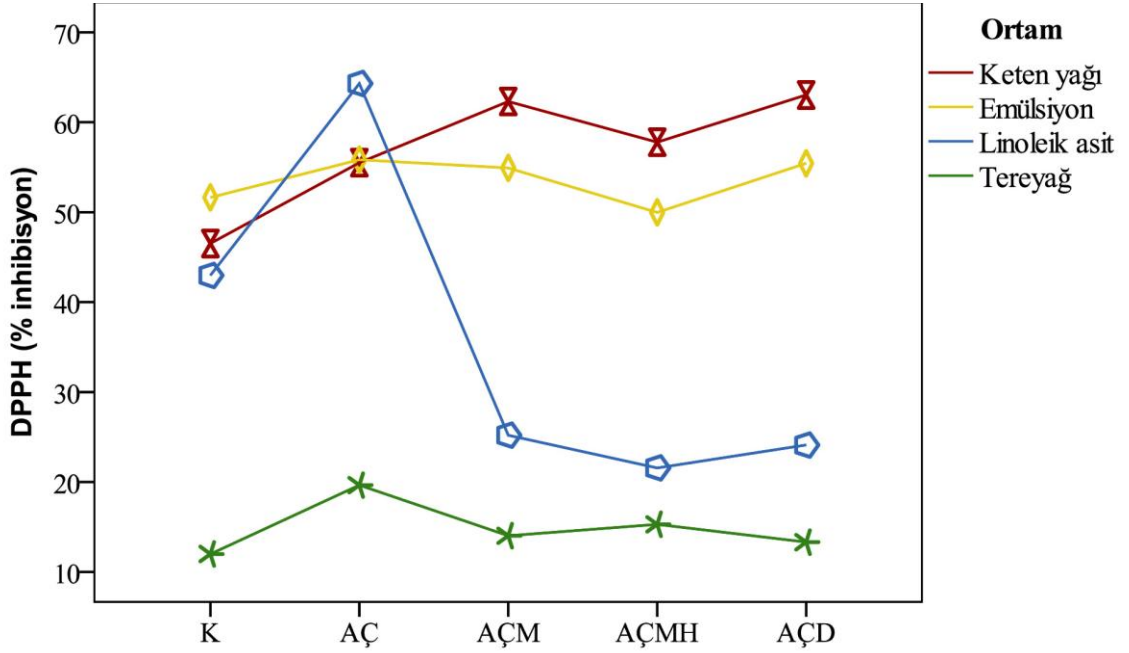
Çeşitli uçucu yağların (*Thymus haussknechtii* ve *Origanum acutidens*) ilavesinin tereyağ stabilitesi üzerine etkisini inceleyen araştırmacılar, bu uçucu yağların %0,2 oranında kullanımının BHT ile neredeyse aynı antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır (Dağdemir ve ark., 2009).

Linoleik asit ortamlarına bakıldığında AÇ ekstraktının ilavesi antioksidan aktiviteyi oldukça artırırken modifiye ekstraktlar DPPH radikal giderme gücünü olumsuz etkileyerek azaltmıştır. AÇ ilavesiyle %43,68 olan kontrol değeri %64,30'a ulaşmıştır. Modifiye ekstraktlardan AÇM ve AÇD'nin etkisi benzer şekilde sırayla %25,21-24,11 olarak düşük inhibisyon değerinde sınırlanmıştır. AÇMH ekstraktı radikal giderme kapasitesini etkileyerek %inhibisyon değerini %21,57'ye düşürmüştür. Çalışmamızda ekstrakt ilavelerinin emülsiyon ortamındaki diğer bileşenlerle etkisi, farklı emülsiyon stabilitelere neden olmuştur. Emülsiyon kararlılığının düşük olduğu AÇMH örneği, bu ekstraktın etkinliğini gösterememesine sebep olmuş olabilir (Kang ve ark., 2024).

AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının DPPH radikal giderici etki analizine ait interaksiyon grafikleri Şekil 4.32 ve Şekil 4.33'de gösterilmiştir.



Şekil 4.32. AÇ ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

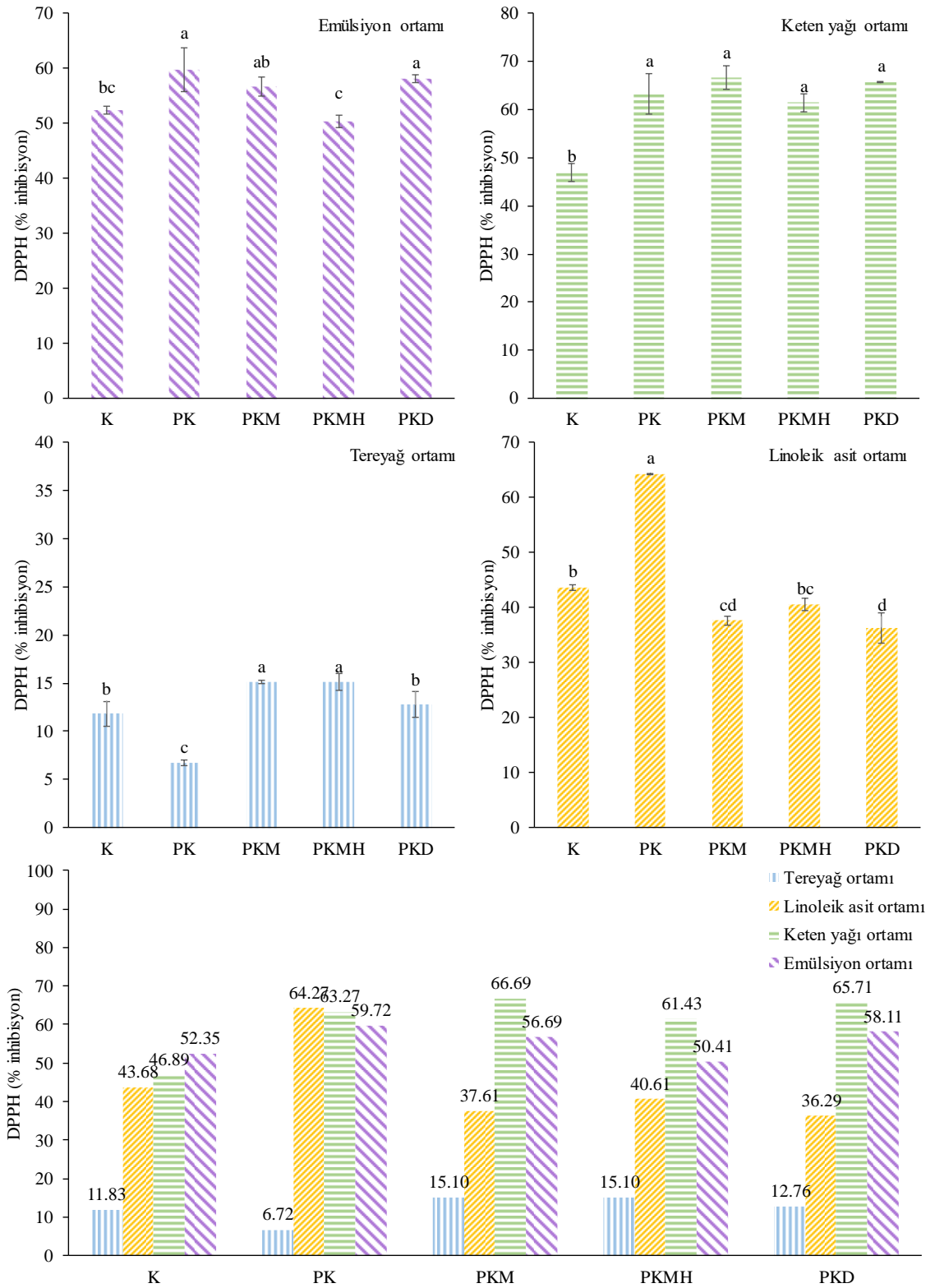


Şekil 4.33. AÇ ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

Grafikler incelendiğinde en yüksek inhibisyon değeri (~%65) AÇ ekstraktının linoleik asit ortamındaki etkinliği ile elde edilmiştir. Linoleik asit ortamında ekstraktların davranışları polar paradoks teoremini destekler niteliktedir (Li ve ark, 2015). Polar yapıda olan ham ekstrakt lipit ortamında en yüksek inhibisyon değerine sahiptir. Modifikasyon uygulanmış ekstraktlarda özellikle linoleik asit ve tereyağ ortamlarında belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Modifikasyonlar sonucu fenolik bileşiklerin yapısındaki OH gruplarının azalması, ekstraktların hidrojen transferi yoluyla reaksiyon gösteren DPPH gibi radikallerin inhibisyonunda sınırlı kalmasına neden olmuştur (Gulcin ve Alwasel, 2023). Keten tohumu yağı ve emülsiyon ortamlarının, modifikasyonlar ile ekstraktlarda gözlenen antioksidan aktivite değişimlerini tolere edebildiği söylenebilir.

PK ekstraktlarına ait bulgular

PK ekstraktlarının lipit ortamlarına ilave edilmesiyle bulunan DPPH radikalini indirgeme aktivitelerine ait değerler Şekil 4.34'de gösterilmektedir. Ekstraktların ve modifikasyonların etkisi AÇ ekstraktlarının ilave edildiği lipit ortamlarına benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.34. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının DPPH radikal giderici etki analizi sonuçları

Emülsiyon ortamına PKMH ekstraktı ilavesiyle sağlanan inhibisyon %50,41'dir ve kontrol ile benzer bulunmuştur. PK ve PKD ekstraktları radikal giderme gücünü

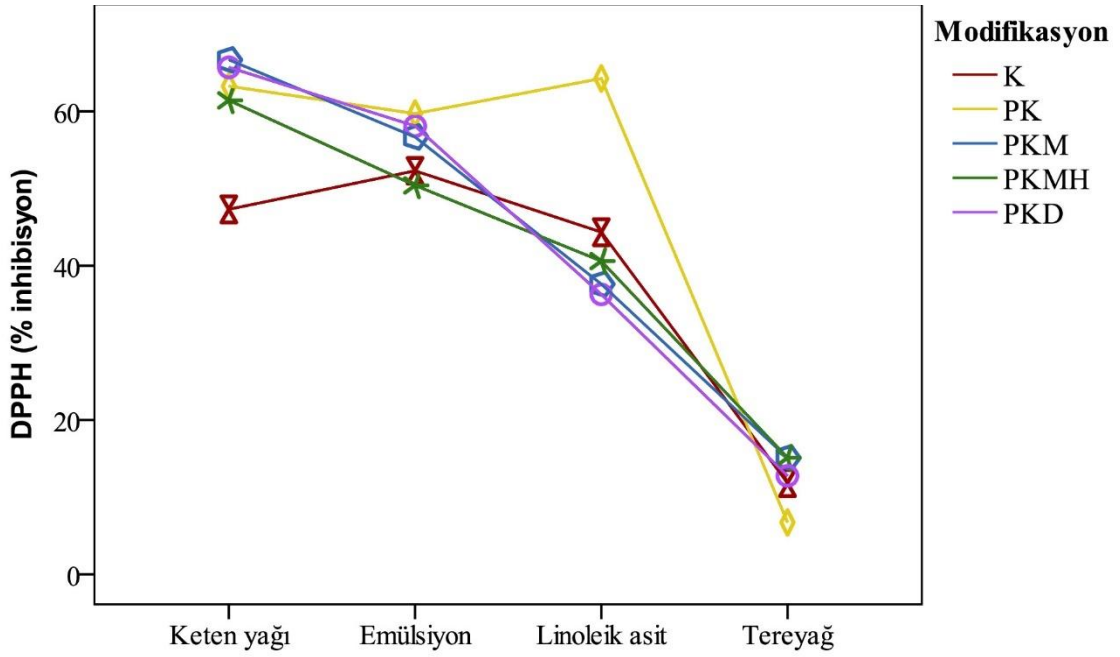
kontrole göre artırmış ve inhibisyon değerleri sırasıyla %59,72 - %58,11'dir. PKM ekstraktının ilavesi (%56,69), hem kontrole hem de PK ve PKD ekstraktları ilaveli emülsiyon örneklerine benzer inhibisyon değeri vermiştir. Balık yağı emülsiyonuna dört farklı fenolik bileşik (kateşin, kafeik, ferulik ve tannik asit) ilave edilerek bu bileşiklerin lipit oksidasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin, türlere ve moleküler yapıya göre değişiklik gösterdiğini bulmuşlardır. Lipit ortamının bileşimine göre en uygun fenolik bileşiğin seçilmesinin lipit oksidasyonunu geciktirmede büyük önem taşıdığını vurgulamışlardır (Maqsood ve Benjakul, 2010).

Keten tohumu yağı ortamında ham ve modifiye ekstraktların katıldığı örnekler kontrole göre daha yüksek radikal giderme gücüne sahiptir. Sayısal olarak PKM (%66,69) > PKD (%65,71) > PK (%63,27) > PKMH (%61,43) şeklinde sıralanan ekstraktların etkileri arasındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir ($p > 0,05$). Keramat ve Golmakani (2024b) yaptıkları bir çalışmada, rosmarinik asit ve türevlerini keten tohumu yağı, emülsiyon jel ve oleojel ortamlarına ilave ederek antioksidan etkinliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda türev bileşiklerinin lipit ortamlarında farklı etkinliğe sahip olduğunu bulmuşlardır.

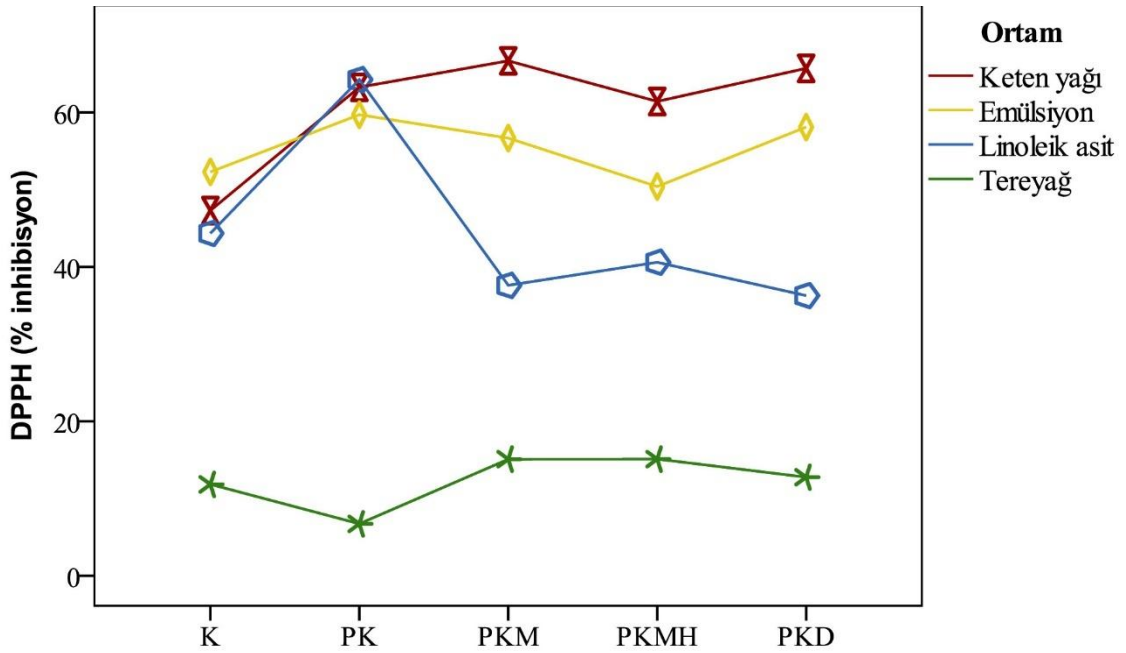
Tereyağı ortamında PKM ve PKMH ekstraktları ilave edilen örnekler, kontrole kıyasla %3,2'lik artışla %15,10'a ulaşmış ve birbiriyle aynı inhibisyon değerini göstermiştir. Gramza-Michalowska ve ark. (2007), çalışmalarında yeşil çay ve biberiye ekstraktlarının tereyağındaki antioksidan etkisini inceleyerek BHT ile kıyaslamışlardır. Sonuç olarak ekstraktların yüksek polifenol içeriği sebebiyle daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. PKD ekstraktı ilaveli tereyağ örneğinin kontrol ile aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir ($p > 0,05$). PK ekstraktı ise DPPH radikali giderme gücü bakımından olumsuz etki göstererek inhibisyon değerini %6,72'ye düşürmüştür.

PK ekstraktları ilave edilen linoleik asit ortamları tıpkı AÇ ilaveli linoleik asit örnekleri gibi sonuçlanmıştır. Ham ekstrakt ilavesiyle en yüksek inhibisyon değerine (%64,27) ulaşılırken, modifiye ekstraktların ilavesi kontrole göre radikal giderici etkiyi düşürmüştür. PK ilaveli örnek hariç diğer linoleik asit örnekleri DPPH radikal giderici etki değerleri bakımından sıralanacak olursa K (%43,68) > PKMH (%40,61) > PKM (%37,61) > PKD (%36,29) şeklindedir.

PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının DPPH radikal giderici etki analizine ait interaksiyon grafikleri Şekil 4.35 ve Şekil 4.36'da gösterilmiştir.



Şekil 4.35. PK ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksyonu



Şekil 4.36. PK ekstraktlarının DPPH radikal giderici etki değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

En yüksek DPPH radikali indirgeme etkisi PK ekstraktı ilaveli linoleik asit ortamında (~65%) görülmüştür. Modifikasyon uygulanmış ekstraktlarda inhibisyon gücü düşmüş, özellikle linoleik asit ortamında bu düşüş daha belirgin olmuştur. Carcho ve

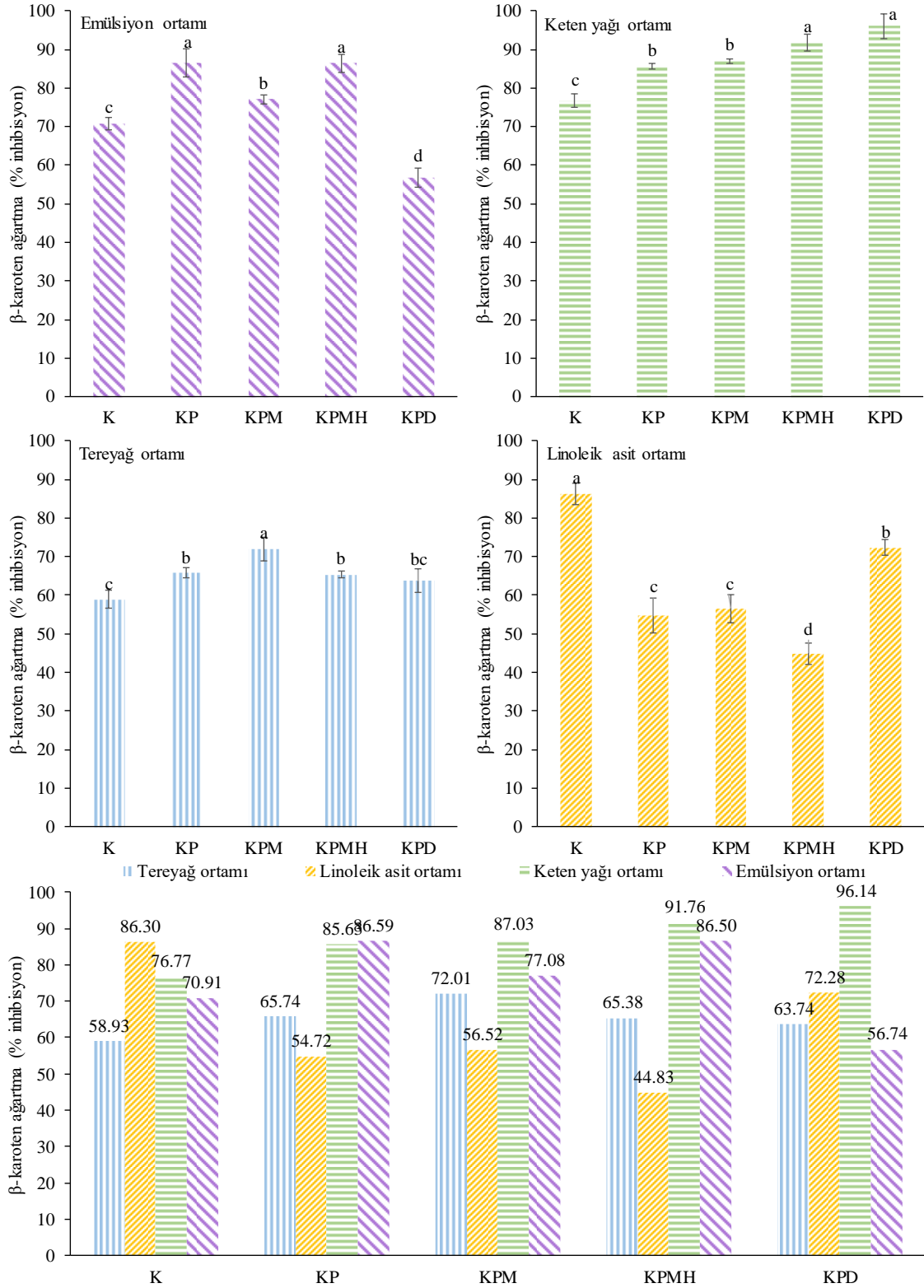
Ferreira (2013), yaptıkları çalışmada bazı fenolik bileşiklerin türevlerinin asıl molekülden daha düşük radikal giderme kapasitesine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Tereyağ ortamında, modifikasyon uygulanmış ekstraktlar PK'ya göre belirgin antioksidan aktivite artışı sağlamıştır. Keten tohumu yağı ortamında ise ekstraktların kullanımıyla kontrole göre etkin bir antioksidan özellik gözlenmiştir.

4.6.4. Linoleik asit/ β -karoten ağartma yöntemi ile antioksidan aktivite tayinine ait sonuçlar

Linoleik asit/ β -karoten ağartma yöntemi, ekstraktların yağ ve yağlı ortamlardaki antioksidan etkinliğini tayin etmek için yaygın kullanılan bir *in vitro* analiz yöntemidir. Analiz, emülsiyon ortamındaki linoleik asitin oksijen ve ısı ile radikallere dönüşmesi ve bu radikallerin β -karotenin sarı renginde açılmaya (ağarma) sebep olması prensibine dayanır. Ortamdaki antioksidan bileşiklerin aktivitesine bağlı olarak renkte gözlenen açılma azalmaktadır (Kulisic ve ark., 2004). Hidrojen atomu transferine dayanan bu analiz gıda örneklerinin antioksidan aktivitesini ölçmek için de literatürde sıkça karşımıza çıkmaktadır (Huang ve ark., 2005).

KP ekstraktlarına ait bulgular

Ham ve modifiye KP ekstraktların farklı lipit ortamlarındaki β -karoten antioksidan kapasiteleri (%inhibisyon) Şekil 4.37'de gösterilmiştir. En yüksek β -karoten ağartma değerleri keten tohumu yağı ortamında görülürken en düşük değerler linoleik asit ortamına aittir.



Şekil 4.37. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının β -karoten ağartma analizi sonuçları

Emülsiyon ortamı kontrol örneğine ait β -karoten antioksidan kapasitesi %70,91 olurken KP ekstraktlarının ortama eklenmesi genellikle bu değeri artırmıştır. En yüksek antioksidan etkiyi KP ve KPMH ekstraktları sağlamış ve %inhibisyon değeri sırasıyla

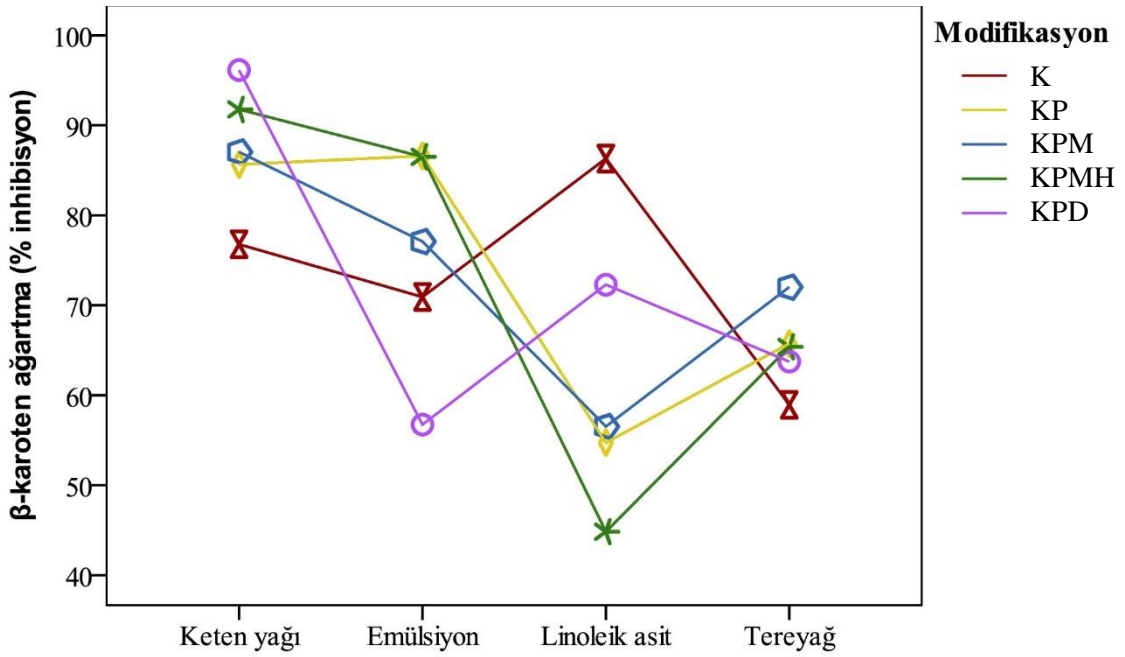
%86,59 - %86,50 olmuştur. Saada ve ark. (2019) kahve yan ürünlerinin antioksidan aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında kahve posası ekstraktlarının 600 µg/ml β-karoten ağartma değeriyle gıda proseslerinde antioksidan olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. KPM ekstraktı da kontrole göre daha yüksek β-karoten antioksidan kapasitesine sahip olarak %77,08 değerini vermiştir (Bernini ve ark., 2013). KPD ilaveli emülsiyon ortamında ise kontrole göre antioksidan kapasite düşerek inhibisyon değeri %56,74'e inmiştir. DPPH radikal giderici etkisi kontrole göre yüksek olan KPD ekstraktının β-karoten ağartma değeri emülsiyon ortamında en düşük bulunmuştur. Analiz ortamının ve prensibinin antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Huang ve ark., 2005).

Keten tohumu yağı ortamında KP ekstraktlarının hepsi antioksidan etki göstererek β-karoten antioksidan kapasitesilerini artırmıştır. DPPH radikalini giderme gücü analizinde olduğu gibi bu analizde de keten tohumu yağı ortamında kahve ekstraktları antioksidan aktivite göstermiş ve paralel sonuçlar vermiştir. KPMH (%91,76) ve KPD (%96,14) ekstraktları arasındaki fark önemsiz olacak şekilde en yüksek β-karoten antioksidan kapasitesini sağlamışlardır. KP ve KPM ekstraktlarının ilavesi de birbirine benzer ve sırasıyla %85,63 - %87,03 olmuştur. Böylece ekstraktların ilavesinin, keten tohumu yağının antioksidan kapasitesini kontrol örneğine göre (%76,77) anlamlı ölçüde yükselttiği bulunmuştur. Farklı kahve karışımları içeren kahve posası etanolik ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışmada β-karoten ağartma IC₅₀ değerleri 10,7-86,6 µg/mL aralığında değişkenlik göstermiştir (Balzano ve ark., 2020).

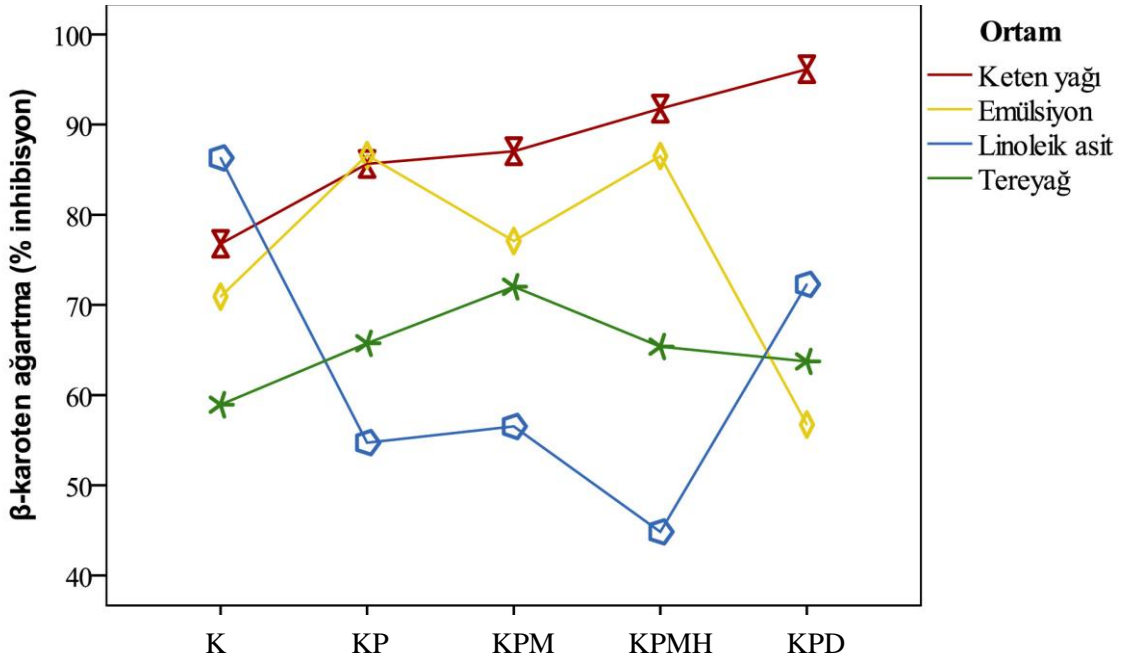
Tereyağ ortamında kontrol örneği %58,93 olurken KPD ekstraktının ilavesi kontrole benzer ancak sayısal olarak daha yüksek bir inhibisyon (%63,74) göstermiştir. KP ve KPMH ekstraktlarının kullanıldığı tereyağ örnekleri arasındaki fark önemsiz olacak şekilde β-karoten antioksidan kapasitesi kontrole göre yükselmiş ve inhibisyon değerleri sırasıyla %65,74 - %65,38 olmuştur. KPM ekstraktı ise en yüksek antioksidan etkiye ulaşılmasını sağlayarak %72,01 değerini vermiştir. Çakmakçı ve ark. (2023) %1-2-3 oranlarında yeşil çay tozu ilave ettikleri tereyağ örneklerinin çeşitli kimyasal ve duyuşsal özelliklerini incelemiş ve sonuçları ticari antioksidanların etkinliği ile karşılaştırmıştır. Çalışmanın sonucunda %1 oranında ilave yapılmasının en iyi sonucu verdiği ve antioksidan aktivite analizlerinde değerlerin BHT'yle aynı veya daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Linoleik asit ortamı kontrol numunesine ait β -karoten ağartma analizi sonucu %86,30'dur. Ekstraktların ilave edilmesiyle bu değer oldukça azalma göstermiştir. Hammaddeden bağımsız bir şekilde ham ve modifiye ekstraktların katıldığı linoleik asit örneklerinin hepsi kontrole göre daha düşük β -karoten antioksidan kapasitesine sahiptir. KP ekstraktlarının ilave edildiği linoleik asit ortamları kendi içinde antioksidan kapasiteye göre sıralanırsa, güçlüden zayıfa doğru sıralama KPD (%72,28) > KPM (%56,52) > KP (%54,72) > KPMH (%44,83) şeklindedir. Cam ve ark. (2024) yaptıkları bir çalışmada, nane distilasyonu sonrasında oluşan yan ürünlerin antioksidan potansiyellerini incelemişlerdir. Toplanan yan ürünlerden elde edilen ekstraktları 1 g/L oranında keten tohumu yağı ve ayçiçek yağına ilave etmişlerdir. Örneklerle 70 °C'de hızlandırılmış oksidasyon testi yapılmış ve sonuçta ekstraktların pro-oksidatif etkiler gösterdiği gözlenmiştir. Bu tez çalışmasında da ekstraktların linoleik asit ortamında prooksidan özellik gösterdiği düşünülmektedir.

KP ekstraktları ilave edilmiş lipid ortamlarının β -karoten ağartma analizi interaksiyon sonuçları Şekil 4.38 ve Şekil 4.39'da gösterilmiştir.



Şekil 4.38. KP ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait modifikasyon yöntemi ve lipid ortamı interaksiyonu



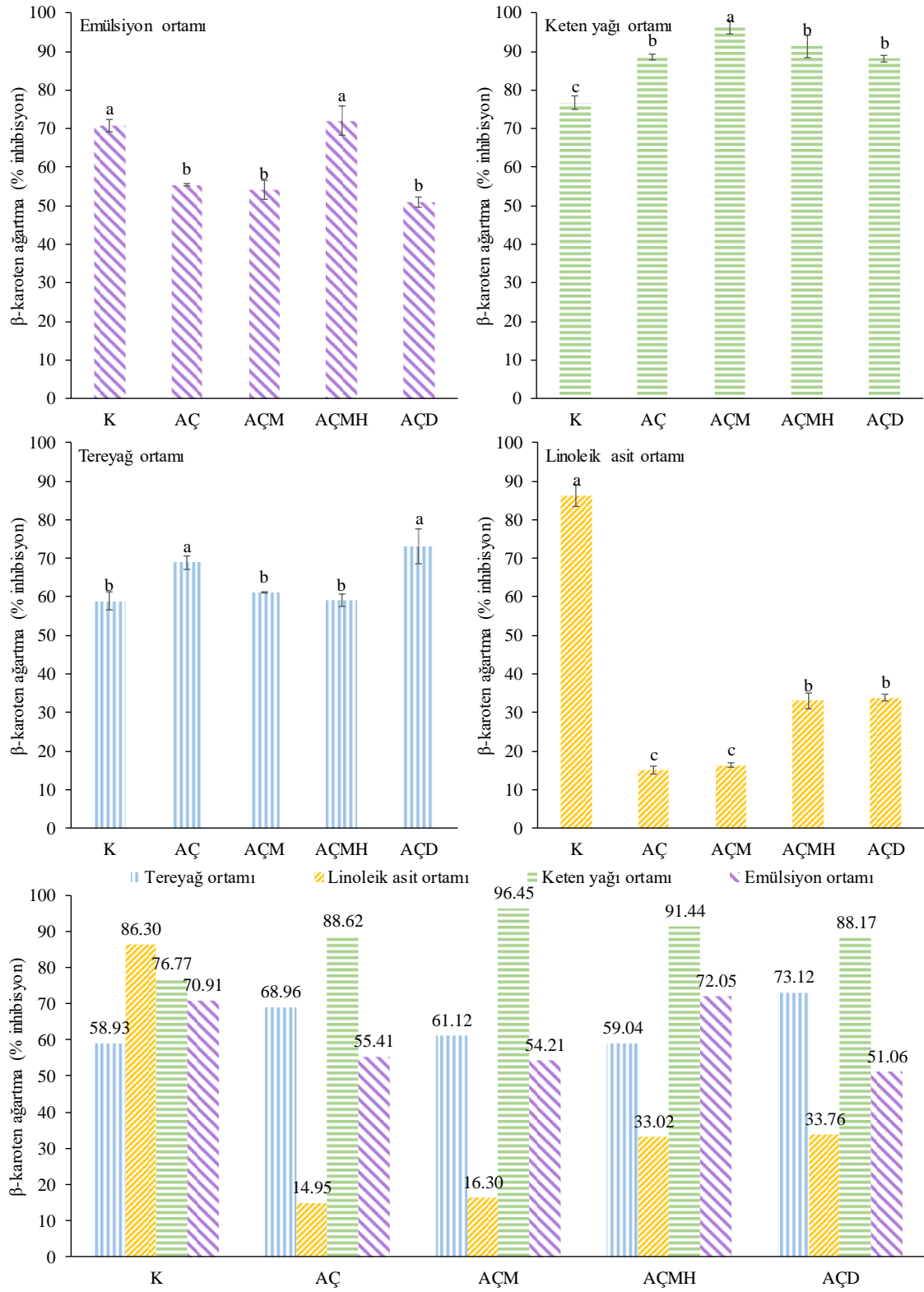
Şekil 4.39. KP ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksyonu

Keten tohumu yağı ortamında ekstrakt ilaveleri sonucu β -karoten ağartma sonuçları doğrusal bir artışla $KP < KPM < KPMH < KPD$ şeklinde sıralanmıştır. Dekarboksilasyon metodu bu ortamdaki antioksidan aktiviteyi en çok artıran yöntem olmuştur. Emülsiyon ortamında ise soğuk pres yağın aksine KPD ekstraktı en düşük inhibisyonu göstermiştir. Bu fark emülsiyon ortamında fenolik bileşiklerin çözünürlüğü ve ortamla etkileşiminin değişmesinden kaynaklanabilir (Shahidi ve Zhong, 2010). Linoleik asit ortamında tüm ekstraktlar düşük inhibisyon değerleri vermiştir. Özellikle KPMH ekstraktı, bu ortamdaki en düşük β -karoten antioksidan etkinliğini (~%45) göstermiştir. Bu durumun ortamın oksidatif duyarlılığının yüksek olması ve metilasyon uygulanan ekstraktın radikal giderme kapasitesinin yetersiz kalmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Tereyağ ortamında değerler birbirine yakın bulunurken KPM ekstraktı %72,01 ile ekstraktlar arasında öne çıkmaktadır. Bu sonuç metilasyon uygulanan fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olabileceğini doğrulamaktadır (Shieh ve ark., 2001).

AÇ ekstraktlarına ait bulgular

AÇ ekstraktlarının lipit ortamlarına ilave edilmesiyle elde edilen β -karoten ağartma analizi sonuçları Şekil 4.40'da gösterilmiştir. Lipit ortamlarının sonuçlarına

bakıldığında genel olarak keten tohumu yağında en yüksek değerler tespit edilmiştir, linoleik asit ortamında düşük β -karoten antioksidan kapasitesi görülmüştür.



Şekil 4.40. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının β -karoten ağartma analizi sonuçları

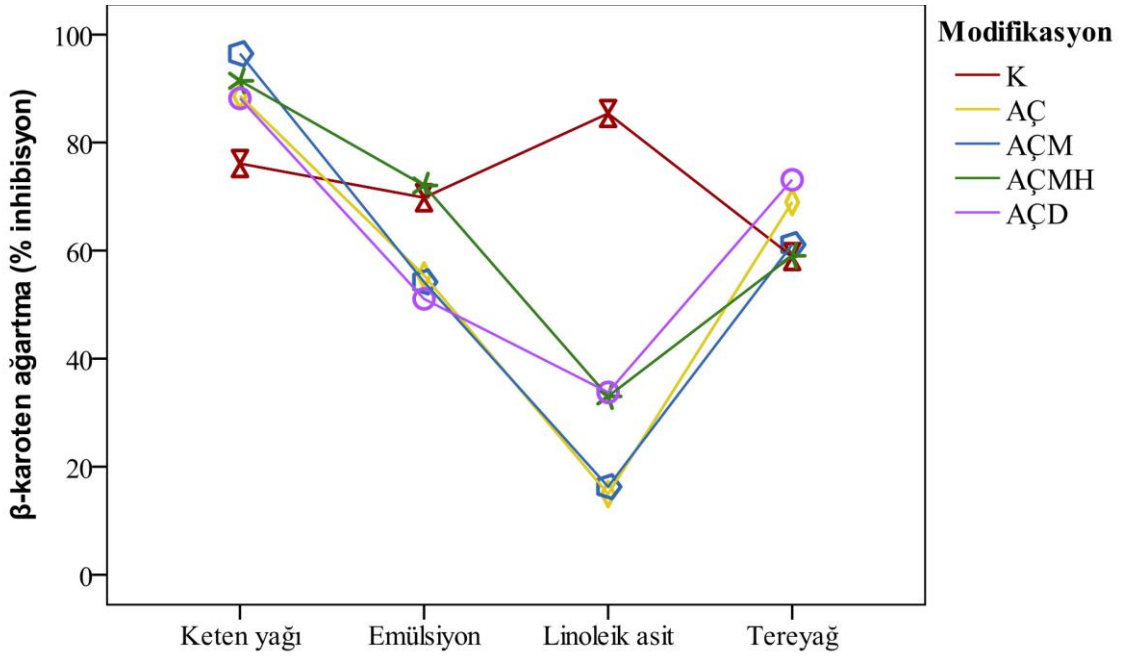
Emülsiyon ortamına ilave edilen AÇ ekstraktlarının β -karoten ağartma sonuçları kontrole benzer veya daha düşük olmuştur. AÇMH ekstraktı ilavesi (%72,05), kontrole göre sayısal bir inhibisyon artışı sağlamıştır ancak aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). AÇ, AÇM ve AÇD ekstraktlarının β -karoten antioksidan kapasiteleri birbirine benzer ve kontrolden daha düşüktür. Bu ekstraktların emülsiyon ortamında radikal giderme etkinliğinin düşük olduğu varsayılabılır (Xu ve ark., 2017). Aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsiz olan bu ekstraktların inhibisyon değerleri sıralaması büyükten küçüğe doğru AÇ (%55,41) > AÇM (%54,21) > AÇD (%51,06)'dir.

Keten tohumu yağı ortamında AÇ ekstraktları da KP ekstraktları gibi yüksek antioksidan etki göstermiş ve β -karoten antioksidan kapasiteleri kontrolden daha fazla olmuştur. En fazla antioksidan etki AÇM ekstraktının ilavesiyle görülmüş ve inhibisyon değeri %96,45'e ulaşmıştır (Bernini ve ark., 2013). AÇ (%88,62), AÇMH (%91,44) ve AÇD (%88,17) ekstraktları da kontrole göre daha yüksek antioksidan aktivite sağlamıştır ve aralarındaki fark istatistiki olarak önemsizdir ($p>0,05$). AÇMH en yüksek lipofilisiteye sahip ekstrakt olarak yüksek antioksidan aktivite sağlamıştır ve ekstraktların β -karoten ağartma değerleri DPPH radikal giderme aktiviteleriyle uyumludur. Shariatifar ve ark. (2014), bir çalışmalarında soya yağına biberiye ekstraktı ilave etmiş ve oksidasyon parametrelerini incelemiştir. Soya yağının β -karoten ağartma değeri %5,94 bulunurken etanol ve su ile hazırlanmış ekstraktlar ilave edildiğinde %85,56 - 87,41 oranında inhibisyon gerçekleştiği bulunmuştur.

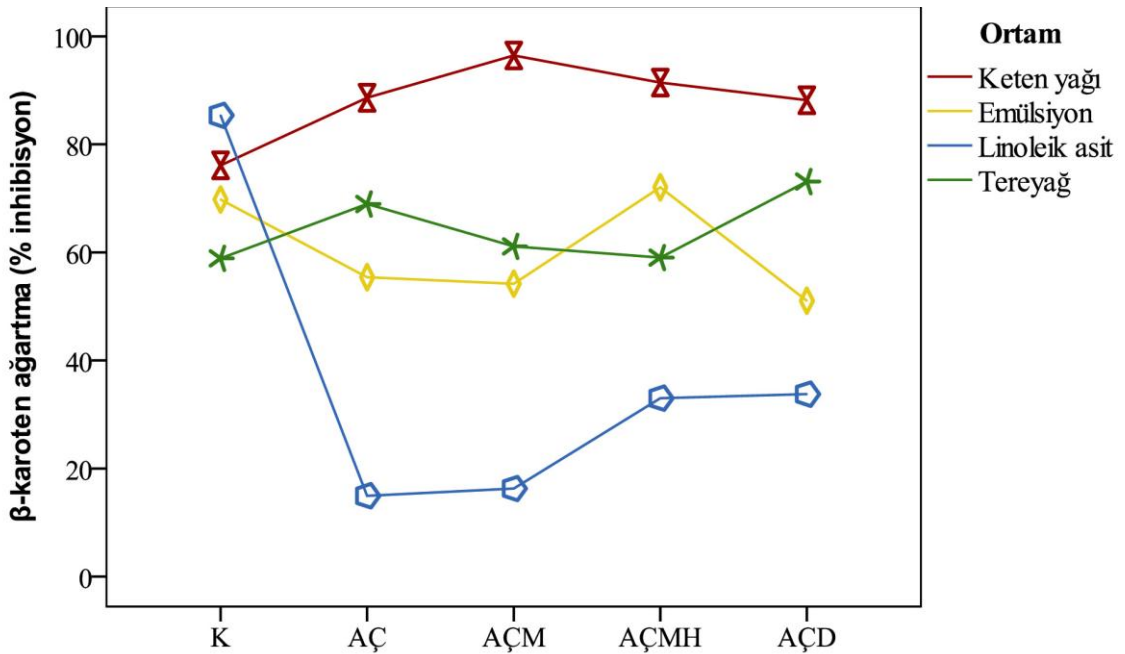
Tereyağ ortamına AÇM ve AÇMH ekstraktlarının ilavesiyle elde edilen örnekler ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. AÇ ve AÇD ilaveleri ise tereyağ örneklerinin antioksidan aktivitesini kontrole göre artırarak inhibisyon değerini sırasıyla %68,96 ve %73,12'ye çıkarmıştır. Pawar ve ark. (2012), sade yağa çeşitli bitki ekstraktları ilave etmiş ve oksidasyon üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmalarının sonucunda ekstraktların BHA'ya göre düşük antioksidan aktivite gösterdiğini ancak değerlerin kontrol örneğinden daha yüksek olduğu ifade edilmiştir.

Linoleik asit ortamına koyulan ekstraktlar diğer hammaddelerde olduğu gibi β -karoten ağartma sonuçlarını oldukça düşürmüştür. Hammaddeler kıyaslandığında en fazla azalma AÇ ham ve modifiye ekstraktlarının ilavesiyle görülmüştür. AÇMH ve AÇD ekstraktları ile alınan sonuçlar arasındaki fark önemsiz ve inhibisyon değerleri sırayla %33,02 ve %33,76'dır. AÇ ekstraktı ilaveli linoleik asit örneği %14,95 ile en düşük β -karoten antioksidan kapasitesini göstermiştir. AÇM ekstraktıyla alınan sonuç AÇ'den istatistik olarak farksızdır ve inhibisyon değeri %16,30 bulunmuştur.

AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının β -karoten ağartma analizi interaksiyon sonuçları Şekil 4.41 ve Şekil 4.42'de gösterilmiştir.



Şekil 4.41. AÇ ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

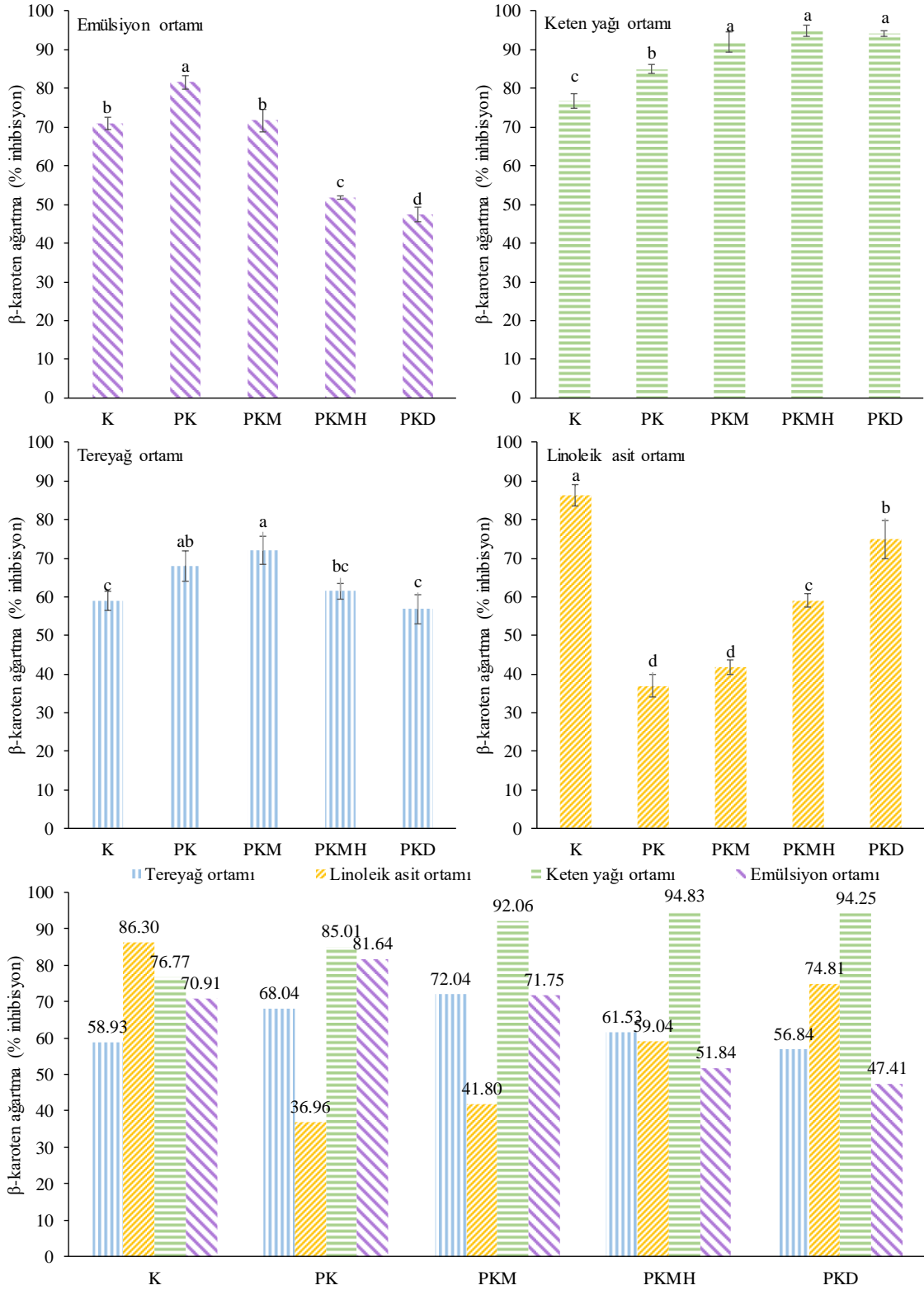


Şekil 4.42. AÇ ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

Keten tohumu yağı ortamı tüm ekstraktlar için en yüksek inhibisyon değerlerine sahiptir. Özellikle AÇM ekstraktı %100'e yakın β -karoten antioksidan kapasitesi göstermiştir. Chen ve ark. (2020)'da metilasyon uygulanan fenolik bileşiklerin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ifade etmektedir. Diğer lipit ortamlarına kıyasla modifikasyonlu ekstraktların keten tohumu yağı ortamında yüksek koruma sağlaması, keten tohumu yağının lipofilik özelliğinin fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesini desteklediği yorumu yapılabilir. Linoleik asit ortamında en düşük inhibisyon değerleri tespit edilmiştir. Özellikle AÇ ve AÇM ekstraktlarının bu ortamda oldukça düşük etkinlik göstermesi, ekstraktların linoleik asit ortamının yüksek oksidatif duyarlılığına dayanıklı olmadığını göstermektedir (Sáyago-Ayerdi ve ark., 2009). Tereyağ ortamı, diğer lipit sistemlerine göre ortalama inhibisyon değerlerine sahiptir ve AÇ ile AÇD ekstraktları yüksek β -karoten antioksidan kapasite değerleriyle öne çıkmaktadır.

PK ekstraktlarına ait bulgular

PK ham ve modifiye ekstraktlarının lipit ortamlarına ilavesiyle elde edilen β -karoten ağartma analizi sonuçları Şekil 4.43'de verilmiştir. PK ekstraktları eklenmiş keten tohumu yağı örneklerinde yüksek β -karoten ağartma değerleri görülürken linoleik asit ortamında düşük inhibisyon yüzdeleri görülmüştür.



Şekil 4.43. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının β -karoten ağartma analizi sonuçları

Emülsiyon ortamında PKM ilavesi (%71,75) kontrol ile benzer antioksidan aktivite göstermiştir. PKMH ekstraktının ilavesi kontrole göre β -karoten antioksidan kapasitesini %26 azaltarak inhibisyon değerini %51,84'e düşürmüştür. Antioksidan

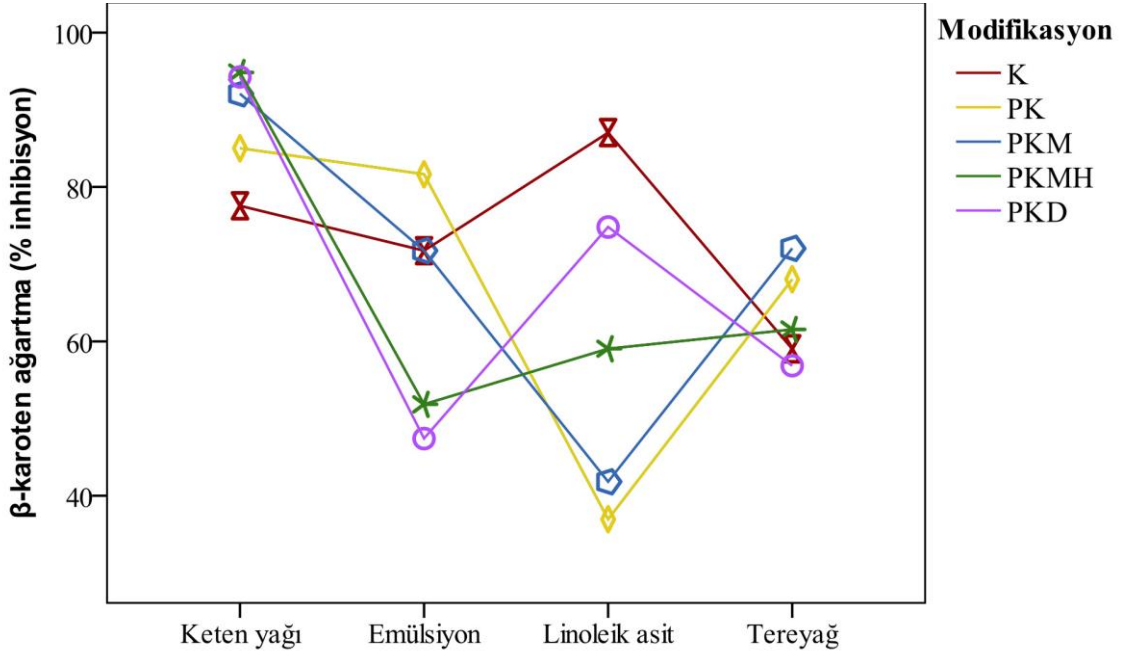
kapasitenin en düşük olduğu örnek PKD ilaveli emülsiyon örneğidir (%47,41). Modifikasyon uygulamalarının, emülsiyon gibi kompleks ortamlarda ekstraktların inhibisyon kapasitesini sınırlamış olabileceği düşünülmüştür (Shahidi ve ark., 2009).

Keten tohumu yağlarında ham ve modifikasyonlu ekstraktların ilaveleri β -karoten ağartma değerlerini önemli seviyede artırmıştır. PK ham ekstraktının ilavesi antioksidan kapasiteyi %76,77'den %85,01'e yükseltmiştir. PKM (%92,06), PKMH (%94,83) ve PKD (%94,25) ekstraktları ile β -karoten antioksidan kapasiteleri kontrole göre oldukça yükselmiş ve aralarındaki fark önemsizdir ($p>0,05$). Nagarajan ve ark. (2020) da çalışmalarında, polimerize epikateşin bileşiğinin keten tohumu yağı oksidasyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Keten tohumu yağı oksidatif stabilitesini artırmaya yönelik yapılan başka bir çalışmada *Rosmarinus officinalis* L. ekstraktı kullanılmış ve yağın peroksidasyonu inhibe edilebilmiştir (Wang ve ark., 2018).

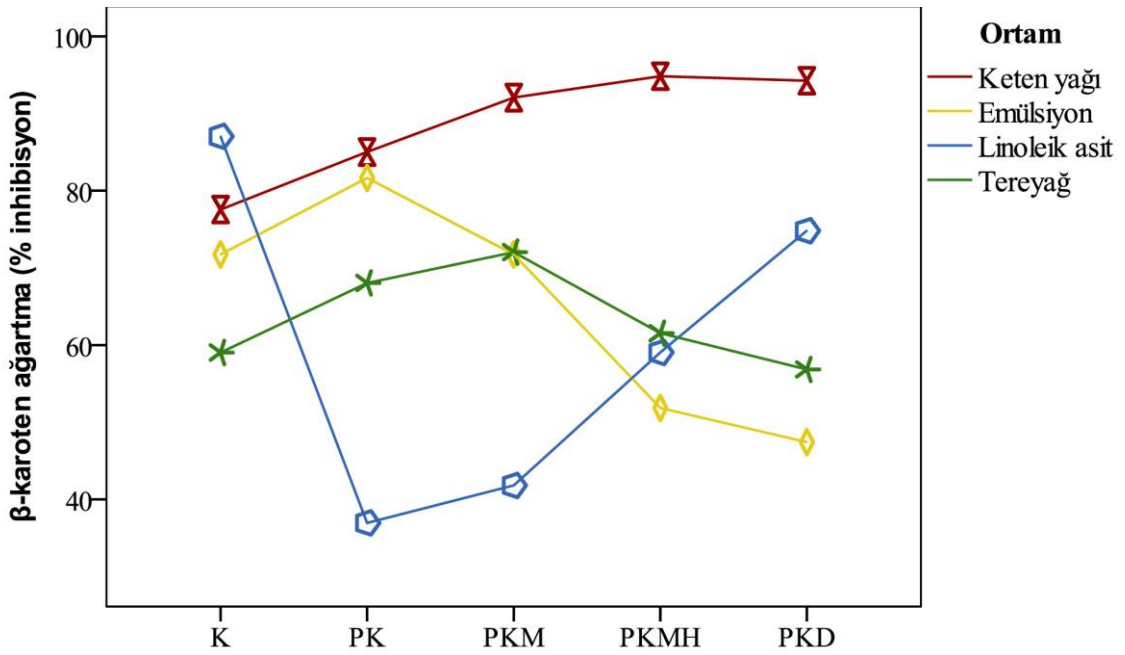
PK ekstraktları ilaveli tereyağ örneklerinin β -karoten ağartma analizi sonuçları %56,84 ile %72,04 arasında değişkenlik göstermektedir. PKD ilavesi kontrol ile benzer değer vererek antioksidan kapasite üzerine etkisiz kalmıştır. Nispeten daha yüksek inhibisyon sağlayan ancak kontrol ile istatistiki açıdan benzer sonuç veren PKMH ilave edilen örnekte inhibisyon değeri %61,53 olmuştur. En yüksek antioksidan aktivite PKM ekstraktı ile sağlanmış olup inhibisyon değeri %72,04'tür. PK (%68,04) ham ekstraktı ise PKM'nin etkisine benzer antioksidan aktivite göstermiştir ve aralarındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Wojdyło ve ark. (2005), tereyağı üretim aşamasında formülasyona 500 ppm oranında iki farklı ekstrakt (*Scutellaria baicalensis* ve *Crataegus oxyacantha*) ilave etmiş ve oksidasyon analizleri yapmışlardır. Çalışma sonucunda ekstraktlar ile elde edilen tüm polifenollerin tereyağı ortamında aktif antioksidan etkinlik gösteremeyeceğini ve uygun bileşiğin seçilmesinin önemli olduğunu bulmuşlardır.

Linoleik asit ortamında PK ekstraktlarının β -karoten ağartma analizi sonuçları düşükten yükseğe doğru sıralanacak olursa PK (%36,91) < PKM (%41,80) < PKMH (%59,04) < PKD (%74,81)'dir. Tüm PK ekstraktları linoleik asitin β -karoten antioksidan kapasitesi üzerine olumsuz etki göstermiştir. Dueñas ve ark., (2010) çalışmalarında, düşük pH değerlerinde antioksidan bileşiklerin etkinliğinin de düşük olduğunu ifade etmiştir. Linoleik asit ortamında ekstraktların etkisiz kalması bununla ilişkilendirilebilir.

PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının β -karoten ağartma analizi interaksiyon sonuçları Şekil 4.44 ve Şekil 4.45'de gösterilmiştir.



Şekil 4.44. PK ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu



Şekil 4.45. PK ekstraktlarının β -karoten ağartma analizine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

Keten tohumu yağı ortamında ekstraktların inhibisyon davranışları, AÇ ekstraktlarının ilavesinde olduğu gibi doğrusal bir şekilde artış göstermiştir. Artan β -karoten ağartma değerleri sırasıyla PK < PKM < PKMH < PKD'dir. Emülsiyon ortamında modifikasyon işlemleri inhibisyon yüzdesini azaltırken PKM ekstraktında

diğerlerine göre azalma daha azdır. Linoleik asit ortamı lipit ortamları kontrol numuneleri arasında en yüksek β -karoten antioksidan kapasitesine ulaşırken PK ve PKM örnekleri bu değeri oldukça düşürmüştür. AÇ ekstraktlarında da aynı durumun görülmesi bu iki hammaddeden alınan fenolik bileşiklerin davranışlarının benzer olduğunu göstermiştir. PKM ekstraktının hem yağ/su emülsiyonları hem de su/yağ emülsiyonlarında (tereyağ) etkili bir antioksidan olabileceği tespit edilmiştir. PK ekstraktlarının (PK, PKM, PKMH, PKD) en yüksek antioksidan etkinliği lipit ortamları kıyaslandığında keten tohumu yağında görülmüştür.

4.6.5. UV özgül absorbans değerlerine (K_{232} ve K_{270}) ait bulgular

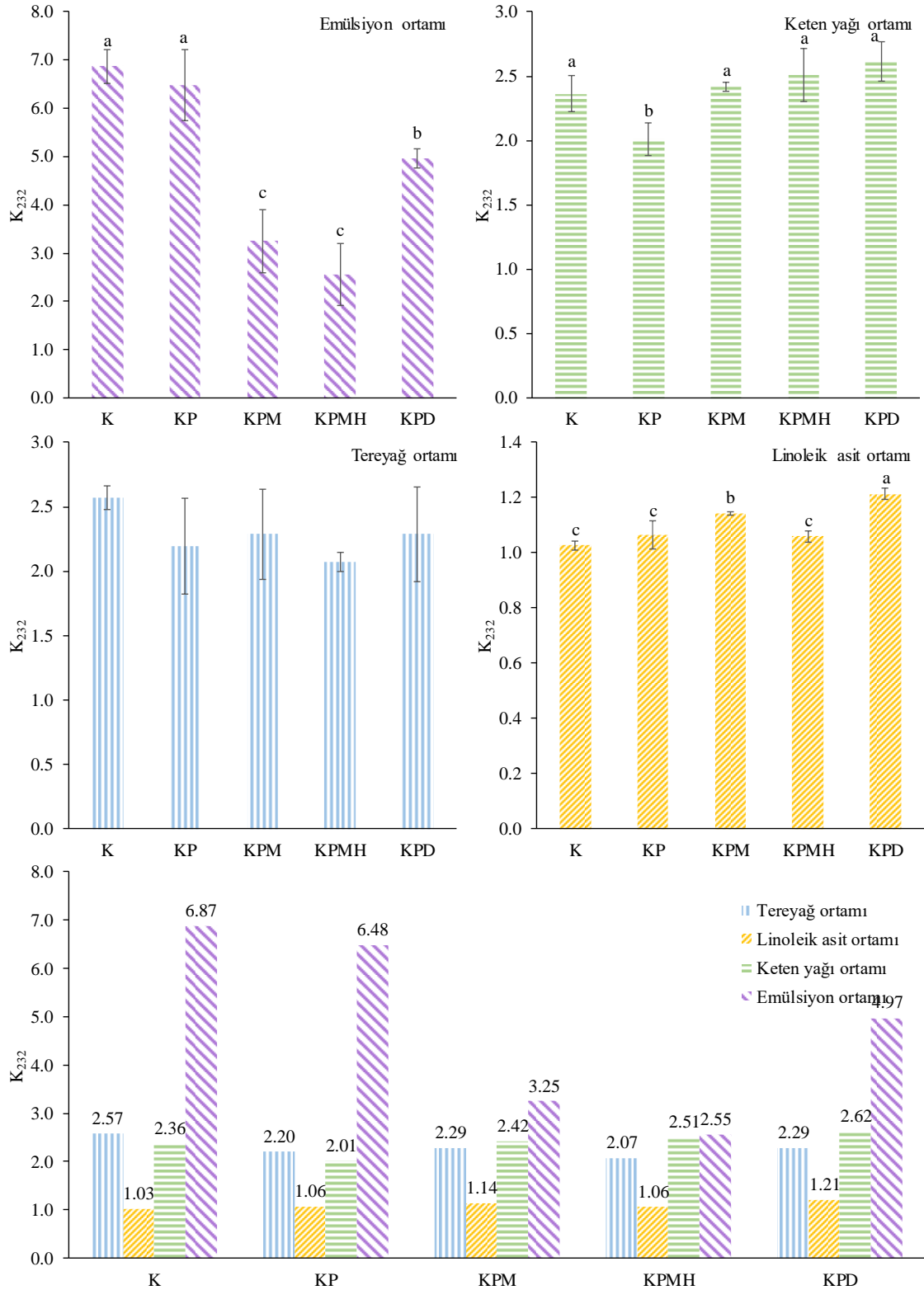
Lipit oksidasyonu sırasında ilk olarak birincil oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitler ve konjuge dienler, daha sonra oksidasyonun ilerlemesiyle ikincil oksidasyon ürünleri olan aldehitler, ketonlar, konjuge trienler ve epoksitler oluşur. UV-spektrofotometrede 232 ve 270 nm dalga boylarında bu oksidasyon ürünlerinin absorplanması prensibine dayalı K_{232} ve K_{270} analizleri yağın veya yağlı gıdaların oksidasyon durumunu belirtir. Yeni ve iyi koşullarda işlenmiş yağların K_{232} ve K_{270} analiz sonuçlarının sırasıyla 2,50 ve 0,22 değerlerini aşmaması beklenir (Tarapoulouzi ve ark., 2022). Bu değerler yağın cinsine, üretim ve depolama koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Javidipour ve ark., 2017).

KP ekstraktlarına ait bulgular

KP ekstraktlarının ilave edildiği lipit ortamlarına ait UV özgül absorbans değerleri (K_{232} ve K_{270}) sonuçları Şekil 4.46 ve Şekil 4.47'de verilmiştir. Lipit ortamları kıyaslandığında birincil oksidasyon ürünlerinin göstergesi olan K_{232} değerleri en yüksek emülsiyon ortamındadır. Birincil oksidasyon ürünlerinin miktarını gösteren diğer bir analiz olan peroksit değerleriyle karşılaştırıldığında emülsiyon ortamına ait sonuçlar birbiri ile uyumludur. Bu iki analiz sonucuna göre oksidasyona yatkınlığın en yüksek olduğu lipit ortamı emülsiyondur.

İkincil oksidasyon ürünlerinin miktarını gösteren K_{270} analizi sonuçları, tüm hammaddeler ve lipit ortamları için oldukça düşük seyretmiştir. Bu sonuçlar, lipit ortamlarının oksidasyon düzeylerinin henüz yükselmediğini göstermektedir. Bulunan K_{270} sonuçları arasında en yüksek değerlerin gözlemlendiği lipit ortamı emülsiyon olmuştur. Diğer oksidasyon analiz sonuçları da düşünüldüğünde bu beklenen bir durumdur. Yağ/su

emülsiyon ortamları daha geniş yüzey alanı içermesi ve su fazının katalizör etkisiyle serbest radikal oluşumunu hızlandırması sonucu diğer lipit ortamlarından daha düşük oksidatif stabilite gösterir (McClemenets ve Decker, 2000).



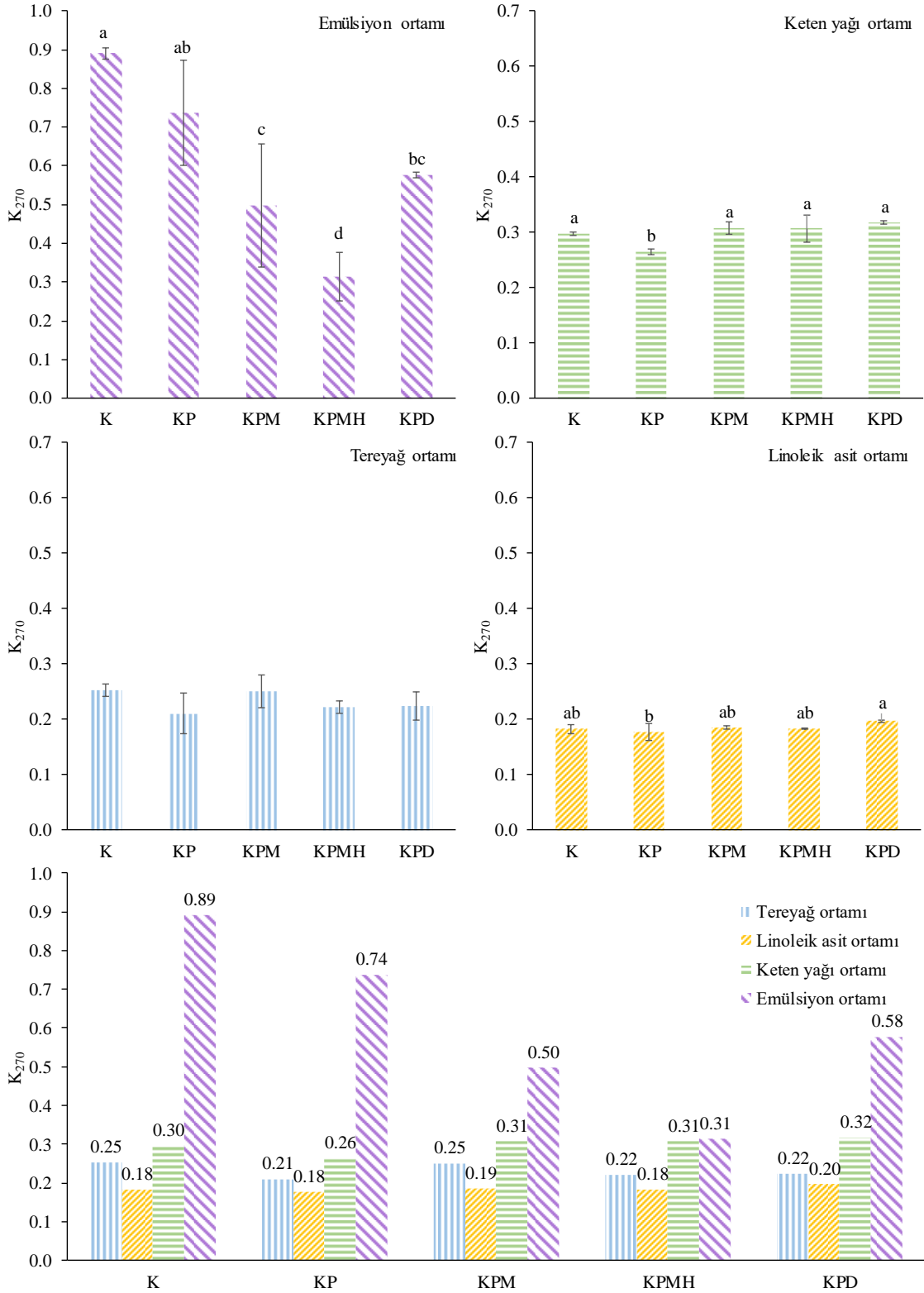
Şekil 4.46. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K₂₃₂ analizi sonuçları

KP ekstraktları ilave edilen lipit ortamlarının K_{232} değerleri 1,03 ile 6,87 arasında değişiklik göstermektedir. Emülsiyon ortamının kontrol değeri 6,87'dir. Ham KP ekstraktının ilavesi kontrole benzer olarak 6,48 bulunmuştur. Modifiye ekstraktların ilavesi ise emülsiyon ortamlarının K_{232} değerlerini önemli ölçüde düşürmüştür ($p<0,05$). Azalmanın en fazla olduğu örnek KPMH ilaveli emülsiyon ortamıdır ve 2,55 olarak bulunmuştur. KPM ekstraktı da benzer etki göstererek K_{232} değerini 3,25'e düşürmüştür. KPMH ve KPM ekstraktlarının etkisi arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). KPD ekstraktının ilavesi sonucu K_{232} değeri 4,97 bulunması nedeniyle bu ekstraktın, oksidasyonu geciktirme bakımından ortalama bir etkisi olduğu söylenebilir. Kontrol örneğinin en yüksek değere sahip olması oksidatif stresin göstergesidir. KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarının ilavesiyle bu değer azalmasından, modifiye ekstraktların emülsiyon ortamında antioksidan aktivite göstererek peroksit ve konjuge dienlerin varlığını azalttığı sonucuna ulaşılabilir.

Keten tohumu yağı ortamında kontrol örneğine ait K_{232} değeri 2,36'dır. Modifiye ekstraktların ilave edilmesi K_{232} değeri üzerinde etkisiz kalmış ve kontrole benzer olarak KPM: 2,42, KPMH: 2,51 ve KPD: 2,62 değerlerini vermiştir. Ham ekstrakt (KP) ise K_{232} değerinin 2,01'e düşmesini sağlayarak birincil oksidasyon ürünlerinin miktarında anlamlı bir azalma sağlamıştır.

Tereyağ ortamı kontrol örneğine ait K_{232} değeri 2,57'dir. Ham ve modifiye ekstraktların ilavesiyle tereyağ ortamlarındaki değişimler istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). KP, KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarının ilave edildiği tereyağ örneklerine ait K_{232} değerleri sırasıyla 2,20, 2,29, 2,07 ve 2,29 olmuştur.

Linoleik asit ortamlarına ait K_{232} değerleri incelendiğinde 1,03 bulunan kontrol örneği, KP ve KPMH ekstraktlarının ilavesiyle benzer değerde kalmıştır ve örnekler arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). KPM (1,14) ve KPD (1,21) ekstraktları ise linoleik asit örneklerinin K_{232} değerini kontrole göre yükselterek olumsuz bir etkiye sebep olmuştur. İki ekstrakt arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.47. KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K_{270} analizi sonuçları

K_{270} değerleri incelendiğinde, KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarında en yüksek değerler emülsiyon ortamlarında görülürken en düşük değerler linoleik asit ortamlarında bulunmuştur. Ancak bütün değerler birbirine oldukça yakındır. Tereyağ

ortamına ham ve modifiye KP ekstraktlarının ilavesi kontrole göre anlamlı bir değişim göstermemiştir. Benzer şekilde linoleik asit ortamlarına ait K_{270} değerleri 0,18 (K, KP, KPMH) – 0,19 (KPM) – 0,20 (KPD) olarak bulunurken kontrol ile diğer örnekler arasındaki fark önemsizdir ($p>0,05$). İstatistiki olarak farkın önemli olduğu örnekler aşağıda ifade edilmiştir.

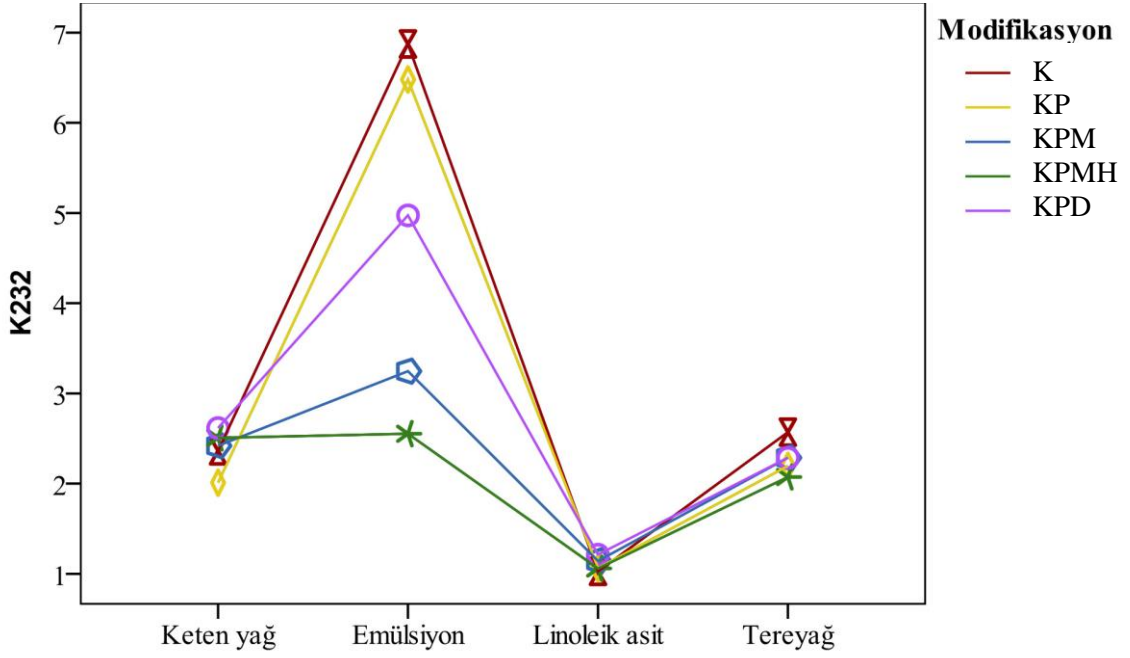
Emülsiyon ortamı K_{270} değeri 0,89'dur. KPM ve KPMH ekstraktları ilave edildiğinde K_{270} değeri kontrole göre önemli seviyede azalmış ve sırasıyla 0,50 – 0,31 olmuştur. Kontrole göre en belirgin azalmayı KPMH ekstraktı sağlamıştır. KP ekstraktı emülsiyon ortamında K_{270} değerini kontrole göre sayısal olarak düşürse de aralarındaki fark önemsizdir ($p>0,05$). KPD ekstraktı ile alınan sonuç ise 0,58 olup hem KPM hem de KP ile benzerdir.

Keten tohumu yağı ortamının kontrol K_{270} değeri 0,30'dur ve KPM, KPMH ve KPD ekstraktlarının ilavesiyle bu sonuçta anlamlı değişim görülmemiştir ($p>0,05$). KP ham ekstraktının ilavesi ise keten tohumu yağının K_{270} değerini 0,26 yaparak anlamlı bir azalma sağlamıştır.

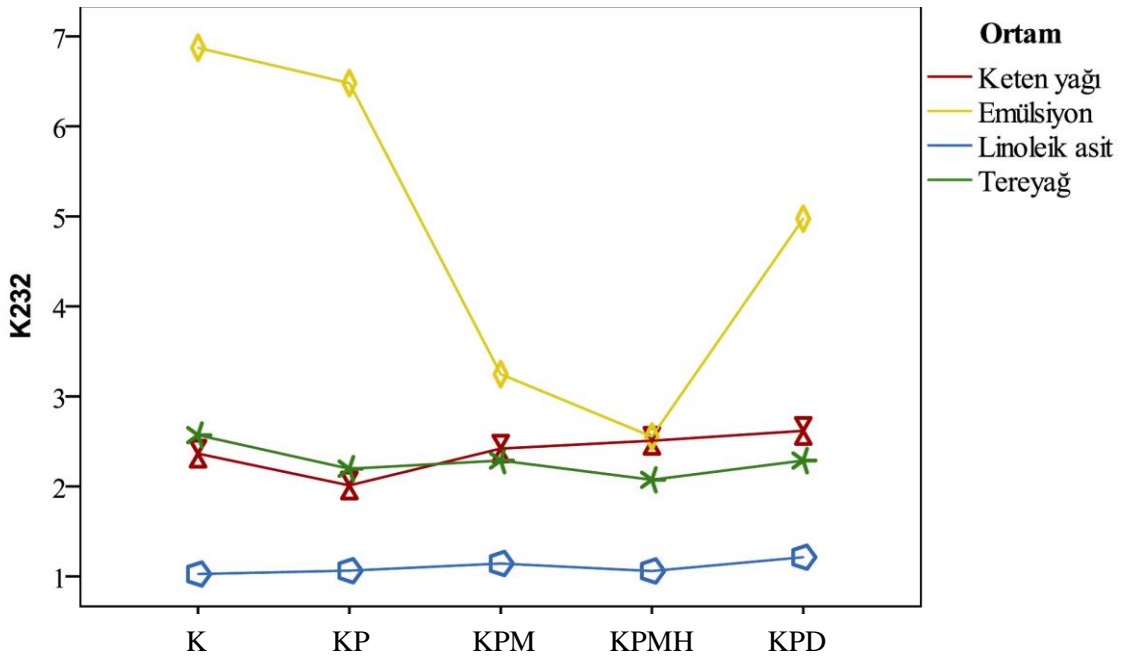
Fındık, zeytinyağı, soya ve ayçiçek yağlarının mikrodalga ile ısıtılması sonucu oksidasyon değişimleri incelenmiş ve oksidasyon ürünleriyle ilgili analiz sonuçları ortaya konmuştur. Çalışmada kullanılan yağların K_{232} değerleri sırasıyla 5,38 – 3,70 – 14,56 – 13,38 ve K_{270} değerleri ise 1,40 – 0,93 – 1,91 – 1,66 olarak bulunmuştur. 3 dk mikrodalga ısıtma sonucunda K_{232} ve K_{270} değerleri artmıştır. Ancak 9 dk boyunca ısıtılan örneklerde K_{232} sonuçları (sırasıyla; 4,41 – 3,25 – 12,23 – 10,89) kontrole göre azalma gösterirken K_{270} değerleri (sırasıyla: 2,40 – 1,17 – 5,36 – 4,38) artmaya devam etmiştir. Bu sonuç oksidasyonun ilerlediğini ve ikincil oksidasyon ürünlerinin oluştuğu zincir reaksiyonlarının devam ettiğini göstermektedir. Ayrıca çalışmada soya ve ayçiçek yağlarının yüksek linoleik asit içeriği sebebiyle K_{232} başlangıç ve son değerlerinin yüksek bulunduğu ifade edilmiştir (Javidipour ve ark., 2017).

Ismaiel ve ark. (2022), bir çalışmalarında antep fıstığı yağı içeren yağ/su emülsiyonunun fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. İki farklı ticari yağ ile hazırladıkları emülsiyon ortamlarının K_{232} değerlerini 2,62 ve 2,72, K_{270} değerlerini ise 0,21 ve 0,19 bulmuşlardır.

KP ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K_{232} ve K_{270} analizleri interaksiyon sonuçları Şekil 4.48 - 4.49 ve Şekil 4.50 – 4.51'de gösterilmiştir.



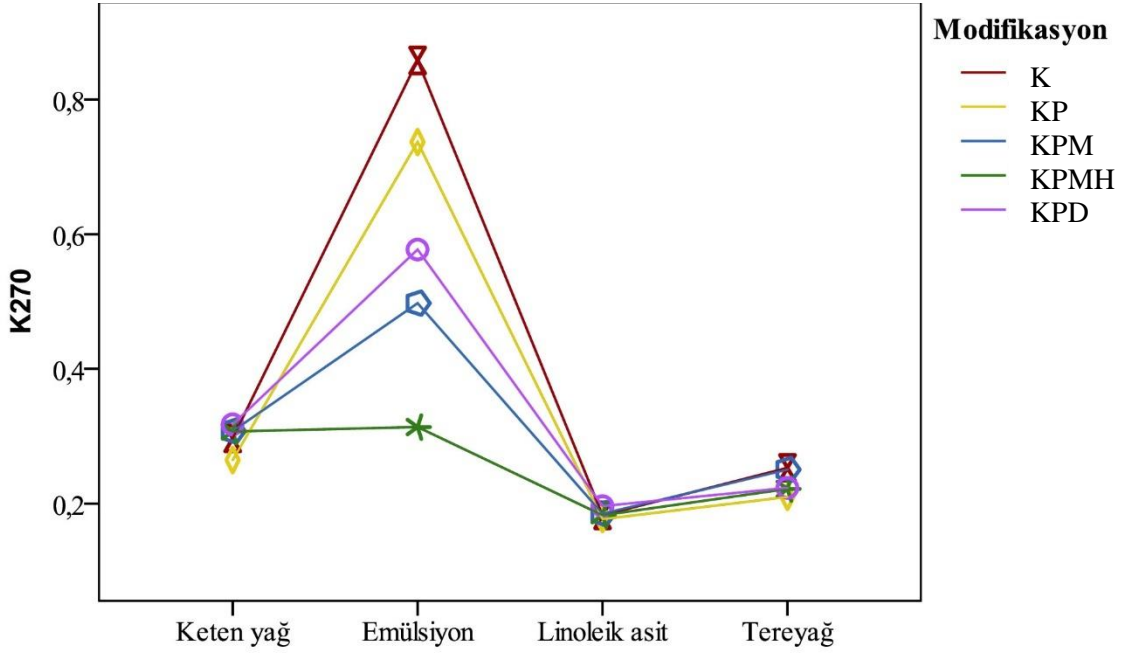
Şekil 4.48. KP ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu



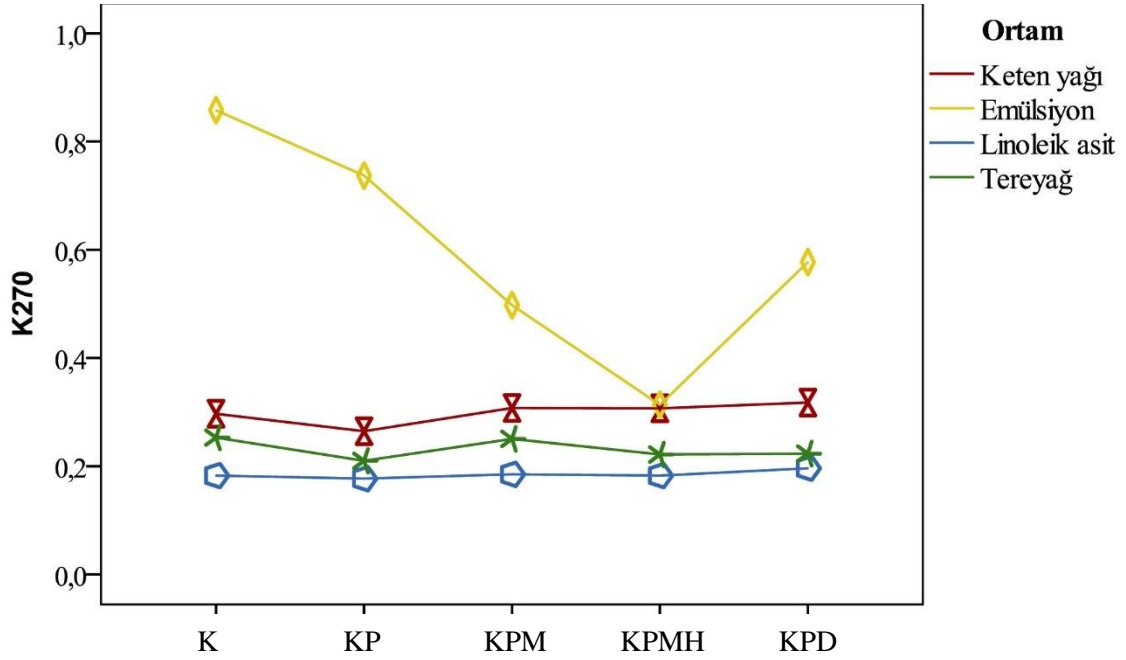
Şekil 4.49. KP ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

K_{232} değerlerine bakıldığında, emülsiyon ortamının oldukça yüksek olduğu ve ham KP ekstraktının bu değeri düşürmede anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Emülsiyon ortamındaki en güçlü etki modifikasyonlu ekstraktlardan KPMH'ye aittir. Diğer lipit ortamlarının K_{232} değerleri daha düşüktür. KPM ve KPD ekstraktlarının linoleik asit ortamındaki değerleri kontrole göre yüksek olsa da tüm değerler 1,03 – 1,21 arasında değişmektedir. Dolayısıyla KP ekstraktı eklenen lipit ortamları arasında en

düşük değerler linoleik asite aittir. Ekstraktların K_{232} değerleri üzerindeki etkisinin ayrıldığı ortam emülsiyon olmuştur. Bu ortamdaki sonuçlara bakıldığında ekstraktların oksidasyonu yavaşlatma etkisi yüksekten düşüğe $KPMH > KPM > KPD > KP$ şeklindedir.



Şekil 4.50. KP ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

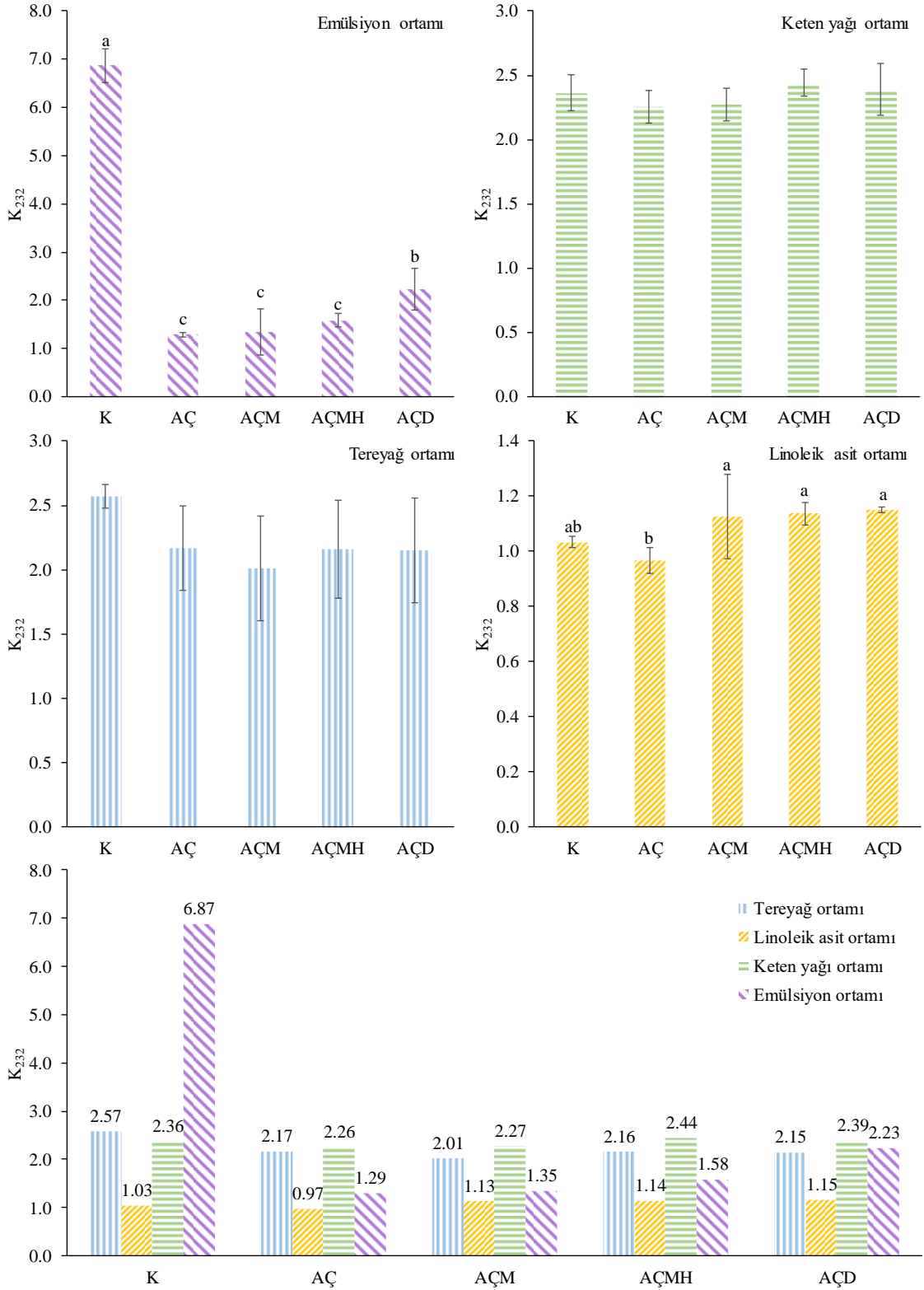


Şekil 4.51. KP ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

K_{270} değerlerine ait interaksiyon grafikleri incelendiğinde K_{232} değerleriyle oldukça uyumlu olduğu görülmektedir. Bu durum oksidasyonun ileri düzeyde olmadığının bir göstergesidir (Javidipour ve ark., 2017). Emülsiyon ortamı, K_{270} değerleri açısında da ekstraktlar arasındaki farkı en iyi görebildiğimiz ortamdır. Ekstraktların ikincil oksidasyon ürünleri üzerindeki etkisi yksekteen düşüğe $KPMH > KPM > KPD > KP$ şeklinindedir. Diğer lipit ortamları K_{270} değerleri açısından sıralanacak olursa düşükten yükseğe linoleik asit < tereyağ < keten tohumu yağı olarak bulunmuştur.

A ekstraktlarına ait bulgular

A ekstraktlarının ilave edildiği lipit ortamlarına ait UV zgl absorbands değerleri (K_{232} ve K_{270}) şekil 4.52 ve şekil 4.53’de verilmiştir. K_{270} değerleri genel olarak düşük olmakla birlikte örnekler arasında istatistiki açıdan önemli farklar bulunmuştur ($p < 0,05$).



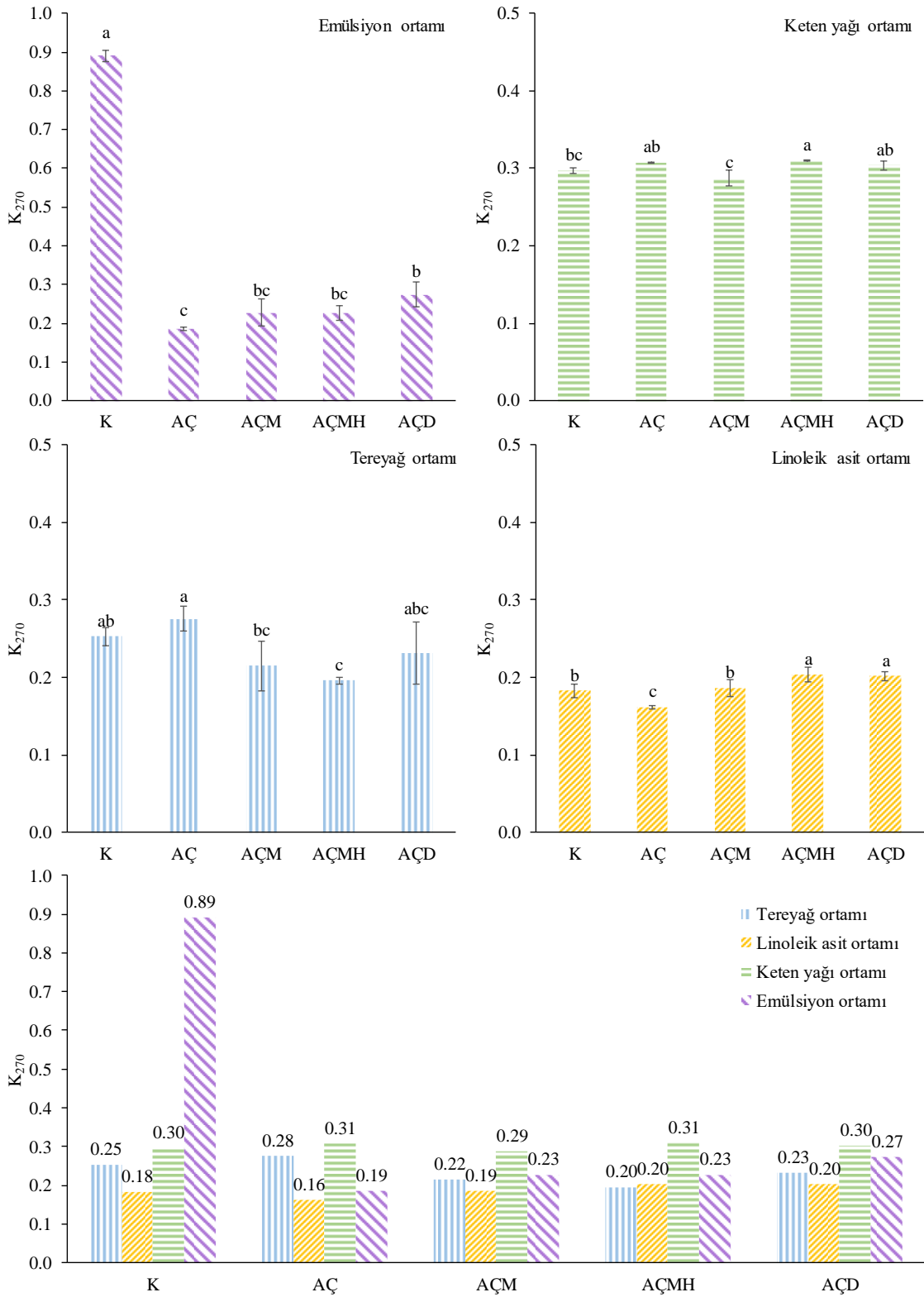
Şekil 4.52. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K₂₃₂ analizi sonuçları

AÇ küspesi ekstraktları ilave edilen lipit ortamlarının K₂₃₂ değerleri 0,97 ile 6,87 arasında değişiklik göstermektedir. Emülsiyon ortamlarına ilave edilen AÇ ekstraktları K₂₃₂ değerinde önemli azalmalar sağlamıştır. 6,87 olan kontrol K₂₃₂ değeri AÇ, AÇM ve

AÇMH ekstraktlarının emülsiyon ortamlarına ilave edilmesiyle benzer oranda düşerek sırasıyla 1,29, 1,35 ve 1,58 olmuştur. Aralarındaki fark istatistiki olarak önemsizdir ($p>0,05$). AÇD ekstraktı ise nispeten daha az etkili olarak K_{232} değerini 6,87'den 2,23'e düşürmüştür ve bu azalma önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Keten tohumu yağı ve tereyağ ortamlarında ham ve modifiye AÇ ekstraktlarının K_{232} değeri üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Sonuçlar birbirine ve kontrole yakın çıkmıştır.

Linoleik asit ortamına AÇM, AÇMH ve AÇD ekstraktlarının ilavesi 1,03 olan kontrol K_{232} değerini yükselterek sırasıyla 1,13, 1,14 ve 1,15 bulunmasına neden olmuştur. AÇ ekstraktının linoleik asit ortamına katılması sonucu K_{232} değeri 0,97'ye düşmüştür.



Şekil 4.53. AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K_{270} analizi sonuçları

Emülsiyon ortamlarında AÇ ekstraktlarının ilave edildiği örnekler kontrole kıyasla oldukça düşük K_{270} değerlerine sahiptir. AÇ ham ekstraktı en belirgin azalmayı sağlayarak kontrol K_{270} değerini 0,89'dan 0,19'a indirmiştir. AÇM ile AÇMH ekstraktları 0,23

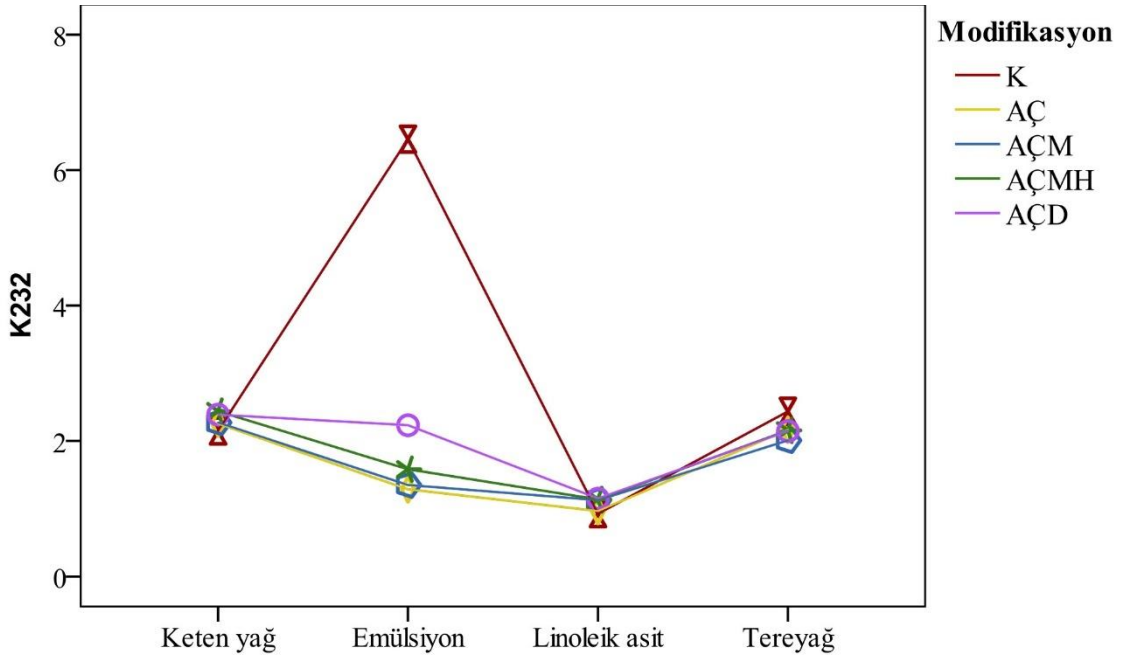
olmak üzere aynı K_{270} değerinin bulunmasını sağlamıştır ve AÇ ekstraktının sonucuyla aralarındaki fark önemsizdir ($p>0,05$).

Keten tohumu yağı örneklerinde K, AÇ, AÇM, AÇMH ve AÇD örnekleri sırayla 0,30 – 0,31 – 0,29 – 0,31 – 0,30 olmuştur. AÇM ekstraktı kullanılan keten tohumu yağı örneği en düşük K_{270} değerini vererek diğer ekstraktlar arasında öne çıkmaktadır.

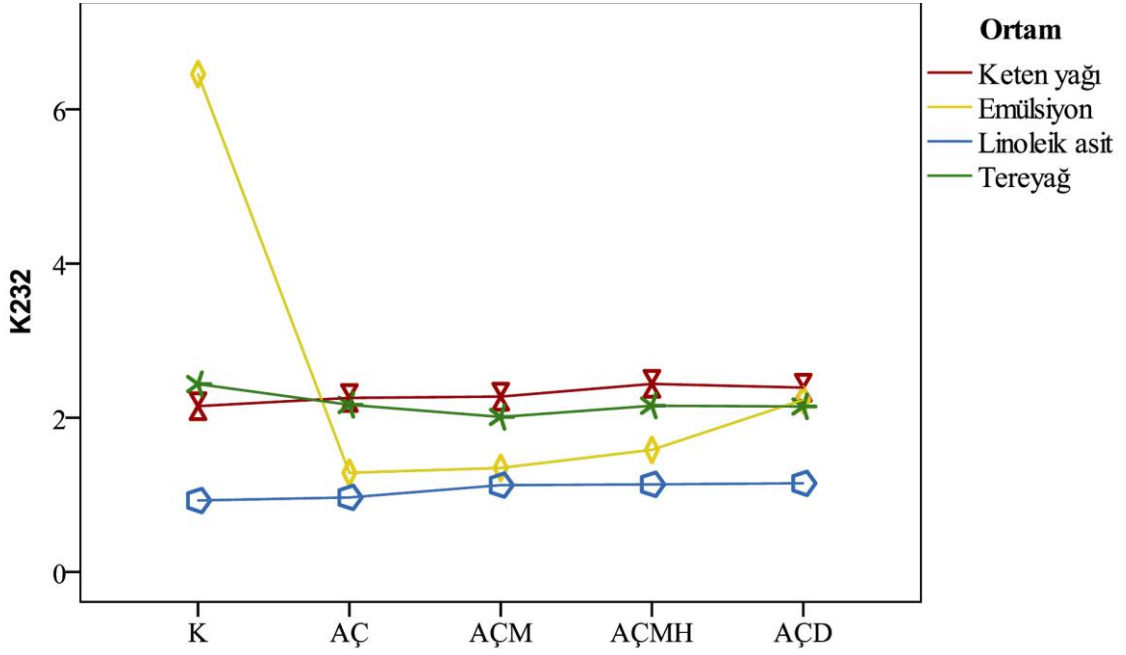
Tereyağ ortamlarında K_{270} değerini etkileyerek 0,20'ye düşüren AÇMH ekstraktı olmuştur. Diğer ekstraktların ilavesiyle bulunan sonuçlar AÇ, AÇM ve AÇD olmak üzere sırayla 0,28 – 0,22 – 0,23'tür.

Linoleik asit kontrol ortamı K_{270} değeri 0,18 iken AÇ ekstraktı ilavesiyle bu değer 0,16 olmuştur ve bu azalma istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). AÇM ekstraktı kontrole benzer sonuç verirken AÇMH ve AÇD ekstraktlarının ilavesi ise K_{270} değerini 0,20'ye yükselterek aynı şekilde sonuçlanmıştır.

AÇ ekstraktları ilave edilmiş lipid ortamlarının K_{232} ve K_{270} analizlerine ait interaksiyon sonuçları Şekil 4.54 - 4.55 ve Şekil 4.56 – 4.57'de gösterilmiştir.

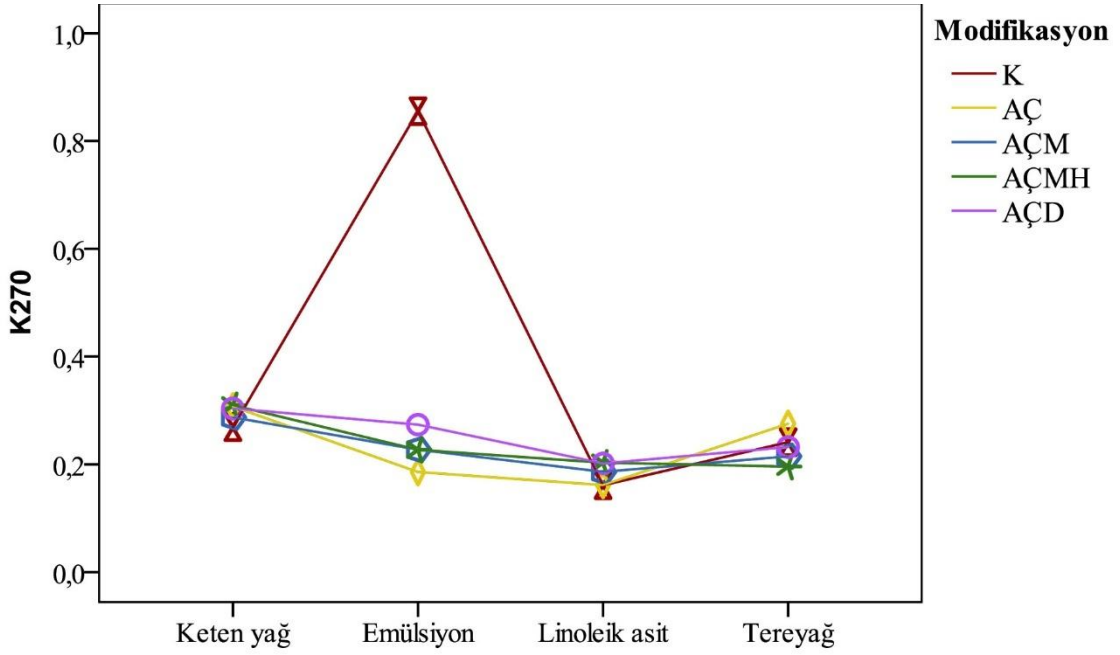


Şekil 4.54. AÇ ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipid ortamı interaksiyonu

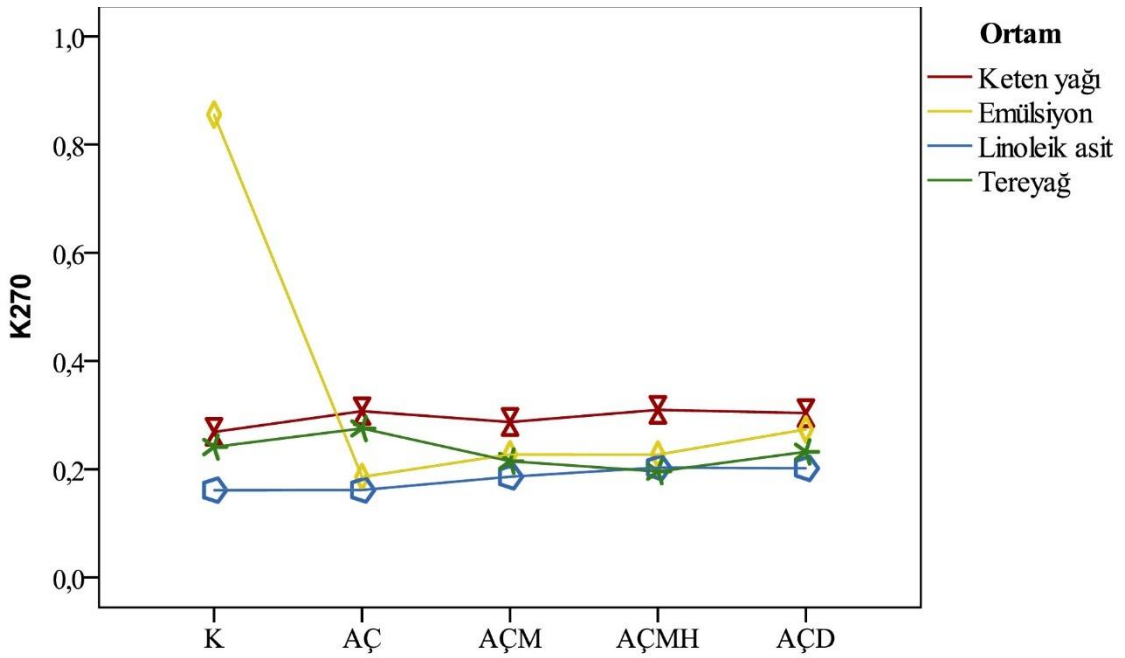


Şekil 4.55. AÇ ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

AÇ ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait interaksiyon grafikleri incelendiğinde KP'den farklı olarak emülsiyon ortamında ham ekstraktın da oksidatif stresi azaltıcı etki sağladığı görülmektedir. Emülsiyon ortamındaki en düşük değer AÇ ekstraktı ile sağlanmıştır. Modifikasyonlu ekstraktlar da aynı şekilde K_{232} değerini düşürmüşlerdir. Bu sonuçlar AÇ ekstraktlarının oksidasyonu baskılayıcı etkisini desteklemektedir (Cerit, 2025). Keten tohumu yağı ve tereyağı ortamlarında ekstraktlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Linoleik asit ortamında küçük farklılıklar olsada değerler 0,97-1,15 gibi az bir aralıkta değişim göstermiştir.



Şekil 4.56. AÇ ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipid ortamı interaksiyonu

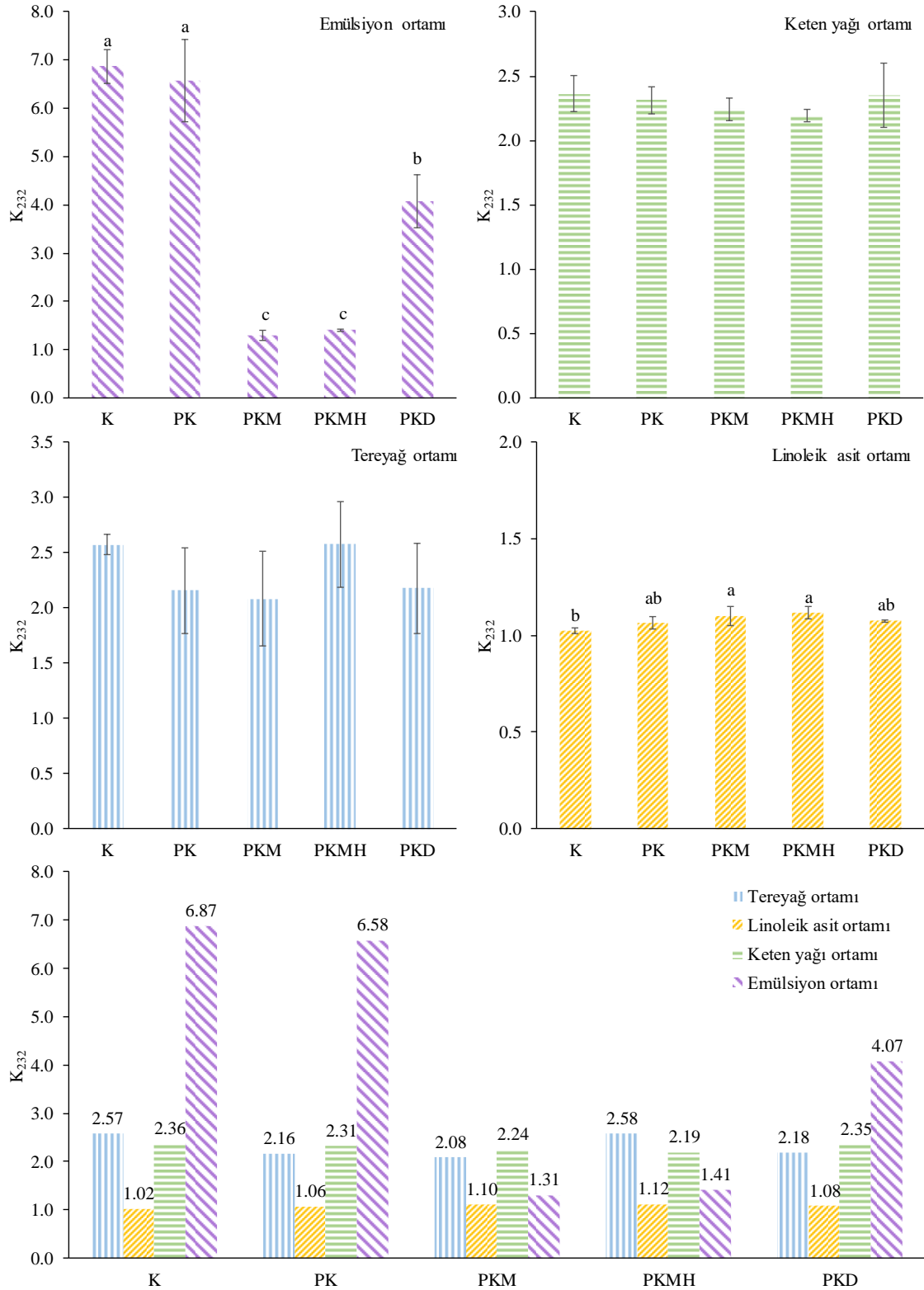


Şekil 4.57. AÇ ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

K_{270} analizinde, AÇ ekstraktlarının modifikasyon tipi ve ortam türüne göre değişen etkileri belirgin olarak emülsiyon ortamında görülmüştür. Bu ortamda AÇ ekstraktlarının, oksidasyonu geciktirici etkisi açıkça görülmektedir (Zoumpoulakis ve ark., 2017). Diğer lipid ortamları için K_{270} sonuçlarındaki değişimler sınırlı olup; tereyağında AÇMH, keten tohumu yağında AÇM ve linoleik asit ortamında AÇ ekstraktı anlamlı bir fark oluşturmuştur ($p < 0,05$).

PK ekstraktlarına ait bulgular

PK ekstraktlarının ilave edildiği lipit ortamlarına ait UV özgül absorptans değerleri (K_{232} ve K_{270}) Şekil 4.58 ve Şekil 4.59'da verilmiştir.

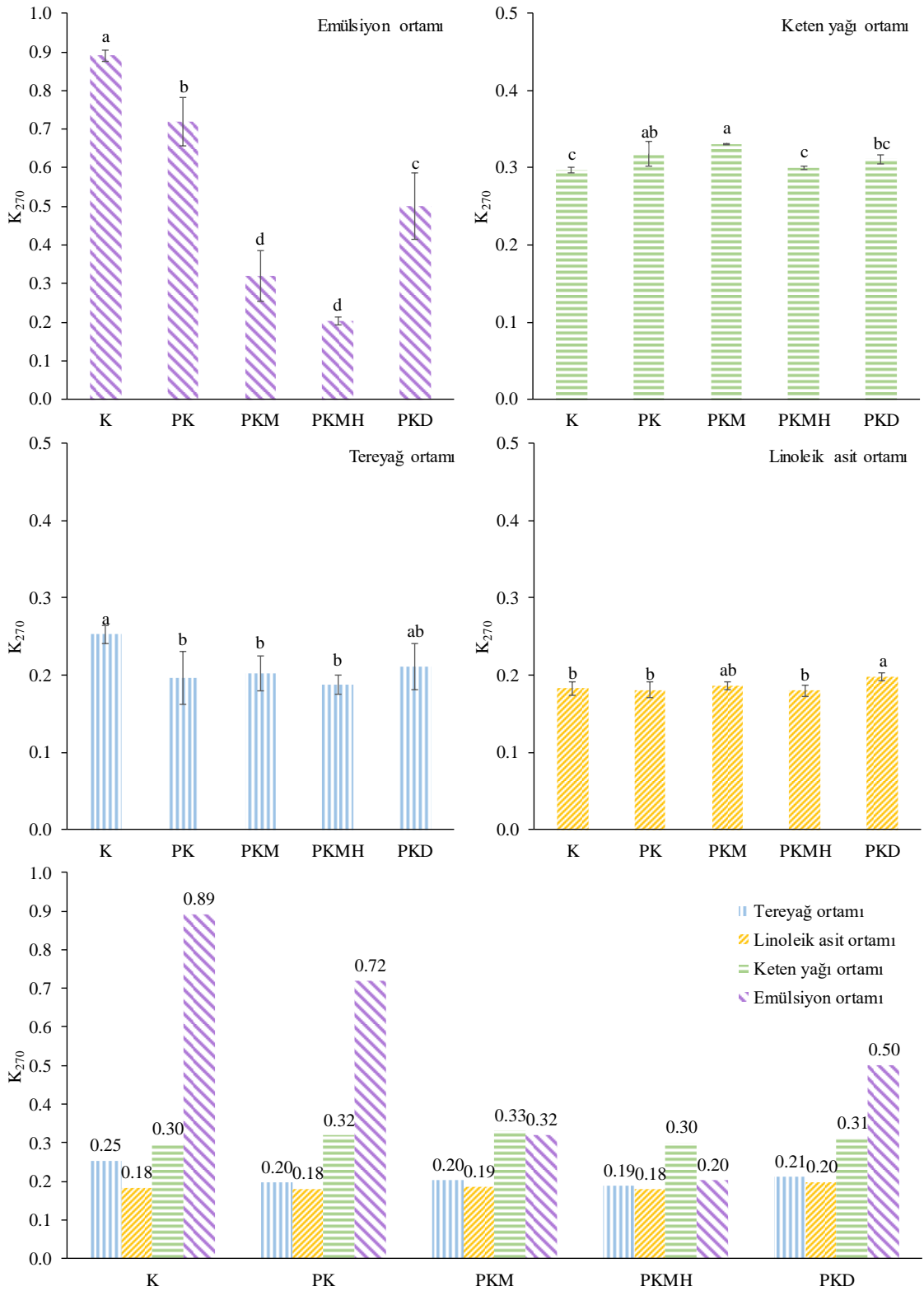


Şekil 4.58. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K_{232} analizi sonuçları

Emülsiyon ortamında PK ham ekstraktının kullanılması K_{232} analizi sonucunu değiştirmemiştir. PKM, PKMH ve PKD ekstraktları ise birincil oksidasyon ürünlerinin miktarında önemli azalma sağlamıştır. Bu ekstraktlar ile alınan emülsiyon ortamı K_{232} değerleri sırasıyla 1,31, 1,41 ve 4,07'dir. PKM ve PKMH ilaveli örnekler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemsizdir ($p>0,05$).

Keten tohumu yağı ve tereyağ ortamlarında ham ve modifiye PK ekstraktlarının K_{232} değeri üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Sonuçlar birbirine ve kontrole yakın çıkmıştır. Aynı sonucun AÇ ekstraktlarının ilave edildiği örneklerde de görülmesi bu iki lipit ortamı için K_{232} analizinin ayırt edici bir oksidasyon analizi olmadığını göstermektedir. Pawar ve ark. (2014b) çalışmalarında çeşitli ekstraktlar ilave ettikleri sade yağların konjuge dien değerlerini incelemiştir. 21 gün depolama sonrasında ekstrakt ilave edilen örneklerin K_{232} değerlerinin kontrole göre düşük olduğunu bulmuşlardır. BHA ile kıyaslandığında ise ekstraktların konjuge dienlerin oluşumu geciktirmede daha az etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Siddiq ve ark. (2005) çalışmasında ise biberiye ve *Moringa oleifera* ekstraktlarının çeşitli yağ tiplerine ilave edilmesinin dien formlarını inhibe ettiği bildirilmiştir.

Linoleik asit ortamlarına PK ekstraktlarının ilavesi sonucu K_{232} değerleri kontrol ile aynı veya daha yüksek olmuştur. PK (1,06) ve PKD (1,08) ekstraktları kontrole (1,02) benzer bulunurken PKM (1,10) ve PKMH (1,12) ilaveli örnekler nispeten daha yüksek bulunmuştur. Ancak ham ve modifiye ekstraktların ilavesiyle hazırlanan linoleik asit örneklerinin K_{232} değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.59. PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K₂₇₀ analizi sonuçları

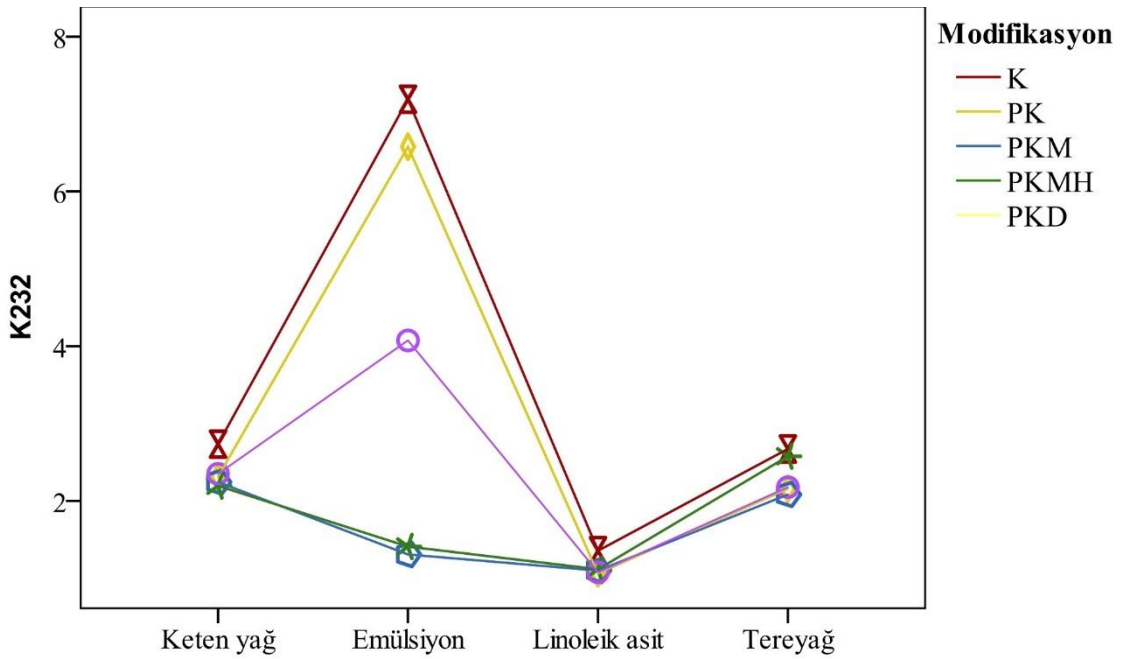
Emülsiyon ortamlarında K₂₇₀ değerlerindeki en belirgin azalmayı PKMH ekstraktı (0,20) sağlamıştır. Daha sonra 0,32 değeriyle PKM, 0,50 ile PKD ve 0,72 ile PK ekstraktı ilave edilmiş emülsiyon örnekleri gelmektedir. Kontrol K₂₇₀ değerinin 0,89 olduğu

emülsiyon ortamlarında PKM ve PKMH dışındaki örneklerin arasındaki farklar istatistikî açıdan önemlidir ($p < 0,05$).

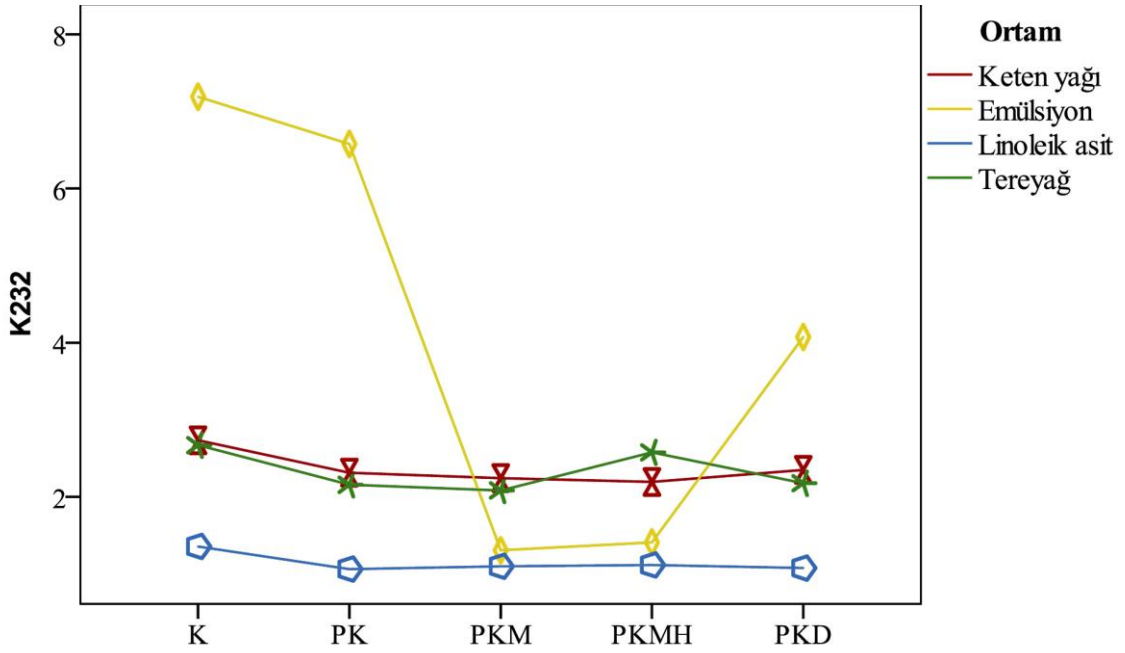
Keten tohumu yağında K_{270} değeri üzerinde ekstraktların olumlu etkisi görülmezken yalnızca PKMH ilaveli örnek kontrol ile aynı değere (0,30) sahiptir. Diğer keten tohumu yağı örneklerinin K_{270} değeri nispeten daha yüksek olup PK, PKM ve PKD sırasına göre 0,32 – 0,33 – 0,31’dir.

Linoleik asit ortamlarına ilave edilen ekstraktların K_{270} değeri üzerinde bir etkisi olmazken PKD ilaveli örnek 0,20 ile en yüksek değere sahiptir. Diğer ekstraktların kullanıldığı örnekler arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

PK ekstraktları ilave edilmiş lipit ortamlarının K_{232} ve K_{270} analizleri interaksiyon grafikleri Şekil 4.60 - 4.61 ve Şekil 4.62 – 4.63’de gösterilmiştir.

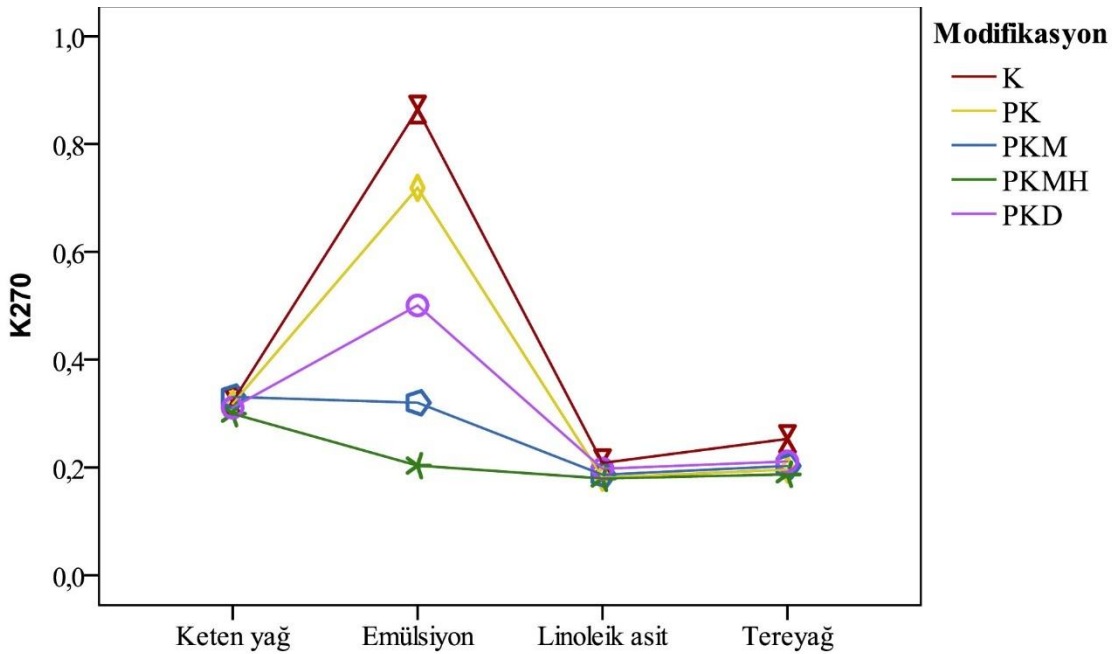


Şekil 4.60. PK ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu

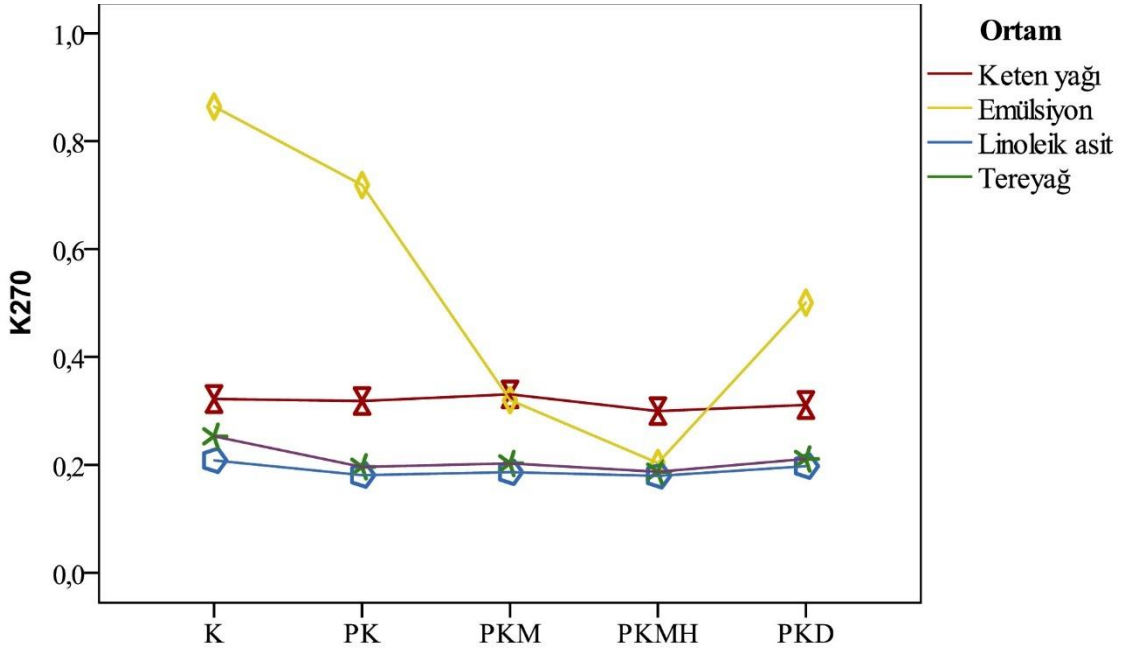


Şekil 4.61. PK ekstraktlarının K_{232} değerlerine ait lipit ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

PK ekstraktları K_{232} sonuçları da emülsiyon ortamında ayırt edici olmuştur. Buna göre emülsiyon ortamında PKM ve PKMH ekstraktlarının oksidasyonu baskılayıcı etkisi açıkça görülmektedir (Vescovo ve ark., 2025). Keten tohumu yağı ve tereyağı ortamında ekstraktlar fark oluşturacak bir etki gösterememiştir.



Şekil 4.62. PK ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait modifikasyon yöntemi ve lipit ortamı interaksiyonu



Şekil 4.63. PK ekstraktlarının K_{270} değerlerine ait lipid ortamı ve modifikasyon yöntemi interaksiyonu

PKMH ekstraktının emülsiyon ortamında K_{270} değerini dikkat çekici şekilde düşürdüğü görülmektedir. K_{270} değerleri açısından da diğer lipid ortamları belirgin bir fark ortaya koyamamıştır. Bu sonuç ekstraktların oksidasyon üzerindeki etkilerini anlamak için en ideal ortamın emülsiyon olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak bu çalışmada alınan sonuçlarda da görüldüğü gibi her fenolik bileşiğin uygun antioksidan etkinlik gösterdiği ortam değişebilmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Lipit oksidasyonu, yağ ve yağlı gıdalarda kalite kaybına neden olan temel bir bozulma mekanizmasıdır. Oksidasyon sonucunda, istenmeyen tat ve koku bileşikleri, sağlığa zararlı toksik ürünler ve besin değerinde azalma görülmektedir. Gıda endüstrisinde, oksidasyonun kontrolü, hem tüketici sağlığını korumak hem de ürün raf ömrünü ve kalitesini artırabilmek için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle lipit oksidasyonunu önleyici stratejiler literatürde pek çok araştırmaya konu olmuştur. Bu stratejilerden biri de doğada yaygın bulunan fenolik bileşiklerin doğal antioksidan amacıyla kullanılmasıdır.

Fenolik bileşikler, bitkisel materyallerde bol miktarda bulunan ikincil metabolitlerdir ve antioksidan özellikleri sebebiyle gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde yan ürün olarak açığa çıkan proses atıkları da fenolik bileşikler açısından oldukça zengin kaynaklardır. Bu kaynaklardan fenolik bileşiklerin geri kazanımı, elde edilen ekstraktların doğal antioksidan olarak kullanılması pek çok *in vivo* ve *in vitro* çalışmaya konu olmuştur. Ancak fenolik bileşiklerin çoğunun polar özellik göstermesi, yağ ve yağlı ortamlarda çözünmemesine, biyoaktivitelerinin azalmasına ve bu ortamlarda düşük antioksidan aktivite göstermelerine neden olmaktadır. Fenolik bileşiklerin etkinliği, yapılarına ve kullanıldıkları ortama bağlı olarak değişmektedir. Bileşiğin içerdiği hidrojen gruplarının konumu ve sayısı, karbon zinciri uzunluğu gibi çeşitli yapısal faktörlerin yanında ortam özellikleri (bileşenleri, polaritesi, pH'ı) gibi çevresel faktörler de o bileşiğin antioksidan özelliğini etkilemektedir. Bu etkilerin tespit edilmesi, antioksidan bileşiklerin kullanılacağı uygun ortamın belirlenmesinde büyük önem arz etmektedir.

Lipofilizasyon yöntemleri, uygulandıkları bileşiklerin lipofilik karakterini artırmasıyla, fenolik bileşikleri yağda çözünür hale getirmeye yönelik potansiyel bir çözüm olarak görülmektedir. Bu tez çalışmasında ekstraktların yağda çözünürlüğünü artırmak amacıyla metilasyon, moleküler hibridizasyon, dekarboksilasyon yöntemleri lipofilizasyon işlemi olarak uygulanmıştır.

Çalışmada fenolik bileşik kaynağı olarak klorojenik asitçe zengin kahve posası, ayçekirdeği küspesi, patates kabuğu ekstraktları ve bu ekstraktlardan lipofilizasyon ile hazırlanan modifiye ekstraktlar hazırlanmıştır. Ekstraktların kullanılacağı ortamlar olarak; aspir yağı/su emülsiyonu, keten tohumu yağı, tereyağ ve linoleik asit belirlenmiştir. Lipit ortamlarına ekstraktların ilave edilmesiyle örnekler hazırlanmış ve

ekstrakt ilave edilmeyen lipit ortamları kontrol örneği olarak kullanılmıştır. Ekstraktların yağda çözünürlüğünün artıp artmadığını belirlemek amacıyla oktanol/su fazı dağılım katsayısı ve çözünürlük analizleri yapılmıştır. Modifikasyonların gerçekleştiğini kanıtlamak ve oluşan bağları daha detaylı incelemek amacıyla da UHPLC ve FTIR analizleri yürütülmüştür.

Elde edilen ekstraksiyon verimleri incelendiğinde, %verim değerleri sıralaması AÇ > KP > PK şeklindedir. Modifikasyon yöntemleri açısından, ekstraktların %verim değerlerine bakıldığında ise dekarboksilasyon > moleküler hibridizasyon > metilasyon şeklinde bir sıralama olduğu görülmektedir. Dolayısıyla AÇD, %71,77 ile en yüksek ekstraksiyon verimine sahip örnek olmuştur. Metanolik ekstraktların, sadece fenolik bileşikleri değil aynı zamanda hammaddenin muhtevastındaki diğer kimyasal yapıları da bulundurması %verim değerleri arasındaki farklılığı oluşturmuştur.

Lipofilisite, oktanol/su fazı dağılım katsayısı analizinde logP değerinin pozitif ve negatifliği ile tespit edilmektedir. Ham ekstraktlar arasında lipofilisite sıralaması hidrofilik özellik bakımından PK > AÇ > KP şeklindedir. Modifikasyon yöntemleri sonucu ekstraktlar, pozitif logP değerleri alarak lipofilik özellik kazanmıştır. Modifiye ekstraktların lipofilik özellik bakımında sıralaması ise PKMH (1,310) > PKM (1,043) > AÇMH (1,034) > KPMH (0,821) > AÇD > KPD > PKD > KPM > AÇM şeklindedir. Modifikasyon yöntemleri kıyaslandığında lipofilisiteyi en çok artıran yöntem moleküler hibridizasyondur. Buradan, fenolik bileşiklerin dekanoil klorit ile esterleştirilmesi yağda çözünürlüğü artırır sonucu çıkarılabilir.

TFM miktarı, hidrojen atomu transferine dayalı, ekstraktın kimyasal içeriği hakkında bilgi veren ve oksidasyon üzerindeki etkisi pozitif korelasyona sahip bir analizdir. Ekstratların TFM miktarları incelendiğinde, 406,34 mg GAE/g ile KP ekstraktı en yüksek değeri göstermiştir. Daha sonra AÇ ve PK (sırasıyla 386 ve 282 mg GAE/g) olarak bulunmuştur. Ham ekstraktlar arasındaki fark, elde edildikleri materyalin içerdiği serbest fenolik bileşen miktarlarının farklı olmasından kaynaklanabilir. Modifikasyon yöntemlerinin, ekstraktların TFM miktarında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. Modifikasyon işlemleri sonucu ekstraktların lipofilisitesinin arttığı göz önünde bulundurulursa hidrojen atomu transferine dayalı Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlenen TFM miktarlarında azalma görülmesi olağandır. Bu nedenle fenolik bileşiklerin detaylı incelenmesi amacıyla UHPLC ile fenolik bileşiklerin ayrıntılı kantitatif analizi yapılmıştır.

Fenolik bileşiklerin ayrıntılı incelenmesi sonucu, ekstraktların hepsinde bulunan en baskın fenolik bileşiklerin klorojenik asit türevleri (5-KKA ve 4-KKA) olduğu görülmüştür. Modifiye ekstraktlarda KA türevlerinin miktarı daha düşük bulunmuştur. Buradan yapılan işlemler ile klorojenik asitin farklı türevlerine dönüştüğü veya kendisini oluşturan fenolik yapılara parçalandığı sonucu çıkartılabilir. Ekstraktın içerdiği fenolik bileşiklerin yapısında meydana gelen değişimleri daha iyi anlayabilmek için FTIR analizi yapılmıştır.

FTIR analizi sonuçları, yapılan modifikasyonlar ile ekstraktların kimyasal yapılarının değiştiğini ortaya koymaktadır. Modifiye ekstraktların spektrumlarında, ham ekstrakt spektrumlarına göre $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ (-OH gerilimi) bandının daraldığı veya tamamen yok olduğu görülmektedir. Özellikle ham ekstraktların spektrumlarında görülen geniş OH piklerinin MH uygulaması sonucu kaybolması ve $2950-2850\text{ cm}^{-1}$ (alifatik C-H gerilimi) dalga boylarındaki piklerin belirginleşmesi ekstraktların lipofilisite değerlerindeki artışı doğrulamaktadır. Metilasyon uygulaması ile ekstraktların spektrumlarında $1500-500\text{ cm}^{-1}$ (C-C ve C-O gerilimi) dalga boyları arasında derinliği yüksek birçok pik olumuşu görülmüştür. Bu durum ekstrakt içindeki fenolik bileşik gruplarının metil esterlerine dönüştüğünü ve metilasyon sonucu bağlı formdaki fenolik bileşiklerin ayrıldığını gösterebilir. Ayrıca modifikasyonlar ile bantlarda meydana gelen kaymalar, fenolik bileşiklerin yapısal değişikliği sonucu oluşmuştur.

Ekstraktların, lipit ortamlarının oksidasyonu üzerindeki etkilerini analiz etmek için peroksit değeri, ransimat metodu ile inhibisyon süresi, UV özgül absorbans analizleri gerçekleştirilmiştir. Antioksidan kapasitenin tayini için ise DPPH serbest radikal giderici aktivite ve beta-karoten ağatma analizleri yapılmıştır.

Peroksit değerlerine bakıldığında, ekstraktların lipit ortamlarına ve uygulanan modifikasyon yöntemlerine bağlı olarak farklı oksidatif etkilere sahip olduğu görülmektedir. KP, AÇ ve PK ekstraktlarının keten tohumu yağı ve linoleik asit ortamlarında peroksit değerini kontrole göre düşürdüğü görülürken, emülsiyon ve tereyağı ortamlarında bu etki değişkenlik göstermiştir. Metilasyon uygulanan ekstraktlardan AÇM ve PKM, özellikle emülsiyon ve keten tohumu yağı ortamlarında olumlu sonuçlar vermiştir. KPMH ekstraktı ise keten tohumu yağı hariç tüm ortamlarda peroksit değerini düşürmüştür. Moleküler hibridizasyon uygulanmış KPMH, AÇMH ve PKMH ekstraktları, tereyağ ortamında belirgin bir şekilde peroksit değerini azaltırken, diğer lipit ortamlarında bu etki sınırlı kalmıştır. Dekarboksilasyon uygulanmış ekstraktlar arasında KPD, emülsiyon ortamında oksidatif stabiliteyi artırıcı etki gösterirken, PKD

ekstraktı, üç farklı lipit ortamında belirgin koruyucu etki göstermiştir. Sonuç olarak, ekstraktın türü ve uygulanan modifikasyon yöntemi kadar, ekstraktın kullanılacağı lipit ortamı da oksidatif stabilite açısından kritik rol oynamaktadır. Bu doğrultuda; emülsiyon ortamı için KPD-AÇM-PKM; tereyağı için KPMH-AÇMH-PKMH; keten tohumu yağı için KP-AÇM-PK; linoleik asit ortamı için ise KP-AÇ-PK ekstraktlarının kullanımı önerilebilir.

Oksidatif stabilitenin diğer bir göstergesi olan ransimat analizi sonuçları, ekstrakt türü, uygulanan modifikasyon ve ekstraktın kullanıldığı lipit ortamına bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Modifiye ekstraktların, emülsiyon ortamında oksidatif stabiliteyi artırdığı görülmüştür. Keten tohumu yağı ortamında yalnızca KP ekstraktı OSI değerini kontrole göre artırmıştır ve bu sonuç hem literatürle hem de peroksit değeriyle uyumludur. Diğer modifiye ekstraktlar, özellikle KPM keten tohumu yağı ortamında indüksiyon zamanını kısaltmıştır. Tereyağ ortamında, KPMH, AÇMH ve PKMH ekstraktlarının OSI değerlerini oldukça artırdığı tespit edilmiştir. Ekstraktların lipofilisitetlerinin yüksek olması, bu sonucun oluşmasında yardımcı olmuştur. Özellikle PKMH ekstraktı ilave edilen tereyağı örneği, 36,17 sa indüksiyon zamanı ile tüm ekstraktlar arasında en uzun süreyi vermiştir. Linoleik asit ortamında ham KP, AÇ ve PK ekstraktları ilave edilen örnekler (sırasıyla 3,19 – 2,42 – 4,94 sa) en yüksek OSI değerlerine sahiptir. Metilasyon ve dekarboksilasyon uygulanmış ekstraktlar linoleik asit ortamında ölçülemeyecek kadar düşük OSI değerleriyle sonuçlanmıştır. Bu yöntemlerle modifiye edilen ekstraktlarda oksidatif stabilitenin, ransimat metodu ile tayin edilmesinin uygun olmadığı görülmüştür. Ransimat analizi sonuçlarıyla peroksit değerleri arasında negatif bir korelasyon görülmektedir. Emülsiyon ortamında kahve posası modifiye ekstraktlarının (KPM, KPMH ve KPD) peroksit değerini düşürdüğü, aynı zamanda OSI değerini anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Keten tohumu yağı ortamında peroksit değerini düşüren KP ekstraktının indüksiyon zamanı kontrole göre daha uzundur. Linoleik asit ortamında KP, AÇ ve PK ekstraktları, peroksit değerini kontrole göre azaltırken, OSI değerlerini de artırmıştır. Bu bulgular, kullanılacak ekstraktın, kaynağına, modifikasyon yöntemine ve hedeflenen lipit ortamına göre optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Ransimat sonuçlarına göre ekstraktların kullanılacağı lipit ortamları belirlenecek olursa emülsiyon ortamında KPMH-AÇ-PKM, tereyağında KPMH-AÇMH-PKMH, keten tohumu yağında ve linoleik asit ortamında ise KP-AÇ-PK ekstraktları kullanımı önerilebilir.

Birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinden konjuge dien ve trienlerin miktarlarını gösteren UV özgül absorpsiyon değerleri incelendiğinde, emülsiyon ortamının K_{232} ve K_{270} ve peroksit değerleri en yüksek düzeyde bulunurken, indüksiyon süreleri de kontrole göre daha kısa bulunmuştur. Emülsiyonların oksidasyona en duyarlı lipit ortamı olduğu görülmektedir. Ekstraktların moleküler hibridize formları (KPMH, AÇMH ve PKMH) emülsiyon ortamında K_{232} ve K_{270} değerlerini düşürmüştür. Birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu bastırarak oksidasyonu geciktiren bu ekstraktların lipit stabilitesini artırdığı düşünülebilir. Keten tohumu yağı ve tereyağ ortamlarında ekstraktların etkileri sınırlı kalmış K_{232} ve K_{270} değerlerinde ekstrakt ilaveleri arasında anlamlı farklar görülmemiştir. Linoleik asit ortamında ise yalnızca ham ekstraktlar oksidatif stabilite üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. K_{232} ve K_{270} değerlerini düşürmesi ile oksidatif stabiliteyi artıran ekstrakt ve lipit ortamı kombinasyonları incelenecek olursa, emülsiyonda; KPM-KPMH, AÇM-AÇMH, PKM-PKM, keten tohumu yağında KP ekstratları öne çıkmaktadır.

Lipit ortamlarının DPPH radikali giderici etki analizi sonuçları incelendiğinde, genel olarak ekstrakt ilave edilen örneklerin değerleri kontrole göre daha yüksek olmuştur. KP, AÇ ve PK ekstraktlarının emülsiyon ortamına ilavesiyle %60'ın üzerinde inhibisyon sağlanarak güçlü antioksidan aktivite elde edilmiştir. Keten tohumu yağı ortamında tüm ekstraktlar DPPH radikali giderici etkiyi artırırken modifiye ekstraktlar kontrol ve ham ekstrakt ilaveli örneklerinden daha da yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Keten tohumu yağı ortamları arasında en yüksek inhibisyon değerleri PKM, AÇD ve KPMH ekstraktları ile elde edilmiştir. Tereyağ ortamında genel olarak %inhibisyon değerleri düşüktür ancak ekstrakt ilavesi bu ortamda da belirgin şekilde değerleri yükseltmiştir. Linoleik asit ortamında ise ham ekstraktlar radikal giderici etkiyi artırırken, KPMH ilavesi de kontrole göre yüksek radikal giderici etki sağlamıştır. AÇ ve PK'dan elde edilen modifiye ekstraktlar, linoleik asit örneklerinin DPPH radikal giderici aktivitesini düşürmüştür. Elektron transferi prensibine dayanan DPPH radikal giderici etki analizi sonuçlarının antioksidan aktivite açısından karşılaştırılabilmesi için linoleik asit/beta-karoten ağartma analizi de yapılmıştır.

β -karoten ağartma analizinden elde edilen bulgular incelendiğinde, keten tohumu yağı ortamı tüm ekstraktlar için en yüksek β -karoten antioksidan kapasitesinin elde edildiği ortam olurken, linoleik asit ortamı ekstraktların antioksidan etkinliğinin en düşük olduğu sistem olarak belirlenmiştir. Keten tohumu yağı ortamında ham ekstraktlar kontrole göre yüksek β -karoten ağartma değerleri vermiştir. Yapılan modifikasyon

işlemleri, keten tohumu yağı ortamında ekstraktların inhibisyon yüzdelereğini artırarak antioksidan aktiviteyi güçlendirmiştir. Özellikle KPMH, KPD, AÇM, PKM, PKMH ve PKD ekstraktları yaklaşık %90 ve üzerinde inhibisyon sağlamıştır. Tereyağ ortamında β -karoten ağartma değerleri genellikle orta seviyede olup KPM, AÇD ve PKM ekstraktlarının ilavesiyle örnekler bu ortamdaki en yüksek β -karoten antioksidan kapasitesine ulaşmıştır. Emülsiyon ortamında ekstraktların etkisi değişkenlik göstermiştir. KP ve PK ekstraktları emülsiyon ortamında, kontrolden daha yüksek β -karoten ağartma değerleri vermiştir. AÇ ekstraktları arasında emülsiyon ortamında anlamlı bir fark oluşmamıştır. Linoleik asit ortamında ise tüm ekstraktlar kontrole göre daha düşük β -karoten ağartma değerleri göstermiştir. Özellikle AÇ ve PK ekstraktlarında bu azalma daha belirgindir. Linoleik asitin serbest formda olmasının ve ortamın yüksek oksidatif duyarlılığının, bazı ekstraktlarda pro-oksidan etkilere neden olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, β -karoten ağartma ve DPPH radikal giderici etki analizleri birlikte değerlendirildiğinde, keten tohumu yağı ve emülsiyon ortamlarında ekstraktların antioksidan etkinliği güçlü ve tutarlı şekilde ortaya konmuştur; ancak linoleik asit ortamında analizler arasındaki korelasyonun zayıf olduğu ve ortamın ekstrakt etkinliğini sınırlandırdığı belirlenmiştir. Bu bulgular, ekstrakt-lipit uyumunun ve ortam özelliklerinin antioksidan etki üzerinde belirleyici olduğunu vurgulamaktadır.

Tez çalışması kapsamında elde edilen bulgular kısaca özetlenecek olursa, fenolik bileşik içeriği yüksek olan ekstraktların antioksidan etkinliklerinin, ekstraktın kaynağına, ekstrakta uygulanan modifikasyonlara ve ekstraktın kullanıldığı lipit ortamlarına bağlı olduğu ortaya konmuştur. Modifikasyon uygulamaları, ekstraktların lipofilitesini artırarak özellikle keten tohumu yağı ve emülsiyon gibi ortamlarla daha yüksek uyum göstermelerini sağlamıştır. Dolayısıyla modifiye ekstraktların ilave edildikleri lipit ortamlarının peroksit ve UV özgül absorbans değerleri azalmış, OSI değerleri artmış ve antioksidan kapasite değerleri yükselmiştir. Özellikle moleküler hibridizasyon yöntemi hem çözünürlük hem de oksidatif stabilite açısından en başarılı modifikasyon yöntemi olarak öne çıkmıştır. Diğer yandan, linoleik asit gibi yüksek oksidasyon yatkınlığına sahip ortamlarda, modifiye ekstraktların etkinliği sınırlı kalmış, hatta bazı durumlarda pro-oksidan etki göstermiştir. Bu durum ekstrakt-lipit ortamı uyumunun antioksidan etki üzerinde belirleyici olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Sonuç olarak bu çalışma, lipofilizasyon amacıyla yapılan metilasyon, moleküler hibridizasyon ve dekarboksilasyon yöntemlerinin ekstraktların fonksiyonel özelliklerini, hedef ortam koşullarına uygun hale getirmede etkili bir strateji olduğunu ortaya koymuştur.

Öneriler

Atık yan ürünlerden elde edilen fenolik ekstraktların, modifikasyon yöntemleriyle lipofilik özellik kazandırılarak, yağ ve yağlı gıda ortamlarında daha etkili doğal antioksidanlar olarak kullanılmasını amaçlayan bu kılavuz çalışmanın sonuçlarına dayanarak aşağıdaki öneriler sunulmuştur.

Ekstraktların hazırlandığı hammaddeler yerine farklı atık yan ürünler kullanılarak çalışma çeşitlendirilebilir. Özellikle ülkemizde atığı fazla olan zeytinyağı işleme prosesi yan ürünlerinden alınan fenolik ekstraktlar modifiye edilerek yeni çalışmalar yapılabilir.

Modifikasyon yöntemleri çeşitlendirilebilir; farklı kimyasal, enzimatik veya kemoenzimatik yöntemler ile fenolik ekstraktların modifikasyonu yapılabilir.

Ekstraktların kimyasal yapısında modifikasyonlar sonucu meydana gelen değişimler daha detaylı inceleyebilir. Ekstrakt muhtevastındaki fenolik bileşikler dışındaki yapıların ekstrakt üzerindeki etkileri araştırılabilir.

Modifiye edilen ekstraktlar farklı lipit ortamlarında denenerek daha kapsamlı bir inceleme ortaya koyulabilir.

Kısaca modifikasyon yöntemleri, ekstraktların yağ ve yağlı ortamlarda daha etkin sonuçlar vermesine, doğal antioksidan olarak kullanılmalarına ve atık yan ürünlerin gıda endüstrisindeki uygulama alanının genişletilmesine yardımcı olmaktadır. Ancak yağlı gıda ortamları kompleks bir konudur ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ekstrakt ve fenolik bileşenler ile ortam özellikleri arasındaki ilişkilerin daha iyi anlaşılması için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abeyrathne, E. D. N. S., Nam, K., Huang, X., & Ahn, D. U. (2022). Plant-and animal-based antioxidants' structure, efficacy, mechanisms, and applications: A review. *Antioxidants*, *11*(5), 1025.
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, *12*(1), 1-10.
- Acevedo, F., Rubilar, M., Scheuermann, E., Cancino, B., Uquiche, E., Garcés, M., & Shene, C. (2013). Spent coffee grounds as a renewable source of bioactive compounds. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, *7*(3), 420–428.
- Agatonovic-Kustrin, S., Gegechkori, V., Petrovich, D. S., Ilinichna, K. T., & Morton, D. W. (2021). HPTLC and FTIR fingerprinting of olive leaves extracts and ATR-FTIR characterisation of major flavonoids and polyphenolics. *Molecules*, *26*(22), 6892.
- Akbarieh, N., Sadighara, P., Shariatifar, N., Molaee-Aghaee, E., & Aslani, R. (2023). Lipid peroxidation in sheep and cow traditional butter obtained from southern Tehran, Iran. *Journal of Food Safety and Hygiene*, *8*(4), 11956
- Al Surmi, N., El Dengawi, R., Khalefa, A., & Yahia, N. (2015). Characteristics and oxidative stability of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Nutrition and Food Science*, *S14*, 2-4.
- Aladedunye, F., Niehaus, K., Bednarz, H., Thiyam-Hollander, U., Fehling, E., & Matthäus, B. (2015). Enzymatic lipophilization of phenolic extract from rowanberry (*Sorbus aucuparia*) and evaluation of antioxidative activity in edible oil. *LWT-Food Science and Technology*, *60*(1), 56-62.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., & Azhari, N. H. (2018). *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Industrial Crops and Products*, *122*, 533–544.
- Albe Slabi, S., Mathé, C., Framboisier, X., Defaix, C., Mesieres, O., Galet, O., & Kapel, R. (2019). A new SE-HPLC method for simultaneous quantification of proteins and main phenolic compounds from sunflower meal aqueous extracts. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *411*, 2089-2099.
- Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., & Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, *4*, 662–669.
- Alimentarius, C. (1999). Codex standard for named vegetable oils. *Codex stan*, *210*, 1-13.
- Al-Madhagy, S., Ashmawy, N. S., Mamdouh, A., Eldahshan, O. A., & Farag, M. A. (2023). A comprehensive review of the health benefits of flaxseed oil in relation to its chemical composition and comparison with other omega-3-rich oils. *European journal of medical research*, *28*(1), 240.

- Al-Moussawi, A. H. K. (2024). Investigation of bioactive functional groups of *Solanum tuberosum* peels using FTIR technique and evaluation of its antifungal activity. *Clinical Images and Case Reports*, 2(12), 19–27.
- Andreasen, M. F., Kroon, P. A., Williamson, G., & Garcia-Conesa, M. T. (2001). Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant ferulic acid and caffeic acid from esterified cereal derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 304–3014.
- Anwar, F., Zreen, Z., Sultana, B., & 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.
- AOAC. (2007). Peroxide value of oils and fats (AOAC Official Method 965.33). In *Official methods of analysis* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- AOCS (2006). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. AOCS Press, Champaign, Ch5-91.
- AOCS. (1998). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. AOCS Press.
- Arslan, Y., Yaşar, M., Bağcı, M., Gündoğdu, M., İşler, B., & Ünal, S. (2024). Characterization of flax genetic resources in Türkiye through variance analysis of antioxidant, phenolic compound and fatty acid contents. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 8(3), 663-673.
- Aspé, E., & Fernández, K. (2011). The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* bark. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 838–844.
- Augustyniak, A., Bartosz, G., Čipak, A., Duburs, G., Horáková, L. U., Łuczaj, W., ... & Žarković, N. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free radical research*, 44(10), 1216-1262.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.
- Baltacıoğlu, H., Türk, E. M., & Doğanay, G. (2024). Termosonikasyon işleminin elma suyunda enzim aktivitesi ve fenolik bileşiklere etkisi: FTIR ve HPLC çalışması. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 12(1), 72–82.
- Balzano, M., Loizzo, M. R., Tundis, R., Lucci, P., Nunez, O., Fiorini, D., ... & Pacetti, D. (2020). Spent espresso coffee grounds as a source of anti-proliferative and antioxidant compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102254.
- Basaga, H., Tekkaya, C., & Acikel, F. (1997). Antioxidative and free radical scavenging properties of rosemary extract. *LWT-Food Science and Technology*, 30(1), 105-108.

- Batista, N. N., de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 90, 313–319.
- Bayram, I., & Decker, E. A. (2023). Underlying mechanisms of synergistic antioxidant interactions during lipid oxidation. *Trends in food science & technology*, 133, 219-230.
- Bayrasy, C., Chabi, B., Laguerre, M., Lecomte, J., Jublanc, É., Villeneuve, P., ... & Cabello, G. (2013). Boosting antioxidants by lipophilization: A strategy to increase cell uptake and target mitochondria. *Pharmaceutical research*, 30(8), 1979-1989.
- Beena P, Rajesh KJ, Arul B. (2016). Preliminary phytochemical screening of *Cicer arietinum* in folklore medicine for hepatoprotection. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3(3), 153–9.
- Bel-Rholid, R., Thapa, D., Kraehenbuehl, K., Hansen, C. E., & Fischer, L. (2013). Biotransformation of caffeoyl quinic acids from green coffee extracts by *Lactobacillus johnsonii* NCC 533. *Amb Express*, 3(1), 28.
- Ben Taârit, M., Msaada, K., Hosni, K., & Marzouk, B. (2012). Fatty acids, phenolic changes and antioxidant activity of clary sage (*Salvia sclarea* L.) rosette leaves grown under saline conditions. *Industrial Crops and Products*, 38, 58–63.
- Benitez, J. J., Matas, A. J., & Heredia, A. (2004). Molecular characterization of the plant biopolyester cutin by AFM and spectroscopic techniques. *Journal of Structural Biology*, 147, 179–184.
- Bernini, R., Merendino, N., Romani, A., & Velotti, F. (2013). Naturally occurring hydroxytyrosol: Synthesis and anticancer potential. *Current medicinal chemistry*, 20(5), 655-670.
- Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., & Genot, C. (2014). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Involvement of the interfacial layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 945–977.
- Bessada, S. M., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2018). Coffee silverskin: A review on potential cosmetic applications. *Cosmetics*, 5(1), 5.
- Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(6), 2123-2129.
- Bock, A., Kieserling, H., Steinhäuser, U., & Rohn, S. (2023). Impact of phenolic acid derivatives on the oxidative stability of β -lactoglobulin-stabilized emulsions. *Antioxidants*, 12(1), 182.
- Bozan, B., & Temelli, F. (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower, and poppy seed oils. *Bioresource Technology*, 99(14), 6354–6359.

- Bozyokuş, B., & Arslan, D. (2022). Combined use of some natural antioxidants in sunflower oil. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 99(4), 321-333.
- Bravo, J., Monente, C., Juárez, I., De Peña, M. P., & Cid, C. (2013). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50(2), 610–616.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Bryngelsson, S., Dimberg, L. H., & Kamal-Eldin, A. (2002). Effects of commercial processing on levels of antioxidants in oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1890-1896.
- Bule, G. S., Awegachew, E. D., & Hassen, Y. (2022). Evaluation of selected spices and herb extracts on oxidative stability, microbial and sensory quality of fermented cow milk butter. *Journal of Food Science and Nutrition*, 5(7), 1–7.
- Butterfield, D. A., Drake, J., Pocernich, C., & Castegna, A. (2002). Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: Central role for amyloid β -peptide. *Trends in Molecular Medicine*, 7(12), 548–554.
- Cam, E. P. S. B. M. (2024). Spearmint hydrodistillation by-products: Antioxidant activity and effects on lipid oxidation in sunflower and flaxseed oils. *Journal of Food and Nutrition Research*, 63(2), 101–110.
- Cao, Y., & Xiong, Y. L. (2015). Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein. *Food chemistry*, 180, 235-243.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). The role of phenolic compounds in the fight against cancer—A review. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13(8), 1236–1258.
- Céliz, G., & Daz, M. (2011). Biocatalytic preparation of alkyl esters of citrus flavanone glucoside prunin in organic media. *Process Biochemistry*, 46(1), 94-100.
- Cerit, İ. (2025). Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve *in vitro* sindirimin ayçiçek posası ekstraktının fenolik içerik ve antioksidan aktivitesine etkisi. *Gıda*, 50(1), 116–130.
- Chabni, A., Bañares, C., & Torres, C. F. (2024). Study of the oxidative stability via Oxitest and Rancimat of phenolic-rich olive oils obtained by a sequential process of dehydration, expeller and supercritical CO₂ extractions. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1494091.
- Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 299–317.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E. N., & Barrett, D. M. (2000). Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected clingstone peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 147-151.

- Chebil, L., Humeau, C., Falcimaigne, A., Engasser, J. M., & Ghoul, M. (2006). Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, *41*(11), 2237-2251.
- Chen, C. (2016). Sinapic acid and its derivatives as medicine in oxidative stress-induced diseases and aging. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*(1), 3571614.
- Chen, J., Yang, J., Ma, L., Li, J., Shahzad, N., & Kim, C. K. (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific reports*, *10*(1), 2611.
- Chen, L. H., Chen, T., Zhao, R. N., Wu, D., Du, Y. N., & Hu, J. N. (2024). Physical properties and antioxidant activity of curcumin-zinc metal-organic frameworks. *Food Chemistry*, *460*, 140449.
- Chen, M., & Yu, S. (2017). Lipophilized grape seed proanthocyanidin derivatives as novel antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(8), 1598–1605.
- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition*, *81*(1), 223S–229S.
- Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*(4), 345–358.
- Chong, E. S. L., McGhie, T. K., Heyes, J. A., & Stowell, K. M. (2013). Metabolite profiling and quantification of phytochemicals in potato extracts using ultra-high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(15), 3801-3808.
- Choo, W. S., Birch, J., & Dufour, J. P. (2007). Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(3–4), 202–211.
- Chow, K. T., Pope, M. K., & Davies, J. (1999). Characterization of a vanillic acid non-oxidative decarboxylation gene cluster from *Streptomyces* sp. D7. *Microbiology*, *145*(9), 2393-2403.
- Clifford, M. N., & Scalbert, A. (2000). Ellagitannins—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(7), 1118-1125.
- Clifford, M. N., Jaganath, I. B., Ludwig, I. A., & Crozier, A. (2017). Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: Discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Natural Product Reports*, *34*(12), 1391–1421.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(10), 2900-2911.
- Correia, R. T., McCue, P., Magalhães, M. M., Macêdo, G. R., & Shetty, K. (2004). Production of phenolic antioxidants by the solid-state bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. *Process Biochemistry*, *39*(12), 2167-2172.

- Couto, J. A., Campos, F. M., Figueiredo, A. R., & Hogg, T. A. (2006). Ability of lactic acid bacteria to produce volatile phenols. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2), 166–171.
- Crews, P., Rodriguez, J., Jaspars, M., & Crews, R. J. (1998). *Organic structure analysis*. Oxford University Press.
- Cruz, L., Benohoud, M., Rayner, C. M., Mateus, N., de Freitas, V., & Blackburn, R. S. (2018). Selective enzymatic lipophilization of anthocyanin glucosides from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) skin extract and characterization of esterified anthocyanins. *Food Chemistry*, 266, 415–419.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(2), 324–325.
- Çakmakçı, S., Gülçin, İ., Gündoğdu, E., Ertem Öztekin, H., & Taslimi, P. (2023). The comparison with commercial antioxidants, effects on colour, and sensory properties of green tea powder in butter. *Antioxidants*, 12(8), 1522.
- Çakmakçı, S., Gündoğdu, E., Dağdemir, E., & Erdoğan, Ü. (2014). Investigation of the possible use of black cumin (*Nigella sativa* L.) essential oil on butter stability. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(4), 533–539.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- Dağdemir, E., Çakmakçı, S., & Gündoğdu, E. (2009). Effect of *Thymus haussknechtii* and *Origanum acutidens* essential oils on the stability of cow milk butter. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(11), 1118–1123.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- Dambolena, J. S., López, A. G., Meriles, J. M., Rubinstein, H. R., & Zygadlo, J. A. (2012). Inhibitory effect of 10 natural phenolic compounds on *Fusarium verticillioides*. A structure–property–activity relationship study. *Food Control*, 28(1), 163–170.
- De Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., Biasoto, A. C. T., & Shahidi, F. (2018). Low molecular weight phenolics of grape juice and winemaking byproducts: Antioxidant activities and inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein cholesterol and DNA strand breakage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(50), 12159–12171.
- De Leonardis, A., Macciola, V., & Di Rocco, A. (2003). Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 523–528.

- De Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Brinkman, U. A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1–2), 31–63.
- De Sotillo, D. R., Hadley, M., & Holm, E. T. (1994). Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59(3), 649–651.
- Decker, E. A., Chen, B., Panya, A., & Elias, R. J. (2010). Understanding antioxidant mechanisms in preventing oxidation in foods. *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications*, 225–248.
- Decker, E. A., McClements, D. J., Bourlieu-Lacanal, C., Durand, E., Figueroa-Espinoza, M. C., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2017). Hurdles in predicting antioxidant efficacy in oil-in-water emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 183–194.
- Demirkol, A., Guneser, O., & Yuceer, Y. K. (2016). Volatile compounds, chemical and sensory properties of butters sold in Çanakkale. *Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 99–108.
- Deng, D., Zhang, J., Cooney, J. M., Skinner, M. A., Adaim, A., Jensen, D. J., & Stevenson, D. E. (2006). Methylated polyphenols are poor “chemical” antioxidants but can still effectively protect cells from hydrogen peroxide-induced cytotoxicity. *FEBS Letters*, 580(22), 5247–5250.
- Devi, A., Das, V. K., & Deka, D. (2018). Evaluation of the effectiveness of potato peel extract as a natural antioxidant on biodiesel oxidation stability. *Industrial Crops and Products*, 123, 454–460.
- Difonzo, G., Russo, A., Trani, A., Paradiso, V. M., Ranieri, M., Pasqualone, A., ... & Caponio, F. (2017). Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. *Journal of Functional Foods*, 31, 63–70.
- Dueñas, M., González-Manzano, S., González-Paramás, A., & Santos-Buelga, C. (2010). Antioxidant evaluation of *O*-methylated metabolites of catechin, epicatechin and quercetin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 443–449.
- Ebrahimian, M., Mehdizadeh, T., & Aliakbarlu, J. (2023). Chemical and microbiological stability and sensorial properties of traditional Iranian butter incorporated with pomegranate peel extract. *International Journal of Dairy Technology*, 76(1), 178–186.
- El-Shourbagy, G. A., & El-Zahar, K. M. (2014). Oxidative stability of ghee as affected by natural antioxidants extracted from food processing wastes. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(2), 213–220.
- Erinç, H., İşler, İ. H., & Salur, F. (2019). Linoleik asidin saflaştırılmasında düşük sıcaklık kristalizasyon yönteminin etkinliği. *Food and Health*, 5(1), 30–38.
- Esazadeh, K., Ezzati Nazhad Dolatabadi, J., Andishmand, H., Mohammadzadeh-Aghdash, H., Mahmoudpour, M., Naemi Kermanshahi, M., & Roosta, Y. (2024). Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 12(10), 7004–7016.

- European Union Commission Regulation. (1991). Characteristics of olive and olive-pomace oils and their analytical methods. *Official Journal of the European Communities*.
- FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim tarihi: 11 Kasım 2024).
- Farooq, S., Abdullah, Zhang, H., & Weiss, J. (2021). A comprehensive review on polarity, partitioning, and interactions of phenolic antioxidants at oil–water interface of food emulsions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), 4250-4277.
- Fathi, A., Sahari, M. A., Barzegar, M., & Naghdi Badi, H. (2013). Antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. essential oil and its application in safflower oil. *Journal of Medicinal Plants*, 12(45), 51–67.
- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N., & Skrypnik, L. (2019). Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants*, 8(7), 237.
- Figueroa-Espinoza, M. C., & Villeneuve, P. (2005). Phenolic acids enzymatic lipophilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2779–2787.
- Franca, A. S., & Oliveira, L. S. (2022). Potential uses of spent coffee grounds in the food industry. *Foods*, 11(14), 2064.
- Franco, D., Pateiro, M., Rodríguez Amado, I., López Pedrouso, M., Zapata, C., Vázquez, J. A., & Lorenzo, J. M. (2016). Antioxidant ability of potato (*Solanum tuberosum*) peel extracts to inhibit soybean oil oxidation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(12), 1891–1902.
- Frankel, E. N. (1996). Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food chemistry*, 57(1), 51-55.
- Frankel, E. N. (2006). Lipid oxidation. (2nd edn.). UK: Woodhead Publishing Ltd, (Chapter 2).
- Fuggetta, M. P., Lanzilli, G., Tricarico, M., Cottarelli, A., Falchetti, R., Ravagnan, G., & Bonmassar, E. (2006). Effect of resveratrol on proliferation and telomerase activity of human colon cancer cells in vitro. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 25(2), 189–193.
- Fujita, K. I., & Kubo, I. (2002). Antifungal activity of octyl gallate. *International Journal of Food Microbiology*, 79(3), 193-201.
- Ghelichi, S., Hajfathalian, M., Yesiltas, B., Sørensen, A. D. M., García-Moreno, P. J., & Jacobsen, C. (2023). Oxidation and oxidative stability in emulsions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(3), 1864–1901.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(17), 4976-4982.

- Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food chemistry*, 92(3), 521-525.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M., ... & Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry*, 74(3), 309-315.
- Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Lojek, A., Číž, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y. S., ... & Trakhtenberg, S. (2002). Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10), 1166-1170.
- Grajeda-Iglesias, C., Figueroa-Espinoza, M. C., Barouh, N., Muñoz-Castellanos, L. N., & Salas, E. (2022). Polyphenol lipophilisation: A suitable tool for the valorisation of natural by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 6935-6947.
- Gramza-Michalowska, A., Korczak, J., & Regula, J. (2007). Use of plant extracts in summer and winter season butter oxidative stability improvement. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(1), 85–88.
- Guardiola, F. (Ed.). (2002). Cholesterol and phytosterol oxidation products: Analysis, occurrence, and biological effects. *The American Oil Chemists' Society*.
- Gülçin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 1-105.
- Gupta, A., Kagliwal, L. D., & Singhal, R. S. (2013). Biotransformation of polyphenols for improved bioavailability and processing stability. *Advances in Food and Nutrition Research*, 69, 183–217.
- Gutteridge, J. M. C., & Halliwell, B. (2010). Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(4), 561–564.
- Gülçin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Gülen, S., Günal-Köroğlu, D., & Turan, S. (2025). Effects of cold-pressed oil additives in varying proportions: Physico-chemical characteristics of mayonnaises. *Food Chemistry*, 469, 142576.
- Günther, M., Dabare, S., Fuchs, J., Gunesch, S., Hofmann, J., Decker, M., & Culmsee, C. (2023). Flavonoid–phenolic acid hybrids are potent inhibitors of ferroptosis via attenuation of mitochondrial impairment. *Antioxidants*, 13(1), 44.
- Hadidi, M., Orellana-Palacios, J. C., Aghababaei, F., Gonzalez-Serrano, D. J., Moreno, A., & Lorenzo, J. M. (2022). Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. *LWT - Food Science and Technology*, 169, 114003.
- Hammami, M., Chaabani, E., Yeddes, W., Wannes, W. A., & Bourgou, S. (2023). Phenolic Compounds and Skin Permeability: An In Silico Investigation. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 11(1), 11-18.

- Helal, M. M., Adawy, T. E., Beltagy, A. E., Bedawey, A. E., & Youssef, S. M. (2020). Evaluation of potato peel extract as a source of antioxidant and antimicrobial substances. *Menoufia Journal of Food and Dairy Sciences*, 5(6), 79–90.
- Hennebelle, M., Villeneuve, P., Durand, E., Lecomte, J., Van Duynhoven, J., Meynier, A., ... & Berton-Carabin, C. (2024). Lipid oxidation in emulsions: New insights from the past two decades. *Progress in Lipid Research*, 94, 101186.
- Hollman, P. C. H. (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: Local or systemic effects?. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 842–852.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- Hussen, E. M., & Endalew, S. A. (2023). *In vitro* antioxidant and free-radical scavenging activities of polar leaf extracts of *Vernonia amygdalina*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 146.
- Ishihara, K., & Nakajima, N. (2003). Structural aspects of acylated plant pigments: stabilization of flavonoid glucosides and interpretation of their functions. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 23(2-6), 411-417.
- Ismail, L., Rizzo, V., Di Mattia, C., Fanesi, B., Lucci, P., D'Alessio, G., ... & Pittia, P. (2024). Oil-in-water emulsions made of pistachio oil: Physical and chemical properties and stability. *Foods*, 14(1), 60.
- Jain, P. K., Soni, A., Jain, P., & Bhawsar, J. (2016). Phytochemical analysis of *Mentha spicata* plant extract using UV–VIS, FTIR and GC/MS technique. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(2), 1–6.
- James, S., Yakubu, C. M., Maxwell, Y. M. O., Audu, Y., Bankole, B. M., & Lawal, B. S. (2022). Effects of processing methods on total phenolic, total flavonoid and antioxidant capacities of moringa seeds. *Journal of Food Science and Nutrition*, 8(138), 1 – 7.
- Javidipour, I., Erinc, H., Bastürk, A., & Tekin, A. (2017). Oxidative changes in hazelnut, olive, soybean, and sunflower oils during microwave heating. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1582–1592.
- Jin, G., & Yoshioka, H. (2005). Synthesis of lipophilic poly-lauroyl-(+)-catechins and radical-scavenging activity. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69(3), 440-447.
- Kajla, P., Sharma, A., & Sood, D. R. (2015). Flaxseed—a potential functional food source. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1857–1871.
- Kalinowska, M., Świsłocka, R., Wołejko, E., Jabłońska-Trypuć, A., Wydro, U., Kozłowski, M., ... & Lewandowski, W. (2024). Structural characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of six plant phenolic acids. *Plos one*, 19(6), e0299372.

- Kanatt, S. R., Chander, R., Radhakrishna, P., & Sharma, A. (2005). Potato peel extract: A natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed lamb meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1499–1504.
- Kanda, T., Akiyama, H., Yanagida, A., Tanabe, M., Goda, Y., Toyoda, M., Teshima, R., & Saito, Y. (1998). Inhibitory effects of apple polyphenol on induced histamine release from RBL-2H3 cells and rat mast cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(7), 1284–1289.
- Kang, B. K., Yu, J. C., & Shin, W. S. (2024). Physical stability and antioxidant ability of a sustainable oil-in-water emulsion containing perilla skin extract and upcycled Aquasoya powder. *Foods*, 13(7), 1063.
- Karabulut, G., & Yemiş, O. (2019). Fenolik bileşiklerin bağlı formları ve biyoyararlılığı. *Akademik Gıda*, 17(4), 526-537.
- Kasote, D. M., Badhe, Y. S., & Hegde, M. V. (2013). Effect of mechanical press oil extraction processing on quality of linseed oil. *Industrial Crops and Products*, 42, 10-13.
- Keramat, M., & Golmakani, M. T. (2024a). Antioxidant potency and inhibitory mechanism of curcumin and its derivatives in oleogel and emulgel produced by linseed oil. *Food Chemistry*, 445, 138754.
- Keramat, M., & Golmakani, M. T. (2024b). Effects of rosmarinic acid esters on the oxidation kinetic of organogel and emulsion gel. *Food Chemistry*, 22, 101343.
- Keramat, M., Ehsandoost, E., & Golmakani, M. T. (2023). Recent trends in improving the oxidative stability of oil-based food products by inhibiting oxidation at the interfacial region. *Foods*, 12(6), 1191.
- Keramat, M., Golmakani, M. T., & Niakousari, M. (2022). Effect of polyglycerol polyricinoleate on the inhibitory mechanism of sesamol during bulk oil oxidation. *Scientific Reports*, 12(1), 11946.
- Khalid, N., Khan, R. S., Hussain, M. I., Farooq, M., Ahmad, A., & Ahmed, I. (2017). A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 176–186.
- Khan, A., Nadeem, M., Ullah, R., Gulzar, N., Al-Asmari, F., Imran, M., ... & Almalki, R. S. (2024). Fatty acid composition, phenolic compounds, phytosterols, and lipid oxidation of single- and double-fractionated olein of safflower oil produced by low-temperature crystallization. *ACS Omega*, 9(6), 6787–6796.
- Khanal, S., Karimi, K., Majumdar, S., Kumar, V., Verma, R., Bhatia, S. K., ... & Kumar, D. (2024). Sustainable utilization and valorization of potato waste: State of the art, challenges, and perspectives. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(19), 23335-23360.
- Khatab, R. Y., Eskin, M. N., & Thiyam-Hollander, U. (2014). Production of canolol from canola meal phenolics via hydrolysis and microwave-induced decarboxylation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(1), 89-97.

- Khelawan, R. K. (2023). "Phytochemical screening, chemical composition and antimicrobial activities of ethanol, methanol and chloroform extracts from the leaves of *digitaria sanguinalis*, *digitaria ischaemum* and the bark of *carapa guianensis* found in Guyana, South America." *Theses and Dissertations*, Saint John's University, Jamaica New York, 540.
- Kim, D. H., Kim, B. G., Lee, Y., Ryu, J. Y., Lim, Y., Hur, H. G., & Ahn, J. H. (2005). Regiospecific methylation of naringenin to ponciretin by soybean *O*-methyltransferase expressed in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 119(2), 155–162.
- Kim, H., Lee, H., & Min, D. (2007). Effects and prooxidant mechanisms of oxidized α -tocopherol on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Science*, 72, C223–C230.
- Kiokias, S., & Oreopoulou, V. (2022). Review on the antioxidant activity of phenolics in o/w emulsions along with the impact of a few important factors on their interfacial behaviour. *Colloids and Interfaces*, 6(4), 79.
- Kittipongpittaya, K., Panya, A., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2014). Impact of free fatty acids and phospholipids on reverse micelles formation and lipid oxidation in bulk oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(3), 453–462.
- Kocabaş, T. (2021). Trakya Bölgesi'nde üretilen ayçiçeği küspelerinin kimyasal kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı. *Yüksek Lisans Tezi*, Edirne, Türkiye.
- Kodelia, G., Athanasiou, K., & Kolisis, F. N. (1994). Enzymatic synthesis of butyryl-rutin ester in organic solvents and its cytogenetic effects in mammalian cells in culture. *Applied biochemistry and biotechnology*, 44(3), 205–212.
- Koduvayur Habeebullah, S. F., Nielsen, N. S., & Jacobsen, C. (2010). Antioxidant activity of potato peel extracts in a fish-rape seed oil mixture and in oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(11), 1319–1332.
- Kubo, A., Lunde, C. S., & Kubo, I. (1995). Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6), 1629–1633.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633–640.
- Kumar, I., & Sharma, R. K. (2021). Antioxidant properties in methanol extract of kernels of commonly marketed Indian fruits. *International Journal of Fruit Science*, 21(1), 334–343.
- Kumari, B., Tiwari, B. K., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. P. (2017). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels: Profiling and kinetic modelling. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(6), 1432–1439.
- Kunnumakkara, A. B., Anand, P., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letters*, 269(2), 199–225.

- Lafay, S., & Gil-Izquierdo, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 301–311.
- Laguette, M., Bayrasy, C., Panya, A., Weiss, J., McClements, D. J., & Villeneuve, P. (2015). What makes good antioxidants in lipid-based systems? The next theories beyond the polar paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 183–201.
- Laguette, M., Bily, A., & Birtić, S. (2020). Lipid oxidation in food. In *Lipids and edible oils* (pp. 243-287). *Academic Press*.
- Laguette, M., Bily, A., Roller, M., & Birtić, S. (2017). Mass transport phenomena in lipid oxidation and antioxidation. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 391-411.
- Laguette, M., Chen, B., Lecomte, J., Villeneuve, P., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2011). Antioxidant properties of chlorogenic acid and its alkyl esters in stripped corn oil in combination with phospholipids and/or water. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18), 10361-10366.
- Laguette, M., Decker, E. A., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2010). Methods for evaluating the potency and efficacy of antioxidants. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 13(5), 518-525.
- Lei, C., Tang, X., Li, H., Chen, H., & Yu, S. (2020). Molecular hybridization of grape seed extract: Synthesis, structural characterization and anti-proliferative activity in vitro. *Food Research International*, 131, 109005.
- Li, Q., Xia, Y., Zhao, T., Gong, Y., Fang, S., & Chen, M. (2021). Improving the catalytic characteristics of phenolic acid decarboxylase from *Bacillus amyloliquefaciens* by the engineering of N-terminus and C-terminus. *BMC biotechnology*, 21(1), 44.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Ruiz, K., Castera, A. R., Bauduin, P., Diat, O., & Chemat, F. (2015). Comprehension of direct extraction of hydrophilic antioxidants using vegetable oils by polar paradox theory and small angle X-ray scattering analysis. *Food Chemistry*, 173, 873–880.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*, 96(2), 254-260.
- Liang, S., & McDonald, A. G. (2014). Chemical and thermal characterization of potato peel waste and its fermentation residue as potential resources for biofuel and bioproducts production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(33), 8421–8429.
- Liu, H. W., Zhao, J. S., Li, K., & Deng, W. (2018). Effects of chlorogenic acids-enriched extract from *Eucommia ulmoides* leaves on growth performance, stress response, antioxidant status and meat quality of lambs subjected or not to transport stress. *Animal Feed Science and Technology*, 238, 47-56.

- Liu, J., Guo, J., Ye, C., Chen, K., Zhou, X., Chen, D., ... & Liu, C. (2025). Low temperature storage alleviates aging of paddy by reducing lipid degradation and peroxidation. *Food Chemistry*, *465*, 142140.
- Losada-Barreiro, S., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2024). Analysis of the efficiency of antioxidants in inhibiting lipid oxidation in terms of characteristic kinetic parameters. *Antioxidants*, *13*(5), 593.
- Lu, T., Shen, Y., Wang, J. H., Xie, H. K., Wang, Y. F., Zhao, Q., ... & Shahidi, F. (2020). Improving oxidative stability of flaxseed oil with a mixture of antioxidants. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(3), e14355.
- Lui, M. Y., Lokare, K. S., Hemming, E., Stanley, J. N., Perosa, A., Selva, M., & Maschmeyer, T. (2016). Microwave-assisted methylation of dihydroxybenzene derivatives with dimethyl carbonate. *RSC Advances*, *6*(63), 58443–58451.
- Mahmoud, S. F., Kebary, K. M., Hussein, S. A., Badawi, R. M., & Saleh, D. I. (2021). Improving the oxidative stability of anhydrous milk fat by adding natural antioxidant. *Journal of AOAC International*, *104*(6), 1661–1666.
- Makris, D. P. (Ed.). (2021). *High-Performance Green Extraction of Natural Products*. MDPI.
- Makris, D. P., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(2), 125–132.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(5), 727–747.
- Mansour, E. H., & Khalil, A. H. (2000). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chemistry*, *69*(2), 135–141.
- Mansouri, H., Farhoosh, R., & Rezaie, M. (2020). Interfacial performance of gallic acid and methyl gallate accompanied by lecithin in inhibiting bulk phase oil peroxidation. *Food Chemistry*, *328*, 127128.
- Maqsood, S., & Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, *119*(1), 123–132.
- Marinho, J. A., Guimarães, D. S. M., Glanzmann, N., de Almeida Pimentel, G., da Costa Nunes, I. K., Pereira, H. M. G., ... & Abramo, C. (2021). In vitro and in vivo antiplasmodial activity of novel quinoline derivative compounds by molecular hybridization. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *215*, 113271.
- Marquez-Rodriguez, A. S., Guimarães, M., Mateus, N., De Freitas, V., Ballinas-Casarrubias, M. L., Fuentes-Montero, M. E., ... & Cruz, L. (2021). Disaccharide anthocyanin delphinidin 3-*O*-sambubioside from *Hibiscus sabdariffa* L.: *Candida antarctica* lipase B-catalyzed fatty acid acylation and study of its color properties. *Food Chemistry*, *344*, 128603.

- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., Provan, G., & Chesson, A. (2002). Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(3), 323-330.
- Maszewska, M., Florowska, A., Dłużewska, E., Wroniak, M., Marciniak-Lukasiak, K., & Żbikowska, A. (2018). Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules*, 23(7), 1746.
- McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270–1282.
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Park, Y. (2008). Controlling lipid bioavailability through physicochemical and structural approaches. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(1), 48–67.
- Medina, I., Lois, S., Alcántara, D., Lucas, R., & Morales, J. C. (2009). Effect of lipophilization of hydroxytyrosol on its antioxidant activity in fish oils and fish oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9773–9779.
- Mellou, F., Lazari, D., Skaltsa, H., Tselepis, A. D., Kolisis, F. N., & Stamatis, H. (2005). Biocatalytic preparation of acylated derivatives of flavonoid glycosides enhances their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Biotechnology*, 116(3), 295–304.
- Merkx, D. W., Plankensteiner, L., Yu, Y., Wierenga, P. A., Hennebelle, M., & Van Duynhoven, J. P. (2021). Evaluation of PBN spin-trapped radicals as early markers of lipid oxidation in mayonnaise. *Food Chemistry*, 334, 127578.
- Mikołajczak, N., & Tańska, M. (2022). Effect of initial quality and bioactive compounds content in cold-pressed flaxseed oils on oxidative stability and oxidation products formation during one-month storage with light exposure. *Nutrition and Food Science Journal*, 26, 10–21.
- Moharram, F. A. E., Al-Gendy, A. A., El-Shenawy, S. M., Ibrahim, B. M., & Zarka, M. A. (2018). Phenolic profile, anti-inflammatory, antinociceptive, anti-ulcerogenic and hepatoprotective activities of *Pimenta racemosa* leaves. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 208.
- Mohdaly, A. A., Sarhan, M. A., Smetanska, I., & Mahmoud, A. (2010). Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), 218-226.
- Molole, G. J., Gure, A., & Abdissa, N. (2022). Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chemistry*, 16(1), 48.
- Monje, A. F. B., Parrado, L. X., & Gutiérrez-Guzmán, N. (2018). ATR-FTIR for discrimination of espresso and Americano coffee pods. *Coffee Science, Lavras* 13(4), 550-558.
- Morovati, E., Sahari, M. A., & Barzegar, A. (2010). Physicochemical properties of Iranian varieties/lines of safflower oil and seed as a rich source of ω -6. *Medicinal Plants*, 36(9), 145–154.

- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., et al. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145–171.
- Muhović, D., Cvijanović, G., Bajagić, M., Pezo, L., Pejić, L., & Rabrenović, B. (2025). Enhancing oxidative stability and nutritional quality of flaxseed oil using apricot, sesame, and black cumin oil blends. *Foods*, 14(11), 2000.
- Murthy, P. S., & Naidu, M. M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, 45–58.
- Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83(1), 173–179.
- Müller, M., Stefanetti, F., & Krieger, U. K. (2023). Oxidation pathways of linoleic acid revisited with electrodynamic balance–mass spectrometry. *Environmental Science: Atmospheres*, 3(1), 85–96.
- Nabais, J. M. V., Nunes, P., Carrott, P. J., Carrott, M. M. L. R., García, A. M., & Díaz-Díez, M. A. (2008). Production of activated carbons from coffee endocarp by CO₂ and steam activation. *Fuel processing technology*, 89(3), 262–268.
- Nagarajan, S., Nagarajan, R., Kumar, J., Salemme, A., Togna, A. R., Saso, L., & Bruno, F. (2020). Antioxidant activity of synthetic polymers of phenolic compounds. *Polymers*, 12(8), 1646.
- Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F., & Scaccini, C. (2002). Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), 5735–5741.
- Naumov, V. V., & Vasil'ev, R. F. (2003). Antioxidant and prooxidant effects of tocopherol. *Kinetics and Catalysis*, 44(1), 101–105.
- Nováková, L., Spáčil, Z., Seifrtová, M., Opletal, L., & Solich, P. (2010). Rapid qualitative and quantitative ultra high performance liquid chromatography method for simultaneous analysis of twenty nine common phenolic compounds of various structures. *Talanta*, 80(5), 1970–1979.
- O'Dwyer, S. P., O'Beirne, D., Ní Eidhin, D., Hannon, J. A., & O'Kennedy, B. T. (2013). Oxidative stability of tuna fat spreads (O/W/O emulsions) using conventional lipid oxidation methods, SPME-GC/MS and sensory analysis. *European Food Research and Technology*, 237, 385–398.
- Okur, I., Soyler, B., Sezer, P., Oztop, M. H., & Alpas, H. (2021). Improving the recovery of phenolic compounds from spent coffee grounds (SCG) by environmentally friendly extraction techniques. *Molecules*, 26(3), 613.
- Okur, İ., Baltacıoğlu, C., Baltacıoğlu, H., Alpas, H., & Ağçam, E. (2019). Evaluation of the effect of different extraction techniques on sour cherry pomace phenolic content and

- antioxidant activity and determination of phenolic compounds by FTIR and HPLC. *Waste and Biomass Valorization*, 10(12), 3545-3555.
- Olszowy-Tomczyk, M. (2020). Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. *Phytochemistry Reviews*, 19(1), 63–103.
- Onyeneho, S. N., & Hettiarachchy, N. S. (1993). Antioxidant activity of potato peels in soybean and sunflower oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(4), 345–350.
- Osborn, H. T., & Akoh, C. C. (2004). Effect of emulsifier type, droplet size, and oil concentration on lipid oxidation in structured lipid-based oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 84(3), 451–456.
- Özdemir, M. (2022). Fındık zarı ekstraktının enkapsülasyonu ve elde edilen mikrokapsüllerin mayonezde antioksidan olarak kullanımı. *Yüksek Lisans Tezi*. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, Türkiye.
- Özkılıç, S. Y., & Arslan, D. (2022). Acidic and enzymatic pre-treatment effects on cold-pressed pumpkin, terebinth, and flaxseed oils. *Grasas y Aceites*, 73(2), e462.
- Pandey A, Tripathi S. (2014). Concept of standardization, extraction, and pre-phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119.
- Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4162–4168.
- Parmar, N. S., & Parmar, S. (1998). Anti-ulcer potential of flavonoids. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 42(3), 343–351.
- Pawar, N., Arora, S., Bijoy, R. R., & Wadhwa, B. K. (2012). The effects of *Asparagus racemosus* (shatavari) extract on oxidative stability of ghee, in relation to added natural and synthetic antioxidants. *International journal of dairy technology*, 65(2), 293-299.
- Pawar, N., Gandhi, K., Purohit, A., Arora, S., & Singh, R. R. B. (2014b). Effect of added herb extracts on oxidative stability of ghee (butter oil) during accelerated oxidation condition. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2727–2733.
- Pawar, N., Purohit, A., Gandhi, K., Arora, S., & Singh, R. R. B. (2014a). Effect of operational parameters on determination of oxidative stability measured by Rancimat method. *International Journal of Food Properties*, 17(9), 2082–2088.
- Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L., & Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3), 547-557.
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68–81.

- Pereira, R. J., & das Graças Cardoso, M. (2012). Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of biotechnology and biodiversity*, 3(4), 146-152.
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The chemistry behind the Folin–Ciocalteu method for the estimation of (poly)phenol content in food: Total phenolic intake in a Mediterranean dietary pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553.
- Perrone, D., Farah, A., & Donangelo, C. M. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(17), 4265-4275.
- Petrovici, A. R., Simionescu, N., Sandu, A. I., Paraschiv, V., Silion, M., & Pinteala, M. (2021). New insights on hemp oil enriched in cannabidiol: Decarboxylation, antioxidant properties and in vitro anticancer effect. *Antioxidants*, 10(5), 738.
- Peyrat-Maillard, M. N., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (2003). Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(10), 1007.
- Pizzolitto, R. P., Barberis, C. L., Dambolena, J. S., Herrera, J. M., Zunino, M. P., Magnoli, C. E., ... & Dalcerio, A. M. (2015). Inhibitory effect of natural phenolic compounds on *Aspergillus parasiticus* growth. *Journal of Chemistry*, 2015(1), 547925.
- Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(6), 629–642.
- Porter, W. L. (1980). Recent trends in food applications of antioxidants. In *Autoxidation in Food and Biological Systems* (pp. 295–365).
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Raikos, V., Neacsu, M., Morrice, P., & Duthie, G. (2014). Physicochemical stability of egg protein-stabilised oil-in-water emulsions supplemented with vegetable powders. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(11), 2433–2440.
- Rajabi, F., & Saidi, M. R. (2004). Microwave-assisted methylation of carboxylic acids and phenolic compounds with dimethyl-carbonate under solvent-free condition. *Synthetic Communications*, 34(22), 4179–4188.
- Ramadan, M. F., Amer, M. M. A., & Sulieman, A. E. R. M. (2006). Correlation between physicochemical analysis and radical-scavenging activity of vegetable oil blends as affected by frying of French fries. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(8), 670-678.

- Ranalli, A., Lucera, L., & Contento, S. (2003). Antioxidizing potency of phenol compounds in olive oil mill wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7636-7641.
- Rasoamandrary, N., Fernandes, A. M., Bashari, M., Masamba, K., & Xueming, X. (2013). Improved extraction of vanillin 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde from cured vanilla beans using ultrasound-assisted extraction: A comparison of ultrasound-assisted and hot water bath extraction. *Akademik Gıda*, 11(1), 6-14.
- Rasooli, I., & Owlia, P. (2005). Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry*, 66(24), 2851–2856.
- Rathee, P., Sehrawat, R., Rathee, P., Khatkar, A., Akkol, E. K., Khatkar, S., ... & Sobarzo-Sánchez, E. (2023). Polyphenols: natural preservatives with promising applications in food, cosmetics and pharma industries; problems and toxicity associated with synthetic preservatives; impact of misleading advertisements; recent trends in preservation and legislation. *Materials*, 16(13), 4793.
- Rawel, H. M., Frey, S. K., Meidtnr, K., Kroll, J., & Schweigert, F. J. (2006). Determining the binding affinities of phenolic compounds to proteins by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(8), 705–713.
- Razzaghi-Asl, N., Garrido, J., Khazraei, H., Borges, F., & Firuzi, O. (2013). Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry*, 20(36), 4436-4450.
- Rehman, Z. U., Habib, F., & Shah, W. H. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*, 85(2), 215-220.
- Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., & da Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat science*, 148, 181-188.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
- Rizwan, M., Khan, A. A., Rehman, A., Nadeem, M. T., Tanweer, S., Khan, U. M., Saeed, K., Bano, Y., Alsulami, T., Saleem, F. S., Morya, S., Ghafar, S., Rocha, J. M., & Khalid, M. Z. (2025). Enhancement of oxidative stability and antioxidant potential of flaxseed oil with cinnamon extract. *Italian Journal of Food Science*, 37(1), 182–193.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1996). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401–436.

- Rodis, P. S., Karathanos, V. T., & Mantzavinou, A. (2002). Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 596-601.
- Saada, M., Kasmi, M., & Ksouri, R. (2019). Towards coffee processing by-products valorization: Phenolic compounds and antioxidant activity of spent coffee grounds and coffee silverskin. *International Journal of Biotech Trends and Technology*, 9, 11–15.
- Saeed, A., Shabbir, A., & Khan, A. (2024). Stabilization of sunflower oil by using potato peel extract as a natural antioxidant. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(4), 5275–5284.
- Samarin, A. M., Poorazarang, H., Hematyar, N., & Elhamirad, A. (2012). Phenolics in potato peels: Extraction and utilization as natural antioxidants. *World Applied Sciences Journal*, 18(2), 191–195.
- Samotyja, U. (2019). Potato peel as a sustainable resource of natural antioxidants for the food industry. *Potato Research*, 62(4), 435–451.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Brenes, A., & Goñi, I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5), 971–976.
- Schieber, A., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in food science & technology*, 12(11), 401-413.
- Schwarz, D., & Roots, I. (2003). In vitro assessment of inhibition by natural polyphenols of metabolic activation of procarcinogens by human CYP1A1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 303(3), 902-907.
- Selva, M., & Perosa, A. (2008). Green chemistry metrics: a comparative evaluation of dimethyl carbonate, methyl iodide, dimethyl sulfate and methanol as methylating agents. *Green Chemistry*, 10(4), 457-464.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2005). Lipid oxidation: Measurement methods. In C. C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology* (pp. 387–403). CRC Press.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067–4079.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2011). Revisiting the polar paradox theory: A critical overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3499–3504.

- Shariatifar, N., Jahed, G. R., Tooryan, F., & Rezaei, M. (2014). Stabilization of soybean oil by *Rosmarinus officinalis* L. extracts during accelerated storage. *International Journal of PharmTech Research*, 6(5), 1476–1483.
- Sharma, R. K., Hajaligol, M. R., Martoglio Smith, P. A., Wooten, J. B., & Baliga, V. (2000). Characterization of char from pyrolysis of chlorogenic acid. *Energy & fuels*, 14(5), 1083-1093.
- Shieh, W. C., Dell, S., & Repic, O. (2001). 1, 8-Diazabicyclo [5.4. 0] undec-7-ene (DBU) and microwave-accelerated green chemistry in methylation of phenols, indoles, and benzimidazoles with dimethyl carbonate. *Organic letters*, 3(26), 4279-4281.
- Shima, M., & Inada, N. (2024). Temperature-dependent profiles and kinetic analysis of oxidation of linoleic acid and glyceryl trilinoleate. *Food Science and Technology Research*, 30(4), 439–446.
- Shin, J. A., Jeong, S. H., Jia, C. H., & Lee, K. T. (2018). Antioxidant capacity of decarboxylated rice bran extract in bulk oil. *Food Science and Biotechnology*, 27(4), 1041-1046.
- Shrikhande, A. J. (2000). Wine by-products with health benefits. *Food Research International*, 33(6), 469-474.
- Siddiq, A., Anwar, F., Manzoor, M., & Fatima, A. (2005). Antioxidant activity of different solvent extracts of *Moringa oleifera* leaves under accelerated storage of sunflower oil. *Asian Journal of Plant Sciences*, 4(6), 630–635.
- Singh, N., & Rajini, P. S. (2004). Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry*, 85(4), 611–616.
- Singh, P. P., & Saldaña, M. D. (2011). Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International*, 44(8), 2452–2458.
- Someya, S., Yoshiki, Y., & Okubo, K. (2002). Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food chemistry*, 79(3), 351-354.
- Sørensen, A., Nielsen, N., Decker, E., Let, M., Xu, X., & Jacobsen, C. (2011). The efficacy of compounds with different polarities as antioxidants in emulsions with omega-3 lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 489–502.
- Speranza, P., & Macedo, G. A. (2012). Lipase-mediated production of specific lipids with improved biological and physicochemical properties. *Process Biochemistry*, 47(12), 1699-1706.
- Śpitalniak-Bajerska, K., Szumny, A., Kucharska, A. Z., & Kupczyński, R. (2018). Effect of natural antioxidants on the stability of linseed oil and fish stored under anaerobic conditions. *Journal of Chemistry*, 2018(1), 9375085.
- Stavrinou, A., Aggelopoulos, C. A., & Tsakiroglou, C. D. (2018). Exploring the adsorption mechanisms of cationic and anionic dyes onto agricultural waste peels of banana,

- cucumber, and potato: Adsorption kinetics and equilibrium isotherms as a tool. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(6), 6958–6970.
- Stevenson, D. E., Wibisono, R., Jensen, D. J., Stanley, R. A., & Cooney, J. M. (2006). Direct acylation of flavonoid glycosides with phenolic acids catalysed by *Candida antarctica* lipase B (Novozym 435®). *Enzyme and Microbial Technology*, 39(6), 1236-1241.
- Sutor-Świeży, K., Antonik, M., Proszek, J., Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Popenda, Ł., ... & Wybraniec, S. (2022). Dehydrogenation of betacyanins in heated betalain-rich extracts of red beet (*Beta vulgaris* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1245.
- Suzuki-Iwashima, A., Tsukagoshi, S., Wakui, R., Ito, Y., & Tanaka, L. (2024). Effect of linoleic and linolenic acid contents on the oxidation stability of interesterified fats under Rancimat test conditions. *Journal of Oleo Science*, 73(9), 1135–1147.
- Symoniuk, E., Ratusz, K., & Krygier, K. (2016). Comparison of the oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil by pressure differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *Journal of food science and technology*, 53(11), 3986-3995.
- Symoniuk, E., Ratusz, K., Ostrowska-Ligeza, E., & Krygier, K. (2017). Impact of selected chemical characteristics of cold-pressed oils on their oxidative stability determined using the Rancimat and pressure differential scanning calorimetry method. *Food Analytical Methods*, 11(4), 1095–1104.
- Tamime, A. Y. (2009). *Dairy fats and related products*. Wiley-Blackwell.
- Tarapoulouzi, M., Agriopoulou, S., Koidis, A., Proestos, C., Enshasy, H. A. E., & Varzakas, T. (2022). Recent advances in analytical methods for the detection of olive oil oxidation status during storage along with chemometrics, authenticity and fraud studies. *Biomolecules*, 12(9), 1180.
- Tauchen, J., Huml, L., Jurásek, M., Regenstein, J. M., & Ozogul, F. (2025). Synthetic and semi-synthetic antioxidants in medicine and food industry: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1599816.
- Taweel, Q. (2022). Ayçiçek yağının stabilitesinin artırılmasında ham ve lipofilize patates kabuğu ekstraktının kullanımı. *Yüksek Lisans Tezi*. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Tejamukti, E. P., Setyaningsih, W., Irnawati, Yasir, B., Alam, G., & Rohman, A. (2020). Application of FTIR spectroscopy and HPLC combined with multivariate calibration for analysis of xanthenes in mangosteen extracts. *Scientia Pharmaceutica*, 88(3), 35.
- Teklehaymanot, L. T., Nadew, T. T., & Ayele, A. T. (2024). Efficiency of potato peel extract in the preservation of cow butter. *Heliyon*, 10(24).
- Tokimoto, T., Kawasaki, N., Nakamura, T., Akutagawa, J., & Tanada, S. (2005). Removal of lead ions in drinking water by coffee grounds as vegetable biomass. *Journal of Colloid and interface Science*, 281(1), 56-61.

- Torres, J. L., & Bobet, R. (2001). New flavanol derivatives from grape (*Vitis vinifera*) byproducts. antioxidant aminoethylthio– flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as a source of flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4627-4634.
- Tran, N. P., Gury, J., Dartois, V., Nguyen, T. K. C., Seraut, H., Barthelmebs, L., & Cavin, J. F. (2008). Phenolic acid-mediated regulation of the *padC* gene, encoding the phenolic acid decarboxylase of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 190(9), 3213–3224.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
- Tsioptsias, C., & Tsivintzelis, I. (2022). Insights on thermodynamic thermal properties and infrared spectroscopic band assignments of gallic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 221, 115065.
- USDA, (2024). U.S. Department of Agriculture. <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/2224000> (Erişim Tarihi: 12.05.2024).
- Valverde Sancho, J., Carreño Amate, C., Caparrós Pérez, M. D. M., Santana Méridas, O., & Julio, L. F. (2023). Biological activity of hybrid molecules based on major constituents of *Cinnamomum verum* and *Thymus vulgaris* essential oils. *Life*, 13(2), 499.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science+Business Media B.V.
- Vescovo, D., Manetti, C., Ruggieri, R., Spizzirri, U. G., Aiello, F., Martuscelli, M., & Restuccia, D. (2025). The valorization of potato peels as a functional ingredient in the food industry: A comprehensive review. *Foods*, 14(8), 1333.
- Vieira, S. A., Zhang, G., & Decker, E. A. (2017). Biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(3), 339-351.
- Vioque-Amor, M., Gómez-Díaz, R., Del Río-Celestino, M., & Avilés-Ramírez, C. (2023). Butter from different species: composition and quality parameters of products commercialized in the south of Spain. *Animals*, 13(22), 3559.
- Viskupicova, J., Danihelova, M., Ondrejovic, M., Liptaj, T., & Sturdik, E. (2010). Lipophilic rutin derivatives for antioxidant protection of oil-based foods. *Food Chemistry*, 123(1), 45-50.
- Voda, K., Boh, B., & Vrtačnik, M. (2004). A quantitative structure–antifungal activity relationship study of oxygenated aromatic essential oil compounds using data structuring and PLS regression analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 10(1), 76-84.
- Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. (1998). Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63(3), 335–342.
- Wang, M., Wang, Y. H., Avula, B., Radwan, M. M., Wanas, A. S., van Antwerp, J., & Khan, I. A. (2016). Decarboxylation study of acidic cannabinoids: A novel approach using ultra-

- high-performance supercritical fluid chromatography/photodiode array-mass spectrometry. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 1(1), 262–271.
- Wang, X. Y., Yang, D., Zhang, H., Jia, C. H., Shin, J. A., Hong, S. T., ... & Lee, K. T. (2014). Antioxidant activity of soybean oil containing 4-vinylsyringol obtained from decarboxylated sinapic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(9), 1543–1550.
- Wang, Y. Z., Fu, S. G., Wang, S. Y., Yang, D. J., Wu, Y. H. S., & Chen, Y. C. (2018). Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 210–216.
- Weisz, G. M., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn. *Food chemistry*, 115(2), 758–765.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Sokół-Łętowska, A., & Korzeniowska, M. (2005). Butter stabilization by plant phenolic antioxidants. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(Suppl. 1), 121–127.
- Woźniak, D., Nawrot-Hadzik, I., Kozłowska, W., Ślusarczyk, S., & Matkowski, A. (2021). Caffeoylquinic acids. In I. Nabavi & S. M. Nabavi (Eds.), *Handbook of dietary phytochemicals* (pp. 1065–1104). Springer.
- Wu, H., Hu, W., Zhang, Y., Huang, L., Zhang, J., Tan, S., ... & Liao, X. (2016). Effect of oil extraction on properties of spent coffee ground–plastic composites. *Journal of Materials Science*, 51(22), 10205–10214.
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2015). Phenolic substance characterization and chemical and cell-based antioxidant activities of 11 lentils grown in the Northern United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4), 960–970.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... & Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 96.
- Xu, J. G., Hu, Q. P., & Liu, Y. (2012). Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(46), 11625–11630.
- Xu, Y., Zhang, J., Tu, Y., Ren, F., & Zhang, H. (2022). Enhancing the oxidative stability of linoleic acid by esterification with hydroxytyrosol. *ACS Food Science & Technology*, 2(9), 1453–1458.
- Yalcin, H., Karaman, S., & Ozturk, I. (2011). Evaluation of antioxidant efficiency of potato and orange peel and apple pomace extract in sunflower oil. *Italian Journal of Food Science*, 23(1), 55–61.

- Yamauchi, M., Kitamura, Y., Nagano, H., Kawatsu, J., & Gotoh, H. (2024). DPPH measurements and structure–activity relationship studies on the antioxidant capacity of phenols. *Antioxidants*, *13*(3), 309.
- Yanishlieva, N. V., & Marinova, E. M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European journal of lipid science and technology*, *103*(11), 752-767.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E., & Pokorný, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *108*(9), 776–793.
- Yusufoğlu, B., Kezer, G., Wang, Y., Ziora, Z. M., & Esatbeyoglu, T. (2024). Bio-recycling of spent coffee grounds: Recent advances and potential applications. *Current Opinion in Food Science*, *55*, 101111.
- Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., & Sarkis, J. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from sunflower seed cake using response surface methodology. *Waste and Biomass Valorization*, *10*, 33-44.
- Zeljковиć, S. Ć., Topčagić, A., Požgan, F., Štefane, B., Tarkowski, P., & Maksimović, M. (2015). Antioxidant activity of natural and modified phenolic extracts from *Satureja montana* L. *Industrial Crops and Products*, *76*, 1094-1099.
- Zeng, Y., Zhou, W., Yu, J., Zhao, L., Wang, K., Hu, Z., & Liu, X. (2023). By-products of fruit and vegetables: Antioxidant properties of extractable and non-extractable phenolic compounds. *Antioxidants*, *12*(2), 418.
- Zhang, K., Meng, H., Du, M., Du, Y., Li, X., Wang, Y., & Liu, H. (2024). Quantitative Phosphoproteomics Analysis Reveals the Protective Mechanism of Chlorogenic Acid on Immunologically Stressed Broiler Meat Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(9), 5062-5072.
- Zhang, S. Q., Bi, H. M., & Liu, C. J. (2007). Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultrahigh hydrostatic pressure. *Separation and Purification Technology*, *57*(2), 277–282.
- Zhao, M., Jiao, M., Zhou, F., Lin, L., & Sun, W. (2018). Interaction of β -conglycinin with catechin: Impact on physical and oxidative stability of safflower oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, *268*, 315–323.
- Zheng, H., Mao, L., Yang, J., Zhang, C., Miao, S., & Gao, Y. (2020). Effect of oil content and emulsifier type on the properties and antioxidant activity of sea buckthorn oil-in-water emulsions. *Journal of Food Quality*, *2020*(1), 1540925.
- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2011). Lipophilized epigallocatechin gallate (EGCG) derivatives as novel antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(12), 6526–6533.
- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2012). Lipophilised epigallocatechin gallate (EGCG) derivatives and their antioxidant potential in food and biological systems. *Food chemistry*, *131*(1), 22-30.

- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In F. Shahidi (Ed.), *Handbook of antioxidants for food preservation* (pp. 287–333). Woodhead Publishing.
- Zhu, L., Xu, Q., Liu, X., Xu, Y., Yang, L., Wang, S., ... & Liu, H. (2020). Oil-water interfacial behavior of soy β -conglycinin–soyasaponin mixtures and their effect on emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105531.
- Zhu, Z., Guan, Q., Guo, Y., He, J., Liu, G., Li, S., ... & Jaffrin, M. Y. (2016). Green ultrasound-assisted extraction of anthocyanin and phenolic compounds from purple sweet potato using response surface methodology. *International Agrophysics*, *30*(1).
- Ziarno, M., Kozłowska, M., Ratusz, K., & Hasalliu, R. (2023). Effect of the addition of selected herbal extracts on the quality characteristics of flavored cream and butter. *Foods*, *12*(3), 471.
- Žilić, S., Maksimović Dragišić, J., Maksimović, V., Maksimović, M., Basić, Z., Crevar, M., & Stanković, G. (2010). The content of antioxidants in sunflower seed and kernel. *Helia*, *33*(52), 75–84.
- Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, V. J., Siapi, E., Heropoulos, G., & Proestos, C. (2017). Evaluating modern techniques for the extraction and characterisation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed phenolics. *Antioxidants*, *6*(3), 46.
- Zuluaga, R., Hoyos, C. G., Velásquez-Cock, J., Vélez-Acosta, L., Palacio Valencia, I., Rodríguez Torres, J. A., & Gañán Rojo, P. (2024). Exploring spent coffee grounds: Comprehensive morphological analysis and chemical characterization for potential uses. *Molecules*, *29*(24), 5866.
- Zuorro, A., & Lavecchia, R. (2012). Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, *34*, 49-56.