



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN
ÇÖREKOTU (*Nigella sativa* L.) YAĞININ
TİMOKİNON İÇERİĞİ VE BAZI KALİTE
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Orkan CAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Mayıs-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

Bu tez çalışması NEÜ BAP birimi tarafından 211319011 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.

Orkan CAN

Tarih: 26.05.2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN ÇÖREKOTU (*Nigella sativa* L.) YAĞININ TIMOKİNON İÇERİĞİ VE BAZI KALİTE PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Orkan CAN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

2022, 27 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

Dr. Öğr. Üyesi N. Mustafa NİZAMLIOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha ÜSTÜN ARGON

Bu tez çalışmasında halk arasında çörekotu olarak bilinen *Nigella sativa* L. tohumunu süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, soğuk sıkım ekstraksiyonu, soxhlet ekstraksiyonu ve süperkritik CO₂ ekstraksiyon (Yardımcı çözücü: Etanol) yöntemleriyle elde edilen ekstraktlarının timokinon içeriği ve bazı kalite parametreleri kıyaslanmıştır. Yüzde serbest yağ asitliği, timokinon miktarı, yağ asitleri kompozisyonu ve oksidasyona karşı dayanıklılığın belirlenmesi amacı indüksiyon periyodu ve 60°C'de 30 gün süre ile fırın testi uygulanmış olup, depolama sürecinin farklı aşamalarında çörekotu ekstraktlarının peroksit değerleri izlenmiştir. Elde edilen ekstraktların timokinon miktarı en yüksek SK-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda (18.0229 mg/gr), en düşük ise SK-CO₂ ekstraksiyonu (Yardımcı çözücü: Etanol) ile elde edilen ekstraktlarda (2.6314 mg/gr) tespit edilmiştir. Serbest yağ asitliği en yüksek soxhlet ekstraksiyonu örneklerinde (%46.10), en düşük ise soğuk sıkım örneklerinde (%4.43) tespit edilmiştir. Soğuk sıkım örnekleri ve soxhlet ekstraksiyonu örneklerinin indüksiyon periyodu sonuçları sırasıyla, 9.27 saat ve 6.57 saat olarak belirlenmiştir. Her iki Süperkritik CO₂ yönteminde ise indüksiyon periyodu değerli ölçülemez. 30 günlük depolamanın (60°C) ardından dört farklı yöntemle elde edilen ekstraktların peroksit değerleri incelendiğinde, her bir ekstraktın farklı karakter gösterdiği, kiminin depolama sürecinde peroksit değerinde azalma kiminin ise artma eğilimi gösterdiği gözlemlenmiştir.

Elde edilen verilere göre, SK-CO₂ ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen timokinon miktarının diğer ekstraksiyon yöntemlerinden elde edilen ekstraktlara göre yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir.

Çörekotunun timokinon içeriği sağladığı fonksiyonel özellikler açısından da dikkat çekmektedir. Timokinonun SK-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktta, diğer ekstrakt yöntemlerine kıyasla daha yüksek oranda edilebildiği görülmüştür. Elde edilen verilere göre timokinon ekstraksiyonu ya da saflaştırılması amacıyla yönelik olarak SK-CO₂ ekstraksiyonu önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Çörekotu, Ekstraksiyon, *Nigella sativa* L., Soxhlet, Soğuk sıkım, Süperkritik CO₂, Timokinon, Yardımcı çözücü.

ABSTRACT

MS THESIS

THE EFFECT OF DIFFERENT EXTRACTION METHODS ON THYMOQUINONE CONTENT OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) OIL AND SOME QUALITY PARAMETERS.

Orkan CAN

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÜNVER

2022, 27 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÜNVER

Assist. Prof. Dr. N. Mustafa NİZAMLIOĞLU

Assist. Prof. Dr. Zeliha ÜSTÜN ARGON

In this thesis, the thymoquinone content and some quality parameters of the extracts of *Nigella sativa* L. seed, known as black cumin, obtained by supercritical CO₂ extraction, cold-pressed extraction, soxhlet extraction and SCO₂ extraction (Co-solvent: Ethanol) methods were compared. In order to determine the percent free fatty acid, thymoquinone content, fatty acid composition and resistance to oxidation, the induction period and the oven test at 60°C for 30 days were applied. The thymoquinone amount of the extracts obtained was highest in the extracts obtained by SCO₂ extraction (18.0229 mg/gr), and the lowest in the extracts obtained by SCO₂ extraction (Co-solvent: Ethanol) (2.6314 mg/gr). The highest free fatty acid value was found in soxhlet extraction samples (46.10%) and the lowest in cold pressed samples (4.43%). Induction period results of cold pressed samples and soxhlet extraction samples were determined as 9.27 hours and 6.57 hours, respectively. In both supercritical CO₂ methods, the induction period could not be measured. When the peroxide values of the extracts obtained by four different methods after 30 days of storage (60°C) were examined, it was observed that each extract showed a different character, some tended to decrease in the peroxide value during the storage period, and some showed an increasing tendency.

According to the data obtained, it was determined that the amount of thymoquinone obtained by the SCO₂ extraction method was higher than the extracts obtained from other extraction methods.

The thymoquinone content of black cumin also draws attention in terms of the functional properties it provides. It has been observed that thymoquinone can be obtained at a higher yield in the extract obtained by SCO₂ extraction compared to other extract methods. According to the data obtained, SCO₂ extraction can be recommended for the purpose of thymoquinone extraction or purification.

Keywords: Black cumin seed, Cold pressed, Co-solvent, Extraction, *Nigella sativa* L., Soxhlet, Supercritical CO₂, Thymoquinone.

ÖNSÖZ

Bu çalışmada; çörekotu tohumuna farklı ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak timokinon miktarını ve bu yöntemlerle elde edilen ekstraktların bazı kalite parametreleri kıyaslanarak bilimsel araştırmalara yardımcı olacak veriler sunulmuştur.

Yüksek lisans tezi olarak yaptığım bu çalışmanın her aşamasında bana yol gösteren, destek ve katkılarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. Ahmet ÜNVER'e teşekkür eder, sonsuz saygılarımı sunarım.

Proje çalışmalarım sürecinde her konuda desteğini gördüğüm eşime teşekkür ederim.

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından 211319011 kodlu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP Birimine teşekkür ederiz.

Orkan CAN
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Çörekotu Tohumunun Kimyasal Bileşimi	3
2.1.1. Timokinon	4
2.1.2. Timokinonun sağlığa etkisi	5
2.1.3. Timokinonun toksik özelliği.....	6
2.2. Ekstraksiyon Yöntemleri.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Materyal	9
3.2. Metot	10
3.2.1. Soğuk sıkım	10
3.2.2. Soxhlet ekstraksiyon	10
3.2.3. Süperkritik CO ₂ ekstraksiyon	11
3.2.4. Hızlandırılmış oksidasyon testleri	12
3.2.4.1. İndüksiyon periyodu.....	12
3.2.4.2. Fırın testi (Schaal Oven Testi).....	12
3.2.5. Peroksit değeri	12
3.2.6. Yağın yüzde serbest asitliği.....	13
3.2.7. Kromatografik timokinon analizi.....	13
3.2.8. Yağ asitleri kompozisyonu (GC-MS)	13
3.2.9. İstatistikî analizler	14

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	15
4.1. Ekstraksiyon Farklılığının Ekstraktların Timokinon İçeriğine Etkisi	15
4.2. Ekstraksiyon Farklılığının Ekstraktların Bazı Kalite Parametreleri	16
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	22
5.1 Sonuçlar	22
5.2 Öneriler	23
6. KAYNAKLAR.....	24

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
m	: Metre
cm	: Santimetre
gr	: Gram
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
µl	: Mikrolitre
sn	: Saniye
dk	: Dakika

Kısaltmalar

TKN	: Timokinon
SK-CO ₂	: Süperkritik Karbondioksit
GC-MS	: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ

Yağlı tohumlardan biri olan çörekotu tohumu geçmişten günümüze kadar yoğun ilgi görmüştür. Çörekotunun tarihi yapılan arkeolojik araştırmalarda eski Mezopotamya dönemine kadar dayanmaktadır. Baharat olarak işlenmesinin de Romalılar dönemine denk geldiği bilinmektedir (Barkoudah, 1998).

Çörekotu (*Nigella sativa* L.), Ranunculaceae familyasından *Nigella* cinsine aittir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Çörekotunun Sistematik Yeri (Tanker ve ark. 2004).

Bölüm	Spermatophyta(Tohumlu Bitkiler)
Altbölüm	Angiospermae (Kapalı Tohumlular)
Sınıf	Dicotyledonae (İki Çenenkliler)
Takım	Ranales
Familiya	Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller)
Cins	<i>Nigella</i>
Tür	<i>Nigella sativa</i> L. (Çörekotu)

Yeşil-mavi renkli çiçekleri ve siyah renkli tohumları olan tek yıllık çimenli bir bitkidir (Şekil 1.1). Tohumlar, bitkilerin etkin maddelerinin kaynağıdır (El-Tahir ve Bakeet, 2006). Genellikle küçük boyutlu (1-5 mg) olup köşelidir (Cheikh-Rouhou ve ark., 2007). Dünya genelinde *Nigella* cinsinin yaklaşık 22 kadar türü bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 2000).



Şekil 1.1. Çörekotu bitkisi (Anonim, 2022a) ve tohumu (Anonim, 2022b).

Türkiye bitki örtüsünde ise 14 tür yer almaktadır (Davis ve ark., 1965). Bunlar; Adi çörekotu (*Nigella sativa*), Yabani çörekotu (*Nigella arvensis*), Sarı çörekotu (*Nigella orientalis*), İspanya çörekotu (*Nigella hispanica*), Şam çörekotu (*Nigella damascena*), Fırıldak çörekotu (*Nigella ciliaris*), *Nigella turcica*, *Nigella lancifolia*, *Nigella icarica*, *Nigella nigellastrum*, *Nigella integrifolia*, *Nigella oxypetala* ve *Nigella segetalis*'dir (Seçmen ve ark., 2000). Bu türler arasından *Nigella damascena* ile *Nigella sativa*'nın üretimi tarımsal olarak yapılmaktadır.

Doğal olarak bulunduğu yerler; Orta Asya, Güney Avrupa, Kafkasya, Kırım şeklindedir. *Nigella sativa* Orta Asya ve Batı Avrupada yetiştirilirken Akdeniz'in bazı kesimlerinde ise *Nigella damascena* yetiştirilmektedir. Bu iki türde tohumları tıbbi özelliklere sahiptir. Ülkemizde yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur, Konya yörelerinde üretilmektedir (Kar ve ark., 2007). Türkiye'de çörekotu adıyla satılan tür genelde *Nigella sativa*'dır (Yılmaz ve ark., 2020). *Nigella sativa*, hem tıbbi hem de gıda endüstrisinde *Nigella damascena*'ya kıyasla çok daha yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Takruri ve Dameh, 1998).

Çörekotu tohumları genellikle ekmek, poğaça ve börek üzerine konularak tüketilir. Ülkemizde yıllardır tarımı yapılan, şifalı olduğu bilinen bir bitkidir. Çörekotunun İslam peygamberi efendimiz Hz. Muhammed (s.a.v.)'in çörekotuna dair hadisi bulunmaktadır. Bu hadis: Ebu Hureyre (r.a.) rivayetine göre; "Rasulullah (s.a.v) buyurdu ki; ölüm dışında hiçbir hastalık yoktur ki, çörekotunda onun için bir deva bulunmasın" (Dinçoğlu, 2014). Çörekotu, antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antiviral özellikler göstermektedir. Astım ve öksürük tedavisinde, egzama ve sedef gibi deri hastalıklarında çörekotu yağının geleneksel kullanımı yaygındır. Son zamanlardaki çalışmalarda ise, uçucu yağında yüksek miktarlarda bulunan timokinon (TKN) molekülünün kanser hücreleri üzerindeki tedavi edici etkileri kanıtlanmıştır. Aynı zamanda, kemoterapide kullanılan ilaçlarla birlikte kullanıldığında tedavinin etkisini arttırmanın yanı sıra, ilaçların toksik yan etkilerini de azalttığı gözlemlenmiştir (Ballout ve ark., 2018).

Bu çalışmanın amacı dört farklı ekstraksiyon yöntemi arasında çörekotunun uçucu yağ içerisinde bulunan önemli molekülü olan TKN'un içeriğini tespit etmek ve elde edilen ekstraktlar üzerinden bazı kalite parametreleri incelenip en uygun yöntemin araştırılmasıdır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Çörekotu Tohumunun Kimyasal Bileşimi

Çörekotunun kimyasal bileşimi, bitkinin hasat mevsimine, çeşidine, yetiştirildiği iklime ve bölgeye göre farklılık göstermektedir (Sultan ve ark., 2009). Çörekotunun kimyasal bileşimi Çizelge 2.1'de verilmiştir (Shah ve Kasturi, 2003).

Çizelge 2.1. *Nigella sativa* 'nın kimyasal bileşimi (Shah ve Kasturi, 2003).

Çörekotu Bileşenleri (%)	Bileşenlerin Konsantrasyonları (%)
Protein	23
Yağ	39
Karbonhidrat	15
Su	7
Lif	21.4
Kül	4.3

Çörekotu tohumunun içerisinde sabit ve uçucu yağ miktarları ve bileşimi, tohumların yetiştirildiği bölgeye, çevresel faktörler ve farklı ekstraksiyon uygulamalarına göre değişiklik göstermektedir. Çörekotu tohumu, %35-42 oranında sabit yağ ve %0.5-1.6 oranında uçucu yağ içermektedir (İslam ve ark., 2017). Çizelge 2.2'de Sunulan çörekotu tohumlarından elde edilen sabit yağlarda %44-56 oranında linoleik asit, %21-24 oranında oleik asit, %12-14 oranında palmitik asit, palmitoleik asit (%3), stearik asit (%2-3), araşidik asit (%2-3), eikosadienoik asit (%2-2.5) ve Linolenik asit (%0.5-2) bulunmaktadır (El-Tahir ve Bakeet, 2006).

Çizelge 2.2. Çörekotu tohumu sabit yağının kimyasal içeriği (El-Tahir ve Bakeet, 2006).

Sabit yağ asit bileşenleri	% Kütle
Palmitik asit	12-14.3
Palmitoleik asit	3
Stearik asit	2.7-3
Oleik asit	20.7-24.6
Linoleik asit	44.7-56
Linolenik asit	0.6-1.8
Araşidik asit	2-3
Eikosadienoik asit	2-2.5

Nigella sativa tohumundan elde edilebilen birçok biyoaktif madde bulunmaktadır. Çörekotu uçucu yağının asıl bileşenin TKN olduğunu tespit etmişlerdir (Chopra ve ark., 1956). Çizelge 2.3'te Muhammad ve ark., (2009)'na göre çörekotu uçucu yağının kimyasal

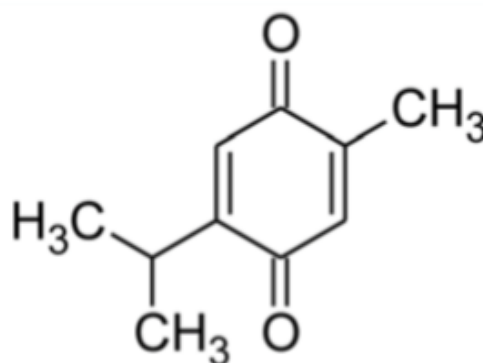
bileşimi verilmiştir. Bunlardan en önemlileri; TKN (%23), Dihidrotimokinon (%4), timol (%2), *p*-simen (%32), karvakrol (%11), α -thujen (%2), α -pinen (%1.5), β -pinen (%2), *t*-anethol (%2) ve minör bileşenler içermektedir.

Çizelge 2.3. Çörekotu tohumu uçucu yağının kimyasal içeriği (Muhammad ve ark., 2009).

Uçucu yağ asit bileşenleri	% Kütle
Timokinon	23.25
Dihidrotimokinon	3.84
Timol	2.32
<i>p</i> -Simen	32.02
Karvakrol	10.8
α -Thujen	2.4
α -Pinen	1.48
β -Pinen	1.72
<i>t</i> -Anethol	2.1
Minör bileşenler	23.81

2.1.1. Timokinon

TKN'un çörekotunda bulunan oldukça önemli antioksidan etkiye sahip olan aktif bileşiktir (Padhye ve ark., 2008). TKN (2-izopropil-5-metil-1.4-benzokinon), yapısında kinon halkasına 2 pozisyonundan bağlı bir izopropil grubu ve 5 pozisyonuna bağlı bir metil grubu bulunmaktadır (Şekil 2.1.1.). TKN ($C_{10}H_{16}O_2$), oda sıcaklığında sarımtırak renkli ve kristal yapıda bulunur (Islam ve ark., 2016).



Şekil 2.1.1. Timokinon molekülü (Islam ve ark., 2016).

TKN molekülü, ışığa maruz kaldığında ditimokinona dönüşür. Bu nedenle uygun koşullarda muhafaza edilmesi önemlidir. Hidrofobik bir molekül olan TKN, yağ içerisinde çözünmektedir. Asidik ortamda stabil olduğu belirlenmiştir (Sicker ve ark., 2019). İlk olarak 1963 yılında, El-Dakhakny tarafından çörekotu uçucu yağından izole edilmiştir. Bu

çalışmada El-Dakhakny petrol eteri ile ekstrakte ettiği sabit yağdan buhar distilasyonu ile uçucu yağ elde etmiş, sonrasında kolon kromatografisi ile TKN molekülünü ayırarak kristallendirmiştir. Ultraviyole ve Infrared spektroskopisi kullanarak molekülün yapısını belirleyip bu molekülün çörekotunun farmakolojik etkilerinden sorumlu olabileceğini belirtmiştir (El-Dakhakny, 1963).

Nigella sativa'yı diğer *Nigella* türlerinden ayıran özelliği, içeriğindeki TKN miktarıdır. *Nigella damascene*, *Nigella arvensis* ve *Nigella orientalis* uçucu yağlarında %0.0-0.1 oranında bulunurken, *Nigella sativa* uçucu yağı %30-64 oranında TKN içermektedir (Edris, 2010).

2.1.2. Timokinonun sağlığa etkisi

Çörekotunun sağlığa faydalı etkilerinden sorumlu olan aktif bileşen TKN molekülünün belirlenmesinin ardından, bu molekülün farmakolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. TKN'un vücutta birçok farklı etkisi olmasına karşın, en çok dikkat çeken anti-kanser özelliği olmuştur (Gali-Muhtasib ve ark., 2004). TKN anti-kanser etkiler göstermesinin yanı sıra, kanser tedavilerinde kullanılan bazı ilaçlarla birlikte kullanıldığında bazı yan etkilerini de azalttığı bulunmuştur (Badary ve ark., 2000).

TKN'nun bir eklem rahatsızlığı olan rumetoid artrit tedavisinde, gösterdiği antioksidan özellikler sayesinde etkili olduğu belirlenmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada, TKN'nun 5 mg/kg dozda etki gösterdiği ve kemik hasarını önlediği tespit edilmiştir (Umar ve ark., 2012).

TKN molekülünün, zehirli ve kanserojen bir madde olan aflatoksinin karaciğerde yarattığı hasar üzerindeki etkisini incelemek için Nili-Ahmadabadi ve arkadaşları 2011 yılında bir çalışma yapmışlardır. Fareler üzerinde yapılan bu çalışmada, bir grup fareye yalnızca aflatoksin verilirken, diğer gruplara farklı dozlarda TKN verilmiştir. Bu farelerin karaciğerleri incelendiğinde, kontrol grubunda görülen karaciğer hasarlarının TKN verilen farelerde oluşmadığı gözlemlenmiştir (Nili-Ahmadabadi ve ark., 2011).

Nigella sativa'dan elde edilen yağın anti-mikrobiyal etkisi stafilokok enfeksiyonlarına karşı etkili olduğu ve hiçbir yan etkisinin gözlenmediği bildirilmiştir (Rafati ve ark., 2014). TKN'un sitotoksik ve anti-bakteriyel aktiviteleri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus constellatus* ve *Gemella haemolysans* gibi çeşitli karyojenik bakterilere karşı araştırılmıştır. TKN'un bu bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Jrah Harzallah ve ark., 2011).

TKN inflamasyona bağlı nörodejeneratif bozuklukların oluşumunu geciktirdiği tespit edilmiştir (Taka ve ark., 2015). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada TKN'un nötrofillerde granül ekzositozu ve N-formil-metiyonil-l sil-fenilalanin ile uyarılan süperoksit üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir. TKN'un antiinflamatuvar özellikler göstermesi nedeniyle antiinflamatuvar terapötik potansiyeli nedeniyle umut verici olduğu bildirilmektedir (Boudiaf ve ark., 2016).

2.1.3. Timokinonun toksik özelliği

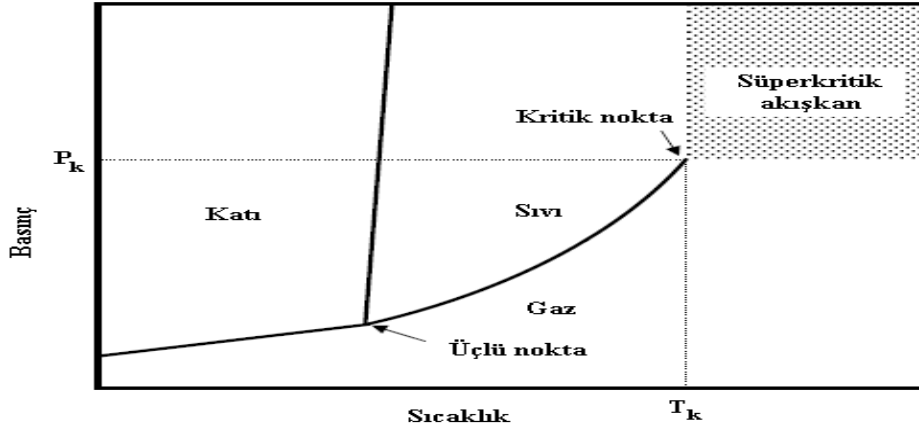
TKN molekülü düşük dozlarda toksik etki göstermemektedir. Farelerde ortalama öldürücü dozu, peritoneal içi enjeksiyonda 104.7 mg/kg, ağız yoluyla verildiğinde ise 870.9 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu dozlar, molekülün anti kanser ve antioksidan özellikler gösterdiği dozların sırasıyla 10-15 ve 100-150 katıdır. Bu nedenle TKN özellikle ağız yoluyla uygun miktarda alındığında oldukça güvenli bir etken maddedir (Al-Ali ve ark., 2008).

2.2. Ekstraksiyon Yöntemleri

Bitkilerden ve tohumlarından elde edilen aktif bileşenler, Soxhlet ekstraksiyonu, soğuk sıkım ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi geleneksel tekniklerle elde edilir. Soxhlet ekstraksiyon, basitliği nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir ayırma tekniğidir. bazı cazip avantajlara sahiptir. Örnek, sürekli olarak taze solvent ile temas halindedir. Böylece matriksten analitin uzaklaştırılması artar. Ayrıca, özütlemeyen sonra filtrasyona gerek kalmaz ve örnekten üretilen madde miktarı, birkaç eşzamanlı ekstraksiyon paralel olarak gerçekleştirilerek arttırılabilir. Düşük maliyetli basit ekipman kullanılması buna olanak sağlar. En son kullanılan alternatiflerinin çoğundan (mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik sıvı ekstraksiyonu gibi) daha fazla miktarda örnek kütlesi ekstrakte edilebilir (Luque ve ark., 2004).

Soxhlet ekstraksiyonunun en önemli dezavantajı, ekstraksiyondan sonra ham bileşenlerde solvent kalıntılarının kalmasıdır. Dolayısıyla solventin varlığı insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Danh ve ark., 2009). Çözücü ekstraksiyonu ucuz olsa da çözücü toksisitesi ve geri kazanım aşamasında çözücü kayıpları gibi kullanımını engelleyen bazı sorunlar vardır (Jeevan Kumar ve ark., 2017). Bu yöntemde solventin kimyasal stabilitesi çok önemlidir. Ekstraksiyon ve geri kazanım aşamalarında stabil olması beklenir (Şahin, 2011). Uzun zaman gerektirmesi ve büyük miktarda organik solvent kullanmasıdır. Çok miktarda solventin zararsız hale getirilmesi pahalı olduğu gibi aynı zamanda çevresel sorunlara yol açar. Örnekler genellikle solventin kaynama noktasında uzun süre ekstrakte edilir. Bundan dolayı ısı olarak kararsız olan hedef türlerin bozunmasına yol açabilir. Soxhlet tekniği solvent seçiciliği ile sınırlıdır ve otomasyonu zordur (De Castro ve ark., 2010).

Soğuk sıkım, katı bir matris içinde bulunan sıvıları ısı ve kimyasal işlemler olmaksızın ayırmak için kullanılan bir tekniktir (Parry ve ark., 2005). Sadece mekanik yolla ayrıldığı için düşük verim sağlar. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunu, sıvı ve gaz fazları kritik sıcaklık ve basıncın ötesinde süperkritik akışkan olarak adlandırılan bölgede hem sıvı hem de gaz ve sıvı özelliklerini sergiler. CO₂ için faz diyagramı Sekil 2.2.1’de verilmektedir.



Şekil 2.2.1. CO₂ için basınç-sıcaklık diyagramı

Sıvı ve gazın bir arada bulunduğu eğri kaynama eğrisi olarak bilinir. Kaynama eğrisi üzerinde yukarı yönde hareket edildiğinde sıcaklık ve basınç artar. Termal genişlemeye bağlı olarak sıvının yoğunluğu azalırken basınçtaki artışla gazın yoğunluğu artar. Sonunda iki fazın yoğunlukları ortak bir noktaya yaklaşır ve özdeş hale gelir (Oakes ve ark., 2001).

Bu kritik noktayı üzerinde sıvı ve gaz fazlarının bir arada bulunması, standart koşullar altında sıvıların veya gazlarınkinden farklı bir karakteristik özellik sergiler. Temel prensip karbondioksitin sıkıştırılmasını ve ısıtılmasını içerir. CO₂ istenilen ekstraksiyon koşullarına ulaştığında vana açılarak CO₂ akışı başlar. Akışkan ekstraktörün içinden akarken ekstre edilecek bileşenler SK-CO₂ akımında çözünür. Ekstraktörden ayrılan CO₂ fazı basınç düşürme vanasında genişler. Basınç düştüğünde katı çökelir. Çöken katı ayırıcıda toplanır (Solórzano, 2004).

Süperkritik sıvı ekstraksiyonunu etkileyen optimum parametreler, istenen maddenin miktarı ve kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Parçacık boyutu ve homojenlik, numune ön kurutma, farklı çözücü ve yardımcı çözücü, sıcaklık, basınç, akış hızı ve çıkış vanası sıcaklığı gibi parametreler nihai ürünün özelliklerini etkiler (Şahin, 2011). Süperkritik akışkan ile elde edilen özütler yüksek saflığa sahiptir ve çözücü kalıntısı içermez (Barroso ve ark., 2016). Ekstraksiyon tekniklerin avantajları ve dezavantajları Çizelge 2.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.2.1. Ekstraksiyon tekniklerin karşılaştırılması.

Ekstraksiyon Teknikleri	Olumlu Yönleri	Olumsuz Yönleri
Soğuk Sıkım	Çözücü madde kullanılmaması Maliyetinin düşük olması Az uğraş gerektiren basit yöntem	Mekanik yolla ayırım olduğu için düşük verim
Soxhlet Ekstraksiyonu	Fazla miktarda örnek kütlesi ekstrakte edilmesi Filtrasyon gerektirmemesi Az uğraş gerektiren çok basit bir yöntem olması Düşük maliyetli basit ekipman kullanılması	Büyük miktarda organik çözücü kullanılması (100-500 ml) Uzun zaman gerektirmesi (4-24 saat) Ekstraksiyon sonrası çözücü uzaklaştırılması için ısıtma işlemi uygulanması
Süperkritik CO ₂ Ekstraksiyonu	Hızlı olması (20-60 dakika) CO ₂ in toksik olmaması, alev almaması, çevre dostu olması, ucuz olması Sıcaklık ve basınç değiştirilerek yüksek seçicilik sağlanması Otomasyona uygun olması Yüksek Saflığa sahip olup çözücü kalıntısı içermez	Yüksek maliyet CO ₂ nonpolar olduğundan, daha polar analitlerin ekstraksiyondaki zorluk Verimini artırmak için, modifikatör eklenmesi Islak veya sıvı örnekler ve çözeltilerin ekstraksiyonunda zorluk

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada gerekli materyal, çörekotu Konya’da faaliyet gösteren yerel bir işletmeden temin edilmiştir.

Analitik dereceli %98 saflıkta TKN ise Sigma-Aldrich’ten (Schnelldorf, ALMANYA) temin edilmiştir.

Denemede kullanılan ekstraksiyon yöntemleri Çizelge 3.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan ekstraksiyon yöntemleri

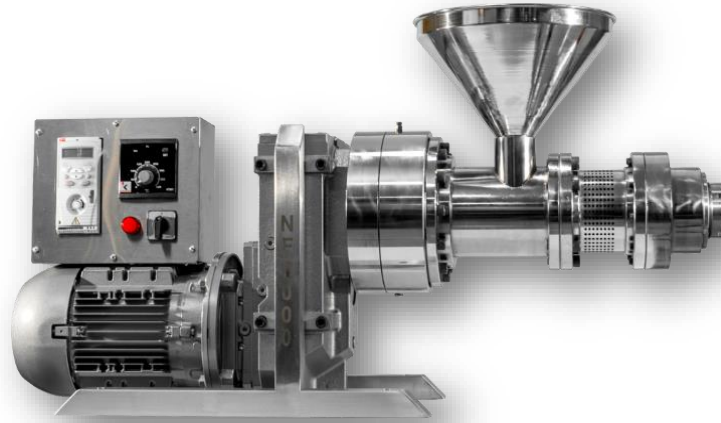
Ekstraksiyon farklılığı	Yöntem
SK-CO ₂ ekstraksiyonu	60 dakika süre ile 340 bar, 50°C koşulunda bir süperkritik akışkan ekstraktör kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
Soğuk sıkım	Tohum 45°C’yi aşmayacak şekilde kontrollü olarak soğuk pres cihazı ile sıkılmıştır.
Sokshelet ekstraksiyonu	4 saat süreyle <i>n</i> -hekzan kullanılarak ekstraksiyon uygulanmıştır. Vakumlu evaporasyon aşamasında ise 70°C kullanılmıştır.
SK-CO ₂ ekstraksiyonu (Yardımcı çözücü: Etanol)	SK-CO ₂ ekstraksiyonu yöntemindeki basınç ve sıcaklık parametreleri aynı olup, yardımcı çözücü olarak etanol (%99.9 saflıkta) 5 ml/dk akış hızında uygulanmıştır.

3.2. Metot

Çörekotu yerel bir işletmeden sağlanmıştır. Tohumlar oda sıcaklığında gün ışığı görmeyecek şekilde kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Kuruyan tohumlar öğütücü makina yardımı ile öğütölüp analizler için hazır hale getirilmiştir.

3.2.1. Soğuk sıkım

1000 gr tohum 45°C 'yi aşmayacak şekilde kontrollü olarak Şekil 3.2.1'deki mekanik presleme ile sıkılmıştır.



Şekil 3.2.1. Soğuk sıkım cihazı (Anonim, 2022c).

Ezilmiş tohumların yağını lifli yapıdan ayırmak için buzdolabında üç gece bekletilmiş ve daha sonra yağ, enjektör süzgeç uç kullanılarak filtre edilmiştir (Muhialdin ve ark., 2016). Elde edilen çörekotu yağı, 4°C 'de ışık almayacak şekilde saklanmıştır.

3.2.2. Soxhlet ekstraksiyon

1000 gr öğütölmüş tohumlar, şekil 3.2.2.(sol)'da Soxhlet aparatında 4 saat süreyle *n*-hekzan kullanılarak ekstra yapıp enjektör süzgeç uç kullanılarak filtre edilmiştir (Kıralan ve ark., 2014). Şekil 3.2.2.(sağ)'da çözücü döner buharlaştırıcı yardımı ile 70°C 'de vakum altında giderilmiştir. Elde edilen çörekotu yağı, 4°C 'de ışık almayacak şekilde saklanmıştır.



Şekil 3.2.2. Soxhlet cihazı (Sol) ve çözücü ayırıştırıcı cihazı (Sağ)

3.2.3. Süperkritik CO₂ ekstraksiyon

Şekil 3.2.3’de SK-CO₂ cihazında, 2400 gr öğütülmüş tohumlar süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, 60 dakika süre ile 340 bar, 50°C koşulunda bir süperkritik akışkan ekstraktör kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Daukšas ve ark., 2002).



Şekil 3.2.3. Süperkritik CO₂ cihazı

1600 gr yardımcı çözümlü süperkritik CO₂ ekstraksiyonunda, 60 dakika süre ile 340 bar, 50°C koşulunda bir süperkritik akışkan ekstraktör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yardımcı çözümlü olarak etanol (%99.9) 5 ml/dk akış hızında kullanılmış olup süperkritik CO₂ akış hızı 15 g/dk tutularak çözümlü / besleme oranı yaklaşık 14:1 olarak elde edilmiştir (Solati ve ark., 2012).

3.2.4. Hızlandırılmış oksidasyon testleri

3.2.4.1. İndüksiyon periyodu

Elde edilen yağlar AOCS (2006) Cd 12b-92'e göre analiz edilmiştir. İndüksiyon periyodu, belirli sıcaklık ve hava akışında yağların oksidasyonu sonucu oluşan uçucu bileşenlerin artışına paralel, belirli bir kırılma noktasının belirlendiği bir değerdir. İndüksiyon periyodu, parçalanma ürünlerinin damıtık suya transfer olması sonucu suyun iletkenliğinde oluşan değişimle ölçülür. İndüksiyon periyodu ne kadar uzun ise yağın oksidatif stabilitesi o denli yüksektir. Bu yöntemde örnekler 110°C'de 20L/saat hızla akışı verilerek, Ransimat 892 cihazı (Metrohm AG, Herisau, İsviçre) kullanılarak yapılmıştır ve indüksiyon periyodu sonuçları saat olarak verilmiştir (Anonymous, 2006).

3.2.4.2. Fırın testi (Schaal Oven Testi)

Oksidasyonu hızlandırarak yağ örneklerinin raf ömrünü belirlemede kullanılan yöntemlerden biri fırın testidir (Schaal Oven testi) (Fennema, 1976). Fırın testi ile yağlar 60°C sıcaklıkta tutularak belirli zaman periyotlarında örnekler alınarak oksidasyonun ilerleyişi takip edilmiştir. Örneklerin 1., 5., 10., 15., 20., 25. ve 30. günlerde oksidasyonunun izlenmesi esnasında peroksit değeri ölçümü ile izlenmiştir.

3.2.5. Peroksit değeri

Peroksit değeri, AOCS Official Method 965.33 (Anonymous, 1990)'e göre belirlenmiştir. Yağ örneğinden 3 g tartılarak erlene alınmıştır. Üzerine 10 ml kloroform ve 15 ml asetik asit çözeltisi eklenmiştir. Sonra 1 ml doymuş potasyum iyodür çözeltisinden eklenerek ağzı kapatılıp, 1 dakika çalkalandıktan sonra, 5 dakika süreyle karanlık bir yerde bekletilmiştir. Daha sonra çözeltinin üzerine 75 ml saf su ve 4-5 damla nişasta çözeltisi eklenmiştir. Ayarlı 0.002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile renk kaybolana kadar titre edilmiştir (AOCS 1990). Peroksit miktarı aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\text{Peroksit değeri} = \left(\frac{v}{m}\right) \times 2.8$$

v: Titrasyonda harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (ml)

m: Örnek miktarı (gr)

3.2.6. Yağın yüzde serbest asitliği

Etanol/eter (1:1, v/v) çözeltisinde çözölmüş yağın 0.1 N etanollü KOH çözeltisine karşı titrasyonu ile belirlenmiştir. Sonuçlar % oleik asit cinsinden verilmiştir (Cemeroğlu, 1992).

3.2.7. Kromatografik timokinon analizi

Çörekotu ekstresini kromatografik analizinden önce saflaştırmak için Ghosheh ve arkadaşları tarafından açıklanan yöntem izlenmiştir (Ghosheh ve ark., 1999).

Soğuk sıkım, soxhlet, SK-CO₂ ekstraksiyon ve SK-CO₂ (Yardımcı çözgen: Etanol) ekstraksiyonu yöntemlerinden elde edilen ekstraktlar, yağlı malzemelerden arındırılmak için 5 ml ekstrakta 10 ml metanol ekleyerek santrifüj edilerek üstte kalan faz alınmıştır.

Timokinon kromatografik analiz şartları:

Mobil faz bileşimi: %60 asetonitril %40 saf su

Akış hızı: 1 ml/dk

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Kolon; C18 (250mm x 4.6 mm, 5 µm);

İzokratik fırın sıcaklığı: Oda sıcaklığı

Dedektör: Diyot array dedektör;

Dedeksiyon dalga boyu: 254 nm

Standart/ standart için çözgen: Standart ve internal standart metanolde çözölmüştür.

TKN oda sıcaklığında 254 nm UV aralığında gözlemlenmiştir. Tanımlama, tutma süresinin standart bileşiğinki ile karşılaştırılması ve kantifikasyon, standardın doğrusal kalibrasyon eğrilerine göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.8. Yağ asitleri kompozisyonu (GC-MS)

Yağ asitleri kompozisyonu için metil ester oluşturma: 5 ml'lik vida kapaklı deney tüpüne 50 mg yağ örneği tartılmıştır. Üzerine 0.2 ml, 2 N metanollü potasyum hidroksit

çözültisi ve birkaç damla metiloranj çözültisi ilave edilip, PTFE-septumla birlikte tüpün kapağı kapatılmıştır. 30 saniye süreyle kuvvetlice çalkaladıktan sonra üst faz oluşuncaya kadar beklenmiştir (Parry ve ark., 2005). Yağ asitlerinin metil esterleri (1 µl) GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectroscopy) cihazında incelenmiştir.

GC-MS şartları:

GC kromatograf:	Agilent 7890A Serisi
Otomatik örnekleyici:	Agilent 7683 Enjektör ve örnek tablası
Kolon:	HP-88, 100 m x 0.25 mm x 0.2 µm (p/n 112-88A7)
GC İnlet:	260°C, split ratio 30:1
Taşıyıcı gaz:	Helyum, sabit akış, 20 cm/sn
Fırın sıcaklık programı:	140°C (5 dk)'den 240 °C (15 dk)'ye 4°C/dk artış hızı ile
Enjeksiyon hacmi:	1 µl
Kütle seçimli dedektör	5975C MSD
Transfer hattı	280 °C
Çözücü piki çıkış zamanı	10.5 dk
Algılama modu:	Tarama (40-400 amu)

3.2.9. İstatistikî analizler

Ortalama değerlerin önemli varyansı Tukey testi kullanılarak doğrulandı. $P < 0.01$ olasılığı kabul edilip tüm analizler, MINITAB 14 (Minitab Inc., State College, PA, ABD) istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Ekstraksiyon Farklılığının Ekstraktların Timokinon İçeriğine Etkisi

Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki TKN (mg/gr ekstrakt) içeriklerine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki timokinon (mg/gr ekstrakt) içeriklerine ait varyans analiz tablosu

Varyans kaynağı	SD	Timokinon (mg/gr ekstrakt)	
		Kareler Ortalaması	Faktör
A	3	476.288	145394.39**
Hata	8	0.009	
Toplam	11	476.297	

A: Ekstraksiyon farklılığı, **: P <0.01

Denemede elde edilen çörekotu ekstraktlarının TKN içeriklerinin değişimleri istatistiksel olarak önemli (p<0.01) çıkmıştır.

Denemede kullanılan farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki TKN (mg/gr ekstrakt) içeriklerine ait sonuçların ortalamaları Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

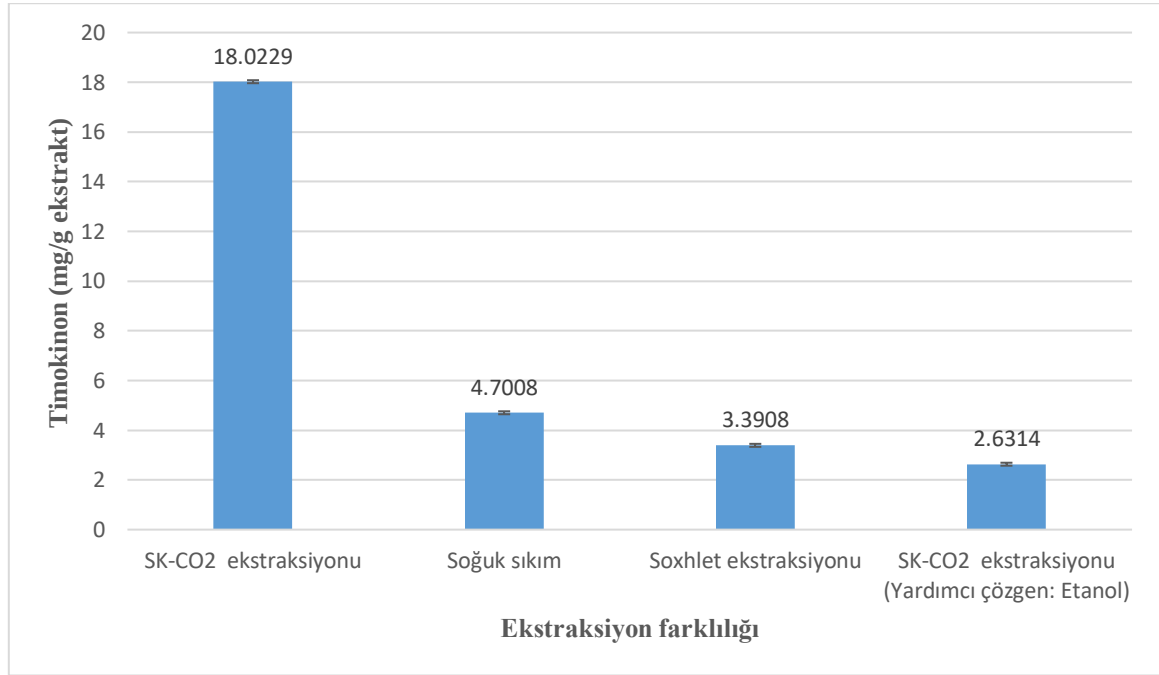
Çizelge 4.2 Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki timokinon (mg/gr ekstrakt) içeriklerine ait sonuçların ortalamaları

Ekstraksiyon farklılığı	N	Timokinon (mg/gr ekstrakt)
SK-CO ₂ ekstraksiyonu	3	18.0229±0.06 ^{A**}
Soğuk sıkım	3	4.7008±0.02 ^{B**}
Sokshelet ekstraksiyonu	3	3.3908±0.01 ^{C**}
SK-CO ₂ ekstraksiyonu (Yardımcı çözügen: Etanol)	3	2.6314±0.01 ^{D**}

^{A,B,C,D}: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir, **: P <0,01.

Solati ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada SK-CO₂ ekstraksiyon yöntemiyle 350 bar 50 °C'de 60 dk. süre ile çörekotundan elde ettikleri ekstrakta 4.7 mg/gr TKN olduğunu bildirmişlerdir. Şekil 4.1. incelendiğinde TKN (mg/gr ekstrakt) bakımından SK-CO₂

ekstraksiyonu ile elde edilen üründe en yüksek TKN miktarı görülmüştür. Diğer ekstraktlar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise, en yüksek TKN (mg/gr ekstrakt) oranı soğuk sıkım ekstraksiyonunda görülürken, bu değer sırasıyla soxhlet ekstraksiyonu ve SK-CO₂ ekstraksiyonunda (Yardımcı çözügen: Etanol) görülmüştür ($P<0.01$).



Şekil 4.1. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki timokinin (mg/gr ekstrakt) içerikleri içeriklerine ait sonuçların ortalamaları.

4.2. Ekstraksiyon Farklılığının Ekstraktların Bazı Kalite Parametreleri

Çörekotunun farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların depolama süreci ve ekstraktlarının farklılığı üzerine etkisinin değerlendirildiği peroksit değeri, serbest yağ asitliği değeri indüksiyon periyoduna ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki bazı kalite parametrelerine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	Peroksit değeri (meq O ₂ /kg)		Serbest yağ asitliği (% oleik)		İndüksiyon periyodu (saat)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ekstraksiyon farklılığı(A)	3	7001.84	955.05**	2708.03	4814.27**	199.168	2506.05**
Hata	8	19.55		1.50		0.212	
Toplam	11	7021.39		2709.53		199.380	

A: Ekstraksiyon farklılığı, **: P <0.01, KO: Kareler ortalaması

Varyans analiz tablosu incelendiğinde peroksit değerinin, serbest yağ asitliği değerinin, indüksiyon periyodu değerlerinin, farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktın değişiminde, depolama sürecinde ve bunların interaksiyonlarında istatistiksel olarak etkili olduğu (p<0.01) görülmektedir (Çizelge 4.3.).

Çörekotu ekstraktların stabilitesini depolama süresi ve ekstrakt farklılığına göre değerlendiren analizlere ait ortalamalar Çizelge 4.4.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki bazı kalite parametrelerine ait varyans analizlere ait ortalamalar

Ekstraksiyon farklılığı	Peroksit değeri (meq O ₂ /Kg)	Serbest yağ asitliği (% oleik)	İndüksiyon zamanı (saat)
SK-CO ₂ ekstraktı	86.21 ^{A**}	31.77 ^B	-
Soğuk sıkım ekstraktı	29.04 ^C	4.43 ^D	9.27 ^A
Soxhlet ekstraktı	27.55 ^C	46.10 ^A	6.57 ^B
SK-CO ₂ ekstraktı (Yardımcı çözügen: Etanol)	58.96 ^B	30.37 ^C	-

^{A,B,C,D}: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir, **: P <0.01. -: Tespit edilemedi

Peroksit değeri (meq O₂/kg yağ) bakımından ekstraktlarda yapılan analizler incelendiğinde soxhlet ekstraktlarına ait ortalamalar en düşük çıkmıştır. SK-CO₂ ekstraksiyonu ait ortalamalar ise en yüksek sonucu vermiştir. Soğuk sıkım ve soxhlet yöntemi ile elde edilen ekstraktlar, en düşük değerleri vermiş ve diğerlerine göre istatistiksel olarak bu fark önemli (P<0.01) çıkmıştır. Süre artışı ile 60°C'lik fırında bekletilen ekstrakt örneklerinin peroksit değeri inişli çıkışlı olarak artış göstermiş ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). Üstün ve ark., (1990) soğuk sıkım yöntemiyle elde edilen çörekotu yağlarının sıcak sıkım ve ön ısıtma uygulanan pres yöntemlerine kıyasla daha düşük değerlerde serbest yağ asitlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Serbest yağ asitliği (% oleik) değeri açısından en yüksek değer soxhlet ekstrakt örneklerden elde edilmiştir. En düşük sonuç ise soğuk sıkım ekstraktında elde

edilmiştir ($P < 0.01$). İndüksiyon zamanı (saat) periyodu açısından en yüksek sonuç soğuk sıkım ekstraktında görülmüştür. SK-CO₂ ekstraksiyon ve SK-CO₂ ekstraksiyonunda (Yardımcı çözügen: Etanol) elde edilen ekstraktlarda indüksiyon periyodu tespit edilememiştir. Örneklerden elde edilen verilerin serbest yağ asitliği, peroksit ve indüksiyon periyodu açısından değerlendirilmesinde farklılıklar görülmüş olması beklenen bir sonuç olup, elde edilen ürünlerin yağ içerikleri birbirinden farklı olup, bu farklılığında ekstraksiyon farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Her ekstraksiyonun karakteri birbirinden farklı olup, elde edilen ekstraktlarında aynı olmadığı da bu analizlerle de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki yağ asitleri kompozisyonlarına ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	C16:0		C18:1		C18:2		C20:2	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Ekstraksiyon farklılığı (A)	3	332.231	106708.81**	48.4080	781.82**	192.803	2008.21**	21.5527	1323.71**
Hata	8	0.008		0.1651		0.256		0.0434	
Toplam	11	332.239		48.5731		193.059		21.5961	

A: Ekstraksiyon farklılığı, **: $P < 0.01$, KO: Kareler ortalaması

Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki yağ asitleri kompozisyonlarına ait varyans analiz tablosu incelendiğinde analiz edilen yağ asitleri açısından ekstraksiyon farklılığı istatistiksel olarak önemli ($p < 0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.6.'te farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlara ait yağ asitleri kompozisyonlarının ortalamaları sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktlardaki yağ asitleri kompozisyonlarına ait ortalamalar

Ekstraksiyon farklılığı	N	C16:0	C18:1	C18:2	C20:2
SK-CO ₂ ekstraktı	3	13.6415 ^{A*}	28.1958 ^B	58.1627 ^C	-
Soğuk sıkım ekstraktı	3	10.9595 ^B	28.1342 ^B	57.8113 ^C	3.09499 ^A
Soxhlet ekstraktı	3	11.0937 ^C	26.9102 ^C	61.9961 ^B	-
SK-CO ₂ ekstraktı (Yardımcı çözügen: Etanol)	3	-	32.2314 ^A	67.7686 ^A	-

^{A,B,C}: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir, **: $P < 0.01$, -: Tespit edilemedi

Çörekotunun SK-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktında yapılan bir çalışmada, yağ asitleri kompozisyonu, C16:0 (%12.53±0.08), C18:1 (%23.21±0.12) ve C18:2 (%60.74±0.46) olarak bildirilmiştir (Solati ve ark., 2012). Yağ asitleri kompozisyon değerleri incelendiğinde C16:0 açısından SK-CO₂ ekstraktı en yüksek (%13.64) oranda bulunmuş, soğuk sıkım ekstraktı ise en düşük (%10.95) oranda bulunmuştur. C16:0 yağ asidi SK-CO₂ ekstraksiyon (Yardımcı çözügen: Etanol) ürününde tespit edilememiştir. C18:1 yağ asidi, SK-CO₂ ekstraktında (Yardımcı çözügen: Etanol) görülmüş olup, en düşük Soxhlet ekstraksiyonu ürününde tespit edilmiştir. C18:2 yağ asidi SK-CO₂ ekstraktı (Yardımcı çözügen: Etanol) yüksek yüksek oranda bulunmuş olup, en düşük oranda ise soğuk sıkım ekstraktlarında görülmüştür. C20:2 yağ asidi sadece soğuk sıkım ekstraktlarında tespit edilirken, diğer ekstraktlarda görülmemiştir.

Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktların fırın testi ile stabilitesini değerlendiren analizlere ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.7. sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktların fırın testi ile stabilitesini değerlendiren analizlere ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	Peroksit değeri (meq O ₂ /kg)	
		KO	F
Ekstraksiyon farklılığı (A)	3	18204.0	7867.60**
Depolama Süresi (B)	6	9645.5	2084.36**
AXB	18	34781.3	2505.36**
Hata	56	43.2	
Toplam	83	62674.0	

A: Hammadde farklılığı, B: Depolama süresi, AXB: İnteraksiyon, **: P <0.01, KO: Kareler ortalaması

Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktların fırın testi ile stabilitesini değerlendiren analizlere ait varyans analiz tablosu incelendiğinde peroksit değeri açısından ekstraksiyon farklılığı, depolama süresi ve ekstraksiyon farklılığı x depolama süresi interaksiyon değerleri istatistiksel olarak önemli (p<0.01) bulunmuştur (Çizelge 4.7.).

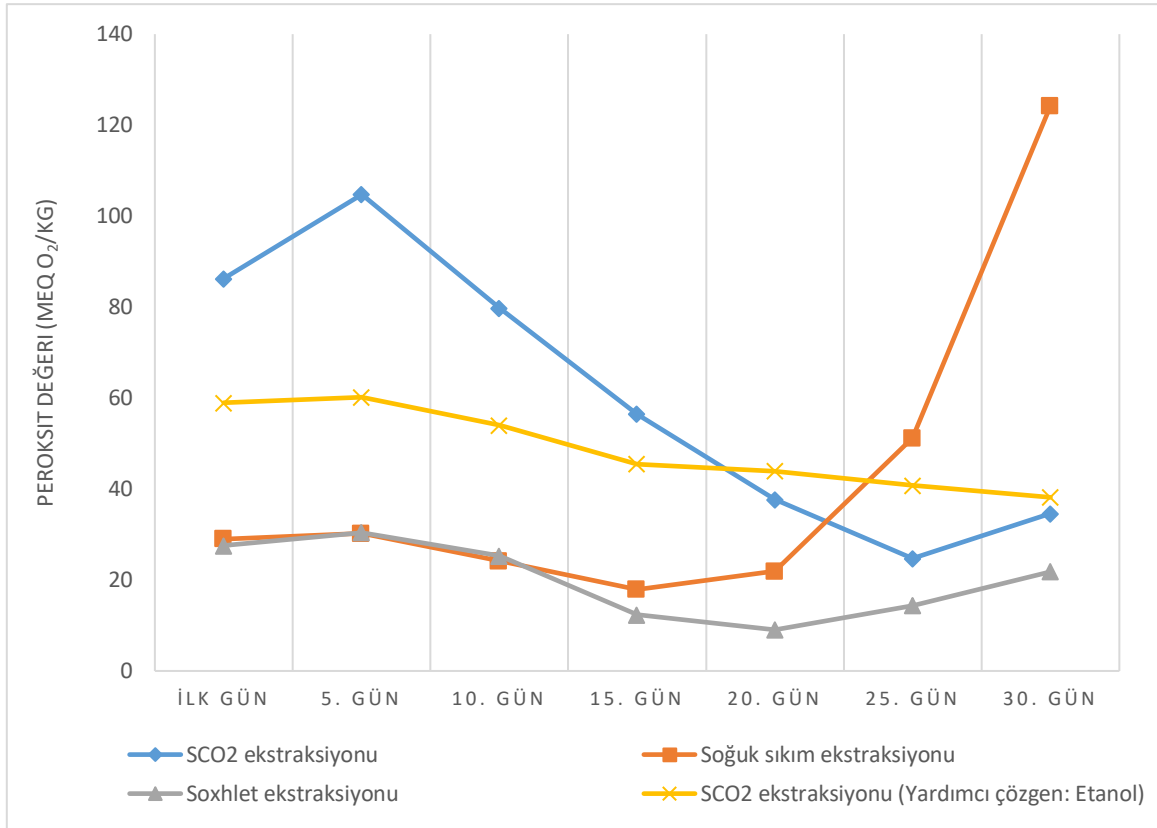
Aşağıda ekstraktların fırın testi ile stabilitesini değerlendiren analizlere ait ortalamaların yer aldığı ekstraksiyon farklılığı x depolama süresi interaksiyon değerleri görülmektedir (Çizelge 4.8.). Elde edilen sonuçlardan en küçüğü 9.042 meq O₂/Kg iken,

en büyüğü ise 124.205 meq O₂/Kg olarak bulunmuştur. SK-CO₂ ekstraksiyonu örneğinin peroksit değeri özellikler 15. günden sonra azalma gösterirken, Soğuk sıkım ekstraksiyonu örneklerinin peroksit değeri ise 20. günden sonra artış göstermiştir.

Çizelge 4.8. Farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktların fırın testi ile stabilitesini değerlendiren analizlere ait ortalamaların yer aldığı hammadde farklılığı x depolama süresi interaksyonu

Ekstraksiyon farklılığı x Süre (Gün) İnteraksyonu	60°C'de Depolama (gün)	Peroksit değeri (meq O ₂ /Kg)
SK-CO ₂ ekstraksiyonu	ilk gün	86.210 ^C
	5. gün	104.752 ^B
	10. gün	79.785 ^D
	15. gün	56.495 ^{FG}
	20. gün	37.654 ^K
	25. gün	24.737 ^P
	30. gün	34.580 ^L
Soğuk sıkım ekstraksiyonu	ilk gün	29.043 ^{MN}
	5. gün	30.193 ^{MN}
	10. gün	24.142 ^{PQ}
	15. gün	17.899 ^R
	20. gün	21.899 ^Q
	25. gün	51.210 ^H
	30. gün	124.205 ^A
Soxhlet ekstraksiyonu	ilk gün	27.548 ^{NO}
	5. gün	30.396 ^M
	10. gün	25.275 ^{OP}
	15. gün	12.362 ST
	20. gün	9.042 ^T
	25. gün	14.371 ^S
	30. gün	21.860 ^Q
SK-CO ₂ ekstraksiyonu (Yardımcı çözügen: Etanol)	ilk gün	58.959 ^{EF}
	5. gün	60.178 ^E
	10. gün	54.037 ^G
	15. gün	45.464 ^I
	20. gün	43.914 ^I
	25. gün	40.801 ^J
	30. gün	38.170 ^{JK}

A,.....,T : Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir



Şekil 4.1. Analiz edilen çörekotu ekstraktlarının peroksit değerleri üzerine etkili ‘hammadde ekstraktı farklılığı x depolama süresi’ interaksyonu

Şekil 4.1’de hammadde ekstraktlarının peroksit değerleri üzerine etkili ‘hammadde ekstraktı farklılığı x depolama süresi’ interaksyonuna göre SK-CO₂ ekstraktının peroksit değeri artışı 5. güne kadar artış göstermiştir. 5. günden 25. güne kadar stabil bir azalma gösterip 30. günde peroksit değerinde artış görülmüştür. Soğuk sıkım ekstraktının ilk günden 15. güne kadar peroksit değerinde stabil azalma gözlenmiştir. 15. günden 25. güne kadar stabil artış görülürken 30. günde peroksit değerinde lineer bir artışla 124.205 (meq O₂/Kg) değerine çıkmıştır. Soxhlet ekstraktının peroksit değerinde ilk günden 5. güne kadar küçük miktarda artış, 5. günden 20. güne kadar stabil bir azalma görülmüştür. 20. günden 30. güne kadar ise peroksit değerinde artış gözlenmiştir. SK-CO₂ ekstraktında (Yardımcı çözügen: Etanol) ise ilk günden 5. güne kadar hafif bir artış daha sonraki günlerde ise peroksit değerinde sürekli azalma görülmüştür.

Şekil 4.1’de çörekotu ekstraktlarının peroksit değerleri üzerine etkili ‘hammadde ekstraktı farklılığı x depolama süresi’ interaksyonu görülmektedir. Depolama sürecinde peroksit değerinin SK-CO₂ ekstraktı (Yardımcı çözügen: Etanol) hariç diğer ekstraktlarda ilk günlerde artış daha sonra azalma son günlere doğru artış açıkça görülmektedir. SK-CO₂ ekstraktında (Yardımcı çözügen: Etanol) ise ilk gün artış dışında peroksit değerinde sürekli azalış meydana geldiği tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmada, ülkemizde tıbbi aromatik bitkiler arasında önemli yere sahip olan çörekotu tohumu kullanılarak yapısında bulunan önemli bileşen TKN'un dört farklı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmesi ve ortaya çıkan ekstraktların peroksit değeri, serbest yağ asitliği, yağ asitleri kompozisyonları ve oksidasyon özellikleri kıyaslanmıştır.

Elde edilen ekstraktlar değerlendirildiğinde, TKN (mg/gr ekstrakt) bakımından en yüksek SK-CO₂ ekstraksiyon ürünü olduğu tespit edilmiştir. Diğer ekstraktlar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise en yüksek soğuk sıkım örneklerinde ve bunu takiben soxhlet ekstraksiyon örnekleri ve en düşük ise SK-CO₂ ekstraksiyon (Yardımcı çözücü: Etanol) örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

Tüm ekstraktlar serbest yağ asitliği (% oleik) bakımından değerlendirildiğinde, soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerde en yüksek serbest yağ asitliği bulunmuştur. SK-CO₂ ekstraksiyonu ve SK-CO₂ ekstraksiyonu (Yardımcı çözücü: Etanol) ile elde edilen örneklerde ise sonuçların birbirine yakın olduğu görülmüştür. En düşük serbest yağ asitliği (% oleik) değeri ise soğuk sıkım ile elde edilen örneklerde tespit edilmiştir. Örneklerden elde edilen verilerin serbest yağ asitliği, peroksit ve indüksiyon periyodu açısından değerlendirilmesinde farklılıklar görülmüş olması beklenen bir sonuç olup, elde edilen ürünlerin yağ içerikleri birbirinden farklı olup, bu farklılığında ekstraksiyon farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Her ekstraksiyonun karakteri birbirinden farklı olup, elde edilen ekstraktlarında aynı olmadığı da bu analizlerle de görülmektedir.

Denemede kullanılan ekstraktlar indüksiyon periyodu bakımında değerlendirildiğinde, SK-CO₂ ekstraksiyonu ve SK-CO₂ ekstraksiyonunda (Yardımcı çözücü: Etanol) indüksiyon periyodu sonuçları belirlenememiştir. Bunun sebebinin ekstraksiyon farklılığından kaynaklandığı ve oksidasyona dayanıklılık üzere analiz edilebilir yağın olmadığı ve bu çerçevede de ekstraksiyonda çözücü polaritesinin yağları çözebilecek noktada olmadığı kanısı oluşmuştur. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerin indüksiyon periyodu 6.57 saat bulunurken, soğuk sıkımda elde edilen ekstraktların ise 9.27 saat olduğu görülmüştür. Bu iki metotla elde edilen yağlar kendi aralarında kıyaslandığında, soğuk sıkım yağının oksidasyon stabilitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Denemede kullanılan ekstraktların, etüvde bekletilmesi esnasında peroksit değerleri değişimi incelendiğinde; her bir ekstraktın farklı karakter gösterdiği, kiminin depolama

sürecinde peroksit değerinde azalma kiminin ise artma eğilimi gösterdiği gözlenmiştir. Bu durumun da ekstraksiyon metotlarının farklı polariteler oluşturmamasından kaynaklı olarak, bitkideki farklı kimyasal bileşenleri hedeflemesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

5.2 Öneriler

Elde edilen verilere göre, SK-CO₂ ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen TKN miktarı diğer ekstraksiyon yöntemlerinden elde edilene göre yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir.

Soxhlet ekstraksiyonu ile soğuk sıkım değerlerinin birbirine yakın olmasına rağmen; TKN miktarı SK-CO₂ ekstraksiyondan sonra en yüksek olması, raf ömrünün uzun olması, maliyetinin ucuz olması, çözücü kalıntı olmaması soğuk sıkım yönteminin bu açıdan bakıldığında daha uygun olabileceği düşünülmüştür.

Literatür bilgilerine dayalı olarak çörekotunun önemli molekülü olan TKN'un, dünya ve ülkemiz genelinde hızla yayılan sağlık problemleri ve kronik hastalıkların tedavisi veya önlenmesi için cevap olabilecek bir madde olduğu anlaşılmaktadır. Bu önemli etken maddenin SK-CO₂ ekstraksiyonunda oldukça fazla olduğu görülmektedir. Elde edilen verilere göre TKN ekstraksiyonu ya da saflaştırılması amacına yönelik olarak SK-CO₂ ekstraksiyonu önerilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Al-Ali, A., Alkhawajah, A. A., Randhawa, M. A., ve Shaikh, N. A., 2008, Oral and interperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 20(2), 25-27.
- Anonymous, 1990, Official Methods of Analysis (1990) 15th Ed., AOAC, Arlington, VA, sec. 965, 33.
- Anonymous, 2006, Official methods and recommended practices of the American. American Oil Chemists' Society, Fourth Edition, Methods: Cd8-53, Ch5-91 and Cd 12b, 92.
- Anonim, 2022a, <https://www.cerciyusuf.org/corekotu> [Ziyaret Tarihi: 6 Nisan 2022].
- Anonim, 2022b, <https://www.tibbivearomatikbitkiler.com/bitkiler/corek-otu/> [Ziyaret Tarihi: 6 Nisan 2022].
- Anonim, 2022c, <https://www.karaerler.com/> [Ziyaret Tarihi: 14 Nisan 2022].
- Badary, O. A., Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab, M. H., ve Hamada, F. M. A., 2000, The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143, 219-226.
- Ballout, F., Habli, Z., Rahal, O. N., Fatfat, M. ve Gali-Muhtasib, H., 2018, Thymoquinone-based nanotechnology for cancer therapy: promises and challenges. *Drug Discovery Today*, 23(5), 1089-1098.
- Barkoudah, Y., 1998, Black Cumin a Neglected Food and Medicinal Plant, *Cwana Newsletter*, 17.
- Barroso, P. T., de Carvalho, P. P., Rocha, T. B., Pessoa, E. L., Azevedo, D. A. ve Mendes M. F., 2016, Evaluation of the Composition of Carica papaya L. Seed Oil Extracted with Supercritical CO₂. *Biotechnol. Rep.*, 11, 110-116.
- Boudiaf, K., Hurtado-Nedelec, M., Belambri, S. A., Marie, J. C., Derradji, Y., Benbou-betra, M.; El-Benna, J. ve Dang, P. M., 2016, Thymoquinone Strongly Inhibits fMLF-Induced Neutrophil Functions and Exhibits Anti-inflammatory Properties In Vivo. *Biochem. Pharmacol*, 104, 62-73.
- Cemeroğlu, B., 1992, Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları, *Biltav Yayınları*, Ankara, 380.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C. ve Atti, H., 2007, *Nigella sativa* L.: chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chem.* 101, 673–681.
- Chopra, R. N., Nayar S. L. ve Chopra I. C., 1956, *Glossary of Indian medicinal plants*, New Delhi: CSIR, 175.

- Danh, L. T., Mammucari, R., Truong, P. ve Foster, N., 2009, Response Surface Method Applied to Supercritical Carbon Dioxide Extraction of *Vetiveria zizanioides* Essential Oil. *Chem. Eng. J.*, 155 (3), 617-626.
- Davis, P. H., Mill, R. R. ve Tan, K., 1965, Flora of Turkey ve The East Aegean Island, *Edinburg University Press*, Vol: 1, 98–104.
- Daukšas, E., Venskutonis, P. R. ve Sivik, B., 2002, Comparison of oil from *Nigella damascena* seed recovered by pressing, conventional solvent extraction and carbon dioxide extraction. *Journal of food science*, 67(3), 1021-1024.
- De Castro, M. D. L. ve Priego-Capote, F., 2010, Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383.
- Dinçoğlu, M., 2014, Buhârî ile Ebû Dâvud'un Hocası Müsedded B. Müserhed ve Hadis İlmindeki Yeri. *Atatürk Üniversitesi İlahiyat Fakültesi Dergisi*, (41), 347-372.
- Edris, A. E., 2010, Evaluation of the volatile oils from different local cultivars of *Nigella sativa* L. grown in Egypt with emphasis on the effect of extraction method on thymoquinone. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(2), 154-164.
- El-Dakhakny, M., 1963, Studies on the chemical constitution of Egyptian *Nigella sativa* L. seeds. II) The essential oil. *Planta Medica*, 11(4), 465-470.
- El-Tahir, K. E. ve Bakeet, D. M., 2006, Theblackseed *Nigella sativa* Linnaeus-aminefor multi cures: a Plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. *J.TaibahUniv. Med. Sci.*, 1, 1–19.
- Fennema, O. R., 1976, Principles of Food Science, Part 1, *Food chemistry*, Marcel Dekker Inc.
- Gali-Muhtasib, H., Diab-Assaf, M. Boltze, C., Al-Hmaira, J., Hartig, R. Roessner, A. ve Schneider-Stock, R., 2004, Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *International Journal of Oncology*, 25, 857-866.
- Ghosheh, O., Houdi, A. ve Crooks, P., 1999, High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *J Pharm Biomed Anal.*, 19(5), 757–762.
- Islam, M. T., Guha, B., Hosen, S., Riaz, T. A., Shahadat S., Sousa, L. R., Santos, J. V. O., Junior, J. J. S., Lima, R. M. T., Braga, A. L., Reis, A. C., Alencar, M. V. O. B., ve Melo-Cavalcante, A. A. C., 2017, Nigellalogy: A review on *Nigella sativa*. *MOJ Bioequivalence and Bioavailability*, 3(6), 167-181.
- Islam, M. T., Sultana, N., Riaz, T. A., Ferdous, J., Guha, B., Mohagon, S., Mutsuddy, R., Santos, J. V. O., Reis, A. C., Braga, A. L., Cerqueira, G. S., Menezes, A. P. M., ve Melo- Cavalcante, A. A. C., 2016, Thymoquinone is knocking at the door of clinical trial. *International Archives of Medicine Section: Toxicology and Therapeutics*, 9, 122.

- Jeevan Kumar, S. P., Garlapati, V. K., Dash, A., Scholz, P. ve Banerjee, R., 2017, Sustainable Green Solvents and Techniques for Lipid Extraction from Microalgae, A Review. *Algal Res.*, 21, 138-147.
- Jrah Harzallah, H., Kouidhi, B., Flamini, G., Bakhrouf, A. ve Mahjoub, T., 2011, Chemical Composition, Antimicrobial Potential against Cariogenic Bacteria and Cytotoxic Activity of Tunisian *Nigella sativa* Essential Oil and Thymoquinone. *Food Chem.*, 129 (4), 1469-1474.
- Kar, Y., Sen N. ve Tekeli Y., 2007, Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniv. Fen Edebiyat Fak. Fen Derg (E-Dergi)* 2, 197-203.
- Kıralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., ve Ramadan, M. F., 2014, Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 57, 52-58.
- Luque, G., J. L. ve de Castro, M. D. L., 2004, Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications. *Talanta*, 64(3), 571.
- Muhammad, T. S., Masood S. B., Faqir M. A., Amer J., Saeed A. ve Muhammad N., 2009, Nutritional Profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pak. J. Bot.* 41(3): 1321-1330.
- Muhialdin, B. J., Alhelli, A. M., ve Hussin, A. S. M., 2016, The Effects of Different Extraction Methods on Antioxidant Properties, Chemical Composition, and Thermal Behavior of carcinogenesis, 5,7.
- Nili-Ahmadabadi, A., Tavakoli, F., Hasanzadeh, GR., Rahimi HR. ve Sabzevari, O., 2011, Protective effect of pretreatment with thymoquinone against Aflatoxin B1 induced liver toxicity in mice. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(4), 282-287.
- Oakes, R. S., Clifford, A. A. ve Rayner, C. M., 2001, The use of supercritical fluids in synthetic organic chemistr, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1, 917–941.
- Padhye, S., Banerjee, S., Ahmad, A., Mohammad, R. ve Sarkar, F. H., 2008, From here to eternity the secret of Pharaohs: therapeutic potential of black cumin seeds and beyond. *Cancer Ther*, 6, 495-510.
- Parry, J., Su, L., Luther, M., Zhou, K., Yurawecz, M. P., Whittaker, P. ve Yu, L., 2005, Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (3), 566-573.
- Rafati, S., Niakan, M. ve Naseri, M., 2014, Anti-Microbial Effect of *Nigella sativa* seed Extract against Staphylococcal Skin Infection. *Med. J. Islamic Republic Iran*, 28-42.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E., 2000, Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, İzmir, 116.

- Shah, S. ve Kasturi, S. R., 2003, Study on antioxidant and antimicrobial properties of black cumin (*Nigella sativa* Linn). *Journal Food Science Technology-Mysore* 40, 70-73.
- Sicker, D., Zeller, K. P., Siehl, H. U. ve Berger, S., 2019, *Natural Products: Isolation, Structure Elucidation, History*. John Wiley and Sons, 71-85.
- Solati Z., Baharin B. S. ve Bagheri H., 2012, Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction of *Nigella sativa* L. oil using full factorial design. *Ind Crops Prod* 36(1), 519-523.
- Solórzano, G. I. B., 2004, "Supercritical Fluid Technology: Computational and Experimental Equilibrium Studies and Design of Supercritical Extraction Processes", Graduate Program of Chemical and Biomolecular Engineering, Indiana, 17.
- Sultan, M. T., Butt, M. S., Anjum, F. M., Jamil, A., Akhtar, S. ve Nasır, M., 2009, Nutritional profile of indigenous cultivar of Black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pak J Bot* 41, 1321-1330.
- Şahin, S., 2011, Zeytin Ağacı Yapraklarından Süperkritik-CO₂ ile Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropein Miktarının İncelenmesi. Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 114-115.
- Umar, S., Zargan, J., Umar, K., Ahmad, S., Katiyar, C. K. and Khan, H.A., 2012, Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chemica-Biological Interactions*, 197, 40-46.
- Üstün, G., Kent, L., Çekin, N. and Civelekoğlu, H., 1990, Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(12), 958-960.
- Taka, E., Mazzio, E. A., Goodman, C. B., Redmon, N., Flores-Rozas, H., Reams, R., Darling-Reed, S. ve Soliman, K. F., 2015, Anti-inflammatory Effects of Thymoquinone in Activated BV-2 Microglial Cells. *J Neuroimmunol*, 286, 5-12.
- Takruri H. R. H. ve Dameh M. A. F., 1998, Study Of The Nutritional Value Of Black Cumin Seeds (*Nigella sativa* L.), *J. Sci Food Agric* 76, 404-410.
- Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M., 2004, *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Yayınları 88, 199.
- Yılmaz, G., Bıyık, N. ve Dökülen, Ş., 2020, Seçilmiş Bazı Çörek Otu (*Nigella sativa*) Populasyonlarının Tokat-Niksar Şartlarında Performanslarının Belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 186-193.