



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**SOĞUK PRES ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ YAĞI
ÜRETİMİNDE ÖN İŞLEM OLARAK ENZİM,
ASİT VE KOMBİNASYON
UYGULAMALARININ ETKİSİ**

Nurgül HALICI DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği AnaBilim Dalı

Haziran-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

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.

İmza

Nurgül HALICI DEMİR

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SOĞUK PRES ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ YAĞI ÜRETİMİNDE ÖN İŞLEM OLARAK ENZİM, ASİT VE KOMBİNASYON UYGULAMALARININ ETKİSİ

Nurgül HALICI DEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği AnaBilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2023, 54

Jüri

Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Doç. Dr. Mustafa Kürşat DEMİR

Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE

Ülkemizde yıllardır yapılan üzüm yetiştiriciliği çok önemli bir noktaya ulaşmış olup, üzümün işlendiği işletmelerde atık şeklindeki tonlarca üzüm çekirdeğinin ekonomimize geri kazandırılması büyük öneme sahiptir. Üzüm çekirdeği yağının, içeriğinde bulunan zengin biyoaktif bileşikler sebebiyle gıdada, eczacılık ve kozmetik alanlarında çokça tercih edilen bir ürün haline gelmiştir. Bu çalışmada üzüm çekirdeğine çeşitli oranlarda (%1-4) ticari enzim preparatı, asit ve her ikisinin de birlikte uygulaması 12, 24 ve 36 saat olmak üzere üç inkübasyon süresi ile uygulanmış, ardından soğuk presleme metoduyla yağ elde edilmiştir. Asit ve/veya enzim uygulanmadan preslenen kontrol numunesinden ortalama %8.13 yağ verimi elde edilirken, asit ve enzim uygulamaları sonrasında, 36 saat inkübe edilen asit (%4) %9.68 ve enzim (%1) %9.51 uygulamalarında ise en yüksek yağ verimi sağlanmıştır. Bu uygulamalarda yağ veriminde kontrole kıyasla %16.5-19 arasında artış görülmüştür. Asit ve enzimin birlikte kullanımı, tek başlarına kullanımları kadar yüksek seviyelerde verim artışı sağlamamıştır. Enzimin, %4 seviyesinde ve 36 saat süreyle yapılan inkübasyonda, verim, oksidatif stabilite ve biyoaktif bileşen içeriği bakımından olumsuz etkiler görülmüştür. Asit uygulaması, serbest asitlik açısından enzim ve asit +enzim uygulamalarına göre düşük değerlerle sonuçlanmıştır. Enzim ilavesi 12 ve 24 saatlik muamelelerde yüksek indüksiyon süreleri sağlamıştır. Asit, enzim ve asit+enzim ön işlemlerinin tüm seviyelerinde 12 ve 24 saat süreli inkübasyonlarda daha yüksek toplam fenolik bileşen içeriği ve DPPH radikal tutucu aktivite elde edilmiştir. 12 saat inkübe edilen %2.5 asit ve %2.5 asit-enzim uygulanan örneklerde fenolik bileşen içeriğinde kontrole kıyasla sırasıyla %65 ve 62 artış olmuştur. Üzüm ülkemizde yaygın olarak üretildiği ve soğuk pres ekstraksiyonunun maliyeti düşük, kullanımı kolay, tüketicilerin son yıllarda güvenini ve popülaritesini kazandığı için gıda sanayisinde kullanım avantajı sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Üzüm çekirdeği, üzüm çekirdeği yağı, soğuk pres, enzim, asit

**ABSTRACT
MS THESIS**

EFFECT OF ENZYME, ACID AND COMBINATION APPLICATIONS AS PRE-TREATMENT IN COLD PRESSED GRAPE SEED OIL PRODUCTION

Nurgül HALICI DEMİR

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

Advisor: Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

2023, 54

Jury

Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU

Doç. Dr. Mustafa Kürşat DEMİR

Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE

Grape cultivation, which has been going on for years in our country, has reached an advanced point, and it is of great importance to return to our economy tons of grape seeds that are released as waste in the plants where grapes are processed. Grape seed oil has become a widely preferred product in food, pharmacy and cosmetic fields due to the bioactive compounds it contains. In this study, various amounts (1-4%) of commercial enzyme prepartate, acid and both of them were applied to grape seeds for three incubation periods of 12, 24 and 36 hours, and then the oil was obtained by cold pressing method. While an average of 8.13% oil yield was obtained from the control sample pressed without applying acid and/or enzyme, the highest oil yield was achieved in acid 4% 9.68% and enzyme 1% 9.51% treatments incubated for 36 hours after acid and enzyme treatments. In these treatments, an increase of 16.5-19% in oil yield was achieved compared to the control. The combined use of acid and enzyme did not provide as high a yield increase as when used alone. Negative effects of the enzyme in terms of yield, oxidative stability and bioactive component content were observed at 4% level and incubation for 36 hours. Acid application resulted in lower values in terms of free acidity compared to enzyme and acid + enzyme treatments. Enzyme addition provided high induction period in 12 and 24 hour treated samples. Higher total phenolics content and DPPH radical scavenging activity were obtained in 12 and 24 hour incubations at all levels of acid, enzyme and acid+enzyme pretreatments. In the 2.5% acid and 2.5% acid-enzyme treated samples incubated for 12 hours, there was an increase of 65 and 62% in the phenolic component content, respectively, compared to the control. Since grapes are widely produced in our country and cold press extraction has a low cost, is easy to use, and has gained the trust and popularity of consumers in recent years, it has provided an advantage of use in the food industry.

Keywords: Grape seed, grape seed oil, cold press, enzyme, acid

ÖNSÖZ

Bir üzüm posası atığı olan üzüm çekirdeği gerek sağlık olsun gerek endüstriyel olsun yüzyıllardır birçok alanda kullanılmaktadır. Son yıllarda sağlığa etkileri ve artan kullanım alanlarından dolayı oldukça popüler hale gelmiş ve üzerindeki çalışmalar artmıştır. Yapılan araştırmalar neticesinde olumlu etkileri ile ön plana çıkan üzüm çekirdeğinin gıda endüstrisinde de artan bir potansiyel oluşturacağı açık bir şekilde görülmektedir.

Bu araştırmada üzüm çekirdeği yağının soğuk pres yöntemiyle elde edilışinden, verimi arttırmak için kullanılan asit enzim ilavesinden ve yağ eldesinden sonraki uygulanan analizlerden bahsedilmiştir. Bu çalışmanın konusunun belirlenmesinde ve hazırlanma sürecinin her aşamasında değerli bilgilerini ve zamanını benden esirgemeyerek her fırsatta çalışmamla yakından ilgilenen, eleştirileriyle yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU'na teşekkür ve minnetimi özellikle belirtmek istiyorum.

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen sevgili Yusra ÖZKILIÇ ve Ayşenur ACAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Nurgül HALICI DEMİR
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1.Soğuk Pres Yağlar	4
2.2.Üzüm Çekirdeği ve Yağı.....	6
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	8
3.1.Materyal.....	8
3.1.1.Kullanılan Ekipman ve Cihazlar	8
3.2.Yöntem	8
3.2.1.Örnek Hazırlama	8
3.2.2. Üzüm Çekirdeğine Uygulanan Ön İşlemler	9
3.2.2.1. Tohumların Öğütülmesi	9
3.2.2.2.Enzim Uygulaması.....	10
3.2.2.3. Asit Uygulaması	10
3.2.2.4.Asit-Enzim Uygulaması.....	10
3.2.2.5. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Elde Edilmesi	11
3.2.3. Yağda Yapılan Analizler	12
3.2.3.1. Yağ Veriminin Belirlenmesi	12
3.2.3.2. Renk Analizi (L^* , a^* , b^*)	12
3.2.3.3. Serbest Yağ Asitleri Tayini.....	12
3.2.3.4.Peroksit Değerinin Belirlenmesi	13
3.2.3.5. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	13
3.2.3.6. DPPH Serbest Radikal Tutucu Etkinin Belirlenmesi	14
3.2.3.7. <i>Para</i> -Anisidin Tayini	15
3.2.3.8. Oksidatif Stabilitenin Ransimat Metoduyla Belirlenmesi	15
3.2.4. İstatistiksel Analizler	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	17
4.1. Enzim ve Asit Ön Uygulamalarının Yağ Verimi Üzerine Etkileri.....	17
4.2. Enzim ve Asit Ön Uygulamalarının Üzüm Çekirdeği Yağı Rengi Üzerine..	21
4.3. Enzim ve Asit Ön Uyg. Soğuk Pres Üzüm Çek. Yağ. Serbest Yağ Asitliği ..	23
4.4. Asit ve/veya Enzim Uyg. Tabi Tutulmuş Çek. Yağların Peroksit Değerleri	25
4.5. Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Bulgular	27
4.6. Üzüm çekirdeği yağlarında belirlenen DPPH radikal tutucu aktivite.....	29
4.7. Asit ve/veya Enzim Uyg. Tabi Tut. Çek. Yağların <i>P</i> -anisidin Değerleri	32
4.8. Asit ve Enzim Muamele Edilmiş Üzüm Çekirdeklerinden Elde Edilen Yağlarının İndüksiyon Süreleri Değerleri	33
5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	36
KAYNAKÇA.....	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 4.1. Renk tayinine ait değerler

RESİM LİSTESİ

Resim 3. Tohumlara uygulanan işlem basamakları

Resim 3.1. Tohumlara uygulanan enzim ve asit püskürtülme işlemi

Resim 3.2. Soğuk presleme işlemi

Resim 3.3. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda hekzan ve metanol fazlarının ayırması

Resim 3.4. Soğuk pres üzüm çekirdeği yağ numuneleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1. Farklı oran ve sürelerde enzim ve asit uygulamalarının üzüm çekirdeği yağı verimi üzerine etkileri

Şekil 4.2. Enzim ve asit ön uygulamaları sonrası elde edilen üzüm çekirdeği yağlarında serbest yağ asitliği (% oleik asit) değerleri

Şekil 4.3. Peroksit değerlerine ait veriler

Şekil 4.4. Toplam fenolik madde miktarına ait veriler

Şekil 4.5. DPPH radikal tutucu aktiviteye ait değerler

Şekil 4.6. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarında belirlenen p-anisidin değerleri

Şekil 4.7. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarının indüksiyon süreleri değerleri

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

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

Kısaltmalar

AOCS	: American oil chemical society
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
AOM	: Aktif oksijen metodu
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
SFA	: Saturated fatty acid (Doymuş yağ asitleri)
SYA	: Serbest yağ asitliği
OSI	: Oksidatif stabilite indeksi

1. GİRİŞ

Üzüm (*Vitis vinifera* L.), dünyada yaklaşık olarak 7 milyon hektarlık yüzeyde, 58 milyon tonluk üretim kapasitesiyle en fazla yetiştirilen, yüksek besin içeriğinden dolayı da hem dünyada hem de ülkemizde en çok tüketime sahip meyvelerden birisi olmuştur (FAO, 2015). Üzüm açısından ülkemiz de kolay uyumsal özelliklere sahip olmasından dolayı, ülkemiz bağcılık alanında dünyanın en önemli ülkelerindendir (Semerci ve ark., 2015). Yıllık yaklaşık 470,000 hektarlık bağ alanında, 4.6 milyon tonluk üzüm üretimi gerçekleşmektedir (TÜİK, 2016). Bundan dolayı hasat sürecindeki ilk haftalarda milyonlarca ton üzüm posası açığa çıkmıştır. Şarap ve üzüm suyu üretiminden sonra atık olarak ortaya çıkan bu posada önemli derecede biyoaktifce zengin bileşikler bulunmaktadır (Demirtaş ve ark., 2013; Barba ve ark., 2016). Üzüm çekirdeklerinin içerdikleri yağ oranı %7-20 arasındadır. Kuru bazda geriye %40 lif, %7 tanenli yapılar gibi kompleks yapıda bulunan fenolikler, %11 proteinler, %7 oranında su ve iz miktarlarda şekerler ve mineraller bulunmaktadır (Demirtaş ve ark., 2013; Teixeira ve ark., 2014; Rombaut ve ark., 2015). Hafif meyvemsi tadı, ve turuncgil kokusu veren monoterpenlere (limonen, mirsen, β -pinen vb.) sahip oluşu, yüksek dumanlanma sıcaklığı (216.7 °C), sindirilebilirliğinin yüksek olması ve kızartmalarda yağ olarak kullanıldığında viskozitesinde önemli sayılabilecek seviyede bir artış gerçekleşmemesi, üzüm çekirdeği yağının karakterini belirleyen en önemli özelliklerdendir (Hanganu ve ark., 2012; Karaman ve ark., 2015). Üzüm çekirdeğinin sahip olduğu yağ verimi, biyoaktif olan bileşenleri ve aroması içinde bulundukları üzümün çeşidine göre değişebilmektedir (Sabir ve ark., 2013; Fernandes ve ark., 2013). Literatür sonuçlarına bakarak, hasat zamanında toplanan ürünlerin çekirdeklerinin farklı miktarlarda yağ içerdikleri ve bu farklılığın sadece harman zamanında olmadığı, üzümün her bir olgunlaşma sürecinde de farklı oranlarda yağ miktarları bulundurdıkları saptanmıştır (Rubio ve ark., 2009). Yağ oranındaki varyasyon yalnızca olgunlaşmasından kaynaklanmayıp, lipoksigenazda olduğu gibi enzimlerin aktiviteleri (Podolyon ve ark., 2010), nemin dozu, toprağın cinsi ve mevsim koşulları gibi etkenlere de bağlı olduğu söylenebilir. Çekirdeklerden elde edilen yağ, ekstraksiyon metoduna da bağlıdır. Şayet çözücü varlığı söz konusu ise, çözücünün çeşidine göre de ciddi miktarda farklılıklar bulunmaktadır. Bulundurdıkları yağın oranı, genelde çözücü destekli ekstraksiyon (sokslet, goldfish vb.), çözücüsüz soğuk pres ekstraksiyonu (mekanik ram pres, mekanik öğütücü sistemler), enzim destekli sulu ekstraksiyon veya yağların fiziki ve kimyasal yapısını baz alan enstrümental metodlarla (mikrodalga, ultrases, süperkritik sıvı, kızılötesi, X-ışını emilimi)

belirlenmektedir (Azmir ve ark., 2013; Malicanin ve ark., 2014). Günümüzde ise elde edilecek yağın kullanım amacına göre farklı ekstraksiyon yöntemleri uygulanmaktadır. Bu çalışmada kullanılan ekstraksiyon yöntemi ise, soğuk presdir.

Bu çalışmanın önemi; artık farklılaşan hayat koşullarıyla beraber insanlarımızın eğitim seviyesinin de artmasıyla birlikte halkımızın beslenme ve gıda üretimi üzerine yoğunlaşmasına sebep olmuştur (Seçkin ve Baladura, 2011). Sağlık sektörünün gittikçe pahalılaşması, hastalıklara karşı önlem alma isteği ve doğal ürünlere karşı olan ilgi gittikçe artmaktadır (Pezzuto, 2008). Bundan dolayı üreticiler gıda açısından zengin ve insanlığa faydaları olan gıdaların üretimine yoğunlaşmıştır (Seçkin ve Baladura, 2011; Shaviklo ve ark., 2011). Bu açıdan bakıldığında üzüm çekirdeklerini atmak yerine geri dönüştürülmesi ekonomik olarak doğru bir seçimdir (Barbieri ve ark., 2013).

Üzüm çekirdeği en çok araştırılan konular arasında yer almaktadır. Böyle olmasının sebebi kimyasal yapısının antioksidanca zengin maddeleri fazla bulundurmasıdır. Bu maddeler arasında E vitamini, flavonoidler (fenolikler veya polifenoller), linoleik asit ve oligomerikproantosiyanidinler bulunmaktadır (Hammerstone ve ark., 2000). Üzümün içeriğindeki toplam polifenol bileşiklerin %60-70'ni çekirdekte bulunan fenolik bileşikler oluşturmaktadır. Üzümsü meyveler, birçok sebze ve meyveye göre fazla miktarda fenolik bileşen bulundurduğundan, yapılan çalışmalar bu üzümsü meyveler ve bunlardan üretilen gıdalar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Bundan dolayı, ikincil ürün olarak üzümün çekirdeği, sağlık sektöründe önemli bir gıda takviyesi ve doğal antioksidanca zengin bir kaynak olarak gösterilmektedir (Konuk ve Korel, 2015).

Soğuk pres yöntemi, hiçbir ısı işlem ve kimyasal muamele olmadan kullanılan bir yöntemdir. Presleme ise genelde yağ üretimi sürecinin birinci basamağı olarak gösterilmektedir (Campell ve ark., 2016). Endüstride yağlı tohumlardan soğuk pres metodu ile yağın elde edilmesi genelde; ön temizleme, kurutma, öğütme ve presleme işlemlerinden oluşmaktadır (Fiori, 2007). Rafine edilmiş yağlara kıyasla hem daha kaliteli hem de besleyiciliği zengin yağ elde edildiği için, son zamanlarda bu yöntemle olan merak giderek artmıştır. Kullanım açısından oldukça kolay olan soğuk pres metodu, az sayıda enerji gerektiriyor olması, çözgen kullanılmaması, yüksek sıcaklıkların olmaması, yağdaki en önemli bileşen gruplarından biri olan polifenol bileşiklerini koruması, bu polifenol bileşiklerin doğal antioksidan özelliklerinden dolayı yağdaki oksidatif bozulmayı engellemesi şeklinde avantajlar sunar (Maier ve ark., 2016). Öteki taraftan, soğuk pres yöntemiyle üretilmiş yağ veriminin öteki metodlara göre oldukça düşük

kalmasına rağmen (Lutterod ve ark., 2011; Karabaş, 2013), bu metodda hiçbir kimyasal çözücü kullanılmadığı için halkın güveni açısından arz-talep dengesini önemli derecede yükseltmiştir (Zhao ve ark., 2014). Bu metod diğer bir ekstraksiyon metodu olan sıcak pres metodu ile karşılaştırıldığında yağın verimi miktarca az kalıyor ama sıcak preste ısıtılma maruz bırakılan üründe istenilmeyen renk, koku ve tat bileşikleri görülmemektedir. Soğuk pres yöntemiyle yağ elde edilmesi işleminde, mekanik ram presleme, hidrolik presleme veya dişli öğütücülerle presleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında üzüm çekirdeğine ekstraksiyon öncesinde enzim ve asit ilavesiyle polifenollerin içerdiği glukozidik bağları parçalamak ve bu sayede fenolik bileşenlerin daha yüksek oranda yağa geçişini sağlamak amaçlanmıştır. Ön işlemler, aynı zamanda hücre zarı geçirgenliğini de artırması ve verim üzerinde de olumlu etkiler göstermesi açısından önemlidir. Bu çalışmayla, üzüm çekirdeğinden soğuk pres yöntemi ile fenolik bileşiklerce daha zengin bir yağ elde edilmiştir. Elde edilen yağda verim ve enzim desteği yoluyla küspede kalan fenolik bileşenlerin yağa geçişi arttırılmış olup üzüm çekirdeği yağının antioksidan özelliğinin iyileştirilmesi sağlanmıştır. Bu şekilde tüketicilerin fenolik bileşenlerce zengin soğuk pres üzüm çekirdeği yağı tüketebilmesi sağlanmış olup, üreticilerin de basit ve ucuz ön işlemler sayesinde daha yüksek verim elde etmeleri gerçekleştirilmiştir.

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Soğuk Pres Yağlar

Son yıllarda sağlıklı beslenmeye karşı artan ilgi gerek sağlık sektöründe gerekse sofralarda rafine edilmemiş gıdalara rağbeti arttırmıştır. Soğuk pres yöntemi de bileşenlerini koruduğu için bu yöntem ile elde edilen ürünler insanlar tarafından tercih edilmeye başlanmıştır.

Soğuk pres, ısıl veya kimyasal herhangi bir işlem gerektirmeyen ekstraksiyon yöntemidir. Presleme işlemi, genel olarak yağ çıkarılması basamaklarının ilk seviyesi olarak belirlenmiştir. Endüstride yağlı tohumlardan soğuk pres metodu ile yağ çıkartılması genel olarak; ön temizleme, kurutma, öğütme ve presleme şeklinde dört basamaklı işlemlerle gerçekleştirilmektedir. Rafine edilen yağlara kıyasla hem çok kaliteli hem de fazla besleyiciliği yüksek olan yağ üretilmesinden sebeple, son zamanlarda bu metoda olan merak giderek artmaktadır. Bu yöntemin kullanımı kolay, düşük sıcaklık gerektiren ve de düşük enerji kullanılmasından dolayı bu yöntem ilgi fazla olmuştur. Yağda mühim bir kalite ölçütü olan polifenol bileşiklerini koruyarak, bu bileşiklerin doğal antioksidan zengin özellikleri sebebiyle yağda bulunan radikallerden dolayı oluşan oksidatif bozulmaların önüne geçmiştir (Sevindik ve Selli, 2017).

Bitkisel kaynaklı yağlarda olan temel görevler ile birlikte, bulundurdıkları biyoaktif bileşenlerinden dolayı halkın sağlığına pozitif yönde katkı sağlaması konusunda günden güne daha çok bilgilerin öğrenilmesi, tüketicinin soğuk pres yöntemiyle elde edilen ve rafine edilmemiş şekilde tükettiğimiz bitkisel yağlara olan merakın zamanla çoğalmasına sebep olarak görülmüştür. Kendine has tat, yoğun renk ve özel aromaya sahip olan soğuk pres yağlar, halkımızın ilgisini oldukça kazanmıştır (Matthaus ve Brühl, 2003).

İlk başlarda genellikle ilaç ve kozmetik sektöründe kullanılan soğuk pres yağlar, bundan böyle mutfaklarımızda da yer edinme sürecine geçmiştir. Soğuk pres yağın elde edilme yöntemlerinin kolay, ekolojik ve çok sermaye gerektirmeyen, hammaddeden elde edilen yağın randımanının az olması bu tarz yağlarda toptan satışların ücretlerini de etkilemektedir (Gürpınar ve ark., 2011).

Üretim tekniği tarafından bakıldığında, yağlı tohum hammaddesinin içerisinde bulunan yabancı cisimleri temizleme işleminden sonra yüksek seviyelerde ısıya

maruziyet bırakılmadan (en fazla 40 °C) preslerde sıkım işlemi yapılmakta ve sonrasında da kolay bir filtreleme işlemi yapıp yağlar satış için sevke sunulmaktadır. Yağlı tohumun kalite seviyesi kadar üretim parametre ve koşulları da fazlaca önemli olup proses boyunca uygulanacak ısı artışları yağın kalitesinin düşmesine sebep olabilmektedir (Gürpınar ve ark., 2011).

Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği'ne göre soğuk preslenmiş doğal yağlar direkt tüketilebilecek şekilde, ısıl işlem olmadan sadece mekanik metotla üretilen yağlar olarak geçmektedir (TGK, 2012).

Kodeks Alimentariusda da yer aldığı şekilde soğuk pres yağlar ısıl işlem olmadan, yalnızca mekanik işlemlerle, yağdaki yapıya dokunmadan elde edilen bitkisel yemeklik yağlardır. Bunlar, yalnızca suyla yıkama, bekletme, süzme ve santrifüjleme işlemleri ile saflaştırılabilirler. Alman standart uygulamalarındaki soğuk pres yağ tarifinde ise, doğal yağlar ve rafine edilmemiş yağların, hiçbir ısı uygulaması olmadan, hammaddenin dikkatli ve duyarlı bir şekilde gerçekleştirilen mekanik ekstraksiyon ile üretilmesi sonucunda soğuk pres yağı olarak etiketlenebileceği yazılmıştır. Hammaddenin hazır hale gelmesinde ve/veya preslemeden sonra üretilen yağa ısıl işlem uygulanması kabul görmüştür. Böylece Kodeks Alimentarius'taki soğuk pres yağı tanımından kopmaktadır. Soğuk pres kavramı yönetmelik kapsamında ek bir kalite unsuru olarak belirtilmiştir ve hassas ekstraksiyon koşullarını göstermektedir (Matthaus ve Speener, 2008). Soğuk pres yönteminde üründe kimyasal kirletici olan organik çözücüler kullanılmaz (Parker ve ark., 2003).

Soğuk pres metodu, bitkideki meyvenin, tohumu ya da çekirdeği gibi yağlı öğelerinin dışarıya özenle atılması ve mekanik ısı uygulaması olmadan ve kimyasal çözücü kullanılmadan preslenerek üretilen yağın sadece filtrelenmesi ve şişelenmesi işlemidir (Asil, 2020).

Düşük sıcaklık şartlarında işlendiği için yağın fenolik yapısı, lezzeti, aroması ve besleyiciliği gibi kriterleri değişmeden kalmaktadır (Asil, 2020).

Soğuk pres tekniğinin dezavantajı ise üretilen yağın veriminin miktarca az kalmasıdır. Soğuk preslenmiş bitkisel üzüm çekirdeleri hala bir miktar yağ bulundurabilecekleri için arta kalan küspeden çözgen ekstraksiyonuyla kalan yağın alınması sağlanabilmektedir (Duran ve ark., 2020).

Soğuk preslenmiş yağda, trans yağ asitleri bulunmadığından yemek yapım aşamasında ve cilt bakımı ihtiyaçları yönünden önemli bir yere sahiptir (Chandra ve ark., 2020).

Araştırmalarda soğuk preslenmiş yağların içeriğindeki minör biyoaktif bileşenlerin, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik, antihipertansif ve düşük yoğunluğa sahip lipoproteinin düşürülmesi gibi insan sağlığına faydası olabilecek etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (İbrahim ve ark., 2017; Konuşkan, 2020; Dogruer ve ark., 2021). Bu biyoaktif bileşikler, yağın oksidatif stabilitesinin artmasına sebep olarak kullanım süresinin artmasında etkili olurlar (Konuşkan, 2020).

Tobar ve ark., (2005) araştırmalarında Şili şarap enstitüsü atıklarının geri dönüştürülmesini amaç edinen çalışmalarında; soğuk pres metodu ile yağ üretiminden önce yapılan enzimatik ön işlemin yağ verimine ve küspeden antioksidan alınmasına olan etkisi araştırılmıştır. Bu uygulama için materyellere, 3:1 oranında karıştırılan Ultrazyme ve Celluclast enzimleri 45 °C’de 9 saat boyunca uygulanmış olup, sonrasında soğuk pres yöntemiyle yağı alınmıştır. Çalışmanın sonunda yağ veriminin %59.4 oranında arttığı belirlenmiştir.

Soto ve ark., (2008), hoda (borage) tohumlarında soğuk presle elde edilen yağlarda, antioksidan miktarının yükseltilmesi için enzim uygulaması yaptıkları bir çalışmada; 45°C’de, %20 nem şartlarında, enzim karışımı %0.25 olarak (Olivex:Celluclast) 1:1 oranında muamele edilmiş ve soğuk pres yöntemi ile yağ elde edilmiştir. Hoda tohumu polifenol miktarınca oldukça fazladır. Çalışmanın sonunda, enzim muamelesinin elde edilen yağdaki biyoaktif bileşenlerin sayısını üç kat artırdığı belirlenmiştir.

Soto ve ark., (2004) yaptığı başka çalışmada ise tekrar hoda tohumlarından soğuk pres metoduyla yağ üretmiştir. Soğuk pres yöntemi ile elde edilen ürün başkalaşmadan kalitesini sabitlemektedir fakat veriminin düşük olduğu saptanmıştır. Geleneksel çözücü yöntemiyle yağ eldesinde %100 oranında yağ verimi elde edilirken soğuk pres yönteminde %77 verim sağlanmıştır. Bu sayede presleme basamağından önce kullanılması gereken enzimler sayesinde yağ randımanını artırmak hedeflenmiştir. 9 çeşit ticari olarak kullanılan enzimin bireysel ve toplu bir biçimde uygulanması denenmeye çalışılmıştır. Ekstraksiyondan sonra küspede kalan yağ oranı soxhlet metodu ile çıkarılmıştır. En iyi sonuçlar Olivex:Celluclast 1:1 oranında karışımının %0.5 E/S uygulanması ile sağlanmış olup %84 verim elde edilmiştir.

2.2.Üzüm Çekirdeği ve Yağı

Asma (*Vitis vinifera* L.), dünyada yetiştiriciliği yapılan çok eski meyve çeşitlerindendir. Üzüm çekirdeği yapısında %40 lif, %16 yağ, %11 protein, %7 fenolik

madde içeren şeker ve mineral yapıları ihtiva eden potansiyel bir hammaddedir (Koç, 2016). Vitamin, protein, karbonhidrat ve minerallerin dışında üzüm, sağlık yönünden bakıldığında son derece önemli olan antosiyanin, flavanol, flavonol, fenolik asit, kafeik asit, kateşin, quersetin ve resveratrol gibi fenol ve polifenollere ilaveten flavonoidler, proantosiyanidinler ve antosiyanidinleri de kapsamaktadır (Xia ve ark., 2010; Lim, 2013). Üzüm dokularından ekstrakte edilen polifenollerin %60-70'i çekirdeğinde, %28-35'i meyvenin kabuğunda, %10'u meyvenin etli kısmında yer almaktadır. Bilimsel çalışmalar yağda bulunan proantosiyanidinlerin, E vitamininden 20 kat, C vitamininden ise 50 kat daha fazla antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Shi ve ark., 2004).

Türkiyede üretilen üzümün %40'ı sofralıktır, %35'i ise kurutulmaktadır. %23'ü pekmez yapımında kullanılmakta olup, pestil, şıra gibi farklı ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır. Yalnızca %2'si şarap üretimi için kullanılmaktadır (Bilici Başkan ve ark., 2008). Üzüm çekirdeğinden yağ eldesinde yalnızca çekirdekler kullanılır. Kuru madde bazında çekirdeğin hemen hemen %7-20'sini yağ oluşturmaktadır (Matthäus, 2008). Yağ kalite ölçütlerinde önemli bir yeri olan doymamış yağ asitleri, üzüm çekirdeği yağının fazlaca yüksek bir miktarını (yaklaşık %90) kapsamaktadır. Bu yağ önemli derecede serbest yağ asitleri, linoleik asit (C18:2), oleik asit (C18:1), linolenik asit (C18:3), palmitoleik asit (C16:1), mono ve digliseritleri barındırmaktadır. Hem yapısının yaklaşık %10'unu da doymuş yağ asitleri olan palmitik (16:0) ve stearik (18:0) asitler oluşturmaktadır (Demirtaş ve ark., 2013; Rombaut ve ark., 2015). Üzüm çekirdeği yağına ilginin fazla olması, linoleik asit (%72-76) gibi fazla miktarlarda doymamış yağ asidi içermesindendir. Üzüm çekirdeğinin yapısında bulunan linoleik asit miktarı, aspir yağı (%70- 72), ayçiçeği yağı (%60-62) ve mısır yağı (%52)'nin yapısında bulunan linoleik asit miktarından oldukça fazladır (Ghisalberti, 2001).

Önemli bir E vitamini kaynağı olan üzüm çekirdeği yağı, tokoferol ve tokotrienol bakımından zengindir (Baydar ve Akkurt, 2001; Koç, 2016). Yapılmış olan araştırmalarda toplam tokoferol içeriğinin 328-578 mg/kg aralığında olup, ortalama toplam tokoferol içeriğinin 454 mg/kg olduğu saptanmıştır (Baydar ve Akkurt, 2001). Fenolikçe zengin olan maddeler üzümün %60-70 oranında çekirdek kısmında, %28-35 oranında kabuk kısmında, %10 oranında da pulpunda bulunmaktadır (Koç, 2016). Yapılan araştırmalarda, harman zamanlarında hasat edilen üzümlerin çekirdeklerinin farklı miktarlarda yağ içerdikleri ve sadece harman zamanında değil, üzümün diğer olgunlaşma evrelerinde de farklı oranlarda yağ miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir (Rubio ve ark., 2009).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Üzüm çekirdeği hasat yeri olan Denizli iline bağlı Merkez Efendi ilçesinden alınmıştır. Çalışma için 50 kg üzüm çekirdeği kullanılmıştır. Enzim olarak pektolitik enzimlerden oluşan enzim karışımı Sebmax olive (pektinaz kompleksi) ve rapidase (1:1) enzim karışımı kullanılmıştır. Asit olarak ise 0.2 N HCl (Merck, %37lik, yoğunluğu 1.19 g\ cm³) asit kullanılmıştır.

3.1.1.Kullanılan Ekipman ve Cihazlar

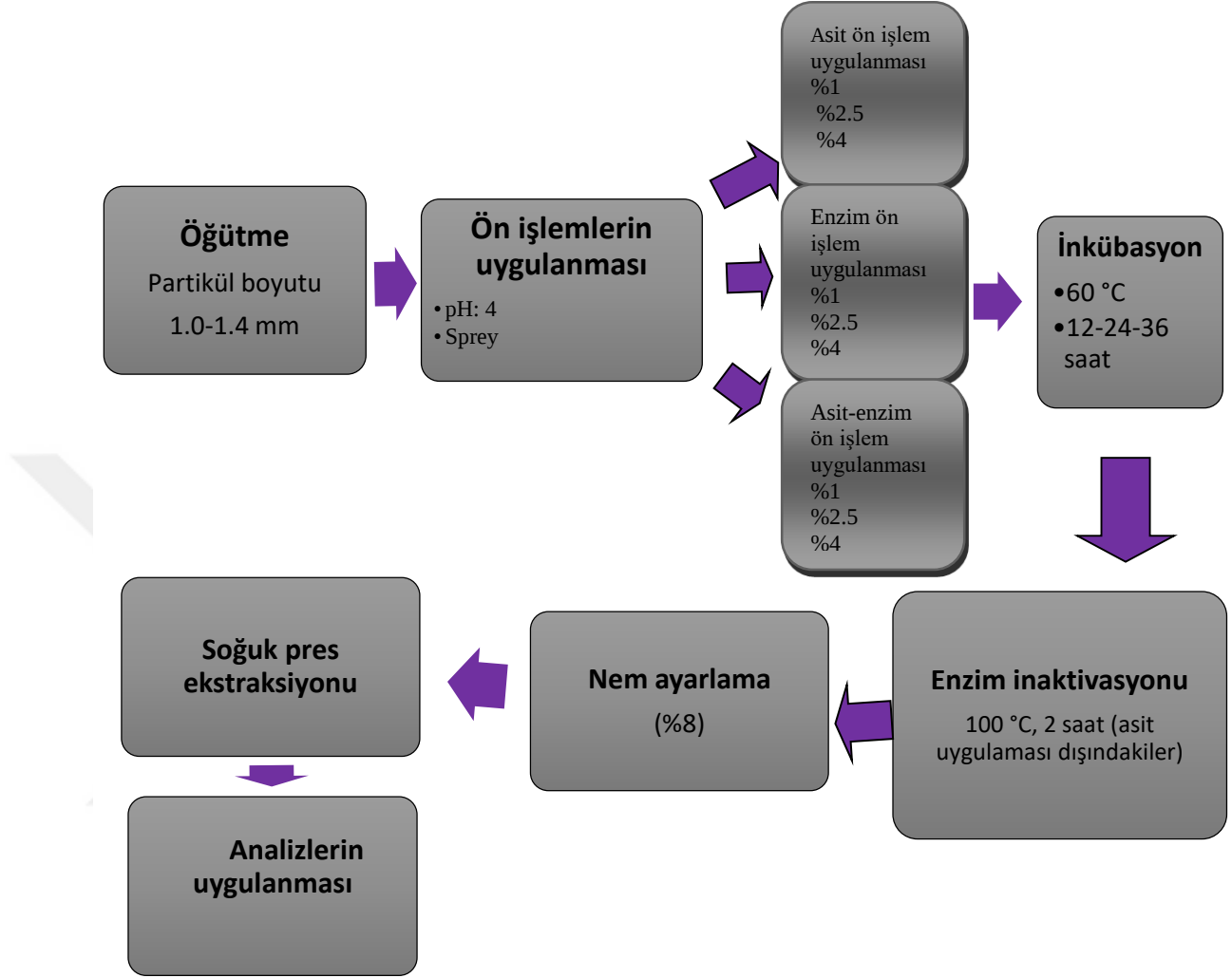
Santrifüj (Centrifuge MF 20, Awel Industrie, Fransa), renk cihazı kromametre (Minolta CR 400 Minolta Co., Osaka, Japonya), spektrofotometre (Biochrom, Libra S22, Cambridge-İngiltere), öğütücü (Arsel, İstanbul), vidalı soğuk pres cihazı (Karaerler NF 500, Türkiye), Ransimat cihazı (Metrohm, 892 model, İsviçre).

3.2.Yöntem

3.2.1.Örnek Hazırlama

Her bir uygulamada 1,5 kilogram üzüm çekirdeği öğütülmüştür. Üzerine önceden hazırlanan %1, %2.5 ve %4'lük asit, enzim ve asit-enzim karışımları püskürtülerek her biri 12, 24 ve 36 saat olmak üzere toplamda 28 numune etüvde 60°C de kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında asit numuneleri çıkartılarak enzim numunelerinin derecesi 100°C ye çıkarılarak 2 saat daha kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında etüvden çıkarılıp soğumaya bırakılan numunelerden soğuk pres cihazında yağ ayrımı gerçekleştirilmiştir. Her bir yağ sıkım işlemi gerçekleştirildikten sonra araya hiçbir işlem uygulanmayan öğütülmüş üzüm çekirdeği tohumundan belli bir miktar sıkım yapılarak işlem uygulanan yağların birbirine karışımı önlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ise ön işlem uygulanmayan kontrol numunelerinden elde edilen değerlerle kıyaslanmıştır. Tohumlara uygulanan işlem basamakları Resim 3 teki tabloda gösterilmiştir.

3.2.2. Üzüm Çekirdeğine Uygulanan Ön İşlemler



Resim 3. Tohumlara uygulanan işlem basamakları

3.2.2.1. Tohumların Öğütülmesi

Üzüm çekirdekleri, sitoplazmanın içerisinde bulunmakta olan yağ zerreciklerinin çıkmasını kolaylaştıran, kütle transferi için yolun azalmasını sağlayabilecek şekilde yüzey alanı ve şekli oluşturarak öğütülmüştür (Sidar, 2011). Çekirdeklere yapılan uygulamaların etkisini artırmak için, taneler yaklaşık 1-4 mm boyutlarına gelecek şekilde öğütülmüştür. Öğütme, endüstriyel bir öğütücü (Arsel, 220 V, 0.8 kg kapasite, 0.3 kW 9000 d/9 dk motor gücü) ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.2.Enzim Uygulaması

Literatürde yapılan araştırmalar sonucunda enzim destekli yağ ekstraksiyonunda enzim konsantrasyonlarının %0.01 ile %1.25 oranlarında farklılaştığı saptanmıştır (Özkılıç, 2017). Bu çalışmada üç ayrı enzim oranı uygulanmıştır. Bunlar %1, %2.5 ve %4 olarak belirlenmiştir. 1500 g numune için sırasıyla 15 g, 37.5 g ve 60 g enzim tartılarak tampon çözeltiyle karıştırılıp materyallere eklenmiştir. Her bir enzim çözeltisi eklenmiş numune 60 °C’de 12, 24 ve 36 saat boyunca etüvde beklemeye bırakılmıştır. Daha sonra sıcaklık 100 °C’ye çıkarılarak 2 saat daha etüvde tutulmuştur. Ticari enzim olarak SEBMax Olive ve rapidase enzim karışımı (1:1) kullanılmıştır. Bu enzim karışımı, *Aspergillus aculeatus* tarafından üretilen pektolitik, selülitik ve hemiselülitik enzimlerden oluşmaktadır (Advanced Enzyme Technologies Ltd., India).

3.2.2.3. Asit Uygulaması

Glikozitlerin hidrolizinde yaygın olarak kullanılan 0.2 N hidroklorik asit (HCl) (Merck, %37lik, yoğunluğu 1.19 g\ cm³) üzüm çekirdeklerine %1, %2.5 ve %4 olmak üzere üç farklı oranda uygulanmıştır (Watson ve ark., 2014). 1500 g öğütülmüş çekirdeklere sırasıyla 15 g, 37.5 g ve 60 g asit, tampon çözelti varlığında spreylenerek uygulanmıştır. Ardından, her biri 12, 24 ve 36 saat boyunca etüvde bekletilmiştir.

3.2.2.4.Asit-Enzim Uygulaması

Asit-enzim karışımı çalışmada %1, %2.5 ve %4 olmak üzere üç farklı oranda uygulanmıştır. 1500 g öğütülmüş tohumu hazırladığımız karışım sırasıyla 7.5g asit-7.5g enzim karışımı, 18.75g asit-18.75g enzim karışımı ve 30g asit-30g enzim karışımı olacak şekilde hazırlanan karışımlar tartılarak tampon çözeltisi varlığında tohumlara ilave edilmiştir. 12, 24 ve 36 saat boyunca 60°C de etüvde tutulmuştur. Tohumlara uygulanan enzim ve asit püskürtülmesi işleminin görseli aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.



Resim 3.1. Tohumlara uygulanan enzim ve asit püskürtülmesi işlemi

3.2.2.5. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Elde Edilmesi

Kullanılan soğuk pres yağ ekstraktörü (Karaerler NF 500, Türkiye), vida presli, 1-30 kg tohum/saat kapasiteye sahiptir. 1.5 kW, 220 Volt motor hızı değişken bir çalışma prensibine sahiptir. Hız 18 hz şeklinde ayarlanmıştır. Cihazın baş kısmı ekstraksiyondan önce rezistans ile ısıtılmış olup, yağın çıkış sıcaklığının 50°C'yi geçmemesi için özen gösterilmiştir. Etüvden çıkan numunelerin neminin %6-8 arasında olması istenmektedir. Preslemeden önce her bir numuneye 90 ml saf su spreyle nüfuz edildikten sonra presleme işlemine geçilmiştir. Yağ eldesinden sonra analizler yapılmaya başlanmıştır. Kullanılan soğuk pres cihazı görseli aşağıdaki tabloda verilmiştir.



Resim 3.2. Soğuk presleme işlemi

3.2.3. Yağda Yapılan Analizler

3.2.3.1. Yağ Veriminin Belirlenmesi

Yağın verimi, presleme işlemi sonucunda üretilen yağ ağırlığının ilk başta kullanılan çekirdek ağırlığına oranı şeklinde hesaplanmıştır. Verim, aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir;

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

Burada; $A_{\text{yağ}}$ ekstrakte edilen yağ miktarı (kg) A_{tohum} ise uygulamadaki yağlı tohum miktarı (kg).

3.2.3.2. Renk Analizi (L^* , a^* , b^*)

Renk değerleri, Minolta Chromameter CR 400 (Minolta Co., Osaka, Japan) cihazıyla ölçülmüştür. Bu cihaz standart beyaz renkte olan kalibrasyonun yüzey kısmına karşı kalibre edilmiş olup CIE Standard Illuminant C'ye göre ayarlaması yapılmıştır. Presle alınan yağ örneklerinin her birinden en az beş ölçüm olacak şekilde belirlenmiştir. L^* rengin parlaklığını göstermektedir. 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. a^* koordinatı pozitif ise kırmızılık, negatif ise yeşillik derecesini, b^* koordinatı pozitif ise sarılık, negatif olduğunda ise mavilik derecesini göstermektedir (Pomeranz ve Meloan, 1994).

3.2.3.3. Serbest Yağ Asitleri Tayini

Yağlı tohum ve meyvelerde hasat sonrası lipolitik reaksiyonlar başlayarak, materyal içinde olan veya mikroorganizmalar tarafından üretilmiş olan enzimler sayesinde trigliseritlerin enzimatik hidrolizine ve bu yolla yağların serbest yağ asidi içeriklerinin artışına sebep olurlar (Bockish, 1998). Serbest yağ asitliği, 1 g yağın nötrleşmesi için gerekli olan potasyum hidroksitin (KOH) mg olarak ağırlığı şeklinde ifade edilmektedir. AOCS Official Method Ca5a-40'a göre yapılmıştır. 2 g yağ olacak şekilde örnekler tartılmıştır. Üzerine 25 mL etanol ve 50 mL dietil eter karışımı ilave edilmiştir. Sonrasında 2-3 damla fenolfitaleyn indikatörü damlatılmıştır. 0.1 N Etanollü KOH çözeltisi örneklerle kontrollü olarak damıtılmış olup numunenin rengi pembeleşinceye kadar titre edilmeye devam edilmiştir. Renk dönüşümünden sonra açığa çıkan değer okunmuştur.

Hesaplama da kullanılan formül şu şekildedir;

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

V: Titrasyonda harcanan KOH çözeltisinin mL'si

M: Tartılan örnek ağırlığı (g).

3.2.3.4. Peroksit Değerinin Belirlenmesi

Analizin prensibi, potasyum iyodürün yağ içerisindeki peroksit oksijeni ile okside olarak iyotun serbest duruma geçmesini sağlamak ve buradaki serbest halin iyotun tiyosülfat ile titre edilerek miktarca ne kadar olduğunun belirlenmesidir. Peroksit değeri, Anonymous 1989 (AOCS Official Method Cd8-53)'a yöntemine göre tespit edilmiştir. Yağ örneklerinden 2 g tartılmıştır. 15 mL asetik asit ve 10 mL kloroform (3:2 v/v) karışımı üzerine eklenmiştir. Sonrasında üzerine 1 mL doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi eklenerek 5 dakika boyunca karanlıkta bırakılmıştır. Karanlıktan çıkarıldıktan sonra 75 mL distile su eklenerek işlem tamamlanmıştır. En son nişasta çözeltisinden 3-4 damla eklenmiştir. Örnekler 0.002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir.

Peroksit değeri aşağıda verilmiş olan formül ile hesaplanmıştır:

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

S: Titrasyon esnasında sodyum tiyosülfat çözeltisi sarfiyatı (mL),

B: Kör için sarfedilen sodyum tiyosülfat çözeltisi (mL),

N: Sodyum tiyosülfat çözeltisine ait normalite,

M: Örnek miktarı (g)

3.2.3.5. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Singleton ve ark. (1999)'na ait yöntem ile gallik asit eşdeğeri (GAE) biçiminde toplam fenolik madde miktarı ölçülmüştür. 10 g yağ tartılmıştır. 5 mL hekzanda çözündürülmüş, üzerine 10 mL metanollü su ilave edilmiştir. Sonrasında 2 dk kadar vortekslenmiştir. 3000 rpm'de 5 dk da santrifüjlenmiştir. Sonrasında ayırma hunisinde faz ayrılması işlemi yapılmıştır. Hekzanlı kısım alındıktan sonra ekstraksiyon tekrarlanmıştır.

Toplam fenolik madde miktarı tayini için ekstraktan 0.2 mL deney tüpüne alınmış, üzerine 4.8 mL saf su eklenerek hacimce 5 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerine 0.5 mL Folin-Ciocalteu /saf su (1:3 v/v) ayracı eklenerek karıştırılmış ve 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 1 mL sodyum karbonat çözeltisi (%35'lik) ve 3.5 mL saf su eklenerek karanlıkta 2 saat kadar bekletilmiştir. Bu süre sonucunda spektrofotometrede 725 nm'de okuması gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda metanol ve hekzan fazlarının ayrılması aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.



Resim 3.3. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda hekzan ve metanol fazlarının ayırması

3.2.3.6. DPPH Serbest Radikal Tutucu Etkinin Belirlenmesi

Serbest hale geçmiş radikaller, bir veya birden çok ortaklanmamış elektron ihtiva eden atomlar veya moleküllerdir. DPPH radikal yakalama analizinde stabil haldeki serbest radikallere karşı üzüm çekirdeği yağı antioksidanlarının etkinliği ölçülmüştür (Roginsky ve Lissi, 2005). Yağ örneklerinden metanol ekstraktı elde etmek amacıyla; yağ örneklerinden erlenlere 10 g tartılarak üzerlerine 100 mL metanol/su (80:20 v/v) karışımı eklenmiştir. 2 saat süreyle 250 rpm hız ile çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi bitiminde süpernatantlar alınıp, 10 dk süreyle 10000 rpm’de santrifüjlenmiştir. İşlem 2 kez tekrarlanarak süpernatantlar filtre edilmiştir. Rotary evaporatörde 40°C’de 15 mL seviyesine ulaşıncaya kadar çözücü buharlaştırılmıştır.

Yağdan elde edilen metanol ekstraktları DPPH radikal yakalama etkinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Bu amaçla ekstraktlar uygun miktarda deney tüpüne alınmış ve Tris-HCl ile hazırlanmış tampon çözeltisi ile hacmi 1 mL’ye tamamlanmıştır. Üzerlerine 2 mL metanollü DPPH ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika tutulmuştur. Süre sonunda örneklerin absorbensları 517 nm’de spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar DPPH radikalinin başlangıç konsantrasyonunun % azalması üzerinden hesaplanmıştır (Doğan ve ark., 2017).

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

Burada; A_0 : kontrol absorbens, A_1 : örnek absorbens

3.2.3.7. Para-Anisidin Tayini

P-Anisidin değeri AOCS- Cd-1890 yöntemine göre belirlenmiştir. 0.25 g / 100 mL'lik bir çözelti hazırlamak için glacial asetik asit içerisinde çözülmüştür. Yağ materyalleri için kullanılan çözücü izooktandır. Yağ numuneleri 0.5-0.7 g aralığında 25 mL'lik küçük cam tüplere tartılmış ve kullanılan yağ numunelerinin kütleleri kayda geçilmiştir. Sonrasında, yağın üzerine 25 mL izooktan ilave edilmiştir. Elde edilen çözeltilerin 350 nm'de absorbansı (A_b) ve reaktif blank olarak izooktan kullanılarak hesaplanmıştır. Absorbans ölçümlerinde cam küvetler kullanılmıştır. Sonrasında çözeltinin 5 mL'si bir test tüpüne ve 5 mL izooktan ise başka bir test tüpüne koyulmuştur. Her ikisine de 1 mL *p*-anisidin çözeltisi eklenerek çözeltiler karıştırılmıştır. Numune çözeltilerinin absorbansı (A_s) izooktana karşı 10 dk sonunda okunmuştur. *p*-Anisidin değerleri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$p-AV = 25 (1.2 A_s - A_b) / m$$

$$p-AV = p\text{-Anisidin değeri}$$

$$A_s = p\text{-Anisidin reaktifi ile reaksiyon sonrası yağ çözeltisinin absorbansı,}$$

$$A_b = \text{yağ çözeltisinin absorbansı}$$

$$m = \text{yağ örneğinin kütlesi}$$

3.2.3.8. Oksidatif Stabilitenin Ransimat Metoduyla Belirlenmesi

Bu yöntemde lipitlerin oksidasyonu esnasında meydana gelen uçucu asitler iletkenlik ölçümü ile takip edilmektedir. Ransimat yönteminin mantığı sıcaklığı arttırılmış ve hava ile etkileşime bırakılarak numunenin hızlandırılmış oksidasyon tabi tutulmasıdır. Yağlar uzun zamanlar yerine saatler gibi kısa sürelerde oto-oksidasyona uğratılmaktadır. Sabit yükseklikteki sıcaklıkta, reaksiyon kabının içerisindeki numuneden hava akışı sağlanır. Uygulama esnasında yağ asitleri oksitlenmektedir. Bu testin sonucunda, uçucu ikincil reaksiyon ürünleri, hava akımı ile ölçme kabına alınır ve ölçüm çözeltisi (deiyonize su) tarafından emilir. Ölçüm solüsyonunun elektrik iletkenliği reaksiyon ürünlerinin emilimi sebebiyle artış sağlamaktadır. Deiyonize suyun iletkenliği zamana karşı grafiğe geçirilir. İkincil reaksiyon numuneleri oluşumu tamamlanana kadar geçen süre zarfına indüksiyon zamanı denir. İndüksiyon zamanı oksidasyon kararlılığını

karakterize etmektedir. İndüksiyon periyodu eğrinin ikinci türevinde maksimum kırılma noktasıyla tespit edilmektedir (Anonymous, 2017).

Isıtma bloklarının olduğu bölümde sıcaklık değeri 120 °C'ye ayarlanmıştır. 20 L/h gaz akış hızında 3 g örnek ve 60 mL ultra saf su ile çalışma yapılmıştır.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Analizler, 28 numuneden paralel örnekler hazırlanarak yapılmıştır. Tespit edilen verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları dikkate alınmıştır. Çalışmanın sonunda alınan veriler varyans analizine tabi tutulmuştur; farklılıkları istatistiksel olarak önem arz eden ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır (Zolman, 1993). Analizler, SPSS istatistik programı kullanılarak yapılmış olup önem seviyesi $P \leq 0.05$ olarak verilmiştir. Soğuk pres üzüm çekirdeği elde edilen yağ örnekleri aşağıdaki görselde verilmiştir.



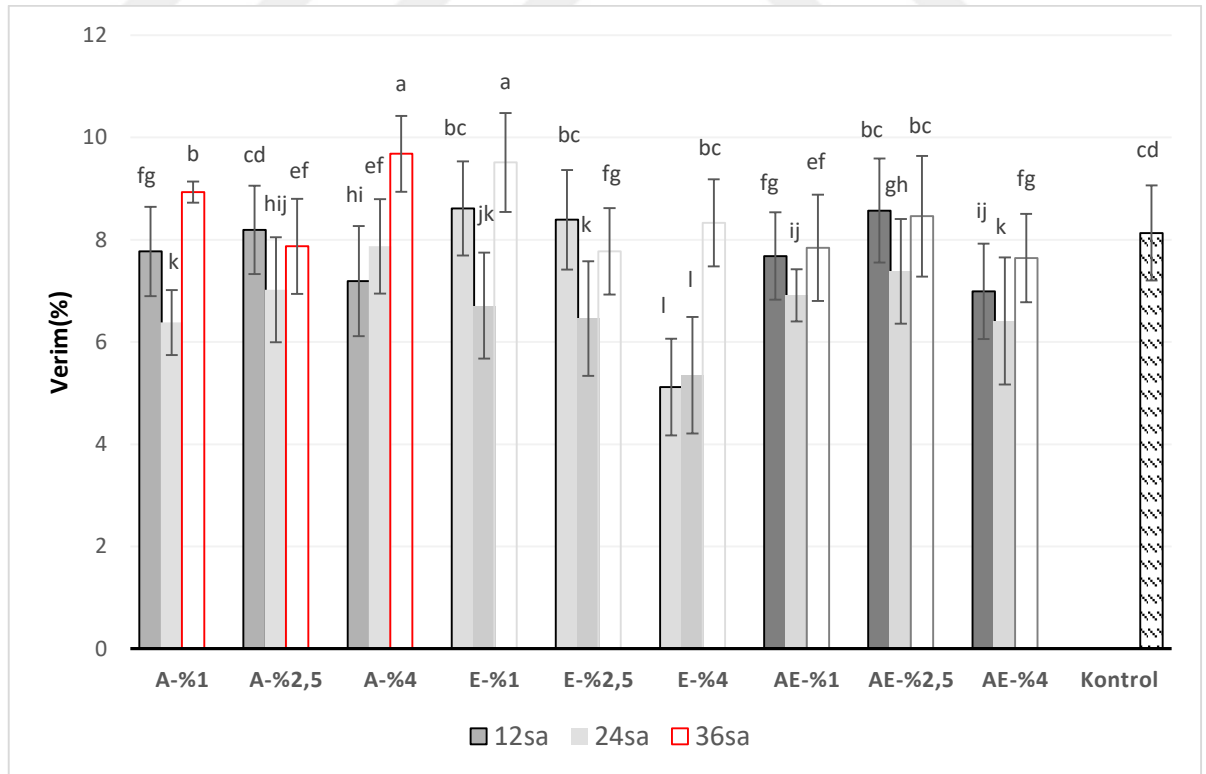
Resim 3.4. Soğuk pres üzüm çekirdeği yağ numuneleri

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada üzüm çekirdeğine, ön işlem olarak ticari enzim ve asit (hidroklorik asit) uygulanmıştır ve alınan yağlardaki verim, kimyasal ve fiziksel özellikler araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ise ön işlem uygulanmayan kontrol numunelerinden elde edilen değerlerle kıyaslanmıştır.

4.1. Enzim ve Asit Ön Uygulamalarının Yağ Verimi Üzerine Etkileri

Kontrol numunesi olarak asit ve/veya enzim uygulanmadan preslenen üzüm çekirdeklerinden ortalama %8.13 yağ verimi elde edilmiştir. Asit ve enzim uygulamaları sonrasında, yağ veriminde en yüksek artış, 36 saat inkübe edilen asit (%4) %9.68 ve 36 saat inkübe edilen enzim (%1) %9.51 uygulamalarında sağlanmıştır. Bu uygulamalarda yağ veriminde kontrole kıyasla %16.5-19 artış görülmüştür. 12 ve 24 saat inkübe edilen %4 enzim uygulanan örneklerin veriminde sırasıyla %37 ve %34 azalma ile birlikte %6'nın altında verim tespit edilmiştir. 24 saat inkübe edilen asit %1, enzim %2.5 ve asit-enzim %4 örneklerinde verim %20.5-21.5 seviyelerinde düşmüştür. İstatistiksel açıdan bakıldığında asit uygulaması enzim uygulamasına kıyasla verimi daha fazla arttırmıştır.



Şekil 4.1. Farklı oran ve sürelerde enzim ve asit uygulamalarının üzüm çekirdeği yağı verimi üzerine etkileri (A:Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Konuşkan ve ark. (2019) tarafından Türkiye’de yetişen Syrah, Merlot, Sangiovese, Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc üzüm çeşitlerinin çekirdeklerinde Soxhlet yöntemi ile belirlenen toplam yağ verimi ortalama %4.95-7.77 olarak bildirilmiştir. Çekya’da yetiştirilen beş farklı üzüm çekirdeği çeşidinden (Welschriesling, Green Veltliner, Hibernel, Zweigelt ve Saint Laurent) soğuk presle %15.3 -17.5 arasında değişen oranlarda yağ elde edilmiştir (Burg ve ark., 2017). Sırbistan’da yetişen altı farklı üzüm çeşidine ait çekirdeklerin yağ içeriği kurumaddede %8.89-12.74 aralığında bildirilmiştir (Vujsinović ve ark. 2021). Çalışmamızda literatüre kıyasla daha düşük yağ içeriği tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde, bu konuda üzüm çeşidi ve yağın presleme koşullarının en önemli etkenler olduğu görülmektedir.

Porto ve ark. (2013) Pektolitik enzimlerin ağırlıklı olduğu ticari bir enzim karışımının 45°C’de 9 saat süreyle uygulandığı bir çalışmada soğuk pres ekstraksiyonla kontrol örneklerinde %14.6 verim, enzimatik muamele ile maksimum %17.1 verim elde edilmiş, bu da en fazla %17’lik bir verim artışına tekabül etmiştir. Bunun yanında, enzim-çekirdek oranı 100 g’da 2 g’den daha yüksek olduğunda, yağ ekstraksiyon verimi üzerinde önemli bir etki olmamış; dolayısıyla %2 enzim uygulanmasının, hücre yapısının kırılarak yağın serbest kalmasını artırmaya ve kolay ekstrakte edilebilir yağın biraz daha artırılmasına yeterli olduğunu göstermişlerdir.

Kaseke ve ark. (2021) pektinaz, proteaz ve selüloz enzimlerinden oluşan bir karışımla pH 4.5’de %1.7 konsantrasyonunda, 40 °C’de 5 saat süreyle uygulanan ön işlem ile nar çekirdeği yağı elde etmişlerdir. Nar çeşidine göre enzim uygulamasının etkileri değişiklik arz etse de yağ veriminin %8-17 oranında arttığı bildirilmiştir. Bu durumun, çeşitler arasındaki genetik farklılıktan kaynaklandığı belirtilmiş ve bu nedenle çekirdeklerdeki selüloz, hemiselüloz, pektin ve proteinin farklı oranlarda bulunması da enzimlerin çekirdek üzerindeki etkisinin değişen oranlarda olması ile açıklanmıştır. Enzimatik ön işlemden sonra, tohum matrisinde geniş ölçüde hasar tespit etmişlerdir. Ek olarak, nar çekirdeklerinden alınan SEM mikrografında boşluklar gözlenmiş, bu da tohum hücre duvarlarının ve yağ keseciklerinin enzimatik ön işleme tabi tutulduğunda parçalandıklarını ve böylece lipidlerin çözücüye kütle transferini kolaylaştırdığını düşündürmüştür. Tohum hücrelerinde yağ, bir protein zarı ile çevrili yağ kesecikleri (0.5-2.5) şeklinde bulunur ve bu zar eksojen proteaz enzimleri tarafından hidrolize edilebilmektedir.

Pektinler taze üzüm veya üzüm posasındaki hücre duvarlarında bileşenleri bağlayan polimer bileşiklerdir (González-Centeno ve ark., 2010). Yağ globülleri ve tohum duvarları arasında, yağın çıkarılmasını engelleyen supramoleküler yapılara (Scollary ve ark. 2012) yol açan nispeten güçlü bir etkileşim vardır. Bu nedenle, yağ ekstraksiyonunda pektini parçalamaya özgü enzimlerle enzimatik ön işlem yapılmaktadır. Tociu ve ark., (2021) pektin liyaz enzimi kullanılarak 24 saat süreyle pH 3.5'te gerçekleştirdikleri enzimatik ön işlem neticesinde solvent ekstraksiyonu ile Riesling Italian çeşidi için %13'ten 13.5'e, Pinot Noir çeşidi için %14'ten 14.7'ye verim artışı bildirmişlerdir. Elde edilen verim artışı %5 civarında bildirilmiştir. Yağların yağ asidi kompozisyonunda herhangi bir değişiklik fark edilmemiştir.

Bisht ve ark. (2015) kayısı çekirdeğine selüloz ve pektinaz enzim karışımını %0.3 oranında 50°C'de 2 saat süreyle uygulamış, soğuk presle ekstraksiyonda %14.2 verim artışı sağlamışlardır. Miktar olarak fazla enzim kullanımının, yağ çıkarma işlemi sırasında bir miktar yağ ve su emülsiyonu oluşturabildiği, bunun da yağ damlalarının salınmasını zor hale getirebildiği belirtilmiştir.

Soto ve ark. (2004), Olivex-Celluclast enzim karışımının 45°C 9 saat süre boyunca %20 nemde muamele edilmesiyle ve iki kez presleme sonucunda, yağın %95'inin alınabildiğini belirtmişlerdir. Enzimatik işlemin, yağ kalitesini etkilemediğini ve küspenin düşük lif içeriği nedeniyle daha değerli hale geldiğini ileri sürmüşlerdir. Enzim destekli işlemle yaklaşık %6 verim artışı sağlamışlardır.

Candan ve Arslan (2021), ön işlem uygulanmamış üzüm çekirdeklerinden ortalama %10.43, ticari enzim karışımı uygulanan çekirdeklerden ise %11.05 yağ verimi elde etmişlerdir. Elde ettikleri artış %5.9 ile sınırlı kalmıştır.

Passos ve ark. (2009) üzüm çekirdeği yağı ekstraksiyonu için enzim olarak selüloz=29, proteaz=1191, ksilanaz=21 ve pektinaz =569 U/g tohum numunesi şeklinde bir karışım kullanmışlardır. En başarılı sonuç olarak 40 °C'de pH 4 ve 120 saat enzim uygulama süresi bildirilmiştir. Bu şekilde verim %17.5 ve kontrole göre artış %163 olarak belirtilmiştir. Ancak 120 saat inkübasyon uygulamada uzun olacağından, 24 saatin önerildiği, bu şekilde de, ekstraksiyon verimi %13.7 ve kontrole göre %106'lık bir artış olarak rapor edilmiştir. Bu sonuçların, literatürde yer alan genellikle %2-15 aralığında verim artışlarına kıyasla oldukça fark yarattığı ve üzüm çekirdeği yağı ekstraksiyonunu geliştirmek için niceliksel avantaj sağlayan enzimatik ön işlemin kesinlikle benimsenebileceğini ileri sürmüşlerdir.

pH'nın düşük olduğu, izoelektrik noktadan uzak değerler proteomik matrisi destabilize ettiğinden tohum yağının çıkarılmasını kolaylaştırır (Rosenthal ve ark., 1996). Enzimatik aktivite ile birlikte hücre duvarı matris distorsiyonunun (bükülme veya burkulma sonucu meydana gelen şekilde değişikliği) sinerjistik etki yağ verimindeki önemli artıştan sorumludur (Passos ve ark., 2009).

50°C'nin üzerindeki sıcaklıklar daha fazla enerji gerektirdiğinde tercih edilmemektedir. Passos ve ark. (2009)'nın çalışmasında 30°C ve 40°C'ler benzer sonuçlar vermiş, 50°C'de de gözle görülür bir kazanım gözlenmemiştir. Bu sonuçlarla, 50°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bir miktar enzimatik aktivitenin kaybolmuş olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Bitki hücrelerinin içinde bulunan yağ, proteinlerle birbirine bağlanmış bir fosfolipid tabakası ile çevrili bir trigliserit matrisinden oluşan, yağ kesecikleri (0.6-2 μ m) adı verilen küresel organellerle sınırlıdır. Yağ keseciklerinin yüzeyini, asla bir araya gelmeyecek şekilde tamamen kaplarlar. Bu kararlılık, yağ kütlelerinin yüzeyinde çoğunlukla oleosinler ve caleosin olarak adlandırılan yapısal proteinler olan hidrofobik proteinlerin sterik engeline (*Bir reaktif maddede başka reaktif madde molekülünün yaklaşmasını imkânsız kılan büyük boyutlu grupların varlığı nedeniyle bir kimyasal reaksiyonu yavaşlatan veya engelleyen etki*) ve elektronegatif itmesine atfedilir (Capuano ve ark., 2007; Frandsen ve ark., 2001; Lin ve ark., 2002). Sineiro ve ark. (1998) tarafından, enzimatik işlem görmüş numunelerin partikül boyutunun daha küçük oldukları, yüzeylerinin bozulmuş olduğu; orta lamellerin bozulmasından dolayı hücrelerin ayrılmış olduğu görülmüştür. Sitoplazma bozulduğundan, hücre dokuları ve duvarları, hücrel ve hücre altı faaliyetlerini yavaş ve kademeli olarak kaybeder.

Bitki hücreleri, proteinlerin yanı sıra karbonhidrat moleküllerinden (selüloz, hemiselülozlar ve pektik polisakkaritler) oluşan karmaşık bir hücre duvarı matrisi ile çevrilidir. Daha yüksek yağ ekstraksiyonu elde etmek için, enzim preparatlarının hücre duvarı yapısını bozacak geniş bir aktivite spektrumuna sahip olması gerekir. Enzimin proteine girişini engelleyen bir lifin varlığı da bildirilmiştir (Dominguez ve ark., 1995). Selülozların ve pektinazların enzimatik hidrolize daha uzun sürelerde dahil edilmesi, proteazların proteinlere daha kolay erişmesini sağlayarak sindirilebilirliği artırabilir. Birkaç enzimin birarada kullanılması sinerjistik bir aktivite oluşturup daha iyi ekstraksiyon verimleri elde etmek mümkündür (Passos ve ark., 2009).

4.2. Enzim ve Asit Ön Uygulamalarının Üzüm Çekirdeği Yağı Rengi Üzerine Etkileri

L^* , a^* , b^* değerleri, CIELAB renk uzayının bir parçasıdır ve renk tonunu, doygunluğunu ve parlaklığını tanımlamak için kullanılır. Asit uygulaması %2.5 ve %4 oranında kullanıldığında enzim ve asit-enzim uygulamalarına göre daha yüksek L^* değerleri ile sonuçlanmıştır. Dolayısıyla daha açık bir renk elde edilmiştir. Asit ilave edilen numunelerde asidin kullanım oranı yükseldikçe yağın renginin açıldığı görülmüştür. Enzim ve asit-enzim ilavelerinde böyle bir etki görülmemiştir. Asit ve asit-enzim uygulamaları neticesinde 36 saat inkübasyon, L^* değerinin düşmesine dolayısıyla rengin koyulaşmasına sebep olmuştur. Ancak enzim uygulamasında 36 saat inkübasyon, daha açık bir yağ rengi ile sonuçlanmıştır. Kontrol ile kıyaslandığında asit uygulanmasında L^* değerinde önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Enzim uygulaması ise yağ rengini kontrole göre koyulaştırmıştır. Asit-enzim muamelesinde ise 12 ve 24 saatlik inkübasyon kontrol ile benzer sonuçlar verirken 36 saatlik inkübasyon düşük L^* değeri sağladığı tespit edilmiştir.

a^* değerlerinde %2.5 ve %4 asit uygulamasında süre arttıkça a^* değer azalma göstermiştir. %1 uygulamada ise tam tersi süre arttıkça a^* değerinde artma tespit edilmiştir. Enzim uygulamasında ise %1 ve %4 uygulamalarda azalma meydana gelirken %2.5 numunede artış gözlenmiştir. Asit-enzim uygulamasında ise %2.5 uygulama düşük iken %1 ve %4 uygulamalarda artış gözlenmiştir. Asit uygulamasında miktar arttıkça a^* değerinde azalma gözlenmiştir. Kontrol ile kıyas yapılacak olursa %4 asit uygulamasında 36 saat inkübe edilen numune daha düşük a^* değeri göstermiştir. Enzim uygulamasında %2.5 asitle 12 saat ve %4 asitle 36 saat inkübe edilen ürünler daha düşük a^* değerlerine sahiptir. Asit-enzim uygulamasında önemli bir fark oluşmamıştır.

b^* değerlerinde asit uygulamasında %1 uygulamada süre arttıkça miktar azalırken % 4 asit uygulamasında tam tersi süre arttıkça miktarda doğru orantılı artmaktadır. % 2.5 asit uygulamasında ise 24 saatlik inkübasyon uygulamasında en yüksek değer olarak tespit edilmiştir. Enzim uygulamasında ise süre arttıkça % 1 ve % 4 uygulanan numunelerde artış gözlenmiştir. Asit-enzim uygulamasında ise % 4 lük uygulamada süre arttıkça azalış meydana gelmiştir. % 1 ve % 2.5 uygulamalarda ise 24 saatlik sürelerde inkübe edilen değerlerde miktar artışı gözlenir iken 12 ve 36 saatlik inkübasyon uygulamalarında miktarların daha az olduğu gözlenmiştir.

Kontrol ile kıyaslandığında % 2.5 asit uygulamasında b^* değerinde önemli bir fark gözlenmektedir. Kontrole göre daha sarı bir renktedir. Enzim uygulamasında önemli bir

değişim tespit edilmemiştir. Asit-enzim uygulamasında ise 12 saat inkübe edilen % 4 oranda uygulamada fark tespit edilmiş, kontrole göre daha sarılık değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1. Enzim ve asit ön uygulamaları sonrası elde edilen üzüm çekirdeği yağı renk değerleri

Ön muamele	oran (%)	İnkübasyon süresi (saat)	L*	a*	b*
Asit	1	12	27.78±0.48 ^a	-0.48±0.05 ^b	2.43±0.04 ^a
		24	27.67±0.59 ^a	-0.37±0.16 ^b	2.40±0.02 ^a
		36	21.24±0.16 ^b	0.20±0.02 ^a	1.61±0.04 ^b
	2.5	12	27.59±0.75 ^b	-0.35±0.02 ^a	2.60±0.02 ^b
		24	29.79±0.56 ^a	-0.53±0.04 ^b	3.31±0.14 ^a
		36	27.67±0.25 ^b	-0.53±0.03 ^b	2.44±0.02 ^b
	4	12	28.73±0.19 ^b	-0.55±0.14 ^a	2.63±0.03
		24	28.62±0.83 ^b	-0.60±0.08 ^b	2.69±0.05
		36	30.35±0.23 ^a	-0.87±0.03 ^c	2.72±0.02
	1	12	25.16±0.46 ^b	-0.23±0.11 ^c	2.10±0.13 ^b
		24	24.78±0.33 ^b	0.01±0.04 ^a	2.48±0.04 ^b
		36	29.29±0.37 ^a	-0.01±0.04 ^b	2.71±0.04 ^a
Enzim	2.5	12	28.49±0.81 ^a	-0.85±0.15 ^b	2.28±0.06
		24	22.70±0.14 ^b	0.09± 0.01 ^a	2.36±0.01
		36	24.68±0.09 ^b	-0.14± 0.13 ^b	2.41±0.03
	4	12	25.37±0.32 ^b	-0.26±-0.19 ^a	2.23±0.03 ^b
		24	27.60± 0.79 ^a	-0.60±0.04 ^b	2.73±0.08 ^a
		36	27.38±0.07 ^a	-0.80±0.01 ^c	2.21±0.18 ^b
	1	12	21.92±0.23 ^c	0.05±0.10 ^a	1.36±0.02 ^b
		24	30.36±0.17 ^a	-0.63±0.03 ^b	2.95±0.07 ^a
		36	25.20±0.06 ^b	-0.25±0.03 ^b	2.25±0.01 ^a
	2.5	12	28.80±0.39 ^a	-0.56±0.05 ^b	2.68±0.09 ^a
		24	27.68±0.75 ^a	-0.49±0.04 ^{ab}	2.83±0.02 ^a
		36	22.96±0.28 ^b	-0.38±0.03 ^a	1.27±0.04 ^b
Asit-enzim	4	12	28.90±2.05 ^a	-0.36±0.06 ^b	3.11±0.24 ^a
		24	27.68±0.22 ^a	-0.49±0.04 ^b	2.83±0.07 ^b
		36	22.94±0.02 ^b	-0.18±0.04 ^a	1.97±0.03 ^c
	Kontrol		28.72±1.12 ^a	-0.65±0.06 ^b	2.98±0.07 ^a

Keten tohumu yağları üzerine yürütülmüş bir çalışmada iki numune incelenmiş ve ısıt işlem uygulanmamış piyasadan temin edilen iki farklı keten tohumu yağında L* renk değerini 63.7 ve 62.5 olarak tespit etmişler; sonrasında ısıt işlem uygulama süresinin

artmasıyla bir örnekte sürekli ve bir miktar arttığı, diğer örnekte önce arttığı sonra azaldığını tespit etmişlerdir.

a* renk değerinde ise ilk örneklerde (ısıl işlem uygulanmamış örneklerde) 4.6 ve 6.1 olduğu; b* renk değerinin ısıl işlem uygulanmamış örneklerde 94.8 ve 98.0 olduğu sonrasında ısıl işlem uygulama süresinin artışıyla bu değerlerin bir örnekte sürekli azaldığı, diğer örnekte ise önce azalıp sonra arttığı tespit edilmiştir (Choo ve ark., 2007).

4.3. Enzim ve Asit Ön Uygulamalarının Soğuk Pres Üzüm Çekirdeği Yağlarının Serbest Yağ Asitliği Üzerine Etkileri

Bu çalışmada, kontrol numunesi olarak asit veya enzim uygulanmadan preslenen üzüm çekirdeğinden ortalama %0.24 Serbest yağ asitliği (SYA) elde edilmiştir. Asit veya enzim uygulamaları sonrasında SYA daki en yüksek artış (%4) %3.42 enzim uygulanan 24 saat inkübe edilen örnekte görülmüştür. Çalışmamızda asit değerleri kontrol ile aynı değerde çıkmış ve kontrole göre çalışmamızda daha düşük değer tespit edilmemiştir.

Enzim uygulaması sonucundaki en düşük değerler (%1) %0.42, (%2.5) %0.98 ve (%4) %0.97 enzim uygulanan 36 saat inkübe edilen örneklerde görülmüştür. %1 ve %2.5 enzim uygulamalarında süre arttıkça düzenli azalış tespit edilmiştir. Özellikle (%4) %3.42 enzim uygulamasında 24 saat inkübasyon bütün çalışmadaki en yüksek asitlik değeri görülmüştür.

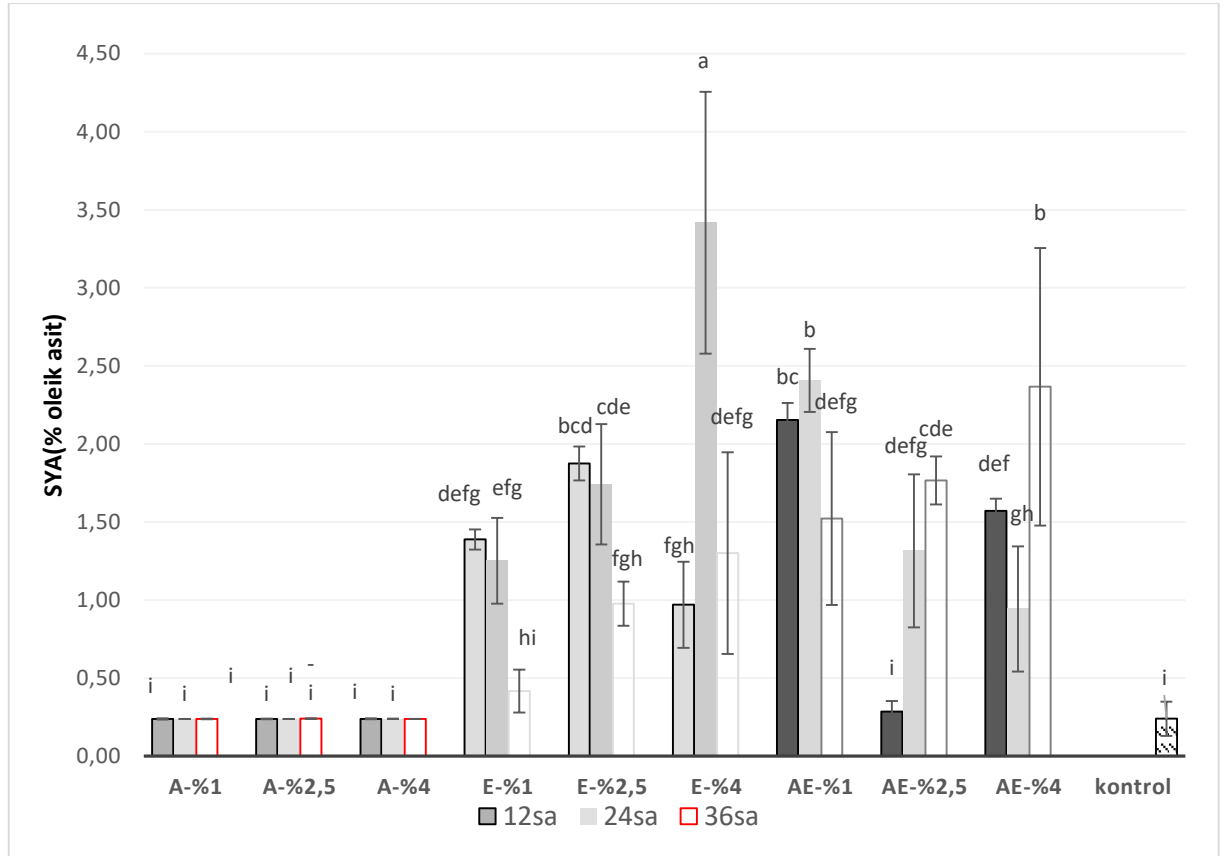
Sadece 12 saat inkübe edilen (%2.5) %0.29 örnek dışında, asit-enzim uygulamasında enzim ilavesinden dolayı bütün numuneler kontrole göre yüksek çıkmıştır. Soto ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada enzim uygulamasının hoda yağındaki serbest yağ asitlerinin kontrole kıyasla %5.56'dan %6.55'e yükselmesine yol açmıştır. İstatistiksel olarak enzim ilavesi SYA artışına sebep olmuştur.

Selüloz, hemiselüloz, pektinaz gibi enzimler kotiledon hücre duvarlarını yıkarken, proteaz ise yağlı membran yüzeylerini bozunmaya uğratmaktadır. Enzimin çalışmada SYA artırma etkisi, hücre duvarının yıkılması ile çekirdekte doğal olarak bulunan lipaz enziminin yağı daha kolay hidrolize etmesine bağlanabilir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı çalışmada tüketilebilir gıda olan yağların verilerinin 2 veya daha üzerinde olması şartı vardır (Dağhan ve Vardin, 2019).

Genel olarak, SYA seviyeleri uygulama süresi arttığında daha yüksek bulunmuştur ve bu artış özellikle enzim ve asit-enzim gruplarında daha yüksek olmuştur. Buradan hareketle enzim uygulanması serbest yağ asitliğinde değer değişimine sebep olmuştur.

Enzim uygulamasının dezavantajı yağdaki SYA artırıp yağın asidik olmasına tadının acılaşmasına sebep olmuştur. Enzim ve asit ön uygulamaları sonrası elde edilen üzüm çekirdeği yağlarında serbest yağ asitliği (% oleik asit) değerleri aşağıdaki görselde verilmiştir.



Şekil 4.2. Enzim ve asit ön uygulamaları sonrası elde edilen üzüm çekirdeği yağlarında serbest yağ asitliği (% oleik asit) değerleri (A:Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Mısır orijinli üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağların serbest asitlik değerinin % 3.45 olduğunu bildirilmiştir (El-Shami ve ark., 1992). Yousefi ve ark., (2013) İran’da yetiştirilen iki üzüm çeşidi yağlarının serbest asitliğini % 0.61 ve % 0.67 olarak Chander, (2010) ise üzüm çekirdeğinde bu değeri % 0.7 olarak tespit etmiştir. Koç, (2016), üzüm çekirdeği yağlarında serbest yağ asitliklerini % 0.67- 2.74 arasında; Taşeri ve ark., (2018) çalışmalarında, Hamburg Misketi üzüm çeşidine ait yağlarda serbest yağ asitliğini kurutma işlemlerine bağlı olarak % 0.64-1.06 aralığında bulmuştur. Çalışmamızda ise serbest yağ asitliği %0.24- %3.42 arasında bulunmuştur. Elde edilen değerler, Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliğine göre, soğuk pres yağlarda asit sayısı için belirlenen 4.0 mg değerinin (%2 oleik asit) (Türk Gıda Kodeksi, 2012) altında kalmaktadır.

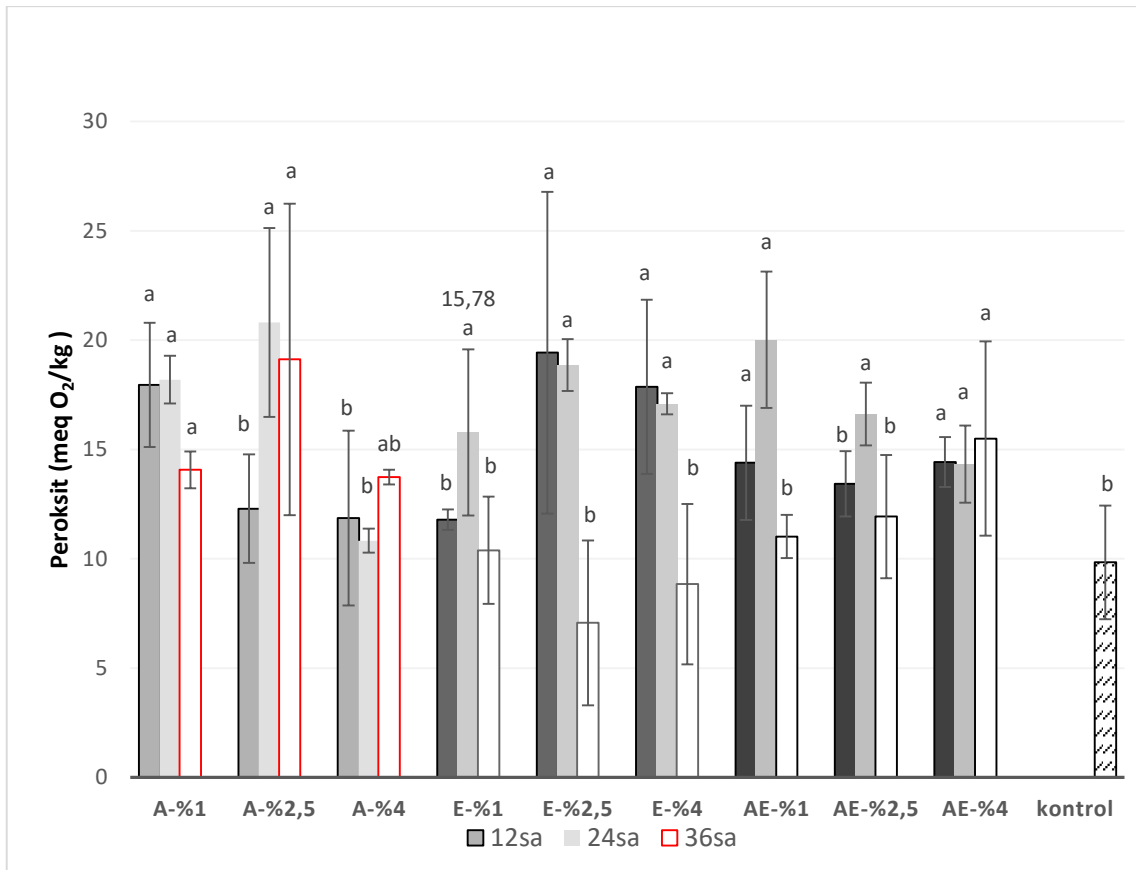
4.4. Asit ve/veya Enzim Uygulamasına Tabi Tutulmuş Çekirdeklerden Elde Edilen Yağların Peroksit Değerleri

Peroksit değeri, bir madde üzerindeki oksijenin varlığını gösteren bir ölçüttür. Bu değer, özellikle kozmetik, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılan ürünlerde, ürünün stabilitesi ve kalitesi açısından önemlidir. Yüksek peroksit değerleri, üründe bozulma, kötü koku, renk değişimi ve hatta ürünün kullanılamaz hale gelmesine neden olabilir.

Kontrol numunesi olarak asit ve/veya enzim uygulanmadan preslenen üzüm çekirdeklerinden ortalama 9.84 meqO₂/kg peroksit değeri elde edilmiştir. Asit veya enzim uygulamalarından sonra peroksit değerindeki en yüksek artış (%2.5) 20.81 meqO₂/kg asit ve (%1) 20.02 meqO₂/kg asit-enzim uygulamalarında görülmüştür. En düşük tespit edilen değerler ise 36 saat inkübe edilen (%2.5) 7.07 meqO₂/kg ve (%4) 8.84 meqO₂/kg enzim uygulanan örneklerdir.

Bütün numunelerin peroksit değerleri %2.5 ve %4 enzim uygulamaları hariç hepsi kontrol numunesinden daha yüksek çıkmıştır. Asit uygulamasında peroksit miktarı enzim uygulamasına göre daha yüksek çıkmıştır. Bunun nedeni asit uygulanan örneklerin çıkarılıp enzim örneklerinin sıcaklığının arttırılıp 2 saat fazladan etüvde bekletilerek nem kaybına daha çok maruz kalması olabilir. Patil ve Sing, (2017), tohumlardaki nem içeriğinin yağın yüksek peroksit değerlerinden sorumlu olduğunu ve yüksek nem içeriğinin yağın oksidasyonunu kolaylaştırdığını ve bunun da acılaşmaya neden olduğunu bildirmiştir. Enzim uygulamasında 36 saat inkübasyonda peroksit değerleri kontrol numunesinden daha düşük çıkmıştır. Asit-enzim ilavesinde ise ilk 24 saatte artış gözlenirken sonrasında 36 saat inkübasyonda değerler düşmüştür. %4 asit-enzim de ise 36 saat inkübasyonda değerler önce artıp sonra düşmüştür. Buradan hareketle genel olarak 24 saat inkübasyondan daha fazla numunelerin inkübe edilmesi peroksit değerinde düşüşe yol açacağı gözlenmiştir.

Candan (2019), 120°C’de kavrulmuş ve enzim uygulaması yapılan üzüm çekirdeği yağında peroksit değerinin arttığını, 20.49-23.05 meq O₂/kg yağ aralığında değiştiğini bildirmiştir. Enzim muamelesinin kontrol örnekleri ile karşılaştırması yapıldığında da peroksit değerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Peroksit değerlerine ait veriler aşağıdaki görselde verilmiştir.



Şekil 4.3. Peroksit değerlerine ait veriler (A:Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Türk Gıda Kodeksi, (2012) bitki adı ile anılan yağlar tebliğine göre, peroksit sayısının sınır değeri soğuk pres yağlarda en çok 15 meq aktif O₂/kg yağ olarak verilmiştir. Bu çalışmada en düşük ve en yüksek peroksit değerleri sırasıyla 7.07 ve 20.81 meqO₂/kg olarak bulunmuştur. Yağlarda peroksit sayılarında belirlenen farklılığın hammaddenin çeşidinden, hasat zamanından, olgunluk derecesinden, işleme koşullarından, depolama şartlarından etkilendiği bilinmektedir.

Üzüm çekirdeği yağında peroksit değerini El-Shami ve ark., (1992) 8.5 ve Chander, (2010) 13.5 meq O₂/kg yağ olarak bildirmişlerdir. Yousefi, (2013), farklı İran çeşitlerinden elde edilen üzüm çekirdeği yağlarında peroksit değerlerini 9.30 ve 10.63 meq O₂/kg yağ olarak bildirmişlerdir.

Köseoğlu, (2019), sızma zeytinyağlarında filtrasyonun 12 aylık depolama süresi boyunca peroksit değerini 10.37– 5.40 meq O₂ kg⁻¹ yağ aralığında bulmuşlardır. Sızma zeytinyağı bulguları soğuk pres haşhaş yağına ait peroksit değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Geçgel ve ark. (2015) farklı meyve çekirdek ve tohumlarında (nar çekirdeği, üzüm çekirdeği, hurma çekirdeği, aspir tohumu, keten tohumu ve altın çilek) soğuk pres

yöntemiyle elde ettikleri yağlarda peroksit değerini (meqO_2/kg) 0.3 (hurma çekirdeği)-7.5 (üzüm çekirdeği) aralığında bildirmişlerdir.

4.5. Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Bulgular

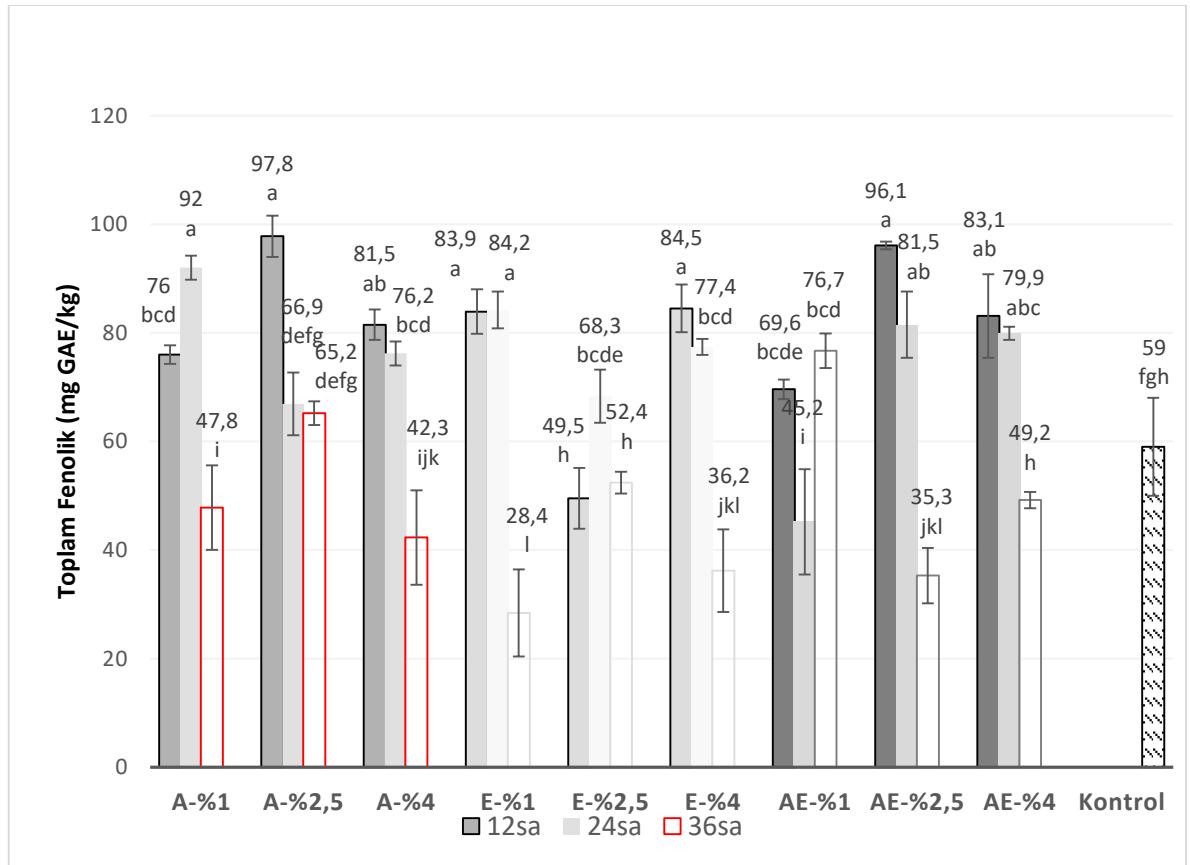
Asit ya da enzim uygulanmayan kontrol numunesine toplam fenolik madde içeriği 59 mg GAE/kg olarak tespit edilmiştir. Asit, enzim ve asit-enzim uygulamaları sonrasında en yüksek fenolik bileşen içeriği 12 saat inkübe edilen (%2.5) 97.8 mg GAE/kg asit ve (%2.5) 96.1 mg GAE/kg asit-enzim uygulanan değerlerde görülmüştür. Bu uygulamalarda kontrole kıyasla sırasıyla %65 ve 62 artış olmuştur. 36 saat inkübe edilen (%1) 28.4 mg GAE/kg enzim ve (%2.5) 35.3 mg GAE/kg asit-enzim uygulamalarında fenolik değerlerinde %51 ve 40 azalma görülmüştür. Fenolik bileşiklerin yağdaki çözünürlükleri az olduğu için yağa az miktarda geçiş olmaktadır. Yağlardaki toplam fenolik bileşiklerin daha düşük değerleri, bazı fenolik asitlerin tohumlara bağlanmasıyla birlikte düşük molekül ağırlıklı fenollerin yağlardaki düşük çözünürlüğü ile açıklanabilir (Shinagawa ve ark., 2018).

(%2.5) 65.2 mg GAE/kg asit ve (%1) 76.7 mg GAE/kg asit-enzim uygulamaları haricindeki diğer 36 saat inkübe edilen bütün örneklerde toplam fenolik bileşen miktarı kontrolden dahi düşük çıkmıştır. 60°C deki inkübasyon süresinin uzaması fenolik bileşiklerin oksidasyon ve parçalanma reaksiyonlarına maruz kalmasına sebebiyet verebilmektedir. Enzim ile yapılan ön işlem neticesinde fenolik bileşenlerdeki artışın daha az olduğu görülmüştür. Bu durumun asitin fenolik glikozitleri parçalayıcı etkisinden kaynaklandığı söylenebilir.

Dolayısıyla asit uygulaması toplam fenolik içeriğinde en yüksek artışla sonuçlanan uygulama olmuştur. Fenolik bileşiklerin yüksek miktarlarda bulunması yağların daha yüksek antioksidan aktivite göstermesini sağlar (Dominguez ve ark., 1993).

Ayrıca, fermentasyon öncesi ve distilasyon sonrası süreçlerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Tokoferollerin aksine, bunlar fenolik madde içeriğinin artmasına katkıda bulunan bileşiklerdir. Yani, test edilen soğuk preslenmiş yağ örneklerinde distilasyon işleminden sonra üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik bileşiklerin içeriğinde artış görülmüştür. Fermentasyon sürecinden sonra, damıtma işleminden önce tohumlar alkolün etkisi ile gözenekli hale gelmiştir. Böylece çeşitli bileşenlerin ayrılması daha kolay gerçekleşmiştir. Hatta yağlarda daha az çözünür olanların bile sayısı artmıştır, böylece preslenmiş yağdaki bileşen içerikleri

zenginleşmiştir. Fermantasyon ve distilasyondan sonra yağdaki fenolik içeriği bu süreçler sırasında yapılan işlemlerden sonra dış gözenekliliğindeki artışa bağlı olarak yükselir. Bu sayede tohumdaki konsantrasyon kolaylaşmaktadır. Yağda daha az çözünen maddeler fermantasyon sürecinden etkilenir, çünkü alkol kütikülü çözer ve mikro bileşenler daha kolay ayırt edilir (Bjelica ve ark., 2019). Baydar ve ark. (2007), dört üzüm çeşidine ait çekirdek yağlarında toplam fenolik madde içeriğini 100.64-238.47 mg/kg arasında rapor etmişlerdir. Seçen, (2017), Emir ve Dimrit üzüm çeşitlerine ait çekirdek yağlarında toplam fenolik madde içeriklerini (mg GAE/kg) sırasıyla, 70 ve 84 olarak bildirmiştir. Toplam fenolik madde miktarına ait veriler aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.4.Toplam fenolik madde miktarına ait veriler (A: Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Bail ve ark., (2008), çeşitli ön işlemlere tabi tutulmuş farklı üzüm çeşitlerinden soğuk pres yöntemiyle elde ettikleri yağların fenolik madde içeriklerini 59-115.5 µg/g aralığında belirlemişlerdir.

Lutterodt ve ark., (2011), soğuk pres yöntemiyle elde ettikleri Chardonnay, Misket, Yakut Kırmızısı ve Concord üzüm çeşitlerine ait yağların fenolik madde içeriklerini sırasıyla 0.16 mg GAE/g (Yakut Kırmızısı), 0.23 mg GAE/g (Chardonnay), 0.44 mg GAE/g

(Misket) 0.80 mg GAE/g (Concord) aralığında tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda elde edilen değerlerin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Konuk ve Korel, (2015) üzüm çekirdeklerine farklı sıcaklıklarda (40°C, 50°C ve 60°C) kurutma işlemi uygulamış ve fenolik madde içeriklerinin 12028- 2708 mg/100g GAE aralığında olduğunu ve sıcaklık artışıyla azaldığını bildirmişlerdir.

Koç, (2016), incelediği farklı üzüm çeşitlerinin çekirdeklerinde fenolik madde içeriklerini 4397.93 ile 5804.29 mg GAE/kg aralığında bildirmiştir.

Hasat zamanının farklı üzüm çeşitlerine ait özelliklere ne şekilde etki edeceğinin araştırıldığı çalışmada, çekirdeklere ait toplam fenolik madde içeriği 456.56-477.50 mg GAE/100 g aralığında tespit edilmiştir (Özcan ve ark., 2017b).

Rombaut ve ark., (2015), üzüm çekirdeğinden soğuk pres yöntemiyle elde ettikleri yağın, verimi ve toplam polifenol içeriğinin değişken proses parametrelerinden ne şekilde etkilendiğini inceledikleri çalışmada, fenolik madde içeriğinin farklı proses etkileri neticesinde 48-153 mg GAE/kg aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Hammaddelerdeki fenolik madde içeriklerinin tohumun çeşidine, bileşimine, bileşenlerinin miktarı ve birbirleriyle olan etkileşimlerine, olgunluk derecesine, yetiştiği iklim ve coğrafyaya, yağın elde edilme yöntemlerine göre değiştiği bilinmektedir (Meral, 2016).

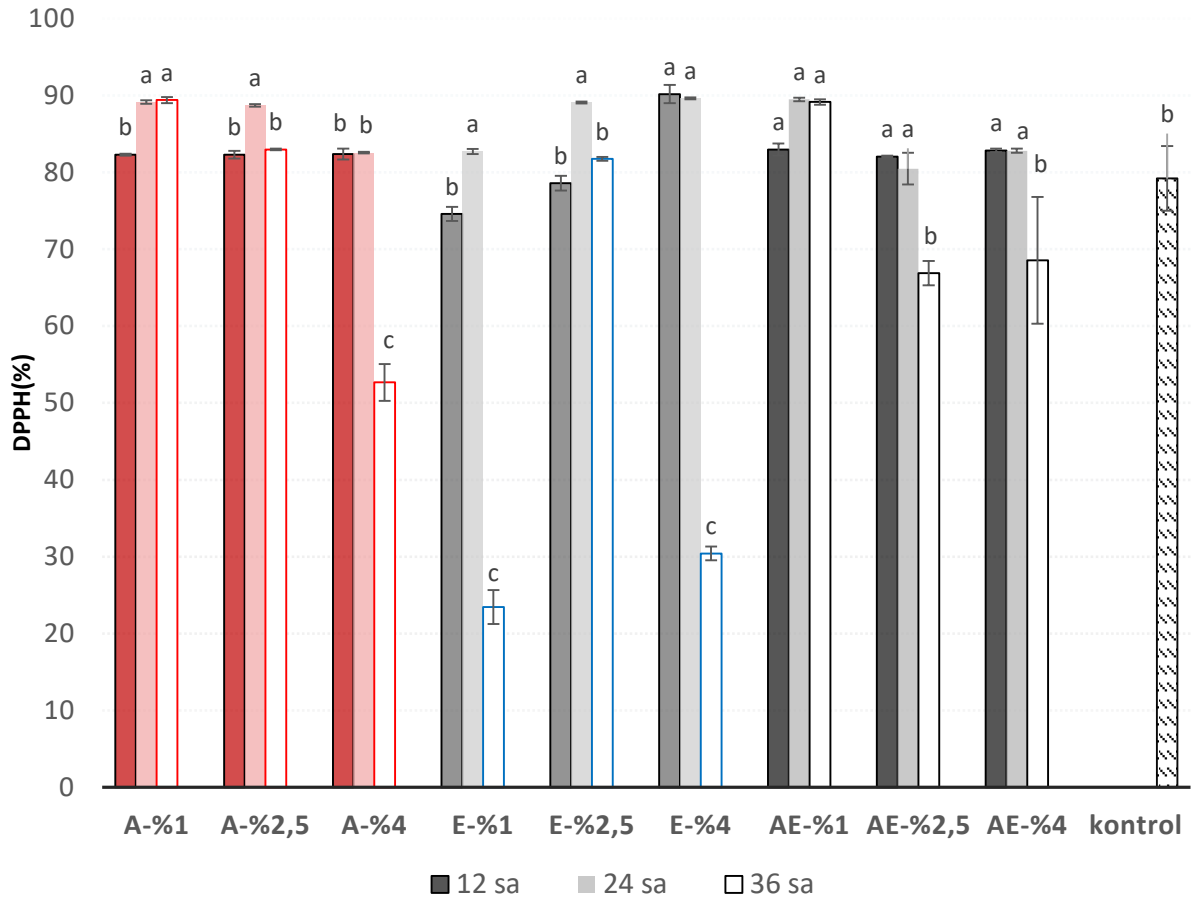
Ribéreau-Gayon, (2000), fenolik bileşiklerin yapısı ve miktarının, hammaddenin gelişimi sırasında çeşitli iklim faktörlerine gösterdiği tepkilere göre değişeceğini belirterek bu farklılıklara açıklık getirmeye çalışmıştır.

4.6. Üzüm çekirdeği yağlarında belirlenen DPPH radikal tutucu aktivite değerleri

Asit ve/veya enzim uygulanmadan preslenen üzüm çekirdeklerinde kontrol numunesi olarak ortalama %79.2 değer elde edilmiştir. Asit ve enzim uygulamaları sonrasında en yüksek artış 12 saat inkübe edilen (%4) %90.18 enzim uygulanmasında görülmüştür. DPPH radikal tutucu etki en düşük değeri ise 36 saat inkübe edilen (%1) %23.44 ve (%4) %30.41 enzim uygulanan örneklerde görülmüştür. Genel olarak enzim uygulaması DPPH miktarına daha az etki etmiştir.

Özellikle 36 saat inkübasyon ve enzim ilavelerinde azalış gözlenmiştir. Çalışmamız istatistiksel olarak kontrol ile kıyaslandığında enzim ve asit uygulamaları sonucunda elde edilen yağların antioksidan seviyesinin yüksek olduğu görülmektedir. Özellikle de asit ilavesi bu etkiyi arttırmıştır.

Candan ve Arslan, (2021) yaptıkları çalışmada enzim uygulanan üzüm çekirdeği yağında antioksidan aktivite açısından bakıldığında önemli bir etki göstermemiştir. Aslında, enzim uygulamasının toplam fraksiyondan elde edilen antioksidan aktivite üzerindeki etkisi tüm yağlı tohum örnekleri için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bağlamda, enzim uygulamasının etkisinin yağlı tohuma göre değiştiğini söyleyebiliriz. Yani, hidrofilik ve lipofilik kaynaklı antioksidan aktivite keten tohumu yağında azalmıştır. Aksine, bu fraksiyonlardan elde edilen antioksidan aktiviteler kayısı çekirdeği yağı durumunda %100'e kadar artmıştır. Bu nedenle, enzimlerin kayısı çekirdeği dokularına daha etkili bir şekilde nüfuz edebildiğini düşünüyoruz. Burada yağın doğrudan numune olarak kullanıldığı durumlarda yapılan DPPH-RSA analizinin antioksidan kapasiteyi yeterince yansıtmadığını görüyoruz. Çünkü doğrudan yağda gerçekleştirdiğimiz DPPH-RSA analiz sonuçlarına göre enzim uygulaması hafif bir artışa neden olmuş ancak bu artış seviyesi istatistiksel olarak bile anlamlı bulunmamıştır. Konuk ve Korel, (2015), üzüm çekirdeklerine farklı sıcaklıklarda (40, 50 ve 60°C) kurutma işlemi uygulamış ve bu sıcaklıkların yağların antioksidan aktivite değerleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Buna göre taze üzümde 400 µmol TEAA/L olarak belirlenen antioksidan aktivitenin, kurutma sıcaklığı arttıkça azaldığı fakat bunun önemli miktarda olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan araştırma sonuçları, tez çalışmamızla uyumludur. DPPH radikal tutucu aktiviteye ait değerler şekil 4.5. verilmiştir.



Şekil 4.5. DPPH radikal tutucu aktiviteye ait değerler (A:Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Gülcü ve ark., (2018); Özcan ve ark., (2017), araştırmalarında üzüm meyvesi farklı kısımlarını ayrı ayrı incelemişler ve antioksidan aktivite olarak en güçlü kısmın çekirdek olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, (Payan, 2007) tarafından yürütülen bir çalışmada, üzüm çekirdeklerinden ekstre elde edilmiş, üzüm meyve kısmından elde edilen ekstreye kıyasla onbeş kat daha fazla antioksidan etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Özcan ve ark., (2017), Razaki, Cardinal ve Müşküle üzüm çeşitlerine ait çekirdek ve posa kısımlarında hasat zamanının antioksidan aktivite üzerine etkisini araştırmışlardır. Hasat zamanının bir hafta öncesinde Razaki ve Müşküle üzüm çeşitlerine ait çekirdeklerde antioksidan aktivite yüksek, hasatın iki hafta öncesi dönemde ise Cardinal üzüm çeşidi çekirdeklerinde en yüksek aktivite bildirilmiştir.

Soğuk presle elde edilen Yakut Kırmızıısı, Chardonnay, Misket ve Concord üzüm çeşitlerinin yağlarında antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 0.07, 1.11, 0.66, 2.22 mmol TE/g olarak belirlenmiştir (Lutterodt ve ark., 2011).

Koç, (2016), Syrah, Merlot, Cabernet Franc, Öküzgözü ve Pinot Noir üzüm çeşitlerinde yağların antioksidan aktiviteleri sırasıyla 0.152, 0.255, 0.278, 0,289 ve 0.302 μmol troloks/g yağ olarak açıklanmıştır. Tez çalışmamızdan elde edilen başlangıç verilerinin Koç, (2016)'un verilerinden yüksektir, ancak çalışmasıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Literatür araştırmalarında, çekirdekte bulunan antioksidan aktivitenin, fenolik bileşiklerin varlığıyla orantılı olduğunu ortaya göstermiştir.

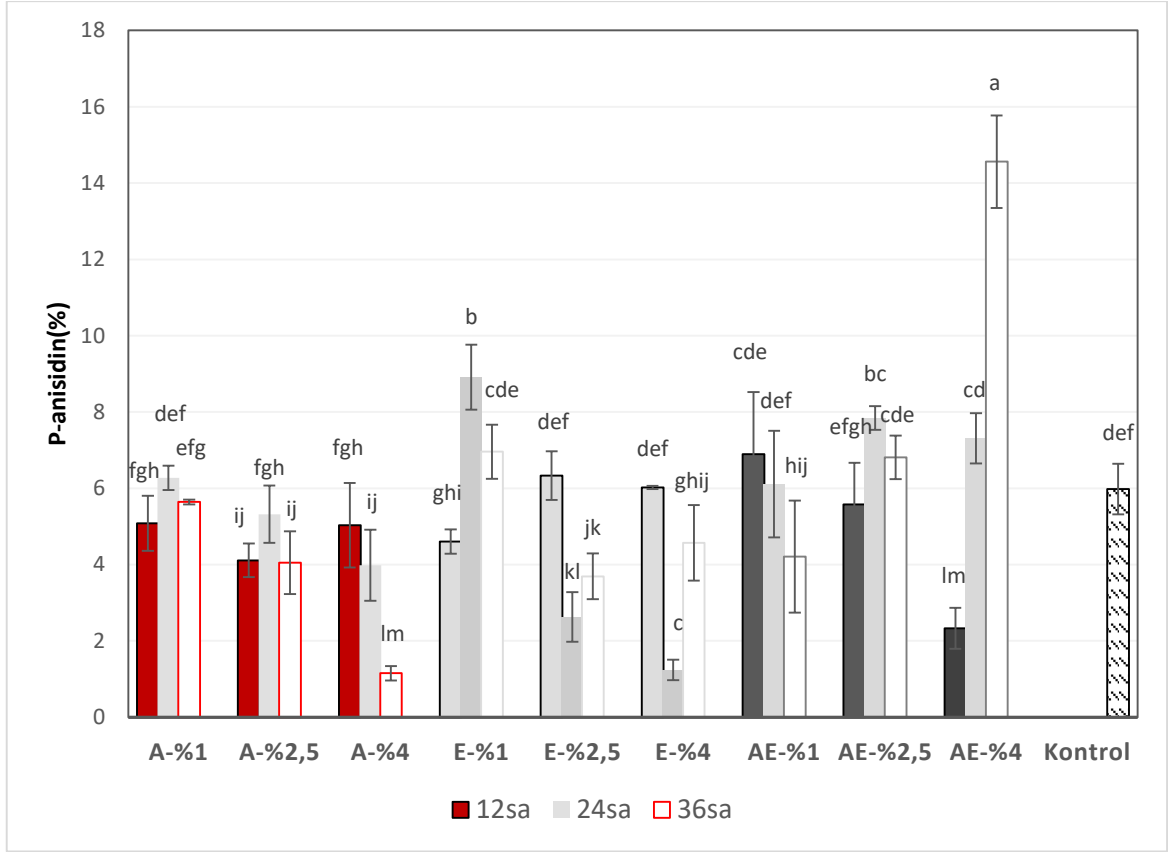
Fenoliklerin, üzümün yetiştirildiği iklim, coğrafi bölge, hasat zamanı, çeşidi gibi etkenlerle değişen büyüklüğü ve olgunluğu gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir (Montealegre ve ark., 2006).

4.7. Asit ve/veya Enzim Uygulamasına Tabi Tutulmuş Çekirdeklerden Elde Edilen Yağların *P*-anisidin Değerleri

P-anisidin, yağların oksidasyon ürünlerini belirlemek için kullanılan bir gösterge maddedir. Bu çalışmamızda kontrol numunesi olarak asit ve/veya enzim uygulanmadan preslenen üzüm çekirdeklerinden ortalama %5.98 değer elde edilmiştir. Asit ve enzim uygulamaları sonrasında, en yüksek artış, 36 saat inkübe edilen (%4) %14.56 asit-enzim uygulamasında elde edilmiştir. En düşük belirlenen değer ise 36 saat inkübe edilen (%4) %1.15 asit örneğidir. Enzim etkisi asit ilavesine göre daha fazla *p*-anisidin değerini arttırmıştır.

Bir diğer dikkat çeken nokta, AE-%4 yağ örneğinin diğer örneklerden çok daha yüksek bir *p*-anisidin değerine sahip olmasıdır. Bu, yağ örneğinin oksidasyon seviyesinin diğer örneklerden daha yüksek olduğunu gösterir. Bu veriler, yağ örneklerinin kalitesini ve tazeliğini belirlemek için kullanılabilir.

Konopka ve ark. (2016) Ayrıca hamur neminin preslenmiş yağın oksidatif stabilitesi üzerinde etkisi olabilmektedir. Üzüm çekirdekleri şarap veya pekmez üretiminden atık olarak elde edilir ve üzüm çekirdekleri işleme sırasında doğal olarak su ile temas halindedir. Bundan dolayı keten tohumu ve üzüm çekirdeğine enzim uygulanması ile *p*-anisidin değerleri önemsiz bir şekilde azalırken, kayısı çekirdeği durumunda azalma önemli olmuştur. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarında belirlenen *p*-anisidin değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.



Şekil 4.6. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarında belirlenen *p*-anisidin değerleri (A: Asit E:Enzim AE: Asit-enzim)

Ayrıca enzim uygulamasının kontrol örnekleri ile karşılaştırması yapıldığında da *p*-anisidin değerini artırdığı tespit edilmiştir. Sıcaklık uygulaması kontrol işleminde düşürmüş, enzim uygulamasında arttırmıştır.

Durmaz ve ark. (2010) çalışmasında 110°C sıcaklıkta farklı sürelerde kayısı çekirdeğini kavurarak *p*-anisidin değerlerini incelemiştir. Kavurma işleminin *p*-anisidin değerini düşürdüğünü tespit ederken, kavurulmuş örneklerde *p*-anisidin değeri uygulanan kavurma süresine göre düşükten yükseğe şu şekilde sıralanmıştır: 15, 20, 0, 10, 30 ve 5 dakika.

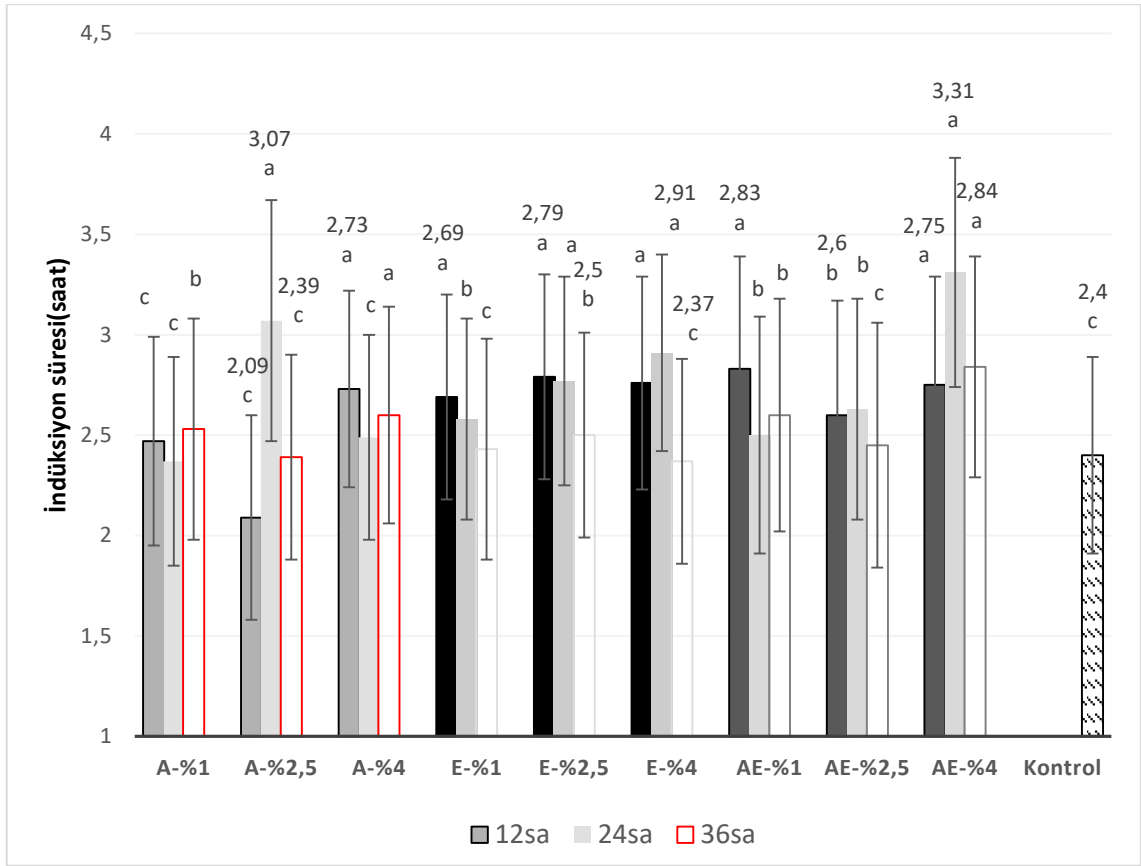
4.8. Asit ve Enzim Muamele Edilmiş Üzüm Çekirdeklerinden Elde Edilen Yağlarının İndüksiyon Süreleri Değerleri

Ransimat cihazında belirlenmiş olan indüksiyon süresi kontrol numunesinde 120 °C de 2.4 saat olarak tespit edilmiştir. Maszewska ve ark. (2018), üzüm çekirdeği yağında bir aylık depolama boyunca indüksiyon süresini ortalama 2.4 saat olarak tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada ransimat değerleri 2.09-3.31 saat arasında bulunmuştur. Ön muamele işlemlerinin sonucunda OSI (oksidatif stabilite indexi) değerlerinden de

anlaşılacağı üzere enzim ilavesi asit ilavesine göre daha yüksek sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Bu artışlar kontrol numunesine göre daha yüksek indüksiyon süresi sağlamıştır.

Vaidya ve ark. (2013), ceviz ve üzüm çekirdeği yağının oksidasyon kinetiği üzerine sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Her iki yağ çeşidi 60, 30, 12 ve 6 gün boyunca 25, 40, 60 ve 80°C’de saklanmıştır. Ceviz yağının indüksiyon periyodu (IP) 25, 40 ve 60°C’lerde sırasıyla 23.0, 9.2 ve 1.0 gün ve üzüm çekirdeği yağının indüksiyon periyodu 25, 40 ve 60°C’lerde sırasıyla 41.5, 12.0 ve 1.8 gün olarak belirlenmiştir. İndüksiyon periyodu, her iki yağda depolama sıcaklığının artmasıyla kademeli olarak azalmıştır. Ceviz yağının IP değerlerinin üzüm çekirdeği yağından daha kısa olması, ceviz yağının oksidasyona karşı daha duyarlı olduğunu gösterir.

Çalışmamızda asit-enzim uygulamalarında %4 seviyesinde yapılan işlemlerin yüksek indüksiyon süresi sağladığı görülmüştür. İlaveten %1, 2.5 ve 4 oranlarında enzimin 12 ve 24 saat inkübasyonla uygulandığı örneklerde de süre yüksektir. Oksidasyona yönelik yürütülen analizler dikkate alındığında, enzim uygulamasının üst sınırlarının (%4 oran ve 36 saat inkübasyon süresi) olumsuz etkileri olduğu görülmüştür. Enzim uygulamasında Fenolik bileşen içeriği ile indüksiyon süresi arasında belirgin bir bağlantı görülememiştir. Bunun nedeni olarak fenolik bileşikler dışında oksidasyona etkisi olan tokoferoller gibi bileşiklerin rol oynadığı düşünülmektedir. Ön işlemler sonrasında kontrole kıyasla çok az da olsa indüksiyon süresinde azalma görülmüş ancak bu azalma istatistiki açıdan önemli bir azalma olmamıştır. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarının indüksiyon süreleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.



Şekil. 4.7. Asit ve enzim muamele edilmiş üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağlarının indüksiyon süreleri değerleri (A:Asit E:Enzim AE:Asit-enzim)

Pawar ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada süt yağı üzerinde 3, 6, 9 gr numune ağırlığı, hava akış hızı (10, 15, 20 L/sa) ve sıcaklığın (110, 120, 130°C) ransimat cihazında oksidatif stabilite indeks üzerine etkisi ve Q 10 sıcaklık katsayısı ve raf ömrüne etkisi değerlendirilmiştir. İndüksiyon periyodu üzerine örnek miktarı ve hava akış hızının çok etkisi olmadığı fakat raf ömrü hesaplandığında oldukça büyük etki gösterdiği bildirilmiştir. Sıcaklık arttırıldığında ise oksidatif stabilite indeksinin orantılı bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir.

Yapay antioksidanlara alternatif doğal antioksidan kaynağı biberiye ekstraktının yağların oksidasyonunda etkisi Ransimat ve Schaal etüv testleri (62 °C’de 24 gün) kullanılarak değerlendirilmiştir. Biberiye özü ilave edilen yağların oksidatif stabilitesi antioksidan ilave edilmemiş ya da yapay antioksidan ilave edilmiş yağlardan daha yüksek çıkmıştır. Biberiye ekstraktı 400 mg/kg olacak şekilde yağlara ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika karıştırılmıştır. Yapay antioksidan olarak %50 BHA ve %50 BHT karışımı yasal sınır olan 200mg/kg oranında yağlara ilave edilmiştir. Çalışmada, biberiye ekstraktının yağlarda doğal antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Yang ve ark., 2016).

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Preslemeden önce üzüm çekirdeklerine %1 ve 4 oranında asit ve %1 oranında enzimin 36 saat süreyle uygulanması en yüksek verim artışını sağlamıştır. Asit ve enzimin birlikte kullanımı verimi tek başlarına kullanımları kadar yüksek seviyelerde verim artışı sağlamamıştır. Enzimin % 4 oranında kullanımı verimi kontrole kıyasla düşürmüştür.

Asit uygulaması, serbest asitlik açısından enzim ve asit +enzim uygulamalarına göre düşük değerlerle sonuçlanmıştır. %1 oranında asit ve tüm oranlarda enzim muameleleri daha yüksek peroksit değerlerine sebep olmuştur. Ancak, enzim ilavesi 12 ve 24 saatlik muamelelerde yüksek indüksiyon süreleri ile sonuçlanmıştır.

Asit muamelesi üzüm çekirdeği yağlarının, kontrole göre daha koyu olmasına sebep olmuştur.

Asit, enzim ve asit+enzim ön işlemlerinin tüm seviyelerinde 12 ve 24 saat süreli inkübasyonlarda daha yüksek toplam fenolik bileşen içeriği ve DPPH radikal tutucu aktivite elde edilmiştir. Asit uygulamasının, enzim ve asit+enzime kıyasla toplam fenolik madde içeriği bakımından daha yüksek değerler sağladığı söylenebilir. Hücre duvarını parçalayarak yağ geçişinin kolay olmasını sağlayan ticari enzimin etkisi ile toplam fenolik madde içeriğinde asit uygulamasına göre çok yüksek olmasa da daha düşük soğuk pres yağlar üretilmiştir. Enzimin % 4 seviyesinde ve 36 saat süreyle yapılan inkübasyonda analiz edilen parametrelerin çoğunda olumsuz neticeler vermesi nedeniyle, daha minimal koşulların tercih edilmesi gerekmektedir.

Asit ve enzim uygulamaları ile yağda verim, DPPH radikal giderme aktivitesi ve oksidatif stabilite yükselmiştir; toplam fenolik bileşen içeriğinde ise asit uygulaması daha etkili olmuştur.

KAYNAKÇA

- Anonymous, 2017. Oxidation stability of oils and fats – Rancimat method Metrohm. Application Bulletin 204/2 https://www.metrohm.com/en-in/products/stability-measurement/rancimat/https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cach e:w0tun4sabQJ:https://partners.metrohm.com/GetDocument%3Faction%3Dget _dms_document%26docid%3D1184905+&cd=1&hl=tr&ct=clnk&gl=tr (erişim tarihi: 02.08.2017).
- Asil, H., (2020). Soğuk sıkım (pres) yöntemiyle elde edilen yağlar ve fitoterapik özellikleri, güncel fitoterapi ve geleneksel tıbbi bitkiler. Nobel Tıp Kitabevleri, 86-96.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ve Omar, A. K. M., (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Barbieri, L., Andreola, F., Lancellotti, I., Taurino, R., (2013). Management of agricultural biomass wastes: Preliminary study on characterization and valorisation in clay matrix bricks, *Waste Management*, 33(11), 2307-2315.
- Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H., Buchbauer, G., (2008). Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108(3), 1122-1132.
- Baydar, N. G., Akkurt, M., (2001). Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 25(3), 163-168.
- Baydar, N., G., Özkan, G., Çetin, E., S., (2007). Characterization of grape seed and pomace oil extracts. *Grasas y Aceites*, 58(1), 29-33.
- Bjelica, M., Vujasinović, V., Rabrenović, B., ve Dimić, S., (2019). Some chemical characteristics and oxidative stability of cold pressed grape seed oils obtained from different winery waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(8), 1800416.
- Bilici Başkan, M., Pala, A., (2008). Şaraplık bağların sürdürülebilirliği, şarap yapımı ve satışı üzerine çevrenin etkisi. *Ulusal Bağcılık-Şarap Sempozyumu ve Sergisi*, 463-471.
- Bisht, T. S., Sharma, S. K., Sati, R. C., Rao, V. K., Yadav, V. K., Dixit, A. K. ve Chopra, C. S., (2015). Improvement of efficiency of oil extraction from wild apricot

- kernels by using enzymes. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1543-1551.
- Bockish, M., (1998). Oil purification. In *Fat and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, 613-718.
- Burg, P., Mařán, V., ve Rutkowski, K., (2017). Evaluation of the pressing process during oil extraction from grape seeds. *Potravinarstvo*.
- Campbell, K.A., Vaca-Medina, G., Glatz, C.E., Pontalier, P.Y., (2016). Parameters affecting enzyme-assisted aqueous extraction of extruded sunflower meal, *Food Chemistry*, 208, 245-251.
- Candan, A., (2019). *Farklı ön işlem ve ekstraksiyon yöntemleri ile kayısı çekirdeği, keten tohumu ve üzüm çekirdeği yağı eldesi ve özelliklerinin incelenmesi* (Doctoral dissertation, Necmettin Erbakan University (Turkey)).
- Candan, A. ve Arslan, D., (2021). Enzymatic pre-treatment in cold pressing: Influence on flaxseed, apricot kernel and grape seed oils. *Grasas y Aceites*, 72(4), e432-e432..
- Capuano, F., Beaudoin, F., Napier, J. A. ve Shewry, P. R., (2007). Properties and exploitation of oleosins. *Biotechnology Advances*, 25(2), 203-206.
- Chander, A. K., (2010). *Characterisation and oxidative stability of speciality plant seed oils* (Doctoral dissertation, Aston University).
- Chandra, S., Kumar, M., Dwivedi, P., Shinde, L. P., (2020). Functional and nutritional health benefit of cold-pressed oils: a review. *Journal Agriculture Ecology*, 9, 21-29.
- Choo, W.S., Birch, E. J., Dufour, J.P., (2007). Physicochemical and stability characteristics of flaxseed oils during pan-heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(8), 735-740.
- Dağhan, ř. ve Vardin, H., (2019). şanlıurfa biber tohumu yağının yağ asitleri kompozisyonu ve mineral içeriğinin belirlenmesi. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 4(3), 49-57.
- Da Porto, C., Decorti, D. ve Natolino, A., (2013). Effect of commercial enzymatic preparation with pectolytic activities on conventional extraction and ultrasound-assisted extraction of oil from grape seed (*Vitis vinifera* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 48(10), 2127-2132.
- Demirtas, I., Pelvan, E., Özdemir, İ. S., Alasalvar, C. ve Ertas, E., (2013). Lipid characteristics and phenolics of native grape seed oils grown in Turkey. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(6), 641-647.

- Doğan, C., Çelik, Ş. ve Doğan, N., (2017). Siirt bölgesi melengiçlerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, 293–298.
- Dominguez, H., Nunez, M. J. ve Lema, J. M., (1993). Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: range of operational variables. *Food Chemistry*, 46(3), 277-284.
- Dominguez, H., Sineiro, J., Nunez, M. J. ve Lema, J. M., (1995). Enzymatic treatment of sunflower kernels before oil extraction. *Food Research International*, 28(6), 537–545.
- Duran, D. Ö. ve Benderli, Ş. A., (2020). Comparison physicochemical properties of hexane extracted aniseed oil from cold press extraction residue and cold press aniseed oil. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 14(9), 113-116.
- Durmaz, G., Karabulut, İ., Topçu, A., Asiltürk, M., Kutlu, T., (2010). Roasting-related changes in oxidative stability and antioxidant capacity of apricot kernel oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 87(4), 401-409.
- El-Shami, S. M., El-Mallah, M. H. ve Mohamed, S. S., (1992). Studies on the lipid constituents of grape seeds recovered from pomace resulting from white grape processing. *Grasas y Aceites*, 43(3), 157-160.
- Fiori, L., (2007). Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modeling, *Journal Supercritical Fluid*, 43, 43-54.
- Geçgel, U., Yılmaz, M., Apaydın, M., Erol, H., (2017). Soğuk Pres Tekniği ile Elde Edilen Ceviz Yağının Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, *BAHÇE 46* (Özel Sayı 2: III. Ulusal Ceviz Sempozyumu), 273–279
- Ghisalberti, C., (2001). PCT international application WO Patent WO/2001/085,104.
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F. ve Femenia, A., (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: Grape pomaces and stems. *LWT-Food Science and Technology*, 43(10), 1580-1586.
- Gülcü, M., Uslu, N., Özcan, M. M., Gökmen, F., Özcan, M. M., Banjanin, T. ve Lemiasheuski, V., (2019). The investigation of bioactive compounds of wine, grape juice and boiled grape juice wastes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(1), e13850.

- Gürpınar, G.Ç., Geçgel, Ü., Taşan, M., (2011). Soğuk presyon tekniği ile üretilen bitkisel yağların özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara.
- Hammerstone, J. F., Lazarus, S. A. ve Schmitz, H. H., (2000). Procyanidin content and variation in some commonly foods. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2086-92.
- Hanganu, A., Todaşcă, M. C., Chira, N. A., Maganu, M. ve Roşca, S., (2012). The compositional characterisation of Romanian grape seed oils using spectroscopic methods. *Food Chemistry*, 134(4), 2453-2458.
- İbrahim, F.M., Attia H.N., Maklad Y.A.A., Ahmed, K.A., Ramadan, M.F., (2017). Deney hayvanlarında soğuk preslenmiş bazı yağların biyokimyasal karakterizasyonu, antienflamatuvar ve ülserojenik özellikleri. *Farmasötik Biyoloji*, 55(1), 740-748.
- Kaseke, T., Opara, U.L., Fawole, O.A., (2020). Effect of blanching pomegranate seed on physicochemical attributes, bioactive compounds, and antioxidant activity of extracted oil. *Molecules*, 25, 2554.
- Konopka, I., Roszkowska, B., Czaplicki, S. ve Tańska, M., (2016). Optimization of pumpkin oil recovery by using aqueous enzymatic extraction and comparison of the quality of the obtained oil with the quality of cold-pressed oil. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4), 413-420.
- Koç, M., (2016). Soğuk pres tekniği ile elde edilen farklı üzüm çeşitlerine ait çekirdek yağlarının fizikokimyasal özellikleri ve oksidatif stabilitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tekirdağ.
- Konuk, D., Korel, F., (2015). Influence of drying temperature on total phenolic content and antioxidant capacity of grape seeds. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(9), 404-407.
- Konuskan, D.B., Arslan, M., Oksuz, A., (2019). Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26(2), 340-344.
- Konuskan, D. B., (2020). Minor bioactive lipids in cold pressed oils. In *Cold pressed oils* (pp. 7-14). Academic Press.
- Köseoğlu, O., Sevim, D. ve Kadiroğlu, P., (2019). Effects of filtration on the quality properties of extra virgin olive oils during storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(3), 291-301.
- Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., Yu, L.L., (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of

- selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, 128(2), 391-399.
- Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D.R., Carle, R., (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants, *Food Chemistry*, 112, 551-559.
- Matthäus, B. ve Brühl, L., (2003). Quality of cold-pressed edible rapeseed oil in Germany. *Food/Nahrung*, 47(6), 413-419.
- Matthaus, B., Speener, F., (2008). What we know and what we should know about virgin oils-a general introduction, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 597- 601, Weinheim.
- Matthäus, B., (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 645-660.
- Maszevska, M., Florowska, A., Dłużewska, E., Wroniak, M., Marciniak-Lukasiak, K. ve Żbikowska, A., (2018). Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules*, 23(7), 1746.
- Meral, R., (2016). Farklı Isıl İşlem Uygulamalarının Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi.
- Montealegre, R.R., Peces, R.R., Vozmediano, J.C., Gascueña, J.M., Romero, E.G., (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 687-693.
- Özcan, M. M., Juhaimi, F. A., Gülcü, M., Uslu, N., Geçgel, Ü., Ghafoor, K., Dursun, N., (2017). Effect of harvest time on physico-chemical properties and bioactive compounds of pulp and seeds of grape varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2230-2240.
- Parker, T. D., Adams, D. A., Zhou, K., Harris, M. ve Yu, L., (2003). Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. *Journal of Food Science*, 68(4), 1240-1243.
- Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M. ve Coimbra, M. A., (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*, 115(1), 48–53. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.064
- Patil, A. ve Singh, A. K., (2017). Effect of enzyme and microwave pretreatment on oil recovery from canola. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12340.
- Payan, A., (2007). *Üzüm meyvesi ve çekirdeğinden antioksidan eldesi* (Master's thesis, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Pawar, N., Purohit, A., Gandhi, K., Arora, S., Singh, R.R.B., (2014). Effect of operational parameters on determination of oxidative stability measured by Rancimat method. *International Journal of Food Properties*, 17(9), 2082-2088.
- Pezzuto, J. M., (2008). Grapes and human health: a perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 6777-6784.
- Podolyan, A., White, J., Jordan, B., Winefield, C., (2010). Identification of the lipoxygenase gene family from *Vitis vinifera* and biochemical characterisation of two 13-lipoxygenases expressed in grape berries of Sauvignon Blanc. *Functional Plant Biology*, 37(8), 767-784.
- Pomeranz, Y. ve Meloan, C. E., (1994). Ash and minerals. In *Food Analysis: Theory and Practice* (pp. 602-624). Boston, MA: Springer US.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., (2000). The Chemistry of Wine. Handbook of Enology: *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, John Wiley & Sons. Aquitaine Trasuction, France, 1-231.
- Roginsky, V. ve Lissi, E. A., (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.004
- Rombaut, N., Savoie, R., Thomasset, B., Castello, J., Van Hecke, E., Lanoisellé, J. L., (2015). Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grape seed cold screw pressing. *Industrial Crops and Products*, 63, 26-33.
- Rubio, M., Alvarez-Orti, M., Alvarruiz, A., Fernandez, E., Pardo, J.E., (2009). Characterization of oil obtained from grape seeds collected during berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2812-2815.
- Sabir, A., Unver, A. ve Kara, Z., (2012). The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9), 1982-1987.
- Scollary, G. R., Pásti, G., Kállay, M., Blackman, J. ve Clark, A. C., (2012). Astringency response of red wines: Potential role of molecular assembly. *Trends in Food Science and Technology*, 27(1), 25-36.
- Secen, S., (2017). Determination of fatty acid composition and phenolic content of seed oils of Cappadocia region grape varieties. *Aksaray University Journal of Science and Engineering*, 1(1), 1-8.
- Seçkin, A. K. ve Baladura, E., (2011). Süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel özellikleri-functional properties of milk and dairy products. *Celal Bayar University Journal of Science*, 7(1), 27-38.

- Semerci, A., Kızıltuğ, T., Çelik, A. ve Kiracı, M., (2015). Türkiye bağcılığının genel durumu. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2).
- Sevindik, O., Selli, S., (2016). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri, *Gıda*, 42(1), 95–103.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., Kakuda, Y., (2003). Polyphenolics in grape seeds—biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299.
- Shinagawa, F. B., de Santana, F. C., Araujo, E. S., Purgatto, E. ve Mancini-Filho, J., (2018). Chemical composition of cold pressed Brazilian grape seed oil. *Food Science and Technology*, 38(1), 164–171.
- Sidar, H., (2011). *Menengiç tohumlarından yağ eldesi: sulu ekstraksiyona enzim ve yüzey aktif madde etkisi*, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J. ve Lema, J. M., (1998). Optimization of the enzymatic treatment during aqueous oil extraction from sunflower seeds. *Food Chemistry*, 61(4), 467-474.
- Soto, C. G., Chamy, R., Zúñiga, M. E., (2004). Effect of enzymatic application on borage oil extraction by cold pressing. *Journal of Chemical Engineering Japan*, 37(2), 326-331.
- Soto, C., Concha, J., Zuniga, M.E., (2008). Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic-aided cold pressing process, *Process Biochemistry*, 43, 696-699.
- Taşeri, L., Gülcü, M., Palabıyık, İ., Uysal Seçkin, G., Aktaş, T., Geçgel, Ü., (2018). Effects of open air and solar drying on the nutritional quality of seed oil, seeds and skins from Muscat Hamburg grapes. *Grasas y Aceites*, 69(4),1-8
- TGK, (2012). Türk Gıda Kodeksi bitki adı ile anılan yağlar tebliği, Resmî Gazete, Sayı: 28262, 2012.
- Tociu, M., Hirtopanu, A. ve Stanescu, M. D., (2021). Enzymatic pre-treatment of grape seeds for an oil with higher antioxidant activity. *Grasas y Aceites*, 72(4), e434-e434.
- TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri, 2016, www.tuik.gov.tr.
- Tobar, P., Moure, C., Chamy, R., Zuniga, M. E., (2005). Winery solid residuerevalorization into oil and antioxidant with nutraceutical properties by an enzyme assisted process, *Water Science and Technology*, 51, 47-52.

- Yousefi, M. O. R. V. A. R. I. D., Nateghi, L., Gholamian, M. ve Nateghi, L., (2013). Physicochemical properties of two type of shahrodi grape seed oil (Lal and Khalili). *European Journal of Experimental Biology*, 3(5), 115-118.
- Vaidya, B. ve Eun, J. B., (2013). Effect of temperature on oxidation kinetics of walnut and grape seed oil. *Food Science and Biotechnology*, 22, 273-279.
- Vujasinović, V. B., Bjelica, M. M., Čorbo, S. C., Dimić, S. B. ve Rabrenović, B. B., (2021). Characterization of the chemical and nutritive quality of cold-pressed grape seed oils produced in the Republic of Serbia from different red and white grape varieties. *Grasas y Aceites*, 72(2), 0222201.
- Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y. ve Jiang, L., (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141-147.
- Zhao, X., Wei, L., Julson, J., Huang, Y., (2014). Investigated cold press oil extraction from non-edible oilseeds for future bio-jet fuels production, *Journal Sustainable Bioenergy Systems*, 4(04), 199-214.
- Zolman, J. F., (1993). *Biostatistics: experimental design and statistical inference*. Oxford University, New York.
- Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y.J., Li, H.B., (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646.