

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAĞLI TOHUMLARA UYGULANAN ULTRASONİK DESTEKLİ ÖN
İŞLEM İLE SOĞUK PRES YAĞLARINDA VERİM VE KALİTENİN
ARTTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Emine Buket ŞERAN**

Anabilim Dalı : Kimya Mühendisliği

Programı : Kimya Mühendisliği

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAĞLI TOHUMLARA UYGULANAN ULTRASONİK DESTEKLİ ÖN
İŞLEM İLE SOĞUK PRES YAĞLARINDA VERİM VE KALİTENİN
ARTTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Emine Buket ŞERAN
(506091036)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 29 Mayıs 2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 13 Haziran 2011

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Z. Selma TÜRKAY (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Dilek BOYACIOĞLU (İTÜ)
Doç. Dr. Hale GÜRBÜZ (İTÜ)**

HAZİRAN 2011

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, yağlı tohumlardan soğuk presleme yöntemi ile elde edilen bitkisel yağların kalitesini ve metodun yağ verimini arttırmak maksadıyla, presleme öncesinde tohumlara alkollü ortamda ultrasonik etki ile ön işlem uygulaması gerçekleştirilmiş ve bu ön işlemin etkinliğini değiştirebileceği düşünülen parametreler incelenmiştir. Önerilen ön işlemin kullanılması ile, sağlıklı beslenme konusunda gün geçtikçe bilinçlenen tüketicilerin, biyoaktif bileşenlerini ardıl rafinasyon işlemleriyle kaybetmeyen, aksine biyoaktif bileşenlerce daha zenginleşen soğuk pres yağlarından temin edebilmeleri ve aynı zamanda üreticilerin de yüksek verim sağlayabilmeleri amaçlanmaktadır.

Bu çalışmayı özenle yöneten, tüm yüksek lisans eğitimim süresince yardımlarını benden hiç bir zaman esirgemeyen, tez çalışmamın araştırma ve planlama aşamasında olduğu kadar deneysel çalışmalarında ve tezimin yazımında da değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, destek olan saygı değer hocam Sayın Prof. Dr. Selma TÜRKAY'a en içten minnet duygularıyla teşekkür ve saygılarımı sunarım. Özverili katkılarından ve yardımlarından dolayı, saygı değer hocam Sayın Doç. Dr. Hale GÜRBÜZ'e de teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmamda, yağ numunelerimin fosfor analizlerini gerçekleştiren sevgili arkadaşlarım Kim. Müh. Göknur TÜRETKAN ve Kim. Müh. Seval KARAHASAN'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayrıca, desteklerini ve güvenlerini bana her zaman hissettiren tüm aile bireylerime ve arkadaşlarıma teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Mayıs 2011

Emine Buket ŞERAN

Kimya Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ.....	5
2.1 Soğuk Pres Yağları ve Natürel Yağlar	5
2.2 Yağlı Tohumlara Uygulanan Ön İşlemler.....	10
2.2.1 Isı etkisi.....	11
2.2.2 Maserasyon etkisi	13
2.2.3 Ultrasonik etki.....	15
2.2.4 Işınlama etkisi	18
2.3 Yağların Oksidasyon Stabilitesi.....	18
2.3.1 Yenilebilir yağlardaki otoksidasyonun mekanizması	20
2.3.2 Singlet oksijen oluşumu ve yenilebilir yağlardaki ışığa duyarlı oksidasyonun (fotooksidasyon) mekanizması	22
2.3.3 Yenilebilir yağların oksidasyonunu etkileyen faktörler.....	23
2.3.3.1 Yağ asidi bileşimi.....	24
2.3.3.2 Yağın işlenmesi	24
2.3.3.3 Depolama sıcaklığı ve ışık	24
2.3.3.4 Oksijen	25
2.3.3.5 Minör bileşenler	26
2.3.4 Yenilebilir yağların oksidasyon stabilitesinin Rancimat metodu ile belirlenmesi.....	35
2.4 Çörek Otu Tohumu ve Yağı.....	37
2.4.1 Çörek otu tohumu	37
2.4.1.1 Çörek otu tohumu hakkında genel bilgiler.....	37
2.4.1.2 Çörek otu tohumunun yaklaşık bileşimi	38
2.4.2 Çörek otu yağı.....	40
2.4.2.1 Çörek otu yağının genel karakteristikleri	41
2.4.2.2 Çörek otu yağının oksidasyon stabilitesi.....	44
2.4.2.3 Çörek otu yağının sağlık üzerine etkileri	44
2.5 Kolza Tohumu ve Yağı	45
2.5.1 Kolza tohumu.....	45
2.5.1.1 Kolza tohumu hakkında genel bilgiler	45
2.5.1.2 Kolza tohumunun yaklaşık bileşimi	46
2.5.2 Kolza yağı	47
2.5.2.1 Kolza yağının genel karakteristikleri	50

2.5.2.2	Kolza yağının oksidasyon stabilitesi	54
2.5.2.3	Kolza yağının sağlık üzerine etkileri.....	55
3.	DENEYSEL ÇALIŞMALAR	57
3.1	Kullanılan Hammaddeler	57
3.2	Çalışma Yöntemi.....	57
3.2.1	Tohumların karakterizasyonu	57
3.2.1.1	Tohumların nem ve yağ içeriklerinin saptanması	57
3.2.2	Ön işlem uygulamaları	58
3.2.2.1	Isıl ön işlem	58
3.2.2.2	Maserasyon ile ön işlem	58
3.2.2.3	Ultrasonik etki ile ön işlem	58
3.2.3	Tohumlardan soğuk presleme ile yağ elde edilmesi	59
3.2.4	Tohumlardan elde edilen yağların özelliklerinin saptanması	60
3.2.4.1	SYA içeriğinin belirlenmesi	60
3.2.4.2	Oksidasyon stabilitesinin belirlenmesi	60
3.2.4.3	İnce tabaka kromatografisi ile yağ bileşenlerinin kalitatif olarak incelenmesi.....	61
3.2.4.4	Kolza yağlarının fosfor içeriği tayini	61
3.3	DeneySEL Sonuçlar.....	63
3.3.1	Çörek otu tohumlarına alkollü ön işlemin etkisinin incelenmesi.....	63
3.3.1.1	Çörek otu tohumlarının karakterizasyonu ve ısıl ön işlemin çörek otu yağının özelliklerine etkisinin saptanması	63
3.3.1.2	Çörek otu tohumlarının alkollü ön işlemi	66
3.3.2	Kolza Tohumlarına Alkollü Ön İşlemin Etkisinin İncelenmesi	77
3.3.2.1	Kolza tohumlarının karakterizasyonu ve ısıl ön işlemin kolza yağının özelliklerine etkisinin saptanması	78
3.3.2.2	Kolza tohumlarının alkollü ön işlemi	79
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	87
	KAYNAKLAR.....	93

KISALTMALAR

AD	: Asit Değeri
DAG	: Diaçıl gliserol
DG	: Digliserid
FFA	: Free Fatty Acid
MG	: Monogliserid
OS	: Oksidasyon Stabilitesi
OSI	: Oksidasyon Stabilite İndeksi
PF	: Polifenolikler
RBD	: Refined, Bleached and Deodorized
SYA	: Serbest Yağ Asitleri
TAG	: Triaçıl gliserol
TEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TG	: Trigliserid
UV	: Ultraviyole

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Yağ asitleri metil esterlerinin otoksidasyon sonucu bozunma ürünleri.	21
Çizelge 2.2 : Yağ işleme süresince kolza yağındaki klorofil içeriği.	28
Çizelge 2.3 : Yenilebilir yağların tokoferol içerikleri.	30
Çizelge 2.4 : Türkiye kökenli <i>Nigella Sativa L.</i> tohumlarının yaklaşık ve mineral bileşimi.	38
Çizelge 2.5 : <i>Nigella sativa L.</i> tohumu proteininin amino asit bileşimi.	39
Çizelge 2.6 : <i>Nigella sativa L.</i> tohumlarının vitamin içerikleri.	39
Çizelge 2.7 : <i>Nigella sativa L.</i> tohumlarının esansiyel yağ bileşimi.	40
Çizelge 2.8 : Çörek otu yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri.	40
Çizelge 2.9 : Farklı kökenli <i>Nigella sativa</i> tohumu yağlarının karakteristikleri.	41
Çizelge 2.10 : Öğütülmüş tohumlarda sıcaklık ve tohumların nem içeriğinin tohumdan elde edilen yağın enzimatik hidrolizi üzerindeki etkileri. .	42
Çizelge 2.11 : Farklı bölgelere ait <i>Nigella sativa</i> tohumu yağlarının yağ asidi bileşimi.	43
Çizelge 2.12 : Hekzan ile ekstrakte edilmiş ve rafine çörek otu yağlarının Rancimat oksidasyon stabilite indeksi (OSI, 100°C) ve ilgili bileşimsel faktörleri.	44
Çizelge 2.13 : Kolza tohumlarının yaklaşık bileşimi.	47
Çizelge 2.14 : Kolza tohumlarının amino asit bileşimi.	47
Çizelge 2.15: Kolza tohumlarının mineral ve vitamin bileşimi.....	48
Çizelge 2.16 : Kolza yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri.	48
Çizelge 2.17 : Kolza yağı bileşenleri.	51
Çizelge 2.18 : Farklı kolza yağı türlerinin yağ asidi bileşimi.....	51
Çizelge 2.19 : Kolza yağının minör yağ asidi bileşimi.....	52
Çizelge 2.20 : Kolza yağlarının mineral element bileşimleri (mg/kg).	53
Çizelge 2.21 : Ham kolza yağı ve rafine edilmiş, rengi ve kokusu giderilmiş (rbd) kolza yağının tipik kimyasal analizi.	54
Çizelge 3.1 : Kullanılan kimyasallar ve markaları.	57
Çizelge 3.2 : Çörek otu tohumlarının karakterizasyonu.	63
Çizelge 3.3 : Isıl ön işlemin çörek otu yağına etkisi.....	63
Çizelge 3.4 : Çörek otu yağlarının üretim ve ölçüm koşullarına göre oksidasyon stabiliteleri.	64
Çizelge 3.5 : Çözücü ekstraksiyonu ve soğuk pres yöntemi ile elde edilen çörek otu yağlarının özellikleri.....	65
Çizelge 3.6 : Alkollü ön işlemin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmeyen tohumların preslenmesi ile).	66
Çizelge 3.7 : Alkollü ön işlemin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).	68

Çizelge 3.8 :	Ultrasonik destekli alkollü ön işleminde kullanılan alkol konsantrasyonunun soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).	69
Çizelge 3.9 :	Ultrasonik destekli alkollü ön işleminde işlem süresinin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).	72
Çizelge 3.10 :	Çörek otu tohumlarının alkollü ön işleminde işlem süresinin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).	73
Çizelge 3.11 :	Ultrasonik destekli alkollü ön işleminde katı/sıvı oranını soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).	73
Çizelge 3.12 :	Laboratuvar ortamında bekletilen çörek otu tohumu yağlarının özelliklerinin değişimi.	74
Çizelge 3.13 :	Ultrasonik destekli alkollü ön işlem uygulanan çörek otu tohumlarının depolama süresince pres yağlarının özelliklerindeki değişim.	75
Çizelge 3.14 :	Ultrasonik destekli ön işlem süresince karışımın sıcaklık değişimi. ..	76
Çizelge 3.15 :	Çörek otu tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde alkol fazlarının tekrarlı kullanımının incelenmesi.	77
Çizelge 3.16 :	Çörek otu tohumlarının ultrasonik alkollü ön işleminde tohumlara uygulanan öğütme işleminin etkisi.	77
Çizelge 3.17 :	Kolza tohumunun ve yağının özellikleri.	78
Çizelge 3.18 :	Kolza ve çörek otu tohumlarının farklı sıcaklıklarda ölçülen oksidasyon stabiliteleri.	79
Çizelge 3.19 :	Kolza tohumlarının alkollü ve ultrasonik destekli alkollü ön işlemleri.	79
Çizelge 3.20 :	Isıl ön işlem ve alkollü ön işlemin kolza tohumlarına beraber uygulanması.	80
Çizelge 3.21 :	Kolza tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde uygulanan katı/sıvı (ağır./ hac.) oranının etkisi.	81
Çizelge 3.22 :	Kolza tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde karışımın sıcaklık profili.	82
Çizelge 3.23 :	Ön işlemin pres kolza yağlarının fosfor içeriklerine etkisi.	83
Çizelge 3.24 :	Depolama süresince kolza pres yağlarının özelliklerinin değişimi. ...	84

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Sıcaklığın fonksiyonu olarak enzim aktivitesinin değişimi.	11
Şekil 2.2 : Sonik bölgeler.....	15
Şekil 2.3 : Triplet oksijenin moleküler orbitali.....	19
Şekil 2.4 : Singlet oksijenin $2p\pi$ anti-bağlanma orbitalindeki elektron dizilimi.....	19
Şekil 2.5 : Triplet duyarlaştırıcının substratlarla reaksiyonu.....	22
Şekil 2.6 : Rancimat metoduna ait şematik ölçüm düzeni.....	36
Şekil 2.7 : <i>Nigella sativa L.</i> bitkisi ve tohumları.	37
Şekil 2.8 : <i>Brassica napus L.</i> bitkisi ve tohumları.....	46
Şekil 2.9 : Kolza yağı üretimi akış şeması.....	49
Şekil 3.1 : Çalışmada kullanılan ultrasonik prob sistemi.	59
Şekil 3.2 : Çalışmada kullanılan hidrolik pres.....	60
Şekil 3.3 : Toplam fosfor içeriğinin saptanmasında kullanılan kalibrasyon grafiği..	62
Şekil 3.4 : % 96'lık alkolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı.....	67
Şekil 3.5 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile ultrasonik ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağlarının bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı.....	70
Şekil 3.6 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile uygulanan ultrasonik ön işlemde alkolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı.....	71
Şekil 3.7 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile uygulanan ultrasonik ön işlem sonrasında elde edilen alkollü ekstraktlar.....	72
Şekil 3.8 : Depolama süresince çörek otu tohumlarının oksidasyon stabilite- lerinin değişimi.	75
Şekil 3.9 : Kolza ve çörek otu yağlarının farklı sıcaklıklarda ölçülen oksidasyon stabilite-leri.	79
Şekil 3.10 : Farklı ön işlemler uygulanan kolza tohumlarından elde edilen pres yağlarının ve etanolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı.....	81
Şekil 3.11 : Ön işlem uygulanmayan ve ultrasonik destekli alkollü ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağlarının oksidasyon stabilite-lerinin değişimi.	84

YAĞLI TOHURLARA UYGULANAN ULTRASONİK DESTEKLİ ÖN İŞLEM İLE SOĞUK PRES YAĞLARINDA VERİM VE KALİTENİN ARTTIRILMASI

ÖZET

Bitkisel yağların temel görevleri ile birlikte, içerdikleri biyoaktif bileşenleri sayesinde insan sağlığına olumlu katkıları hakkında her geçen gün daha fazla bilgi edinilmesi, tüketicilerin soğuk presleme ile üretilen ve rafine edilmeden tüketilen bitkisel yağlara olan ilgisinin giderek artmasına neden olmuştur. Soğuk pres yağları, tohumların herhangi bir ısı etkisi olmaksızın, doğrudan ortam sıcaklığında mekanik olarak preslenmesi ile üretilen yağlardır. Bu yağlar, ısıl işlem uygulanmadığından daha az kimyasal değişime uğramakta ve dolayısıyla daha fazla biyoaktif bileşen içermektedirler; bu nedenle de özellikle ilaç ve kozmetik ürün formülasyonlarında tercih edilmektedirler. Literatürde, kabak çekirdeği, çörek otu tohumu, kolza tohumu, soya gibi bir çok yağlı tohumdan soğuk pres yöntemi ile elde edilmiş bitkisel yağları, gerek yağ asidi bileşimi, gerekse biyoaktif bileşenleri yönünden inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Soğuk presleme yöntemi ile bitkisel yağ üretiminin en büyük dezavantajı, yağ veriminin çözücü ekstraksiyonu yöntemine göre çok daha az olması ve buna bağlı olarak yağ fiyatının yüksek olmasıdır. Yağ verimini ve kalitesini arttırmak üzere tohumlara ısıl ön işlem uygulanması endüstriyel uygulamada sıkça karşılaşılan çözümlerden birisidir; ancak bu yöntem, bazı yağlarda kalitenin azalmasına ve bununla birlikte üretilen yağın soğuk pres yağı olarak kabul görmemesine neden olmaktadır.

Presleme ile üretimde, metodun yağ veriminin ve elde edilen yağın kalitesinin artırılması için etkili olacağı düşünülen diğer bir seçenek, ultrasonik etki ile tohumların bir ön işleme maruz bırakılmasıdır. Bu sayede, hücre duvarları çatlatılarak yağın daha kolay ayrılmasının, dolayısıyla verim artışının sağlanacağı; ayrıca işlemde sıvı ortam olarak kullanılacak olan etanolün, tohumların sterilizasyonu, içerdikleri enzimlerin deaktivasyonu gibi etkilerle yağ kalitesine de olumlu katkıları beraberinde getireceği düşünülmüştür.

Deneyisel çalışmalarda model olarak seçilen iki tohumun, çörek otu ve kolza tohumlarının, etanol ortamında ultrasonik ön işleme tabi tutulmasının ardından soğuk presleme ile elde edilen yağlarının, verimleri, asit sayıları ve oksidasyon stabiliteleri saptanmış ve böylece etanol konsantrasyonu, ön işlem süresi ve ön işlemde uygulanan tohum/alkol oranlarının, üretilen yağların sözü edilen özelliklerine etkisi belirlenmiştir. Ayrıca tohumlara presleme öncesi ısıl ön işlem de uygulanarak her iki ön işlemin etkileri karşılaştırılmıştır.

Çalışmanın devamında, ön işlem görmüş ve görmemiş tohumların laboratuvar ortamında bekletilmesinin ardından elde edilen yağda görülen kalite değişimleri, ön işlem ardından ele geçen etanolü ekstrakt fazın tekrarlı kullanımı, ön işlem süresince gözlenen sıcaklık artışları da incelenmiştir.

Deneyisel çalışmalardan elde edilen bulgular ise şu şekilde özetlenebilir:

%35 civarında yağ içeren çörek otu tohumuna presleme öncesinde uygulanan ısıl ön işlem, pres yağlarının oksidasyon stabilitelerinin azalmasına neden olmuştur. Bu sonuca göre rek otu yağının oksidasyon direnci büyük ölçüde uçuşu bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Buna karşılık, etanol ortamında uygulanan ultrasonik destekli ön işlem sonunda elde edilen pres yağlarının oksidasyon stabilitesi 29 saatten 63 saate yükselmiştir. Aynı yağın serbest asit içeriği ise %5 civarından %2.6'ya dşmştir. %40 yağ içeren kolza tohumuna uygulanan ısıl ön işlem sonunda, presleme ile elde edilen yağın oksidasyon stabilitesi 32 saatten 49 saate yükselirken, serbest asit içeriği % 1'den % 0.7'e dşmştir. Kolza tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işlemi sonunda ise, bu değerler sırasıyla 54 saat ve %0.6 olarak llmştir. Çörek otu tohumlarının % 70, 80 ve 96'lık etanoldeki ultrasonik destekli n işlemleri sonunda elde edilen pres yağlarının serbest asit içerikleri sırasıyla % 2.82, 2.66 ve 2.83 iken; oksidasyon stabiliteleri 63.0, 53.4 ve 31.08 saat olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak, ultrasonik destekli alkollü n işlemin, ısıl ön işlem gibi, tohumların içerdiği lipaz enzimlerini deaktive ettiği ve bu etkinin incelenen alkol konsantrasyonuna bağlı olmadığı ortaya çıkmıştır. Ultrasonik destekli alkollü ön işlem görmüş tohumlarından elde edilen yağların oksidasyon stabilitelerinin büyük ölçüde alkol konsantrasyonuna bağlı olduğu ve bu sonuca dayanarak yağların oksidasyon stabilitelerinin söz konusu yağlı tohumların %96'lık etanol ile n işlemlerinin sonunda artmasının nedeninin, ön işlem sırasında tohuma difzlenerek, antioksidan maddeleri çözen %96'lık etanolün, trigliseridlerdeki çözünürlüğünün daha yüksek olması nedeniyle pres yağının daha çok antioksidan madde içermesinden kaynaklanabileceği anlaşılmıştır.

IMPROVING THE YIELD AND QUALITY OF COLD PRESSED OILS BY ULTRASOUND ASSISTED PRETREATMENT OF OILSEEDS

SUMMARY

In recent years, positive effects of vegetable oils owing to their fundamental roles in the human metabolism and also their content of bioactive components have become a subject of consumers' renewed interest to cold-pressed oils, that are not require any refining step. Cold-pressed oils are edible vegetable oils that are extracted by mechanical procedures from oilseeds, e.g. expelling or pressing, without application of heat. Because these types of oils are not exposed to heat, their chemical compositions don't undergo any change and they don't lose their bioactive components. Accordingly, they are preferred in pharmaceutical and cosmetic product formulations. A number of researches of cold-pressed seed oils with respect to their fatty acid composition and bioactive components, such as pumpkin, black cumin, rapeseed, and soybean can be found in the literature.

The biggest disadvantage of cold-pressing is the production of small amounts of oil with respect to conventional solvent extraction and in connection with this low oil yield, their prices are high. Heat pretreatment is widespread in the industrial applications to overcome the said yield and quality problems. But, this application may not result in desired effects for all types of oilseeds and may cause off-flavors in the oils that are extracted from the pretreated seeds.

Another alternative solution to yield and quality concern is ultrasound assisted pretreatment of the seeds. Ultrasonic waves are used in order to increase the disruption of cell walls and by this means they simplify the extraction of oil so as to increase the yield. Besides this, it is thought that ethanol which is being used in the treatment as liquid medium has some additional positive effects such as sterilization of the seeds and deactivation of the enzyme system within the seed structure.

In the experimental studies, after exposure to ultrasonic pretreatment of chosen two model seeds, rapeseeds and black cumin seeds, cold-pressing procedure was applied to them. Oil yields, acid values and oxidation stabilities of the extracted seed oils were determined and thereby the impacts of ethanol concentration, pretreatment time and solid/liquid ratio that are used in the pretreatment on the said oil characteristics were specified. Furthermore, heat treatment before pressing was also experimented and effects on both seeds were compared.

In the next steps of the study, the oils' quality changes were investigated which were extracted from pretreated and non-pretreated seeds stored in the laboratory, also reusability of alcoholic (ethanol) extract phase that was conquered after ultrasound assisted pretreatment and temperature rise during the treatment were explored.

Findings that are obtained from this study can be summarized as follows:

Heat treatment applied to black cumin seeds, with oil content of %35, before pressing had negative effects on extracted oil's oxidation stability. Based on this finding, it can be said that the oxidation stability of black cumin seed oil was proceed

from its volatile constituents. In contrast, oxidation stability was increased from 29 hours to 63 hours for black cumin oil with ultrasonic pretreatment and same oil's free fatty acids content was decreased from %5 to %2.6. Heat pretreatment of rapeseeds was concluded with higher oil quality values contrary to black cumin seed. Whereas oxidation stability of cold-pressed rapeseed oil was 32 hours, this estimation was increased with heat pretreatment to 49 hours. Moreover, FFA content was decreased from %1 to %0.7. After the ultrasound assisted pretreatment of rapeseeds these values were quantified as 54 hours and %0.6. Black cumin seed oil's FFA contents and oxidation stabilities extracted from ultrasonic pretreated seeds with ethanol of different concentrations, %70, 80 and 96 were found % 2.82, 2.66, 2.83 and 63.0, 53.4, 31.08 hours, respectively. As a result, it was concluded that ultrasound assisted alcoholic pretreatment, like heat pretreatment, deactivated lipase enzyme which was naturally occurs in the seed structure, and this impact was not correlated with ethanol concentration. In contradistinction to this, oxidation stabilities are strongly correlated with ethanol concentration. Based on these findings, it could be said that, the cause of enhancing the obtained oils' oxidation stability of ultrasonic pretreatment in %96 ethanol medium was higher solubility of ethanol, which was diffused through the seed walls during the pretreatment and dissolved the antioxidants, in triglycerides. Eventually, cold-pressed oil could be included much more antioxidants.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkisel yağların yağ asitleri ve biyoaktif bileşenleri sayesinde insan sağlığına olumlu katkıları hakkında her geçen gün daha fazla bilgi edinilmesi, tüketicilerin natürel (virgin) bitkisel yağlara ilgisinin giderek artmasına neden olmuştur. Aslında, natürel yemeklik yağların 8000 yıldan daha eski bir geçmişi vardır. Yaklaşık 120 yıl önce, çözücü ekstraksiyonu ile yağ veriminin artmasını sağlayan uygun üretim tekniklerinin geliştirilmesi ve sonrasında rafinasyon işlemleri ile gerçekleştirilen yağ saflaştırılması sayesinde, gıda ve teknik amaçlar için giderek artan yağ talepleri karşılanmış, buna bağlı olarak natürel zeytinyağı dışındaki tüm natürel yağlar pazardan çekilmişlerdir. 15–20 yıl kadar önce ise, zeytinyağı ile birlikte diğer natürel yağlara yeni bir ilgi oluşmaya başlamıştır. Bu ilginin en önemli nedenlerinden biri, tüketicilerin sağlıklı beslenme için daha az işlenmiş gıdalara yönelimidir. Natürel yağların, rafinasyonla tüm yararlı bileşenlerini kaybeden yağlara göre doğal yapılarını korudukları bilinmektedir. Bir diğer neden, yine tüketicilerin gurme gıdalara ve bu gıdaların hazırlanmasında tat ve kokusu nedeniyle natürel yağlara olan meraklarıdır. Bu sayede, zeytinyağının tadını sevmeyenlere, zevklerine uygun diğer natürel yağları temin edebilme olanağı yaratılmıştır [1].

Üreticiler de, natürel yağı katma değeri daha yüksek ürün üretimi için iyi bir seçenek olarak ele almışlardır. Sonuçta, zeytinyağı dışında başka natürel yağlar da tekrar pazarda yer almaya başlamışlardır. Bunların içinde kolza, kabak çekirdeği, argan, keten tohumu, ayçiçeği, üzüm çekirdeği, avokado ve kenevir yağları sayılabilir. Bu yağların ortak özellikleri, fiyatlarının yüksek ve geniş bir aralıkta değişiyor olmasıdır. Örneğin; natürel kolza yağının fiyatı 2-3 Euro/L civarında iken argan yağının 140 Euro/L'dir. Fiyatların yüksek olmasının bir nedeni yağlı tohum iken, önemli bir diğer nedeni de, bu tür gurme ve sağlıklı yağların hemen hemen tamamına yakın bir kısmının soğuk presleme yöntemi ile üretiliyor olması ve bu işlem ile ulaşılan yağ veriminin düşük olmasıdır [2].

Soğuk pres yağları, resmi olarak natürel yağlardan farklı tarif edilmektedir. Codex Alimentarius'a göre soğuk pres yağları, ısı uygulamaksızın, sadece mekanik

işlemlerle, yağın doğasını bozmadan üretilen bitkisel yemeklik yağlardır. Bu yağlar, sadece su ile yıkama, bekletme, süzme ve santrifüjleme işlemleri ile saflaştırılabilirler [3]. Natürel, yani virgin yağların, soğuk pres yağlarından tek farkları üretimleri sırasında çok yüksek olmayan ısı ($>50^{\circ}\text{C}$) uygulamasına izin verilmesidir. Dolayısıyla soğuk pres yağları en yüksek kaliteli natürel yağlardır.

Bu çalışmada, soğuk presleme ile üretilen bitkisel yağların verimlerini arttırmak üzere, tohumların presleme öncesinde, ultrasonik destekli bir ön işleme tabi tutulması ve bu işlemin yağ veriminin yanı sıra yağ kalitesinin arttırılmasına yönelik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Presleme ile yağ üretiminde, yağ verimini arttırmak üzere presleme öncesinde genellikle tohumlara bir ısıl ön işlem (şartlandırma) uygulanmaktadır. Bu işlemin amacı, yağın vizkozitesinin azalmasıyla yağ damlalarının birleşip büyümesi ve böylece daha kolay ekstraksiyon sağlanması, hücre duvarlarının ısı etkisi ile çatlaması ve ayrıca proteinlerin denatüre olmasıyla hücre içi emülsiyonun kırılarak preslemenin kolaylaşmasıdır [4]. Isıl ön işlemin tohumların sterilizasyonu, enzimlerin inaktivasyonu gibi yararları da vardır.

Presleme yöntemindeki yağ veriminin arttırılması için etkili olacağı düşünülen diğer bir seçenek, tohumların ultrasonik etkiye tabi tutulmasıdır. Literatürde bu amaçla yapılmış bir çalışma olmamasına rağmen, teorik olarak, ultrasonik destekli bir ön işlemin, ısıl ön işlemin sağladığı tüm etkileri sağlaması beklenir. Esasen, ultrasonik destekli ekstraksiyon gerek bilimsel ve gerekse endüstriyel çalışmalarda oldukça fazla kullanılan bir yöntemdir. Ancak tüm bu çalışmalarda, katı madde, ekstrakte edilecek maddeyi çözen bir çözücü ortamında ultrasonik etkiye maruz bırakılmakta ve bu şekilde geleneksel katı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre daha kısa sürede ve daha az çözücü kullanılarak ekstraksiyon tamamlanmaktadır.

Önerilen çalışmada ise, ultrasonik etki ekstraksiyon işleminde değil, tohumları ekstraksiyon işlemine hazırlama kademesinde, yani ön işlem kademesinde kullanılmak istenmektedir. Bu nedenle, ultrasonik dalgaları katı tohuma ileten sıvı ortam olarak, trigliseridleri çözen bir çözücü yerine, çözmeyen bir çözücü olarak etanol seçilmiştir. Ayrıca etanol GRAS özellikte bir çözücü olduğundan, yağda eser miktarda kalıntısının olması yağın yemeklik olarak tüketilmesinde sorun yaratmayacak ve lipaz, lipoksigenaz gibi protein yapısındaki enzimleri deaktive

ederek prosese ayrıca bir olumlu bir katkıda bulunması da söz konusu olabilecektir. Sonuç olarak bu çalışmada, soğuk presleme yöntemi ile üretilen yağ miktarını arttırmak üzere, yağlı tohumların etanol ortamında ultrasonik destekli ön işleminin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için iki farklı tohum seçilmiştir: Çörek otu ve kolza tohumları. Seçim kriterleri ise şunlardır:

1. Her iki tohum da, fiziksel özellikleri açısından birbirlerine benzemektedirler.
2. Her iki tohum yağının, hem gurme hem de sağlıklı yağ olarak soğuk pres ve natürel yağ üretimleri yapılmaktadır.
3. Çörek otu tohumunda lipaz enzimi, kolza tohumunda ise fosfolipaz ve mirosinaz enzimleri aktiftir.
4. Her iki tohum, antioksidan kapasitesi yüksek biyoaktif maddeler bakımından zengindir.

Özellikle çörek otu tohumlarının içerdiği lipaz enzimi nedeniyle, soğuk presleme ile üretilen yağın serbest asit içerikleri doğrudan tüketilemeyecek kadar yüksektir. Örneğin, soğuk pres yöntemi ile üretilen bir çörek otu yağının serbest yağ asidi içeriği % 11 olarak bildirilmiştir [5]. Ultrasonik destekli alkolik ön işlemin, bu tür tohumlara uygulanması ve ön görüldüğü üzere lipaz enziminin deaktive edilebilmesi, soğuk pres yağlarının daha düşük asit içerikli üretimine de olanak sağlayacaktır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Soğuk Pres Yağları ve Natürel Yağlar

Yenilebilir yağların etiketlenmesi, “çiftlikten çatala” tüm üretici ve tüketicileri ticari açıdan ve beslenme ile ilgili konularda oldukça etkileyen bir kalite göstergesidir. Doğru etiketleme için ise, isimlendirme ve farklı tip yağları tanımlamada (“rafine”, “rafine olmayan”, “soğuk pres”, “natürel”) uluslar arası kabulleri bulmak çok önemlidir. Ayrıca, keten tohumu yağı ve uzun çekirdeği yağı gibi özel natürel yağlar, depolama süresindeki ransidite veya sağlık faydaları açısından sınıflandırılabilimleri için daha derinlemesine bir inceleme gerektirmektedir [3].

Uluslararası düzeyde, bitkisel yağların isimlendirilmesinde Kodeks Alimentarius Standardı veya Alman Yönetmelikleri esas alınmaktadır. İki standartta, mekanik ekstraksiyonla elde edilen zeytinyağı haricindeki bitkisel yağlar için kısmen birbirini tutmayan tanımlar bulunmaktadır. Kodeks Alimentarius Standardı’nda sınıflandırma, natürel yağ ve soğuk pres yağı olarak; Alman Standardı’nda ise natürel, rafine edilmemiş ve rafine edilmiş yağlar olarak yapılmış, soğuk pres ise ek bir kalite özelliği olarak belirtilmiştir [3].

Bitkisel yağlar için Codex Alimentarius Standardı’ndaki açıklamalar incelendiğinde şu tanımlar bulunmaktadır: Natürel yağlar, yağın doğal yapısını değiştirmeden, presleme gibi mekanik prosedürlerle ve sadece ısı uygulaması ile elde edilen yağlardır; yağa, suyla yıkama, çöktürme, süzme ve santrifüjleme gibi ardıl saflaştırma işlemleri yapılabilir. Tüm proses süresince ısı uygulamasına izin vardır; fakat yağın doğasının değiştirilmemesi sınırlaması getirilmiştir. Kolza yağındaki klorofil gibi bir takım bileşenler ısıya karşı duyarlı oldukları için, bu tür bileşenleri bulunan yağlarda ısıtma yasaklanmıştır. Soğuk pres yağlarında ise, yağın herhangi bir üretim basamağında ısıtmaya izin verilmemektedir. Dolayısıyla, soğuk pres yağları natürel yağlar sınıfındandır; fakat natürel yağlar mutlaka soğuk pres yağı değildirler [3].

Alman Yönetmelikleri'nde bulunan tanımlamalar ise şu şekildedir: Natürel yağ için, hammaddenin hazırlanmasında, preslemede ve presleme sonrasında ısı uygulaması yasaklanmıştır. Elde edilen yağın yıkanması, süzülmesi veya santrifüjlenmesine ise izin verilmiştir. Presleme süresince kendiliğinden olan ısı artışı için ise, herhangi bir sıcaklık sınırlaması getirilmemiştir. Alman Yönetmelikleri'ndeki natürel terimi, Codex Alimentarius tarafından yapılan soğuk pres tanımına uymakta, ısının dahil edilmemesi ile ise Codex tanımlarındaki natürel teriminden ayrılmaktadır. Natürel yağın her iki tanımında da ana nokta, yağın doğal bileşiminin üretim prosesi boyunca değiştirilmemesidir. Günümüzdeki mevcut analitik standartlar, ısı kullanımını men etmektedir; çünkü şu anki duyu ve analitik metotların hassaslık ve saptama sınırlarının genişliği nedeniyle, yağ bileşimindeki herhangi bir değişim kolaylıkla saptanabilmektedir. Rafine edilmemiş yağlar, rafine edilmiş ve natürel yağlar arasında özelliklere sahiptir. Presleme ile mekanik ekstraksiyonun yanında, hammaddeye ısı uygulanması ve santrifüjlemeye izin verilmiştir. Verimi arttırmak veya özel bir kavrulmuş tat elde etmek için, hammaddeye ısı ön işlem yapılması yasaklanmamıştır. Rafine edilmemiş yağlar için serbest bırakılmış diğer bir proses basamağı ise, yağların raf ömrünün arttırılması için sadece gereken oranda sıcak su buharı kullanılmasıdır. Pratikte, 100-150°C arasındaki sıcaklıklar kullanılmaktadır. Bu işlemin beraberinde getirdiği problem istenmeyen kötü koku ve tat aromalarının yağda kalması, tipik tat ve kokudan sorumlu aroma bileşenlerinin ilk olarak uzaklaşmasıdır. Sadece daha yüksek sıcaklıklar bu istenmeyen bileşikleri uzaklaştırabilir; fakat sonuçta elde edilen yağ neredeyse tatsız bir yağ olur. Böyle bir yağ, ne natürel ne de rafine edilmemiş yağdır; çünkü Alman yönetmeliklerine göre her iki tip yağ da söz konusu meyve veya tohumun tipik tadını korumalıdır. Piyasada kavrulmuş hammaddelerden elde edilmiş yağlar (kabak çekirdeği yağı) veya sıcak su buharıyla işlem görmüş yağlar bulunmasına rağmen, Codex Alimentarius tarafından rafine edilmemiş yağ için bir tanım yapılmamıştır. Alman Standartları'ndaki soğuk pres yağı tanımında ise, natürel yağlar ve rafine edilmemiş yağların, herhangi bir ısı uygulama olmaksızın, hammaddenin dikkatli ve hassas bir şekilde gerçekleştirilen mekanik ekstraksiyonu ile elde edilmesi durumunda soğuk pres yağı olarak etiketlenebileceği belirtilmiştir. Hammaddenin hazırlanmasında ve/veya presleme ardından elde edilen yağa, ısı ön işlem yapılmasına izin verilmiştir. Soğuk pres terimi yönetmelik çerçevesinde ek bir kalite özelliği olarak nitelendirilmiştir ve hassas

ekstraksiyon koşullarına işaret eder. Isı uygulamasıyla, Codex Alimentarius'taki soğuk pres yağı tanımından ayrılmaktadır [3].

Uzman olmayan insanlar olarak tüketiciler için, tüm bu tanımlar arasındaki farkı kavramak güçtür; dolayısıyla natürel yağlar ve soğuk pres yağları eş anlamlı kabul edilirler. 2002 yılında Alman Zirai Pazarlama Birliği (CMA) tarafından yapılan bir araştırmada, ev idaresinden sorumlu 1000 kişinin %68'inin "natürel" ve "soğuk pres" ürünlerin lezzet ve kalite bakımından eş anlamlı olarak anlaşıldığını ortaya koymuştur [3].

Üreticiler ve perakende satıcılar, ne yazık ki, ısı işlem görmüş tohumlardan elde edilen veya sıcak su buharıyla işlem görmüş yağları "rafine edilmemiş" terimini kullanmadan natürel veya soğuk pres yağı olarak etiketlemektedirler. Bu durum, gerçek natürel yağ üreticileri için de bir dezavantaj oluşturmaktadır. Çünkü, Codex Alimentarius veya Alman yönetmelikleri tanımları doğrultusunda, gerçek natürel yağ üreticilerinin optimum hammadde mevcut olmadığı için yağ kalitesini arttırmak konusunda hiçbir imkanları bulunmamaktadır [3].

Isıl işlem görmüş hileli hammadde veya yağ, yağda kavrulmuş veya yanmış bir tat oluşmuşsa duyuusal değerlendirme ile saptanabilir. Ayrıca, oligomer triağılgiseroller, trans yağ asitleri, steradienler veya klorofillerin bozunma ürünlerinin oranları (özellikle kolza yağında) gibi kimyasal parametreler kullanılarak da belirlenebilir [3].

Piyasada ürün etiketlerindeki karışıklığı ortadan kaldırmak için, Alman Yağ Bilimi Derneği var olan Alman Yönetmelikleri'nde güncelleme talep etmiştir.

- Natürel yağ terimi, hiç ısı işlem görmeyen doğal veya ham formdaki yağlar için kullanılmalıdır. Sadece işlem görmemiş hammaddenin vidalı pres veya diğer bir mekanik ekstraksiyon cihazı ile preslenmesi ve elde edilen yağın çöktürme, santrifüjleme ve süzme ile saflaştırılması ile elde edilen yağ, natürel yağ olarak etiketlenmelidir.
- Rafine edilmemiş yağ terimi kaldırılmalıdır.
- Alman yönetmeliklerinde yapılan soğuk pres yağı tanımında, Codex Alimentarius tarafından yapılan tanımın aksine, sadece ekstraksiyon prosesinden bahsedilmekte ve bu basamakta ısı uygulaması istenmemektedir. Bu yüzden, soğuk pres yağları kavrulmuş tohumlardan elde edilebileceği gibi

soğuk presleme ardından sıcak su buharı uygulamasına da maruz bırakılabilir. Fakat böyle uygulamalar etiket üzerinde belirtilmelidir.

Kavrulmuş tohumlardan elde edilen yağ “kavrulmuş tohumlardan soğuk presle elde edilmiştir” veya sıcak su buharıyla işlem görmüş yağ “soğuk pres yağı, buharla işlem görmüş” şeklinde etiketlenecektir. Kurallara bakılırsa, natürel yağ “soğuk pres yağı, natürel” olarak etiketlenebilir; fakat yeni öneriye göre “natürel” terimi zaten “soğuk pres” terimini içermektedir. Dolayısıyla, natürel yağlar soğuk pres yağlarıdır; fakat soğuk pres yağlarının tamamı natürel yağ değildir [3].

Bu sınıflandırma ve tanımlamalar doğrultusunda “Hangi yağ daha iyidir?” sorusu sıklıkla sorulmaktadır. Bu noktada ise, farklı açılardan değerlendirme yapmak gerekliliği ortaya çıkmaktadır [3].

İşleme açısından bakıldığında, natürel yağ kalitesi, uygulanan işlemlere çok fazla bağlı olmayan, kullanılan hammaddenin kalitesiyle doğrudan ilişkili olan doğal bir üründür. Daha önceden de söylenildiği gibi üretici kalitesiz bir hammaddeden başladığında, yağın kalitesini arttırmak için hiçbir şansı yoktur. Yüksek tohum kalitesi, natürel yağ üretiminde en fazla önem taşıyan ayrıntıdır. Piyasadaki natürel yağların kalitesindeki büyük farklılık, hammaddelerin kalitesindeki büyük farklılığın bir sonucudur ve bu bir sorun olarak ortaya çıkar. Bu farklılıklar duyuşal değerlendirme ile veya yağın oksidasyon stabilitesini etkileyen bazı minör bileşenlerin (serbest yağ asitleri, metal iyonları, klorofil gibi) varlığıyla belirlenebilir. Tüketici için, natürel yağın bulunduğu şişenin görsel değerlendirilmesi, maalesef, kalite hakkında hiçbir bilgi vermez. Natürel yağların aksine, rafine yağlar kapsamlı birçok işlemde geçirilir ve dolayısıyla standartlaştırılmış kalitede yağ elde etmek mümkündür. Büyük tesislerde geliştirilen uygun kalite yönetim sistemleri ile hep aynı kalitede yağ elde etmek mümkündür. Bu tüketici için bir şanstır, tüketici, yıl boyunca rafine bitkisel yağ satın alabilir ve yemek hazırlamak için istediği kalitedeki yağı aldığına emin olabilir [3].

Çevresel açıdan bir değerlendirme yapılacak olunursa, küçük ve orta ölçekli tesislerde gerçekleştirilen natürel yağ üretimi, bölgesel malzeme sirkülasyonuna dayanır. Bu, tüketicinin natürel yağı tercih etmesinin nedenlerine katkı sağlayan bir özelliktir.

Bileşim, bir diğer önemli değerlendirme açısidir. Tüketicinin, natürel yağların rafine yağlardan daha sağlıklı olduğunu kabul etmesine neden olan farklı ekstraksiyon prosesleri, ekstraksiyon sonrasında elde edilen yağın bileşimindeki kesin farklılıklarla sonuçlanır. Gerçekten, natürel yağların işlenmesi esnasındaki hassas ekstraksiyon işlemi, tokoferoller, steroller, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi doğal bileşimi gösteren, yağda çözünabilir tüm bileşenleri korur. Bu ise, natürel yağların renklerinin hangi bitkiden elde edildiğinin göstergesi olduğunu anlamaya, daha genel haliyle tat ve koku ile duyuşal algılamaya olanak sağlar. Kavrulmuş tohumlardan soğuk presleme ile elde edilen yağlar, özel bir durum ortaya koyar; çünkü ön ısıtıl işlem yağın oksidasyon stabilitesinin daha yüksek olmasına neden olur. Bu durum, presleme sırasında antioksidanların daha iyi ekstrakte edilebilmesiyle açıklanmaktadır. Buna karşın, rafine yağlar tat ve koku olarak nötr, renk olarak ise solgundur. Rafinasyonda, karotenoidler ve fenolik bileşenler neredeyse tamamen uzaklaştırılır, vitamin E-aktif bileşenler ve fitosteroller ise %10-40 oranında azalır. Besinsel açıdan bakıldığında, rafine yenilebilir yağların insanlara yeterli miktarlarda tokoferol ve fitosterol içeriğı sağladıklarını; karotenoidler ve fenolik bileşenler açısından, insanların ihtiyaçlarını sağlamada ana tedarikçi olmadıklarını söylemek önemlidir. Yağlarda rafinasyon sırasında %1'in üzerinde trans yağ asidi oluşabilirken, natürel yağlarda trans yağ asitlerinin miktarı %0.2'den azdır. Sıcak su buharı ile işlem gören soğuk pres yağlarında, sıcaklığa bağılı olarak %0.2'den fazla, fakat %1'i geçmeyen oranlarda trans yağ asidi bulunabilir. Bu miktar, besin değeri olarak güvenli kabul edilmektedir [3].

Uygulama ve kullanım alanlarına bakıldığında ise, natürel yağ tüketimi esas olarak, salata veya benzeri besinlerde karşımıza çıkacaktır. Buradaki önemli faktör, natürel yağın tipik koku ve tadının besinle birlikte alınması ve lezzeti arttırmasıdır. Az yağda pişirme veya kızartmada natürel yağ kullanımı önerilmemektedir. Bu uygulamalarda kullanılacak olan yağlar rafine yağlar olmalıdır [3].

Sonuç olarak, az işlem görmeleri nedeniyle tüketiciler tarafından, natürel yağlar daha iyi yağlar olarak benimsenmişlerdir. Fakat yapılan çalışmalar ve literatür taramaları ise, hangi yağ daha iyidir sorusu için iyi veya kötü yağ olmadığı, sadece yemeklik kullanıma uyan veya uymayan yağ olduğu şeklinde bir cevaba işaret etmektedir [3].

2.2 Yağlı Tohumlara Uygulanan Ön İşlemler

Daha önce bahsedildiği gibi, soğuk pres yağlarına olan ilginin artışı, üreticileri, soğuk pres yöntemi ile yağlı tohumlardan yağ elde etme prosedürünün beraberinde getirdiği ticari ve besinsel dezavantajları giderme çalışmalarına yöneltmiştir. Bu doğrultuda, diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha düşük verim sağlayan ve yağ kalitesinin birebir tohum kalitesiyle ilişkili olduğu bu yöntem için, verim ve kalite arttırmaya yönelik ön işlem uygulamaları gündeme gelmiştir. Verimi zaten yüksek olan yöntemlerle elde edilen rafine yağlarda, ekstraksiyondan sonra uygulanan rafinasyon basamaklarında giderilebilen bazı kalite sorunları, soğuk pres yönteminde üreticilerin karşısına çıkmaktadır [3, 6-7].

Yağlı tohumlardan bitkisel yağ elde etmek için tohumların ezilmesi, triaçilgliserol (TAG) ve tohumun özünde bulunan enzim sistemi arasında temas ara yüzeyi oluşturur. Bu temas süresince, aktif enzimler yağ kalitesinde düşüşe neden olur (Örneğin fosfatitlerin oluşumu veya hidrolizlenmesi). Bundan dolayı, yağ kalitesine potansiyel olarak zararlı etkileri bulunan bu enzimlerin yok edilmesi, yağ kalitesini artırma yöntemlerinden biridir [7].

Bazı yağlı tohum ve meyveler, özellikle çok yüksek lipaz aktivitesine sahiptirler. Bunların en yaygın olarak yağ eldesinde kullanılanları zeytin, palm, pirinç kepeği ve çörek otudur. Lipaz enzimi, olgunlaşmış ve sağlam haldeki tohum ve meyvelerde inaktif iken; hasat, depolama, yağ ekstraksiyonu gibi işlemler esnasında yağlı doku parçalanmasıyla ortamda bulunan nemin de etkisiyle trigliseridleri hidrolizleyerek yağların serbest yağ asidi içeriklerinin artmasına neden olur. Özellikle ekstraksiyon öncesinde tohumların öğütülmesi, enzim ve yağın temasını sağladığı için bu tür hammaddelerden elde edilen yağın serbest yağ asidi içeriği hammadde özelliklerine, öğütme ile ekstraksiyon arasındaki depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak %60-70 gibi değerlere ulaşabilmektedir. Bu nedenle, yüksek lipaz aktivitesine sahip yağlı hammaddelerden düşük serbest yağ asidi içerikli yağ elde etmek için, hammaddenin lipolitik hidrolizden korunması, yani stabilizasyonu gerekmektedir. Stabilizasyon, yüksek sıcaklık uygulayarak veya bazı kimyasallarla muamele ederek enzimin protein yapısını bozma ya da düşük sıcaklık ve pH'ta depolayarak enzim aktivitesini minimum düzeyde tutma işlemidir. Çalışmalar, tohum türlerine göre sıcaklık etkisini, uygulama metodunu ve sıcaklığı veya kullanılacak kimyasalın bileşimini, uygulama şartlarını belirleme üzerine yapılmaktadır.

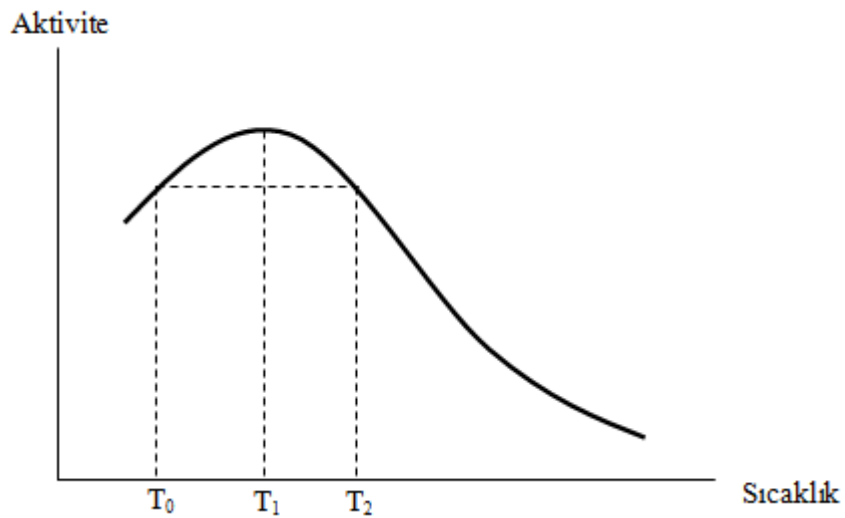
Yağlı hammaddelerde stabilizasyonu sağlamak için uygulanan ön işlem çalışmaları özellikle yağ içeriği oldukça yüksek olan pirinç kepeği üzerine yoğunlaşmıştır. Ön işlem olarak ısı etkisiyle de stabilizasyonu sağlanan pirinç kepeği için farklı bir stabilizasyon yöntemi olarak hidroklorik asit ile veya etanol/sulu etanol ile muamelesi farklı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur [6].

Yağlı tohumlara uygulanan ön işlemler için yapılan literatür taraması sonucunda, bu uygulamaları 4 gruba ayırmanın uygun olduğu görülmüştür.

2.2.1 Isı etkisi

Tohumları, yapılarında bulunan enzimin aktivitesini kaybedecekleri belirli bir eşik sıcaklık değerinin üzerine ısıtmak enzim aktivitesini bozmak için uygun ve pratik bir yöntemdir.

Enzim aktivitesinin, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak çizimi Şekil 2.1’de görülmektedir. Enzim deaktivasyonu, T_2 sıcaklığında başlamaktadır. T_0 ’dan T_2 sıcaklığına ilerlendikçe, enzim aktivitesi başlangıçta artar ve artan sıcaklıkla azalmaya başlamadan önce, T_1 sıcaklığında maksimum değerine ulaşır. Sonuç olarak, enzimin yüksek aktivite seviyelerindeki istenmeyen enzimatik olayları azaltmak için, deaktivasyon eşik sıcaklığı olan T_2 sıcaklığına mümkün olduğunca hızlı çıkılmalıdır. Yani, kısa bir zaman aralığında yüksek sıcaklığa erişilmelidir [7].



Şekil 2.1 : Sıcaklığın fonksiyonu olarak enzim aktivitesinin değişimi [7].

Esas olarak tohumun yapısında bulunan enzimleri inaktive etmek maksadıyla kullanılan ısıl ön işlem, hücrelerdeki proteinlerin denaturasyonu, hücre duvarlarının daha geçirgen hale gelmesi ve sıcaklığın artışına bağlı olarak yağın viskozitesinin

düşmesiyle, presleme esnasında sıvının (yağ), katı matris arasından akışını kolaylaştırma, dolayısıyla presleme yöntemi ile yağ verimini arttırmada da etkili olmaktadır [8].

Tohumlara ısı transfer etmek için uygulanan farklı yöntemler mevcuttur. Farklı teknikler, konveksiyon, kondüksiyon ve radyasyon gibi farklı ısı transfer mekanizmalarını esas alır. Sıcak buharla muamele ve fırında kavurma yöntemleri, kondüksiyon ve konveksiyonun birleşik etkilerine dayanmaktadır. Suyun faz geçişi dolayısıyla 120–145°C’de buharla yapılan uygulamalarda, çevreden tohuma oldukça etkin bir ısı transferi sağlanmaktadır. Radyasyonla ısı transferi ise, ağırlıklı olarak kızılötesi veya mikrodalga gibi elektromanyetik alanlardan enerji absorpsiyonu ile ortaya çıkar. Absorblanan ısı, tohumun bu özel frekanslardaki geçirgenliğine bağlıdır. Isıtma mekanizmaları farklı olduğunda, tohumların ısınmasında ve dolayısıyla elde edilen yağ kalitelerinde farklılık görülecektir [7-10].

Tohumların buharla muamelesi, Lurgi’nin ALCON prosesinde ticari olarak kullandığı bir prosestir. ALCON prosesinde, sıcak buhar yöntemi ile kolza tohumlarındaki mirosinaz enzimi deaktive edilerek anti-beslenme faktörlerinin yok edilmesi ve yemek kalitesinin artırılması amaçlanmıştır. ALCON prosesi ile muamele gören kolza tohumlarından elde edilen yağın fosfor içeriği açısından da oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, hızlı ısınmaya olanak sağlayan etkin ısı transferi nedeniyle mikrodalga ve kızılötesi gibi elektromanyetik radyasyon ile ısıtmaya artan bir ilgi vardır. Mikrodalga ile ısıtmanın etkileri üzerine yapılan araştırmalarda, fosfolipaz D ve mirosinaz enzimlerinde aktivite düşüşü, lipaz ve lipoksigenaz enzimlerinde inaktivasyonun sağlandığı görülmüştür.

Total SYA üretimi, biyokatalitik ara yüzey ve lipaz aktivitesinin bir ürünüdür ve dolayısıyla lipaz-yağ ara yüzeyindeki artış, yağda gözlenen SYA oranı artışı ile ilişkilidir. Mikrodalga ile ısıtmadaki lokal aşırı ısınmalar, hücre bozulmalarına yol açmakta ve bu durum ara yüzey artışını açıklamaktadır. TEM görüntülerinden bu olgu kanıtlanmaktadır. Ancak, mikrodalga ile ısıtmanın yağda ortaya çıkardıkları organoleptik değişimlerin, geliştirilmiş oksidasyon stabilitesinin olumlu karşı etkilerinden daha zararlı olduğu ortaya konmuştur [7].

Kolza yağının oksidasyon stabilitesi, tohumlara uygulanan ısı ön işlem sıcaklığının artışı ile belirgin bir artış göstermektedir. Bu artış artan fenolik tip antioksidan miktarı ile açıklanmaktadır. Ticari önemi olan yağlı tohumlar arasında, potansiyel

birer doğal antioksidan olan fenolik bileşenlerin en yüksek miktarda kolza tohumlarında bulunduğu (sinapik asit ve türevleri); fakat bunların çok az bir kısmının yağa geçebildiği, büyük oranda küspede kaldıkları bilinmektedir. Kolza yağında, fenolik bileşenlerden en çok kanolola (2,6-dimetoksi-4-vinilfenol) rastlanmaktadır. Kanolol, kolza tohumlarındaki en baskın fenolik bileşen olan sinapik asidin ısıtma işlemi süresince uğradığı dekarboksilasyon ile oluşan, yüksek aktiviteli antioksidan olan bir bileşiktir. Dolayısıyla, kanolol içeriğinin artışı ile oksidasyon stabilitesinde de artış görülmektedir [8-11]. Spielmeier ve arkadaşları, kavurma sıcaklığı olarak 160-165 °C'nin en iyi verimi sağladığını, bu sıcaklığın yağ asitleri veya tokoferoller üzerinde negatif bir etki yaratmadığını, yağa hoş bir aroma kazandırdığını göstermişlerdir [9]. Kolza ve ayçiçeği yağlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada ise, kolza yağının aksine ayçiçeği yağının oksidasyon stabilitesinin ısıtma işlemi sıcaklığı ile büyük artış göstermediği belirlenmiştir. Bu durum, kolza tohumlarında bulunan sinapik asidin yağdaki çözünürlüğünün, ayçiçeği tohumlarında bulunan oldukça polar klorojenik asitten daha yüksek olması ile açıklanmıştır. Tokoferol seviyelerinin ısıtma işlemi sıcaklığı veya metot ile değişim göstermediği, total fosfor miktarının ise sıcaklık ile artış gösterdiği saptanmıştır [7].

2.2.2 Maserasyon etkisi

Maserasyon işlemi, en basit ekstraksiyon işlemidir. En genel haliyle bir katı madde ya da ortamın, bir sıvı tarafından yumuşatılması olarak tanımlanabilir. Bu yöntemde öğütülmüş katı materyal uygun bir çözücü ile karıştırılır, bir süre bekletilir ve sonra süzülür.

Daha önceden de bahsedildiği gibi etanol, GRAS özellikli bir çözücü olduğu için stabilizasyon çalışmalarında tercih edilmektedir. Ayrıca, bitkisel yağların etanoldeki çözünürlüğünün, etanolün kaynama noktası yakınında oldukça fazla artış gösterdiği, normal veya düşük sıcaklıklarda ise çok düşük olduğu bilinen bir gerçektir [12]. Bu durum ise, çözücü ekstraksiyonu amacı gütmeyen bu tür ön işlem uygulamalarında oda sıcaklığında etanol kullanımını gerektirmektedir.

Champagne ve arkadaşlarının, kahverengi pirincin sulu etanol ile enzimatik hidrolize karşı stabilize edilmesi konusunda yürüttüğü çalışmada nemli veya kuru sıcak hava ile muamele etme, yarı haşlama veya ön kavurma ısıtma işlemleriyle tohumun stabilizasyonuna alternatif sağlamışlardır. Bu alternatif yaklaşım, organik bir çözücü

ile ekstraksiyon sonucu lipaza substrat sağlayan tohum yağıının uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu amaçla, organik çözücü olarak oda sıcaklığında %95'lik etanol ve hekzan kullanılmıştır. Sıcaklığın etkisini görmek için ise etanolle yapılan ekstraksiyonlar ortam sıcaklığında ve 70°C'de yapılmıştır. Oda sıcaklığında etanol kullanımı, daha az yağın etanolde çözünmesi, yararlı bileşenler açısından daha az kayba neden olması, etanolün süzülüp uçurulmasının ardından taneler üzerinde daha az kalması, mikroorganizmaları öldürmesi, serbest yağ asidi içeriğini düşürmesi ve sabit tutması, oksidatif bozunmaya karşı da etkili sonuçlar vermesi ve ekonomik açıdan da en kabul edilebilir olması nedeniyle en etkili yöntem olarak belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, etanolün tohum stabilizasyonundaki farklı etki mekanizmaları açıklanmıştır. Buna göre etanol, lipazın denatürasyonunu sağlayarak enzimi deaktive etmesi, organizmaları öldürerek bakteri ve küf oluşumunu azaltması ve daha önce belirtildiği gibi lipaza substrat teşkil eden yağın uzaklaştırılması ile bu şekilde etki edebilmektedir. Etanol ve hekzan karşılaştırmasında ise, etanolün serbest yağ asidi oluşumunu engellemede ve serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılmasını sağlamada hekzandan daha etkili bir çözücü olmasının yanı sıra hekzandan çok daha tehlikesiz olması, hekzanın aksine tohumda kalan az miktardaki etanolün insan tüketimi için uygunsuzluk ortaya koymaması gibi sebeplerle etanol tercihi desteklenmiştir [13].

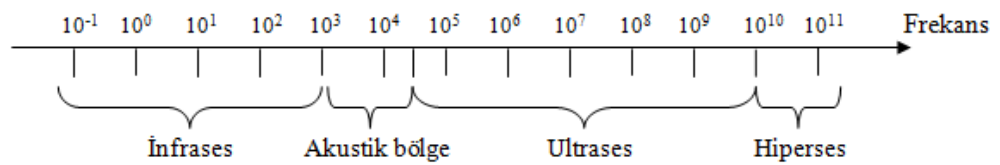
Başka bir çalışmada ise, yağlı tohum ve küspelerin lipolitik hidrolize karşı etanol ile stabilizasyonu incelenmiş ve bu amaçla çörek otu tohumu ve pirinanın etanol içinde bekletilmesiyle ortaya çıkan sonuçlar tartışılmıştır. Etanolün, lipaz ve lipaz üreten bakteri ve küfleri denatüre ettiği bilindiğinden etanol tercih edilmiştir. Çörek otu deneylerinde, belirli tanecik boyutunda öğütülen tohumlar ve temin edilen zeytinlerin preslenmesiyle laboratuvar koşullarında elde edilen pirina %96'lık etanolde ortam sıcaklığında bekletilerek maserasyon sağlanmış ve belirlenen süreler sonunda süzülerek alkolden ayrılıp yine oda sıcaklığında bekletilerek kalan etanolün de buharlaşması sağlanmıştır. Ortam sıcaklığında bekletilen numunelerin belirli aralıklarla serbest asit içeriklerindeki değişim gözlenmiştir. Sonuç olarak pirinanın etanol ile muamele görmesi lipolitik hidrolizlenme hızını oldukça düşürmüş, maserasyon süresinin uzatılması ise belirgin bir etki yaratmamıştır. Çörek otu tohumlarında ise daha farklı bir sonuç elde edilmiştir. Etanol ile muamele edilmiş numunelerde hidrolizlenme hızı azalmış; ancak reaksiyonu durdurmak mümkün olamamıştır. Dolayısıyla, pirina ve çörek otundaki lipazların aktivite yönünden

farklılıklar gösterdiği ve etanolün pirinadaki lipazların inaktivasyonunu tamamen sağlarken, çörek otundaki lipazları kısmen deaktif hale getirebildiği anlaşılmıştır. Ayrıca, etil alkol ile muamelenin, tohum ve küspedeki serbest yağ asitlerinin bir kısmının alkolde çözünerek giderilmesini sağladığı da görülmüştür [6].

Lipazın ısı ile denatürasyonu üzerine yapılan bir çalışmada ise, nem içeriğinin lipazın etanol ile denatürasyonunda önemli bir parametre olduğu ortaya konmuştur. Düşük nemli ortamlarda lipazın serbest yağ asitleri tarafından korunarak tersinir bir şekilde denatüre olduğu ve nem içeriğindeki artışla tekrar aktif hale geldiği saptanmış, nemli ortamlarda ısıtmanın ise enzimlerde kalıcı deaktivasyon sağladığı görülmüştür [14].

2.2.3 Ultrasonik etki

Ultrason (ultrases) dalgaları, insan kulağının duyabildiği frekans sınırlarının (20 Hz – 20 kHz) üzerindeki mekanik titreşimlerden oluşan bir enerji çeşididir. Başka bir deyişle, frekansı 20 kHz'den daha yüksek olan ses dalgaları, ultrases olarak tanımlanabilir. Şekil 2.2'de sonik bölgeler görülmektedir. Ultrasonik dalgalar, vakumda hareket edemez, hareket etmek için bir maddenin varlığına ihtiyaç duyarlar. Frekansları ve dalga boyları ile karakterize edilirler. Dalgaların genlik veya şiddetleri, endüstriyel uygulamalardaki sınıflama açısından önemli bir parametredir: düşük şiddetli ultrason (LIU - $1\text{W}/\text{cm}^2$ 'den düşük), yüksek şiddetli ultrason (HIU - $10\text{-}1000\text{ W}/\text{cm}^2$) uygulamaları mevcuttur. HIU, 2.5 MHz'den yüksek frekanslarda, proses veya ürünlerin hücrelerin fiziksel bozunmayla değişmesini sağlamak amacıyla; LIU ise proses veya ürünlerin kalite kontrolünde kullanılır. Dalgalar, katı-sıvı ortamında parçacıkların boyuna veya enine dalgalar veya yüzey dalgaları olarak yayılırlar. Gazlar ve sıvılarda, yalnızca boyuna dalgalar yayılabilir [15-18].



Şekil 2.2 : Sonik bölgeler [21].

Ultrason etkisinde oluşturulan mekanik titreşimler, mekanik basınç dalgalarına dönüşerek enerjiyi ortama, ortam da dalga ile temas eden maddeye iletir. Titreşime başlayan madde molekülleri, hareketlerini komşu moleküllere aktararak başlangıç konumuna geri döner. Dolayısı ile, ultrason dalgalarının madde içindeki etkisi,

genleşme ve sıkışma döngüleri şeklinde ortaya çıkar. Moleküllerin sıkıştığı noktalarda basınç normal değerinin üzerine çıkarken, moleküllerin birbirlerinden uzaklaştığı noktalarda normal değerinin altına iner. Bu davranış, kavitasyonla sonuçlanan bir dizi olayı beraberinde getirir. En basit haliyle kavitasyon, söz konusu sıvı ortamın içinde kabarcıkların oluşumunu takip eden patlamalardır. Basınç, genleşme fazında molekülleri bir arada tutmak için gereken kritik basıncın altına düştüğünde sıvı kırılarak, sıvı içerisinde boşluklar, yani kabarcıklar oluşur. Basınç maksimum negatif değerine ulaşıncaya kadar büyüyen bu kabarcıklar, sıvının doymuş buharı ile doludur. Basınç sıkıştırma evresinde pozitif değerlere çıkınca ise kabarcıkların hacmi küçülür ve kabarcık içinde yoğunlaşan buhar artan basıncının etkisi ile kabarcığı patlatmaya (çökmeye) zorlar. Kabarcıkların tamamen ve kısmen çökmesi esnasında saniyelik şok dalgaları oluşur ve 1000 atm'nin üzerinde basınç ve büyük bir enerji açığa çıkar. Bu enerji, kabarcıkların bulunduğu bölgelerde lokal olarak çok yüksek sıcaklıklarda noktaların oluşumuna neden olur. Bahsedilen bu mekanizma ise, ultrason teknolojisinin çok çeşitli alanlarda kullanımına olanak sağlamaktadır.

Katı-sıvı sistemleri düşünüldüğünde, ara yüzeyler sistemin kararsız bölgeleridir. Böyle bir sisteme uygulanan ultrason dalgaları, genleşme fazında ara yüzeylerde hava kabarcıkları oluşumu ve takip eden sıkıştırma fazında bu kabarcıkların patlamasıyla etkinliğini gösterir. Katı-sıvı sistemlerinde ultrasonun en önemli etkisi, kavitasyon simetrisine dayandırılan mekanik etkidir. Kabarcıklar tarafından sıvıda oluşturulan sıcak noktalar, simetrik yığılma; şok dalgaları ise, katı parçacıklarını çevreleyen ara yüzey filmlerinde mikroskobik türbülans yaratılarak üretilir. Bu olay “mikro akımlandırma” olarak adlandırılır ve artan difüzyon hızı ve film boyunca artan kütle transferi ile sonuçlanır. Kavitasyon kabarcıklarının katı hücre duvarlarının yakınında sönmeleri, hücre bozulmasına neden olur. Sonuç olarak da, hücre içine penetrasyon kolaylaştırılmış olur ve kütle transferinde artma görülür. Bu tip dalgaların katı yapısındaki bir diğer etkisi, hücre duvarlarındaki porların genişlemesine neden olan şişme ve hidrasyonu kolaylaştırmasıdır. Bu etki de, difüzyonu geliştirecek ve kütle transferini arttıracaktır.

Kavitasyon kabarcıkları, yüksek buhar basıncına, düşük viskoziteye ve düşük yüzey gerilimine sahip çözücülerle daha kolay oluşurken; kavitasyon intensitesi, düşük buhar basınçlı, yüksek viskoziteli ve yüzey gerilimli çözücülerle artmaktadır.

Ultrasonik frekans, kabarcık kritik boyutunu değiştirerek kavitasyon prosesini etkiler; düşük frekanslar daha kuvvetli kavitasyon sağlar.

Ultrasonik ses dalgalarını ortama yaymak için ultrasonik ses üreten cihazlara ihtiyaç duyulur. Tüm bu cihazlarda, akım halinde dönüştürücüye uygulanan elektrik enerjisi, mekanik enerjiye dönüştürülür. Dönüştürücü tarafından mekanik enerji olarak ortama yayılan ses dalgaları, akustik enerji oluşturur ve ultrasonik sistemdeki enerji dönüşümü sıcaklık-basınç etkisiyle oluşan kavitasyon baloncukları ile açığa çıkan kavitasyon enerjisinin elde edilmesiyle sonlanır. Ultrasonik sistem tipleri arasında en yaygını olan ultrasonik banyolar, ilk olarak temizleme işlerine hizmet için ortaya çıkmışlardır ve alt kısmında bir dönüştürücüsü bulunan veya geleneksel bir tanka batırılmış haldedirler. Ucuz ve kolay temin edilebilirler ve indirekt metotta çalıştırılırlar. Katı-sıvı karışım tankını çevreleyen akışkanın ısınması, ultrasonik enerjinin uniform olmayan dağılımı ve gücün zamanla gecikmesi önemli dezavantajlarındandır. Kavitasyon üretimi, ses dalgaları oluşturan bir cihazın işlenecek olan karışım sistemine yerleştirilmesiyle, direkt sonikasyon sayesinde sağlanabilir. Bir diğer ultrasonik ses üreten cihazlar prob sistemleridir. Prob sistemleri, genellikle laboratuarlarda kullanılmaktadır. Katı-sıvı karışım ortamına direkt etki sağlarlar ve şiddetteki değişime göre değişiklik göstermekle birlikte büyük miktarlarda gücü aktarırlar. Sabit bir ultrasonik dalganın karakteristik şiddet dağılımı aksenal yöndedir, proba yakın bölgelerde daha yüksek şiddette olmak üzere artan bir şekilde radyal yönde dağılır. Ultrasonik problemlerin banyolardan üstün özellikleri, lokalize haldeki enerjinin daha etkin bir kavitasyon sağlamasıdır.

Endüstriyel uygulamalar için kullanılan dönüştürücüler, kuartz gibi piezoelektrik maddeden yapılmış elektrik alan prensibi ile çalışan piezoelektrik cihazlar veya nikel alaşımlarından yapılan ve manyetik alanı prensibi ile çalışan manyetostriktif cihazlardır. Manyetostriktif dönüştürücülerden daha kırılğan ve 423K'den yüksek sıcaklıklarda veya yüksek darbelerde zarar görebilen piezoelektrik dönüştürücüler, genellikle küçük hacimli proseslerde kullanılırlar. Mekanik etkilere daha dayanıklı olan manyetostriktif dönüştürücüler, 523 K'den yüksek sıcaklıklarda da kullanılabilirler.

Literatürde, çok sayıda ultrason destekli ekstraksiyon uygulaması raporuna rastlamak mümkündür. Çözücü ekstraksiyonu prensibine dayandırılan bu çalışmalarda, ultrasona maruz bırakılan bitkisel dokular gibi gıda materyellerinde gözlenen fiziksel

değişimler sayesinde (hücre duvarlarının zarar görmesi), doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin elde edilmesinin kolaylaştırıldığı saptanmıştır [15-18].

2.2.4 Işınlama etkisi

Işınlama, hiçbir atık içermeyen, taze ve kolay bozulabilen gıdaların korunmasında uygulanabilen, gıdalarda radyoaktiviteye neden olmayan fiziksel bir yöntemdir. Gıdaların muhafazasında en yaygın olarak kullanılan iyonize ışın, 100 nm'den küçük dalga boyuna sahip ve penetrasyon özelliği en fazla olan gama ışınıdır. Her tür gıda maddesine uygulanamamakla birlikte, soğuk bir işlem olması nedeniyle uygulanabildiği yiyeceklerde tat ve koku değişikliğine de sebep olmamaktadır.

Khataak ve arkadaşlarının gama ışınlarının çörek otu tohumlarının ekstraksiyon verimi, total fenolik içeriği ve oksidasyon stabilitesi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, ışınlamanın bilinen mikrobiyal aktiviteyi önlemesi özelliğinin yanında, ekstraksiyon verimini ve total fenolik madde miktarını arttırması ve antioksidan özelliklerini pozitif yönde etkilemesi gibi olumlu etkileri olduğu da ortaya konulmuştur [19-20].

2.3 Yağların Oksidasyon Stabilitesi

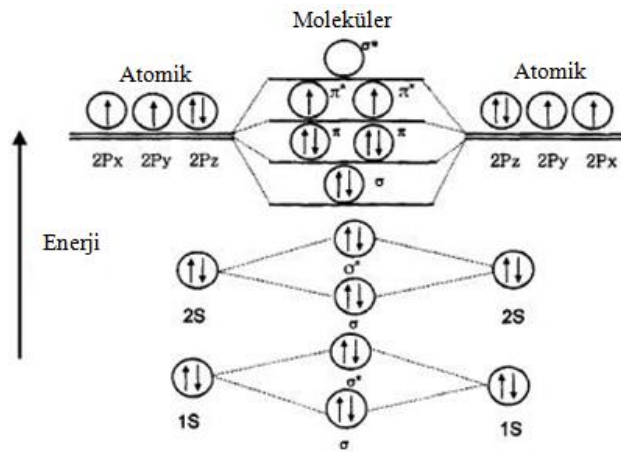
Bir yağın oksidatif stabilitesi, o yağın oksidasyona karşı olan direncidir. Bu direnç, duyuusal bir değişim veya oksidatif prosesin aniden hızlanmasıyla belirlense de, genel anlamda oksidasyonda kritik bir noktaya gelinceye kadar geçen zaman periyodu olarak ifade edilmektedir. Oksitlenmeye dayanım, yağ kalitesi ve raf ömrü için önemli bir göstergedir; çünkü oksidasyon sonucu yağda düşük moleköl ağırlıklı istenmeyen tat bileşikleri oluşur. Bu istenmeyen tat bileşikleri ise, yağın tüketici tarafından daha az tercih edilmesine veya hiç tercih edilmemesine neden olur. Dolayısıyla, yağların oksidasyonu lezzet, besinsel değeri ve toksisite açısından oldukça önemli bir kriter olarak karşımıza çıkmaktadır [21].

İşlenme ve depolanma boyunca, oksijen tipine bağılı olarak farklı kimyasal mekanizmalar yenilebilir yağların oksidasyonundan sorumludur. Yenilebilir yağlarla atmosferik triplet oksijen ve singlet oksijen olmak üzere iki tip oksijen reaksiyon verir. Otoksidasyon ve ışığa duyarlı oksidasyon ise yenilebilir yağlarda görülen önemli oksidasyon mekanizmalarıdır. Otoksidasyon, atmosferik triplet oksijenin ($^3\text{O}_2$), bir lipid radikali ile etkileştiği serbest radikal zincir reaksiyonudur. Atmosferik

triplet oksijenin kimyasal özellikleri, Şekil 2.3'te gösterilen oksijenin moleküler orbitali ile açıklanabilir. Temel halde 2 tane eşleşmemiş elektronu olan $^3\text{O}_2$, bir manyetik alanda yakın bir şekilde gruplanmış 3 enerji seviyesiyle kalıcı bir manyetik momente sahiptir ve bu yüzden triplet oksijen olarak adlandırılır. Moleküllerde bulunan 2 eşleşmemiş elektronuyla triplet oksijen, bir radikal bileşiğidir ve normal şartlar altında spin korunumuna göre radikal gıda bileşikleriyle reaksiyona girer. Işığa duyarlı oksidasyon ise ışık, sensitizer (duyarlaştırıcı) ve atmosferik oksijen varlığında gerçekleşir ve bu reaksiyonda singlet oksijen üretilir.

Singlet oksijenin ($^1\text{O}_2$), $2p\pi$ anti-bağlanma orbitallerindeki elektron dizilimi Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Singlet oksijen $2p\pi$ anti-bağlanma orbitallerindeki 1 boş orbital ile elektrofilik bir moleküldür ve manyetik alanda 1 enerji seviyesine sahiptir. $^1\text{O}_2$ doymamış yağ asitlerinin çift bağları gibi yüksek elektron yoğunluklu bileşiklerle kolaylıkla reaksiyon verir. $^1\text{O}_2$ temel halin üzerinde 93.6 kJ'luk bir enerjiye sahiptir. Çözeltide, enerjisini çözelteye transfer ederek deaktif olur ve deaktif olma süresi çözücüye bağlıdır. Suda $\sim 2\mu\text{s}$, hekzanda $17\mu\text{s}$ ve karbon tetraklorürde $700\mu\text{s}$ 'dir.

Yenilebilir yağların oksidasyonu reaksiyon enerjisi, yağ asidi kompozisyonu, oksijen tipi ve metaller, pigmentler, fosfolipidler, serbest yağ asitleri, mono ve diaçil gliseroller (MAG/DAG), termal olarak okside olmuş bileşikler ve antioksidanlar gibi minör bileşenlerden etkilenir. Bu faktörler üzerinde sistematik olarak çalışılarak yağların oksidasyon stabiliteilerini arttırmak için araştırmalar yapılmıştır [21].



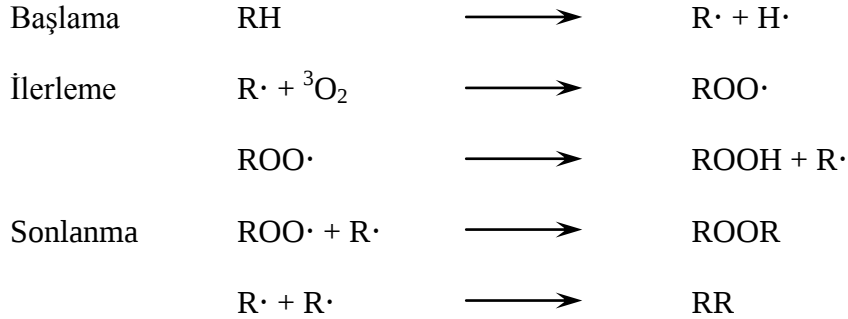
Şekil 2.3 : Triplet oksijenin moleküler orbitali [21].



Şekil 2.4 : Singlet oksijenin $2p\pi$ anti-bağlanma orbitalindeki elektron dizilimi [21].

2.3.1 Yenilebilir yağlardaki otoksidasyonun mekanizması

Bu serbest radikal zincir reaksiyonu, başlama, ilerleme ve sonlanma basamaklarından oluşur.



Singlet haldeki radikal olmayan yağ asidinin, radikal haldeki atmosferik 3O_2 ile reaksiyonu elektronik spin korunumuna göre termodinamik olarak uygun değildir. Başlama basamağında, yenilebilir yağların bileşiminde bulunan yağ asidindeki hidrojen atomu uzaklaştırılır ve lipid alkil radikalleri oluşturulur. Bu aşamada, ısı, metal katalizör ve UV veya görünür ışık, yağ asidinden serbest radikal oluşumunu hızlandırabilir. Çift bağa komşu olan hidrojen atomu, özellikle de iki çift bağ arasındaki karbon atomuna bağlı olan hidrojen atomu, kolaylıkla koparılabilir. Lipid moleküllerindeki karbon radikaline yakın olan çift bağ, daha kararlı olan diğer karbona kayar ve cis'ten trans forma geçiş söz konusu olur. Linoleik ve linolenik asitlerin otoksidasyonu ile sadece konjuge ürünler ortaya çıkar.

Lipid alkil radikalleri, diradikal atmosferik 3O_2 ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalleri oluşur. Bu reaksiyon normal oksijen basıncında çok hızlı gerçekleşir, dolayısıyla lipid alkil radikali konsantrasyonu, lipid peroksi radikali konsantrasyonundan oldukça azdır. Lipid peroksi radikalleri, diğer lipid moleküllerinden aldığı hidrojenlerle tepkimeye girerek hidroperoksit ve diğer lipid alkil radikallerini oluşturur. Bu radikaller oksidasyon reaksiyonunu katalizler ve söz konusu serbest radikal zincir reaksiyonu “otoksidasyon” olarak adlandırılır. Lipid peroksi radikalleri ve hidroperoksitlerin oluşum hızları, yalnızca oksijenin mevcudiyetine ve sıcaklığa bağlıdır. Radikaller birbirleriyle reaksiyona girdiklerinde radikal olmayan türler oluşur ve reaksiyon sonlanır.

Ana oksidasyon ürünleri lipid hidroperoksitler, oda sıcaklığında ve metal varlığında kararlıdır. Metal yokken veya yüksek sıcaklıklarda kolaylıkla alkoksi radikallerine dekompoze olurlar ve ardından aldehitler, ketonlar, asitler, esterler, alkoller veya kısa

zincirli hidrokarbonlara dönüşürler. Hidroperoksit bozunmasının en olası yolu, oksijen-oksijen bağının homolitik ayrılmasıdır ve bunun sonucunda alkoksil ve hidroksil radikalleri oluşur. Oksijen-oksijen bağını koparmak için gerekli olan 46 kcal/mol aktivasyon enerjisi, oksijen-hidrojen bağını koparmak için gerekenden azdır. Alkoksil radikali homolitik β -ayrılmasına uğrar ve okso bileşikleri, alkil ve alkenil radikallerini oluşturur. Yağların son (ikincil) oksidasyon ürünleri esas olarak düşük molekül ağırlıklı aldehit, keton, alkol ve kısa zincirli hidrokarbonlardır ve bunlar Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 : Yağ asitleri metil esterlerinin otoksidasyon sonucu bozunma ürünleri [21].

Sınıf	Oleik asit	Linoleik asit	Linolenik asit
Aldehitler	Oktanal	Pentanal	Propanal
	Nonanal	Hekzanal	Bütanal
	2-Dekenal	2-Oktenal	2-Bütenal
	Dekanal	2-Nonenal	2-Pentenal
		2,4-Dekadienal	2-Hekzenal
			3,6-Nonadienal
			Dekatrienal
Karboksilik asit	Metil heptanoat	Metil heptanoat	Metil heptanoat
	Metil oktanoat	Metil oktanoat	Metil oktanoat
	Metil-8-oksooktanoat	Metil-8-oksooktanoat	Metil nonanoat
	Metil-9-oksononanoat	Metil-9-oksononanoat	Metil-9-oksononanoat
	Metil-10-oksodekanoat	Metil-10-oksodekanoat	Metil-10-oksodekanoat
	Metil-10-okso-8-dekenoat		
	Metil-11-okso-9-undekanoat		
Alkol	1-Heptanol	1-Pentanol	
		1-Okten-3-ol	
Hidrokarbonlar	Heptan	Pentan	Etan
	Oktan		Pentan

Esas oksidasyon ürünlerinden ikincil ürün oluşum süresi, yağdan yağa farklılık gösterir. Zeytinyağı ve kolza yağlarında hidroperoksit oluşumunun hemen ardından ikincil ürünler ortaya çıkarken, ayçiçeği ve aspir yağlarında ikincil ürün oluşumu ancak hidroperoksit konsantrasyonu belirli bir değere ulaştığında başlar.

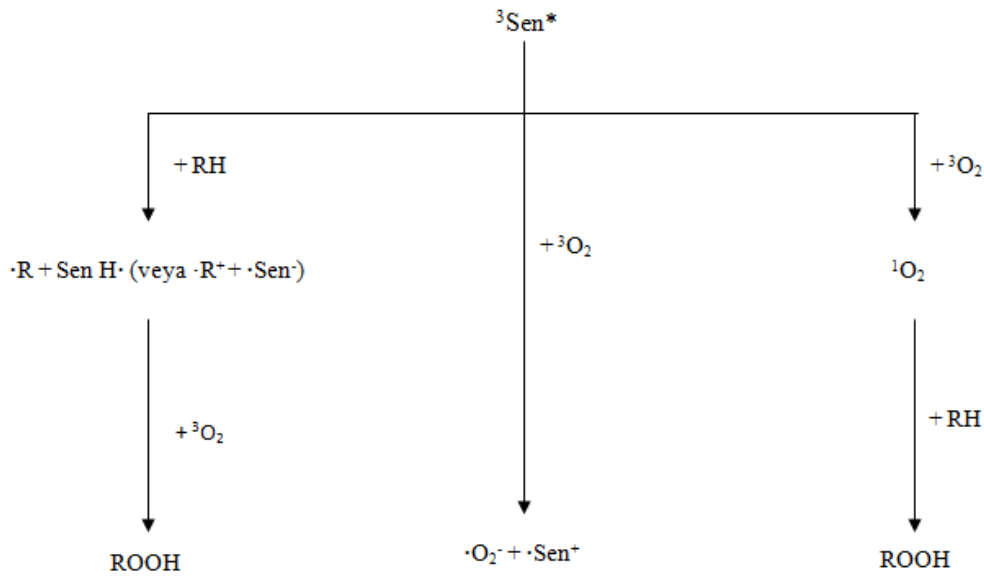
Hidroperoksitlerin bozunma ürünlerinin birçoğu, oksidasyona uğramış yenilebilir yağlardaki tat bozukluklarının sebebidir. Bu tat bozukluklarından, tek bir lezzet

bileşeni sorumlu değildir. Alifatik karbonil bileşenleri, düşük eşik değerleri nedeniyle okside olmuş yağ tadı üzerinde en fazla etkisi olan bileşenlerdir. Hidrokarbonlar, alkanallar, 2-alkenallar, trans,trans-2,4-alkadienallerin eşik değerleri sırasıyla 90-2150, 0.04-1, 0.04-2.5 ve 0.04-0.3 ppm'dir. trans,cis-2,4-dekadienal yağın oksitlenmiş tadını belirlemede en önemli bileşen iken, bunu trans,trans-2,4-dekadienal, trans,cis-2,4-heptadienal, 1-okten-3-ol, bütanal ve hekzanal takip etmektedir [21].

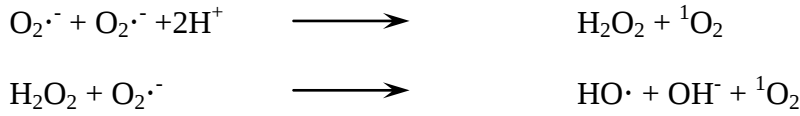
2.3.2 Singlet oksijen oluşumu ve yenilebilir yağlardaki ışığa duyarlı oksidasyonun (fotooksidasyon) mekanizması

Işık, özellikle duyarlaştırıcı varlığında yağın oksidasyonunu hızlandırır. Yenilebilir bitkisel yağlarda sıkça rastlanan duyarlaştırıcı klorofildir. Duyarlaştırıcılar, uyarılmış singlet hale geçebilmek için ışık enerjisini hızla (pikosaniyeler içinde) absorblar ve ardından ışığın emisyonuyla, iç dönüşümle veya sistemler arası geçişle temel hale dönerler. Işığın emisyonu ile floresans, iç dönüşümle ise ısı üretilir. Sistemler arası geçiş ise, duyarlaştırıcıların uyarılmış triplet hale geçişi ile sonuçlanır.

Uyarılmış triplet duyarlaştırıcı, substrattan hidrojen alarak veya substrata elektron vererek tip I radikalleri üretebilir (Şekil 2.5). $^3\text{O}_2$ ile tepkimesi sonucu elektron transferi ile süperoksit anyonunu oluşturur, süperoksit anyonu ise kendiliğinden dismutasyona uğrayarak $^1\text{O}_2$ 'ye dönüşür [21].



Şekil 2.5 : Triplet duyarlaştırıcının substratlarla reaksiyonu [21].



Triplet duyarlaştırıcının uyarılma enerjisi, ${}^1\text{O}_2$ oluşturmak üzere triplet-triplet yok edişi ile komşu ${}^3\text{O}_2$ 'a aktarılabilir ve duyarlaştırıcı temel singlet haline geri döner (tip II). Bir araştırmada, bir duyarlaştırıcı molekülünün inaktif hale gelmeden önce, 10^3 - 10^5 ${}^1\text{O}_2$ molekülü oluşturacağını raporlanmıştır. Tip I ve tip II proseslerin hızları, duyarlaştırıcı ve substrat türlerinin yanı sıra, substrat ve oksijen konsantrasyonlarına bağlıdır. Kolaylıkla okside olan (fenoller ve aminler) veya kolaylıkla indirgenen (kinonlar) bileşikler genellikle tip I prosesi; olefinler, dienler ve aromatik bileşenler gibi kolaylıkla okside olmayan veya indirgenmeyen bileşikler ise genellikle tip II prosesi tercih ederler. Yenilebilir yağların ışığa duyarlı oksidasyonu, ${}^1\text{O}_2$ 'nin oksidasyonu ile devam eder. ${}^1\text{O}_2$ 'nin lipid oksidasyonunun başlangıç basamağında bulunması önerilmektedir.

Diğer moleküllerle kimyasal olarak etkileşime giren ${}^1\text{O}_2$, bunun yanı sıra uyarılma enerjisini de transfer eder. ${}^1\text{O}_2$ doymamış lipidlerle reaksiyona girdiğinde, esas olarak ene reaksiyonu ile hidroperoksitleri oluşturur.

Elektrofilik ${}^1\text{O}_2$, alkil radikali oluşturmada direkt olarak yüksek elektron yoğunluklu çift bağlarla reaksiyona girip, bu çift bağlarda hidroperoksitleri oluşturabilir. Hidroperoksit oluştuğunda, çift bağ pozisyonları yer değiştirir ve trans yağ asitleri meydana gelir. Bu durum, otoksidasyondan farklı olarak konjuge ve konjuge olmayan hidroperoksitlerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanır.

${}^1\text{O}_2$ oksidasyonu ile oluşan hidroperoksitlerin bozunma mekanizması, otoksidasyondaki ${}^3\text{O}_2$ 'den oluşan hidroperoksitlerinkiyle aynıdır [21].

2.3.3 Yenilebilir yağların oksidasyonunu etkileyen faktörler

Yağ asidi bileşimi, yağın işlenmesi, ısı veya ışık enerjisi, oksijen konsantrasyonu ve türü, serbest yağ asitleri, monoaçıl gliserol ve diaçıl gliseroller, geçiş metalleri, peroksitler, termal olarak okside olmuş bileşikler, pigmentler ve antioksidanlar yağın oksitlenmesinde etkili olan faktörlerdir. Bu faktörler arasında etkileşimler olduğu için, bireysel etkileri ayırt etmek mümkün değildir [21].

2.3.3.1 Yağ asidi bileşimi

Doymamış yağlar, doymamışlığı daha düşük olan veya doymuş yağlardan çok daha hızlı okside olurlar. Karanlıkta depolanan soya, aspir ve ayçiçeği yağları gibi iyot değerleri 130'dan yüksek olan yağlar, hindistancevizi veya palm çekirdeği yağı gibi iyot değerleri 20'nin altında olan yağlardan belirgin bir şekilde daha kısa indüksiyon periyoduna sahiptirler. Otoksidasyon hızı, büyük oranda yağdaki alkil radikal oluşum hızına, yağ asidi alkil radikali oluşum hızı ise, esas olarak yağ asidi türüne bağlıdır. Oleik, linoleik ve linolenik asitlerin yaklaşık otoksidasyon hızları, oksijen alımı bazında 1:40-50:100 olarak belirlenmiştir.

Yağ asitleri arasında, singlet oksijen oksidasyonu için olan farklılık otoksidasyondakinden daha azdır. Stearik, oleik, linoleik ve linolenik asitler ile $^1\text{O}_2$ arasındaki reaksiyon hızları sırasıyla 1.2×10^4 , 5.3×10^4 , 7.3×10^4 ve $10.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir. Çoklu doymamış yağ asitleri, konjuge olmayan ve konjuge dienler veya trienlerin, lipid ve $^1\text{O}_2$ arasındaki reaksiyona etkileri azdır [21].

2.3.3.2 Yağın işlenmesi

Yağın oksidasyon stabilitesinde, yağın işlenmesinde tercih edilen metodun da önemi büyüktür. 6 gün 55°C 'de ve karanlıkta bekletilen soya yağları arasında, ham soya yağının oksidasyona en dayanıklı olan yağ olduğu tespit edilmiştir. Ham yağı, kokusu giderilmiş, zamksı maddeleri giderilmiş, rafine edilmiş ve renksizleştirilmiş yağlar takip etmektedir. Hekzanla ekstrakte edilmiş kolza yağının indüksiyon zamanı 10.5 ± 1.9 saat iken, 90°C 'de pres ile elde edilen kolza yağının 8.1 ± 0.7 saattir. Aspir ve susam tohumlarının ekstraksiyon öncesinde kavrulmaları, yağların oksidasyon stabilitelerini arttırmıştır. Kavurma sıcaklıkları arttıkça, yağların oksidasyona karşı dayanıklılıklarının da arttığı saptanmıştır. Bazı Maillard reaksiyonu ürünlerinin, antioksidan özellik gösterdikleri bilinmektedir; dolayısıyla kavrulmuş aspir ve susam tohumlarından elde edilen yağların oksidasyon stabilitelerinin yüksekliği, bu reaksiyon ürünlerinin stabiliteye katkısıyla açıklanabilmektedir [21].

2.3.3.3 Depolama sıcaklığı ve ışık

Yağların otoksidasyonu ve hidroperoksitlerin bozunması, depolama sıcaklığı arttıkça artar. İndüksiyon periyodu boyunca, düşük sıcaklıklarda otoksidasyon ürünlerinin

oluşumu yavaştır. Oksidasyonun ileri basamaklarına kadar, hidroperoksitlerin konsantrasyonu artar. Polimerize bileşik içeriği, otoksidasyonun indüksiyon periyodunun sonunda belirgin bir artış gösterir. 50°C’de ve karanlıkta depolanan ham ringa balığı yağındaki hidroperoksit bozunma hızı, hidroperoksit oluşum hızından daha yüksektir. 0 veya 20°C’de karanlıkta depolanan aynı yağ için ise, tam tersi bir sonuç elde edilmiştir.

Reaksiyon sıcaklığının $^1\text{O}_2$ oksidasyonu üzerine etkisi, düşük aktivasyon enerjisi nedeniyle (0-6 kcal/mol) çok azdır. Işık, bu oksidasyonda çok daha fazla önemlidir. Kısa dalga boylu ışık, uzun dalga boylu olana kıyasla daha zarar vericidir. Depolama sıcaklığı yükseldikçe ise, ışığın oksidasyon üzerine etkisi azalmaktadır. $^1\text{O}_2$ oksidasyonu, ışık varlığında gerçekleştiği için yağların ambalajlanması çok önemlidir [21].

2.3.3.4 Oksijen

Yağın oksidasyonu, yağ, oksijen ve katalizör temas halinde olduğunda gerçekleşir. Oksijenin konsantrasyonu ve türü oksidasyonda oldukça etkilidir. Yağdaki oksijen konsantrasyonu, yağın üst katmanındaki oksijen kısmi basıncına bağlıdır. Bu basınç yüksek olduğunda, yağda daha fazla oksijen çözünür ve çözünen oksijen miktarı arttıkça yağın oksidasyonu da artar. Oksijenin yağdaki çözünme ısısı, -3.7 kcal/mol’dür. Oksijenin çözünürlüğü, yağda sudakinden, ham yağda ise işlenmiş yağdakinden fazladır. 1 gram soya yağı oda sıcaklığında 55 µg oksijen çözer. Yağda çözünen oksijen miktarı, yağı karanlıkta ~10 meq/kg peroksit değerine kadar oksitlemek için yeterlidir. Yapılan bir çalışmada, 55°C’de ve karanlıkta depolanan, 2.4, 4.5, 6.5 ve 8.5 ppm çözünmüş oksijen içeren soya yağlarında oksijenin yok olma hızlarını sırasıyla 0.049, 0.058, 0.126 ve 0.162 ppm/saat olarak belirlenmiştir.

Yağın oksidasyonunda oksijen konsantrasyonunun etkisi, yüksek sıcaklıklarda ve ışık ve metal varlığında artar. Yüksek depolama sıcaklıklarındaki yağ oksidasyonunun oksijene daha fazla bağlı olmasının sebebi, oksijenin yağ içerisinde yüksek sıcaklıklardaki az çözünürlüğüdür.

Yeteri kadar yüksek konsantrasyonlarda, oksidasyon hızı oksijen konsantrasyonu ile ilişkili değildir. Oksidasyon hızı, ancak oksijen içeriği düşük olduğunda oksijen konsantrasyonuna bağlı, lipid konsantrasyonundan ise bağımsızdır. Yağın üst katmanında %4-5’ten fazla oksijen bulunduğunda otoksidasyon hızı, oksijen

konsantrasyonundan etkilenmez ve direkt olarak lipid konsantrasyonu ile ilişkilidir. Düşük oksijen basıncında (%4'ten düşük oksijen içeriği) ise, tam tersi bir durum geçerlidir.

Oksijen ve yenilebilir yağ, az miktardaki veya yüzey-hacim oranının yüksek olduğu yağ numunelerinde daha etkin bir şekilde reaksiyon verir. Yüzey-hacim oranı arttığında, oksidasyon hızı, düşük miktarda oksijen içeriğinde oksijenle daha az ilişkilidir. Muhafaza kabının yüzeyi, indirgenme katalisti olarak görev yapar ve etkinliği kabın yağ ile temasta olan yüzey alanı ile orantılıdır [21].

2.3.3.5 Minör bileşenler

Yenilebilir yağlar esas olarak triaçil gliserollerden (TAG) oluşmaktadır; fakat serbest yağ asitleri (SYA), monoaçil gliseroller (MAG), diaçil gliseroller (DAG), metaller, fosfolipidler, klorofiller, karotenoidler, fenolik bileşenler ve tokoferoller gibi minör bileşenleri de içerirler. Bu minör bileşiklerin bazıları yağ oksidasyonunu hızlandırırken, diğerleri antioksidan olarak görev alırlar [21].

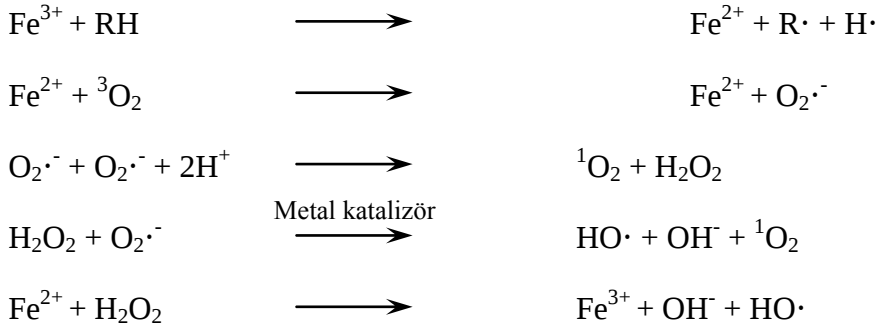
SYA, MAG ve DAG

Yenilebilir yağlar, serbest yağ asidi içerirler ve işleme esnasında bu SYA içeriği düşürülür. Ham soya yağı %0.7 SYA içerirken, rafine soya yağı %0.02 SYA içerir. Ham susam yağının %2.26 SYA içeriği ve rengi giderilmiş yağın %0.56 içeriği de bu durumu kanıtlayan başka bir örnektir. Serbest yağ asitleri, otoksidasyona esterleşmiş yağ asitlerinden daha duyarlıdırlar ve yenilebilir yağlardaki oksidasyonu ilerletici bileşenlerdir. Aynı molekülde hidrofilik ve hidrofobik grupları bir arada bulundurulur. Hidrofilik karboksil grupları, hidrofobik yenilebilir yağda kolaylıkla çözünmezler ve dolayısıyla yağ yüzeyinde bulunurlar. Bu nedenle de, yağ yüzeyinde yoğunlaşmayı tercih ederler. Dolayısıyla, SYA yenilebilir yağın yüzey gerilimini düşürerek yağın üst katmanından oksijenin difüzyon hızını artırır ve sonuç olarak da oksidasyonu hızlandırır.

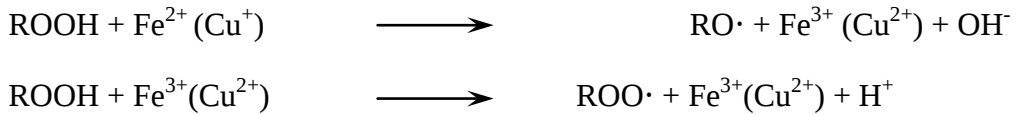
MAG ve DAG, soya yağında sırasıyla %0.07-0.11 ve %1.05-1.20 oranlarında bulunurlar ve karanlıkta 55°C'de oksidasyonu hızlandırmak üzere ilerletici bileşen görevindedirler. MAG ve DAG, SYA gibi yüzey gerilimini düşürerek difüzyonu ve dolayısıyla oksidasyonu hızlandırır. Yağın oksidasyon stabilitesini arttırmak için MAG ve DAG'in yağ rafinasyonu esnasında yağdan uzaklaştırılması önerilmektedir [21].

Metaller

Ham yağ, demir veya bakır gibi geçiş metalleri içerir, rafinasyon prosesi ise bu metallerin konsantrasyonunu düşürür. Dolayısıyla, rafinasyon olmaksızın üretilen ekstra natürel zeytinyağı ve susam yağı gibi yenilebilir yağlar, diğerlerine göre yüksek miktarlarda geçiş metali içerirler ve bu metaller otoksidasyonun başlangıç basamağında, aktivasyon enerjisini düşürerek yağ oksidasyonunu hızlandırırlar. Bunun yanı sıra lipidlerle direkt olarak reaksiyona girerek lipid alkil radikallerini ve $^1\text{O}_2$, $^3\text{O}_2$ 'den hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini oluştururlar. Lipid alkil radikalleri ve reaktif oksijen türleri ise, yine yağ oksidasyonunu hızlandırıcı etki gösterirler.



Metaller, bu etkilerinin haricinde hidroperoksitlerin bozunmasına neden olarak da otoksidasyonu hızlandırırlar. Bakır, otoksidasyonun ilerleme basamağında lipid hidroperoksitlerin bozunmasını, demir (II) iyonundan (Fe^{2+}) 50 kat fazla arttırırken, Fe^{2+} , bu basamakta demir (III) iyonundan (Fe^{3+}) 100 kat hızlı etkir.



Fe^{3+} , aynı zamanda zeytinyağındaki kafeik asit gibi fenolik bileşenleri parçalayarak yağın oksidasyon dayanımını düşürür [21].

Fosfolipidler

Fosfolipidler, konsantrasyonlarına ve metal varlığına göre antioksidan veya prooksidan (oksidasyonu ilerletici) olarak davranabilirler. Metallerle kompleks oluşturarak oksidasyonu düşürebilmeleri, yani maksimum antioksidan aktivite gösterebilmeleri için konsantrasyonları 3-60 ppm sınırları arasında olmalıdır. Soya yağında 5-10 ppm fosfolipid, oksidasyonu azaltıcı etki sağlarken, daha fazla miktarda, oksidasyonu ilerletici etki sağlar. Bir çalışmada, fosfolipidlerin demir varlığında demiri şelatlaştırarak antioksidan aktivite gösterdikleri kanıtlanmıştır.

Fosfolipidlerin de SYA gibi hidrofilik ve hidrofobik grupları bir arada bulundurduğu, hidrofilik grupların yüzeye hidrofobik grupların ise yağ içine yönelenerek yüzey gerilimini düşürdüğü ve yüksek konsantrasyonlarda oksijenin yağ içine difüzyonunu kolaylaştırarak oksidasyonu hızlandırdığı bilinmektedir [21].

Klorofiller

Yenilebilir bitkisel yağlarda, en yaygın olarak bulunan pigmentlerdir. Natürel zeytinyağı ve kolza yağı, sırasıyla 10 ± 4.9 ve 5-35 ppm oranlarında klorofil bulundurur. Natürel zeytinyağı, aynı zamanda 4.1 – 15.1 ppm feofitin de içerir. Klorofiller, genellikle yağın işlenmesi esnasında, özellikle renk giderme işleminde yağdan uzaklaştırılır ve bundan dolayı, rafine yağ daha az 1O_2 üretir. Çizelge 2.2’de yağ işleme süresince kolza yağındaki klorofil içeriğinin değişimi görülmektedir.

Klorofiller ile feofitin ve feoforbiter gibi klorofillerin bozunma ürünleri, atmosferik oksijen ve ışık varlığında 1O_2 üretmek üzere duyarlaştırıcı olarak davranırlar ve yağ oksidasyonunu hızlandırırlar. Feofitinler, klorofillerden daha yüksek, feoforbiterden daha düşük duyarlı hale getirme etkisine sahiptirler [21].

Çizelge 2.2 : Yağ işleme süresince kolza yağındaki klorofil içeriği [21].

Yağ	Klorofil a (ppm)	Feofitin a (ppm)	Feofitin b (ppm)	Pirofeofitin a (ppm)	Pirofeofitin b (ppm)
Ekstrakte	1.88	3.31	1.34	16.57	3.13
Zamksı maddeleri giderilmiş	0.27	7.16	1.07	9.40	1.84
Rafine	0.22	6.27	1.12	9.13	1.79
Rengi giderilmiş	-	0.56	0.32	0.21	0.25

Klorofil içeren soya yağı, ışık altında uçucu bileşenler üretirken karanlıkta aynı etki gözlenmez, klorofil konsantrasyonu arttıkça ise uçucu bileşen üretimi artar. Klorofilsiz yağ, ışık altında uçucu bileşen oluşturamaz. Bir çalışmada, feofitin içeren natürel zeytinyağının oksidasyonunun, floresan ışık etkisiyle de hızlandığı gösterilmiştir. Işık altında klorofiller, güçlü birer prooksidan olmalarına rağmen, karanlıkta serbest radikallere hidrojen sağlayarak antioksidan olarak davranmaktadırlar [21].

Termal olarak okside olmuş bileşikler

Yağların işlenmesinde, siklik karbon-karbon bağlı dimerler, non-siklik hidroksil dimerler, karbon-karbon bağlı trimerler, karbon-karbon veya karbon-oksijen

bağlarına katılan dimer ve trimerler gibi okside olmuş bileşenler ortaya çıkabilir. Yağ oksidasyon hızı, artan termal olarak okside olmuş bileşen konsantrasyonu ile artar [21].

Antioksidanlar

Yenilebilir yağlar yapılarında, tokoferoller, tokotrienoller, karotenoidler, fenolik bileşenler ve steroller gibi antioksidanlar bulundurlar. Bazı durumlarda yağ kalitesini arttırmak maksadıyla dışarıdan da yağa eklenebilen antioksidanlar, serbest radikalleri ve duyarlaştırıcıları inaktive ederek, geçiş metallerini kontrol ederek ve $^1\text{O}_2$ 'i yok ederek oksidasyonun indüksiyon periyodunu uzatan, diğer bir deyişle oksidasyon hızını düşüren bileşenlerdir. Serbest radikallere hidrojen sağlayarak onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere dönüştürürler. Farklı zincir dizilimlerindeki monohidroksi veya polihidroksi fenolik bileşenlere, esas hidrojen sağlayıcılar antioksidanlardır. İndirgenme potansiyeli serbest radikalinkinden daha düşük olan herhangi bir bileşik, reaksiyon kinetik olarak mümkün olduğu sürece bu radikale hidrojen sağlayabilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin alkoksil, peroksil ve alkil radikallerinin standart 1-elektron indirgenme potansiyelleri sırasıyla 1600, 1000 ve 600 mV iken, antioksidanların standart indirgenme potansiyelleri ~500 mV veya daha azdır. Bu değerler, peroksil radikallerinin, diğer lipid molekülleriyle reaksiyona girip diğer bir serbest radikali oluşturmada önce antioksidanların lipid peroksi radikalleriyle reaksiyon vereceğini açık bir şekilde göstermektedir. Antioksidanın lipid peroksi radikali ile reaksiyonundan ortaya çıkan antioksidan radikali, rezonans yapısı dolayısı ile peroksi radikalının kendisinden daha az enerjiye sahiptir.

Fosforik asit, sitrik asit, askorbik asit ve EDTA gibi metal şelatlaştırıcılar, metal veya bakır iyonlarını çözünmez komplekslere veya metaller ve lipid hidroperoksitler arasında sterik engel yaratan kompleks oluşumlarına dönüştürürler. Bu nedenle, depolama sırasındaki oksidasyonu azaltmak için yağa bazen sitrik asit eklenerek antioksidan etki artırılabilir. Ancak, 1 ppm demirin katalitik etkisini giderebilmek için 150 ppm'den fazla sitrik asit gereklidir.

Bazı antioksidanlar, $^1\text{O}_2$ veya uyarılmış duyarlaştırıcıyı yok edebilirler. $^1\text{O}_2$ fiziksel veya kimyasal olarak giderilebilir. Fiziksel yok etmede, antioksidanın oksidasyonu söz konusu değildir ve singlet oksijen, enerji veya yük transferi ile $^3\text{O}_2$ 'ne dönüştürülür. Kimyasal yok etmede ise, antioksidanlar, $^1\text{O}_2$ ile tepkimeye girerek okside olmuş antioksidanları oluştururlar.

Antioksidanlar, daha önce belirtildiği gibi oksidasyonu tamamen durdurmazlar, oksidasyon hızını düşürürler. Depolama veya ısıtma başlangıcında, çok az miktarda serbest radikal üretilir ve bu serbest radikaller hızla sistemde bulunan antioksidanlar tarafından etkisizleştirilir; dolayısıyla antioksidanların tüketimi reaksiyon süresince oldukça yavaştır. Oksidasyonun yavaş gerçekleştiği bu zaman dilimi “indüksiyon periyodu” olarak adlandırılır. Antioksidanların aktivitesi indüksiyon zamanının uzunluğu ile ölçülebilir. Antioksidanlar tamamen tükendiğinde, serbest radikaller sistemden elimine edilemez hale gelirler. Birikir ve otokatalitik olarak reaksiyon hızını artırırlar. Bu periyot ise hızlı oksidasyon aşamasıdır.

İndüksiyon periyodu, antioksidan konsantrasyonunun lineer bir fonksiyonu değildir. Düşük konsantrasyonlarda, indüksiyon periyodu artan antioksidan konsantrasyonuyla birlikte artış gösterirken, yüksek konsantrasyonlarda, aktivite düşer, hatta çok yüksek konsantrasyonlarda antioksidan prooksidan olarak davranmaya başlayabilir. Bundan dolayı, yağa büyük miktarlarda antioksidan ilavesi de uygun değildir [21].

Tokoferoller

Tokoferoller, yenilebilir yağlardaki en önemli antioksidanlardır. Soya, kolza, ayçiçeği ve mısır yağları oldukça yüksek miktarlarda tokoferol içerirler. Bazı yenilebilir yağların tokoferol içerikleri Çizelge 2.3’te verilmiştir.

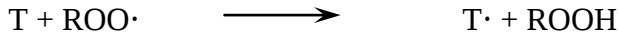
Çizelge 2.3 : Yenilebilir yağların tokoferol içerikleri [21].

Yağ	Tokoferol içeriği (ppm)				
	α	β	γ	δ	Toplam
Soya	116.0	34.0	737.0	275.0	1162
Kolza	272.1	0.1	423.2	-	695.4
Ayçiçeği	613.0	17.0	18.9	-	648.9
Mısır	134.0	18.0	412.0	39.0	603
Kavrulmuş susam	4	-	584	9	597
Kolza	252	-	314	-	566
Aspir	386-520	8.6-12.4	2.4-7.7	-	397-540
Zeytin	168-226	-	-	-	168-226

Yenilebilir yağlardaki tokoferol içerikleri, bitki çeşidine, yağın işlenmesine ve depolanma koşullarına bağlı olarak farklılık gösterir. Hekzan ile ekstrakte edilmiş kolza yağının tokoferol içeriği 793.6 ± 107.9 ppm iken, pres ile elde edilen kolza yağının tokoferol içeriği 748.9 ± 93.2 ppm’dir. Rafinasyon prosesi, özellikle koku giderme işlemi, yağdaki tokoferol miktarını azaltır. Natürel zeytinyağında, yağın tokoferol miktarının, depolama süresi ile ters orantılı değişim gösterdiği, oda

sıcaklığında ve karanlıkta 12 ay bekletilen zeytinyağında hiç tokoferol kalmadığı görülmüştür.

Tokoferoller, lipid peroksi radikalleri için doymamış yağlarla rekabet ederler. Lipid peroksi radikalleri, tokoferollerle lipidlerden çok daha hızlı reaksiyon verirler. Bir tokoferol radikali, düşük peroksit değerinde (101), $\sim 10^3$ - 10^8 çoklu doymamış yağ asidini koruyabilir. Tokoferoller, kroman halkasında bulunan 6-hidroksil grubundaki hidrojen atomunu lipid peroksi radikaline aktarır ve peroksil radikallerini süpürür. İndirgeme potansiyeli 500 mV olan tokoferol, indirgeme potansiyeli 1000 mV olan lipid peroksi radikallerine hidrojen sağlar ve lipid hidroperoksit ve tokoferoksil radikallerini oluşturur. Tokoferoksil radikalleri, rezonans yapıları nedeniyle peroksil radikallerinden daha karardır ve bu durum, sonuç olarak ilerleme basamağında yağ oksidasyon hızını düşürür. Tokoferoksil radikalleri, oksidasyon hızlarına göre diğer bileşiklerle veya birbirleriyle etkileşebilirler. Düşük lipid oksidasyon hızlarında birbirleriyle reaksiyon vererek tokoferil kinon ve tokoferolü; daha yüksek oksidasyon hızlarında ise lipid peroksil radikalleriyle tepkimeye girerek tokoferil kinon ve lipid hidroperoksida hidrolizlenebilen tokoferol-lipid peroksi komplekslerini oluştururlar.



Tokoferollerin, antioksidan olarak etkinlikleri izomerlere ve tokoferollerin konsantrasyonuna dayanır. δ -Tokoferoller, tokoferoller arasında en yüksek radikal süpürücü etki gösterenlerdir. Sırasıyla γ -, β - ve α -tokoferoller bunu takip eder. Tokoferol izomerlerinin antioksidan aktivitelerinin, tokoferol konsantrasyonuna bağlı olarak da değiştiği saptanmıştır. α -Tokoferol, yağ oksidasyonunu düşürmede 200 ppm'e kadar γ -tokoferolden daha etkiliyken, bu konsantrasyonun üzerinde etkinliği azalmaktadır.

Tokoferollerin antioksidan olarak optimum konsantrasyonları, oksidatif stabilitelerine bağlıdır; düşük oksidatif stabiliteye sahip tokoferol, maksimum antioksidan aktivite için düşük bir optimum konsantrasyon gerektirir. Diğer tokoferol izomerleri arasında en az kararlı olan α -tokoferolün 55°C 'de ve karanlık bir ortamdaki soya yağının oksidasyona dayanıklılığını arttırmak için gerekli optimum konsantrasyonu 100 ppm iken, γ - ve δ -tokoferollerinki sırasıyla 250 ve 500 ppm'dir.

Tokoferoller, özellikle α -tokoferol, bitkisel yağlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda hidroperoksit konsantrasyonuna bağlı olarak serbest radikallerin çoğalmasına neden olur ve prooksidan görevi yapar. Lipid peroksi radikallerinin konsantrasyonu düşük olduğunda, tokoferoksil radikali lipidden hidrojen alır ve tepkime çok yavaş olmasına rağmen tokoferol ile birlikte lipid alkil radikalini oluşturur. Tokoferoller aracılığıyla, lipid alkil radikallerinin oluşması lipid oksidasyonunu hızlandırır ve bu durum “tokoferol aracılıklı peroksidasyon” olarak adlandırılır.

Tokoferol, $^1\text{O}_2$ 'i $2.7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ hızında yok eder. $^1\text{O}_2$ yok etme etkisi azalan sırayla α -, β -, γ - ve δ -tokoferolleridir. Tokoferol, $^1\text{O}_2$ 'e elektron vererek $^1\text{O}_2$ ile yük aktarım kompleksi oluşturur. Tokoferol- $^1\text{O}_2$ kompleksinin singlet hali, sistemler arası geçiş yaparak triplet hale geçer ve daha az reaktif olan $^3\text{O}_2$ ve tokoferole dönüşür. Tokoferol ve $^1\text{O}_2$ arasında bir kimyasal tepkime gerçekleşmediğinde bu durum “fiziksel yok etme” olarak adlandırılır.

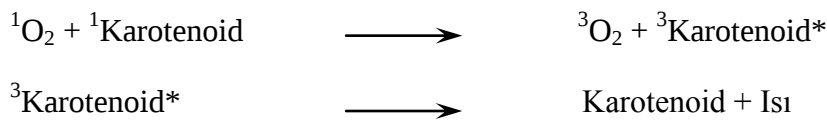


Tokoferoller, kimyasal yok etmede, $^1\text{O}_2$ ile tersinmez tepkime vererek tokoferol hidroperoksidienon, tokoferil kinon ve kinon epoksit oluştururlar [21].

Karotenoidler

Karotenoidler, izoprenoid birimleri içeren tetraterpenoidler grubudur. Karotenoidlerdeki çift bağlar, genellikle trans formda olan konjuge çift bağlardır. β -Karoten, üzerinde en çok çalışma yapılan karotenoidlerdendir. Yenilebilir yağlar, özellikle rafine edilmemiş olanlar, β -karoten içerirler.

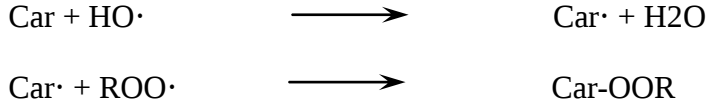
β -Karoten, ışık filtreleme, $^1\text{O}_2$ yok etme, duyarlaştırıcıyı inaktive etme ve serbest radikal süpürme özellikleriyle yağ oksidasyonunu yavaşlatıcı etki gösterir. Karotenoidlerle $^1\text{O}_2$ yok etme, okside olmuş ürünler oluşturmada singlet oksijenden karotenoidlere enerji transferi ile gerçekleşmektedir. Uyarılmış karotenoidler, ısı vererek temel hallerine dönerler.



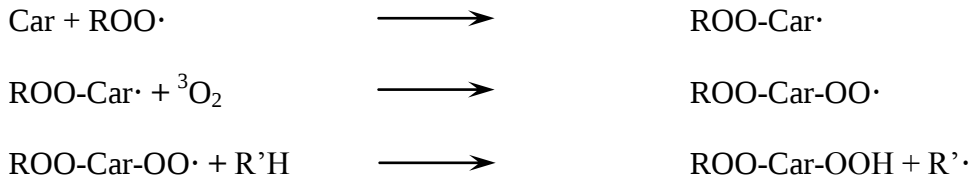
1 mol karotenoid, 250-1000 $^1\text{O}_2$ molekülünü, $1.3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ hızla yok eder. Karotenoidlerin $^1\text{O}_2$ yok etmesi, konjuge çift bağ sayısına bağlıdır. En az 9 konjuge

çift bağ içeren karotenoidler, etkin bir $^1\text{O}_2$ yok edici olarak görev alır ve çift bağ sayısı arttıkça yok etme aktivitesi yükselir. Karotenoidler aynı zamanda, uyarılmış duyarlaştırıcılardan fiziksel olarak enerji absorblayarak, onları inaktif hale getirirler. Uyarılmış karotenoidler ise enerjiyi çevredeki sıvıya (yağa) aktararak temel hallerine dönerler.

1 elektron indirgeme potansiyeli 1060 mV gibi yüksek bir değerde olan β -karotenin çoklu doymamış yağ asitlerinin alkil ($E^{0'}=600$ mV) veya peroksi radikallerine ($E^{0'}=770-1440$ mV) hidrojen vermesi oldukça zordur. Bir çalışmada, β -karotenin serbest radikalleri yok etmek için hidrojen atomu vermediği ortaya konulmuştur. β -Karoten, yüksek indirgeme potansiyeline sahip olan (2310 mV) hidroksi radikallerine hidrojen vererek karoten radikalini oluşturur. Karoten radikalleri, konjuge polien sistemlerindeki eşlenmemiş elektronların delokalizasyonu dolayısıyla oldukça stabil türlerdir. Bir karoten radikali, düşük oksijen konsantrasyonlarında lipid peroksi radikalleri gibi radikallerle tepkimeye girerek radikal olmayan ürünler verir.



Bir lipid peroksi radikali, β -karotene eklenerek karoten peroksi radikali oluşturabilir. Karoten peroksi radikalleri ise, öncelikle $^3\text{O}_2$, ardından lipid molekülü ile reaksiyon vererek lipid oksidasyonunun zincir reaksiyonunu ilerleten lipid alkil radikallerini oluşturabilir [21].



Diğer fenolik bileşenler

Yenilebilir yağlarda, tokoferollerin haricinde antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşenler de mevcuttur. Yüksek miktarlarda doymamış yağ asidi içeren susam yağı, (iyot değeri = 109) iyi bir oksidatif stabiliteye sahiptir. Susam yağlarının 60°C 'deki otoksidasyon hızı, mısır, aspir ve karışım halindeki soya-kolza yağlarından çok daha düşüktür. Kavrulmuş susam yağı, kavrulmamış olandan daha iyi bir oksidatif stabilite gösterir. Susam yağının yüksek oksidatif stabilitesi, yapısındaki

tokoferollerin yanı sıra sesamin, sesamol, sesamolin, sesaminol ve sesamolinoldan oluşan lignan bileşiklerinden kaynaklanmaktadır.

Susam yağı, β -sitosterol çoğunlukta olmak üzere kampesterol, stigmasterol, ve 4,5-avenasterol gibi fitosteroller de içermektedir. Sitosterol, ayçiçeği yağı ve hayvan yağında, oksijenin çözünürlüğünü arttırarak kısmen prooksidan ve yağ yüzeyindeki oksidasyon için lipid molekülleri ile rekabet ederek de kısmen antioksidan olarak davranır.

Otoksidasyona karşı oldukça dayanıklı olan zeytinyağı ise, fenolik bileşenler ve tokoferoller içerir. Fenolik bileşenler, tirosol (4-hidroksifeniletanol), hidroksitirosol (3,4-dihidroksifeniletanol), hidroksibenzoik asitler, olöropein ve tirosin ve hidroksitirosol türevleridir. Zeytinyağındaki fenolik bileşikler, esas olarak otoksidasyonun başlangıç basamağında serbest radikal süpürücü ve metal şelatlaştırıcı olarak antioksidan özellik gösterirler. Hidroksitirosol, zeytinyağı oksidasyonunda en etkin antioksidandır [21].

Antioksidan etkileşimleri

Yenilebilir yağlar, genellikle çok bileşenli antioksidanlar içerirler ve bunlar arasında etkileşimler olduğu kanıtlanmıştır. Eğer bir yağ, antioksidan karışımı tarafından stabilize ediliyor ise, sonuç aktivite antioksidanların bireysel katkılarının toplamı olmayabilir; beklenilenden daha yüksek bir etkinlik (antioksidanlar arasında sinerjik etki) veya daha düşük bir etkinlik (antioksidanlar arasında antagonistik etki) gözlemlenebilir.

8 ppm klorofil içeren soya yağının ışığa duyarlı oksidasyonunun, α -tokoferol ve β -karoten birlikte kullanıldığında, ayrı ayrı kullanıldıkları duruma göre daha az olduğu saptanmıştır. Bu durum antagonizme (karşıt etki) bir örnek teşkil eder. İki veya daha fazla antioksidanın, eşit miktardaki tek bir antioksidandan daha iyi işlev görmesi olayı “sinerji (güçlendirici etki)” olarak bilinmektedir. Metal şelatlaştırıcı ve serbest radikal süpürücü antioksidanların birleşimi, başlangıç basamağında şelatlaştırıcı, ilerleme basamağında ise serbest radikal süpürücü etkisiyle yağın oksidasyonunu azaltır.

Tokoferoller, yenilebilir yağlarda en sık görülen antioksidanlardır ve bu nedenle de etkileşim araştırmalarında diğer antioksidanlar arasında en sık kullanılanlarıdır. α -Tokoferol, soya yağının otoksidasyonunu ve ışığa duyarlı oksidasyonunu azaltmada,

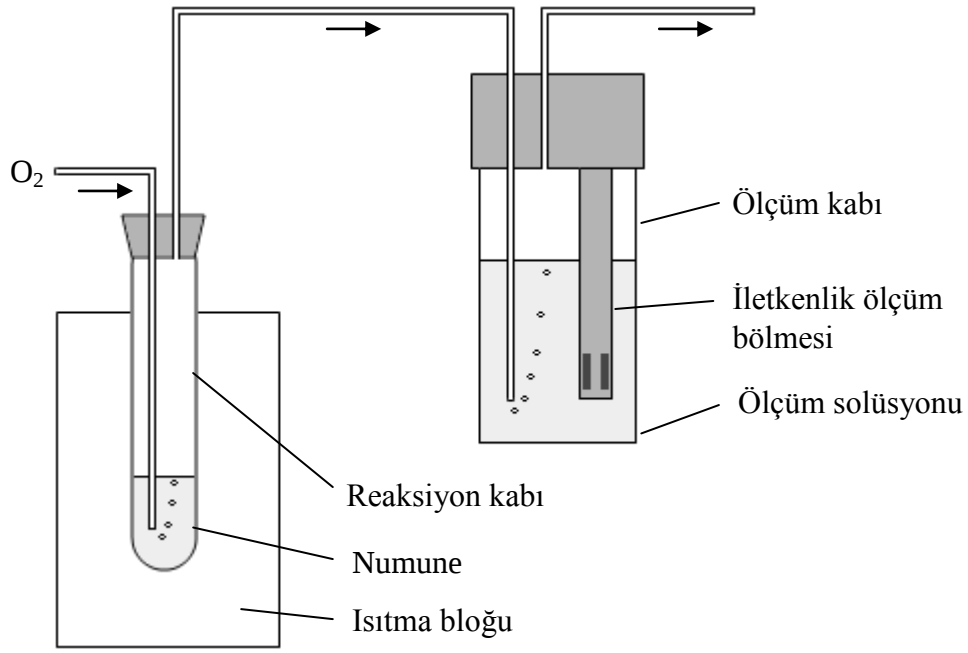
β -karoten ile sinerjik etki gösterir. Tokoferol ve β -karoten arasındaki bu sinerjik etki, tokoferollerin ışık altında β -karoteni bozunmadan korumasından kaynaklanmaktadır. α -Tokoferol, askorbik asit ve fosfolipidlerle de sinerjik etki oluşturur. Askorbik asit, lipid peroksi radikali ve tokoferol arasındaki tepkimede ortaya çıkan tokoperoksil radikali hidrojen vererek tokoferolu yeniler. Fosfatidiletanolamin ve fosfatidilkolinin azotlu kısımları veya fosfatidilinositolün indirgeyici şekeri, tokoferollere hidrojen veya elektron sağlayarak tokoferollerin tokoferil kinonlara okside olmalarını geciktirir. Ayçiçeği yağına katılan sesamol ve sesaminolün, γ -tokoferol ile sinerjik antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Hidroperoksit konsantrasyonu, antioksidanlar arasındaki sinerjiyi etkileyebilir. Zeytinyağının otoksidasyonu, α -tokoferol ve fenolik bileşenler bir arada kullanıldıklarında ayrı ayrı kullanıldıkları durumdan daha düşüktür. Bununla birlikte, zeytinyağındaki α -tokoferol ve fenolik bileşenler için düşük hidroperoksit konsantrasyonlarında belirgin bir sinerjik etki saptanmamıştır [21].

2.3.4 Yenilebilir yağların oksidasyon stabilitesinin Rancimat metodu ile belirlenmesi

Rancimat metodunda numune, 50-220°C arasındaki bir sıcaklıktaki hava akımına maruz bırakılır. Uçucu oksidasyon ürünleri (özellikle formik asit) hava akımı sayesinde ölçüm kabına aktarılır ve burada ölçüm solüsyonuna (distile su) absorbe olur. Bu ölçüm solüsyonunun iletkenliği, sürekli olarak kaydedildiğinde “indüksiyon periyodu” olarak bilinen bir oksidasyon eğrisi elde edilir ve bu eğri, oksidasyon stabilitesi hakkında iyi bir karakteristik değer sağlar. Şekil 2.6’da metoda ait ölçüm düzeninin şematik gösterimi verilmiştir.

Rancimat metodu, yağların indüksiyon zamanını belirlemede kullanılan son derece fazla zaman alan ve komplike bir yöntem olan aktif oksijen metodunun (AOM) otomasyon versiyonudur. Zamanla, bu yöntem kendisini kabul ettirmiş, ulusal ve uluslararası standartlar arasında yer almıştır.



Şekil 2.6 : Rancimat metoduna ait şematik ölçüm düzeni [22].

Ölçümlerde kullanılan cihaz olan 743 Rancimat, katı ve sıvı yağ numunelerinin oksidasyon stabilitesini saptayan PC-kontrollü bir cihazdır. Her biri 4 ölçüm pozisyonu içeren iki ısıtma bloğu bulunan 743 Rancimat'ta, blokların ayrı ayrı ısıtılması da mümkündür. Bu sayede, 4'erli 2 set halindeki 8 numunenin ölçümü iki farklı sıcaklıkta yapılabileceği gibi aynı sıcaklıkta da yapılabilir. Her bir ölçüm pozisyonundaki ölçümler bireysel olarak başlatılabilmektedir.

743 Rancimat'ın bütün operasyonu, 743 cihaza bağlanan bir PC ile Rancimat kontrol ve değerlendirme programı yardımıyla yapılır. Bir PC'ye 4 cihaza kadar bağlantı yapılabilir; dolayısıyla aynı anda maksimum 32 numunenin analizi gerçekleştirilebilmektedir. PC programının değerlendirme algoritması Rancimat eğrisinin infleksiyon noktasını, dolayısıyla da indüksiyon zamanını otomatik olarak belirler. İndüksiyon zamanının yanı sıra, iletkenlikteki kesin bir değişime ulaşıncaya kadar geçen süre olan kararlılık zamanı da saptanabilmektedir.

Her bir Rancimat eğrisi manuel olarak değerlendirilebilmektedir. PC tarafından desteklenen bir tanjant metodu kullanılarak tanjantlar arzu edildiği gibi eğrilere uygulanabilmektedir.

Tespitlerin sonuçları metot ve tespitle ilgili tüm verilerle birlikte bir veritabanında saklanır. Programın sonuçların görüntülenmesi kısmında program tespitleri aranabilir, sıralanabilir, filtrelenebilir, aktarılabilir veya çıktıları alınabilir. Tekli ve

çoklu eğrilerin grafiksel gösterimlerinin yanında, hesaplamaların değiştirilmiş parametrelerle tekrarlanması ve sonuçların belirli bir sıcaklık için ekstrapole edilmesi mümkündür [22].

2.4 Çörek Otu Tohumu ve Yağı

2.4.1 Çörek otu tohumu

2.4.1.1 Çörek otu tohumu hakkında genel bilgiler

Çörek otu tohumları, Ranunculeaceae (dügün çiçeği) familyasının bir üyesi olan *Nigella sativa* L. bitkisinden elde edilmektedir. İlk yetiştirme yeri Güneybatı Asya'dır. Doğu ve Güney Avrupa'daki tarlalarda yetiştirilir. Sıcak yerlerde adventif bir bitki olarak bulunur. Merkez Avrupa'da nadiren bahçelerde de görülür. İlkbaharın sonlarında ekilir. Temmuz – Ağustos döneminde çiçek verir. 15-40 cm uzunlukta, dallı sapları olan yıllık bir bitkidir. Tüylü yapraklıdır. Perigon yaprakları beyazdır, ağ damarlı ve çift dudaklı nektar yaprakları vardır. Erkeklik organı dikenuçlu değildir. Meyveleri, çeşitli şekillerde çıkıntı yapmış içinde tohumları bulunduran kapsüller formundadır. Olgunlaşmış tohum kapsülleri açılmadan hasat edilmeli ve tohumlar kurutulmuş kapsüllerden çıkarılmalıdır. Siyah renkli, oval ve üç yüzlü, 2.5-4 mm uzunluk, 1.5-2 mm genişlik ve 1 mm kalınlığa sahip tohumlar yaklaşık olarak %30-35 sabit yağ içerir. Tatları ilk olarak acıdır, ardından ağızda keskin aromalı ve biber gibi bir tat bırakırlar. Muskat gibi kokarlar. Sabit yağın yanında, esansiyel yağ (%0.5-1.5), saponin (melantin), nigellin ve tanin de içerirler. **Şekil 2.7**'de söz konusu bitki ve tohumları görülmektedir [23].



Şekil 2.7 : *Nigella sativa* L. bitkisi ve tohumları [24].

Saponinlerden melantin, güçlü bir balık zehridir ve büyük miktarlarda, sıcakkanlı hayvanlarda zehirlenme semptomlarına neden olabilir. Bu yüzden de tohumlar, az

miktarlarda çeşni olarak kullanılmaktadır. Doğuda yüzyıllardır ekmek ve gıdalara lezzet vermek amacıyla çeşni olarak, ayrıca keskin ve baharatlı tadı nedeniyle biber ve kimyonun yerine kullanılmaktadır. Mısır ve Orta Doğu'da çörekler, küçük poğaçalar ve ekmeklerin üzerine haşhaş gibi serpilmektedir [23].

2.4.1.2 Çörek otu tohumunun yaklaşık bileşimi

Rus *Nigella sativa* L. tohumları için yapılan çalışmada, tohumların %27.19 ham protein, %37 sabit yağ, %7.43 nem ve %4.14 kül ihtiva ettiği saptanmıştır. Kül için yapılan nitel analizlerde külün esas olarak kalsiyum tuzlarından oluştuğu görülmüştür. Orta doğudan ithal edilen tohumlar için yapılan analizlerde ise, %21.26 protein, %35.49 yağ, %5.52 nem, %3.77 kül ve %5.50 ham lif, geri kalan yüzdelik oranda ise diğer karbonhidratlar bulunmuştur. Bunun yanı sıra, ise külün kalsiyum içeriği %28.0 olarak raporlanmıştır.

Türkiye orijinli tohumların, yaklaşık analiz sonuçları ve mineral bileşimleri Çizelge 2.4'te gösterilmektedir. Mineral içeriği açısından literatür verileriyle analiz sonuçları arasında bir karşılaştırma yapılacak olunursa Türkiye tohumlarının daha yüksek orandaki potasyum ve daha düşük orandaki kalsiyum miktarları dikkati çeker. Bu farklılığın, toprak bileşimi ve iklimsel şartlardan kaynaklanması olasıdır.

Çizelge 2.4 : Türkiye kökenli *Nigella Sativa* L. tohumlarının yaklaşık ve mineral bileşimi [25].

Yaklaşık Bileşim (%)	
Nem	6.4 ± 0.15
Kül	4.0 ± 0.29
Yağ	32.0 ± 0.54
Ham protein	20.2 ± 0.82
Ham lif	6.6 ± 0.69
Karbonhidratlar	37.4 ± 0.87
Mineraller (µg/100g)	
Kalsiyum	188 ± 1.5
Demir	57.5 ± 0.5
Sodyum	85.3 ± 16.07
Potasyum	1180 ± 10.0

Tohum yapısında mevcut olan amino asitler oranlarıyla birlikte Çizelge 2.5'te verilmiştir. Yapıdaki dominant halde bulunan 15 amino asidin 9'u, esansiyal amino asitlerdir. Tohum proteini özellikle arginin, glutamic asit, lösin, fenilalanin ve lisin

açısından zengindir. Ayrıca Rus kökenli *Nigella sativa* tohumlarının, bu 15 amino aside ek olarak yüksek miktarda sistin de içerdiği belirlenmiştir [25].

Çizelge 2.5 : *Nigella sativa* L. tohumu proteininin amino asit bileşimi [25].

Amino Asitler	Bileşim (%)
Alanin	3.77
Valin	3.06
Glisin	4.17
İzolösin	4.03
Lösin	10.88
Prolin	5.34
Treonin	1.23
Serin	1.98
Aspartik asit	5.02
Metionin	6.16
Fenilalanin	7.93
Glutamik asit	13.21
Tirosin	6.08
Lisin	7.62
Arginin	19.52

Çizelge 2.6’da, *Nigella sativa* L. tohumlarının vitamin içerikleri, tavsiye edilen günlük alım miktarlarına oransal katkılarıyla birlikte özetlenmiştir. Tohumların, özellikle yüksek oranda tiamin, pridoksin ve niasin içerdikleri saptanmıştır.

Çizelge 2.6 : *Nigella sativa* L. tohumlarının vitamin içerikleri [25].

Vitamin	µg/100 g	RDA* (%)
B ₁ (tiamin)	831 ± 11.36	55.3
B ₂ (riboflavin)	63 ± 3.32	3.5
B ₆ (pridoksin)	789 ± 8.89	35.9
PP (niasin)	6311 ± 16.52	33.2
Folik asit	42 ± 4.58	10.0

*Tavsiye edilen günlük alım miktarı

Nigella sativa tohumları, p-simen, d-limonen, karvon, d-sitronellol ve sitronel asetat ana bileşenlerini oluşturmak üzere %0.5-1.5 esansiyel yağ içermektedir (Çizelge 2.7). Bu uçucu yağın kompozisyonu üzerindeki daha ileri araştırmalar, nigellon, timokinon, timohidrokinon bileşenlerinin izolasyonu ve tanımlanması hakkında rapor hazırlayan Mısırlı araştırmacılar tarafından yapılmıştır. Bu bileşenler, özel bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler ve bitkisel ilaçlarla yapılan artrit, sedef, astım ve kardiyovasküler hastalıkların tedavilerinde yararlı etkileri saptanmıştır. Özellikle timokinonun, çörek otu tohumlarının biyolojik aktivitesi için oldukça önemli olduğu

ve tohum ve yağıın sağıık için yararlı etkilerinin birçoğıundan sorumlu olduğı belirtilmiştir [25-27].

Çizelge 2.7 : *Nigella sativa* L. tohumlarının esansiyel yağ bileşimi [26].

Bileşen	Yüzde	Bileşen	Yüzde
α -Tujen	2.4	p-Simen-8-ol	0.4
3-Metil Nonan	0.6	Nerol	1.3
α -Pinen	1.2	Estragol	1.9
Sabinen	1.4	Dihidrokarvon	0.3
β -Pinen	1.3	Karvon	2.0
Mirsen	0.6	Timokinon	11.8
n-Dekan	0.4	Anisaldehit	1.7
α -Fellandren	0.6	Trans-Anetol	27.1
p-Simen	9.0	Karvakrol	3.7
Limonen	4.3	α -Longipinen	0.3
1-Metil-3-propil benzen	0.7	n-Tetradan	0.2
γ -Terpinen	0.5	Longifelon	5.7
1-Etil-2,3-dimetil benzen	0.2	Uvidin	1.3
2(1H)-Naftalenon	2.6	Miristisin	1.4
Fenkon	1.1	n-Hekzadekan	0.2
Terpinen-4-ol	0.7	Apiol	1.0
Toplam	27.6		60.3

2.4.2 Çörek otu yağı

Nigella sativa bitkisi tohumlarından elde edilen bu yağın üretimi Akdeniz ülkelerinde oldukça yaygındır. Bitki tohumlarının yüksek basınç altında soğuk preslenmesi sayesinde yağ elde edilmektedir. Hassas bir şekilde uygulanan işlem, esansiyel yağların elde edilmesi açısından çok önemlidir. Kızılımsı sarı renkte, acı ve aromatik kokusu olan bir yağdır. Çörek otu yağının fiziksel ve kimyasal karakteristikleri Çizelge 2.8’de verilmiştir [23].

Çizelge 2.8 : Çörek otu yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri [23].

Kırılma indisi, n_D^{20}	1.4649
Yoğunluğu, d_4^{15}	0.925
Katılaşma noktası, °C	< 0
Sabunlaşma sayısı	195 – 207
İyot sayısı	107 – 117
Sabunlaşmayanlar, %	0.5

Esas bileşenleri, Linoleik asit (%50-60), oleik asit (%18-25), palmitik asit (%12-13), stearik asit (%2.4-4), arahidik asit (%0.1-0.4), eikosenoik asit (%0.1-0.4), arahidonik asit (%0.1-0.4), linolenik asit (%0.1-1)'tir.

Besinsel değeri nedeniyle oldukça değer verilen bu aromatik yağ, yemeklerde ve salatalarda kullanılabilir. Kozmetiklerde kullanımı da mümkündür. Çörek otu yağının önemi, 50'den fazla linoleik asit gliseridi içermesi ile de kanıtlanmıştır [23].

2.4.2.1 Çörek otu yağının genel karakteristikleri

Nigella sativa L. tohumları %30-40 sabit yağ içerirler. Literatürde raporlanan genel karakteristikleri Çizelge 2.9'da verilmiştir. Klasik bitkisel yağların aksine *Nigella sativa* tohumu yağı, oldukça değişken serbest yağ asidi (SYA) içeriği gösterir. Bu durum, tohumların yüksek lipaz aktivitelerine bağlıdır. Uyku halindeki herhangi bir işlem görmemiş olan tohumlarda lipaz enzimi genel olarak inaktif haldedir; fakat tohumlar yağ elde etmek üzere öğütüldüklerinde lipaz ve yağ direkt olarak temasa geçer ve hemen enzimatik hidroliz reaksiyonları başlar. Bundan hareketle, öğütme ve ekstraksiyon arasında geçen zamana, öğütülen tohumların depolama sıcaklığına ve depolama ortamının bağıl nemine bağlı olarak örneği öğütmenin, yağın SYA içeriğini %50 veya daha fazla arttırdığı saptanmıştır. Dolayısıyla, çörek otu yağının tipik bir özelliği yüksek SYA içeriğidir. Bu istenmeyen olgu, aktif lipaz enzimi içeren zeytin, hurma, pirinç kepeği gibi diğer yağ içeren maddelerde de bir dereceye kadar görülmektedir [25].

Çizelge 2.9 : Farklı kökenli *Nigella sativa* tohumu yağlarının karakteristikleri [25].

Ülke (Kaynak)	Asit Değeri	Sabunlaşma Değeri	İyot Değeri	Yoğunluk (g/ml, 20°C)	Refraktif İndeks, 20°C
Çekoslovakya	29.42	201.98	107.40	0.8960	-
Hindistan	40.64	169.90	116.90	0.9164	1.466 (35°C)
Mısır	30.3	196.3	114.5	0.9207	1.4718
Orta Doğu	11.0	189.40	124.63	0.9201	1.4728
Türkiye					
Kütahya	39.61	212.75	116.63	0.9221	1.4731
Denizli	36.74	230.50	112.32	0.9188	1.4711
Konya	37.50	201.8	112.50	-	1.4730

Çizelge 2.10'da öğütülmüş tohumlarda (600-1400 µm) sıcaklık ve tohumların nem içeriğinin *Nigella sativa* tohumu yağının enzimatik hidrolizi üzerindeki etkisi

gösterilmektedir. %5'lik sabit nem içeriğinde sıcaklığın 20°C'den 50°C'ye yükselmesinin, SYA içeriğini önemli bir şekilde arttırdığı gözlemlenmiştir. 60°C ve 70°C'de ise özellikle 6 saat sonra hidroliz hızı oldukça düşmüştür. Bu olay, bu gibi yüksek sıcaklıklarda lipaz aktivitesinin kaybolmasına bağlanabilir. Lipazlar tiplerine göre, genellikle 50-60°C'de aktivitelerini kaybetmeye başlarlar. Çizelge 2.10'da ayrıca, nem içeriği %5'ten %14.32'ye arttığında SYA içeriğinin %51'den %70'e yükseldiğine dikkat çekilmektedir.

Çizelge 2.10 : Öğütülmüş tohumlarda sıcaklık ve tohumların nem içeriğinin tohumdan elde edilen yağın enzimatik hidrolizi üzerindeki etkileri [25].

Zaman (dk)	SYA (%)							
	20°C ^a	30°C ^a	40°C ^a	50°C ^a	60°C ^a	70°C ^a	50°C ^b	50°C ^c
30	-	-	6	8	10	11	10	15
60	4	7	9	13	19	23	20	31
90	-	-	12	18	26	33	28	39
120	6	10	14	22	31	40	38	50
150	-	-	18	28	36	46	-	-
180	8	14	20	31	40	46	43	54
240	11	15	25	36	44	48	56	69
300	12	18	30	38	46	48	63	66
360	13	20	34	45	47	49	62	68
420	15	26	36	45	48	46	65	71
480	15	29	40	51	48	45	62	70

^a Nem içeriği %5.0

^b Nem içeriği %9.4

^c Nem içeriği %14.3

Nigella sativa tohumlarının parçacık boyutu da, yağın enzimatik hidrolizi üzerindeki etkisi açısından incelenen bir parametredir. Farklı tanecik boyutlarındaki tohumların 30°C'de depolanması, SYA içeriğinde önemli değişimlerle sonuçlanmıştır. 425µm'den küçük öğütülmüş tohumlarda SYA içeriği 7 saat sonra %46'ya ulaşmaktayken, 850µm'den büyük öğütülmüş tohumlarda 7 saat sonra sadece %11'dir. Küçük tanecik boyutlarında lipaz ve tohum yağı için temas yüzeyinin artması nedeniyle, bu beklenen bir durumdur. Bunun yanı sıra, tanecik boyutunun, yağ verimini de etkileyen bir parametre olduğu belirlenmiştir (<425µm tanecikler için %40.25 verim, >850µm tanecikler için %23.4). Bu deneysel sonuçlar ise, *Nigella sativa* tohumlarının tanecik boyutlarının amaca göre ayarlanması gerektiğini ortaya koymaktadır. Deneysel çalışmalar en düşük lipolitik hidroliz hızıyla en yüksek yağ veriminin (%39.8) elde edilmesi için optimum tanecik boyutunun 425-850µm olduğunu göstermiştir.

Farklı kaynaklardan toplanan *Nigella sativa* tohumundan elde edilen yağların, yağ asidi bileşimleri Çizelge 2.11’de verilmiştir. Oleik ve linoleik asidin yağdaki toplam yağ asitlerinin %80’inini oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda *Nigella sativa* tohumlarından elde edilen yağın oleik-linoleik grubu bitkisel yağlardan olduğu söylenebilir. Türkiye ve Orta Doğu yağ örneklerinde, yağ asitlerinin %25’ini oleik asit, %62’sini linoleik asit oluştururken, %1’den az oranda linolenik asit de bulunmaktadır. Bu yağlarda başlıca yağ asidi linoleik asit iken, önceki çalışmalarda kullanılan Hindistan ve Mısır kökenli yağlarda başlıca yağ asidi oleik asit olarak belirlenmiştir. Tohumdan elde edilen yağdaki başlıca doymuş yağ asidi ise, palmitik asittir (yaklaşık %13). Doymuş yağ asidi olarak daha az miktarlarda stearik, arahidik ve behenik asit de bulunmaktadır. Sadece Konya tohumlarının yağında %0.2 palmitoleik saptanmıştır [25].

Çizelge 2.11 : Farklı bölgelere ait *Nigella sativa* tohumu yağlarının yağ asidi bileşimi [25].

Yağ Asitleri	Yağ Asidi, %					
	Hindistan	Mısır	Orta Doğu	Türkiye		
				Kütahya	Denizli	Konya
Miristik	0.29		0.16	0.45	0.34	0.19
Palmitik	7.08		12.08	12.97	12.70	12.07
Palmitoleik	-	11.80 ^a	-	-	-	0.23
Stearik	2.74		3.11	20.8	1.99	3.01
Oleik	49.67	48.76	24.64	21.84	22.03	20.54
Linoleik	40.22	37.56	56.12	61.84	62.53	60.25
Linolenik	-	1.88	0.70	0.33	-	-
Arahidik	-	-	-	0.22	0.24	-
Behenik	-	-	-	0.19	0.17	-
Eikosadienoik	-	-	2.53	-	-	3.71

^a Miristik, palmitik ve stearik asit miktarı toplamı

Çörek otu yağının sabunlaştırılmayan madde içeriği ağırlıklı olarak fitosterollerden oluşmak üzere %1-5’tir. β -sitosterol en baskın olan steroldür (%69.4). Kampesterol ve stigmasterol fraksiyonları ise sırasıyla %11.9 ve % 18.6’dır. Bu yağ ayrıca antioksidanlar açısından da oldukça zengidir. 1744 μ g/g polifenol ve 340 μ g/g tokoferol içerir. Yağda tokoferol izomerleri de saptanmıştır (%74 γ -tokoferol, %12 α -tokoferol, %12 β - ve Δ -tokoferol).

2.4.2.2 Çörek otu yağının oksidasyon stabilitesi

N.sativa tohumu yağlarının oksidasyon stabilitesi oldukça değişkenlik göstermektedir. Örneğin, iki tohum yağı numunesinin Rancimat Oksidatif İndeksi'nin 12 ile 66 saat arasında değiştiği bulunmuştur. Ayçiçeği yağında (7.7 saat) daha yüksek oksidasyon stabilitesine sahip olan bu yağ, zeytinyağı ile daha karşılaştırılabilir düzeydedir. Oksidasyon stabilitesi yağdaki toplam fenolik madde miktarıyla doğru orantılı olarak, iyot değeri, serbest yağ asitleri, viskozite ve klorofil miktarıyla ise ters orantılı olarak değişmektedir. Timokinonu da içinde bulunduran esansiyel yağ bileşikleri özellikle karvakrol, antioksidan aktiviteye katkıda bulunmaktadır. Hekzan ile ekstrakte edilmiş çörek otu yağlarının Rancimat oksidasyon stabilite indeksi ve ilgili bileşimsel faktörleri Çizelge 2.12'de verilmiştir [5].

Çizelge 2.12 : Hekzan ile ekstrakte edilmiş ve rafine çörek otu yağlarının Rancimat oksidasyon stabilite indeksi (OSI, 100°C) ve ilgili bileşimsel faktörleri [5].

Özellik	Tunus'a özgü yağ	İran'a özgü yağ
OSI, 100°C (sa)	12	50.3
Viskozite (mPa s)	11	6
İyot değeri (g iyot/100 g yağ)	119	101
Serbest yağ asidi (%)	22.7	18.6
Klorofil (mg/kg yağ)	6	2.3
Polifenoller (mg gallik asit/kg yağ)	245	309

2.4.2.3 Çörek otu yağının sağlık üzerine etkileri

Çörek otundan preslenerek çıkarılan yağ, geleneksel olarak, cilt döküntüleri, felç, sırt ağrısı, romatizma ve diğer iltihaplı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Cilt bakımında, nemlendiricilerde yağ ve kırıxık karşıtı madde olarak, sedef hastalığı ve egzama gibi rahatsızlıkların tedavisinde veya balmumu ile karıştırılarak yanık, enfeksiyon ve eklem ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır. Yağ ve yağdan elde edilen timokinonun siklooksigenazı, 5-lipoksigenaz ile endüklenen eikosanoid üretimini ve lökositlerdeki membran lipid peroksidasyonunu inhibe ederek anti-enflamatuar etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Yine bir aktif bileşen olan 2-(2-metoksipropil)-5-metil-1,1,4-benenediol, timol ve karvakrol kadar, arahidonik asit ile endüklenen trombosit agregasyonunu ve kan pıhtılaşmasına karşı inhibitör görevi görmektedir.

Yapılan bir araştırmada *N.sativa* tohumlarının hekzan ekstraktları 12 hafta boyunca farelerin beslenmelerine dahil edilmiş ve serum kolesterolü, trigliseritleri, glukozu, lökosit ve trombosit sayısını düşürdüğü, hematokrit ve hemoglobin seviyelerini ise yükselttiği bulunmuştur. Farklı bir çalışma ise *N.sativa* yağının sağlıklı dişilerde glukoz, prolaktin, triaçilgliserol ve kolesterol seviyelerini düşürürken hemoglobin seviyesini yükselttiğini göstermiştir. Normal farelerin 2 g tohum/kg vücut ağırlığı/gün miktarıyla 4 hafta boyunca *N.sativa* yağı ile tedavi görmesi, su alımında bir değişiklik olmamasına rağmen gıda miktarının sürekli düşürülmesi sonucu geçici başlangıç kilo kaybı, plazma triaçilgliserol ve plazma insülin seviyelerinde düşüş, HDL-kolesterolde ise artış ile sonuçlanmıştır. Yağda bulunan diğer aktif maddelerin yağ düşürücü etkiye herhangi bir katkısının olup olmadığı bilinmemekle birlikte timokinonun, fare deneylerinin sonucundan yola çıkılarak kandaki triaçilgliserol, kolesterol, HDL ve LDL seviyelerinin düşmesine neden olduğu belirtilmiştir. *Nigella* tohumu yağının, belirli karaciğer enzimlerinin aktivitesine olumlu etkilerinin olduğu da saptanmıştır. Ayrıca, enfeksiyonlara karşı bağışıklık sisteminin yanıtını da güçlendirdiği ortaya konulmuştur. *Nigella* yağının ve timokinonun karaciğer koruyucu etkisi antioksidan mekanizmasına dayandırılmıştır. *Nigella sativa* tohumlarının hekzan ekstraktlarının, belirgin bir şekilde doğum kontrolü sağlama etkisinin de olduğu görülmüştür [5, 25-27].

2.5 Kolza Tohumu ve Yağı

2.5.1 Kolza tohumu

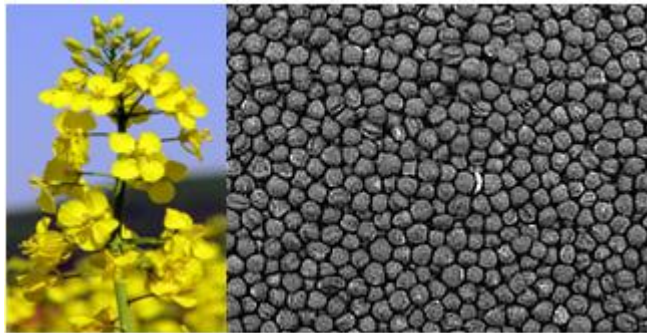
2.5.1.1 Kolza tohumu hakkında genel bilgiler

Kolza tohumları, Brassicaceae (hardal) familyasının bir üyesi olan *Brassica napus L.* bitkisinden elde edilmektedir. Özellikle Çin ve Hindistan'da olmak üzere dünya çapında ekilir. 60-140 cm boyunda, düz ve dikey bir bitkidir. Mavi-yeşil pennatif yapraklı, en alt kısmı yaprak dalları da dahil olmak üzere yoğun bir şekilde tüylüdür. Çiçekleri gruplar halinde ve altın sarısıdır. Açık çiçekler tomurcuk haldeki çiçekleri aşmaz, çanak yapraklar dik ve çıkıntılıdır.

Nisan – Eylül döneminde çiçek verir. Alt türlerden, *Brassica rapifera L.* Metzg şalgamı (sarı şalgam), sebze olarak yetiştirilen yağlı şalgam kökünü oluşturur. Ayrıca, *Brassica rapa ssp. oleifera* (yağ şalgamı) da şalgam olarak ekilir. *Brassica*

napus'tan farkı, açılmış çiçeklerin, yatay çıkıntılı çanak yaprakları ve henüz açılmamış çiçeklerini geçmesidir. Kolza yağı bu iki alt türden de elde edilmektedir. Kolza tohumları yaklaşık %42, şalgam türleri ise %33 oranında sabit yağ içerir. Tohumlar 1.5-2.5 mm, küresel, koyu kahverengi, hafiftir. Sabit yağın ekstraksiyonu için ve kuşyemi olarak kullanılır. Şekil 2.8'de söz konusu bitki ve tohumları görülmektedir.

Farklı kolza çeşitleri şüphesiz en önemli yağ kaynaklarından biridir. Çin, dünya çapında kolzanın en büyük üreticisidir. Çin'i, Avrupa Birliği ülkeleri ve Hindistan takip eder. Arjantin ve Kanada da, büyük miktarlarda kolza üretimi yapan ülkelere aittir. Amerika'da üretim oldukça azdır. Önceki yıllarda kolza yağı ve küspesinin kullanımı glukosinolat (hardal yağı glikozidleri) ve erüik asit içeriği nedeniyle yasaklanmıştı. Yüksek miktardaki glukosinolatlar, küspenin yem olarak kullanılması durumunda, hayvanlarda hazımsızlığa ve hastalıklara neden olmaktaydı. Erüik asit ise, insan beslenmesinde kolza yağı kullanımını engellemektedir. Bu nedenle, "sıfır kolza" veya "00- kolza" olarak tanımlanan erüik asit içeriği düşürülmüş bir türev üretilmiştir. 00-kolza tohumları, erüik asit içeriğinin yanı sıra glukosinolat içeriği de azaltılmış bir cinstir. Günümüzdeki üretimin amacı, erüik asit miktarının glukosinolat miktarından daha az tehlikeli olduğu göz önünde bulundurularak, glukosinolat ve erüik asit içeriği azaltılmış türlerin yetiştirilmesidir. Bu yüzden de, "kolza yağı" terimi artık sadece düşük erüik asit ve glukosinolat içerikli olan tohumlardan elde edilen yağ karşılık olarak kullanılmaktadır [23].



Şekil 2.8 : *Brassica napus* L. bitkisi ve tohumları [28].

2.5.1.2 Kolza tohumunun yaklaşık bileşimi

Genetik ve çevresel faktörlere dayanmaktadır. Yağ içeriği %8.5 nem temelinde %33.2'den %47.6'ya kadar, protein içeriği ise yağsız ve %8.5 nem temelinde

%29.5'ten %57.5'e kadar değişebilmektedir. Yaklaşık bileşim Çizelge 2.13'te görülmektedir.

Çizelge 2.13 : Kolza tohumlarının yaklaşık bileşimi [27].

Yaklaşık Bileşim (%)	
Nem	6 – 9
Kül^b	7 – 8
Yağ^a	38 – 50
Protein^b	36 – 44
Lif	11 – 16

- a. Nemsiz temelde
b. Nemsiz ve yağsız temelde

Arnhold ve Shuster bir çalışmalarında ham yağ ve ham protein içeriğinin kolza tohumları arasında büyük farklılıklar gösterdiklerini ve bu farklılıkların genotipten çok çevresel etmenlerden kaynaklandığını ortaya koymuşlardır [27].

Kolza tohumlarının amino asit ve mineral/vitamin bileşimleri sırasıyla Çizelge 2.14 ve Çizelge 2.15'te verilmiştir.

2.5.2 Kolza yağı

Brassica napus alttür *napus* ve *Brassica rapa* alttür *oleifera* bitkilerinden elde edilen bu yağın ekstraksiyonunda, parçalanmış tohumlar, öncelikle soğuk olarak preslenir, ardından ise sıcak pres veya çözücü ekstraksiyonu ile kalan yağ alınır. Sıcak pres uygulanmış yağlar genellikle sülfür bileşikler içerirler; fakat ardıl rafinasyon işlemleriyle bunlar uzaklaştırılabilir. Şekil 2.9'da kolza yağı üretimi için akım şeması gösterilmiştir.

Çizelge 2.14 : Kolza tohumlarının amino asit bileşimi [27].

Amino asitler	Bileşim (%)	Amino asitler	Bileşim (%)
Alanin	1.6 – 1.7	Lisin	2.1
Arginin	2.1 – 2.2	Metiyonin	0.7
Aspartik asit	2.5 – 3.1	Fenilalanin	1.4 – 1.5
Sistin	0.2 – 0.5	Prolin	2.3 – 2.7
Glutamik Asit	6.4	Serin	1.6 – 1.7
Glisin	1.8 – 1.9	Treonin	1.6 – 1.7
Histidin	1.0	Triptofan	0.4
İzolösin	1.3 – 1.5	Tirosin	0.8 – 0.9
Lösin	2.5 – 2.7	Valin	1.8 – 1.9

Çizelge 2.15: Kolza tohumlarının mineral ve vitamin bileşimi [27].

Mineral	İçerik	Vitamin	İçerik
Mineraller, mg/kg		Vitaminler, mg/kg	
Kalsiyum	6600	Kolin	6700
Bakır	6.6	Folik asit	2.29
Demir	180.0	Niasin	159.5
Magnezyum	5100	Pantotenik asit	9.48
Manganez	43.0	Riboflavin	3.7
Fosfor	10400	Tiamin	5.23
Potasyum	10400		
Selenyum	0.98		
Çinko	65.5		
Sülfür	1500 – 1800 ^a		

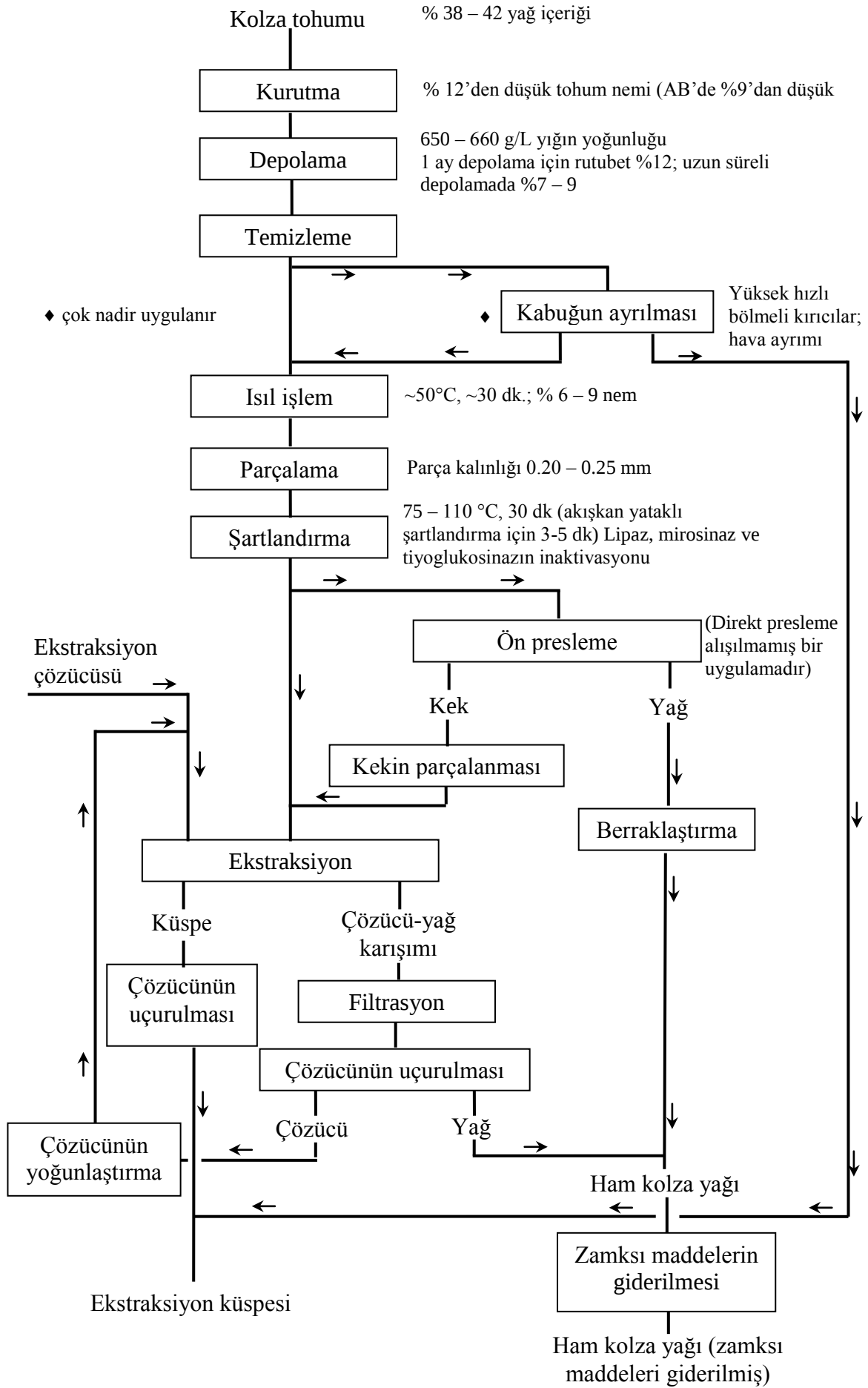
^a Düşük glukosinolatlı türde 700 mg/kg veya daha azdır.

Bitkinin en büyük ekim alanları Çin ve Hindistan'da bulunmasına rağmen, Kanada ve Avrupa, birim alan başına 3-5 kat verim ile kolza yağı üretiminde ilk sıradadırlar. Dünya genelinde, yılda 6 milyon tonun üzerinde kolza üretilmekte ve tohumlarından 1.2 milyon ton yağ ekstrakte edilmektedir. Soğuk pres yağı, sarıdan kahverengimsi sarıya kadar değişebilen renklindedir. Kendisine özgü bir kokusu ve yumuşak, hafif bir tadı vardır. Rafine yağlar ise neredeyse renksizdir ve sikatif olmayan (oleik asit içeriği yüksek, iyot değeri 75-100) bu yağ, hızla bozulur. Yenilebilir kolza yağı soğuk bir ortamda tutulduğu sürece 12 aya kadar dayanabilir.

Triklorometan, dietil eter, karbon sülfürde tam olarak çözünür, etanol ve saf asetik asitte az oranda çözünür [23]. Diğer fiziksel ve kimyasal karakteristikleri Çizelge 2.16'da verilmiştir.

Çizelge 2.16 : Kolza yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri [23].

Kırılma indisi, n_D^{20}	1.470 – 1.4752
Yoğunluğu, d_4^{15}	0.913 – 0.916
Katılaşma noktası, °C	-2 – -10
Sabunlaşma sayısı	170 – 180
İyot sayısı	94 – 120
Asit sayısı	< 8
Sabunlaşmayanlar, %	< 1.5



Şekil 2.9 : Kolza yağı üretimi akış şeması [4].

Önceleri, yüksek erüsik asit içeriğine bağlı olarak kalp kasındaki patolojik değişimlere ve kardiyak obeziteye neden olması yüzünden insan tüketimine çok uygun bir yağ olarak değerlendirilmemekteydi. 1974'te üretilen düşük erüsik asitli türevleri sayesinde uygun hale getirilmiştir. Yağ asidi gliseridlerinin ortalama değerleri (eski değerler parantez içinde verilmiştir): erüsik asit %0.5 (%48), oleik asit %63 (%15), linoleik asit %20 (%13.5), linolenik asit %9 (%8), palmitik asit %4 (%2.5), hekzadekanoik asit (%2), dokosadien (%1).

Büyük bir kısmı yağlayıcı, plastik üretiminde dolgu maddesi gibi teknik amaçlar için kullanılmaktadır. Eskiden, lamba yakıtı olarak oldukça önemliydi, günümüzde ise biyodizel yakıt olarak önem kazanmıştır. Saf soğuk pres kolza yağı yemeklerde kullanılmaktadır, pres kekleri ise hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir.

Biyolojik ekimde kolza yağı, bitki koruyucu bir üründür. Etkisi, bir yağ tabakası oluşturarak zararlı böcekleri ve yumurtalarını havasızlıktan öldürmesine dayanır. Yağ, emici böceklerle savaşmada etkisini ispatlamıştır; fakat arılar ve diğer tozlayıcılara da negatif etkisi bulunmaktadır. Toprakta biyolojik olarak parçalanabilir [23].

2.5.2.1 Kolza yağının genel karakteristikleri

Kolza tohumu, yağı için işlenen bir tohumdur. Tohumdan ekstrakte edilen ham yağ diğer yağlar gibi esas olarak (%95-98) triaçilgliserollerden oluşur. Az veya çok miktarlarda bulunan diğer bileşenler fosfatidler, yağ asitleri, steroller, hidrokarbonlar, alkoller, tokoferoller, lipokromlar, pigmentler, sülfür bileşenleri ve minerallerdir (Çizelge 2.17).

Yağ asidi kompozisyonu erüsik asit içeriğine bağlı olarak farklı hasatlarda oldukça değişkenlik göstermektedir. Farklı kolza yağı türlerine ait yağ asidi bileşimleri Çizelge 2.18'de verilmiştir.

Kolza yağı ve Cruciferae familyasının diğer üyelerinden elde edilen yağların, önemli miktarda uzun zincirli yağ asitlerini (C_{18}) içermeleri bitkisel yağlar arasında alışılmadık bir özelliktir. Yağ asidi bileşimindeki esas değişiklikler, düşük erüsik asit içerikli kolza üretimi için seçici yetiştirme uygulamaları sonucu ortaya çıkmıştır. 1970'ten önce ticari kolza tohumları, *B. campestris* %20-40, *B. napus* ise %30-50 erüsik asit ihtiva etmekteydi. Erüsik asidin bazı anti-beslenme etkileri olduğunu kanıtlayan araştırmalar sonrasında erüsik asit seviyesinin neredeyse sıfırlandığı kolza

tohumu türevleri geliştirilmiştir. Bu türev, erüsik asit içeriği için %0.2-2.0 ile ve eski türlerle kıyaslandığında çok daha yüksek oleik asit ve bir miktar daha yüksek linoleik ve linolenik asit içeriğiyle karakterize edilmektedir [29-30]. Çizelge 2.19’da kolza yağının minör yağ asidi bileşimi görülmektedir.

Çizelge 2.17 : Kolza yağı bileşenleri [29].

Bileşen	Kolza yağı
Triaçilgliseroller (%)	94.4 – 99.1
Fosfolipidler (%)	
Ham yağ	<2.5
Zamksı maddeleri giderilmiş (su ile)	<0.6
Zamksı maddeleri giderilmiş (asit ile)	<0.1
Serbest yağ asitleri (%)	0.4 – 1.2
Sabunlaşmayan maddeler (%)	0.5 – 1.2
Tokoferoller (mg/kg)	700 – 1200
Klorofiller (mg/kg)	5-50
Sülfür (mg/kg)	3 – 25
Demir (mg/kg)	<2

Çizelge 2.18 : Farklı kolza yağı türlerinin yağ asidi bileşimi [29].

Yağ asidi	Kolza tohumu	LLCAN	HOCAN	LTCAN	GLCO
C10:0	-	-	-	0.1	-
C12:0	-	-	-	38.8	-
C14:0	0.1	0.1	0.1	4.1	0.1
C16:0	3.6	3.9	3.4	2.7	4.2
C18:0	1.5	1.3	2.5	1.6	3.7
C20:0	0.6	0.6	0.9	0.4	1.0
C22:0	0.3	0.4	0.5	0.2	0.5
C24:0	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2
Doymuş	6.3	6.6	7.7	48.1	9.9
C16:1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C18:1	61.6	61.4	77.8	32.8	24.4
C20:1	1.4	1.5	1.6	0.8	0.8
C22:1	0.2	0.1	0.1	0.5	0.1
Tekli doymamış	62.4	63.1	79.9	34.3	25.5
C18:2n-6	21.7	28.1	9.8	11.3	26.1
C18:3n-3	9.6	2.1	2.6	6.3	1.3
C18:3n-6	-	-	-	-	37.2
Çoklu doymamış	31.3	30.2	12.4	17.6	64.6

Kısaltmalar: LLCAN – Düşük linolenik asitli kolza yağı; HOCAN – Yüksek oleik asitli kolza yağı; LTCAN – Yüksek laurik asit içerikli kolza yağı; GLCO – Gama linolenik asitli kolza yağı

Çizelge 2.19 : Kolza yağının minör yağ asidi bileşimi [27].

Yağ asidi	Toplam yağ asidi yüzdesi	
	Düşük Erüsik Asitli Kolza Yağı	Yüksek Erüsik Asitli Kolza Yağı
C _{14:1} W ₉	Tr	-
C _{14:1} W ₇	0.007	-
C _{14:1} W ₅	0.004	-
C _{14:2} W ₆	0.02	-
C _{14:3} W ₃	Tr	-
C _{15:0}	0.02	-
C _{15:1} W ₁₀	0.02	-
C _{15:1} W ₁₀ trans	0.01	-
C _{15:1} W ₈	Tr	-
C _{16:0}	3.9	2.6
C _{16:1} W ₇	0.29	0.2
C _{16:2} W ₆	0.07	-
C _{16:3} W ₃	0.13	-
C _{17:0}	0.05	-
C _{17:1} W ₈	0.06	-
C _{18:0}	1.4	-
C _{19:0}	0.02	-
C _{19:1} W ₁₀	0.02	-
C _{21:0}	0.5	0.5
C _{20:2}	0.02	-
C _{20:3}	0.2	-
C _{20:0}	0.01	-
C _{22:0}	0.2	0.4
C _{24:0}	0.2	0.3

Yağdaki erüsik asit (C_{22:1}) miktarının düşmesi, linoleik (C_{18:2}) ve linolenik (C_{18:3}) asit miktarlarında daha az, oleik asit (C_{18:1}) miktarında belirgin bir artışa neden olmuştur. Bu yağ, yerfıstığı yağı ve zeytinyağının yağ asidi bileşimi ile benzerlik gösteren; fakat daha düşük palmitik asit ve daha yüksek linolenik asit içeriği olan bir yağdır. Bitki yetiştiricileri linoleik asit lehine, linolenik asit içeriğini azaltma yönünde bir girişimde bulunmuşlardır. Downey (1978) bu çalışmada, linoleik asitte %30 artış olması gerektiğini göstermiştir. %2'den daha az linolenik asit içeren yağ, bu yeni geliştirilen kolza türünden elde edilmiştir. Bu yeni yağ, zeytinyağına daha benzerdir. Kolza yağından erüsik asidin tamamen uzaklaştırılması mümkün olmamakla birlikte düşük oranlardaki erüsik asidin yağa yararlı katkıları bulunabilir. Ory ve St. Angelo (1975), erüsik asidin, doymamış yağ asitlerini oksitleyerek birçok yağlı tohum ve baklagilde istenmeyen ransiditeye neden olan soya ve yerfıstığı lipoksigenaz enzimini inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Downey (1976), linolenik asit içeriği aynı

olan soya yağı ve kolza yağını karşılaştırdığında, kolza yağının daha iyi saklama kalitesini erüsik asit varlığı ile açıklamıştır [27].

Çizelge 2.20, ham kolza yağı ve farklı rafinasyon basamaklarındaki kolza yağlarının mineral bileşimlerini vermektedir. İşleme ile yağdaki kurşun, demir ve sülfür gibi toksik ve zarar verici eser miktardaki bileşenin azaltıldığı ve yağda çözünmeyen fosfor ve kalsiyum formundaki tuzların büyük bir kısmının zamksı maddelerin giderilmesi basamağında yağdan uzaklaştırılabildiği görülmektedir [29].

Çizelge 2.20 : Kolza yağlarının mineral element bileşimleri (mg/kg) [29].

Yağ örneği	Fosfor	Demir	Kalsiyum	Sülfür	Çinko	Kurşun
Ham yağ	1190.0	3.52	296.0	6.5	2.4	0.24
Zamksı maddeleri giderilmiş						
Su ile (WDG)	222.0	1.32	169.0	1.2	2.1	-
Fosforik asit ile (PDG)	117.2	0.63	34.8	1.5	-	-
Rengi giderilmiş						
WDG	0.21	0.23	5.6	-	-	-
PDG	0.19	0.59	4.1	0.87	-	-
Kokusu giderilmiş						
WDG	0.25	-	-	0.25	-	0.07
PDG	0.22	-	-	0.38	-	-

Soya, ayçiçeği ve Hindistan cevizi yağı yağları için yapılan analizler 2-10 mg/kg sülfür içermektedirken, çizelgeden da görüldüğü gibi en yüksek sülfür içeriği kolza yağına aittir. Kolza yağındaki sülfür, glukosinolatların bozunma ürünleri olan organik bileşikler formundadır. Çok az miktarda olsalar dahi, hidrojenasyon için kullanılan katalisti inhiye etme ve yağda tat bozukluklarına sebebiyet verme özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Bazı durumlarda yağın dayanıklılığını da arttırabilen sülfür bileşikleri, hidroperoksi radikalleri ile sülfür arasında kompleksler oluşturarak daha kararlı bileşikler ortaya çıkmasını sağlayabilir ve antioksidan etki gösterebilirler. Ayrıca, oksidatif prosesteki metaller gibi katalistleri inaktif hale getirme özellikleri de vardır [29-31].

Ham kolza yağı ve rafine edilmiş, rengi ve kokusu giderilmiş (RBD) kolza yağının tipik kimyasal analizi Çizelge 2.21’de verilmiştir. Kokusu giderilmiş yağ, gıda katkısı olarak kullanıma hazır olan yağın özelliklerini göstermektedir.

Çizelge 2.21 : Ham kolza yağı ve rafine edilmiş, rengi ve kokusu giderilmiş (RBD) kolza yağının tipik kimyasal analizi [29].

Parametre	Ham yağ	Rafine edilmiş, rengi ve kokusu giderilmiş yağ
Serbest yağ asitleri, %	0.3 – 1.2	0.03
Fosfor, mg/kg	300 – 500	<2
Su ile zamksı maddeleri giderilmiş	120 – 200	-
Asit-su ile zamksı maddeleri giderilmiş	10 – 40	-
Klorofil, mg/kg	4 – 30	<0.025
Sülfür, mg/kg	2 -15	<1
Demir, mg/kg	0.5 – 1.5	<0.2
Bakır, mg/kg	<0.2	<0.02
Nikel, mg/kg	-	<0.3
Peroksit değeri, me/kg	0.5 – 3.0	0
Anisidin değeri,	1 – 3	<2
Renk, Lovibond	-	<1.5 kırmızı/10 sarı
Nem, %	<0.3	-
Koku	-	Hafif

Kolza yağı, klorofil ve sülfür bileşiklerinin miktarları, diğer yağların çoğundan yüksek olsa da, diğer ticari yağlara oldukça yakın bir bileşime sahiptir.

Kolza yağının sabunlaştırılmayan madde içeriği, ham yağın %0.5-2'sini oluşturan steroller (%60), triterpen alkoller (%9-12), hidrokarbonlar (%8.5-13)i alifatik alkoller (%7.5) ve skualenlerden (%4) ibarettir. Kolza yağındaki steroller, eser miktardaki kolesterolün yanı sıra (toplam sterolün %1-3'ü) 3 ana sterol, brassica sterol, kampesterol, β -sitosterolden oluşmaktadır. Hidrokarbon ve alkol fraksiyonu ise oldukça komplekstir. n-parafinler, izoprenoidal polioledinler, skualen, diterpen ve triterpen hidrokarbonlar ve oksijen içeren bileşikler (alifatik ve alisiklik ketonlar, konjuge steroid ketonlar, esterler ve laktonlar) gibi 30'dan fazla farklı bileşik içerirler. Yağın sabunlaştırılmayan kısmında tokoferoller de bulunur. Bu önemli doğal antioksidanlar vitamin E olarak da bilinir. %60 α -tokoferol ve %40 γ -tokoferol bulunduran kolza yağı, δ -, ϵ - ve özellikle diğer birçok bitkisel yağda bulunmayan β -tokoferoller de az miktarda içerir [29].

2.5.2.2 Kolza yağının oksidasyon stabilitesi

Kolza yağının oksidasyon stabilitesi linolenik asit, klorofil ve bozunma ürünleri ve eser miktardaki 3'ten fazla çift bağa sahip yağ asitleri gibi yüksek kimyasal reaktiviteleri olan diğer minör bileşenlerin varlığı ile sınırlanmıştır. Bu yüksek

doymamışlıktaki yağ asitleri, rafinasyon veya renk giderme işlemleri sırasında oluşabilir. Kolza yağındaki açıl gliserollerde bulunan %7-11 linolenik asit, tat ve oksidasyon stabilitesi açısından bu yağı soya yağı ile aynı kategoriye sokar. Kolza yağının optimum dayanımının, demirin 0.1 ppm'in, bakırın ise 0.02 ppm'in altında olduğu şartlarda temin edildiği saptanmıştır [29].

2.5.2.3 Kolza yağının sağlık üzerine etkileri

Kolza yağı, düşük seviyedeki doymuş yağ asitleri (%4'ten az palmitik asit) ve göreceli olarak yüksek miktarlardaki oleik (%60) ve α -linolenik asit içeriği ile karakterize edilmektedir. Oleik asit içeriğinde zeytinyağından sonra ikinci sırada olan bu yağ, soya yağı haricinde kayda değer miktarda α -linolenik asit bulunduran tek yağdır. Ayrıca, linoleik ve linolenik asit içeriğinde dengesi oldukça iyidir. Normolipidemik kişilerde, plazma total ve LDL kolesterol seviyesini düşürmede soya yağı, aspir yağı ve ayçiçeği yağı kadar etkili olduğu belirlenen kolza yağının, beslenmelerinde doymuş yağ kullanan hiperlipidemik kişilerin de kolesterolünü düşürmüştür. Kan pulcuğu fosfolipidlerinin yağ asidi bileşimlerini de etkileyerek trombosit aktivitesini ve trombojenezi düzelttiği, plazma kolesterol seviyesi üzerindeki etkisini kanıtlayan destekleyici bir bulgudur. Koroner kalp hastalıklarında da olumlu etkileri saptanmıştır [29].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Kullanılan Hammaddeler

Bu çalışmada, Arifoğlu Baharat Sanayi ve Ticaret Şirketi'ne ait bir satış mağazasından temin edilen ve firma tarafından Suriye ve Türkiye kökenli oldukları bildirilen çörek otu tohumları ve Trakya'da kurulu bir yağ fabrikasından temin edilen kolza tohumları kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ise Çizelge 3.1'de tanıtılmıştır.

Çizelge 3.1 : Kullanılan kimyasallar ve markaları.

Kimyasal Madde	Marka
Petrol Eteri, 40–60 °C	J. T. Baker
Dietil Eter	J. T. Baker
Sodyum Hidroksit	J. T. Baker
Fenolftalein	J. T. Baker
Etil Alkol, %96	Teknik
Asetik Asit	Merck
TLC Silica gel 60F ₂₅₄ plakası	Merck
Hidrazin Sülfat	Merck
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck
Hidroklorik Asit	Merck
Sodyum Molibdat	Merck
Sülfürik Asit	Reidel de Haen
Potasyum Hidroksit	Reidel de Haen
Magnezyum Oksit	Sigma Aldrich

3.2 Çalışma Yöntemi

3.2.1 Tohumların karakterizasyonu

3.2.1.1 Tohumların nem ve yağ içeriklerinin saptanması

Bu amaçla, önce Krups marka bir kahve değirmeninde öğütülen tohumların tamamının 710 µm'lik elek altına geçmesi sağlanmış ve daha sonra öğütülmüş tohumların 110 °C sıcaklığında bir etüvde sabit tartıma kadar kurutulması ile nem içerikleri; Soxhlet cihazında petrol eteri 40-60° C ile 6 saat süren ekstraksiyon ile de yağ içerikleri saptanmıştır. Tüm ölçümler iki kez tekrarlanmıştır.

3.2.2 Ön işlem uygulamaları

3.2.2.1 Isıl ön işlem

Tohumlara uygulanan ısı ön işlem, Selecta marka sıcaklığı ayarlanabilen bir etüvde deney planı doğrultusunda belirlenen sıcaklıkta 15 dak. bekletilmesiyle uygulanmıştır. Bu amaçla ekstraksiyonda kullanılması öngörülen miktardaki tohum, petri kaplarına ince bir tabaka halinde yayılarak etüve konulmuş ve üniform bir şekilde ısıtılması sağlanmıştır.

3.2.2.2 Maserasyon ile ön işlem

Maserasyon, belirli bir katı-sıvı oranında tohum-etanol sisteminin oda şartlarında ağzı kapalı olarak önceden deney planı doğrultusunda belirlenen süre boyunca bekletilmesi ile sağlanmış ve tohumlar işlem sonrasında süzülerek etanollü bir ekstrakt faz elde edilmiştir. Etanolü süzülen tohumlar ise, herhangi bir deneyde kullanılmadan önce süzgeç kağıdı üzerine serilerek ortam sıcaklığında 1 gün bekletilmiş ve kalan etanolü uçurulmuştur.

3.2.2.3 Ultrasonik etki ile ön işlem

Ultrasonik etki ise, toplam gücün %30'u ile Bandelin Sonopuls marka 20 kHz frekanslı probu sistemde (Şekil 3.1) veya Bandelin Sonoreks RK510S marka 35 kHz frekanslı ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik probun kullanıldığı deneylerde, 100 gram tohum 500 ml'lik bir polikarbonat beher içine alınarak üzerine alkol ilave edilmiş ve ultrasonik prob beherin ortasında ve ucu beherin dibine yakın olacak şekilde karışımın içine daldırılmıştır. Deney planında belirlenen farklı sürelerde ve farklı katı sıvı oranlarında ultrasonik etkiye maruz bırakılan tohumlar, maserasyonda olduğu gibi işlem sonrasında süzülerek etanollü bir ekstrakt faz elde edilmiş ve tohumlarda kalan etanol ortam sıcaklığında 1 gün bekletilerek uçurulmuştur.



Şekil 3.1 : Çalışmada kullanılan ultrasonik prob sistemi.

3.2.3 Tohumlardan soğuk presleme ile yağ elde edilmesi

Çalışmada kullanılan pres Fred S. Carver Inc. marka bir hidrolik prestir (Şekil 3.2). Deney planı doğrultusunda, öğütülmeden veya öğütülüp 710 μm 'lik elek altı 70-80 g tohum, altına ve üstüne tohum parçalarının yağa karışmasını engellemek maksadı ile birer kumaş filtre elemanı konulan pres haznesinin içine doldurulup cihaza yerleştirilmiş ve 9071.85 kg (20000 lbs) sıkma kuvveti ile preslenmiştir. Yağ veriminin saptanmaya çalışıldığı deneylerde presleme işlemine yaklaşık 3 saat devam edilmiş, bu süre içinde basınç devamlı olarak sabit tutulmaya çalışılmıştır. Pres tablasında 3 gram civarında yağ biriktiğinde derhal bu yağ bir pastör pipetiyle alınarak Rancimat cihazında oksidasyon stabilitesi ölçümüne başlanmıştır. Daha sonra çıkan yağdan alınan örneklerle serbest asit içerikleri ve 2. oksidasyon stabilite ölçümü yapılmıştır. Presleme işleminin bitiminde geride kalan pres küspesi tartılmış ve Soxhlet Yöntemi ile yağ içeriği ve bu yağın serbest asit içeriği saptanmıştır. Preslemeye giren ve çıkan tohum ve yağ miktarlarına göre yapılan kütle dengelerine dayanarak presleme ile elde edilen yağ miktarı ve verimi hesaplanmıştır.

Yağ veriminin saptanmadığı deneylerde ise presleme işlemi daha kısa tutulmuş, analizlere yetecek yağ çıkarıldıktan sonra presleme kesilerek deneye son verilmiştir. Bu tür deneylerde sadece pres yağının serbest asit içeriği, oksidasyon stabilitesi ve bazı kolza yağlarının fosfor içerikleri saptanmıştır.



Şekil 3.2 : Çalışmada kullanılan hidrolik pres.

3.2.4 Tohumlardan elde edilen yağların özelliklerinin saptanması

3.2.4.1 SYA içeriğinin belirlenmesi

0.5-1.0 g civarında hassas olarak tartılan yağ bir erlene alınır ve 40 ml dietil eter-etanol (hacmen 1:1) karışımı olan çözücüde çözülür. Fenolftalein indikatörlüğünde faktörü bilinen 0.1M NaOH çözeltisi ile titre edilir. Bu çalışmada titrasyon, Schott Titronec Universal otomatik titrasyon cihazı ile yapılmıştır. Asit değeri (AD) ve oleik asit cinsinden serbest yağ asidi (SYA) yüzdesi ise, titrasyondaki harcama miktarı kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır [32]:

$$AD = \frac{56.1 \times N_{NaOH} \times V_{NaOH}}{m} \quad (3.3)$$

$$\%SYA = \frac{282 \times N_{NaOH} \times V_{NaOH}}{10 \times m} \quad (3.4)$$

N_{NaOH} : Titrasyonda kullanılan NaOH çözeltisinin normalitesi

V_{NaOH} : Titrasyonda harcanan NaOH çözeltisinin hacmi (ml)

m : Analiz için alınan numune miktarı (g)

3.2.4.2 Oksidasyon stabilitesinin belirlenmesi

Oksidasyon stabilitesi ölçümleri, Metrohm 743 Rancimat cihazında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, ekstrakte edilen yağdan alınan 3 g numune cihaza yerleştirmiş, belirli bir sıcaklıkta (80, 100 ve 110°C) 20 L/saat hava akışına maruz

bırakılarak numunelerin indüksiyon zamanları, dolayısıyla oksidasyon stabiliteleri belirlenmiştir.

3.2.4.3 İnce tabaka kromatografisi ile yağ bileşenlerinin kalitatif olarak incelenmesi

İnce tabaka kromatografisi ile bileşenleri incelenecek olan yağ numunelerinin 0.5 g yağ/ 25ml petrol eteri olacak şekilde çözeltileri hazırlanmıştır. Bazı çalışmalarda, etanolde çözünen madde bileşimleri de incelenmiş olup, bu maddelerin yaklaşık olarak yağ çözeltileriyle aynı konsantrasyonda çözelti oluşturacak şekilde etanolde çözünmeleri sağlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler, 4 µl'lik mikro pipetlerle 10x20 cm boyutlarında ve 250 µm kalınlığında Silica Gel 60 F₂₅₄ ile kaplı plakaya tatbik edilmiştir. Bu plaka, daha önceden petrol eteri, dietil eter ve asetik asit (70:30:1.5) karışımı konulup bir süre bekletilerek çözücü buharı ile doygün hale getirilen tanka yerleştirilerek, çözücü yürütülmüş ve çözücü plaka üst sınırına ulaştığında tanktan çıkarılmıştır. Bir süre çözücüsünün uçması beklendikten sonra, plaka, iyot tankına konulmuş ve bileşenlerin iyot buharıyla boyanması sağlanmıştır [33].

3.2.4.4 Kolza yağlarının fosfor içeriği tayini

Bu tayinde kullanılan metot, magnezyum oksit varlığında yağ numunesinin yakılmasını takip eden spektrofotometrik ölçümlerle mavi fosfomolibdik asit kompleksi olarak yağdaki fosfor içeriğini belirler. Metotta, 3.0 g civarında bir kroze içine tartılan yağ, 0.5 g MgO ile birlikte elektrikli ısıtıcıda örnek koyu bir renk alana kadar ısıtılmış, kömürleşme sağlanıncaya kadar da ısı arttırılmıştır. Yakılan numuneler, mufla fırında 875 °C'de 2 saat tutulduktan sonra çıkarılmış ve oda sıcaklığına soğutulmuştur. Soğuyan örnekler üzerine 5 ml distile su ve 5 ml konsantre HCl eklenmiş, üzeri saat camı ile kapatılan krozeler, 5 dak. kaynatılmıştır. 100 ml'lik balona süzülen çözelti oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, hafif bir bulanıklık elde edilene kadar çözeltiye damla damla %50'lik KOH çözeltisi, ardından oluşan MgO çökeltisini çözene kadar da konsantre HCl ilave edilmiş ve distile su ile hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 10 ml, 50 ml'lik balona aktarılmış, üzerine 8 ml hidrazin sülfat, 2 ml sodyum molibdat çözeltisi eklenmiş, iyice karışması sağlandıktan sonra kaynamış su banyosunda 10 dak. bekletilmiştir. Daha sonra balon, 25 °C'lik su banyosunda bekletilerek soğutulmuş ve elde edilen çözelti distile su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır ve bu son çözeltinin absorbanı Jenway

marka tek hücre tutucu UV/Vis. spektrofotometrede 830 nm’de okunmuştur. Tüm analizler iki kez tekrarlanmış ve analizlerde tanık olarak distile su kullanılmıştır. Okunan absorbans değerlerine karşılık gelen fosfor miktarı kalibrasyon grafiğinden okunmuş ve aşağıdaki formül kullanılarak % fosfor içeriği belirlenmiştir:

$$\%P = \frac{10 (A - B)}{W \times V} \quad (3.5)$$

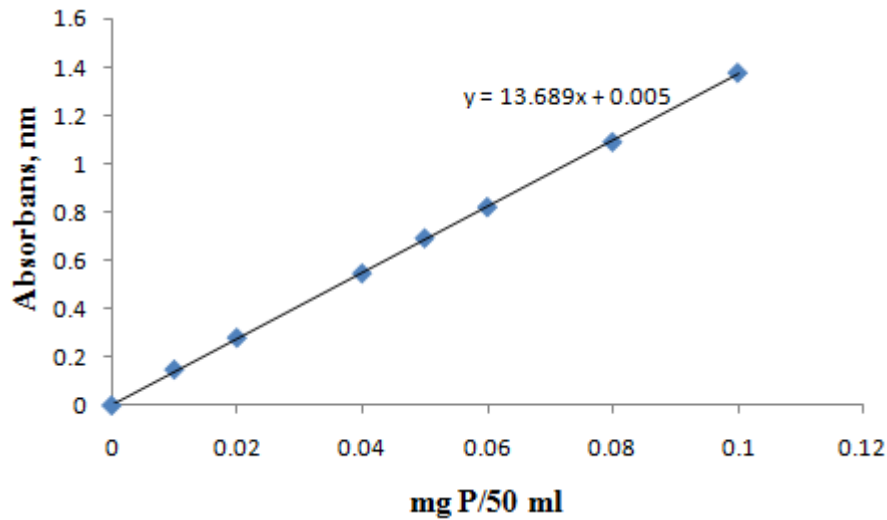
A : Yağ numunesinin fosfor içeriği, mg.

B : Tanığın fosfor içeriği, mg.

W : Yağ numunesinin ağırlığı, g.

V : Analiz prosedüründe üzerine hidrazin sülfat ve sodyum molibdat eklenen çözelti hacmi, 10 ml.

Toplam fosfor içeriğinin saptanmasında Şekil 3.3’teki kalibrasyon grafiğinden yararlanılmıştır. Söz konusu kalibrasyon grafiği, 0.01mg P/ml çözelti konsantrasyonlu standart çalışma çözeltisinden 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 ve 10.0 ml alınarak 50 ml’ye distile su ile tamamlanan çözeltilerin konsantrasyonlarına karşılık, yukarıda açıklanan metot ile okunan absorbanslarının grafiğe geçirilmesiyle oluşturulmuştur [34].



Şekil 3.3 : Toplam fosfor içeriğinin saptanmasında kullanılan kalibrasyon grafiği.

3.3 Deneysel Sonuçlar

3.3.1 Çörek otu tohumlarına alkollü ön işlemin etkisinin incelenmesi

3.3.1.1 Çörek otu tohumlarının karakterizasyonu ve ısıl ön işlemin çörek otu yağının özelliklerine etkisinin saptanması

Deneysel çalışmada öncelikli olarak, Suriye ve Türkiye kökenli tohumların nem içerikleri saptanmış ve ilgili değerler Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 : Çörek otu tohumlarının karakterizasyonu.

	Suriye Kökenli Tohum	Türkiye Kökenli Tohum
Nem İçeriği, %	7.1	7.9
Yağ İçeriği, %	34.7	35.3
Yağ İçeriği, % (kuru bazda)	37.4	38.8

Bazı tohumlara ekstraksiyon öncesi uygulanan ısıl ön işlemin, çörek otu tohumlarına da uygulanmasının gerekip gerekmediğini saptamak üzere ön denemeler yapılması planlanmıştır. Bu amaçla, ısıl ön işlem gören Suriye kökenli çörek otu tohumlarından elde edilen yağlardan derhal 2 paralel numune Rancimat Cihazı’na konarak 110°C sıcaklıktaki oksidasyon stabilitesi ölçülmüş, ayrıca 2 paralel analiz de serbest yağ asidi içeriği için yapılmıştır. Sonuçlar, Çizelge 3.3’te herhangi bir ön işlem görmeyen yağın sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.3 : Isıl ön işlemin çörek otu yağına etkisi.

	Ön işlemsiz	Isıl ön işlemli (15 dak)		
		50 °C	100 °C	150 °C
SYA, %	8.98	6.83	6.50	6.17
OS, sa. (110°C)	3.19 – 2.59	0.95 – 1.53	1.14 – 0.45	1.31 – 0.51

Çizelge 3.3’te verilen değerler incelendiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Isıl ön işlem, tohumların içerdiği lipaz enzimlerini deaktif ettiğinden, ısıl ön işlem gören tohumlardan elde edilen yağların SYA içerikleri biraz daha düşüktür.
- Isıl ön işlem gören tohumlardan, çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağların oksidasyon stabiliteyi daha düşüktür. Buna dayanarak ısıl işlem sonunda, yağa oksidasyon direnci kazandıran bazı maddelerin kaybolduğunu söylemek mümkündür.

Çizelge 3.3'te verilen tek bir yağ numunesine ait iki paralel oksidasyon stabilitesi sonuçları incelendiğinde, sonuçlar arasında çok büyük farklar olduğu gözlemlenmiştir. Isıl işlem sonunda yağın oksidasyon stabilitesinin azalmasına dayanarak, yağ ekstraksiyonunda, örneğin çözücü buharlaştırması sırasında, uygulanan sıcaklık ve sürenin farklı olabileceği, dolayısıyla ölçülen oksidasyon stabilite değerleri arasındaki farklılıkların bundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu görüşü doğrulamak için, Türkiye ve Suriye kökenli tohumlar petrol eteri ile ekstrakte edilmiş ve elde edilen misellaların çözücüleri 60 ve 80°C sıcaklıktaki su banyolarında aynı koşullarda buharlaştırılarak, yağların oksidasyon stabilite değerleri 110 ve 80°C sıcaklıkta ölçülmüştür. Sonuçlar, Çizelge 3.4'te görülmektedir.

Çizelge 3.4 : Çörek otu yağlarının üretim ve ölçüm koşullarına göre oksidasyon stabilite değerleri.

Çözücü Buharlaştırma Sıcaklığı, °C	OS Ölçüm Sıcaklığı, °C	Oksidasyon Stabilitesi, sa.	
		Suriye	Türkiye
80	110	3.19 – 2.59	1.38 – 1.00
80	80	8.50 – 15.54	17.47 – 8.07
60	80	-	13.56 – 16.10

Çizelge 3.4'te verilen sonuçlara göre:

- Çözücü buharlaştırma koşulları, yağın oksidasyon stabilitesini etkilemektedir; çünkü antioksidanların bir kısmı uçucu bileşiklerdir. 60°C sıcaklıkta yürütülen buharlaştırma ile elde edilen yağ için, oksidasyon stabilitesi paralel ölçümleri arasındaki fark azalmıştır.
- Oksidasyon stabilitesinin 110°C yerine 80°C'da ölçülmesi ile daha sağlıklı ve karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilebilecektir. Nitekim Suriye tohumlarından soğuk presleme ile üretilen yağın 80°C sıcaklıkta ölçülen oksidasyon stabilitesi 30 saat civarında iken, aynı yağın 100°C'daki oksidasyon stabilitesi 4.55 saat olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla, 100 ve 110°C sıcaklıkta ölçülen oksidasyon stabilitesi büyüklükleri ile, proses koşullarındaki değişiklikler karşısında oksidasyon stabilitesinin cevabını yeterli hassasiyetle izlemek mümkün olmayabilir.

Yukarıda açıklanan ön deneylere dayanarak çalışmanın devamında hammadde olarak sadece Türkiye kökenli tohumların kullanılmasına ve stabilite ölçümlerinin 80°C sıcaklıkta yapılmasına karar verilmiştir. Çalışmaya, çözücü ekstraksiyonu ve soğuk

pres yağlarının serbest asit içerikleri ve oksidasyon stabilitelerini karşılaştırmak üzere yürütülen deneyler ile devam edilmiştir. Çizelge 3.5'te bu karşılaştırma gösterilmiştir. Ayrıca aynı çizelgede, incelenen tohumlarla üretilebilecek çörek otu yağlarının serbest yağ asitlerinin mümkün olabilecek en düşük değerini saptamak üzere, öğütülmeden preslenerek elde edilen çörek otu yağına ait özellikler de verilmiştir.

Çizelge 3.5 : Çözücü ekstraksiyonu ve soğuk pres yöntemi ile elde edilen çörek otu yağlarının özellikleri.

	Soxhlet Ekstraksiyonu	Soğuk Presleme	
		Bütün Tohum	Öğütülmüş Tohum
SYA, %	9.20	4.96	5.13
OS, sa. (80°C)	17.47 – 8.07	30.59	30.74 – 27.81

Çizelge 3.5 değerlendirildiğinde şu sonuçlar elde edilmiştir:

- Çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağın asit içeriği, pres yağlarına göre yüksektir. Çünkü ekstraksiyon süresince enzimatik hidroliz reaksiyonu devam etmektedir. Aynı yağın oksidasyon stabilitesi ise pres yağlarına göre daha düşüktür; çünkü çözücü buharlaştırma işlemi sırasında bir miktar uçucu antioksidan da buharlaşmaktadır.
- İncelenen tohumlardan soğuk presleme ile elde edilebilecek en düşük SYA içeriği %5 civarındadır. Öğütme yapıldığında, yağın SYA çok az bir artış görülmüştür. Öğütme işleminin ve öğütülmüş tohumların preslenmesinin çok hızlı yapıldığı göz önüne alındığında artışın çok az olması doğaldır. Sonuçta, incelenen tohumlardan soğuk presleme ile elde edilen yağın serbest asit içeriği yaklaşık %5, oksidasyon stabilitesi ise 80°C sıcaklıkta 30 saat olarak bulunmuştur. Çözücü ekstraksiyonu ile elde edilebilecek en düşük serbest asit içeriğini saptamak üzere, öğütülen az miktardaki tohum üzerine derhal bir miktar petrol eteri ilave edilerek kısa bir süre soğukta karıştırılarak bekletilmiş ve süzülerek katı tohum parçacıklarından ayrılan misellanın çözücüsü giderildikten sonra yağın asit içeriği % 4.64 olarak tayin edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, incelenen çörek otu tohumundan üretilecek soğuk pres yağının serbest asit içeriğinin % 4.5-5'den daha küçük olamadığı ve bu yağın yemeklik olarak tüketilmesi için asit içeriğinin sorgulanması gerektiği anlaşılmıştır.

3.3.1.2 Çörek otu tohumlarının alkollü ön işlemi

Alkollü ve ultrasonik alkollü ön işlemin etkisinin ve farkının saptanması

Soğuk presleme yöntemi ile üretilen çörek otu yağının miktar ve kalitesini arttırmak üzere öngörülen alkollü ön işlemin etkisini incelemek üzere yürütülecek deneylere, tohumları alkolle muamele etmenin ve ayrıca bu işlemi ultrasonik destekle yürütmenin sonuçlara katkısını gözlemleyerek başlanması planlanmıştır. Alkollü ön işlemin ve ultrasonik alkollü ön işlemin, soğuk pres yağ verimine ve yağın kalitesine etkisi, Çizelge 3.6'da hiçbir ön işlem görmeyen tohumlar kullanılarak aynı koşullarda yürütülen deneylerin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Alkollü ve alkollü ultrasonik ön işlemin etkileri, aynı koşullarda gerçekleştirilen ikişer paralel deney ile incelenmiştir. Çizelgede verilen yağ verimi, % 35.3 yağ içerikli tohumlardaki toplam yağ miktarından presleme sonunda pres küspesinde kalan yağ miktarının çıkarılması ile hesaplanmıştır.

Çizelge 3.6 : Alkollü ön işlemin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmeyen tohumların preslenmesi ile).

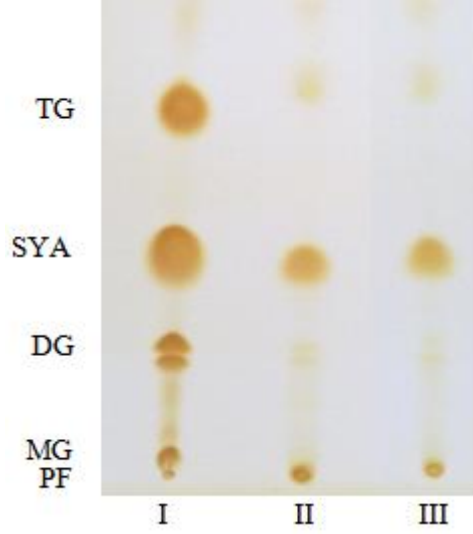
	Ön işlemsiz	Mas-1	Mas-2	Ult-1	Ult-2
Etanolde Çözünenler, g	-	0.30	0.34	0.56	0.51
Preslenen Tohum Miktarı, g	78.66	76.80	73.50	72.06	79.45
Toplam Yağ Miktarı, g	27.77	27.11	25.95	25.44	28.05
Küspe Miktarı, g	72.47	66.24	65.76	62.70	67.66
Küspenin Yağ İçeriği, %	30.1	29.1	28.5	22.3	30.2
Küspenin Yağ Miktarı, g	21.78	19.28	18.75	13.98	20.43
Küspe Yağının SYA İçeriği, %	13.22	14.75	22.47	5.20	5.62
Pres Yağının Miktarı, g	5.98	7.83	7.20	11.45	7.61
Pres Yağının SYA İçeriği, %	4.96	3.30	3.74	2.65	2.59
Pres Yağının OS, sa. (80°C)	30.59	65.56	6.89	39.78	26.59
Pres Yağ Verimi, %	21.5	28.9	27.7	45.0	27.1

Kısaltmalar: Mas. = Maserasyon (alkollü ön işlem), Ult. = Ultrasonik alkollü ön işlem.

Çizelge 3.6'da verilen sonuçlara göre aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

- Hem maserasyon ile ön işlemde hem de ultrasonik destekli ön işlemde, 100'er gram tohumdan, 200 ml %96'lık etanolde çözünen madde miktarları çok düşüktür. Bu değerler yaklaşık olarak, maserasyon için tohum miktarının %0.3'ü ve ultrasonik ön işlem için ise %0.5'i olarak alınabilir. Tohumlar öğütülmeden alkolle muamele edildiğinden bu sonuç doğaldır. İnce yüzey kromatografisi ile yapılan incelemede, alkolde çözünen bu maddelerin, başlıca yağ asitleri, polifenolik bileşikler gibi büyük molekül ağırlıklı polar yapıda maddeler ve çok az trigliseridlere tekabül eden lekeler verdiği saptanmıştır.

Şekil 3.4'te örnek olarak alkolde çözünen maddelerin incelendiği bir ince yüzey kromatogramı verilmiştir.



Şekil 3.4 : % 96'lık alkolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı (I: Standart çözelti, II: Ultrasonik ön işlem ile etanolde çözünen madde, III: Maserasyon ile etanolde çözünen madde).

- Deneyleri yağ verimi açısından değerlendirdiğimizde, ön işlemler sonunda presleme ile üretilen yağ veriminde bir miktar artış olduğu görülmektedir. Ancak aynı koşullar altında yürütülen ultrasonik 1 ve 2 deney verimleri arasında çok fark vardır. Tüm presleme işlemlerinin aynı koşullar altında yürütülmesine özen gösterilse bile, öğütülmeden yapılan presleme nedeniyle sonuçlar arasında fark olduğu sonucuna varılmıştır
- Soğuk presleme ile elde edilen yağların SYA içerikleri arasında, bariz bir fark vardır. Hiçbir işlem görmemiş yağın asitliği %5 civarında iken, alkollü ön işlem sonunda yağın asitliği %3.5 civarına, ultrasonik destekli ön işlem sonunda ise %2.6 civarına düşmüştür. Yani, tohumların alkolle ön işlemi, beklenildiği gibi, lipaz enzimini inaktif ederek hidroliz reaksiyonunun yavaşlamasına neden olmuştur. Alkolün inaktivasyon etkisi, ultrasonik dalga etkisi ile desteklendiğinde üretilen pres yağlarının serbest asit içerikleri daha düşük olmuştur. Küspede kalan yağların serbest asit içerikleri incelendiğinde de, ultrasonik ön işleme maruz kalan tohumların küspelerindeki yağların asit içeriklerinin, diğerlerine göre önemli ölçüde düşük olduğu görülmektedir.
- Pres yağları oksidasyon stabiliteleri açısından değerlendirildiğinde ise, sonuçların karmakarışık olduğu gözlenmiştir. Bu durumun yine öğütmeden

yapılan presleme işleminden kaynaklanabileceği düşünüldüğünden, çalışmanın devamında ön işlem sonrası, preslemeden önce tohumların öğütülmesi ve 710 µm'lik elekten elendikten sonra preslenerek elde edilen yağın incelenmesine karar verilmiştir.

Çizelge 3.7'de yukarıda açıklanan koşullarda uygulanan ön işlem ardından öğütülerek preslenen tohumlardan elde edilen yağlara ait deney sonuçları, alkolle ön işlem görmemiş tohumlara ilişkin sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.7 : Alkollü ön işlemin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile).

	Ön işlemsiz	Maserasyon	Ultrasonik
Etanolde Çözünenler, g	-	0.29	0.51
Preslenen Tohum Miktarı, g	68.84	70.44	71.55
Toplam Yağ Miktarı, g	24.30	24.87	25.26
Küspe Miktarı, g	51.05	54.20	55.40
Küspenin Yağ İçeriği, %	16.5	18.9	16.5
Küspenin Yağ Miktarı, g	8.44	10.26	9.14
Küspe Yağının SYA İçeriği, %	37.37	18.63	23.78
Pres Yağının Miktarı, g	15.86	14.61	16.12
Pres Yağının SYA İçeriği, %	5.13	3.12	2.82
Pres Yağının OS, sa. (80°C)	30.74 - 27.81	62.47 - 57.20	63.01 - 62.79
Pres Yağ Verimi, %	65.3	58.7	63.8

Çizelge 3.7'de verilen sonuçlara dayanarak yapılan değerlendirmeye göre:

- Yağ verimleri açısından anlamlı bir fark yoktur. Çünkü, her üç presleme öğütülmüş tohumlar ile yapıldığından, alkollü ön işlemlerin etkisini görmek mümkün değildir.
- Pres yağlarının serbest yağ asidi içerikleri, Çizelge 3.5 ile aynı düzende değişim göstermiştir. Yani alkollü ön işlem sonunda ön işlem görmeyen tohuma göre daha düşük; ultrasonik destekli ön işlem sonunda ise en düşük asit içerikli yağ elde edilmiştir.
- Alkollü ön işlem sonunda elde edilen pres yağlarının oksidasyon stabiliteleri, ön işlem görmeyen yağa kıyasla iki katı artmıştır. Bu açıdan, ultrasonik desteğin alkollü ön işleme önemli bir katkısı olmamıştır.

Bu aşamaya kadar elde edilen sonuçlar özetlendiğinde:

- Soğuk presleme öncesinde tohumların alkolle muamele edilmesi, presle üretilen yağın asit içeriğinin azalmasına neden olmaktadır. Bu işlem sırasında kullanılan ultrasonik dalgalar, bu azalmanın daha da artmasını sağlamıştır.
- Soğuk presleme öncesi yapılan alkollü ön işlem, üretilen pres yağlarının oksidasyon stabilitesinin önemli boyutta artmasına neden olmuştur. Ultrasonik desteğin bu açıdan bir yararı görülmemiştir.
- Soğuk presleme öncesinde tohumların alkolle muamele edilmesinin, presleme ile üretilen yağ verimine etkisi olmuştur; ancak bu etkinin boyutu hakkında bu aşamada kesin bir değer vermek mümkün değildir.

Alkollü ön işlemin koşullarının çörek otu yağının özelliklerine etkisi

Çalışmanın bu aşamasında alkol konsantrasyonu, ön işlem süresi, katı/sıvı oranı gibi koşulların presleme ile üretilcek yağların özelliklerine etkisi incelenmiştir. Çizelge 3.8’de %96, %80 ve %70 oranlarında etanol içeren alkol-su karışımları ile yürütülen ultrasonik destekli ön işlemler sonunda üretilen pres yağlarına ilişkin deney sonuçları verilmiştir.

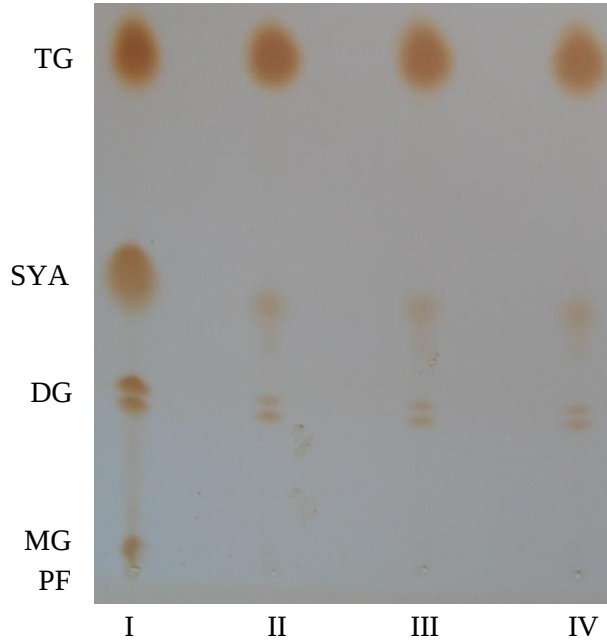
Çizelge 3.8 : Ultrasonik destekli alkollü ön işlemden kullanılan alkol konsantrasyonunun soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile, katı/sıvı: 1/2 sabit).

	%96 EtOH	%80 EtOH	%70 EtOH
Etanolde Çözünenler, g	0.51	0.71	0.95
Preslenen Tohum Miktarı, g	71.55	68.50	70.84
Toplam Yağ Miktarı, g	24.30	24.87	25.26
Küspe Miktarı, g	55.40	52.17	54.75
Küspenin Yağ İçeriği, %	16.5	19.0	17.9
Küspenin Yağ Miktarı, g	9.14	9.91	9.80
Küspe Yağının SYA İçeriği, %	23.78	22.50	11.38
Pres Yağının Miktarı, g	16.12	14.27	15.21
Pres Yağının SYA İçeriği, %	2.82	2.66	2.83
Pres Yağının OS, sa. (80°C)	63.01 - 62.79	53.40 - 46.31	31.08 - 28.14
Pres Yağ Verimi, %	63.8	59.0	60.8

Çizelge 3.8’de verilen sonuçlara göre:

- Ön işlemden kullanılan alkolün su içeriğinin artmasıyla, ön işlem sırasında alkol fazında çözünen madde miktarı biraz artmıştır.

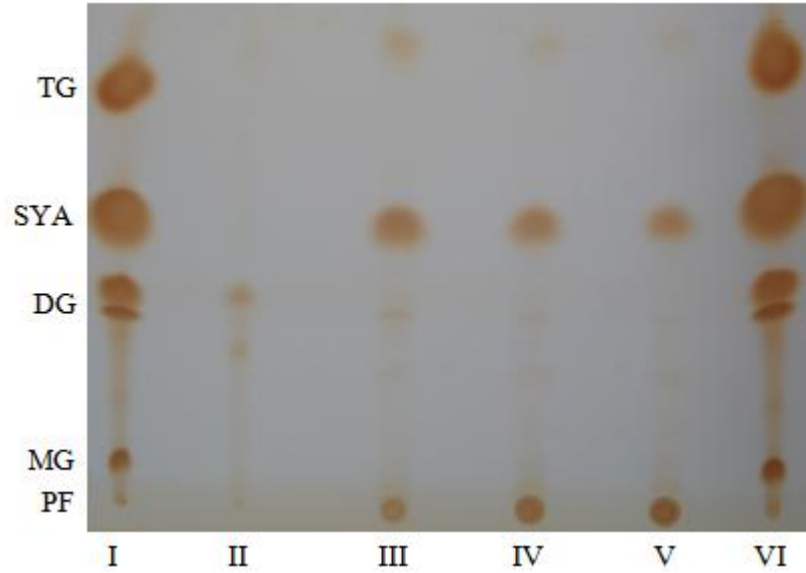
- Alkol konsantrasyonunun değişmesine bağlı olarak, yağ verimi ve yağların serbest asit içerikleri arasında bir fark saptanmamıştır. Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile ultrasonik ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağlarının bileşimini gösteren ince yüzey kromatogramı Şekil 3.5'te verilmiştir. Görüldüğü gibi üç farklı uygulama sonrası elde edilen yağlarda MG'lere ait leke yokken, DG, SYA ve TG'lere ait lekeler belirgin ve benzerdir.



Şekil 3.5 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile ultrasonik ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağlarının bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı (I: Standart çözelti, II: %96'lık etanol ile ultrasonik etki, III: %80'lik etanol ile ultrasonik etki, IV: %70'lik etanol ile ultrasonik etki).

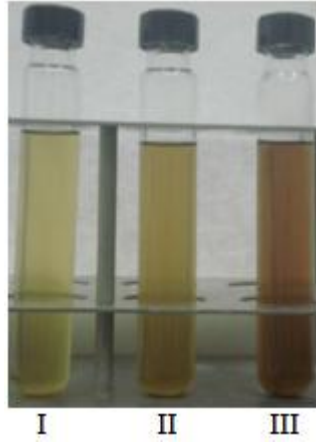
- Alkolün su içeriğinin artmasına bağlı olarak, pres yağlarının oksidasyon stabilitelerinde önemli bir azalma saptanmıştır. %70'lik etanolle ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağının oksidasyon stabilitesi, hemen hemen ön işlem görmemiş tohumlardan elde edilen yağın oksidasyon stabilitesi civarındadır. Bu sonuçlara dayanarak, alkollü ön işlemin pres yağının oksidasyon stabilitesini arttırmasının, ön işlem sırasında difüzyonla tohuma giren çözücünün, tohumların genellikle dış yüzeylerine yakın yerlerde bulunan antioksidan maddeleri çözmesi ve oluşan antioksidan-alkol karışımının presleme sırasında trigliseridlerde çözünerek beraber preslenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Alkolün su içeriğinin artması ile, alkol fazında çözünen polar yapıdaki antioksidan maddelerin miktarının artmasına

rağmen, trigliseridlerde çözünen alkol miktarı ve buna bağlı olarak antioksidan madde miktarı çok azaldığından pres yağının oksidasyon stabilitesinde artış sağlayamamıştır. %80'lik alkolle elde edilen 50 saat civarındaki oksidasyon stabilitesini de %80'lik alkolün trigliseridlerde % 96'lık alkole göre daha az ve %70'lik alkole göre daha çok çözünmesi ile açıklamak mümkündür. Çözünme farklılıklarını görmek açısından Şekil 3.6'da alkolde çözünen maddelere ait ince yüzey kromatogramı incelenmiş ve Şekil 3.7'de alkollü ekstrakt fazlardaki renk değişimi fotoğraflanmıştır. Şekil 3.6'daki kromatogramda %96'lık alkolden %70'lik alkole doğru TG, SYA ve DG'lere ait lekeler silikleşirken, PF'lere ait olan izler belirginleşmektedir.



Şekil 3.6 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile uygulanan ultrasonik ön işlemden alkolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı (I: Standart çözelti, II: Oleil alkol, III: %96'lık etanolde çözünen madde, IV: %80'lik etanolde çözünen madde, V: %70'lik etanolde çözünen madde, VI: Standart çözelti).

Bu aşamaya kadar yapılan tüm alkollü ön işlem deneylerinde, ön işlem süresi 1 saat olarak alınmıştı. Daha kısa veya uzun muamele süresinin etkisini saptamak üzere yürütülen deneylerin sonuçları Çizelge 3.9'da görülmektedir.



Şekil 3.7 : Farklı konsantrasyonlardaki alkol ile uygulanan ultrasonik ön işlem sonrasında elde edilen alkollü ekstraktlar (I: %96'lık etanollü ekstrakt, II: %80'lik etanollü ekstrakt, III: %70'lik etanollü ekstrakt).

Çizelge 3.9 : Ultrasonik destekli alkollü ön işlemde işlem süresinin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile, katı/sıvı: 1/2 sabit).

	30 dak.	60 dak.	90 dak.
Etanolde Çözünenler, g	0.39	0.51	0.54
Preslenen Tohum Miktarı, g	68.72	71.55	71.11
Toplam Yağ Miktarı, g	35.3	35.3	35.3
Küspe Miktarı, g	-	55.40	52.89
Küspenin Yağ İçeriği, %	-	16.5	18.3
Küspenin Yağ Miktarı, g	-	9.14	9.69
Küspe Yağının SYA İçeriği, %	-	23.78	10.75
Pres Yağının Miktarı, g	-	16.12	15.41
Pres Yağının SYA İçeriği, %	3.22	2.82	2.80
Pres Yağının OS, sa. (80°C)	64.45- 64.79	63.01 - 62.79	28.53 - 28.55
Pres Yağ Verimi, %	-	63.8	61.4

Çizelge 3.9'da, daha önce saptandığı gibi, proses koşullarında yapılan herhangi bir değişikliğin verim üzerine etkisinin görülemediği, bunun da tohumlar öğütülerek yapılan presleme ile bütün koşulların etkisinin önemsizleştirilmesinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Buna karşılık 30 dakikalık bir işlem ile elde edilen pres yağının asit içeriği, 60 ve 90 dakikalık ön işlemlerinkine göre daha yüksek çıkmıştır ki bu da beklenen bir sonuçtur. Ancak 30 ve 60 dakikalık işlemler sonunda elde edilen yağların oksidasyon stabiliteleri, hemen hemen aynı, fakat 90 dakikalık ön işlem uygulamasının ardından elde edilen pres yağının beklenenin tersine ön işlem görmemiş yağın oksidasyon stabilitesinden bile düşük bir değerde çıkmıştır. Bu durum şaşırtıcıdır; çünkü ön işlem süresinin artması ile daha çok antioksidan maddenin yağa geçmesi beklenir. Hem bu durumu kontrol etmek hem de daha uzun ön işlem sürelerinde erişilebilecek en düşük asitliği belirlemek üzere, bu defa 100

gram çörek otu tohumu 200 ml % 96 lık etanol içinde 24 saat süresince bekletilmiş ve daha sonra standart prosedür uygulanarak pres yağı elde edilmiştir. Bu yağın asitliği ve oksidasyon stabilitesi, Çizelge 3.10’da 1 saatlik maserasyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.10 : Çörek otu tohumlarının alkollü ön işleminde işlem süresinin soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile, katı/sıvı:½ sabit).

	Maserasyon Süresi, sa.	
	1	24
Etanolde Çözünenler, g	0.29	0.69
Pres Yağının SYA İçeriği, %	3.11	2.26
Pres Yağının OS, Sa. (80°C)	44.90 - 46.13	36.11 - 43.80

Görüldüğü gibi alkolde bekletme süresi 24 saate çıkınca, pres yağının asit içeriği biraz daha azalmış; ancak oksidasyon stabilitesinde Çizelge 3.9 koşullarına saptandığı gibi büyük bir değişiklik saptanmamıştır. Bu durumda, Çizelge 3.9’daki oksidasyon stabilitesindeki azalmanın alkollü ön işlemde değil, ultrasonik dalgalardan kaynaklanan bir sorun nedeni ile oluşmuş olabileceği düşünülmüştür. Nitekim ultrasonik destekli ön işlem sırasında uygulanan katı/sıvı oranının etkisini saptamak üzere yürütülen deneylerde de benzer tutarsızlıklar yaşanmıştır. Çizelge 3.11’de katı/sıvı oranı (ağır./ hac.) 1/1, 1/2 ve 1/3 olarak uygulanan ultrasonik destekli ön işlemler sonunda elde edilen pres yağlarının özellikleri verilmiştir.

Çizelge 3.11 : Ultrasonik destekli alkollü ön işlemde katı/sıvı oranını soğuk presleme ile üretilen çörek otu yağlarına etkisi (öğütülmüş tohumların preslenmesi ile, ön işlem süresi:60 dk. sabit).

	Katı/Sıvı (ağır./hac.)		
	1/1	1/2	1/3
Pres Yağının SYA İçeriği, %	2.93	2.61	2.49
Pres Yağının OS, Sa. (80°C)	31.58 - 38.52	46.85 - 51.32	34.32 - 40.20

Elde edilen sonuçlara göre şu değerlendirmeler yapılmıştır:

- Ön işlemde kullanılan alkol miktarı arttıkça, pres yağının asit içeriği azalmıştır. Bu beklenen bir sonuç değildir. Aslında alkollü ön işlemde katı/sıvı oranının bir değişken olabileceği düşünülmemişti. Çünkü hem asitliğin azalmasında hem de oksidasyon stabilitesinin artmasında etkin olduğu düşünülen mekanizmalara göre, ortamda sadece alkol olması ve tohumların tamamen alkolle temas etmesi yeterlidir.

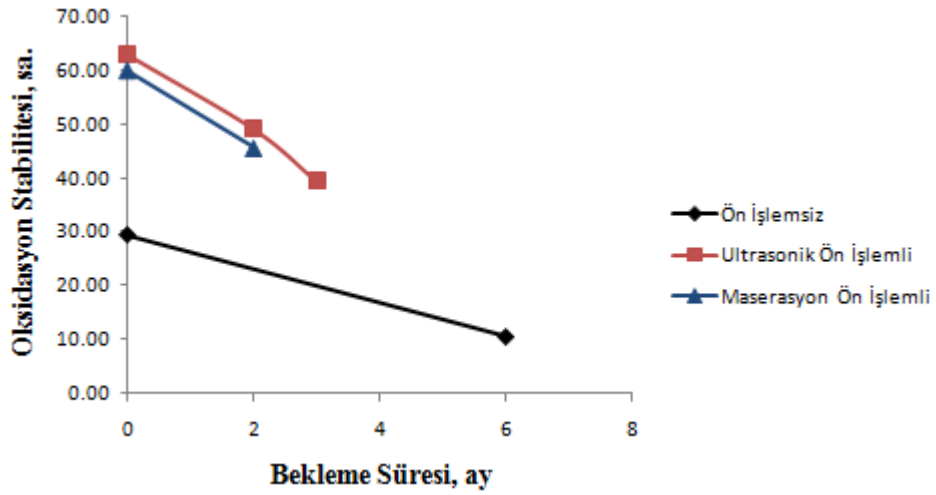
- Katı/sıvı oranı 1/1 ve 1/3 iken elde edilen oksidasyon stabiliteleri arasında önemli bir fark yok gibidir. Ancak katı/sıvı oranının 1/2 olduğunda ölçülen oksidasyon stabilitesi de beklenen bir değer değildir. Zira çalışmanın başlarında aynı koşullarda ölçülen oksidasyon stabiliteleri 60 saat civarlarındaydı (Çizelge 3.7, Çizelge 3.8). Bu durumda, laboratuvar ortamında depolanmış tohumların bekleme süresi içinde antioksidan maddelerini giderek kaybetmeleri nedeniyle elde edilen yağların oksidasyon stabilitelerinin azalması beklenmelidir. Nitekim çalışmada kullanılan ön işlem görmemiş tohumların doğrudan preslenmesi ve tohumların ultrasonik destekli veya desteksiz alkollü ön işlemlerinden sonra preslenmesiyle elde edilen yağların oksidasyon stabiliteleri tayin edildiğinde, her iki durumda da oksidasyon stabilitelerinin giderek azaldığı saptanmıştır (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12 : Laboratuvar ortamında bekletilen çörek otu tohumu yağlarının özelliklerinin değişimi.

		Bekleme Süresi		
		Başlangıç	4. ay	6. ay
Ön İşlemsiz	SYA, %	5.13	3.82	3.93
	OS, sa.	30.74 - 27.81	35.50 - 43.92	8.10 - 12.85
		Başlangıç	2. ay	3. ay
Ön işlemli Ultrasonik	SYA, %	2.82	2.61	2.69
	OS, sa.	63.01 - 62.79	46.85 - 51.32	32.55 - 46.15
		Başlangıç	2 ay	
Ön işlemli Maserasyon	SYA, %	3.12	3.11	
	OS, sa.	62.47 - 57.20	44.90 - 46.13	

Şekil 3.8’de ise, Çizelge 3.12’de verilen sonuçlara göre her üç durum için yağların oksidasyon stabilitelerinin depolama süresine bağlı olarak değişimleri gösterilmiştir.

Şekil 3.8’de görülen tohumların depolama sırasındaki değişimleri, alkollü ön işlem geçirmiş tohumların depolama sırasındaki davranışları hakkında bir soru oluşturmuştur. Bu amaçla iki adet torbaya 500’er gram tohum doldurularak büyük ultrasonik banyonun tabanına yatırılmış ve üzerine 1500 ml %96 ‘lık etanol ilave edilerek ultrasonik banyo çalıştırılmıştır. 1 saat sonunda cihaz durdurulup tohum paketleri süzülerek dışarı alınmış ve süzgeç kağıdı üzerine yayılarak alkolün uçması için bekletilmiştir. Alkolü uçan tohumlar bir kavanoza alınarak ağzı kapalı olarak laboratuvar ortamında bekletilmiş ve belirli zamanlarda bu tohumlardan alınan örnekler preslenerek, elde edilen pres yağının özellikleri saptanmıştır. Çizelge 3.13’te söz konusu deney serisine ilişkin sonuçlar görülmektedir.



Şekil 3.8 : Depolama süresince çörek otu tohumlarının oksidasyon stabilitelerinin değişimi.

Çizelge 3.13 : Ultrasonik destekli alkollü ön işlem uygulanan çörek otu tohumlarının depolama süresince pres yağlarının özelliklerindeki değişim.

	Başlangıç	20. gün	40. gün	60. gün
SYA, %	2.41	2.10	2.09	2.06
OS, sa.	49.48 - 44.68	26.85 - 33.19	46.45 - 48.22	31.15 - 35.80

Çizelge 3.13'te, ön işlem görmüş tohumların da oksidasyon stabilitelerinin depolama süresince azaldığı, ancak 2 ay beklemiş ön işlemlili tohumların yağlarının oksidasyon stabilitelerinin ön işlem görmemiş tohumların başlangıç oksidasyon stabilitesinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak ultrasonik ön işlemde katı/sıvı oranının etkisi değerlendirilirken, çalışma boyunca laboratuvar ortamında bekletilen tohum yağlarının oksidasyon stabilitelerinin giderek azaldığı ve dolayısıyla deney sonuçları değerlendirilirken deneyin yapıldığı tarihin de göz önüne alınması gerektiği anlaşılmıştır. Bu yaklaşımla, Çizelge 3.11'de verilen sonuçlar tekrar değerlendirildiğinde katı/sıvı oranının 1/1 olarak uygulandığı deneyin diğerlerine göre daha az beklemiş tohumla yapılması dolayısıyla başka bir etki olmadığı takdirde en yüksek oksidasyon stabiliteli yağı vermesi beklenirdi. Halbuki Çizelge 3.11'de görüleceği gibi söz konusu koşulda daha düşük oksidasyon stabiliteli yağ elde edilmiştir. Bu duruma neden olarak, daha önceki deneylerde de dikkati çeken sıcaklık artışı üzerinde durulmuş ve katı/sıvı oranının 1/2 ve 1/3 olarak uygulandığı deneylerde tohum-alkol karışımlarının sıcaklık değişimleri saptanmıştır. Çizelge 3.14'te bu sonuçlar gösterilmektedir.

Çizelge 3.14 : Ultrasonik destekli ön işlem süresince karışımın sıcaklık değişimi.

Süre (dak.)	Sıcaklık (°C)	
	1/2	1/3
0	22	22
30	46	44
45	52	51
60	57	55

Görüldüğü üzere, sıvı miktarı azaldıkça, beklendiği gibi karışımın sıcaklığı biraz artmıştır. Bu artışın katı/sıvı oranı 1/1 iken daha fazla olacağı aşıkardır. Sıcaklığın çörek otu yağlarının oksidasyon stabilitesine etkisi çalışmanın başında saptanmıştı. Dolayısıyla, sıcaklık aynı olduğu takdirde katı/sıvı oranının ön işlem sonunda elde edilecek pres yağı oksidasyon stabilitesine bir etkisinin olmaması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Bu durumda bir kez tohumların ön işleminde kullanılmış alkollü çözeltilerin birden fazla ön işlemde kullanılmasının mümkün olabileceği düşünülmüş ve bu görüşü doğrulamak üzere yürütülen deney sonuçları Çizelge 3.15'te verilmiştir. Bu deneylerde 100 gram çörek otu tohumu, 100 ml % 96'lık etanolle bir saat süre ile ultrasonik ön işleme tabi tutulduktan sonra süzülerek ele geçen tohumlardan standart prosedür ile pres yağı elde edilmiş ve özellikleri saptanmıştır. Yaklaşık 75 ml civarındaki alkollü faz, taze etanol ile 100 ml'ye tamamlanarak, 2. 100 gram taze tohumun ultrasonik ön işleminde kullanılmıştır. Bu işlem 4 kez tekrarlanarak tohumlardaki yağın özellikleri saptanmış, ayrıca alkollü fazların toplam çözünen madde ve çözünen SYA konsantrasyonları izlenmiştir.

Bu aşamaya kadar yapılan tüm alkollü ön işlem deneylerinde, çörek otu tohumları olduğu gibi, yani öğütülmeden kullanılmıştı. Aynı işlem öğütülmüş tohumlar ile yapıldığında, farklı bir sonuç elde edilmesi beklenmektedir. Çünkü serbest yağ asitlerinin ve antioksidan özellikli maddelerin etanolde çözünürlükleri fazladır. Dolayısıyla, pres yağının oksidasyon stabilitesinin artması yerine azalması gerekir. Yine de alkollü ön işlemin etki mekanizmasını daha iyi anlayabilmek için 100 gram çörek otu tohumu öğütüldükten sonra bir saat ultrasonik destekli ön işleme tabi tutulmuş ve daha sonra süzülerek alkolü giderildikten sonra preslenerek pres yağı elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.16'da yaklaşık aynı süre depolanmış ve öğütülmeden ultrasonik ön işleme tabi tutulmuş tohum yağları ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.15 : Çörek otu tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde alkol fazlarının tekrarlı kullanımının incelenmesi. (katı/sıvı:1/1 sabit, ön işlem süresi:60dk. sabit)

	1. Kullanım	2. Kullanım	3. Kullanım	4. Kullanım
Pres Yağının SYA İçeriği, %	2.93	2.86	2.74	2.74
Pres Yağının OS, sa.	31.58 - 38.52	47.21 - 47.41	37.90 - 47.05	36.34 - 47.10
Alkol Fazının Çözünen Madde Konsantrasyonu, g/L	4.93	7.54	8.97	9.72
Çözünen Maddenin SYA, %	57.83	56.52	56.05	49.08

Çizelge 3.15'te, alkollü fazın 4 kez kullanımında da etkinliğini devam ettirmekte olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.16 : Çörek otu tohumlarının ultrasonik alkollü ön işleminde tohumlara uygulanan öğütme işleminin etkisi.

	Öğütülmeyen Tohumlar ile	Öğütülen Tohumlar ile
Etanolde çözünenler, g	0.51	4.14
Pres yağının SYA içeriği, %	2.61	13.50
Pres yağının OS, sa. (80°C)	46.85 - 51.32	5.36 - 5.85

Çizelge 3.16 incelendiğinde aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

- Tohumlar öğütüldüğünde, alkolde çözünen madde miktarı doğal olarak artmıştır.
- Pres yağının serbest asit içeriği çok fazla artmıştır. Oysaki lipaz alkol ile daha iyi temas ettiğinden enzimatik deaktivasyonun daha etkin olacağı ve dolayısıyla asit içeriği daha düşük bir yağ elde edileceği beklenebilirdi. Fakat bu sonuca göre, tohumların öğütülmesi ile lipaz ve yağın teması sağlandığından, hidroliz reaksiyonu hızla gerçekleşerek yağın asitliğinin artmasına neden olmuştur.
- Pres yağının oksidasyon stabilitesi, önemli ölçüde azalmıştır. Çünkü beklenildiği gibi alkolde çözünen antioksidan özellikli madde miktarı artmıştır.

3.3.2 Kolza Tohumlarına Alkollü Ön İşlemin Etkisinin İncelenmesi

Çalışmanın ikinci bölümünde alkollü ön işlemin kolza tohumuna uygulanarak soğuk pres kolza yağının verim ve özelliklerine etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

3.3.2.1 Kolza tohumlarının karakterizasyonu ve ısıl ön işlemin kolza yağının özelliklerine etkisinin saptanması

Çalışmada kullanılan kolza tohumlarının ve petrol eteri ekstraksiyonu veya soğuk presleme ile elde edilen yağların özellikleri Çizelge 3.17’de verilmiştir. Bu çizelgede ayrıca 15 dakika 110°C sıcaklığındaki etüvde bekletilerek ısıl ön işleme tabi tutulan ve daha sonra soğuk presleme ile elde edilen yağa ait özellikler de verilmiştir.

Çizelge 3.17 : Kolza tohumunun ve yağının özellikleri.

		Nem içeriği, %	Yağ içeriği, %	Yağ içeriği, % (kuru bazda)
Tohumun Özellikleri		6.79	38.4	41.2
		SYA, %	OS, sa. (80°C)	
Yağın Özellikleri	Soxhlet ekstraksiyonu	1.94	41.45	
	Presleme (Ön işlemsiz)	0.99	27.68 – 35.59	
	Presleme (Isıl ön işlemli)	0.73	47.15 – 50.13	

Çizelge 3.17’deki sonuçlara dayanarak yapılan değerlendirmeye göre:

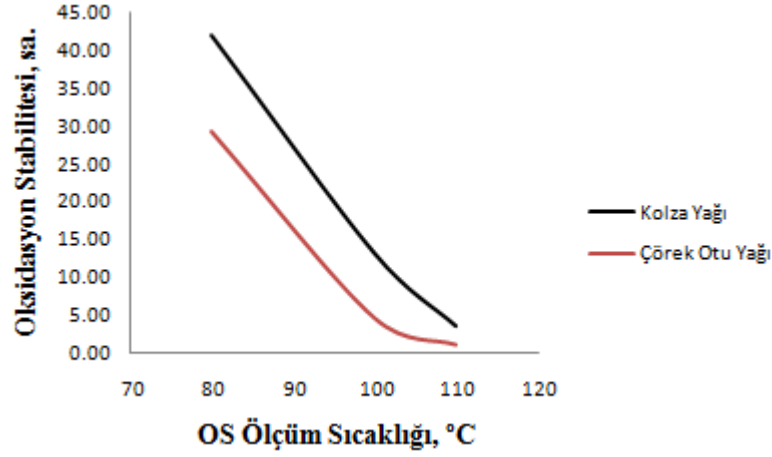
- Kolza tohumunun lipaz enzimi, çörek otuna göre çok daha az aktif olduğundan kolza ham yağının serbest asit içeriği çörek otu yağına göre daha düşüktür. Bununla birlikte, ısıl ön işlem enzimatik aktiviteyi biraz azalttığından bu işlem sonunda elde edilen yağın asitliği daha düşüktür.
- Çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağın oksidasyon stabilitesi pres yağınınkinden biraz daha yüksektir. Çünkü kolza tohumlarının içerdiği antioksidan özellikli maddelerin petrol eterindeki çözünürlükleri, trigliseridlerdeki çözünürlüklerinden daha yüksektir. Isıl ön işlem sonunda pres yağının oksidasyon stabilitesi, çörek otu yağından farklı olarak artmıştır.

Çizelge 3.18’de ve Şekil 3.9’da hiçbir ön işlem görmemiş pres yağlarının 80, 100 ve 110°C sıcaklıkta ölçülen oksidasyon stabilitelerinin değişimleri karşılaştırılmıştır. Kolza yağlarının oksidasyon stabilite ölçümlerinin de 80°C sıcaklıkta yapılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.18 : Kolza ve çörek otu tohumlarının farklı sıcaklıklarda ölçülen oksidasyon stabilitei.

	Oksidasyon Stabilitesi, sa.		
	80°C	100°C	110°C
Kolza Yağı	38.01 - 45.76	12.92 - 13.51	3.50 - 3.75
Çörek Otu Yağı	30.74 - 27.81	4.55	0.98*

*Çörek otu tohumlarından, ısıl ön işlem uygulaması sonrasında elde edilen yağın 110°C'deki OS'lerinin ortalaması alınarak saptanmış yaklaşık bir değerdir.



Şekil 3.9 : Kolza ve çörek otu yağlarının farklı sıcaklıklarda ölçülen oksidasyon stabilitei.

3.3.2.2 Kolza tohumlarının alkollü ön işlemi

Alkollü ve ultrasonik alkollü ön işlemin etkisinin ve farkının saptanması

Alkollü ön işlem prosedürüne göre ultrasonik destekle ve desteksiz gerçekleştirilen ön işlemler ardından elde edilen yağların özellikleri Çizelge 3.19'da verilmiştir.

Çizelge 3.19 : Kolza tohumlarının alkollü ve ultrasonik destekli alkollü ön işlemleri.

	Ön işlemsiz	Maserasyon	Ultrasonik
Etanolde Çözünenler, g	-	0.16	0.19
Pres Yağının SYA İçeriği, %	0.99	0.69	0.56
Pres Yağının OS, sa. (80°C)	27.68 - 35.59	43.75 - 52.26	53.30 - 55.19

Çizelge 3.19'da alkollü ön işlemin soğuk pres yağının serbest asit içeriğine ve oksidasyon stabilitesine etkisi ve ultrasonik destekli ön işlemde bu etkinin biraz daha fazla olduğu görülmektedir.

Isıl ve alkollü ön işlemin beraber kullanımının etkisi

Her iki ön işlemin ayrı ayrı uygulanmasının kolza pres yağına olumlu etkisi saptanmıştır. Bu durumda, her iki ön işlemin aynı tohumlara peş peşe uygulanması halinde sağlanabilecek etkiyi saptamak üzere yürütülen paralel deney sonuçları

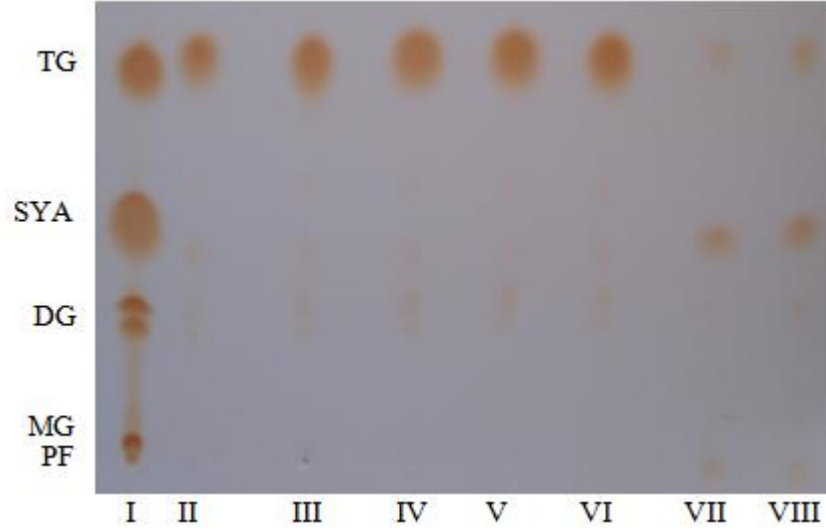
Çizelge 3.20’de görülmektedir. Doğal olarak bu deneyler, ısıl ön işlemin ardından ultrasonik destekli alkollü ön işlemin uygulandığı deneyler ve tam tersi bir prosedürü takip eden alkollü ön işlemi takiben ısıl ön işlemin uygulandığı deneyler olmak üzere iki grup altında planlanmıştır. Isıl ön işlem her iki deney grubunda da 110°C sıcaklıkta 15 dakika olarak, ultrasonik ön işlem ise 1 saat boyunca katı/sıvı oranı 1/1 olarak uygulanmıştır.

Çizelge 3.20 : Isıl ön işlem ve alkollü ön işlemin kolza tohumlarına beraber uygulanması.

	Etanolde çözünenler, g	Pres yağının SYA içeriği, %	Pres yağının OS, sa. (80°C)
Isıl Ön İşlem Ardından	0.32	0.70	57.51 – 55.80
Ultrasonik Alkollü Ön İşlem	0.21	0.68	59.30
Ultrasonik Alkollü Ön İşlem	0.19	0.71	65.01 – 63.57
Ardından Isıl Ön İşlem	0.15	0.59	61.99

Çizelge 3.20’de verilen sonuçlara göre, söz konusu farklı iki uygulamada pres yağının serbest asit içeriklerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Buna karşılık, alkollü ön işlemin ardından ısıl ön işlemin uygulandığı seçenekte, diğerine göre biraz daha yüksek oksidasyon stabilitesi ölçülmüştür. Sadece ısıl ön işlem ile oksidasyon stabilitesi 50 saat civarında iken, ısıl işlem ardından alkollü ön işlem uygulanması ile bu değer 57 civarına yükselmiştir. Sadece ultrasonik alkollü ön işlem oksidasyon stabilitesi 54 saat civarında iken, alkollü ön işlem ardından ısıl işlem ile oksidasyon stabilitesi 64 saate artış göstermiştir. Bu farklılık, alkolde çözünen antioksidanların ısıl işlemde daha fazla etkilenmesi ile açıklanabilir. Tüm bu sonuçlarla birlikte, iki ön işlemin beraber uygulanmasında, tohumlar tarafından tutulan alkolün geri kazanılması açısından da önce alkollü ön işlemin, daha sonra ısıl ön işlemin uygulanmasının yararlı olduğu anlaşılmıştır.

Şekil 3.10’da farklı ön işlemler uygulanan kolza tohumlarından elde edilen pres yağlarının ve etanolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı görülmektedir. Pres yağlarında TG’lere ait belirgin lekeler dikkat çekerken, iki ön işlemin kombinasyonu ile yapılan farklı uygulamalarda etanolde çözünen maddelerin bileşimlerindeki değişimler kromatogramdan görülmektedir.



Şekil 3.10 : Farklı ön işlemler uygulanan kolza tohumlarından elde edilen pres yağlarının ve etanolde çözünen maddelerin bileşimini gösteren bir ince yüzey kromatogramı (I: Standart çözelti, II: Soxhlet yağı, III: Ön işlemsiz pres yağı, IV: Ultrasonik ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağı, V: Ultrasonik etki ardından ısıl ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağı, VI: Isıl ön işlem ardından ultrasonik etki uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağı, VII: Ultrasonik etki ardından etanolde çözünen maddeler, VIII: Isıl ön işlem uygulaması ardından uygulanan ultrasonik etkide etanolde çözünen maddeler).

Ultrasonik destekli alkollü ön işlemden uygulanan katı/ sıvı oranının etkisi

Ultrasonik destekli alkollü ön işlem sırasında uygulanan farklı katı/sıvı oranlarının etkisi, kolza tohumları için de saptanmıştır. Çizelge 3.21’de bu deney serisine ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 3.21 : Kolza tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde uygulanan katı/sıvı (ağır./ hac.) oranının etkisi.

	Katı/Sıvı (ağır./hac.)		
	1/1	1/2	1/3
Etanolde çözünen madde, g	0.19	0.27	0.36
Pres yağının SYA içeriği, %	0.56	0.72	0.73
Pres yağının OS, sa. (80°C)	53.30-55.19	38.41-49.86	48.36-51.38

Çizelge 3.21’de verilen sonuçlara ve çörek otu tohumları ile farklı katı/sıvı oranlarında elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak yapılan değerlendirmeye göre:

- Alkol miktarı arttıkça doğal olarak alkolde çözünen madde miktarı artmıştır. Bu miktar tohumun en fazla %0.3-0.4’ü kadardır.

- Alkol miktarı arttıkça elde edilen pres yağının serbest asit içeriği pratikte değişmemiştir.
- Alkol miktarı arttıkça kolza pres yağının oksidasyon stabilitesi, çörek otu yağından farklı bir davranış göstererek azalma eğilimi göstermiştir. Çizelge 3.21’de verilen deneyler için uygulanan 1 saatlik ultrasonik ön işlem sırasında karışımın sıcaklık profili 15 dakika aralıklarında ölçülerek kaydedilmiştir. Çizelge 3.22’de farklı katı/sıvı oranlarında ultrasonik destekli alkollü ön işlem yapılırken saptanan sıcaklık değerleri gösterilmektedir.

Çizelge 3.22 : Kolza tohumlarının ultrasonik destekli alkollü ön işleminde karışımın sıcaklık profili.

Süre (dak.)	Sıcaklık (°C)		
	1/1	1/2	1/3
0	19	19	19
15	34	32	30
30	40	39	34
45	45	43	38
60	50	48	43

Çizelgede verilen değerler incelendiğinde, katı/sıvı oranının 1/1 olduğu deneyde sıcaklığın diğerlerine göre giderek daha fazla arttığı açıkça görülmektedir. Bu durumda, kolza tohumlarının ve çörek otu tohumlarının ısı ön işlem karşısındaki davranışlarına paralel olarak, daha yüksek sıcaklıktaki ortamda, yani katı/sıvı oranı 1/1 iken, kolza yağının oksidasyon stabilitesi daha yüksek; çörek otununkinin daha düşük ölçülmüştür. Buna bağlı olarak ultrasonik destekli alkollü ön işlem sırasında uygulanan katı/sıvı oranına bağlı olarak pres yağının oksidasyon stabilitesindeki değişimlerin ortam sıcaklığındaki değişimlerden kaynaklandığı; ultrasonik işlem sırasında açığa çıkan ısıнын herhangi bir şekilde uzaklaştırılması durumunda, katı/sıvı oranındaki değişmeye bağlı olarak yağların oksidasyon stabilitelerinde bir değişim görülmeyeceği sonucuna varılmıştır.

Ultrasonik destekli alkollü ön işlemin kolza pres yağının fosfolipid içeriğine etkisi

Ultrasonik destekli alkollü ön işlemin lipaz enzimi gibi, kolza tohumlarında bulunan fosfolipaz ile glukozinatları hidrolizleyen mirosinaz enzimlerini de deaktive etmesi mümkün olabilir. Çizelge 3.23’te hiçbir ön işlem görmemiş kolza tohumları ile ısı

işlem ve ultrasonik destekli alkollü ön işlem görmüş tohumlardan elde edilen pres yağlarının fosfor içerikleri verilmiştir.

Çizelge 3.23 : Ön işlemin pres kolza yağlarının fosfor içeriklerine etkisi.

	Fosfor Miktarı (ppm)	Ortalama Fosfor Miktarı (ppm)
Ön İşlemsiz	15.94 - 12.57	14.26
Isıl Ön İşlemli	15.21 - 17.28 - 17.12	16.54
Ultrasonik Alkollü Ön İşlem	3.69 - 2.89 - 1.45	2.68
Ultrasonik Alkollü Ön İşlem Ardından Isıl Ön İşlem	11.99 - 8.68 - 7.23	9.30

Çizelge 3.23'te orijinal tohumların fosfor içeriğinin 14 ppm civarında olduğu görülmektedir. 15 dakika süre ile 110°C sıcaklıkta bekletilen tohumlarda ise bu değer ortalama 16.54 ppm olarak saptanmıştır. Literatürde kolza tohumlarına mikrodalga fırında uygulanan ısı ön işlem sonunda, pres yağının fosfor içeriğinin 100°C sıcaklığa kadar uygulanan ısı ön işlem sonunda pek değişmediği; bu sıcaklıktan sonra hızla artarak, 135°C sıcaklıkta 11 ppm'den 400 ve daha büyük değerlere yükseldiği belirlenmiştir [7]. Ultrasonik destekli alkollü ön işlem sonrasında ise, pres yağının fosfor içeriğinde dramatik bir azalma söz konusu olmuştur. Bu azalmanın nedeni hakkında henüz kesin bir açıklama yapmak mümkün olmamakla birlikte, bu durumun enzim aktivitesindeki azalmadan çok, ultrasonik etki ve ayrıca alkol nedeni ile fosfolipidlerin hidrate olarak yağdaki çözünürlüklerinin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ultrasonik destekli alkollü ön işlem ardından uygulanan ısı ön işleminden sonra, pres yağının fosfor içeriğinde artış olduğu çizelgede görülmektedir. Tüm bu artış veya azalma mekanizmalarının kesin olarak ortaya konulabilmesi için bu amaçla planlanmış deneylerin yapılması gerekmektedir.

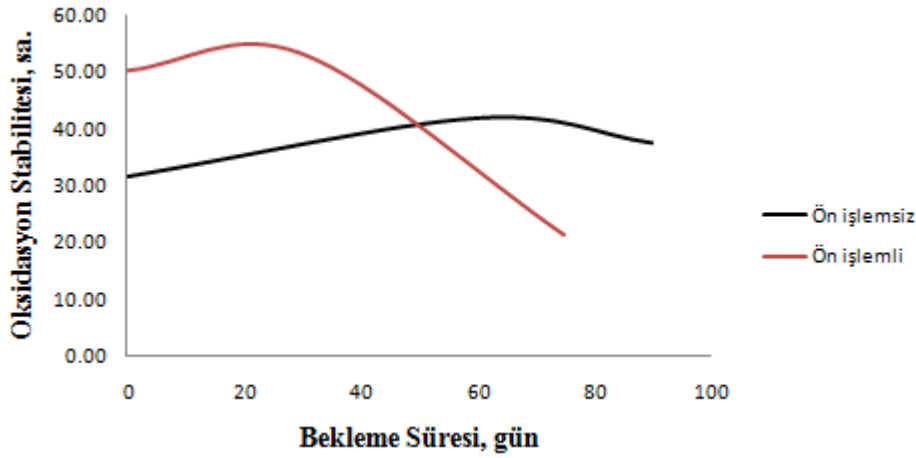
Depolama süresince ön işlem uygulanmamış ve ultrasonik destekli alkollü ön işlem uygulanmış kolza pres yağlarının özelliklerinin değişimi

Bu amaçla 1000 gram kolza tohumu, çörek otu tohumlarına uygulandığı şekilde 2 adet torbaya doldurularak ultrasonik banyoya yerleştirilmiş ve üzerine 1500 ml alkol ilave edilerek bir saat ultrasonik etki altında bırakılmıştır. Süre sonunda süzülerek alkolden ayrılan tohumların alkollü bir gece ortam sıcaklığında bekletilerek uçurulmuş ve daha sonra ağzı kapalı bir kavanozda depolanarak belirli aralıklarla alınan tohumlardan preslemeyle elde edilen yağların özellikleri saptanmıştır. Çizelge 3.24'te sözü edilen sonuçlar, hiçbir işlem görmemiş tohumlardan farklı zamanlarda elde edilen pres yağlarının özellikleri ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.24 : Depolama süresince kolza pres yağlarının özelliklerinin değişimi.

		Bekleme Süresi		
		Başlangıç	2. ay	3. ay
Ön işlemsiz	SYA, %	0.99	-	0.93
	OS, sa.	27.68 - 35.59	38.01 - 45.76	34.00 - 41.10
		Başlangıç	30. gün	75. gün
Ön işlemlili	SYA, %	0.63	0.65	0.75
	OS, sa.	47.64 – 52.83	51.12 – 55.33	20.15 - 22.45

Şekil 3.11’de depolama süresince oksidasyon stabilitesinin değişimi bir grafik üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 3.11 : Ön işlem uygulanmayan ve ultrasonik destekli alkollü ön işlem uygulanan tohumlardan elde edilen pres yağlarının oksidasyon stabiliteilerinin değişimi.

Çizelge 3.24’te ön işlem görmemiş ve ultrasonik destekli alkollü ön işleme tabi tutulmuş kolza tohumlarının ortam sıcaklığında 2.5-3 ay süre ile bekletilmeleri sırasında, pres yağlarının asit içeriklerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Şekil 3.11’deki grafikte verilen oksidasyon stabilite değişimleri ise daha farklıdır. Şöyle ki, hiçbir işlem görmemiş tohumlardan elde edilen yağların oksidasyon stabiliteileri ilk iki ay artma eğilimi gösterirken; 2. aydan sonra azalmaya başlamıştır. Söz konusu artış, tohumların sıcaklık artışına bağlı olarak oksidasyon stabiliteilerindeki artış ile aynı gerekçelerle açıklanabilirken; 2. aydan sonra görülen azalma, antioksidan maddelerin kapasitelerinin azalması ile açıklanabilmektedir. Ön işlem görmüş tohumlardan elde edilen yağların oksidasyon stabiliteilerinin depolama süresince davranışlarını açıklamak için, Şekil 3.8’de verilen aynı koşullarda çörek otu yağlarının oksidasyon stabilite değişimlerini tekrar incelemek yararlı olacaktır. Ön işlem görmemiş çörek otu tohumlarından elde edilen yağların oksidasyon

stabiliteleri, depolama süresince giderek azalmıştır. Ultrasonik destekli ve desteksiz alkollü ön işlem görmüş tohumlardan elde edilen yağların oksidasyon stabilitelerindeki azalma, ön işlem görmemiş yağa göre daha hızlı gerçekleşmiştir. Benzer davranış kolza yağında da görülmektedir; ön işlem görmüş tohumlardan elde edilen yağların oksidasyon stabilitelerindeki azalma, ön işlem görmemiş göre daha hızlı gerçekleşmektedir. Her iki tohumda gözlenen benzer davranışlar, alkollü ön işlemin bir sonucu olarak değerlendirilmiştir. Söz konusu mekanizma şu şekilde açıklanabilir: Alkolün tohumlara difüzyonu ve daha sonra buharlaşarak tohumdan geri çıkması, depolama sırasında havanın da tohumlara daha kolay difüzyonunu sağlamaktadır. Alkollü ön işlem görmüş tohumlarda karşılaşılan bu durum, depolama sırasında gerçekleşen oksidasyon reaksiyonları sonunda antioksidan maddelerin daha çok harcanmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, depolama sırasında yağların oksidasyon stabilitelerinde daha hızlı bir azalma söz konusu olmaktadır. Kolza tohumunda bu azalmanın çörek otu tohumuna göre daha hızlı olması, kolza tohumunun kabuğunun çörek otu tohumunun kabuğuna göre daha yumuşak olması ile açıklanabilir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yağlı tohumlardan soğuk pres yöntemi ile yağ eldesinde yağ verimini ve kalitesini arttırmak amacıyla presleme öncesinde tohumlara etanollü ortamda ultrasonik bir ön işlem uygulanmasını öneren bu araştırmanın deneysel çalışmalarından elde edilen sonuçlar özetlendiğinde aşağıdaki vargılara ulaşılmıştır:

- Çörek otu tohumuna uygulanan ısıl ön işlem, söz konusu tohumların preslenmesi ile elde edilen yağın SYA içeriğini düşürerek yağa katkı sağlarken, oksidasyon stabilitesini de düşürerek yağ kalitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Isıl ön işlemle tohum yapısındaki lipaz enzimi deaktif olurken, tohum yapısında bulunan antioksidan maddelerin, özellikle baskın miktarda olan timokinonun, uçucu karakterde olması ve ısı uygulaması ile ortamdan daha hızlı bir şekilde uzaklaştırılması bu duruma neden olarak gösterilmiştir.
- Kolza tohumlarına ise geleneksel olarak uygulanan presleme öncesi ısı muamelesi işlemi, bu çalışmada da olumlu sonuç vermiş ve yağ kalitesini arttırmıştır. Bu durum ise, kolza tohumlarının yapısında bulunan fenolik bileşenlerin ısı uygulamasıyla antioksidan özellikli maddelere dönüşmesi ve çörek otu tohumlarında olduğu gibi tohum yapısındaki enzimlerin deaktif olmasıyla açıklanmıştır.
- Bu çalışmada çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağlarda karşılaşılan paralel deneylerin verdiği sonuçların birbirinden çok uzak olması sorununun, çözücü uzaklaştırması aşamasında kullanılan yüksek sıcaklık ve paralel yürütülen deneylerde, numunelerin farklı sürelerde bu ısıya maruz kalmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Dolayısıyla, özellikle çörek otu gibi ısıya duyarlı olan tohumlardan çözücü ekstraksiyonu ile yağ elde edilmesinde düşük sıcaklıklarda ve mümkün olduğunca eşit sürelerde çözücü buharlaştırmasının yapılmasının gerektiği sonucuna varılmıştır.
- Çörek otu tohumları için, çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağların SYA içerikleri presleme ile elde edilen yağların SYA içeriklerinden daha

yüksektir. Bu durum, öğütülerek ekstraksiyon kartuşuna konulan tohumlarda, öğütme sonrası TAG ile tohum yapısındaki aktif enzim sisteminin temasa geçmesi sonucu hidroliz reaksiyonunun hızlanması ve ekstraksiyon süresince bu hidroliz reaksiyonunun devam etmesi ile açıklanmıştır.

- Tohumların bütün halde ve öğütülerek preslenmesinde, doğal olarak SYA içeriği ve verim açısından farklılık görülmektedir, öğütme ardından yapılan presleme ile elde edilen yağın SYA içeriği çok az da olsa daha yüksek iken; elde edilen yağ miktarında belirgin bir artış vardır.
- Ultrasonik destekli veya maserasyon olarak adlandırılan desteksiz alkollü ön işlemlerin yağ kalitesine tartışmasız olumlu etkileri çalışmanın deneysel sonuçlarından görülmektedir. Ön işlemlerin öğütmeden yapılan preslemede tohumları yumuşatmaları nedeniyle verim artışı da sağladığı saptanmış; ancak kullanılan hidrolik presin elverişsizliği nedeniyle bu artış için belirgin bir değer verilememiştir.
- Ultrasonik etki ile maserasyon karşılaştırıldığında ise öğütülerek yapılan presleme deneylerinde aynı etkilere ulaşılabildiği; fakat maserasyonun özellikle SYA içeriğini düşürmedeki etkinliği açısından bakıldığında ultrasonik etkiye göre uzun zaman aldığı sonucuna varılmıştır. Öğütmeden yapılan presleme işleminde ise, ultrasonik desteğin bunların yanında tohumların çeperlerini inceltme, hatta tohumları kısmen parçalama etkisi bulunması nedeniyle, verime de olumlu bir katkısı olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, ultrasonik destekli ön işlemin, endüstriyel kullanımda üreticiye kar artışı, verim artışı ve kalite artışının yanı sıra, maserasyona kıyasla zaman kaybını en aza indirerek sağlayacağı anlaşılmıştır. Şüphesiz bu durum, tüketiciye de olumlu yansıtacak, bu sayede tüketici kaliteli ve sağlıklı soğuk pres yağlarını düşük fiyatlara satın alabilme olanağı bulacaktır.
- Alkollü ön işlemin tohumlara etki mekanizması alkolün tohumlara difüze olmasıyla açıklanmıştır. Tohum yüzeyine yakın yerlerde yoğun bir şekilde bulunan antioksidan maddeler, alkolde çözünerek presleme esnasında karışım halinde trigliseridlerde çözünerek oksidasyon stabilitesine katkı sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.

- Çalışmadaki ön işlem uygulaması için tercih edilen sıvı ortamın etanol olarak seçilmesinin nedenlerinden biri olan etanolün trigliseridleri çözmemesi özelliği, yapılan deneyler sonucunda da kanıtlanmıştır. Ultrasonik etki veya maserasyon ardından etanolde çözünen madde miktarının oldukça düşük olduğu (maserasyon için tohum miktarının %0.3'ü, ultrasonik ön işlem için ise %0.5'i) ve çözünenlere ait ince yüzey kromatogramlarında TG'lere ait izlerin çok az olduğu görülmüştür.
- Çörek otu ile yapılan çalışmada önerilen ön işlem için farklı koşullar denenmiştir:
 - a. Alkol konsantrasyonunda yapılan değişiklikler yağ kalitesini SYA içeriği ve verim açısından etkilememiş; ancak alkolün su içeriğinin artmasına bağlı olarak oksidasyon stabilitesi önemli miktarda düşmüştür. %96, %80 ve %70'lik alkol ile yapılan denemelerde, %70'lik alkol ile ön işlem uygulamasında ön işlemsiz elde edilen yağın oksidasyon stabilitesi değerine düşülmüştür. Bu durumun, alkolün su içeriğinin artmasıyla alkolde çözünen polar madde miktarının artması, buna karşılık trigliseridlerde çözünen alkol miktarı azalarak bu yolla taşınan antioksidan madde miktarının düşmesi sonucu oksidasyon stabilitesinde artış sağlanamaması ile açıklanmaktadır.
 - b. Ultrasonik etki uygulama süresinin değişmesi tüm yağ kalitesi parametrelerini etkilemiştir. Artan ön işlem süreleri, enzim aktivitesi üzerinde daha etkili olmuş ve asitliği düşürmüştür. Ayrıca, daha fazla antioksidan maddenin yağa geçmesinin sağlanacağı, dolayısıyla daha yüksek oksidasyon stabilitesi değerlerine ulaşılacağı düşünülmüştür; ancak bu durum deney sonuçlarındaki tutarsızlıklar nedeniyle ispatlanamamış, bu deneyleri takiben yapılan depolama sırasındaki değişim deneyleriyle söz konusu tutarsızlıklara açıklama getirilmiştir.
 - c. Farklı katı/sıvı oranlarında yürütülen deneylerde, tohumların laboratuvar ortamındaki bekleme süresi sonuç tutarsızlıklarına neden olmuş; ancak ileri araştırmalarda bu parametrenin tohum kalitesine herhangi bir etkisi bulunmadığı anlaşılmıştır.

- d. Tohumlar öğütülerek uygulanan ön işlem, yağ kalitesinde doğal olarak çok büyük düşüslere neden olmuştur.
- e. Optimum kalite ve yağ verimi için ön işlem koşulları, tohumlar öğütülmeden uygulanan %96'lık etanol ile belirli bir katı/sıvı oranında 1 saat süre ile ultrasonik destekli ön işlem olarak belirlenmiştir. Preslemenin ise, ön işlem gören tohumların öğütölüp 710 µm'lik elekten geçirildikten sonra yapılması gerektiği saptanmıştır.
- Depolama koşullarında ön işlem görmüş veya görmemiş tohumlarda değişimler olduğu saptanmıştır. Laboratuvar ortamında bekleyen tohumlardan belirli aralıklarla ön işlemsiz ve ön işlem uygulamaları ardından yağ elde edilerek, bu davranış saptanmaya çalışılmıştır. Asit içerikleri yaklaşık olarak aynı kalmasına rağmen, oksidasyon stabiliteleri zaman içinde düşüş göstermiştir. Ayrıca, farklı bir set olarak alkollü ön işlem görmüş tohumlardan depolama süresince belirli aralıklarla presleme ile yağ elde edilmiş ve bu yağların kalite farklılıkları incelenmiştir. Aynı değişim bu şartlarda da belirlenmiştir.
 - Ön işlem ardından elde edilen etanollü ekstrakt fazın tekrarlı kullanımının da mümkün olduğu yapılan deneylerden çıkarılan bir sonuçtur. Dolayısıyla bu ön işlem, endüstriye uygulamasında hem etanollü ekstrakt fazın tekrarlı kullanımı, hem de etanolün geri kazanılarak sisteme geri beslenebilmesi açısından büyük avantaj sağlayan bir proses teşkil etmiştir.
 - Kolza tohumlarına özgü olarak olumlu etki gösteren ısıl ön işlemin alkollü ortamda ultrasonik destekli ön işlem ile birlikte etkinliği de araştırılmıştır. Isıl ön işlem ardından ultrasonik etki ve ultrasonik etki ardından ısıl ön işlem uygulaması olarak iki farklı sıralamayla yapılan bu denemelerde SYA içeriğinde büyük farklılıklara rastlanmamış; ancak oksidasyon stabiliteleri değişkenlik göstermiştir. Kolza yağının fosfolipid içeriği açısından deney sonuçları değerlendirildiğinde, ısıl ve alkolik ön işlem uygulamaları ile yağın fosfor içeriğinde düşüş saptanmıştır. Gerek oldukça artan oksidasyon stabilitesi değerleri, gerek oldukça düşürölen fosfor içeriği, gerekse ultrasonik işlem ardından tohumlar tarafından tutulan alkolün daha iyi bir şekilde

uzaklaştırılması açısından önce alkollü ön işlemin, daha sonra ısıl ön işlemin uygulanmasının etkili olduğu anlaşılmıştır.

Bu çalışma sonucunda elde edilen yukarıdaki bulgular da göz önüne alınarak aşağıdaki önerilerde bulunulmuştur:

- Çörek otu tohumlarının sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden faydalanabilmek için, ülkemizdeki kullanım alışkanlığı (fırına verilmeden önce hamur işlerinin üzerine serpilerek) değiştirilerek çiğ tüketilmesine özen gösterilmelidir.
- Oksidasyon stabilitesi ölçümleri için 80°C'den daha yüksek olan ve sonuç karşılaştırmasına olanak sağlayabilecek bir sıcaklık belirlenerek, daha kısa süreli analizlerle Rancimat cihazının çalışması esnasında elektrik kesilmeleriyle analizin bozulma riski azaltılmalıdır.
- Çörek otu yağının eldesini takiben gerçekleştirilecek olan analizlere, yağın yapısında bulunan uçucu karakterdeki biyoaktif bileşenlerin kaybını minimuma indirmek için olabildiğince hızlı geçilmelidir.
- Tohumların öğütülerek kullanılacağı her deney setinde öğütme ardından uygulanacak olan işleme (presleme, çözücü ekstraksiyonu vb.), tohum yapısında bulunan enzim sistemi ile yağın tohumun öğütülmesiyle daha fazla temasa geçmesi sonucu asitliğin yükseleceği ve dolayısıyla yağ kalitesinin düşeceği göz önünde bulundurularak olabildiğince hızlı başlanmalıdır.
- Özellikle çörek otu gibi sıcaklıktan olumsuz yönde etkilenen tohumlardan çözücü ekstraksiyonu ile yağ eldesinde, ısı kullanılarak gerçekleştirilen her ara basamağın yağ özelliklerini etkileyeceği unutulmamalıdır.
- Ultrasonik ön işlem ardından elde edilen yağda sağlanan yüksek oksidasyon stabilitesi ile kanıtlanan biyoaktif bileşenlerin yağa geçme yüzdesinin artışı, kantitatif sonuç veren uygun bir cihaz vasıtasıyla da tayin edilmelidir.
- Ultrasonik ön işlemin etki mekanizmasını daha net bir şekilde açıklayabilmek için ön işlem görmüş tohumlar, uygun bir yüzey analiz tekniği ile incelenmelidir.
- Tohumların depolama şartlarından, ne açıdan ve ne derece etkilendikleri başlı başına bir çalışma olarak incelenmelidir.

- Yağların ortam sıcaklığında ve 4°C buzdolabı sıcaklığında bekletilmesinin yağ karakteristiklerine etkileri değerlendirilmelidir.
- Çalışmada daha hassas ve teknolojik gereklilikleri karşılayan bir pres kullanılarak ön işlemin verim üzerine etkisi daha ileri boyutta irdelenmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] **Matthaus, B.**, 2008: Virgin oils – The return of a long known product, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**, 595-596, Weinheim.
- [2] **Moreau, R.A. & Kamal-Eldin, A.**, 2009. Introduction, In *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*, AOCS Press, USA, pp. 1-13.
- [3] **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.
- [4] **Bockisch, M.**, 1998. Fats and Oils Handbook, AOCS Press, USA.
- [5] **Moreau, R.A. and Kamal-Eldin, A.**, 2009. Nigella (black cumin) seed oil, In *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*, AOCS Press, USA, pp. 299-311.
- [6] **Kıldırın G. ve diğ.**, 1995. Yağlı tohum ve küspelerin lipolitik hidrolize karşı etanol ile stabilizasyonu, *II. Gıda Mühendisliği Ulusal Sempozyumu 1993-1994 Araştırmaları*, Ankara, s. 153-157.
- [7] **Veldsink, J. W. et al.**, 1999: Heat pretreatment of oil oilseeds: effect on oil quality, *Fett/Lipid*, **101**, 244-248, Weinheim.
- [8] **Zacchi, P. and Eggers, R.**, 2007: High-temperature pre-conditioning of rapeseed: A polyphenol-enriched oil and the effect of refining, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **109**, 111-119, Weinheim.
- [9] **Spielmeier, A. et al.**, 2009: Influence of thermal treatment of rapeseed on the canolol content, *Food Chemistry*, **112**, 944-948.
- [10] **Azadmard-Damirchi, S. et al.**, 2010: Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed, *Food Chemistry*, **121**, 1211-1215, Iran.
- [11] **Matthaus, B. and Senft, N.**, 2009. Behaviour of the canolol content during roasting and pressing of rapeseed and storage of crude rapeseed oil, *7th Euro Fed Lipid Congress*, Graz.
- [12] **Okatoma, S.**, 1937: Studies on the alcoholic extraction of soya bean oil, *Contemporary Manchuria*, **1**(3), 83-101.
- [13] **Champagne, E. T., Hron, R. J., and Abraham, G.**, 1991: Stabilizing brown rice products by aqueous ethanol extraction, *Cereal Chemistry*, **68**(3), 267-271, USA.
- [14] **Sayre, N. R. et al.**, 1982: Review of rice bran stabilization systems with emphasis on extrusion cooking, *Cereal Foods World*, **27**(7), 317-322.

- [15] **Angela, M. and Meireles A.**, 2009. Low pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants, In *Extracting Bioactive Compounds For Food Products*, CRC Press, USA, pp. 154-158, 171-185.
- [16] **Duran, K. ve diğ.**, 2006: Ultrason teknolojisi, *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi*, **3**, 155-158.
- [17] **Tavman Ş. ve diğ.**, 2009: Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu, *Gıda Dergisi*, **34**, 175-182.
- [18] **Basel University Department of Physics**, 2005. Diffraction at ultrasonik waves,
http://www.physik.unibas.ch/Praktikum/VP11/PDF/acousto_optic.pdf, 25 Mart 2011.
- [19] **Khattak, K. F. and Simpson, T. J.**, 2008: Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed, *Food Chemistry*, **110**, 967-962, Pakistan.
- [20] **Çolak, F.**, 2006. Işınlamanın çörek otunun (*nigella sativa* l.) bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ve yağ asitleri kompozisyonuna etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- [21] **Akoh, C. C. and Lai, O.**, 2005. Lipids with antioxidant properties, In *Healthful Lipids*, AOCS Press, USA, s.558-582.
- [22] **Metrohm AG**, 2009. Rancimat method, In *743 Rancimat Manual*, Switzerland.
- [23] **Roth, L. and Kormann, K.**, 2005. *Atlas of Oil Plants and Vegetable Oils – Fats, Waxes, Fatty Acids, Botany, Ingredients, Analytics*, Agrimedia, Germany.
- [24] **Wikipedia The Free Encyclopedia**, 2011. *Nigella sativa*, http://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa, 27 Mart 2011.
- [25] **Üstün G., Türkay, S., Karaali, A.**, 1998. *Nigella sativa* seeds: A potential source for oil and Oleochemicals, In *Advances in Oils and Fats, Antioxidants, and Oilseed By-Products*, Volume 2 in the Proceedings of the World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing, AOCS Press, USA.
- [26] **Gerige, S. J. et al.**, 2009: GC-MS analysis of *Nigella sativa* seeds and antimicrobial activity of its volatile oil, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **52**, 1189-1192, Brazil.
- [27] **Al-Naqeeb, G. et al**, 2009: Fatty acid profile, α -tocopherol content and total antioxidant activity of oil extracted from *Nigella sativa* seeds, *International Journal of Pharmacology*, **5**, 244-250, Malaysia.
- [28] **Wikipedia The Free Encyclopedia**, 2011. *Brassica napus*, http://en.wikipedia.org/wiki/Brassica_napus, 27 Mart 2011.

- [29] **Salunkhe, D. K. et al.**, 1992. Rapeseed, In *World Oilseeds – Chemistry, Technology and Utilization*, Van Nostrand Reinhold, USA, pp. 59-89.
- [30] **Shahidi, F.**, 2005. Canola oil, In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6th Ed., Volume 2 Edible Oil and Fat Products : Edible Oils, Wiley-Interscience, USA, pp.61-116.
- [31] **Gunstone, F. D.**, 2002. Canola/rapeseed oil, In *Vegetable Oils in Food Technology*, CRC Press, USA, pp. 98-124.
- [32] **Paquot, C., Hautfenne, A.**, 1987. *IUPAC Standart Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, Blackwell Scientific Publications, London.
- [33] **Kılıç, E., Köseoğlu, F.**, 1999. İnce tabaka kromatografisi, *Analitik Kimya Temelleri 2*, Bilim Yayıncılık, Ankara, s. 721-723.
- [34] **A.O.C.S Official Method**, 1989. Phosphorus, In *Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils*, Ca 12-55, AOCS.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Emine Buket ŞERAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Keşan, 17.01.1988
Adres : Bahçeşehir 1.Kısım Mahallesi Süzer Bulvarı Dış Kapı
No:10 K:4 D:19 Başakşehir/İSTANBUL
Lisans Üniversite : İstanbul Teknik Üniversitesi