

**BİBERİYE (*Rosmarinus officinalis*)
ANTIÖKSİDANLARININ FINDIK FÜRESİNİN RAF
ÖMRÜNÜ GECİKTİRMEDEKİ ETKİNLİĞİ**

**DOKTORA TEZİ
Y. Müh. Beraat ÖZÇELİK
Enstitü No : 0695D004**

100 754

100754

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 29 Aralık 1999
Tezin Savunulduğu Tarih : 2 Mart 2000**

Tez Danışmanı :

Prof. Dr. Artemis KARAALI

Artemis Karaali

Diğer Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Güner ERKMEN (İ.Ü.)

G. Erkmen

Prof. Dr. Selma TÜRKAY (İ.T.Ü.)

Selma Türkay

Prof. Dr. Miray BEKBÖLET (B.Ü.)

M. Bekebolet

Doç. Dr. Dilek BOYACIOĞLU (İ.T.Ü.)

D. Boyacioğlu

MART 2000

Bu çalışmada değerli fikirleriyle beni yönlendiren, yüksek anlayış ve hoşgörüsüyle desteğini eksik etmeyen değerli hocam Prof. Dr. Artemis Karaali'ye teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca yardımlarından ötürü sayın hocam Doç. Dr. Dilek Boyacıoğlu'na, diğer tüm değerli hocalarım ve değerli asistan arkadaşlarıma en derin teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı en başından beri maddi ve manevi olarak destekleyen sayın Cargill Tarım ve San. Tic. A.Ş. İşletme Müdürü sayın Uğur Uralcan'a, ve çalışma boyunca hammadde temininde gerekli fedakarlık ve emeği fazlasıyla gösteren Cargill Tarım ve San. Tic. A.Ş. Kalite Güvence Müdürü sevgili dostum sayın Birsen Kor'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Her türlü çalışma imkanını sunarak, tezim süresince beni hem araştırmacı hem de misafir olarak ağırlayan sayın Albay Cengiz Üstün'e, Yük. Müh. Ayşe Erkahveci'ye ve Milli Savunma Bakanlığı İç Tedarik Bölge Başkanlığı Kimyaevi'nde görevli tüm personele teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Ayrıca cihazlarını kullanımına sunan Besler-Bizim Yağ Gıda ve Kimya San. Tic. A.Ş., Kalite Sağlama Müdürü sayın Neşe Yıldız'a ve diğer ilgili personele sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tezin yürütülmesi sırasında bana en önemli desteği veren ve sevgili kızım Berrak'a çok iyi bakarak içimin rahat etmesini sağlayan sevgili Larissa Daşyan'a yürekten sevgi ve saygılarımı sunuyorum. Benden sevgilerini esirgemeyerek manevi dayanağım olan eşim Berent Özçelik'e, tüm aileme, değerli dostluğunu esirgemeyen sevgili Doğan Güran'a, diğer tüm arkadaşlarım ve dostlarıma, ayrıca sevgili kızım Berrak Özçelik'e manevi destekleri için sonsuz teşekkürler.

Mart, 2000

Beraat ÖZÇELİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET.....	xi
SUMMARY.....	xv
1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	3
2.1. Fındık Füresi Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Fındık füresinin tanımı ve ekonomik değeri.....	3
2.1.2. Fındık füresinin üretim yöntemi	5
2.1.3. Fındık füresinin kompozisyonu	5
2.1.4. Fındık füresinin kullanım alanları	5
2.2. Raf Ömrünün Tanımlanması ve Tahminlenmesine İlişkin Bilgiler.....	5
2.2.1. Raf ömrünün tanımı	5
2.2.2. Hidrolitik acılaşma.....	8
2.2.3. Oksidatif acılaşma	10
2.2.4. Hidrolitik ve oksidatif acılaşma ölçüm yöntemleri	14
2.2.5. Raf ömrünün tahminlenmesi.....	25
2.2.6. Hızlandırılmış raf ömrü testleri	28
2.2.7. Fındık füresi ve benzeri ürünlerde raf ömrü çalışmalarından örnekler.....	34
2.3. Gıda Sanayiinde Kullanılan Antioksidanlar, Tanımları, Çeşitleri ve Kullanım Amaçları.....	38
2.3.1. Sentetik antioksidanlar, çeşitleri ve özellikleri	40
2.3.2. Doğal antioksidanlar, çeşitleri ve özellikleri	44
2.4. Baharat Çeşitleri ve Biberiye Bitkisinin Antioksidan Olarak Kullanımı	46
2.4.1. Antioksidatif özelliğe sahip baharat çeşitleri ve özellikleri.....	47
2.4.2. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>) bitkisi hakkında genel bilgi	50
2.4.3. Biberiye antioksidanları hakkında genel bilgi.....	54
2.4.4. Biberiye antioksidan ekstraktının gıdalarda kullanımı.....	60
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	63
3.1. Materyal	63
3.1.1. Biberiye.....	63
3.1.2. Fındık füresi.....	63
3.2. Metotlar.....	63
3.2.1. Materyal karakterizasyonu analizleri.....	63

3.2.2. Biberiyeden farklı çözenler kullanılarak antioksidan (BAE) ekstraksiyonu	67
3.2.2.1. Farklı çözenlerden elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarında % verim hesaplanması	68
3.2.2.2. Toplam fenolik madde tayini.....	68
3.2.3. Fındık fûresinden yağ ekstraksiyonu.....	69
3.2.4. Fındık fûresi yağının oksidatif indüksiyon süresinin (OİS) belirlenmesi.....	70
3.2.4.1. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) yöntemi.....	70
3.2.4.2. Ransimat yöntemi	73
3.2.5. Biberiye antioksidan ekstraktının farklı konsantrasyonlarının OİS üzerine etkisi.....	74
3.2.6. Sıcaklığın fındık fûresi yağının OİS üzerindeki etkileri.....	75
3.2.6.1. DTK yöntemi	75
3.2.6.2. Ransimat yöntemi	75
3.2.6.3. Schaal fırın testi	76
3.2.7. Biberiye antioksidan ekstraktı ve sentetik antioksidanların OİS üzerindeki koruma etkileri	77
3.2.8. Biberiye antioksidan ekstraktı ve sentetik antioksidanların sinerjistik etkileşimleri.....	78
3.2.9. İstatistiksel metotlar.....	79
4. BULGULAR.....	82
4.1. Materyal Karakterizasyonu.....	82
4.1.1. Biberiyenin karakterizasyonu	82
4.1.2. Fındık fûresinin karakterizasyonu	82
4.2. Ekstrakt Verimi.....	83
4.3. Toplam Fenolik Madde Tayini	85
4.4. Biberiye Antioksidan Ekstraktının Fındık Fûresi Yağının OİS Üzerindeki Etkileri.....	87
4.5. Fındık Fûresi Yağının OİS Üzerine Farklı Konsantrasyonlarda Biberiye Antioksidan Ekstraktı İlavesinin Etkisine İlişkin DTK ve Ransimat Sonuçları	90
4.6. Sıcaklığın Fındık Fûresi Yağının OİS Üzerindeki Etkisi	94
4.7. Sentetik Antioksidanların (BHA, BHT, α - tokoferol) ve BAE'nin Fındık Fûresi Yağındaki Koruyucu Etkileri	109
4.8. Sentetik Antioksidanlar (BHA, BHT, α - tokoferol) ve BAE'nin Fındık Fûresi Yağındaki Sinerjistik Etkileşimleri	113
5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	119
KAYNAKLAR:	127
EKLER:.....	143
ÖZGEÇMİŞ.....	158

KISALTMALAR

Antioks.	: Antioksidanlı
AP	: Askorbil Palmitat
BAE (RAE)	: Biberiye Antioksidan Ekstraktı (Rosemary Antioxidant Extract)
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
DTK (DSC)	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (Differential Scanning Calorimetry)
FDA	: Food and Drug Administration
FFY	: Fındık Füresi Yağı
GK	: Gaz Kromatografisi
HRÖT	: Hızlandırılmış Raf Ömrü Testleri
KA	: Karnosik Asit
KAR	: Karnosol
KDHP	: Konjuge Dien Hidroperoksit Değeri
KF (PF)	: Koruma Faktörü (Protection Factor)
KK	: Korelasyon Katsayısı (r)
OİS (OIP)	: Oksidatif İndüksiyon Süresi (Oxidative Induction Period)
p-An	: Anisidin Değeri
PD	: Peroksit Değeri
PG	: Propil Gallat
RK	: Regresyon Katsayısı
ROOH	: Alkil Hidroperoksit
ROS	: Rosmanol
SD	: Serbestlik Derecesi
SKE	: Süperkritik Ekstraksiyon
TBHK	: Tersiyer Bütillenmiş Hidrokinon
TFM	: Toplam Fenolik Madde Miktarı/ı/ları
TOTOKS	: Toplam Oksidasyon Değeri
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Türkiye'nin Fındık Üretimi (İGEME,1999).	4
Tablo 2.2. 1990-1998 yılları arasında Türkiye'nin fındık ihracat gelirleri (İGEME, 1999).	4
Tablo 2.3. Fındık fûresinin bileşim özellikleri (100 gr fındıkta) (Anon, 1999b)	7
Tablo 2.4. Fındık fûresine ilişkin özellikler ve yasal sınırlamalar (TS 10938).	9
Tablo 2.5. İşlenmiş fındık çeşitleri, tanım ve kullanım alanları ile fonksiyonel özellikleri (İGEME, 1999).	10
Tablo 2.6. Lipit oksidasyonunun gerçekleşme mekanizması (Hamilton, 1989).	12
Tablo 2.7. Yağ asitlerinin göreceli oksidasyon hızları (Evans, 1997).	13
Tablo 2.8. Lipit oksidasyonunda birincil değişimlerin izlenmesine dayalı yöntemler	17
Tablo 2.9. Lipit oksidasyonunda ikincil değişimlerin izlenmesine dayalı yöntemler	17
Tablo 2.10. Hızlandırılmış Raf Ömrü Testleri (Wewala, 1997).	28
Tablo 2.11. Bazı sentetik ve doğal antioksidanların kodları (EC) ve kullanım sınırları (Türk Gıda Kodeksi, 1997).	42
Tablo 2.12. Gıda sanayiinde kullanılan baharat bileşenlerinin sınıflandırılması (Lewis, 1984).	47
Tablo 2.13. Kurutulmuş biberiye yapraklarının, (100 gr yenilebilir porsiyonundaki) bileşen kompozisyonu (Farrell, 1985).	51
Tablo 2.14. Biberiyedeki aktif maddelerin özellikleri ve sayıları (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994).	53
Tablo 2.15. Farklı çözügenler kullanılarak elde edilen biberiyenin içerdiği karnosik asit, karnosol ve ursolik asitin miktarları ile buna bağlı olarak IC ₅₀ değerleri ile ifade edilen antilipoksigenaz aktiviteleri ve sentetik olarak üretilmiş biberiye bileşenleri ile karşılaştırılması (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994, Chen ve diğ., 1992).	53
Tablo 2.16. Biberiye antioksidan ekstraktının bileşen kompozisyonu (Cuppett ve diğ., 1997)	55
Tablo 3.1. Termal Gravimetrik Analiz uygulamalarında çalışma koşulları.....	66
Tablo 3.2. Fındık fûresi yağının Gaz Kromatografisi Cihazında analizinde uygulanan koşullar.....	66
Tablo 3.3. DTK Cihazında OİS nin hesaplanmasında uygulanan analiz koşulları.....	71
Tablo 3.4. Ransimat cihazı işlem koşulları	74

Tablo 3.5.	Fındık füresi yağına biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların katılım konsantrasyonları	78
Tablo 3.6.	Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların sinerjistik etkilerinin hesaplanması amacıyla kullanılan antioksidanlar ile katılım konsantrasyonları	79
Tablo 4.1.	Biberiye ve kavrulmuş fındık füresi örneğinde nem ve kül tayini sonuçları	82
Tablo 4.2.	Kapiler gaz-sıvı kromatografisi yöntemi ile belirlenen fındık füresi yağının yağ asidi bileşimleri, füre yağının refraktif indeksi ve ilgili literatür değerleri	83
Tablo 4.3.	Biberiyeden antioksidan eldesinde kullanılan farklı çözgenler için % Ekstraksiyon Verimleri	84
Tablo 4.4.	Farklı çözgen türleri için aktif karbonla ağartma öncesi ve sonrasında Toplam Fenolik Madde miktarları	85
Tablo 4.5.	Biberiye antioksidan ekstraktı eldesinde kullanılan çözgen türünün OİS üzerine etkisine ilişkin DTK ve Ransimat sonuçları	87
Tablo 4.6.	Farklı çözgenlerle elde edilen biberiye antioksidan ekstraktında % ekstraksiyon verimi, TFM miktarları tayini ile, yine biberiye antioksidan ekstraktlarının fındık füresi yağındaki OİS'lerinin DTK ve Ransimatta belirlenen OİS'leri aralarındaki korelasyon katsayıları	89
Tablo 4.7.	Farklı konsantrasyonlarda biberiye antioksidan ekstraktı katılımının fındık füresi yağında DTK ve Ransimat ile ölçülen OİS ve KF değerleri	91
Tablo 4.8.	Kolza yağında farklı yöntemlerle OİS ve KF değerleri tespiti (Gordon ve Kourimska, 1995).	93
Tablo 4.9.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağı için DTK'da farklı sıcaklıklar için belirlenen OIS ve KF değerleri (dk.)	94
Tablo 4.10.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120 ⁰ C ve 145-165 ⁰ C) DTK cihazında ölçülen OIS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q ₁₀ değerleri	97
Tablo 4.11.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120 ⁰ C ve 145-165 ⁰ C) DTK cihazı ile belirlenen Q ₁₀ değerleri kullanılarak hesaplanan Aktivasyon Enerjisi (E _A) değerleri	98
Tablo 4.12.	Farklı aktivasyon enerjisi (E _A) değerleri için sıcaklığa bağlı olarak Q ₁₀ değerlerinin değişimi (Labuza ve Riboh, 1982).	99
Tablo 4.13.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağı için Ransimat Cihazında (100-120 ⁰ C) belirlenen OIS değerleri	100
Tablo 4.14.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120 ⁰ C) Ransimat cihazında ölçülen OIS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q ₁₀ değerleri	102
Tablo 4.15.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120 ⁰ C) Ransimat cihazı ile belirlenen	

Q ₁₀ değerleri kullanılarak hesaplanan Aktivasyon Enerji (E _A) değerleri	102
Tablo 4.16. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında Schaal Fırın Testi uygulanarak (30-50°C) belirlenen peroksit değerlerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile regresyon katsayıları.	105
Tablo 4.17. Fındık füresi yağı örneklerinde lipit oksidasyonunun Schaal Fırın Testi ile ölçülmesinde PD, KDHP, <i>p</i> -Anisidin ve TOTOKS değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.....	107
Tablo 4.18. Fındık füresi yağına katılan ticari antioksidanların fındık füresi yağının DTK'da belirlenen OİS değeri üzerindeki etkileri	109
Tablo 4.19. Farklı antioksidanların Ransimat'ta belirlenen oksidatif stabilite değerleri (OİS).....	109
Tablo 4.20. Sentetik antioksidanların farklı yağlar üzerinde belirlenen KF değerlerine ait literatür bilgileri (Schuler, 1990).	111
Tablo 4.21. BHA, BHT ve tokoferolün çeşitli yağların raf ömürleri üzerindeki uzatıcı etkilerinin AOM ve İnce Tabaka Testi kullanılarak ölçüldüğü çalışmaların özeti (Cort ve diğ.,1975).....	113
Tablo 4.22. Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların birlikte kullanımlarında gösterdikleri sinerjistik etkilerin fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin DTK sonuçları.....	114
Tablo 4.23. Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların birlikte kullanımlarında gösterdikleri sinerjistik etkilerin fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin Ransimat sonuçları.....	114
Tablo 4.24. Fıstık yağına sentetik antioksidan ve BAE ilavesinin KF üzerine etkisi (Gordon ve Kourimska, 1995).....	118

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Fındık füresi üretiminin aşamaları (Anon, 1999a)..... 6
Şekil 2.2.	Metil linoleatın oksidasyonu (Hamilton, 1989). 13
Şekil 2.3.	Çeşitli reaksiyon dereceleri için sıcaklığa bağlı olarak konsantrasyonun değişimi (Evranuz, 1986). 27
Şekil 2.4.	Dar sıcaklık aralığında ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) yapılan hızlandırılmış raf ömrü testleri için, raf ömrünün logaritması ile sıcaklık arasındaki doğrusal ilişki ve buna bağlı olarak, Q_{10} değerinin belirlenmesine ilişkin denklem. 30
Şekil 2.5.	Termal Analiz cihazının şematik gösterimi (Harwalkar ve Maurice, 1990). 32
Şekil 2.6.	Bazı sentetik antioksidanların (BHA, BHT, PG TBHK) kimyasal yapısı..... 44
Şekil 2.7.	Biberiye bitkisinin doğadaki görüntüsü (Farrell, 1985)..... 50
Şekil 2.8.	Biberiyede saptanmış olan antioksidatif özellikteki maddeler (Cuppett ve diğ., 1997, Evans, 1997)..... 56
Şekil 3.1.a.	Çalışma aşamalarının ana hatları 64
Şekil 3.1.b.	Çalışma aşamalarında yürütülen analizler 65
Şekil 3.2.	Kafeik Asit standartına ait kalibrasyon grafiği 70
Şekil 3.3.	Zamana karşı oksidasyon grafiğinde OİS'nin (onset noktasının) belirlenmesi 73
Şekil 4.1.	Farklı çözgenler kullanılarak elde edilmiş olan biberiye antioksidan ekstraktları ilave edilmiş fındık füresi yağlarına ait orijinal DTK sonuçları. 89
Şekil 4.2.	Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak DTK'da tespit edilen OİS'nin değişimini gösteren grafik..... 91
Şekil 4.3.	Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak DTK sonuçlarına göre tespit edilen KF' nün değişimini gösteren grafik..... 92
Şekil 4.4.	Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Ransimat'ta tespit edilen OİS nin değişimini gösteren grafik..... 92
Şekil 4.5.	Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Ransimat'ta tespit edilen KF nün değişimini gösteren grafik..... 93
Şekil 4.6.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının $100-120^{\circ}\text{C}$ aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı OİS grafiği..... 95
Şekil 4.7.	Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının $145-165^{\circ}\text{C}$ aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı OİS grafiği..... 95

Şekil 4.8.	Normal ve antioksidanlı findık füresi yağının 100-120 ⁰ C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı log OIS grafiği.....	96
Şekil 4.9.	Normal ve antioksidanlı findık füresi yağının 145-155 ⁰ C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı [log OIS] grafiği.....	96
Şekil 4.10.	Normal ve antioksidanlı findık füresi yağının 100-120 ⁰ C aralığında Ransimat'da ölçülen sıcaklığa karşı OIS grafiği.....	101
Şekil 4.11.	Normal ve antioksidanlı findık füresi yağının 100-120 ⁰ C aralığında Ransimat'da ölçülen sıcaklığa karşı log OIS grafiği	101
Şekil 4.12.	Farklı sıcaklıklarda depolanmış findık füresi yağı örneklerinde zamana karşı peroksit değerlerindeki değişim.....	104
Şekil 4.13.	Farklı sıcaklıklarda depolanan findık füresi yağı örneklerinde ölçülen peroksit değerlerine bağlı olarak OİS'ndeki değişim.....	104
Şekil.4.14.	Farklı sıcaklıklarda depolanan findık füresi yağı örneklerinde ölçülen peroksit değerlerine bağlı olarak log OİS'ndeki değişim.....	104
Şekil 4.15.	Farklı sıcaklıklarda depolanmış findık füresi yağı örneklerinde zamana karşı KDHP değerlerindeki değişim.....	105
Şekil 4.16.	Farklı sıcaklıklarda depolanmış findık füresi yağı örneklerinde zamana karşı <i>p</i> -Anisidin değerlerindeki değişim.....	106
Şekil 4.17.	Farklı sıcaklıklarda depolanmış findık füresi yağı örneklerinde zamana karşı TOTOKS değerlerindeki değişim.....	107

BİBERİYE (*Rosmarinus officinalis*) ANTİOKSİDANLARININ FINDIK FÜRESİNİN RAF ÖMRÜNÜ GECİKTİRMEDEKİ ETKİNLİĞİ

ÖZET

Bu çalışmada *Rosmarinus officinalis* bitkisinden antioksidan eldesinde yararlanılarak, elde edilen doğal antioksidanın fındık füresi gibi değerli bir ihracat yarı ürünümüzün oksidatif bozulmasının önlenmesinde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Öncelikle, biberiye bitkisinden antioksidan eldesinde en uygun çözgenin seçilmesi amacıyla, öğütülmüş biberiye yaprakları altı farklı çözgen (metanol, aseton, etanol, metilen diklorür, etileter, heksan) ile muamele edilmiştir. Elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarının kalitatif ve kantitatif olarak etkinliğinin ölçülmesinde hem % ekstraksiyon veriminin hem de Toplam Fenolik Madde miktarının kullanılan çözgenin polaritesine bağlı olarak arttığı görülmüştür.

Farklı çözgenlerle elde edilen tüm biberiye antioksidan ekstraktlarında (BAE), aktif karbonla ağartma işlemi öncesi ve sonrasında ekstraksiyon verimleri ve Toplam fenolik madde miktarlarına bakılmıştır. Ekstraksiyon verimine ilişkin kantitatif sonuçlar sırasıyla en yüksek metanolde (%21.1, %12.8), en düşük ise heksandadır (%5.3, %1.2). Toplam Fenolik Madde miktarı ise yine metanol ekstraksiyonunda en yüksek (39, 30 µg fenol /gr biberiye), heksan ekstraksiyonunda ise (6, 1.5 µg fenol /gr biberiye) en düşük bulunmuştur. Ağartma işleminin neden olduğu % ekstraksiyon verimindeki azalmanın farklı çözgenler için maksimum %77 ile biberiyenin heksan ekstraktında, %39 ile etanol ve metanol ekstraktında minimum düzeyde, Toplam Fenolik Madde (TFM) miktarındaki azalmanın ise maksimum %75 ile biberiyenin heksan ekstraktında, minimum düzeyde de %24 ile aseton ekstraktında olduğu görülmüştür.

Ağartma işlemi bir miktar verim ve toplam fenolik madde kaybına neden olsa da biberiyenin istenmeyen rengini ve kokusunu giderme özelliğine sahiptir. Bunun yanı sıra ağartma işleminin hem ekstraksiyon veriminde hem de TFM miktarında istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bir değişime neden olmadığının görülmesi ile ağartma işleminden ileri gelen kayıpların gözardı edilebileceğine karar verilmiştir.

Daha sonra elde edilen bu ekstraktlar füre yağına ilave edilmiş ve her bir ekstraktın fındık füresi yağının “Oksidatif İndüksiyon Süresi” (OİS) üzerindeki etkileri Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) ve Ransimat cihazları kullanılarak incelenmiştir. Koruma Faktörü (KF) değeri de antioksidan ilavesinin antioksidanla muamele edilmemiş kontrol numunesindeki yağın OİS’ndeki artış olarak ifade edilmiştir.

BAE eldesinde farklı çözümler kullanımının aktif karbonla ağartma öncesi ve sonrasında hem ekstraksiyon verimleri hem de TFM miktarındaki etkileri istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur, Farklı çözümlerden elde edilen BAE' nin fındık füresi yağının OİS' si üzerine etkisinin Ransimat ve DTK cihazları ile araştırılmasında ise DTK cihazı ile elde edilen sonuçlara göre farklı çözümler için KF değerleri büyükten küçüğe doğru "Dietileter > Metanol > Aseton > Heksan > Etanol" şeklinde iken Ransimat cihazı ile elde edilen sonuçlar "Dietileter > Aseton > Heksan > Metanol > Etanol" şeklinde sıralanabilir.

TFM miktarları ve ekstraksiyon verimleri ile DTK'da elde edilen OİS ve KF değerleri arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemli olup ($p<0.05$), Ransimat cihazı kullanılarak elde edilen değerlerle aralarındaki korelasyondan daha yüksektir. Her iki hızlandırılmış test yöntemi ile de hem füre yağındaki yüksek koruma etkisi, hem de çözündürme ve çözgenin uzaklaştırılması aşamalarındaki işlem kolaylığı göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada BAE eldesinde dietileter kullanımına karar verilmiştir. Ayrıca dietileterin gıda sanayiinde katkı maddesi olarak kullanılan baharat ekstraktlarına katılıma izin verilen bir çözümler olması da seçimde önemli rol oynamıştır.

DTK ve Ransimat olmak üzere iki farklı cihaz kullanımının füre yağının OİS ve KF değerleri üzerindeki farklılık etkisinin, hem OİS hem de KF değerleri için istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli düzeyde olduğu görülmüştür. Bu özellikle hızlandırılmış raf ömrü testleri sonuçlarının değerlendirilmesinde gözlenen bir durum olup, yapılan çalışmalarda cihaz seçiminden kaynaklanan farklılıkların sonuçlar üzerindeki etkisinin görülmesi açısından önemlidir.

Çalışmanın diğer aşamalarında dietileter ile elde edilen BAE' nin fındık füresi yağına katılacak konsantrasyonunun optimize edilmesi amacıyla 6 farklı konsantrasyonda BAE (0 ve 2000 ppm aralığında), fındık füresi yağına katılmış ve sonuçlar yine Ransimat ve DTK cihazlarında incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda BAE ilavesinin her iki cihaz kullanılarak belirlenen OİS ve KF değerleri üzerindeki etkisi "Tek yönlü ANOVA" istatistik yöntemi kullanılarak ($p<0.05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Hem DTK hem de Ransimat cihazları kullanılarak tespit edilen OİS'nin konsantrasyona bağlı olarak lineer şekilde arttığı gözlenmiş olmakla birlikte, hem füre yağında çözündürme problemi, hem de literatürde yüksek konsantrasyonlarda BAE katılımının üründe acılaşmaya neden olabileceği belirtildiğinden optimum katılım konsantrasyonu 500 ppm olarak belirlenmiştir.

Daha sonra, farklı sıcaklıkların antioksidanlığı ve antioksidansız fındık füresi yağının "Oksidatif İndüksiyon Süresi" ne etkisini belirlemek amacıyla biberiyenin dietileter ekstraktı ilave edilmiş füre yağı, üç farklı "Hızlandırılmış Raf Ömrü Testi"ne (Schaal Fırın testi, Ransimat ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) tabi tutulmuştur.

Bu amaçla, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazında yine antioksidanlığı ve antioksidansız fındık füresi yağında 100, 110, 120°C ile 145, 155, 165°C, Ransimat cihazında 100, 110, 120°C'da, Schaal Fırın testinde ise 20, 30, 40°C'lar için antioksidanlığı ve antioksidansız fındık füresi yağında ölçüm yapılmıştır. Tüm bu sıcaklık derecelerinde OİS değerleri belirlenerek, sıcaklık artışına bağlı olarak raf ömründeki gecikmeyi gösteren Q_{10} ve aktivasyon enerjisi (E_a) değerleri belirlenmiştir.

Hem antioksidan ilavesinin hem de farklı sıcaklıklarda ölçüm yapmanın DTK ve Ransimat cihazları ile bulunan OİS üzerindeki farklılık etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemlidir. Ayrıca sıcaklık ve antioksidan ilavesi işlemlerinin birbirleriyle olan interaksiyonlarının da istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunması değişik sıcaklıklarda ölçümden doğan OİS farklılıkları ile antioksidan ilavesinden kaynaklanan OİS değerlerindeki farklılıkların aynı olmadığı şeklinde açıklanabilir. Ransimat cihazı kullanılarak da DTK cihazı kullanılarak alınan sonuçların istatistiksel analizi ile aynı sonuçlar elde edilmiştir.

DTK cihazı ile yapılan ölçümlerde 100-120°C'larda yapılan ölçümler için bulunan Q_{10} ve aktivasyon enerjisi değerleri antioksidanlı ve normal fındık füresi yağı için aynı bulunurken (Q_{10} : 1.6, E_A : 13.65), 145-165°C'larda normal fındık füresi yağına ait Q_{10} değeri (Q_{10} : 1.37, E_A : 11.43), antioksidanlı fındık füresi yağından daha yüksek bulunmuştur (Q_{10} : 1.35, E_A : 10.9). Ransimat cihazında (100-120°C) sıcaklık aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde Q_{10} ve E_a değerleri antioksidanlı yağda (1.34; 8.51), normal yağda (1.36; 8.95) olarak bulunmuştur. Bu değerler gıdalar için literatürde belirtilen değer aralığı içindedir (1.5-2). Q_{10} değerindeki artışlar, sıcaklıktaki her 10°C artışın raf ömründeki azalmaya etkisi olarak tanımlandığından, antioksidanlı yağın sıcaklık artışından daha az etkilenebileceği düşüncesinden hareketle, antioksidanlı yağın düşük Q_{10} değerine sahip olması beklenebilir.

Schaal Fırın testi ile gerçekleştirilen raf ömrü çalışmasında ise, oksidasyonu izlemede kullanılan KDHP, PD, ve p-AD, yöntemleriyle elde olunan sonuçların her sıcaklık derecesi için birbirleriyle önemli düzeyde korele ettikleri görülmüştür.

Çalışmanın son aşamasında optimum konsantrasyondaki BAE'nin füre yağının raf ömrünü uzatma etkisi, bazı sentetik antioksidanlarla mukayese edilmiş ve antioksidatif etkinin DTK cihazı kullanılarak büyükten küçüğe doğru BAE> BHA> α -tokoferol >BHT şeklinde, Ransimat cihazı kullanıldığında ise BAE>BHA>BHT> α -tokoferol şeklinde sıralandığı gözlenmiştir. Fındık füresi yağına farklı sentetik antioksidanlar katılımının hem DTK cihazı hem de Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS ve KF değerlerine etkileri tek yönlü ANOVA yöntemi ile değerlendirildiğinde, farklılıklar istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur.

Her ne kadar fındık füresi yağında, antioksidanlar tek başına kullanımlarında istatistiksel olarak önemli düzeyde antioksidatif etki göstermelerine karşılık, birlikte kullanımlarında sinerjistik etkileşim göstermemişlerdir. Herbir antioksidanın DTK cihazı kullanılarak belirlenen koruma etkisi azalan sırayla BAE> BHA+BAE > BAE+ α -tokoferol > α -tokoferol > BAE+BHT >BHA> BHT şeklinde olup, Ransimat cihazı kullanıldığında ise yine sırasıyla "BAE+BHA>BAE>BHA> BAE+BHT > BAE+ α -tokoferol >BHT > α -tokoferol" şeklinde azalmaktadır.

DTK kullanılarak yapılan OİS ve koruma faktörü ölçümlerinde, BAE en yüksek antioksidatif aktiviteye sahip olmakla birlikte, hem Ransimat hem de DTK ölçüm sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek antioksidatif aktiviteye biberiye ekstraktının BHA ile birlikte kullanıldığı füre yağında rastlanılmıştır. α -tokoferolün BHA ve BHT'ye göre ısıya daha fazla dayanıklı bir antioksidan olmasından ötürü, çalışmada daha yüksek antioksidatif aktivite gösterdiği düşünülmektedir. Buna karşın α -tokoferolün BAE ile birlikte kullanılması fındık füresi yağında sinerjistik etki yapmamıştır.

DTK cihazının oksidatif stabilite tayinlerinde, diğer hızlandırılmış test yöntemlerine benzer olarak göreceli karşılaştırmalarda uygun sonuçlar verdiği gözlenmiş olmakla birlikte, BHT gibi uçuculuğu yüksek antioksidan ilave edilen yağlarda yüksek sıcaklık nedeniyle, göreceli olarak daha kısa OİS değerleri elde edilebilmektedir. Fakat aynı sorun Ransimat gibi diğer farklı yüksek sıcaklık testleri için de geçerli olabilmektedir. Antioksidan miktarının 2 katı kadar ilave edilmesi, özellikle yağın veya üründe etkili antioksidan kombinasyonunun belirlenmesi işleminde bir çözüm olarak görülebilir. Bu çalışmada da BHT miktarının 200 ppm'den 100 ppm'e indirildiğinde hiç antioksidatif etki yapmadığının gözlenmesi, 100 ppm katılım konsantrasyonunun tümüyle buharlaştığı şeklinde yorumlanabilir.

Özetle, bu çalışmada laboratuvar koşullarında elde edilmiş olan BAE' nin ilgili diğer literatür verilerine benzer olarak fındık füresi yağının OİS'ni arttırıcı yönde etki gösterdiği saptanmıştır. Ekstraktın ileri düzeyde saflaştırılmasına çalışılarak bu OİS arttırılabilir. Sentetik antioksidanlarla mukayese edildiğinde BAE' nin yüksek antioksidatif etki göstermesi, fındık füresinde kullanılabilirliğinin mümkün olduğunu göstermektedir. Öte yandan kullanımı henüz yeni bir teknik olan DTK'nın antioksidanların göreceli olarak antioksidatif etkilerinin belirlenmesinde kullanılabilirliğine işaret etmektedir. Ancak, 165⁰C gibi yüksek sıcaklıklar bazı uçuculuğu yüksek antioksidanların yapılarının bozulmasına neden olabileceğinden bu amaçlarla yüksek basınçta oksijen verebilen DTK cihazlarının kullanımı tercih edilebilir.

THE EFFECT OF ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) ANTIOXIDANTS ON PROLONGING THE SHELF LIFE OF HAZELNUT PUREE

SUMMARY

This study investigates the possibilities for using the natural antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) for protecting hazelnut puree, an important Turkish export commodity, against oxidative rancidity.

First, with the purpose of selecting the optimum solvent for antioxidant extraction, ground rosemary leaves were treated with 6 different solvents (methanol, ethanol, acetone, methylene dichloride, diethyl ether and hexane). For evaluating the extraction results both quantitatively and qualitatively, the extracts were compared as to their quantitative extraction yields and as to their total phenolic contents. It was observed that both the extraction yield and the total phenolic content increased with increasing polarity of solvent.

All Rosemary Antioxidant Extracts (RAE) obtained with different solvents were analyzed for their extraction yields and Total phenolic contents before and after bleaching process with activated charcoal. The quantitative results for extraction yields were the highest with methanol (21 and 12.8% respectively) and the lowest with hexane (5.3 and 1.2% respectively). Total phenolic contents were also found to be the highest with methanol extraction (%21.1, %12.8), and the lowest with hexane extraction (%5.3, %1.2).

The decrease in extraction yields for different solvents caused by bleaching was maximum in hexane extract (%77) and minimum in methanol and ethanol extracts (%39), also the decrease in TPCs caused by bleaching with activated charcoal, was maximum in hexane extract (%75) and minimum in acetone extract (%24).

Although the bleaching process causes some decrease in extraction efficiency, it has also a clear bleaching and dearomatizing effect. Furthermore, the results showed that the bleaching process caused no statistically important ($p < 0.05$) change in TPC, so it was decided that the decreases caused by bleaching process could be disregarded.

These extracts were added to hazelnut puree and later, the effects of the individual extracts on the oxidative induction period (OIP) of hazelnut puree oil were investigated by using Rancimat and Differential Scanning Calorimeter (DSC). The Protection Factor (PF) was based on the relative increase in OIP as compared to that of control samples.

The effects of using different extraction solvents for obtaining RAE on the extraction yields and the total phenolic contents, before and after bleaching were found to be statistically significant ($p < 0.05$). The investigation on the effects of individual RAE

obtained with different solvents on the OIP of hazelnut puree oil using Rancimat and DSC yielded PF values in decreasing order (Diethyl ether > Methanol> Acetone> Hexane > Ethanol), in the DSC study, where as this sequence was (Diethyl ether > Acetone> Hexane > Methanol >Ethanol) in the Rancimat study.

The correlation between TPC' s and extraction yields and the OIP and PF values obtained with DSC was statistically significant ($p<0.05$), and higher than the correlation between the OIP and PF values obtained with Rancimat. The solvent preferred for obtaining the RAE to be used in the rest of the study was diethyl ether, based on the highest PF determined with both accelerated test methods, and the ease of solubilizing and solvent evaporation. Furthermore, diethyl ether is a solvent permitted for use in obtaining spice extracts to be used as food additives.

The statistical analysis on the results obtained with DSC and Rancimat yielded statistically significant differences ($p<0.05$), between OIP and PF of hazelnut puree oils. This finding is generally observed in comparing the results of different accelerated shelf-life tests, and bears significance for showing the effects of equipment choice on analytical results.

The next part of the study aimed at optimizing the RAE concentration to be added to hazelnut puree, where 6 different concentrations of RAE obtained with diethyl ether were added to hazelnut puree oil (between 0 and 2000 ppm) and the effects were investigated with both Rancimat and DSC. The effects of different concentrations on the OIP and PF investigated by using both devices (Rancimat and DSC), analyzed by one-way ANOVA was found to be statistically significant ($p<0.05$). Even though the OIP showed a linear increase with increasing RAE concentration, the optimum concentration was choosen as 500 ppm since higher concentrations were not easily homogenized with puree oil and were indicated to cause rancid flavours in the final product in respective literature.

Later the hazelnut puree oil treated with 500 ppm RAE obtained with diethyl ether was stored at three different storage temperatures and the OIP of oils were investigated with three different accelerated shelf-life tests; Schaal Oven Test, Rancimat and DSC.

For this purpose, both treated and untreated oils were measured at 100, 110, 120, 145, 155 and 165⁰C at DSC; at 100, 110 and 120⁰C at Rancimat; at 20, 30, 40⁰C at Schaal Oven Test. The OIP were determined at all these temperatures, and the Q₁₀ as well as activation energy (E_A) values were calculated being based on OIP values at increasing temperatures.

Both the effects of antioxidant addition and measurement at different temperatures yielded statistically significant ($p<0.05$) effect on OIP results obtained with DSC and Ransimat instruments for both on both treated and untreated oils. Furthermore the interaction between temperature and antioxidant addition was also found statistically significant ($p<0.05$) which could be explained as OIS differences caused by measurement at different temperatures and antioxidant addition are not the same. Similar results were found the same with statistical evaluation of results obtained by Rancimat instrument and DTK.

The Q_{10} and E_A values calculated with values measured at 100-120°C, with DSC were the same for both treated and untreated oils (Q_{10} :1.6, E_A : 13.65). At 145-165°C the Q_{10} value for untreated hazelnut puree oil (Q_{10} :1.37, E_A : 11.43), was higher than the treated oils (Q_{10} : 1.35, E_A : 10.9).

The Q_{10} and E_A values obtained with Rancimat at 100-120°C were (1.34, 8.51) for treated hazelnut puree oil and (1.36, 8.95) for untreated hazelnut puree oil. These values are within the ranges specified for foods in the literature (1.5-2). The increases in Q_{10} values at every 10°C increase correspond to shortened shelf-life periods; therefore the relatively lower Q_{10} value for treated oils is expected since the treated oil is likely to be less affected by temperature increases.

The shelf life study with Schaal Oven Test was followed with three analytical methods, CDHP, Peroxide Value and p-Anisidine values. The results of all three tests correlated with three each other at a statistically significant level.

On the last part of study, the RAE was compared with synthetic antioxidants and their antioxidative effects on hazelnut puree using DSC were found to increase in the order (RAE> BHA> α -tocopherol >BHT), using Rancimat, it decreased in the order (RAE>BHA>BHT> α -tocopherol). The differences in OIP and PF's of individual antioxidants using both DSC and Rancimat were found to be statistically significant ($p<0.05$) using one way-ANOVA.

Even though each antioxidant had statistically significant protective effects on hazelnut puree oil, there was no synergy in their combined uses. The Protection Factors determined for each antioxidant using DSC decreased in the order (RAE> BHA+RAE > BAE+ α -tocopherol > α -tocopherol> RAE+BHT >BHA> BHT), using Rancimat, it decreased in the order (RAE+BHA>RAE>BHA> RAE+BHT > RAE+ α -tocopherol >BHT > α -tocopherol).

Although BAE showed the higher antioxidative effect according to DTK results, the highest OIP and Protection Factor obtained regarding the results of both Rancimat and DSC instruments, were obtained in hazelnut puree oil treated with RAE and BHA mixture. α -tocopherol, being more resistant to increased temperatures, showed higher antioxidative effect. On the other hand, α -tocopherol did not showed any synergy when used in combination with RAE.

Also in this study DSC was shown to give acceptable results for oxidative stability determinations, similar to other accelerated shelf-life tests. However the oils treated with rather volatile antioxidants like BHT yield relatively shorter OIP at elevated temperatures. This holds true also for other higher temperature tests like Rancimat. When the antioxidant concentration was decreased from 200 to 1000 ppm BHT, it was observed that there was no antioxidative effect, which could be interpreted as being lost by evaporation.

In summary, this study showed that the antioxidant extract obtained from rosemary at laboratory scale increased the oxidative induction period of hazelnut puree oil, similar to results obtained with RAE in literature. This OIP could be still increased with further purification trials on the extracts. When compared with synthetic antioxidants, RAE had a higher antioxidative effect, indicating its probability for use in hazelnut purees. On the other hand, the results obtained with DSC indicate that

this rather new instrumental technique could be used in studying the relative effectiveness of antioxidants. However since temperatures as high as 165°C , tend to result in decomposition of rather volatile antioxidants, devices that can supply oxygen at higher pressures should be preferred for this purpose.



1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

Türkiye fındık meyvesinin üretimi için gerekli olan iklim koşullarına sahip dünyanın birkaç ülkesinden birisi olup, son yıllarda dünya fındık üretiminin yaklaşık %75'ini gerçekleştirmektedir, dolayısıyla fındık, önemli ihraç ürünlerimizden birisidir.

Türkiye'nin fındık ihracatı genel olarak kabuklu fındık, kabuksuz fındık, fındık ezmesi, fındık unu, fındık furesi, fındık yağı ve işlenmiş fındık olmak üzere yedi ana grupta gerçekleşmektedir. Çalışmaya konu olan fındık furesi ise işlenmiş iç fındığın tekniğine uygun olarak ezilmesi ile elde olunan ve özellikle fırıncılık ürünleri ile çikolata sanayiinde kullanılan önemli bir katkı maddesidir.

Yağ oranı yüksek ve düşük su aktiviteli bir ürün olarak fındık furesinde en önemli problem lipid oksidasyonuna bağlı acı tat oluşumudur. Tümüyle katkısız ve doğal bir yarı mamül olan fürede acılaştırmanın önlenmesine ilişkin bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte son yıllarda artan tüketici talebinin yönlendirdiği doğal antioksidanlar kullanımındaki artış, önemli bir ihracat ürünümüze doğal antioksidan katılımı ile acılaştırmanın geciktirilmesi çalışmasını gündeme getirmiştir.

Bu bağlamda, bu çalışmada Türkiye'de Ege Bölgesi'nde ekimi yapılan, fakat tüketimi fazla olmayan *Rosmarinus officinalis* bitkisinden antioksidan eldesinde yararlanılması ve elde edilen doğal antioksidanın fındık furesi gibi değerli bir ihracat yarı ürünümüzün oksidatif acılaştırmasının önlenmesinde kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Biberiye bitkisinden, amaca uygun olarak antioksidan eldesinde yararlanmak amacıyla, öncelikle ekstraksiyonda kullanılacak çözen belirleme çalışmaları yapılmış ve uygun bulunan çözen ile elde edilen "Biberiye Antioksidan Ekstraktı" (BAE)'nin fındık furesinde katılacak konsantrasyonu optimize edilmiştir.

Farklı sıcaklıkların fındık furesi yağının "Oksidatif İndüksiyon Süresi" ne etkisini belirlemek amacıyla optimum çözenle ekstrakte edilmiş Biberiye Antioksidan

Ekstraktı, optimum konsantrasyonda ilave edilmiş fûre yağı, üç farklı “Hızlandırılmış Raf Ömrü Testi” ne (Schaal Fırın testi, Ransimat ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile oksidatif indüksiyon süresinin belirlenmesi) işlemine tabi tutulmuştur.

Bu amaçla, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazında 100,110, 120⁰C ile 145, 155, 165⁰C’larda olmak üzere 6 farklı sıcaklıkta ölçüm yapılmış, Ransimat cihazında 100, 110, 120⁰C’da, Schaal Fırın testinde ise 20, 30, 40⁰C lar için antioksidanlı ve antioksidansız fındık fûresi yağında sıcaklık artışına bağlı olarak raf ömründeki gecikmeyi gösteren Q₁₀ değerleri belirlenmiştir.

Çalışmanın son aşamasında optimum konsantrasyondaki Biberiye Antioksidan Ekstraktının fûre yağının raf ömrünü uzatma etkisi, bazı sentetik antioksidanlarla mukayese edilmiştir.



2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Fındık Füresi Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Fındık füresinin tanımı ve ekonomik değeri

Fındık füresi, Türk Standartlarına göre işlenmiş iç fındığın (TS 1917), tekniğine uygun olarak ezilmesi ile elde olunan fındık ezmesi (TS 10938) vb. mamullerin yapımında kullanılan kıvamlı bir yarı mamul olarak tanımlanmaktadır.

Türkiye dünyanın en önemli fındık üretici ülkesi olup, son yıllarda dünya fındık üretiminin yaklaşık %75'ini gerçekleştirmiştir. Halen ülkemizde 1 271 250 ton/yıl kapasiteli 160 fındık kırma fabrikası ile toplam 291 510 ton/yıl kapasiteli 21 adet fındık işleme tesisi bulunmaktadır. Ülkemizde fındık sektörü yerli hammadde kullanım oranının yüksek, yurt içinde yaratılan katma değer orta düzeyde olduğu küçük üreticilerden oluşan bir üretici kompozisyonuna sahip olup, ayrıca Almanya, Hollanda ve İrlanda kaynaklı yabancı sermayeli yatırımlar da mevcuttur (İGEME, 1999).

Ülkemizde fındık üretimi yıllar itibariyle dalgalanma göstermektedir. Bu dalgalanmaların esas nedeni olarak iklim şartları gösterilmektedir. Yıllara göre fındık üretimi Tablo 2.1.'de verilmiştir. Türkiye'nin fındık ihracatının genel olarak kabuklu fındık, kabuksuz fındık, fındık ezmesi, fındık unu, fındık füresi, fındık yağı ve işlenmiş fındık olmak üzere yedi ana grupta gerçekleşmekte olup, ihracata konu olan ürün çeşidi sayısı 48'dir. 1970'li yıllarda ihracatımızın %90'ı kabuklu ve iç fındık olarak gerçekleştirilmiştir. 1998 yılı fındık ihracatımızın %73,5'i kabuksuz fındık, %18,1'i işlenmiş fındık, %0,3'ü kabuklu fındık, %3,2'si fındık unu, %2,5'i fındık füresi, %0,5'i fındık ezmesi ve %1,9'u da fındık yağı şeklindedir. İşlenmiş fındık ihracatının toplam fındık ihracatımızdaki payı 1990'larda %25-30 seviyelerine ulaşmıştır (İGEME, 1999).

Fındık fûresi uzun yıllardır ihracatımızda önemli bir yere sahiptir. 1980 yılı öncesinde fındığı sadece kabuklu ve iç fındık şeklinde 32 ülkeye ihraç eden Türkiye, günümüzde tane fındığın yanı sıra işlenmiş fındık ürünlerini de 75 ülkeye pazarlamaktadır. İhracatımızın %87 lik bölümü direkt olarak Avrupa Birliği'ne dahil ülkelere yöneliktir. Almanya işlenmiş veya işlenmemiş fındık ürünlerimizi alan ülkeler arasında 1. sırada olup, onu takiben İtalya, Fransa, İngiltere, Benelüks Ülkeleri, İsviçre ve Avusturya ile birlikte Türk fındık ihracat kapasitesinin %42 sini elinde bulundurmaktadırlar. Bununla birlikte bazı Ortadoğu ülkeleri de yine önemli alıcılarımızdandır. 1998 yılında gerçekleşen işlenmiş ürünler de dahil olmak üzere toplam fındık ihracatımız 201.802 ton olup, 866 milyon dolarlık bir ihracat geliri sağlamıştır. Fındıklar boylarına göre 9 ve 16 mm arasında (9-11, 9-15, 11-13, 13-15, >15 mm) 5 gruba sınıflandırılarak, müşteri talebine göre ihraç edilmektedirler. 1986-1998 yılları arasında Türkiye'nin fındık ihracat gelirleri Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Türkiye'nin Fındık Üretimi (İGEME,1999).

Yıllar	Üretim Miktarı (ton)
1992	520,000
1993	305,000
1994	490,000
1995	455,000
1996	446,000
1997	410,000
1998	580,000

Türkiye'nin gelecekteki hedefi, daha fazla işlenmiş halde fındık ihraç etmek ve dünya pazarlarına farklı şekillerde işlenmiş yeni fındık ürünleriyle tanıştırmaktır. (İGEME, 1999).

Tablo 2.2. 1990-1998 yılları arasında Türkiye'nin fındık ihracat gelirleri (İGEME, 1999).

Yıllar	Miktar (TON)	Fiyat (000 ABD Doları)
1990	195,645	550,976
1991	167,938	468,707
1992	173,213	447,744
1993	193,607	567,979
1994	186,236	711,638
1995	241,357	767,912
1996	198,402	613,207
1997	202,909	925,651
1998	201,801	866,241

2.1.2. Fındık furesinin üretim yöntemi

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan fındık füresi örneğinin temin edildiği Cargill Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.'de füre üretiminde Akçakoca ve Ordu olmak üzere 2 ayrı yöreye ait Tombul cinsi fındıklar kullanılmaktadır. Akçakoca yöresine ait fındıklar 9-11 cm çaplı olup, daha az yağ içermekte (%55-58), dolayısı ile elde edilen füre daha koyu renkte ve daha viskoz olmaktadır.

Ordu yöresine ait Tombul türü fındıklarda yağ oranı daha yüksek olup, (%60-64) düzeylere kadar çıkmaktadır. Aynı sıcaklıkta kavurma ile, Ordu yöresindeki fındıklardan daha açık renkli ve daha düşük viskozitede füre elde edilmektedir. Fındık furesinde öğütülme çapının artmasıyla yağ oranının azaldığı bilinmektedir. Fürenin viskozitesi ise içerdiği yağ oranı ile ilişkilidir. Şekil 2.1.'de fındık füresi üretiminin aşamaları verilmiştir (Anon, 1999a).

2.1.3. Fındık furesinin kompozisyonu

Fındık furesinin tipik bileşim özellikleri Tablo 2.3.'de verilmiştir (100 gr) (Anon, 1999b).

Fındık furesine ilişkin genel TS 10938'de öngörülen özellikler ve yasal sınırlamalar Tablo 2.4.'de özetlenmiştir.

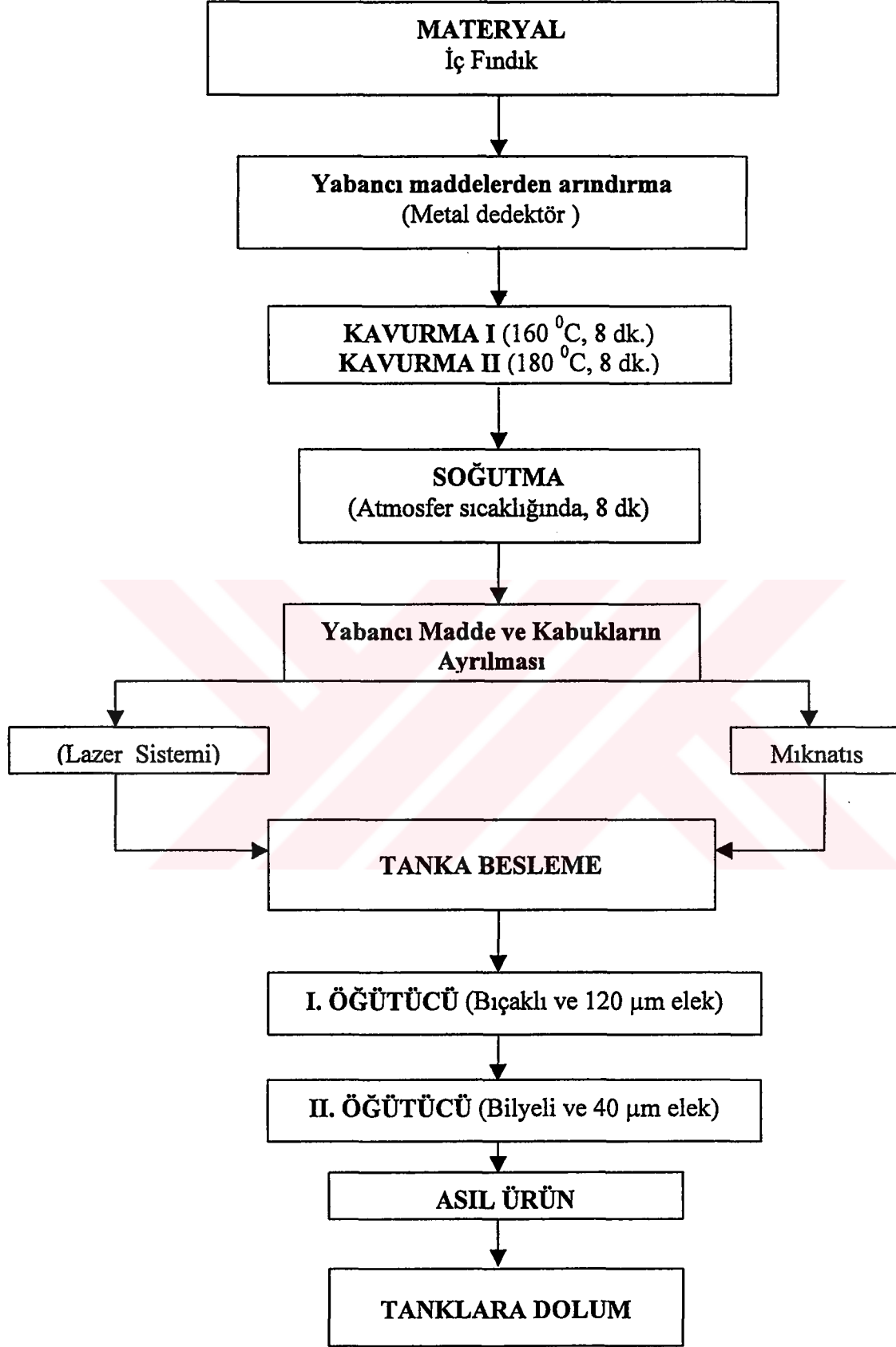
2.1.4. Fındık furesinin kullanım alanları

Fındığı çok farklı şekillerde işleyerek, fırıncılık ürünleri, şekerlemeler, tahıl ürünleri, süt ürünleri, salatalar, antreler ve tatlı formülasyonları içerisinde kullanmak mümkün olmaktadır. İşlenmiş fındık çeşitlerinin isimleri, tanımları, fonksiyonel kaliteleri ve uygulama alanları Tablo 2.5.'de özetlenmiştir.

2.2. Raf Ömrünün Tanımlanması ve Tahminlenmesine İlişkin Bilgiler

2.2.1. Raf ömrünün tanımı

Gıdalar pekçok reaksiyonun aynı anda gerçekleştiği ortamlardır. Hammaddenin fabrikaya gelişinden, tüketicinin eline ulaşmaya kadar geçen süre boyunca



Şekil 2.1. Fındık furesi üretiminin aşamaları (Anon, 1999a)

bileşiminde pekçok değişim söz konusu olabilir. Sıcaklık, ısı, ışık, nem gibi çevre faktörler, gıdalarda fiziksel, mikrobiyolojik değişimlere yol açarak bozulmalarına neden olabilir.

Tablo 2.3. Fındık fûresinin bileşim özellikleri (100 gr fındıkta) (Anon, 1999b)

Enerji	2476 kJ (592 kcal)	
Protein (gr)	12.5	
Yağ (gr)	64	Doymuş %7
		Tekli doymuş %84
		Çoklu doymuş %9
Karbonhidrat (gr)	3.6	Mono ve disakkaritler %100
		Polisakkaritler %0
Diyet Lifi (gr)	17	
Nem(gr)	0.9	
Mineraller (mg)	Kalsiyum (Ca)	161
	Demir (Fe)	5.31
	Potasyum (K)	397
	Sodyum (Na)	61
	Fosfor (P)	242
	Magnezyum (Mg)	285
Kimyasal Özellikler		
Kül (%)	2.3	
pH	3.55	
PD*	2 miliekiv. O ₂ /100 gr yağ	
SYA**, %	0.2 (oleik)	
Yağ Asitleri Bileşimi, %	C-16:0	4.90
	C-16:1	0.20
	C-18:0	2.57
	C-18:1	84.80
	C-18:2	7.41
	C-18:3	0.13
	C-20:0	0.20

*PD: Peroksit Değeri

**SYA: Serbest Yağ Asitleri

Günümüzdeki teknolojik ve endüstriyel gelişmeler sonucu, üretim potansiyelindeki artış ve dağıtım, pazarlama ağının genişlemesi gıdaların bir süre depolanmaları gereksinimini doğurmuştur. Raf ömrü “ürünün piyasaya sunum şekli itibarıyla, belirlenen uygun koşullarda saklanması kaydıyla, fiziksel, mikrobiyolojik ve önemli bir değişikliğe uğramadan depolanabildiği dayanım süresidir” (Gökmen ve Öztan, 1995).

Raf ömrünü etkileyen parametreler, gıda kalitesini etkileyen kriterlerle ilişkilidir. Bu kriterler öncelikle gıdanın kimyasal bileşimi, fiziksel ve biyokimyasal özellikleri, morfolojik yapısı ile mikrobiyolojik yüküdür. Ayrıca maruz kalınan sıcaklık, ışık şiddeti, oksijen kısmi basıncı gibi çevresel faktörlerin yanı sıra, gıdayı çevreleyen ambalaj materyaline ait oksijen ve nem geçirgenliği, kalınlık gibi özellikler de etkilidir (Saguy ve Karel, 1980).

Acılaşma (Ransidite) gıdalarda özellikle yağlı ürünlerde bazı fiziksel ve kimyasal reaksiyonlar sonucunda kötü koku ve tat oluşumu nedeniyle ürünün tüketilemez hale gelmesidir. Gıdanın dışarıdan kontamine olması gibi özel durumlar dışında, kötü koku ve tatdan sorumlu olan esas bileşen yağdır.

Gıdalardaki acılaşma reaksiyonları hidrolitik acılaşma, fotooksidatif acılaşma ve oksidatif acılaşma olmak üzere üç farklı şekilde gerçekleşmektedir.

2.2.2. Hidrolitik acılaşma

Hidrolitik acılaşma, trigliseritlerin yüksek nemli ve sıcak ortamlarda parçalanarak serbest yağ asitlerinin açığa çıktığı reaksiyonlardır. Hidrolitik acılaşmaya neden olan etkenler, ortamdaki bağıl nem ve lipolitik enzimlerin varlığıdır.

Lipoksigenaz, bitki ve hayvan yapıları içerisinde yaygın olarak bulunan bir enzim olup, diğer enzimlerden farklı olarak substratın okside edilmiş haline çok spesifiktir. Lipoksigenaz enzimi daha çok serbest yağ asitlerini substrat olarak tercih eder. Lipoksigenaz izoenzimi ise trigliseritlerle reaksiyona girer.

Hidrolitik acılaşma reaksiyonları yüksek aktivasyon enerjisine sahip reaksiyonlardır. Acılaşmanın önlenmesi, düşük sıcaklıkta depolama, özel paketlenme, uygun taşıma

koşulları ve sterilizasyon ile mikroorganizma inhibisyonu gibi yöntemlerle mümkün olmaktadır (Patterson, 1989, Hudson, 1989).

Tablo 2.4. Fındık fûresine ilişkin özellikler ve yasal sınırlamalar (TS 10938).

Gruplandırma	Sınıflandırma	1. Sınıf, 2. Sınıf	
	Tip	1- Beyazlatılmış, 2- Kavrulmuş	
	Çeşit	Kalın, Normal, İnceltilmiş	
Fındık Fûresinin Sınıf Özellikleri: Kimyasal Özellikler	Serbest Yağ Asitleri (Oleik asit)	1. Sınıf	Yeni ürün <%1.0 (m/m) Eski ürün <%1.4 (m/m)
		2. Sınıf	Yeni ürün <%1.3 (m/m) Eski ürün <%1.5 (m/m)
	Peroksit Sayısı (miliekiv-gr/kg)	1. Sınıf	Yeni ürün <7 Eski ürün <9
		2. Sınıf	Yeni ürün <8 Eski ürün <10
Duyusal Özellikler	Duyusal Özellikler	1. Sınıf	Sağlam, işlenmiş iç fındık
		2. Sınıf	Kusurlu (haşlak, buruşuk, urlu, vurgun, kırık, ezik) işlenmiş iç fındık (biri veya birkaçı)
Fındık Fûresinin Tip Özellikleri: A-Duyusal Özellikleri	Renk Özellikleri	1. Beyazlatılmış	Koyu krem
		2. Kavrulmuş	Kahverengi tonları
	Tat ve koku	1. Beyazlatılmış	Kendine has
		2. Kavrulmuş	Kendine has tat ve kokuda olmalı, yanık tat ve koku olmamalı
B-Kimyasal Özellikler:	Nem	1. Beyazlatılmış	<%5 (m/m)
		2. Kavrulmuş	<%3 (m/m)
Fındık Fûresinin Çeşit Özellikleri:	Parça Büyüklüğü	Kalın	<500 µm
		Normal	<80 µm
		İnceltilmiş	<40 µm
	Elek üstü kısmı	Kalın, Normal, İnceltilmiş	<%5 (m/m)
Genel Özellikler:	Aflatoksin miktarı	Aflatoksin B ₁	<5 ppb
		Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	<10 ppb
	Mikrobiyolojik Özellikleri	Toplam Mezofilik Aerob.	<2000 adet/gr
		Maya ve Küf	<50 adet/g
		Koliform Bakteri	<10 adet/g
		Fekal Koli, Salmonella, <i>Stap. aureus</i>	Bulunmamalı

Tablo 2.5. İşlenmiş fındık çeşitleri, tanım ve kullanım alanları ile fonksiyonel özellikleri (İGEME, 1999).

Fındık Ürününün Bulunabilir Ticari Formu		Tanımı	Fonksiyonu	Uygulama Kategorisi
Kavrulmuş (kahverenkli ince zar uzaklaştırılmış)	Tane Fındık	Tane fındık -zar ayrılmamış	Gıdalarda garnitür olarak	Çikolata-şekerleme, fırıncılık ürünleri, çerezlik
	Dilimlenmiş	(3 farklı boyda) K: 1/8 (inch)* O: 3/16 B: 5/16	Gıdaların lezzet, doku ve görüntüsünde tekdüzeliği sağlamak	Unlu mamuller, şekerlemeler, çerez gıdalar
	Kıyılmış	Bütün fındık inc dilimler halinde boylamasına kesilmiş	Gıdaların lezzet ve dokusunda hoş bir zıtlık yaratarak, fındık lezzetini vurgular	Garnitür, düşük kalorili antrelerde, ekmekler, tahıllar ve çerezlerde
	Fındık Unu	İnce öğütülmüş ve akışkan formda	Un ikame edici madde, kıvam arttırıcı ajan, lezzet arttırıcı ajan	Fırıncılık ürünleri, ekmekler, dolgu maddesi, çerez türü gıdalar ve fonksiyonel ürünler
Çiğ (kahverenkli zarı ayrılmamış)	Tane-fındık	Kuru- kavrulmuş	Lezzet ve dokuda gevreklik arttırıcı	Şekerlemeler, fırıncılık ürünleri, çerez gıdalar
	Dilimlenmiş	(3 farklı boyda) K: 1/8 inch O: 3/16 B: 5/16	Daha güçlü aroma, daha koyu renk ve daha fazla gevreklik sağlar	Süt ürünleri, çerez gıdalar, soslar ve fırıncılık ürünleri
	Fındık Unu	İnce öğütülmüş ve akışkan formda	Un ikame edici madde, kıvam arttırıcı ajan, lezzet arttırıcı ajan, dolgu maddesi	Fırıncılık ürünleri, ekmek, çerez gıdalar ve fonksiyonel ürünler
	Fındık Ezmesi	Öğütülmüş fındığın şekerle tatlandırılmış şekli, sürülebilirliği yüksek fakat tanecikli yapıda	Gıdaya hacim kazandırır, lezzet ve nem kazandırır	Fırıncılık ürünleri, dolgu materyali olarak şekerlemelerde ve kek vb. dolgu maddesi olarak
	Fındık Füresi	İnce öğütülmüş fındık, kıvamlı	Lezzet artırır, ürünü zenginleştirir ve protein miktarını artırır	Şekerlemeler, fırıncılık ürünleri, antreler, soslar, dolgu materyallerinde, kek, vb. kaplama maddesi olarak

1 inch: 2.54 cm

Hidrolitik acılaşmanın tayini ise serbest yağ asitlerinin analizi ile takip edilebilir. Ayrıca enzimatik yöntemler de vardır (Angelo ve diğ., 1979).

2.2.3. Oksidatif acılaşma

Gıdalarda oksijenin neden olduğu bozulma reaksiyonları, fotooksidasyon ve lipid oksidasyonu olarak iki farklı şekilde gerçekleşmektedir.

Fotooksidasyon:

Hidroperoksit oluşumunda etken olan serbest radikal mekanizmasına alternatif bir diğer yol da singlet oksijen atağının neden olduğu fotooksidasyon mekanizmasıdır. Bu mekanizma, ışık ve bazı uyarıcı moleküllerin varlığında gerçekleşen fotooksidasyon döngüsüdür.

Miyoglobin, hemoglobin, riboflavin ve klorofil gibi tetrapirel yapısındaki doğal pigmentler ile eritrosin ve metilen mavisi gibi bazı sentetik maddeler ışık enerjisi etkisiyle uyarılırlar ve bu enerjilerini oksijene aktararak oksijeni temel enerji düzeyinden (triplet) uyarılmış hale (singlet oksijen) getirirler. Singlet oksijenin neden olduğu fotooksidasyon reaksiyonu otooksidasyondan çok daha hızlı gerçekleşen bir reaksiyon olup, singlet oksijenin triplet oksijene göre metil linoleatı 1500 kere daha hızlı okside ettiği bilinmektedir. Antioksidanların fotooksidasyonu önlemede yeterli olmadığı, bununla birlikte karoten ve nikel şelatlarının varlığının fotooksidasyonu sınırladığı bilinmektedir. Fotooksidasyon daha çok gıdaların depolanması sırasında etkilidir (Patterson, 1989, Bradley ve Min, 1992).

Lipit Oksidasyonu:

Lipit oksidasyonu çoklu doymamış yağ içeren gıdalarda ısı, ışık, metaller, enzimler, su aktivitesi gibi iç ve dış faktörler nedeniyle çifte bağların kırılarak oluşan oktet açıklarına oksijeninin bağlanmasıyla kendi kendisini katalizleyerek devam eden bir kimyasal reaksiyonlar zinciridir.

Lipit oksidasyonu sonucunda oluşan ürünler hücrenin membranlarına, proteinlerine, enzimlerine ve vitaminlere zarar verir ve bu şekilde hücrede yıpranmaya neden olur. Gıda maddelerinde sonuç olarak lezzet ve aromada bozulma ile besin değerinde kayıp söz konusu olmaktadır.

Pekçok gıda depolama uygulamalarında gıda bileşenleri için aktivasyon enerjisi 20-24 kcal/ mol'dür (Singh, 1994). Gıdalarda aktivasyon enerjisinin hidroliz reaksiyonları için 15, lipit oksidasyonu için 10-25 kcal/mol aralığında olduğu belirtilmektedir (Gökmen ve Öztan, 1995, Schwartzberg ve Hartel, 1992).

Kendi kendisini katalizleyerek devam ettiği için otooksidasyon olarak da adlandırılan bu reaksiyon düşük aktivasyon enerjisine sahip olduğundan (indüksiyon süresinde

4-5 kcal/mol, 2. basamakta ise 6-14 kcal/mol'dur) dolayı, çok düşük sıcaklıklarda dahi devam edebilmekte, bu nedenle yalnızca soğutma işlemi ile oksidasyonu durdurabilmek mümkün olamamaktadır (Singh, 1994) .

Lipit Oksidasyonunun Aşamaları:

Lipit oksidasyonu “başlama”, “yayılma” ve “sonlanma” olmak üzere üç ayrı aşamadan oluşmaktadır.

1. Başlama (Initiation): Katalizörlerin etkisiyle doymamışlık noktalarındaki H bağının koparak serbest radikallerin oluşumu.
2. Yayılma (Propagation): Hidroperoksit ara ürünlerinin oluşumu ve hidroperoksitlerin dekompozisyonu
3. Sonlanma (Termination): Serbest radikal içeren bileşiklerin birleşerek stabil radikalleri oluşturması.

Lipit oksidasyonunun gerçekleşme mekanizması Tablo 2.6.'de şematize edilmiştir.

Tablo 2.6. Lipit oksidasyonunun gerçekleşme mekanizması (Hamilton, 1989).

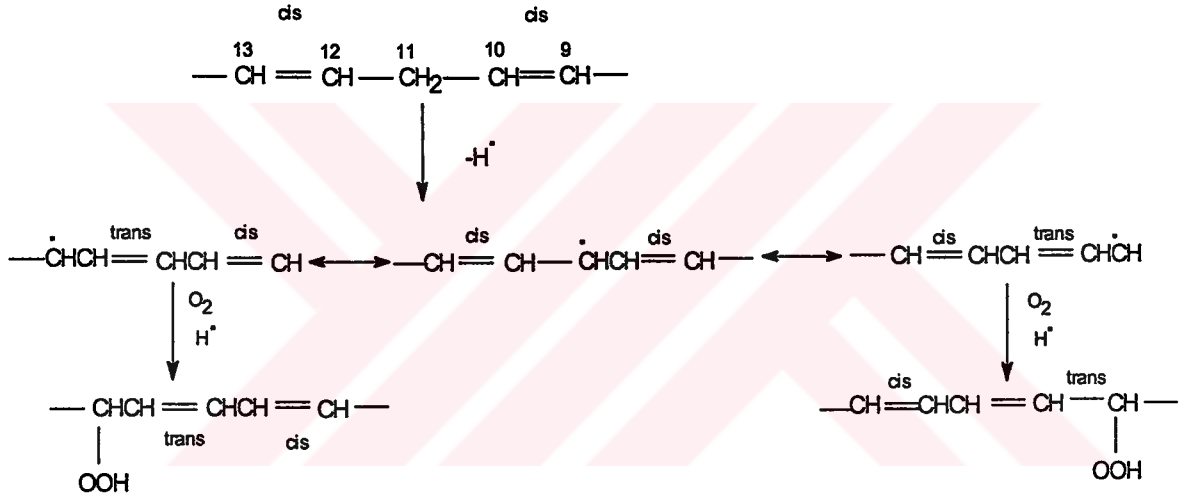
$RH + O_2$	$\Rightarrow$	$R^\bullet + HOO^\bullet$	Serbest Radikal
RH	$\Rightarrow$	$R^\bullet + H^\bullet$	
$R^\bullet + O_2$	$\Rightarrow$	$RO_2^\bullet$	Hidroperoksit
$RO_2^\bullet + RH$	$\Rightarrow$	$RO_2H + R^\bullet$	
$R^\bullet + R^\bullet$	$\Rightarrow$	$R-R$	Stabil Radikal
$RO_2^\bullet + R^\bullet$	$\Rightarrow$	RO_2R	

Yağların oksidasyona uğramasında trigliseritler ile özellikle oleik, linoleik, ve linolenik asitler gibi yağ asitleri etkilenirler. Gıdalardaki bu 3 yağ asidinin otoksidasyon hızları birbirlerinden farklı olup, linoleik asit oleik asitten 64, linolenik asit ise oleik asitten 100 kat daha hızlı okside olmaktadır (Hamilton, 1989). Bir başka çalışmada ise yağ asitlerinin göreceli oksidasyon hızları Tablo 2.7.'de özetlendiği gibi verilmiştir (Evans, 1997).

Tablo 2.7. Yağ asitlerinin göreceli oksidasyon hızları (Evans, 1997).

C18 (Yağ Asidi)	Relatif Oksidasyon Hızı
C18:0 (Stearik)	1
C18:1 (Oleik)	100
C18:2 (Linoleik)	1200
C18:3 (Linolenik)	1500

Lipit oksidasyon reaksiyonu metil linoleat üzerinde gerçekleşecek olursa, metil linoleattaki 9 ve 13. pozisyonundaki konjugasyon üzerinde oluşur. Metil linoleat 9, 12, 13 ve 16. pozisyonlarda hidroperoksit bulundurabilen farklı cis ve trans halde yapı gruplarına dönüşür. Metil linoleatın oksidasyonu Şekil 2.2.'de verilmiştir (Hamilton, 1989).



Şekil 2.2. Metil linoleatın oksidasyonu (Hamilton, 1989).

Lipit oksidasyonunu etkileyen faktörler şöyle sıralanabilir (Tjho ve diğ., 1969, Troller ve Christian, 1978, Prabhakar ve Amla, 1978);

1. Sıcaklık (Suyu uçurur, hidrolitik acılaşmayı hızlandırır, 2. kademe olan yayılma aşamasında etken)
2. Işık (Depolama, gün ışığı, tungsten ve floresan)
3. Su Aktivitesi
4. Enzimler (Lipoksigenaz ve peroksidaz)

5. Metal katalizörleri (Cu, Mn, Fe, Cr, Ni, Zn, Al) (Patterson, 1989, Ünal ve Nergis, 1986, Labuza ve diğ., 1971).
6. Oksijenin varlığı
7. Doğal Antioksidanlar.

Birincil otooksidasyon ürünleri olan renksiz ve kokusuz hidroperoksitler, ya karanlıkta serbest radikal mekanizması ile ya da ışık etkisiyle fotooksidasyon mekanizması ile oluşarak ikincil ürünlere parçalanmaktadır.

Otooksidasyon birinci aşamasının sonucunda aldehitler, ketonlar, alkoller ve hidrokarbonlar oluşmaktadır. İkincil reaksiyon ürünleri olarak yağ hidroperoksitleri parçalanarak alkoksi serbest radikallere, alkoksi serbest radikalleri de, aldehitler, alkoller ve diğer hidrokarbonlara dönüşmektedir. Oluşan bu ürünler acılaşıma olayını meydana getirmedeki etkenlerdir.

Aldehitler, tatlı, keskin kokudan, okside olmuş süt lezzetine kadar pekçok lezzetin kaynağıdır. Doygun aldehitlerin güçlü, ılık, keskin, taze gibi lezzet parametrelerini, 2-enaller ve 2-4-dienallerin ise tatlı, meyvemsi ve yağlı diye tanımlanan lezzet bileşenlerini oluşturdukları belirlenmiştir. Örneğin aldehitlerin içerdikleri karbon sayısına bağlı olarak 3 karbonlular, sütlü, taze; 6 karbonlular taze, yeşil, ham, 8 karbonlular yağlı tad içermektedirler.

Alkoller, aldehitlere oranla lezzet bileşenlerinin oluşumunda daha az etken olup, 3 karbonlular çözgenimsi, 6 karbonlular makine yağı tadı, yeşilimsi tad ile 9 karbonlu alkoller ise katı yağ tadını veren alkol yapısında ürünlerdir.

Hidrokarbonların oluşum mekanizmaları da aldehitlere benzer olup, oleik asitten, oktan, linoleik asitten pentan, linolenik asitten ise etan oluşmaktadır. Uçucu ve doymuş hidrokarbonların lezzete önemli katkıları vardır.

2.2.4. Hidrolitik ve oksidatif acılaşıma ölçüm yöntemleri

Lipit Oksidasyonu Ölçüm Yöntemleri:

Lipit oksidasyonu ölçüm metotları analiz edilecek ürünün kimyasal kompozisyonuna (protein, şeker içeriği gibi), özellikle yağ içeriğinin bileşimi gibi pek çok faktöre

bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle günümüze değin yağlarda otokatalitik olarak devam eden oksidasyonun ölçümü için pekçok farklı metot geliştirilmesine rağmen henüz bir ürün için tamamen yeterli görülebilen spesifik bir ölçüm metodu bulunmamaktadır.

Bazı yöntemler gıdanın veya yağların lipit oksidasyonunun hangi aşamasında olduğuna ilişkin sayısal bir değer verebilmektedir; bazıları ise ancak gıdanın depolanma sürecine bağlı olarak sürekli takip edildiklerinde göreceli olarak oksidasyon artışını gözlemlemekte yardımcı olabilmektedir.

Gıdalarda lipit oksidasyonuna bağlı olarak raf ömrünün tespit edilmesinde acılaşma başlangıcını belirlemek amacıyla bazı yöntemler için önceden belirlenmiş bazı değerler bulunmasına karşılık, raf ömrü sonlanmasının duyusal olarak da onaylanması sonucun doğruluğu açısından gereklidir.

Bir gıdada uygulanacak oksidasyon ölçüm yönteminin seçiminde, ilaveten dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

- 1- Ölçülen özellikler oksidasyon dışında farklı reaksiyon veya olaylardan etkilenip, artış göstermemelidir.
- 2- Analiz edilen gıdanın tüm cinslerinde mutlaka analizi yapılan bileşenin bulunması gereklidir.
- 3- Kullanılan metot mutlaka ölçülen özellik için spesifik bir yöntem olmalıdır.

Lipit oksidasyonu ölçüm metotlarını kullanılan tekniğe bağlı olarak şu şekilde sınıflandırmak mümkündür.

- 1- Fiziksel Yöntemler (Ağırlık Artışı)
- 2- Analitik Yöntemler (PD, Tiyobarbitirikasit (TBA), *p*-Anisidin, FerroSiyanat,vb.)
- 3- Spektrofotometrik Yöntemler (Konjuge dien hidroperoksit, Konjuge oksodien, Kızıl Ötesi (IR, Nükleer Magnetik Rezonans (NMR)

4- Kromatografik Yöntemler (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi, Gaz Kromatografisi, Gaz-Kütle Kromatografisi)

5- Duyusal metotlar

Bununla birlikte farklı bir açıdan bakıldığında lipit oksidasyonunu ölçmede kullanılan tekniklerin, otoksidasyon mekanizmasının iki aşamalı bir reaksiyon olarak ele alınması ile analiz edilen spesifik bir reaksiyon veya bileşen/ürün bazında değerlendirmek daha akılcı bir yaklaşımdır.

Lipit oksidasyonunun birincil basamağı renksiz ve kokusuz hidroperoksitlerin oluşumuna kadar olan süreyi, ikincil aşaması ise hidroperoksit oluşumundan aldehit, alkoller gibi stabil ve acı tat oluşumundan sorumlu ürün oluşumunu içine almaktadır. Birincil aşamada gerçekleşen ve lipit oksidasyonuna ilişkin bilgi verebilecek ölçülebilir değişim aşamaları, hidroperoksitlerin oluşumu, çifte bağların doyurulması, oksijenin bağlanması ile serbest radikallerin oluşumudur. Sekonder olarak gerçekleşen değişimler ise aldehitlerin (Malon-Aldehit-2-4 dienal), karbonil bileşenlerinin, hidrokarbonların ve floresan maddelerin oluşumudur.

Lipit oksidasyonunun ilk aşamasında oluşan ana ürün olan hidroperoksitler stabil olmayan ara bileşenler olup, renksiz, kokusuz ve tatsızdırlar. Dolayısıyla lezzete direkt katkıları yoktur ve duyusal skorlarla olan korelasyonları düşüktür. Çifte bağlara oksijen bağlanması nedeniyle yağ asitlerinin çifte bağ sayısındaki değişim bir geçiş reaksiyonudur. Elektron Spin Rezonans yöntemi (ESR) ile serbest radikallerin ölçümü ise alternatif ve yeni bir yöntem olmasına karşılık, serbest radikallerin son derece kısa ömürlü olmaları nedeniyle, oluşan radikal miktarının doğru olarak belirlenememesi dezavantajına sahiptirler.

Lipit oksidasyonunun ikincil aşamasında ise ölçümü yapılan aldehitler, hidrokarbonlar gibi ürünler hidroperoksitlerin tersine stabil-son ürünler olup, acı tat ve kokunun oluşumundan asıl sorumlu olan bileşiklerdir. Dolayısıyla, duyusal skorlarla olan korelasyonları yüksek olup, "Lipit Oksidasyonu İndisi" olarak kabul edilebilirlikleri daha fazladır. Bu yöntemler Tablo 2.8'da, 2. cil değişimlere dayanan yöntemler ise Tablo 2.9'de belirtilmiş olup, belli başlıları ise aşağıda açıklanmaktadır (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

Tablo 2.8. Lipit oksidasyonunda birincil değişimlerin izlenmesine dayalı yöntemler

ÖLÇÜLEN KRİTERLER	Çifte Bağlarda Doymuş/ Doymamışlık	Hidroperoksit Miktarı	Oksijen Miktarı	Serbest Radikaller
<i>Ölçüm</i>	1-KDHP	1-PD	1- Ağırlık Artışı	- Elektron
<i>Y</i>	2-Konjuge	2-Ferrotiyosiyanat	Metodu	Spin
<i>Ö</i>	Oksodien	Metodu	2- "Oksijen	Rezonans
<i>N</i>	Değeri	3- YBSK, G-KK	Basıncındaki	(ESR)
<i>T</i>	3- İyot Değeri	4- Floresan Tayini	değişimin	
<i>E</i>	4- Doymuşluk/	5-NMR	ölçülmesi	
<i>M</i>	Doymamışlık	6- IR	Yöntemi"	
<i>İ</i>	Oranının saptanması	7- FTIR		

YBSK:Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

FTIR:Forier Transform Infrared

G-KK:Gaz-Kütle Kromatografisi

IR:Infrared

NMR:Nükleer Magnetik Resonans

Tablo 2.9. Lipit oksidasyonunda ikincil değişimlerin izlenmesine dayalı yöntemler

ÖLÇÜLEN KRİTERLER	Aldehitler (MalonAldehit, 2-4 dienal)	Karboniller	Hidrokarbonlar	Epoksitler
<i>Ölçüm Yöntemleri</i>	1- <i>p</i> -Anisidin, 2-TBA/TBARS 3-Kreis Testi (Acılaşma İndeksi)	1-Kinonoidal iyonu, heksanal, pentanal tayini,	(Oktan, pentan analizleri)	Oksiran İndeks Değeri

Kreis Testi (Acılaşma İndeksi):

Lipit oksidasyonunun tespitinde kullanılan en eski analiz yöntemlerinden birisidir. Yağın daha çok başlangıç acılaşmasına ilişkin bilgi verir.

Yöntemin prensibi okside yağın içerdęi (malonaldehit, epoksipropanol) gibi maddeler ile floroglusinolün reaksiyona girerek kırmızı renk oluşturmastır. Lovibond tintometre ile acılaşmayı kalitatif olarak tespit etmek de mümkündür. Lovibond değerlerinde 0-3 acılaşma başlangıcını, 3-8 indüksiyonun süresini, 8'den büyük değerler ise acılaşmayı gösterir.

Ancak çok düşük konsantrasyonlarda renk oluşmayacağından kalitatif çalışmalara güvenilmemesi önerilmektedir. Ayrıca renk gelişiminin her zaman acılaşmayla doğru

orantılı ve paralel olarak artmaması, mukayeseli çalışmalarda farklı laboratuvarlarda benzer sonuçların alınamaması bu metoda ilgiyi azaltmıştır (Gray, 1978).

Ferrotiyosiyanat Metodu:

İyot miktarının 2-6 diklorofenol indofenol varlığında, ferrodemirin ferri formuna (Fe^{+2} nin Fe^{+3} 'e) yükseltgenmesiyle kolorimetrik olarak saptanabildiği ve Ferrotiyosiyanat Metodu olarak adlandırılan bir diğer yöntemdir.

Bu yöntemde az miktarda örnek ile çalışabilmek mümkün olup, tekrar edilebilirliği yüksektir. Oksidasyonun ilk aşamalarında mikroölçekli oksidasyonu ölçmede başarılıdır. Daha çok süt, krema gibi ürünlerde kullanılır, fakat renk girişimi nedeniyle, homojenize edilmiş akışkan gıdalarda kullanılmaz (Gray, 1978).

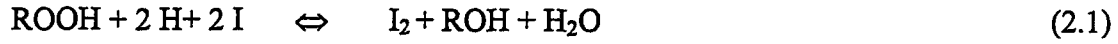
Peroksit Değeri (PD):

Peroksitlerin analitik yöntemle tayininde iyodometrik ve ferrotiyosiyanat metodları uygulanmaktadır. İyodometrik metotta analiz sonucu titrimetrik ve elektrokimyasal olarak, ferrotiyosiyanat metodunda ise kolorimetrik olarak tespit edilir. Titrasyondan kaynaklanan hataları minimize etmek amacıyla açığa çıkan iyodun elektrokimyasal olarak tespit edilmesine dayanan otomatik ve 0.06-20 arasındaki çok düşük peroksit değerlerini dahi tespit edebilen sistemler geliştirilmektedir (Gray, 1978, Asakawa ve Matsushita, 1978, Hara ve Totani, 1988, Shahidi ve Wanasundara, 1997).

Hidroperoksitleri çok daha hassas olarak tespit edebilen Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK), Gaz-kütle kromatografisi (G-KK) gibi diğer enstrümental olarak diğer yöntemler de mevcuttur. Hidroperoksitlerin oksidasyon miktarını, luminol ve diklorofloresan ilavesiyle floresan özellikte maddeler haline dönüşmelerinden faydalanılarak belirlemek de mümkündür (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

İyodometrik yöntemle peroksit tayininde; hidroperoksitlerin potasyum iyodürden açığa çıkardığı iyodun $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ile titre edilmesi prensibine dayanır. Reaksiyonun denklemi 2.1. ve 2.2. no'lu denklemlerde ifade edilmiştir. En çok kullanılan otoksidasyon ölçüm yöntemlerinden birisidir. Peroksit değeri iyodu açığa çıkaran 1 kg. yağdaki oksijenin milieşdeğer gr miktarı olarak ifade edilir. Ancak düşük PD

değerlerinde yöntemin hassasiyeti çok düşüktür. Genellikle PD'nin 20 meq O₂/kg den büyük olması yağlarda acılaşmayı gösterir.



Hidroperoksitler 150 °C'da parçalanırlar. Bu nedenle çok yüksek sıcaklıklarda ısıtıl işlem görmüş gıdalarda çok bozuk yağlarda veya kızartma yağlarında bu yöntem doğru sonuç vermez (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

***p*-Anisidin Değeri (*p*-AnD) :**

p-Anisidin Değeri, 100 ml çözücü ve *p*-Anisidin karışımında çözünmüş haldeki 1 gr yağın 350 nm'deki absorpsiyonunun 100 katı olarak ifade edilmektedir. Yöntemin prensibi, aldehitlerin (2-alkenal ve 2-4-alkadienaller) *p*-Anisidin reaktifine 350 nm'de oluşturdukları sarımsı rengin şiddetinin ölçülmesine dayanmaktadır. Avrupa'da kullanımı yaygın olan bir metottur. Peroksit değerine ilaveten kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda taze soya yağında lezzet skorları ile çok yüksek korelasyon verdiği görülmüştür. *p*-Anisidin değerinin 10'dan büyük olması, yağın acılaştığını göstermektedir.

Yağlar ve çerez türü gıdalarda *p*-Anisidin değeri, peroksit değerini tamamlayıcı olarak kullanılmaktadır (Robards ve diğ., 1988).

Toplam Oksidasyon Değeri (TOTOKS Değeri) :

TOTOKS değeri, peroksit ve *p*-Anisidin değerlerinin matematiksel toplamı olarak ifade edilir (2.3. no'lu denklik).

$$\text{TOTOKS} = 2 \text{PV} + \text{p-AnD} \quad (2.3)$$

Yağın hem geçmişine hem de son durumuna ilişkin bilgi vermektedir. Sanayide kullanımı daha yaygındır. Shahidi ve Wanasundara (1997) sonucu iki farklı metottan kaynaklanan varyasyonların etkilemesinin yorumunda güçlük veya hataya neden

olabileceğini bildirirse de, son yıllarda yapılan pekçok araştırmada TOTOKS değeri de kullanılmaktadır.

TOTOKS değerinin 10'dan büyük olması, acılaştırmanın başladığını göstermektedir. PD ve *p*-Anisidin değerlerinin aynı olması ise yağın indüksiyon süresinin sonunda olduğunu gösterir. TOTOKS değeri rafinasyonda 1/2 oranında azalır. Bu nedenle rafinasyonun gerçekleştiğini veya hava sızdırma probleminin olup olmadığının göstergesi olarak da kullanılır (Patterson., 1989).

Konjuge Dien Hidroperoksit Değeri (KDHP):

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu yağın UV absorbans değerinde artışa neden olmaktadır. Tek bağ içeren yağ asitleri 230-270 nm. de, iki çifte bağ içerenler 234 nm'de, üçlü çifte bağ içeren yağ asitleri ise 268 nm'de absorbans piki verirler.

KDHP metodu, basit ve hızlı bir yöntem olup, burada kimyasal bir reaksiyon veya renk dönüşümü söz konusu değildir. Peroksit tayini yerine veya ilaveten kullanılabilir. Bununla birlikte karotenoid içeren yağlarda karotenoidler girişim yapabileceğinden hatalı sonuç verebilir. Daha çok bitkisel yağlar ve balık yağlarında tercih edilir (Shahidi ve Wanasundara, 1997). KDHP metodunun fıstık ezmesinde ilk olarak kullanıldığı çalışmalardan birisi Angelo ve diğ., (1975a, b, c ve d) tarafından yapılmış olup, KDHP değeri ve PD ile arasında doğrusal bir ilişki olduğu ($R= 0.98$) belirlenmiştir.

Daha sonraki yıllarda fıstık yağı ve benzeri ürünlerdeki pekçok çalışmada bu yöntem kullanılmıştır (Angelo ve diğ., 1977 ve 1979, Farag ve diğ., 1989a, Chimi ve diğ., 1991, Mehta ve diğ., 1994a ve b, Frankel ve diğ., 1997). KDHP metodunda, hidroperoksitler için molar ekstinksiyon katsayıları (L^* (1/mMol*cm)), heksanda ve 234 nm'de 24.5 (Angelo ve diğ., 1977) metanolde ve 232 nm'de 26 (Farag ve diğ., 1989a), isooktanda 234 nm'de linoleat hidroperoksitleri için 26 (Frankel ve diğ., 1994), etanolde ise 233 nm'de 27 (Kim ve La-Bella, 1987) olarak verilmiştir.

Lezerovich (1986) yağlardaki konjuge dien yapı tayinini türev spektrofotometresinde de incelemiştir.

Konjuge Oksodien Değeri (KOD):

Hidroperoksidien ve oksodienler ile bunların karbonil ve hidroksil türevleri sodyum hidrojen bromür (NaBr-H) ile önce indirgenme sonra da dehidrasyon reaksiyonlarına girerler. Okside yağ asitlerinden oluşan oluşan konjuge trienler nedeniyle 275 nm’de hidroperoksidien ve oksodienlerin ölçülen absorbansında azalma olur ve bu azalma “Oksodien Değeri” olarak ifade edilir. Bu kriter daha çok uzun süre depolanmış yağlarda izlenir (Shahidi ve Wanasundara, 1997). Oksodienlerin 276 (260-280) nm’de ve etanoldeki molar ekstinksiyon katsayısı 22, C18:2 serisi veya konjuge trienler için 268 nm’de ve etanolde 43.4, C18:3 ve C20:3 serisi için 278 nm’de 33.5 olarak verilmiştir (Kim ve La-Bella, 1987).

Karbonillerin Analizi:

Karbonil analizleri 2,4 difenilhidrazin ile aldehit veya ketonun reaksiyona girmesiyle oluşan kinonoidal iyonunun spektroskopik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.

Karbonillerin analizine ilişkin ilk çalışma Henick tarafından geliştirilen ve 2,4 dinitrofenilhidrazonlar gibi karbonil bileşenlerinin trikloroasetik asit varlığında tayinine ilişkin zaman alıcı ve emekli bir yöntemdir. Ancak hidroperoksitler deney sırasında parçalandıklarından kantitatif olarak doğru sonuç alınamamaktadır (Hall ve diğ., 1953).

Daha sonra geliştirilen bir yöntemle doymuş ve doymamış aldehitler benzidin asetat ile reaksiyona sokulmuştur. Böylelikle güçlü asit veya yüksek sıcaklık nedeniyle hidroperoksitler parçalanmamaktadır.

Benzidin asetat kanserojenik olduğundan daha sonra yerine aynı görevi gören *p*-Anisidin reaktifi kullanılmıştır. Ayrıca pekçok farklı, fakat uçucu olmayan karbonil analizleri de geliştirilmiş ise de yaygın kullanım alanı bulamamışlardır (Gray, 1978).

Genellikle pentanal, heksanal vb. gibi karboniller, Gaz-Sıvı Kromatografisi (G-SK) kullanılarak (Statik ve Dinamik Tepeboşluğu Uçucu Gaz analizleri ve Direkt Gaz Kromatografisi Yöntemleri) analiz edilmektedirler (Elizelde ve diğ., 1991, Angelo, 1996).

En yaygın olarak linoleik asidin oksidasyonundan oluşan heksanal miktarı tespit edilmekle birlikte ürün bazında analiz edilecek karbonil cinsi değişebilmektedir (tavuk etinde heksanal, balık etinde propanal gibi). Kavrulmuş ürünlerde çok kompleks aroma bileşenleri oluşabileceğinden, bu yöntemin kavrulmuş ürünler için kullanımı tavsiye edilmemektedir (Angelo, 1996).

Hidrokarbonların Analizi:

Aldehitlerin oluşmadığı veya kontrol edilemediği durumlarda kullanılır. Etan, propan, pentan gibi hidrokarbonlar gaz kromatografisinde de analiz edilir. Duyusal analiz skorları ile en yüksek korelasyona sahip metotlardan birisidir.

Tiyobarbutirik Asit Metodu (TBA/TBARS):

Bu yöntemin prensibi malondialdehitler, 2-4-alka-dienal ve 2-alkenalların TBA ile oluşturdukları kırmızı renkli kromojenlerin spektrofotometrik olarak 530 nm dalga boyunda ölçümüne dayanmaktadır.



TBA metodu özellikle A.B.D. de ve Japonya'da *p*-Anisidinden daha çok tercih edilen bir metot olup (Patterson, 1989), yöntemin önemli bir avantajı da yağı numuneden ayırmak gerekmeksizin analizin direkt olarak gıdada yapılabilmesidir. Ancak diğer gıda bileşenlerinden üre, şeker ve okside proteinlerin de absorbansı artırarak girişim yapabilmeleri söz konusudur (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

Ayrıca TBA analizleri, buhar destilasyonu ile elde edilen uçucu maddenin bir bölümünde de yapılabilir. Direkt olarak balık ürününde analiz ve destilatta analiz arasında yüksek korelasyon bulunmuştur. Bununla birlikte direkt destilasyonda yapılan analizde elde edilen TBA değerleri tüm ürünün iki katı çıktığından son yıllarda daha çok direkt olarak üründe analiz tercih edilmektedir. TBA metodu, analiz edilecek örneğe göre modifiye edilmek zorundadır, ayrıca aynı gıdanın farklı oksidasyon basamakları için tekrar edildiğinde daha anlamlı olur (Kosugi ve diğ., 1991, Kochhar ve Rossell, 1990).

Pişmiş sığır etinin depolanma sürecinde malondialdehit miktarındaki değişimin Gaz-Kütle kromatografisi ile direkt olarak incelendiği bir başka çalışmada, TBA ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS), direkt olarak malondialdehit ölçümü ile paralel sonuçlar verdiği buna karşılık, TBARS yönteminin daha spesifik olması nedeniyle daha doğru olduğu sonucuna varılmıştır (Wong ve diğ., 1995).

TBA metodunun özellikle balık yağları gibi çoklu doymamış yağ asidince zengin yağlara spesifik bir metot olduğunu söylemek mümkündür. Yapılan bir çalışmada 3 veya daha fazla çoklu doymamışlık içeren gıdalarda TBA ile renkli kromojen oluşabildiği anlaşılmıştır. Bu nedenle TBA analizi öncesinde gıdanın yağ asidi profili bilinmelidir.

Öte yandan duyuusal skorların, mısır, ayçiçek yağı, soyafasulyesi yağı örneklerinde, TBA değeri ile yüksek oranda ilişkili olduğu görülmüştür (Gray, 1978).

Bu yöntem pekçok balık yağında ve balık çeşitlerinde (Wada ve Fang, 1992 ve 1993, Fang ve Wada, 1993, Miyazawa ve diğ., 1991), pişirilmiş ve tuzlanmış balık köftesi gibi pişmiş ürün analizlerinde (Ramanathan ve Das, 1993), bitkisel yağlar, ayrıca sığır eti (Wong ve diğ., 1995, Pizzocaro ve diğ., 1994), ve tavuk etinde (Lee ve diğ., 1993 ve 1994) lipid oksidasyonunun belirlenmesi ve ayrıca hayvan yeminde (Miller ve diğ., 1994), canlı hücrelerde lipid peroksidasyonunun ölçülmesi amacıyla (Hattori ve diğ., 1995) kullanılmıştır.

Son yıllarda tiyobarbutirik asit-malonaldehit kompleksinin YBSK'da analizine ilişkin çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Angelo, 1996, Robards ve diğ., 1988).

Ağırlık Artışı Metodu:

Bu yöntemin prensibi öncelikle otoksidasyonda oksijen alımının kantitatif ve izlenebilir olduğu bilgisine dayanmaktadır. Bu yöntemde, petri kabı içerisine 2 gr örnek tartılarak mevcut nemi gidermek için bir gece boyunca desikant varlığında, 35⁰C'da tutulur ve belirli aralıklarla örnek etüvden çıkarılıp, soğutulduktan sonra tartılır. Balık yağlarında özellikle indüksiyon süresi sonucunda kesin bir yükselme görülür. %0.3-0.5'e (30-60⁰C) kadar olan ağırlık artışı acılaşıma başlangıcını gösterir. "Ağırlık Artışı" Metodu manuel bir yöntem olması nedeniyle maliyeti çok düşüktür, fakat çok fazla el emeği gerektirir. Oksijen ile temas eden yağ yüzeyi miktarı, kabın

şekli, sıcaklık gibi çalışma koşullarına göre sonuçlar değişebilmektedir. Ayrıca tartım öncesi soğutma gerektirdiğinden, ısıtma işlemi kesintiye uğrayabilir ve katı yağlar gibi stabil ürünlerde deney uzun süre alır. Daha çok balık yağı, kolza yağı gibi çoklu doymamışlık içeren yağlarda kullanılmaktadır. (Shahidi ve Wanasundara, 1997, Kashima ve diğ., 1991).

Floresan Ürünlerin Analizi:

Floresan özellik göstermeyen malonaldehit gibi bazı karbonil bileşenleri serbest amino bileşenleri ile reaksiyona girerek floresan özellik gösteren maddeler oluştururlar. Bu metot ile floresan madde miktarları ppb düzeyinde tespit edilebilir ve bu yöntemin TBA metodundan 10-100 kat daha duyarlı bir metot olduğu bilinmektedir (Shahidi ve Wanasundara, 1997).

Fakat yalnızca direkt olarak floresan oluşturan ürünlerin miktarlarının ölçülmesi analizin otooksidasyonun, ölçülmesinde kullanılması için yeterli olmamaktadır.

Öncelikle hidroperoksitlerden hangi floresan özellik gösterebilen maddelerin oluştuğunun tespit edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla da y ağda çözünen floresan maddelerin preperatif ince tabaka kromatografisinde ayrılarak, daha sonra Infra-red veya G-KK cihazında yapısal analizinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir (Gray, 1978).

Diğer Yöntemler :

Lipit oksidasyonunun gözlenmesinde çok ender kullanılan bir diğer yöntem de yağ asitleri kompozisyonundaki değişimin Gaz Kromatografisi ile analiz edilmesidir. Bu yöntem, yalnızca balık yağları gibi çoklu doymamışlık içeren yağların, 30-60⁰C gibi düşük sıcaklıklarda, kısa sürede depolanmasında (6 gün gibi) uygulanmıştır (Wada ve Fang, 1992 VE 1994).

Son yıllarda hidroperoksit miktarındaki değişimin YBSK ile ve kemilüminesans dedektör yardımıyla, incelendiği literatür çalışmaları da mevcuttur (Christensen ve Holmer, 1996, Gordon ve Kourimska, 1995).

Yine lipit peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu sırasında açığa çıkan, oksidasyonunda açığa çıkan singlet oksijen veya uyarılmış enerji düzeyindeki

bileşiklerin kemilüminesans yaymasından hareketle, balık etinin raf ömrüne ilişkin bir çalışmada kemilüminesans şiddetindeki değişim ölçülmüştür (Miyazawa ve diğ., 1991).

2.2.5. Raf ömrünün tahminlenmesi

Bir gıda maddesinin raf ömrünün tahminlenmesinde sırasıyla şu işlemler yapılmalıdır.

- 1- Çalışılan gıda veya ürün için kaliteyi etkileyen tüm parametreler ve mikrobiyolojik kriterler belirlenir.
- 2- Hammadde, katkı maddeleri ve diğer ingrediyenler de göz önünde bulundurularak kalite kaybında en fazla etken olan kimyasal reaksiyonlar belirlenir.
- 3- Kullanılacak ambalaj materyali seçilir.
- 4- Ürün depolama sıcaklıkları belirlenir. Bunun için en az 2 veya 3 sıcaklık seçilmelidir.
- 5- Belirlenen sıcaklıkta ürünün ne kadar süre tutulması gerektiği deneysel yöntemler veya ilgili literatür bilgileri ile belirlenir.
- 6- Seçilen test sıcaklığı için analiz sıklığı belirlenir.
- 7- Elde edilen veriler grafiksel olarak incelenerek, reaksiyon hız sabiti saptanır ve buna bağlı raf ömrü öngörülür (Singh, 1996, Gökmen ve Öztan, 1995).

Gıdalarda herhangi bir etken baz alındığında genel kalite kaybı hızı 2.4. no'lu denklikte şu şekilde ifade edilebilmektedir:

$$R = dC_A / dt = k \cdot C_A^n = f \{E_i, E_j\} \quad (2.4)$$

R = Reaksiyon Hızı (mol/dk)

C_A = Gıdanın bileşimindeki A maddesinin konsantrasyonu, (mol)

t = Zaman, (dk)

dC_A / dt = Birim zamanda A maddesinin konsantrasyonundaki azalma

k = reaksiyon hız sabiti (sıcaklık ve a_w ye bağlıdır)

n = reaksiyonun derecesini gösteren üs faktördür.

E_i = Çevre Faktörleri,

E_j = Gıda maddesinin bileşenleriyle ilgili faktörler (1,2,3, ...,m)

Reaksiyon hızı reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonları ve sayıları ile doğru orantılıdır (2.5. no'lu denklik).

$$-dC_i / dt = k \cdot C_1^{n_1} C_2^{n_2} \dots (i= 1, \dots, m) \quad (2.5)$$

Gıdalarda herhangi bir kalite karakteristiği için bozulma reaksiyonları genellikle sıfıncı, birinci veya ikinci dereceden olabilmektedir. Reaksiyonun derecesine göre bozulma kinetiği 2.6-2.8 no'lu denkliklerde belirtildiği şekilde ifade olunabilmektedir (Labuza, 1982, Evranuz, 1987).

$$-dC/dt = k_0 \quad (n=0) \quad (2.6)$$

$$-dC/dt = k_1 \cdot C \quad (n=1) \quad (2.7)$$

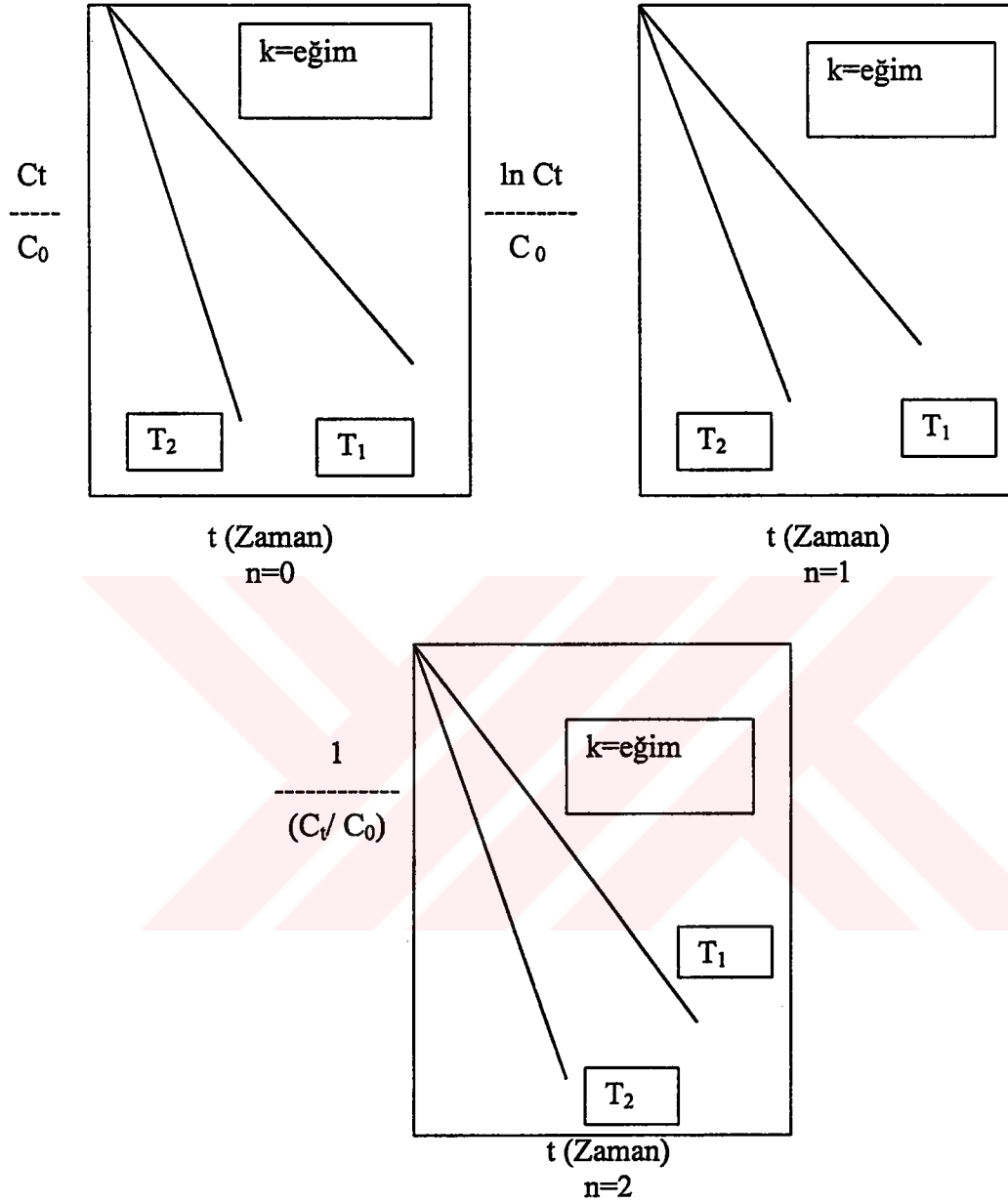
$$-dC/dt = k_2 \cdot C^2 \dots (C_A \cdot C_B) \quad (n=2) \quad (2.8)$$

Gıda maddelerinde genellikle 1. veya 2. dereceden reaksiyonlar gözlenmektedir. Birinci dereceden reaksiyonlar, vitamin kayıpları, mikrobiyal üreme veya mikroorganizmaların inaktive edilmesi, protein kalitesindeki değişimler ile yağlarda acılaşma reaksiyonları gibidir.

Herhangi bir reaksiyonun kaçınıcı dereceden gerçekleştiğinin bulunmasında 2 veya daha fazla sıcaklık için zamana karşı deneysel olarak belirlenen esas alınan bozulma etkeninin konsantrasyonundaki değişim grafiği çizilir (Şekil 2.3). Burada doğrunun eğimi reaksiyon hız sabiti "k" yı verir. 0. dereceden reaksiyonlar için C_t / C_0 , 1. dereceden reaksiyonlar için $\ln C_t / C_0$, 2. dereceden reaksiyonlar için $1/(C_t / C_0)$, y ekseninde yerini alır.

Fındık veya fıstık gibi yağlı tohumlar, yağ içerikleri, dokusal özellikleri, kompozisyonları, özellikle doğal antioksidanları bünyelerinde bulundurmaları gibi nedenlerle ürün işleme, depolama gibi olaylarda acılaşma açısından benzer özellikler

göstermektedirler. Su aktivitesi çok düşük, buna karşın yağ oranı yüksek ürünler olarak fındık ve fıstık gibi yağlı tohumlarda raf ömrünü belirleyen en önemli faktör, oksidasyona bağlı olarak gelişen acılaşma reaksiyonudur.



$T_2 > T_1$

Şekil 2.3. Çeşitli reaksiyon dereceleri için sıcaklığa bağlı olarak konsantrasyonun değişimi (Evranuz, 1986).

Fındık füresi gibi su aktivitesi nispeten düşük, yağ oranı yüksek bir üründe raf ömrünün belirlenmesinde en önemli etken sıcaklıktır. Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisinin belirlenmesinde "Arrhenius Denklemi" kullanılmaktadır. Serbest radikal

mekanizmasına bağı olarak gelişen lipit oksidasyonu aktivasyon enerjisi (E_A) 40-105 kJ/kmol olarak belirtilmektedir (Gümüşkesen ve Düzakar, 1996).

2.2.6. Hızlandırılmış raf ömrü testleri

Sıcaklığın raf ömrüne etkisinin incelenmesinde farklı sıcaklıklarda depolanan örneklerde, herbir sıcaklık için oksidatif stabilite ile ilişkili dayanma süresi belirlenir.

Oksidatif stabilitenin ölçümünde depolama süresince ve sonucunda, belirli aralıklarla bazı analizler yapılabildiği gibi, “Hızlandırılmış Raf Ömrü Testleri” (HRÖT); olarak adlandırılan bazı yöntemler de kullanılabilir. Test edilen maddenin depolama sorunu, analizlerin çok uzun süre alması gibi problemler, birçok maksat için hızlandırılmış raf ömrü testlerinin kullanılmasını zorunlu kılmıştır.

Dayanma süresi, lipit oksidasyonunun bozulmada etken parametre olarak alındığı gıdalarda peroksit değerinin (PD), *p*-Anisidin değerinin, TBA veya KDHP gibi lipit oksidasyon ölçüm yöntemlerinden birisinin sınır olarak belirlenen değere ulaşması ile tespit edilir. Ransimat ve Diferansiyel Termal Kalorimetre gibi cihazlarda ise oksidasyonun ivmelendiği nokta olarak adlandırılan Oksidatif İndüksiyon Süresi (OİS), dayanma süresi olarak tanımlanır. Hızlandırılmış raf ömrü testleri olarak bilinen yöntemler Tablo 2.10.’de özetlenmiştir. (Berger, 1971).

Tablo 2.10. Hızlandırılmış Raf Ömrü Testleri (Wewala, 1997).

Eski Metotlar	Yeni Metotlar
Fırın testi (Schaal Oven test)	(Swift Test)Ransimat
Aktif Oksijen Metodu	Özel Oksidatif stabilite Enstrümanı
FIRA-Astell Cihazı	Oksidograf

Yüksek Sıcaklık Testlerinde gıda maddesi genellikle 35-50⁰C larda depolanmakta, elde edilen sonuçlar da depolama sıcaklıklarına ekstrapole edilebilmektedir. Güvenilirliğin artırılması için 2 veya daha fazla sıcaklıkta depolama yapılarak, 2.9. no’lu denklikte ifade edilen sıcaklık katsayısı (Q_{10} değeri) ve E_A değeri tespit edilir (Labuza ve Schmidl, 1985).

$$Q_{10} = \frac{T^{\circ}\text{C}'\text{deki Raf Ömrü}}{(T + 10)^{\circ}\text{C}'\text{deki Raf Ömrü}} \quad (2.9)$$

Eğer inceleme dar bir sıcaklık aralığında ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) yapılıyorsa, raf ömrünün logaritması ile sıcaklık arasında Şekil 2.4.'de şematize edilen doğrusal bir ilişki olduğu kuramsal olarak kabul edilmiştir (Singh, 1994, Evranuz, 1986; Gökmen ve Öztan, 1995).

Q_{10} değeri sabit olmayıp, sıcaklığa ve aktivasyon enerjisine göre 2.10. no'lu denklikte formüle edildiği şekilde değişmektedir.

$$\log Q_{10} = 2.187 E_A / T (T+10) \quad (2.10)$$

Bu denklemde sıcaklık (T), ($^{\circ}\text{K}$) cinsinden olup, E_A kal/mol'dür.

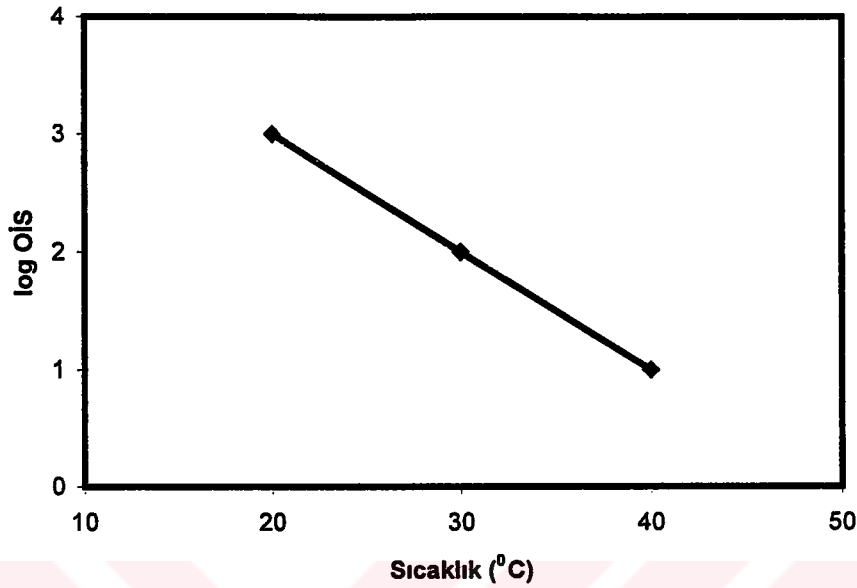
Yağlarda raf ömrünün enstrümental olarak belirlenmesinde, raf ömrü "Oksidatif İndüksiyon Süresi (OİS)" şeklinde tanımlanır. OİS ise yağın raf ömrünün sonlanması anlamına gelir ki bu noktaya neye dayanılarak karar verileceği uygulanan yöntemle göre değişmektedir. PD tayini ile OİS belirlenmesinde OİS, PD değerinin önceden belirlenmiş bir değere eriştiği zamandır. Genelde bu değer yağın cinsine ve duyuşal kabul edilebilirlik düzeyine göre değişmekte olup, domuz iç yağı veya diğer hayvansal yağlarda 20, bitkisel yağlar için 70 veya 100 olabilmektedir (Cort ve diğ., 1975, Banias ve diğ., 1992). Hatta yağlı tohumlar için 120 olarak kullanıldığını gösteren literatür bilgisine de rastlanılmıştır (Patterson, 1989).

Günümüzde gıdaların raf ömürlerinin tespitinde kullanılan hızlandırılmış raf ömrü testlerine ilişkin bilgiler aşağıda verilmektedir.

Fırın Testi:

Fırın Testi, yağ açık petri kapları içerisine konularak, (63 ± 0.5 , 87 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 'da fırında gerçekleştirilir. Bununla birlikte gıdanın çeşidine göre daha farklı sıcaklıklar (30, 40, 50, 60°C , vb.) da uygulanabilmektedir (Wada ve Fang, 1992 ve 1994, Liu ve White, 1993). Oksidasyon koşulları çok kontrollü değildir. Vakit alıcı ve el emeği gerektiren bir yöntemdir. Fırındaki rutubet ve temizlik önem taşır (aldehitler, ketonlar ve diğer uçucu bileşenler prooksidatif etki yaparlar). Bu yöntemde raf ömrü sonlanması PD

taini, KDHP, *p*-Anisidin, TBA, yağ asitlerinin GSK'de analizi gibi analitik ve kromatografik pekçok yöntemin bir veya birkaçının bir arada kullanımı ile veya duyuusal testlerle belirlenir.



$$Q_{10} = e^{10a}$$

$$\text{Eğim (a)} : \ln Q_{10} / 10$$

- a** : log OİS-Sıcaklık doğrusunun eğimi
Q₁₀ : T°C'daki raf ömrü / (T+10°C) daki raf ömrü

Şekil 2.4. Dar sıcaklık aralığında ($\pm 20^\circ\text{C}$) yapılan hızlandırılmış raf ömrü testleri için, raf ömrünün logaritması ile sıcaklık arasındaki doğrusal ilişki ve buna bağlı olarak, Q_{10} değerinin belirlenmesine ilişkin denklem.

Aktif Oksijen Metodu:

Aktif Oksijen Metodunda yağ örneği içine kontrollü hava verebilen, özel bir tüp içerisine koyularak, yağ banyosu içerisine yerleştirilir. Dikkatli bir şekilde kontrol edilen kuru, filtre edilmiş hava 100 veya 97°C da sabit tutulan numune içerisine gönderilir. Bu yöntemde havanın düzenli olarak örnek içinde dağılımı için sabit ve sürekli karıştırma gerekmektedir. Analitik yöntemlerle son nokta belirlenir (Sherwin, 1968).

Ransimat:

Tümüyle otomatik bir sistem olup 100-140⁰C sıcaklık aralığında çalışlabilmektedir. Son nokta belirlenmesi ikincil ürünler olan organik uçucu asitlerin destile suyun iletkenliğini değiştirmesi ile (elektriksel olarak) yapılır. Hızlı bir metot olup, tekrarlanabilirliği yüksektir. Aynı anda 6 numune ile çalışlabilmek mümkün olmaktadır (Woestenburg ve Zaalberg, 1986).

Oksidatif Stabilité Enstrümanı:

Oksidatif Stabilité İndeksi (OSİ) cihazı ise daha yeni bir sistem olup, Ransimat' tan farklı olarak 24 örnek ile çalışlabilmektedir (Akoh, 1994, Wewala, 1997). AOCS standartında da (Cd 12b-19) OSI ile çalışılan sıcaklık belirtilmek koşuluyla istenilen sıcaklıkta çalışma yapmanın mümkün olduğu belirtilmiştir (Anon, 1992c).

Termal Analiz Yöntemleri :

Termal analiz, Uluslararası Termal Analiz Konfederasyonunun İsimlendirme komitesi (Nomenclature Committee of the International Confederation for Thermal Analysis –ICTA) tarafından “Kontrollü olarak bir sıcaklık programına tabi tutulmuş olan herhangi bir maddenin fiziksel özelliklerindeki değişimi sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçen teknikler bütünü” olarak tanımlanmaktadır.

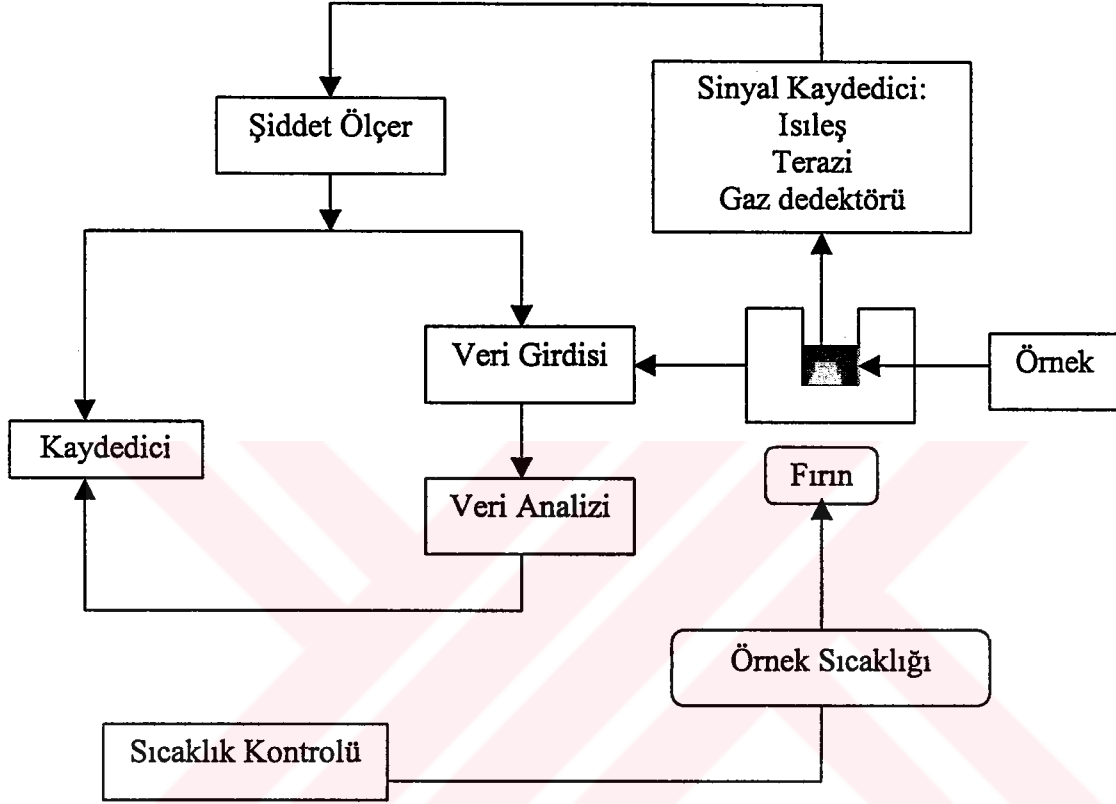
Diferansiyel Termal Kalorimetre termal analiz metotları içerisinde en fazla kullanılan metot olup, ICTA tarafından örnek ile referans aynı kontrollü sıcaklık uygulamasına tabi tutulduğunda, referans ile örnek arasındaki enerji giriş farklarını sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ifade eden yöntem olarak tanımlanmaktadır.

Diferansiyel Termal Analiz cihazında, Diferansiyel Termal Kalorimetreden farklı olarak referans ve örnek arasındaki sıcaklık farkı ölçülerek deneysel olarak saptanmış kalibrasyon faktörü ile çarpılarak ısı akışına dönüştürülür. Termal Analiz cihazının şematik gösterimi Şekil 2.5’da verilmiştir (Harwalkar ve Maurice, 1990).

Gıdaların işlenmesi sırasında uygulanan çeşitli ısı işlemler (pastörizasyon, sterilizasyon, ısıtma, soğutma, dondurma gibi), gıdaların fizikokimyasal, reolojik, fonksiyonel veya şekilsel özelliklerini değiştirdiğinden, termal analiz yöntemleri ile

bu değişimlerin gözlenmesi mümkün olabilmektedir (Diferansiyel Termal Kalorimetre/DTA).

Termal analiz teknikleri özellikle hızlı sonuç vermeleri, kullanılan örnek miktarının çok az olması, örnek hazırlama kolaylığı, çok farklı ürünlerde çeşitli analizler yapılmasına olanak vermesi gibi nedenlerle gıda sanayiinde tercih edilmektedir.



Şekil 2.5. Termal Analiz cihazının şematik gösterimi (Harwalkar ve Maurice, 1990).

Diferansiyel Termal Kalorimetre ile gıda bileşenleri bazında proteinler, karbonhidratlar ve yağların analizi mümkün olup, gıdaların fiziksel özelliğine bağlı olarak pekçok sanayi dalında değişik fonksiyonlarda kullanılabilmektedir. Literatürde DTK cihazı kullanılarak yağlarda gerçekleştirilmiş pekçok çalışma mevcuttur. Bunlar, kakao yağında, balık ve fıstık yağlarında yağ bileşen karakterizasyonunun belirlenmesi, çeşitli katı yağlarda sertlik noktası tayini, kakao yağında kristalizasyon, temperleme, erime noktası tayini gibidir. Bitkisel yağlarda raf ömrü belirlenmesi için Oksidatif İndüksiyon Süresi'nin saptanması amacıyla çok az çalışma mevcuttur, bu yayınlar da ulaşılabilir uluslararası dergilerde mevcut değildir. DTK cihazı çoğunlukla yağlarda katı yağ miktarının belirlenmesinde belirlenmesinde

kullanılmıştır (Chaiseri ve Dimick, 1989, Kimoto ve diğ., 1994, Merken ve diğ., 1982, Dyszel ve Petit, 1990). Bununla birlikte pekçok kitap ve yayında lipit oksidasyonunun DTK cihazı ile çalışılabilirliğine ilişkin bilgi mevcuttur (Harwalkar ve Maurice, 1990).

Ayrıca Diferansiyel Termal Analiz cihazında sıcaklığı 1600 °C'a kadar yükseltmek mümkün iken, Diferansiyel Termal Kalorimetre ile en fazla 700 °C'larda çalışmak mümkündür (Dodd ve Tonge, 1987).

Diferansiyel Termal Kalorimetre cihazı, fırın testi veya diğer klasik hızlandırılmış test yöntemlerine bir alternatif olarak gıdalarda yağların oksidatif stabilitesinin ölçülmesinde kullanılabilir. Diferansiyel Termal Kalorimetre 5 mg dan az örnek kullanımını gerektirmekte olup, analiz süresi birkaç saat veya daha az sürebilmektedir. Lipit oksidasyonu eksotermik (ısı veren) bir reaksiyon olduğundan gıdanın spesifik bir sıcaklıkta sabit tutularak, bozulma veya parçalanma eksotermi oluşuncaya kadar geçen süre tespit edilebilmektedir. Herhangi bir materyal için makul, pratik olarak uygulanabilir bir sürede tekrarlanabilir sonuçların alınabildiği spesifik bir sıcaklık seçilmelidir. Hem sıcaklık hem de gaz konsantrasyonu oksidasyonu etkilediğinden, gaz basıncını artırarak konsantrasyonu arttırmak, daha düşük sıcaklık uygulaması ile daha kısa sürede yine tekrarlanabilir sonuçlar alınmasına neden olmaktadır. Lubrikant olarak kullanılan yağların Diferansiyel Termal Kalorimetre cihazı ile oksidatif stabilitesinin saptanmasında 167°C (500 psia) ve 3.4 Mpa basınçta indüksiyon süresi 49 dk. olarak bulunmuştur (Anon, 1998a).

Onset hesaplanması zamana karşı ısı değişimi grafiğinde, endotermik veya eksotermik reaksiyondaki farkedilir derecede değişim-ivmelenmenin başladığı gerçek noktanın tespit edilmesidir. Oksidatif İndüksiyon süresi (OİS) ise sabit sıcaklıkta oksijenin gıdaya verilmeye başladığı ilk an olan oksidasyon başlangıcından onset noktasının oluşumuna kadar geçen süre olarak tanımlanır (Anon, 1998b).

Diğer Hızlandırılmış Raf Ömrü Yöntemleri:

“İnce Film Oksidasyonu” olarak tanımlanan bir başka hızlandırılmış raf ömrü testi Gordon ve diğ. (1994) tarafından kolza yağının raf ömrünün tespitinde kullanılmıştır. Bu yöntemde 5 cm çaplı, 1 cm derinlikteki krozeler içerisine tartılan 2.5 mg. kadar yağ örneği, 80-100°C'lık yağ banyosu içerisinde tutulmuş, 200-280 nm dalga

boyunda UV ışık veren lamba altında bekletilerek, lipit oksidasyonu gözlenmiştir (Cort, 1974, Cort ve diğ., 1975). Ayrıca β -karotenin renginin okside olarak solmasına dayanan kalitatif bir test yöntemi ile de antioksidatif aktiviteyi ölçmek mümkün olabilmektedir (Pratt ve Miller, 1984).

Hızlandırılmış Raf Ömrü Testlerinin Birbirleriyle olan Korelasyonları:

Fıstık, ayçiçek, zeytin, domuz iç yağı, margarin ve tereyağı ile yapılan bir mukayeseli bir çalışmada, AOM ile Ransimat metotlarının 100, 110 ve 120°C sıcaklıkları için oksidatif stabilite sonuçlarının birbirleriyle yüksek oranda korelasyon gösterdikleri bulunmuştur. Üç farklı sıcaklık içinde en düşük korelasyon 120°C'da görülmüştür (Laubli ve Bruttel, 1986). Fakat AOM ile elde edilen OİS değerleri Ransimat ile elde edilen değerlerden her zaman biraz daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan, 120°C da fıstık yağının Ransimat'ta ölçülen OİS değeri 5 saat olarak bulunmuş olup, bu değer, ayçiçek yağı, soya ve mısırözü yağlarından daha yüksek bulunmuştur (Frank ve diğ., 1982).

Yenilebilir bitkisel yağların antioksidanlı veya antioksidansız olarak 20°C da depolanması sonucunda OİS değerlerinin Ransimat ve PD tayini ile belirlendiği bir çalışmada, Ransimat ve PD metotlarının birbirleriyle yüksek oranda korelasyon ($p=0.00$ için $r=0.966$) gösterdikleri bulunmuştur (Gordon ve Mursi, 1994).

Dört farklı hızlandırılmış raf ömrü testlerinin (Schaal Fırın testi, Aktif Oksijen Metodu, Ransimat, Oksijen Bombası) domuz iç yağında birbirleriyle karşılaştırıldığı bir çalışmada ise Ransimat metodu hayvansal yağlarda en az güvenilir yöntem olarak bulunmuştur (Liang ve Schwarzer, 1998).

Çok çeşitli antioksidanlar ilave edilmiş sığır karaciğeri yağında Kemilüminesans ile Ransimat yöntemi arasındaki korelasyon ($r=0.339$) çok düşük bulunmuştur (Burkow ve diğ., 1995).

2.2.7. Fındık füresi ve benzeri ürünlerde raf ömrü çalışmalarından örnekler

Günümüze değin fındık füresi veya fındığın raf ömrüne, oksidatif acılaşmasına ilişkin pek az bilimsel çalışma mevcuttur. Buna karşın, fıstıkla yapılmış raf ömrü çalışmaları daha fazladır.

Yağ içeriği yüksek bir meyve olan fındıkta acı tat oluşumunda etken olan ilk faktörler kötü hasat ve depolama koşullarıdır. Fındığın hasadı sırasında mekanik zararlanma veya ürünün toprakla teması mikrobiyolojik yükün artmasına, dolayısıyla da, lipoksigenaz ve peroksidaz enzimleri gibi acı tada neden olan enzimlerin faaliyetinin artmasına neden olur. Ayrıca depolamada fındığın açıkta bekletilmesi oksijenle teması arttıracığından özellikle lipit oksidasyonunun hızlanmasına neden olur, nemli ortamda depolama ise lipaz enzimini aktif hale getirir ve hidrolitik acılaşmaya neden olur. Fındığın fûreye işlenmesi sırasında ise yüksek sıcaklık, öğütme çapı acı tada etkir (Hadorn ve diğ., 1977).

Bir çalışmada %85 oleik asit içeren fındık çeşidinin Ransimat ile 110°C'da belirlenen indüksiyon süresi 20 saat (Bertoli ve diğ., 1998), Yeni Zellanda'da yetişen fındık çeşitleri içinse 15.6-25.3 arasında bulunmuştur (Bonvehi, 1993). Bu değer İspanya'da yetişen fındık çeşitleri için 120°C'da ise 7.95-8.2 saat arasındadır (Savage ve diğ., 1997).

Lipoksigenaz enzimleri linoleik veya linolenik asit gibi yağ asitlerinin cis, cis-1-4 pentadien yapılarında hidroperoksidasyona ve konjugasyona neden olurlar ve oluşan kötü koku ve tatdan sorumlu olan heksanal oluştururlar. Ayrıca fındığın cinsine bağlı olarak değişen tokoferol miktarı, çoklu doymamış yağ asidi içeriği ve lipoksigenaz enziminin aktivitesi raf ömründen sorumludur. Bununla birlikte mineral ve protein miktarı ile raf ömrü arasında bir ilişki bulunamamıştır (Pershern ve diğ., 1995).

Fındık raf ömrüyle ilgili olarak, Pershern ve arkadaşları, lipit oksidasyonunu belirleyen etkenler olarak 25, 35, 55°C'larda ve 0.2, 0.6 su aktivitesinde, kabuklu fıstıkların ağzı kapalı kaplarda +4°C'da depoladıkları fındık numunelerinde çoklu doymamış yağ asitleri, α -tokoferol ve lipoksigenaz aktivite düzeylerini, protein ve mineral miktarlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda fındıkların stabilitesinin içerdikleri α -tokoferol miktarı ile doğru, çoklu doymamış yağ asitleri ile ters orantılı olduğu bulunmuş, protein ve mineral içerikleri ile stabilite arasında bir ilişki gözlenmemiştir (Pershern ve diğ., 1995).

Kavrulmuş fıstıklar üzerine depolamanın etkisinin incelendiği ikinci çalışmada fırınlanmış ürün 12 hafta boyunca ağzı açık kaplarda 37°C da bekletilmiş ve depolama boyunca lipit oksidasyonundaki değişim duyusal olarak (6 lezzet

tanımlayıcı duyuşal karakteristik), Gaz-Lipit kromatografisinde uçucu bileşen analizi ile takip edilmiştir. Fıstık olgunlaştıkça, oleik asitin miktarı artmakta, linoleik asit miktarı ise azalmaktadır. Olgun fıstıklarda fırında kavrulma sonrası stabilitenin arttığı görülmüştür. Depolama boyunca karbonil bileşenlerinde artış olmuştur (heksanal, heptanal, vb.) (Bett ve Bolyston, 1992).

Florida Üniversitesinde yeni geliştirilen ve oleik asitçe zengin bir yerfıstığı çeşidi (%80 oleik asit), 25 ve 40°C'larda depolanarak fıstıkların uçucu bileşenleri ve peroksit değerlerindeki (PD) değişim gözlemlendiğinde, oleik asitçe zengin fıstıklarda heksanal içeriğinin ve PD'nin normal fıstıklara göre (%55 oleik asit) daha düşük olduğu gözlenmiştir. Altı haftalık depolama sonucunda karakteristik fıstık tadının oleik asitçe zengin fıstıklarda daha stabil olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte mukavvamsı ve boya tadı gibi karakteristik acılaşıma lezzet kriterlerinin oleik asitçe zengin gıdalarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Oleik asitçe zengin fıstıklarda AOM ile belirlenen indüksiyon süresi normal fıstıklardan 9.5 kat fazla bulunmuştur (Braddock ve diğ., 1995).

Haşlanmadan tuzlanarak kavrulmuş Türk tipi yerfıstıklarının raf ömrü üzerine sıcaklık (15, 25, 35°C,) ve nemin (%1.4, 2.2, 2.86, 3.9) etkisinin 70 gün boyunca gözlemlendiği bir çalışmada, Q₁₀ değeri 1.60 olarak bulunmuştur. Bu değer Labuza tarafından belirtilen sınır değerler (genelde 1.5-2) içerisindeydir. Burada raf ömründe etken olan lipit oksidasyonu PD ile ölçülmüş ve 15 °C, da peroksit değeri giderek yükselmiş ve 70 gün sonunda 45 'e çıkmıştır, 35°C 'da ise yaklaşık 50. günde PD 75 e ulaşmış, 25°C, da ise 20. gün civarında maksimum PD'ye (40) ulaşmıştır. Raf ömrü ise PD, 25 mekiv/kg ulaştığı gün sayısı olarak ele alındığında sırasıyla 15°C den başlayarak 28 gün, 10 gün (25°C) ve 11 gün (35°C) olarak bulunmuştur. Ayrıca BET sınırdeğeri yakınında veya üzerinde (%2.1) peroksit değeri azalmış, daha sonra depolama neminin artmasıyla oksidasyon tekrar hızlanmıştır (Evranuz, 1993).

Çiğ ve kavrulmuş Pekan cinsi yerfıstıklarının sıcaklık sabit kalmak şartıyla (24°C), %55 ve %65 bağıl nemde depolandığı bir diğér çalışmada, oksidatif stabilite kimyasal, fiziksel ve duyuşal açıdan incelenmiş ve farklı bağıl nemde depolanmanın ransit tat skorları açısından çiğ ve kavrulmuş fındık arasında bir farklılık yaratmadığı görülmüştür. Bununla birlikte ransit tat skorları, PD ve TBA değerleri ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir (Ericson ve diğ., 1994).

Farklı sıcaklıklarda (30, 40, 50°C) depolanan fıstık ezmesinin fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerindeki farklılaşmanın 1 yıl boyunca gözlemlendiğı bir çalışmada 30°C'da 161 gün boyunca depolanan örneklerde bozulmanın minimum olduğı gözlemlenmiştir. 50°C'da depolamada ise en önemli bozulma kriterleri olarak renkte kararırma, oksit ve mukavvamsı tat ile yağ ayrılması belirgin olarak gözlemlenmiştir. Fıstık füresinin raf ömrü 30°C'da 152 gün olarak bulunmuştur (Muego-Gnanasekharan ve Resurreccion, 1992). Yine fıstık füresinin depolanmasında önemli bir sorun teşkil eden yağ ayrılması probleminin önlenmesi amacıyla, palm yağının ilave edilerek 15, 25, 35°C 'larda depolandığı bir çalışmada da palm yağı ilavesinin yağ ayrılmasını önleyebildiğı sonucuna varılmıştır (Hinds ve diğ., 1994).

Fıstık füresinin üretim prosesi sırasında uygulanan haşlama işleminin sıcaklığının ve tekrar sayısının fıstık ezmesinin lipoksigenaz enzimi, dokusal özellikleri, heksanal miktarı ve duyuşal karakteristikleri üzerine etkisinin incelendiğı bir başka çalışmada, 60, 75 ve 90°C'da haşlamanın lipoksigenaz aktivitesinde %50, 95 ve 100 oranlarında azalmaya neden olduğı. İşlem koşullarının fürede renkteki parlaklığı, sertliği, iç ve dış yapışkanlığı, oluşan heksanal miktarını, çiğ fıstık lezzetini ve yayılabilirliği olumlu şekilde önlediğı görülmüştür. 90°C'da 10 dk. haşlamanın sürülebilirliği yüksek, daha az miktarda heksanal içeren ve çiğ fıstık tadının hissedilmediğı bir ürün oluşumuna neden olduğı görülmüştür (Muego-Gnanasekharan ve Resurreccion, 1993).

Fıstık füresinde ve tane fıstıklarda yapılan bir diğér çalışmada, taze ürünlerde KDHP (234 nm) değérleri 3.2. ile 15.5 arasında bulunmuştur. Bu sonuçların PD ile doğru orantılı olarak ilişkili olduğı görülmüştür. Ayrıca fıstıkların bir bölümü çiğ olarak ayrıldıktan sonra, diğérleri iki farklı yöntemle haşlanmış (86°C, 90, sn-suda haşlama ve 71°C'da, %8-5 nemde kurutulduktan sonra kabuk ayrılması için suda haşlama), daha sonra ise direkt olarak ve kavrularak 24 hafta, 25°C'da kapaklı cam kavanozlarda depolanmıştır. KDHP değérleri çiğ fıstıklar için 1.4'ten 5.8'e, kavrularak haşlanmış fıstıklar (spin blanched); 2.8. den 8.2 ye, çiğ olarak suda haşlanmışların ise 2'den 15'e yükselmiştir. Daha sonra kavrulma işlemine tabi tutulanlarda aynı sırayla 1.6 dan 19.6 ya, 3.3 den 16.7 ye, 3.4 ten, 12.8'e artmıştır. Fırınlama ve suda haşlamanın raf ömrünü uzatmada diğérlerine göre daha etkili olduğı bulunmuştur (Angelo ve diğ, 1977 ve 1979).

2.3. Gıda Sanayiinde Kullanılan Antioksidanlar, Tanımları, Çeşitleri ve Kullanım Amaçları

Lipit oksidasyonunun önleme metotları vakum paketlenme, sıcaklığı düşürmek, ışıktan koruma, ısıtma ile enzim inaktivasyonu ve antioksidan ilavesidir. Bunlardan antioksidan ilavesi pekçok gıdada kullanımı yaygın ve çok yararlı olan bir yöntemdir.

Antioksidanlar gıdalarda lipit oksidasyonunu önleyen veya geciktiren yapıda bileşiklerdir. Bunlar, serbest-radikal yakalayıcısı, oksijen tutucu ve şelat ajanı olarak görev yaparlar (Angelo, 1996). Gıdalarda lipit oksidasyonunun tümüyle önlenmesi mümkün olmamakla birlikte raf ömrünü uzatırlar ve besin maddelerinden oksidasyona duyarlı olanları da koruduklarından gıda kalitesi de bir anlamda yükselmiş olmaktadır. İdeal bir antioksidanın sahip olması gereken özellikler şunlardır:

- 1- Kullanımında sağlık açısından bir sakınca olmamalıdır.
- 2- Gıdanın tat, koku veya lezzetini değiştirmemelidir.
- 3- Düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olmalıdır.
- 4- Gıdaya kolaylıkla karıştırılabilmelidir.
- 5- Fırınlama veya pişirme işlemleri sonrasında dahi aktivitesini sürdürebilmelidir.
- 6- Fiyatı ucuz olmalıdır.

Antioksidanların yağlarda lezzet ve kaliteyi geliştirdikleri, ilerlemiş düzeydeki oksidatif acılaşmayı veya herhangi bir nedenle oluşmuş tat bozukluklarını giderebildikleri, mikrobiyal bozulmayı, ketonik ve hidrolitik acılaşmayı önlediği gibi yanılırlara düşmemek gerekmektedir.

Ayrıca antioksidanın etkisini tam olarak gösterebilmesi için mümkün olduğunca acılaşmanın ilk kademesinde hatta acılaşma başlamadan önce ilave edilmeleri gereklidir.

Doğal kaynaklı veya sentetik olarak üretilmiş antioksidanlar kimyasal yapılarına göre primer ve sekonder antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Primer antioksidanlar serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif etki sağlarlar. Bunlardan sentetik olanlarına BHA, BHT, TBHK, PG örnek olarak verilebilir. Doğal antioksidanlardan ise tokoferoller, baharat ekstraktları (karnosik asit), flavanoidler “Radikal yakalayıcısı” olarak primer antioksidatif aktiviteyi sağlarlar. Askorbatlar ise oksijen yakalayıcısıdır (Schuler, 1990).

Tek başlarına gıdaya veya ürüne ilave edildiklerinde antioksidatif etki göstermeyen, bununla birlikte gıdada mevcut antioksidanın yanısıra ilave edildiklerinde, bu antioksidanın tek başına yaptığı etkiyi arttıran maddelere ise “Sekuesteran-İz” maddeler (Asit-şelatları) denilmektedir.

Sekuesteranlar (Asit-şelatları) ise “Sekonder antioksidanlar” olarak bilinirler. Asit-şelatları metalleri veya pro-oksidatif etki gösteren metalloproteinleri yakalayarak, birincil antioksidanların fonksiyonlarını yerine getirmelerine ve serbest radikalleri yakalamalarına olanak sağlarlar. Bunlardan gıdada kullanımına izin verilen antioksidanlara örnek olarak askorbik, sitrik, tartarik, malik ve süksinik asitler ve sodyum trifosfat ve pirofosfat verilebilir. Asit şelatı olarak fitik asitin de (inositol heksafosfat) lipit oksidasyonunu önlediği bilinmektedir. Lesitin ile amino asitlerin de gıda içerisinde aynı görevi yaptıkları bilinmektedir (Schuler, 1990).

İki veya daha fazla antioksidanın birlikte gösterdikleri etkinin tek başlarına gösterdikleri etkiden daha fazlasını göstermeleri durumunda bu antioksidanların birbirleriyle sinerjistik etki yaptıklarından söz edilebilmektedir. Genelde iki antioksidanın birlikte kullanımında, kuvvetli olan antioksidanın daha önce tüketildiği belirtilmektedir (Schuler, 1990).

Asit-sinerjizm sözcüğü BHA/BHT kombinasyonunun ifade ettiği sinerjistik etkiden farklıdır. Asit şelatları fenolik yapıdaki antioksidanlarla birlikte kullanıldıklarında negatif sinerjizm gösterirler (Angelo, 1996).

Antioksidanların yağlara veya gıdaya katılımında OİS’nde yaptıkları değişim çeşitli şekillerde ifade ediliyor olup, “Koruma Faktörü” (Schuler, 1990), “Antioksidatif Aktivite”, “Antioksidatif Verimlilik Yüzdesi” (Adegoke ve Gopala Krishma, 1998),

“Peroksitteki Artış Oranı” (Gür ve Ova, 1997) gibi farklı tanımlamalar mevcuttur. Bu tanımlara ait denkliklerden Koruma Faktörü (KF), ve Antioksidatif Verimlilik Yüzdesi aşağıda 2.11 ve 2.12 no’lu denkliklerde verilmektedir (Adegoke ve Gopala Krishma, 1998).

$$\text{Koruma Faktörü} = \frac{\text{Antioksidanl\u0131 ya\u011f\u0131n O\u0130S'si}}{\text{Kontrol\u00fcn O\u0130S'si}} \quad (2.11)$$

veya

$$\text{Antioksidatif Verimlilik Y\u00fcdesi (\%AV)} = \frac{\text{PD(Konrol)} - \text{PD(Test)}}{\text{PD(Kontrol)}} \quad (2.12)$$

Sentetik ve do\u011fal antioksidanların birlikte kullanıldıklarında yaptıkları etkinin, tek başına kullanımlarında yaptıkları etkiler toplamından daha fazla olup olmadıkları, dolayısıyla ind\u00fcksiyon s\u00fcsesini ve koruma fakt\u00fcr\u00fcn\u00fc arttırmada ne derece etkin oldukları %Sinerjizm de\u011feri olarak ifade edilmiştir. %Sinerjizm de\u011ferinin tanımı 2.13. no’lu denklikte, sinerjistik etkinin belirlenmesinde kullanılan di\u011fer tanımlamalar ile birlikte verilmiştir (Banias ve di\u011f., 1992).

Ayrıca sinerjizmin Koruma Fakt\u00fcr\u00fc a\u00e7ısından sıfırdan b\u00fcy\u00fck veya k\u00fc\u00e7\u00fck şeklinde tanımlanması da m\u00fcmk\u00fcnd\u00fcr (Economou ve di\u011f., 1991).

$$\text{\%Sinerjizm} : 100 * \frac{[(\text{IS}_K / \text{IS}_K) - ((\text{IS}_a / \text{IS}_K) + (\text{IS}_b / \text{IS}_K))]}{(\text{IS}_K / \text{IS}_K)} \quad (2.13)$$

OIS_K : Karışımın İndüksiyon s\u00fcsesi

OIS_k : Kontrole ait İndüksiyon s\u00fcsesi

OIS_a : BAE e ait İndüksiyon s\u00fcsesi

OIS_b : Sentetik antioksidanın İndüksiyon s\u00fcsesi

2.3.1. Sentetik antioksidanlar, \u00e7eşitleri ve \u00f6zellikleri

Ya\u011fl\u0131 \u00fcr\u00fcnlerde ve ya\u011flarda en fazla kullanılan sentetik antioksidanlar BHA (B\u00fctillenmiş Hidroksi Anisol), BHT (B\u00fctillenmiş Hidroksi Toluen), TBHK (Tersiyer B\u00fctillenmiş Hidrokinon), AP (Askorbil Palmitat), PG (Propil Gallat) gibidir. Bunlar lipit oksidasyonunu \u00f6nlemede \u00e7ok etkili olup, primer antioksidanlar olarak

adlandırılırlar ve serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif etki sağlarlar (Amr, 1991). Bazı sentetik ve doğal antioksidanların kodları (EC) ve kullanım sınırları Tablo 2.11.'da verilmiştir.

BHA:

BHA monohidrik fenolik antioksidan olup, kimyasal olarak 3-tertiyer-bütıl-4-hidroksianisol (%90) ve 2-tertiyer-bütıl-4-hidroksianisol (%10) izomerlerinin karışımıdır. Hayvansal yağlar ve bitkisel yağlarda çözünürlüğü oldukça yüksek bir antioksidan olup, ısıl stabilitesi yüksek olduğundan fırınlama veya pişirme gibi pekçok ısıl işlem gerektiren gıda proseslerinde kullanımı uygundur. Bununla birlikte BHA, kızartma işlemlerinde söz konusu olan yüksek sıcaklıklarda (180°C) uçuculuk özelliğine sahiptir. BHA'nın bitkisel yağlarda gösterdikleri antioksidatif etki, yağların içeriklerindeki doğal tokoferol nedeniyle, çok etkili değildir. Bir diğer deyişle BHA'nın özellikle tokoferol içeren yağlarda yeterince etkili olamadığı belirtilmiştir (Gordon ve Kourimska, 1995). Bununla birlikte, BHA, BHT ve gallat esterleri ile sinerjistik etki göstermektedir (Coppen, 1989).

BHT:

BHA'ya benzer olarak BHT'de monohidrik fenolik yapıda bir antioksidan olup, kimyasal olarak 3,5-ditertiaryer-bütıl-4-hidroksitoluen ve 2,6-ditertiaryer-bütıl-4-metilfenol izomerlerinin karışımıdır. Sıvı ve katı yağlarda en az BHA kadar çözünür olup, BHT ve sitrik asit içeren formülasyonların üretiminde kullanılan propilen glikolde çözünmeyerek, antioksidan formülasyonunun hazırlanmasında probleme neden olabilmektedir. BHT'nin en önemli özelliklerinden birisi de yüksek sıcaklıklardaki uçuculuğunun BHA'dan daha az olması ve bitkisel yağlarda hayvansal yağlara göre daha fazla antioksidatif etki göstermesidir. Yine de kızartma sıcaklığı gibi yüksek sıcaklıklarda BHT'nin uçuculuğundan ötürü stabilitesini yitirebildiği belirtilmiştir (Gordon ve Kourimska, 1995).

BHA ve BHT (1:1) karışımlarının birlikte kullanımı yaygın olmakla birlikte BHT'nin yüksek ısıdaki uçuculuk özelliğinden ötürü, katılım oranının bozulmasına neden olmaktadır. Bu durumda BHT'nin BHA'dan 5 kat fazla kullanımı söz konusu olabilmektedir (Coppen, 1989).

Tablo 2.11. Bazı sentetik ve doğal antioksidanların kodları (EC) ve kullanım sınırları (Türk Gıda Kodeksi, 1997).

Antioksidanlar Yasal Kod Numaraları	Kullanım Alanları	Maksimum Doz (ppm)
E 310 Propil Gallat	Isıl işlem görmüş gıdaların endüstriyel üretiminde kullanılan katı ve sıvı yağlar	200 (Gallatlar ve BHA, tek tek veya birlikte (yağ üzerinden)
E311 Oktil Gallat	Katı ve sıvı kızartma yağları	100 (BHT) (Yağ üzerinden)
E320 BHA	Domuz yağı, balık yağı, sığır, kümes hayvanları ve koyun yağı	100 (BHT) (Yağ üzerinden)
E321 BHT	Margarin	100 (Yağ üzerinden)
E 307	Rafine zeytinyağı	200
α - tokoferol	Tüm gıda maddeleri (Kakao ve çikolata ürünleri, meyve suyu ve nektarlar, reçel, jöle ve marmelatlar, koyulaştırılmış süt ve sütozu, ön işlem uygulanmadan dondurulmuş meyve ve sebzeler, meyve kompostosu, ön işlem uygulanmadan dondurulmuş deniz ürünleri, olgunlaştırılmış peynir (mozzarella ve lor), meyve ve sebze konserveleri, ekmek, taze makarna ve mantılar (şarap ve bira hariç)	UTG
E 300 Askorbik Asit	Tüm gıda maddeleri (Kakao ve çikolata ürünleri, rafine zeytinyağı, olgunlaştırılmış peynir, mozzarella peyniri, lor ve şarap hariç)	UTG

UTG: Uygun Teknolojinin Gerekthirdiği Miktar

edildiği bir çalışmada kavurma işlemi sonucunda hızlı bir antioksidan kaybı olduğu görülmüştür (Cavaletto ve Yamamoto, 1971).

BHT, PG ile negatif sinerji göstermektedirler (Angelo, 1996).

Gallat Esterleri:

Propil, oktil ve gallat esterlerinin hepsi antioksidatif etki gösterebilmekle birlikte, gıda sanayiinde en fazla kullanılan antioksidan propil gallattır (Shahidi ve anasundara, 1992).

Propil Gallat, bitkisel ve hayvansal yağlarda en az BHA ve BHT kadar etkili antioksidanlar olmalarına karşılık, diğer gallatlar da dahil olmak üzere, yağlardaki çözünürlükleri BHA ve BHT'den daha azdır. PG çözünürlük problemi nedeniyle genellikle ticari formunda sıvı şekilde satılmaktadır. Propil Gallatın 148°C'da dekompoze olduğu bilinmektedir (Angelo, 1996).

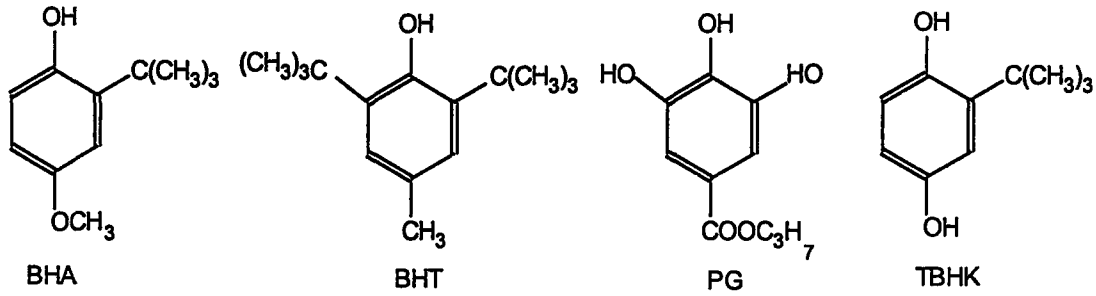
Bu nedenle pişirme ve ısıtma işlemlerine dahi duyarlı olmaları da önemli dezavantajlarından birisidir. Aynı nedenle, daha çok pişirilme işlemi tamamlanmış gıdalarda ve BHA ile kombine halde kullanılırlar.

En fazla kullanıldığı alan olan sıvı yağ depolanması sırasında, özellikle tanklarda depolama sırasında oluşabilecek su varlığında ve demirin açığa çıkmasıyla mavi-siyah renk oluşumuna, dolayısıyla yağlarda renk kararmasına neden olabilmektedir (Coppen, 1989).

Tersiyer Bütil Hidro Kinon (TBHQ):

Çok güçlü bir antioksidan olmasına karşın, toksikolojik kaygılarla şu anda Avrupa Birliği ülkelerinde gıdalarda antioksidan olarak kullanımı yasaklanmıştır. Geçmiş yıllarda TBHQ'nun antioksidatif etkisi üzerine yapılmış pekçok çalışma mevcut olup, kavrulmuş fıstıklarda yüzey kaplama veya farklı şekillerde kullanıldığı ve kuvvetli antioksidatif etki gösterdiği bulunmuştur . Ayrıca kızartma yağları için önerilen en iyi antioksidanlardan birisidir (Hoover ve Painter, 1979, Hoover ve Nathan, 1980 ve 1981, Coppen, 1989, Shahidi ve Wanasundara, 1992).

Bazı sentetik antioksidanların (BHA, BHT, PG TBHK) kimyasal yapısı Şekil 2.6'da görülmektedir (Shahidi ve Wanasundara, 1992).



Şekil 2.6. Bazı sentetik antioksidanların (BHA, BHT, PG TBHK) kimyasal yapısı

2.3.2. Doğal antioksidanlar, çeşitleri ve özellikleri

Doğa, yaşayan mekanizmalarda aktif oksijenin neden olduğu bozulma reaksiyonlarını önlemek amacıyla önlem almış olup, pekçok doğal yapı, kendi varlığının mevcudiyeti için gerekli olabilecek antioksidanları bünyesinde bulundurmaktadır.

Doğal antioksidan kaynakları olarak, çeşitli bitkiler, çay yaprakları, (flavanoidler ve kateşinler), yağlı tohumlar (Susam), tahıllar (Pirinç, yulaf), fasulye cinsleri, meyve ve sebzeler, yapraklardaki mumsu maddeler (Okaliptus bitkisinin yaprakları), bitki kökleri (ağaç kabukları ve bitki kökleri), fıstık kabuğu gibi meyve kabukları (Yen ve diğ., 1993, Yen ve Duh, 1994 ve 1995), baharat çeşitleri (Kramer, 1985, Bishow ve diğ., 1977, Brocco ve diğ., 1981, Cuvelier ve diğ., 1996, 1994a ve b, Frankel, 1991, Gopalo ve diğ., 1994, Vekari ve diğ., 1993), tıbbi bitkiler, deniz yosunları, mikrobiyal ürünler, hayvansal ürünler, fermente ürünler (Hattori ve diğ., 1995), protein hidrolizatları (Wang ve diğ., 1991, Iwami ve diğ., 1987), Maillard reaksiyonu ürünleri, (Eiserich ve diğ., 1992, Namiki, 1990, Smith ve Alfawaz, 1995) porfirin yapısındaki maddelerin (hematik yapıdaki maddeler- örneğin billuribinin), oksidasyonu bastırıldığı-yavaşlattığı bilinmektedir. Baharatların esansiyel yağlarından ise antioksidatif özelliğinden daha çok antimikrobiyal etkilerinden yararlanılmaktadır (Frag ve diğ., 1989b ve c).

Askorbik Asit:

Doğal antioksidanlardan en fazla kullanılanlarından birisi de askorbik asit ve ester türevleri olup, serbest oksijeni gıdadaki okside olabilen yapılardan daha önce yakalayarak koruma sağlarlar.

Askorbik asitin en önemli kimyasal özelliğinden birisi de redoks potansiyeli olup, indirgen ajan ve serbest-radikal yakalayıcısı olarak davranmasına neden olur ve bir H iyonu vererek serbest radikal zincirini inhibe eder.

Askorbik asit okside olmuş tokoferolu indirgen formuna geri döndürmek suretiyle tokoferol ile birlikte sinerjistik etki yapar .Diğer askorbik asit türevleri de askorbil-palmitat, askorbat-2-fosfat ve askorbat-2-trifosfattır. Farklı gıdalarda antioksidatif etki gösterebildiğine ilişkin literatür bilgileri mevcuttur. Askorbat-2-fosfatın sığır etinde WOF (Warmed Over Flavor-ısıtma sonrası oluşan kötü tat) oluşumunu önlediği, pişirilerek dondurulmuş hindi etinde de kötü koku oluşumunu önlediği görülmüştür (Angelo, 1996).

Tokoferoller:

Tokoferoller, bitkisel yağlarda bol miktarda bulunduklarından, hayvansal yağların stabilizasyonunda kullanılabilmektedirler. Hayvansal yağlarda kullanılan tokoferollerin pekçoğu, D- α -tokoferoldür, diğerleri ise α -, β -, δ - ve γ -tokoferollerin karışımı şeklinde satılmaktadır.

Bitkisel yağların değişik miktarlarda farklı tokoferoller içerebildikleri görülmüştür. Bu nedenle bitkisel yağın orijini önemli olup, ayrıca rafinasyon sırasında da fazlasıyla tokoferol tahrip olabilmektedir.

Tokoferol doğal kökenli bir antioksidan olmakla birlikte son yıllarda sentetik olarak da üretilmektedir. Ancak, tokoferolün fazla kullanıldığında prooksidatif etki yapabildiği görülmüştür (Wada ve Fang, 1994).

Tokoferoller, doymamış lipidlerin oksidasyonu sonucunda oluşan serbest radikalleri nötürleyerek, heksanal oluşumunu ve kötü kokuları önlerler. Fındıklarda 20mg/100gr civarında mevcut olduğu bilinen tokoferolün acılaştırmanın önlenmesine önemli katkısı olduğu bilinmektedir (Pershern ve diğ., 1995).

Çeşitli gıdalara α -tokoferol ilavesiyle farklı yöntemler kullanılarak lipid oksidasyonunun kontrol edildiği çalışmalarda α -tokoferolün antioksidatif etkisinin içine katıldığı gıdaya göre değiştiği anlaşılmıştır. Örnek olarak bir çalışmada α -tokoferolün domuz iç yağında bitki ekstraktları ile negatif sinerjizm yaptığı bulunmuştur (Baniyas ve diğ., 1992).

Genel olarak antioksidanların domuz iç yağındaki koruma faktörleri oldukça yüksek olmasına rağmen fıstık yağı gibi fındık fûresi yağına benzer ürünlerde çok fazla etkili bulunmamışlardır.

Ayçiçek yağında yapılan bir çalışmada TBHK ve PG'tan farklı olarak BHT'nin konsantrasyonunun (0-225 ppm) arasında artırılmasına karşın, OİS'de hemen hemen hiçbir değişme gözlenmediği görülmüştür (Carelli ve diğ., 1996). Ayrıca (domuz iç yağında) konsantrasyonun 700 ppm'e kadar artmasında dahi, koruma faktörünün çok az artış gösterdiği ancak, 700-1000 ppm arasında tümüyle stabil kaldığı görülmüştür (Evans, 1997).

Ayrıca yine aynı referansta BHA'nın tokoferol içeren yağlarda içermeyenlere göre sinerjistik etkisinin düşük olduğu görülmüştür. Isıtılmış yağlarda D- δ -tokoferol en etkili antioksidandır (Gordon ve Kourimska, 1995).

2.4. Baharat Çeşitleri ve Biberiye Bitkisinin Antioksidan Olarak Kullanımı

Baharatın antioksidatif aktivitesi oksidasyona maruz kalan substratın cinsine, baharat ekstraktının hazırlanma şekline ve oksidasyonun ölçüm yöntemine göre değişmekle birlikte antioksidatif aktivite açısından en etkili olan baharat çeşitleri başta biberiye olmak üzere, adaçayı ve karanfil olup, yenibahar, anason, fesleğen, kakule, tarçın, zencefil, küçük hindistan cevizi kabuğu, mercanköşk, küçük hindistan cevizi, keklikotu (yer fesleğeni), beyaz ve karabiber, kekik ve zerdeçal da yine ikinci derecede önemli antioksidatif aktiviteye sahip olan baharat çeşitleridir (Nakatani, 1997).

2.4.1. Antioksidatif özelliğe sahip baharat çeşitleri ve özellikleri

Genelde baharat ve otlar diye tanımlanmakta olan lezzet verici bitkiler için şu anda kesinleştirilmiş standart bir tanımlama yoktur. Bununla birlikte genellikle agronomik, morfolojik ve kimyasal yapılarına bağlı olarak 3 anabashlıkta gruplandırılırlar. Baharatlar en yaygın olarak ait oldukları familya isimlerine göre sınıflandırılırlar. Bununla birlikte tümüyle farklı botanik sınıflara ait olan baharat çeşitlerinin pekçok benzer özellikler gösterdikleri de görülmüştür (Ör: anason).

Baharat ekstraktlarını ise kullanım alanı açısından sınıflandırmak da mümkündür. Gıda sanayiinde kullanılan baharat bileşenlerinin sınıflandırılması Tablo 2.12’da verilmiştir.

Tablo 2.12. Gıda sanayiinde kullanılan baharat bileşenlerinin sınıflandırılması (Lewis, 1984).

Bileşen Özellikleri	Bileşenler	Görevleri
Karakteristik Aromayı Verenler	Alkol, ester, aldehit, keton yapısındakiler	Bitki yağındaki koku kalitesine etkirler.
Zayıf Aromatikler	Monoterpenler	Baharat tadından en fazla sorumlu olanlar (biber ve zencefilde)
Az Aromatikler	Seskiterpenler	Baharat yağlarının önemli kısmını oluştururlar ve monoterpenlerle birlikte yağın karakteristik kokusunu bulmasına yardım ederler.

Daha stabil olan terpensiz baharat yağı, asla orijinali gibi olamaz. Baharat, dispersiyonları şeklinde veya enkapsüle edilmiş formda kullanılabilir. Bunun dışında baharatın gıda formülasyonları içinde kullanılmaları amacıyla baharatın alkol ekstraktları “Oleorezinler” veya buhar destilasyonu ile elde edilen “Esansiyel Yağlar” şeklinde teknolojik ürünleri piyasada bulunmaktadırlar (Moyler, 1994).

Baharat çeşitlerinin un, şeker, süt, peyniraltı suyu, tuz gibi kuru maddelerle direkt karıştırılması durumunda kraker, et ürünleri, bebek mamaları, soslar gibi hem yaş, hem de kuru ürünlerde kullanımı söz konusu olmaktadır. Ayrıca baharat ürünleri

mümkün olduğunca saf olmalı, yalnızca gerektiğinde antioksidatif aktiviteyi arttırmak amacıyla diğer türlerle karışım uygulanmalıdır. Bununla birlikte ürün tümüyle tek bir kaynaktan alınıyor olsa dahi tabiat anadan kaynaklanan bir takım değişiklikler de söz konusu olduğundan, %100 saf diye satılan ürünlerde dahi küçük yapısal varyasyonlara rastlanılmaktadır. Günümüzde mikrodalga kullanılarak biberiyeden antioksidan ekstraktının da denendiği çalışmalar mevcuttur (Spiro ve Chen, 1994 ve 1995). Gelecekte suda çözülmesi daha kolay olan antioksidan ekstraktları üzerine çalışılmaktadır (Marion ve diğ., 1994).

Baharat ekstraktları ve yağlarından yapılan ürünlerde veya standart ürün elde edilebilmesi amacıyla, farklılıkların bitkinin orijininden de kaynaklandığını bilmek gerekmektedir. Bitki ekstrakt ve yağ kompozisyonları, bitkinin cinsi, yetiştiği toprak, iklim ve yetiştirme konumlarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Üretici bitkinin kaynağını botanik açıdan detaylı çizgisini ve hasat zamanını belirtmelidir (Lewis, 1984).

Oleorezinler:

Öğütülmüş baharatın çözgenle ekstraksiyonu ve bunu takiben çözgenin destilasyonla uçurulması koyu renkli vizkoz bir ürün olan oleorezinleri verir.

Oleorezinler genel olarak yağda çözündüklerinden mayonez, soslar, salata sosları, işlenmiş etler veya konserve gıdalarda kullanılabilirler. Oleorezinleri veya baharat yağlarını daha çözünür hale getirmek amacıyla propilen glikol, isopropil alkol, gliserol gibi yenilebilir maddeler veya kullanımına izin verilmiş olan TWEEN gibi bazı emülsifiye edicilerin kullanımı uygundur.

Oleorezinlerinin öğütülmüş baharata tercih edilmelerinin sebebi, öncelikle daha ekonomik olmalarıdır. Örneğin, 100 kg. kırmızı biberden 11 kg. oleorezin elde edilmektedir ama 5 kg. oleorezin 11 kg. biberin yerini tutabilmektedir. Ayrıca oleorezinin eldesi sırasında tohumda bulunan böcek gibi zararlılardan arındığından bir çeşit sterilizasyon yapılmış olunur. Dolayısıyla daha temiz olup kontrolleri daha uygundur (Lewis, 1984).

Oleorezinlerin esansiyel yağa göre üstünlükleri ise öncelikle lezzet yoğunluğunun çok daha fazla olması ve gıdanın işlenmesi sırasında ısıya karşı olan stabiliteyi arttırmasıdır.

Baharat Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözgenler:

Baharat ekstraktının kompozisyonu, ekstraksiyonda kullanılan çözgenin polaritesi, vizkozitesi, sıcaklık, vakum, buharlaşma ısısı ile doğrudan ilişkilidir. Öncelikle kullanılan çözgenin istenilen antioksidan bileşenleri elde etmeye uygun polaritede olması gerekmektedir. Ayrıca çözgen, bitki materyaline, hızlı difüz etme ve kontakt süresinin uzaması açısından, düşük vizkozitede olmalıdır.

Oleorezinlerin ekstraksiyonunda alkol,aseton,heksan, metilen klorür, etilen diklorür gibi çözgenler kullanılabilir.

Kullanılan çözgenin buharlaşma ısısı ne kadar düşükse çözgeni daha sonra uzaklaştırmak için yapılan işlem o derece hızlı olur, dolayısıyla maliyet düşer ve antioksidanların bozulma olasılığı azalır.

Bununla birlikte gıda sanayiinde kullanımı uygun bulunan ve “Food Grade” diye tabir edilen, kalıntı bırakmayan çözgenler kullanılmalıdır. Yüksek kaynama noktasına sahip ve aromayı bozan kalıntılar oleorezinde kalır ve bunları uzaklaştırmak için yapılan ilave işlemler gıdanın lezzet kalitesine zarar verir. Bu zararın giderilmesi için ise uzman gözetimine gereksinim vardır. Oleorezinlerde 30-60 ppm kadar çözgen kalıntısına izin verilebilmektedir.

Vakumu yeterince yükseltmek mümkün olduğunda ise vakumu arttırmakla destilasyon sıcaklığı 15°C düşeceğinden, oda sıcaklığında dahi destilasyon yapmak mümkün olmaktadır. Bazı bitkiler (özellikle tohumlar-kışniş, kereviz, küçük hindistan cevizi) esansiyel yağ miktarı kadar trigliserid yağları da içermektedir. Bu nedenle hangi çözgenle ekstrakte edildiği kadar %verimin de bilinmesi gerekir.

Baharat çeşitlerinde kullanımına izin verilen çözgenler son derece sınırlıdır. EEC Çözgenler Direktifi'nin içerdiği tavsiyelerde, kullanımına izin verilen çözgenlerden etanol, butan-propan, aseton, bütil ve etil asetat, nitröz oksid, CO₂, metanol-propan-2-ol için kalıntı sınırı uygun teknolojinin gerektirdiği miktar, metil asetat ve etil-metil-keton (heksan ile birlikte kullanılmamalı) çözgenleri için 20 ppm kafeinsiz çay ve

kahvede kalıntı sınırı 1 ppm, diklorometan için 5 ppm (kafeinsiz çay ve kahvede), etil-metil-keton için (5 ppm katı veya sıvı yağda; 1 ppm, propan-1-ol ve butanol için 1 ppm, dietil eter için 2 ppm, diklorometan için, kafeinsiz çay ve kahvede 5 ppm, Heksan için 5 ppm (yağ/kakao)'da 1 ppm, yağsız unda 10 ppm, yağsız soya ürünlerinde 30 ppm. dir (Moyler, 1994, Moyler ve diğ., 1994).

Alkolde çözünme esansiyel yağlar için önemli bir analitik kriter olduğundan, alkolde çözünmeme özelliği ekstraktın oleoresin tipinde olduğunu belirtir.

Verim kullanılan çözügene göre değişmektedir. Örneğin zencefil kökünün (*Zingiber officinale*), aseton ekstraktında verim %7, CO₂ ekstraktında ise %3 dür. Bununla birlikte örneğin aseton daha polar olduğundan reçineleri de (daha büyük moleküler ağırlığa sahip olan) ekstrakte edeceğinden %verim artar, fakat ekstraktın antioksidatif aktivitesinde bir değişim olmaz. Ancak ısı işlem görecektür ürünlerde kullanım söz konusu olduğunda, çözgündeki ekstra reçine ürünün üretimi sırasında diğer baharat bileşenlerinin aktivitesine engel olur (Lewis, 1984).

Ayrıca Süperkritik Ekstraksiyon ile biberiyeden veya diğer baharat çeşitlerinden lezzet ve koku bileşenlerinin elde edildiği çalışmalar da vardır (Djarmati ve diğ., 1991, Reverchon, 1997, Schultz ve diğ., 1974, Reverchon, 1997). Günümüzde ticari olarak Süperkritik Ekstraksiyon ile üretilmiş biberiye ekstraktları piyasada mevcuttur (Moyler, 1994, Anon, 1989).

2.4.2. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisi hakkında genel bilgi

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) *Labiatae* familyasına ait, her daim yeşil kalan, yaprakları ve koyu mavi çiçekleri olan, çalı türünde bir bitkidir (Şekil 2.7)



Şekil 2.7. Biberiye bitkisinin doğadaki görüntüsü (Farrell, 1985).

Kurduğunda yapraklar içe doğru yuvarlanarak iğnemi şekil alır, renk kahverengimsi koyu yeşile dönüşür. Genelde ağaç kısımları hariç taze, aromatik, acı, kafurumsu diye de tanımlanabilen çay aromasına sahip yaprak kısımları baharat olarak kullanılır.

Öğütüldüğünde aromatik, hoş ve okaliptus benzeri, ferahlatıcı ve kafur kokuludur. Tadı açısından ise biberimsi, baharatlı ağızda burukluk yaratan, uyarıcı ve otumsu olarak tanımlanan bir bitkidir. Tat sonrası izlenimde ise az bir acı tat ile kafurumsu bir lezzet hissi kalır.

100 gr kurutulmuş biberiyenin yenilebilir porsiyonunda bulunan ortalama bileşen değerleri Tablo 2.13.'de verilmiştir.

Tablo 2.13. Kurutulmuş biberiye yapraklarının, (100 gr yenilebilir porsiyonundaki) bileşen kompozisyonu (Farrell, 1985).

Su	:	9.3 g	Mg	:	220 mg
Enerji	:	331 kcal	P	:	70 mg
Protein	:	4.9 g	K	:	955 mg
Yağ	:	15.2 g	Na	:	50 mg
Toplam CHO	:	64.1 g	Zn	:	3 mg
Lif	:	17.7 g	Askorbik Asit	:	61 mg
Kül	:	6.5 g	Niasin	:	1 mg
Ca	:	29 mg	A Vitamini	:	3128 IU
Fe	:	1280 mg	Diğer vitaminler	:	önemsiz düzeyde

Biberiye Akdeniz kökenli bir bitki olup, Fransa, Almanya, İtalya, Fas, Portekiz, Romanya, Rusya, İspanya, Tunus, Türkiye, Yugoslavya ve ABD'de yaygın olarak ekimi yapılmaktadır. Türkiye'de ekimi yapılmasına karşılık, ülkemizde baharat olarak yemeklerde hemen hemen hiç kullanılmamaktadır (Akgül, 1993). Wetherilt ve Pala (1994) tarafından yapılan bir araştırmada Türkiye'ye özgü baharat çeşitleri

arasında adı geçmemektedir. Buna karşılık, dünyada kullanımı en fazla olan baharat çeşitlerinden birisidir (Farrell, 1985).

Biberiye FDA tarafından hazırlanan “Code of Federal Regulations (CFR) Title -21 (7/16/1984)” listesinde kullanımı güvenli (GRAS) olarak geçen baharat çeşitleri arasında yerini almış olup, lezzet artırıcı madde, baharat ve çeşni (terbiye edici, olgunlaştırıcı) olarak direkt kullanımı, esansiyel yağı ve ekstraktının sınırlama getirilmeksizin kullanılabileceği bildirilmiştir (McCaleb, 1994, Dinçer, 1987).

Akdeniz Mutfağında sebzelerden, bezelye, yeşil fasulye, brokoli, kuşkonmaz, brokoli, patates, enginar, yaz kabağı, ıspanak, turp, karnıbahar ile birlikte kullanılarak tüketilmektedir. Ayrıca balık, tavuk, omletlerde, yine balık ve tavuk dolmalarında, otlu ekmeklerde, tavuk, bezelye ve patates çorbalarında, mantar ve et barbekülerinde, kızarmış tavukta, koyun ve domuz etlerinin çeşitli sunumlarında kullanılır (Moyler, 1994, Farrell, 1985, Kılıç, 1998).

Ticari kullanımı ise kızarmış tavuk, fırıncılık ürünleri, şekerlemeler, alkolsüz içecekler ile ucuz parfümler ve losyon ile sabun üretimidir (Farrell, 1985).

Biberiyede bulunan biyolojik olarak aktif maddeler anethol, apigenin, askorbik asit, borneol, bornil-asetat, kafeik asit, kafur, delta-3 karen, karveol, klorojenik asit, 1-8-sineol, p-simen, geraniol, glikolik asit, limonen, linalool, metil-öjenol, niasin, pinen, rosmarinik asit, safrol, terpinen, ursolik asit, tujondur (Duke, 1994). Biberiyede mevcut bulunan maddeler fizyolojik aktivitelerine göre sınıflandırıldıklarında, bu maddelerin sayıları ve fonksiyonları Tablo 2.14.’de özetlenmiştir (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994).

Ticari biberiye ekstraktının gıdalarda kullanımı genellikle 200-1000 ppm arasındadır (Schuler, 1990).

Biberiye bilinen en önemli etkinliği antioksidatif aktivitesidir ayrıca biberiye ekstraktı şelatlama ajanı olarak da görev yapmaktadır (Fang ve Wada, 1993).

Biberiye 12 adet antioksidan özelliğe sahip madde içerdiği bilinmektedir. Yalnızca yerfesleğeni/keklikotu (14 antioksidan içeriği) ile biberiyeden daha üstün durumdadır. Ayrıca biberiye antilipoksigenaz aktiviteye sahip olduğu da bilinmektedir. Farklı çözümler kullanılarak elde edilen biberiye içerdiği karnosik

asit, karnosol ve ursolik asitin miktarları ile buna bağlı olarak IC₅₀ değerleri ile ifade edilen antilipoksigenaz aktiviteleri verilmiş ve sentetik olarak üretilmiş biberiye bileşenleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 2.15).

Tablo 2.14. Biberiyedeki aktif maddelerin özellikleri ve sayıları (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994).

Aktif Madde Özelliği	Aktif Madde Sayısı	Aktif Madde Özelliği	Aktif Madde Sayısı
Pestisit	33	Anestetik	6
Bakterisit	19	Diüretik	6
Fungusit	8	Analjezik	7
Herbisit	6	Antienflamatuar	15
Kanser önleyici	26	Antitümör	9
Antiseptik	14	Hepatoprotektif	6
Spazmolitik	14	Asetilkolinesteraz inhibitörü *	5
Antioksidan	12	Antihepatotoksik	3
Antiviral	11	Antilipoperoksidant*	3
Sedatif	6	Antiradikular**	3

*(Baharat çeşitlerinden yalnızca biberiyede var)

** (Baharat çeşitlerinden yalnızca biberiyede ve safranda var)

Tablo 2.15. Farklı çözümler kullanılarak elde edilen biberiyenin içerdiği karnosik asit, karnosol ve ursolik asitin miktarları ile buna bağlı olarak IC₅₀ değerleri ile ifade edilen antilipoksigenaz aktiviteleri ve sentetik olarak üretilmiş biberiye bileşenleri ile karşılaştırılması (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994, Chen ve diğ., 1992).

Fraksiyon	Karnosik Asit (µg)	Karnosol (µg)	Ursolik Asit (µg)	(IC ₅₀)	
				Teorik (%)	Deneyisel (µg)
Hekzan	0.13	0.02	0.02	18.68	1.25
Aseton	0.14	0.08	0.21	24.33	2.32
Metanol	-	0.06	0.2	4.23	2.59
Sentetik biberiye antioks. için L.A. (IC ₅₀) (µg)	0.71	2.31	13		

IC₅₀: Lipoksigenaz aktivitesini (L.A.) %50 azaltmak için gerekli olan miktar

Biberiye ekstraktının inhibisyon etkisinin antioksidanlarına etkilerinin teker teker toplamından daha fazla olması, bu üç antioksidanın sinerjistik etki yaptığını göstermektedir (Duke ve Beckstrom-Sternberg, 1994).

Ayrıca biberiye'nin %11 etanol ekstraktının, *Clostridium Botulinum* için "Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu" (MIC) (μ /ml) cinsinden 500 olarak bulunmuştur (Nakatani, 1994).

2.4.3. Biberiye antioksidanları hakkında genel bilgi

Antioksidanlar, hem insanlarda yaşlanmayı önlemeleri hem de yağ içeriği yüksek gıda ürünlerinde acılaşmayı önleyerek raf ömrünü uzatmaları açısından, son yıllarda yapılan araştırmalarda giderek daha fazla yer almaktadırlar. Özellikle tüketici talep ve ilgisinin doğal kaynaklı ürünlere yönelmesi farklı baharat çeşitlerinin, değişik tohumların veya Maillard Reaksiyonu ara ürünlerinin antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliğine ilişkin çalışmaları arttırmıştır.

Özellikle *Labiatae* familyasına ait biberiye, yerfesleğeni/keklikotu, kekik, mercanköşk, nane gibi baharat çeşitleri ile ayrıca adaçayı, karanfil, nane, hindistan cevizi gibi diğer bitkilerin üzerinde çalışılarak antioksidatif aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur (Economou ve diğ., 1991). *Labiatae* familyası en fazla fenolik karboksilik asitlerce zengindir (Nakatani, 1997).

Yine *Labiatae* familyasına ait bir baharat olan Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ekstraktı, özellikle zengin antioksidan içeriği ve diğer baharat çeşitlerine oranla nispeten az renk ve koku maddesi içermesi nedeniyle son yıllarda endüstriyel amaçlı antioksidan üretiminde en fazla tercih edilen baharat çeşitlerinden birisidir (Baniyas ve diğ., 1992). Ayrıca biberiye gıdada antioksidan olarak kullanımına izin verilen birkaç baharat çeşidinden birisi olup, ABD Gıda mevzuatında et ürünlerinde 380, çeşnilere de 680 ppm BAE kullanımı tavsiye edilmektedir (Lörliger, 1989, Akgül, 1993). Biberiye esansiyel yağının ise antioksidatif aktivitesi ile ilgili yeterli bilgi ve araştırma bulunmamaktadır (Tsimidou ve Boskou, 1994).

Biberiye antioksidatif aktivitesinin %90'ının, karnosik asit ve karnosolden geldiği, tahmin edilmektedir. Biberiye antioksidan ekstraktı kompleksini oluşturan diğer

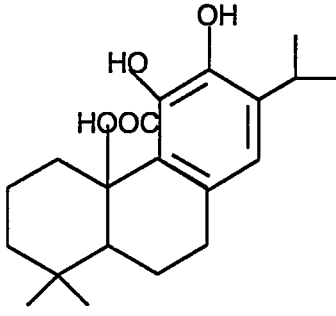
alkol ve asitler de biberiye ekstraktının toplam antioksidatif aktivitesini sinerjistik etki yaparak arttıran diğer bileşenlerdir (Brocco ve diğ., 1981).

Biberiye antioksidan ekstraktı (BAE) içeriği Tablo 2.16.'da, biberiyedeki antioksidatif aktiviteyi sağlayan maddelerin kimyasal yapıları Şekil 2.8.'da verilmiştir.

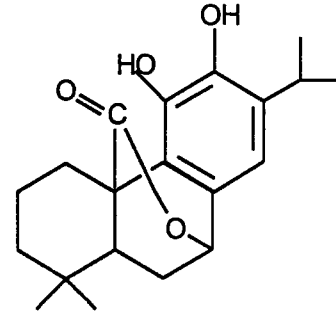
Tablo 2.16. Biberiye antioksidan ekstraktının bileşen kompozisyonu
(Cuppett ve diğ., 1997)

%Biberiye Antioksidan Ekstraktı (BAE) Bileşenleri
Fenolik diterpenler (%15) (Antioksidatif aktivitenin %95 ini oluşturur)
Rosmarinik asit (%1-2)
<i>Triterpenik asitler:</i>
Ursolik Asit (%25)
Oleanolik Asit (%10)
Betulinik Asit (%15)
Diğer bileşenler (Triterpenler, Betulin, amirin) (%8-10)
Şekerler (%8)
Flavanoid ve diğer fenolikler (%2-4)

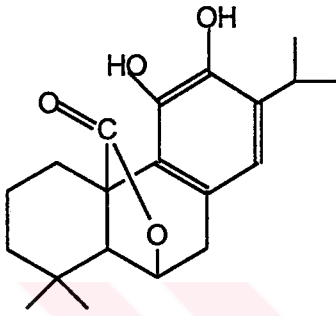
Biberiyeden antioksidan eldesi amacıyla günümüze değin yapılan çalışmalar genel olarak özetlenecek olursa, ekstraksiyon amaçlı olarak heksan, benzen, etil eter, kloroform, etilen diklorid, metilen diklorür, dioksan ve metanol gibi çözügenler kullanılmıştır (Fang ve Wada, 1993, Chen ve diğ., 1992). Antioksidan ekstraksiyonunda kullanılacak çözügenin hammaddeye oranı ile ilgili olarak standart bir uygulamaya rastlanılamamıştır. Çalışmalarda 1:5 (Chen ve diğ., 1992), 1:10, 1:8, (Economou ve diğ., 1991) 1:6 gibi değişik [çözügen: katı madde] oranları ile karşılaşılmıştır.



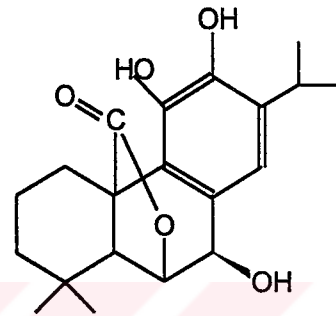
Kamosik Asit



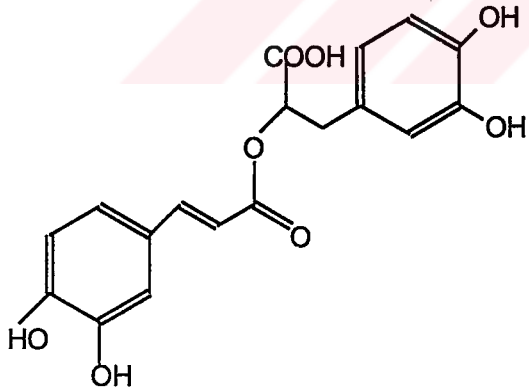
Kamosol



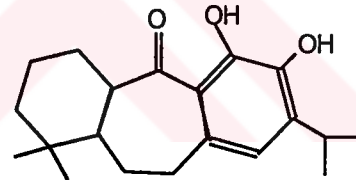
Rosmanol



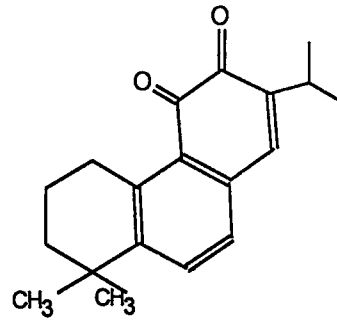
Epirosmanol



Rosmarinik Asit



Rosmaridifenol



Rosmarikinon

Şekil 2.8. Biberiyede saptanmış olan antioksidatif özellikteki maddeler (Cuppett ve diğ., 1997, Evans, 1997).

Biberiyeden antioksidan ekstraktı eldesine ilişkin ilk çalışmalar, Chang ve diğ. (1977) tarafından gerçekleştirilmiş olup, bu amaçla metanol, kloroform, aseton, etil eter, benzen, dioksan, metilen diklorür ve heksan gibi çözügenler kullanarak antioksidatif aktivitede farklı çözügen kullanımından kaynaklanabilecek değişimi gözlemek istemişlerdir. Çalışma sonucunda sırasıyla en yüksek %verim metanolden (%5.3), en düşük verim de (%1.6) ile heksan ekstraktından elde edilmiştir. Peroksit değerleri 11 gün takip edilerek öncelikle etilen diklorid, metanol ve etil eter ekstraktlarının don yağında en uzun süre korumayı sağladıkları saptanmıştır. Yayında kullanılan çözügenin polaritesi arttıkça %verimin ve antioksidatif aktivitenin arttığı belirtilmiştir (Chang ve diğ., 1977).

Daha sonraki yıllarda yapılan bir diğer çalışmada biberiye heksan, metanol ve aseton ile ekstrakte edilmiştir (60°C, 2 saat, 1:5 çözügen oranı). Metanol ekstraktı hem yüksek ekstraksiyon verimine ve karnosol içeriğine sahip olmakla birlikte aseton ekstraktına göre daha az karnosik asit içermektedir. Heksan ekstraktı ise hem verim hem de antioksidatif bileşen bakımından daha düşüktür. Bununla birlikte heksan ve aseton ekstraktının antioksidatif aktivitesi metanol ekstraktına göre daha yüksek bulunmuştur (Chen ve diğ., 1992).

Biberiyeden antioksidan eldesine ilişkin yapılan ilk çalışmalardan birisi Chang ve diğ.'ne, (1977) ait olup, biberiye geri soğutucu altında etil eter ile 2 saat ekstraksiyona tabi tutulmuş ve daha sonra 80°C daki su ile defalarca yıkanmış ve aktif karbon ile ağartılmıştır. %26 lık ham ekstrakt verimi yıkama ve ağartma ile %10'a düşürülmüştür. Bu elde edilen kaba antioksidan ekstraktı daha sonra vakum-buhar destilasyonu ile (%5 buhar içeriği ile ve 90-95°C'da, 3 saat) hemen hemen renksiz ve kokusuz hale getirilerek daha saf antioksidan elde edilmiştir (Chang ve diğ., 1977). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda su ile yıkamanın antioksidatif aktiviteyi azalttığı ve verimin de %10 dan %3'e düştüğü görülmüştür (Wu ve diğ., 1982).

Brocco ve diğ. (1981) tarafından yapılan ve ekstrakt eldesinde moleküler film destilasyonunun uygulandığı farklı bir çalışmada öğütülmüş baharat yenilebilir bir yağ içerisine konulmak suretiyle yağ içerisinde mikronize edilerek, antioksidanın parçalanmış hücreden dışarı çıkarılması ve yağ fazına transferi sağlanmıştır. Santrüfuj veya filtreleme ile yağ fazı ayrılarak antioksidan molekülleri 2-kademeli düşen film

moleküler-destilasyon ile öncelikle koku bileşenlerinden, daha sonra ise trigliseritlere oranla daha düşük molekül ağırlığına sahip antioksidanlardan ayırt edilerek toplanmıştır. Bu çalışmada, etanol ekstraktının belirgin olarak flavonoller, asetonun karnosol ve metil-karnosol bileşenlerini, dietil eter ekstraktının ise karnosik asit ve metil-karnosik asidi içerdiği bulunmuştur (Brocco ve diğ., 1981).

Biberiyeden antioksidan eldesi çalışmalarında ikinci aşama, ekstraktların saflaştırılarak antioksidatif aktiviteyi gösteren asıl bileşenlerin belirlenmesi yönünde olmuştur. Wu ve diğ. yaptıkları çalışmada preperatif çalışma amaçlandığından, daha çok (5*122) cm. lik cam kolonlar ve dolgu maddesi olarak da silikajel veya silisik asit kullanarak, kolondan geçirdikleri biberiye antioksidan ekstraktını, polariteyi giderek arttırmak suretiyle farklı oranlarda dietil eter, heksan karışımlarıyla yıkanarak 15 ayrı fraksiyona ayrılmışlardır. Elde edilen fraksiyonların ikinci kez kolondan geçirme ve çözgen yıkanması ile kristalize edilerek biberiye antioksidanlarından, karnosol, rosmaridifenol, rosmarikinon'u bu şekilde elde etmek mümkün olmuştur (Wu ve diğ., 1982).

Bir başka antioksidan bileşenlerinin saflaştırılması çalışmasında ise, Nakatani ve diğ. 20-60 mesh çapında öğütülmüş biberiyeden metilen diklorür ile (1:10) veya benzen:aseton (9:1) ekstrakte ettikleri antioksidan karışımını 2N HCl, doymuş sodyum bikarbonat, 1N NaOH ve su ile; bazik, asidik, zayıf asidik ve nötral fraksiyonlara ayırdıktan sonra, yalnızca zayıf asidik fraksiyonu silikajel içeren kolondan geçirmek ve CHCl₂:MeOH (99:1) ile yıkamak suretiyle farklı fraksiyonlar elde etmişlerdir. Buradan aseton ile çöktürülerek kristal halde rosmanol, asetik asit ile ise karnosolü ve ayrıca benzer şekilde diğer türevlerini de kristal halde elde etmişlerdir (Nakatani ve diğ., 1980, Inatani ve diğ., 1982). Bu konuda yapılan tüm benzer çalışmalarda, kolondan elde edilen tüm fraksiyonların bileşen yapıları kütle spektrofotometresi ve/veya NMR, IR yardımıyla belirlenmiştir (Nakatani ve Inatani, 1981, 1983 ve 1984, Inatani ve diğ., 1982, Houlihan ve diğ., 1984 ve 1985, Angelo, 1996).

Elde edilen antioksidan karışımlarının domuz iç yağı veya soya yağı gibi yağlara ilavesiyle antioksidan aktiviteleri Fırın testi, Aktif Oksijen Metodu gibi hızlandırılmış yöntemlerle olduğu gibi oda sıcaklığında normal depolama ile KDHP,

PD ve TBA metotları ile kontrol edilmiştir (Chang ve diğ., 1977, Baniyas ve diğ., 1992, Chen ve diğ., 1992, Economou ve diğ., 1991).

Karnosik Asit ile Yapılan Çalışmalar:

Biberiye ekstraktının antioksidatif aktivitesinin öncelikle karnosik asit (KA) ve karnosolden (KAR) kaynaklandığı bilinmektedir (Chen ve diğ., 1992).

Kurutulmuş biberiye yaprakları %2-3 oranında karnosik asit, az miktarda metil-karnosol ve karnosol ile rosmannolden de iz miktarda içermektedir. Biberiye antioksidanlarının laboratuvar ve endüstride üretiminde, ekstraksiyon ve pürifikasyon işlemleri sırasında karnosoldan rosmannol, epirosmannol, metilrosmannol, epi-metilrosmannol gibi pekçok türevi oluşabilmektedir. Yalnızca karnosik asit ve 12-metoksikarnosik asit doğal olarak biberiye antioksidan bileşeninde mutlaka bulunması gereken bir asittir. Toplam antioksidatif aktivite karnosik asit miktarının ölçülmesiyle de anlaşılabilir. Çünkü karnosik asitin antioksidatif aktivitesi diğer türevlerin ve maddelerin antioksidatif aktivitelerinden çok daha fazladır (Richeimer ve diğ., 1996).

Karnosik asitin karnosole ve ardından da rosmannol, epi-rosmannol ve 7-metilepirosmannole dönüşümü, ışıpta, oksijen varlığında veya karnosik asit metanolde ısıtıldığında söz konusudur. Karnosolün rosmannole dönüşümü de, metanol içeren NaOH çözeltisinde gerçekleşmektedir. Biberiyeden antioksidan elde edilmesinde pekçok ticari üretimde, ısıtma işleminin olması daha az aktif olmasına karşılık daha dayanıklı olan karnosole dönüştürme isteğidir. Isıtma yalnızca Süperkritik Ekstraksiyon ile biberiye antioksidan ekstraktı eldesinde söz konusu değildir (Cuppett ve diğ., 1997).

Biberiye antioksidan ekstraktında karnosolün antioksidatif aktivitesi relatif olarak karnosik asitten düşük olmasına rağmen, biberiyenin antioksidatif bileşenleri arasında en aktif olduğu Ransimat ölçümlerinde, acılaşmanın geciktirilmesinde karnosik asitin, karnosolden 1.2 kat daha aktif olduğunun görülmesi ile belirlenmiştir, bununla birlikte biberiye antioksidan ekstraktında karnosol içeriğinin yüksek olması daha stabil olduğu için tercih edilebilmektedir (Cuppett ve diğ., 1997).

Karnosik asitin, adaçayı ile biberiyede acı tatdan sorumlu olan bileşen olduğu düşünülmektedir (Chen ve diğ., 1992, Richeimer ve diğ., 1996, Brocco ve diğ., 1981, Wu ve diğ., 1982). Bir başka çalışmada ise, Wu ve diğ. (1982) biberiyeden saf halde elde ettikleri karnosolün duyuşal açıdan incelediklerinde tatsız ve kokusuz olduklarını görmüşlerdir. Karnosik asitle ilişkili olan diğ. er bileşenlerin de (metil-karnosol, metil-karnosik asit, metoksikarnosol vb. gibi) ekstraksiyon sırasında oluştuğı sanılmaktadır.

Karnosik asit, karnosol, 7-metil-rosmanol ve 12-metoksikarnosik asitin soya yağındaki 0-200 ppm konsantrasyonları için antioksidatif aktivitesinin ölçüldüğü bir çalışmada, antioksidatif aktivite yine karnosik asitde en yüksek bulunmuş olup, sırasıyla 7-metil-rosmanol ve karnosolde daha azdır. 12-metoksikarnosik asitin ise antioksidatif aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür (Richeimer ve diğ., 1996). Ayrıca karnosik asit BHT ve BHA'dan 7 kat daha fazla, TBHK'nun ise ½ aktivitesinden biraz daha az aktiviteye sahiptir. Bu konuda Chen ve Richeimer'in don yağında ve 200 ppm antioksidan konsantrasyonu kullanarak yaptıkları çalışmalar benzer sonuçlar vermiştir, fakat Cuvelier'in okside edici koşullarda metil-linoleata karşı ölçtüğü antioksidan aktivitelerinden çok daha yüksektir (Cuvelier ve diğ., 1990).

2.4.4. Biberiye antioksidan ekstraktının gıdalarda kullanımı

Biberiyenin don yağında, mayonez, Fransız sosu ve paylarda, karanfilin ise yağ-su emülsiyonlarında daha etkili olduğu bilinmektedir. *Labiatae* familyasına ait olan baharat türleri; biberiye, adaçayı, oğul otu, mercanköşk, yerfesleğeni/keklikotu, kekik ve nanedir. Biberiye yaprakları ise antioksidatif aktivitesi en fazla olan otlardan birisidir. Rosmanol, epi-rosmanol ve iso-romanol'ün BHT' den 4 kat, karnosolün ise 2 kat daha etkili olduğu bulunmuştur. Rosmaridifenol ve rosmarikinon da diğ. er etkili diterpenlerdir (Nakatani, 1997).

Tokoferolün yüksek miktarlarda kullanıldığında prooksidant etki yaptığı bilinmektedir (Wada ve Fang, 1994). Biberiye bileşeni ise yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında ürün tadında belirgin şekilde acılaşmaya neden olmaktadır (Chang ve diğ., 1977). Bu nedenle biberiye antioksidan ekstraktı ile α -tokoferolün birlikte kullanımı hem tatda oluşabilecek olumsuz etkiyi ortadan

kaldırmakta hem de sinerjistik etki nedeniyle antioksidatif etkiyi arttırmaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda Sardalya balığında oksidasyonunun önlenmesi amacıyla 0.02 α - tokoferol +0.05 BAE kullanılmıştır.

Sardalya balığı yağı ve dondurulmuş balık etinde sentetik antioksidan ilavesiyle raf ömrünün tespitinde lipit oksidasyonu PD, TBA metotları ile takip edilmiştir. Ayrıca α - tokoferol analizi Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi de nükleosil kolon kullanımı ile gerçekleştirilmiştir. Yağ asitleri kompozisyonundaki değişim ise Gaz kromatografisi ile takip edilmiştir. Raf ömrünün tespiti amacıyla 20 g sardalya balığı yağı 10 cm iç çaplı petri kaplarına konularak, günde 2 kez karıştırılmak suretiyle 30⁰C'da 15 gün boyunca depolanmış ve 0, 1, 5, 7, 10, 15. günlerde PD ve α - tokoferol miktarları kontrol edilmiştir. Aynı işlemler 60⁰C için de tekrar edilmiştir. Yine aynı çalışmada dondurularak sıkıştırılmış balık etinde ise antioksidan karışımı 10 ml heksan aracılığı ile ürüne katılmış ve karıştırma sonrasında heksan uçurulmuştur. (40⁰C). Analiz edilecek olan her bir örnek 4 eşit parçaya bölünmüş ve 30⁰C'da 4 gün boyunca depolanmıştır. Sentetik antioksidanların tek başına veya birlikte kullanımlarındaki sinerjistik etkinin gözlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada (%0.005-%0.002) (α - tokoferol -biberiye) karışımı konulduğunda, tek başına α - tokoferol (%0.005) veya biberiye-(%0.002) ilavesine göre sardalya balığı yağının raf ömrünü 5 gün daha fazla uzattığı görülmüştür. Dondurulmuş balık etinde de en düşük TBA değeri (biberiye- α - tokoferol) antioksidan karışımının kullanıldığı balık etinde görülmüştür. Biberiye- α - tokoferol karışımının antioksidatif etkisinin BHA ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca bu antioksidan karışımının çoklu doymamış yağ asitlerinin de oksidasyonunu sınırlandırdığı ve daha az trigliserit hidrolizine neden olduğu görülmüştür (Wada ve Fang, 1992).

Wada ve Fang (1994) yaptıkları bir diğer çalışmada, sardalya balığı yağı ve kurutulmuş sardalya balığı etine eşit miktarlarda α - tokoferol ve biberiye (%0.035-%0.035) karışımı ilave edilerek, balık yağı 30 ve 50⁰C'da, kurutulmuş balık etini ise 5⁰C'da depolanmışlardır. Bu amaçla Sardalya balığından alkolle ekstrakte edilen her bir örnek için 10 gr alınarak karanlıkta ve açık petri kaplarında günde 2 kez karıştırmak suretiyle yaklaşık 2 ay boyunca depolanmıştır. Aynı işlem 25 gr özel olarak hazırlanmış ve kurutulmuş balık eti için tekrar edilmiş, ve 5 gün depolanmıştır. Lipit oksidasyonunun takibinde PD, TBA değerleri izlenmiş olup, yağ

kompozisyonu ince tabaka kromatografisinde, yağ asidi kompozisyonu ise gaz kromatografisinde gerçekleştirilmiştir. Her iki ürün için de antioksidan karışımının kuvvetli sinerjistik etki yaptığı gözlenmiştir. Kurutulmuş balık etinde iki antioksidanın birlikte kullanımı yalnızca hidroperoksit oluşumunu engellemediği, ayrıca hem çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyon hızının düşmesine hem de triaçilgliserollerin dekompozisyonunun azalmasına neden olduğu da belirlenmiştir (Wada ve Fang, 1994).

Bir başka çalışmada ise yine kemikleri mekanik olarak ayıklanmış tavuk etine eşit miktarlarda biberiye-adaçayı karışımları (%0.01-%0.01; %0.05-%0.05) ilave edilerek hazırlanan numuneler, 3 ve -25°C larda depolanmıştır. Acılaşmanın TBA ve toplam karbonil değeri ile takip edildiği çalışmada biberiye-adaçayı karışımının en iyi etkiyi yaptığı, adaçayının tek başına kullanımının ise biberiyeden daha iyi sonuç verdiği görülmüştür (Lee ve diğ., 1993).

Dondurulmuş sığır hamburgerine öğütülmüş biberiye ve adaçayı karışımı ilavesiyle (%0.03-%0.03), 10 ay -20°C da depolanmıştır. TBA, Konjuge dien değeri, ve toplam lipidlerin yağ asidi kompozisyonunun ile organoleptik özelliklerdeki değişimlerin gözlemlendiği çalışmalarda aromatik baharatın lipid oksidasyonunu önlediği gibi hamburgerin duyu özelliklerini de değiştirdiği gözlenmiştir (Pizzocaro ve diğ., 1994).

Isıtma ve derin kızartma işlemleri sırasında antioksidan kullanımının yağlar üzerine etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada BHA, BHT, TBHK, lesitin ve α -tokoferol ile askorbil palmitat gibi sentetik antioksidanlar ve doğal antioksidan olarak da biberiye kullanılmıştır. Çalışmada, BHT'nin hayvansal kökenli kızartma yağlarında daha etkili olduğu, fakat bitkisel yağlarda ve kızartma yağlarında, yüksek sıcaklıkta buharlaşabilme özelliği nedeniyle, fazla etkili olmadığı belirtilmiştir. BHA'nın ise stabilitesi yüksek olup, tokoferol içeren yağlardaki sinerjistik etkisi düşüktür. Bu çalışmada BHA ile BHT katılmış numuneler, BHA ile BHT'nin uçuculuklarından dolayı Ransimat 'ta (100°C) düşük antioksidatif etkiye sahip olarak görünmüşler, dolayısı ile uygun sonuç vermemişlerdir. Antioksidatif aktivite sırasıyla, TBHK>lesitin>askorbil palmitat>BAE>BHT,BHA, D- γ -tokoferol olarak bulunmuş olup, askorbil palmitat ve BAE'nin kızartma yağları için en uygun antioksidanlar olduğu bulunmuştur (Gordon ve Kourimska, 1995).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

3.1.1. Biberiye

Çalışmada birinci kaynak materyal olarak, İstanbul Belpa Alışveriş merkezinden temin edilen 1998 mahsulü biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinin yaprakları kullanılmıştır.

3.1.2. Fındık füresi

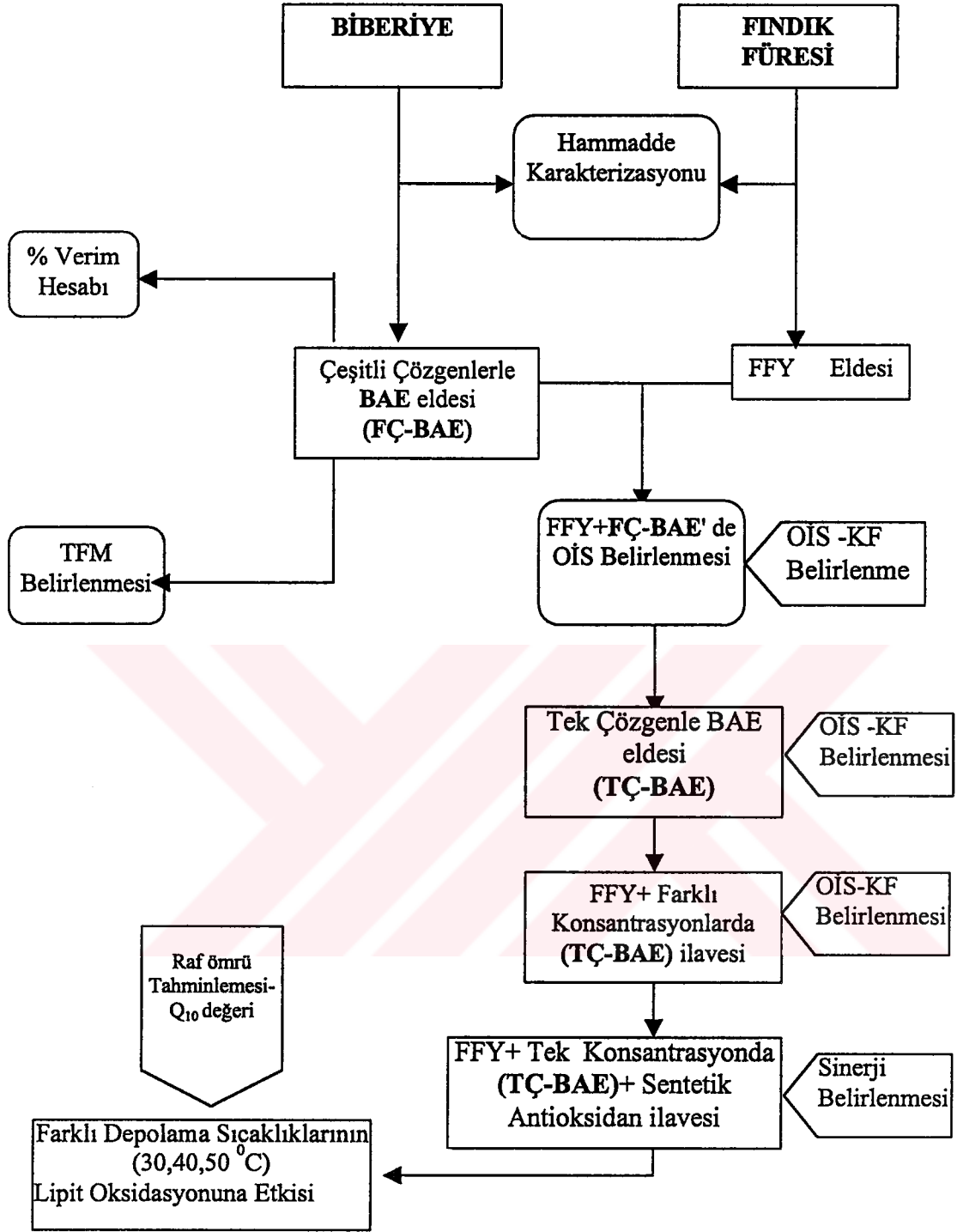
Çalışmada ikinci kaynak materyal, Cargill Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş. firmasından temin edilen, çoğunluğu Akçakoca yöresine ait 9-11 cm. çaplı fındıklardan üretilmiş, 130⁰C’da kavrulmuş ve iki kere öğütülerek inceltilmiş fındık füresidir.

3.2. Metotlar

Materyale uygulanmış olan çalışmalar ve yöntemler, Şekil 3.1a ve 3.1b’de özetlenmiştir.

3.2.1. Materyal karakterizasyonu analizleri

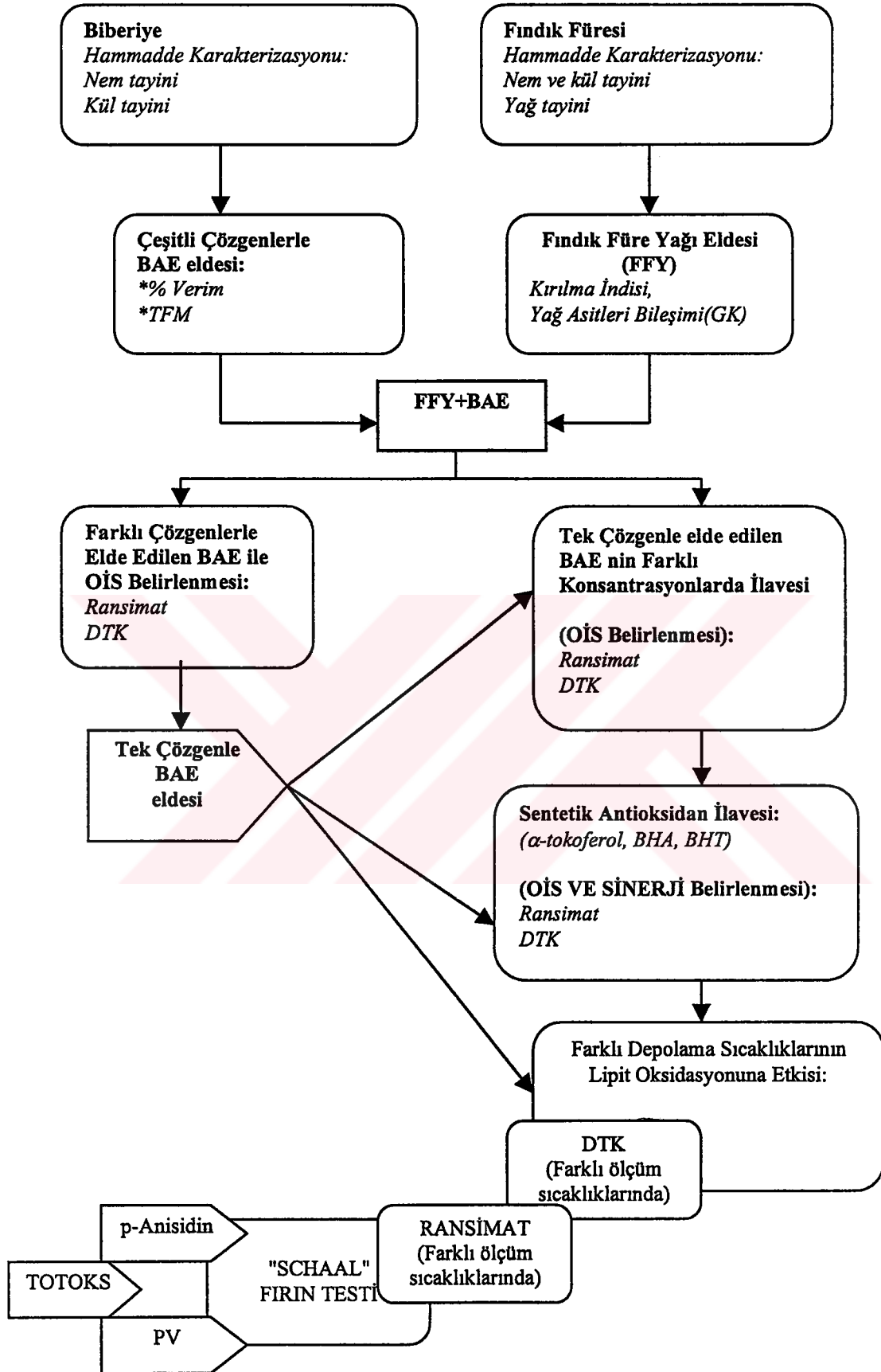
Biberiye yapraklarında ve fındık füresinde nem ve kül tayinleri Leco TGA-601, Termal Gravimetri Cihazı (TGA) kullanılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Termal Gravimetri Cihazı için uygulanan koşullar Tablo 3.1’de verilmiştir. Biberiye ve fındık füresi için yapılacak analizlerin belirlenmesi ve sonuçların değerlendirilmesi açısından Biberiye için TS 11126’dan, fındık füresi için ise TS 10938’den yararlanılarak nem ve kül tayinleri yapılmış ve sonuçlar standartlarda belirtilen sınır değerlerle karşılaştırılmıştır.



FFY : Fındık Furesi Yağı
 FÇ-BAE : Farklı çözgenlerle BAE eldesi
 OİS : Oksidatif İndüksiyon Süresi

KF : Koruma Faktörü
 BAE : Biberiye Antioksidan Ekstresi
 TÇ-BAE : Tek çözgenle BAE eldesi

Şekil 3.1.a. Çalışma aşamalarının ana hatları



Şekil 3.1.b. Çalışma aşamalarında yürütülen analizler

Ayrıca Fındık fûresinde yağ tayini (TS 765)'e göre yapılmış olup, kırılma indisi / refraktif indeks ise, refraktometrik yöntemle belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Termal Gravimetrik Analiz uygulamalarında çalışma koşulları

Analizler	Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Son Sıcaklık (°C)	Kullanılan Gaz Cinsi	Ağırlık Sabitleme derecesi (%)	Kullanılan Gaz Cinsi
Nem Tayini	25	105	Azot	0.05	Azot
Kül Tayini	105	750	Oksijen	0.05	Oksijen

Ayrıca başlangıçta Fındık fûresi yağının yağ asidi bileşimleri, kapiler gaz-sıvı kromatografi yöntemi ile (GSK) (Hewlett-Packard 5890 Seri II) saptanmıştır. Bu cihaz ile yapılan incelemede uygulanan kromatografi koşulları da Tablo 3.2.'de belirtilmiştir.

Kromatografik analizlerde belirlenen pik alanlarından yararlanılarak yağ asidi bileşenlerinin göreceli oranları saptanmıştır. Fındık fûresi yağının metil esterleri, BF₃ yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır (Anon, 1992a).

Tablo 3.2. Fındık fûresi yağının Gaz Kromatografisi Cihazında analizinde uygulanan koşullar

Dedektör Tipi ve Sıcaklığı	Alev İyonizasyon Dedektörü (280°C)
Enjektör Tipi Sıcaklığı	Dağıtıcı, 250°C
Gaz Hızları (ml/dk)	
Taşıyıcı Gaz (Azot)	2.37
Hidrojen	34
Hava	450
Fırın Sıcaklığı (Programlı çalışma)	1. 150°C (5 dk) 2. 150-225°C (5°C /dk), 3. 225°C (30 dk)
Kolon Tipi	Hewlett-Packard 5890 Seri II, Kapiler Kolon ⁽¹⁾

⁽¹⁾ (25 m* 0.32 mm) kolon, 0.52 µm film kalınlığında dolgu maddesi (%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan) ile kaplanmış.

3.2.2. Biberiyeden farklı çözümler kullanılarak antioksidan (BAE) ekstraksiyonu

Biberiye antioksidan ekstraktı eldesi işleminde öncelikle antioksidan bileşenlerinin herbirinin saf halde elde edilmesine çalışılmıştır. Bu amaçla Wu ve diğ., (1982) yaptıkları çalışmadan yararlanılarak öğütülmüş biberiye antioksidan ekstraktı, taşıyıcı madde olarak silisik asitin kullanıldığı, büyük ölçekli (4.5 cm * 60 cm) bir cam kolonda ileri saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Fakat daha sonra çalışmadan istenilen verim elde edilememiş, dolgu maddesi olarak kullanılan silisik asitin kolonun büyüklüğü nedeniyle birçok problemle karşılaşmış ve deneyde çok fazla miktarda çözüme gereksinim duyulmuştur.

Öte yandan, biberiye antioksidan ekstraktının gıdalarda bütün halde kullanımının, öğelerinin birbiriyle sinerjistik etki yapması nedeniyle, daha etkili olduğu da bilinmektedir. Üstelik çok zahmetli bir işlem olan saflaştırma işleminin, daha sonraki aşamalarda bileşenlerinin bir kısmının kayıba uğraması problemine neden olduğu da bildirilmektedir (Namiki, 1990). Bu nedenlerle biberiye antioksidan ekstraktının kolonda bileşenlerine ayrıştırılması işleminden vazgeçilmiştir (Wu ve diğ., 1982).

Biberiyeden antioksidan ekstraktı (BAE) elde etmek amacıyla günümüze değin yapılan çalışmalarda, ekstraksiyon amaçlı olarak kullanılmış olan çözümlerden (heksan, benzen, etil eter, kloroform, etilen diklorid, metilen diklorid, dioksan ve metanol), farklı polaritede olan 6 tanesi seçilerek (heksan, metanol, etanol, dietil eter ve metilen diklorür) kullanılmış (Chang ve diğ., 1977), ancak ekstraksiyon koşulları için aşağıda tanımlanan tek bir yöntem izlenmiştir. Çalışmanın sonraki aşamalarında metilen diklorür ekstraksiyonda güçlüğüne neden olduğu için kullanılmamıştır (Chen ve Diğ., 1992).

Literatürde, biberiye ekstraksiyonunda kullanılan [çözgen:hammadde] oranları değişkenlik göstermekte olup, bu çalışmada (5:1) çözgen:hammadde oranı tercih edilmiştir (Chen ve diğ., 1992).

Biberiye antioksidan ekstraktı eldesinde yaklaşık 50 gr biberiye tartılarak, yaklaşık olarak 1.5 dk süreyle öğütülmüş ve üzerine 250 ml çözgen ilave edilerek 60°C'da 2 saat boyunca geri soğutmalı sistemde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt filtre

edildikten sonra posa 2 kez daha tekrar tekrar taze ekstrakt ilavesiyle aynı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuş ve elde edilen filtratlar birleştirilmiştir.

100°C'lık etüvde tutularak aktif hale getirilmiş yaklaşık 8 gr karbon filtrat ile 60°C'da 20 dk süreyle muamele edilerek renk açma işlemine tabi tutulmuştur. Filtre edilerek karbon kısmı ayrıldıktan sonra filtrat çözgeni döner buharlaştırıcıda (Buchi Rotavapor 461, RE 111) uçurularak açık kahve renkli ham antioksidan ekstraktı (BAE) elde edilmiştir (Chen ve diğ., 1992).

Farklı çözgenler aracılığıyla elde edilen biberiye antioksidan ekstraktı örnekleri, ufak hacimli plastik kaplar içerisine konulduktan sonra içlerine azot gazı doldurularak ağızları sıkıca kapatılmış ve derin dondurucuda depolanmışlardır.

3.2.2.1. Farklı çözgenlerden elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarında % verim hesaplanması

%Verim hesaplanması işlemi Bölüm 3.2.2.'de elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarının hazırlanması aşamasında Aktif karbon ile ağartma öncesinde (AKAÖ) ve aktif karbonla ağartma sonrasında (AKAS) filtratta mevcut olan antioksidan madde miktarı gravimetrik olarak belirlenerek %verim cinsinden ifade edilmiştir.

Bu amaçla “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası” aşamalarında herbir çözgen için ayrı ayrı olmak üzere altı adet biberiye antioksidan ekstraktı, konsantrasyonu bilinen miktarlara tamamlanmış ve bu filtratlardan 10 ml lik kısımlar ayrılarak, sabit tartımı bilinen petri kapları üzerine yayıldıktan sonra çözgeni etüvde 60°C kuruluğa kadar buharlaştırılıp, son tartımı alınarak kuru madde ağırlık yüzdesi %verim cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.2.2. Toplam fenolik madde tayini

Bölüm 3.2.2.'de elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarının hazırlanması aşamasında hem Aktif karbon ile ağartma öncesinde hem sonrasında filtratta mevcut olan fenolik madde miktarı, Folin Ciocalteu Reaktifi kullanılarak “Toplam Fenol Miktarı” şeklinde tespit edilmiştir.

Toplam Fenol Miktarının hesaplanması için hem “Aktif karbonla ağartma öncesi” hem “Aktif karbonla ağartma sonrası” aşamalarında ayrılan biberiye antioksidan

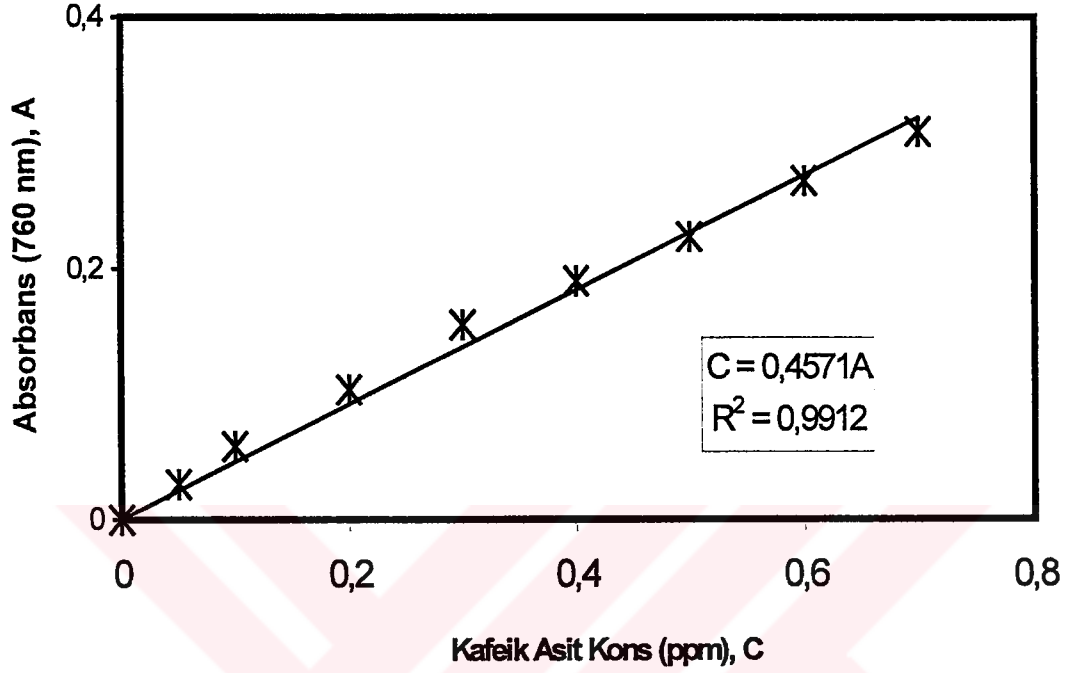
ekstraktları için, öncelikle 100 ml. lik balon joje içerisine 75 ml. su, 1 ml. filtrat ve 5 ml. Folin Chiocalteu Reaktifi ile 10 ml sodyum karbonat ilave edilmiş ve 100 ml. ye su ile tamamlanmıştır. Bir dakika süreyle karıştırma sonrasında ½ saat bekletilerek, ekstraktın absorbansı tek yollu spektrofotometrede (Philips PU 8625, UV-Vis.) 760 nm. de cam küvetlerde ölçülmüş ve sonuçlar µg fenol/100 gr biberiye cinsinden hesaplanmıştır (Anon, 1984, Tian ve White 1994, Rhee ve diğ, 1981).

Fenol konsantrasyonunun hesaplanmasında kullanılmak üzere kalibrasyon grafiği saf kafeik asit (Sigma, C-0625) standartı kullanılarak hazırlanmıştır. Bu amaçla yaklaşık 1 gr kafeik asit 250 ml su ve metanol karışımında çözülmüş ve bu stok çözeltiden gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra 4 farklı hassasiyet aralığında kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır, bunlardan (0-0,7) absorbans aralığında hazırlanan kalibrasyon grafiği, doğru denklemleri ve regresyon katsayıları ile birlikte Şekil 3.2.'de, sonucun Toplam fenolik madde miktarı cinsinden ifadesi ise 3.1. no'lu denklikte verilmiştir (Gutfinger, 1981).

3.2.3. Fındık füresinden yağ ekstraksiyonu

Hızlandırılmış raf ömrü testlerinin ve antioksidatif etkinin gözlemlendiği analizlerin, tercihen yağda yapılmaları nedeniyle işlemleri hızlandırmak amacıyla öncelikle fındık füresinin yağı ayrılmıştır. Fındık füresinin son derece vizkoz yapıda ve çok küçük partikül çapında öğütülmüş olması nedeniyle yağının katı kısımdan süzülmesi sırasında, filtre kağıdının yağ emmesi ve tortunun alta geçerek bulanık bir yağ elde edilmesi gibi çeşitli güçlüklerle karşılaşmakla birlikte, yağın bozulmaması amacıyla gerekli özen gösterilmeye çalışılmış ve yağ ekstraksiyonu soğukta gerçekleştirilmiştir. Ağızları sıkıca kapanabilen 750 gr. lık kavanozlar içerisine konulan fındık füreleri üzerine heksan ilave edilerek, karıştırılmış ve 1 gece karanlıkta ve serin bir yerde bekletilmişlerdir. Kavanoz içerisindeki füre üzerinde biriken yağ-heksan karışımları erlenler içerisinde toplanılarak 2 kez, 2 katlı kaba filtre kağıdından geçirilerek süzildikten sonra kaba tortusu alınmış, daha sonra 4000 devirde santrifüjlenmiştir (Spectra Scientific Ltd., 100-104/2) Santrifüj sonucunda üstte toplanan kısma öncelikle susuz sodyum sülfat ilave edilmiş, Whatman 42 filtre kağıdından yaklaşık 350 mmHg vakum uygulanarak birkaç kez süzülmüştür. Elde edilen yağlar döner buharlaştırıcıda 40°C'da vakum yardımıyla çözgeni uzaklaştırıldıktan sonra, ağızları sıkı kapanabilen kaplar içerisine konularak, üst

kısımları azot gazı ile doldurulmuş ve kullanılıncaya kadar +4°C'da depolanmışlardır (Savage ve diğ., 1997). Kullanılan biberiye antioksidan ekstraktı örnekleri, magnetik karıştırıcı ve hafif ısıtma (40°C) yardımıyla yağa karıştırılmıştır (Blekas ve diğ., 1995, Mugendi ve diğ., 1998).



Şekil 3.2. Kafeik Asit standartına ait kalibrasyon grafiği

$$\text{TPC } (\mu\text{gfenol}/100 \text{ gr biberiye}): 2.1877 A (R^2 : 0.99) \quad (3.1)$$

A=Absorbans

3.2.4. Fındık füresi yağının oksidatif indüksiyon süresinin (OİS) belirlenmesi

3.2.4.1. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) yöntemi

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) özellikle antioksidanların yağların raf ömrü ve stabiliteelerini uzatmadaki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla son yıllarda yeni kullanılan bir yöntemdir. Bu nedenle bu çalışmada, antioksidan ekstraktının fındık füresindeki etkinliğinin, hızlandırılmış test yöntemi kullanılarak saptanmasında, tercih edilmiştir.

Antioksidanlar, oksidasyonun ilerlemesi aşamasını yavaşlatırlar, fakat bu arada kendileri hızla okside olarak tüketilirler, işte bu antioksidanın etkisinin sona ererek

oksidasyonun ivmelendiği aşamada gerçekleşen reaksiyonların son derece ekzotermik olması nedeniyle, örnekten açığa çıkan ısı akışındaki “onset” yani “ani yükselme noktası”, DTK ile hesaplanabilmektedir. Bu amaçla, özellikle yüksek sıcaklık yanında yüksek basınçta oksijen de verebilen bir sistem olan Yüksek Basıncılı Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazı (Perkin Elmer, DSC-7) oksidatif indüksiyon süresinin hesaplanmasında kullanılmaktadır.

Bu çalışmada M.S.B. İstanbul İç Tedarik Bölge Başkanlığı’nda mevcut bulunan Perkin Elmer marka DSC-6 cihazı, oksidatif indüksiyon sürelerinin saptanması amacıyla kullanılmıştır. Ancak sistemde DSC-7 den farklı olarak yüksek basınçta oksijen verilemediğinden, oksidatif indüksiyon süreleri bu cihazda daha uzun sürmüştür.

Bu amaçla yaklaşık 3-5 mg. kadar yağ örneği özel alüminyum kaplar (Perkin-Elmer, Sample-pan kit, Kit No: 0219-0041, ALUM) içerisine kapiler tüpler yardımıyla konularak, düzgün olarak yayılmış ve üstü açık olarak cihazın fırın kısmına, referans olarak içi boş alüminyum kap ise referans bölümüne yerleştirilmiştir. Cihazın sıcaklık sensörleri tarafından iletilen ısı akışının eşdeğer olarak örneğe iletilebilmesi amacıyla örneğin ince bir film tabakası halinde yayılmasına dikkat edilmiştir. Perkin Elmer DSC-6 cihazında uygulanan sıcaklık ve gaz akış programları Tablo 3.3.’de verilmiştir (Anon, 1998b).

Tablo 3.3. DTK Cihazında OİS nin hesaplanmasında uygulanan analiz koşulları

İşlem Aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre(dk)	Sıcaklık Artış Hızı (°C /dk)	Verilen Gaz Cinsi	Gaz Akış Hızı (ml/dk)
1. Başlangıç	40	1	İsotermal	Azot	20
2. Isı Arttırımı	40-165	4.5	30	Azot	20
3. Sıcaklık Sabitlenmesi	165	2	İsotermal	Azot	20
4. Oksidasyon Aşaması	165	40	İsotermal	Oksijen	150

Antioksidanların oksidatif indüksiyon sürelerinin hesaplanmasında Tablo 3.3’de belirtilen koşullara uygun olarak fındık füresi yağının zamana karşı ısı değişimini gösteren grafik çizilmiştir. DTK ile yağ stabilitesinin ölçülmesi işleminde uygulaması gerçekleştirilen işlem tanımlamaları şunlardır.

“Sıfır” Noktası (SN): Oksidasyonun başlangıç noktası-Belirlenen işlem sıcaklığı sabitleştirildikten sonra oksijenin verilmeye başladığı süre sıfır olarak alınır.

“Onset” noktası (ON): Yağ oksidasyonundaki ani artışa bağlı olarak eksotermik reaksiyondaki ısı artışında ivmelenme noktası başlangıcıdır.

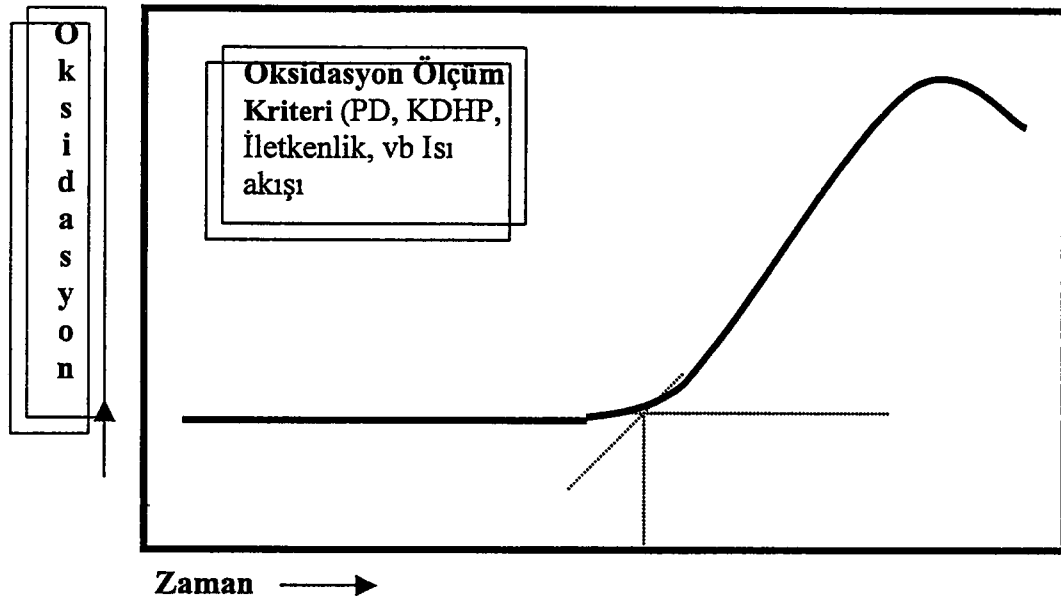
Oksidatif İndüksiyon Süresi (OİS): Cihaz istenilen sıcaklık derecesinde sabitlendikten sonra oksijenin de sisteme verilmesi ile başlayan süre ile onset noktasına kadar geçen süre arasındaki fark olup, dakika veya saat olarak ifade edilir. (3.2. no’lu denklem).

$$[OİS] = [ON-SN] \quad (3.2)$$

Daha sonra zamana karşı entalpi (ΔH) değişimi grafiğinden, sıfır noktası ile onset noktası tespit edilir. Sistemin sıcaklığı istenilen düzeye gelinceye kadar oksidasyonun başlaması istenmediğinden, sistem 165⁰C da 2 dk. süreyle sabitlendikten sonra sisteme oksijen verilmeye başlandığı nokta, sıfır noktası olarak işaretlenir. Onset noktasının doğru olarak belirlenebilmesinde, oksidasyondaki artışı temsil eden pik üzerindeki doğrusal kısımdan inilen doğrunun temel hattı kestiği noktaya karşılık gelen süre, “onset” noktası olarak işaretlenir (Şekil 3.3).

Sistem otomatik olarak onset noktası ile sıfır noktası arasındaki farkı OİS olarak hesaplar.

DTK-6 cihazının kullanım öncesi kalibrasyonunda 200⁰C civarındaki çalışma sıcaklıkları için İndium, daha yüksek sıcaklıklar için ise (400⁰C) Çinko kullanılmaktadır. Bu çalışmada, cihaz ağırlığı bilinen miktarda standart İndium kullanılarak kalibre edilmiştir.



Şekil 3.3. Zamana karşı oksidasyon grafiğinde OİS'nin (onset noktasının) belirlenmesi

Bölüm 3.2.2.'de farklı çözümler kullanılarak elde edilen ve derin dondurucuda saklanan toz haldeki biberiye antioksidan ekstraktları, elde edildikleri çözümlerde (4 ml) hafif ısıtma yardımıyla tekrar çözündürüldükten sonra, çözümler uçurulmuş ve sabit konsantrasyonda olacak şekilde fındık füresi yağına ilave edilerek, yağın OİS'si üzerindeki etkileri Tablo 3.3'te belirtilen koşullara uygun olarak DTK cihazı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.4.2. Ransimat yöntemi

Bu çalışmada DTK cihazının fındık füresi yağı için OİS tespitinde kullanımı ilk kez denenmek ve diğer bilinen bir yöntemle karşılaştırılmak istenmiş ve çalışma süresi olarak daha kısa süren ve sanayide sıklıkla kullanılan yöntemlerden birisi olan Ransimat yöntemi tercih edilmiştir. AOM ve Ransimat yöntemi ile elde olunan sonuçlar arasında yüksek oranda korelasyon bulunduğu bilinmektedir (Akoh, 1994). DTK'da yüksek sıcaklıkta çalışıldığından, sonuçların karşılaştırılabilmesi amacıyla Ransimat cihazının 120°C'da kullanımı uygun bulunmuştur.

Biberiye antioksidan ekstraktının fındık füresi yağındaki etkinliğinin saptanmasında Besler-Gıda ve Kimya Sanayi Tic. A.Ş. Üretim Tesisleri'nde mevcut bulunan 679-Metrohm marka Ransimat cihazından yararlanılmıştır. "Oksidatif stabilite" analiz

başlangıcından itibaren doğrusal kısım ile üstel bölgenin kesiştiği noktaya kadar geçen süre olarak alınmıştır. Tüm analizler 2 kere tekrar edilmiş olup, işlem koşulları Tablo 3.4.'te belirtilmiştir.

Tablo 3.4. Ransimat cihazı işlem koşulları

Sıcaklık	120°C
Oksijen Akış Hızı	20 lt/sn
Örnek Miktarı	4 gr yağ+ 80 cc. su
Grafik hızı	2cm/saat

Bölüm 3.2.2.'de belirtilen farklı çözügenler kullanılarak (metilen diklorür hariç) elde edilen ve derin dondurucuda saklanan toz haldeki biberiye antioksidan ekstraktları, elde edildikleri çözügenlerde (4 ml) hafif ısıtma yardımıyla tekrar çözündürüldükten sonra, çözügen uçurularak, antioksidan sabit konsantrasyonda olacak şekilde findık füresi yağına ilave edilmiş ve yağın OİS'si üzerindeki etkileri, Tablo 3.4'te belirtilen koşullara uygun olarak Ransimat cihazı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.5. Biberiye antioksidan ekstraktının farklı konsantrasyonlarının OİS üzerine etkisi

Öncelikle farklı biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonlarının findık füresi yağının stabilitesi üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla, farklı ppm düzeylerinde biberiye antioksidan ekstraktı içeren findık füresi yağlarına ait indüksiyon süreleri DTK ile belirlenmiş ve biberiye antioksidan ekstraktı katılım konsantrasyonunun OİS değişimine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda biberiye antioksidan ekstraktının antioksidatif aktivitenin ölçülmesi amacıyla soya yağı, veya domuz iç yağına genellikle %0 ile 0.2 arası konsantrasyonlarda (%0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2) ilave edildiği göz önünde bulundurularak biberiye antioksidan ekstraktı findık füresi yağına 0, 200, 400, 600, 1000 ve 2000 ppm (%0-0.2) olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda katılmıştır (Schuler, 1990).

Bu aşamada, biberiye antioksidan ekstraktının elde edilmesi sırasında ekstraksiyon çözügeninin tam olarak uzaklaştırılmasında güçlüklerle karşılaşıldığından ve ekstraktın farklı miktarlarda çözügen içermesinin deney tekrarlarında farklılığa neden olmaması

için biberiyeden antioksidan eldesinde eter çözgeni tercih edilmiştir. Ayrıca eter ekstraktının yağ içerisinde homojenizasyonu işlemi de daha kolay gerçekleşmektedir.

Bu amaçla belirlenen miktarlarda tartılan ve önceden hazırlanarak, toz halde 18⁰C'da depolanmış olan biberiye antioksidan ekstraktı öncelikle yaklaşık 4 ml dietil eter içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra yaklaşık 40⁰C'da hafif bir ısıtma ve balık yardımıyla karıştırma işlemleri birlikte uygulanarak biberiye antioksidan ekstraktının bir beher içerisinde eteri uzaklaştırılarak ince bir tabaka halinde yayılması sağlanmıştır. Bu işlem biberiye antioksidan ekstraktının yağda çözünmesini kolaylaştırmak amacıyla tasarlanmış olup, daha sonra yağ ilave edilerek antioksidanın yağda çözünmesi sağlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda antioksidan içeren yağlar hem Ransimat hem DTK cihazlarında analiz edilmişlerdir.

Taze olarak alınan domuz iç yağında dahi başlangıçtaki oksidatif stabilite değeri zamanla değişebileceğinden ve bu çalışma uzun süreyi kapsayan farklı çalışma aralıklarında gerçekleştiğinden, kullanılan her parti yağ için kontrol değeri olarak başlangıçtaki oksidasyon durumu (OİS) tespit edilmiştir.

3.2.6. Sıcaklığın fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkileri

3.2.6.1. DTK yöntemi

Bölüm 3.2.3.'te belirtilen koşullarda elde edilen fındık füresi yağı 145, 155, 165⁰C ve Ransimat sonuçları ile karşılaştırılabilmesi açısından 100, 110, 120⁰C sıcaklıklarında DTK cihazında yine Bölüm 3.2.4.'de belirtildiği koşullarda analiz edilmiş ve farklı sıcaklıklar için OİS değerlerindeki değişim depolama sıcaklıkları arasındaki farkın 20⁰C veya daha az olduğu durumlarda kullanılabilen ve Bölüm 2.2.6., Şekil 2.5.'te belirtilen $[T - \log \text{OİS}]$ grafiği ve denklikten ($Q_{10} = e^{(10 \cdot e_{\text{gim}})}$) yararlanılarak Q_{10} değeri hesaplanmıştır.

3.2.6.2. Ransimat yöntemi

Bölüm 3.2.3. te belirtilen koşullarda elde edilen fındık füresi yağı 100, 110, 120⁰C sıcaklıklarında Ransimat cihazında yine Bölüm 3.2.7.'de belirtildiği koşullarda analiz edilmiş ve farklı sıcaklıklar için OİS'lerindeki değişim incelenmiştir.

3.2.6.3. Schaal fırın testi

Fındık fûresinden Bölüm 3.2.3.'te belirtildiği şekilde elde edilen yağ antioksidansız ve 500 ppm biberiye antioksidan ekstraktı ilave edilerek iki farklı şekilde, 20 şer gr. üstü açık ve 250 şer ml hacimli cam beherlere konulmuştur (Gordon ve Mursi, 1994, Zandi ve Gordon, 1995). Yağ örnekleri ikili paraleller halinde 30, 40 ve 50°C'daki etüvlerde depolanmış ve lipit oksidasyonundaki değişim belirli aralıklarla izlenmiştir. Bu sıcaklıkların seçilmesinin nedeni çalışmada DTK ve Ransimat cihazı ile oldukça yüksek sıcaklıklarda hızlandırılmış testler uygulandığından, Fırın Testinde mümkün olduğunca oda sıcaklığına yakın koşullarda çalışılmak istenmesidir.

Fındık fûresi yağında raf ömrünün göreceli olarak belirlenebilmesi amacıyla Schaal Fırın testi sürecinde, Peroksit tayini (PD), (Anon, 1992b), Konjuge Dien Hidroperoksitlerin (KDHP Metodu), (Angelo ve diğ., 1975) ve *p*-Anisidin miktarının (*p*-Anisidin değeri), (1979 ve 1992c) spektrofotometrik olarak ölçümü yöntemleri uygulanmıştır.

KDHP değerinin spektrofotometrik olarak ölçümü standart hale gelmemiş bir yöntem olmasına karşılık özellikle fıstık ve ürünleri gibi fındığa yakın bileşim ve dokudaki yağlı tohumlarda hem pratikliği hem de alınan sonuçların doğruluğu açısından sıklıkla kullanılan bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmiştir (Angelo ve diğ., 1977).

KDHP metodunda yaklaşık 1 gr fındık fûresi yağı kapaklı Schott marka 80 ml.'lik tüpler içine alınarak, 30 ml heksan ilave edilmiş ve tüp karıştırıcısında 1 dk. boyunca karıştırılmıştır. Bu aşamada katı kısım içermediğinden referans yöntemden farklı olarak santrüfuj işlemi uygulanmamıştır. Karışımdan 0.2 µl mikropipet yardımıyla bir şişe içerisine alınır ve üzerine 3 ml heksan ilave edilir. 1 cm. lik kuvartz küvetler kullanılmak suretiyle 234 nm'de absorbans okunur. (Heksan için hidroperoksitlerin molar ekstinksiyon katsayısı (ϵ)=24500 ($L^* (1/Mol*cm)$) veya 24,5 ($L^* (1/mMol*cm)$) olarak alınmıştır (Farag ve diğ., 1989a). Sonuç 3.3. no'lu denklik kullanılarak µmole KDHP/gr fındık fûresi yağı olarak bulunmuştur (Angelo ve diğ., 1977).

$$A=a*b*c \quad (3.3)$$

$a(\epsilon)=24500 \text{ (L* (1/mMol*cm))}$, $b= 1 \text{ cm}$, c : Konsantrasyon (mMol/L)

p-Anisidin değerinin ölçülmesinde (*p*-AnD), yaklaşık 0.5-4 gr kadar yağ örneği, ± 0.001 hassasiyette ölçülerek, 25 ml lik balon jojede isooktan ile hacime tamamlanmış ve 1 cm. çaplı, cam küvetlerde 350 nm'de, isooktana karşı, absorbans ölçümü (A_b) tek yollu spektrofotometrede (Philips PU 8625, UV-Vis.) yapılmıştır. Bu yağlı çözeltiden alınan 5 ml. lik porsiyon üzerine 1 ml *p*-Anisidin ilave edilmiş ve karıştırıcıda 1 dk. kadar karıştırılarak, 350 nm'de absorbans (A_s) ölçülmüştür. Referans olarak isooktan çözeltisi üzerine 1 ml *p*-Anisidin ilave edilmiştir. *p*-Anisidin miktarının belirlenmesinde kullanılan yöntem 3.4. no'lu denklikte verilmiştir.

$$p\text{-AnD} = \frac{25(1.2 * A_2 - A_1)}{M} \quad (3.4)$$

A_1 : Yağ çözeltisinin absorbansı
 A_2 : *p*-Anisidin ile reaksiyon sonucunda ürünün verdiği absorbans
 M : 25 ml çözgen içindeki yağın miktarı
 Faktör(1.2) : Düzeltme faktörü- *p*-Anisidin ilavesiyle yağ-çözgen karışımı 1:2 oranında seyrelmektedir.

Not: Hazırlanan reaktiflerin 350 nm'deki absorbansının 0.2 den az olmasına dikkat edilmiştir (Anon, 1979).

Ayrıca PD ve *p*-Anisidin değerleri elde edildikten sonra her ikisi kullanılarak örneklerde 3.5. no'lu denklikle ifade edilmiş olan TOTOKS değerleri de hesaplanmıştır.

$$\text{TOTOKS} = 2 * \text{PD} + p\text{-Anisidin} \quad (3.5)$$

3.2.7. Biberiye antioksidan ekstraktı ve sentetik antioksidanların OİS üzerindeki koruma etkileri

Bölüm 3.2.4.'te bahsedildiği şekilde hazırlanarak depolanan fındık füresi yağına Türk Gıda Kodeksi'nde kullanımına izin verilen BHA (200 ppm), BHT (100 ppm) ve α - tokoferol (200 ppm) antioksidanları yine Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen sınır

miktarlarda olmak üzere ayrı ayrı ilave edilerek DTK cihazında ölçüme uygun hale getirilmiştir (Türk Gıda Kodeksi, 1997).

BHA ve BHT nin bu çalışmada sentetik antioksidanlar olarak seçilmesinin nedeni bu antioksidanların gıdalarda kullanılan en yaygın ve en güvenli sentetik antioksidanlar olmasından kaynaklanmaktadır. Yine α -tokoferol de en çok kullanılan doğal ve güvenli antioksidanlardan birisidir (Namiki, 1990; Hudson, 1989).

TBHK ise hemen hemen en etkili antioksidanlardan birisi olmasına rağmen, son yıllarda toksikolojik kaygılar nedeniyle, kullanımı sınırlandırıldığından bu çalışmada kullanılması uygun görülmemiştir. Türk Gıda Kodeksinde kullanımına izin verilen antioksidanlar arasında yer almamaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 1997).

Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların antioksidatif etkilerinin kıyaslanması amacıyla kullanılan antioksidanlar ile katılım konsantrasyonları Tablo 3.5.'te verilmiştir.

Tablo 3.5. Fındık füresi yağına biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların katılım konsantrasyonları

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)
Kontrol	0
BHA	200
BHT	100
α -tokoferol	200

DTK ve Ransimat cihazında yapılan ölçümler sonucunda elde edilen indüksiyon değerleri genel bir ifadeye dönüştürülerek “Koruma Faktörü” değerleri elde edilmiştir.

3.2.8. Biberiye antioksidan ekstraktı ve sentetik antioksidanların sinerjistik etkileşimleri

DTK cihazı kullanılarak doğal biberiye antioksidan ekstraktının sentetik tokoferoller olan BHA, BHT ve diğer bir doğal antioksidan olan α -tokoferol ile olan sinerjistik etkilerinin araştırılabilmesi için, belirlenen tek bir konsantrasyonda hazırlanan biberiye antioksidan ekstraktı ile diğer antioksidanların maksimum kullanılabilirlik

dozlarının yarı miktarları ilave edilerek, birlikte oluşturdıkları sinerjistik etki, yine oksidatif indüksiyon süresine bağlı olarak belirlenmiştir.

Burada biberiye antioksidan ekstraktı haricinde ilave edilen diğer antioksidanların miktarlarının yarıya indirilmesindeki amaç, biberiye antioksidan ekstraktı ilavesiyle daha az miktarda sentetik antioksidan kullanarak, aynı OİS'ne ulaşıp, ulaşılamayacağının gözlemlenmesi olmuştur. Doğal olarak elde edilen biberiye antioksidan ekstraktı ile diğer BHA, BHT ve α -tokoferolün fındık füresi yağındaki koruma faktörleri ile sinerjistik etkilerinin belirlenerek birbirleriyle karşılaştırılması amacıyla kullanılan konsantrasyonlar Tablo 3.6.'da verilmiştir.

Daha sonra sentetik ve doğal antioksidanların birlikte kullanıldıklarında yaptıkları etkinin, tek başına kullanımlarında yaptıkları etkiler toplamından daha fazla olup olmadıkları, dolayısıyla indüksiyon süresini ve koruma faktörünü arttırmada ne derece etkin oldukları % Sinerjizm değeri olarak ifade edilmeye çalışılmıştır (Bölüm 2.3, 2.13 no'lu denklem).

Tablo 3.6. Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların sinerjistik etkilerinin hesaplanması amacıyla kullanılan antioksidanlar ile katılım konsantrasyonları

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)
Kontrol	0
BAE	400
BHT	50
α -tokoferol	100
BHA +BAE	100+400
BHT+BAE	50 +400
α -tokoferol+ BAE	100+400

3.2.9. İstatistiksel metotlar

Farklı çözümler için "Aktif karbonla ağartma" işlemi öncesi ve sonrasında % Ekstraksiyon verimlerindeki ve Toplam Fenolik Madde miktarlarındaki değişim %95 güven aralığında F testi ile incelenmiştir. Değişik ekstraksiyon çözümleri

kullanımının biberiyeden antioksidan ekstraksiyonu verimi ve toplam fenolik madde içeriğine etkisi tesadüf parselleri deneme deseni kullanılarak analizlenmiştir.

Yine farklı çözenler için % Ekstraksiyon verimlerindeki ve Toplam Fenolik Madde miktarlarındaki değişimin “Aktif karbonla ağartma işlemi” öncesi ve sonrasında birbirleriyle olan korelasyonları hesaplanmış, ayrıca direkt olarak % Ekstraksiyon veriminde ve Toplam Fenolik Madde miktarındaki %azalma miktarları arasındaki korelasyon da incelenmiştir.

Fındık füresi yağında DTK ve Ransimat olmak üzere 2 farklı cihaz kullanılarak elde edilen OİS ve KF değerleri üzerinde cihaz kullanımından kaynaklanabilecek farklılıklar tesadüf parselleri deneme deseni kullanılarak analizlenmiştir. Bunun dışında farklı çözenler kullanılarak elde edilen biberiye ekstraktlarının % ekstraksiyon verimi, Toplam Fenolik Madde miktarları ile bu ekstraktların füre yağına katılması ile elde edilen OİS ve KF değerleri aralarındaki korelasyon incelenmiştir.

Çalışmanın diğer aşamasında farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının fındık füresi yağında DTK ve Ransimat ile ölçülen OİS ve KF değerleri arasındaki korelasyon analizlenmiş ve farklı konsantrasyonlarda biberiye antioksidan katılımının DTK ve Ransimat ile ölçülen OİS ve KF değerleri üzerindeki etkisi basit tesadüfi parselleri deneme desenine göre ANOVA yapılmıştır ($p < 0.05$).

Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen PD ve KDHP değerleri, *p*-Anisidin değerleri ve TOTOKS değerlerinin birbirleriyle aralarındaki (PD-KDHP, PD- *p*-Anisidin ve PD-TOTOKS, *p*-Anisidin-TOTOKS, *p*-Anisidin-KDHP, KDHP-TOTOKS) korelasyon incelenmiştir.

DTK cihazı kullanılarak yapılan ölçümlerde 6 farklı sıcaklık için (100,110, 120, 145, 155, 165°C), Ransimat cihazı ile yapılan ölçümlerde 3 farklı sıcaklık (100,110, 120) için öncelikle sıcaklık farkları göz önünde bulundurulmaksızın antioksidan ilavesinin hem DTK hem de Ransimat cihazı ile belirlenen füre yağının OİS üzerindeki ve KF üzerindeki etkisi “Tek yollu ANOVA” yöntemi ile belirlenmiştir. Hem sıcaklığın hem de antioksidan ilavesinin yağın OİS’si üzerindeki etkileri ve sıcaklık ile antioksidan ilavesi işlemi arasındaki interaksiyon “İki yollu ANOVA” istatistiksel yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın son aşamasında ise farklı sentetik antioksidanların fındık fûresi yağının hem DTK hem de Ransimat cihazında belirlenen OİS ve KF değerlerini arttırmadaki etkinliğinin incelenmesinde “Tek yollu ANOVA” istatistiksel yöntemi kullanılmıştır.

Kullanılacak istatistiksel yöntemin belirlenmesinde literatür bilgilerinden yararlanılmış ve analizler Excel Bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır (Spiegel ve Meddis, 1980, Bender ve diğ., 1989).



4. BULGULAR

4.1. Materyal Karakterizasyonu

4.1.1. Biberiyenin karakterizasyonu

Biberiyede ve fındık fûresinde Leco TGA-601, Termal Gravimetri Cihazı kullanılmak suretiyle gerçekleştirilen nem, kül tayinlerinin sonuçları ve Türk Standartları'nda belirtilen sınır değerler Tablo 4.1.'de verilmiştir.

4.1.2. Fındık fûresinin karakterizasyonu

Fındık fûresinde Termal Gravimetri Cihazı (Leco TGA-601) kullanılmak suretiyle gerçekleştirilen nem ve kül tayinlerinin sonuçları ve Türk Standartları'nda belirtilen sınır değerler Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Sonuçlara göre kaynak materyal olarak kullanılan fındık fûresi ve biberiye yaprakları nem ve kül içerikleri açısından Türk Standartları Enstitüsü'nce belirtilen üst sınır değerlerinin altında bulunmuştur.

Kapiler gaz-sıvı kromatografisi (Hewlett-Packard 5890 Seri II) yöntemi ile belirlenen Fındık fûresi yağının yağ asidi bileşimleri ise, ilgili literatür değerleriyle birlikte Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Biberiye ve kavrulmuş fındık fûresi örneğinde nem ve kül tayini sonuçları

Materyal	Nem Tayini Sonuçları, %		Kül Tayini Sonuçları, %	
	Deney Sonuçları	TSE'Değerleri	Deney Sonuçları	TSE'Değerleri
Biberiye	8.7	<10 (TS 11126)	5.7 6.2 *	<10 (TS 11126)
Fındık Fûresi	0.09	<3 (TS 10938)	2.704 2.707 *	<%1.5-2 Fındık Ezmesi (TS 8371)

*Kuru ağırlık üzerinden

**Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

Fındık füresi yağının yağ asidi kompozisyonuna ilişkin bir literatür değeri olmaması nedeniyle sonuçlar taze fındıklara ilişkin literatür değerleri ile karşılaştırılmış, aynı fındık cinsi için minimum ve maksimum sınır değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Ürünün 1. sınıf özellikte kavrulmuş fındık füresi olarak TS 10938’de belirtilen koşullara uygun olarak üretildiği görülmektedir. Kahve renkli, kendine has tat ve kokuya sahip, olması, yanık tad ve koku içermemesi gibi nedenlerle de ürün standartlara uygun bulunmuştur.

Tablo 4.2. Kapiler gaz-sıvı kromatografisi yöntemi ile belirlenen fındık füresi yağının yağ asidi bileşimleri, füre yağının refraktif indeksi ve ilgili literatür değerleri

Yağ Asidi Cinsi	Fındık füresi yağı ‘nda %Yağ Asidi Bileşimi (Deney Sonuçları)	Türk Tipi Fındık Çeşitlerine Ait Literatür Değerleri ⁽¹⁾
Palmitik (C 16:0)	5.27	2.96-7.49
Palmitoleik (C 16:1)	0.19	(0.22) *
Stearik (C 18:0)	1.91	0.2-2.80
Oleik (C 18:1)	87.26	73.10-90.71
Linoleik (C 18:2)	5.1	4.40-16
Refraktif İndeks	1.4677	1.4610

⁽¹⁾ (Kırbaşlar, 1998, Yazıcıoğlu ve Karaali, 1988, Özdemir ve Devres, 1999)
(Ayfer ve diğ., 1986, Baş ve diğ., 1986).

*Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

4.2. Ekstrakt Verimi

Biberiyeden öncelikle 6 farklı çözügen kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen “% Ekstraksiyon Verimi” sonuçları “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası” aşamalarında Tablo 4.3.’de, ilgili literatür değerleriyle birlikte karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan çözügenler polariteleri azalan şekilde sıralanacak olurlarsa; “Metanol> Aseton> Etanol> Metilendiklorür> Dietileter> Heksan” şeklindedir (Pomeranz ve Meloan, 1987). Dolayısıyla bu çalışmada da sonuçların (% ekstraksiyon veriminin) kullanılan çözügenin polaritesine bağlı olarak arttığı

gözlendi. Bir çalışmada da ekstraksiyonda kullanılan çözgenin polaritesine bağlı olarak antioksidan aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Gür ve Ova, 1997).

Tablo 4.3. Biberiyeden antioksidan eldesinde kullanılan farklı çözgenler için % Ekstraksiyon Verimleri

Çözgen Türü	% Ekstraksiyon Verimi ⁽¹⁾	% Ekstraksiyon Verimi ⁽²⁾	Ekstraksiyon Verimindeki %Kayıp	Literatür Değerleri
Metanol	21.1	12.8	39	5.3 (a), 26 (b) 5 ⁽²⁾ (c)
Aseton	19.5	9.2	52	13.8 (b)
Etanol	15	9.1	39	-
Metilen diklorür	14.2	5.1	64	2.3 (a) (Etilendiklorür)
Dietileter	13.4	4.25	68	2.5 (a)
Heksan	5.3	1.2	77	4.2 ⁽¹⁾ (b), 1.6 ⁽²⁾ (a)

⁽¹⁾ Aktif karbon ile ağartma öncesi

(a): Chang ve diğ., 1977

⁽²⁾ Aktif karbon ile ağartma sonrası

(b): Chen ve diğ., 1992

(c) : Moyler, 1994

*Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

Ayrıca Chang ve diğ. 'nin (1977) yılında benzer çözgenler kullanarak yaptıkları ve %5.3 ile en yüksek verimin metanolden ve %1.6 ile en düşük verimin de heksan ekstraktından elde edilmiş olduğu çalışma bu sonuçları doğrulamaktadır. Bu çalışmada %verim sonuçlarının “ Metanol>Dioksan>Kloroform=Benzen = Dietileter >Etilendiklorür> Heksan” şeklinde bulunmuş olması, genellikle polar çözgenler ile ekstraksiyonda %verimin arttığını doğrulamaktadır. Fakat bu tez çalışmasında bulunan verimler, Chang ve diğ. (1977) tarafından bulunan ekstraksiyon verimlerinden daha yüksektir.

Özçelik ve Karaali (1998) yine Türkiye’de yetişen fakat temin edildiği yer ve hasat zamanı açısından farklılık gösteren biberiye yaprakları kullanarak yaptıkları çalışmada da çözgen polaritesi ile verimin artmasına ilişkin benzer sonuçlar bulunmuş olup, bu çalışmada kullanılan biberiye yaprakları %antioksidan verimi açısından daha yüksek bulunmuştur. Aynı ülkede yetişen biberiyelerin antioksidan

içerikleri tarandığında, biberiyelerin antioksidan içerikleri, çeşitleri ve miktarları arasında çok farklılıklar bulunabildiğine ilişkin literatür bilgisi mevcuttur. Doğal ekstraktların kalitesinin ve antioksidatif performansının öncelikle orijinal bitki materyalinin kalitesine, yetiştiği yörenin coğrafyasına, iklim koşullarına ve hasat zamanına bağlı olduğu da belirtilmektedir (Cuvelier ve diğ., 1996).

Ağartma işleminin neden olduğu % ekstraksiyon verimindeki azalmanın farklı çözenler için maksimum %77 ile biberiyenin heksan ekstraktında, %39 ile etanol ve metanol ekstraktında minimum düzeyde olduğu görülmüştür.

Farklı çözenler için “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası” ‘nda % Ekstraksiyon verimlerindeki değişimlerin birbirleriyle olan ilişkisi ($r: 0,908$, $p<0.001$) ($r_{0.001,16} : 0.708$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ekstraksiyon verimlerinin “Aktif karbonla ağartma” işlemleri öncesinde ve sonrasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Ek 1).

Biberiyeden antioksidan eldesinde farklı çözenler kullanımının hem aktif karbonla ağartma öncesi hem de sonrasında % Ekstraksiyon verimleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur (Ek 2 ve 3).

4.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Biberiyeden 6 farklı çözen kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemleri sonucunda hesaplanan Toplam Fenolik Maddelerin miktarları ise Tablo 4.4.’de ilgili literatür değerleriyle birlikte verilmiştir.

Tablo 4.4. Farklı çözen türleri için aktif karbonla ağartma öncesi ve sonrasında Toplam Fenolik Madde miktarları

Çözen Türü	TF M Miktarı ($\mu\text{g fenol /gr biberiye}$)		%Kayıp (3)
	(1) AKAO	(2) AKAS	
Metanol	39	30	41.5
Aseton	19.7	11.5	24
Etanol	25.1	11.5	41.6
Metilendiklorür	18.4	6	60
Dietileter	17.5	7	67
Heksan	6	1.5	75

(1) Aktif karbon ile ağartma öncesi

(2) Aktif karbon ile ağartma sonrası

(3) Aktif karbon ile ağartmada %kayıp

* Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

Biberiye antioksidan ekstraktlarının “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası” ndaki Toplam Fenolik Madde miktarının büyükten küçüğe doğru “Metanol> Aseton> Etanol> Metilen diklorür> Dietileter> Heksan” şeklinde olması kullanılan çözünenin polaritesine bağlı olarak ekstrakte edilebilen Toplam Fenolik Madde miktarlarının arttığını göstermektedir. Antioksidatif özelliğe sahip olan maddelerin polar maddeler oldukları ve polar çözünenlerle daha iyi ekstrakte edilebildiklerine ilişkin sonuçlar mevcuttur. Örneğin daha polar yapıdaki karnosik asitin karnosolden daha yüksek antioksidatif etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Richeimer ve diğ., 1996).

Ağartma işleminin neden olduğu % Toplam Fenolik Madde miktarındaki azalmanın farklı çözünenler için maksimum %75 ile biberiyenin heksan ekstraktında, minimum düzeyde de %23 ile aseton ekstraktında olduğu görülmüştür.

“Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası”nda % Ekstraksiyon verimleri ile Toplam Fenolik Madde miktarlarındaki %kayıp arasındaki ilişki ($r: 0,678$, $p<0.05$) ($r_{0.05,16}: 0.468$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Farklı çözünenler için “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası”nda Toplam Fenolik Madde miktarlarındaki değişimlerin %95 güven aralığında, hatta %99 güven aralığında dahi birbirleriyle olan ilişkileri ($r: 0,940$), ($r_{0.05,16}: 0.468$), ($r_{0.01,16}: 0.708$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Ayrıca “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası”nda Toplam Fenolik Madde miktarları arasındaki farklılık F testi ile incelendiğinde ($p<0.05$) önemsiz bulunmuştur (Ek 1).

Biberiyeden antioksidan eldesinde farklı çözünenler kullanımının hem aktif karbonla ağartma öncesi hem de sonrasında Toplam Fenolik Madde miktarları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemlidir (Ek 4 ve 5) (Spiegel ve Meddis, 1980).

Literatür taraması sonucunda biberiyede Toplam Fenolik Madde miktarına ilişkin bir bilgi bulunamamış olup, bu nedenle karşılaştırma yapmak mümkün olmamıştır. Fıstık ununda Toplam Fenolik Madde miktarı 63.6-175.5 mg/100 gr. olarak bulunmuştur (White and Xing, 1997). Ayrıca Gutfinger (1981) yılında yaptığı çalışmada farklı zeytinyağı örnekleri için toplam fenol miktarını 118-361 ppm.

aralığında bulmuştur. Bu çalışma aynı zamanda aynı cins gıdaların farklı toplam fenolik madde miktarlarına sahip olabildiklerini göstermektedir. Tian ve White ise yine Folin-Ciocalteu Yöntemi ile yulafın metanol ekstraktları için 30.53 ppm fenol miktarı bulmuştur. Pirinç kabuğunda ise 190-390 ppm Toplam Fenolik Madde Miktarı bulunmuştur (Ramarathnam ve diğ., 1995).

4.4. Biberiye Antioksidan Ekstraktının Fındık Füresi Yağının OİS Üzerindeki Etkileri

Biberiye antioksidan ekstraktı eldesinde farklı çözenler kullanımının fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerinin karşılaştırılmasında DTK ve Ransimat cihazı kullanılması ile elde edilen OİS ve KF değerleri birlikte Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Biberiye antioksidan ekstraktı eldesinde kullanılan çözen türünün OİS üzerine etkisine ilişkin DTK ve Ransimat sonuçları

BAE Eldesinde Kullanılan Çözen Türü	DTK		RANSİMAT	
	OİS (dk)	KF	OİS (saat)	KF
Normal Yağ	12. 56	1	15	1
Metanol	14.51	1.62	22	1.46
Aseton	17.9	1.42	25	1.6
Etanol	15.9	1.26	32	2.13
Dietileter	20.8	1.65	33	2.2
Heksan	16. 01	1.27	27.5	1.83

*Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

OİS : Oksidatif İndüksiyon Süresi

KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]

Çalışmanın bu bölümünde DTK cihazı ile elde edilen sonuçlara göre farklı çözenler için KF değeri-dolayısıyla kontrolün OİS'ndeki artış, büyükten küçüğe doğru "Dietileter >Metanol > Aseton > Heksan> Etanol" şeklinde sıralanmaktadır.

Ransimat cihazı için elde edilen KF değerleri de DTK sonuçlarına benzer olarak yine en fazla dietil eter ekstraktında, en az ise etanol ekstraktında bulunmuştur. Ransimat cihazı ile bulunan KF değerleri büyükten küçüğe doğru "Dietileter > Aseton > Heksan> Metanol > Etanol" şeklinde sıralanabilir.

DTK ve Ransimat sonuçları arasındaki farklılığın, farklı ekstraktların değişik çözenlerdeki çözünürlük özelliğindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

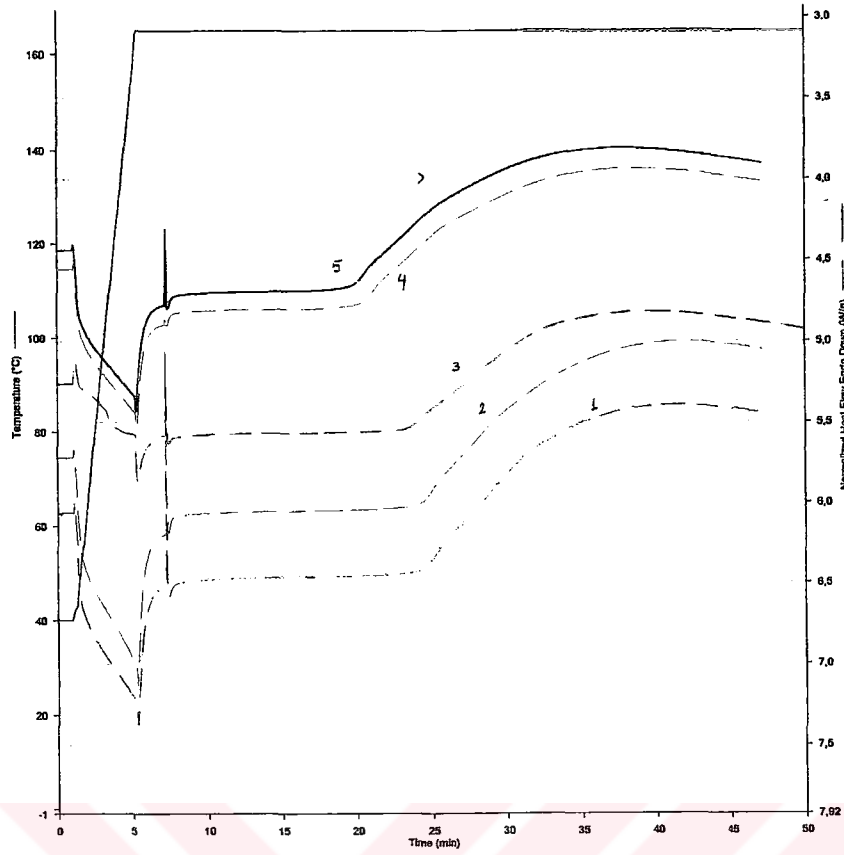
Burada Bölüm 3.2.2.'de toz veya granüler halde elde edilen ve derin dondurucuda saklanan ham biberiye antioksidan ekstraktlarının tekrar elde edildikleri çözgenlerde çözölmeleri sırasında çeşitli problemlerle karşılaşölmüştür. Etanol ve metanol ile elde edilen biberiye antioksidan ekstraktları, aynı zamanda yağda da kolaylıkla çözönmemişlerdir. Bu aşamada bu iki çözgen için daha fazla süre hafif ısıtma ve manyetik karıştırmacıda karıştırma işlemleri uygulanmıştır.

Bu çalışmada farklı çözgenlerin etkisinin karşılaştırılması amaçlandığından, etanol ve metanol ekstraktlarının konsantre edilmesi amacıyla, çözgenin düşük sıcaklıkta uçurulması vakum yardımıyla olmasına karşın, laboratuvar imkanları ile çok uzun süreler almakta ve bu işlemin de ilaveten antioksidan kaybına neden olabileceğı düşünölmektedir. Bu nedenle çok pratik değildir. Özellikle heksanın verimi çok düşük olup Offord ve diğ.'nin de (1997) belirttiğı gibi mumsu maddeleri çok fazla tutmaktadır. Metilen diklorürün de benzer yapışkan maddeleri tuttuğı gözlenmiştir. Aseton ise suyu çok fazla tuttuğundan kolaylıkla kurutulamamakta ve tekrarlarında konsantrasyonun düzgün olarak belirlenebilmesinde güçlük yaratmaktadırlar.

Son yıllarda ekstraksiyonda pratik olarak etanol, etanol-su karışımları ve metanol gibi alkoller daha fazla tercih edilmektedir. Fakat bu çalışmalar daha çok biberiyeden ileri saflaştırma yapmaksızın direkt olarak çözgen ekstraktının kullanıldığı ve gıdaya katıldığı çalışmalardır. Farklı çözgenlerin birlikte kullanımının denendiğı çalışmalara ise ileri düzeyde biberiye antioksidan bileşenlerinin ayrılmaya çalışıldığı çalışmalardır (Brocco ve diğ., 1981, Wu ve diğ., 1982, Houlihan ve diğ., 1984; 1985).

Farklı çözgenler kullanılarak elde edilmiş olan biberiye antioksidan ekstraktları ilave edilmiş fındık füresi yağlarına ait orjinal DTK sonuçları Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Farklı çözgenler kullanılarak elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarındaki Toplam Fenolik Madde miktarları ve % ekstraksiyon verimleri ile fındık füresi yağının Ransimat ve DTK cihazları ile belirlenen, OIS değerleri arasındaki ilişki korelasyon katsayıları verilerek Tablo 4.6.'da ifade edilmiştir.



1: Dietileter, 2: Metanol, 3: Aseton, 4: Heksan, 5: Etanol

Şekil 4.1. Farklı çözümler kullanılarak elde edilmiş olan biberiye antioksidan ekstraktları ilave edilmiş fındık furesi yağlarına ait orijinal DTK sonuçları.

Tablo 4.6. Farklı çözümlerle elde edilen biberiye antioksidan ekstraktında % ekstraksiyon verimi, TFM miktarları tayini ile, yine biberiye antioksidan ekstraktlarının fındık furesi yağındaki OİS'lerinin DTK ve Ransimatta belirlenen OİS'leri arasındaki korelasyon katsayıları

İşlemler	OİS-DTK	OİS-Rans	KF-DTK	KF-Rans	TFM	%Verim
OİS-DTK	1	0.762***	0.899***	0.761***	-0.594	-0.521
OİS-Rans		1	0.720***	0.993***	-0.839***	-0.807***
KF-DTK			1	0.730***	-0.561	-0.505
KF-Rans				1	-0.836***	-0.804***
TFM					1	0.885***
%Verim						1

* ($r_{0.05, 16} : 0.468$)

** ($r_{0.01, 16} : 0.590$)

*** ($r_{0.001, 16} : 0.708$)

Burada elde edilen sonuçlar değerlendirilecek olursa, DTK ve Ransimat cihazları kullanılarak tespit edilen OİS'leri arasındaki korelasyon (r : 0.762), göreceli olarak KF'leri arasındaki korelasyondan biraz daha yüksek çıkmıştır (0.730). En yüksek korelasyon Ransimat cihazının OİS ve KF arasında olup (r : 0.993), DTK cihazı ile elde edilen OİS-KF değerleri arasındaki ilişkiden yüksektir (r : 0.899). Ayrıca TFM miktarı ve %Eks. Verimi ile DTK'da elde edilen OİS ve KF değerleri arasındaki ilişki çok düşük olup, istatistiksel olarak ($p < 0.01$) önemsizdir.

DTK ve Ransimat olmak üzere iki farklı cihaz kullanımının füre yağının OİS ve KF değerleri üzerindeki etkisi F testi ile incelendiğinde hem OİS hem de KF değerleri için ($p < 0.05$) güven aralığında farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmuştur (Ek 6).

Chang ve diğ. (1977) yaptıkları bir çalışmada farklı çözügenlerle elde edilen biberiye antioksidan ekstraktlarının domuz iç yağının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisinin PD tayini ile belirlenen koruma etkisinin (OİS) azalan sırayla "Etilendiklorür > Metanol > Dioksan > Kloroform = Benzen = Etiler > Heksan" şeklinde olduğunu bildirmektedirler.

Ekstraksiyon verimi (%) ve Toplam Fenolik Madde miktarları ile, DTK ve Ransimat cihazlarında ölçülen OİS arasında herbir çözügen için doğru orantılı bir ilişki olmadığı görülmüştür. Zaten Chang ve diğ. (1977)'nin benzer çözügenler kullanarak biberiyeden antioksidan elde ettikleri çalışmada da, antioksidan aktivitesinin, %verim ile direkt olarak korele etmediği görülmüştür. Bununla birlikte farklı çalışmalarda antioksidan aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde miktarı arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunmuştur (Rhee ve diğ., 1981) ve yüksek Toplam Fenolik Madde miktarı (polifenoller) miktarlarına sahip yağların düşük perosit değerlerine sahip oldukları görülmüştür (Gutfinger, 1981).

4.5. Fındık Füresi Yağının OİS Üzerine Farklı Konsantrasyonlarda Biberiye Antioksidan Ekstraktı İlavesinin Etkisine İlişkin DTK ve Ransimat Sonuçları

Biberiye antioksidan ekstraktının farklı miktarlarda fındık füresi yağına ilavesi sonucunda DTK ve Ransimat'ta ölçülen koruma faktörü değerleri Tablo 4.7.'de

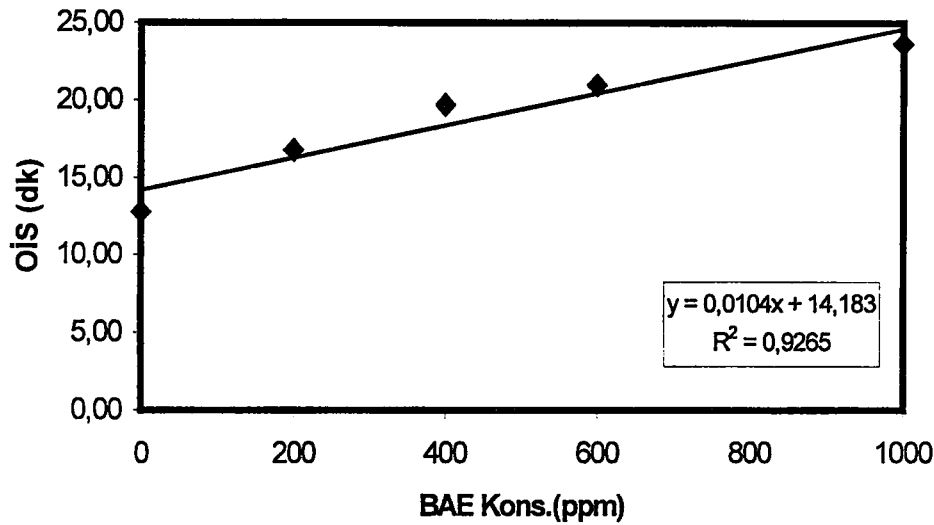
verilmiştir. Ayrıca biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonuna bağlı olarak DTK'da belirlenen OİS'nin değişimini gösteren grafik Şekil 4.2.'de, Koruma Faktörünün değişimini gösteren grafik Şekil 4.3.'de, biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonuna bağlı olarak Ransimat'ta belirlenen OİS'nin değişimini gösteren grafik Şekil 4.4.'de, Koruma Faktörünün değişimini gösteren grafik Şekil 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda biberiye antioksidan ekstraktı katılımının fındık füresi yağında DTK ve Ransimat ile ölçülen OİS ve KF değerleri

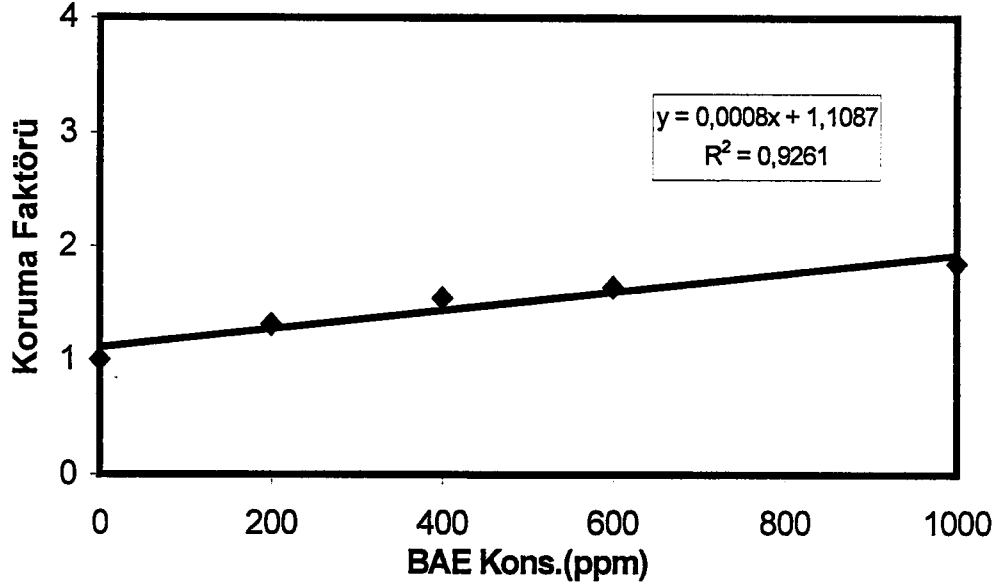
BAE Konsantrasyonu (ppm)	DTK Sonuçları		Ransimat Sonuçları	
	OİS (dk)	KF	OİS (saat)	KF
0	12.8	1	14.5	1
200	16.7	1.31	18.1	1.25
400	19.6	1.54	24.6	1.7
600	20.9	1.64	31.9	2.2
1000	23.6	1.85	34.8	2.4
2000	-	-	37.7	2.6

*Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

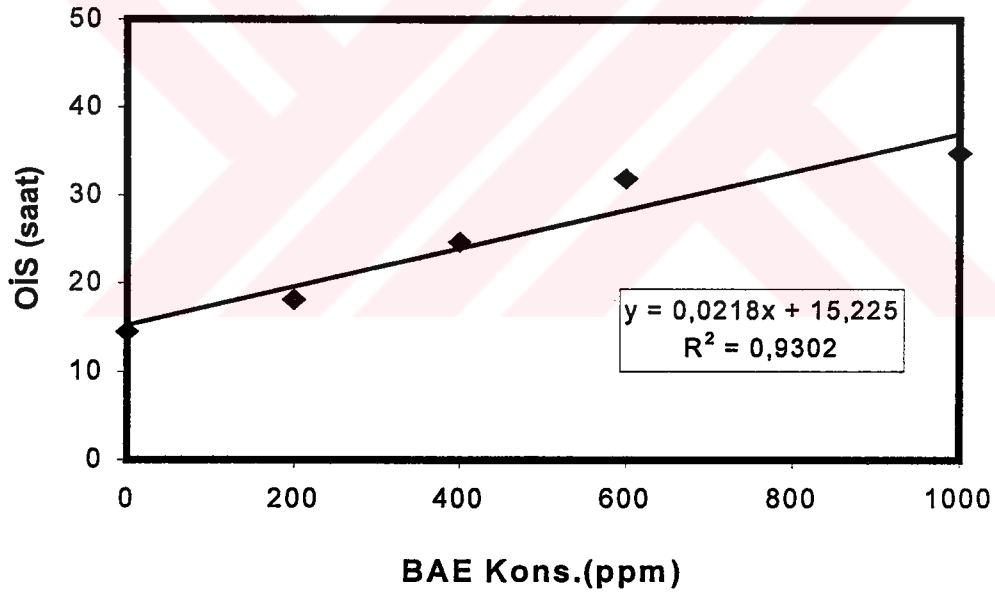
KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]



Şekil 4.2. Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak DTK'da tespit edilen OİS'nin değişimini gösteren grafik

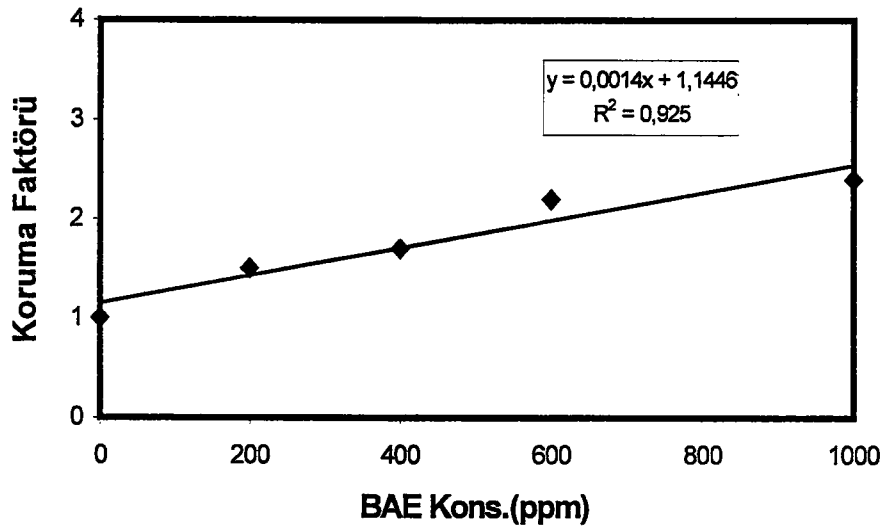


Şekil 4.3. Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak DTK sonuçlarına göre tespit edilen KF' nün değişimini gösteren grafik



Şekil 4.4. Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Ransimat'ta tespit edilen OİS nin değişimini gösteren grafik

Cuvelier ve diğ. (1990) yaptığı ve farklı konsantrasyonlarda ham ve saflaştırılmış biberiye antioksidan ekstraktı katılımının antioksidatif aktivite üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, bu araştırmadakine benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür.



Şekil 4.5. Biberiye antioksidan ekstraktı konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Ransimat'ta tespit edilen KF'nün değişimini gösteren grafik

Aynı gıda çeşidi üzerinde farklı yöntemler kullanılarak yapılan hızlandırılmış raf ömrü testlerinde, farklı OİS ve dolayısıyla farklı KF değerleri elde edildiği görülmüştür. Buna örnek olarak Gordon ve Kourimska (1995) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonuçları Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Kolza yağında farklı yöntemlerle OİS ve KF değerleri tespiti (Gordon ve Kourimska, 1995).

Yağ Çeşitleri	Ransimat (saat) (120°C)		Ağırlık Artışı* (gün)		Peroksit Değeri** (gün)	
	OİS	KF	OİS	KF	OİS	KF
Kolza yağı	12.26	1	3.33	1.00	1.06	1.00
BHA ilaveli (200 ppm)	12.6	1.05	4.16	1.25	0.97	0.91
BHT ilaveli (200 ppm)	12.4	1.03	3.96	1.19	1.34	1.26
BAE ilaveli (1000 ppm)	17.3	1.43	4.47	1.34	1.36	1.27

* 80°C'da ağırlığın 4 g/kg değişmesi için gerekli süre

** 80°C'da PD'nin 20 mmol/kg'a ulaşması için gerekli süre

Domuz iç yağında farklı sentetik antioksidanlar ile biberiyeden elde edilen saf karnosik asitin değişik konsantrasyonlarda katılımının koruma faktörü (KF) artışına etkisinin gözlemlendiği bir çalışmada (Ransimat, 120°C), biberiye karnosik asitinin koruma faktörünün, 0-1000 ppm aralığında konsantrasyonla doğru orantılı olarak

arttığı, buna karşın diğer sentetik antioksidanların düşük dozlarda etkisini kaybedebildiği gözlenmiştir (Evans, 1997).

Fındık füresi yağına farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının hem DTK hem de Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS ve KF değerleri üzerindeki farklılık etkisi “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi kullanılarak ($p<0.05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 7-10) (Spiegel ve Meddis, 1980).

4.6. Sıcaklığın Fındık Füresi Yağının OİS Üzerindeki Etkisi

DTK Yöntemi Sonuçları

Bölüm 3.2.5.’te belirtilen koşullarda elde edilen normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 145, 155, 165⁰C ve 100, 110, 120⁰C sıcaklıklarında DTK cihazında Bölüm 3.2.6.’da belirtildiği koşullarda analiz edilmesi sonucunda farklı sıcaklıklar için belirlenen OİS ve Koruma Faktörü değerleri Tablo 4.9.’da verilmiştir.

Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 100-120⁰C ve 145-155⁰C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı OİS değerleri sırasıyla Şekil 4.6 ve Şekil 4.7.’de, log OİS değerleri yine sırasıyla Şekil 4.8.’de ve Şekil 4.9.’da verilmiştir.

Tablo 4.9. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağı için DTK’da farklı sıcaklıklar için belirlenen OİS ve KF değerleri (dk.)

Sıcaklık (⁰ C)	Normal fındık füresi yağı’na ait OİS (dk.)	Antioksidanlı fındık füresi yağı’na ait OİS(dk.)	KF
100	552,1	672,7	1.21
110	484,3	764,8	1.56
120	91	226,4	2.48
145	37,9	60	1.60
155	24.9	42.4	1.70
165	8.7	15	1.70

*Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

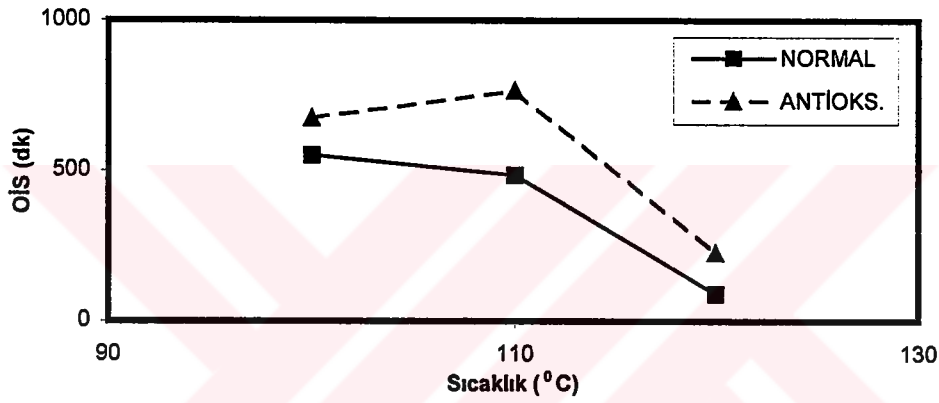
KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]

DTK’da gerçekleştirilen esas çalışma işlemi 165⁰C gibi yüksek sıcaklıklarda olduğundan 145-165⁰C sıcaklık aralığındaki sonuçlar kendi aralarında değerlendirilmiştir. 100-120⁰C sıcaklık aralığındaki çalışmalarda DTK sonuçlarının

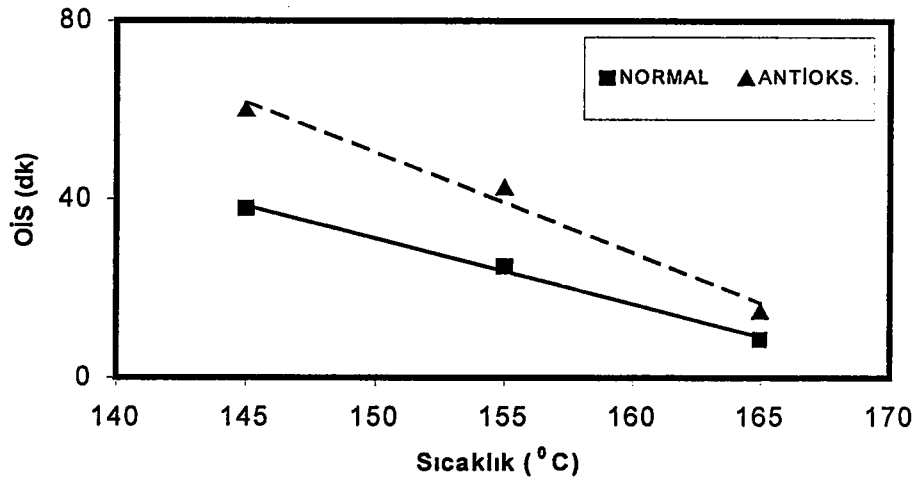
Ransimat sonuçları ile karşılaştırılması amaçlandığından, farklı bir sıcaklık aralığında farklı bir çalışma grubu olarak ele alınmıştır.

DTK cihazı kullanılarak farklı sıcaklıklarda tekrar edilen OİS belirlemelerinde antioksidan ilavesinin füre yağının OİS'ni artırma etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemsiz bulunmuştur (Ek 11).

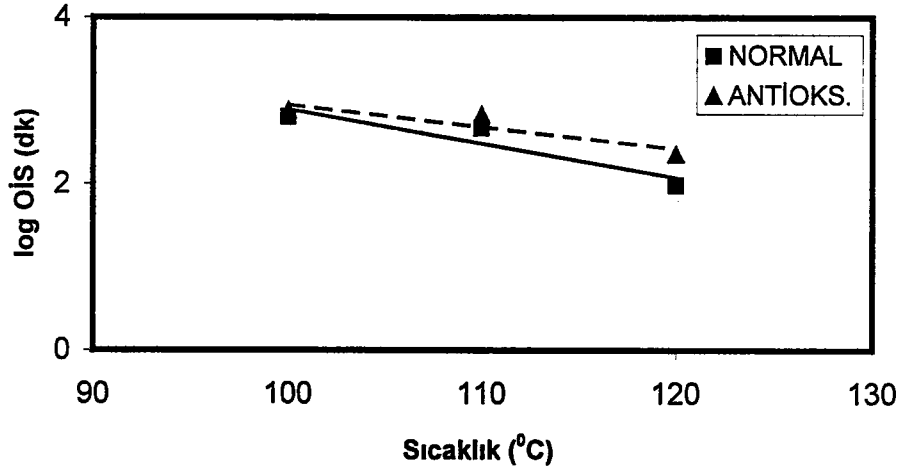
Farklı sıcaklıklarda DTK cihazı kullanılarak (100, 110, 120, 145, 155, 165°C) normal ve antioksidanlı yağda farklı sıcaklıkta ölçüm yapmanın KF değerleri üzerine etkisi tek yollu ANOVA istatistiksel yöntemi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur (Ek 12) (Spiegel ve Meddis, 1980).



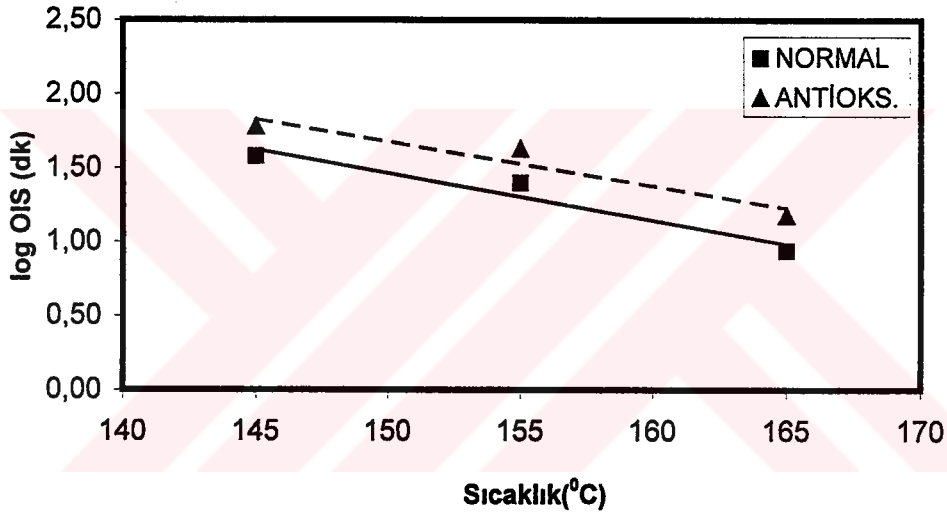
Şekil 4.6. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 100-120°C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı OİS grafiği



Şekil 4.7. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 145-165°C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı OİS grafiği



Şekil 4.8. Normal ve antioksidanlı fındık furesi yağının 100-120°C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı log OIS grafiği



Şekil 4.9. Normal ve antioksidanlı fındık furesi yağının 145-165°C aralığında DTK da ölçülen sıcaklığa karşı [log OIS] grafiği

Yine farklı sıcaklıklar için normal ve antioksidanlı yağda DTK cihazı kullanılarak belirlenen OİS'leri arasındaki farklılık iki yollu ANOVA istatistiksel yöntemi ile değerlendirildiğinde hem ölçüm sıcaklıklarının değişiminin, hem de antioksidan ilavesinin OİS üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak ($p < 0.05$) çok çok önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca sıcaklık ve antioksidan ilavesi işlemlerinin birbirleriyle olan etkileşimleri de istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemlidir. Dolayısıyla değişik sıcaklıklarda ölçümden doğan OİS farklılıkları ile antioksidan ilavesinden kaynaklanan OİS değerlerindeki farklılık aynı değildir. Sonuçlar Ek 13'te verilmiştir.

DTK cihazında yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlara göre 100-120°C'lar arasındaki ölçümlerde, KF sıcaklığının artmasıyla artmıştır; oysa 145-165°C

DTK cihazında yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlara göre 100-120°C'lar arasındaki ölçümlerde, KF sıcaklığın artmasıyla artmıştır; oysa 145-165°C sıcaklıktaki KF değerlerinin ölçüm sıcaklıklarından fazla etkilenmediği görülmüştür. 165 ve 155°C sıcaklıklardaki KF değerleri ise eşit olup, 145°C'dakinden ancak 0,1 daha fazla değerdedir. Ayrıca DTK cihazında 145-165°C'daki sıcaklık aralığında belirlenen OİS'ndeki değişim, 100-120°C'daki çalışma sonuçlarından daha doğrusaldır.

Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C ve 145-165°C) DTK cihazında ölçülen OİS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q_{10} değerleri Tablo 4.10'da verilmiştir. Ayrıca 2. Bölümde verilen ve 2.10 no'lu denklem kullanılarak hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri (E_A) de Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.10. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C ve 145-165°C) DTK cihazında ölçülen OİS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q_{10} değerleri

SICAKLIK (°C)	YAĞ ÇEŞİDİ	DENKLEM		R^2	Q_{10}
100-120°C	ANTIOKSİDANLI	OİS	$-3,1522 T^2 + 671,17 T - 34,922$	1	1,60
		log OİS	$-0,0473 T + 7,5571$	1	
	NORMAL	OİS	$-1,6277 T^2 + 335,04 T - 16675$ (2.derece polinom.)	1	1,60
		log OİS	$-0,0412 T + 7,0211$	0,86	
145-165°C	ANTIOKSİDANLI	OİS	$2,25 T + 387,9$	0,99	1,35
		log OİS	$-0,0301 T + 6,1934$	0,92	
	NORMAL	OİS	$1,4594 T + 250,07$	0,98	1,37
		log OİS	$-0,0319 T + 6,254$	0,94	

Tablo 4.11. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C ve 145-165°C) DTK cihazı ile belirlenen Q_{10} değerleri kullanılarak hesaplanan Aktivasyon Enerjisi (E_A) değerleri

Sıcaklık (°C)	Aktivasyon Enerjisi (E_A) (kkal/mol) (Antioksidanlı Yağ)	Aktivasyon Enerji (E_A) (kkal/mol) (Normal Yağ)
100-110	13.3	13.3
110-120	14.0	14.0
<i>100-120 (ort)</i>	<i>13.65</i>	<i>13.65</i>
145-155	10.65	11.17
155-165	11.15	11.7
<i>145-165 (ort)</i>	<i>10.9</i>	<i>11.43</i>

DTK cihazında yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlara göre 100-120°C sıcaklıklar arasında OIS lerindeki değişim hem antioksidanlı hem de normal fındık füresi yağı için daha çok polinomialdir. Oysa 145-165°C'larda sıcaklık-OIS değişiminin 1. dereceden doğrusal olduğu bulunmuştur.

DTK cihazı ile yapılan ölçümlerde 100-120°C' larda yapılan ölçümler için bulunan Q_{10} değerleri ile buna bağlı olarak hesaplanan aktivasyon enerjileri antioksidanlı ve normal fındık füresi yağı için aynı bulunurken, 145-165°C larda normal fındık füresi yağına ait Q_{10} değeri ve aktivasyon enerjileri, antioksidanlı fındık füresi yağından daha yüksek olarak bulunmuştur. Q_{10} değerindeki artışlar, sıcaklıktaki her 10°C artışın raf ömründeki azalmaya etkisi olarak tanımlandığından, antioksidanlı yağın sıcaklık artışından daha az etkilenebileceği sonucu makul bir düşüncedir. Bununla birlikte literatürde özellikle hızlandırılmış raf ömrü testlerinde normal ve antioksidanlı yağların aktivasyon enerjilerinin hemen hemen aynı çıkabildiği belirtilmiştir (Ragnarsson ve Labuza, 1977).

Öte yandan, gıdalarda Q_{10} değerinin genellikle 1,5 ve 2 arasında bulunduğuna ilişkin literatür bilgileri mevcuttur. Fakat bu çalışmalar çoğunlukla daha kompleks gıdalara uygulanmıştır; ayrıca uygulanan yöntem ve çalışılan sıcaklık derecelerinin de Q_{10} değerinde değişikliğe neden olabileceği bilinmektedir.

Yüksek sıcaklıkta yapılan raf ömrü çalışmalarında düşük sıcaklıkta yapılanlara göre daha düşük aktivasyon enerjisi elde edilmesi Tablo 4.12’de özetlenen literatür bilgileri ile uyum göstermektedir (Labuza ve Riboh, 1982).

Tablo 4.12. Farklı aktivasyon enerjisi (E_A) değerleri için sıcaklığa bağlı olarak Q_{10} değerlerinin değişimi (Labuza ve Riboh, 1982).

Aktivasyon Enerji Değerleri (E_A) (kkal/mol)	Q_{10}		
	(-17.8)-(-11) ($^{\circ}\text{C}$)	26.7-36.7 ($^{\circ}\text{C}$)	100-110 ($^{\circ}\text{C}$)
5	1.45	1.31	1.19
10	2.11	1.72	1.42
15	3.06	2.26	1.70
20	4.43	2.97	2.03
30	6.43	5.11	2.88
40	9.35	8.74	4.10
50	41.39	15.03	5.83

Hızlandırılmış raf ömrü testleri yüksek sıcaklıklarda yapıldığından (100°C) civarında, bulunan Q_{10} değeri düşük sıcaklıklarda yapılan hızlandırılmış raf ömrü testlerine göre daha düşük olmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda çalışılırken genellikle belirli aralıklarla yapılan ölçümler arasındaki OİS farkı fazla olmamakta dolayısıyla, belirli sıcaklık aralığı için, özellikle $\pm 20^{\circ}\text{C}$ ’larda yapılan dolayısıyla, sıcaklığa karşı log OİS’ nin eğiminden yararlanmanın mümkün olduğu çalışmalarda, eğimin az olması logaritmasının da düşük çıkmasına ve düşük Q_{10} değerlerinin bulunmasına neden olmaktadır. DTK cihazında yapılan çalışmalarda ise, $145-165^{\circ}\text{C}$ fark fazla olmamakta dolayısıyla, belirli sıcaklık aralığı için, özellikle $\pm 20^{\circ}\text{C}$ ’lardaki Q_{10} değerinin, $100-120^{\circ}\text{C}$ ’daki çalışmalarda bulunan Q_{10} değerinden daha küçük olması literatür bilgilerini doğrulamaktadır (Labuza ve Taoukis, 1990).

Ransimat Yöntemi Sonuçları

Bölüm 3.2.5. te belirtilen koşullarda elde edilen fındık füresi yağının $100, 110, 120^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarında Ransimat cihazında yine Bölüm 3.2.7.’de belirtildiği koşullarda analiz edilmesi sonucunda, farklı sıcaklıklar için saptanan OİS değerleri Tablo 4.13’de verilmiştir.

Ransimat cihazında yapılan ölçümler sonucunda elde edilen KF değerleri aynı sıcaklıklarda DTK da yapılan ölçümlerden daha tutarlı olup, 100-120°C ve 145-165°C sıcaklıklarda yapılan DTK ölçümlerine göre ara bir değerde bulunmuştur. Bu sonuçlar DTK cihazında 145-165°C gibi sıcaklıklarda çalışma sonuçlarının Ransimat kadar tutarlı olabildiğini, bununla birlikte, 100-120°C sıcaklıklarda DTK da işlem süresinin de uzun sürmesi göz önünde bulundurularak, ölçümlerin yine de Ransimat cihazından daha az zaman almasına rağmen, 145-165°C gibi sıcaklıklar için uygun sonuçlar verebildiğini göstermektedir.

Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 100-120°C aralığında Ransimat'da ölçülen sıcaklığa karşı OİS değerleri Şekil 4.10'da ve log OİS değerleri Şekil 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağı için Ransimat Cihazında (100-120°C) belirlenen OİS değerleri

Sıcaklık (°C)	OİS (saat) (Normal fındık füresi yağı)	OİS (saat) (Antioksidanlı fındık füresi yağı)	KF
100	41	84.5	2
110	23	50	2.1
120	9.9	22	2.2

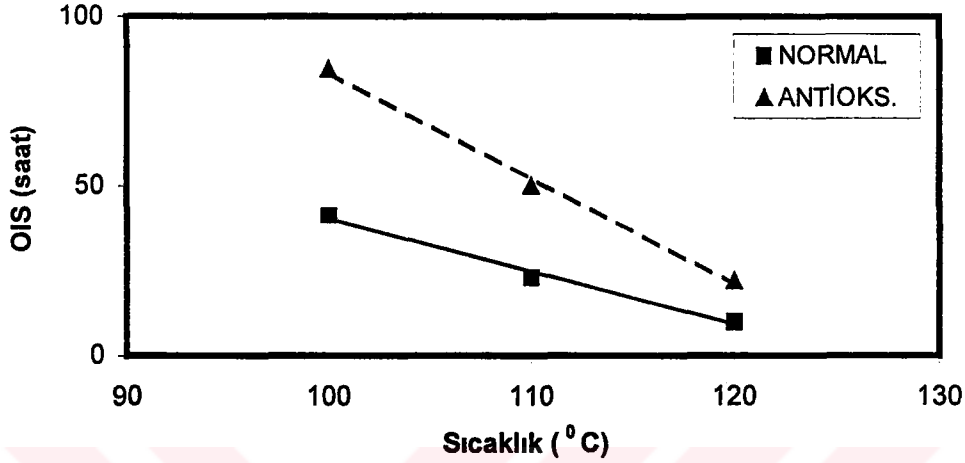
*Verilen değerler üç tekrarlı çalışma sonuçlarıdır.

KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]

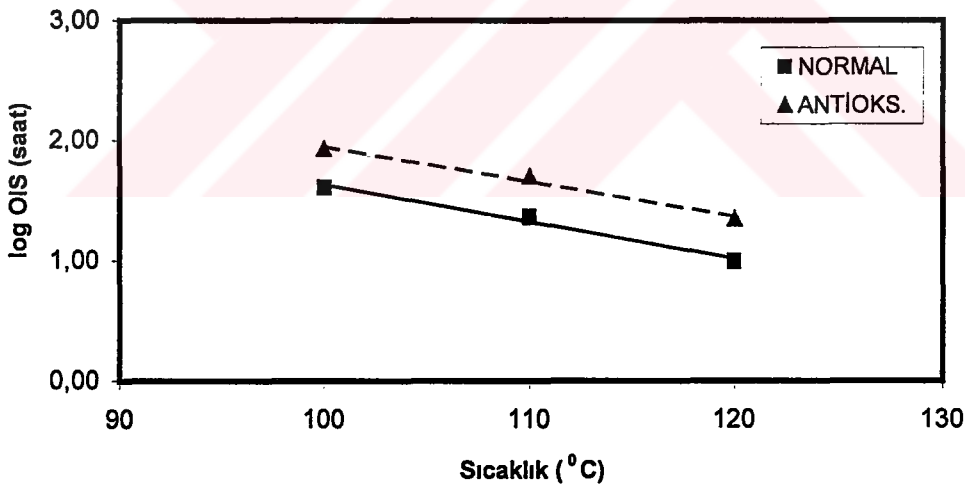
Ransimat cihazı kullanılarak farklı sıcaklıklarda tekrar edilen OİS belirlemelerinde antioksidan ilavesinin füre yağının OİS'ni arttırma etkisi istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemsiz bulunmuştur (Ek 14) (Spiegel ve Meddis, 1980). Farklı sıcaklıklarda Ransimat cihazı kullanılarak (100, 110, 120°C) normal ve antioksidanlı yağda farklı sıcaklıkta ölçüm yapmanın KF değerleri üzerine etkisi tek yönlü ANOVA istatistiksel yöntemi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemli etkisi olmadığı görülmüştür (Ek 15) (Spiegel ve Meddis, 1980).

Yine farklı sıcaklıklar için normal ve antioksidanlı yağda Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS'leri arasındaki farklılık iki yönlü ANOVA istatistiksel yöntemi ile değerlendirildiğinde Ransimat ile ölçümde hem ölçüm sıcaklıklarının değişiminin, hem de antioksidan ilavesinin OİS üzerindeki etkisinin istatistiksel

olarak ($p<0.05$) çok çok önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca sıcaklık ve antioksidan ilavesi işlemlerinin birbirleriyle olan interaksiyonları da istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemlidir. Dolayısıyla değişik sıcaklıklarda ölçümden doğan OİS farklılıkları ile antioksidan ilavesinden kaynaklanan OİS değerlerindeki farklılık aynı değildir. Sonuçlar Ek 16'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 100-120°C aralığında Ransimat'da ölçülen sıcaklığa karşı OIS grafiği



Şekil 4.11. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağının 100-120°C aralığında Ransimat'da ölçülen sıcaklığa karşı log OIS grafiği

Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C) Ransimat cihazında ölçülen OİS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q_{10} değerleri Tablo 4.14'de verilmiştir. Ayrıca 2. Bölümde verilen ve 2.10 no'lu denklem kullanılarak hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri (E_A) de Tablo 4.15'de verilmiştir.

Tablo 4.14. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C) Ransimat cihazında ölçülen OİS ve log OİS'lerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile bu denklemlere ait regresyon katsayıları ve Q₁₀ değerleri

Sıcaklık (°C)	Yağ Çeşidi	Denklem		R ²	Q ₁₀
100-120°C	ANTIOKSİDANLI	OİS	3.125 T+395.92	0.99	1.34
		log OİS	-0.0292 T+4.8705	0.98	
	NORMAL	OİS	-1.555 T+195.68	0.99	1.36
		log OİS	-0.0309 T+4.7177	0.98	

Ransimat cihazında yapılan ölçümlerde farklı sıcaklıklar için (100-120°C), OİS'lerindeki değişim aynı sıcaklıkta gerçekleştirilen DTK sonuçlarından daha doğrusaldır (Regresyon katsayısı 0,99).

Tablo 4.15. Normal ve antioksidanlı fındık füresi yağında farklı sıcaklıklara karşın (100-120°C) Ransimat cihazı ile belirlenen Q₁₀ değerleri kullanılarak hesaplanan Aktivasyon Enerji (E_A) değerleri

Sıcaklık (°C)	Aktivasyon Enerji (E _A) (Kkal/mol) (Antioksidanlı Yağ)	Aktivasyon Enerji (E _A) (Kal/mol) (Normal Yağ)
100-110	8.3	8.71
110-120	8.73	9.18
100-120 (ort)	8.51	8.95

Ransimat'ta normal ve antioksidanlı yağ için bulunan Q₁₀ değerleri, daha önce Hasenhuettle ve Wan (1992) tarafından sıcaklığın (100-140°C) çeşitli yağlardaki OİS üzerine etkilerini izleyen bir çalışmada 100-120°C sıcaklık aralığı için fıstık yağında Q₁₀ değeri 1,37 olarak bulunan değere yakındır. Bu çalışmada fıstık yağı için (100-140°C) doğru denklemi $-0.031561X+3.873735$ olarak (1. Dereceden denklem) bulunmuştur (Hasenhuettle ve Wan, 1992).

Ayrıca yine AOM ve Ransimat sonuçlarının karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada 100, 110, 120⁰C sıcaklıklar için Ransimat cihazında yapılan analizlerde, fıstık yağı için Q₁₀ değeri 1,37 olarak bulunmuştur (Bu çalışmalarda Q₁₀ değerleri belirtilmemiş olup, karşılaştırmayı sağlayabilmek amacıyla, diğer deney değerlerinden bizzat hesaplanarak saptanmıştır) (Laubli ve Bruttel, 1986).

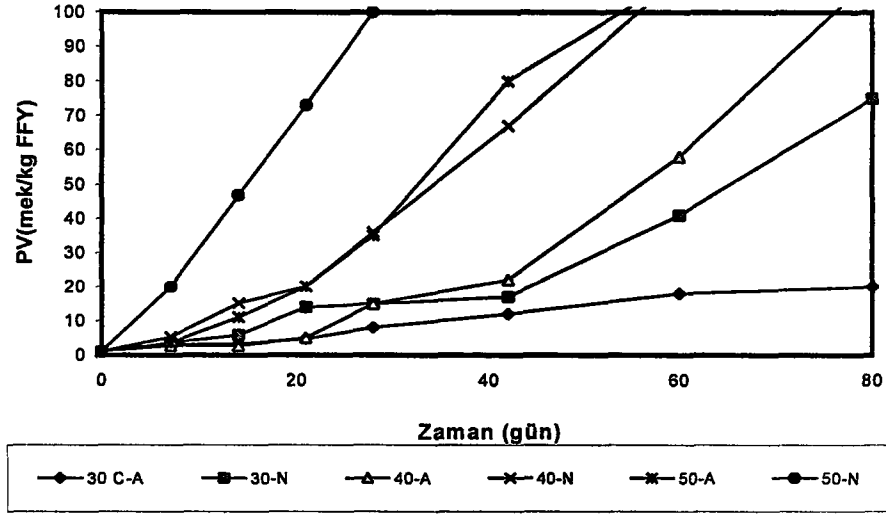
Aynı sıcaklıkta normal ve antioksidanlı yağ için DTK cihazında ölçüm yapılarak belirlenen E_A değerleri, Ransimat cihazında saptanan E_A değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Schaal Fırın Testi Sonuçları

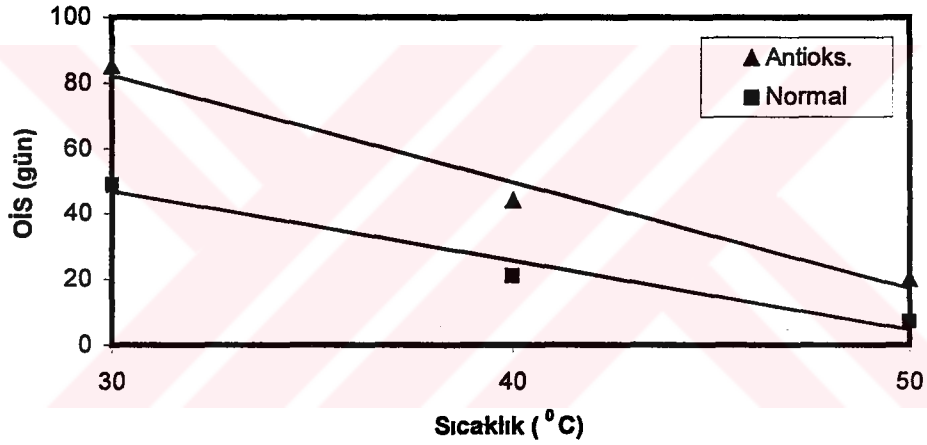
Saf fındık füresi yağı ile optimum konsantrasyon olarak belirlenen 500 ppm biberiye antioksidan ekstraktı ilave edilmiş fındık füresi yağının üç farklı sıcaklıkta (30, 40, 50⁰C) Schaal Fırın testine tabi tutulması sonucunda farklı sıcaklıklarda depolanan fındık füresi yağı örneklerinde zamana bağlı olarak lipit oksidasyonundaki değişim PD, KDHP ve *p*-Anisidin değerleri ile kontrol edilmiştir. Farklı sıcaklıklarda depolanan fındık füresi yağı örneklerinde zamana bağlı olarak PD değerlerindeki değişim grafiği Şekil 4. 12'de verilmiştir.

PD tayinlerinde fındık füresi yağında peroksit değerinin 20'ye ulaştığı nokta OİS olarak belirlenmiştir. Domuz iç yağında bu değer 20 olarak belirtilmektedir. Benzer nedenlerle peroksit değeri olarak 25 (Evranoz, 1993), hatta 11 (Carelli ve diğ., 1996) gibi değerlerin OİS olarak kullanıldığı mevcut diğer çalışmalar da bulunmaktadır. AOM ile yapılan ölçümlerde ise peroksit değeri 100'e ulaşınca kadar geçen süre OİS olarak belirtilmiştir (Anon, 1992d).

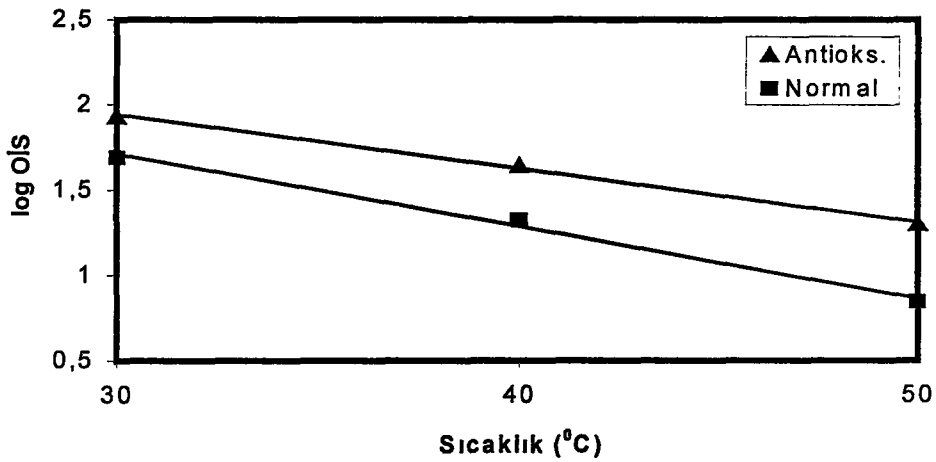
Farklı sıcaklıklarda depolanan fındık füresi yağı örneklerinde ölçülen peroksit değerlerine bağlı olarak OİS'ndeki değişim Şekil 4.13'de, yine sıcaklığa bağlı olarak log OİS'deki değişim ise Şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı peroksit değerlerindeki değişim



Şekil 4.13. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde ölçülen peroksit değerlerine bağlı olarak OİS'ndeki değişim



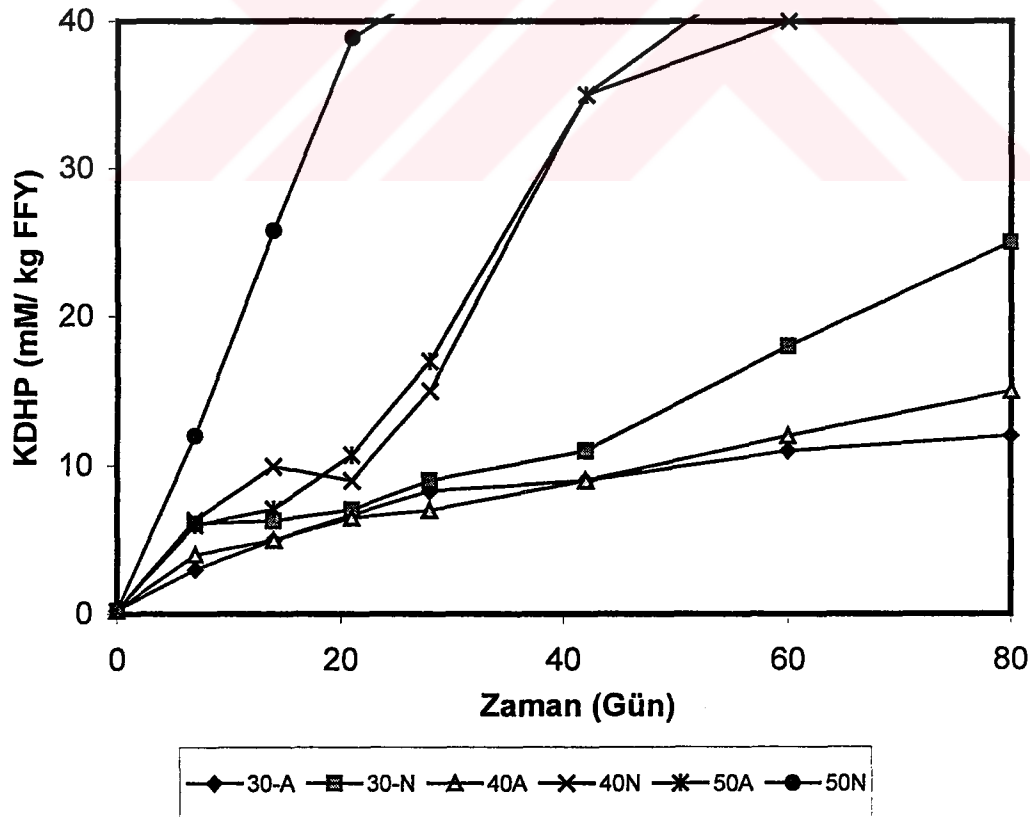
Şekil 4.14. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde ölçülen peroksit değerlerine bağlı olarak log OİS'ndeki değişim

Normal ve antioksidanlı fındık furesi yağında Schaal Fırın Testi uygulanarak, 30,40,50°C için peroksit değerlerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile regresyon katsayıları Tablo 4.16'da verilmiştir.

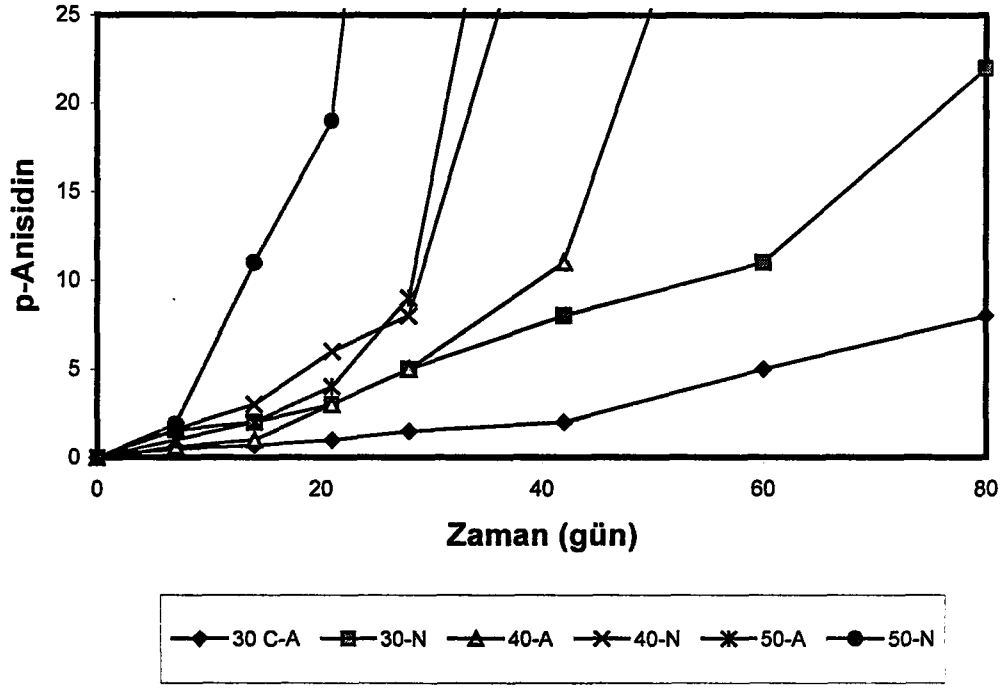
Tablo 4.16. Normal ve antioksidanlı fındık furesi yağında Schaal Fırın Testi uygulanarak (30-50°C) belirlenen peroksit değerlerindeki değişimi tanımlayan doğru denklemleri ile regresyon katsayıları.

Sıcaklık (°C)	Yağ Çeşidi	log OIS	R ²
30-50	ANTIOKSİDANLI	-0,0314T+ 2.8814	0.9973
	NORMAL	-0.0423 T+ 2.976	0.9945

Farklı sıcaklıklarda depolanan fındık furesi yağı örneklerinde zamana bağlı olarak KDHP değerlerindeki değişim grafiği Şekil 4.15'de, *p*-Anisidin değerlerindeki değişim grafiği, Şekil 4.16'da, TOTOKS değerlerindeki değişim Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.15. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık furesi yağı örneklerinde zamana karşı KDHP değerlerindeki değişim

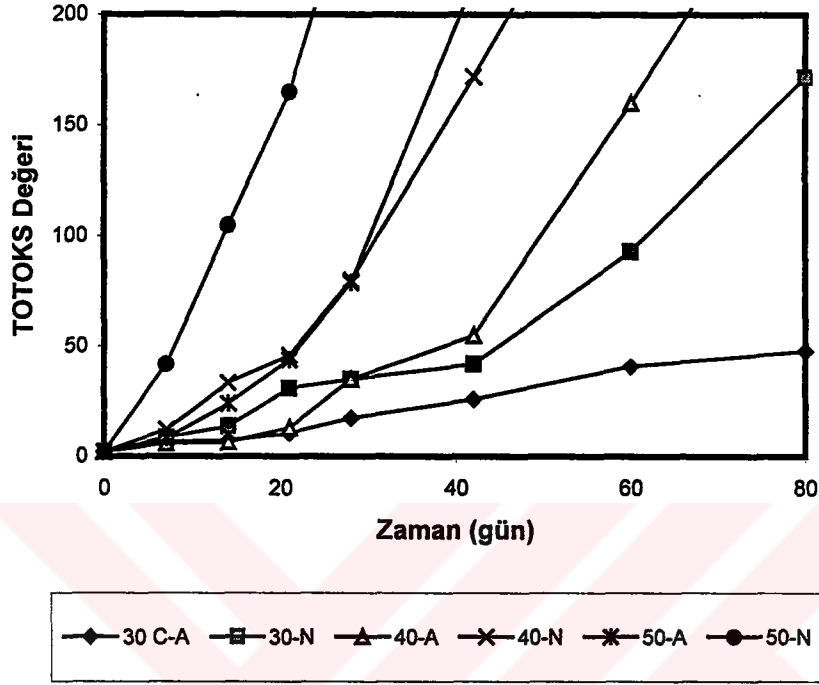


Şekil 4.16. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı *p*-Anisidin değerlerindeki değişim

Çeşitli biberiye antioksidan ekstraktlarının ve karnosik asit, karnosol gibi bileşenlerin saf halde farklı yağlara katılarak 60°C'da Fırın testi ile lipit oksidasyonunun hızlandırıldığı bir çalışmada fıstık yağı emülsiyonu için 6. günden sonra, antioksidanlılarda ise 9. günden sonra KDHP miktarında artış olduğu görülmüştür. Her yağ örneği için farklı KDHP değerlerinde ivmelenme olmuştur (Frankel ve diğ., 1996). Diğer literatürlerde de belirli bir KDHP değerinin OİS belirlenmesinde referans olarak alınmadığı görülmüştür. Bu nedenle bu çalışmada da analiz sıklığının yeterli olamayabileceği öngörüsüyle ivmelenme noktasının iyi gözlenememesi söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle bu değerlerden OİS ve Q₁₀ değerlerinin hesaplanması yoluna gidilmemiştir.

Fındık füresi yağı örneklerinde lipit oksidasyonunun Schaal Fırın Testi ile ölçülmesinde PD, KDHP, *p*-Anisidin ve TOTOKS değerleri arasındaki ilişki katsayıları Tablo 4.17'de verilmiştir. Ayrıca PD ve KDHP değerleri arasındaki korelasyon grafiği Ek 17.'de, PD ve *p*-Anisidin değerleri arasındaki korelasyon grafiği Ek 18'de, KDHP ve TOTOKS değerleri arasındaki korelasyon grafiği Ek 19'da, KDHP ve *p*-Anisidin değerleri arasındaki korelasyon grafiği Ek 20'de, TOTOKS ve *p*-Anisidin değerleri arasındaki korelasyon grafiği ise Ek 21'de

verilmiştir. Burada en düşük korelasyonlar daha çok KDHP ve *p*-Anisidin değerleri arasında bulunmuştur. En yüksek korelasyon ise farklı sıcaklıklar için PD ve TOTOKS değerleri arasında bulunmuştur. Tablo 4.17’de ($r_{0.001,6}$: 0.0.9249) için önemli bulunan korelasyon katsayıları “*” işareti ile belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık furesi yağı örneklerinde zamana karşı TOTOKS değerlerindeki değişim

Tablo 4.17. Fındık furesi yağı örneklerinde lipid oksidasyonunun Schaal Fırın Testi ile ölçülmesinde PD, KDHP, *p*-Anisidin ve TOTOKS değerleri arasındaki korelasyon katsayıları

Fındık furesi yağı Örnekleri	Korelasyon Katsayıları					
	PD-KDHP	PD- <i>p</i> -Anisidin	PD-TOTOKS	TOTOKS- <i>p</i> -Anisidin	TOTOKS-KDHP	KDHP- <i>p</i> -Anisidin
30-A	0.92	0.94*	0.9985*	0.958*	0.913	0.826
30-N	0.96*	0.984*	0.9982*	0.988*	0.968*	0.970*
40-A	0.89	0.98	0.9979*	0.992*	0.894	0.892
40-N	0.96*	0.97*	0.9976*	0.992*	0.963*	0.932*
50-A	0.99*	0.96*	0.9972*	0.978*	0.994*	0.946*
50-N	0.97*	0.89	0.9972*	0.980*	0.953	0.801

* $r_{(0.001,6)}$: 0.9249

32, 60 ve 180⁰C'da soya yağı için Schaal Fırın testinin uygulandığı ve lipit oksidasyonunun belirli aralıklarla PD, KDHP, TBA gibi yöntemlerle izlendiği bir çalışmada 32⁰C'da bekletilen soya yağının, OİS nin hem antioksidanlığı hem de normal yağlar için 45 gün, 60⁰C'da depolananlarda ise 6 gün olduğu bulunmuştur (Mehta ve diğ., 1994a-b).

Bekletilmemiş soya yağında yemeklik yağların oksidasyon durumunu aydınlatan bu kriterlerden *p*-Anisidin değerinin 2'den küçük olmasının yağın tazeliğinin göstergesi olduğu bildirilmiştir. TOTOKS değerinin ise 4'ün üzerinde olmaması istenmektedir (Anon, 1992c). Bununla birlikte başka kaynaklarda *p*-Anisidin değerinin 10'dan büyük olması durumunda yağın bozulmuş kabul edilebileceği belirtilmektedir (Hudson, 1989).

Fındık fûresine son derece benzer özellik ve yapıda bir ürün olan fıstık fûresinde PD değerlerinin KDHP değerleri ile orantılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Angelo ve diğ., 1979).

γ -tokoferolün kolza yağı üzerindeki antioksidatif etkisinin 40⁰C'da depolama sonucu gözlemlendiği bir çalışmada kontrol yağda PD değerinde hemen ivmelenme olurken, *p*-Anisidin değerinde yaklaşık 10. günde ivmelenme söz konusu olmuştur (Lampi ve diğ., 1997). Ayrıca bulunan *p*-Anisidin değerlerinin PD ile olan korelasyonu açısından bu çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Angelo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada KDHP ve PD arasındaki korelasyon katsayısı 0,98 olarak bulunmuştur (Angelo, ve diğ., 1975). Ayrıca 100⁰C'daki Ransimat sonuçları için fıstık yağında PD ile *p*-Anisidin değeri arasındaki Korelasyon katsayıları (*r*), 10 saatlik bekletme için 0,85, 20 saatlik bekletme için ise 0,67 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan korelasyon katsayılarının daha yüksek olması, Ransimat yerine Schaal Fırın testi kullanılıyor olmasından veya ölçüm aralıklarının farklı olması gibi nedenlerden kaynaklanabilmektedir (Hudson, 1989).

4.7. Sentetik Antioksidanların (BHA, BHT, α -tokoferol) ve BAE'nin Fındık Füresi Yağındaki Koruyucu Etkileri

Çalışma sonuçlarına göre fındık füresi yağının DTK'da analizi ile elde edilen OİS İndüksiyon süreleri ve Koruma faktörleri Tablo 4.18'de ve Tablo 4.19'da özetlenmektedir.

Tablo 4.18. Fındık füresi yağına katılan ticari antioksidanların fındık füresi yağının DTK'da belirlenen OİS değeri üzerindeki etkileri

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)	OİS (dk)	KF
Kontrol	0	12.59	1,0
BHA	200	15.11	1.20
BHT	100	20.15	1.60
α -tokoferol	200	20.15	1.60
BAE	500	20.5	1.63

*Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

KF : OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)

Alınan sonuçlara göre fındık füresine katılan ticari antioksidanların koruma etkileri az bir farkla büyükten küçüğe doğru BAE>BHT= α -tokoferol>BHA şeklinde bulunmuştur.

Tablo 4.19. Farklı antioksidanların Ransimat'ta belirlenen oksidatif stabilite değerleri (OİS)

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)	OİS (saat)	KF
Kontrol	0	14.4	1.00
BHA	200	20.3	1.41
BHT	100	21.8	1.52
α -tokoferol	200	15.7	1.09
BAE	500	30.2	2.1

*Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]

BHA ile α - tokoferol, yağda benzer koruma etkisi yapmışlar, BHA ise en az etkili olmuştur. Bununla birlikte katılan diğer antioksidanlardan hepsinin beklenen koruma etkisini yaptıkları gözlenmiştir.

Fındık füresi yağına farklı antioksidanlar katılımının DTK cihazı kullanılarak belirlenen fındık füresi yağının OİS ve KF'ne etkileri tek yollu ANOVA yöntemi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur (Ek 22 ve 23).

Fındık füresi yağının Ransimatta ölçülen OİS değerleri literatürde mevcut olan diğer fındık ve fıstık yağlarıyla ilgili değerler ile karşılaştırılmıştır. Ancak fındık füresi yağına ilişkin özgün bulgulara benzer literatür bilgisi bulunamadığından, hem Ransimat hem de DTK sonuçlarını tam olarak karşılaştırmak söz konusu olamamıştır.

Çalışmanın sentetik antioksidanların Türk Gıda Kodeksi'nde yağlı ürünlere katılımına izin verilen miktarlarda ilave edildiğinde Ransimat sonuçlarına göre en yüksek etkiyi biberiye antioksidan ekstraktının yaptığı, daha sonra BHT nin, BHA'nın ve en düşük düzeyde de α - tokoferolün etkili olduğu görülmüştür (BAE>BHT>BHA> α - tokoferol).

Fındık füresi yağına farklı antioksidanlar katılımının Ransimat' cihazı kullanılarak belirlenen fındık füresi yağının OİS ve KF'ne etkileri, tek yollu ANOVA yöntemi ile değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur (Ek 24 ve 25).

Bu çalışmada fındık füresi yağına ait 120⁰C'da ölçülen OİS 12.2 saat olarak bulunmuş olup, bu değer Yeni Zelanda'da yetişen bir tür fındık çeşidinde (*Corylus avellana L.*) 110⁰C'da Metrohm 679 ransimatta gerçekleştirilen analiz sonucu taze olarak ekstrakte edilen fındık yağı için 15.6 ile 25.3 saat arasında bulunan OİS değerleri ile benzerlik göstermektedir, (Bu fındık çeşitlerinde palmitik, stearik, oleik yağ asitleri toplamı %73.8- 80 civarında olup, toplam doymuş yağ asitleri ise %8'den küçük bulunmuştur). İkisi Avrupa, üçü Amerikan kökenli olmak üzere toplam 5 farklı cins fındıkta da yapılan analizler sonucu Ransimat değerleri (110⁰C) 17.9 ile 25.3 arasında bulunmuştur (Yağ oranı %56.1-63.2 arasında değişmektedir). Burada stabilitenin fındığın yağ asiti içeriğine değil, tokoferol (özellikle γ - tokoferol) miktarına göre değiştiği sonucuna varılmıştır (Savage ve diğ., 1997). Bu çalışmaların 110⁰C da gerçekleştirildiği düşünülürse, Akçakoca yöresine ait Tombul cinsi

findıklardan üretilen fındık fûresi yağının, en az yabancı kökenli taze findıklar kadar yüksek stabiliteye sahip olduğu saptanmıştır. Öte yandan, İspanya’da yetişen ve yağ oranları %62.8- 67.4 arasında değişen belli başlı 6 cins işlem görmemiş taze fındık yağı üzerinde yapılan Ransimat analizi sonuçlarının (120⁰C), 4.40 ile 9.55 arasında değiştiği görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca linoleik asit miktarı ile oksidatif stabilite arasında ters orantılı bir ilişki bulunmuştur; bu çok beklenir bir olgudur, çünkü çok doymamış yağlarda otooksidasyon daha hızlı gelişmektedir.

Bu sonuçlara göre, materyal olarak kullanılan fındık fûresi yağı, literatürde belirtilen fındık çeşitlerinden çok daha stabildir.

Fındık fûresi yağına farklı sentetik antioksidanlar ilavesi sonucunda bulunan OİS’nin değerlendirilmesinde, yapılan diğer çalışmalar için bulunan literatür özetleri Tablo 4.20.’de özetlenmektedir.

Tablo 4.20. Sentetik antioksidanların farklı yağlar üzerinde belirlenen KF değerlerine ait literatür bilgileri (Schuler, 1990).

Antioksidanlar	Konsantrasyon (mg/kg yağ)	KF	
		Domuz iç yağı	Fıstık Yağı
Karnosik Asit (Sentetik)	100	9.3	-
	200	17.6	2.2
α - tokoferol	100	5.1	-
	200	7.9	1.1
BHA	200	6.4	1.2
BHT	200	3.3	1.2

Tablo 4.20.’de görülen diğer araştırmacılara ait çalışma sonuçları Tablo 4.19.’daki bu çalışmaya ait bulgular ile karşılaştırıldığında, sentetik antioksidanlar ile biberiye antioksidan ekstraktının taze fındık veya fıstık yağı gibi benzer gıdalara göre dahi daha yüksek antioksidatif aktivite gösterdiği saptanmıştır. Domuz iç yağında yapılan tüm çalışmalar ise domuz iç yağında her türlü antioksidanın göreceli olarak daha yüksek koruma etkisi yaptığını göstermektedir.

Tablo 4.20’de domuz iç yağında BHA nın daha yüksek etki yaptığı görülmekte iken, α -tokoferol en düşük etkiyi yapmıştır. İşlem görmemiş fıstık yağında ise α -tokoferol

en düşük koruma etkisine sahip olup, BHA ile BHT hemen hemen aynı etkiyi göstermişlerdir. Öte yandan, DTK cihazında hesaplanan OİS sonuçlarına göre BHT ile α -tokoferolün fındık fûresi yağındaki koruma faktörü, Ransimat ile elde edilen ve fındık yağına ait sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur.

Benzer bir çalışmada, 200 ppm α -tokoferol katılan işlem görmemiş fındık yağı 120°C'da Ransimat ile ölçüldüğünde 3 saat, koruma faktörü ise fındık yağındaki α -tokoferol içeriğine bağlı olmaksızın 1.09 ile 1.24 arasında değişmiştir (Pratt, 1990). Bu sonuca göre α -tokoferolün fındık fûresi yağındaki koruma etkisinin fındık yağındakine benzer düzeyde olduğu görülmüştür.

Sentetik antioksidanlardan BHA ve BHT'nin domuz iç yağında oksidatif stabiliteye olan etkisinin araştırıldığı pekçok çalışmada, BHA'nın BHT'den daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Buna karşın fındık yağı, ayçiçek yağı gibi pekçok bitkisel yağda BHA'nın yüksek oranda antioksidatif etki sağlamadığı görülmüştür. BHA'nın BHT ile benzer etki yaptığı, hatta hiç antioksidatif etki yapmadığının dahi görüldüğü çalışmalar mevcuttur (Cort, 1974). Ayrıca antioksidatif aktivitenin tayin yöntemine göre de sonuçların bazı değişiklikler gösterdiği yapılan çalışmalarda görülmüştür. Bulguların karşılaştırılarak daha iyi değerlendirilebilmesi açısından farklı yöntemlerle farklı yağlarda yapılan bazı çalışmaların sonuçları Tablo 4.21.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.21.'de görüldüğü gibi soya fasulyesi yağında, AOM uygulandığında, BHT en etkili olup, BHA ise α -tokoferol ile benzer düzeyde etkili olmuştur.

Bir başka çalışmada ise dodekan çözgeni içerisinde korunan metil linoleatta ticari antioksidanlar kullanılarak AOM (110°C, hızlandırılmış oksidasyon-7ml/dk. oksijen girdisi) ile ölçülen antioksidatif aktiviteler, sırasıyla BHA > γ -tokoferol > BHT > α -tokoferol > deodorize BAE > ham BAE olarak bulunmuştur. Metil-linoleatta antioksidanların koruyucu etkilerinin 120°C da fındık fûresi yağı için bulunan Ransimat sonuçları ile aynı olduğunu göstermektedir. Öte yandan burada aynı antioksidatif etkiyi sağlamak için ham biberiye antioksidan ekstraktından, BHA'nın 50, BHT'nin 18.75, α -tokoferolün 5 ve deodorize biberiye antioksidan ekstraktından ise 2.14 katı konulması gerektiği bulunmuştur. Böylece, deodorize edilmiş biberiye antioksidan ekstraktının ham biberiye antioksidan ekstraktından daha yüksek

antioksidatif aktiviteye sahip olduğu sonucu çıkmıştır. Dolayısıyla antioksidatif aktivitece zengin bileşenlerin asıl oleorezinin uçucu olmayan kısmında bulunduğu, yahut da deodorizasyonun, uçucu kısmındaki bileşenlerin içerebileceği prooksidatif maddeleri uzaklaştırdığı varsayılmaktadır (Cuvelier ve diğ., 1990).

Tablo 4.21. BHA, BHT ve tokoferolün çeşitli yağların raf ömürleri üzerindeki uzatıcı etkilerinin AOM ve İnce Tabaka Testi kullanılarak ölçüldüğü çalışmaların özeti (Cort ve diğ.,1975).

Antioksidanlar (%0.02)	Soya Yağı	Mısır Özü Yağı		Fıstık Yağı		Ayçiçek Yağı	Aspir Yağı	Domuz İç Yağı
	AOM	AOM	İTT	AOM	İTT	İTT	İTT	AOM
Kontrol	5	13	12	12	15	6	6	3
BHT	6.5	14	13	22	15	9	11	30
BHA	5	13	15	13	15	8	8	45

İTT: İnce Tabaka Testi (45°C), PD=70 AOM: Aktif oksijen metodu (98°C), PD=70

Bir diğer çalışmada da, BHA ve BHT nin 110°C'da ısıtmaya dayanıklı olduğu hatta yalnızca BHT nin 180°C'daki ekstrüzyon ile pişirmede dayanan tek antioksidan olduğu belirtilmiştir (Cuvelier ve diğ., 1990).

4.8. Sentetik Antioksidanlar (BHA, BHT, α -tokoferol) ve BAE'nin Fındık Füresi Yağındaki Sinerjistik Etkileşimleri

Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların birlikte kullanımlarında gösterdikleri sinerjinin, fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin DTK sonuçları Tablo 4.22.'de, Ransimat sonuçları Tablo 4.23.'de verilmiştir.

DTK'da yapılan analiz sonuçlarına göre, sinerjistik etkileşimin BAE> BHA+BAE > BAE+ α -tokoferol > α -tokoferol > BAE+BHT >BHA> BHT sırası ile azalma gösterdiği görülmektedir.

Ransimat ile sinerjistik etkinin gözlemlendiği çalışmada ise elde edilen koruma faktörlerinin büyüklüğü göz önünde bulundurulduğunda sırasıyla "BAE+BHA> BAE> BHA> BAE+BHT > BAE+ α -tokoferol >BHT > α -tokoferol" şeklinde özetlenebilir.

Tablo 4.22. Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların birlikte kullanımlarında gösterdikleri sinerjistik etkilerin fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin DTK sonuçları

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)	Oksidatif İndüksiyon Süresi (saat)	Koruma Faktörü
Kontrol	0	12.59	1
BAE	400	18.89	1.5
BHT	50	12.34	0.98 (-)
BHA	100	13.22	1.05
α - tokoferol	100	15.37	1.22
BHA +BAE	100+400	16.38	1.3
BHT+BAE	50+400	15.11	1.2
α - tokoferol+ BAE	100+400	15.74	1.25

*Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS (Antioksidanlı yağ)]

Tablo 4.23. Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların birlikte kullanımlarında gösterdikleri sinerjistik etkilerin fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin Ransimat sonuçları

Kullanılan Antioksidanlar	Kullanım Konsantrasyonları (ppm)	OİS (saat)	K F
Kontrol	0	13,3	1.00
BAE	400	26.3	1.97
BHA	100	22.1	1.66
BHT	50	19.5	1.47
α - tokoferol	100	14.6	1.10
BAE+BHA	400+100	27.9	2.10
BAE+BHT	400+50	20.9	1.57
BAE+ α - tokoferol	400+100	20.3	1.52

*Verilen değerler ikili paralel çalışma sonuçlarıdır.

KF : Koruma Faktörü [OİS (Normal Yağ)/ OİS(Antioksidanlı yağ)]

Farklı sentetik antioksidanların ve bunların BAE ile sinerjistik etkilerinin fındık füresi yağının hem DTK cihazı kullanılarak (Ek 26 ve 27), hem de Ransimat cihazı kullanılarak (Ek 26 ve 27) belirlenen OİS ve KF değerleri üzerine farklı sentetik

antioksidanlar ilavesi etkisi “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Hem Ransimat hem de DTK kullanılarak yapılan OİS ve koruma faktörü ölçümlerinde en yüksek antioksidatif aktiviteye, biberiye ekstraktının BHA ile birlikte kullanıldığı füre yağında rastlanılmıştır. Ransimatla yapılan ölçümlerde sentetik antioksidanların tek başına ve yüksek konsantrasyonlarda konulduklarında gösterdikleri antioksidatif etki sıralaması, sinerjistik etkileşim çalışmasında da bozulmamıştır. Buna karşılık DTK cihazı kullanılarak yapılan sinerjistik etkileşim çalışmasında, α -tokoferolün BAE+BHT karışımı ile BHA ve BHT den de yüksek etki göstermesinin nedeni, α -tokoferolün BHA ve BHT’ye göre ısıya daha fazla dayanıklı bir antioksidan olmasından kaynaklanmaktadır. BHT ile yüksek konsantrasyonda tek başına çalışıldığında BHA dan daha etkin görünmesi ise, düşük konsantrasyonlarda, bir bölümünün de uçucu hale geldiği düşünülürse, bu antioksidanın tümüyle etkisini yitirmesinden olduğu şeklinde açıklanabilir.

Buna karşılık bu çalışmada biberiye antioksidan ekstraktı ve diğer sentetik antioksidanların fındık füresi yağında sinerjistik etki göstermedikleri bulunmuştur. BHT+BAE’nin birlikte kullanımında gösterdikleri sinerjistik etki, BHT’nin tek başına gösterdiği antioksidatif etkiden daha düşüktür. α -tokoferolün de 100 ppm e düşürüldüğünde gösterdiği koruma etkisi 200 ppm’e eşdeğer bulunmuştur. Bir diğer deyişle bu konsantrasyon aralığında fark gözlenmemektedir.

α -tokoferolün farklı gıdalarda farklı yöntemler kullanılarak yapılan lipit oksidasyonu ölçümlerinde değişik sonuçlarla karşılaşmıştır. Örnek olarak bir çalışmada α -tokoferolün domuz iç yağında bitki ekstraktları ile negatif sinerjizm yaptığı bulunmuştur (Baniyas ve diğ., 1992).

Buna karşın, biberiyenin içerdiği varsayılan saf halde elde edilmiş olan Karnosik asit (100 ppm), α -tokoferol ile birlikte (100+100 ppm) tek başına domuz iç yağına katıldığında, sinerji sağlayarak, 120°C Ransimat sonucuna göre koruma faktörü 11’den 11.1 e çıkarılabilmektedir.

Sardalya balığı yağı ve dondurulmuş balık etinde sentetik antioksidan ilavesiyle raf ömrünün tespitinde PD ile sentetik antioksidanların tek başına veya birlikte

kullanımlarındaki sinerjistik etkinin gözlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda (%0.005-%0.002) (α - tokoferol-biberiye) karışımı konulduğunda, tek başına α - tokoferol (%0.005) veya biberiye (%0.002) ilavesine oranla sardalya balığı yağının raf ömrünün 2 katına çıktığı görülmüştür. Dondurulmuş balık etinde de en düşük TBA değeri (biberiye- α tokoferol) antioksidan karışımının kullanıldığı balık etinde görülmüştür. Biberiye- α -tokoferol karışımının antioksidatif etkisinin BHA ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu ifade edilmiştir (Wada ve Fang, 1992 ve 1994).

Buna karşılık 60°C da yapılan çalışmada biberiye antioksidan ekstraktının sinerjistik etkisi azalmış ve antioksidan aktivitesi sırasıyla α -tokoferol > α -tokoferol +BAE>BHA>BAE şekline dönüşmüştür. Bu sonuç, biberiye antioksidan ekstraktının daha yüksek sıcaklıkta sinerjistik etkisinin azaldığı şeklinde yorumlanmıştır.

Sardalya balığı yağı ve kurutulmuş Sardalya balığı etine eşit miktarlarda α -tokoferol ve biberiye (%0.035-%0.035) karışımı ilave edilerek, balık yağı 30 ve 50°C'larda, kurutulmuş balık eti ise 5°C'da depolanmıştır. Her iki ürün için de biberiye- α -tokoferol antioksidanları karışımının kuvvetli sinerjistik etki yaptığı gözlenmiştir. 30°C'da depolamada koruma etkisi α -tokoferol için 2, biberiye antioksidan ekstraktı için 3, biberiye antioksidan ekstraktı ve α -tokoferol karışımı için 5 olarak bulunmuştur, 50°C'da ise BAE 1.5, α -tokoferol 2.8, BAE + α -tokoferol için 3.3 olarak bulunmuştur. 90°C'da ise sırasıyla α tokoferollü, daha sonra BAE + α -tokoferol ve BAE en uzun süre dayanmıştır.

Sonuç olarak, antioksidanların antioksidatif aktivitesi hangi gıdaya, hangi matriks içerisinde ve hangi konsantrasyonda kullanıldığına göre değişmektedir. Ayrıca kullanılan farklı yöntemler de sonuçları değiştirebilmektedir. Yüksek sıcaklıkta yapılan bazı çalışmalarda bazı antioksidanların uçuculuğu söz konusu olduğundan, beklenen antioksidatif etkiyi gösterememektedir. Antioksidanların domuz iç yağındaki koruma faktörleri oldukça yüksek olmasına rağmen fıstık yağı gibi fındık füresi yağına benzer ürünlerde çok fazla etkili bulunmamışlardır.

BHT nin uçuculuğundan ötürü stabilitesini yitirebildiği ve bitkisel yağlarda domuz iç yağı kadar etkili olmadığı belirtilmiştir. Bununla birlikte BHA nın da özellikle tokoferol içeren yağlarda yeterince etkili olamadığı belirtilmiştir (Gordon ve Kourimska, 1995).

Fıstık yağı ile yapılan sonuçlar ile karşılaştırıldığında fındık füresi yağı, fındığın yüksek sıcaklıkta işlenmiş ve hatta tekrar yağ çıkarma işlemine tabi tutulmuş bir ürün olmasına karşılık gerek stabilitesi gerekse ilave edilen antioksidanların yağın raf ömrünü uzatmada gösterdikleri performans oldukça yüksek bulunmuştur.

Ayrıca sentetik antioksidanların biberiye antioksidan ekstraktı ile yaptıkları sinerjistik etkinin depolama/çalışma sıcaklığına göre de değişebildiği görülmüştür. Diğer bir çalışmada genelde iki antioksidanın birlikte kullanımında, kuvvetli olan antioksidanın daha önce tüketildiği belirtilmektedir.

Ayçiçek yağında yapılan bir çalışmada TBHK ve PG'tan farklı olarak BHT nin konsantrasyonunun (0-225 ppm) arasında arttırılmasına karşın, OİS'de hemen hemen hiçbir değişme gözlenmediği görülmüştür (Carelli ve diğ., 1996). Ayrıca (domuz iç yağında) konsantrasyonun 700 ppm'e kadar artmasında dahi, koruma faktörünün çok az bir artış gösterdiği bununla birlikte, 700 -1000 ppm arasında tümüyle stabil kaldığı görülmüştür (Evans, 1997).

Kendi laboratuvar imkanlarımızla elde edilen biberiye antioksidan ekstraktı tüm çalışmalarda iyi sonuç vermiş olup, en az sentetik antioksidanlar kadar, hatta daha fazla antioksidatif etki ve koruyuculuk göstermiştir. Çalışmada biberiye antioksidan ekstraktı için yalnızca renk ağartılması işlemi uygulanabilmiştir. Elde edilen biberiye antioksidan ekstraktının bazı literatür sonuçlarından daha yüksek oranda antioksidatif etki yaptığı görülmüştür. Deodorize biberiye antioksidan ekstraktının ham biberiye antioksidan ekstraktına göre 2.5 kat daha yüksek KF'ne sahip olduğu düşünülürse deodorizasyon ile Türkiye'de yetişen biberiye bitkisinin iyi bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği sonucuna varılabilir. Fındık füresi fıstık ve fıstık kaynaklı ürünlerden daha stabil olup, antioksidan ilavesine verdiği yanıt da fıstık ve vb. den daha yüksek bulunmuştur. Gordon ve Kourimska' ya (1995) ait bir çalışmada sentetik antioksidanlar ile BAE' nin fıstık yağındaki KF değerleri Tablo 4.24.'te görülmektedir.

Ayrıca yine aynı referansta BHA'nın tokoferol içeren yağlarda içermeyenlere göre sinerjistik etkisinin düşük olduğu görülüyor (Gordon ve Kourimska, 1995).

Tablo 4.24. Fıstık yağına sentetik antioksidan ve BAE ilavesinin KF üzerine etkisi (Gordon ve Kourimska, 1995).

	KF(Ransimat/100 ⁰ C)	KF(PD)	Kütle Değerleri
BHA 200 ppm	1.05	0.91	1.25
BHT	1.03	1.26	1.19
BAE(Ticari)	1.43	1.27	1.34

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada *Rosmarinus officinalis* bitkisinden antioksidan eldesinde yararlanılması ve elde edilen doğal antioksidanın fındık füresi gibi değerli bir ihracat yarı ürünümüzün oksidatif acılaşmasının önlenmesinde kullanılabilirliği farklı hızlandırılmış test yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır.

Çalışmada birinci kaynak materyal olarak, biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisinin yaprakları, ikinci kaynak materyal olarak Cargill Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş. firmasından temin edilen fındık füresi kullanılmıştır. Kaynak materyallerde yapılan hammadde tanımlama analizleri sonucunda, nem miktarları biberiye ve fındık füresi için sırasıyla %8,7 ve %0.09, kül miktarları ise %5,7 ve %2,707 olarak bulunmuştur. Ayrıca fındık füresinde yağ asidi bileşimi Gaz Kromatografisi ile incelendiğinde oleik asit miktarının en yüksek düzeyde olduğu (%87.4), ayrıca %5.1 linoleik asit, %1.91 stearik, %0.19 palmitoleik asit ve %5.27 palmitik asit içerdiği belirlenmiştir, kırılma indisi değeri de 1,4677 olarak literatürde belirtilen değerlere yakın bulunmuştur.

Çalışmanın ilk aşamasında, biberiye bitkisinden, amaca uygun olarak antioksidan eldesinde yararlanmak amacıyla, altı farklı çözgen için “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası” aşamalarında % ekstraksiyon verimleri ve Toplam Fenolik Madde miktarları hesaplanmıştır.

Biberiyeden antioksidan eldesi sırasında renk açma ve koku giderme amaçlı olarak gerçekleştirilen “Aktif karbonla ağartma” işlemi öncesi ve sonrasında biberiye antioksidan ekstraktlarının (BAE) büyükten küçüğe doğru olmak kaydıyla % Ekstraksiyon verimlerinin (Metanol> Aseton> Etanol> Metilendiklorür> Dietileter > Heksan) şeklinde, Toplam Fenolik Madde miktarlarının ise “Metanol> Aseton> Etanol> Metilen diklorür> Dietileter> Heksan” şeklinde sıralandığı görülmüştür.

Ekstraksiyon verimi sırasıyla aktif karbonla ağartma öncesi’nde ve sonrasında en yüksek metanolde (%21.1, %12.8), en düşük ise heksanda (%5.3, %1.2), Toplam

Fenolik Madde miktarı ise yine en yüksek metanolde (39, 30 µg fenol /gr biberiye), en düşük heksanda (6, 1.5 µg fenol /gr biberiye) bulunmuştur. Sonuçlar, Chang ve diğ.'nin (1977) yılında farklı çözenler kullanarak yaptıkları ve %5.3 ile en yüksek verimin metanolden ve %1.6 ile en düşük verimin de heksan ekstraktından elde edildiği sonuçları doğrular niteliktedir. Fakat bu tez çalışmasında bulunan verimler, Chang ve diğ. tarafından bulunan ekstraksiyon verimlerinden daha yüksektir.

Burada hem % ekstraksiyon veriminin, hem de TFM miktarının kullanılan çözenin polaritesine bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Antioksidatif özelliğe sahip olan maddelerin polar maddeler oldukları ve polar çözenlerle daha iyi ekstrakte edilebildiklerine ilişkin literatür bilgileri mevcuttur. Örneğin daha polar yapıdaki karnosik asitin karnosolden daha yüksek antioksidatif etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Richeimer ve diğ., 1996). Biberiye polar yapıdaki fenolik antioksidanlarca zengin bir bitkidir. Bir çalışmada da ekstraksiyonda kullanılan çözenin polaritesine bağlı olarak antioksidan aktivitesinin de arttığı bulunmuştur (Gür ve Ova, 1997). Biberiyede mevcut toplam fenolik madde miktarına ilişkin literatür bilgisine rastlanmamış olmakla birlikte, doğal ekstraktların kalitesinin ve antioksidatif performans ve veriminin öncelikle orijinal bitki materyalinin kalitesine, yetiştiği yörenin coğrafyasına, iklim koşullarına ve hasat zamanına bağlı olduğu ve değişiklik gösterdiği bilinmektedir (Cuvelier ve diğ., 1996).

Ağartma işleminin neden olduğu % ekstraksiyon verimindeki azalmanın farklı çözenler için maksimum %77 ile biberiyenin heksan ekstraktında, %39 ile etanol ve metanol ekstraktında minimum düzeyde olduğu, Toplam Fenolik Madde miktarındaki azalmanın ise farklı çözenler için maksimum %75 ile biberiyenin heksan ekstraktında, minimum düzeyde de %24 ile aseton ekstraktında olduğu görülmüştür. Ayrıca “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası”nda % Ekstraksiyon verimleri ile Toplam Fenolik Madde miktarlarındaki %kayıp arasındaki ilişki ($r: 0,678$, $p<0.05$) ($r_{0.05,16} : 0.468$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Ağartma işlemi bir miktar verim ve toplam fenolik madde kaybına neden olsa da biberiyenin istenmeyen rengini ve kokusunu giderdiği, bununla birlikte ağartma işleminin hem % Ekstraksiyon veriminde hem de Toplam Fenolik Madde miktarında

istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bir değişime neden olmadığının görülmesi ağartma işleminden ileri gelen kayıpların göz ardı edilebileceğini göstermektedir.

Biberiyeden antioksidan eldesinde farklı çözgenler kullanımının aktif karbonla ağartma öncesi ve sonrasında hem % Ekstraksiyon verimleri hem de Toplam Fenolik Madde miktarındaki farklılık etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur. Farklı çözgenlerden elde edilen Biberiye Antioksidan Ekstraktının fındık füresi yağının “Oksidatif İndüksiyon Süresi” (OİS) üzerine etkisinin Ransimat ve DTK cihazları ile araştırılmasında ise DTK cihazı ile elde edilen sonuçlara göre farklı çözgenler için KF değeri-dolayısıyla kontrolün OİS’ndeki artış, büyükten küçüğe doğru “Dietileter > Metanol > Aseton > Heksan > Etanol” şeklinde sıralanmaktadır. Ransimat cihazı ile elde edilen sonuçlarda DTK sonuçlarına benzer olarak KF yine en fazla dietil eter ekstraktında, en az ise etanol ekstraktında bulunmuştur. Ransimat cihazı ile bulunan KF değerleri büyükten küçüğe doğru “Dietileter > Aseton > Heksan > Metanol > Etanol” şeklinde sıralanabilir.

DTK ve Ransimat cihazları kullanılarak tespit edilen OİS’leri arasındaki korelasyon ($r: 0.762$), göreceli olarak KF’leri arasındaki korelasyondan biraz daha yüksek çıkmıştır (0.730). En yüksek korelasyon Ransimat cihazının OİS ve KF arasında olup ($r: 0.993$), DTK cihazı ile elde edilen OİS-KF değerleri arasındaki ilişkiden yüksektir ($r: 0.899$). Ayrıca TFM miktarı ve %Eks. Verimi ile DTK’da elde edilen OİS ve KF değerleri arasındaki ilişki çok düşük olup, istatistiksel olarak ($p<0.01$) önemsizdir.

Ekstraksiyon verimi, TFM miktarları ile, DTK ve Ransimatta belirlenen OİS’leri aralarındaki korelasyon birlikte değerlendirilecek olursa, DTK ve Ransimat cihazları kullanılarak tespit edilen OİS’leri arasındaki korelasyon ($r: 0.762$), göreceli olarak KF’leri arasındaki korelasyondan biraz daha yüksek çıkmıştır (0.730). En yüksek korelasyon Ransimat cihazının OİS ve KF arasında olup ($r: 0.993$), DTK cihazı ile elde edilen OİS-KF değerleri arasındaki ilişkiden yüksektir ($r: 0.899$). Ayrıca TFM miktarı ve %Eks. Verimi ile DTK’da elde edilen OİS ve KF değerleri arasındaki ilişki çok düşük olup, istatistiksel olarak ($p<0.01$) önemsizdir.

TFM miktarı ve %Eks. Verimi ile DTK’da elde edilen OİS ve KF değerleri arasındaki ilişki Ransimat sonuçlarına göre düşük olmakla birlikte yine de istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemlidir. Biberiyenin dietil eter ekstraktının

% Ekstraksiyon verimi ve Toplam Fenolik Madde miktarı diğer çözümlere göre fazla yüksek olmamakla birlikte her iki hızlandırılmış test yöntemi ile de hem fûre yağındaki yüksek koruma etkisi, hem de çözündürme ve çözgenin uzaklaştırılması aşamalarındaki işlem kolaylığı göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada biberiye antioksidan ekstraktının eldesinde dietil eter kullanımına karar verilmiştir. Ayrıca dietil eter gıda sanayiinde katkı maddesi olarak kullanılan baharat ekstraktlarına katılımına izin verilen bir çözgen olması da seçimde önemli rol oynamıştır.

Çalışmanın diğer aşamalarında dietil eter ile elde edilen biberiye antioksidan ekstraktının fındık fûresine katılacak konsantrasyonun optimize edilmesi ve konsantrasyona bağlı olarak OİS değerlerindeki değişim kinetiğinin incelenmesi amacıyla 6 farklı konsantrasyonda BAE (0 ve 2000 ppm aralığında), fındık fûresi yağına katılmış ve sonuçlar Ransimat ve DTK cihazlarında incelenmiştir. Konsantrasyondaki artışa bağlı olarak OİS ve KF değerlerindeki artışın doğrusal olması, saf karnosik asitin domuz iç yağına, 0-1000 ppm konsantrasyonda katılımında, KF'nün konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığının gözlemlendiği çalışma sonuçlarını doğrulamaktadır (Evans, 1997). Ayrıca farklı konsantrasyonlarda BAE ilavesinin her iki cihaz kullanılarak belirlenen OİS ve KF değerleri üzerindeki etkisi "Tek yollu ANOVA" istatistik yöntemi kullanılarak ($p < 0.05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Hem DTK hem de Ransimat cihazları kullanılarak tespit edilen OİS'nin konsantrasyona bağlı olarak doğrusal şekilde arttığı gözlenmiş olmakla birlikte hem 500 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda çözündürme problemi ile karşılaşıldığından, hem de literatürde yüksek konsantrasyonlarda BAE katılımının üründe acılaşmaya neden olabileceği belirtildiğinden optimum katılım konsantrasyonu 500 ppm olarak belirlenmiştir.

Antioksidanlı ve normal fındık fûresi yağına farklı sıcaklıklarda üç farklı "Hızlandırılmış Raf Ömrü Testi" nin (Schaal Fırın testi (20, 30, 40°C), Ransimat (100, 110, 120°C) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (100, 110, 120°C ile 145, 155, 165°C) tabi tutulduğu çalışma aşamasında fındık fûresi yağında öncelikle OİS ve KF değerleri belirlenerek, sıcaklık artışına bağlı olarak raf ömründeki gecikmeyi gösteren Q_{10} ve E_A değerleri belirlenmiştir.

Farklı sıcaklıklarda OİS belirlenmesi aşamasında antioksidan ilavesi hem DTK hem de Ransimat cihazı kullanılarak farklı sıcaklıklarda tekrar edilen OİS değerlerinde artışa neden olmakla birlikte, antioksidan ilavesinin füre yağının OİS'ni arttırma etkisi istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemsiz bulunmuştur.

Farklı sıcaklıklar için normal ve antioksidanlı yağda DTK cihazı kullanılarak belirlenen OİS'leri arasındaki farklılık iki yollu ANOVA istatistiksel yöntemi ile değerlendirildiğinde DTK ile ölçümde hem ölçüm sıcaklıklarının değişiminin, hem de antioksidan ilavesinin OİS üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak ($p<0.05$) çok çok önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca sıcaklık ve antioksidan ilavesi işlemlerinin birbirleriyle olan etkileşimleri de istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemlidir. Dolayısıyla değişik sıcaklıklarda ölçümden doğan OİS farklılıkları ile antioksidan ilavesinden kaynaklanan OİS değerlerindeki farklılık aynı değildir. Ransimat cihazı kullanılarak da DTK cihazı kullanılarak alınan sonuçların istatistiksel analizi ile aynı sonuçlar elde edilmiştir.

DTK cihazında yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlara göre 100-120°C'lar arasındaki ölçümlerde, KF değeri sıcaklığın artmasıyla artmıştır; oysa 145-165°C sıcaklık aralığında KF değerlerinin ölçüm sıcaklıklarından fazla etkilenmediği görülmüştür. Ayrıca DTK cihazında 145-165°C'daki sıcaklık aralığında belirlenen OİS'ndeki değişim, 100-120°C'daki çalışma sonuçlarından daha doğrusaldır. Dolayısıyla çalışma sıcaklığının seçimi KF'nün belirlenmesinde farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir.

DTK cihazı ile yapılan ölçümlerde 100-120°C'larda yapılan ölçümler için bulunan Q_{10} ve E_A değerleri antioksidanlı ve normal findık füresi yağı için aynı bulunurken (Q_{10} :1.6, E_A : 13.65), 145-165°C'larda normal findık füresi yağına ait Q_{10} değeri (Q_{10} :1.37, E_A :11 43), antioksidanlı findık füresi yağından daha yüksek olarak bulunmuştur (Q_{10} : 1.35, E_A : 10.9). Ransimat cihazında (100-120°C) sıcaklık aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde Q_{10} ve E_A değerleri antioksidanlı yağda (1.34; 8.51), normal yağda (1.36; 8.95) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar DTK'da 145-165°C gibi sıcaklıklarda çalışma sonuçlarının Ransimat kadar tutarlı olabildiğini, bununla birlikte, 100-120°C sıcaklıklarda DTK'da işlem süresinin de uzun sürmesi göz önünde bulundurularak, ölçümlerin yine de Ransimat cihazından daha az zaman

almasına rağmen, 145-165⁰C gibi sıcaklıklar için uygun sonuçlar verebildiğini göstermektedir.

Bu değerler literatürde gıdalar için belirtilen değerlere yakın olup (Q_{10} : 1.5-2, E_A : 15-30 Kal/mol), Q_{10} değerindeki artışlar, sıcaklıktaki her 10⁰C artışın raf ömründeki azalmaya etkisi olarak tanımlandığından, antioksidanlı yağın sıcaklık artışından daha az etkilenebileceği düşüncesinden hareketle, antioksidanlı yağın düşük Q_{10} değerine sahip olması doğru bir sonuç olarak yorumlanabilir. Bununla birlikte literatürde de antioksidanlı ve normal yağın Q_{10} değerlerinin hemen hemen birbiriyle aynı çıkabildiğine ilişkin bilgiler mevcuttur. Ransimatta normal ve antioksidanlı yağ için bulunan Q_{10} değerleri, daha önce Hasenhuettle ve Wan (1992) tarafından sıcaklığın (100-140⁰C) çeşitli yağlardaki OİS üzerine etkilerini izleyen bir çalışmada 100-120⁰C sıcaklık aralığı için fıstık yağında Q_{10} değeri 1,37 olarak bulunan değere yakındır. Bu çalışmada fıstık yağı için (100-140⁰C) doğru denklemi: $-0.031561X+3.873735$ olarak (1. dereceden denklem) bulunmuştur (Hasenhuettle ve Wan, 1992). Ayrıca yine AOM ve Ransimat sonuçlarının karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada 100, 110, 120⁰C sıcaklıklar için Ransimat cihazında yapılan analizlerde, fıstık yağı için Q_{10} değeri 1,37 olarak bulunmuştur (Bu çalışmalarda Q_{10} değerleri belirtilmemiş olup, karşılaştırmayı sağlayabilmek amacıyla, diğer deney değerlerinden bizzat hesaplanarak saptanmıştır) (Laubli ve Bruttel, 1986).

Hızlandırılmış raf ömrü testleri yüksek sıcaklıklarda yapıldığından (100⁰C civarında), bulunan Q_{10} değeri düşük sıcaklıklarda yapılan hızlandırılmış raf ömrü testlerine göre daha düşük olmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda çalışılırken genellikle belirli aralıklarla yapılan ölçümler arasındaki OİS farkı fazla olmamakta dolayısıyla, belirli sıcaklık aralığı için, özellikle $\pm 20^0$ C'larda yapılan dolayısıyla, sıcaklığa karşı log OİS nin eğiminden yararlanmanın mümkün olduğu çalışmalarda, eğimin az olması logaritmasının da düşük çıkmasına ve düşük Q_{10} değerlerinin bulunmasına neden olmaktadır. DTK cihazında yapılan çalışmalarda ise, 145-165⁰C fark fazla olmamakta dolayısıyla, belirli sıcaklık aralığı için, özellikle $\pm 20^0$ C'lardaki Q_{10} değerinin, 100-120⁰C daki çalışmalarda bulunan Q_{10} değerinden daha küçük olması literatür bilgilerini doğrulamaktadır.

Schaal Fırın testi ile gerçekleştirilen raf ömrü çalışmasında ise, kullanılan KDHP, PD, ve *p*-AnD, yöntemlerinin her sıcaklık için birbirleriyle önemli düzeyde korele ettikleri görülmüştür.

Çalışmanın son aşamasında optimum konsantrasyondaki Biberiye Antioksidan Ekstraktının füre yağının raf ömrünü uzatma etkisi, bazı sentetik antioksidanlarla mukayese edilmiş ve antioksidatif etkinin DTK cihazı kullanılarak büyükten küçüğe doğru BAE>BHT=α-tokoferol>BHA şeklinde, Ransimat cihazı kullanıldığında ise BAE>BHT>BHA> α-tokoferol şeklinde sıralandığı gözlenmiştir.

Fındık füresi yağına farklı sentetik antioksidanlar katılımının hem DTK cihazı hem de Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS ve KF değerlerine etkileri tek yollu ANOVA yöntemi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ($p<0.05$) önemli bulunmuştur.

Fındık füresi yağında biberiye antioksidan ekstraktı ile sentetik antioksidanların tek başına kullanımlarında istatistiksel olarak önemli düzeyde antioksidatif etki göstermelerine karşılık, birlikte kullanımlarında sinerjistik etki göstermedikleri fındık füresi yağının OİS üzerindeki etkilerine ilişkin DTK cihazında yapılan analiz sonuçlarına göre, elde edilen koruma faktörlerinin büyüklüğü göz önünde bulundurulduğunda sırasıyla antioksidatif etkinin BAE> BHA+BAE > BAE+α-tokoferol >α-tokoferol > BAE+BHT >BHA> BHT şeklinde, Ransimat cihazında ise yine sırasıyla “BAE+BHA>BAE>BHA> BAE+BHT > BAE+α-tokoferol >BHT >α-tokoferol” şeklinde azalma gösterdiği görülmektedir.

Hem Ransimat hem de DTK kullanılarak yapılan OİS ve koruma faktörü ölçümlerinde en yüksek antioksidatif aktiviteye, biberiye ekstraktının BHA ile birlikte kullanıldığı füre yağında rastlanılmıştır. α-tokoferolün BHA ve BHT’ye göre ısıya daha fazla dayanıklı bir antioksidan olmasından ötürü, çalışmada daha yüksek antioksidatif aktivite gösterdiği düşünülmektedir. Buna karşın α-tokoferolün BAE ile birlikte kullanılması fındık füresi yağında sinerjistik etki yapmamıştır.

DTK cihazının oksidatif stabilite tayininde, diğer hızlandırılmış test yöntemlerine benzer olarak göreceli karşılaştırmalarda uygun sonuçlar verdiği gözlenmiş olmakla birlikte, BHT gibi uçuculuğu yüksek antioksidan ilave edilen yağlarda yüksek

sıcaklık nedeniyle daha kısa OİS değerleri elde edilebilmektedir. Fakat aynı sorun Ransimat gibi diğer farklı yüksek sıcaklık testleri için de geçerli olabilmektedir. Antioksidan miktarının 2 katı kadar ilave edilmesi, özellikle yağın veya üründe etkili antioksidan kombinasyonunun belirlenmesi işleminde bir çözüm olarak görülebilir, fakat bu yöntem antioksidan miktarı bilinmeyen yağların göreceli olarak OİS tayininde geçerli olmaz. Bu çalışmada da BHT miktarının 200 ppm'den 100 ppm'e indirildiğinde hiç antioksidatif etki yapmadığının gözlenmesi, 100 ppm katılım konsantrasyonunun tümüyle buharlaştığını göstermektedir. Uçuculuğu yüksek antioksidanların yağa bilinen miktarda ilave edilerek, yağın OİS'ndeki değişime etkisi farklı bir çalışma konusu olabilir.

Bu çalışmada laboratuvar koşullarında elde edilmiş olan biberiye antioksidan ekstraktı füre yağının OİS'ni artırıcı yöndedir. Bununla birlikte teknolojik olarak antioksidan eldesinin iyileştirilmesine ilişkin çalışmalarla ürünün geliştirilerek OİS'nin artırılması mümkündür, yine de füre yağında piyasadan temin edilmiş biberiye ekstraktı ile yapılan diğer literatür çalışmalarına benzer sonuçlar alınmıştır. Sentetik antioksidanlarla mukayese edildiğinde biberiyenin de en az sentetik antioksidan kadar hatta daha da yüksek antioksidatif etki yapması biberiyenin fındık füresinin raf ömrünün arttırılmasında kullanılabilir doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir. DTK oksidatif stabilite tayininde kullanımı henüz yeni ve yaygın olmayan bir yöntem olmasına karşılık, bu çalışmadan alınan sonuçlar, DTK'nın özellikle yağlarda etkili antioksidanların göreceli olarak belirlenmesinde etkili olabileceğini göstermektedir. DTK'da 165⁰C'da yapılan çalışma bazı uçuculuğu yüksek antioksidanların buharlaşarak miktarlarının azalmasına neden olaqbileceğinden ve bu da çalışma süresinin uzamasına neden olacağından, yüksek basınçta oksijen verebilen DTK cihazlarının kullanımı daha uygun olacaktır.

KAYNAKLAR:

- Adegoke, G.O. and Gopala Krishna, A. G., 1998. Extraction and identification of antioxidants from the spice *Aframomum danielli*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 8, 1047-1052.
- Akgül, A., 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:15, Damla Matbaacılık ve Tic.
- Akoh, C.C., 1994. Oxidative stability of fat substitutes and vegetable oils by the oxidative stability index method, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 2, 211-216.
- Amr, A. S., 1991. Effectiveness of synthetic and potential natural antioxidants in improving the stability of sheeps anhydrous butter fat during long-term storage, *J.Sci. Food Agric.*, 55, 75-85.
- Angelo, A.J.St., 1996. Lipid oxidation in foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36, 3, 175-224.
- Angelo, A. J. St. and Ory, R.L., 1975a. Effect of minor constituents and additives upon peroxidation of oil in peanut butter, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 38-40.
- Angelo, A.J.St. and Ory, R. L., 1975b. Effects of lipid peroxidation during storage on raw and roasted peanut proteins, *Peanut Science*, 2, 2.
- Angelo, A.J.St. and Ory, R. L., 1975c. Effects of lipoperoxides on proteins in raw and processed peanuts, *J. Agric. Food Chem.*, 23, 2, 141-145.
- Angelo, A.J.St., Ory, R.L. and Brown, L.E., 1975. Comparison of methods for determining peroxidation in processed whole peanut products, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 34-35.
- Angelo, A.J.St., Kuck, J.C. and Ory, R.L., 1979. Role of lipoxygenase and lipid oxidation in quality of oilseeds, *J. Agric. Food Chem.*, 27, 2, 229-234.
- Angelo, A.J.St., Kuck, J.C., Hensarling, T.P. and Ory, R.L., 1977. Effects of water and spin blanching on oxidative stability of peanuts, *J. Food Process. Preserv.*, 1, 249-260.
- Anon, 1979. IUPAC-2.504. Standart Methods for the Analysis of Oils and Fats Derivatives, Blackwell, Oxford.

- Anon**, 1984. Determination of Total Phenolic Contents., Official Methods of Analysis, *Association of Official Analytical Chemists*: Washington, DC, pp.187-188.
- Anon**, 1989. CO₂ extraction yields .Flavors and colors without solvents, Cal-Pfizer Flavor and Fragnance Product Group, *Food Eng. Int'l.*, October, 13-14.
- Anon**, 1992a. AOCS, Ce 2-66, Preperation of methyl esters of long-chain fatty acids, *Official Methods and Recommended Practises of the the American Oil Chemists' Society*, 4'th edition, Edt Firestone, D., AOCS., Champaign, Illinois.
- Anon**, 1992b. AOCS Cd-8.53. Peroxide Value, Acetic Acid-Chloroform Method, *Official Methods and Recommended Practises of American Oil Chemist Society*, Champaign, Illinois.
- Anon**, 1992c. AOCS Cd-18.90. *p*-Anisidine Value, *Official Methods and Recommended Practises of American Oil Chemist Society*, Champaign, Illinois.
- Anon**, 1992d. AOCS, Cd 12b, Oil Stability Index, *Official Methods and Recommended Practises of the the American Oil Chemists' Society*, 4'th edition, Edt Firestone, D., AOCS., Champaign, Illinois.
- Anon**, 1998a. Thermal Analysis Application Brief., Oxidative stability of oils and greases, *Thermal Analysis Technical Literature* (Theory and Applications), TA Instruments, Inc., New Castle, UK.
- Anon**, 1998b. Perkin Elmer-611, ekipman kataloğu. Perkin-Elmer Instrument, 761 Main Avenue, Norwalk, CT, 06859-0010, USA.
- Anon**, 1999a. Cargill Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş. Üretim Yöntemi. Sözel bilgi aktarımı.
- Anon**, 1999b. Dutch Organic International Trade Home pare, <http://www.organic.nl/>
- Asakawa, T. and Matsushita, S.**, 1978. Colorimetric determination of peroxide value with potassium iodide-silica gel reagent, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55.
- Ayfer, M., Uzun, A. ve Baş, F.**, 1986. Türk Fındık Çeşitleri, *Karadeniz Fındık İhracatçıları Birliği*, 95 sayfa, Ankara.
- Banias, C., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C.D.**, 1992. The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2, 87, 520-524.
- Baş, F., Ömeroğlu, S., Türdü, S. ve Aktaş, S.**, 1986. Önemli Türk fındık çeşitlerinin bileşim özelliklerinin saptanması, *GIDA*, 11, 3, 195-203.

- Bender, F. E., Douglas, L.W. and Kramer, A., 1989.** Statistical Methods for Food and Agriculture, 345 p., Food Products Press, New York, London.
- Berger, K.G., 1971.** Practical applications of an accelerated stability test to rancidity problems in food processing, *J. Food Technol*, 6, 253-263.
- Bertoli, C., Fay, L.B., Stancanelli, M., Gumy, D. and Lambelet, P., 1998.** Characterization of Chilean hazelnut (*Gevuina avellana* Mol) seed oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 8, 1037-1040.
- Bett, K.L. and Boylston, T.D., 1992.** Effect of storage on roasted peanut quality in *Lipid Oxidation in Food*, Chapter 19, 322-343.
- Bishov, S.J., Masuoka, Y. and Kapsalis, J.G., 1977.** Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: Synergistic action with synthetic phenolic antioxidants, *J. Food Process. Preserv.*, 1, 153-166.
- Blekas, G., Tsimidou, M. and Boskou, D., 1995.** Contribution of α -tocopherol to olive oil stability, *Food Chem.*, 52, 289-294.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V., 1993.** Oil content, stability and fatty acid composition of the main varieties of Catalan hazelnuts (*Corylus avellana* L.), *Food Chem.*, 48, 237-241.
- Braddock, J.C., Sims, C.A. and O'Keefe, S.F., 1995.** Flavor and oxidative stability of roasted high oleic acid peanuts, *J. Food Sci.*, 60, 3, 489-493.
- Bradley, D.G. and Min, D.B., 1992.** Singlet oxygen oxidation of foods, *CRC in Food Sci. and Nutrition*, 31, 3, 211-236.
- Brocco, U., Lölliger, J. and Viret, J.L., 1981.** Production and use of natural antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, June, 686-690.
- Burkow, I.C., Vikersveen, L. and Saarem, K., 1995.** Evaluation of antioxidants for cod liver oil by Chemiluminescence and the Rancimat method, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 5, 553-557.
- Carelli, A.A., Bodnariuk, P. And Crapiste, G.H., 1996.** Effectiveness of antioxidants in sunflower oil, *World Conference and Exhibition on oilseed and edible oils Processing*, Eds Koseoğlu, S.S., Rhee, K.C., Wilson, R.F., Istanbul, Turkey, October 6-10.
- Cavaletto, C.G. and Yamamoto, H.Y., 1971.** Factors affecting Macademia nut stability, 3. Effects of roasting oil quality and antioxidants, *J. Food Sci.*, 36, 81-83.
- Chaiseri, S. and Dimick, P.S., 1989.** Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 11, 1771-1776.

- Chang, S.S., Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. and Huang, C-L., 1977.** Natural antioxidants from rosemary and sage, *J. Food Sci.*, 42, 4, 1102-1106.
- Chen, Q., Shi, H. and Ho, C.T., 1992.** Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 10, 999-1002.
- Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P. and Rahmani, M., 1991.** Peroxyl and hydroxyl radical scavenging of activity of some natural phenolic antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 5, 307-312.
- Christensen, T.C. and Holmer, G., 1996.** Lipid oxidation determination in butter and dairy spreads by HPLC, *J. of Food Sci.*, 61, 3, 486-489.
- Coppen, P.P., 1989.** The use of antioxidants in *Rancidity in Foods*. 2nd Edn., Eds Allen, J.C. and Hamilton, R.J., pp 83-105, Elsevier Science Publishers Ltd., London and New York, 244 p.
- Cort, W.M., 1974.** Antioxidant activity of tocopherols, ascorbyl palmitate and ascorbic acid and their mode of action, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 321-325.
- Cort, W.M., Scott, J., Araujo, M., Mergens, W.J., Cannalunga, M.A., Osadca, M., Harley, H., Parrish, D.R. and Pool, W.R., 1975.** Antioxidant activity and stability of 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 174-178.
- Cuppett, S., Schnepf and Hall III, C., 1997.** Natural antioxidants-Are they a reality?, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 2, pp. 12-25., AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H., 1990.** Use of a new test for determining comparative antioxidative activity of BHA, BHT, α and γ -tocopherols and extracts from rosemary and sage, *Sciences Des Aliments*, 10, 797-806.
- Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H., 1994a.** Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*), *J. Agric. Food Chem.*, 42, 3, 665-669.
- Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H., 1994b.** Separation of major antioxidants in sage by high performance liquid chromatography, *Sciences Des Aliments*, 14, 811-815.
- Cuvelier, M.E., Richard, H. and Berset, C., 1996.** Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 5, 645-652.
- Dinçer, A., 1987.** Gıdalarda kullanılan antioksidanlar ve fonksiyonları, *Gıda Sanayii*, 1, 40-42.

- Djarmati, Z., Jankov, R.M., Schwirtlich, E., Djulinac, B. and Djordjevic, A.,** 1991. High antioxidant activity of extracts obtained from sage by supercritical CO₂ extraction, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 10, 731-734.
- Dodd, J.W. and Tonge, K.H.,** 1987. Thermal Methods, Analytical Chemistry by Open Learning, Ed. Currell, B.R., John Wiley & Sons, London, New York, Toronto, Singapore.
- Duke, J.A.,** 1994. Biologically active compounds in important spices, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 225-251, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Duke, J.A. and Beckstrom-Sternberg, S.,** 1994. Potential for synergistic action of phytochemicals in spices, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 201-225, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Dyszel, S.M. and Petit, M.** 1990. Determination of the country of origin of Pistachio nuts by DSC and HPLC, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 12, 947-951.
- Economou, K.D., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C.D.,** 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family *Labiatae*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 109-113.
- Eiserich, J.P., Macku, C. and Shibamoto, 1992.** Volatiles antioxidants from an L-cystein/D-glucose Maillard Model System, *J. Agric. Food Chem.*, 40, 10, 1882-1888.
- Elizalde, B.E., Rosa, M.D. and Lericci, C.R.,** 1991. Effect of Maillard reaction volatile products on lipid oxidation, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 20,11, 758-762.
- Ericson, M.C., Santerre, C.R. and Malingre, M.E.,** 1994. Oxidative stability in raw and roasted pecans:Chemical, physical and sensory measurements, *J. Food Sci.*, 59, 6 1234-1238, 1243.
- Evans, R.J.,** 1997. Optimizing oil stability with natural inhibitors, in *Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi, F., Chapter 13, pp. 224-244, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Evranuz, Ö.,** 1986. Gıda işleme ve muhafazasında kaliteyi etkileyen etmenler ve son tüketim tarihinin saptanması, *Tübitak-MAM Yayınları*, No:109.
- Evranuz, Ö.,** 1987. Gıda işleme ve muhafazasında kaliteyi etkileyen etmenler ve son tüketim tarihinin saptanması, *Gıda Sanayii*, 12-16.
- Evranuz, Ö.,** 1993. The effects of temperature and moisture content on lipid peroxidation during storage of unblanched salted roasted peanuts:Shelf life studies for unblanched salted roasted peanuts, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 28, 193-199.

- Fang, X. and Wada, S.,** 1993. Enhancing the antioxidant effect of a tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by Fe(+2) and hemoprotein, *J. Food Proc. and Preserv.*, 16, 263-274.
- Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G.S.A.,** 1989-a. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 6, 792-799.
- Farag, R.S., Day, Z.Y. and Abo-Raya, S.H.,** 1989-b. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus Parasitucus* and production of aflatoxins in a synthetic medium, *J. Food Science*, 54, 1, 74-76.
- Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A. and El-Baroty, G.S.A.,** 1989c. Influence of thyme and clove essentials oils on cottonseed oil oxidation, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 6, 800-804.
- Farrell, K.T.,** 1985. Spices, Condiments and Seasonings, 391p. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.
- Frank, J., Geil, J.V. and Freaso, R.,** 1982. Automatic determination of oxidation stability of oil and fatty products, *Food Tech.*, June 71-76.
- Frankel, E.N.,** 1991. Review. Recent advances in lipid oxidation, *J. Sci. Food Agric.*, 54, 495-511.
- Frankel, E. N., Huang, S-W., Prior, E. and Aeschbach, R.,** 1996. Evaluation of antioxidant activity of Rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions, *J. Sci. Food Agric.*, 72, 201-208.
- Frankel, E., Huang, S-W, Kanner, J. and German, J.B.,** 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1054-1059.
- Frankel, E.N., Huang, S-W. and Aeschbach, R.,** 1997. Antioxidative activity of green teas in different lipid systems, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 10, 1309-1315.
- Gopalo, A.G.G., Krishna and Prabhakar, J.V.,** 1994. Antioxidant constituents of peanut oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 11, 1245-1249.
- Gordon, M. H. and Mursi, E.,** 1994. A comparison of oil stability based on the Metrohm Rancimat with storage at 20°C, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 6, pp. 649-651.
- Gordon, M.H. and Kourimska, L.,** 1995. The effects of antioxidants on changes in oils during heating and deep frying, *J. Sci Food Agric.*, 68, 347-353.
- Gordon, M. H. and Mursi, E. and Rossell, J., B.,** 1994. Assessment of thin-film oxidation with Ultraviolet irradiation for predicting the oxidative stability of edible oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 12, 1309-1313.

- Gökmen, V. ve Öztan, A., 1995. Gıdaların raf ömrünü etkileyen faktörler ve raf ömrünün belirlenmesi, *GIDA*, 20, 5, 265-271.
- Gray, J. I., 1978. Measurement of lipid oxidation, A review, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55-June 539-545.
- Gutfinger, T., 1981. Polyphenols in olive oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, November, 966-968.
- Gümüşkesen, A.S., Düzakar, H., 1996. Application of chemical kinetics to deterioration of olive oil, *World Conference and Exhibition on oilseed and edible oils Processing*, Eds Koseoğlu, S.S., Rhee, K.C., Wilson, R.F., İstanbul, Turkey, October 6-10, 177-180.
- Gür, E. and Ova, G., 1997. Antioxidative activity of oregano (*Oreganum onites* L.) extracts in refined olive oil, *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 2, 7-8, 56-64.
- Hadorn, H., Keme, T., Kleinert, J., Messerli, M. and Zürcher, K., 1977. The behaviour of hazelnuts under different storage conditions, *Lehrte*, 2, 2, 25-38.
- Hall, Gunnar SIK, Sweden Henick, A.S., Benca, M.F. and Mitchell Jr., J.H., 1953. Estimating carbonyl compounds in rancid fats and foods, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 88-91.
- Hamilton, R.J., 1989. The chemistry of rancidity in foods, in *Rancidity in Foods*, 2nd Edn., Ed. Allen, J.C. and Hamilton, R.J, pp. 1-23, Elsevier Science Publishers Ltd., London and New York.
- Hara, S. and Totani, Y., 1988. A highly sensitive method for the micro-determination of lipid hydroperoxides by potentiometry, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65 12, 1949-1950.
- Hasenhuettl, G. L. and Wan, P.J., 1992. Temperature effects on the determination of oxidative stability with the Metrohm Rancimat, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 6, 525-527.
- Hattori, T., Ohishi, H., Yokota, T., Ohoami, H. and Watanabe, K., 1995. Antioxidative effect of crude antioxidant preparation from soybean fermented by *Bacillus natto*, *Lebensm. Wiss. u. -Technol*, 28, 1, 135-138.
- Harwalkar, V.R. and Maurice, T.J., 1990. Instrumentation and techniques of thermal analysis in food research, in *Thermal Analysis of Foods*, Eds. Harwalkar, V.R. and Ma, C. -Y., pp. 1-16., Elsevier Applied Science, London and New York.
- Hinds, M.J., Chinnan, M.S. and Beuchat, L.R., 1994. Unhydrogenated palm oil as a stabilizer for peanut butter, *J. Food Sci.*, 59, 4, 816-820.

- Hoover, M.W. and Painter, P.N., 1979. Evaluation of tertiary Butylhydroquinone as an antioxidant in powdered roasted peanut products, *Peanut Sci.*, 6, 55-57.
- Hoover, M.W. and Nathan, P.J., 1980. Effect of Tertiary Butylhydroquinone on the shelf life of salted-in-the-Shell roasted peanuts, *Peanut Sci.*, 12, 15-18.
- Hoover, M.W. and Nathan, P.J., 1981. Influence of Tertiary Butylhydroquinone and certain other surface coatings on the formation of carbonyl compounds in granulated roasted peanuts, *J. Food Sci.*, 47, 246-248.
- Houlihan, C.M., Ho, C.T. and Chang, S.S., 1984. Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, Rosmaridiphenol, isolated from rosemary, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 6, 1036-1039.
- Houlihan, C.M., Ho, C.T. and Chang, S.S., 1985. The structure of Rosmariquinone-A new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62, 1, 96-99.
- Hudson, B.J.F., 1989. Evaluation of oxidative rancidity techniques in *Rancidity in Foods*. 2nd. Edn., Eds Allen, J.C. and Hamilton, R.J., pp 53-67, Elsevier Science Publishers Ltd., London and New York.
- İGEME, 1999. İhracatı Geliştirme Merkezi Web Sayfası, <http://www.igeme.org.tr/>
- Inatani, R., Nakatani, N., Fuwa, H. and Seto, H., 1982. Structure of a new antioxidative phenolic diterpene isolated from rosemary (*Rosmarinus officinalis*), *Agric. Biol. Chem.*, 46, 6, 1661-1666.
- Iwami, K., Hattori, M. and Ibuki, F., 1987. Prominent antioxidant effect of wheat gliadin on linoleate peroxidation in powder model systems at high water activity, *J. Agric. Food Chem.*, 35, 628-631.
- Johnson, L. E., 1995. Food technology of the antioxidant nutrients, *CRC in Food Sci. and Nutrition*, 35, 1&2, 149-159.
- Kanner, J., Frankel, E., Granit, R., German, B. and Kinsella, J.E., 1994. Natural antioxidants in grapes and wines, *J. Agric., Food Chem.*, 42, 64-69.
- Karel, M. and Yong, S., 1981. Autoxidation-initiated reactions in foods, in *Water activity influences on food quality*, Eds. Rockland, L.B. and Stewart, G.F., Academic Press.
- Kashima, M., Cha, G.-S., Isoda, Y., Hirano and Miyazawa, T., 1991. The antioxidant effects of phospholipids on perilla oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 2, 119-122.
- Kılıç, G., 1998. Biberiyenin (Rosemary) doğal gıda antioksidanı olarak kullanımı, *Gıda*, Mayıs, 25.
- Kırbaşlar, G., 1998. Kavurma sıcaklığının fındığın besin değerine etkisinin incelenmesi, *Doktora Tezi*, İ. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Kikugawa, K., Kunugi, A. and Kurechi, T., 1990.** Chemistry and implications of degradation of phenolic antioxidants, in *Food Antioxidants*, Ed. Hudson, B.J.F., Chapter 3, pp. 65-99, Elsevier Applied Science, London, Newyork.
- Kim, R.S. and La-Bella, F.S., 1987.** Comparison of analytical methods for monitoring autoxidation profiles of authentic lipids, *J. Lipid Research*, 28, 1110-1117.
- Kimoto, H., Endo, Y. and Fujimoto, K., 1994.** Influence of interesterification on the oxidative stability of marine oil triacylglycerols, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71,5, 469-473.
- Kochhar, S.P. and Rossell, J. B., 1990.** Detection, estimation and evaluation of antioxidants in food systems, in *Food Antioxidants*, Ed. Hudson, B.J.F., Chapter 2, pp. 19-64, Elsevier Applied Science, London-Newyork.
- Kosugi, H., Kojima, T. and Kikugawa, K., 1991.** Characteristics of the Thiobarbituric acid reactivity of oxidized fats and oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 1, 51-55.
- Kramer, R. E., 1985.** Antioxidants in clove. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62, 1, 111-113.
- Labuza, T.P., 1982.** Shelf-life dating of foods, *Food and nutrition press, Inc.* Westport, Connecticut, 06880 USA. 129-147, 89-99.
- Labuza, T.P. and Riboh, D., 1982.** Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods, *Food Technol*, 36, 11, 66-74.
- Labuza, T.P. and Schmidl, M.K., 1985.** Accelerated shelf-life testing of foods *Food Technol.*, September, 57-64.
- Labuza, T.P. and Taoukis, P.S., 1990.** The relationship between processing and shelf-life in *Foods for the 90's*, Ed. Birch, G.G., 73-106, 250 p., Elsevier Applied Science, London, Newyork.
- Labuza, T.P., Silver, M., Cohn, M., Heidelbaugh, N.D. and Karel, M., 1971.** Metal-catalyzed oxidation in the presence of water in foods, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 48, 527-531.
- Laubli, M.W. and Bruttel, P.A., 1986.** Determination of the oxidative stability of fats and oils: Comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat method,, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 6, 792-794.
- Lee, SK., Cho, K.S., Park, G.B., Ha, J.K., Lee, S.J. and Chung, S.B., 1993.** Effect of oleoresin rosemary and sage on the retardation of oxidative rancidity in mechanically deboned chicken meat (MDCM), *J. Poultry Sci.*, 20,3, 115-123.

- Lee, SK., Chung, S.B., Cho, K.S., Chae, Y.S., Kang, C.G. and Kim, J.W., 1994. Influence of washing solution and oleoresin spice addition on the quality characteristics of mechanically deboned chicken meat Korean, *J. Animal Sci.*, 36,1 76-82.
- Lewis, L., S., 1984. *Spices and Herbs for the Food Industry*, Food Trade Press, Orpington, England.
- Lezerovich, A., 1986. Derivative UV spectra of lipid conjugated dienes, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 7 883-888.
- Liang, C. and Schwarzer, K., 1998. Comparison of four accelerated stability methods for lard and tallow with and without antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 11, pp. 1441-1443.
- Liu, H.R. and White, P.J., 1993. Oxidative stability of soybean oils with altered fatty acid compositions, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2, 9-533.
- Löliger, J., 1989. Natural antioxidants in *Rancidity in Foods*. 2nd Edn., Eds Allen, J.C. and Hamilton, R.J., pp 105-124, Elsevier Science Publishers Ltd., London and New York.
- Marion, J.P., Auidrin, A., Maignial, L. and Brevard, H., 1994. Spices and their extracts: Utilization, selection, quality control and new developments. in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 71-97, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- McCaleb, R.S., 1994. Food ingredient safety evaluation, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 131-145, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Mehta, R., L., Zayas, J.F. and Yang, S-S., 1994a. Ajowan as a source of natural lipid antioxidant, *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1420-1422.
- Mehta, R., L., Zayas, J.F. and Yang, S-S., 1994b. Antioxidative effect of isubgol in model and lipid system, *J. Food Proc. and Preserv.*, 18, 439-452.
- Merken, G.V., Vaeck, S.V. and Dewulf, D., 1982. Determination of the technological properties of cocoa butter by means of differential scanning calorimetry, *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.*, 15, 195-198.
- Miller, D.K., Smith, V.L., Kanner, J., Miller, D.D. and Lawless, H.T., 1994. Lipid oxidation and warmed-over aroma in cooked ground pork from swine fed increasing levels of iron, *J. of Food Sci.*, 59, 4, 751-756.
- Miyazawa, T., Kikuchi, M., Fujimoto, K., Endo, Y., Cho, S.Y., Usuki, R. and Kaneda, T., 1991. Shelf-life dating of fish meats in terms of oxidative rancidity as measured by chemiluminescence, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 1, 39-43.

- Moyler, D.A.**, 1994. Spices-Recent advances, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 1-71, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Moyler, D.A., Browning, R.M. and Stephens, M.A.**, 1994. Carbondioxide extraction of essential oils, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 145-171, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Muego-Gnanasekharan, K.F. and A.V.A. Resurreccion**, 1992. Physicochemical and sensory characteristics of peanut paste stored at different temperatures, *J. Food Sci.*, 57, 6, 1385-1389.
- Muego-Gnanasekharan and A.V.A. Resurreccion**, 1993. Physicochemical and sensory characteristics of peanut paste as affected by processing conditions, *J. Food Process. Preserv.*, 17, 321-336.
- Mugendi, J.B., Sims, C.A., Gorbet, D.W. and O'Keefe, S.F.**, 1998. Flavor stability of high-oleic peanuts stored at low humudity, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 1, 21-25.
- Nakatani**, 1994. Antioxidative and antimicrobial constituents of herbs and spices, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 251-273, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Nakatani**, 1997. Antioxidants from spices and herbs, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 4, pp 64-76, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Nakatani, N. and Inatani, R.**, 1981. Structure of rosmanol, a new antioxidant from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Agric. Biol. Chem.*, 45, 10, 385-2386.
- Nakatani, N. and Inatani, R.**, 1983. A new diterpene lactone, rosmadial from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Agric. Biol. Chem.*, 47, 2, 353-358.
- Nakatani, N. and Inatani, R.**, 1984. Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and a revised structure for rosmanno, *Agric. Biol. Chem.*, 48, 8, 2081-2085.
- Nakatani, N., Inatani, R. and Fuwa, H.**, 1981. Structures and synthesis of two phenolic amides from *Piper nigrum* L., *Agric. Biol. Chem.*, 44, 12, 2831-2836.
- Namiki, M.**, 1990. Antioxidants/antimutagens in food, *CRC in Food Science and Nutrition*, 29, 4, 273-300.

- Offord, E.A., Guillot, F., Aeschbach, R., Löliger, J. and Pfeifer, A.M.A., 1997. Antioxidant and biological properties of rosemary components: Implications for food and health, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 6, pp 88-97., AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Özçelik, B. and Karaali, A., 1998. Antioxidants of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and methods for their extraction. *CHISA '98, 13'th International Congress of Chemical and Process Eng.*, 23-28 August, Praha, Czech Republic.
- Özdemir, M. ve Devres, O., 1999. Turkish hazelnuts: Properties and effect of microbiological and chemical changes on quality, *Food Rev. Int.*, 15, 3, 309-333.
- Patterson, H.B.W., 1989. Handling and Storage of Oilseeds, Oils, Fats and Meal. Elsevier Applied Science, London and New York., 394 p.
- Pizzocaro, F., Senesi, E. and Babbini, G., 1994. Effetto protettivo di Salvia e Rosmarino Freschi su hamburger surgelati di carne bovina, *Industrie Alimentari*, XXXIII, marzo, 289-294.
- Pershern, A.S., Breene, W.M. and E.C. Lulai, 1995. Analysis of factors influencing lipid oxidation in hazelnuts (*Corylus spp.*), *J. of Food Protection and Preservation.*, 19, 9-26.
- Pomeranz, Y. and Meloan, C.E., 1987. *Food Analysis: Theory and Practice*. 2nd Edt., pp. 358, Avi Book, New York.
- Prabhakar, J.V. and Amla, B.L., 1978. Influence of water activity on the formation of monocarbonyl compounds in oxidizing walnut oil, *J. Food Sci.*, 43, 6, 1839-1841.
- Pratt, D.E., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially, in *Food Antioxidants*, Ed. Hudson, B.J.F., Chapter 5, pp. 171-193, Elsevier Applied Science, London-Newyork.
- Pratt, E. and Miller, E.E., 1984. Flavanoid antioxidants in Spanish peanuts, *J. Am. Oil Chem. Soc*, 61, 6, 1064-1067.
- Ragnarsson, J.O. and Labuza, T.P., 1977. Accelerated shelf-life testing for oxidative rancidity in foods, A review, *Food Chem.*, 2, 291, 291-307.
- Ramanathan, L. and Das, N.P., 1993. Natural products inhibit oxidative rancidity in salted cooked ground fish, *J. Food Sci.*, 58, 2, 318-320.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H. and Kawakishi, S., 1995. The contribution of plant antioxidants to human health, *Trends in Food Science and Tech.*, 61, March, 75-82.
- Reverchon, E., 1997. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products, *J. of Supercritical Fluids*, 1, 1, 1-37.

- Rhee, K. S., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C., 1981. Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients, *J. of Food Sci.*, 46, 75-77.
- Richeimer, S.L., Bernart, M.W., King, G.A., Kent, M.C. and Bailey, D.T., 1996. Antioxidant activity of phenolic diterpenes from Rosemary, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73,4, 507-514.
- Robards, K., Kerr, A.F. and Patsalides, E., 1988. Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods, *Analyst*. February, 13, 213-224.
- Saguy, I. and Karel, M., 1980. Modeling of quality deterioration during food processing and storage, *Food Technol.*, February, 78-85.
- Savage, G.P., McNeil, D.L. and Dutta, P.C., 1997. Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in new Zealand, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 6.
- Schuler, P., 1990. Natural antioxidants exploited commercially, in *Food Antioxidants*, Ed. Hudson, B.J.F., Chapter 4, pp. 99-171, Elsevier Applied Science, London-Newyork.
- Schultz, W.G., Schultz, T.H., Carlson, R.A. and Hudson, J.S., 1974. Pilot-plant extraction with liquid CO₂, *Food Technol.*, June, pp. 32-36, 88.
- Schwartzberg, H. G. And Hartel, R.W., 1992. Kinetics of lipid oxidation, in *Physical Chemistry in Foods*, Ed. Karel, M., pp. 651-661, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.
- Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J.P.D., 1992 . Phenolic antioxidants, *CRC in Food Sci. and Nutrition*, 32, 1, 67-103.
- Shahidi, F. and Wanasundara, U.N., 1997. Measurement of lipid oxidation and evaluation of antioxidant activity, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 24, pp 379-396., AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Sherwin, E.R., 1968 . Methods for stability and antioxidant measurement, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 632A-649.
- Singh, R.P., 1994. Scientific principles of shelf life evaluation, in *Shelf Life Evaluation of Foods*, Eds. Man, C.M.D. and Jonesa,A.A., pp. 3-24, Blackie Academic and Professional, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Smith, J.S. and Alfawaz, M., 1995. Antioxidative activity of Maillard Reaction products in cooked ground beef, sensory and TBA values, *J. Food Sci*, 60, 2, 234-236, 240.
- Spiegel, M. and Meddis, R., 1980. Schaum's Outline of Theory and Problems of Probability and Statistics.

- Spiro, M. and Chen, S.S.**, 1994. Kinetics of solvent extraction of essential oil from rosemary leaves, *Flavor and Fragrance J.*, 91, 87-200.
- Spiro, M. and Chen, S.S.**, 1995. Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves into leaves into several solvent systems *Flavor and Fragrance J.*, 11, 259-272.
- Tian, L.L. and White, P.J.**, 1994. Antioxidative activity of oat extract in soybean and cottonseed oils, 71, 10, 1079-1086.
- Tjho, K.H., Labuza, T.P. and Karel, M.**, 1969. Effects of humidification on activity of catalysts and antioxidants in model systems, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 46, November 597-600.
- TS 765**, 1993. Yağ tayini standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- TS 1917**, 1975. İşlenmiş iç fındık standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- TS 8371**, 1990. Fındık ezmesi standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- TS 10938**, 1993. Fındık püresi standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara .
- TS 11126**, 1993. Biberiye standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- Tsimidou, M. and Boskou, D.**, 1994. Antioxidative activity of essential oils from the plants of the Lamiaceae family, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 273-285, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Troller, J.A. and Christian, J.H.B.**, 1978. Water activity and food. Academic Press. Newyork, London, San Francisco. 69-79.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği**, 1997. Dünya Yayıncılık, İstanbul.
- Ünal, K. and Nergis, C.**, 1986. Lipidlerin bozulması üzerine metallerin etkileri, *E.U.Mühendislik Fakültesi Dergisi*, Seri B. Gıda Mühendisliği. 4, 1.
- Vekiari, S.A., Oreopolou, V., Tzia, C. and Thomopoulos, C.D.**, 1993. Oregano flavonoids as lipid antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 5, 483-487.
- Wada, S. and Fang, X.**, 1992. The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and α -tocopherol in sardine oil model system and frozen rushed fish meat, *J. Food Process. Preserv.*, 16, 263-274.
- Wada, S. and Fang, X.**, 1993. Synergistic antioxidant effect of rosemary and α -tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat, *Food Research Int.*, 26, 405-411.

- Wada, S. and Fang, X.**, 1994. Synergistic antioxidant effects of rosemary and α -tocopherol at different storage temperatures and its application for inhibiting dry sardine meat oxidation, *J. of Jpn. Oil Chem. Soc.*, 43, 2, 109-115.
- Wang, J.Y., Fujimoto, K., Miyazawa, T. and Endo, Y.**, 1991. Antioxidant mechanism of maize zein in powder model systems against methyl linoleate: Effect of water activity and coexistence of antioxidants, *J. Agric. Food Chem.*, 39(2), 351-355.
- Wetherilt, H. ve Pala, M.**, 1994. Herbs and spices indigenous to Turkey, in *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Ed. Charalambous, G., pp. 285-309, Elsevier, Amsterdam, London, Newyork, Tokyo.
- Wewala, A.R.**, 1997. Prediction of oxidative stability of lipids based on the early stage oxygen consumption rate, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 21, pp 331-345, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- White, P.J. and Xing, Y.**, 1997. Antioxidants from cereals and legumes, in *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, Ed. Shahidi F., Chapter 3, pp 25-64, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Woestenburg, W.J. and Zaalberg, J.**, 1986. Determination of the oxidative stability of edible oils-Interlaboratory test with the automated Rancimat method. *Fette Seifen Anstrichmittel*, 88-Jahrgang, Nr:2, 53-56.
- Wong, J. W., Hashimoto, K. and Shibamoto, T.**, 1995. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2707-2712.
- Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T. and Chang, S.S.**, 1982. Elucidation of the chemical structure of a natural antioxidants isolated from rosemary, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59, 8, 339-345.
- Yen, G.C. and Duh, P.D.**, 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 629-632.
- Yen, G.C. and Duh, P.D.**, 1995. Changes in antioxidant activity and components of methanolic extracts of peanut hulls irradiated with ultraviolet light, *Food Chem.*, 54, 127-131.
- Yen, G.C., Duh, P.D. and Tsai, C.L.**, 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls, *J. Agric. Food Chem.*, 41, 167-170.
- Yazıcıoğlu, T. and Karaali, A.**, 1988. On the fatty acid composition of Turkish vegetable oils, *Fette Seifen Antrichmittel*, 85, 1, 23-29.

Zandi, P. and Gordon, M.H., 1995. Stabilization of rapeseed oil by green tea extracts, *Proceeding of '95 International Tea -Quality and Human Source symposium*, No 1-7, Shangia, Chinese.



EKLER:

Ek 1. Farklı çözümler için “Aktif karbonla ağartma öncesi” ve “Aktif karbonla ağartma sonrası”nda % Ekstraksiyon verimlerindeki ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarındaki değişimlerin istatistiksel analiz sonuçları

F Testi	%Eks. Verimi (AKAÖ)	%Eks. Verimi (AKAS)	TFM (AKAÖ)	TFM (AKAS)
Ortalama	14.74	6.94	20.95	11.03
Varyans	27.73	15.71	103.60	87.59
Serbestlik Derecesi	17		17	
F _{hesaplanan}	1.765		1.183	
F _{tablo}	5.05		2.272	
P değeri	0.126		0.367	

Ek 2. Farklı çözümlerle ekstraksiyonun % Ekstraksiyon Verimi (AKAÖ), üzerindeki etkisinin “Tek yönlü ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirme sonuçları

% Ekstraksiyon Verimi (AKAÖ)					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	463.40	92.68	137.98	3.10
Hata	12	8.06	0.67		
Genel	17	471.46			

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 3.58E-10$).

Ek 3. Farklı çözügenlerle ekstraksiyonun % Ekstraksiyon Verimi (AKAS), üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirme sonuçları

% Ekstraksiyon Verimi (AKAS)					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	265.30	53.06	353.74	3.10
Hata	12	1.8	0.15		
Genel	17	267.10			

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 1.36E-12$).

Ek 4. Farklı çözügenlerle ekstraksiyonun Toplam Fenolik Madde Miktarı (AKAÖ), üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirme sonuçları

Toplam Fenolik Madde Miktarı (AKAÖ)					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	1757.91	351.58	1283.67	3.10
Hata	12	3.28	0.27		
Genel	17	1761.20			

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 6.18E-16$).

Ek 5. Farklı çözümlerle ekstraksiyonun Toplam Fenolik Madde Miktarı (AKAS), üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirme sonuçları

Toplam Fenolik Madde Miktarı (AKAS)					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	1479.87	295.97	384.94	3.11
Hata	12	9.23	0.77		
Genel	17	1489.1			

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 8.23E-13$).

Ek 6. Füre yağının OİS ve KF değerleri üzerine iki farklı cihaz (DTK ve Ransimat) ile ölçümün etkilerinin F testi ile değerlendirme sonuçları

F Testi	OİS (DTK)	OİS (Ransimat)	KF (DTK)	KF (Ransimat)
Ortalama	16.26	25.74	1.30	1.71
Varyans	7.51	40.03	0.05	0.18
Serbestlik Derecesi	17		17	
F hesaplanan	5.32		3.30	
F tablo	2.27		2.27	
P değeri	0.000623		0.0090	

Ek 7. Farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının DTK cihazı kullanılarak belirlenen OİS değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

DTK-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	208.20	52.05	18.05	3.47
Hata	10	28.83	2.88		
Genel	14	237.04	16.93		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 0.000144$).

Ek 8. Farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının DTK cihazı kullanılarak belirlenen KF değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

DTK-KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	1.27	0.31	29.96	3.47
Hata	10	0.10	0.01		
Genel	14	1.38	0.09		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 1.52E-05$).

Ek 9. Farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Ransimat-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	903.23	225.80	121.39	3.47
Hata	10	18.60	1.86		
Genel	14	921.83	65.84		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 1.97E-08$).

Ek 10. Farklı konsantrasyonlarda BAE katılımının Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen KF değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Ransimat KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	4.29	1.07	39.81	3.47
Hata	10	0.27	0.02		
Genel	14	4.56	0.32		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p = 4.11E-06$).

Ek 11. Antioksidan ilavesinin farklı sıcaklıklar için (100, 110, 120, 145, 155, 165°C) normal ve antioksidanlı yağda DTK cihazı kullanılarak belirlenen OİS değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

DTK-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	1	56531.63	56531.62	0.71 (<1)	4.30
Hata	22	1751447.21	79611.23	-	
Genel	23	4.56	1807978.76		

P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (p=0.4084).

Ek 12. BAE ilave edilmiş fındık fûresi yağının DTK cihazı kullanılarak (100, 110, 120, 145, 155, 165°C) belirlenen KF değerleri üzerine farklı ölçüm sıcaklıklarının etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

DTK-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	1.76	0.35	63.94	4.38
Hata	6	0.03	0.005		
Genel	11	1.79	0.16		

P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır (p=4.02E-05).

Ek 13. Normal ve BAE ilave edilmiş ve OİS değerleri DTK cihazı kullanılarak farklı sıcaklıklarda ölçülmüş fındık füresi yağında, hem ölçüm sıcaklığı hem de antioksidan ilavesinin OİS değerleri üzerine etkisinin” İki yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile birlikte değerlendirilme sonuçları

DTK-OİS-Sıcaklık İnteraksiyonu					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	11	1807930	164357.3	41038.02	4.96
Antioksidan	1	56531.63	56531.63	14115.26	
Sıcaklık	5	1695539	339107.8	84671.11	
A*S	5	55860.49	11172.1	2789.538	
Hata	12	48.06	4.005		
Genel	23	1807978			

P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. 2*6 faktöriyel desen).

Ek 14. Antioksidan ilavesinin farklı sıcaklıklar için (100, 110, 120⁰C) normal ve antioksidanlı yağda Ransimat cihazı kullanılarak belirlenen OİS değerleri üzerindeki etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Ransimat-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	1	2285.28	2285.28	4.68	4.96
Hata	10	4882.15	488.21	-	
Genel	10	7167.43		-	

P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (p=0.055775).

Ek 15. BAE ilave edilmiş fındık füresi yağının Ransimat cihazı kullanılarak (100, 110, 120°C) belirlenen KF değerleri üzerine, farklı ölçüm sıcaklıklarının etkisinin” Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

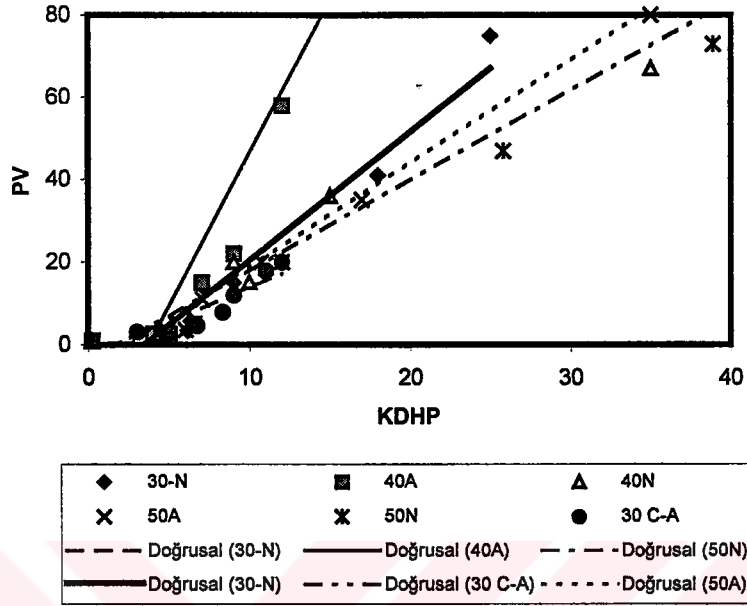
Ransimat-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	2	0.022	0.011	3.58	9.55
Hata	3	0.009	0.003		
Genel	5	0.032	0.006		

P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (p=0.160012).

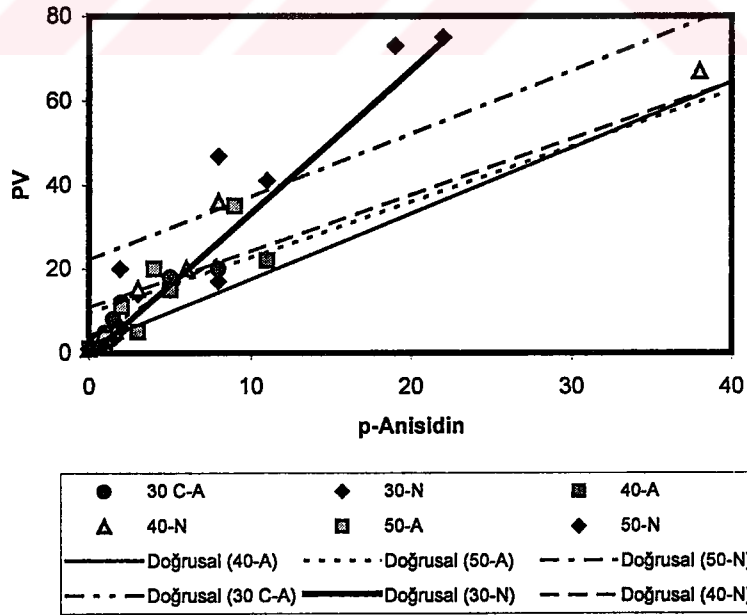
Ek 16. Normal ve BAE ilave edilmiş ve Ransimat cihazı kullanılarak OİS değerleri farklı sıcaklıklarda ölçülmüş fındık füresi yağında, hem ölçüm sıcaklığı hem de antioksidan ilavesi etkisinin “İki yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile birlikte değerlendirilme sonuçları (2*3 faktöriyel desen)

Ransimat-OİS-Sıcaklık İnteraksiyonu					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	5	7164.24	1432.85	2695.01	18.51
Antioksidan	1	2285.28	2285.28	4298.33	
Sıcaklık	2	4377.46	2188.73	4116.73	
A*S	2	501.49	250.75	471.62	
Hata	6	3.19	0.5316		
Genel	11	7167.43			

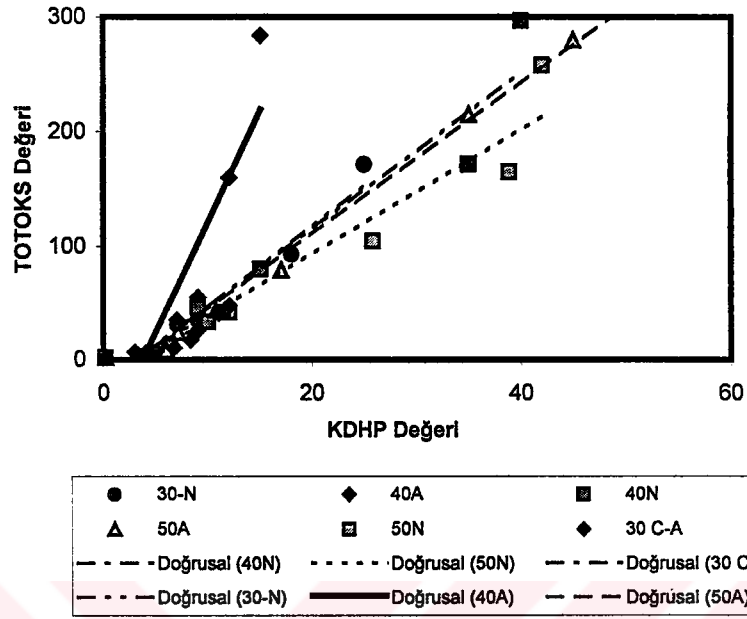
P<0.05 olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır.



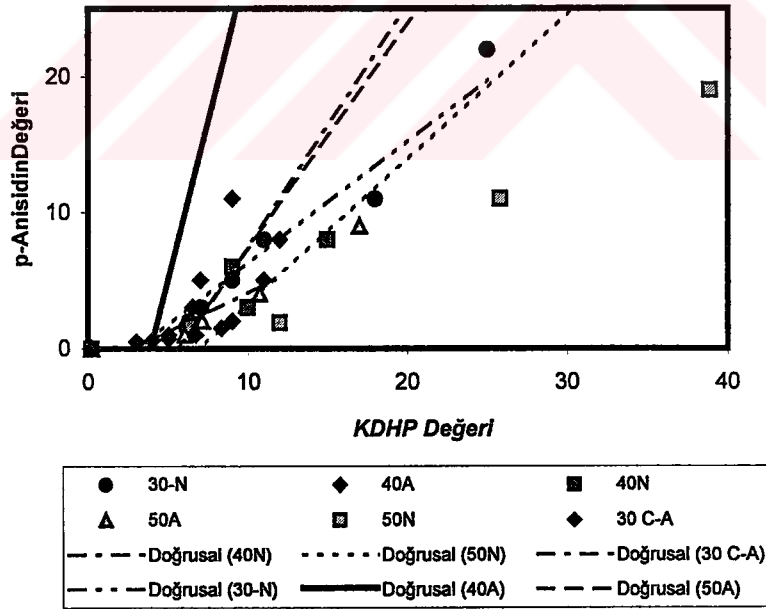
EK 17. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen PD ve KDHP değerleri arasındaki korelasyon



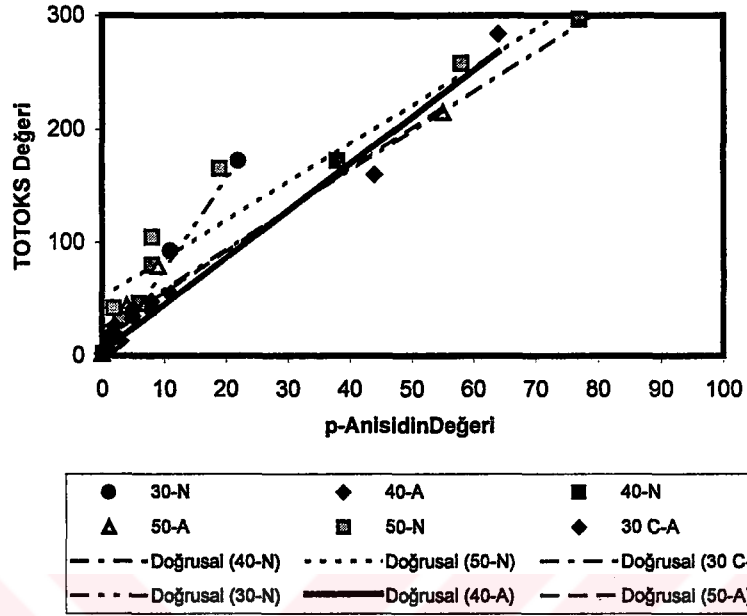
EK 18. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen PD ve *p*-Anisidin değerleri arasındaki korelasyon



EK 19. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen KDHP ve TOTOKS değerleri arasındaki korelasyon



EK 20. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık füresi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen KDHP ve *p*-Anisidin değerleri arasındaki korelasyon



EK 21. Farklı sıcaklıklarda depolanmış fındık furesi yağı örneklerinde zamana karşı ölçülen TOTOKS ve p -Anisidin değerleri arasındaki korelasyon

Ek 22. Sentetik antioksidan ilavesinin fındık furesi yağının DTK cihazı kullanılarak ölçülen OİS değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-DTK-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	105.33	26.33	206.56	5.19
Hata	5	0.63	0.12		
Genel	9	105.96	11.77		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 9.78E-06$).

Ek 23. Sentetik antioksidan ilavesinin fındık furesi yağının DTK cihazı kullanılarak ölçülen KF değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-DTK- KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	0.66	0.16	60.28	5.19
Hata	5	0.013	0.0027		
Genel	9	0.68	0.07		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 0.000203$).

Ek 24. Sentetik antioksidan ilavesinin fındık furesi yağının Ransimat cihazı kullanılarak ölçülen OİS değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-Ransimat-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	312.13	78.03	137.38	5.19
Hata	5	2.84	0.56		
Genel	9	314.97	34.99		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 2.68E-05$).

Ek 25. Sentetik antioksidan ilavesinin fındık furesi yağının Ransimat cihazı kullanılarak ölçülen KF değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-Ransimat KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	4	1.50	0.37	109.17	5.19
Hata	5	0.017	0.003		
Genel	9	1.52	0.17		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 4.73E-05$).

Ek 26. Sentetik antioksidanların ve bunların BAE ile sinerjistik etkilerinin fındık furesi yağının DTK cihazı kullanılarak ölçülen OİS değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-DTK-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	7	67.53	9.64	45.16	3.50
Hata	8	1.71	0.21		
Genel	15	69.24	4.61		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 8.28E-06$).

Ek 27. Sentetik antioksidanların ve bunların BAE ile sinerjistik etkilerinin fındık furesi yağının DTK cihazı kullanılarak ölçülen KF değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-DTK- KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	7	0.42	0.06	48.45	3.50
Hata	8	0.01	0.0012		
Genel	15	0.43	0.03		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 6.31E-06$).

Ek 28. Sentetik antioksidanların ve bunların BAE ile sinerjistik etkilerinin fındık furesi yağının Ransimat cihazı kullanılarak ölçülen OİS değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile farklı sentetik değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-Ransimat-OİS					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	7	357.41	51.05	141.83	3.50
Hata	8	2.88	0.36		
Genel	15	360.29	24.02		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 9.43E-08$).

Ek 29. Sentetik antioksidanların ve bunların BAE ile sinerjistik etkilerinin fındık furesi yağının Ransimat cihazı kullanılarak ölçülen KF değeri üzerindeki farklılık etkisinin “Tek yollu ANOVA” istatistik yöntemi ile değerlendirilme sonuçları

Sentetik Antioksidanlar-Ransimat KF					
Varyasyon kaynağı	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri (Hesaplanan)	F Değeri (Tablo)
İşlem	7	2.02	0.28	76.40	3.50
Hata	8	0.03	0.0037		
Genel	15	2.05	0.13		

$P < 0.05$ olasılık düzeyinde işlemler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır. ($p = 1.07E-06$).

ÖZGEÇMİŞ

Beraat Özçelik 23.01.1968 yılında İzmir’de doğdu. 1985-1990 yılları arasında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden mezun oldu. 1991 yılında İ.T.Ü. Kimya Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 1995 yılında yine aynı bölümden yüksek lisans diploması alan Beraat Özçelik, halen İ.T.Ü. Gıda Müh. Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

