



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



**SOĞUK PRES TEKNİĞİYLE
ÜRETİLEN NARENCİYE ÇEKİRDEK
YAĞLARININ KARAKTERİZASYONU**

Buket AYDENİZ GÜNEŞER
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

SOĞUK PRES TEKNİĞİYLE
ÜRETİLEN NARENCİYE ÇEKİRDEK
YAĞLARININ KARAKTERİZASYONU

Buket AYDENİZ GÜNEŞER
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Tezin Sunulduğu Tarih: 02/06/2016

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Emin YILMAZ

ÇANAKKALE

Buket AYDENİZ GÜNEŞER tarafından Prof. Dr. Emin YILMAZ yönetiminde hazırlanan ve **02/06/2016** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Soğuk Pres Tekniğiyle Üretilen Narenciye Çekirdek Yağlarının Karakterizasyonu**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Emin YILMAZ

.....

Başkan

Doç. Dr. Ümit GEÇGEL

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Ayhan DAĞDELEN

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Uğur CENGİZ

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması TUBİTAK-COST (Bilim ve Teknolojide Avrupa İşbirliği) programı kapsamında TOVAG-1140876 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Buket AYDENİZ GÜNEŞER

TEŞEKKÜR

Akademik çalışmalarımın başından bu yana danışmanlığımı üstlenerek, tüm bilgi birikimini ve değerli görüşlerini benimle paylaşan, sonsuz sabırla beni her zaman çalışmaya teşvik eden, prensip edindiği mesleki etik değerlerini ilke edinmekten onur duyduğum değerli hocam Sayın Prof. Dr. Emin YILMAZ'a,

Önemli yorum ve değerlendirmeleriyle yol gösteren jüri üyelerim Sayın Doç. Dr. Ümit GEÇGEL, Yrd. Doç. Dr. Çiğdem UYSAL PALA, Yrd. Doç. Dr. Uğur CENGİZ ve Yrd. Doç. Dr. Ayhan DAĞDELEN'e, mikrobiyolojik analizlerin gerçekleştirilmesinde desteğini esirgeyemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. N. Nükhet DEMİREL ZORBA'ya, tüm analizlerim süresince laboratuvar imkanlarını kullanmama olanak sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER ve Prof. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU'ya, HPLC analizlerinin yürütülmesinde destek veren ÇEVSAM'a, çalışmamın her aşamasında yanımda olan ve aynı projede yer almaktan büyük mutluluk duyduğum Gıda Yük. Müh. Elif KARAMAN, Gıda Yük. Müh. Emine Buket KARABİBER ve Aysu KAYA'ya,

Tezimde kullanılan limon, portakal ve greyluft çekirdeklerinin temin edilmesini sağlayan Limkon Gıda A.Ş. (Adana), Frigo-pak Gıda San. ve Tic. A. Ş. (Bursa), Anadolu Etap Penkon Gıda San. ve Tic. A.Ş. (Mersin) ve Konfrut Gıda San. ve Tic. A.Ş. (Denizli) ile doğal adsorban topraklarının sağlanmasında destek veren Rota Madencilik A.Ş. (İstanbul), Madkim Maden ve Kimya Ltd. Şti. (İstanbul) ve Karakaya Bentonit San. ve Tic. A.Ş. (Ankara) firmalarına,

Narenciye yağlarımın duyu analizlerinde değerli zamanlarını ayıran panel üyelerime, Tüm çalışmalarım süresince desteklerini ve anlayışlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşlarım Okutman Melek KÜLCÜ, Okutman Dr. Yelda TUTAR SERTER ve Arş. Gör. Nisa ÖZSOY'a,

TÜBİTAK-COST programı kapsamında TOVAG-1140876 numaralı proje ile tez çalışmamı destekleyen TÜBİTAK'a,

Hayatımın her evresinde eşsiz fedakarlıklar sergileyerek yanımda olan, bugüne kadar harcadıkları emeklerine asla değer biçemeyeceğim değerli ailem Nazife-Bahtiyar AYDENİZ ve Bahar-Osman IŞIK'a,

Aldığım her kararda bir an olsun tereddüt etmeden sevgisini ve özverisini eksik etmeyen, hayatıma değer kazandıran sevgili eşim Onur GÜNEŞER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Buket AYDENİZ GÜNEŞER

Çanakkale, Haziran 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
A.Ş.	Anonim Şirketi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2-Azinobis-(3-Etibenzotiozdin-6-Sulfonik asit)
AOAC	Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği
AOCS	Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği
BET	Brunauer–Emmett–Teller Teorisi
CCl ₄	Karbon Tetra Klorür
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu
cP	Santipoise
DAD	Diyot Dizilim Dedektörü
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
g	Gram
GA	Gallik Asit
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
H	Hidrojen
HCl	Hidroklorik Asit
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
Kg	Kilogram
KOH	Potasyum Hidroksit
L	Litre
M	Molarite
Meq	Miliekivalent
mg	Miligram
MHB	Mueller-Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
mL	Mililitre
mMol	Milimol
µm	Mikrometre

μL	Mikrolitre
μg	Mikrogram
N	Normalite
NaOH	Sodyum Hidroksit
NTG	Narenciye Tanıtım Grubu
NTU	Nefelometrik Türbidite Birimi
OIT	Oksidatif İndüksiyon Zamanı
Pa.s	Pascal.saniye
<i>p</i> -Anisidin	Para Anisidin
ppm	Milyonda Bir Birim
PVPP	Poli vinil poli pirolidon
QDA	Kantitatif Tanımlayıcı Analiz
rpm	Dakikada Tamamlanan Devir Sayısı
SDB	Saboroud Dextrose Broth
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
SPME	Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik
T_c	Kristalizasyon Sıcaklıkları
TE	Trolox Eşdeğeri
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
TEAE	Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü
TGDF	Türkiye Gıda ve İçecek Sanayi Dernekleri Federasyonu
TGK	Türk Gıda Kodeksi
T_m	Ergime Sıcaklıkları
TSA	Tyriptic Soy Agar
TSB	Tyriptic Soy Broth
TSE	Türk Standardları Enstitüsü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UTK	Ulusal Turunçgil Konseyi
UV-Vis	UV-Visible spektrofotometre
ZMO	Ziraat Mühendisleri Odası
ΔH_c	Kristalizasyon Entalpileri
ΔH_m	Ergime Entalpileri

ÖZET

SOĞUK PRES TEKNİĞİYLE ÜRETİLEN NARENCİYE ÇEKİRDEK YAĞLARININ KARAKTERİZASYONU

Buket AYDENİZ GÜNEŞER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Emin YILMAZ

02/06/2016, 169

Bu tez çalışmasında, gıda işleme atıkları olarak açığa çıkan limon (*Citrus lemon*), portakal (*Citrus sinensis*) ve greycitrus (*Citrus paradisi*) çekirdeklerinden soğuk pres tekniği ile yağ elde edilmesi ve elde edilen katma değeri yüksek çekirdek yağlarının tam karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla portakal ve greycitrus çekirdeklerinde kontrol grubuna (herhangi bir ön işlem uygulanmamış) karşılık sırasıyla mikrodalga ve acılık giderici enzim muamelesi uygulanmış ve devamında laboratuvar tipi soğuk pres makinasıyla meyve çekirdek yağlarının üretimi gerçekleştirilmiştir. Sadece limon çekirdeğinde herhangi bir ön muamele olmaksızın, soğuk preslemeye karşı solvent (hekzan) ekstraksiyon metodunun etkisi karşılaştırılmıştır. Tüm üretimler iki tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen çekirdek yağlarına ait verim değerleri (ortalama %36-71) ve sediment içerikleri (ortalama %5,8-8,2), fiziksel özellikleri (özgül ağırlık, kırılma indisi, viskozite, bulanıklık, renk-L, a* ve b* değerleri) ve kimyasal kalite parametreleri (serbest yağ asitliği, asit, peroksit, iyot ve sabunlaşma sayısı, p-anisidin değeri, sabunlaşmayan madde, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite ve naringin içeriği), bileşim bilgileri (yağ asiti, sterol, tokoferol ve fenolik maddeler), antimikrobiyal özellikleri, aromatik bileşenleri ve duyuşsal tanımlamaları uygun analitik tekniklerle tespit edilmiştir. Presleme sonucu açığa çıkan yağlı keklerin (küspe) temel bileşen analizleri yapıldıktan sonra, yağlı keklerin içerdikleri yağ solventle ekstrakte edilmiş ve elde edilen bu kek yağlarında da tüm analizler gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması kapsamında greycitrus yağına özgü acılığın giderilmesi amacıyla, soğuk preslemeyle elde edilen greycitrus çekirdek yağları yüzey karakterizasyonları yapılmış adsorban materyallerle (doğal zeolit, sepiyolit, montmorillonit ve amberlit türleri)

muamele edilerek, bu işlemin yağların bazı fiziko-kimyasal ve duyuşal nitelikleri ile fenolik kompozisyonu üzerine olan etkileri de incelenmiştir.

Kapasitesi her geçen gün artan meyve işleme prosesi sonucunda atık olarak açığa çıkan ve şimdiye kadar endüstriyel anlamda değeriendirilmeyen narenciye çekirdeklerinden katma değeri yüksek ürünlerin üretilmesinin hedeflendiğı tez kapsamında, hem ilgili sanayiciler için alternatif gelir kaynakları geliştirilmiş, hem de gıda ve diğeri sektörler (kozmetik, eczacılık, kimya vb.) için hammadde niteliğı taşıyan ürünlerin sunulması sağlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Narenciye, Çekirdek, Soğuk pres, Yağ, Kalite, Aroma



ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF CITRUS SEED OILS PRODUCED BY COLD PRESSING TECHNIQUE

Buket AYDENİZ GÜNEŞER

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Food Engineering

Advisor : Prof. Dr. Emin YILMAZ

02/06/2016, 169

In this thesis, the aim was to valorise the seeds of lemon (*Citrus lemon*), orange (*Citrus sinensis*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) through cold pressing to get seed oils and to fully characterize the high value seed oils. For this purpose, orange and grapefruit seeds were treated with microwave and bitterness degrading enzymes against control (no treatment) and then cold pressed to get the seed oils. In the lemon seeds, no pre-treatment applied, but cold pressing was compared with solvent (hexane) extraction for oil yield. All oil productions were replicated twice, and for all oils, yields (around 36-71%) and sediments (around 5.8-8.2%), physical properties (specific gravity, refractive index, viscosity, turbidity, color values-L, a* and b*) and chemical quality parameters (free fatty acidity, acid, iodine, peroxide and saponification numbers, *p*-anisidine value, unsaponifiable matter, total phenolics, antioxidant capacity and naringin content), components compositions (fatty acids, sterols, tocopherols and phenolics), antimicrobial properties, aromatic compounds and sensory definitions were analyzed with appropriate techniques. The oily cakes (meal) emerged were analyzed for proximate composition and then extracted by solvent, and the oils were analyzed with the same methods.

Within the contents of this thesis, the bitterness of grapefruit seed oils was tried to be removed by adsorbents (natural zeolite, sepiolite, montmorillonite and amberlites) which their surface properties analyzed previously. Furthermore, the effects of this treatment on the oil's physico-chemical and sensory properties, and phenolic compositions were determined.

The goal of this thesis was to produce value added products from the fruit processing wastes, which they emerge as mass by-products of everyday growing fruit processing

industries, and the goal was achieved that the oils were successfully produced as the alternative economical source for the fruit processors, as well as good raw material sources for food and other sectors (cosmetic, pharma, chemistry etc.) to be utilized.

Keywords: Citrus, Seed, Cold press, Oil, Quality, Aroma



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1. Narenciyelere Genel Bir Bakış	1
1.2. Narenciye Türlerinin Ülke Ekonomisi Açısından Önemi.....	2
1.3. Narenciyelerin Besin İçerikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	5
1.4. Narenciyelerin İşlenmesi Esnasında Ortaya Çıkan Atıklar ve Değerlendirilme Olanakları.....	6
1.5. Narenciye Çekirdek Yağlarının Önemi	8
1.6. Fenolik Bileşikler ve Narenciyelerin Karakteristik Acılığı Bakımından Önemleri....	8
1.7. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi	10
1.7.1. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi için Adsorban Uygulaması.....	11
1.7.2. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi için Enzim Uygulaması.....	11
1.8. Soğuk Pres Tekniği ve Yağ Eldesi.	13
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.	15
2.1. Narenciye İşleme Atıklarının Değerlendirilmesi.	15
2.2. Mikrodalga Uygulamasının Yağ Bileşenleri Üzerine Etkisi.....	16
2.3. Soğuk Pres Yağların Tokoferol Kompozisyonu.....	16
2.4. Narenciyelere Özgü Acılığın Giderilmesinde Adsorban Muamelesi.....	17
2.5. Narenciyelere Özgü Acılığın Giderilmesinde Enzim Muamelesi.....	19
2.6. Narenciye Yağlarının Uçucu Bileşenleri.	19
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE METOT	22
3.1. Materyal	22

3.2. Yöntemler.....	23
3.2.1. Narenciye Çekirdeklerinde Yapılan Fiziksel Analizler.....	23
3.2.2. Narenciye Çekirdeklerinde Yapılan Temel Bileşen Analizleri.....	25
3.2.3. Narenciye Çekirdeklerinin Yağ Eldesine Hazırlanması.....	25
3.2.4. Limon Çekirdek Yağlarının Eldesi.....	26
3.2.4.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi.....	26
3.2.4.2. Solvent (Hekzan) Ekstraksiyonu ile Yağ Eldesi.....	27
3.2.5. Portakal Çekirdek Yağlarının Eldesi.....	27
3.2.5.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi.....	27
3.2.5.2. Mikrodalga Uygulaması	27
3.2.6. Greyfurt Çekirdek Yağlarının Eldesi.	28
3.2.6.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi	28
3.2.6.2. Enzim Uygulaması	28
3.2.7. Greyfurt Çekirdek Yağları Acılığının Giderilmesi	28
3.2.7.1. Adsorban Topraklarının Asit Modifikasyonu.....	30
3.2.7.2 Adsorban Topraklarının Adsorbsiyon Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	30
3.2.7.3. Çekirdek Yağlarının Adsorban Toprakları ile Muamelesi.....	31
3.2.8. Soğuk Preslemeden Alınan Yağ Miktarı, Verimi ve Sediment İçeriklerinin Hesaplanması.....	31
3.2.9. Yağlı Keklerden Solvent ile Yağların Giderimi	32
3.2.10. Soğuk Presleme Sonrası Yağlı Narenciye Keklerinde Yapılan Temel Bileşen Analizleri.....	33
3.2.11. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi.....	33
3.2.12. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	37
3.2.13. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kompozisyonel Özelliklerinin Belirlenmesi.....	45
3.2.14. Narenciye Çekirdek Yağlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	51
3.2.14.1.Kültürler.	52
3.2.14.2. İnokulumun Hazırlanması	52
3.2.14.3. Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi.....	52
3.2.14.3.1. Disk Difüzyon ile Belirlenmesi	52
3.2.14.3.2. MİK Değerlerinin Belirlenmesi	53
3.2.15. Narenciye Çekirdek Yağlarının Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	53

3.2.16. Narenciye Çekirdek Yağlarının Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	55
3.2.16.1. Kantitatif Tanımlayıcı Analiz.....	55
3.2.16.2. Tüketici Beğeni Testi	58
3.2.17. İstatistiksel Analizler.....	59
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	60
4.1. Narenciye Çekirdeklerinin Özellikleri.....	60
4.2. Soğuk Pres İşleminde Yağ Verimi.....	62
4.3. Narenciye Çekirdeği Yağlı Keklerinin Özellikleri.....	66
4.4. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özellikleri.....	68
4.5. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özellikleri.....	73
4.6. Narenciye Çekirdek Yağlarının Termal Özellikleri.....	78
4.7. Narenciye Çekirdek Yağlarının Renk Bileşenleri.....	83
4.8. Narenciye Çekirdek Yağlarının Tokoferol İçeriği.....	87
4.9. Narenciye Çekirdek Yağlarının Yağ Asitleri Kompozisyonu.....	90
4.10. Narenciye Çekirdek Yağlarının Sterol Kompozisyonu.....	93
4.11. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fenolik Kompozisyonu.....	97
4.12. Narenciye Çekirdek Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri.....	102
4.13. Narenciye Çekirdek Yağlarının Uçucu (Aromatik) Bileşen Özellikleri	113
4.14. Narenciye Çekirdek Yağlarının Duyusal Özellikleri	127
4.15. Greyfurt Çekirdek Yağındaki Acılığının Giderilmesinde Etkisi Test Edilen Adsorban Materyallerinin Özellikleri	130
4.16. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özellikleri	131
4.17. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özellikleri	134
4.18. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Fenolik Kompozisyonu	136
4.19. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Sterol Kompozisyonu.....	136
4.20. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Antibakteriyel Özellikleri	139
4.21. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Duyusal Özellikleri	142

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER.....	145
KAYNAKLAR	153
EKLERİ.....	I
EK 1. Soğuk pres limon çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu.....	I
EK 2. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu.....	II
EK 3. Soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu.....	III
EK 4. Soğuk pres limon çekirdeği yağı sterol kompozisyonu.....	IV
EK 5. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı sterol kompozisyonu.....	V
EK 6. Soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı sterol kompozisyonu.....	VI
EK 7. Soğuk pres limon çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu (1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: rosmaric acid, 6: <i>tr</i> -ferulic acid, 7: neohesperidin, 8: hesperidin, 9: kaempferol)	VII
EK 8. Soğuk pres limon çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu (1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: hesperidin, 6: neohesperidin, 7: rosmaric acid, 8: <i>tr</i> -ferulic acid, 9: kaempferol)	VIII
EK 9. Soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu (1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: hesperidin, 6: neohesperidin, 7: <i>tr</i> -ferulic acid, 8: rosmaric acid, 9: kaempferol)	IX
EK 10. Soğuk pres limon çekirdeği yağı aroma kompozisyonu.....	X
EK 11. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı aroma kompozisyonu.....	XI
EK 12. Soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı aroma kompozisyonu.....	XII
ÖZGEÇMİŞ.....	XIV

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Ramnosidazın terminal ramnoz rezidülerine etki mekanizması.....	12
Şekil 1.2. Naringinin hidrolizi.....	12
Şekil 3.1. Dijital kumpas yardımıyla narenciye çekirdeklerinde gerçekleştirilen uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçümleri.....	23
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri.....	24
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan öğütülmüş haldeki limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri.....	24
Şekil 3.4. Narenciye çekirdek yağlarının eldesinde kullanılan laboratuvar ölçekli soğuk pres makinası.....	26
Şekil 3.5. Greyfurt yağlarına ait acılığın giderilmesinde etkisi test edilen adsorban materyalleri.....	29
Şekil 3.6. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarına ait diferansiyel taramalı kalorimetre örnek termogramı (a: limon çekirdeği yağı, b: portakal çekirdeği yağı, c: greyfurt çekirdeği yağı).....	35
Şekil 3.7. Soğuk preslemeyle üretilen narenciye çekirdek yağlarına ait oksidatif indüksiyon zamanı örnek termogramı (a: limon çekirdeği yağı, b: portakal çekirdeği yağı, c: greyfurt çekirdeği yağı).....	36
Şekil 3.8. Narenciye çekirdek yağlarının tümüne ait oksidatif indüksiyon zamanı örnek termogramı (a: soğuk pres limon çekirdeği yağı, b: solvent ekstraksiyonu limon çekirdek yağı, c: soğuk pres portakal çekirdeği yağı, d: mikrodalga+soğuk pres portakal çekirdeği yağı, e: soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı, f: enzim+soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı).....	37
Şekil 3.9. Gallik asit standart eğrisi	43
Şekil 3.10. Trolox standart eğrisi	44
Şekil 3.11. Yağ asitleri standart kromatogramı.....	47
Şekil 3.12. Sterol bileşenlerine ait standart kromatogram.....	49
Şekil 3.13. Narenciye çekirdek yağlarına ait örnek GC/MS kromatogramı.....	55
Şekil 3.14. Narenciye çekirdek yağlarının kantitatif tanımlayıcı analizinde kullanılan değerlendirme skalaları.....	58
Şekil 3.15. Tüketici testinde sunulan duyuusal skala.....	59
Şekil 4.1. Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağları.....	63
Şekil 4.2. Limon, portakal ve greyfurt çekirdeği yağlı kekleri.....	66
Şekil 4.3. Limon çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuusal analizleri örümcek ağı modeli.....	129
Şekil 4.4. Portakal çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuusal analizleri örümcek ağı modeli.....	129
Şekil 4.5. Greyfurt çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuusal analizleri örümcek ağı modeli.....	129
Şekil 4.6. Adsorban toprakları ile muamele edilmiş soğuk pres greyfurt çekirdek yağları.....	132

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Sofralık ve endüstriyel bakımdan önem taşıyan narenciye türleri.....	1
Çizelge 1.2. Dünya turunçgil üretim verileri.....	2
Çizelge 1.3. Turunçgil üretimi yapan başlıca ülkeler ve üretim miktarları (bin ton).....	3
Çizelge 1.4. Ülkemizde yetiştirilen 2014 yılı narenciye üretim miktarları.....	3
Çizelge 1.5. Ülkemiz narenciye üretim-tüketim ve ihracat-ithalat rakamlarının yıllara göre değişimi.....	4
Çizelge 2.1. Narenciye türlerinde bulunan önemli tat/lezzet bileşenleri.....	20
Çizelge 3.1 Amberlite ve asit-aktive doğal adsorban materyallerinin başlıca özellikleri....	29
Çizelge 3.2. Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında tanımlayıcı analiz için kullanılan tanımlayıcı terimler ve referans alınan standartlar.....	57
Çizelge 4.1. Narenciye çekirdeklerinin genel özellikleri.....	61
Çizelge 4.2. Narenciye çekirdeklerinin yağ içeriği ve yağ verimleri.....	65
Çizelge 4.3. Narenciye çekirdeği yağlı pres keklerinin genel özellikleri.....	67
Çizelge 4.4. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri.....	70
Çizelge 4.5. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri.....	72
Çizelge 4.6. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri.....	74
Çizelge 4.7. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri.....	77
Çizelge 4.8. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Kristalizasyon).....	80
Çizelge 4.9. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Ergime/Oksidatif indüksiyon zamanı).....	80
Çizelge 4.10. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Kristalizasyon).....	82
Çizelge 4.11. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Ergime/Oksidatif indüksiyon zamanı).....	82
Çizelge 4.12. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının toplam karotenoid ve klorofil içerikleri.....	84

Çizelge 4.13. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının karotenoid ve klorofil içerikleri.....	86
Çizelge 4.14. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının α - tokoferol içeriği.....	89
Çizelge 4.15. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının α - tokoferol içeriği.....	89
Çizelge 4.16. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının yağ asiti kompozisyonları (%).....	91
Çizelge 4.17. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının yağ asiti kompozisyonları (%).....	92
Çizelge 4.18. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%).....	94
Çizelge 4.19. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%).....	96
Çizelge 4.20. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg).....	98
Çizelge 4.21. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg).....	101
Çizelge 4.22. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi).....	104
Çizelge 4.23. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (minumum inhibitör konsantrasyon.....	106
Çizelge 4.24. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi).....	107
Çizelge 4.25. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (minumum inhibitör konsantrasyonu).....	108
Çizelge 4.26. Antibiyotik disklerinin antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi).....	110
Çizelge 4.27. Bazı fenolik standart ve antibiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi).....	111
Çizelge 4.28. Limon çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler.....	115
Çizelge 4.29. Portakal çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler.....	119
Çizelge 4.30. Greyfurt çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler.....	121

Çizelge 4.31. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağlarda tanımlanan uçucu bileşenler.....	124
Çizelge 4.32. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarına ait duyusal özellikler.....	128
Çizelge 4.33. Amberlite ve asit-aktive doğal adsorban türlerinin adsorbsiyon kapasiteleri ve adsorban muamelesi sonrası yağ verimindeki kayıp (%)......	129
Çizelge 4.34. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri.....	133
Çizelge 4.35. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri.....	135
Çizelge 4.36. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg)......	137
Çizelge 4.37. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%)......	138
Çizelge 4.38. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının antibakteriyel etkileri (disk difüzyon yöntemi)......	140
Çizelge 4.39. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının antibakteriyel etkileri (minimum inhibitör konsantrasyonu)......	139
Çizelge 4.40. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının duyusal özellikleri.....	143
Çizelge 4.41. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağının tüketici beğeni skorları.....	144

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Narenciyelere Genel Bir Bakış

Narenciyeler dünyada üretimi ve ticareti çok yaygın olan meyvelerdir. Anavatanları ile ilgili farklı görüşler olmakla birlikte, Güneydoğu Asya'dan tüm dünyaya yayıldıklarına inanılmaktadır (Matheyambath ve ark., 2016). Narenciyelerin de içerisinde yer aldığı *Rutaceae* familyası yaklaşık 140 cins ve 1.300 narenciye türünü kapsayan çok geniş bir ailedir. Üretilen ve tüketilen narenciye türleri dünyanın farklı bölgelerine göre geniş varyasyonlar sergileyebilmektedir. Çok geniş türleri kapsayan narenciyelerin bir kısmı ülkemiz coğrafyasında yetiştirilirken, bir kısmının ekimi dahi yapılmamaktadır. Hem sofralık, hem de endüstriyel bakımdan önem taşıyan başlıca narenciye türleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Cemeroğlu, 2013; Anonim, 2016)

Çizelge 1.1. Sofralık ve endüstriyel bakımdan önem taşıyan narenciye çeşitleri (Cemeroğlu, 2013; Anonim, 2016)

Limon	Portakal	Greyfurt	Mandalina
İnterdonato	Valencia	Marsh-seedless (beyaz greyfurt)	Satsuma
Kütdiken	Washington Navel	Star ruby (kırmızı greyfurt)	Klementin
Lamas	Navelina	Red blush (pembe greyfurt)	Fremont
Demre dikensiz (Kara limon)	Navelate	Rio red	Nova
Molla Mehmet	Yafa	Henderson	Robinson
Kıbrıs	Fukumoto	Oroblanco	Minneola
Eureka	Hamlin		Okitsu wase
İtalyan memeli	Kan portakalı (Moro ve Torocco)		Dobashibeni
Lamas	Yerli (Dörtyol, Kozan, Alanya, Finike yerlisi)		Mandora
Meyer			Ortanique

Taksonomik sınıflandırmaları kompleks olmakla birlikte narenciyeler genellikle şu kategorilere ayrılabilirler; tatlı portakal, kan portakalı (*Citrus sinensis*), mandalina (*Citrus tangerine*, *Citrus reticulata*), satsuma mandalini (*Citrus unshi*), klementin mandalini (*Citrus clementine*), ekşi/acı portakal (*Citrus aurantium*), limon (*Citrus limon*), misket limonu (*Citrus aurantifolia*, *Citrus latifolia*), greyfurt (*Citrus paradise*), şadok (*Citrus grandis*), hibritler (tangelo, tangor, kamkat) ve ağaç kavunu (*Citrus medica*) (Matheyambath ve ark., 2016). Tüm bu kategorilerin en yaygın bilinen üyeleri arasında limon (*Citrus limon*), portakal (*Citrus sinensis*), mandalina (*Citrus reticulata*), greyfurt (*Citrus paradisi*), pomelo (*Citrus grandis*) ve misket limonu (*Citrus aurantifolia*) yer almaktadır (Anwar ve ark., 2008).

1.2. Narenciye Türlerinin Ülke Ekonomisi Açısından Önemi

Dünya genelinde toplam 9,7 milyon hektar alanda 135 milyon ton narenciye (turunçgil) yetiştiriciliği yapılmaktadır (Matheyambath ve ark., 2016). Toplam üretiminin %57 gibi büyük bir bölümünü portakal oluşturmakta ve bunu sırasıyla mandarin (%23), limon (%11) ve greyfurt (%9) takip etmektedir (Doğan, 2014; UTK, 2015). Dünya turunçgil üretiminde öneme sahip türlerin üretim rakamlarına ilişkin veriler Çizelge 1.2’de görülmektedir.

Çizelge 1.2. Dünya turunçgil üretim verileri (UTK, 2015)

Ürünler	Alan (ha)	Üretim (Ton)
Portakal	4,080,000	71,445,352
Mandarin	2,893,000	28,678,214
Limon	1,001,938	15,191,482
Altıntop	328,690	8,453,446
Diğer	1,374,806	11,992,686
Toplam	9,678,766	135,761,181

Turunçgil üretiminde Çin, Brezilya ve ABD ilk üç sırada yer alırken, Türkiye yaklaşık 3,7 milyon tonluk üretimi ile 9. sırada (Çizelge 1.3) bulunmaktadır (Doğan, 2014). Bunun yanısıra, ülkemiz dünya portakal üretiminde 10. sırada, limon ve greyfurt üretiminde ise 7. sırada yer almaktadır (TEAE, 2010; TÜİK, 2014).

Çizelge 1.3. Turunçgil üretimi yapan başlıca ülkeler ve üretim miktarları (bin ton) (UTK, 2015)

Ülke/Yıl	2010	2011	2012	2013
Çin	23,968	30,013	31,700	32,577
Brezilya	21,327	22,018	20,259	19,735
ABD	9,986	10,678	10,620	10,133
Hindistan	10,392	7,464	8,000	10,090
Meksika	6,857	7,140	6,750	7,613
İspanya	5,456	5,160	5,502	-
İtalya	3,191	3,840	2,905	-
Mısır	3,523	3,731	3,980	-
Türkiye	3,572	3,614	3,556	3,681
TOPLAM	123,756	128,922	131,283	135,761

2014-2015 verilerine göre ülkemizde yaklaşık 1 milyon 304 bin 973 dekar alanda toplam 3 milyon 805 bin 696 tonluk üretimi (Çizelge 1.4) yapılan narenciye türleri, yaş meyve ve sebzeler içerisinde büyük bir öneme sahiptir (Doğan, 2014; UTK, 2015).

Çizelge 1.4. Ülkemizde yetiştirilen 2014 yılı narenciye üretim miktarları (TÜİK, 2014, UTK, 2015)

Ürün Adı	Toplu Meyveliklerin Alanı (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç Başına Ortalama Verim (kg)
Portakal (Washington)	392,381	1,329,939	133
Portakal (Yafa)	21,603	67,505	104
Portakal (diğer)	132,550	382,231	120
Mandalina (Satsuma)	228,130	643,725	98
Mandalina (Clementin)	28,073	82,289	99
Mandalina (King)	1,632	6,550	120
Mandalina (Diğer)	159,618	314,335	96
Limon	276,653	725,230	109
Greyfurt (Altıntop)	63,875	229,555	175
Turunç	458	2,158	37

Tüm narenciye türleri içerisinde portakal en fazla üretilen türdür. 2014 yılı için üretim rakamlarımız portakal için 1 milyon 779 bin 675 ton, mandalina için 1 milyon 46 bin 899 ton, limon için 725 bin 230 ton, greyfurt için 229 bin 555 ton ve turunç için 2 bin 158 ton olarak rapor edilmiştir (TÜİK, 2014).

Türkiye`de turunçgil üretiminin %95`i Ege ve Akdeniz kıyılarından sağlanmaktadır. Özellikle Çukurova Bölgesi narenciye yetiştiriciliğinde önem taşımakta ve greyfurtun %96`sı, limonun %86`sı, portakalın %62`si, mandarinin ise %75`i bu bölge tarafından karşılanmaktadır. 2013 yılı verilerine göre Antalya portakal, Hatay mandalin, Mersin limon ve Adana ise greyfurt üretiminde ilk sırada önem taşıyan illerimizdir (ZMO, 2015). Üretim ve ihracat rakamlarımızın son 6 yıllık süreçte artışa eğimli olduğu görülmektedir (Çizelge 1.5). Turunçgil ihracatının %90`dan fazlası Doğu Avrupa ve Orta doğu ülkelerine (Rusya, Ukrayna, Romanya, Polonya, Irak, Arabistan), geri kalan kısmı ise Batı Avrupa`ya gerçekleştirilmektedir (Doğan, 2014; Anonim, 2015a). Narenciye türlerinin ihracatından elde edilen gelir geçen yıl (2014) itibari ile 933 milyon dolar olarak kaydedilmiştir (Boztemur, 2011; UTK, 2015). Bu gelir ülke ekonomisi için çok önemli bir rakamdır.

Çizelge 1.5. Ülkemiz narenciye üretim-tüketim ve ihracat-ithalat rakamlarının yıllara göre değişimi (UTK, 2015; ZMO, 2015)

Üretim yılı	Üretim (ton)	Tüketim (ton)	Kişi başına tüketim (kg)	İhracat (ton)	İthalat (ton)
2013-14	3,681,158	2,180,394	28,4	1,598,734	181,340
2012-13	3,475,024	2,296,094	30,4	1,253,447	173,993
2011-12	3,613,766	2,072,711	27,7	1,631,210	165,567
2010-11	3,572,376	2,106,038	28,6	1,548,275	161,142
2009-10	3,513,772	2,152,658	29,7	1,225,865	140,327

Dünya sıralamasına göz atıldığında, Türkiye dünya greyfurt ihracatının %11,3`ünü, portakal ihracatının %4,23`ünü, limon ihracatının ise %16,56`sını karşılamaktadır. Belirtilen % değerleri dünya sıralaması olarak ifade edildiğinde, dünya greyfurt ihracatı bakımından 4., limon ihracatı bakımından 2. ve portakal ihracatı bakımından ise 6. sırada yer aldığımız söylenebilir. Söz konusu her üç meyve türü içinde ithalatımızın ihracatımıza oranla göz ardı edilebilecek ölçüde düşük olarak rapor edilmesi ülke ekonomisi bakımından önemli bir başarıdır (Boztemur, 2011).

1.3. Narenciyelerin Besin İçerikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri

Meyve-sebzelerin içerdiği fitokimyasallar gibi biyoaktif bileşikler ile insan sağlığı arasında güçlü bir ilişki bulunduğu, yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla birçok kez ortaya konulmuştur (Ortuno ve ark., 1997; Benavente-Garcia ve Castillo, 2008; Nayak ve ark., 2015).

Narenciye türlerinin yaklaşık %85'den fazlası su olup, %15 lik katı kısmının içeriği ise çözünmüş şeker (%10), diyet lifi (%2), organik madde (%1), protein (%1) ve yağdan (%0,3) meydana gelmektedir (Deveci, 2008). Narenciyeler elektrolit dengesinde önemli rol oynayan sodyum ve potasyum için değerli bir kaynaktır. Bunun yanı sıra meyvenin içerdiği sitrik asitin, kalsiyum ve diğer minerallerin absorpsiyonunda şelatör olarak olumlu etkiler sağladığı da bildirilmiştir. Narenciye türlerinin, 23-83 mg/100 g taze meyve aralığında değişen C vitamini içerikleri nedeniyle günlük alınması tavsiye edilen C vitamini ihtiyacını büyük ölçüde karşıladıkları kabul edilmektedir. C vitamini yanı sıra narenciye türleri A vitamini prekürsörleri olarak kabul edilen karotenler ve β -kriptoksantin bakımından da zengin kaynaklardır. Karotenoid içerikleri narenciye türlerine göre geniş varyasyonlar sergilemekle birlikte, greyfurt, mandalin ve portakalda β -kriptoksantin major olarak yer aldığı, α - ve β -karotene ise daha minor miktarlarda bazı portakal türlerinde rastlandığı bildirilmiştir (Matheyambath ve ark., 2016).

Narenciye suları folik asit alımı içinde önemli besin kaynakları arasında yer almaktadır. Özellikle portakal suyunda bulunan folatın biyoyararlılık ve stabilitesinin yüksek olduğu ve yetişkinler için günlük alınması gereken folat ihtiyacının %20'ye kadar varan düzeylerde karşılanması için yeterli olduğu bildirilmiştir. Meyvenin yenilebilen kısımlarının yanı sıra kabuk, çekirdek gibi yenilemeyen kısımları selüloz, hemiselüloz ve pektin gibi diyet lifleri bakımından zengin kaynaklardır. Toplam lif içeriğinin %70'lik kısmını oluşturan ve çözünebilir karaktere sahip olan pektine başta portakal ve greyfurt olmak üzere tüm narenciye türlerinde rastlamak mümkündür (Matheyambath ve ark., 2016).

Sitroflavonoidler olarak da bilinen narenciye flavonoidleri güçlü serbest radikal temizleme, antiinflamatuar, antibakteriyel ve antiviral etkileri ile bilinmektedir. Meyvelerin karakteristik aroma ve lezzetine katkıda bulunan hesperidin, naringin gibi flavanon glikozitlerin *in vivo* ve *in vitro* model ortamlarında damar geçirgenliğini etkilediği ayrıca antikarsinogenik, antioksidan, antiülser, antiinflamatuar, antimutajenik, antimikrobiyal ve kandaki lipid düzeyini düşürücü yönde aktivite sergilediği rapor edilmiştir (Atli ve ark., 2007; Cavia-Saiz ve ark., 2010; Salas ve ark., 2012; Alvarenga ve ark., 2013). Sahip olduğu fonksiyonel özellikler nedeniyle naringinin oral yolla alımı giderek daha fazla

dikkat çekmektedir. Jung ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada düzenli diyetle ilaveten günde 400 mg naringin alımının, hiperkolesterolemik bireylerin toplam ve kötü kolesterol düzeylerinde sırasıyla %14 ve 17'lik düşümlere yol açtığı tespit edilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada (Dong ve ark., 2015) ise, CCl₄ teşvik ettiği karaciğer zedelenmesine karşı naringinin koruyucu etkisi ve aksiyon mekanizması test edilmiştir. Naringinin oral uygulamasının, model gruba kıyasla kan serumu alanin transaminaz düzeyi ile karaciğer dokusundaki nitrik oksit düzeyinde belirgin bir indirgenmeye, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinde ise önemli bir artışa yol açtığı rapor edilen çalışma bulgularıdır. Yapılan patolojik değerlendirmeler sonucunda ise naringinin doku yıkımına karşı karaciğeri koruyucu etki sergilediği de gözlenmiştir. Araştırmacılar, CCl₄'ün teşvik ettiği karaciğer zedelenmesine karşı mükemmel bir etki sergileyen naringinin, bu rahatsızlığın tedavisi için gelecek vaat eden etkili bir besin ögesi yada sağlık ürünü olarak kullanılabileceğini işaret etmektedir (Dong ve ark., 2015). Naringinin antiinflamator, kardiyovasküler, antiaterosklerotik, antioksidan, antidiyabetik ve antikanser etkileri de literatürde rapor edilen diğer bulgular arasındadır (Benavente-Garcia ve Castillo, 2008; Chanet ve ark., 2012).

Genel bir ifadeyle limon, greyfurt ve portakal başta olmak üzere narenciyelerin diğer önemli vitaminler, çeşitli mineraller, organik asitler, karotenoidler ve diyet lif gibi temel besin öğelerinin yanı sıra flavonoidler ve limonoidler gibi sağlık üzerine olumlu etkileri klinik birçok çalışma ile kanıtlanmış fonksiyonel bileşikleri de diyetimize sağlayan önemli gıda maddeleridir (Gebhardt ve Thomas; 2002; Manners, 2007; Uckoo ve ark., 2012).

1.4. Narenciyelerin İşlenmesi Esnasında Ortaya Çıkan Atıklar ve Değerlendirilme Olanakları

Türkiye'de sürdürülebilir kalkınma üzerine gıda sanayiinin etkisi oldukça önemli düzeydedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nin 2014 yılında açıklamış olduğu Yıllık Sanayi ve Hizmet İstatistikleri'ne göre gıda ve içecek sanayi işletme sayısı 2012 yılında 40,719'a ulaşmıştır. Bu işletmelerin 40,235'i gıda sanayinde, 484'ü ise içecek sanayinde faaliyet göstermektedir. Alt sektörler bazında incelendiğinde gıda işletmelerinin büyük çoğunluğunun (%80) fırın ve unlu mamüller ile nişastalı ürünlerin imalatını yapan işletmeler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu sektörü sırasıyla süt ürünleri ve sebze-meyve işleme alanında faaliyet gösteren işletmeler takip etmektedir (TGDF, 2014).

Nüfus artışına paralel olarak artan üretim/tüketim talebini karşılayabilmek adına her geçen gün giderek büyüyen gıda endüstrisi ile paralel artış gösteren ve yılda binlerce tonu bulan

işleme atıkları hem risk hem de fırsat olarak karşımıza çıkmaktadır. Gıda endüstrisi kaynaklı katı ve sıvı atıkların ancak %20'si bertaraf edilebilmekte, birçoğu üretim sonunda imha edilmesine rağmen bir kısmı da ekonomik değeri daha az olan ürünlere işlenmektedir (Yücel ve ark., 2006; Şener ve Ünal, 2008, Anonim, 2014).

Narenciye türleri dünyada yaygın hasadı yapılan meyveler arasında gelmekte ve başta tropik bölgeler olmak kaydıyla 100'den fazla ülkede yetiştirilmektedir (Anwar ve ark., 2008; Hayat ve ark., 2009). Yetiştirilen narenciye türleri taze tüketilmelerinin yanısıra meyve suyu endüstrisi için vazgeçilmez hammaddelerdir. Portakalların önemli bir kısmı (53,8 bin tonu meyve suyu, 2,7 bin tonu meyve suyu konsantresi), limon ve greyfurtların ise (meyve suyuna işlenen miktarları sırasıyla 40 bin ton-0,4 bin ton; meyve suyu konsantresine işlenen miktarları sadece limon için 2,3 bin ton) daha az bir kısmı meyve suyu endüstrisi tarafından değerlendirilmektedir (Akdağ, 2011). Narenciye türlerinin konsantre, meyve suyu, gazlı içecek ve konserveye işlenmeleri esnasında, toplam meyve ağırlığının %50'sini oluşturan çekirdek, kabuk ve pulp gibi niceliği ve niteliği yüksek yan ürünler büyük miktarlarda açığa çıkmaktadır. Biyolojik aktif bileşikleri önemli oranlarda içermeleri nedeniyle, ekonomik değeri yüksek bu yan ürünlerin değerlendirilmesi son zamanlarda birçok araştırmacı tarafından çalışılmaktadır (El-Adawy ve ark., 1999; Anwar ve ark., 2008; Hayat ve ark., 2009; Matthaus ve Özcan, 2012; Malacrida ve ark., 2012; Nayak ve ark., 2015).

Uygun şekilde yararlanılırsa narenciye atıkları fenolik bileşiklerin önemli bir kaynağı olabilir. Kabuk atığı, lif ve posa ile birlikte hayvan yemi, kömür, kimyasal bileşikler için adsorbent materyali, esansiyel yağlar ve limonen üretimi, melas ve pektin imalatı, brendi ve şarap eldesinde değerlendirilmektedir (Rezzadori ve ark., 2012).

Portakal suyu prosesinde ortaya çıkan yan ürünler (kabuk ve etli kısımlar) bütün portakalda bulunan toplam limonoid glikozitlerin yaklaşık %50 sini içermekte olup, bu içerik portakal suyuna kıyasla 2 kat daha fazladır. 2006-2007 yılları arasında tüm dünya genelinde toplam 2.2 milyon ton portakalın meyve suyuna işlendiği ve işleme yan ürünlerindeki mevcut limonoid glikozitlerin miktarının yaklaşık 1100 tona ulaştığı rapor edilmiştir (Manners, 2007). Son yıllarda yapılan araştırmalarda, narenciye meyvesinden ve meyve yan ürünlerinden kilo verme amacıyla yararlanılabileceği de rapor edilmiştir (Tokgöz ve Gölükcü, 2009).

1.5. Narenciye Çekirdek Yağlarının Önemi

Başta fonksiyonel ve besinsel niteliği olmak üzere, endüstriyel olarak da öneme sahip alternatif yağ kaynaklarının araştırılması kaçınılmaz bir ihtiyaç olarak karşımıza çıkmaktadır. Yağ stabilitesinin sağlanması yanı sıra canlı metabolizması üzerinde de önemli katkıları bulunan elzem yağ asitleri, fenolik bileşikler, tokoferoller ve karotenoidler gibi fitokimyasallara narenciye çekirdek yağlarında yaygın rastlanmaktadır.

Meyvelerde ortalama ağırlıkça %3-5 çekirdek bulunduğu göz önüne alındığında çok önemli miktarlarda (18-22 bin ton) çekirdek atığı ortaya çıkmaktadır (Malacrida ve ark., 2015; Gornas ve ark., 2015). Biyoktif moleküllerce (flavanonlar, fenolik asitler, karotenoidler, kumarinler, limonoidler, diyet lifleri vb.) zengin olmalarına rağmen, meyve işleme endüstrisinin atığı olarak muazzam miktarlarda açığa çıkan meyve çekirdeklerinin büyük bir kısmı değerlendirilmeden bertaraf edilmektedir (Russo ve ark., 2014). Meyve endüstrisinin önemli bir yan ürünü olarak açığa çıkan meyve çekirdeklerinin uygun biçimde değerlendirilmesinin, atıkların bertaraf edilmesi probleminin minimize edilmesinde ekonomik ve çevresel bakımdan önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir (Malacrida ve ark., 2015; Gornas ve ark., 2015).

Limon, portakal ve greyfurt gibi narenciye endüstrisinde yaygın işlenen meyve türlerinin sırasıyla %34- 45 , %27-52 ve %36-49 aralığında değişen yağ içeriğine sahip oldukları bildirilmiştir (Saidani ve ark., 2004, Anwar ve ark., 2008, Malacrida ve ark., 2012, Matthaus ve Özcan, 2012). Bu veriler göz önüne alındığında, çekirdeklerin birer yağ kaynağı olarak değerlendirilebileceği ortaya çıkmaktadır.

Doymamış yağ asitlerince oldukça zengin olan ve ticari olarak ekstraksiyonu yaygın olmayan narenciye çekirdek yağlarının yemeklik yağ sanayi, kozmetik, farmakoloji, sabun ve deterjan gibi endüstriyel kullanımlarının yanı sıra aromaterapi gibi uygulamalarda da kullanıma uygun değerli bir yağ potansiyeli/ucuz ham madde olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Saidani ve ark., 2004; Anwar ve ark., 2008, Malacrida ve ark., 2012).

1.6. Fenolik Bileşikler ve Narenciyelerin Karakteristik Acılığı Bakımından Önemleri

Polifenoller yada diğer adıyla fenolik bileşikler, aromatik benzen halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren, bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine ve rengine etki eden ikincil metabolitlerdir (Manach ve ark., 2004). Bitkisel kökenli materyallerde bulunan ve diyetimizde sıklıkla yer verdiğimiz fenolik bileşikler “fenolik asitler” ve “flavonoidler”

olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Fenolkarbon asitleri ismi ile de anılan fenolik asitlerden, sinamik (kafeik, ferulik, kumarik asit) ve benzoik asitlerin (gallik, vanilik, şirinjik asit) yapısı sırasıyla C₆-C₃ ve C₆-C₁ iskeletine dayanmakta, bitkisel fenoliklerin en büyük ve en önemli grubu flavonoidlerin yapısında ise difenilpropan iskeleti (C₆C₃C₆) yer almaktadır (Cemeroğlu, 2013). Fenolik asitler kendi içerisinde, sinamik (hidroksisinnamik) ve benzoik (hidroksibenzoik) asitler olmak üzere iki alt gruba ayrılırken, flavonoidler içerdikleri piran halkasındaki kimyasal farklılıklar sebebiyle kendi içerisinde antosiyanidinler, flavonlar ve flavonollar, flavanonlar, kateşinler ve lökoantosiyanidinler ve proantosiyanidinler olmak üzere 5 alt grubu kapsamaktadır (Cemeroğlu, 2013).

Turunçgillerde en yaygın bulunan fenolik grubu, flavanonlar özellikle de flavanon glikozitleridir. Başta kabuk olmak üzere meyve eti ve çekirdeğinde de mevcut olan flavanon glikozitler meyvenin suyuna geçerek karakteristik aromalarına önemli katkı sağlamaktadır (Yalım, 2002). Fenolik bileşenlerin narenciyelerde oluşturduğu acılık, dil papillası membran lipid tabakasının fenolik bileşiklerle etkileşimi sonucu duyuşal olarak algılanabilmektedir. Bu bakımdan, acılığa sebep olan bileşiklerin yağ ortamındaki çözünürlükleri acılığın algılanabilmesi bakımından önem taşımaktadır (Yalım, 2002; Cemeroğlu, 2013).

Narenciyelerde yaygın bulunan flavanon glikozitler portakal ve limon için hesperidin (7-β-D-α-L-rhamnosyl(1→6)-β-D-glucosyl-3',5,7-trihydroxi-4'-methoxyflavanone), greyfurt ve ekşi portakal için naringin (7-β-D-α-L-rhamnosyl(1→2)-β-D-glucosyl-4',5,7-trihydroxyflavanone) ve neohesperidin (7-β-D-α-L-rhamnosyl(1→2)-β-D-glucosyl-3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavanone) olarak rapor edilmiştir (Manthey ve Grohman, 1996; Prakash ve ark., 2002). Bu acılık bileşenleri ekşimiş portakallarda ve greyfurtun hemen bütün kısımlarında bulunmaktadır (Puri ve Banerjee, 2000).

Naringin (4',5,7-trihydroxyflavonone-7-rhamno glucoside) başta greyfurt olmak üzere birçok narenciye türünde (*Citrus sinensis*, *Citrus unshiu*, *Citrus nobilis*, *Citrus tachibana*, *Citrus junos*) baskın görülen bir flavanondur (Jagetia ve Reddy, 2005). Meyvedeki miktarı olgunlaşmaya birlikte azalmaktadır. Sudaki tat eşiğı yaklaşık olarak 20 ppm olup, 1,5 ppm düzeyinde dahi saptanabilmektedir (Puri ve Banerjee, 2000). Beyaz greyfurt türlerinin pembe ve kırmızı türlere kıyasla daha yüksek flavanon içeriğine sahip olduğı ve her üç türün kompozisyonunda da naringin, hesperidin ve narirutinin baskın olarak yer aldığı, kırmızı ve pembe türlerde eriositrine rastlanmadığı bildirilmiştir. Tamamen işlenmiş greyfurt sularının 50 ppm düzeyinin üzerinde naringin içerdiği rapor edilmiştir (Puri ve Banerjee, 2000).

Limon ve misket limonunda analiz edilen fenolik kompozisyonunda hesperidin ve eriositrinin majör bileşenler olduğu görülmüş ve flavanon profilleri tatlı portakal türlerine benzer bulunmuştur (Peterson ve ark., 2006).

Neohesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) limon, portakal, turunç ve mandarinde yaygın rastlanan bir flavanon glikozit ve aynı zamanda da hesperidinin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) bir izomeridir. Alkol ve su da yüksek çözünürlüğe sahiptir (Altan, 1983).

Narenciye türlerinin karakteristik acılığına önemli katkıda bulunan ve başta antikanser olmak üzere, antiviral ve antibakteriyel gibi sağlık üzerine olumlu etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmış olan biyoaktif bileşenlerden biri de yüksek derecede oksijenlenmiş yapıya sahip modifiye triterpenler olarak bilinen limonoidlerdir (Cemeroğlu, 2013; Matheyambath ve ark., 2016).

Limonin ve nomilin narenciyelerde en yaygın rastlanan limonoid türleri olmakla birlikte obakunon, nomilin, obakunoik asit, isolimonik asit, deasetilnomin, isoobakunoik ve diktomnolid gibi 50 den fazla tanımlanmış limonoid bileşeni olduğu rapor edilmiştir. Aglikonlar ve glukozitler olarak iki alt gruba ayrılan limonoidlerden, aglikonlar narenciye kabuğunda yer alan ve acılık etmeni olan bileşenler iken, glukozitlerin karakteristik herhangi bir lezzetinin bulunmadığı bildirilmiştir. Aglikon ve glukozitlerin her ikisinde meyve çekirdeğinde yer alırken, meyve dokusunda yalnızca glukozitlere rastlanmıştır (Matheyambath ve ark., 2016).

Limonin, turunçgillerde bulunan en acı limonoiddir. Zedelenme görmemiş narenciyelerde bulunan ve acılığa yol açmayan limonin A-halkası monolakton formu, meyvenin herhangi bir etkiye maruz kalması durumunda ortam asitliğinin de etkisi ile D-halkası kapanarak acı tat veren limonin dilaktona dönüşür. Bu durum meyve sularından gecikmiş acılığın ortaya çıkmasının açıklaması olarak kabul edilmektedir (Cemeroğlu, 2013).

1.7. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi

Literatüre göz atıldığında, özellikle meyve sularından naringin kaynaklı acılığın giderilmesi için farklı yöntemlerin denendiği görülmektedir. Bunlar arasında; (a) Enzimatik/biyolojik yöntemler (Prakash ve ark., 2002; Alvarenga ve ark., 2013), (b) Kimyasal yöntemler (Chandler, 1971), (c) Süperkritik karbondioksit ile fiziksel ayırım (Miyake ve ark., 2000), (d) Ultra-filtrasyon ve enzim-ultrafiltrasyon kombinasyonları (Alper ve Acar, 2004), (e) Solvent ekstraksiyonu (Pritchett, 1957), (f) İyon değiştirici reçineler ve adsorbanlar üzerine adsorpsiyon (Soares ve Hotchkiss, 1998) sayılabilir.

1.7.1. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi için Adsorban Uygulaması

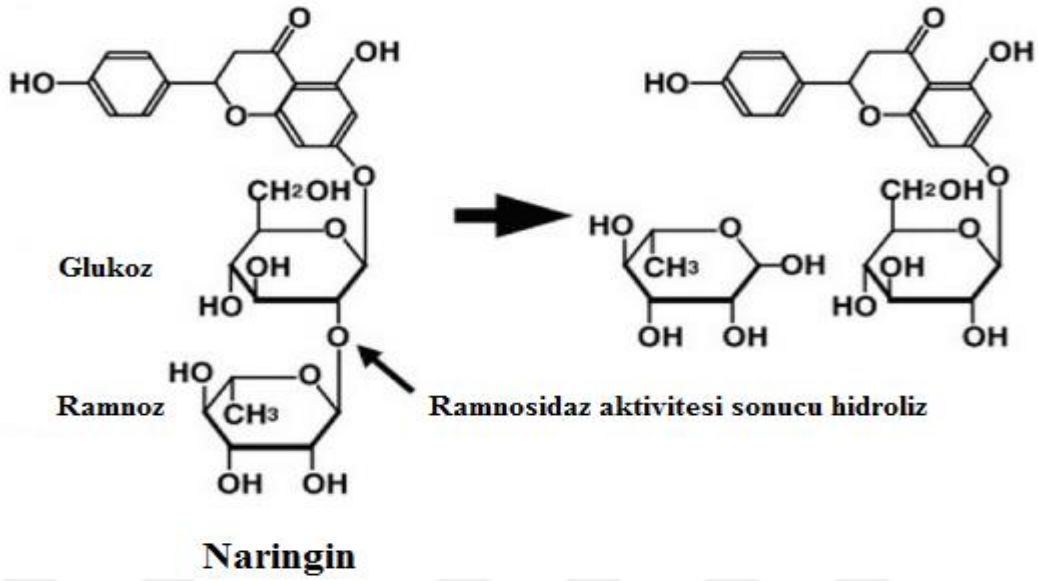
Adsorpsiyon, akışkan fazda çözünmüş haldeki belirli bileşenlerin, bir katı adsorbent yüzeyine tutunmasına dayanan ve faz yüzeyinde görülen yüze tutunma olayıdır. Adsorpsiyon işleminin ilerleyişi, adsorban ve adsorbentin etkileşimine ve oluşturdukları sistemin özelliklerine bağlıdır. Farklı kimyasal yapıdaki maddeler, farklı adsorpsiyon özellikleri sergilerler (Kora ve Karataş, 2005).

Günümüz yemeklik yağ sanayi, işledikleri ham yağların rengini gidermek amacıyla yüzey-aktif, porlu, yağda çözünmeyen ve filtrasyon ile yağdan kolayca uzaklaştırılan, adsorpsiyon kapasitesi yüksek olan doğal aktif (montmorillonit, atapulgit vb. killer) ya da mineral asitlerle aktifleştirilmiş topraklar (sodyum/kalsiyum bentonit), aktif kömür diye ifade edilen adsorbentlerden yararlanmaktadır (Bulut, 2009; Kayahan, 2005). Adsorbentler doğal (kitosan, zeolite, kil) ve yapay (aktif karbon, silika jel) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Doğal adsorbentler sınıfında yer alan killer doğada bol bulunan malzemelerdir. Ülkemiz ekonomik olarak değerlendirilebilecek kil mineralleri bakımından büyük yataklara sahip olup, özellikle Eskişehir, Çanakkale, Bursa, Kütahya ve Isparta çevresinde üretimleri yapılmaktadır (Sabah ve Çelik, 1999; Demirel ve ark., 1995).

Narenciye yağlarının adsorbanlarla muamelesine dair herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır fakat narenciye sularına ait acılığın giderilmesindeki en popüler yöntem adsorbent uygulamasıdır. Adsorpsiyon veya iyon değiştirme özelliği olan çeşitli materyaller meyve suyu endüstrisi için önem taşımaktadır. Bunların başlıcaları kömür ve kömür türevleri, PVPP (poli vinil poli piroolidon), poliamidler ve reçine türleridir. Adsorbent muamelesinin meyve suyunun kompozisyonunda değişikliklere yol açmaması en önemli faktör olduğundan, son yıllarda reçine kullanımının yerini enzim uygulamaları almaya başlamıştır (Cemeroğlu, 2013).

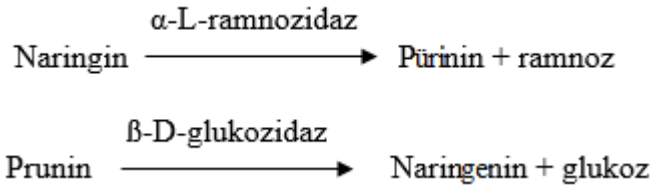
1.7.2. Narenciyelerin Karakteristik Acılığının Giderilmesi için Enzim Uygulaması

Çalışmamızda kullanılan ve *Thermomicrobia sp.* tarafından üretilen naringinaz (Alpha-L-Rhamnosidase) ve hesperidinaz enzimlerinin etki mekanizmaları, ramnoz içeren glikozit aglikon ve terminal L(+)-ramnoz arasındaki bağ kırılmasının, daha genel bir ifadeyle polisakkaritler ve glikozitlerden terminal ramnoz rezidülerinin serbest kalmasının katalizlenmesi olarak açıklanabilir (Şekil 1.1) (Anonim, 2015a).



Şekil 1.1. Ramnosidazın terminal ramnoz rezidülerine etki mekanizması (Anonim, 2015a)

Naringinaz olarak sınıflandırılan ve hidrolazlar sınıfında yer alan ticari enzim preparatları, α -ramnosidaz (EC 3.2.1.40) ve β -glukosidaz (EC 3.2.1.21) içermektedir (Prakash ve ark., 2002). Naringin ilk olarak (Şekil 1.2) α -ramnosidaz tarafından prunin ve ramnoza hidroliz edilmekte, ikinci aşamada ise prunin β -glukosidaz tarafından naringenin ve glukozu yıkılmaktadır (Prakash ve ark., 2002). Naringinaz katalizörlüğünde naringinin prunin üzerinden naringenine indirgenmesinde son aşamada oluşan naringenin acılığı, naringin acılığının üçte biri düzeyinde olmasına rağmen, ilk aşamada oluşan pürinine kıyasla daha acı olduğundan, naringin acılığının giderilmesinde α -L-ramnozidaz aktivitesinin yeterli olacağı düşünülmektedir (Cemeroğlu, 2013).



Şekil 1.2. Naringinin hidrolizi (Cemeroğlu, 2013)

Terminal alfa-L-ramnoz içeren naringin (4',5,7-trihydroxyflavanone-7- α -L-rhamnopyranoside-(1,2)- β -D-glucopyranoside), hesperidin ve rutin gibi flavonoidler alfa-L-ramnosidaz için başlıca test substratlarıdır. Naringinaz naringin üzerinde çok aktif olmakla birlikte, hesperidin ve rutin üzerinde de önemli etkiye sahip olduğu,

hesperidinazın da benzer biçimde hesperidin üzerinde majör etki sergilemenin yanı sıra, naringin ve rutin hidrolizine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Anonim, 2015a,b)

Adı geçen flavonoidlerin özellikle narenciyelere karakteristik lezzetlerini veren başlıca bileşenler oldukları göz önüne alındığında, söz konusu enzimlerin narenciye sularının acılığın giderilmesi, portakal ve greyfurtun işlenmesinde pulpun yıkanmasının geliştirilmesi, esansiyel yağların geri kazanım veriminin artırılması ve meyve sularının berraklaştırılması amacıyla kullanımları narenciye endüstrisi için büyük önem taşımaktadır (Puri ve Banerjee, 2000; Yadav ve ark., 2010).

Alfa-L-ramnosidazın bunların yanı sıra, pürinin üretimi, doğal glikozitlerden alfa-L-ramnosid eldesi, şarap aromasının iyileştirilmesi, steroidlerden ramnoz rezidülerinin uzaklaştırılması suretiyle farmasotik açıdan önemli bileşiklerin üretilmesi gibi biyoteknolojik uygulamalara da sahip olduğu rapor edilmiştir (Puri ve Banerje, 2000; Yadav ve ark., 2010). Enzim hidroliz ürünleri olan ramnoz ve prunin de biyolojik aktiviteye sahip olup, gıda teknolojisi, kozmetik ve eczacılıkta kullanılan maddelerin sentezi için başlatıcı materyal olarak kullanılmaktadır (Busto ve ark., 2007). Ramnoz organik sentezde bir kiral ara üründür, eczacılıkta ve bitki koruma ajanı olarak yararlanılmakta iken, pruninin DNA/RNA virüslerine karşı değişken antiviral aktivite sergilemenin yanı sıra iltihaplanmayı önleyici aktiviteye sahip olduğu ve şeker hastaları için tatlandırıcı ajan olarak kullanabileceği bildirilmiştir (Puri ve Banerje, 2000).

1.8. Soğuk Pres Tekniği İle Yağ Eldesi

Sadece mekanik yöntemle elde edilen, katkı maddesi ve koruyucu madde içermeyen yağlar “soğuk preslenmiş yağlar” olarak isimlendirilmektedir (TGK, 2001). Presleme süresince ısıtma uygulanmadığı için yağın besinsel kalitesinin solventle ekstrakte edilmiş/rafineasyona tabi tutulmuş yağlara kıyasla çok daha yüksek ve duyuşsal olarak da daha kabul edilebilir nitelikte olması, düşük işletme maliyeti sergilemesi söz konusu tekniğin avantajları olarak kabul edilmekte, bunun yanı sıra presleme sonucu elde edilen yağ veriminin düşük olması gibi arzu edilmeyen bir yönüde bulunmaktadır. Dezavantaj olarak görünen bu durumun presleme öncesinde yağlı materyalin nem seviyesinin uygun düzeye ayarlanması (genellikle %8-12), materyalin enzimlerle muamele edilmesi, geleneksel ön-kavurma ve mikrodalga uygulaması gibi işlemler ile düzeltilebileceği laboratuvarımızda daha önceden yürütülen çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Yılmaz, 2014; Arsunar, 2014; Aydeniz ve ark., 2014).

Soğuk pres yağlar, sadece mekanik yöntemle elde edildikleri ve rafinasyona tabi tutulmadıkları için, doğrudan tüketimlerini sınırlayan en önemli faktör kendine özgü olumsuz bazı tat ve koku karakteristiklerini içermeleridir.

Narenciyelerin olumsuz duyuşsal bileşen öğelerinin başında gelen ve hoşla gitmeyen acılığa sebep olan flavonoidlere (naringin, hesperidin, rutin vb.) meyve çekirdeklerinde rastlandığı rapor edilmiştir (Bocco ve ark., 1998; Yalım, 2002; Moulehi ve ark., 2012). Bu sebepten dolayı soğuk pres tekniğı ile çekirdeklerden ekstrakte edilecek olan narenciye çekirdek yağlarının acılık bileşenlerine sahip olabileceğı düşünölmektedir. Bu karakteristik acılık kimi tüketiciler için esas tüketim ve tercih sebebini oluşturmasına rağmen, çoğı tüketici için tüketimi kısıtlayan önemli bir etmen olabilir.

Bu tez çalışmasının temel amaçları aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1. Ülkemizde önemli bir üretim rakamına sahip olan narenciyelerin işlenmeleri esnasında atık olarak açığa çıkan ve ekonomik olarak değeriendirilmeyen limon, greyfurt ve portakal çekirdeklerinin genel özelliklerinin belirlenmesi ve soğuk pres tekniğı ile çekirdek yağı üretiminin gerçekleştirilmesi,

2. Greyfurt ve portakal çekirdeklerinin kontrol grubuna (herhangi bir ön işlem uygulanmamış grup) karşılık sırasıyla acılık giderici enzimler (naringinaz ve hesperidinaz) ve mikrodalga uygulaması ile muamele edilmesi devamında laboratuvar tipi soğuk pres makinasıyla meyve çekirdek yağlarının üretiminin gerçekleştirilmesi,

3. Uygulanan ön muamelelerin yağların verimi ile fiziko-kimyasal, kompozisyonel, termal, besinsel, fonksiyonel, duyuşsal ve aromatik özellikleri üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi,

4. Sadece limon çekirdeğinde herhangi bir ön işlem yapılmaksızın, soğuk presleme tekniğine karşı solvent (hekzan) ekstraksiyonun tekniğinin denenmesi ve uygulanan iki tekniğın bir önceki amaçta belirtilen özellikler üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi,

5. Ülkemizde çok miktarda çıkartılan doğal killerin (zeolit, montmorillonit, sepiyolit) ve bir reçine olan amberlitin, soğuk pres greyfurt çekirdek yağlarının karakteristik acılığının giderilmesindeki etkinliğinin araştırılması ve adsorban muamelesinin narenciye yağlarının bazı fiziko-kimyasal, kompozisyonel, antibakteriyel ve duyuşsal özelliklerine etkisinin incelenmesi,

6. Soğuk pres tekniğinin diğeri önemli bir çıktısı olan meyve çekirdeğı yağlı keklerine ait temel bileşim niteliklerinin belirlenmesi.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Narenciye İşleme Atıklarının Değerlendirilmesi

Literatürde meyve ve sebze endüstrisi atıklarının fonksiyonel ingredienler olarak ürün formülasyonlarına ilave edildiği birçok çalışma mevcuttur. Carson ve ark. (1994) tarafından yapılan bir araştırmada elma suyuna işlemede açığa çıkan elma posasının turta ve yulaflı bisküvilere farklı dozlarda ilave edilmesinin renk, tekstür ve duyu özellikleri üzerine önemli düzeyde etki etmediği rapor edilmiştir. Benzer bir başka çalışmada ise (Masoodi ve Chauhan, 1998) çekirdek, yaprak vb. materyallerden arındırılmış ve toz haline getirilmiş elma posası buğday unu ile 4 farklı düzeyde (2, 5, 8 ve 11 %) karıştırılarak ekmek yapımında kullanılmıştır. Katkılama düzeyi arttıkça, hamurun su bağlama kapasitesi ve sıklığının yükseldiği fakat ekmek hacminin azaldığı gözlemlenmiş, duyu özellikleri olarak en iyi sonuçların %2 ve 5 katkılama düzeyleri ile alındığı rapor edilmiştir.

Bocco ve ark. (1998) narenciye suyu üretiminde yan ürün olarak açığa çıkan kabuk ve çekirdeklerin antioksidan etkilerini değerlendirmiş ve genel olarak çekirdeklerin kabuklardan daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Mısır püskülü, kiraz sapı, ceviz kabuğu, turunc - portakal ve limon kabuğu, kayısı-zerdali çekirdeği içi, soğan kabuğu, kavun-karpuz kabuğu gibi çoğu bitkisel kökenli evsel atıklar içinde yer alan geri dönüştürülebilir atıkların tahmini üretim miktarları, değerlendirilme alanları ve elde edilen katma değerlerinin incelendiği çalışmalara (Yaman, 2012) rastlamak da mümkündür. Atıkların etkin ve verimli bir şekilde değerlendirilmesi sonucunda, hammaddesine kıyasla çok daha yüksek bir ticari değere satılabileceği düşünülmektedir. Özellikle ilaç, kozmetik ve kimya sanayinde benzer uygulamaların örnekleri mevcuttur.

Russo ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, bazı limon işleme atıkları (meyve suyu, meyve çekirdeği, kabuk, pulp ve işletme atık suyu) içerdikleri flavonoid ve limonoid bileşenleri bakımından analiz edilmiştir. Analiz edilen tüm kısımlar içerisinde limon çekirdeklerinin biyoaktif bileşen sayısı diğer kısımlardan daha fazla bulunurken, miktar bakımından en yüksek değere pulp kısmında erişildiği gözlemlenmiştir. Limon suyunun toplam flavonoid içeriği ise meyve kabuk, çekirdek ve pulpuna kıyasla çok daha yüksek değerlerde kaydedilmiştir. Fenolik asit değerleri incelendiğinde, limon çekirdeklerinin meyvenin diğer kısımlarına oranla daha zengin içeriğe sahip olduğu, bunun yanı sıra gallik, protokateşik ve *p*-kumarik asitleri içeren tek yan ürün olduğu da belirtilmiştir (Russo ve ark., 2014).

2.2. Mikrodalga Uygulamasının Yağ Bileşenleri Üzerine Etkisi

Soğuk presleme tekniği, sıcak presleme ve solvent ekstraksiyonu gibi tekniklere kıyasla daha düşük verimde olmasına rağmen, yağın sahip olduğu değerli bileşenlerin korunması bakımından üstün avantajlara sahiptir (Azadmard-Damirchi ve ark., 2010).

Presleme öncesi çekirdeklere uygulanan bazı ön işlemlerin, verim düşüklüğü probleminin giderilmesinde çözüm sunabileceği belirtilmiştir. Geleneksel ısıtma tekniklerine kıyasla süre ve enerji kullanımı bakımından tasarruf sağlamanın yanı sıra ısının hızlı ve homojen şekilde dağılması ve hücre membranından yağın alınmasını kolaylaştırılması gibi avantajları sebebiyle, mikrodalga muamelesi giderek dikkat çeken bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır (Thostenson ve Chou, 1999; Azadmard-Damirchi, 2010)

Azadmard-Damirchi ve ark. (2010), soğuk presleme öncesi kolza tohumlarına mikrodalga uygulamasının yağ veriminin artması ve yağın fitosterol, tokoferol düzeyi ile oksidatif stabilitesinin gelişimi yönünde olumlu etki sağladığını rapor etmişlerdir.

Daha önceden yapmış olduğumuz bir çalışmada (Aydeniz ve ark., 2014), aspir tohumları 360 W güçte, her 3 dk'da bir hızlıca alt üst edilip karıştırılarak toplam 6 dk mikrodalgaya maruz tutulmuştur. Mikrodalga muamelesinin yağın bulanıklık, serbest asitlik ve alfa-tokoferol değerlerinde indirgenmeye yol açarken, toplam fenol ve antioksidan kapasite ölçümlerinden daha yüksek değerlerin alınmasına ve fındığımsı aromanın gelişmesine yol açtığı belirlenmiştir.

Kreps ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, ayçiçeği ve mısır yağlarının birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri ile yağ asiti bileşimleri ve tokoferol içerikleri üzerine farklı dağılım zamanlarına sahip mikrodalga uygulamalarının etkisi değerlendirilmiştir. Farklı mikrodalga uygulamaları neticesinde iki kat daha yüksek tokoferol ile üç kat daha düşük peroksit, aldehit ve konjuge dien değerlerine erişilebildiği, mikrodalga muamelesinin genel olarak yağın bazı besin özellikleri üzerine oldukça olumlu etki sağladığı bildirilmiştir. Araştırmacılar makul ısı enerji dağılımı ve ısıtma sürelerinin seçimi ile dizayn edilecek mikrodalga fırınların yağ degradasyonunun engellenmesinde kullanılabileceğini de belirtmişlerdir.

2.3. Soğuk Pres Yağların Tokoferol Kompozisyonu

Yağda çözünme yeteneğine ve biyolojik aktiviteye sahip tokoferoller ve tokotrienoller, radikal zincir oksidasyon prosesinin geciktirilmesi suretiyle katı ve sıvı yağlarda lipid oksidasyonun engellenmesinde görev alırlar. Tokoferoller doymuş yan zincire sahip iken, tokotrienollerde doymamış yan zincirler bulunmaktadır (Azadmard-

Damirchi ve ark., 2010). Tokoferol bileşenleri (α , β , γ , δ) içerisinde, alfa tokoferolün en yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyona karşı korunmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Saloua ve ark., 2009; Azadmard-Damirchi, ve ark., 2010; Gornas ve ark., 2015).

Soğuk presleme tekniği yağın sahip olduğu nutrasotik bileşenlerin korunmasında üstün avantajlara sahiptir. Bu bileşenlerin başında da antioksidan etkileri ile öne çıkan tokoferoller gelmektedir. Soğuk pres yağlar, tokoferol bakımından zengin kaynaklardır (Parry ve ark., 2005; Matthaus ve Özcan, 2012). Meyvelerin kesilmesi yada meyve suyuna işlenmeleri esnasında açığa çıkan yan ürünlerden geri kazanılan bazı meyve çekirdeklerinin (elma, frenk üzümü, ayva, nar, kavun vb.) tokoferol ve tokotrienol kompozisyonlarını belirlemek için yapılan yeni bir çalışmada (Gornas ve ark., 2015) α - ve γ - tokoferol ile γ -tokotrienolün majör bileşenler olarak kompozisyonda yer aldığı bildirilmiştir.

Vietnam ve Türkiye’de yetişen narenciye türlerinin tokoferol kompozisyonlarının incelendiği bir çalışmada (Matthaus ve Özcan, 2012), alfa tokoferolün kompozisyonda baskın (%87-90) olarak yer aldığı ve bunu gama tokoferolün takip ettiği bildirilmiştir.

Anwar ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada farklı narenciye türlerinden solvent ekstraksiyonuyla elde edilen çekirdek yağlarına ait tokoferol kompozisyonları incelenmiş ve alfa, gama ve delta tokoferol içeriklerinin sırasıyla 26,4-558, 27,7-84,1 ve 9,1-20 mg/kg yağ aralığında değiştiği bildirilmiştir. Analiz edilen narenciye türleri içerisinde Akdeniz tatlı limonu (*Citrus limetta*) alfa tokoferol içeriğinin portakal (*Citrus sinensis*), greyfurt (*Citrus paradisi*) ve mandalinaya (*Citrus reticulata*) kıyasla çok daha düşük değerlerde olduğu ve en yüksek içeriği mandalinada (558 mg/kg yağ) erişildiği rapor edilmiştir.

2.4. Narenciyelere Özgü Acılığın Giderilmesinde Adsorban Muamelesi

Narenciye sularındaki acılığın giderilmesi amacıyla naringinaz enzimi kullanımı eski ve yaygın bir uygulamadır. Enzimatik acılık giderimi birçok araştırmacı tarafından çalışılmasına rağmen ticari uygulamaların halen sınırlı olduğu bildirilmiştir (Tsen ve Yu, 1991; Alvarenga ve ark., 2013).

Acılık maddeleri adsorpsiyonunun meyve suyunda asitlik, aroma, tatlılık kaybına ve bulanıklığa yol açması gibi istenmeyen durumlara neden olabileceği belirtilirken (Ribeiro ve Ribeiro, 2008), enzim uygulaması ile karşılaştırıldığında özellikle iyon değiştirici reçine kullanımının daha kısa sürede sonuç alınması, ucuz olması ve uygulamalarda kolaylık sağlaması gibi avantajlara sahip olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra sadece acılığın

değil mayhoş tadın giderilmesinde de enzime kıyasla daha başarılı sonuçlar alındığı rapor edilen bulgular arasındadır (Mishra ve Kar, 2003). Acılık maddelerinin indirgenmesi yada tamamen uzaklaştırılmasında besinsel ve sağlığa yararlı bileşenler üzerinde minimum yıkıma yol açan en uygun tekniğin seçilmesi büyük önem taşımaktadır (Cavia-Saiz ve ark., 2011).

Amberlite XAD7 geniş yüzey alanına sahip olması, gözenekli yapı ve homojen gözenek boyutu dağılımı sergilemesinin yanısıra kimyasal olarak noniyonik yapıda olması sebebiyle, nötr karakterdeki bileşenlerin uzaklaştırılması için önemli bir adsorbenttir (Dominquez ve ark., 2011). Dominquez ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada yüzey sularından yaygın kullanılan farmasotik bileşenlerin (analjezik, antibiyotik, anti epilektik maddeler) giderilmesinde Amberlite XAD7'nin etkinliği araştırılmış ve incelenen tüm bileşenlerin giderimi için mükemmel bir adsorpsiyon yeteneğine sahip olduğu ortaya koyulmuştur.

Mishra ve Kar (2003) tarafından yapılan bir çalışmada ise greyfurt sularındaki acılığın giderilmesi amacıyla Amberlite IR 120 (asidik iyon değiştirici) ve 400 (güçlü bazik iyon değiştirici) gibi adsorban toprakları ile aljinatla tutuklanmış naringinaz enziminden yararlanılmıştır. Araştırmacılar Amberlite IR 400 ile 5 dk muamele sonrasında naringin içeriğinde %69,23, mayhoş tat da ise %89,41'lik bir azalma olduğunu, Amberlite IR 200 ile 1 dk'lık muamelenin ise naringin içeriğinde %9'luk bir azalma sergilemesine rağmen kalite ve berraklık özelliklerinden bir değişikliğe yol açmaksızın meyve suyunun raf ömrünü artırdığını gözlemlemişlerdir. Aljinat üzerinde tutuklanmış enzim muamelesi adsorban topraklarına kıyasla naringinin giderilmesinde daha başarılı (%83,8 azalma) sonuç sergilerken, daha uzun muamele süresine (55 °C, 220 rpm'de 180 dk) gereksinim göstermiştir.

Portakal sularından limonin ve naringinin uzaklaştırılması amacıyla yapılan diğer bir çalışmada (Ribeiro ve ark., 2002), aktif diatom toprağı, toz aktif karbon ve bazı sentetik nötral reçinelerin (Amberlite XAD-4, XAD-7, XAD-16) etkinliği test edilmiştir. Amberlite XAD-7'nin acılık bileşenlerinin uzaklaştırılmasında başarılı sonuçlar sağlamanın yanı sıra indirgen şekerler, karotenoidler ve C vitamininin adsorpsiyonunda etkili olmadığı, bu bakımdan meyve suyunun kalite özelliklerini olumsuz etkilemediği rapor edilmiştir.

Narenciye çekirdek yağlarında adsorban madde muamelesine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Laboratuvarımızda daha önce yürütülen bir araştırmada (Dülger ve Yılmaz, 2013), rafine fındık yağının altı günlük kızartma prosesi süresince farklı tekniklerle yüzey modifikasyonu uygulanmış zeolitlerin adsorbent olarak kullanım

potansiyelleri test edilmiştir. Araştırma neticesinde doğal zeolitin yağın dayanımını artırdığı ve asit modifiye zeolitin, doğal zeolite kıyasla toplam polar madde, konjuge dien ve viskozite ölçümlerinde iyi sonuçlar sergilediği saptanmıştır.

2.5. Narenciyelere Özgü Acılığın Giderilmesinde Enzim Muamelesi

Narenciye sularındaki naringinin en aza indirilmesi amacı ile naringinaz gözenekli cam boncuklar, sodyum alginat, selüloz asetat filmleri, yengeç kabuğu kitini, tavuk yumurtası beyazı gibi çeşitli destek maddeleri üzerine immobilize edilebilmektedir (Busto ve ark., 2007). Immobilize enzimlerin kullanımı sıcağa karşı olan dayanımın artırılması ve aktivasyon enerjisinin düşürülmesine imkan vermesi bakımından oldukça yaygın bir uygulamadır. *Aspergillus niger*'den elde edilen ticari naringinazın optimum aktivite sıcaklığı 40°C iken, gözenekli cam boncuklar üzerinde immobilize edilmiş naringinaz için bu değer 55 °C'ye erişebilmekte ve reaksiyonunun aktivasyon enerjisi de 8.09 kJ/mol'den 6.36 kJ/mol'e indirgenmektedir (Busto ve ark., 2007).

Naringinazla naringin hidrolizi sadece meyve endüstrisi açısından değil tıbbi uygulamalar bakımından da öneme sahiptir. Atardamar zarı üzerindeki makrofaj-lipid kompleksi akümülyasyonun önlenmesi ve memeli sistemlerindeki karaciğer düzensizliklerinin tedavisi ve önlenmesinde naringin ve naringininden faydalanabileceğine dair alınmış bir patent dahi bulunmaktadır (Bok ve ark., 1999, Prakash ve ark., 2002).

2.6. Narenciye Yağlarının Uçucu Bileşenleri

Esansiyel yağlar meyve işleme endüstrisinin yan ürünlerinden elde edilen en değerli ürünlerden birisi, aynı zamanda da aroma, parfüm, kozmetik endüstrisi için değerli bir bileşen/hammadde olma niteliği taşımaktadır (Elston ve ark., 2005; Viuda-Martos ve ark., 2009). Esansiyel yağlar yüzden fazla bileşene sahip kompleks bir yapıda olmakla birlikte büyük kısmı (%95) monoterpenik hidrokarbonlardan ve uçucu bileşenlerden meydana gelmektedir (Viuda-Martos ve ark., 2009). Soğuk pres kabuk yağı olarak adlandırılan ısı işlem görmemiş yağ türleri başta terpenler olmak üzere, oksijenatlar, vakslar, flavonoidler ve diğer uçucu bileşenleri de iz miktarlarda ihtiva etmektedir (Elston ve ark., 2005).

Portakal suyuna kıyasla daha az talep gören limon suyunun piyasa değeri, söz konusu limon yağı olduğunda portakal ve greyfurt yağlarına kıyasla daha yüksek değerlere ulaşmaktadır. Limon, portakal ve greyfurt yağlarının büyük kısmının limonen, α - ve β -pinen, γ -terpinen, myrcene, sabinen, citral, linalol, geranial gibi terpenik hidrokarbonlar ve oksijenli terpenik bileşiklerden oluştuğu, esterler, kısa zincirli asitler, aldehit ve

ketonların ise iz miktarlarda bulunabileceği bildirilmiştir (Çizelge 2.1). Nootkatone ve 1-*p*-methene-8-thiol'ün greyfurt kokusu üzerinde sinerjistik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Hui, 2005).

Çizelge 2.1. Narenciye türlerinde bulunan önemli tat/lezzet bileşenleri (Hui, 2005)

Bileşen	Portakal	Greyfurt	Limon	Misket limonu	Mandalina
Δ -3-Carene	x		x	x	x
Camphene		x	x	x	x
Carvone	x	x	x		x
Caryophyllene	x	x	x	x	x
Citronellal	x	x	x	x	x
Copaene	x	x			
Elemene	x	x		x	x
Farnesene			x	x	
Eugenol			x		
Geranial	x	x	x	x	x
Humulene		x	x	x	x
Limonene	x	x	x	x	x
Linalool	x	x	x	x	x
Myrcene	x	x	x		x
Menthone			x		
Neral	x	x	x	x	x
Nerol	x	x	x	x	x
Nookatone	x	x	x	x	x
Ocimene	x	x	x		
Perillaldehyde			x	x	x
Sabinene	x	x	x		x
Terpinene	x	x	x	x	x
Terpinen-4-ol	x	x	x	x	x
Terpinolene	x		x	x	x
Thujene	x	x	x	x	x

Çizelge 2.1. (Devamı) Narenciye türlerinde bulunan önemli tat/lezzet bileşenleri (Hui, 2005)

Bileşen	Portakal	Greyfurt	Limon	Misket limonu	Mandalina
<i>trans</i> -Carveol	x		x	x	
Valencene	x	x	x		
Vanillin	x	x	x	x	
α,β -Pinene	x	x	x	x	x
α,β -Sinensal	x	x			x
α,β -Terpineol	x	x	x	x	x
β -Bisabolene			x	x	
γ -Cadinene	x				
1- <i>p</i> -Methene-8-thiol		x			

Türkiye’de yetişen limon ve greyfurt kabuklarından soğuk presleme ile elde edilen kabuk yağlarının uçucu bileşenleri üzerine yapılan bir araştırmada (Kırbaşlar ve ark., 2006), monoterprenik limonen hidrokarbonları, γ -terpinen, β -pinen ve myrcene majör bileşenleri olmak üzere söz konusu meyve türlerinde sırasıyla 42 ve 27 adet bileşen tespit edilmiştir. Greyfurt yağının, limon yağına kıyasla daha düşük düzeyde sesquiterpen hidrokarbonları, aldehitler, alkoller ve ester içerdiği de araştırmacılar tarafından rapor edilen bulgular arasındadır.

Lin ve Rouseff (2001) tarafından yapılan bir çalışmada GC-olfaktometri tekniği kullanılarak soğuk pres greyfurt kabuk yağlarının aroma aktif bileşenleri belirlenmiş, sülfür bileşenlerinin içinde bulunduğu toplamda 38 aroma bileşeni tanımlanmıştır. Narenciye çekirdek yağlarının uçucu aromatik madde bileşimlerine dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. İlk defa bu tezde bu analizler yapılmış ve literatüre önemli bilgiler olarak kazandırılmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri tedarik edilirken her işleme sezonunda bulunabilen, işleme verimi yüksek olan yerli türlerin seçilmesi göz önünde bulundurulmuştur. Bu bakımdan ülkemize özgü türler olan Kütdiken türü limon (Limkon, Adana), Beyaz greyfurt (Frigopak-Bursa), Dörtyol portakal (Anadolu Etap-Mersin ve Konfrut&Döhler-Denizli) çeşitlerinin her birine ait çekirdekler 2013-2014 hasat sezonunda 18-25 kg kadar tedarik edilmiştir. Meyve suyu/konsantresi işleyen fabrikalardan işleme atığı olarak açığa çıkan çekirdekler posa ve meyve kabuklarından temizlenerek, yıkanmış, hava akımlı bir ortamda kurutulmuş ve presleninceye kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Analizlerde kullanılan tüm solventler (hekzan, dietil eter, petrol eter, etanol, metanol, kloroform, aseton, asetonitril, toluen, n-hekzan, etil asetat, isopropanol, glasiyel asetik asit, wijs reaktifi), standartlar (epigallokateşin, kateşin, naringin, naringenin, hesperidin, eriositrin, narirutin, rutin, kuersetin, gallik asit, vanilik asit, şirinjik asit, rosmanirik asit, trans- 2- hidroksisinnamik asit, yağ asitleri standart karışımı, α -kolestanol, kolesterol, b-sitosterol, oleik asit) ve diğer kimyasallar (metilen mavisi, metilen kırmızısı, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, fenoltalein, *p*-anisidin, potasyum iyodür, sodyum tiyosülfat pentahidrat, nişasta, borik asit, hidroklorik asit, bromfenol mavisi, formik asit, sülfirik asit, sodium karbonat, Folin-Ciocalteu, trolox (6-hydroxy-2, 5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), potasyum persulfate, sodium klorür, sodyum fosfat, monobazik sodyum fosfat, dibazik sodyum sülfat, 2,7-dikloroflorosin) Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD) firmalarından satın alınmıştır.

Soğuk preslenmiş yağların antimikrobiyal etkisinin test edilmesinde kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ATCC 6538P, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus cereus* NCIMB 7464, *Escherichia coli* ATCC 25923 ve *E.coli* 0157:H7 ATCC 43895, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853 *Salmonella enteriditis* ATCC 13076 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, ATCC 51812 ve *Klebsiella pneumoniae* bakteri kültürleri ve *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 maya kültürleri MicroBiologics (Cedex, Fransa) firmasından temin edilmiştir.

Enzim muamelesinde kullanılan Naringinaz (Rhamnosidase A-Rham 142, 5.4 U/mg toz aktivite, optimum 65 °C sıcaklık ve optimum 7.5 pH da aktif) ve Hesperidinaz (Rhamnosidase B-Rham 143, 12 U/mg toz aktivite, optimum 65 °C sıcaklık ve optimum 7.5 pH da aktif) enzimleri Prokazyne Enzim Co. (Reykjavik, İrlanda) firmasından temin edilmiştir. Greyfurt yağlarına ait acılığın giderilmesinde kullanılan Amberlite serisine ait Amberlite XAD-7 (non iyonik), Amberlite IR-120 (güçlü asidik) ve Amberlite IRA-400 (güçlü bazik) adsorban reçineleri Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD)'den temin edilmiştir. Zeolit, sepiyolit ve montmorillonit gibi kil mineralleri ise herhangi bir aktivasyon görmemiş doğal formlarında sırasıyla Rota Madencilik A.Ş. (İstanbul, Türkiye), Madkim Maden ve Kimya Ltd. Şti. (İstanbul, Türkiye) ve Karakaya Bentonit San. ve Tic. A.Ş. (Ankara, Türkiye) firmalarının desteği ile sağlanmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Narenciye Çekirdeklerinde Yapılan Fiziksel Analizler

Çekirdek boyutu ölçümü: Her bir narenciye türünden rastgele seçilen 10'ar adet çekirdeğin boyutları (uzunluk, genişlik ve yükseklik) (Şekil 3.1) en az 3 paralel olmak üzere, elektronik dijital bir kumpas (CD-15CP, Mitutoyo Ltd, İngiltere) yardımıyla belirlenmiş ve ölçüm ortalamaları rapor edilmiştir (Çizelge 4.1).

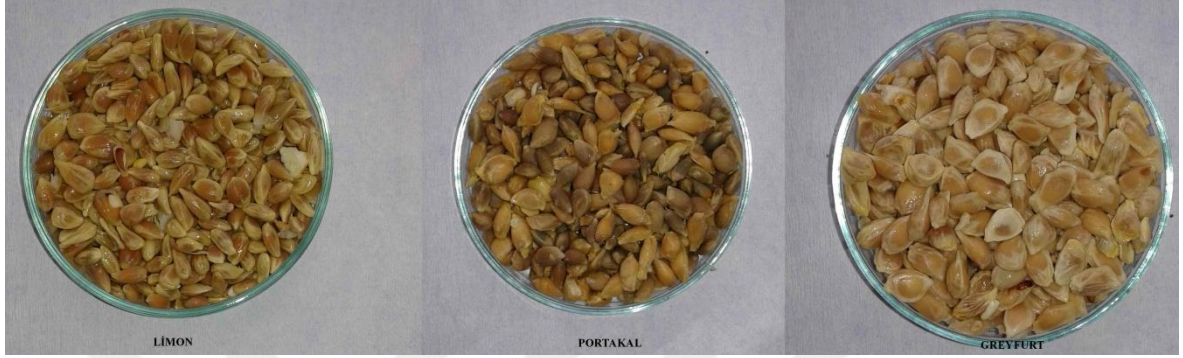


Şekil 3.1. Dijital kumpas yardımıyla narenciye çekirdeklerinde gerçekleştirilen uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçümleri

Bindane ağırlığı: Her bir narenciye türünden rastgele seçilen 100 adet çekirdeğin ağırlığı en az 3 paralel olmak üzere, bir hassas terazi yardımıyla (Sartorius ED224S, Sartorius, Almanya) tartılmış ve bulunan ağırlık 10 ile çarpılmıştır. Tüm tartımların ortalaması alınmıştır (Çizelge 4.1).

Dış kabuk: iç oranı : Her bir narenciye türünden en az 3 paralel olmak üzere rastgele 10 adet çekirdek seçilerek dış kabuklarından temizlenmiştir. Ayrılan dış kabuklar ve içler ayrı ayrı tartılarak, ortalama değerleri rapor edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çalışmada kullanılan limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerinin bütün ve öğütülmüş halleri Şekil 3.2 ve 3.3'te görülmektedir.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan öğütülmüş haldeki limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri

Renk ölçümü: Narenciye çekirdeklerinin renk değerleri Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiş ve CIE sistemine ait L (0, siyah; 100, beyaz), a* (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* (+b* = sarı, -b* = mavi) değerleriyle ifade edilmiştir. Cihaz renk ölçümünün başında, beyaz seramik plakaya karşı standardize edilmiş, bunu takiben renk ölçümünün yapılacağı boş bir cam petri kutusu seramik plaka üzerine konularak cihaz buna karşı da sıfırlanmıştır. Narenciye çekirdekleri bütün ve öğütülmüş halde cam petrilere boşaltılarak, renk ölçümü gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.1).

3.2.2. Narenciye Çekirdeklerinde Yapılan Temel Bileşen Analizleri

Her bir narenciye çekirdeğine ait temel bileşenlerin analiz edilebilmesi amacıyla, öncelikle çekirdekler öğütülmüş (Retsch Grindomix GM300, Retsch, Almanya) ve örnekler homojen hale getirilmiştir.

Nem miktarı (%): Öğütülmüş narenciye çekirdeklerinin nem içeriği OHAUS MB45 (Ohaus, Pine Brook, ABD) hızlı nem tayin cihazı kullanılarak (103 °C, 1 g örnek) analiz edilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Su aktivitesi: Öğütülmüş narenciye çekirdeklerinin su aktivitesi değerleri AQUA Lab 4TE Decagon Devices, ABD) cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Aydeniz ve ark., 2014).

Yağ miktarı (%): Öğütülmüş narenciye çekirdeklerinin içerdiği toplam ham yağ miktarı soxhelet ekstraktörü yardımı ile AOAC 920.39 metoduna göre belirlenmiştir (AOAC, 1984).

Ham protein (%): Öğütülmüş narenciye çekirdeklerinin içerdiği ham protein oranı Kjeldahl yöntemi ile AOCS Aa 5-38 metodu esas alınarak analiz edilmiştir (AOCS, 1989).

Kül miktarı (%): Öğütülmüş narenciye çekirdeklerinin içerdiği kül miktarı, kademeli bir ısı artışının uygulandığı bir kül fırınında AOCS Ba 5a-49 metoduna göre tespit edilmiştir (AOCS, 1998).

3.2.3. Narenciye Çekirdeklerinin Yağ Eldesine Hazırlanması

Dondurucudan çıkartılan narenciye çekirdekleri buzlarının çözünmesi için bir gece dışarıda bekletilmiştir. Hem hiçbir işlem görmeden (kontrol grubu) hem de ön muamele (mikrodalga ve enzim uygulamaları) gördükten sonra soğuk preslemeye tabi tutularak yağ elde edilecek olan meyve çekirdekleri meyve kabuğu/parçaları, bitki kısımları vb. yabancı maddelerden temizlenmiştir. Temizlemeyi takiben, her bir çekirdek türü yığın halinde tartılarak kontrol ve muamele gruplarının her birinden 2 tekerrür olacak biçimde toplam 4 eşit kısma ayrılmış ve uygulanacak işleme göre, uygun nem seviyesine getirilmesi için kurutma veya tavlama işlemlerinden birisi uygulanmıştır.

Bu amaçlar doğrultusunda tüm çekirdek türlerine gerektiğinde uygulanan tavlama işleminin genel hatları aşağıda belirtildiği gibidir;

- a. Tavlama işlemi: Gerek daha önce yürütülen çalışmalar gerekse çekirdeklere gerçekleştirilen ön denemelerde, soğuk pres makinasıyla yağ eldesi için kritik nem düzeyinin %10-12 olduğu belirlendiğinden, presleme öncesi çekirdeklerin nem oranları türe göre değişmekle birlikte %8-12 aralığında (limon %10, portakal %11 ve greylfurt için %8 nem seviyesi) sabitlenmiştir. Bu nem düzeyine ulaşmak için gereken

su miktarı başlangıç tohum nem değerlerinden (%) aşağıdaki eşitliğe (3.1) göre hesaplanarak çekirdekler üzerine homojen dağılacak şekilde ilave edilmiş ve kapalı hava sızdırmaz kapta minimum 16 saat dengelenmeye bırakılmıştır.

$$\text{Tohuma eklenecek su miktarı} = [(A/B) \times C] - C \quad (3.1)$$

A= Tohum kuru maddesi (%)

B= Tohumda istenen kuru madde (%)

C= Tohum miktarı (gr)

3.2.4. Limon Çekirdek Yağlarının Eldesi

3.2.4.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi

Soğuk presleme de yağ veriminin artırılması amacıyla limon çekirdeklerine ön kavurma işlemi (150°C de 30 dk, her 5 dk da bir alt üst etmek suretiyle) (Inoksan FPE 110, Bursa, Türkiye) uygulanmıştır. Gerek daha önce yürütülen çalışmalar gerekse çekirdeklerde gerçekleştirilen ön denemelerde, limon çekirdeklerinden soğuk pres makinasıyla yağ eldesi için kritik nem düzeyinin %10 olduğu belirlenmiştir. Limon çekirdek yağlarının eldesinde laboratuvar tipi soğuk pres makinası (Koçmaksan ESM 3710, İzmir, Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Narenciye çekirdek yağlarının eldesinde kullanılan laboratuvar ölçekli soğuk pres makinası

Soğuk presleme ile yağın eldesi aşamasında, pres hızı ve çıkış sıcaklığı gibi sabit faktörler ile yağ verimi (%) ve sedimentasyon seviyesi (%) gibi teknik değerlerin belirlenmesi önem taşımaktadır. Optimum yağ eldesi için yapılan ön denemeler neticesinde çalışma

parametreleri 20 rpm vida dönüş hızı, 12 nolu çıkış ucu ve 40°C sabit çıkış sıcaklığı olarak belirlenmiştir.

Soğuk preslemeden geriye kalan yağlı kekler, mikron düzeyinde öğütülerek (Retch GM 300, Almanya) paketlenip etiketlenmiş ve -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2.4.2. Solvent (Hekzan) Ekstraksiyonu ile Yağ Eldesi

Materyale solventin daha iyi nüfuz edebilmesini sağlamak amacıyla, limon çekirdeklerine ön kavurma işlemi (150°C'de 30 dk, her 10 dk'da bir alt üst etmek suretiyle) (Inoksan FPE 110, Bursa, Türkiye) uygulanmıştır. Nem düzeyi %5 e kadar düşürülen çekirdekler bir mikron öğütücü (Retsch Grindomix GM300, Retsch, Almanya) yardımıyla 2500 rpm de 40 sn boyunca öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Öğütülen çekirdekler üzerine 1:2.5 (w/v) oranında hekzan ilavesi yapılarak, ağzı kapaklı plastik bidonlar içerisine alınmış ve çalkalamalı bir su banyosunda (Termal Elektronik 12420, İstanbul) 45°C'de, 140 rpm'de toplam 12 saat çalkalanmıştır. Her 3 saat bitiminde misella kısmı süzülerek, küspe üzerine aynı oranda taze hekzan ilavesi yapıp ve su banyosundaki işlemler tekrarlanmıştır. Süre bitiminde misella filtre edilerek, hekzanının uzaklaşması için öncelikle vakum altında evaporasyona (60°C'de 100 rpm, Heidolph Rotavapor, Almanya) tabi tutulmuş ve bunu takiben ham yağlar tortularından ayrılması için oda sıcaklığında 6461 xg'de 10 dk süreyle santrifüj (Sigma 2 - 16 K, Postfach, Almanya) edilmiştir. Santrifüj edilerek tortularından ayrılmış olan yağların halen kısmen hekzan içeriyor olabilecekleri ihtimaline karşı azot gazı altında hekzan uzaklaştırılmıştır.

3.2.5. Portakal Çekirdek Yağlarının Eldesi

3.2.5.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi

Limon çekirdek yağlarının soğuk presleme ile eldesinde uygulanan tüm işlemler portakal çekirdeklerine de uygulanmıştır.

3.2.5.2. Mikrodalga Uygulaması

Yabancı maddelerinden arındırılmış ve ağırlıkları bilinen portakal çekirdekleri bütün/öğütülmemiş halde silindirik (700 mL hacimli) borcam (Borcam, Türkiye) bir fırın kabı içerisine yerleştirilerek 360 Watt'da 3 dk mikrodalga (Beko MD 1505, Beko, Türkiye) uygulamasına ve ısının tüm çekirdek yüzeyine homojen olarak dağılabilmesi için 3 dk bekleme süresi olacak şekilde toplamda 30 dk işleme tabi tutulmuştur. Bekleme

aralıklarında çekirdekler alt üst edilerek, 30 dk bitiminde oda sıcaklığına gelmeleri sağlanmıştır. Mikrodalga uygulaması sonucu nem içeriği %3'e kadar indirgenmiş olan çekirdeklerin nem seviyesi, soğuk pres makinasıyla yağ eldesi için uygun nem düzeyi olan %11'e gelebilmesi için yukarıda anlatılan prosedüre (Bölüm 3.2.3) uygun olarak 12 saat süresince tavlama bırakılmıştır. Daha sonra aynı işlemle yağ elde edilmiştir.

3.2.6. Greylfurt Çekirdek Yağlarının Eldesi

3.2.6.1. Soğuk Presleme ile Yağ Eldesi

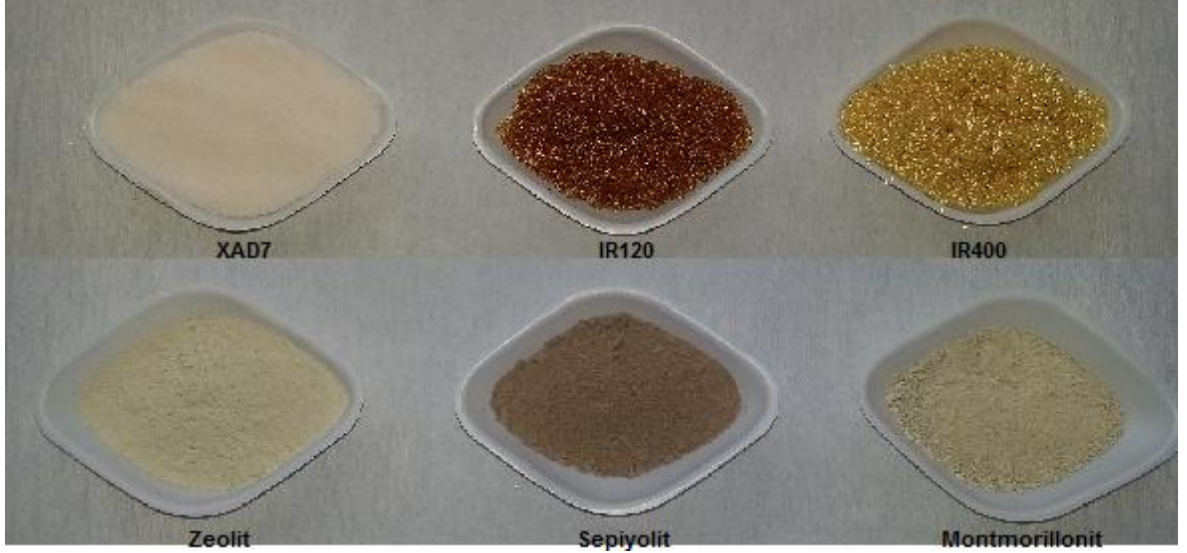
Limon ve portakal çekirdek yağlarının soğuk presleme ile eldesinde uygulanan tüm işlemler greylfurt çekirdeklerine de uygulanmıştır.

3.2.6.2. Enzim Uygulaması

Enzimlerin daha iyi nüfuz edebilmelerini sağlamak amacıyla, çekirdekler bir mikron öğütücüde (Retsch Grindomix GM300, Retsch, Almanya) öğütme işlemine (2500 rpm, 40 sn) tabi tutulmuştur. Naringinaz (Rham 142) ve hesperidinaz (Rham 143) enzimleri birlikte tartılmış ve uygun tampon çözeltiler (100 mM KH₂PO₄ ve 100 mM K₂HPO₄, 1:1 v/v) içerisinde çözündürülerek optimum çalışma pH'ları olan 7.5'a ayarlanmıştır (Birgisson ve ark., 2004). 0.06 U/g çekirdek naringinaz ve 0.033 U/g çekirdek hesperidinaz olacak şekilde, öğütülmüş çekirdekler üzerine ilave edilmiş ve çalkalamalı bir inkübatörde (65°C'de, 55 rpm) 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde enzim inaktivasyonunu sağlamak amacıyla, 150°C'de 90 dk kurutma işlemi uygulanmıştır. Oda sıcaklığına getirilen çekirdeklerin nem içeriğinin %8'e gelmesi için gereken su miktarı hesaplandıktan sonra, kapalı ve hava sızdırmaz kaplara alınarak limon ve portakal çekirdeklerine benzer biçimde tavlama bırakılmıştır.

3.2.7. Greylfurt Çekirdek Yağları Acılığının Giderilmesi

Greylfurt yağlarına ait acılığın giderilmesinde altı farklı adsorban materyalinden faydalanılmıştır (Şekil 3.5). Etkisi test edilecek olan adsorban türleri belirlenirken, katyon değiştirme kapasiteleri dikkate alınarak, geniş bir aralıkta [Amberlite: 1 meq/100g, sepiyolit:20-30 meq/100g, montmorillonit: 80-120 meq/100g, zeolit: 170-260 meq/100 g, katyon değişim kapasitesi (pH=7'de)] (Poole ve Schuette, 1984; Sabah ve Çelik, 1999) seçim yapılmıştır.



Şekil 3.5. Greylfurt yağlarına ait acılığın giderilmesinde etkisi test edilen adsorban materyalleri

Amberlite serisine ait Amberlite XAD-7 (non iyonik), Amberlite IR-120 (güçlü asidik) ve Amberlite IRA-400 (güçlü bazik) adsorban reçineleri ile asit aktivasyonu uygulanmış zeolit, sepiyolit ve montmorillonit kil minerallerine spesifik karakteristikler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Amberlite ve asit-aktive doğal adsorban materyallerinin başlıca özellikleri

Adsorbanlar	BET (çok noktalı yüzey alanı) ($m^2 g^{-1}$) (P=0,000)	Ortalama gözenek yarıçapı (Å) (P=0,006)	Ortalama gözenek hacmi ($cm^3 g^{-1}$) (P=0,002)
XAD7	193,70±0,84 ^b	74,41±0,34 ^b	0,72±0,01 ^{ab}
IR120	37,77±0,05 ^c	28,51±0,05 ^b	0,05±0,01 ^b
IR400	32,50±0,05 ^c	32,40±0,05 ^b	0,05±0,01 ^b
Asit aktive zeolit	181,70±18,70 ^b	163,20±20,30 ^a	1,46±0,03 ^a
Asit aktive sepiyolit	443,90±52,20 ^a	52,20±22,30 ^b	1,10±0,36 ^a
Asit aktive montmorillonit	75,81±4,66 ^{bc}	55,60±20,70 ^b	0,22±0,09 ^b

Aynı sütundaki büyük harfler incelenen özellik açısından adsorban türleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

3.2.7.1. Adsorban Topraklarının Asit Modifikasyonu

Doğal adsorban materyallerinin (zeolit, sepiyolit, montmorillonit) yüzey etkinliklerinin artırılması amacıyla nitrik asit ile modifikasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla adsorban toprakları ile 0,1 N nitrik asit çözeltisi 1:10 (ağırlık:hacim) oranında karıştırılmış ve karışım çeker ocak içerisindeki bir manyetik karıştırıcı (IKA RCT Basic, Almanya) da 60°C ve 240 rpm'de 4 saat boyunca çalkalanmıştır. Süre bitiminde kalıntı asitliğinde giderilmesi amacıyla, tüm içerik adi filtre kağıdı üzerinde süzölmüş ve yıkama suyu pH'sı 6 oluncaya kadar saf suyla yıkama işlemi tekrarlanmıştır. pH ayarlamasını takiben etüvde (Ecocell Drying Oven, MMM Medcenter, Almanya) 103°C'de nem içeriği yaklaşık %10 olacak biçimde kurutulmuş ve ağzı sıkı kapalı amber renkli şişelere alınarak muhafaza edilmiştir.

3.2.7.2 Adsorban Topraklarının Adsorbsiyon Kapasitelerinin Belirlenmesi

Acılık gidermede etkisi test edilen tüm adsorbanların adsorbsiyon kapasiteleri Taşpınar ve Özgül-Yücel (2008)'e göre belirlenmiş ve mg oleik asit/g adsorban cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla öncelikle oleik asitin 0,05 M'lık (hekzan içerisinde) çözeltisi hazırlanmıştır. Her bir adsorban materyalinden 0,5 g tartılarak, üzerine 25 mL 0,05 M oleik asit çözeltisi ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında, 140 rpm'de 30 dakika çalkalanmıştır (Certomat IS, Sartorius Stedim Biotech, Almanya). Süre bitiminde, içerik oda sıcaklığında 20 dakika daha bekletilmiş ve adi filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Filtrattan 10 mL alınarak nötrlenmiş 10 mL etanol ile karıştırılmış ve birkaç damla fenol fitaleyn eşliğinde 0,05 N NaOH ile titre edilmiştir. Tüm analiz basamakları, adsorban toprak numunesi olmaksızın bir de kör deneme için tekrarlanmış ve hesaplama aşağıdaki eşitliğe (3.2) göre yapılmıştır.

Hesaplama;

$$C = N \times M_{\text{oleik asit}} \times (V_0 - V_1) \times G / 1000 \quad (3.2)$$

C= Adsorbsiyon kapasitesi (mg Oleik asit/ g Adsorban)

N= Normalite

M= Oleik asidin moleküler ağırlığı (282,5 g/mol)

V₀= Kör için harcanan NaOH (mL)

V₁=Titrasyon için harcanan NaOH (mL)

G= Adsorban miktarı (g)

3.2.7.3. Çekirdek Yağlarının Adsorban Toprakları ile Muamelesi

Soğuk preslemeden çıkan greyfurt yağları bir filtre (Miroil RB22Fs, Allentown, ABD) yardımıyla süzölmüş ve bunu takiben oda sıcaklığında 6461 xg'de 10 dk süreyle santrifüj (Sigma 2 - 16 K, Postfach, Almanya) edilerek tortularından ayrılması sağlanmıştır. Bu ön işlemleri takiben aynı gün içerisinde acılığın giderilmesinde etkisi test edilecek olan adsorban toprakları ile muamele işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın esas amacı adsorbanların acılık maddelerinin giderimi üzerine olan etkisinin değerlendirmek olduğundan farklı katım oranları yerine, daha önceki çalışmalarımızdan da edindiğimiz tecrübelerine binaen tek katım oranı seçilmiştir. Bu bağlamda %3 katkılama düzeyini beklenen etkiyi görmek ve fakat nötral yağ kaybının fazla olmamasını sağlamak açısından yaptığımız ön-çalışmalarda da yeterli olarak değerlendirilmiştir.

Adsorban toprakları ile ağırlıkça %3 oranında karıştırılan yağlar ve oda sıcaklığında 190 rpm'de 2,5 saat süreyle çalkalamaya (Certomat IS, Sartorius Stedim Biotech, Almanya) bırakılmıştır. Süre bitiminde toprakların yağdan ayrılması amacıyla 6461 xg'de 10 dk süreyle santrifüj (Sigma 2 - 16 K, Postfach, Almanya) işlemi uygulanmış ve kaba bir filtre kağıdı üzerinde süzölmüştür. Adsorban muamelesi öncesi ilk ve son yağ ağırlıkları ölçölerek yağ kaybı (%) hesaplanmıştır.

3.2.8. Soğuk Preslemeden Alınan Yağ Miktarı, Verimi ve Sediment İçeriklerinin Hesaplanması

Soğuk preslemeden çıkan tüm yağ örnekleri derhal bir filtre (Miroil RB22Fs, Allentown, ABD) yardımıyla süzölerek ve tortularından ayrılması için oda sıcaklığında 6461 xg' de 10 dk süreyle santrifüj (Sigma 2 - 16 K, Postfach, Almanya) edilmiştir. Süre bitiminde tortularından ayrılan berrak yağ fazları alınarak son tartımları (m_1) yapılmış ve başlangıçta yağ eldesinde kullanılan çekirdek miktarına (m_2) oranlanması ile yağ miktarları yüzde olarak aşağıdaki eşitliğe (3.3) göre tespit edilmiştir.

$$\text{Yağ miktarı (\%)} = (m_1/m_2) * 100 \quad (3.3)$$

m_1 = Presleme yada solvent ekstraksiyonu sonrası elde edilen yağ miktarı (g)

m_2 = Preslemeye yada solvent ekstraksiyonuna giren tohum miktarı (g)

Soğuk presleme tekniğine ait yağ veriminin hesaplanmasında ise aşağıda yazan eşitlik (3.4) kullanılmıştır.

$$\text{Yağ verimi (\%)} = (A/B) * 100 \quad (3.4)$$

A= Soğuk preslemede elde edilen yağ miktarı (%)

B= Çekirdeğin yağ içeriği (%) (Soxhelet tekniği ile belirlenen)

Elde edilen yağların sediment içerikleri (%), Pradhan ve ark. (2011)'de anlatılan metotta minör modifikasyonlar yapılarak analiz edilmiştir. Buna göre, her bir yağ örneğinden 5 ml alınarak, darası bilinen Whatman 41 filtre kağıdı üzerinden 4 saat süreyle süzölmeye bırakılmıştır. Süre bitiminde filtre kağıtları 10 mL hekzan ile 2 kez yıkanmış ve 75°C'de 1,5 saat kurutulmuştur. Filtre kağıtlarının halen yağ içerebileceği ihtimaline karşı, 10 mL dietiler ile 3 kez daha yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve ortam sıcaklığında (25°C) kurumaya bırakılmıştır. Filtre kağıtlarının son tartımları da alındıktan sonra, aşağıdaki eşitliğe (3.5) göre sediment içerikleri hesaplanmıştır.

$$\text{Sediment içeriği (\%)} = (A-B)/C * 100 \quad (3.5)$$

A= Sediment ve kağıdın son tartımı (g)

B= Kağıdın başlangıç ağırlığı (g)

C= Örnek miktarı (g)

3.2.9. Yağlı Keklerden Solvent ile Yağların Giderimi

Soğuk preslemeden geriye kalan ve mikron düzeyinde öğütöülen yağlı keklerden yağın uzaklaştırılması amacıyla katı:sıvı oranı 1:4 olacak şekilde hekzan ilavesi yapılmasını takiben ağızı kapatılan örnekler çalkalamalı bir su banyosunda (Termal elektronik 12420, İstanbul) 40°C'de 150 rpm'de 2 saat çalkalanmıştır. Süre bitiminde nişastalı kısmın çökmesi için bir süre bekletilmiş, ardından misellanın (yağ+çözgen) içerdiği hekzan 40°C'de vakum altında evapore (Heidolph Rotavapor, Almanya) edilmiştir. Kalan küspe üzerine tekrar hekzan ilavesini takiben aynı işlemler 2 kere daha yinelenmiştir. Yağın büyük kısmının uzaklaştırılması ($\leq 1\%$ yağ içeriği) için 6 saatin yeterli olduğu gözlenmiştir.

Yağlı kekten gelebilecek tortuların tamamen giderilmesi amacıyla, evaporatörden alınan yağlara 6461 xg'de 10 dk santrifüj (Sigma 2 - 16 K, Postfach, Almanya) işlemi uygulanmış ve az miktarda olsa kalabilecek hekzanı uzaklaştırmak amacıyla bir manyetik karıştırıcı (IKA RCT basic, Almanya) üzerinde 120 °C'de 200 rpm'de 5 saat bekletilmiştir.

3.2.10. Soğuk Presleme Sonrası Yağlı Narenciye Keklerinde Yapılan Temel Bileşen Analizleri

Soğuk preslemenin önemli bir diğer çıktısı olan yağlı kekler yağ sıkımını takiben bir mikron öğütücü (Retsch Grindomix GM300, Retsch, Almanya) yardımı ile tamamen mikron/toz haline indirgenmiş ve analiz anına değin derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Nem miktarı (%): Öğütülmüş yağlı keklerin nem içeriği Ohaus MB45 (Ohaus, Pine Brook, ABD) hızlı nem tayin cihazı kullanılarak (103°C, 1 g örnek) analiz edilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Su aktivitesi: Öğütülmüş yağlı keklerin su aktivitesi değerleri AQUA Lab 4TE (Decagon Devices, ABD) cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Aydeniz ve ark., 2014).

Kül miktarı (%): Öğütülmüş yağlı keklerin içerdiği kül miktarı, kademeli bir ısı artışının uygulandığı bir kül fırınında AOCS Ba 5a-49 metoduna tespit edilmiştir (AOCS, 1998).

Yağ miktarı (%): Soğuk presleme sonrası yağlı keklerde kalan ham yağ miktarı Soxhlet ekstraktörü yardımı ile AOAC 920.39 metoduna göre belirlenmiştir (AOAC, 2002).

Ham protein (%): Öğütülmüş yağlı keklerin içerdiği ham protein oranı Kjeldahl yöntemi ile AOCS Aa 5-38 metoduna analiz edilmiştir (AOCS, 1989).

Renk ölçümü: Öğütülmüş yağlı keklerin renk değerleri Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiş ve CIE sistemine ait L [0, siyah; 100, beyaz], a* değeri (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* değeri (+b* = sarı, -b* = mavi) değerleriyle ifade edilmiştir. Cihaz renk ölçümünün başında, beyaz seramik plakaya karşı standardize edilmiş, bunu takiben renk ölçümün yapılacağı boş bir cam petri kutusu seramik plaka üzerine konularak cihaz buna karşı da sıfırlanmıştır. Öğütülmüş yağlı kekler, cam petrilere boşaltılarak, renk ölçümü gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3).

3.2.11. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi

Özgül ağırlık (bağıl yoğunluk): Soğuk pres yağlarının özgül ağırlık değerleri bir yağ piknometresi ile AOCS Cc 10c-95 resmi metoduna (AOCS, 1984) göre analiz edilmiştir.

Kırılma indisi: Soğuk pres yağlarının kırılma indisi değerleri Abbe 5 (Bellingham and Stanley, İngiltere) refraktometresi ile belirlenmiştir. Refraktometre kullanım öncesinde 20 °C'de saf su yardımı ile kalibre edilmiş ($n_D 20^\circ C = 1.333$), ardından prizma yüzeyini kaplayacak miktarda yağ örneği (20°C) koyularak kırılma indisi değeri virgülden sonra dördüncü haneye kadar okunmuştur (Nas ve ark., 2001).

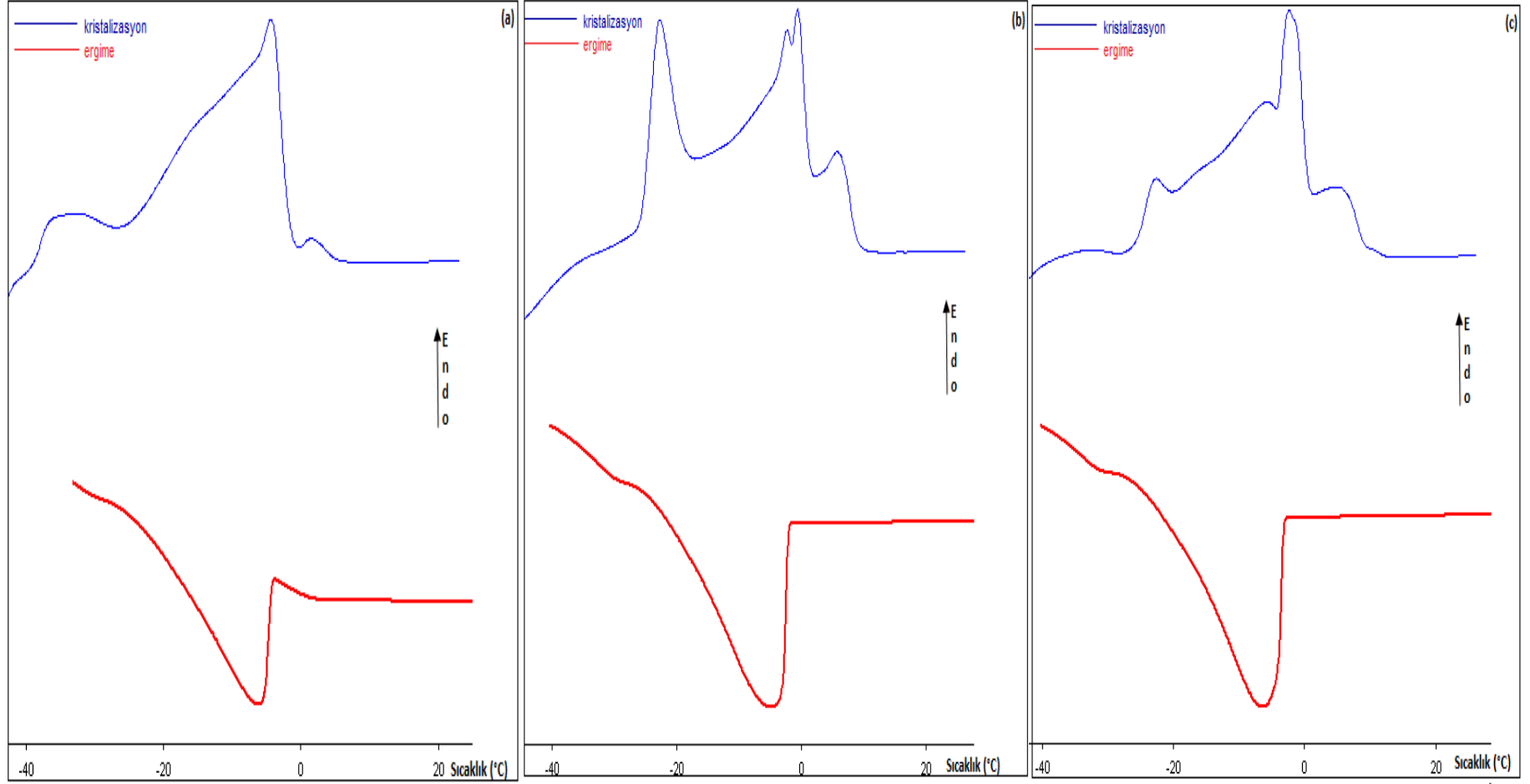
Viskozite Değeri: Soğuk pres yağlarının (8 mL) viskozite değerleri Brookfield DV-II+Pro (Massachusetts, ABD) viskozimetre cihazında 18 numaralı standart mil (spindle) ve 50 rpm dönüş hızı kullanılmak suretiyle, 25°C'de Centipoise cinsinden (cP) analiz edilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Türbidite (Bulanıklık) Değeri: Yağ örneklerinin bulanıklığı HACH 2100AN laboratuvar tipi türbidimetre (ABD) ile ölçülmüştür. Cihaz kullanım öncesinde 0, 2, 10 ve 1000 NTU'luk referans çözeltiler ile kalibre edilmiştir. Yağ örnekleri soğuk presleme ile elde edildikleri için ölçüm öncesinde 6461 xg'de, 10 dk santrifüj (Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) işlemine tabi tutulmuş, ayrıca tüm ölçümlerin aynı sıcaklıkta (23 °C) yapılmasına özen gösterilmiştir.

Renk ölçümü: Yağ örneklerine ait renk değerleri, narenciye çekirdeklerinde yapılan ölçüme benzer şekilde Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiş ve CIE sistemine ait L [0, siyah; 100, beyaz], a* değeri (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* değeri (+b* = sarı, -b* = mavi) değerleriyle ifade edilmiştir. Ölçüm başında cihaz, önce beyaz seramik plakaya daha sonra da karşı seramik plaka üzerine yerleştirilmiş boş bir cam petri kutusuna karşı standardize edilmiştir. Yağ örnekleri daha sonra bu petri kutusuna boşaltılarak ve beyaz seramik plaka üzerinde cihazın probu yağ örneğinin içine daldırılmak suretiyle renk değerleri kaydedilmiştir.

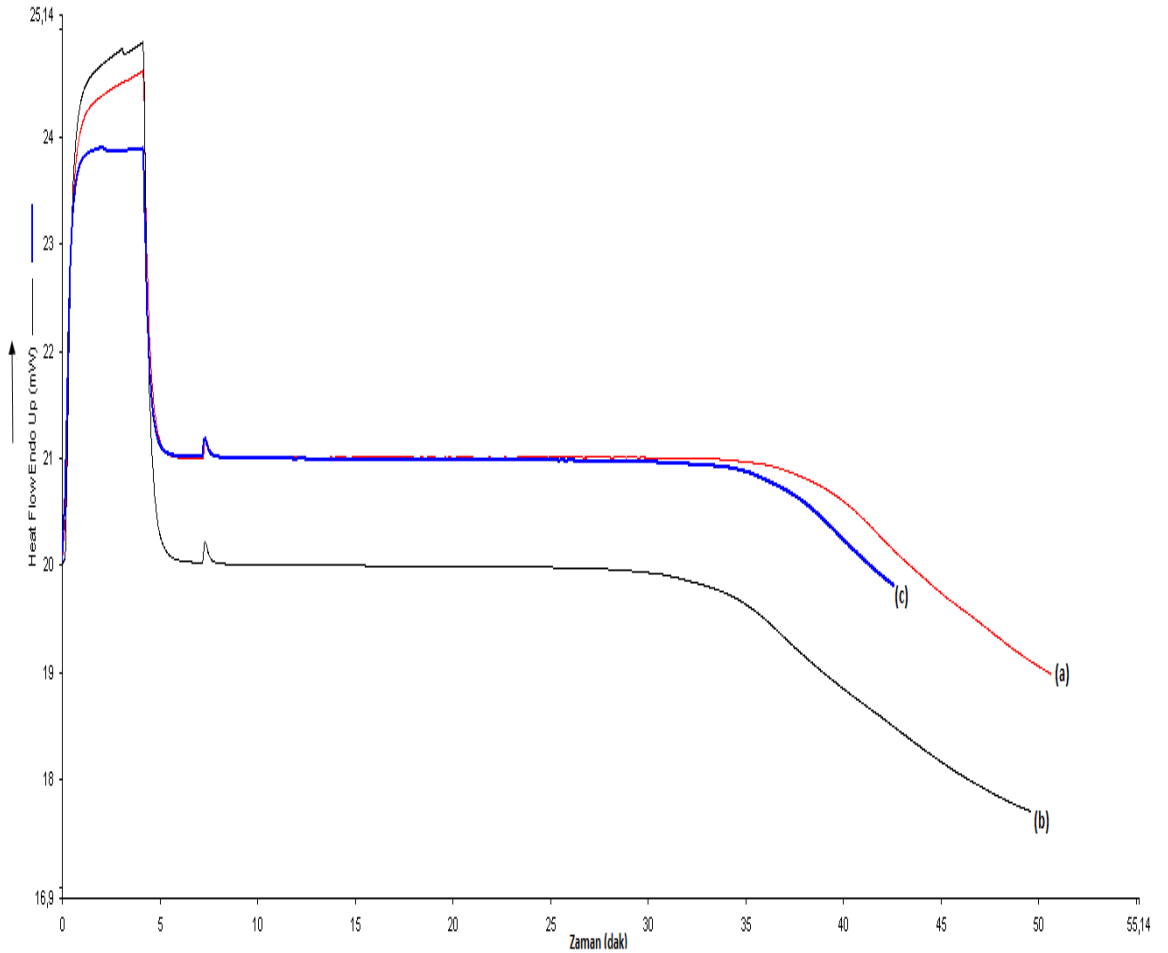
DSC ile termal özelliklerin belirlenmesi ve oksidatif indüksiyon zamanı ölçümü:

Narenciye çekirdek yağlarının dinamik kristalizasyon ve ergime gibi termal özelliklerinin analiz edilmesinde Dassanayake ve ark. (2009)'da belirtilen teknikten yararlanılmış ve ölçümler diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile (Perkin-Elmer DSC 4000 serisi, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Referans olarak boş alüminyum kap kullanılmıştır. Belirtilen tekniğe göre yağ örneklerinden yaklaşık 5-7 mg arasında örnek cihaza özel minik alüminyum kaplara tartılmış ve ağızları kapatılarak, cihazın örnek hücreğine yerleştirilmiştir. Yağ örneklerine uygulanan sıcaklık prosedürü şu şekildedir; önce 110°C'ye 10°C/dk ile ısıtılmış, sonra -70°C'ye 10°C/dak ile soğutulmuş bu sıcaklıkta kristalizasyonun tam anlamıyla gerçekleşmesi için 3 dak bekletilmiştir. Daha sonra örnekler tekrar 50°C'ye 5°C/dak ile ısıtılıp elde edilen termogramdan, ergime sıcaklıkları (T_m) ergime entalpileri (ΔH_m) ile kristalizasyon sıcaklıkları (T_c) ve kristalizasyon entalpileri (ΔH_c) cihazın yazılım programı (Pyris1 Manager) yardımıyla hesaplanmıştır (Dassanayake ve ark., 2009). Anlatılan metot doğrultusunda analiz edilen narenciye çekirdek yağlarına ait differansiyel taramalı kalorimetre örnek termogramları Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

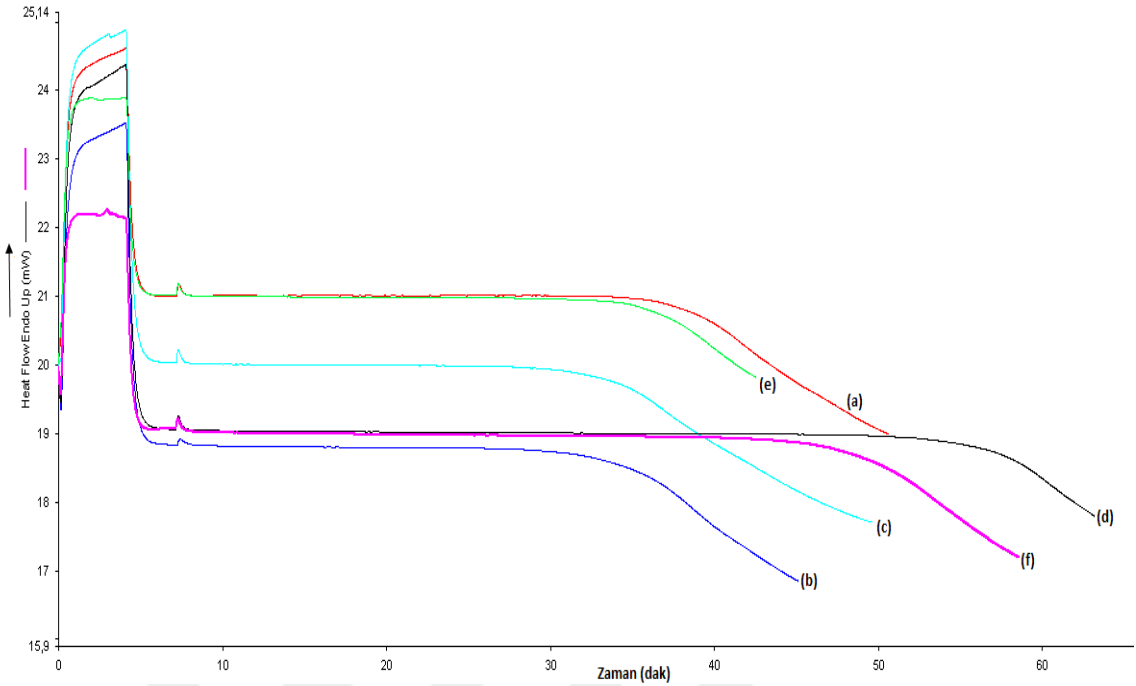


Şekil 3.6. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarına ait differansiyel taramalı kalorimetre örnek termogramı (a: limon çekirdeği yağı, b: portakal çekirdeği yağı, c: greyfurt çekirdeği yağı)

Narenciye çekirdek yağlarının oksidatif indüksiyon zamanları da diferansiyel taramalı kalorimetre yardımıyla (Perkin-Elmer DSC 4000 serisi, ABD) ve Tan ve ark. (2002)'da anlatılan tekniğe göre belirlenmiştir. Cihaz kalibrasyonu için saf indiyum ve çinkodan yararlanılmış ve referans çizginin oluşturulmasında açık alüminyum kaplar kullanılmıştır. Belirtilen tekniğe göre yağ örneklerinden yaklaşık 5 mg tartılarak, ağzı kapatılmadan cihazın örnek hücreesine yerleştirilmiştir. Yağ örneklerine uygulanan sıcaklık prosedürü şu şekildedir; örnekler önce 30°C'den 130°C'ye kadar 20°C/dak ile %99.99 saflıkta 50.00 mL/dak nitrojen atmosferinde ısıtılmıştır. Sıcaklık 130°C'ye ulaştığında 50 mL/dak %99.99 saflıkta oksijen atmosferinde izotermal koşullarda analize devam edilmiştir. Cihazın yazılım programı (Pyris1 Manager) yardımıyla termogram üzerinde, baseline çizgisi ve kırılma anının tanjantları alınarak sonuçlar indüksiyon zamanı (dak) olarak kaydedilmiştir. Anlatılan metod doğrultusunda analiz edilen narenciye çekirdek yağlarına ait oksidatif indüksiyon zamanı örnek termogramı Şekil 3.7 ve 3.8'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Soğuk preslemeyle üretilen narenciye çekirdek yağlarına ait oksidatif indüksiyon zamanı örnek termogramı (a: limon çekirdeği yağı, b: portakal çekirdeği yağı, c: greyfurt çekirdeği yağı)



Şekil 3.8. Narenciye çekirdek yağlarının tümüne ait oksidatif induksiyon zamanı örnek termogramı (a: soğuk pres limon çekirdeği yağı, b: solvent ekstraksiyonu limon çekirdek yağı, c: soğuk pres portakal çekirdeği yağı, d: mikrodalga+soğuk pres portakal çekirdeği yağı, e: soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı, f: enzim+soğuk pres greylfurt çekirdeği yağı)

3.2.12. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Serbest yağ asitliği: Serbest yağ asitliği, yağlarda genellikle ester yapısında bulunan maddelerin enzimatik, kimyasal yada her iki yolla birden hidrolizleri sonucu serbest hale geçen yağ asitlerinin %'si tanımlanmakta ve yağda baskın olan yağ asiti cinsinden (% oleik asit, linoleik asit gibi) ifade edilmektedir (Kayahan, 2003). Yağlardaki asitlik durumu ayrıca, 1 g yağın nötrleşmesi için gerekli potasyum hidroksit (KOH)'in mg olarak ağırlığı şeklinde tanımlanan 'asit sayısı' olarak da belirtilebilmektedir. Analizin esası, uygun çözücü karışımında çözülerek hazırlanmış numunenin ayarlı potasyum hidroksit çözeltisi ile titrasyonu esasına dayanmaktadır. Soğuk pres yağlarının serbest yağ asitliği ve asit sayısı değerleri sırasıyla AOCS Ca 5a-40 ve Cd 3d-63 (AOCS, 1998)'e göre analiz edilmiştir. Bu amaçla, 2 g yağ örneği 0,001 g duyarlılıkla tartılmış ve üzerine 30 mL etil alkol-dietil eter karışımı ilave edilmiştir. Yağın çözünmesi için 10 sn kadar çalkalana örnek üzerine %1 lik fenolftalein indikatörü ilave edilmesinin takiben 0,1 N KOH ile pembe renk

gözleninceye kadar titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Yağın içerdiği serbest yağ asitliği, yağ asiti kompozisyonu göz önüne alınarak, tüm narenciye çekirdek yağlarından major yağ asiti olan linoleik asit cinsinden aşağıdaki eşitliğe (3.6) göre hesaplanmıştır.

Hesaplama;

$$\text{Serbest asitlik (\% linoleik olarak)} = [(V \cdot N \cdot 0,28) \cdot 100] / m \quad (3.6)$$

V= Harcanan 0.1 N KOH miktarı (mL)

N= Kullanılan KOH çözeltisinin normalitesi

m= Örnek miktarı (g)

0,28 = 1 mL 1 N NaOH'e eşdeğer linoleik asit (g)

Peroksit sayısı: Peroksit sayısı, tayin şartlarında potasyum iyodürü oksitleyen 1 kg yağdaki aktif oksijenin miliekivalen gram olarak veya 1 g yağdaki aktif oksijenin mikrogram olarak ifadesidir. Peroksit sayısı ile yağlarda otoksidasyonun birincil ürünü olan hidroperoksit, siklik peroksit ve epi-peroksitler tespit edilir. Analiz, asetik asit ve kloroform karışımı içinde çözülmüş numunenin, potasyum iyodür çözeltisi ile reaksiyonu sonucu açığa çıkan iyodun ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyonu esasına dayanmaktadır (Nas ve ark., 2001). Soğuk pres yağlarının peroksit sayısı değerleri AOCS Cd 8-53 (AOCS, 1998)'e göre analiz edilmiştir. Metoda göre, 0,5 g yağ örneği 0,001 g duyarlılıkta tartılarak üzerine 10 mL kloroform ve 15 mL glasiyel asetik asit eklenmiştir. 1 mL doymun potasyum iyodür çözeltisi eklenerek 1 dk çalkalanmış ve ışıksız ortamda 5 dk bekletilmiştir. Süre bitiminde 75 mL saf su ilavesinin ardından, 1 mL (%0,5'lik) nişasta çözeltisi indikatör olarak damlatılmış ve açığa çıkan iyot 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Yağın içerdiği peroksit sayısı miliekivalant gram peroksit oksijen /kg yağ cinsinden aşağıdaki eşitliğe (3.7) göre hesaplanmıştır.

$$\text{Peroksit Sayısı (miliekivalent O}_2\text{/kg)} = (V_1 - V_0) \cdot N \cdot 1000 / m \quad (3.7)$$

V₀= Tanık deney için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

V₁= Numune için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

N= Sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi

m= Deney numunesinin kütlesi (g)

p-Anisidin değeri: İkincil oksidasyonun izlenmesinde önemli bir belirteç olan para anisidin değerleri AOCS Cd 18-90 (AOCS, 1998)'a göre analiz edilmiştir. Bu amaçla 0.5 g yağ, 25 mL'lik balon jöjeler içerisine tartılmış ve izooktanla çözündürülerek hacim

çizgisine tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerim absorbanları 350 nm’de izooktana karşı kaydedilmiştir. İkinci aşamada, her bir çözeltiden 5 mL alınarak, tüplerine 1 mL %0,25’lik (0,25 g/100 mL glasiyel asetik asit) *p*-anisidin reaktifi ilave edilmiş ve tüp içeriği 20 sn kuvvetle çalkalanmıştır (Heidolph Reax Top, Heidolph, Almanya). Tüpler karanlık ortamda 10 dk bekletildikten sonra, referans tüp içeriğine (5 mL izooktan+1 mL para anisidin reaktifi) karşı 350 nm’de okunan absorban değerleri kaydedilmiştir. *p*-anisidin değeri aşağıdaki eşitliğe (3.8) göre hesaplanmıştır;

$$p\text{-Anisidin değeri} = 25 * [(1,2 * A_2 - A_1) / m] \quad (3.8)$$

A_1 = Yağın izooktandaki çözeltilisinin absorbanı

A_2 = *p*-anisidin reaktifi ilave edilmeden sonra okunan absorban

İyot sayısı: İyot sayısı, absorbe edilen ve iyot olarak ifade edilen halojenin kütlesi olup 100 g yağda gram olarak ifade edilen bir değerdir. İyot sayısı ile yağların ve yağ asitlerinin doymamışlıkları, saflığı belirlenir. Ayrıca yağın kantitatif bileşenlerin belirlenmesine ve hidrojenasyon kontrolüne de yardımcı olmaktadır (Nas ve ark., 2001). Analiz, uygun çözücüde (kloroform:glasiyel asetik asit, 2:3 v/v) deney numunesinin çözülmesi ve Wijs reaktifinin edilmesinden belirli bir süre sonra, potasyum iyodür ve su ilavesi ile açığa çıkan iyodun, sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyonu esasına dayanmaktadır. Soğuk pres yağlarının iyot sayısı değerleri AOCS Cd 1-25 (AOCS, 1998)’e göre analiz edilmiştir. Bu amaçla, 0,2 gram yağ örneği 0,001 g duyarlılıkla tartılarak, 25 mL Wijs reaktifi ilave edilmiş ve en az 16 saat süreyle ışıksız ortamda reaksiyon için bekletilmiştir. Süre sonunda 20 mL potasyum iyodür çözeltisi ve 150 mL saf su ilave edilerek, birkaç damla nişasta çözeltisi eşliğinde 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Harcanan miktar kaydedilerek eşitlik (3.9) yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır.

$$\text{İyot sayısı (g/100g)} = 12,69 * N * (V_1 - V_2) / m \quad (3.9)$$

N = Sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi

V_1 = Tanık deney için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

V_2 = Numune için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

m = Deney numunesinin kütlesi (g)

12,69= 1 L 0,1 N sodyum tiyosülfat tarafından bağlanan iyot ağırlığı (g)

Sabun miktarı: Yağlarda çözünmüş olarak bulunan sabunun, sodyum oleat cinsinden miktarı olarak ifade edilmektedir (AOCS, 1998). Analiz, sodyum sabun içeriği ve HCl ile

deneme şartları altında reaksiyona giren diğer bazik maddelerin (magnezyum sabunu, bazik fosfatidler vb.) tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. Analizde kullanılacak olan deney çözeltisi, her 100 mL sulu aseton için 0,5 mL bromofenol mavisi katılmasını takiben çözelti rengi sarı oluncaya kadar 0,01 N asit veya 0,01 N sodyum hidroksit ile titre edilmesi suretiyle hazırlanır. 40 g kadar numune 0,01 g duyarlılıkla önceden deney çözeltisi ile iyice yıkanmış ve kurutulmuş deney tüpüne tartılıp üzerine 1 mL su ilave edilir ve su banyosunda hafifçe ısıtılır. Kuvvetle çalkalamayı takiben, 50 mL nötrleştirilmiş aseton katılıp su banyosunda hafifçe ısıtıldıktan sonra iyice çalkalanır ve iki faz ayrılıncaya kadar bekletilir. Yeşil yada mavi renkli üst faz, numunede alkali yani sabun varlığını ifade eder. Bu takdirde yeniden sarı renk meydana gelinceye kadar mikrobüretten 0,01 N hidroklorik asit katılır. Hafifçe ısıtma işlemine üst fazın sarı rengi devamlı olarak kalıncaya kadar devam edilir.

Türk Gıda Kodeksi “Bitki Adı ile Anılan Yemelik Yağlar Tebliği” ne göre naturel yağlarda sabun bulunmamalı, bulunsa dahi miktarı maksimum %0,005 m/m olmalıdır.

$$\text{Sabun miktarı (\%, sodium oleat)} = (V/m) * 0,304 \quad (3.10)$$

$$V = \text{Harcanan 0,01 N hidroklorik asit çözeltisi (mL)}$$

$$m = \text{Numune ağırlığı (g)}$$

Sabunlaşma sayısı: Sabunlaşma sayısı, belirli şartlar altında 1 g yağı sabunlaştırmak için gereken potasyum hidroksidin mg olarak miktarıdır (Nas ve ark., 2001). Analiz, numunenin geri soğutuculu bir düzenekte alkolde hazırlanmış potasyum hidroksit çözeltisi ile kaynatılması ve fazla potasyum hidroksitin ayarlı hidroklorik asit çözeltisi ile titrasyonu esasına dayanmaktadır. Titrasyonda sarfedilen hidroklorik asit miktarından yağın sabunlaşma sayısı hesaplanmaktadır. Soğuk pres yağlarının sabunlaşma sayıları AOCS T1 1a-64 (AOCS, 1984)’e göre analiz edilmiştir. Bu amaçla, 5 g yağ örneği 0,001 g duyarlılıkla tartılarak üzerine 25 mL (0,5 N) etanollü potasyum hidroksit ve birkaç kaynama taşı ilave edilmiş ve bir yüzey ısıtıcı üzerinde kaynama başladıktan sonra 60 dk beklentilmiştir. Kaynama süresince, 15 dk aralıklarla balon içeriği çalkalanmış ve içeriğin homojen sabunlaşması sağlanmıştır. Süre bitiminde henüz sıcak olan içeriğe 1 mL fenolftalein indikatörü damlatılarak 0,5 N HCl ile titrasyon yapılmış ve harcanan sarfiyat üzerinden sabunlaşma sayısı aşağıdaki eşitliğe (3.11) göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g yağ)} = (V_0 - V_1) * C * 28,05 / m \quad (3.11)$$

$$V_0 = \text{Tanık deney için kullanılan HCl çözeltisinin hacmi (mL)}$$

V_1 = Tayin için kullanılan HCl çözeltisinin hacmi (mL)

C = HCl çözeltisinin normalitesi

m = Deney numunesinin kütlesi (g)

28,05= 1 mL 0,5 N KOH çözeltisi içerisinde bulunan KOH miktarı (g)

Sabunlaşmayan madde miktarı: Narenciye çekirdek yağlarının sabunlaşmayan madde içerikleri TSE 894'e göre analiz edilmiştir (TSE, 1970). Analiz metoduna göre yaklaşık 5 g kadar numune (m) 0,01 g duyarlılıkla bir yağ balonunun içerisine tartılıp ve sabunlaşma gerçekleşmesi için üzerine 50 mL 2 N etanollü potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek, geri soğutucuya bağlanır. Bu düzenekte 1 saat süre ile yavaşça kaynatılarak sabunlaşma sağlanır. Süre bitiminde geri soğutucu ayrılır ve balon içeriği bir ayırma hunisine aktarılır. Balon toplam 100 mL su ile yıkanarak, bu yıkama suları da ayırma hunisine eklenir. Bunu takiben, balon ve geri soğutucu 100 mL dietil eter ile yıkandıktan sonra dietil eterler ayırma hunisine aktarılır. Ayırma hunisinin kapağı kapatılarak kuvvetle çalkalanır ve faz ayrımı gözleninceye kadar ayırma hunisi düşey olarak tutulur. Faz ayrımı gözlenmez veya emülsiyon meydana gelirse, birkaç damla HCl (1N) yada etil alkol damlatılarak berrak faz ayrımı için beklenir. Ayrılan sulu ve etanollü faz sabunlaşmada kullanılan balona, eter ekstraktı ise dikkatli bir biçimde içinde 40 mL su bulunan ikinci bir ayırma hunisine aktarılır. Yağ balonuna alınan sulu-etanollü faz, her defasında 100 mL dietil eter kullanarak iki kez daha aynı şekilde ekstrakte edilir ve eter ekstraktları ikinci ayırma hunisinde biriktirilir. İçinde 40 ml su ve eter ekstraktları toplanmış olan huni kuvvetle çalkalanmadan (istenmeyen emülsiyon oluşumunun engellenmesi için) döndürülür. Faz ayrımı için beklenir ve yıkama çözeltileri alt taraftan akıtılarak atılır. Kalan eter fazı iki kez daha 40 mL su ile yıkandıktan sonra sırasıyla 40 mL 0,5 N sulu potasyum hidroksit çözeltisi 40 mL su ve tekrar 40 mL sulu potasyum hidroksit çözeltisi ve en az iki kez daha 40 mL su ile yıkanır. Su ile yıkama işlemine, yıkama suyu birkaç damla fenolftalein çözeltisi ile pembelik vermeyinceye kadar devam edilir. Ayırma hunisindeki eterli kısmı, huninin üst tarafından darası bilinen bir yağ balonuna (m_1) dikkatle aktarılır, huni içeriği 40 mL dietil eterle çalkanarak bu kısımda yağ balonuna alınır. Yağ balonu vakumlu bir evaporatörde çok az bir kalıntı içerecek biçimde uzaklaştırılır. 6 mL aseton ilavesinden sonra buharlaştırmaya devam edilir ve sıvı kısmı tamamiyle buharlaştırılır. 103°C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulur ve desikatörde soğutulur ve tartım (m_2) alınır. Numunedeki sabunlaşmayan madde miktarı kütlece yüzde olarak aşağıdaki eşitlikten (3.12) bulunur.

$$\text{Sabunlaşmayan maddeler (\%)} = [(m_2 - m_1) / m] * 100 \quad (3.12)$$

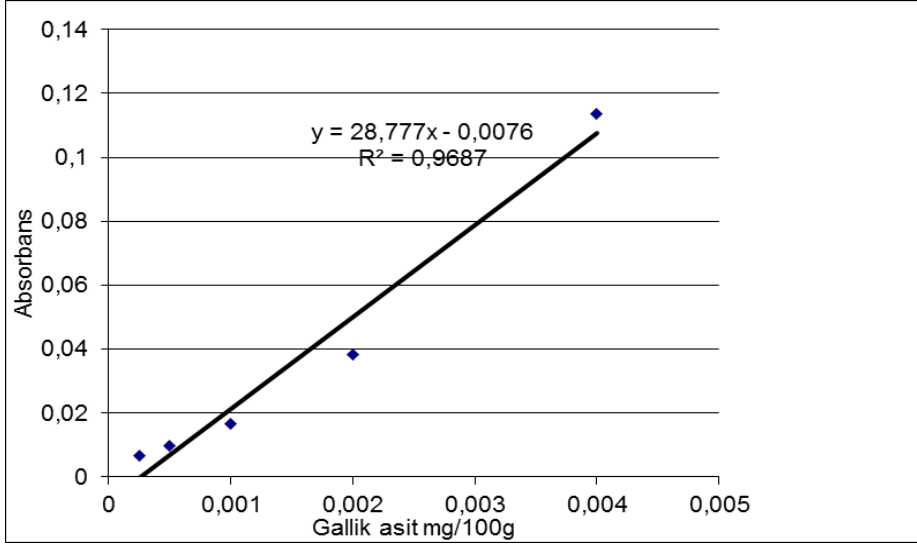
m= Deneysel numunesinin kütlesi (g)

m₁= Yağ balonunun darası (g)

m₂= Yağ balonu ve kalıntının kütlesi (g)

Toplam fenolik madde analizi için için fenolik ekstraktların hazırlanması: Soğuk pres narenciye yağlarından fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu Aydeniz ve ark. (2014)'na göre yapılmıştır. Bu amaçla, yağ örnekleri ve çözügen karışımı (su:metanol, 60:40 v/v) 1:1 oranında karıştırılmış ve 1 dk kuvvetlice çalkalamayı (Heidolph Reax Top, Heidolph, Almanya) takiben santrifüj uygulamasına (7500 rpm, 4 °C, 10 dk) tabi tutulmuştur. Süre bitiminde methanol fazları (alt berrak faz) alınarak, rezidü üzerine tekrar aynı oranda çözügen ilavesi yapılarak işlem bir kez daha tekrarlanmıştır. Tüm methanol fazları birleştirilerek, 0,45 µm filtelerden geçirilmiş ve toplam fenolik ve antioksidan kapasite analizleri için kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde tayini: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak Chotimarkorn ve ark. (2008) tarafından belirtilen tekniğe göre ölçülmüştür. Hazırlanan fenolik ekstrakt (250 µL) üzerine Folin-Ciocalteu ayırıcı (500 µL) ilavesini takiben, 6 mL destile su ilave edilmiş ve 1 dk kuvvetlice karıştırılmıştır. Alkali ortamın oluşturulması amacıyla 2 mL Na₂CO₃ çözeltisi (%15 w/w) de ilave edilerek, 2 dk daha kuvvetlice vortexlenmiştir. Son hacim 10 mL'ye tamamlandıktan sonra, karanlık ortamda oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiş ve süre bitiminde bir spektrofotometre (Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre, Waldbrann, Almanya) yardımıyla 750 nm de okunan absorbans değerleri kaydedilmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri hazırlanan gallik asit (GA) standart eğrisi (R²=0,997) (Şekil 3.9) üzerinden hesaplanarak, mg GA/100 g yağ olarak ifade edilmiştir.

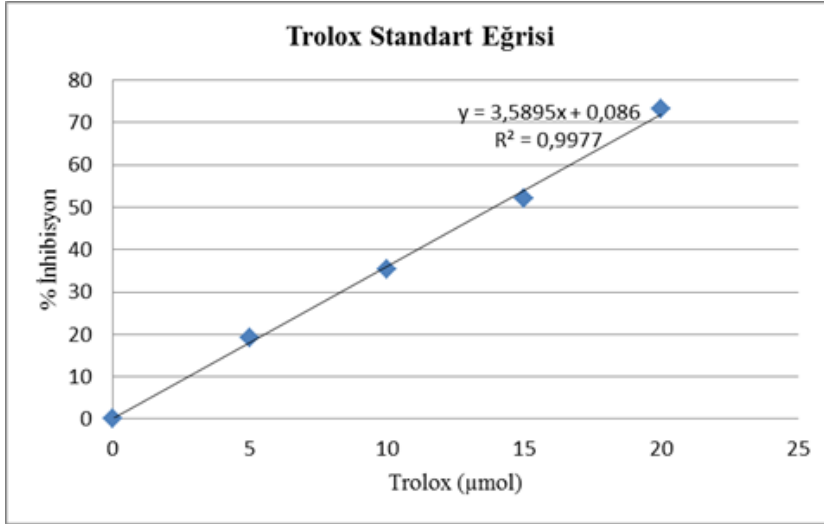


Şekil 3.9. Gallik asit standart eğrisi

Fenolik kompozisyonunun belirlenmesi (HPLC) için fenolik ekstraktların hazırlanması: Kompozisyonel analiz için soğuk pres yağlardan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu Vallverdú–Queralt ve ark. (2014)'nın metodunda yapılan küçük modifikasyonlara göre gerçekleştirilmiştir. Yağ örneklerinden fenolik bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda kazanılması amacıyla katı faz ekstraksiyon (SPE) tekniğinden yararlanılmıştır. Bu amaçla her bir yağ örneğinden 3 gram tartılarak, 3 mL hekzan içerisinde homojen dağılacak şekilde çözündürülmüş ve 5 mL metanol ve 5 mL hekzanla önceden şartlandırılmış kartuşlara (Supelclean, LC-Diol SPE kartuş, 3mL, Supelco, Bellefonte, PA, ABD) vakum altında yükleme yapılmıştır. Non-polar kısımların uzaklaştırılması amacıyla kartuşlar üzerinden 5 mL hekzanla yıkamayı takiben hekzanı uzaklaştırmak amacıyla kartuş içeriği nitrojen gazı ile kurutulmuştur. Kartuş içerisindeki fenolik bileşikler vakum altında 10 mL metanolla elüe etmek suretiyle geri kazanılmış ve tüm ekstraktlar 0,45 µm PTFE filtrelerden geçirilerek HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Antioksidan kapasite ölçümü: Soğuk pres narenciye yağlarının antioksidan kapasite değerleri Re ve ark. (1999)'a göre TEAC (Troluks eşdeğeri antioksidan kapasite) tekniği esas alınarak analiz edilmiştir. Toplam fenol ölçümü için hazırlanan metanollü fenolik ekstraktlar antioksidan kapasite ölçümlerinde de kullanılmıştır. Örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla ABTS [2,2-Azinobis-(3-Etibenzotiozidin-6-Sulfonik asit)] çözeltisi üzerinde %20-90 aralığında değişen inhibisyon etkisini sağlayacak biçimde üç farklı konsantrasyondan fenolik ekstraktı eklendikten sonra 734 nm dalga boyunda 6 dakika beklenmiş ve süre boyunca çözelti renginde meydana gelen indirgenme spektrofotometrik (Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre - Waldbrann, Almanya)

olarak gözlenmiştir. Başlangıç (0. dk) ve 6. dk sonunda okunan absorbans değerleri arasındaki fark esas alınarak yüzde inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Belirlenen bu inhibisyon değerleri ve enjeksiyon hacimleri dikkate alınarak oluşturulan grafik eğiminin, antioksidan standardı olarak kullanılan Trolox standart eğrisinin (Şekil 3.10) eğimine oranlanması suretiyle narenciye yağlarının antioksidan kapasite değerleri Trolox eşdeğeri (mikromol TE/100 g yağ) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.10. Trolox standart eğrisi

Karotenoid içeriğinin belirlenmesi: Soğuk pres narenciye yağlarının karotenoid içerikleri Franke ve ark. (2010)'da belirtilen metoda göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla 0,5 g yağ tartılarak 2 mL petroleter:aseton (1:1 v/v) karışımında homojen dağılıncaya kadar kuvvetle çalkalanmıştır (Heidolph Reax Top, Heidolph, Almanya). Tüp içeriği 1 cm ışık yoluna sahip kuartz küvete transfer edilmiş ve petroleter:aseton (1:1 v/v) karışımına karşı 445 nm'de okunan (Agilent 8453 UV-Vis Spektrofotometre, Waldbronn, Almanya) absorbans değerleri kaydedilmiştir. Narenciye yağlarının karotenoid içerikleri eşitlik 3.13'e göre toplam karotenoid cinsinden (mg/kg yağ) hesaplanmış ve uygun absorbans katsayıları (Beta karoten için petrol eterde absorpsiyon katsayısı 2592; lutein için petrol eterde absorpsiyon katsayısı 2600, Rodriquez-Amaya ve Kimura, 2004) da dikkate alınarak beta-karoten ve lutein cinsinden ifade edilmiştir.

$$X \text{ (mg/100g)} = \frac{A * y \text{ (mL)} * 10^6}{A \%_{1\text{cm}} * 1000 \text{ g}}$$

(3.13)

X= Toplam karotenoid içeriği (mg/100 g)

A= Absorbans değeri (445 nm)

y= Ekstraksiyon solüsyonunun miktarı (mL)

A% 1cm= Karotenoid molekülü için ortalama absorpsiyon katsayısı (2500)

Klorofil içeriğinin belirlenmesi: Soğuk pres narenciye yağlarının klorofil içerikleri, AOCS 13i-96 (AOCS, 1997)'ya göre spektrofotometrik ölçüm metoduyla üç farklı dalga boyunda (630, 670 ve 710 nm) tespit edilmiştir. Analiz edilecek yağ numunelerinde bulanıklığı neden olacak unsurlar bir filtre kağıdı yardımıyla giderilmiş ve bunu takiben örnekler hekzan (0,25:5 w/v) içerisinde homojen dağılıncaya kadar kuvvetle çalkalanmıştır (Heidolph Reax Top, Heidolph, Almanya). Tüp içeriği 1 cm ışık yoluna sahip quartz küvete transfer edilmiş ve hekzana karşı sıfırlama yapılarak okunan (Agilent 8453 UV–Vis Spektrofotometre, Waldbronn, Almanya) absorbans değerleri kaydedilmiştir. Narenciye çekirdek yağlarının klorofil içerikleri aşağıdaki eşitliğe (3.14) göre mg feofitin a/kg yağ cinsinden hesaplanmıştır.

$$C = 345,3 * [(A_{670} - 0,5 * A_{630} - 0,5 * A_{710}) / L] \quad (3.14)$$

C= Klorofil pigment içeriği mg feofitin a/kg yağ

$A_{670-630-710}$ = 670, 630 ve 710 nm dalga boylarında okunan absorbans değerleri

L= Spektrofotometre küvetinin ışık yolu uzunluğu (mm)

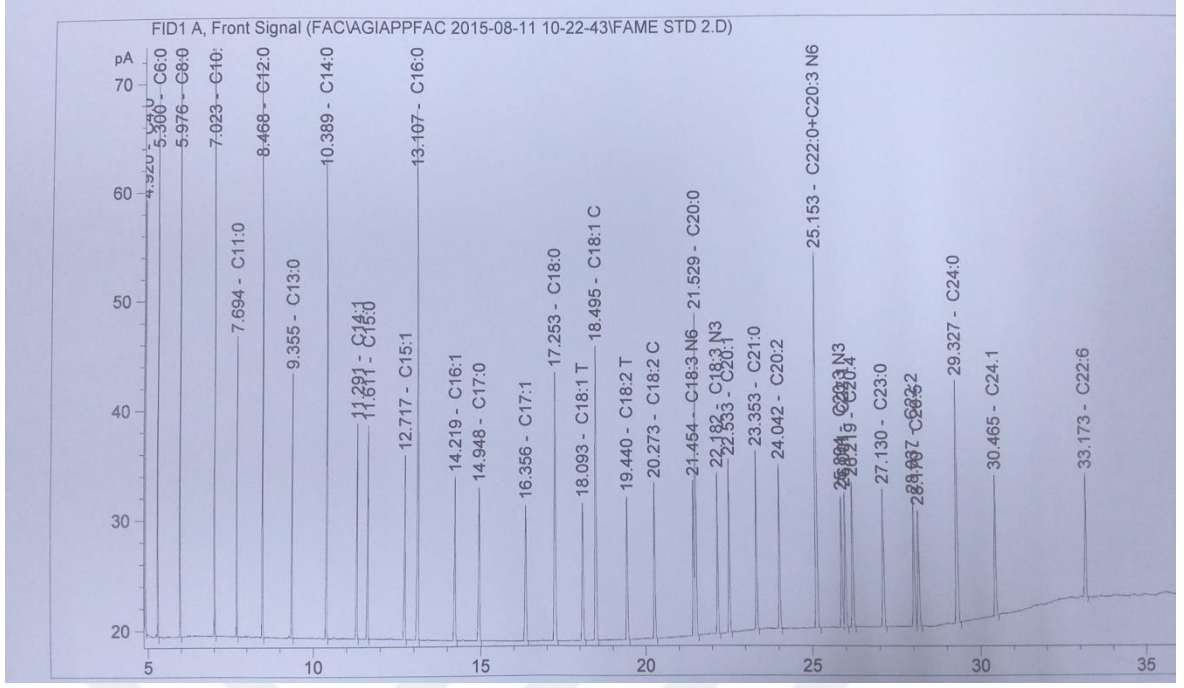
3.2.13. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kompozisyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi: Çekirdek yağlarının yağ asitlerinin karakterize edilmesi amacıyla David ve ark. (2005)'da anlatılan metod esas alınarak öncelikle yağ asitlerinin metil esterleri hazırlanmıştır. Bu amaçla, 100 mg çekirdek yağı ağzı kapaklı bir test tüpü içerisine tartılmış ve 10 mL hekzan ilavesini takiben çözünmesi için 30 sn karıştırma işlemi uygulanmıştır (Heidolph Reax top, Heidolph, Almanya). Test tüpüne 100 mikrolitre 2 N etanollü KOH ilavesi yapıldıktan sonra karıştırma işlemi tekrarlanmış ve uygulanan santrifüjün ardından (6461 xg, 10 dk, Sigma 2-16K, Sartorius, Almanya) berrak faz alınarak, enjekte edilmek üzere 2 mL'lik viallere aktarılmıştır. Analize ait çalışma şartları aşağıdaki gibidir:

- Kromatografi sistemi : Agilent 7890B Gaz Kromatografisi (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)

- Dedektör: Alev iyonizasyon dedektörü (FID) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)
- Otomatik örnekleyici: Agilent G4513A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)
- Kolon: HP-88, 100 m x 0,25 mm çap x 0,2 mikrometre film kalınlığı (J&W Scientific Co, CA, ABD)
- Inlet sıcaklığı: 250°C
- Enjeksiyon hacmi: 1 mikrolitre
- Split oranı: 1/50
- Taşıyıcı gaz: Hidrojen
- Akış hızı: 2 mL/dk
- Fırın sıcaklığı: 120°C'de 1 dk, 10°C/dk ile 175°C ve bu sıcaklıkta 10 dk bekleme, 5 °C/dk ile
- 210°C ve bu sıcaklıkta 5 dk bekleme, 5°C/dk ile 230°C ve bu sıcaklıkta 5 dk bekleme,
- Dedektör sıcaklığı: 280°C
- Dedektör gazları: Hidrojen , 40 mL/dk; Kuru hava, 450 mL/dk

Başlıca yağ asitlerinin tanımlanmasında aynı koşullarda analiz edilen referans yağ asidi metil esterleri karışımına (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) ait alıkonma süreleri dikkate alınmış ve örneklerle ait kromatogramlardaki piklere karşılık gelen yağ asitleri belirlenmiştir. Örneğe ait yağ asitleri kompozisyonu, karşılık geldiği pikin alanının tüm pik alanları toplamına olan oranına göre kütlece yüzdesel olarak ifade edilmiştir. Yağ asitlerine ait standart kromatogram Şekil 3.11'de görüldüğü gibidir.



Şekil 3.11. Yağ asitleri standart kromatogramı

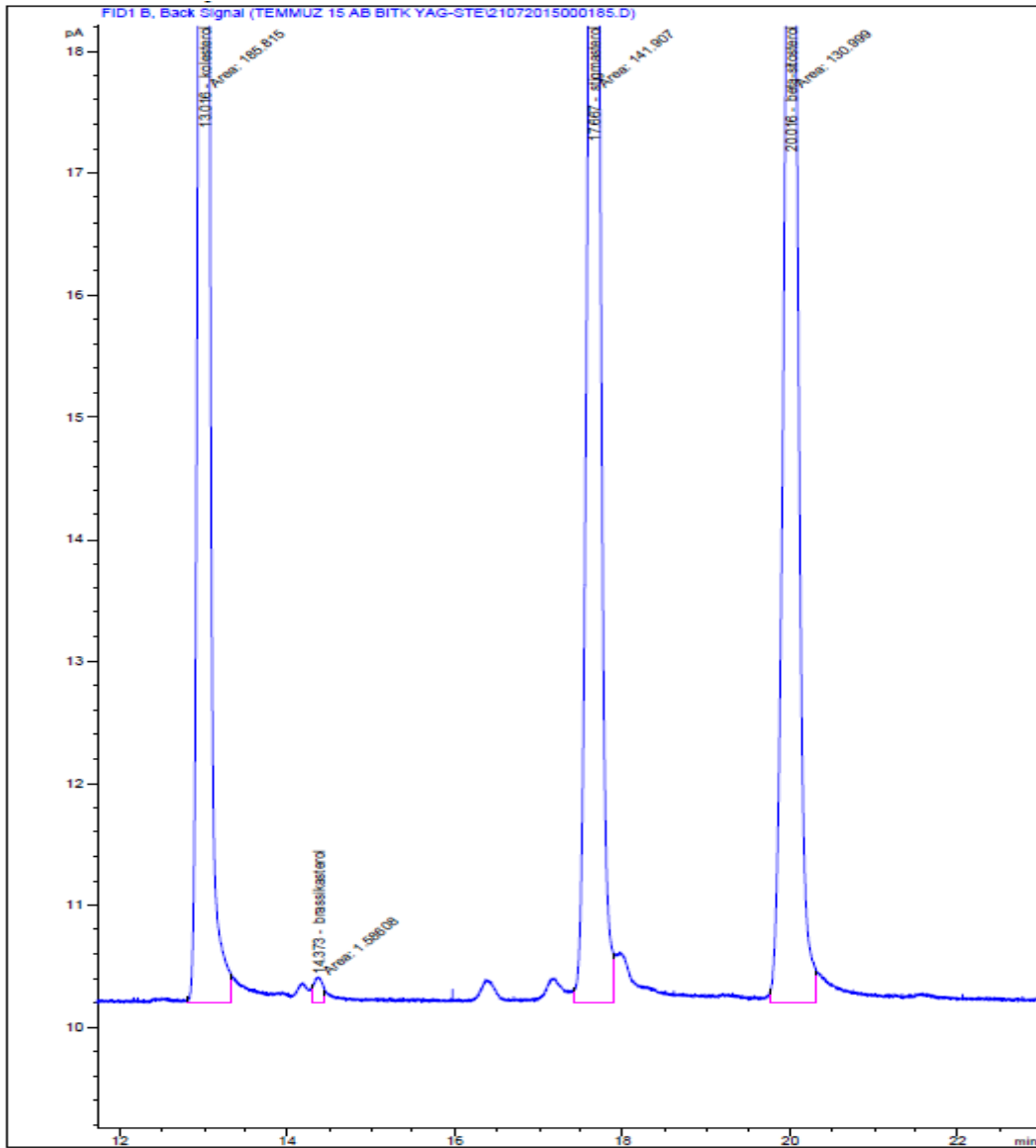
Sterol kompozisyonunun belirlenmesi: Çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları TSE EN ISO 12228 (TSE, 1999) metodu esas alınarak analiz edilmiştir. Analiz numunelerinin hazırlanması amacıyla öncelikle, Bölüm 3.2.12’de anlatıldığı üzere yağdaki sabunlaşmayan maddelerin yağdan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sterol bileşenlerinin miktarlarının tespit edilebilmesi amacıyla, sabunlaşma işlemi öncesinde yağ balonları içerisine numune sterol içeriğinin yaklaşık %10’u kadar α -kolestanol (%0,2’lik çözeltisi) ilave edilmiş ve nitrojen gazı altında sıvı kısmı uzaklaştırılmıştır. Yağ numunelerinin tartılmasını takiben Bölüm 3.2.12 (sabunlaşmayan madde miktarı)’de anlatılan işlemler tekrarlanmıştır.

Sabunlaşmayan kısımdan sterol fraksiyonlarının ayrılması: Ayrımın gerçekleştirileceği bazık ortamın hazırlanması amacıyla, silika kaplı cam plakalar yaklaşık 4 cm yükseklikte olacak şekilde 0,2 N etanollü potasyum hidroksit çözeltisinde 10 sn kadar bekletilmiş ve tüm yüzeyine homojen dağılım sağlanmıştır. Oda sıcaklığında bir süre kurutulan plakalar, daha sonra etüvde (100°C) 2 saat bekletilmiştir. Plakaların yerleştirileceği yürütme tankında sıvı-buhar dengesinin oluşması amacıyla 65:35 (v/v) hekzan/dietil eter karışımı yürütme tankı içine yaklaşık 1 cm yükseklikte doldurulmuş ve taşınma zamanının kısaltılıp, ayrımın daha belirgin gerçekleşmesini sağlamak amacıyla şerit halide kesilen adi filte kağıtları da eklendikten sonra kapağı kapatılarak serin bir ortamda (20 °C) dengeye gelmesi için (30 dk) bırakılmıştır. Numunenin içerdiği sabunlaşmayan madde miktarı

hesaplanarak, etil asetatla %5'lik çözeltileri hazırlanmıştır. Çözelti damla damla ve plaka yüzeyinde toplamda 300-350 mikrolitre olacak şekilde, silika plakalar üzerinde yaklaşık birer cm aralıklarla ve alt ucuna yaklaşık 2 cm mesafede açılan noktalara mikro enjektörler (100 µL'lik) yardımıyla enjekte edilmiştir. Plaka yüzeyine enjeksiyon esnasında damlacıkların birbiri ile karışmamasına ve düzgün bir hat izlemesine dikkat edilmelidir. Plaka yüzeyinden sterol bandının rahat tanımlanabilmesi amacıyla, plaka üzerindeki ilk noktaya toplamda 300 mikrolitre olacak şekilde standart çözeltiden (%0,2'lik α -kolestanol) ilave edilmiştir. Buhar dengesinin olduğu yürütme tankı içerisine yerleştirilen plakalar, 15-20°C ortam sıcaklığında plakanın üst kenarının yaklaşık 1 cm altına gelinceye kadar bekletilmiştir. Süre bitiminde, derhal tanktan çıkarılarak ortam sıcaklığında yüzeylerinin kurumaları için bir müddet daha beklenmiştir. Sterol bandının UV de gözlemlenmesini kolaylaştırmak amacıyla plaka yüzeyine %0,2'lik alkollü 2.7-dikloroflorosein çözeltisi homojen şekilde püskürtülmüş ve yüzeyin kuruması için bir süre bekletilmiştir. UV lambalar (254 ve 366 nm) ışık altında plaka üzerinde, standardın yükseldiği bant esas alınarak sterol bandına ait sınırlar işaretlenmiş ve metal bir kazıma spatulası kullanılarak, plaka yüzeyinden kazınmıştır. Kazınan turuncu toz parçacıkları, içerisine süzgeç kağıdı yerleştirilmiş olan huniye dikkatli biçimde aktarılmış ve 15 mL sıcak etil asetatla yıkanarak bir rotary balonu içerisine toplanmıştır. Hunideki kalıntı daha sonra 3 sefer dietil eterle (her sefer yaklaşık 10 mL) de yıkanmış ve tüm süzöntü aynı balon içerisine toplanmıştır. Balon içeriği yaklaşık 3 mL kalıncaya kadar vakum altında 40°C'yi aşmayacak şekilde evapore (Heidolph Rotavapor, Almanya) edilmiş ve son kısımda çözelti kuru hale gelene kadar hafif bir azot akımı altında uçurulmuştur. Kalan kısmı 1,8 mL hekzan içerisnde çözündürülerek enjekte edilmek üzere 2 mL'lik viallere aktarılmıştır. Sterol bileşenlerine ait standart kromatogram Şekil 3.12'de görüldüğü gibidir. Analize ait çalışma şartları aşağıdaki verilmiştir:

- Kromatografi sistemi : Agilent 7890B Gaz Kromatografisi (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)
- Dedektör: Alev iyonizasyon dedektörü (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)
- Otomatik örnekleyici: Agilent G4513A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD)
- Kolon: DB5, 30 m x 0,25 mm id x 0,10 µm film kalınlığı (J&W Scientific Co, CA, ABD)
- Inlet sıcaklığı: 290°C
- Enjeksiyon hacmi: 1 mikrolitre
- Split oranı: 1/100

- Taşıyıcı gaz: Hidrojen
- Akış hızı: 0,8 mL/dk
- Fırın sıcaklığı: 60°C'de 2 dk, 40°C/dk ile 220°C ve bu sıcaklıkta 1 dk bekleme, 5 °C/dk ile
- 310°C ve bu sıcaklıkta 30 dk bekleme
- Dedektör sıcaklığı: 300°C
- Dedektör gazları: Hidrojen - 30 mL/dk; Kuru hava - 400 mL/dk



Şekil 3.12. Sterol bileşenlerine ait standart kromatogram

Her bir pikin tanımlanması; alıkonma zamanları ve aynı koşullar altında analiz edilen sterol standart karışımının alıkonma zamanlarının karşılaştırılmasıyla yapılır. Steroller

kromatogramda; kolesterol, brassikasterol, ergosterol, 24-metilen kolesterol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, delta-7-kampesterol, delta-5,23-stigmastadienol, klerosterol, β -sitosterol, sitostanol, delta-5-avenasterol, delta-5,24-stigmastadienol, delta-7-stigmasterol, delta-7-avenasterol, eritrodiol ve uvaol sırasıyla alıkonulur.

Miktarın hesaplanması, α -kolestanol ve sterol pik alanları kullanılarak yapılmıştır. Yukarıda listelenenler arasında bulunmayan bileşiklerin pikleri göz önünde bulundurulmamıştır. α -Kolestanol için tepki katsayısı 1'e eşittir.

Her bir sterol yüzdesi, ilgili pik alanının sterollerin toplam pik alanına oranından hesaplanmıştır (3.15).

$$\% \text{ Sterol } x = \frac{A_x}{\Sigma A} * 100$$

(3.15)

A_x = x'in pik alanı

ΣA = Sterollerin toplam pik alanı

Σ Beta-sitosterol= delta-5,23-stigmastadienol + klerosterol + beta-sitosterol + sitostanol + avenasterol + delta-5,24-stigmastadienol

Fenolik bileşen kompozisyonunun belirlenmesi: Soğuk pres narenciye yağlarının fenolik kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla, katı faz ekstraksiyonu tekniği kullanılarak fenolik asit ve flavanoidleri içeren kısımların saflaştırılması sağlanmıştır (Bölüm 3.2.12). Elde edilen fenolik ekstraktlarının kompozisyon analizi Moulehi ve ark. (2012)'nin belirttiği yöntemde minor modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Analize ait çalışma şartları aşağıdaki gibidir:

- Kromatografi sistemi : Shimadzu Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- Degaz ünitesi: Shimadzu DGU-20A5R (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- Pompa ünitesi: Shimadzu LC-20AT (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- Otomatik örnekleyici: Shimadzu SIL-20AHT (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- Kolon: Zorbax Eclipse Plus C18 (250 mm x 4.6 mm id x 5 μ m film kalınlığı)
- Kolon fırını: Shimadzu CTQ-10ASVP (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- Kolon fırını sıcaklığı : 25 °C
- Dedektör: Shimadzu SPD-M20A Diyot Dizilim Dedektörü (DAD)
- Enjeksiyon hacmi: 20 mikrolitre

- Akış hızı: 0.5 mL/dk
- Mobil faz : Gradient akış (A: Asetonitril, B: Su (%0.2 H₂SO₄), 0-18 dk 80A-20B;18-24 dk 70A-30B; 24-30 dk 60A-40B; 30-36 dk 50A-50B; 36-40 dk 40A-60B; 40-45 dk 45A-55B; 45-50 dk 35 A-65B; 50-52 dk 20A-80B; 52-54 dk 10A-90B; 54-70 dk 100 B; 70-72 dk 45 A-55B; 72-74 dk 80 A-20B

Tokoferol kompozisyonunun belirlenmesi: Soğuk pres narenciye yağlarının tokoferol kompozisyonu Grilo ve ark. (2014)'da belirtilen teknikte minor modifikasyonlar gerçekleştirilerek tespit edilmiştir. Metoda göre, yağ numuneleri (0.15 g) tartılarak üzerine diklorometan (20 mL) ilave edilmiş ve 30 sn vortekslenmiştir. Analize ait çalışma şartları aşağıdaki gibidir:

- Kromatografi sistemi : Shimadzu Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
- Degaz ünitesi: Shimadzu DGU-20A5R
- Pompa ünitesi: Shimadzu LC-20AT
- Otomatik örnekleyici: Shimadzu SIL-20AHT
- Kolon firmı: Shimadzu CTQ-10ASVP
- Kolon: Inertsil ODS-3, 250 mm x 4,6 mm id x 5 µm film kalınlığı (GL Sciences Inc. Japonya)
- Dedektör: Shimadzu RF-20A Floresans dedektör
- Enjeksiyon hacmi: 20 mikrolitre
- Akış hızı: 1,6 mL/dk
- Mobil faz : Isokratik akış (Metanol:Su, 98:2 v/v)
- Kolon firmı sıcaklığı : 30 °C
- Dalga boyu : Ekstinsiyon (uyarım): 290 nm, emisyon (yayım): 330 nm

Alfa tokoferol miktarının hesaplanmasında aynı koşullarda analiz edilen alfa tokoferol standardı kullanılmış ve sonuçlar mg α -tokoferol/kg yağ olarak rapor edilmiştir.

3.2.14. Narenciye Çekirdek Yağlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Narenciye çekirdeklerinden soğuk presleme ve pres yağlı keklerinden solvent ekstraksiyonu ile elde edilen tüm yağ örnekleri kaba filtre kağıdından süzülme yi takiben 0.45 µm'lik steril filtrelerden geçirilerek steril falkonlara alınmış ve analiz anına değ in derin dondurucu da muhafaza edilmiştir (Burt, 2004).

3.2.14.1. Kùltùrler

Yağların patojen bakteriler ve bazı mayalar úzerine inhibisyon etkisini belirlemek için *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, ATCC 25923, RSKK, ATCC 6538P, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *E. coli* 0157:H7 ATCC 43895, *Bacillus cereus* NCIMB 7464, *Bacillus cereus* Holl. *Escherichia coli* ATCC 25922, ATCC 8319, *Salmonella typhimurium* ATCC 51812, ATCC 14028 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, ve *Klebsiella pneumoniae* bakteri kùltùrleri ve *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida utilis* maya kùltùrleri kullanılmıştır. Kùltùrler, Microbiologics (Fransa) firmasından temin edilmiştir. Bakteri kùltùrleri Tryptic Soy Broth (TSB, Biolife, İtalya) besiyerinde maya kùltùrleri ise Saboroud Dextrose Broth (SDB, Biolife, İtalya) besiyerinde canlandırılmıştır.

3.2.14.2. İnokùlumun Hazırlanması

İnokùlum hazırlanmasında Oliveira ve ark. (2011) ve EUCAST (2013) tarafından önerilen metodlar modifiye edilerek kullanılmıştır. İnokùlum hazırlanması sırasında bakteri kùltùrleri Tryptic Soy Broth (TSB, Biolife, İtalya) besiyerine aktararak $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkùbe (Nùve İnkubator EN 055, İzmir, Tùrkiye) edildikten sonra tekrar TSB besiyerine 1 mL olarak aktararak 37°C 'de inkùbe edilmiş, her bir kùltùr için önceden belirlenen saatlerde serum fizyolojik ile Macfarland 0,5'e ayarlanarak analizlerde kullanılmıştır. Bu işleme paralel olarak aynı sürelerde kùltùrler Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine dökme plak yöntemiyle ekim yapılarak $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkùbasyon sonrası petrilere sayım alınmıştır. Elde edilen absorbans ve sayım sonuçları karşılaştırılmıştır.

Maya kùltùrleri ise Saboroud Dextrose Broth'a (SDB, Biolife, İtalya) besiyerine aktararak $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de (Binder,) 48-72 saat inkùbe edildikten sonra tekrar SDB besiyerine 1 mL olarak aktararak 25°C 'de 24 saat inkùbe edilmiş serum fizyolojik ile Macfarland 0,5'e ayarlanarak analizlerde kullanılmıştır.

3.2.14.3. Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

3.2.14.3.1. Disk Difüzyon ile Belirlenmesi

Macfarland 0,5'e ayarlanan (10^8 kob/mL) kùltùr süspansiyonundan daha önceden hazırlanmış olan steril Muller Hinton Agar içeren petri plaklarına 0,1 mL ekim yapılmıştır. Besiyerinin inokulumu emmesi beklendikten sonra úzerine 6 mm çapındaki steril disklerden steril pens yardımı ile yerleştirilmifitir. Kullanılan yağlar kâğıt disk úzerine 15

μL olacak şekilde eklenmiştir. Kâğıt diskin test edilen materyali emmesi için petrilere 20 dakika bekletilmiştir. Steril serum fizyolojik (%0,85 NaCl) negatif kontrol, çeşitli antibiyotik diskleri (ampisilin, sulbaktam, sefaperazon, piperasilin, tobramisın, mezlosilin, amoksisilin) ve sikloheksimid (maya kültürleri için) ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bakteriler için $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat maya kültürleri için $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat düz olarak inkübasyonun ardından kâğıt disk etrafında oluşan zon ölçülmüştür (Burt, 2003).

3.2.14.3.2. MİK Değerlerinin Belirlenmesi

Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Kültürler tekrar canlandırılarak macfarland 0,5'e ayarlanmıştır. Yağlar %100 ile %0,0312 arasında iki kat seyreltme ile 10 farklı değişen konsantrasyonlarda Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyeri ile hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlardan steril U tabanlı plaklara $180\ \mu\text{L}$ konulmuştur. Her bir kuyucuğa $20\ \mu\text{L}$ bakteri solüsyonu ilave edilmiştir. Plakların birinci sırasına $180\ \mu\text{L}$ MHB broth konulmuştur üzerine $20\ \mu\text{L}$ 10^6 kob/mL düzeyinde bakteri solüsyonundan eklenmiş ve pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak ise son sıraya $200\ \mu\text{L}$ %100 yağ içeren MHB besiyerinden konulmuştur. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildikten sonra mikropalak okuyucu (Thermo Scientific, Multiscan FC, Waltham, ABD) ile $620\ \text{nm}$ 'de absorbans değerleri belirlenerek üremenin olmadığı konsantrasyon belirlenmeye çalışılmıştır. Absorbans değerleri belirlendikten sonra her bir kuyuya %1'lik steril tetrazoliumklorid çözeltisinden $20\ \mu\text{L}$ eklenmiş ve 20 dk sonra renk değişim gözlenmiştir. Pembe renk değişiminin gözlemlenmediği konsantrasyonun bir üst bir alt konsantrasyonlarından TSA besiyerine damla ekim yöntemi ile ekim yapılmış $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkübasyondan sonra petrilere üremenin olup olmadığına bakılmıştır. Tüm sonuçlar karşılaştırılarak MİK değeri belirlenmiştir (Burt, 2003). Maya kültürleri için aynı denemeler Saboroud Dextrose Broth besiyerinde gerçekleştirilmiştir (Gammariello ve ark., 2014). Denenen konsantrasyonlardan daha yüksek değerlerde MİK'e sahip olduğu görülen yağlardan %25, %50 ve %100'lük konsantrasyonlarda denemeler yapılmıştır.

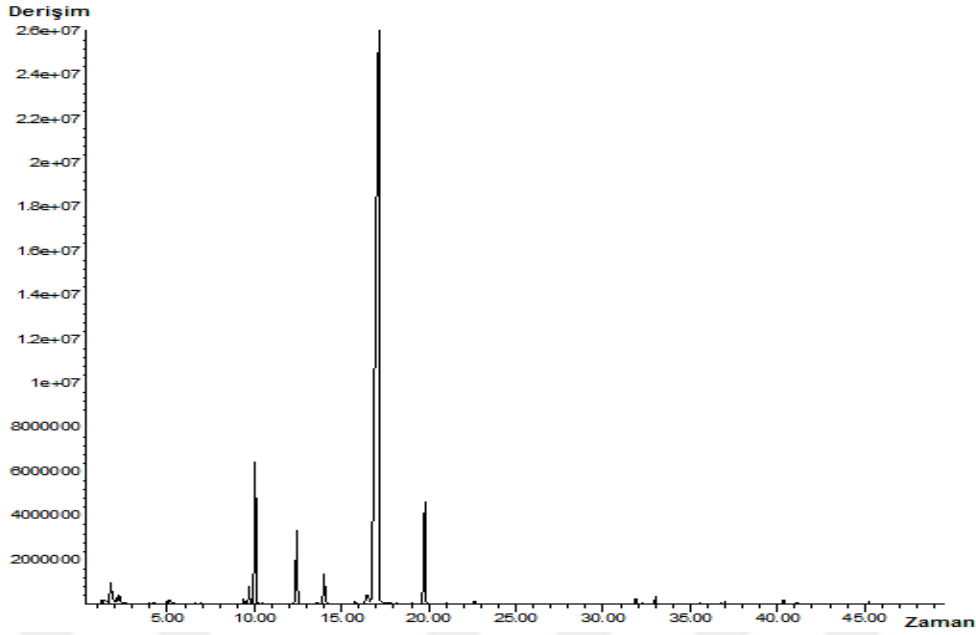
3.2.15. Narenciye Çekirdek Yağlarının Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi

Narenciye yağ örneklerine ait uçucu bileşenler Bozdemir ve ark. (2015) ile Dündar-Emir ve ark. (2014)'nın tekniklerinde bazı modifikasyonlar gerçekleştirilerek analiz edilmiştir. Uçucu bileşenlerin elde edilmesinde katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) tekniği kullanılmıştır. Yaklaşık 2 g yağ örneği içerisine 1 g tuz ve 20 mikrolitre internal standart

ilavesini takiben, 1 dk kuvvetle çalkalanmış (Heidolph Reax Top, Heidolph, Almanya) ve aroma maddelerinin belirlenmesi için özel renkli şişelere alınarak 40 °C'deki su banyosunda (GFL 1013, GFL Labortechnik, Almanya) 10 dk bekletilmiştir. Süre sonunda su banyosundaki örnek içerisine SPME (2 cm, 50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS, Supelco, Bellafonte, ABD) fiber yerleştirilerek 10 dk boyunca aroma maddelerinin fiberde tutunması sağlanmıştır. Uçucu bileşenlerin analizinde aşağıda belirtilen çalışma şartları kullanılmıştır;

- Kromatografi sistemi : Agilent 6890HB Gaz Kromatografisi (Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD)
- Dedektör: Agilent 5875C Kütle seçici dedektör Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD)
- Kolon: HP5 MS kolon (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25-µm film kalınlığı (J&W Scientific, Folsom, CA, ABD)
- Split oranı: 1/2
- Taşıyıcı gaz: Helyum
- Akış hızı: 1.2 mL/dk
- Fırın sıcaklığı: 40 °C'de 1 dk, 1 °C/dk hızla 70 °C'ye artış, 5 °C/dk hızla 200 °C'ye artış, 50 °C/dk hızla 230 °C'ye artış ve bu sıcaklıkta 5 dk bekleme
- Dedektör gazları: Hidrojen - 30 mL/dk; Kuru hava - 400 mL/dk

Kütle seçici dedektör koşulları ise şöyledir: kapiler direkt arayüz sıcaklığı, 280 °C; iyonizasyon enerjisi, 70 eV; kütle aralığı, 35 - 350 amu; tarama hızı, 4.45 scans/sn. Aroma bileşenlerinin tanımlanması için bilinmeyen bileşenlerin kütle spektralleri, National Institute of Standards and Technology (Nist, 2008), Wiley Registry of Mass Spectral Data, 7th Edition (Wiley, 2005) veri bankaları ile karşılaştırılmıştır. Sterol bileşenlerine ait standart kromatogram Şekil 3.13'te görüldüğü gibidir.



Şekil 3.13. Narenciye çekirdek yağlarına ait örnek GC/MS kromatogramı

Maddelerin kantitasyonu, aşağıdaki eşitlikte verilen formüle (3.16) göre hesaplanmıştır (Avşar ve ark., 2004). İç standart (internal standard, IS) olarak nötral bazik karakterli 2-metil-3-heptanon (1:10000 MetOH v/v) kullanılmıştır.

$$\text{Ortalama bileşen miktarı } (\mu\text{g veya ng/kg}) : (\text{IS konsantrasyonu} \times \text{bileşenin peak alanı}) / \text{IS peak alanı} \quad (3.16)$$

Tanımlanan uçucu bileşenlerin kovat indeksleri (RI) aşağıdaki eşitlik (3.17) ile hesaplanmıştır (Hübschmann, 2009).

$$\text{Kovat index (RI)} = 100 \times C_{(\text{küçük alkanın karbon sayısı})} + 100 \times \frac{t_R(X)_{(\text{aroma maddesinin alıkonma zamanı})} - t_R(CK)_{(\text{küçük alkanın alıkonma zamanı})}}{t_R(CB)_{(\text{büyük alkanın alıkonma zamanı})} - t_R(CK)_{(\text{küçük alkanın alıkonma zamanı})}} \quad (3.17)$$

3.2.16. Narenciye Çekirdek Yağlarının Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.16.1. Kantitatif Tanımlayıcı Analiz

Narenciye yağ örneklerinin duysal karakterizasyonu “Kantitatif Tanımlayıcı Analiz (QDA)” (Meilgaard ve ark., 1999; Altuğ ve Elmacı, 2005; Yılmaz ve Ögütçü, 2009) tekniğine göre yapılmıştır. Tanımlayıcı analiz yapıldığında ayrıca Brühl ve Matthäus (2008) tarafından yapılan değerlendirmeden ve AOCS metot Cg 2-83 (AOCS, 1998) kodlu “Bitkisel Yağlar İçin Lezzet Panel Değerlendirmesi” yönteminden faydalanılmıştır. Bir

panel liderinin moderatör olduğu oturumlar 12 kişiden oluşan eğitimi panelistlerce (8 bayan, 4 bay, 24-43 yaş aralığı) gerçekleştirilmiştir. İlk oturumda panelistlere testin uygulanışı ve dikkat edilecek hususlarla ilgili bilgiler verilmiş, bunu takiben her bir narenciye çekirdeğine ait yağlar örneklere kullanılarak ortak terminoloji geliştirilmiştir. Devam eden oturumlarda, 15 puanlık (0-yok, 15-kuvvetli) skalalar esas alınarak, geliştirilen tanımlayıcı terimlerin derecesini ifade etmeye yarayan referans standartlar (bitkisel materyaller, gıda maddeleri, kimyasal ozeltiler vb.) tanımlanmıştır. Farklı gün ve oturumlarda gerçekleşen panellerde, tanımlama analizinin hatasız gerçekleştirilmesi amacıyla panelistlere en az 15 saat eğitim verilmiştir. Panelistlere narenciye çekirdek yağlarının görünüş, koku, tat ve ağız hissi karakteristiklerini değerlendirirken kullanmaları için izelge 3.2’de görülen tanımlayıcı terimler ve eşdeğer referans kullanılan standartlar verilmiştir.

Çizelge 3.2. Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında tanımlayıcı analiz için kullanılan tanımlayıcı terimler ve referans alınan standartlar

Tanımlayıcı terim	Referans standart
Görünüş	
Bulanıklık	Deterjanla bulandırılmış yağ
Koku	
Limon kabuğu	Limon kabuğu
Portakal yaprağı	Taze dalından kopartılmış portakal yaprağı
Kavrulmuş	Taze kavrulmuş leblebi
Çiğ sebze	Kabak çekirdeği/ay çekirdeği
Yeşil çimen	Taze kesilmiş yeşil çimen
Saman	Kuru saman
Pirina	Pirina yağı
Tat	
Acı	Kafein solüsyonu (%0,05)
Buruk	Alum solüsyonu (%0,1)
Mumsu	Balmumu/ayçiçeği waxı
Fındığımsı	Kavrulmuş fındık
Tatlı aromatik	Çiçek balı
Ağız Hissi	
Dolgunluk	Yuttuktan sonra damakta/ağızda kalan yoğunluk
Baharatlı	Kırmızı pul biber-karabiber-kekik sulu solüsyonu
Mentol	Mentollü şeker
Gırtlakta yakıcılık	Yuttuktan 30 sn sonra genizde bıraktığı etki

Terim geliştirmeyi takiben, her bir yağ örneğine ait esas değerlendirmenin yapılabilmesi amacıyla farklı oturumlarda panelistlere örnekler sunulmuştur. Tüm oturumlar için yağ örnekleri farklı 3 basamaklı sayılarla kodlanmış ve oda sıcaklığında ağzı kapaklı, berrak cam bardaklarda rastgele bir düzende servis edilmiştir. Oturumlar esnasında ve arasında panelist duyularının dinlendirilmesi ve tazelenbilmesi amacıyla ılık su, tuzsuz kraker, elma dilimleri ve tükürme kabı sağlanmıştır. Narenciye çekirdek yağlarının “Kantitatif Tanımlayıcı Analiz (QDA)” e ait değerlendirme formu Şekil 3.14’te gösterilmiştir.

SOĞUK PRES YAĞLARI

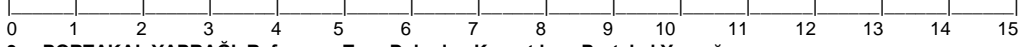
GÖRÜNÜŞ

1. BULANIKLIK, Referans= Deterjanla Bulandırılmış Yağ

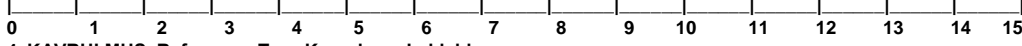


KOKU

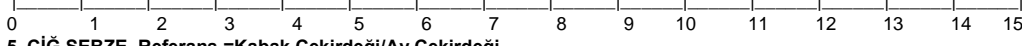
2. LİMON KABUĞU, Referans= Limon Kabuğu



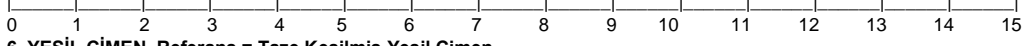
3. PORTAKAL YAPRAĞI, Referans= Taze Dalından Kopartılmış Portakal Yaprağı



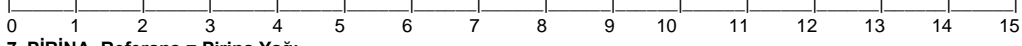
4. KAVRULMUŞ, Referans = Taze Kavrulmuş Leblebi



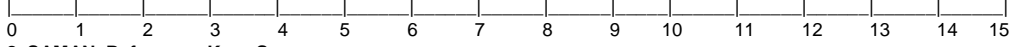
5. ÇİĞ SEBZE, Referans =Kabak Çekirdeği/Ay Çekirdeği



6. YEŞİL ÇİMEN, Referans = Taze Kesilmiş Yeşil Çimen



7. PİRİNA, Referans = Pirina Yağı



8. SAMAN, Referans = Kuru Saman



TAT

9. ACI, Referans =Kafein Solüsyonu (%0,05)



10. BURUK, Referans = Alum Solüsyonu (%0.1)



11. MUMSU, Referans = Balmumu/ Ayçiçeği Waxı

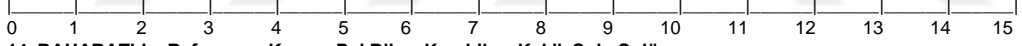


12. FİNDİĞİMSİ Referans = Kavrulmuş Fındık/Fıstık

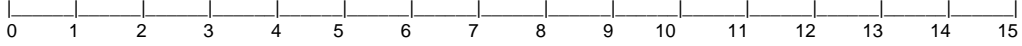


AĞIZ HISSİ

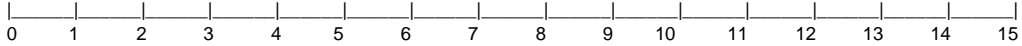
13. DOLGUNLUK, Referans = YUTTUKTAN SONRA DAMAKTA/AĞIZDA KALAN YOĞUNLUK



14. BAHARATLI, Referans = Kırmızı Pul Biber-Karabiber-Kekik Sulu Solüsyonu



15. MENTOL, Referans = Mentollü Şeker



16. GİRTLAKTA YAKICILIK, Referans = Yuttuktan 30 Sn Sonra Genizde Bıraktığı Etki



Şekil 3.14. Narenciye çekirdek yağlarının kantitatif tanımlayıcı analizinde kullanılan değerlendirme skalaları

3.2.16.2. Tüketici Beğeni Testi

Farklı adsorban toprakları ile muamele edilen soğuk pres greyfurt çekirdek yağlarının görünüş, renk, tat, koku gibi özelliklerinin tüketiciler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla beğeni testi gerçekleştirilmiştir (Meilgaard ve ark., 1999). Hazırlanan örnekler üç haneli kodlar verilerek, şeffaf cam bardaklarda tüketiciye sunulmuştur. Sunum esnasında tüketicilerden öncelikle kodlanmış örnekleri görsel olarak test etmeleri, sonra koklamaları ve son olarak da tadım yapmaları istenmiştir. Hazırlanan örneklerin beğenilme durumunu belirlemek için 5-noktalı hedonik skala (1-hiç

beğenmedim, 5-çok beğendim) kullanılmış ve örneklerin her biri 100 farklı tüketici (63 bayan, 37 erkek, 20-40 yaş aralığına sahip üniversite çalışanları ve öğrenciler) tarafından değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirmede kullanılan hedonik skala örneği Şekil 3.15’ te görüldüğü gibidir.

Kod:	Cinsiyet:	Yaş:			
Yukarıda kodu yazılı ürüne ait bazı özellikler, sol tarafta sıralanmıştır. Lütfen bu özelliklerin her birine ait hissettiğiniz yanıtı işaretleyiniz.					
	Hiç beğenmedim (1)	Az beğendim (2)	Ne beğendim Ne beğenmedim (3)	Beğendim (4)	Çok beğendim (5)
Görünüş					
Renk					
Koku					
Lezzet					

Şekil 3.15. Tüketici testinde sunulan duyusal skala

3.2.17. İstatistiksel Analizler

Elde edilen tüm analitik verilerin değerlendirilmesi ve deneme grupları arasında meydana gelecek farklılıkların açıklanmasında varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma testi (Tukey) uygulanmıştır. Duyusal analiz (kantitatif tanımlayıcı analiz ve tüketici testi) yöntemlerinin gerçekleştirildiği iş paketlerinde ölçülen duyusal özelliklerden meydana gelen gruplar arasındaki farklılığın açıklanmasında non-parametrik Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. İstatistik analizlerin yapılmasında MINITAB Ver 16.1.1 (Minitab, 2010) ve SPSS paket programlarından (SPSS, 1994) faydalanılmıştır. Güvenlik seviyesi tüm analizlerde en az %95 olarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmanın başlangıcında limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerine ait genel özellikler belirlenmiş ve her bir çekirdek materyali içerdiği yağın ekstraksiyonu için hazırlanmıştır. Tüm narenciye çekirdekleri soğuk presleme için optimum nem seviyesine getirildikten sonra soğuk pres yöntemiyle yağ sıkımı işlemi (kontrol grubu) gerçekleştirilmiş; bunun yanısıra limon çekirdeklerinden solvent yardımı ile yağ ekstraksiyonu, portakal ve greyfurt çekirdeklerine ise sırasıyla mikrodalga ve enzim muamelesi gibi ön hazırlık işlemleri sonrası soğuk presleme ile yağ ekstraksiyonu uygulanarak her bir çekirdek türü için muamele grupları elde edilmiştir. Kontrol ve muamele gruplarına ait tüm yağlarda fiziko-kimyasal, kompozisyonel ve antimikrobiyal özellikler ile aromatik bileşenler uygun analizlerle belirlenmiş, buna ilaveten duyuusal tanımlama ve tüketici testleri de gerçekleştirilmiştir. Soğuk pres işlemi sonucunda geriye kalan tüm yağlı keklerin temel bileşen analizlerinin yapılmasını takiben keklerin içerdiği yağlar solvent yardımı ile ekstrakte edilerek, kullanılan solventin sağlık için risk oluşturabileceği ihtimali doğrultusunda “tüketici testi” hariç olmak kaydıyla bir önceki cümlede adı geçen tüm analizler kek yağlarında da gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın son kısmında, soğuk pres yöntemiyle elde edilen greyfurt çekirdek yağlarının karakteristik acılığının giderilmesinde 3 ticari ve 3 doğal adsorbanın etkinliği değerlendirilmiştir. Tüm çekirdek türleri ve yağlı keklerinden yağların üretimi işlemleri ile tüm analizler 2 tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve her bir tekerrürde ölçümler en az 2 paralel olarak tekrarlanmıştır. Ölçümlere ilişkin tanıtıcı veriler ortalama±standart hata yada standart sapma şeklinde verilerek uygun istatistiksel analizleriyle birlikte aşağıda tartışılmıştır.

4.1. Narenciye Çekirdeklerinin Özellikleri

Soğuk presleme tekniği ile yağ eldesinde materyal olarak kullanılan limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerinde temel fiziksel ve kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Genel özellikleri değerlendirilen narenciye çekirdeklerinin (Çizelge 4.1) uzunluk ve yükseklik gibi boyut özellikleri açısından belirgin farklılıklar sergilemediği, yalnızca genişlik açısından çekirdekler arasında istatistiksel olarak farklılık olduğu gözlenmiştir ($P \leq 0,05$). Boyut özellikleri bakımından diğer narenciye türlerine nazaran daha büyük değerlere sahip greyfurt çekirdeklerinin (Şekil 3.2) 1000 tane ağırlığı da belirgin şekilde daha fazla

bulunmuştur. Çekirdek veriminin bir ölçüsü olarak kabul edilen kabuk:iç oranı incelendiğinde ise, limon çekirdeklerine ait değerlerin portakal ve greyfurtta kıyasla iki kat daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, limon çekirdeklerinin daha küçük olması ve dolayısıyla da iç oranının daha az olması ile açıklanabilir.

Çizelge 4.1. Narenciye çekirdeklerinin genel özellikleri

	Limon	Portakal	Greyfurt
Tohum boyutu (mm)			
Uzunluk (P=0,177)	11,29±0,38 ^a	11,69±0,49 ^a	12,45±0,34 ^a
Genişlik (P=0,000)	5,36±0,28 ^b	5,06±0,13 ^b	7,68±0,16 ^a
Yükseklik (P=,833)	3,96±0,18 ^a	4,01±0,12 ^a	4,08 ±0,09 ^a
1000 tane ağırlığı (g) (P=0,000)	152,04±6,58 ^c	197,21±2,90 ^b	313,40±13,60 ^a
Kabuk:iç oranı(P=0,003)	0,65±0,06 ^a	0,29±0,02 ^b	0,39±0,04 ^b
L değeri (P=0,017)	54,86±1,17 ^{ab}	49,33±3,17 ^b	58,94 ±0,73 ^a
a* (P=0,007)	3,06±0,57 ^a	2,42±0,45 ^a	0,75±0,15 ^b
b* (P=0,048)	19,18±0,70 ^a	17,47±1,71 ^{ab}	14,85±0,43 ^b
Nem (%) (P=0,000)	41,94±0,45 ^c	43,99±0,13 ^b	50,73 ±0,18 ^a
Su aktivitesi (25 °C) (P=0,357)	0,96±0,01 ^a	0,96±0,01 ^a	0,96±0,01 ^a
Protein [†] (%) (6.25) (P=0,007)	19,41±0,18 ^a	19,22±0,09 ^a	16,25 ±0,44 ^b
Kül (%) (P=0,013)	1,41±0,05 ^{ab}	1,58±0,01 ^a	1,28 ±0,01 ^b

[†]Değerler (ortalama±standart hata) kuru madde üzerinden hesaplanmıştır. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından narenciye çekirdek türleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

Renk değerleri bakımından çekirdekler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. Şekil 3.2'den de görülebileceği üzere en yüksek aydınlık (L değeri) ve en düşük kırmızılık (a* değeri) değerine greyfurt çekirdeklerinde rastlanırken, en yüksek sarılık (b* değeri) ve kırmızılık değerleri limon çekirdeklerinde ölçülmüştür. Limon çekirdeklerinden ekstrakte edilen yağların toplam karotenoid içeriğinin diğer narenciye türlerine kıyasla daha yüksek bulunması (Çizelge 4.12) renk bulgularını destekleyici niteliktedir.

Analiz edilen narenciye türlerine ait protein içerikleri incelendiğinde, limon ve portakal çekirdeklerinin birbirine yakın değerlerde olduğu ve greyfurt çekirdeğine kıyasla daha yüksek protein içerdiği görülmektedir. El-Adawy ve ark. (1999)'nın, farklı narenciye türlerine ait çekirdek yağları ve çekirdeklerden elde edilen yağsız unların fizikokimyasal,

besinsel ve biyolojik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında portakal çekirdeğindeki toplam protein içeriği %17 olarak rapor edilmiştir. Anwar ve ark. (2008)'nin yürüttüğü bir çalışmada ise *Citrus sinensis* türüne ait meyve çekirdeklerinin yağ, protein, lif ve kül gibi temel bileşenleri analiz edilmiş ve %5,56 protein içeriği bildirilmiştir.

Kabuklu ve kabuğu ayrılmış portakal çekirdeklerinden hazırlanan unların temel kompozisyonu, mineral madde içerikleri ve fonksiyonel özelliklerinin incelendiği bir çalışmada (Akpata ve Akubor, 1999), kabuğu ayrılmış çekirdek unlarının temel kompozisyonunda ilk sırayı yağın aldığı (%54,2) ve bunu karbonhidrat (%28,5), ham lif (%5,5), protein (%3,1) ve kül (%2,5) içeriklerinin takip ettiği belirtilmiştir.

Habib ve ark. (1986) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise narenciye çekirdeklerinin ortalama %36 yağ ve %14 protein içeriğine sahip olduğu ortaya konmuş, analiz edilen portakal ve greylift çekirdekleri için sırasıyla %17,4-16,6 protein içeriği rapor edilmiştir. Literatürde yer alan tüm bu veriler incelendiğinde, protein içeriğine ait sonuçlarımızın literatürle uyum içerisinde olduğunu söylemek mümkündür.

Narenciye çekirdeklerinin kül içeriğine ilişkin literatürde farklı bulgulara rastlanmıştır. Habib ve ark. (1986) portakal için %2,95, greylift için %2,60 kül içeriği bildirmekle birlikte, El-Adawy ve ark. (1999) portakal için %3,17, Anwar ve ark. (2008) tatlı limon için %5,50, portakal için %4,60, greylift için %5,03 kül içeriği rapor etmişlerdir. Çizelge 4.1 incelendiğinde, çekirdeklerin kül içeriğinin literatüre kıyasla daha düşük değer aralığında (%1,28-1,57) değiştiği ve portakal çekirdeklerinin en yüksek kül içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

4.2. Soğuk Pres İşleminde Yağ Verimi

Narenciye çekirdeklerinin yağ içeriği ve yağ verimlerine ait değerler Çizelge 4.2'de yer almaktadır. Soğuk presleme sonrasında filtrasyon ve santrifüj işlemlerine tâbi tutularak elde edilen berrak yağlar (Şekil 4.1) tartılarak son ağırlıkları kaydedilmiş ve bu değerlerin çekirdeğin başlangıç yağ içeriğine oranlanması ile yağ verimlilikleri (%) hesaplanmıştır. Tüm değerler incelendiğinde, çekirdekte bulunan yağların soğuk pres tekniği kullanılarak %25'e kadar alınabildiği belirlenmiştir. En yüksek yağ verimi değerine (%71) limon çekirdeklerine solvent uygulanması sonucunda ulaşılmıştır ki bu durum beklenen bir sonuçtur.

Soğuk presleme ve solvent ekstraksiyon tekniklerinin chia tohum yağlarının karakterizasyonu ve kalitesi üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Ixtaina ve ark., 2016), solvent kullanımının preslemeye kıyasla %30 daha fazla yağ verimine sahip

olduğu rapor edilmiştir. Solvent uygulaması, yağlı tohum ve meyvelerden yağın ekstrakte edilmesinde her zaman daha verimli ve etkin olmasına rağmen, soğuk presleme tekniğinde yağ veriminden fedakarlık yapılarak yüksek kaliteli, nutrasotik bileşenleri korunmuş yağların elde edilmesi amaçlanmaktadır.

Çizelge 4.2’de göze çarpan diğer bir önemli husus da, portakal ve greyfurt çekirdeklerine uygulanan ön muamele işlemlerinin, soğuk presleme yağ verimini belirgin ölçüde artırdığı yönündedir.



Şekil 4.1. Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağları

Soxhelet tekniği ile toplam yağ içerikleri analiz edilen çekirdek türleri içerisinde en yüksek değere greyfurt çekirdeklerinde (%45,72) erişildiği ve bunu sırasıyla portakal (%40,75) ve limon (%34,55) çekirdeklerinin takip ettiği görülmektedir. Çekirdeklerin toplam yağ içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak da önemli ($P=0,020$) bulunmuştur. Narenciye türlerinin sahip olduğu yağ içeriği ile ilgili literatürde farklı bulgular mevcuttur. Anwar ve ark. (2008) tarafından yürütülen bir çalışmada misket limonu (*Citrus limetta*), greyfurt (*Citrus paradisi*), portakal (*Citrus sinensis*) çekirdekleri ile çekirdeklerden soxhelet tekniği ile elde edilen yağlarda bazı ölçümler gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar çekirdeklere ait yağ içeriğinin %27 (portakal) ile %36 (greyfurt) aralığında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bu değerler ile kıyasladığımızda, her iki tür içinde daha yüksek yağ içeriğini ölçtüğümüz tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada ise (Matthaus ve Özcan, 2012) ülkemizde yetiştirilen limon (*Citrus limon*), portakal (*Citrus sinensis*) ve greyfurt (*Citrus paradisi*) türlerine ait narenciye çekirdeklerinin yağ içerikleri sırasıyla %45,1, %47,7 ve %49,3 olarak rapor edilmiştir. Literatürdeki bu veri ile kıyaslandığında ise, çalışmamızda tespit edilen portakal (%40,75) ve greyfurt (%45,72) yağ içeriklerinin yakın değerlerde olduğu, limon çekirdeği yağ içeriğinin (%34,55) ise daha düşük kaldığı görülmektedir.

Malacrida ve ark. (2012)’da benzer bir çalışma yürüterek solvent ekstraksiyonu ile limon (*Citrus limon*) ve portakal (*Citrus sinensis*) çekirdeklerinden elde edilen toplam yağ içeriklerini %34,92 ve %41,50 olarak bildirmiştir.

Saidani ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada ise, farklı portakal türlerine ait çekirdeklerin yağ içerikleri incelenmiş ve acı portakalda %26, kan portakalında ise %34 oranında yağ bulunduğu, tatlı portakal türlerinde ise yağ oranının daha yüksek değerlere (%52) eriştiği rapor edilmiştir.

Tüm bu literatür bulguları göz önüne alındığında, çekirdeklerin çok farklı düzeylerde yağ içeriğine sahip oluşunun başta meyvenin yetiştiği yer (lokasyon) ile toprak ve iklim özellikleri olmak üzere, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyonda kullanılan çözünenin türünden etkilenebileceği düşünülmektedir.



Çizelge 4.2. Narenciye çekirdeklerinin yağ içeriği ve yağ verimleri

Çekirdek yağ içeriği [•] (%, Soxhelet tekniği)	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	34,55±0,53 ^b		40,75±2,17 ^{ab}		45,72±0,05 ^a	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Yağ miktarı (%) [‡]	12,73±0,15 ^b	24,63±0,20 ^a	21,57±0,15 ^b	25,66±0,96 ^a	25,22±1,09 ^b	29,88±0,69 ^a
Yağ verimi (%) [x/y*100] [†]	36,84±0,44 ^b	71,28±0,10 ^a	52,93±0,38 ^b	62,99±2,36 ^a	55,15±2,40 ^b	65,35±1,51 ^a

[•]Değerler (ortalama±standart hata) kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

[‡][Presleme yada solvent ekstraksiyonu sonrası elde edilen yağ miktarı (g)/Preslemeye yada solvent ekstraksiyonuna giren tohum miktarı (g)] x 100

[†]x: Yağ miktarı (%), y: Çekirdeğin yağ içeriği (%) (Soxhelet tekniği ile belirlenen).

Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.3. Narenciye Çekirdeği Yağlı Keklerinin Özellikleri

Soğuk presleme sonrası açığa çıkan yağlı keklerde bazı temel fizikokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3). Kontrol ve muamele gruplarının nem içerikleri incelendiğinde solvent ekstraksiyonunun nem içeriğinde bir miktar artışa, mikrodalga muamelesin ise bir miktar düşüğe neden olduğu fakat değerlerdeki bu değişimlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Nem değerleri ile uyumlu olarak kontrol grupları arasından en yüksek su aktivitesi içeriğine portakal çekirdeklerine ait yağlı keklerde erişilirken, onu sırasıyla limon ve greyfurt çekirdeği yağlı kekleri takip etmiştir. Çekirdeklere uygulanan muamele işlemlerinin su aktivitesi değerleri üzerine etkisi her üç narenciye türü için de istatistiksel olarak öneme sahip bulunmuştur.

Tüm narenciye türleri için soğuk preslemeye kıyasla, muamele gören grupların yağlı keklerinde ölçülen yağ içerikleri daha düşük bulunmuştur ki bu durum Çizelge 4.2'den de gözlenebileceği gibi, bu gruplardan elde edilen yağ miktarlarının daha yüksek olmasından ötürü beklenen bir sonuçtur. Meyve çekirdeklerine benzer şekilde, en yüksek kül içeriğine portakal çekirdeği yağlı keklerinde erişilmiş ve bunu sırasıyla greyfurt ve limon çekirdeği yağlı kekleri izlemiştir. Soğuk presleme öncesi çekirdeklere mikrodalga ve enzim muamelesi gibi ön işlemlerin uygulanması, protein ölçümlerinden daha yüksek değerlerin alınmasına yol açmıştır. Daha önce yaptığımız bir çalışma da (Yılmaz, 2014), kavurma ve enzim uygulamasının haşhaş tohum proteinleri üzerine benzer etkiye yol açtığı belirlenmiştir.

Presleme öncesi farklı ön hazırlık işlemlerinin, elde edilen yağlı keklerin L, a*, b* değerleri üzerine de istatistiksel olarak önemli derecede etki yaptığı tespit edilmiştir. Solventle ekstrakte edilen limon çekirdeği yağlı keklerinin, soğuk preslemeye kıyasla daha yüksek aydınlık, daha düşük kırmızı ve yeşil değerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durumun yağlı keklerde mevcut lipofilik karaktere sahip renk bileşenlerinin solventte çözünerek uzaklaşmış olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Portakal ve greyfurt çekirdeklerine yapılan ön muamele işlemleri aydınlık değerinde indirgenmenin yanısıra a* (kırmızılık) değerine artışa yol açtığı Şekil 3.17'den belirgin şekilde görülmektedir.



Şekil 4.2. Limon, portakal ve greyfurt çekirdeği yağlı kekleri

Çizelge 4.3. Narenciye çekirdeği yağlı pres keklerinin genel özellikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Nem (%)	10,53±0,41 ^a	11,91±0,65 ^a	11,11±0,09 ^a	9,72±1,46 ^a	7,74±0,06 ^a	7,72±0,09 ^a
Su aktivitesi (25 °C)	0,69±0,03 ^a	0,51±0,02 ^b	0,71±0,01 ^a	0,65±0,06 ^b	0,51±0,01 ^a	0,55±0,01 ^b
Kül (%)	2,79±0,04 ^a	2,57±0,05 ^b	4,19±0,09 ^a	4,41±0,03 ^a	4,21±0,45 ^a	4,23±0,63 ^a
Yağ [‡] (%)	17,18±0,14 ^a	5,25±0,62 ^b	17,97±0,58 ^a	13,57±0,74 ^b	16,55±0,15 ^a	13,24±0,13 ^b
Protein [‡] (%)	24,59±0,59 ^a	23,42±0,92 ^a	20,68±0,29 ^b	25,61±1,08 ^a	22,10±1,44 ^a	23,73±0,74 ^a
Renk L	57,10±0,30 ^b	75,26±0,08 ^a	54,14±0,99 ^a	51,82±0,24 ^a	52,21± 0,57 ^a	49,14±0,47 ^b
a*	5,99±0,22 ^a	1,72±0,22 ^b	6,20±0,47 ^b	8,60±0,28 ^a	8,47±0,55 ^a	9,11±0,11 ^a
b*	21,84±0,26 ^a	18,64±1,01 ^b	22,27±0,73 ^a	22,48±0,46 ^a	20,82±0,48 ^a	19,45±0,09 ^b

[‡]Değerler (ortalama±standart hata) kuru madde üzerinden hesaplanmıştır. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.4. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özellikleri

Çizelge 4.4'te soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının fiziksel özelliklerine ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. Tüm narenciye çekirdeklerinin kontrol grupları arasında bir inceleme yapıldığında en yüksek viskozite değerine portakal çekirdeği yağında, en yüksek bulanıklık değerine limon çekirdek yağında, en yüksek sediment içeriğine ise greyfurt çekirdek yağlarında ulaşıldığı tespit edilmiştir.

Presleme öncesi ön hazırlık işlemleri uygulanmasının, soğuk presleme ile elde edilen yağların özgül ağırlık, kırılma indisi ve viskozite gibi fiziksel özellikleri üzerine belirgin önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

El-Adawy ve ark. (1999) tarafından yürütülen bir araştırmada, soğuk solvent ekstraksiyonuyla elde edilen portakal çekirdek yağlarının yoğunluğu $0,914 \text{ g/cm}^3$, kırılma indisi 1,4684, viskozite değeri ise 0,007 Pa.s olarak rapor edilmiştir. Anwar ve ark. (2008), Pakistan'da yetişen dört narenciye türüne (*Citrus limetta*, *Citrus sinensis*, *Citrus paradisi*, *Citrus reticulata*) ait meyve çekirdeklerinden soxhelet tekniğini kullanarak ekstrakte ettikleri yağlarda gerçekleştirdikleri analizler neticesinde tatlı limon, portakal, greyfurt ve mandalina çekirdek yağlarına ait özgül ağırlık değerlerini sırasıyla 0,941, 0,920, 0,932 ve 0,927 mg/mL, kırılma indisi değerlerini ise 1,4670, 1,4645, 1,4639 ve 1,4658 (40°C) olarak belirlemişlerdir. Daha eski bir çalışmada (Habib ve ark., 1986) ise portakal ve greyfurt yağlarına ait özgül ağırlık değerlerinin sırasıyla 0,933-0,913 mg/mL, kırılma indisi değerlerinin ise 1,4681-1,4662 aralığında olduğu rapor edilmiştir. Literatürde rapor edilen bu verilerden yola çıkarak, tüm narenciye türlerimizde ölçümü gerçekleştirilen özgül ağırlık ve kırılma indisi değerlerinin literatürle uyum içerisinde olduğunu söylemek mümkündür

Bulanıklık ve renk gibi görünüş özellikleri, tüketicilerin satın alma ve tüketim kararlarını etkileyen önemli parametrelerin başında gelmektedir. Soğuk pres yağlar rafınasyona tabi tutulmadıkları için bulanıklık değerlerinin rafine yağlara kıyasla daha yüksek olması kaçınılmaz bir durumdur, fakat dezavantaj gibi görünen bu durumun filtrasyon ve santrifüjleme gibi basit fiziksel uygulamalar ile giderilebileceği gözlenmiştir. Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarının kontrol grupları arasında bir karşılaştırma yapıldığında limon yağlarının en yüksek bulanıklık değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Solvent ekstraksiyonu ile elde edilen limon çekirdek yağlarının bulanıklık değerleri soğuk preslemeye kıyasla oldukça düşük bulunurken, solvent muamelesinin renk değerlerinde istatistiksel olarak önemli artışlara yol açtığı gözlenmiştir ($P \leq 0.05$). Özellikle a* (kırmızı) ve b* (sarılık) değerlerinde gözlenen 3-4 kat artışın, lipofilik karakterdeki renk

maddelerinin solventte daha iyi çözünmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bhatnagar ve Krishna (2014) tarafından yapılan bir çalışmada bulgularımıza benzer olarak, soğuk presleme ile nıjer tohumlarından elde edilen yağların hekzan ve etanol gibi solventle ekstrakte edilmişlere kıyasla daha berrak görünümde oldukları ve renk olarak da farklılık sergiledikleri rapor edilmiştir.

Portakal çekirdeklerine uygulanan mikrodalga muamelesinin bulanıklık ve kırmızılık değerlerinde artışa yol açarken, greyfurt çekirdeklerine enzim uygulaması aksi yönde etkiye neden olmuştur. Daha önce yaptığımız bir çalışmada (Yılmaz ve ark., 2015a) da benzer bulgulara rastlanmış olup, soğuk presleme öncesi kapyra çekirdeklerine hemiselülaz ve proteaz enzimleri uygulanmasının elde edilen yağların bulanıklık değerinde azalma, L değerinde ise artışa yol açtığı tespit edilmiştir.



Çizelge 4.4. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Özgül ağırlık (g/mL) (25°C)	0,94±0,01 ^a	0,94±0,01 ^a	0,92±0,01 ^a	0,92±0,01 ^a	0,92±0,01 ^a	0,91±0,01 ^a
Kırılma indisi (25°C)	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a
Viskozite (25°C, cP)	56,55±1,16 ^a	54,57±0,16 ^a	59,55±0,52 ^a	59,75±0,15 ^a	58,42±0,10 ^a	58,17±0,05 ^a
Sediment içeriği (%)	5,93±0,27 ^a	7,49±0,56 ^a	6,65±0,97 ^a	7,57±2,82 ^a	8,25±1,69 ^a	5,83±0,75 ^a
Bulanıklık (25°C, NTU)	19,50±4,99 ^a	1,0±0,01 ^b	13,50±4,05 ^b	34,25±8,67 ^a	8,75±1,89 ^a	8,00±0,58 ^a
Renk L	28,09±0,99 ^b	33,71±0,55 ^a	33,59±3,22 ^a	31,67±2,19 ^a	35,83±1,89 ^a	38,95±0,93 ^a
a*	0,40±0,21 ^b	1,88±0,25 ^a	0,39±0,18 ^b	1,77±0,189 ^a	-0,96±0,30 ^a	-0,14±0,06 ^a
b*	4,38±0,46 ^b	17,48±2,12 ^a	15,69±6,20 ^a	15,05±3,85 ^a	17,19±4,16 ^a	24,81±3,03 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

Soğuk preslenmiş yağlı keklerden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının fiziksel özellikleri (Çizelge 4.5) incelendiğinde, narenciye çekirdeklerinden elde edilen yağların fiziksel özelliklerine benzer nitelikler taşıdığı ve yakın değerler sergilediği göze çarpmaktadır.

Kontrol grupları arasında yapılan değerlendirmede limon çekirdeğine ait özgül ağırlık, kırılma indisi ve bulanıklık değerlerinin diğer iki gruba kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Portakal ve greyfurt çekirdeklerine soğuk presleme öncesi uygulanan ön muamele işlemlerinin etkisi ise yağlı keklerden ekstakte edilen yağlarda daha düşük L ve a* değerlerinin ölçülmesi ve sediment içeriğinde azalma biçiminde ortaya çıkmıştır.



Çizelge 4.5. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Özgül ağırlık (25°C)	0,94±0,01	-	0,91±0,01 ^a	0,91±0,01 ^a	0,91±0,01 ^a	0,92±0,01 ^a
Kırılma indisi (25°C)	1,47±0,01	-	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^a
Viskozite (25°C, cP)	59,22±0,28	-	60,30±0,12 ^a	60,12±0,11 ^a	57,85±0,15 ^a	58,95±0,49 ^a
Bulanıklık (25°C, NTU)	22,75±2,56	-	8,50±1,55 ^b	14,25±3,33 ^a	12,50±1,76 ^b	18,75±1,89 ^a
Renk L	31,15±0,53	-	33,74±0,47 ^a	30,71±0,73 ^a	37,87±1,30 ^a	34,42±0,36 ^a
a*	2,35±0,19	-	7,94±1,58 ^a	6,25±0,64 ^a	2,27±0,29 ^a	2,64±0,52 ^a
b*	8,99±1,07	-	14,85±2,57 ^a	6,88±0,54 ^b	19,59±5,54 ^a	13,15±1,85 ^b
Sediment içeriği (%)	9,75±0,60	-	11,21±0,27 ^a	8,43±0,39 ^b	9,61±0,29 ^a	8,39±2,69 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.5. Narenciye Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özellikleri

Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarının önemli kimyasal özellikleri analiz edilmiştir (Çizelge 4.6). Analiz edilen tüm narenciye çekirdek yağlarının kontrol grupları arasında bir kıyaslama yapıldığında limon yağının en yüksek serbest asitlik (%0,64) ve iyot sayısı (127,49 g I/100 g yağ) değerlerine, greyfurt çekirdek yağının ise en yüksek peroksit (13,83 meq aktif O₂/kg yağ) değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çekirdeklere uygulanan muamele işlemlerinin, yağların kimyasal özellikleri üzerinde belirgin farklılıklar yarattığı ve bu farklılıkların analiz edilen çoğu özellik için istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği (T GK, 2001) soğuk preslenmiş ve natürel yağlar için peroksit sayısı üst limitini 15 meq aktif oksijen/kg yağ olarak bildirmiştir. Çalışmamızda herhangi bir ön muamele uygulanmaksızın soğuk presleme tekniği ile edilen yağların peroksit değerlerinin tebliğe uygun olduğu, mikrodalga ve enzim uygulamasının da bir miktar artışa yol açmakla birlikte tebliğ üst limitini aşmadığı tespit edilmiştir.

Literatürde narenciye çekirdek yağlarına ait fizikokimyasal ve kompozisyonel özelliklerin incelendiği çalışmalar mevcut olmakla birlikte, yapılan çalışmaların büyük kısmında yağların eldesinde sıcak/soğuk solvent ekstraksiyonu tekniklerinden faydalanılmıştır. Bu yüzden soğuk pres tekniği ile elde ettiğimiz yağlarda ölçtüğümüz değerleri karşılaştıracağımız literatür sınırlıdır.

Habib ve ark. (1986) narenciye çekirdeklerinden petrol eter kullanarak ekstrakte ettikleri yağlarda gerçekleştirdikleri ölçümler neticesinde portakal ve greyfurt çekirdek yağları için asit, iyot ve sabunlaşma sayısı değerlerini sırasıyla 0,21-0,90 mg KOH/g yağ, 99,2-91,4 meq aktif oksijen/kg yağ ve 196,8-189,6 mg KOH/g yağ olarak rapor etmişlerdir.

Anwar ve ark. (2008) tarafından benzer şekilde soxhelet tekniği kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise tatlı limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında ölçülen asit sayısı değerleri sırasıyla 2,18, 0,50 ve 0,66 mg KOH/g yağ, iyot sayısı değerlerinin ise sırasıyla 110, 99,8 ve 101,5 g I/100 g yağ aralığında değiştiği rapor edilmiştir.

Limon çekirdeklerinden solvent ekstraksiyonu yardımıyla elde ettiğimiz yağların asit sayısı, aynı ekstraksiyon tekniğini kullanan Anwar ve ark. (2008) bulguları ile benzerlik sergilerken, portakal ve greyfurt soğuk pres yağları kontrol grupları içinde yakın asit sayısı değerleri tespit edilmiştir. Tüm narenciye çekirdek yağları için ölçtüğümüz iyot sayısı değerleri ise Anwar ve ark. (2008), ile Habib ve ark. (1986)'nın bulgularından bir miktar daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Serbest yağ asitliği (% linoleik asit)	0,64±0,01 ^b	1,05±0,05 ^a	0,27±0,01 ^b	0,34±0,04 ^a	0,37±0,06 ^b	0,57±0,04 ^a
Asit sayısı (mg KOH/g yağ)	1,27±0,02 ^b	2,11±0,09 ^a	0,54±0,01 ^a	0,69±0,08 ^a	0,74±0,13 ^b	1,13±0,08 ^a
Peroksit sayısı (meq aktif O ₂ /kg yağ)	9,49±1,35 ^b	39,11±6,65 ^a	13,19±3,23 ^a	15,49±1,02 ^a	13,83±1,73 ^a	14,84±2,18 ^a
<i>p</i> -anisidin değeri	1,12±0,50 ^b	3,39±0,8 ^{5a}	0,87±0,19 ^a	0,34±0,04 ^b	0,73±0,19 ^a	0,86±0,39 ^a
Iyot sayısı (g I/100 g yağ)	127,49±2,92 ^b	129,11±0,52 ^a	117,95±0,89 ^a	119,33±4,03 ^a	107,20±10,70 ^a	114,72±0,54 ^b
Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g yağ)	199,96±1,78 ^a	200,33±1,31 ^a	204,08±2,11 ^a	201,06±0,82 ^a	202,53±2,43 ^a	204,61±1,59 ^a
Sabunlaşmayan madde (%)	1,08±0,23 ^a	1,17±0,01 ^a	0,70±0,15 ^a	0,95±0,01 ^a	0,79±0,06 ^a	0,89±0,10 ^a
Toplam fenolik madde (µg GA/100 g)	4916±326 ^a	3863±59,70 ^b	4071±179 ^a	5607±291 ^a	6432±968 ^b	9811±340 ^a
Antioksidan madde (µmol Trolox/100 g oil)	11669±36,20 ^a	7311±662 ^b	12431±1164 ^b	16512±1168 ^a	15709±1800 ^b	24345±739 ^a
Naringin içeriği (spektrofotometrik, mg/kg oil)	360±29,70 ^a	150,30±32,30 ^b	259,20±33,90 ^a	304,64±5,67 ^a	954,60±15,50 ^a	546,70±14,80 ^b

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

El-Adawy ve ark. (1999), portakal çekirdek yağının kimyasal özelliklerini inceledikleri çalışmalarında iyot, peroksit ve sabunlaşma sayısı (102,57 mg I/g yağ, 6,37 meg O₂/kg yağ, 190,20 mg KOH/g yağ, sırasıyla) bakımından bulgularımıza kıyasla daha düşük değerler bildirirken, analiz ettikleri asit sayısı (0,67 mg KOH/g yağ) değeri sonuçlarımıza benzerlik göstermektedir.

Uygulanan muamele işlemlerinin yağların sabunlaşma sayısına etkisi belirgin bir artma yada azalma yönünde olmazken, bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulunmamıştır (P>0.05). Greyfurt çekirdek yağları hem toplam fenol hem de antioksidant kapasite değerleri bakımından en yüksek içeriğe sahip olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte presleme öncesi çekirdeklere mikrodalga ve enzim muamelesi gibi ön işlemlerin uygulanmasının toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerinde belirgin artışlara neden olduğu gözlenmiştir. Malacrida ve ark. (2012) tarafından yakın zamanda yapılan bir çalışmada limon ve portakal çekirdek yağlarına ait ölçülen toplam fenol değerleri 1196,71 mg GAE/kg yağ ve 1152,88 mg GAE/kg yağ olarak bildirilmiştir.

Soğuk presleme süresince ısıtma uygulanmadığı için yağın duyuşal özellikleri ve nutrasotik bileşenlerinin solventle ekstrakte edilmiş/rafınasyona tabi tutulmuş yağlara kıyasla çok daha yüksek nitelikte olması, soğuk pres yağlarımızın toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerinin solventle ekstraksiyonu tekniğini kullanan araştırmacıların bulgularından bir hayli yüksek olmasını açıklayıcı niteliktedir.

Daha önce yaptığımız bir çalışmada (Aydeniz ve ark., 2012) aspir tohumlarına mikrodalga uygulanmasının soğuk presleme ile elde edilen yağların toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerinde belirgin artışlara yol açtığı tespit edilmiştir.

Yeni yapılan bir çalışmada (Nayak ve ark., 2015) portakal kabuklarından biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine farklı ekstraksiyon tekniklerinin etkisi yüzey tepki yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Ultrason destekli, konvansiyonel ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu teknikleri ile karşılaştırıldığında, mikrodalga ekstraksiyonunda (500 W, 122 s ekstraksiyonu süresi, 25 mL/g solvent:kati oranı) ölçülen toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerinin en yüksek değere ulaştığı bildirilmiştir.

Soğuk presleme tekniği ile elde edilen narenciye çekirdek yağlarına ait *p*-anisidin değerlerinin 0,73-1,12 arasında değişmesi, yağların ikincil oksidasyona karşı oldukça dirençli olduklarını destekler niteliktedir.

Anwar ve ark. (2008) tarafından rapor edilen bir çalışmada tatlı limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında ölçülen *p*-anisidin değerlerinin 2,23-2,85 arasında değiştiği görülmektedir. Portakal çekirdek yağının *p*-anisidin değeri ile ilgili yapılmış olan bir başka

çalışmada ise (Saloua ve ark., 2009) *p*-anisidin değeri 1,86 olarak kaydedilmiştir. Bu sonuçlarla karşılaştırdığımızda, oksidatif açıdan kaliteli yağlara sahip olduğumuzu söylemek mümkündür.

Latif ve Anwar (2011) susam tohumlarından yağ ve protein kazanımı üzerine enzim (Protex 7L, Alcalase 2.4L, Viscozyme L, Natuzyme ve Kemzyme) destekli sulu ekstraksiyon prosesinin etkisini test ettikleri çalışmalarında, enzim uygulamasının kontrol (herhangi bir enzim uygulaması yapılmamış) ve hekzanla ekstrakte edilen yağlara kıyasla yağların temel fizikokimyasal özellikleri (kırılma indisi, serbest yağ asiti içerikleri, iyot sayısı, renk, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde vb.) üzerinde önemli değişikliklere yol açmadığı fakat konjuge dien-trien ve *p*-anisidin değerleri gibi yağın oksidatif kalite kriterlerini üzerinde olumlu yönde belirgin etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte kontrol ve hekzanla ekstrakte edilen yağlara kıyasla, enzim uygulaması ile elde edilen yağların toplam fenolik ve antioksidan kapasite değerlerinde istatistiksel olarak da önemli artışlar gözlemlendiği bildirilmiştir. Genel bir ifadeyle, tüm narenciye çekirdek yağlarında gerçekleştirdiğimiz kimyasal analizler neticesinde literatürde rapor edilen değerler ile uyumlu sonuçların alındığı söylenebilir.

Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarında ölçülen kimyasal özellikler (Çizelge 4.7), çekirdeklerden soğuk preslemeyle elde edilen yağlarda ölçülen kimyasal analiz değerleri ile paralellik göstermektedir.

Analiz edilen tüm narenciye çekirdeklerinin kontrol grupları arasında bir kıyaslama yapıldığında limon, portakal ve greyluft yağlarının sırasıyla asitlik, peroksit ve sabunlaşma sayısı bakımından en yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Soğuk preslemeden alınan sonuçlara (Çizelge 4.6) benzer biçimde enzim uygulanmış greyluft çekirdek yağlarının toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri, diğer gruplara kıyasla çok daha yüksek bulunmuştur. Yağların ekstraksiyonunda hekzan kullanılması, her üç narenciye türüne ait peroksit sayısı değerlerinde 2-3 kata ulaşan artışlara neden olmuştur. Bu sonuç göz önüne alındığında, çekirdeklerden soğuk presle alınan yağların, solvent kullanılarak yağlı keklerden ekstrakte edilen yağlara kıyasla oksidatif açıdan daha iyi kalitede ve nitelik daha sağlıklı olduğu ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 4.7. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Serbest yağ asitliği (% linoleik asit)	1,01±0,04	-	0,81±0,08 ^b	1,17±0,03 ^a	0,77±0,03 ^a	0,77±0,05 ^a
Asit sayısı (mg KOH/g yağ)	2,02±0,07	-	1,61±0,17 ^b	2,32±0,06 ^a	1,53±0,05 ^a	1,53±0,09 ^a
Peroksit sayısı (meq aktif O ₂ /kg yağ)	29,76±1,88	-	32,12±1,80 ^a	19,01±1,15 ^b	18,11±0,64 ^a	13,05±0,46 ^b
<i>p</i> -anisidin değeri	5,78±0,51	-	4,69±1,16 ^a	3,54±0,30 ^a	7,55±3,31 ^a	8,24±1,47 ^a
Iyot sayısı (g I/100 g yağ)	132,12±3,44	-	122,55±2,58 ^a	120,46±4,66 ^a	122,48±3,38 ^a	123,07±3,14 ^a
Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g yağ)	203,19±2,32	-	199,35±3,27 ^a	198,09±5,68 ^a	212,36±8,99 ^a	202,61±2,84 ^a
Sabunlaşmayan madde (%)	0,89±0,09	-	0,62±0,06 ^a	0,74±0,33 ^a	1,02±0,05 ^a	1,34±0,0889 ^a
Toplam fenolik madde (µg GA/100 g yağ)	6750±417	-	7356±130 ^b	8710±331 ^a	6494±492 ^b	8940±387 ^a
Naringin içeriği (spektrofotometrik, mg/kg yağ)	178,77±2,58	-	160,82±5,15 ^a	114,40±10,30 ^a	343,81±2,58 ^b	390,21±2,58 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.6. Narenciye Çekirdek Yağlarının Termal Özellikleri

Yağ asiti kompozisyonu başta olmak kaydıyla yağda bulunan tüm minör bileşenlerin yemeklik yağların termal davranışlarını büyük ölçüde etkilediği bilinmektedir (Co ve Marangoni, 2012). Narenciye çekirdek yağları diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile analiz edilerek ergime ve kristalizasyon sıcaklıkları ve gizli ısıları belirlenmiştir. Sonuçlar kristalizasyon için Çizelge 4.8'de, ergime için ise Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile analiz edilen değerlerde onset hal değişiminin başladığı, pik ise hal değişiminin tamamlandığı sıcaklık değerlerini ifade etmektedir.

Kristalizasyon parametreleri incelendiğinde, kontrol grupları arasında portakal çekirdek yağının en yüksek başlangıç sıcaklığı değerine sahip olduğu ve bunu sırasıyla greyluft ve limon çekirdek yağlarının takip ettiği görülmektedir. T_c değerleri karşılaştırıldığında ise sıralama yine benzer şekilde büyükten küçüğe doğru portakal, greyluft ve limon çekirdek yağları şeklinde olmuştur. Limon yağları için kristalizasyon -4, -5 °C civarında başlamakta ve yağlar sırasıyla -6 ve -8 °C lerde tamamen kristalize olmaktadır. Portakal çekirdeklerine uygulana mikrodalga muamelesinin kontrol grubuna kıyasla kristalizasyon başlangıç sıcaklığını ve pik sıcaklığını bir miktar yükselttiği gözlenmiştir. Benzer durum greyluft çekirdeklerine enzim muamelesi sonrasında da ortaya çıkmış fakat her iki muamelenin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Soğuk presle ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının düşük sıcaklıklarda dahi (- 6,7 °C) likit formda kalabilme yeteneği gıda uygulamaları açısından önemli bir avantaj olarak görülmektedir. Kristalizasyon onset (başlangıç sıcaklığı) ve pik (en düşük sıcaklık) değerleri için, kontrole karşı muamele gören örnek grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadığı ($P>0,05$) gözlenmiş, entalpi değerleri arasında ise sadece greyluft çekirdek yağları için istatistiksel olarak farklılık ($P\leq 0,05$) belirlenmiştir.

Her üç çekirdek yağına ait ergime parametrelerine göz atıldığında ise onset değerlerinin büyükten küçüğe greyluft, limon ve portakal çekirdek yağları, ergime entalpilerinin de büyükten küçüğe portakal, greyluft ve limon çekirdek yağları biçiminde bir sıralama sergilediği belirlenmiştir.

Kristalizasyonun aksine ergime esnasında farklı fraksiyonlara ait sıcaklık değerleride elde edilmiştir. Bu durumun narenciye çekirdek yağlarının farklı ergime profiline sahip trigliserit formlarını yapılarında bulundurmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Limon çekirdek yağlarının ortalama 25°C civarından ergimeye başladığı ve kontrol grubunun -4, -6 ve - 20°C'lerde ergime gösteren üç farklı fraksiyona, solventle ekstrakte edilen yağların ise yalnızca iki farklı fraksiyona sahip olduğu tespit edilmiştir.

Portakal çekirdek yağlarına ait ergime verileri incelendiğinde, mikrodalga muamelesinin ergime sıcaklığında istatistiksel olarak önemli olmayan bir düşüşe neden olduğu ve gerek kontrol gerekse muamele gören yağların 6°C den -23°C ye kadar değişen aralıkta 4 farklı fraksiyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Greyfurt çekirdek yağları ergime sıcaklıkları bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık sergileyen tek gruptur. Enzim muamelesinin kontrol grubuna kıyasla ergime başlangıç ve tamamlanma sıcaklıklarında yükselmeye yol açtığı ve fraksiyonların portakal çekirdek yağlarına yakın ergime profiline sahip olduğu gözlenmiştir.

Narenciye yağlarının termal özellikleri ile ilgili literatürde pek fazla çalışmaya rastlamak mümkün değildir. Saloua ve ark. (2009) yalancı portakal olarak bilinen *Maclura pomifera* türüne ait çekirdek yağlarında gerçekleştirdikleri DSC analizinde kristalizasyon için onset sıcaklık değerini -35,38°C, pik sıcaklığını -32,0°C ve kristalizasyon entalpisini ise -15,58 J/g olarak rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada yalancı portakal çekirdek yağları için rapor edilen ergime onset sıcaklığı -22,10°C, pik sıcaklığı - 13,81°C ve ergime entalpisi 52,37 J/g olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar tarafından rapor edilen bu değerlerle karşılaştırıldığında, ergime sıcaklığı ve entalpi değerlerimizin benzer aralıklarda olduğu görülmektedir.

Oksidatif kararlılık ve daha da önemlisi besinsel kalitenin devamı açısından önemli bir indikatör olan oksidatif indüksiyon zamanı, yağların içinde bulunduğu sıcaklıktaki oksijenle bozunmaya başladığı diğer bir ifadeyle ilk bozunma ürünlerinin oluşmaya başladığı zaman olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif indüksiyon zamanı (OIT) değerlendirmelerinden yola çıkılarak, yağların kararlılık sıralaması: portakal mikrodalga > greyfurt enzim > greyfurt soğuk pres > limon soğuk pres > portakal soğuk pres > limon solvent ekstraksiyonu şeklinde yapılabilir. Yağların doymamışlık derecesinin oksidatif stabilite üzerindeki majör rolü göz önüne alındığında, soğuk pres limon ve portakal çekirdek yağlarına kıyasla yağ asitleri kompozisyonunda (Çizelge 4.16) daha az doymamışlık içeren greyfurt çekirdek yağlarının daha yüksek kararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Kristalizasyon)

Kristalizasyon	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Onset _c (°C)	-4,62±0,53 ^a	-5,04±0,01 ^a	-1,90±0,36 ^a	-1,53±0,14 ^a	-3,23±0,06 ^a	-2,68±0,35 ^a
T _c (°C)	-6,74±0,66 ^a	-8,10±0,08 ^a	-5,12±0,18 ^a	-4,63±0,53 ^a	-6,28±0,17 ^a	-5,43±0,27 ^a
ΔH _c (J/g)	-14,81±1,06 ^a	-16,59±1,04 ^a	-30,56±0,54 ^a	-31,20±2,73 ^a	-30,86±1,00 ^b	-25,91±0,42 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Onset_c: Başlangıç sıcaklığı, T_c: Kristalizasyon sıcaklığı, ΔH_c: Kristalizasyon entalpi değişimi.

Çizelge 4.9. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Ergime/Oksidatif induksiyon zamanı)

Ergime/Oksidatif induksiyon zamanı	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Onset _m (°C)	-25,11±0,81 ^a	-25,37±2,14 ^a	-25,79±0,28 ^a	-26,16±0,08 ^a	-24,78±0,57 ^a	-21,61±0,38 ^b
T _{m1} (°C)	-20,72±0,89 ^a	-20,70±1,58 ^a	-23,04±0,41 ^a	-23,78±0,18 ^a	-22,74±0,42 ^b	-5,03±0,05 ^a
T _{m2} (°C)	-6,19±0,04 ^a	-4,82±0,60 ^a	-2,35±0,06 ^a	-2,36±0,17 ^a	-6,68±0,05 ^b	-1,12±0,43 ^a
T _{m3} (°C)	-3,97±0,01	ted	-0,63±0,04 ^a	-0,47±0,03 ^a	-2,40±0,01 ^b	4,98±0,70 ^a
T _{m4} (°C)	ted	ted	5,97±0,31	6,42±0,28 ^a	5,77±0,06 ^a	ted
ΔH _m (J/g)	49,30±0,31 ^a	48,7±52,90 ^a	56,81±2,45 ^a	59,41±6,05 ^a	50,21±2,80 ^a	42,08±4,84 ^a
OIT (min)	29,86±1,20 ^a	23,30±5,69 ^a	29,51±5,08 ^a	44,28±6,94 ^a	36,30±10,66 ^a	43,92±3,36 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi. Onset_m: Başlangıç sıcaklığı, T_m: Ergime sıcaklığı, ΔH_m: Ergime entalpi değişimi. OIT: oksidatif induksiyon zamanı.

OIT değeri ile ilgili olarak göze çarpan bir diğer önemli sonuçta, portakal çekirdeğine uygulanan mikrodalga muamelesinin OIT değerini artırdığı yani yağ stabilitesini geliştirici yönde etki yaptığıdır. Mikrodalga ön muamelesi uygulanmış portakal çekirdek yağlarının diğer yağlara nazaran, oksidatif bozunma için daha uzun süreye gereksinim duyduğu Şekil 3.7'den net bir şekilde izlenebilir. Mikrodalga muamelesinin yağın oksidatif stabilitesi üzerine olumlu etkilerine, çekirdeklerden ekstrakte edilen yağlarda da (özellikle toplam fenol ve antioksidan kapasite değerleri) rastlanmış ve literatürde yer alan çalışmalarla (Azadmard-Damirchi ve ark., 2010; Kreps ve ark., 2014) bu bulgumuz desteklenmiştir.

Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının termal özelliklerine ait veriler sırasıyla Çizelge 4.10 ve 4.11'de görülmektedir. Çekirdek yağlarına benzer biçimde, yağlı keklerden ekstrakte edilen yağların kontrol gruplarına ait kristalizasyon değerleri karşılaştırıldığında, portakal çekirdek yağının en yüksek başlangıç sıcaklığı değerine sahip olduğu ve bunu sırasıyla greyfurt ve limon çekirdek yağlarının takip ettiği belirlenmiştir. Portakal ve greyfurt yağlarının kristalizasyon başlangıç sıcaklıkları ortalama -3°C olmakla birlikte, greyfurt yağlarının tamamen kristalize olabilmek için portakal yağlarından daha düşük sıcaklıklara ($-6,7^{\circ}\text{C}$) ihtiyaç duyduğu görülmektedir. Tüm gruplar arasında en yüksek entalpi değerine enzimle muamele edilen greyfurt yağlarında ulaşılmış ve enzim muamelesinin kontrole kıyasla entalpi değerini azalttığı gözlenmiştir.

Kontrol grupları arasında yapılan değerlendirmede greyfurtun limon ve portakala kıyasla, belirgin derecede farklılık sergilediği ve bozunma için çok daha uzun zamana ihtiyaç duyduğu tespit edilmiştir.

Ergime parametreleri incelendiğinde limon ve portakal çekirdeği yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağların başlangıç sıcaklıklarının birbirlerine yakın değerlerde ve üç farklı fraksiyona sahip oldukları görülmektedir. Greyfurt yağlarına uygulanan enzim muamelesinin, çekirdek yağlarına benzer (Çizelge 4.9) biçimde ergime başlangıç ve tamamlanma sıcaklıklarında yükselmeye yol açtığı ve iki farklı fraksiyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Ekstrakte edilen yağlar içerisinde en yüksek oksidatif indüksiyon zamanı değerine greyfurt soğuk pres grubunda erişilmiş ve onu sırasıyla portakal mikrodalga, greyfurt enzim ve portakal soğuk pres yağlarının izlediği tespit edilmiştir. Limon soğuk presleme grubu analiz edilen tüm yağlar içerisinde en düşük oksidatif stabiliteye sahip olduğu belirlenmiştir ki bu sonuç çekirdek yağlarına ait bulgular ile benzerlik sergilemektedir.

Çizelge 4.10. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Kristalizasyon)

Kristalizasyon	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Onset _c (°C)	-5,03±0,04	-	-2,72±0,02 ^a	-2,92±0,02 ^a	-3,43±0,04 ^a	-3,36±0,01 ^a
T _c (°C)	-8,34±0,08	-	-4,85±0,06 ^a	-4,88±0,04 ^a	-6,72±0,03 ^a	-6,73±0,04 ^a
ΔH _c (J/g)	-18,63±0,18	-	-29,84±0,06 ^a	-26,28±0,04 ^b	-28,92±0,03 ^b	-34,53±0,04 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Onset_c: Başlangıç sıcaklığı, T_c: Kristalizasyon sıcaklığı, ΔH_c: Kristalizasyon entalpi değişimi.

Çizelge 4.11. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının termal özellikleri (Ergime/Oksidatif indüksiyon zamanı)

Ergime/Oksidatif indüksiyon zamanı	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Onset _m (°C)	-24,18±0,10	-	-23,11±0,01 ^a	-23,15±0,07 ^a	-7,16±0,02 ^a	-6,62±0,04 ^a
T _{m1} (°C)	-21,08±0,04	-	-20,35±0,07 ^a	-20,70±0,28 ^a	-2,06±0,02 ^a	-2,07±0,02 ^a
T _{m2} (°C)	-5,94±0,06	-	-2,32±0,03 ^a	-2,48±0,04 ^a	ted	5,54±0,05
T _{m3} (°C)	-3,30±0,01	-	5,52±0,02 ^a	4,93±0,04 ^a	ted	ted
T _{m4} (°C)	ted	-	ted	ted	ted	ted
ΔH _m (J/g)	46,16±0,22	-	47,68±0,25 ^a	44,55±0,06 ^b	41,66±0,23 ^b	44,05±0,06 ^a
OIT (min)	23,12±0,02	-	24,75±0,34 ^b	43,25±0,21 ^a	47,71±0,30 ^a	41,58±0,11 ^b

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi. Onset_m: Başlangıç sıcaklığı, T_m: Ergime sıcaklığı, ΔH_m: Ergime entalpi değişimi. OIT: oksidatif indüksiyon zamanı.

4.7. Narenciye Çekirdek Yağlarının Renk Bileşenleri

Doğada yaygın bulunan renk bileşenlerinin başında gelen, birçok meyve ve çiçek türünün sarıdan turuncuya kadar değişen renginden sorumlu başlıca renk bileşenleri olarak bilinen, ortam sıcaklığı ve ışığa karşı hassasiyet sergileyen karotenoidlerin meyvelerin besinsel ve antioksidan etki gibi fonksiyonel özelliklerine de katkı sağladığı bildirilmiştir (Alquezar ve ark., 2008; Rafalowski ve ark., 2008). Narenciyeler, karotenoidlerin en önemli besinsel kaynakları arasında yer almakta ve altın sarıdan kırmızıya kadar değişen karakteristik dış kabuk renkleri ile meyve içi renginin oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Xu ve ark., 2006; Alquezar ve ark., 2008).

Çizelge 4.12’de narenciye çekirdek yağlarının toplam karotenoid ve klorofil içeriklerine ait veriler yer almaktadır. Kontrol grupları arasında bir karşılaştırma yapıldığında, limon çekirdek yağlarının karotenoid içeriğinin diğer iki narenciye türüne kıyasla oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Geçmişten günümüze birçok araştırmacı tarafından farklı portakal türlerinin karotenoid içerikleri ve kompozisyonları incelenmiştir. Xu ve ark. (2006) portakal kabuğunun 151,57-218,04 µg/g kuru meyve düzeyinde karotenoid içerebileceğini, meyve suyu keseciklerinin ise kabuğa kıyasla daha düşük içeriğe (39,96-143,09 µg/g kuru meyve ağırlığı) sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ülkemizde yalancı portakal olarak bilinen Osage portakalları (*Maclura pomifera*) üzerinde yapılan bir araştırmada (Saloua ve ark., 2009) solvent ekstraksiyonu ile meyve çekirdeklerinden ekstrakte edilmiş yağların beta karoten ve klorofil içerikleri sırasıyla 0,59 ve 0,02 mg/kg yağ olarak rapor edilmiştir.

Malacrida ve ark. (2012) Brezilya’da yetişen bazı narenciye türlerinin karotenoid kompozisyonlarını inceledikleri çalışmalarında, limon ve mandalina çekirdek yağlarının portakala kıyasla (0,32 mg/kg yağ) 10 kat daha fazla karotenoid içerdiğini tespit etmişlerdir. Karotenoid kompozisyonları incelendiğinde baskın bileşenin lutein olduğu ve analiz edilen limon, portakal ve mandalina çekirdek yağları karotenoid kompozisyonunun sırasıyla %80,9, %59,4 ve %64,3’ünü oluşturduğu da belirtilmiştir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında limon ve portakal çekirdek yağında ölçtüğümüz toplam karotenoid ve klorofil içeriklerinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.12. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının toplam karotenoid ve klorofil içerikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Toplam karotenoid içeriği (mg/kg yağ)	10,43±0,33 ^a	10,01±1,50 ^a	7,64±0,48 ^a	5,49±0,14 ^b	2,35±0,16 ^b	2,99±0,15 ^a
Beta karoten içeriği (mg/kg yağ)	10,06±0,32 ^a	9,66±1,44 ^a	7,37±0,46 ^a	5,30±0,14 ^b	2,27±0,16 ^b	2,89±0,15 ^a
Lutein içeriği (mg/kg yağ)	10,03±0,32 ^a	9,63±1,44 ^a	7,35±0,46 ^a	5,29±0,14 ^b	2,26±0,16 ^b	2,88±0,15 ^a
Toplam klorofil içeriği (mg feofitin a/kg yağ)	0,89±0,04 ^b	1,22±0,02 ^a	0,20±0,02 ^b	0,34±0,05 ^a	0,08±0,03 ^a	0,06±0,02 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

Rafalowski ve ark. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, on farklı yağlı tohum ve yağlı meyveden (kolza, zeytin, yer fıstığı, ayııçek, soya, mısır, üzüm çekirdeği, kabak çekirdeği, susam ve keten tohumu) soğuk presleme tekniği ile elde edilen yağlarda beta karoten ölçümü gerçekleştirilmiştir. Ayııçek, üzüm çekirdeği ve susam yağlarında beta karoten içeriğine rastlanmazken, en yüksek değere (150 mg/kg yağ) kabak çekirdeği ve keten tohumu yağlarında erişilmiştir. Araştırmacılar tarafından rapor edilen değerler ile karşılaştırıldığında, diğer tohum ve meyve yağlarına kıyasla yer fıstığı yağı beta karoten içeriğinin (3,7 mg beta karoten/kg yağ) narenciye çekirdek yağlarımızda ölçülen değerlere daha yakın olduğu gözlenmiştir.

Limon endüstrisi yan ürünlerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada (Russo ve ark., 2014) ise, analiz edilen örnekler yoğun sarı renkte olmalarına karşın karoten ve ksantofil içeriğine rastlanmadığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bu durumun, endüstriyel işleme ve/veya depolama esnasında bileşiklerin izomerizasyonu yada oksidasyonundan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Benzer biçimde limon kabukları ile yenilebilir kısımlarının diğer narenciye türlerine kıyasla β -karoten, β -kriptoksantin, lutein ve zeaksantin içeriği bakımından daha düşük konsantrasyonlara sahip olduğunu rapor eden çalışmalara da literatürde rastlanmaktadır (Wang ve ark., 2007, Wang ve ark., 2008).

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağlarda ölçülen karotenoid ve klorofil içerikleri (Çizelge 4.13) incelendiğinde, portakal çekirdek yağlarının beta karoten, limon çekirdek yağlarının ise klorofil içerikleri bakımından ilk sırada yer aldığı görölmektedir. Greylfurt çekirdek yağları analiz edilen her iki bileşen bakımından da en düşük değerlere sahip olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının karotenoid ve klorofil içerikleri

Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Toplam karotenoid içeriği (mg/kg yağ)	7,68±0,32	-	9,67±0,47 ^a	7,80±0,99 ^a	3,30±0,22 ^a	3,39±0,23 ^a
Beta karoten içeriği (mg/kg yağ)	7,40±0,31	-	9,33±0,45 ^a	7,52±0,96 ^a	3,18±0,22 ^a	3,27±0,22 ^a
Lutein içeriği (mg/kg yağ)	7,38±0,31	-	9,30±0,45 ^a	7,50±0,96 ^a	3,17±0,22 ^a	3,26±0,23 ^a
Toplam klorofil içeriği (mg feofitin a/kg yağ)	1,05±0,04	-	0,47±0,03 ^a	0,39±0,12 ^b	0,19±0,01 ^a	0,14±0,02 ^b

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.8. Narenciye Çekirdek Yağlarının Tokoferol İçeriği

Soğuk presleme tekniği yağın sahip olduğu nutrasotik bileşenlerin korunmasında üstün avantajlara sahiptir. Bu bileşenlerin başında da antioksidan etkileri ile öne çıkan tokoferoller gelmektedir. Soğuk pres yağlar, tokoferol bileşenleri bakımından zengin kaynaklardır (Parry ve ark., 2005; Matthaus ve Özcan, 2012).

Çizelge 4.14'te yer alan veriler incelendiğinde yağların içerdiği alfa tokoferol miktarının 110.2 ile 322 mg/kg yağ aralığında değişim gösterdiği görülmektedir. En yüksek alfa tokoferol içeriğine enzimle muamele sonrası soğuk preslenen greylfurt çekirdek yağlarında erişilirken, onu sırasıyla, portakal çekirdeği soğuk presleme, portakal çekirdeği mikrodalga + soğuk presleme, greylfurt çekirdeği soğuk presleme grupları takip etmektedir. Soğuk presleme olmaksızın solvent kullanılarak ekstrakte edilen limon çekirdeği yağlarının alfa tokoferol içeriği diğer tüm yağ örneklerine kıyasla en düşük değerde olduğu gözlenmiştir.

Soğuk presleme ve solvent ekstraksiyon tekniklerinin kanola tohum yağlarının toplam tokoferol içeriği üzerine etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Ghazani ve ark., 2014) bizim bulgumuzun aksine solventle ekstrakte edilen yağların (492,5 mg/kg yağ) soğuk preslemeye (354 mg/kg yağ) kıyasla daha yüksek tokoferol içerebileceği belirtilmiştir. Benzer amaçlı bir başka çalışmada ise (Ixtaina ve ark., 2011) yine benzer bir bulgu olarak solventle ekstrakte edilen çia tohum yağlarının tokoferol düzeyi, soğuk preslenen yağlara kıyasla daha fazla bulunmuştur.

Malacrida ve ark. (2012) limon, portakal ve mandalina çekirdeklerinden petrol eterle ekstrakte edilen yağların alfa tokoferol içeriklerini sırasıyla 102,5, 300,2 ve 116,7 mg/kg yağ olarak rapor ederken, Matthaus ve Özcan (2012) tarafından yapılan bir çalışmada limon, portakal ve greylfurt çekirdeklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların alfa tokoferol değerleri sırasıyla 130, 93 ve 175 mg/kg yağ olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde, soğuk preslemenin bir avantajı olarak literature kıyasla genel olarak daha yüksek değerlere sahip olduğumuz görülmektedir

Kontrolle kıyasla muamele görmüş gruplar arasında yapılan değerlendirmede yağlı tohumlara enzim uygulanması alfa tokoferol içeriğini artırıcı yönde etki gösterirken, mikrodalga uygulamasının aksi yönde etki sergilediği ve her iki etkinin istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir.

Benzer bir bulgu daha önce yaptığımız bir çalışmada da (Aydeniz ve ark., 2014) ortaya konulmuştur. Soğuk presleme öncesi aspir tohumlarına 360 W 6 dk mikrodalga

uygulamasının, yağın sahip olduğu alfa tokoferol içeriğinin azalması yönünde etki sergilediği tespit edilmiştir.

Anjum ve ark. (2006)'nın ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi, yağ asiti ve tokoferol dağılımı üzerine farklı sürelerde mikrodalga uygulamasının (2450 MHz, 5, 10 ve 15 dk) etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, mikrodalga uygulamasının alfa ve delta tokoferol içeriği üzerinde indirgenmeye yol açtığı ve bu azalmanın mikrodalga uygulama süresinin artışı ile doğru orantılı olduğu rapor edilmiştir.

Mikrodalga uygulamasının, tokoferol içeriği üzerine artırıcı etkisini rapor eden çalışmalar da mevcuttur. Azadmard-Damirchi ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, presleme öncesi kanola tohumlarına mikrodalga uygulamasının yağın içerdiği tokoferoller ve steroller gibi nutrasotik minör bileşenlerin miktarında artışa sebep olduğu ve bu durumun yağın besin değeri ve raf ömrü üzerinde olumlu etkilere yol açabileceği bildirilmiştir.

Latif ve Anwar (2011), susam tohumlarından yağ ve protein kazanımı üzerine enzim (Protex 7L, Alcalase 2.4L, Viscozyme L, Natuzyme ve Kemzyme) destekli sulu ekstraksiyonu prosesinin etkisini test ettikleri çalışmalarında, enzim uygulamasının kontrol (herhangi bir enzim uygulaması yapılmamış) ve hekzanla ekstrakte edilen yağlara kıyasla yağların tokoferol içeriğinde istatistiksel olarak da önemli artışlara yol açtığı bulunmuştur. Greyfurt çekirdeklerine enzim uygulaması sonucu tokoferol içeriğinde gözlenen artış Latif ve Anwar (2011)'in bulgularını destekler niteliktedir.

Çizelge 4.15'te soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların α -tokoferol içeriklerine ait veriler yer almaktadır. Soğuk preslemeyle alınan yağlara benzer şekilde tüm yağ örnekleri arasında en düşük tokoferol içeriğine limon çekirdek yağlarında rastlanırken, greyfurt çekirdeklerine uygulanan enzim muamelesinin yağlı keklerden ekstrakte edilen yağların α -tokoferol içeriği üzerine de olumlu etkilerde bulunduğu belirlenmiştir. Portakala çekirdeği yağlı keklerinde analiz edilen tokoferol içeriğide, soğuk presleme ile alınan yağlarda analiz edilen değerler ile paralel sonuçlar sergilemektedir.

Çizelge 4.14. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının α - tokoferol içeriği

Tokoferol	Limon çekirdeği (P=0,290)		Portakal çekirdeği (P=0,411)		Greyfurt çekirdeği (P=0,012)	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
α - tokoferol (mg/kg yağ)	155,0 \pm 28,80 ^a	110,20 \pm 12,60 ^a	283,40 \pm 24,60 ^a	256,65 \pm 8,21 ^b	221,81 \pm 6,31 ^b	322,0 \pm 9,23 ^a

Tüm değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

Çizelge 4.15. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının α - tokoferol içeriği

Tokoferol	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği (P= 0,032)		Greyfurt çekirdeği (P=0,261)	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
α - tokoferol (mg/kg)	235,00 \pm 60,20	-	279,40 \pm 18,20 ^b	275,34 \pm 9,22 ^a	290,32 \pm 6,38 ^a	301,63 \pm 3,52 ^a

Tüm değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

4.9. Narenciye Çekirdek Yağlarının Yağ Asitleri Kompozisyonu

Narenciye türlerinin sahip olduğu yağ içeriği ile ilgili literatürde farklı değerler mevcuttur. Malacrida ve ark. (2012) limon ve portakal çekirdeği yağ içeriğini sırasıyla %34,9 ve %41,5 düzeyinde rapor ederken, Anwar ve ark. (2008) portakal ve greyfurt çekirdeklerinin %27 ve %36,5 yağ içeriğine sahip olduklarını bildirmiştir. Yağ içeriğine benzer şekilde narenciye yağlarının yağ asiti kompozisyonuna dair araştırmacılar tarafından rapor edilen farklı görüşler mevcuttur.

Çizelge 4.16'da soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının yağ asiti kompozisyonları ait veriler yer almaktadır. Genel bir değerlendirme yapıldığında, yağ asiti kompozisyonunun yaklaşık %65-70'lik bir kısmının doymamış yağ asitlerinden oluştuğu ve her üç narenciye türü içinde linoleik asitin baskın konumda yer aldığı belirlenmiştir.

Saidani ve ark. (2004), Matthaus ve Özcan (2012) tarafından yapılan çalışmalarda limon ve greyfurt çekirdeklerinin yağ asiti kompozisyonunun major yağ asiti oleik asit olarak rapor edilirken, Malacrida ve ark. (2012), Anwar ve ark. (2008), El-Adawy ve ark. (1999) limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarının linoleik asit grubunda yer aldığını belirtmişlerdir.

Türler arasında karşılaştırma yapıldığında greyfurt çekirdeğinin en yüksek linoleik asit içeriğine sahip olduğu ve bunu sırasıyla portakal ve limon çekirdek yağlarının takip ettiği görülmektedir. Limon çekirdeği yağlarında oleik ve linoleik asit değerleri, diğer iki türe kıyasla birbirine daha yakın değerlerde olup, linolenik asit içeriğinin portakal ve greyfurt çekirdek yağlarına kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar Malacrida ve ark. (2012), Anwar ve ark. (2008), El-Adawy ve ark. (1999)'nın rapor ettiği değerler ile benzerlik sergilemektedir. Çekirdeklere uygulanan ön muamelelerin yağ asiti kompozisyonunda rakamsal ve istatistiksel olarak önemli değişikliklere yol açmadığı da dikkati çekmektedir.

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların yağ asitleri kompozisyonu (Çizelge 4.17) incelendiğinde, bir önceki tablo verilerine benzer nitelikler taşıdığı görülmektedir. Bu grup yağların tümü için de majör doymamış yağ asidi linoleik asit olarak belirlenirken, greyfurt çekirdek yağlarının çoklu doymamış yağ asitleri içeriği limon ve portakala kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Çekirdeklere uygulanan ön muamele işlemlerinin yağ asitleri kompozisyonunda istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmadığı da tespit edilen bulgular arasındadır.

Çizelge 4.16. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının yağ asiti kompozisyonları (%)

Yağ asitleri (%)	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Palmitik (C16:0)	20,88±0,03 ^a	20,90±0,04 ^a	25,71±0,23 ^a	26,10±0,08 ^a	28,16±0,12 ^a	28,11±0,04 ^a
Palmitoleik (C16:1)	0,27±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a	0,52±0,01 ^a	0,52±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a
Stearik (C18:0)	4,28±0,02 ^a	4,32±0,01 ^a	5,75±0,11 ^a	5,87±0,03 ^a	3,65±0,01 ^a	3,65±0,02 ^a
Oleik (C18:1 n-9)	30,86±0,20 ^a	30,27±0,02 ^a	25,33±0,12 ^a	24,81±0,06 ^a	20,73±0,05 ^a	20,49±0,02 ^a
Linoleik (C18:2 n-6)	33,76±0,12 ^a	33,99±0,03 ^a	36,59±0,17 ^a	36,61±0,05 ^a	40,52±0,17 ^a	40,70±0,01 ^a
Linolenik (C18:3 n-3)	8,35±0,13 ^a	8,65±0,11 ^a	4,14±0,02 ^a	4,19±0,01 ^a	5,21±0,01 ^a	5,31±0,02 ^a
ΣSFA	25,18±0,02 ^a	25,21±0,04 ^a	31,46±0,34 ^a	31,97±0,10 ^a	31,81±0,12 ^a	31,70±0,12 ^a
ΣMUFA	31,12±0,20 ^a	30,53±0,01 ^a	25,85±0,12 ^a	25,33±0,06 ^a	20,99±0,05 ^a	20,75±0,01 ^a
ΣPUFA	42,11±0,24 ^a	42,64±0,05 ^a	40,72±0,19 ^a	40,80±0,04 ^a	45,73±0,18 ^a	46,01±0,04 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ΣSFA: toplam doymuş yağ asitleri yüzdesi, ΣMUFA: toplam tekli doymamış yağ asitler yüzdesi, ΣPUFA: toplam çoklu doymamış yağ asitleri yüzdesi.

Çizelge 4.17. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının yağ asiti kompozisyonları (%)

Yağ asitleri (%)	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Palmitik (C16:0)	20,79±0,03	-	26,14±0,04 ^a	25,96±0,07 ^a	28,16±0,13 ^a	27,97±0,02 ^a
Palmitoleik (C16:1)	0,24±0,02	-	0,52±0,01 ^a	0,52±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a	0,27 ±0,01 ^a
Stearik (C18:0)	4,25±0,01	-	5,71±0,05 ^a	5,69±0,10 ^a	3,59±0,02 ^a	3,59±0,01 ^a
Oleik (C18:1 n-9)	30,07±0,06	-	26,53±2,26 ^a	24,02±0,57 ^b	19,58±0,11 ^a	19,92±0,01 ^a
Linoleik (C18:2 n-6)	34,21±0,06	-	37,225±0,24 ^a	37,43±0,50 ^a	41,54±0,05 ^a	41,18±0,01 ^a
Linolenik (C18:3 n-3)	8,73±0,05	-	4,44±0,08 ^a	4,45±0,20 ^a	5,68±0,08 ^a	5,51±0,01 ^a
ΣSFA	25,03±0,04	-	31,84±0,09 ^a	31,64±0,18 ^a	31,76±0,15 ^a	31,56±0,02 ^a
ΣMUFA	30,30±0,08	-	27,04±2,26 ^a	24,54±0,56 ^b	19,84±0,10 ^a	20,20±0,01 ^a
ΣPUFA	42,94±0,11	-	41,67±0,32 ^a	41,88±0,70 ^a	47,21±0,12 ^a	46,69±0,01 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ΣSFA: toplam doymuş yağ asitleri yüzdesi, ΣMUFA: toplam tekli doymamış yağ asitleri yüzdesi, ΣPUFA: toplam çoklu doymamış yağ asitleri yüzdesi.

4.10. Narenciye Çekirdek Yağlarının Sterol Kompozisyonu

Bitkisel yağların sabunlaşmayan içeriğinin büyük bir kısmını oluşturan sterol bileşenleri serum kolesterol düzeylerinin indirgenmesi başta olmak üzere sahip oldukları anti-inflamatuar, anti-bakteriyel ve anti-kanser gibi fonksiyonel özellikleri sıklıkla rapor edilen minör bileşenlerdir (Ling ve Jones, 1995).

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (Çizelge 4.18) incelendiğinde, tüm çekirdek türleri için beta sitosterolün baskın bileşen olduğu ve sterol kompozisyonunun %75-82'lik bir kısmını oluşturduğu görülmektedir. Beta sitosterolü sırasıyla kampesterol (%9-12), stigmasterol (%2-5) ve delta-5-avenasterol (%1,5-4,5) takip etmektedir. Greyfurt çekirdek yağlarının beta-sitosterol içerikleri, limon ve portakal çekirdeklerinden ekstrakte edilen yağlara nazaran daha yüksek bulunmuştur.

Kontrolle (sadece soğuk presleme) kıyasla, limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerine uygulanan muamele işlemlerinin yağların 24-metilen kolesterol, kampesterol, stigmasterol, sitostanol ve delta-7-avenasterol düzeylerinde belirgin sayılabilecek artış/azalmalara yol açtığı belirlenmiştir. Ülkemizde yalancı portakal olarak bilinen Osage portakalına (*Maclura pomifera*) ait meyve çekirdekleri ve hekzanla ekstrakte edilmiş çekirdek yağların fizikokimyasal ve termal özellikleri ile yağ asiti, sterol ve tokoferol kompozisyonlarının incelendiği bir çalışmada, beta sitosterolün toplam sterol bileşiminin %81'ini teşkil ettiği ve bunu sırasıyla kampesterol (%7,4), stigmasterol (%4,2), lupeol (%4,1) ve delta-5-avenasterolün (%3,2)'nin takip ettiği bildirilmiştir (Saloua ve ark., 2009).

Matthaus ve Özcan (2012), Türkiye ve Vietnam'da yetişen narenciye türlerinin sterol kompozisyonlarını incelemiş ve bulgularımıza benzer şekilde limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında sterol bileşenlerinin beta sitosterol (%75), kampesterol (%11), stigmasterol (%4) ve delta-5-avenasterol (%3) yönünde bir sıralama gösterdiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada toplam sterol içeriği bakımından limon (3574 mg/kg yağ) çekirdek yağlarının, portakal (2759 mg/kg yağ) ve greyfurt (2723 mg/kg yağ) çekirdek yağlarına kıyasla daha zengin olduğu da rapor edilmiştir.

Çizelge 4.18. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%)

Steroller (%)	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Kolesterol	1,23±0,02 ^a	1,11±0,05 ^a	0,66±0,03 ^a	0,77±0,06 ^a	0,48±0,01 ^a	0,45±0,01 ^a
Brassikasterol	0,05±0,01 ^a	0,05±0,02 ^a	0,07±0,02 ^b	0,49±0,32 ^a	0,27±0,01 ^a	0,13±0,04 ^b
24-metilen kolesterol	0,10±0,06 ^a	0,03±0,01 ^b	0,05±0,01 ^b	0,18±0,07 ^a	0,16±0,06 ^a	0,19±0,13 ^a
Kampesterol	10,71±0,16 ^b	12,56±0,04 ^a	9,43±0,12 ^a	9,97±0,17 ^a	9,00±0,06 ^b	9,75±0,02 ^a
Kampestanol	0,18±0,02 ^a	0,19±0,01 ^a	0,21±0,04 ^a	0,26±0,08 ^a	0,14±0,01 ^a	0,16±0,03 ^a
Stigmasterol	4,52±0,04 ^b	5,04±0,01 ^a	3,26 ±0,15 ^a	3,47±0,06 ^a	2,18±0,08 ^b	2,71 ±0,01 ^a
Delta-7-Kampesterol	0,32±0,01 ^a	0,33±0,01 ^a	0,29±0,02 ^b	0,65±0,02 ^a	0,52±0,06 ^a	0,46±0,11 ^a
Delta-5,23-Stigmastadienol	0,06±0,01 ^a	0,04±0,01 ^a	ted	0,19±0,07	ted	0,03±0,02
Klerosterol	0,98±0,16 ^a	0,94±0,01 ^a	1,16±0,05 ^a	0,83±0,15 ^b	0,87±0,09 ^a	0,91±0,08 ^a
Beta-sitosterol	76,55±0,52 ^a	75,10±0,04 ^a	78,72±0,91 ^a	77,65±1,49 ^a	81,74±0,08 ^a	80,85±0,22 ^a
Sitostanol	0,79±0,08 ^a	0,60±0,07 ^b	0,62±0,10 ^b	2,32±0,99 ^a	1,66±0,19 ^a	1,55±0,38 ^a
Delta-5-Avenasterol	3,24±0,09 ^a	3,19±0,04 ^a	4,59±0,05 ^a	1,52±0,93 ^b	1,46±0,44 ^a	1,71±0,58 ^a
Delta-5,24-Stigmastadienol	0,21±0,03 ^a	0,09±0,02 ^b	0,17 ±0,06 ^b	0,74±0,37 ^a	0,85±0,09 ^a	0,51±0,09 ^b
Delta-7-Stigmastenol	0,69±0,05 ^a	0,48±0,01 ^b	0,51±0,11 ^b	0,77±0,23 ^a	0,52±0,03 ^a	0,44 ±0,09 ^b
Delta-7-Avenasterol	0,34±0,06 ^a	0,20±0,12 ^b	0,26±0,12 ^a	0,18±0,07 ^b	0,12±0,01 ^a	0,11±0,04 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi.

Daha önce yaptığımız bir çalışmada (Aydeniz ve ark., 2014), soğuk presleme öncesi aspir tohumlarına kavurma (140°C, 45 dk) ve mikrodalga (360 W, 6 dk) uygulamasının, yağın fizikokimyasal, besinsel (toplam fenolik, antioksidan kapasite), sterol, yağ asitleri ve uçucu bileşen kompozisyonu üzerine etkisi test edilmiş ve çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara benzer biçimde, her iki uygulamanında sitostanol ve kampestanol hariç diğer sterol bileşenlerinin azalmasına sebep olduğu tespit edilmiştir.

Portakal çekirdeğine soğuk presleme öncesi 360 W'da toplam 30 dk mikrodalga uygulanması, bir önceki çalışmamızla (Aydeniz ve ark., 2014) benzer sonuçların alınmasına neden olmuş; mikrodalga uygulaması başta beta-sitosterol ve delta-5-avenasterol gibi majör sterol bileşenleri olmak üzere, klerosterol ve delta-7 avenasterol gibi minör bileşenlerinin miktarında da bir miktar indirgenmeye yol açmıştır.

Başta beta sitosterol olmak üzere kampesterol, stigmasterol ve delta-5-avenasterol, soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağlar içinde (Çizelge 4.19) majör sterol bileşenleri olma niteliği taşımaktadır. Mikrodalga muamelesinin beta sitosterol hariç diğer majör sterol bileşenlerinin düzeyinde bir miktar azalmaya yol açarken, enzim muamelesinin de analiz edilen tüm majör sterol bileşenlerinde düşüşe neden olduğu gözlenmiştir. Ön muamele işlemlerinin etkisi, portakal çekirdek yağlarının kampesterol ve beta sitosterol, greyfurt çekirdek yağlarının ise delta-5-avenasterol ve delta-5,24 stigmastadienol içerikleri üzerine istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,05$).

Çizelge 4.19. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%)

Steroller (%)	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Kolesterol	0,69±0,04	-	1,01±0,32 ^a	1,22±0,03 ^a	0,59±0,10 ^a	0,75±0,19 ^a
Brassikasterol	ted	-	ted	ted	ted	ted
24-metilen kolesterol	0,20±0,03	-	ted	ted	ted	ted
Kampesterol	9,79±0,72	-	9,12±0,22 ^a	6,27±1,64 ^b	10,34±0,05 ^a	9,80±0,28 ^a
Kampestanol	0,19±0,03	-	ted	ted	0,49±0,15	ted
Stigmasterol	4,23±0,13	-	4,40±0,12 ^a	3,11±0,39 ^a	4,01±0,04 ^a	3,71±0,07 ^a
Delta-7-Kampesterol	0,54±0,14	-	0,72±0,05	ted	0,63±0,17	ted
Delta-5,23-Stigmastadienol	ted	ted	ted	ted	ted	ted
Klerosterol	0,99±0,05	-	1,20±0,18 ^a	1,76±0,32 ^a	1,34±0,35 ^a	1,61±0,55 ^a
Beta-sitosterol	79,10±0,99	-	76,88±1,25 ^b	79,65±0,43 ^a	75,36±0,98 ^a	74,02±1,62 ^a
Sitostanol	0,30±0,06	-	0,89±0,08 ^a	1,53±0,33 ^a	0,84±0,16 ^a	1,49±0,05 ^a
Delta-5-Avenasterol	3,06±0,13	-	3,85±0,04 ^a	3,83±0,67 ^a	5,15±0,01 ^a	4,45±0,12 ^b
Delta-5,24-Stigmastadienol	0,23±0,01	-	0,81±0,03 ^a	1,55±0,34 ^a	0,29±0,09 ^b	1,00±0,33 ^a
Delta-7-Stigmastenol	0,30±0,16	-	0,71±0,05 ^a	1,09±0,09 ^a	0,45±0,01 ^a	0,86±0,12 ^a
Delta-7-Avenasterol	0,36±0,09	-	0,42±0,07	ted	0,49±0,06 ^a	0,99±0,18 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi.

4.11. Narenciye Çekirdek Yağlarının Fenolik Kompozisyonu

Narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (Çizelge 4.20) incelendiğinde, flavonoidlerin kompozisyona hakim olduğu ve narenciyelerin karakteristik lezzeti üzerinde önemli etkisi bulunan eriositrin, rutin, naringin ve hesperidin gibi flavanonların majör fenolik bileşenler olarak kompozisyonda yer aldığı görülmektedir. Limon çekirdek yağlarının diğer narenciye türlerine kıyasla hayli yüksek eriositrin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Russo ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, meyve çekirdeği ve meyve suyu konsantresinin (48 brix) içerisinde bulunduğu bazı limon işleme atıklarının (işletme atık suyu, kabuk, pulp) polifenol ve limonoid kompozisyonları analiz edilmiştir. Araştırmacılar tarafından rapor edilen bulgular incelendiğinde, eriositrin ve hesperidinin baskın fenolik bileşenler olarak kompozisyonda yer aldığı dikkat çekmektedir. Özellikle eriositrin içeriği limon çekirdeği ve kabuk kısmında hesperidine kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilirken, meyve suyu ve konsantresinde tam aksine hesperidin içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Daha önceki yıllarda yapılan bir başka çalışmada (Bocco ve ark., 1998) limon, bergamot, tatlı ve ekşi portakal gibi narenciye türlerine ait kabuk ve çekirdek metanollü ekstraktlarının flavanon ve fenolik asit içerikleri incelenmiştir. Analiz edilen tüm türler için, kabuktaki glikozillenmiş flavanon (eriositrin, naringin, narirutin, hesperidin, neohesperidin) içeriğinin çekirdeğe kıyasla çok daha yüksek olduğu, antioksidan kapasite değerlerinin ise meyve çekirdeğinden ziyade kabuk kısmında daha büyük değerlere eriştiği rapor edilmiştir.

Çalışmamızda limon çekirdeğinde ölçülen eriositrin ve hesperidin içerikleri Russo ve ark. (2014) tarafından rapor edilen değerlere (2612 ve 1443 mg/kg, sırasıyla) göre daha düşük bulunmakla birlikte, Bocco ve ark. (1998)'nin tespit ettiği değerler (1610 ve 500 mg/kg kuru madde) ile benzerlik göstermektedir. Bunun yanısıra limon çekirdeğinde tespit edilen rutin, gallik asit ve *tr*-ferulik asit içerikleri de literatür ile uyum içerisinde (Bocco ve ark.,1998; Russo ve ark., 2014). Solvent ekstraksiyonu ile elde edilen limon çekirdek yağlarının toplam flavonoid ve fenolik asit içeriklerinin soğuk preslemeye kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiş, tüm dağılım incelendiğinde naringin, kaemferol, gallik asit ve şirinjik asit ortalamaları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların ($P \leq 0,05$) bulunduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.20. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg)

Fenolik bileşikler	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Flavonoidler						
Kateşin	15,79±1,15 ^a	16,63±0,29 ^a	14,87±1,22 ^a	15,25±0,35 ^a	ted	ted
Eriositrin	1051,60±44,60 ^a	1007,10±89,60 ^a	31,01±1,22 ^b	85,78 ±3,80 ^a	94,70 ±18,40 ^a	97,85 ±1,76 ^a
Rutin	76,80±26,20 ^a	52,31±4,97 ^a	52,59±0,39 ^b	76,48±0,29 ^a	443,0±95,30 ^a	295,91±2,44 ^b
Naringin	389,79±0,98 ^b	202,60±45,80 ^a	234,28±0,56 ^a	299,80±27,20 ^a	1324,60±76,60 ^a	764,12±9,60 ^b
Naringenin	22,82±0,98 ^a	10,62±0,43 ^a	10,38±0,15 ^a	13,23±1,66 ^a	57,45±9,90 ^a	33,14±0,09 ^a
Hesperidin	907,39±8,64 ^a	868,64±5,37 ^a	909,67±5,63 ^a	903,40±36,20 ^a	884,50±17,50 ^a	498,89 ±1,23 ^b
Neohesperidin	111,06±3,45 ^a	198,19±0,63 ^a	100,99±0,81 ^a	125,90±19,20 ^a	452,20 ±63,60 ^a	310,60±14,00 ^a
Kaemferol	15,12±0,47 ^b	27,83±1,12 ^a	8,64±0,06 ^a	9,56±0,83 ^a	18,55±2,14 ^a	13,19±0,43 ^a
Fenolik asitler						
Gallik asit	93,42±8,07 ^a	43,96±2,58 ^b	42,43±3,57 ^a	29,41±3,40 ^a	78,40±12,20 ^a	77,60±10,20 ^a
Şirinjik asit	8,46±0,09 ^a	6,99±0,08 ^b	6,93±0,01 ^b	7,13 ±0,01 ^a	7,23±0,12 ^a	7,19±0,01 ^a
<i>tr</i> -ferulik asit	85,13±2,68 ^a	63,39±1,04 ^a	222,97±2,76 ^b	364,30±55,10 ^a	206,10±34,00 ^a	205,27 ±2,97 ^a
Rosmanirik asit	16,64±0,26 ^a	27,25±0,72 ^a	58,08±0,48 ^a	77,90±14,40 ^a	16,00±0,17 ^a	15,64±0,09 ^a
<i>tr</i> -2-hidroksisinnamik asit	10,99±1,12 ^a	13,26±0,08 ^a	41,65±0,40 ^a	47,22±5,41 ^a	11,32±0,55 ^a	10,99±0,07 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi.

Portakal çekirdeklerinin diğer iki narenciye çekirdeğine kıyasla erisositrin, rutin, naringin gibi narenciyelere özgü acılık üzerinde önemli rol oynayan flavanonları daha düşük düzeyde içerdiği belirlenmiştir. Soğuk presleme öncesi çekirdeklere mikrodalga uygulamasının, elde edilen yağın fenolik kompozisyonu üzerinde istatistiksel olarak önemli etkilere sebep olduğu, hesperidin dışındaki flavanonların düzeyinde artışa yol açtığı gözlenmiştir. Analiz edilen tüm bu değerler, lezzet profil testinden alınan sonuçları da destekler niteliktedir. Şayet portakal çekirdek yağlarına ait acılık ve gırtlakta yakıcılık değerleri mikrodalga muamelesi sonucunda artmış fakat diğer narenciye türlerine kıyasla halen en düşük skorlara sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.22).

Karoui ve Marzouk (2013) turunç (*C. Aurantium*) türlerine ait meyve suyu ve kabuğunda bulunan bioaktif bileşiklerin tayinine yönelik olarak gerçekleştirdikleri araştırmalarında, *p*-kumarik ve ferulik asitler baskın olmak üzere, fenolik kompozisyonun yaklaşık %70'lik bir kısmının fenolik asitlerden oluştuğunu ve bunu flavonoidlerin takip ettiğini tespit etmişlerdir. Tür farklılığı olmakla birlikte araştırmacıların turunç için rapor ettiği *tr*-2-hidroksisinamik ve gallik asit değerleri portakal çekirdeğinde bulduğumuz değerler ile benzerlik göstermektedir.

Nayak ve ark. (2015) farklı ekstraksiyon tekniklerinin (ultrason destekli, konvansiyonel ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, mikrodalga muamelesi) portakal kabuğu fenolik kompozisyonu üzerine etkisini incelemiş ve özellikle mikrodalga uygulamasının diğer üç ekstraksiyon tekniğine kıyasla daha yüksek kafeik ve ferulik asit değerleri alınmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Rapor edilen bu verilere benzer olarak, portakal çekirdeklerine mikrodalga uygulanmasının gallik asit hariç diğer tüm fenolik asitlerin miktarında artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Peterson ve ark. (2006) tarafından yapılan bir derlemede greyfurt meyvesindeki naringin, neohesperidin ve hesperidin miktarları (sırasıyla 48, 31 ve 18 mg/100g taze meyve) çalışmamızda analiz edilen değerlere kıyasla daha düşük bildirilmiştir.

Kantitatif tanımlama testi (QDA) ile gerçekleştirilen duyu analizler sonucunda (Çizelge 4.22) greyfurt çekirdek yağlarının acılık ve gırtlakta yakıcılık gibi duyu terimler bakımından en yüksek skorlara sahip olması, rutin, naringin, naringenin ve neohesperidin düzeylerinin limon ve portakal yağlarına kıyasla çok daha yüksek olmasını açıklar niteliktedir.

Çizelgedeki veriler incelendiğinde dikkati çeken bir diğer önemli husus da, presleme öncesi tohumlara acılık giderici naringinaz ve hesperidinaz enzim uygulamalarının olumlu etkiler sergilediği, başta naringin ve hesperidin olmak üzere, naringenin ve neohesperidin

gibi aglikon formların indirgenmesinde dahi başarılı sonuçlar alınmasına yardımcı olmuştur. Tüm bu indirgenmeler istatistiksel olarak da önemli ($P \leq 0,05$) bulunmuştur. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağlarda analiz edilen fenolik bileşenlerin (Çizelge 4.21), soğuk presleme ile elde edilen yağların fenolik kompozisyonu ile paralel sonuçlar sergilediği söylenebilir. Kompozisyonda baskın olarak yer alan bileşenler flavonoid grubu için eriositrin, naringin, hesperidin, neohesperidin ve rutin, fenolik asitler içinse *tr*-ferulik, gallik ve rosmaririk asit olarak analiz edilmiştir. Kontrol grupları arasında yapılan karşılaştırmada eriositrin, hesperidin ve rutin sırasıyla limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri fenolik kompozisyonlarının majör bileşenleri olarak belirlenmiştir.



Çizelge 4.21. Soğuk pres yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg)

Fenolik bileşikler	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Kateşin	55,04±5,22	-	74,70±11,80 ^a	81,80±16,20 ^a	ted	ted
Eriositrin	634,40±74,10	-	73,72±3,20 ^a	75,20±12,70 ^a	100,38±4,03 ^a	117,30±10,50 ^a
Rutin	40,20±7,429	-	33,83±0,34 ^a	42,07±0,549 ^a	387,90 ±82,20 ^a	254,60±18,20 ^b
Naringin	53,92±0,68	-	138,34± 6,25 ^a	107,10±35,00 ^a	327,10±21,50 ^a	331,20±16,30 ^a
Naringenin	21,87±0,52	-	30,62±0,58 ^a	19,57±8,07 ^a	31,92±3,93 ^a	28,13±0,87 ^a
Hesperidin	888,90±13,70	-	877,80±2,11 ^a	902,10±42,60 ^a	106,41±2,35 ^a	111,71±0,80 ^a
Neohesperidin	388,30±44,40	-	279,82±1,45 ^b	345,79±1,71 ^a	462,40±25,70 ^a	316,42±2,36 ^b
Kaemferol	39,45±2,26	-	17,94±0,49 ^a	12,49±3,88 ^a	13,77±1,23 ^a	12,00±0,35 ^a
Fenolik asitler	-					
Gallik asit	39,63±2,76	-	32,78±0,02 ^a	34,46±6,24 ^a	26,79±0,49 ^b	35,0 1±0,24 ^a
Şirinjik asit	7,21±0,07	-	7,07±0,01 ^a	7,04±0,09 ^a	6,78±0,02 ^a	6,76±0,01 ^a
<i>tr</i> -ferulik asit	237,0±18,80	-	397,45±3,20 ^a	364,70±70,40 ^a	128,54±3,19 ^a	127,42±1,49 ^a
Rosmanirik asit	37,67± 2,77	-	26,02±0,06 ^b	72,57±7,79 ^a	16,49±0,53 ^a	16,44±0,23 ^a
<i>tr</i> -2-hidroksisinnamik asit	16,76±0,59	-	37,27±1,49 ^a	44,99±1,42 ^a	13,57±0,37 ^a	12,30±0,95 ^a

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi.

4.12. Narenciye Çekirdek Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri

Narenciye yağlarının antimikrobiyal etkiler son yıllarda yaygın çalışılan konuların başından gelmektedir. Özellikle kabuklardan elde edilen esansiyel yağların yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği birçok araştırmacı (Viuda-Martos, 2008; Kırbaşlar ve ark., 2009; Javed ve ark., 2011) tarafından rapor edilen bulgular arasındadır.

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal etkisi disk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) metodlarına göre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* RSKK, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus cereus* NCIMB 7464, *Bacillus cereus* Holl., *E. coli* 0157:H7 ATCC 43895, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8913, *Salmonella typhimurium* ATCC 51812, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Klebsiella pneumonia* bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* gibi farklı mikroorganizmalar üzerinde denenmiştir.

Disk difüzyon yöntemiyle belirlenen sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 4.22), etkisi test edilen çekirdek yağlarının bakteri ve mayaların gelişimlerini farklı düzeylerde (bakteriler için 7-11 mm, mayalar için 8,6-9,9 mm aralığında zon büyüklüğü) inhibe ettiği belirlenmiştir. En yüksek inhibisyon etkisi *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ve *Escherichia coli* ATCC 25922'nin gelişimi üzerine (10-11 mm inhibisyon zonu) gözlenmiştir.

Kontrol grupları arasından yapılan karşılaştırmada limon çekirdek yağlarının, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarına kıyasla *Staphylococcus aureus* suşları, *E.coli* 0157:H7 ATCC 43895 ve *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076'nin gelişiminin engellenmesinde daha etkin olduğu belirlenmiştir. Portakal çekirdek yağları ise *Bacillus cereus* NCIMB 7464 ve *Bacillus cereus* Holl. 'a karşı antimikrobiyal aktivite sergileyen tek gruptur.

Analiz edilen yağların hiçbirinin *Micrococcus luteus* ATCC 4698 inaktivasyonunda etkisi gözlenmezken, bazı maya türlerine (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 ve *Candida albicans* ATCC 10231) karşı da antimikrobiyal aktivite izlenmemiştir. Sadece *Candida utilis* için limon çekirdek yağları ve portakal mikrodalga muamelesi gruplarından sonuç alınmıştır.

Limon çekirdek yağlarının soğuk preslemeye karşı solventle ekstrakte edilmesi, analiz edilen antimikrobiyal aktivitenin bazı bakteri türleri için azalmasına bazılarında ise artmasına yol açmıştır. Soğuk pres portakal çekirdek yağlarında *Bacillus cereus* NCIMB

7464, *Salmonella Typhimurium* ATCC 51812 ve *Candida utilis*'e karşı bir antimikrobiyal aktivite tespit edilmemesine rağmen, mikrodalga muamelesi sonrasında yağların bu mikroorganizmalara karşı etkin antimikrobiyal aktivite sergiledikleri belirlenmiştir. Bu bulgu, presleme öncesi çekirdeklere mikrodalga uygulanmasının yağların nutrasotik bileşenlerinin (sterol, tokoferol, toplam fenol, antioksidan kapasite) yanısıra antimikrobiyal aktivitelerini teşvik edici etki etmesi bakımından literatür için değerli bir katkıdır.

Greyfurt çekirdeklerine enzim uygulanmasının ise *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8913 ve *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 bakterileri hariç diğer mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivite artıcı yönde etkide bulunduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.22. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi)

Mikroorganizmalar	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikroalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
	İnhibisyon zonu (mm)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8,62±1,50	8,38±0,92	8,00±0,76	9,50±0,76	8,00±1,07	8,25±1,83
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8,12±0,99	9,25±1,58	8,38±1,76	8,75±0,71	7,75±0,89	8,00±0,93
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	9,75±0,70	10,12±0,64	9,25±1,75	9,25±0,70	9,00±0,92	9,25±1,49
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	10,62±0,92	9,75±1,03	9,50±0,92	8,75±1,30	9,50±0,76	10,25±0,46
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	.*	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	-	-	7,87±1,46	-	-
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	-	-	6,62±0,52	6,50±0,84	-	-
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	7,75±0,46	7,62±0,52	7,62±0,52	7,12±0,35	7,37±0,52	7,50±0,53
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9,12±0,99	9,37±1,30	8,37±1,30	11,00±2,88	11,00±3,25	8,37±1,40
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8913	7,75±0,76	8,00±0,76	7,12±,35	7,50±0,76	8,00±0,93	7,50±0,76
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	7,50±0,93	7,00±0,76	-	7,50±0,53	7,25±1,16	7,62±1,30
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	7,75±0,70	7,25±0,46	7,50±0,53	7,50±0,53	7,62±0,74	7,25±0,46
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	8,62±1,26	8,50±1,26	7,94±0,68	7,75±1	7,37±0,62	7,50±0,76
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8,00±1,09	8,25±1,26	8,00±1,309	9,62±2,85	9,87±1,89	10,87±0,83
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,33±1,50	7,37±0,92	8,75±1,75	10,12±2,59	7,50±1,41	9,37±1,60
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	9,92±1,93	8,67±1,50	-	9,75±2,26	-	-

* inhibisyon zonu 6 mm den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. ++ test edilmemiştir.

Çekirdek yağlarının minimum inhibitör konsantrasyonu ile belirlenen antimikrobiyal aktiviteleri (Çizelge 4.23) disk difüzyon yöntemi ile alınan sonuçlarla korelasyon sergilemektedir. Çizelge incelendiğinde, %100 konsantrasyonda dahi *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 hariç diğer bakteri ve maya türleri için gelişimin engellenemediği gözlenmiştir. En düşük konsantrasyon değerine *Staphylococcus aureus* RSKK'ya karşı limon çekirdek yağlarında (%2) ulaşılmıştır. Portakal çekirdek yağları ise *Klebsiella pneumoniae* karşı %16 ve 50 konsantrasyonlarında inhibisyon sergilemişlerdir.

Çizelge 4.24'te soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş antimikrobiyal aktivitelerine ilişkin veriler yer almaktadır. *Bacillus cereus* NCIMB 7464, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri haricinde, her üç türe ait kontrol gruplarının sergilediği antimikrobiyal aktiviteler arasında önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Çekirdek yağlarına benzer biçimde (Çizelge 4.24) etkisi test edilen tüm yağlar içerisinde sadece portakal çekirdeği yağlı keklerinden ekstakte edilen yağların *Bacillus cereus* Holl. 'a karşı inhibisyon sergilediği tespit edilmiştir.

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların MİK yöntemi ile belirlenmiş antimikrobiyal etkileri (Çizelge 4.25) incelendiğinde ise, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 hariç diğer tüm mikroorganizmalar için %100 konsantrasyonda dahi inhibisyon etkisi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.23. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (minumum inhibitör konsantrasyonu)

Mikroorganizmalar	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
	Konsantrasyon (%)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-*	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	2	2	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	-	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8913	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	100	-	100	100	100	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	16	50	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	-*	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	-	-	-	-	-	-

* %100 konsantrasyonda üreme vardır. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması olarak verilmiştir.

Çizelge 4.24. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi)

Mikroorganizmalar	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
	İnhibisyon zonu (mm)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8,00±0,54	0	7,62±0,52	9,00±0,76	8,00±0,53	8,87±0,83
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8,00±1,51	0	7,62±0,54	10,62±1,51	7,75±1,28	7,25±0,46
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	9,25±1,58	0	9,12±0,83	8,89±1,25	9,62±1,60	8,62±0,74
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	9,87±0,99	0	9,37±1,30	9,50±1,07	9,25±0,88	9,12±1,25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	-*	0	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	0	7,87±1,46	6,75±0,50	6,50±0,55	-
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	-	0	-	8,50±2,00	-	-
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	7,50±0,53	0	7,50±0,76	7,62±0,74	7,50±0,53	7,25±0,46
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10,25 ±1,91	0	7,12±0,35	7,50±0,76	7,25±0,71	7,12±0,35
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8913	7,50±0,53	0	8,87±1,73	7,50±0,53	7,75±1,49	8,75±0,71
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	7,62±1,69	0	7,75±0,71	7,50±0,53	7,37±0,92	7,25±0,46
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	7,87±0,64	0	7,25±0,71	7,75±0,89	7,62±0,52	7,37±0,52
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	7,56±1,14	0	7,75±0,93	7,25±0,45	7,87±1,02	8,29±1,64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	0	-	7,00±0,76	6,75±0,45	6,75±0,45
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8,87±1,25	0	9,00±1,77	8,25±1,28	8,50±0,93	9,12±1,12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	-	0	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	0	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	-	0	-	8,75±1,66	-	-

* inhibisyon zonu 6 mm den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

Çizelge 4.25. Soğuk pres yağlı keklerinden ekstrakte edilen narenciye çekirdek yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (minumum inhibitör konsantrasyonu)

Mikroorganizmalar	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
	Konsantrasyon (%)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-*	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8913	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	100	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	-	-	-	-	-	-

* %100 konsantrasyonda üreme vardır. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması olarak verilmiştir.

Gerek narenciye çekirdek yağları gerekse yağlı keklerden ekstrakte edilen yağların antimikrobiyal aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla ticari antibiyotik duyarlılık diskleri kullanılmıştır (Çizelge 4.26). Piperasilin ve mezlosilin'in *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ampisilinin ise *Staphylococcus aureus* RSKK gelişiminin inhibe edilmesinde, limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarına benzer aktivite sergilediği ve yakın büyüklükte inhibisyon zonları oluşturduğu görülmektedir. Diğer bir ifadeyle soğuk preslemeyle elde edilen narenciye çekirdek yağlarının, bakteriyel gelişimin engellenmesinde ticari antibiyotik diskler kadar etkili olabileceğini söylemek mümkündür. Narenciye çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonunda yer alan bazı flavonoidler ve fenolik asitlerinde bireysel antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir (Çizelge 4.27). Flavonoidler arasında bakteri ve maya gelişiminin engellenmesi bakımından belirgin farklılıklara rastlanmamış, diğer bir ifadeyle birbirine yakın büyüklüklerde inhibisyon zonları oluşturdukları tespit edilmiştir.

Fenolik asitler arasında karşılaştırma yapıldığında genel olarak *Staphylococcus aureus* suşlarının inhibisyonunda klorojenik, *tr*-ferulik ve rosmanirik asitlerin daha etkili olduğu gözlenmiştir. *Bacillus cereus* NCIMB 7464 için en büyük inhibisyon zonu *tr*-ferulik ve rosmanirik asit tarafından oluşturulmuştur. Tüm bu bulgular ile *tr*-ferulik ve rosmanirik asit içerikleri limon ve greyfurta kıyasla daha yüksek olan portakal çekirdek yağlarının (özellikle muamale görmüş grup), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, 25923 suşları ve *Bacillus cereus* NCIMB 7464'e karşı daha fazla antimikrobiyal aktivite sergilemesi arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanısıra mikrodalga+soğuk presleme ile elde edilen portakal çekirdek yağlarının kontrole kıyasla daha yüksek *tr*-ferulik ve rosmanirik asit içermesi (Çizelge 4.20), mikrodalga muamelesi sonucunda artan antimikrobiyal aktiviteyi açıklar nitelikte bir bulgudur.

Çizelge 4.26. Antibiyotik disklerinin antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi)

Mikroorganizalar	Ampisilin	Sulbaktam,	Piperasilin	Tobramisin	Mezlosilin	Amoksisil	Sikloheksimid
	(10µg)	Sefaperazon (10,5µg)	(100µg)	(10µg)	(75µg)	in	(%0,1)
İnhibisyon zonu (mm)							
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	29,25±4,35	32,50±1,00	24,75±0,96	24,75±0,96	38,50±1,91	40,25±0,50	- ⁺⁺
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-*	26,25±1,71	9,00±2,58	15,25±0,96	10,25±0,96	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	11,00±0,82	26,00±5,88	17,00±4,24	21,00±1,15	17,60±4,39	30,00±0,01	- ⁺⁺
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	31,75±3,4	34,50±3,31	40,35±3,51	26,00±1,15	33,25±3,95	31,00±1,15	- ⁺⁺
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	38,00±2,88	38,00±2,88	40,00±0,01	21,00±1,82	38,25±2,36	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-*	18,00±1,26	18,25±1,71	19,50±0,58	18,00±1,41	10,25±0,96	- ⁺⁺
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	-*	17,00±2,00	22,75±0,96	19,00±1,41	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	23,00±2,58	25,00±2,58	16,25±0,50	- ⁺⁺
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	22,00±0,82	20,75±0,96	20,00±0,01	- ⁺⁺
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8913	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	21,00±0,81	21,75±1,26	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	18,75±0,5	22,25±0,50	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	15,50±0,581	17,75±0,50	24,50±1,29	- ⁺⁺
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	20,75±2,06	22,25±2,87	23,50±0,58	- ⁺⁺
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	24,75±3,40	18,00±1,41	- ⁺⁺	- ⁺⁺
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	13,00±0,01	11,25±1,29	14,50±0,58	- ⁺⁺
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	37,50±1,50
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	47,00±1,29
<i>Candida utilis</i>	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	- ⁺⁺	36,80±7,87

* inhibisyon zonu 6 mm den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. ⁺⁺ test edilmemiştir.

Çizelge 4.27. Bazı fenolik standart ve antibiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi)

Mikroorganizmalar	Flavonoidler							Sulbaktam Sefoperazone (10.5µg)	Piperasilin (100µg)
	Naringin	Naringenin	Hesperidin	Neohesperidin	Kateşin	Kaemferol			
	İnhibisyon zonu (mm)								
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	9,25±2,21	10,25±1,26	10,67±1,15	10,75±1,50	11,25±0,96	8,00±0,82	-	45,00±5,77	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10,50±0,58	.*	-	-	10,00±0,01	-	33,00±0,82	-	
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	9,50±0,58	10,50±0,58	10,75±0,96	10,25±0,50	11,00±0,82	9,75±1,26	26,00±5,88	17,00±4,24	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	13,50±0,71	11,50±0,71	-	11,25±0,96	12,50±0,71	9,00±0,82	41,00±1,41	-	
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	13,10±1,83	13,00±0,82	13,50±1,29	20,50±1,29	12,75±1,71	11,00±0,82	38,00±2,88	40,00±0,01	
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	-	-	9,50±0,71	-	-	15,00±0,81	..+	
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	10,00±1,41	-	9,50±1,29	10,75±2,97	9,75±1,26	-	28,00±2,00	22,75±0,96	
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	12,50±0,58	10,25±0,96	11,00±1,64	10,50±2,38	11,25±0,96	10,50±0,58	25,50±2,51	24,50±1,00	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9,25±0,96	9,25±1,58	14,00±1,73	10,75±1,71	12,50±1,29	9,00±0,01	28,00±1,41	23,75±2,63	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	-	8,25±0,96	9,25±2,22	6,67±0,58	-	32,75±0,56	-	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	12,75±1,71	16,25±0,50	13,75±0,50	13,25±3,30	13,00±2,94	12,00±1,41	31,00±2,58	26,50±0,71	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	9,75±0,96	10,75±2,06	11,75±3,69	10,50±1,87	10,50±0,58	10,75±2,75	28,75±1,75	24,50±0,58	
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	12,00±1,83	-	10,75±0,50	10,67±1,15	11,34±1,53	12,25±0,96	25,75±9,6	25,00±2,71	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11,25±0,50	8,00±0,81	11,25±1,50	8,25±0,96	10,00±1,15	7,33±0,58	26,75±1,26	30,25±1,26	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	8,00±0,82	11,25±0,96	11,25±1,26	11,50±1,29	8,00±0,01	11,50±1,73	24,25±1,25	11,50±2,38	

* inhibisyon zonu 6 mm den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. ..+ test edilmemiştir

Çizelge 4.27. (Devamı) Bazı fenolik standart ve antibiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon yöntemi)

Mikroorganizmalar	Fenolik asitler							
	Gallik asit	Şirinjik asit	tr-Ferulik asit	Rosmanirik asit	tr- 2- Hidroksisinnamik asit	Klorojenik asit	Sulbaktam Sefaperazone (10.5µg)	Piperacillin (100µg)
	İnhibisyon zonu (mm)							
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	7,50±0,58	9,00±1,82	9,00±0,82	10,50±1,50	8,25±1,26	10,75±0,96	-	45,00±5,77
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-*	9,34±2,08	8,75±1,50	8,00±1,00	8,00±1,00	-	33,00±0,82	-
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	9,50±1,29	9,50±1,29	10,75±0,96	9,62±1,60	10,00±2,16	9,75±0,96	26,00±5,88	17,00±4,24
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	-	11,00±1,41	10,50±0,71	11,50±0,71	9,75±0,5	9,50±0,58	41,00±1,41	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	10,00±0,82	14,50±1,29	18,25±1,71	12,25±0,50	16,50±0,58	15,50±2,52	38,00±2,88	40,00±0,01
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	9,50±0,71	10,25±0,50	9,50±0,71	7,34±0,58	9,25±1,26	15,00±0,81	- ⁺⁺
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	12,50±1,73	-	10,25±1,56	10,00±1,41	8,25±1,25	9,50±1,29	28,00±2,00	22,75±0,96
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	11,00±2,45	10,25±1,26	10,25±1,26	10,75±0,50	12,25±0,96	10,75±1,50	25,50±2,51	24,50±1,00
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	9,00±1,15	9,50±1,73	10,34±1,53	9,25±0,96	10,25±0,96	28,00±1,41	23,75±2,63
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7,75±0,96	10,50±0,58	11,50±1,29	-	10,00±2,16	-	32,75±0,56	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 51812	10,75±0,96	15,00±1,15	13,00±1,15	11,25±0,57	11,00±0,82	12,25±0,96	31,00±2,58	26,50±0,71
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	11,50±3,69	9,75±1,50	10,25±2,06	10,00±1,83	9,75±0,96	11,00±2,16	28,75±1,75	24,50±0,58
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	11,75±0,50	11,00±0,50	10,00±1,64	10,00±0,81	12,75±2,22	10,50±0,71	25,75±9,6	25,00±2,71
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10,25±1,71	10,50±1,73	9,50±1,29	9,25±0,96	9,25±0,96	9,50±1,29	26,75±1,26	30,25±1,26
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	10,00±1,63	8,75±1,26	9,50±1,29	12,75±0,5	11,50±0,71	11,00±1,41	24,25±1,25	11,50±2,38

* inhibisyon zonu 6 mm den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. ⁺⁺ test edilmemiştir.

4.13. Narenciye Çekirdek Yağlarının Uçucu (Aromatik) Bileşen Özellikleri

Narenciye çekirdek yağ örneklerine ait tüm uçucu bileşenler SPME tekniği kullanılarak GC-MS sisteminde analiz edilmiş ve bulgular Çizelge 4.28’de gösterilmiştir.

Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarında tespit edilebilir konsantrasyonda belirlenen başlıca uçucu aroma maddeleri D-limonene, β -myrcene, γ -terpinene, β -pinene, β -cymene, α -pinene ve α -terpineol’dür. Tespit edilen bileşenler karakteristik olarak benzer olmakla birlikte, limon çekirdek yağlarında toplam 36, portakal çekirdek yağlarında 33 ve greyfurt çekirdek yağlarında ise 26 adet aromatik bileşen tespit edilmiştir. Çizelge incelendiğinde hexanal, α -pinene, benzaldehyde ve d-limonene gibi uçucu bileşenlerin tüm narenciye çekirdek yağları için hem kontrol hem de muamele gruplarında ortak tespit edildikleri görülmektedir.

Limon yağlarındaki en baskın uçucu bileşenin taze turunçgil aromasına sahip d-limonen olduğu ve bunu sırasıyla γ -terpinene, β -pinene, β -cymene ve β -myrcene’nin takip ettiği görülmektedir. Belirlenen uçucu bileşenlerin aroma/lezzet tanımlarına bakıldığında limon yağının beklendiği üzere turunçgil aroması yönünden oldukça zengin olduğu ve bunun yanısıra terpenik, bitkisel, baharatlı, odunsu ve yeşil çam gibi notaları da barındırdığı belirlenmiştir.

Limon çekirdeklerinden solvent ekstraksiyonu uygulanarak elde edilen yağların soğuk presleme ile benzer sayıda uçucu bileşen içerdiği fakat miktar olarak thymol ve nerylasetat hariç diğer uçucu bileşenlerin miktarında indirgenmeye yol açtığı belirlenmiştir. Xylene, isobutyl isobutyrate, butyl isobutanoate, isobutyl butanoate ve 3-pentanol solvent ekstraksiyonu sonucunda açığa çıkan uçucu bileşenler olarak belirlenirken, furfural, isoamyl acetate, 6-methyl-5-hepten-2-one ve 4-carene gibi bileşenler yalnızca soğuk pres limon çekirdek yağlarında tespit edilebilmiştir.

Gözlenen bulgular içerisinde en önemli olanı, solventle ekstrakte edilen yağlarda hekzan kalıntısına rastlanmasıdır ki bu durum tüketim açısından tehlike arz etmektedir.

Düşük molekül ağırlığına sahip düz, dallanmış ve siklik doymuş alkan karışımı olarak tanımlanan hekzan yağ ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan bir solvent çeşididir. Canlı doku üzerinde toksik etkiye sahip olduğu, tüketiminin yanısıra buharlarına maruz kalınmasının dahi baş dönmesi, sersemleme, baş ağrısı, sinirsel rahatsızlıklar, eklemlerde uyuşma ve zayıflık, yorgunluk gibi akut ve kronik türde yan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Pena ve ark., 2003)

Soğuk pres tekniğiyle elde edilen yağların hekzan yada diğer solventleri içermemesi hatta bunun aksine birçok biyoaktif bileşeni de yüksek düzeylerde ihtiva ediyor olması bu tür

yağları çok değerli kılmaktadır (Khoddami ve ark., 2014; Yılmaz ve ark., 2015a, 2015b). Soğuk presle elde edilen yağlarda tespit edilemezken, solventle ekstrakte edilen limon çekirdek yağlarında 108 µg/kg yağ düzeyinde hekzan kalıntısına rastlanması sağlık bakımından endişe arz etmekte ve soğuk pres yağların bu bakımdan avantajlı olduklarını açıkça ortaya çıkarmaktadır.

Avrupa Birliği tarafından katı ve sıvı yağlar için izin verilen kalıntı hekzan düzeyi 5 mg/kg yağ olarak bildirilmiştir (Peña ve ark., 2003). Hautfenne ve ark. (1987) rafine gıdalarda ki hekzan kalıntısının 2 ppm den daha az olması gerektiğini ve ortalama 70 kg ağırlığındaki bir kişinin günde 80 g yağ tüketmesi durumunda kalıntı düzeyinin 2,29 g/kg/gün düzeyine erişebileceğini ve bu düzeyin toksikolojik etki sergileyebileceğini rapor etmiştir.

Ülkemizde yapılan düzenlemeye göre (TGK, 2002), Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de solvent ekstraksiyonunda yağ maddelerinin ayrışması için kullanılan hekzanın, katı ve sıvı yağlar için kabul edilebilir en yüksek kalıntı değeri 5 mg/kg olarak limitlenmiştir.

Solventle ekstrakte edilen limon çekirdeği yağlarında tespit edilen hekzan düzeyi, bu değerlerin altında kalmakla birlikte biyobirikime sebep olacağı ve uzun dönemde ciddi problemlere yol açabileceği düşünülmektedir.

Farklı narenciye türlerine ait kabuk esansiyel yağlarının kimyasal karakterizasyonunu belirlemek için yürütülen bir çalışmada (Viuda-Martos ve ark., 2009) mandalina, limon, portakal ve greylif esansiyel yağları için sırasıyla limonen (%74,7) ve γ -terpinen (%15,7), limonen (%69,9) ve β -pinen (%11,2), limonen (%94,9) ve β -myrcen (%1,16), limonen (%96,2) ve myrcen (%1,4) temel uçucu bileşenler olarak belirlenmiştir. Rapor edilen bulgular incelendiğinde analiz edilen dört tür içinde limonenin en baskın bileşen olduğu açıkça görülmektedir.

Tunus'ta yetişen dört farklı narenciye türüne ait kabuk esansiyel yağlarının kimyasal kompozisyonu ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve toplam 40 adet uçucu bileşen tanımlanmıştır (Bourgou ve ark., 2012). Daha önce birçok araştırmacı tarafından rapor edilen bulgulara benzer şekilde limonen, β -pinen ve γ -terpinen majör bileşenler olarak rapor edilmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı sergilene antibakteriyel etkinin azalması ve artması üzerinde olgunlaşma süresinin önemli derecede etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.28. Limon çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)	
				Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu
1	600	Hexane	-	ted	108, 41±1,69
2	716	Acetoin	Kremamsı, tereyağ	23,32±0,01	ted
3	799	Hexanal	Taze yeşil çimen	10,65±0,01	5,89±0,57
4	813	Furfural	Karamel, pişmiş ekmek	3,68±0,02	ted
5	877	Isoamyl acetate	Muz, meyvemsi	7,49±0,02	ted
6	887	Xylene	Tatlı	ted	16,34±3,14
7	914	Isobutyl isobutyrate	Armut, ananas	ted	0,62±0,28
8	924	α-Thujene	Odunsu, yeşil bitki	28, 15±0,01	0,57±0,22
9	930	α-Pinene	Bitkisel, terebentin, odunsu	98,26±0,09	1,90±0,39
10	942	Isopropyl valerate	Meyvemsi, ananas	14,68±0,01	12,28±1,17
11	954	Benzaldehyde	Acı badem	6, 84±0,01	1,99±0,17
12	955	Butyl isobutanoate	Meyvemsi, ananas	ted	1,87 ±0,04
13	958	Isobutyl butanoate	Meyvemsi, ananas	ted	2,57±0,82
14	972	β-pinene	Odunsu, yeşil çam	472, 49±0,02	19,39±1,41
15	987	6-Methyl-5-Hepten-2-One	Turunçgil, yeşil, yağlı	16, 42±0,01	ted
16	991	β -Myrcene	Baharatlı, terpenik, bitkisel	213, 72±0,02	4,47±0,30
17	1000	α-Phellandrene	Terpenik	12, 11±0,07	0,34±0,21
18	1010	3-Pentanol	Tatlı, bitkisel	ted	1,41±0,94
19	1014	4-Carene	Turunçgil meyvesi/kabuğu	23,58±0,06	ted
20	1021	β-Cymene	Terpenik	224, 51±0,12	22, 94±0,44
21	1027	D-Limonene	Taze turunçgil	8529, 0±0,04	574, 83±45,10

Çizelge 4.28. (Devamı) Limon çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)	
				Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu
22	1051	β-Ocimene	Çiçeksi, yeşil	10,27±0,01	0,69±0,17
23	1058	γ-Terpinene	Terpenik	655,89±0,12	53,94±2,42
24	1085	Terpinolene	Bitkisel, odunsu, turunçgil	28,07±0,01	2,26±0,23
25	1098	Linalool	Turunçgil, meyvemsi	9,28±0,01	1,97±0,11
26	1103	Nonanal	Turunçgil kabuğu, gül	1,44±0,01	0,90±0,02
27	1139	Limonene oxide	Turunçgil	4,38±0,08	1,30±0,18
28	1179	4-Carvomenthanol	Odunsu, nane	35,63±0,05	16,53±1,11
29	1190	α-Terpineol	Yağlı, nanen	46,13±0,01	26,86±1,65
30	1231	Nerol	Çiçeksi, taze gül	7,16±0,08	4,51±0,01
31	1235	β-Citronellol	Çiçeksi	2,36±0,01	1,45±0,02
32	1261	Geraniol	Çiçeksi, gül, meyvemsi	10,54±0,01	9,42±0,24
33	1294	Thymol	Bitkisel, kekik	0,85±0,02	1,58±0,39
34	1386	Neryl acetate	Çiçeksi, taze gül, turunçgil	1,98±0,02	2,56±0,08
35	1415	Caryophyllene	Baharatlı, odunsu	1,64±0,01	1,08±0,06
36	1437	(E)-α-Bergamotol	Odunsu, çay yaprağı	2,11±0,01	1,44±0,09

*RI (Kovat Index) materyal ve yöntem bölümünde yazılan formüle göre hesaplanmıştır.

**Uçucu bileşenlerin aroma ve tat duyularına ait tanımlar <http://www.thegoodscentscompany.com/index.html#> ve <http://www.leffingwell.com/> kaynaklarından sağlanmıştır. Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. ted: tespit edilemedi.

Portakal çekirdek yağlarının uçucu bileşen kompozisyonu incelendiğinde (Çizelge 4.29), limon çekirdek yağlarına benzer şekilde D-limonen'in en yüksek konsantrasyona sahip olduğu ve onu sırasıyla β -myrcene, α -terpineol ve β -pinene takip ettiği belirlenmiştir. Soğuk presleme öncesi çekirdeklere uygulanan mikrodalga işlemi, yağlarda tespit edilen bileşenlerin toplam sayısında değişikliğe yol açmazken, kontrol grubuna kıyasla miktar olarak farklılıklar sergilemiştir. Mikrodalga muamelesi sonrasında hexanal, furfural, 2-furan menthol, benzaldehide ve (E)- limonene oxide miktarlarında artış gözlenirken, kavrulmuş aroma ile bilinen methyl pyrazine ve 2,5-dimethylpyrazine ile octanal, 3-methoxy-1-butanol gibi uçucu bileşenlere sadece muamele grubunda rastlanmıştır. Pyrazinlerin oluşumu uygulanan ısı işlem neticesinde beklenen bir durum olup, daha önce gerçekleştirdiğimiz benzer amaçlı çalışmalarımızda da ortaya konulmuştur. Soğuk presleme öncesi kavurma, mikrodalga muamelesi gibi işlemlerin uygulandığı aspir, haşhaş ve kapyra biber tohumlarından ekstrakte edilen yağların 2-methyl-5-pyrazine, 2,5-dimethyl pyrazine, 2,3- dimethyl 5-ethyl pyrazine, 2-ethyl-pyrazine, 3,5-dimethyl-2-ethylpyrazine, 2-acetyl-6-methylpyrazine gibi pyrazine türevleri bakımından oldukça zengin olduğu belirlenmiştir (Aydeniz ve ark., 2014; Dündar ve ark., 2015, Yılmaz ve ark., 2015a).

Soğuk pres portakal çekirdek yağlarının karakteristik lezzetini oluşturan d-limonen miktarında, mikrodalga muamelesi sonrası %22 düzeyinde bir indirgenme meydana geldiğini, bunun yanısıra kontrol grubuna ait yağların meyvemsi (muz, ananas vb.), kremamsı, çiçeksi, bitkisel, odunsu, baharatlı ve terpenik aromalar bakımından daha zengin olduğunu söylemek mümkündür.

Qiao ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, tatlı portakal türlerine ait kabuk yağları ve meyve suyu aroma kompozisyonları GC-MS ve GC-olfaktometri teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir. Aroma profilleri karşılaştırıldığında meyve suyuna ait kompozisyonunun kabuk yağına kıyasla daha kompleks olduğu görülmüştür. Meyve suyu için ethyl butanoate, β -myrcene, octanal, linalool ve decanal; kabuk yağı içinse linalool (turunçgil), α -pinene (terebentin, odunsu) ve decanal (portakal, tatlı) majör aroma bileşenleri olarak rapor edilmiştir. Araştırmacıların kabuk yağı için belirledikleri uçucu bileşenlerin, portakal çekirdek yağlarımızın genel aroma karakteristiği (turunçgil, odunsu, yeşil çam) ile benzerlik sergilediği görülmektedir.

Greyfurt çekirdek yağlarında tespit edilen uçucu bileşenler (Çizelge 4.30) hem sayı hem de miktar bakımından limon ve portakal çekirdek yağlarına kıyasla daha az bulunmuştur. D-limonen majör uçucu bileşen olarak belirlenmesine rağmen, diğer iki tür narenciyeinin soğuk pres yağları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük konsantrasyona sahip olduğu

görülmektedir.

2-furan menthol, isoamyl acetate, butyrlactone, isopropyl pentanoate, 2-pentyl furan, 3-methoxy-1-butanol, γ -terpinene, 1-octenol ve α -terpinolene sadece enzimle muamele edilen çekirdek yağlarından tespit edilmiş olup, enzim muamelesinin yağın meyvemsi, kremamsı, karamelimsi ve bitkisel aromasını geliştirici yönde etki ettiği belirlenmiştir. Acılık giderici enzimlerin turunçgillerin karakteristik aromasını oluşturan d-limonen düzeyinde neredeyse yarı yarıya indirgenmeye neden olması, enzimlerden beklenen etkinin sağlandığını gösteren önemli bir diğer bulgudur.

GC-olfaktometri tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada (Lin ve Rouseff, 2001) soğuk pres greyfurt kabuk yağlarının aroma aktif bileşenleri incelenmiştir. Tespit edilen 38 aroma bileşeni içerisinde 1,8-cineole, octanal, dodecanal, trans-4,5-epoxy-(E)-2-decenal, β -sinensal ve nootkatone en fazla aroma yoğunluğuna sahip bileşikler olarak rapor edilirken, sülfür bileşenlerinin (4-mercapto-4-methyl-2-pentanol, methional vb.) miktarı beklenenden daha düşük bulunmuştur.

Literatürdeki verilerle karşılaştırdığımızda, narenciye çekirdek yağlarımızda daha az uçucu bileşen tespit edildiği görülmektedir. Bu durumun, literatürün özellikle narenciye kabuk esansiyel yağları üzerine odaklanmasında kaynaklandığı düşünülmektedir. Narenciye çekirdeklerinden soğuk preslemeyle elde edilen yağların diğer kompozisyonel özelliklerinin yanısıra, uçucu bileşen kompozisyonları hakkında da yeterli bilgiye ulaşmak halen mümkün değildir.

Çizelge 4.29. Portakal çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)	
				Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk Presleme
1	-	3-Methylbutanal	Meyvemsi, tatlı	ted	39,05±6,97
2	716	Acetoin	Kremamsı, tereyağ	24,23±0,87	18,11±2,83
3	799	Hexanal	Taze yeşil çimen	8,90±0,03	16,30±0,95
4	813	Furfural	Karamel, pişmiş ekmek	24,07±5,97	45,36±2,10
5	825	Methyl pyrazine	Fındığımsı, kavrulmuş, kakao	ted	20
6		2-Furan menthol	Kavrulmuş kahve, yanık	4,07±0,77	7,96±0,33
7	877	Isoamyl acetate	Muz, meyvemsi	2,80±0,15	2,52±0,53
8	891	Butyrlactone	Kremammsı, yağlı, karamel	0,38±0,28	ted
9	911	2,5-Dimethylpyrazine	Fındığımsı, kavrulmuş	ted	4,14±0,25
10	914	Butyl isobutyrate	Armut, ananas	0,89±0,27	ted
11	924	α-Thujene	Odunsu, yeşil bitki	2,86±0,26	2,38±0,004
12	930	α-Pinene	Bitkisel, terebentin, odunsu	24,96±0,22	17,68±1,31
13	942	İsopropyl pentanoate	Meyvemsi, armut	11,52±0,08	11,59±0,15
14	954	Benzaldehyde	Acı badem	5,24±1,12	6,50±0,13
15	972	β-Pinene	Odunsu, yeşil çam	47,59±2,58	31,34± 0,720
16	991	β-Myrecene	Baharatlı, bitkisel	124,89±13,55	87,33±6,50
17	1000	α-Phellandrene	Terpenik, turunçgil	3,99±0,22	3,57 ±0,18

Çizelge 4.29. (Devamı) Portakal çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI ^a	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı ^b	Konsantrasyon (µg/kg yağ)	
				Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk Presleme
18	1004	Octanal	Mumsu, yağlı	ted	2,03 ±0,53
19	1014	3-Carene	Tatlı	2,89 ±0,490	2,33±0,19
20		3-Methoxy-1-butanol	Alkol	ted	2,70 ±0,47
21	1015	Hexyl acetate	Meyvemsi, yeşil elma	4,15±0,63	6,51±4,27
22	1021	β-Cymene	Terpenik	22,27±1,21	14,38±0,73
23	1027	D-Limonene	Taze turunçgil	5902,07±308,59	4568,84±287,69
24	1052	α-Ocimene	Meyvemsi, çiçeksi	1,70±0,07	1,19±0,04
25	1058	γ-Terpinene	Terpenik	32,11±1,02	27,97±1,97
26		1-Octenol	Yeşil, yağlı, bitkisel	1,04±0,18	0,55±0,13
27	1088	(Z)-Linalooloxide	Toprak, çiçeksi	1,88±2,67	ted
28	1089	α-Terpinolene	Bitkisel, odunsu, turunçgil	12,19±2,51	10,14±0,08
29	1107	Phenylethyl alcohol	Çiçeksi, tatlı, gül	0,52±0,38	ted
30	1139	(E)-Limonene oxide	Turunçgil	0,93±0,16	1,32±0,27
31	1179	4-Carvomenthol	Odunsu, baharatlı	0,85±0,17	0,77±0,01
32	1190	α-Terpineol	Çiçeksi, leylak	49,32±8,79	44,17±0,24
33		Decyl acetate	Mumsu, yağlı, kremamsı	0,87±0,29	0,70±0,02

*RI (Kovat Index) materyal ve yöntem bölümünde yazılan formüle göre hesaplanmıştır.

**Uçucu bileşenlerin aroma ve tat duyularına ait tanımlar <http://www.thegoodscentscompany.com/index.html#> ve <http://www.leffingwell.com/> kaynaklarından sağlanmıştır. Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. ted: tespit edilemedi.

Çizelge 4.30. Greylurt çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)	
				Soğuk presleme	Enzim + Soğuk Presleme
1	-	3-Methylbutanal	Meyvemsi, tatlı	27,77±8,48	28,46±2,87
2	716	Acetoin	Kremamsı, tereyağ	11,54±2,63	ted
3	799	Hexanal	Taze yeşil çimen	7,76±1,81	6,86±0,98
4	813	Furfural	Karamel, pişmiş ekmek	60,26±16,43	20,35±3,16
5	825	Methyl pyrazine	Fındığımsı, kavrulmuş, kakao	1,51±0,92	2,02±0,60
6		2-Furan menthol	Kavrulmuş kahve, yanık	ted	5,51±0,89
7	877	Isoamyl acetate	Muz, meyvemsi	ted	6,01±1,52
8	885	Heptanal	Yeşil bitki, yağlı	0,90±0,47	0,70±0,02
9	891	Butyrlactone	Kremamsı, yağlı, karamel	ted	1,92±0,18
10	911	2,5-Dimethylpyrazine	Fındığımsı, kavrulmuş	6,05±2,52	ted
11	914	Butyl isobutyrate	Armut, ananas	2,03±0,46	2,04±0,07
12	930	α-Pinene	Bitkisel, terebentin, odunsu	0,65±0,18	0,43±0,05
13	942	İsopropyl pentanoate	Meyvemsi, armut	ted	16,20±1,77
14	954	Benzaldehyde	Acı badem	4,76±1,13	3,14±0,25
15	962	5-Methyl furfural	Tatlı, karamel	5,49±2,41	9,52 ±7,67
16	972	β-Pinene	Odunsu, yeşil çam	ted	0,54±0,16
17	977	4-Octanone	Bilinmiyor	1,20±0,36	1,09±0,06
18	1001	2-Pentyl furan	Meyvemsi, yeşil, toprağımsı	ted	1,20±0,06
19	1003	2-Ethyl-6-methyl-pyrazine	Kavrulmuş, patates	0,79±0,26	0,30±0,16

Çizelge 4.30. (Devamı) Greyfurt çekirdek yağlarında tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon ($\mu\text{g}/\text{kg}$ yağ)	
				Soğuk presleme	Enzim + Soğuk Presleme
20		3-Methoxy-1-butanol	Alkol	ted	1,02 \pm 0,14
21	1027	D-Limonene	Taze turunçgil	71,84 \pm 3,61	38,61 \pm 3,33
22	1042	Benzeneacetaldehyde	Tatlı, çiçeksi	0,26 \pm 0,37	0,65 \pm 0,27
23	1058	γ -Terpinene	Terpenik	ted	0,16 \pm 0,22
24		1-Octenol	Yeşil, yağlı, bitkisel	ted	1,48 \pm 0,10
25	1088	(Z)-Linalooloxide	Toprak, çiçeksi	2,22 \pm 0,53	ted
26	1089	α -Terpinolene	Bitkisel, odunsu, turunçgil	ted	0,56 \pm 0,07

*RI (Kovat Index) materyal ve yöntem bölümünde yazılan formüle göre hesaplanmıştır.

**Uçucu bileşenlerin aroma ve tat duyularına ait tanımlar <http://www.thegoodscentcompany.com/index.html#> ve <http://www.leffingwell.com/> kaynaklarından sağlanmıştır. Tüm değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ted: tespit edilemedi.

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden solvent kullanılarak ekstrakte edilen yağların uçucu bileşenleri (Çizelge 4.31) incelendiğinde göze çarpan ilk unsur, tüm yağlarda hekzan kalıntısına rastlanmasıdır. Tüm örnekler arasında yapılan karşılaştırmada enzimle muamele edilen greyfurt çekirdeklerine ait kek yağlarının hekzan içeriği bakımından ilk sırada yer aldığı belirlenmiştir. Başta hekzan olmak üzere hexanal, d-limonene, isopropyl pentanoate, β -cymene ve butyl isobutyrate tüm kontrol ve muamele grupları için majör uçucu bileşenler olma niteliği taşımaktadır.

Portakal çekirdeği yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağların, limon ve greyfurt yağlarına kıyasla d-limonen/turunçgil aroması bakımından daha zengin olduğu ve uygulanan muamele işleminin bu aromayı geliştirici yönde etki yaptığı görülmektedir. Hexanal, butyl isobutyrate ve isopropyl pentanoate içerikleri bakımından narenciye türleri yakın değerler sergilerken, terpenik aromaya sahip β -cymene içeriği bakımından türler arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır.

Limon ve portakal çekirdeği yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağların, greyfurta kıyasla daha fazla sayıda uçucu bileşene sahip olduğu ve β -pinene, β -myrecene, γ -terpinene, α -terpinolene, phenylethyl alcohol, 4-carvomenthol ve α -terpineol uçucu bileşenlerine greyfurt yağlarında rastlanmadığı tespit edilmiştir. Genel olarak, limon ve portakal yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağların greyfurta kıyasla daha zengin terpenik, odunsu, baharatlı, çiçeksi aromaya sahip olduğu söylenebilir.

Uçucu bileşenler, yağların duyu kalitelerinin belirlenmesinde önem taşıyan unsurların başında gelmektedir. Bunun yanı sıra thymol, limonene, α -pinene, terpinen gibi bileşiklerin sahip olduğu fonksiyonel özellikler (antioksidan, antibakteriyel etki vb.) ile yağ stabilitesi ve kalitesi arasında doğrusal bir ilişki olduğu düşünülmektedir. (Kırbaşlar ve ark., 2006; Bourgou ve ark., 2012).

Çizelge 4.31. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağlarda tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)					
				Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
				Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
1	-	Hexane		565,01±492,51	-	1046,84±47,90	375,33±237,97	1837,86±1229	2552,44±1284, 81
2	-	3-Methylbutanal	Meyvemsi, tatlı	ted	-	ted	17,70±7,17	ted	ted
3	716	Acetoin	Kremamsı, tereyağ	ted	-	ted	13,94±5,57	ted	ted
4	799	Hexanal	Taze yeşil çimen	5,65 ±0,53	-	6,47±1,06	6,35±5,21	4,90±2,29	3,25 ±0,92
5	813	Furfural	Karamel, pişmiş ekmek	ted	-	ted	4,63±0,15	ted	ted
6	877	Isoamyl acetate	Muz, meyvemsi	ted	-	ted	2,31±0,54	ted	ted
7	911	2,5-Dimethylpyrazine	Fındığımsı, kavrulmuş	ted	-	ted	0,96±1,36	ted	ted
8	914	Butyl isobutyrate	Armut, ananas	0,45 ±0,04	-	0,46±0,006	0,64±0,34	0,42±0,07	0,42±0,04
9	924	α-Thujene	Odunsu, yeşil bitki	ted	-	ted	0,79±1,12	ted	ted
10	930	α-Pinene	Bitkisel, terebentin, odunsu	ted	-	0,27±0,20	8,82±12,40	0,09±0,03	ted
11	942	İsopropyl pentanoate	Meyvemsi, armut	15,23±2,21	-	12,88±0,94	ted	14,58±0,10	16,34±1,29
12	954	Benzaldehyde	Acı badem	ted	-	ted	1,77 ±1,32	ted	0,42±0,59
13	972	β-Pinene	Odunsu, yeşil çam	1,12±0,72	-	3,08±3,00	13,45 ±18,23	ted	ted
14	977	4-Octanone	bilinmiyor	ted	-	0,48±0,68	ted	0,73±0,01	0,75±0,05
15	991	β-Myrecene	Baharatlı, bitkisel	0,98±0,94	-	3,86±4,33	42,16 ±59,47	ted	ted

Çizelge 4.31. (Devamı) Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağlarda tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RT*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanım**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)					
				Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
				Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
16	1014	3-Carene	Tatlı	ted	-	ted	0,85±1,20	ted	ted
17		3-Methoxy-1-butanol	Alkol	ted	-	1,51±0,09	ted	1,32±0,23	1,15 ±0,03
18	1015	Hexyl acetate	Meyvemsi, yeşil elma	ted	-	ted	1,37±1,81	ted	ted
19	1021	β-Cymene	Terpenik	11,44±9,39	-	8,19 ±7,11	5,79±7,89	0,32±0,02	ted
20	1027	D-Limonene	Taze turunçgil	214,31±208,82	-	747,94±661,1	2398,45±3362,88	43,59±39,47	2,42 ±0,22
21	1058	γ-Terpinene	Terpenik	24,85±22,50	-	7,25±6,09	10,20±14,33	ted	ted
22		1-Octenol	Yeşil, yağlı, bitkisel		-				
23	1088	(Z)-Linalooloxide	Toprak, çiçeksi	ted	-	0,92±0,80	ted	ted	ted
24	1089	α-Terpinolene	Bitkisel, odunsu, turunçgil	1,20±0,98	-	4,27±2,51	4,32±5,85	ted	ted
25	1101	Linalaol	Turunçgil, meyvemsi	0,90±1,27	-				
26	1103	Nonanal	Turunçgil kabuğu, gül	0,96±0,25	-	0,71±0,20	ted	0,17±0,24	0,15±0,21
27	1107	Phenylethyl alcohol	Çiçeksi, tatlı, gül	0,21±0,29	-	0,37±0,32	ted	ted	ted
28	1139	(E)-Limonene oxide	Turunçgil	ted	-	0,52± 0,35	ted	ted	ted
29	1179	4-Carvomenthol	Odunsu, baharatlı	10,29±4,42	-	0,97±0,46	ted	ted	ted
30	1190	α-Terpineol	Çiçeksi, leylak	20,43±6,96	-	39,13±11,50	ted	ted	ted
31	1231	Nerol	Çiçeksi, taze gül	3,00±1,36	-		ted	ted	ted

Çizelge 4.31. (Devamı) Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlı keklerinden ekstrakte edilen yağlarda tanımlanan uçucu bileşenler

Bileşen no	RI*	Uçucu bileşen	Aroma / lezzet tanımı**	Konsantrasyon (µg/kg yağ)					
				Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
				Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk Presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
32		Decyl acetate	Mumsu, yağlı, kremamsı	ted	-	0,59±0,28	ted	ted	ted
33	1294	Thymol	Bitkisel, kekik	1,08±0,16	-	ted	ted	ted	ted
34	1437	(E)-α-Bergamoten	Odunsu, çay yaprağı	1,65 ±0,13	-	ted	ted	ted	ted

*RI (Kovat Index) materyal ve yöntem bölümünde yazılan formüle göre hesaplanmıştır.

**Uçucu bileşenlerin aroma ve tat duyularına ait tanımlar <http://www.thegoodscentcompany.com/index.html#> ve <http://www.leffingwell.com/> kaynaklarından sağlanmıştır. Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. ted: tespit edilemedi.

4.14. Narenciye Çekirdek Yağlarının Duyusal Özellikleri

Kantitatif tanımlayıcı analiz tekniği ile narenciye çekirdek yağlarının görünüş, koku, tat ve ağız hissi gibi duyuşal özelliklerine ait terimler belirlenmiştir (Çizelge 4.32). Görünüş açısından greyfurt soğuk pres yağları en yüksek bulanıklık değerine sahip olmakla birlikte, enzim muamelesi sonrasında greyfurt çekirdek yağlarında ölçülen bulanıklık değeri tüm gruplar içerisinde en düşük seviyeye ulaşmıştır. Koku özellikleri bakımından her narenciye türünde kendine has (limon kabuğu, portakal yaprağı) terimler belirlenmiştir.

Limon çekirdeklerinden solvent ile ekstrakte edilen yağların, soğuk preslemeye kıyasla limon kabuğu, kavrulmuş ve çiğ sebze kokusu bakımından daha düşük değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. Benzer biçimde solvent ile elde edilen yağların dolgunluk, baharatlı, mentol gibi ağız hissi skorları daha düşük bulunurken, gırtlakta bıraktığı yakıcılık etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Değerlendirilen tüm narenciye türleri içerisinde, limon yağlarının en yüksek mentol skoruna sahip olduğu da tespit edilmiştir.

Portakal çekirdeklerine presleme öncesi mikrodalga uygulanması, beklendiği şekilde kavrulmuş koku ve fındığımsı tat değerlerinde artışa yol açmıştır. Portakal çekirdeklerinden elde edilen yağlarda diğer narenciye türlerinden farklı olarak pirina kokusu ve tatlı aromatik tat algılanırken, acı ve buruk gibi temel tatlar bakımından panelistlerin verdiği skorların kontrol grubunda daha düşük olduğu gözlenmiştir. İncelenen tüm ağız hissi özellikleri bakımından ise, mikrodalga muamelesinin artışa neden olduğu ve gırtlakta yakıcılık özelliği için bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu tespit edilmiştir.

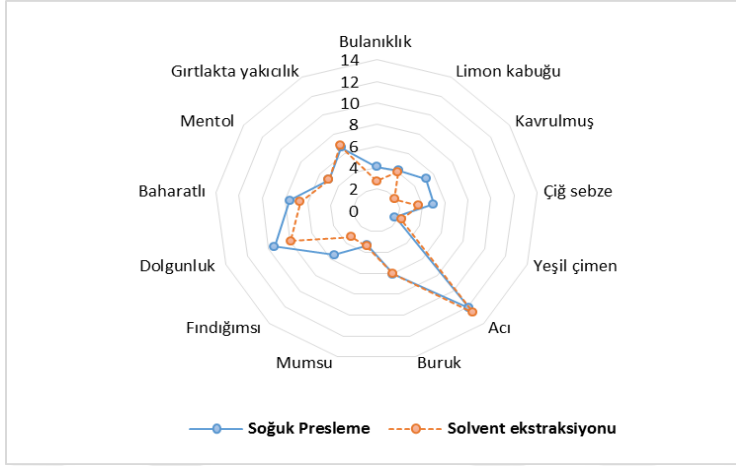
Greyfurt çekirdek yağlarının koku karakteristiklerinin (çiğ sebze, yeşil çimen) diğer narenciye türlerine kıyasla daha az sayıda olduğu ve bu özelliklere ait değerlerin acılık giderici enzim uygulanması sonucunda azaldığı gözlenmiştir. Değerlendirilen tüm narenciye türleri içerisinde en yüksek acılık ve gırtlakta yakıcılık değerlerine greyfurt çekirdek yağlarında ulaşılmıştır. Meyvenin sahip olduğu flavanon glikozitlerden kaynaklandığı düşünülen acılık ve gırtlakta yakıcılık değerlerinin, flavanonları parçalayıcı enzimlerin uygulanması sonrasında azalması beklendiği üzere başarılı bir sonuçtur ve acılık ve gırtlakta yakıcılık değerlerindeki bu azalışlar istatistiksel olarak da önemli ($P \leq 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.32. Soğuk preslenmiş narenciye çekirdek yağlarına ait duyuşal özellikler

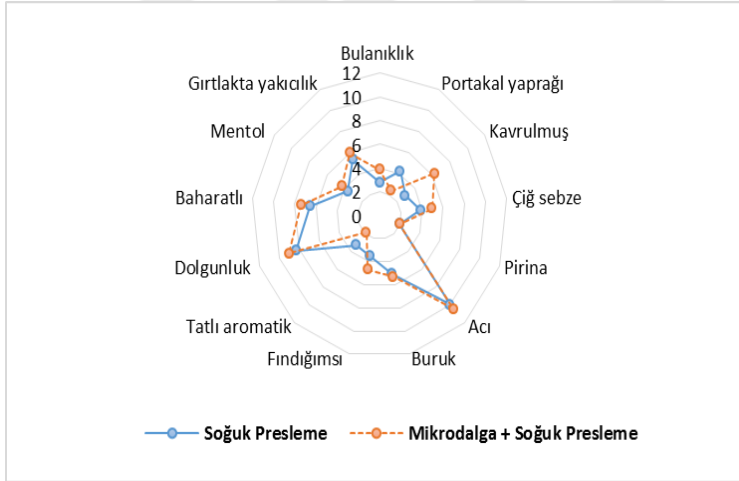
Özellik	Limon çekirdeği		Portakal çekirdeği		Greyfurt çekirdeği	
	Soğuk presleme	Solvent ekstraksiyonu	Soğuk presleme	Mikrodalga + Soğuk presleme	Soğuk presleme	Enzim + Soğuk presleme
Bulanıklık	4,04±0,30 ^a	2,75±0,49 ^b	2,79±0,38 ^a	3,85±0,35 ^a	8,29±0,69 ^a	1,21±0,25 ^b
Limon kabuğu	4,21±0,76 ^a	4,04±0,88 ^a	ted	ted	ted	ted
Portakal yaprağı	-	-	4,21±0,42 ^a	2,37±0,32 ^b	-	-
Kavrulmuş	5,21±0,40 ^a	1,87±0,15 ^b	2,92±0,47 ^b	6,25±0,54 ^a	6,25±0,62 ^a	5,92±0,68 ^a
Çiğ sebze	5,00±0,56 ^a	3,71±0,56 ^a	3,87±0,53 ^a	4,96±0,66 ^a	5,17±0,76 ^a	5,15±0,85 ^a
Yeşil çimen	1,71±0,47 ^a	2,33±0,47 ^a	ted	ted	ted	ted
Pirina	ted	ted	2,04±0,29 ^a	2,02±0,53 ^a	ted	ted
Saman	ted	ted	ted	ted	2,12±0,31 ^a	2,12±0,27 ^a
Acı	12,10±0,11 ^b	12,64±0,07 ^a	9,99±0,17 ^a	10,47±0,19 ^a	13,71±0,19 ^a	12,67±0,13 ^b
Buruk	6,08±0,43 ^a	6,04±0,32 ^a	5,04±0,40 ^a	5,29±0,46 ^a	4,95±0,42 ^a	5,04±0,36 ^a
Mumsu	3,33±0,54 ^a	3,42±0,73 ^a	ted	ted	ted	ted
Fındığımsı	5,50±0,81 ^a	3,29±0,42 ^b	3,54±0,59 ^a	4,67±0,68 ^a	4,58±0,83 ^a	5,25±0,76 ^a
Tatlı aromatik	ted	ted	3,29±0,56 ^a	1,87±0,32 ^b	ted	ted
Dolgunluk	9,46±0,81 ^a	7,96±0,85 ^a	8,35±0,97 ^a	9,04±0,85 ^a	9,21±0,69 ^a	9,08±0,88 ^a
Baharatlı	7,58±0,66 ^a	6,67±0,81 ^a	6,54±0,93 ^a	7,42±1,00 ^a	6,12±0,72 ^a	6,21±0,83 ^a
Mentol	5,04±0,86 ^a	5,00±0,78 ^a	3,58±0,69 ^a	4,31±0,63 ^a	3,17±0,62 ^a	3,39±0,59 ^a
Gırtlakta yakıcılık	6,62±0,32 ^a	6,81±0,51 ^a	5,33±0,44 ^b	5,96±0,39 ^a	7,44±0,19 ^a	6,77±0,12 ^b

Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler, incelenen özellikler açısından her bir narenciye türüne ait grupların kendi içerisinde karşılaştırılmasını ifade etmektedir. ted: tespit edilemedi.

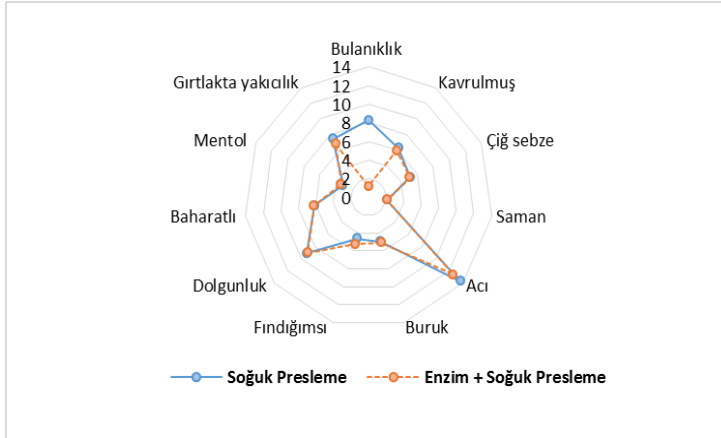
Limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerinden soğuk preslemeyle elde edilen yağların her birine özgü tanımlayıcı duyuşal terimler Şekil 4.1, 4.2 ve 4,3'te görölmektedir.



Şekil 4.3. Limon çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuşal analizleri örümcek ağı modeli



Şekil 4.4. Portakal çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuşal analizleri örümcek ağı modeli



Şekil 4.5. Greyfurt çekirdek yağlarının tanımlayıcı duyuşal analizleri örümcek ağı modeli

4.15. Greylfurt ekirdek Yağındaki Acılığının Giderilmesinde Etkisi Test Edilen Adsorban Materyallerinin zellikleri

Narenciyelerin karakteristik lezzetleri üzerinde önemli etkisi bulunan naringin, hesperidin ve rutin gibi flavanonların limon ve portakal çekirdek yağlarına kıyasla greylfurt çekirdek yağında daha yoğun düzeylerde yer aldığı ve bu durumla ilişkili olarak da eğitimli panelistler tarafından yapılan duysal değerlendirmede en yüksek acılık ve gırtlakta yakıcılık skorlarına greylfurt yağlarında erişildiği gözlenmiştir (izelge 4.32).

Biyoaktif bileşenler bakımından eşsiz bir kompozisyona sahip narenciye yağlarının tketebilirliğinin teşvik edilmesi amacıyla, tüketimlerini sınırlayan en önemli faktörlerin başında gelen acılığının giderilmesi araştırmaya oldukça açık bir alandır. Kil mineralleri bakımından zengin bir rezerve sahip olan ülkemizde çok miktarda çıkartılan doğal killerin (zeolit, montmorillonit, sepiyolit) ve amberlit gibi adsorbanların narenciyelerin karakteristik tat ve aromasını oluşturmasına rağmen yağa geçerek acılığa sebep olan, tüketicilerin beğenisini etkileyen flavanon glikozitlerin giderilmesindeki etkinliğinin araştırılması ve adsorban muamelesinin greylfurt çekirdek yağlarının fiziko-kimyasal, kompozisyonel (fenolik kompozisyonu) ve duysal özelliklerine etkisinin incelenmesi bu bakımdan önem taşımaktadır.

Çalışmanın bu kısmında, herhangi bir ön muamele görmeksizin soğuk presleme ile üretilmiş greylfurt çekirdek yağları seçilmiş ve yüzey karakterizasyonları yapılmış adsorban (doğal zeolit, sepiyolit, montmorillonit ve amberlitler) materyallerle Bölüm 3.2.7.3'te yer alan metodoloji kullanılarak muamele edilmiştir. Greylfurt ekirdek yağlarının acılığının giderilmesinde etkisi test edilecek olan adsorban türleri belirlenirken, katyon değiştirme kapasiteleri dikkate alınarak, geniş bir aralıkta [Amberlite: 1 meq/100g, sepiyolit:20-30 meq/100g, montmorillonit: 80-120 meq/100g, zeolit: 170-260 meq/100 g, katyon değişim kapasitesi (pH=7 de)] (Poole ve Schuette, 1984; Sabah ve elik, 1999) seçim yapılmıştır.

Amberlit serisi ve asitle aktive olmuş doğal adsorban örneklerinin karakterizasyonuna yönelik olarak gerçekleştirilen analiz sonuçları izelge 3.1'de yer almaktadır. Tüm adsorban materyalleri arasında asit aktive sepiyolitinin en yüksek yüzey alanına sahip olduğu ve onu sırasıyla XAD7 ile asit aktive zeolitinin takip ettiği tespit edilmiştir. Ortalama gözenek çapı ve gözenek hacmi bakımından yapılan değerlendirmede, asit aktive zeolit ilk sıradayere alırken en düşük değere IR120 adsorbanında rastlanmıştır.

Amberlite serisinde yer alan adsorbanlar ile asitle yüzey modifikasyonu yapılan doğal killerin adsorpsiyon kapasiteleri Taşpınar ve Özgül-Yücel'e (2008) ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 4.33'te gösterilmiştir. Tüm gruplar arasından bir değerlendirme yapıldığında asitle aktive edilmiş sepiyolit en yüksek değere sahip olduğu görülmektedir. Asit aktive sepiyolite ait yüzey alanı ile adsorpsiyon kapasitesi değerinin doğrusal ilişki içerisinde olması beklenen bir sonuç olmuştur. Nitekim adsorpsiyon kapasitesi daha fazla olan sepiyolit diğer materyallere nazaran, acılığa yol açan flavanonların yağdan gideriminde daha fazla etki sergilediği de belirlenmiştir (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.33. Amberlite ve asit-aktive doğal adsorban türlerinin adsorbsiyon kapasiteleri ve adsorban muamelesi sonrası yağ verimindeki kayıp (%)

Adsorbanlar	Adsorbsiyon kapasitesi (mg oleik asit/g adsorban) (P=0.007)	Yağ kaybı (%) (P=0.201)
XAD7	7,78±3,37 ^b	10,91±4,26 ^a
IR120	7,92±3,65 ^b	8,12±0,05 ^a
IR400	8,11±3,05 ^b	7,40±0,49 ^a
Doğal zeolit	4,47±1,25 ^b	8,57±0,045 ^a
Doğal sepiyolit	18,35±2,20 ^a	13,91±0,62 ^a
Doğal montmorillonit	3,76±0,94 ^b	7,49±0,22 ^a

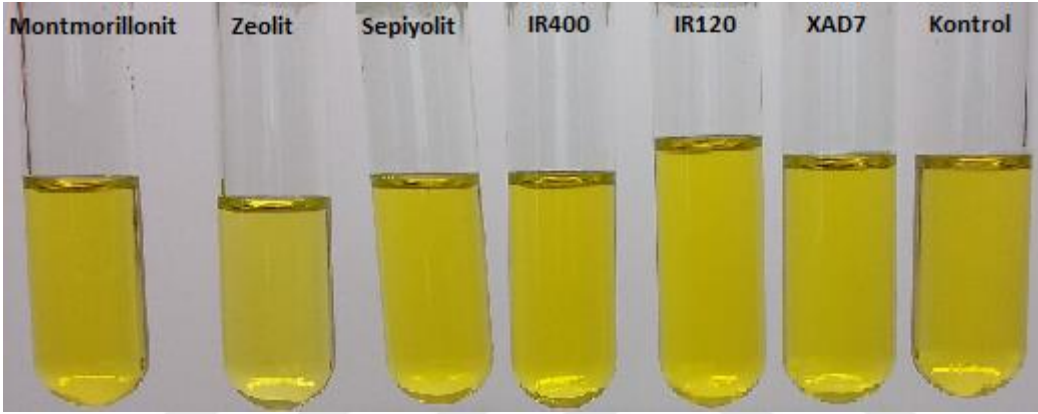
Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı kolondaki büyük harfler incelenen özellik açısından adsorban türleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

Amberlit serisine ait adsorbanların değerleri ise birbirine yakın olarak ölçülmüştür. Her bir adsorbanın oleik asit cinsinden sergilediği adsorpsiyon kapasite değerleri, yağda ölçülen serbest asitlik değerleri ile de korelasyon içerisinde. Çizelge 4.34'den de görüleceği üzere, sepiyolite muamele edilen yağların serbest asitlik içeriği en düşük olarak kaydedilmiş; amberlite serisi içinde oleik asit bağlama kapasitesi bakımından en düşük değere sahip olan XAD7 ile muamele edilen yağların serbest asitlik değeri ise IR120 ve IRA400'e göre daha yüksek ölçülmüştür.

4.16. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Fiziksel Özellikleri

Çizelge 4.34'te soğuk preslemeyi takiben adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı fiziksel özelliklerine ait sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Adsorban toprakları uygulamasının, kontrol grubunda (herhangi bir adsorban toprağı ile muamele edilmemiş) ölçülen viskozite, bulanıklık ve b* değerlerinde istatistiksel olarak da önemli indirgenmelere yol açtığı gözlenmiştir. Amberlite serisi ile asitle aktive edilmiş doğal killerin kırılma indisi ve viskozite ölçümlerinin birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Adsorban topraklarının en önemli etkisi yağlarının bulanıklık değeri üzerinde gözlenmiş ve kontrol grubuna kıyasla 20 kata varan indirgenmeler sağlanmıştır. Şekil 4.4'ten de açıkça görülebileceği gibi muamele edilmiş yağlar kontrol grubuna kıyasla çok daha berrak durumdadır.



Şekil 4.6. Adsorban toprakları ile muamele edilmiş soğuk pres greyfurt çekirdek yağları

Renk değerleri arasından bir karşılaştırma yapıldığında, en düşük L değerine XAD7 ile muamele gören yağlarda ulaşıldığı diğer bir ifade ile yağ renginin diğerlerine kıyasla daha koyu olduğu söylenebilir. a* ve b* değerlerinin de XAD7 grubunda en düşük değerlere eriştiği, IR400 grubu yağlarının ise diğerlerine nazaran daha yüksek sarılık değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.34. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı fiziksel özellikleri

Özellik	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit
Kırılma indisi (25 °C) (P= 0,048)	1,47±0,01 ^a	1,47±0,01 ^{ab}	1,47±0,01 ^{ab}	1,47±0,01 ^{ab}	1,47±0,01 ^{ab}	1,47±0,01 ^{ab}	1,47±0,01 ^b
Viskozite (25 °C, cP) (P= 0,000)	58,45±0,22 ^a	57,30±0,44 ^{abc}	56,42±0,23 ^{cd}	56,40±0,04 ^{cd}	56,72±0,07 ^{bcd}	56,27±0,07 ^d	58,07±0,12 ^{ab}
Bulanıklık (25 °C, NTU)	39,18±0,06 ^a	1,62±0,39 ^c	3,39±0,32 ^b	3,49±0,08 ^b	6,36±0,06 ^a	1,23±0,11 ^c	3,41±0,16 ^b
Renk L (P= 0,000)	39,10±0,13 ^{ab}	31,77±1,21 ^c	37,99±0,70 ^{ab}	39,13±0,71 ^{ab}	36,39±0,18 ^b	40,27±1,44 ^a	37,02±0,47 ^{ab}
a*(P= 0,000)	-1,65±0,09 ^b	-0,32±0,16 ^a	-1,86±0,15 ^b	-2,03±0,09 ^b	-1,79±0,04 ^b	-3,43±0,54 ^c	-1,14±0,12 ^{ab}
b*(P= 0,000)	23,72±0,96 ^a	8,17±1,10 ^b	21,21±2,21 ^a	24,64±1,73 ^a	18,12±0,70 ^a	23,47±3,61 ^a	17,90±1,68 ^a

Kontrol: Herhangi bir adsorban ile muamele edilmemiş soğuk pres greyfurt çekirdek yağı

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

4.17. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Kimyasal Özellikleri

Soğuk preslemeyi takiben adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı kimyasal özelliklerine ait değerler Çizelge 4.35'te yer almaktadır. Adsorban muamelesinin genel olarak serbest asitlik ve peroksit değerlerinde artışa yol açtığı tespit edilmekle beraber, sepiyolit muamele edilen yağların hem serbest asitlik hem de peroksit sayısı değerlerinde en düşük ölçümler alınmıştır. Yağlarda sabun varlığını test etmeye yönelik yapılan analizler sonucunda sadece kontrol grubunda önemsiz sayılabilecek çok düşük miktarda sabun varlığına rastlanmış, muamele görmüş yağlarda ise herhangi bir sabun kalıntısı tespit edilememiştir. Yağların sabunlaşmayan madde içeriğine adsorban muamelesinin etkisi önemsiz olarak gözlenmiştir.

Çizelge 4.35. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının bazı kimyasal özellikleri

Özellik	Soğuk Presleme	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit
Serbest yağ asitliği (% linoleik asit) (P=0,055)	0,52±0,08 ^{ab}	0,68±0,08 ^a	0,59±0,06 ^{ab}	0,53±0,03 ^{ab}	0,55±0,09 ^{ab}	0,36±0,02 ^b	0,62±0,04 ^{ab}
Asit sayısı (mg KOH/g yağ) (P=0,055)	1,04± 0,17 ^{ab}	1,37±0,17 ^a	1,18±0,12 ^{ab}	1,06±0,05 ^{ab}	1,09±0,18 ^{ab}	0,72±0,05 ^b	1,23±0,07 ^{ab}
Peroksit sayısı (meq aktif O ₂ /kg yağ) (P=0,153)	9,39±0,22	9,60±0,81	10,87±1,04	10,49±0,97	8,89±0,32	9,07±0,73	11,45±0,60
Sabunlaşmayan madde (%) (P=0,797)	1,34±0,01	1,51±0,11	1,73±0,22	1,32±0,46	1,30±0,01	1,49±0,03	1,39±0,01
Sabun içeriği (% sodyum oleat)	0,00513±0,00211	ted	ted	ted	ted	ted	ted

Kontrol: Herhangi bir adsorban ile muamele edilmemiş soğuk pres greyfurt çekirdek yağı. ted: tespit edilemedi.

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir. ted: tespit edilemedi.

4.18. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Fenolik Kompozisyonu

Greyfurt çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (Çizelge 4.36) incelendiğinde, adsorban muamelesinin özellikle flavonoidler üzerinde belirgin etkilere yol açtığı görülmektedir. Greyfurtun karakteristik lezzeti üzerinde önemli etkisi bulunan rutin, naringin ve naringenin gibi majör fenolik bileşenler adsorbanla muamele edilen yağlarda daha düşük değerlerde ölçülmüştür. Bu bulgu, çekirdekten yağa geçerek tüketici tarafından pek arzu edilmeyen acılık algısının tamamen giderilmese dahi indirgenmesinde başarı sağlandığının bir göstergesidir. Özellikle montmorillonit ve sepiyolit uygulamaları diğer adsorban türlerine kıyasla rutin, naringin, naringenin, hesperidin, neohesperidin gibi acılığa yol açan bileşenlerin indirgenmesinde daha başarılı sonuçlar alınmasına yol açmıştır. Adsorban muamelesinin fenolik asitler üzerine etkisi flavonoidler kadar belirgin olmamakla birlikte, kontrol grubuna kıyasla muamele edilen yağların gallik asit ölçümleri daha düşük kaydedilmiştir.

4.19. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Sterol Kompozisyonu

Adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarında sterol kompozisyonu analizi (Çizelge 4.37) gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gerek amberlit serisi gerekse asit aktive adsorban toprakları ile muamelenin yağların sterol bileşenlerinin artması yada azalması yönünde belirgin değişikliklere yol açmadığı gözlenmiştir. Beta-sitosterol, analiz edilen tüm gruplar için baskın sterol bileşeni olarak tespit edilirken, onu sırasıyla kampesterol ve delta-5 avenasterol takip etmektedir.

Çizelge 4.36. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının fenolik kompozisyonları (mg/kg)

Flavonoidler	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Zeolit	Sepiyolit	Montmorillonit
Eriositrin (P=0,475)	89,20±12,90	101,57±0,17	101,70±0,02	101,56 ±0,01	102,02±0,15	101,49±0,01	101,68±0,0605
Rutin (P=0,002)	313,10±74,70 ^a	215,90±12,0 ^{ab}	243,90±14,30 ^a	211,23±4,70 ^{ab}	256,10±25,70 ^a	175,24±1,19 ^b	190,08±8,32 ^b
		(- %31,04)*	(- %22,10)	(- %32,53)	(- %18,20)	(- %44,03)	(- %39,29)
Naringin (P=0,006)	1160,70±39,20 ^a	1118,50±0,16 ^c	1120±0,16 ^{abc}	1120,20±0,25 ^{abc}	1121,20±0,71 ^{ab}	1121,60±0,53 ^{ab}	1118,90±0,19 ^{bc}
		(- %3,63)	(- %3,50)	(- %3,48)	(- %3,40)	(- %3,48)	(- %3,60)
Naringenin (P=0,382)	45,35±2,21	40,24±4,27	30,20±11,40	44,67±0,32	44,54±4,21	26,66±1,02	43,53±2,15
Hesperidin (P=0,009)	883,60±18,50 ^a	808±134 ^{ab}	868,70±16,80 ^a	796±13,80 ^a	814,3±63,4 ^a	320,70±22,00 ^b	761±108 ^{ab}
		(- %8,55)	(- %1,68)	(- %9,91)	(- %8,51)	(- %60,70)	(- %13,87)
Neohesperidin (P=0,398)	390,89±2,33	354±36,10	363,30±22,40	403,10±49,90	387±46,10	185,84±8,46	393,90±18,30
Kaempferol (P=0,037)	25,25±0,20 ^{ab}	19,88±0,21 ^b	23,05±0,51 ^{ab}	23,73±0,23 ^{ab}	24,08±0,93 ^{ab}	24,44±0,57 ^a	21,88±0,14 ^{ab}
		(- %21,26)	(- %8,71)	(- %6,01)	(- %4,63)	(- %3,20)	(- %13,34)
Fenolik asitler							
Gallik asit (P=0,000)	71,40±5,28 ^a	47,09±6,19 ^b	36,26±1,48 ^{bc}	30,99±0,52 ^{bc}	38,46±4,28 ^{bc}	23,09±0,45 ^c	20,24±0,39 ^c
		(- %34,04)	(- %49,21)	(- %56,59)	(- %46,13)	(- %67,66)	(- %71,65)
Sirinjik asit (P=0,009)	6,97±0,14 ^a	6,56±0,05 ^b	6,79±0,01 ^{ab}	6,55±0,01 ^b	6,81±0,04 ^{ab}	6,56±0,01 ^b	6,78±0,02 ^{ab}
		(- %5,88)	(- %2,58)	(- %6,02)	(- %2,29)	(- %5,88)	(- %2,72)
tr-ferulik asit (P=0,390)	170,81±1,33	157,40±17,70	172,60±7,87	176,10±4,71	170,20±18,40	78,13±4,41	181,08±8,41
tr-2-hidroksisinnamik asit (P=0,004)	11,45±0,14 ^a	9,85±0,14 ^b	10,61±0,14 ^a	10,31±0,01 ^{ab}	10,85±0,17 ^a	10,90±0,05 ^a	10,51±0,09 ^a
		(- %13,97)	(- %7,33)	(- %9,95)	(- %5,24)	(- %4,80)	(- %8,20)

Kontrol: Herhangi bir adsorban ile muamele edilmemiş soğuk pres greyfurt çekirdek yağı.

* Her bir fenolik bileşen için kontrol grubuna kıyasla % indirgenmeyi ifade etmektedir.

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

Çizelge 4.37. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının sterol kompozisyonları (%)

Steroller	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit
Kolesterol (P=0,001)	0,35889 ^{ab}	0,30±0,01 ^{cd}	0,37±0,01 ^a	0,29 ±0,01 ^d	0,29±0,01 ^{cd}	0,34±0,007 ^{abc}	0,32526±0,00479 ^{bcd}
Brassikasterol (P= 0,452)	0,0019	0,11±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,11±0,001	0,11348±0,00378
24-metilen kolesterol	ted	ted	ted	ted	ted	ted	ted
Kampesterol (P=0,751)	8,8774	8,66±0,01	8,92±0,04	8,44±0,50	8,92±0,05	8,68±0,23	8,74±0,02
Kampestanol (P=0,894)	0,089020	0,07±0,03	0,13±0,07	0,09±0,01	0,87±0,01	0,09±0,01	0,08±0,01
Stigmasterol (P=0,208)	2,1968	2,21 ±0,03	2,23±0,01	2,15±0,04	2,19±0,01	2,12±0,04	2,15±0,01
Delta-7-Kampesterol (P=0,096)	0,05695	0,59±0,01	0,05±0,01	0,07±0,01	0,07±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01
Delta-5,23-Stigmastadienol	ted	ted	ted	ted	ted	ted	ted
Klerosterol (P=0,183)	1,4065	1,48 ±0,01	1,17±0,06	1,34±0,07	1,26±0,06	1,50±0,16	1,31±0,01
Beta-sitosterol (P=0,624)	82,822	82,81±0,44	82,48±0,01	83,03±0,75	82,80±0,01	82,84±0,49	83,64±0,01
Sitostanol (P=0,086)	0,53295	0,67±0,01	0,85±0,02	0,62±0,05	0,65±0,07	0,63±0,04	0,69±0,05
Delta-5-Avenasterol (P=0,105)	3,1195	2,89±0,27	3,09±0,045	3,14±0,03	3,09±0,01	3,04±0,27	2,36±0,05
Delta-5,24-Stigmastadienol (P=0,697)	0,22497	0,39±0,07	0,37±0,03	0,41±0,14	0,29±0,04	0,35±0,03	0,29±0,03
Delta-7-Stigmastenol (P=0,790)	0,16556	0,26±0,02	0,23±0,05	0,25±0,13	0,14±0,01	0,23±0,01	0,18±0,01
Delta-7-Avenasterol (P=0,588)	0,03451	0,071±0,01	0,03±0,01	0,06±0,01	0,06±0,02	0,03±0,01	0,04±0,005

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir. ted: tespit edilemedi.

4.20. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Antibakteriyel Özellikleri

Soğuk preslemeyi takiben adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının antibakteriyel etkileri hem disk difüzyon (Çizelge 4.38) hem de minimum inhibitör konsantasyonu (Çizelge 4.39) teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Etkisi test edilen tüm yağların *Micrococcus luteus* ATCC 4698 gelişimine karşı herhangi bir inhibisyon etkisi sergilemediği, *Staphylococcus aureus* suşları içerisinde ise sadece *Staphylococcus aureus* RSKK'ya karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Kontrole kıyasla amberlite serisi içinde XAD7, doğal adsorban serisi içinde ise sepiyolitle muamele edilen yağların *Staphylococcus aureus* RSKK gelişiminin engellenmesinde daha büyük zon oluşturduğu da tespit edilmiştir.

Bu duruma benzer biçimde yağların hiçbiri için *Bacillus cereus* NCIMB 7464 herhangi bir inhibisyon belirlenemezken, IR 400, IR120 ve doğal zeolitle muamele edilen yağların, kontrol grubundan daha küçük olmak koşulu ile *Bacillus cereus* Holl.'a karşı antibakteriyel etki sergilediği belirlenmiştir.

IR120 ile muamele edilen yağların *Klebsiella pneumoniae* 700603'e karşı en büyük antibakteriyel etkiyi sergilemesinin yanısıra, mezosilin ve piperasilin gibi antibiyotiklerle yakın büyüklükte inhibisyon zonu oluşturması göze çarpmaktadır.

Minimum inhibitor konsantrasyonundan alınan sonuçlar disk difüzyon yöntemi ile alınan sonuçlara paralellik sergilemiş, test edilen tüm yağların %100 konsantrasyonunda dahi *Micrococcus luteus* ATCC 4698 inhibisyonunun sağlanamadığı tespit edilmiştir. Çizelgede yer alan konsantrasyon verilerine göz atıldığında, antibakteriyel etkiler açısından yağlar arasında belirgin farklılıkların olmadığını söylemek mümkündür.

Çizelge 4.38. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının antibakteriyel etkileri (disk difuzyon yöntemi)

Mikroorganizmalar	Yağlar							
	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit	Mezosilin (75µg) (5) veya Piperasilin (100µg) (3)
	İnhibisyon zonu (mm)							
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	- *	-	-	-	-	-	-	9,00±2,58(3)
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	7,35±0,58	9,50±0,58	6,50±0,58	7,35±0,58	6,50±0,58	9,00±0,82	7,35±0,58	10,82±0,82(5)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	-	-	-	-	-	-	-	40,35±3,51(3)
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-	-	40,00±0,01 (3)
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	-	-	-	-	-	-	- ⁺⁺	22,00±3,56 (3)
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	8,25±1,25	6,50±0,58	-	-	-	7,75±0,50	7,35±0,58	19,00±1,0(3)
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	8,50±1,29	7,67±0,58	8,00±0,82	10,25±0,96	8,00±0,82	7,35±0,58	8,00±0,01	28,50±2,12(5)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	8,50±0,73	6,50±0,58	-	-	-	6,50±0,58	7,50±0,58	27,00±0,01(3)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7,00±0,73	-	7,00±0,73	7,00±0,73	7,00±0,73	-	-	28,75±1,89 (3)
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 51812	10,00±0,01	7,50±0,58	8,50±0,50	10,0±0,01	10,50±0,58	8,00±0,58	8,00±0,01	28,50±2,12(5)
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	7,35±0,58	9,00±1,15	7,25±0,95	8,00±0,01	9,00±1,41	7,50±0,58	8,00±0,81	27,50±3,53(5)
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	8,50±1,29	8,25±0,95	9,25±0,50	7,35±0,58	8,00±0,81	8,50±1,29	8,25±0,50	25,67±0,58(5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10,00±0,58	8,50±0,58	-	-	-	9,50±0,50	7,35±0,58	27,25±0,95(3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	7,75±0,50	7,50±0,58	11,00±1,41	6,50±0,58	7,00±0,81	8,00±0,01	6,00±0,82	12,50±0,58(5)

* inhibisyon zonu 6 mm'den büyük değildir. Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. ⁺⁺test edilmemiştir.

Çizelge 4.39. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının antibakteriyel etkileri (minumum inhibitör konsantrasyonu)

Mikroorganizmalar	Yağlar						
	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit
	Konsantrasyon (%)						
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100	100	75	100	100	100	75
<i>Staphylococcus aureus</i> RSKK	75	75	100	75	75	75	75
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	75	50	75	25	50	50	50
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Bacillus cereus</i> NCIMB 7464	100	75	100	100	100	100	100
<i>Bacillus cereus</i> Holl.	100	75	100	100	100	100	100
<i>E.coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	100	100	100	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	75	75	100	75	50	75	75
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	75	75	100	75	50	75	75
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 51812	100	100	100	75	75	100	75
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	100	100	75	75	100	100	75
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	50	75	75	50	50	75	75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	100	>100	75	100	>100	>100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	100	100	100	100	100	100	100

Sonuçlar 2x2 paralel ölçümlerin ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

4.21. Adsorban Toprakları İle Muamele Edilmiş Greyfurt Çekirdek Yağlarının Duyusal Özellikleri

Çizelge 4.40'da soğuk preslemeyi takiben adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının kantitatif tanımlayıcı analiz tekniği ile belirlenen duyusal özelliklerine ait veriler yer almaktadır. Adsorban muamelesi sonucunda gözlenen en önemli etki yağların bulanıklık değerleri üzerine olmuştur. Beklendiği üzere yağlara adsorban uygulaması, bulanıklığa sebep olan maddelerin yağdan uzaklaştırılması ve daha berrak yağların elde edilmesinde oldukça etkili olmuştur. Özellikle XAD7 ile muamele edilen yağlarda en düşük değere ulaşılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldığında, adsorbanla muamelenin kavrulmuş, çiğ sebze ve saman gibi koku özellikleri, acı, fındıgımsı, baharatlı gibi tat özellikleri ve dolgunluk, gırtlakta yakıcılık gibi ağız özelliklerine ait değerlerde de azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Tanımlanan tüm duyusal özellikler içerisinde sadece burukluk için IR120 ile muamele sonrası bir artış göze çarpmaktadır.

Adsorban muameleleri sonrasında yağlarda ölçülen acılık ve gırtlakta yakıcılık değerlerinin daha düşük algılanması ile acılığın giderilmesinde etkisi test edilen adsorban topraklarının acılığa neden olan rutin, naringin ve naringenin düzeylerinde indirgenmeye yol açması (Çizelge 4.36) arasında doğrusal bir ilişki olduğu düşünülmektedir

Fenolik kompozisyonu çizelgesinde göze çarptığı üzere, diğer adsorban türlerine kıyasla özellikle rutin, naringin, naringenin, hesperidin ve neohesperidin gibi acılık bileşenlerinin indirgenmesinde daha başarılı sonuçlar sergileyen sepiyolit muamelesi, duyusal bakımdan da arzu edilen sonuçları vermiş ve gerek acılık gerekse gırtlakta yakıcılık değerleri bu grup yağlar için en düşük skora ulaşmıştır.

Çizelge 4.40. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağlarının duyuusal özellikleri

Özellik	Kontrol	XAD7	IR120	IR400	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit	Doğal montmorillonit
Bulanıklık (P=0,000)	6,38±0,65 ^a	0,73±0,19 ^b	0,85±0,57 ^b	1,04±0,20 ^b	1,08±0,27 ^b	1,25±0,23 ^b	2,04±0,48 ^b
Kavrulmuş (P=0,999)	2,19±0,59 ^a	2,12±0,54 ^a	2,02±0,59 ^a	2,04±0,42 ^a	1,85±0,44 ^a	1,87±0,44 ^a	2,04±0,49 ^a
Çiğ sebze (P=0,994)	3,69±0,55 ^a	3,23±0,45 ^a	3,54±0,74 ^a	3,64±0,71 ^a	3,50±0,65 ^a	3,52±0,66 ^a	3,10±0,51 ^a
Saman (P=0,751)	1,26±0,29 ^a	0,89±0,18 ^a	1,14±0,42 ^a	0,98±0,22 ^a	1,06±0,19 ^a	0,81±0,15 ^a	0,73±0,18 ^a
Acı (P=0,001)	10,39±3,24 ^a	7,31±2,76 ^{abc}	8,83±2,83 ^{ab}	7,46±2,92 ^{abc}	6,35±0,98 ^{bc}	5,08±1,95 ^c	8,89±3,39 ^{ab}
Buruk (P=0,101)	3,36±0,42 ^a	2,83±0,52 ^a	3,56±0,48 ^a	2,56±0,33 ^a	2,65±0,39 ^a	1,81±0,30 ^a	3,35±0,61 ^a
Fındığımsı (P=0,991)	2,22±0,54 ^a	1,77±0,39 ^a	1,77±0,46 ^a	1,87±0,45 ^a	1,85±0,42 ^a	1,73 ±0, 38 ^a	1,85±0,48 ^a
Baharatlı (P=0,048)	4,15±0,53 ^a	3,00±0,53 ^a	3,81± 0,58 ^a	2,35±0,43 ^a	2,17±0,46 ^a	2,39±0,25 ^a	2,98±0,66 ^a
Mentol (P=0,819)	1,26±0,30 ^a	0,89±0,20 ^a	1,17±0,43 ^a	1,02±0,22 ^a	1,08±0,26 ^a	0,85 ±0,29 ^a	1,50±0,45 ^a
Dolgunluk (P=0,937)	9,48±2,81 ^a	8,17±3,20 ^a	8,79±2,88 ^a	8,44±3,09 ^a	8,13±3,60 ^a	8,17±3,07 ^a	8,33±3,09 ^a
Gırtlakta yakıcılık (P=0,018)	6,03±0,66 ^a	3,97±0,44 ^{ab}	4,75±0,76 ^{ab}	4,44±0,62 ^{ab}	3,62±0,47 ^{ab}	2,89±0,43 ^b	5,25±0,88 ^{ab}

Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Kontrol grubu ile XAD7, doğal zeolit, doğal sepiyolitle muamele edilmiş yağ örneklerinin tanımlayıcı analizlerini takiben bazı duyuşal özelliklerinin belirlenmesi için tüketici testi de gerçekleştirilmiştir. Yağ örneklerinin görünüş, renk, koku ve tat/lezzet özelliklerine ait veriler Çizelge 4.39’da yer almaktadır.

Görünüş ve renk bakımından XAD7 ve doğal zeolitle muamele edilen örneklerin tüketicinin beğenisi kazandığı görülmektedir. Bunun yanısıra tüm muamele gruplarının her iki duyuşal özellik içinde kontrolden daha fazla tercih edilebilir olduğu belirlenmiştir. Koku bakımından değerlendirilen örnekler için birbirine yakın değerler kaydedilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Sepiyolitle muamele edilen yağların tat/lezzet skorları diğer tüm yağ örneklerine kıyasla belirgin ölçüde daha yüksektir. Bu durumun, sepiyolit muamelesinin tüketiciler tarafından arzu edilmeyen acılık ve gırtlakta yakıcılık gibi özellikleri indirgemesinden ve genel olarak lezzeti iyileştirdiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.41. Soğuk presleme sonrası adsorban toprakları ile muamele edilmiş greyfurt çekirdek yağının tüketici beğeni skorları

Özellik	Kontrol	XAD7	Doğal zeolit	Doğal sepiyolit
Görünüş (P=0,000)	3,29±0,09 ^c	4,05±0,07 ^a	4,03±0,07 ^a	3,60±0,08 ^b
Renk (P=0,000)	3,32±0,09 ^b	4,09±0,07 ^a	4,04±0,07 ^a	3,51±0,09 ^b
Koku (P=0,689)	2,98±0,09 ^a	2,81±0,10 ^a	2,85±0,11 ^a	2,90±0,11 ^a
Tat/Lezzet (P=0,000)	1,68±0,09 ^b	1,95±0,11 ^b	1,87±0,10 ^b	2,76±0,13 ^a

Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler incelenen özellikler açısından farklı narenciye çekirdekleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada limon, portakal ve greyfurt çekirdeklerinde bulunan yağları ekstrakte etmek amacıyla soğuk pres tekniğinden yararlanılmıştır. Soğuk pres tekniğiyle yağ eldesi kontrol grubu olarak kabul edilmek koşuluyla her bir çekirdek türü için muamele grupları da belirlenmiştir. Söz konusu muamele grupları limon çekirdekleri için solvent ekstraksiyonu, portakal çekirdekleri için soğuk presleme öncesi mikrodalga uygulaması, greyfurt çekirdekleri için soğuk presleme öncesi acılık giderici enzimlerin uygulanmasıdır. Her bir çekirdek türü için kontrol gruplarına karşı muamele gruplarından elde edilen yağların tüm fizikokimyasal, kompozisyonel, termal ve antimikrobiyel özellikleri ile uçucu bileşen kompozisyonları ve duyu özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmanın başlangıcında, çekirdeklere ait temel fiziksel ve kimyasal bileşen özellikleri de belirlenmiştir. Soğuk presleme sonucunda açığa çıkan yağlı keklere ait karakteristik özelliklerin belirlenmesinin ardından, keklerin içerdiği yağlar yalnız solvent ekstraksiyon tekniği kullanılarak ekstrakte edilmiş ve bir önceki cümlede geçen tüm analizler bu yağlarda da gerçekleştirilmiştir.

Limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri boyut özellikleri açısından belirgin farklılıklar sergilememelerine rağmen, bin tane ağırlığı bakımından (152-313 g arası) çekirdekler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir. Çekirdeklerin renk (L değeri 49,33-58,94, a* değeri 0,75-3,06, b* değeri 14,85-19,17) ve nem değerleri (%41,93-50,72) arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Çekirdeklerin yağ düzeyleri (%34,55-45,72) literatüre göre varyasyonlar göstermekle birlikte protein (%16,24-19,41) ve kül (%1,28- 1,57) değerleri literatürle uyum içerisindedir. Yağ düzeylerindeki bu varyasyonun iklim, yetiştirme koşulları ve narenciye familyası altında yer alan 300'e yakın tür farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Soğuk presleme öncesi ön hazırlıkları (portakal ve greyfurt için sırasıyla mikrodalga ve enzim muameleleri) tamamlanmış çekirdeklerin nem oranı optimum düzeye (sırasıyla %11 ve 8) getirilmiştir. Soğuk presleme tekniği ile çekirdekte bulunan yağın %55'e kadar varan düzeylerde alınabildiği fakat beklendiği üzere solvent ekstraksiyonunun daha yüksek yağ verimine (%71) sahip olduğu belirlenmiştir. Portakal ve greyfurt çekirdeklerine uygulanan ön işlemler yağ verimini istatistiksel olarak önemli düzeylerde artırmıştır.

Soğuk preslemeden geriye kalan yağlı pres keklerinin nem düzeyleri %7,71-11,91 aralığında tespit edilirken, kuru ağırlık üzerinden %20,68-25,61 protein ve %5,24-17,97

yağ içeriğine sahip oldukları gözlenmiştir. Yağlı keklerin yüksek protein içeriğine sahip olması, besin değeri yüksek protein kaynakları olarak değerlendirilmelerini mümkün kılmaktadır.

Narenciye çekirdeklerine ait tüm gruplardan elde edilen yağların özgül ağırlık, kırılma indisi, viskozite, bulanıklık, renk ve sediment içeriği gibi fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Özgül ağırlık, kırılma indisi ve viskozite değerleri bakımından gerek tüm narenciye türleri gerekse kontrole karşı muamele grupları arasında belirgin farklılıkların olmadığı tespit edilmiştir. Solventle ekstrakte edilen yağların bulanıklık değerleri tüm yağ örnekleri içinde en düşük değer olarak kaydedilirken, greyfurt çekirdek yağlarının limon ve portakala kıyasla daha berrak olduğu, aydınlık (L) ve sarılık (b*) değerlerinin de daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fiziksel analiz bulgularının literatürle uyum içerisinde olduğunu söylemek mümkündür.

Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağları için önem taşıyan bazı kimyasal parametreler de analiz edilmiştir. Tüm gruplar için serbest asitlik ve asit sayısı değerleri sırasıyla %0,34-1,05 ve 0,69-2,10 mg KOH/g yağ aralığında belirlenmiştir. Limon çekirdeklerine uygulanan solvent ekstraksiyonu, soğuk preslemeye kıyasla asitlik ve peroksit değerlerinde önemli artışlara yol açarken, portakal ve greyfurt çekirdeklerine uygulanan ön işlemlerin de söz konusu değerlerde artışa sebep olduğu görülmüştür. Tüm narenciye çekirdeklerinin kontrol grupları arasında bir kıyaslama yapıldığında limon çekirdek yağının en yüksek serbest asitlik (%0,64) ve iyot sayısı (127,49 g I/100 g yağ) değerlerine, greyfurt çekirdek yağının ise en yüksek peroksit (13,83 meq aktif O₂/kg yağ) d sahip olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu (soğuk presleme) örneklerinde ölçülen iyot (107-127 g I/100 g yağ) ve sabunlaşma (199-204 mg KOH/g yağ) değerlerinin literatür verilerine kıyasla bir miktar daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Soğuk preslemeyle elde edilen tüm çekirdek yağlarına ait asit ve peroksit sayısı ölçümlerinin Türk Gıda Kodeksi Yemelik Yağlar Tebliği'nde (TGK 2001/29, 2001)belirtilen değerlere uygun olduğu, mikrodalga ve enzim uygulaması sonucunda dahi üst limit değerlerini aşmadığı açıkça görülmektedir.

Yağ örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri sırasıyla 3863-9811 µg GA/100 g yağ ve 7311-24345 µmol Trolox/100 g yağ olarak analiz edilmiştir. Solvent yardımı ile limon çekirdeklerinden ekstrakte edilen yağların diğer tüm deneme gruplarına kıyasla en düşük toplam fenol ve antioksidan kapasite değerine sahip olduğu, mikrodalga ve enzim muamelerin ise her iki özelliği de geliştirici yönde etki ettiği görülmektedir. Literatürde narenciye çekirdek yağlarının karakteristik özelliklerine ilişkin

bulguya rastlamak mümkün olmakla birlikte, araştırmacıların çoğu solvent ekstraksiyonu tekniğini kullandığından soğuk presleme ile karşılaştırma yapabileceğimiz bulgular sınırlıdır. Soğuk presleme süresince herhangi bir ısıtma yada kimyasal işlemin uygulanmamasından ötürü yağın iğerdiği nutrasotik bileşenlerin daha iyi korunduğu göz önüne alındığında, soğuk pres yağların toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerinin solventle ekstraksiyonu tekniğini kullanan araştırmacıların bulgularından bir hayli yüksek olması beklenen bir sonuçtur.

Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarının farklı kullanım alanlarının ortaya koyulmasında önem taşıyan kristalizasyon ve ergime sıcaklıkları ile entalpi değerleri literatürde ilk kez rapor edilen bulgulardan birisidir. Soğuk presleme grupları arasında karşılaştırma yapıldığında portakal çekirdek yağları için kristalizasyon, greyfurt çekirdek yağları içinse ergime başlangıç sıcaklıklarının diğer gruplardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Oksidatif indüksiyon zamanı üzerine solvent ekstraksiyonun indirgeyici etkisi tespit edilirken, mikrodalga ve enzim ön uygulamalarının yağ stabilitesini geliştirici yönde etki ettiği belirlenmiştir. Mikrodalga ve enzim muamelelerinin yağların toplam fenol ve antioksidan kapasite değerlerini artırıcı yöndeki etkisinin, oksidatif stabilitesi üzerinde önemli rol oynadığı bu bulgu ile desteklenmiştir.

Narenciyelerin yeşilimsi-sarıdan turuncuya kadar değişen renklerinden sorumlu olduğu düşünölen toplam karotenoid ve klorofil içerikleri de analiz edilmiştir. Limon çekirdek yağlarının toplam karotenoid ve klorofil iğeriğinin diğer iki narenciye türüne kıyasla oldukça yüksek olduğu ve solvenle ekstraksiyonunun karoten iğeriğinden ziyade klorofil iğeriği üzerine istatistiksel olarak da önemli etkileri bulunduğu gözlenmiştir.

Yağların karakterize edilmesinde büyük önem taşıyan nutrasotik bileşenlerinin belirlenmesine yönelik olarak yağ asitleri, sterol ve fenolik kompozisyonu ile α - tokoferol analizi geręekleřtirilmiřtir. Tüm örneklere belirlenen α - tokoferol düzeyi 110-322 mg/kg yağ aralığında değişim göstermektedir. En yüksek alfa tokoferol iğeriğine enzimle muamele sonrası soğuk preslenen greyfurt çekirdek yağlarında ulaşılırken, yalnız solvent kullanılarak ekstrakte edilen limon çekirdek yağlarının en düşük alfa tokoferol iğeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Tüm narenciye yağlarının yağ asitleri kompozisyonunda linoleik asit (%33-40) baskın olarak yer alırken, onu sırasıyla oleik asit (%20-30), palmitik asit (%20-28), linolenik asit (%4-8) ve stearik asit (%3-5) takip etmektedir. Çekirdeklere uygulanan ön muamele işlemleri, yağ asiti kompozisyonunda rakamsal ve istatistiksel olarak önemli değişikliklere yol açmamıştır. Analiz edilen tüm yağ örnekleri içerisinde greyfurt çekirdeğinin en yüksek

linoleik asit içeriğine sahip olduğu ve bunu sırasıyla portakal ve limon çekirdek yağlarının takip ettiği belirlenmiştir.

Beta sitosterol narenciye çekirdek yağlarının sterol kompozisyonunun %75-82'lik kısmını teşkil eden baskın bileşen olarak yapıda yer almakta ve bunu sırasıyla kampesterol (%9-12), stigmasterol (%2-5) ve delta-5-avenasterol (%1,5-4,5) takip etmektedir. Yağ asitleri kompozisyonunun sonuçlarına benzer biçimde, greyfurt çekirdek yağlarının limon ve portakal çekirdek yağlarına kıyasla baskın daha yüksek beta-sitosterol içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yağ asitleri ve sterol kompozisyonuna atı veriler incelendiğinde gerek solvent ekstraksiyonu gerekse mikrodalga ve enzim muamelelerin, kompozisyonel bileşenlerin miktarları üzerine doğrudan çok belirgin bir artış veya azalışa neden olmadığı görülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz kompozisyonel değerler incelendiğinde, değerlerimizi literatürle uyum içerisinde olduğu söylenebilir.

Narenciyelerin karakteristik acılıklarından sorumlu olduğu rapor edilen fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik yapılan analiz neticesinde, eriositrin, rutin, naringin ve hesperidin gibi flavanonların narenciye çekirdek yağlarının tümü için majör fenolik bileşenler olduğu görülmektedir. Limon, portakal ve greyfurt çekirdekleri benzer fenolik bileşenlere sahip olmalarına rağmen, bazı bileşenler bakımından miktar olarak belirgin farklılıklar sergilemişlerdir. Limon çekirdek yağları diğer narenciye türlerine kıyasla hayli yüksek eriositrin içeriğine sahip iken portakal çekirdek yağlarının diğer iki narenciye türüne kıyasla eriositrin, rutin, naringin gibi acılık üzerinde önemli rol oynayan flavanonları daha düşük düzeyde içerdiği, greyfurt çekirdek yağlarının ise rutin, naringin ve neohesperidin bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir. Portakal çekirdeklerine mikrodalga uygulamasının hesperidin dışındaki flavanonların düzeyinde önemli artışlara yol açtığı, greyfurt çekirdeklerinin acılık giderici enzimlerle muamelesi sonucunda ise naringin, naringenin, hesperidin, neohesperidin ve rutin gibi acılık etmeni flavononların indirgenmesinde başarılı sonuçlar alındığı belirlenmiştir.

Narenciye çekirdek yağlarının bazı bakteri suşları ve mayalar üzerine sergilediği antimikrobiyal etki disk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyonu metodlarına göre değerlendirilmiştir. Test edilen yağlar içerisinde, soğuk pres limon çekirdek yağları yine soğuk presle elde edilen portakal ve greyfurt çekirdek yağlarına kıyasla *Staphylococcus aureus* suşları, *E.coli* 0157:H7 ATCC 43895 ve *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 üzerine daha etkili inhibisyon sergilemiştir. Portakal ve greyfurt çekirdeklerine uygulanan ön muameleler, bazı bakteri türleri hariç diğer mikroorganizma gelişimlerinin inhibe edilmesinden başarılı sonuçlar alınmasına neden olmuştur. Bu veriden yola çıkarak

mikrodalga ve enzim uygulamalarının tokoferol, toplam fenol, antioksidan kapasite gibi nutrasotik özelliği teşvik edici unsurların yanısıra yağların antimikrobiyal aktivitelerinin gelişmesi üzerinde de dolaylı ve doğrudan etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Limon, portakal ve greyfurt çekirdek yağlarının uçucu bileşenleri katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) yöntemiyle GC-MS kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm yağ örneklerinde tespit edilebilir konsantrasyonda belirlenen toplam uçucu aroma maddeleri (d-limonen, β -pinene, β -myrecene, β -cymene, γ -terpinene majör uçucu bileşenler olmak üzere) sayısı 36 olup, en fazla uçucu bileşen içeriğine soğuk pres limon çekirdek yağında erişilmiş, soğuk pres greyfurt çekirdek yağlarının diğer gruplara kıyasla daha az uçucu bileşene sahip olduğu gözlenmiştir.

Hexanal, α -pinene, benzaldehide ve d-limonene her üç narenciye türünde de ortak tespit edilen uçucu bileşenlerdir. Limon çekirdeklerine uygulanan solvent ekstraksiyon tekniği, kontrol grubuna kıyasla thymol ve nerylasetat haricindeki uçucu bileşenlerin miktarında indirgenmeye neden olmuş, daha da önemlisi bu grup yağlarda hekzan kalıntısına (108 $\mu\text{g}/\text{kg}$ yağ) rastlanmıştır. Toksik olması sebebiyle sağlık açısından büyük risk oluşturacağı düşünülen bu durum, yağ üretiminde soğuk presleme tekniği kullanılmasının avantajını bir kez daha ortaya koymaktadır.

Portakal çekirdek yağlarının uçucu bileşen kompozisyonu, limon çekirdek yağlarına benzer bulunmuştur. Mikrodalga ön muamelesi uçucu bileşenlerin sayısında değişikliğe neden olmamış fakat hexanal, furfural, 2-furan menthol, benzaldehide ve (E)-limonene oksit miktarlarında artışa yol açmıştır. Ön muamelenin en önemli etkisi, kavrulmuş aromaları ile bilinen methyl pyrazine ve 2,5-dimethylpyrazine miktarının gelişimi üzerine gözlenmiştir.

Greyfurt çekirdek yağlarının uçucu bileşen sayı ve miktarı, limon ve portakal çekirdek yağlarına kıyasla daha düşük düzeyde tespit edilmiştir. Enzim ön muamelesi yağın meyvemsi, kremamsı, karamelimsi ve bitkisel aromasını geliştirici yönde etki sağlarken, turunçgillerin karakteristik aromasını oluşturan d-limonen düzeyinde %46'lık indirgenmeye yol açmıştır.

Narenciye çekirdek yağlarının tüketilebilirliğinin duyusal olarak ortaya konulması amacıyla kantitatif tanımlayıcı analiz tekniğinden yararlanılmıştır. On iki panelistten oluşan ve 15 puanlık skalanın kullanıldığı panelde, üç narenciye çekirdek yağı için toplamda 17 terim tanımlanmıştır. Limon ve portakal çekirdek yağları için tanımlanan terim sayısı, greyfurt çekirdek yağlarına kıyasla daha fazla sayıdadır. Muamele gruplarında yapılan duyusal değerlendirmeler kontrol gruplarından istatistiksel olarak farklılıklar sergilemiştir. Fenolik bileşenlerin analizinden alınan sonuçların tanımlayıcı test sonuçları

ile oldukça uyumlu olduğu görülmektedir. Rutin, naringin, naringenin bakımından en yüksek içeriğe sahip greyfurt çekirdek yağlarında algılanan acılık ve gırtlakta yakıcılık skorları, limon ve portakal yağlarına kıyasla çok daha yüksek bulunmuştur. Solventle ekstrakte edilmiş limon çekirdek yağlarının bazı koku ve ağız hissi skorları soğuk preslemeye kıyasla daha düşük bulunurken, gırtlak yakıcılığı panelistlerce daha yüksek algılanmıştır. Bu durumun uçucu bileşenlerin analizinde tespit edilen hekzan kalıntısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Portakal çekirdeklerine uygulanan mikrodalga muamelesi beklendiği şekilde kavrulmuş koku ve findığımsı tat terimlerinin daha yüksek, tatlı aromatik teriminin ise daha düşük algılanmasına yol açmıştır. Acılık giderici enzimlerle muamelenin fenolik kompozisyonunda olduğu gibi duyuşal değerlerde de istatistiksel olarak önemli değişimlere yol açtığı belirlenmiştir. Enzimle muamele edilen greyfurt çekirdek yağlarının acılık ve gırtlakta yakıcılık skorlarında kontrol grubuna kıyasla indirgenme göze çarpmaktadır.

Soğuk preslenmiş narenciye çekirdeği yağlı keklerinden solventle ekstrakte edilen yağlarda ölçülen fiziksel ve kimyasal özelliklerin birçoğu, narenciye çekirdek yağlarında ölçülen değerlere benzer nitelikler taşımaktadır. Her iki grup yağın kompozisyonel olarak da benzer olduğu, kompozisyonda baskın olarak yer alan majör bileşenlerin aynı sıralamada yer aldığı fakat miktar olarak farklılıklar sergilediği belirlenmiştir. Yağlı keklerden ekstrakte edilen yağlarda gerçekleştirilen analizler neticesinde, çekirdeklerden soğuk presleme ile alınan yağlara kıyasla hidrolitik ve oksidatif stabilitelerinin düşük olduğu ve solvent kullanımının nutrasotik bileşenlerde kayıpların yanısıra, hekzan kalıntısına sebep olabileceği gözlenen önemli bir bulgudur.

İçerdiği biyoaktif bileşenler bakımından oldukça zengin ve değerli birer yağ kaynağı olarak kabul edilen narenciye çekirdeklerinin tüketimini sınırlayan en önemli faktör karakteristik acı lezzetleridir. Greyfurt çekirdek yağlarının limon ve portakala kıyasla daha yüksek naringin, hesperidin ve rutin içeriğine sahip olmasıyla doğrudan ilişkili olarak lezzet değerlendirmesinde de daha yüksek acılık ve gırtlakta yakıcılık skorlarına sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bakımdan, çalışmanın son kısmında greyfurt çekirdek yağındaki acılığın giderilmesine yönelik olarak adsorban topraklarının etkinliği araştırılmıştır. Etkisi test edilen tüm adsorban materyalleri (amberlite XAD7, IR120, IR400, doğal zeolit, sepiyolit, montmorillonit) içerisinde sepiyolit en büyük yüzey alanı ve adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu, bununla ilişkili olarak da sepiyolitle muamele edilen yağların bulanıklık ve asit sayısı değerlerinin tüm gruplara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Muamele işlemlerinin sabunlaşmayan madde değerlerinde belirgin bir

değişime yol açmadığını ve yağların sterol kompozisyonlarında birbirine yakın değerlerde olduğunu söylemek mümkündür.

Adsorban toprakları ile muamele edilen yağların acılığının giderilmesinde değerlendirilen en önemli ölçüt yağların fenolik kompozisyonu olup, özellikle rutin, naringin ve hesperidin gibi başlıca acılık etmeni flavonoid glikozitlerin indirgenme düzeyleri üzerinde durulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla rutin, naringin, hesperidin için kaydedilen indirgenme düzeyleri sırasıyla %18-44, %3,4-3,6 ve %1,7-60 aralığında değişmiştir ve tüm değişimler istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur. Sepiyolit ve montmorillonitle muamele edilen yağların flavonoid glikozitlerin indirgenmesinde belirgin ölçüde daha etkili olduğu görülmektedir. Bu durum hem lezzet panel değerlendirilmesi hem de tüketici testleri sonucunda alınan verilerle de doğrulanmıştır. Sepiyolit muamelesinin daha düşük acı, buruk ve gırtlakta yakıcılık değerlerine sahip olduğu, tat ve lezzet açısından ise tüm yağlar içerisinde en beğenilen grup olarak tercih edildiğini söylemek mümkündür.

Kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldığında, adsorbanlarla muamelenin kavrulmuş, çiğ sebze ve saman gibi koku özellikleri, acı, fındıgımsı, baharatlı gibi tat özellikleri ve dolgunluk, gırtlakta yakıcılık gibi ağız özelliklerine ait değerlerde azalmaya yol açtığı belirlenmiştir.

Adsorban toprakları ile muamelenin yağların fonksiyonel özellikler üzerine etkisini görmek açısından, antibakteriyel aktivitenin test edilmesi de yapılan analizler arasındadır. Disk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyonu ile yapılan değerlendirmeler sonucunda, gerek kontrol gerekse muamele görmüş yağ örnekleri arasında belirgin farklılıkların olmadığı gözlenmiştir.

Çalışma bitiminde literatür için ilk kez rapor edilecek birçok önemli veri elde edilmiştir. Bununla birlikte limon çekirdek yağının detaylı karakterizasyonu üzerine yalnız soğuk preslemenin değil, solvent ekstraksiyonun etkisi karşılaştırmalı olarak ilk kez incelenmiştir. Portakal ve greyluft çekirdekleri içinde soğuk presleme yöntemi kullanılarak elde edilen yağların karakterizasyonu gerçekleştirilmekle birlikte, soğuk presleme öncesi uygulanan bazı ön işlemlerin yağın içerdiği nutrasotik bileşenlerin miktarında ve istenmeyen özelliklerin elimine edilmesinde başarılı sonuçlar verdiği saptanmıştır.

Limon, portakal ve greyluft çekirdeklerinin birer atık olmaktan öte soğuk pres yağ üretimi için materyal olarak değerlendirilmesinin gerek narenciye işleme endüstrisi gerekse gıda, kozmetik ve kimya endüstrisi bakımından değerli katkılar sağlayacağı aşikardır. Üretilen bu nutrasötik içerik açısından son derece zengin olan yağlar, acı tatları nedeniyle

doğrudan yemeklik yağ olarak kullanılmaları zor olsa da, belli miktarlarda diğer yemeklik yağlara katılarak, diğer gıda maddelerinin besin içeriğini zenginleştirme amacıyla, fonksiyonel gıda preperatlarının (nano-emülsiyonlar, lipid kapsülleri vb.) hazırlanmasında, kozmetik sektörde, oleokimyasallar (sabun, deterjan, kaplamalar vb.) sektöründe, diğer kimya uygulamalarında, muhtemel eczacılık ve tıbbi uygulamalarda ve biyo-dizel üretiminde kullanılabileceği değerlendirilmiştir. Ülkemizde şimdiye kadar atık olarak çöpe giden önemli gıda işleme atık maddeleri böylece katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmüş durumdadır. Ayrıca soğuk presleme sonrası açığa çıkan yağlı keklerin (küspelerin) olası diğer kullanım alanları da (yem katkısı, protein ve lif kaynağı, yakıt vb.) ilave katma değer sağlayan çıktılardır. Bu tez sonucunda narenciye çekirdeklerinin çok basit ve ucuz bir işleme tekniği olan soğuk preslemeyle katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülebileceği ortaya konulmuştur. Tam fiziko-kimyasal tanımlanması yapılan narenciye çekirdek yağlarının muhtemel uygulama alanlarına ilişkin yeni araştırma ihtiyaçları da bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim, (4 Şubat 2014). Katı Atıkların Değerlendirilmesi. 4 Şubat 2014. <http://foodwaste-fruit.tripod.com/id1.html>.
- Anonim, (2015a). Naringinase (Rhamnosidase A) from *Thermomicrobia sp.*, Retrieved November 05, 2015, from <http://prokazyme.com/product/naringinase/>.
- Anonim, (2015b). Hesperidinase (Rhamnosidase A) from *Thermomicrobia sp.*, Retrieved November 05, 2015, from <http://prokazyme.com/product/hesperidinase/>.
- Anonim, (3 Mart 2016). Türkiye’ de Narenciye. 31 Mart 2016, <http://www.ntg.org.tr/p/turkyede-narencye-2>.
- Akdağ E., (1 Aralık 2011). Türkiye Meyve Suyu vb. Ürünler Sanayi Raporu. 31 Mart, 2011, http://www.meyed.org.tr/userfiles/file/seyktor_istatistikleri/meyve_suyu_sektoru_raporu___2011.pdf.
- Akpata M.I., Akubor P.I., 1999. Chemical Composition and Selected Functional Properties Of Sweet Orange (*Citrus Sinensis*) Seed Flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 54: 353–362.
- Alper N., Acar J., 2004. Removal of Phenolic Compounds in Pomegranate Juices Using Ultrafiltration and Laccase-Ultrafiltration Combinations. *Nahrung/Food*, 48 (3): 184–187.
- Alquezar B., Rodrigo M.J., Zacarias L., 2008. Carotenoid Biosynthesis and its Regulation in Citrus Fruits and its Regulation in Citrus Fruits. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 2 (1): 23-35.
- Altan A., 1983. Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olarak Naringin. *Gıda* 8 (1): 29-32.
- Altuğ T., Elmacı Y., 2005. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Meta Basım Matbaacılık, İzmir. 130 s.
- Alvarenga A.E., Romero C.M., Castro G.R., 2013. A Novel α -L-rhamnosidase with Potential Applications in Citrus Juice Industry and in Winemaking. *European Food Research and Technology*, 237: 977–985.

- Anjum F., Anwar F., Jamil A., Iqbal M., 2006. Microwave Roasting Effects on the Physico-chemical Composition and Oxidative Stability of Sunflower Seed Oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 83: 777-784.
- Anwar F., Naseer R., Bhanger M.I., Ashraf S., Talpur F.N., Aladedunye F.A., 2008. Physico-chemical Characteristics of Citrus Seeds and Seed Oils from Pakistan. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 85: 321-330.
- AOAC, 2002. Method 920.39, Crude Fat & Oil. *Association of Official Analytical Chemists (17th ed.)*. Association of Analytical Communities Gaithersburg, MD, USA. 87.
- AOCS, 1984. Method Cc 10c-95, Mass/Unit Volume. *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (3th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1984. Method Tl 1a-64, Unsaponifiable Matter in Fatty Acids, Commercial *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (3th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1984. Method Tl 1a -64, Saponification Value of Fatty Acids. *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (3th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1989. Method Aa 5-38, Protein Content with Kjeldahl Yechnique. *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (4th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1997. Method 13i-96, Chlorophyll Pigments (crude vegetable oils). *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Ba 5a-49, Ash in in Oilseed Cake and Meals. *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Ca 5a-40, Free Fatty Acids. *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.)*. AOCS, Champaign, IL. 1200 p.

- AOCS, 1998. Method Cd 3d-63, Acid Value of Fats and Oils. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cc 17-79, Soap in Oil by Titrimetric Method. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cc 8f-91, Bleaching Test for Evaluation of Clays and Absorbents. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cd 1-25, Iodine Value of Fats and Oils, Wijs Method. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cd 18-90, *p*-Anisidine Value. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cd 8-53, Peroxide Value: Acetic Acid–Chloroform Method Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- AOCS, 1998. Method Cg 2-83, Flavor Evaluation of Edible Fats and Oils. Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemist's Society (5th ed.). AOCS, Champaign, IL. 1200 p.
- Arsunar E.S. 2014. Kapyra Biber Tohumlarından Soğuk Presleme İle Yağ Eldesinin Optimizasyonu ve Ürün Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Atli Ö., Ergun B., Altıokka G., 2007. Determination of Hesperidin and Neohesperidin in Fruit Juices Using High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) Method. Toxicology Letters, 172 (1): 222.
- Avşar Y.K., Karagul-Yuceer Y., Drake M.A., Singh T.K., Yoon Y., Cadwallader K.R., 2004. Characterization of Nutty Flavor in Cheddar Cheese. Journal of Dairy Science, 87: 1999–2010.

- Aydeniz B., Güneşer O., Yılmaz E., 2014. Physico-chemical, Sensory And Aromatic Properties Of Cold Press Produced Safflower Oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 91: 99-110.
- Azadmard-Damirchi S., Habibi-Nodeh F., Hesari J., Nemati M., Achachouei B.F., 2010. Effect of Pretreatment with Microwaves on Oxidative Stability and Nutraceuticals Content of Oil From Rapeseed. *Food Chemistry*, 121: 1211–1215.
- Benavente-García O., Castillo J., 2008. Update on Uses and Properties of Citrus Flavonoids: New Findings in Anticancer, Cardiovascular and Anti-Inflammatory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (15): 6185–6205.
- Bhatnagar A.S., Krishna A.G.G., 2014. Lipid Classes And Subclasses of Cold-Pressed and Solvent-Extracted Oils from Commercial Indian Niger (*Guizotia abyssinica* (L.f.) Cass.) Seed. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 91: 1205–1216.
- Birgisson H, Hreggvidsson GO, Fridjónsson OH, Mort A, Kristjánsson JK, Mattiasson B., 2004. Two New Thermostable Alpha-L-rhamnosidases from a Novel Thermophilic Bacterium. *Enzyme Microbiology Technology*, 34: 561-571.
- Bocco A., Cuvelier M.E., Richard H., Berse C., 1998. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2123–2129.
- Bok S.H., Jeong T.H., Choi M.S., Moon S., Kwon Y.K., Lee E.S., Hyun B.H., Lee J.S., Son K.H., Kwon B.m., Kim Y.K., Choi D., Kim Su., Hwang I., Ahn J.A., Park Y.B., Kim H.S., Choe S.C., 1999. Use of Naringin and Naringenin. *PCT Int. Appl. WO 9921,548*. (cited from Prakash S., Singhal R.S., Kulkarni P.R., 2002. Enzymic Debittering of Indian Grapefruit (*Citrus paradisi*) Juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 394-397.
- Bourgou S., Rahali F.Z., Ourghemmi I., Tounsi M. S., 2012. Changes of Peel Essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus during Fruit Maturation. *The Scientific World Journal*, 1: 1-10.
- Bozdemir S., Guneser O., Yılmaz E., 2015. Properties and Stability of Chickpea Products. *Grasas y Aceites*, 66 (1): e065.

- Boztemur M., (1 Aralık 2011). Narenciye Uluslararası Pazar Analizi. Mersin Ticaret ve Sanayi Odası Avrupa İşletmeler Ağı. 10 Şubat 2016, <http://docplayer.biz.tr/2133887-Narenciye-uluslararasi-pazar-analizi-yas-meyve-ve-sebze-kumesi.html>.
- Brühl L., Matthäus B., 2008. Sensory Assessment of Virgin Rapeseed Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110: 608–610.
- Bulut E., 2009. Kızartma Yağlarına Uygulanan Yeni Adsorben Karışımının Etkenliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Burt S.A., Reinders R.D., 2003. Antibacterial Activity of Selected Plant Essential Oils against *Escherichia coli* O157: H7. *Letters in Applied Microbiology*, 36 (3): 162-167.
- Burt S.A., 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods—A Review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3): 223–253.
- Busto M.D., Meza V., Ortega N., Perez-Mateos M., 2007. Immobilization of Naringinase from *Aspergillus niger* CECT 2088 in Poly(vinyl alcohol) Cryogels for the Debittering of Juices. *Food Chemistry*, 104 (3): 1177-1182 .
- Carson K.J., Collins J.L., Penfield M.P., 1994. Unrefined, Dried Apple Pomace as a Potential Food Ingredient. *Journal of Food Science*, 59 (6): 1213–1215.
- Cavia-Saiz M., Muñiz P., Ortega N., Busto M.D., 2011. Effect of Enzymatic Debittering on Antioxidant Capacity and Protective Role against Oxidative Stress of Grapefruit Juice in Comparison with Adsorption on Exchange Resin. *Food Chemistry*, 125: 158–163.
- Cemeroğlu B., 2013. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt (5. Baskı). Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 25, Ankara. 646-658.
- Chandler B.V., 1971. Some Solubility Relationship of Limonin. Their Importance iIn Orange Juice Bitterness. *CSIRO Food Research Quarterly*, 31: 36–40.
- Chanet A., Milenkovic D., Manach C., Mazur A., Morand C., 2012. Citrus Flavanones: What is Their Role in Cardiovascular Protection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (36): 8809-8822.

- Chotimarkorn C., Benjakul S., Silalai N., 2008. Antioxidative Effects of Rice Bran Extracts on Refined Tuna Oil during Storage. *Food Research International*, 41: 616–622.
- Co E.D., Marangoni A.G., 2012. Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 89: 749-780.
- Dassanayake L.S.K., Kodali D.R., Ueno S., Sato K., 2009. Physical Properties of Rice Bran Wax in Bulk and Organogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86: 1163–1173.
- David F., Sandra P., Vickers A.K. (2005). Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters Application, Retrieved June 2016, from <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-3760EN.pdf>.
- Davis W.B., 1947. Determination of Flavanones in Citrus Fruits. *Analytical Chemistry*, 19: 476-478.
- Demirel H., Karapınar N., Akça K. 1995. Bentonit ve Diğer Killerin Absorbant Olarak Kullanımı. *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*, İzmir. 21-31.
- Deveci E.Ü. 2008. Portakal Atıklarından *Aspergillus Niger* Filamentli Fungusu Kullanılarak Sitrik Asit Üretiminde Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Mersin Üniversitesi, Türkiye.
- Doğan D., 2014. Turunçgil Zeytin İncir ve Diğer Subtropik Meyveler. 1 Kasım 2015, http://readgur.com/doc/469091/suprotropik-meyveler_do%C4%9Fan-do%C4%9Fan---tc-g%C4%B1da-tar%C4%B1m-ve-hayvanc.
- Domínguez J.R., González T., Palo P., Cuerda-Correa E.M., 2011. Removal of Common Pharmaceuticals Present in Surface Waters by Amberlite XAD-7 Acrylic-Ester-Resin: Influence of pH and Presence of Other Drugs. *Desalination*, 269: 231–238.
- Dong D., Xu L., Yin L., Qi Y., Peng Y., 2015. Naringin Prevents Carbon Tetrachloride-Induced Acute Liver Injury in Mice. *Journal of Functional Foods*, 12: 179–191.
- Dülger A., Yılmaz E., 2013. Effectiveness of Modified Zeolites as Adsorbent Materials for Frying Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115: 668-675.

- Dündar Emir D., Güneşer O., Yılmaz E., 2015. Cold Pressed Poppyseed Oils: Sensory Properties, Aromatic Profiles and Consumer Preferences. *Grasas y Aceites*, DOI:<http://dx.doi.org/10.3989/gya.109213>.
- El-Adawy T.A., Rahma E.H., El-Bedawy A.A., Gafar A.M., 1999. Properties of Some Citrus Seeds. Part 3. Evaluation as A New Source of Protein and Oil. *Nahrung*, 43 (6): 385–391.
- Elston A., Lin J., Rouseff R., 2005. Determination of the Role of Valencene in Orange Oil as a Direct Contributor to Aroma Quality. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 381–386.
- EUCAST Disk Diffusion Test Manual, (14 January 2016). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. v 3.0, 2013. Retrieved August 16, 2016, from http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_methodology/.
- Franke S., Fröhlich K., Werner S., Böhm V., Schöne F., 2010. Analysis of Carotenoids and Vitamin E in Selected Oilseeds, Press Cakes and Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112: 1122-1129.
- Gammariello D., Conte A., Lucera A., Mastromatteo M., Del Nobile M.A., 2014. Anti-yeast Activity of Natural Compounds: *in vitro* and *in vivo* Tests. *Food Packaging and Shelf Life*, 1 (1): 30-37.
- Ghazani S.M., Garcia-Llatas G., Marangoni A.G., 2014. Micronutrient Content of Cold-Pressed, Hot-Pressed, Solvent Extracted and RBD Canola Oil: Implications for Nutrition and Quality. *European Journal of Lipid Science Technology*, 116: 380–387.
- Gebhardt S.E., R.G. Thomas, 2002. *Nutritive Value of Foods*. USDA. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, Beltsville, Maryland, 103 p.
- Górnas´ O., Pugajeva I., Segliņa D., 2014. Seeds Recovered from By-Products of Selected Fruit Processing as a Rich Source of Tocochromanols: RP-HPLC/FLD and RP-UPLC-ESI/MSⁿ Study. *European Food Research Technology*, 239: 519-524.

- Grilo Câmara E., Costa P.N., Gurgel C.S.S., Beserra A.F.M., Almeida F.N.S., Dimenstein R., 2014. Alpha-Tocopherol and Gamma-Tocopherol Concentration in Vegetable Oils. *Food Science and Technology (Campinas)*, 34 (2): 379-385.
- Habib M.A., Hammam M.A., Sakr A.A., Ashoush Y.A., 1986. Chemical Evaluation of Egyptian Citrus Seeds as Potential Sources of Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63 (9): 1192-1196.
- Hautfenne A., Pocklington W.D., Wolff J.P., 1987. Determination of Hexane Residues in Oils - Results of a Collaborative Study and the Standardized Method. *Pure and Applied Chemistry*, 59: 1561-1570.
- Hayat K., Hussain S., Abbas S., Farooq U., Ding B., Xia S., Jia C., Zhang X., Xia W., 2009. Optimized Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Acids from Citrus Mandarin Peels and Evaluation of Antioxidant Activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70 (1): 63–70.
- Hui Y.H., Sherkat F., 2005. *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering (Food Science and Technology)*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. 3632 p.
- Ixtaina V.Y., Martinez M.L., Spotorno V., Mateo C.M., Maestri D.M., Diehl B.W.K., Nolasco S.M., Tomas M.C., 2011. Characterization of Chia Seed Oils Obtained by Pressing and Solvent Extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 166–174.
- Javed S., Javaid A., Mahmood Z., Javaid A., Nasim F., 2011. Biocidal Activity of Citrus Peel Essential Oils against Some Food Spoilage Bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (16): 3697-3701.
- Jagetia G.C., Reddy T.K., 2005. Modulation of Radiation Induced Alteration in the Antioxidant Status of Mice by Naringin. *Life Sciences*, 77 (7): 780–794.
- Jung U.J., Kim H.J., Lee J.S., Lee M.K., Kim H.O., Park E.J., Kim H.K., Jeong T.S., Choi M.S., 2003. Naringin Supplementation Lowers Plasma Lipids and Enhances Erythrocyte Antioxidant Enzyme Activities in Hypercholesterolemic Subjects. *Clinical Nutrition*, 22 (6): 561–568.

- Karoui I.J., Marzouk B., 2013. Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities. *BioMed Research International*, Article ID 345415: 1-12.
- Kayahan M., 2005. Yemeklik Yağ Rafinasyon Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi: 10, Ankara.199 s.
- Khoddami A., Che Man Y.B., Roberts T.H., 2014. Physico-Chemical Properties and Fatty Acid Profile of Seed Oils from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Extracted by Cold Pressing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116: 553-562.
- Kirbaşlar Ş.İ., Boz İ., Kirbaşlar F.G., 2006. Composition of Turkish Lemon and Grapefruit Peel Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: 525-543.
- Kirbaşlar F.G., Tavman A, Dülger B., Türker G., 2009. Antimicrobial Activity Of Turkish *Citrus* Peel Oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41 (6): 3207-3212.
- Kora M.P., Karataş M.O., 2005. Adsorbent Nedir? Hangi Özelliklere Sahiptir? Endüstride Kullanılan Adsorbentler ve Bunların Özellikleri Nelerdir? 14 Ocak 2016, w3.balikesir.edu.tr/~ozkan/ads/adsorpsiyon05.pps.
- Kreps F., Vrbiková L., Schmidt S., Sekretár S., Híreš O., 2014. Chemical Changes in Microwave Heated Vegetable Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116 (12): 1685–1693.
- Latif S., Anwar F., 2011. Aqueous Enzymatic Sesame Oil and Protein Extraction. *Food Chemistry*, 125: 679-684.
- Lin J., Russell, Rouseff R.L., 2001. Characterization of Aroma-Impact Compounds in Cold-Pressed Grapefruit Oil Using Time–Intensity GC–Olfactometry and GC–MS. *Flavour Fragrance Journal*, 16: 457–463.
- Ling W.H., Jones P.J.H., 1995. Dietary Phytosterols: A Review of Metabolism, Benefits and Side Effects. *Life Science*, 57: 195-206.
- Maier T., Schieber A., Kammerer D.R., Carle R., 2009. Residues of Grape (*Vitis vinifera* l.) Seed Oil Production as a Valuable Source of Phenolic Antioxidant. *Food Chemistry*, 112: 551–559.

- Malacrida C. R., Kimura M., Jorge N., 2012. Phytochemicals and Antioxidant Activity of Citrus Seed Oils. *Food Science and Technology Research*, 18 (3): 399 – 404.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., 2004. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727–747.
- Manners G.D., 2007. Citrus Limonoids: Analysis, Bioactivity and Biomedical Prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 8285–8294.
- Manthey J.A., Grohmann K., 1996. Concentrations of Hesperidin and Other Orange Peel Flavonoids in Citrus Processing By-products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 811–814.
- Masoodi F.A, Chauhan G.S., 1998. Use of Apple Pomace as a Source of Dietary Fiber in Wheat Bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22: 255-263.
- Matheyambath A.C., Padmanabhan P., Paliyath G., 2016. *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.). Elsevier Press, Oxford, England. 136-140.
- Matthaus B, Özcan M.M., 2012. Chemical Evaluation of Citrus Seeds an Agro-Industrial Waste, as a New Potential Source of Vegetable Oils. *Grasas y Aceites*, 63 (3): 313-320.
- Meilgaard M., Civille G.V., Carr B.T., 1999. *The Spectrum Descriptive Analysis Method-Sensory Evaluation Techniques* (3rd ed.). CRC Press, Florida, Boca Raton. 173-229.
- Minitab, Minitab 16.1.1. 2010. *Statistical Software*. Minitab, Inc., State College, Pennsylvania, USA.
- Mishra P., Kar R., 2003. Treatment of Grapefruit Juice for Bitterness Removal by Amberlite IR 120 and Amberlite IR 400 and Alginate Entrapped Naringinase Enzyme. *Journal Of Food Science*, 68 (4): 1229-1233.
- Miyake M., Shimata M., Osajima Y.J., Inaba N., Ayano S., Ozaki Y., 2000. Extraction and Recovery of Limonoids with Super Critical Carbon Dioxide Micro Bubble Method. *ACS Symposium Series*, 758, 96–106.
- Moulehi İ., Bourgou S., Ourghemmi İ., Tounsi M.S., 2012. Variety and Ripening Impact on Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Mandarin (*Citrus*

- reticulate* Blanco) and Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Seeds Extracts. *Industrial Crops and Products*, 39: 74– 80.
- Nas S., Gökalp H.Y., Ünsal M., 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 5. Denizli. 329 s.
- Nayak B., Dahmoune F., Moussi K., Remini H., Dairi S., Aoun O., Khodir M., 2015. Comparison of Microwave, Ultrasound and Accelerated-Assisted Solvent Extraction for Recovery of Polyphenols from *Citrus sinensis* Peels. *Food Chemistry*, 187: 507– 516.
- Oliveira D.A., Salvadora A.A., Junior A.S., Smânia E.F.A., Maraschin M., Ferreira S.R. 2012. Antimicrobial Activity and Composition Profile of Grape (*Vitis Vinifera*) Pomace Extracts Obtained by Supercritical Fluids. *Journal of Biotechnology*, 164: 423–432.
- Oliveria T.L.C., Soars R.A., Ramos E.M., Cardoso M.G., Alves E. ve Piccoli R.H., 2011. Antimicrobial Activity of *Satureja montana* L. Essential Oil Against *Clostridium perfringens* type A inoculated in Mortadella Type Sausages Formulated with Different Levels of Sodium Nitrate. *International Journal of Food Microbiology*, 144: 546-555.
- Ortuno A., Reynaldo I., Fuster M.D., Botia J., Garica-Puig D., Sabater F., Garcia Lidon A., Porras I., Del Rio J.A., 1997. Citrus Cultivars with High Flavonoid Contents in the Fruits. *Scientia Horticulturae*, 68: 231 - 236.
- Park N.H., Chand H.N., 1979. Preparation and Characterization of Immobilized Naringinase on Porous Glass Beads. *Journal of Fermentation and Technology*, 57 (4): 310–316. (from Busto M.D., Meza V., Ortega N., Perez-Mateos M., 2007. Immobilization of Naringinase from *Aspergillus niger* CECT 2088 in Poly(vinyl alcohol) Cryogels for the Debittering of Juices. *Food Chemistry*, 104 (3): 1177-1182 .
- Parry J.W., Su L., Luther M., Zhou K., Yurawecz M.P., Whittaker P., Yu L., 2005. Fatty Acid Content and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 566–573.

- Peña F., Cárdenas S., Gallego M., Valcárcel M., 2003. Direct Sampling of Orujo Oil for Determining Residual Hexane by using a ChemSensor. *Journal of American Oil Chemists Society*, 80: 613–618.
- Peterson J.J., Beecher G.R., Bhagwat S.A., Dwyer J.T., Gebhardt S.E., Haytowitz D.B., Holden J.M., 2001. Flavanones in Grapefruit, Lemons, and Limes: A compilation and Review of the Data from the Analytical Literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 74–80.
- Pradhan R.C., Mishra S., Naik S.N., Bhatnagar N. Vijay V.K., 2011. Oil Expression from *Jatropha* Seeds Using a Screw Press Expeller. *Biosystems Engineering*, 109: 158-166.
- Prakash S., Singhal R.S., Kulkarni P.R., 2002. Enzymic Debittering of Indian Grapefruit (*Citrus paradisi*) Juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 394-397.
- Pritchett D.E., (1957). Extraction of Bitter Principle From Navel Orange Juice. US Patent 2,816,033, Retrieved January 04, 2016, from <https://www.google.ch/patents/US2816033>.
- Puri M., Banerjee U.C., 2000. Production, Purification, and Characterization of the Debittering Enzyme Naringinase. *Biotechnology Advances*, 18: 207-217.
- Qiao Y., Xie B.J., Zhang Y., Zhang Y., Fan G., Yao X.L., Pan S.Y., 2008. Characterization of Aroma Active Compounds in Fruit Juice and Peel Oil of Jincheng Sweet Orange Fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) by GC-MS and GC-O. *Molecules*, 13 (6): 1333-1344.
- Rafalowski R., Zegarska Z., Kuncewicz A., Borejszo Z., 2008. Fatty Acid Composition, Tocopherols and Beta-Carotene Content in Polish Commercial Vegetable Oils. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (2): 278-282.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.
- Rezzadori K., Benedetti S., Amante E.R., 2012. Proposals for the Residues Recovery: Orange Waste as Raw Material for New Products. *Food and Bioproducts Processing*, 90: 606–614.

- Ribeiro Í.A., Ribeiro M.H.L., 2008. Naringin and Naringenin Determination and Control in Grapefruit Juice by a Validated HPLC Method. *Food Control*, 19: 432–438.
- Ribeiro M.H.L., Silveira D., Ferreira-Dias S., 2002. Selective Adsorption of Limonin and Naringin from Orange Juice to Natural and Synthetic Adsorbents. *European Food Research Technology*, 215: 462–471.
- Rodriguez-Amaya D.B., Kimura M., (2004). Harvest Plus Handbook for Carotenoids Analysis, Retrieved January 04, 2016, from <http://www.harvestplus.org/sites/default/files/tech02.pdf>.
- Romanik G., Gilgenast E., Przyjazny A., Kamiński M., 2007. Techniques of Preparing Plant Material for Chromatographic Separation and Analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70 (2): 253-261.
- Romero A., Cuesta C., Sánchez-Muniz F.J., 1998. Effect of Oil Replenishment During Deep-Fat Frying of Frozen Foods in Sunflower Oil and High-Oleic Acid Sunflower Oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 75 (2): 161-167.
- Russo M., Bonaccorsi I., Torre G., Sarò M., Dugo P., Mondello L., 2014. Underestimated Sources of Flavonoids, Limonoids and Dietary Fibre: Availability in Lemon's By-Products. *Journal of Functional Foods*, 9: 18–26.
- Sabah E., Çelik M.S. 1999. Sepiyolit: Özellikleri ve Kullanım Alanları. 3.Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu, İzmir. 132-146.
- Saidani M., Dhifil W., Marzouk B., 2004. Lipid Evaluation of Some Tunisian Citrus Seed. *Journal of Food Lipids*, 11: 242–250.
- Salas M.P., Reynoso C.M., Céliz G., Daz M., Resnik, S.L., 2012. Efficacy of Flavanones Obtained from Citrus Residues to Prevent Patulin Contamination. *Food Research International*, 48: 930–934.
- Saloua F., Eddine N.I., Hedi Z., 2009. Chemical Composition and Profile Characteristics of Osage Orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider Seed and Seed Oil. *Industrial Crops and Products*, 29: 1–8.
- Sandu C., 1986. Infrared Radiative Drying in Food Engineering: A Process Analysis. *Biotechnol Progress*, 2 (3): 109-119.

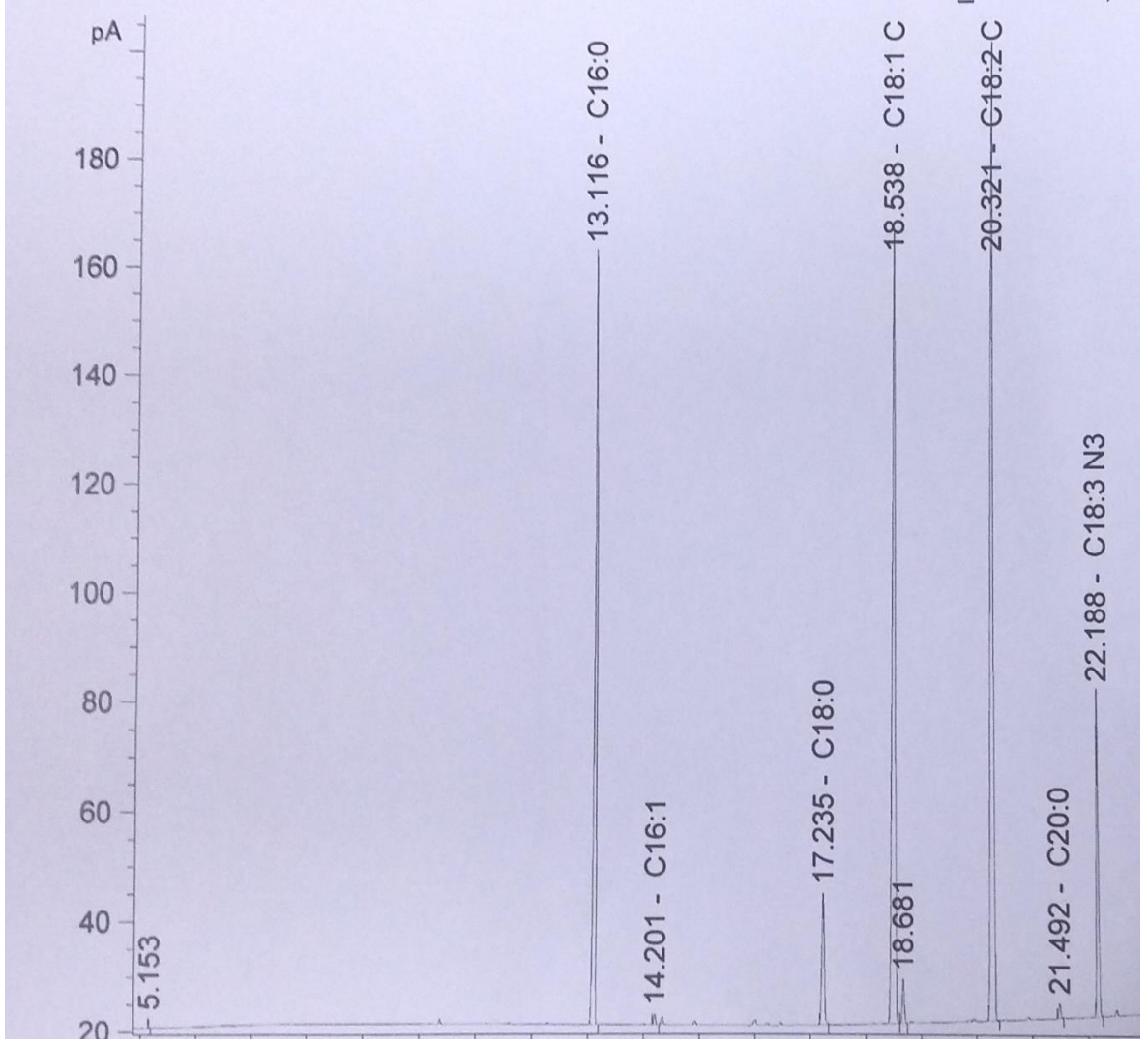
- Schuette S.A., Poole C.F. 1984. Contemporary Practice of Chromatography. Elsevier Publisher, New York. 708 p.
- Soares N.F.F., Hotchkiss J.H., 1998. Bitterness Reduction in Grapefruit Juice through Active Packaging. Packaging Technology and Science, 11 (1): 9–18.
- SPSS, SPSS Professional Statistics 10,1. 1994. SPSS Inc., Chicago, IL, USA.
- Şener A., Ünal M.Ü. 2008. Gıda Sanayii Atıklarının Biyoteknolojik Yöntemlerle Değerlendirilmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum. 1035-1038.
- Tan C.P., Che Man Y.B., Selamat J., Yusoff M.S.A., 2002. Comparative Studies of Oxidative Stability of Edible Oils by Differential Scanning Calorimetry and Oxidative Stability Index Methods. Food Chemistry, 76: 385-389.
- Taşpınar Ö.O., Özgül-Yücel S., 2008. Lipid Adsorption Capacities of Magnesium Silicate and Activated Carbon Prepared from the Same Rice Hull. European Journal of Lipid Science and Technology, 110: 742-746.
- TEAE, (1 Kasım 2010). Turunçgiller Durum – Tahmin. 04 Ocak 2016,
<http://www.sokenarenciyebirligi.com/durum%20tahmin%202010%20-%202011.pdf>.
- TGDF, (1 Aralık 2014). Türkiye Gıda ve İçecek 2014 Envanteri. Türkiye Gıda ve İçecek Sanayii Dernekleri Federasyonu, 04 Ocak 2016,
<http://tgdf.org.tr/pdf/2014envanter.pdf>.
- TGK, 2001. Türk Gıda Kodeksi- Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği (2001/29). Resmi Gazete, Ankara.
- TGK, 2002. Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (2002/63). Resmi Gazete, Ankara.
- Thostenson E.T., Chou T.W., 1999. Microwave Processing: Fundamentals and Applications. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 30: 1055–1071.
- Tokgöz H., Gölükcü M., 2009. Turunç (*Citrus Aurantium*) Meyvelerinin Değerlendirilme Yöntemleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Hasad Gıda, 284: 44-48.

- TSE 894, 1970. Yemeklik Bitkisel Yağlar-Muayene Metodları. Resmi Gazete, Ankara.
- TSE EN ISO, 1999. International Standards Official Methods 12228:1999, Animal and Vegetable Fats And Oils-Determination of Individual and Total Sterols Contents— Gas Chromatographic Method. Geneve, Switzerland.
- Tsen H.Y., Yu G.K., 1991. Limonin and Naringin Removal from Grapefruit Juice with Naringinase Entrapped in Cellulose Triacetate Fibers. Journal of Food Science, 56 (1): 31-34.
- TÜİK, (1 Aralık 2014). Turunçgiller. 27 Şubat 2014, <http://www.tuik.gov.tr>.
- Uckoo R., Jayaprakasha G.K., Balasubramaniam V.M., Patil B.S., 2012. Grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad) Phytochemicals Composition is Modulated by Household Processing Techniques. Journal of Food Science, 77 (9): 921-926.
- UTK, (1 Kasım 2015). Dünya Turunçgil Üretimi. 11 Kasım 2015, <http://www.utk.org.tr/FilePath/pdf/utk-icin-ozet-tablolar.pdf>.
- Vallverdú-Queralt A., Regueiro J., Alvarenga J. F. R., Torrado X., Lamuela-Raventos R.M., 2014. Home Cooking and Phenolics: Effect of Thermal Treatment and Addition of Extra Virgin Olive Oil on the Phenolic Profile of Tomato Sauces. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62: 3314–3320.
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez J., 2008. Antifungal Activity of Lemon (*Citrus lemon* L.), Mandarin (*Citrus reticulata* L.), Grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and Orange (*Citrus sinensis* L.) Essential Oils. Food Control, 19: 1130–1138.
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A., 2009. Chemical Composition of Mandarin (*C. reticulata* L.), Grapefruit (*C. paradisi* L.), Lemon (*C. limon* L.) and Orange (*C. sinensis* L.) Essential Oils. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 12 (2): 236 – 243.
- Wang Y.C., Chuang Y.C., Hsu, H.W., 2008. The Flavonoid, Carotenoid and Pectin Content In Peels of Citrus Cultivated in Taiwan. Food Chemistry, 106: 277–284.
- Wang Y.C., Chuang Y.C., Ku Y.H., 2007. Quantitation of Bioactive Compounds in Citrus Fruits Cultivated in Taiwan. Food Chemistry, 102: 1163–1171.

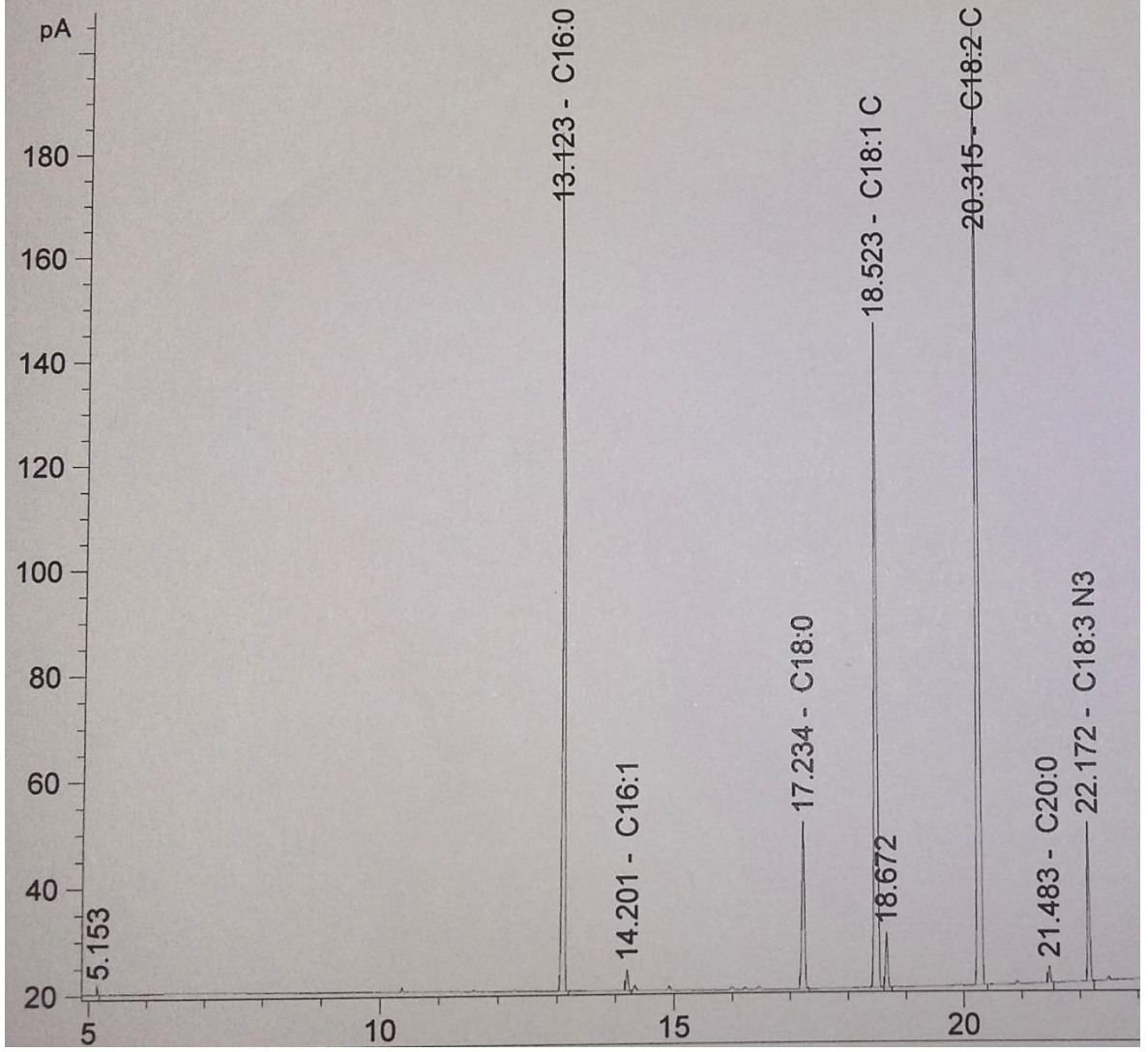
- Xu C.J., Fraser P.D., Wang W.J., Bramley P.M., 2006. Differences in the Carotenoid Content of Ordinary Citrus and Lycopene-Accumulating. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54: 5474–5481.
- Yadav V., Yadav P.K., Yadav S., Yadav K.D.S., 2010. α -L-Rhamnosidase: A review. *Process Biochemistry*, 45: 1226–1235.
- Yalım S. 2002. Turunçgil Ürünlerinde Naringin (4,5,7-Trihidroksi Flavonone-7-Rhamnoglukoside) Miktarının Belirlenmesi ve Giderilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi, Türkiye.
- Yaman K., 2012. Bitkisel Atıkların Değerlendirilmesi ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 12 (2): 339-348.
- Yılmaz E., Ögütçü M., 2009. Comparison of the Virgin Olive Oils Produced in Different Regions of Turkey. *Journal of Sensory Studies*, 24: 332-353.
- Yılmaz E., 2014. Haşhaş Tohumlarından Soğuk Pres Yöntemi İle Elde Edilen Yağsız Keklerin ve Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. TÜBİTAK Proje No: TOVAG 113O547, Ankara, Baskıda (In press).
- Yılmaz E., Arsunar E.S., Aydeniz B., Güneşer O., 2015a. Cold Pressed *Capsicum annuum* L.) Oils: Composition, Aroma and Sensory Properties. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117: 1016–1026.
- Yılmaz E., Aydeniz B., Güneşer O., Arsunar E.S., 2015b. Sensory and Physico-Chemical Properties of Cold Press Produced Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seed Oils. *Journal of American Oil Chemists Society*, 92: 833–842.
- Yücel U., Öngen G., Güngör G., 2006. Eko Teknolojik Yaklaşım ile Gıda Sanayi Atıklarında Enzim Uygulamaları. *Akademik Gıda*, 20: 6-10.
- ZMO, (1 Kasım 2015). Türkiye’de Turunçgil Üretimi, Dış Ticareti ve Sorunları. 11.11.2015, http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=23137.



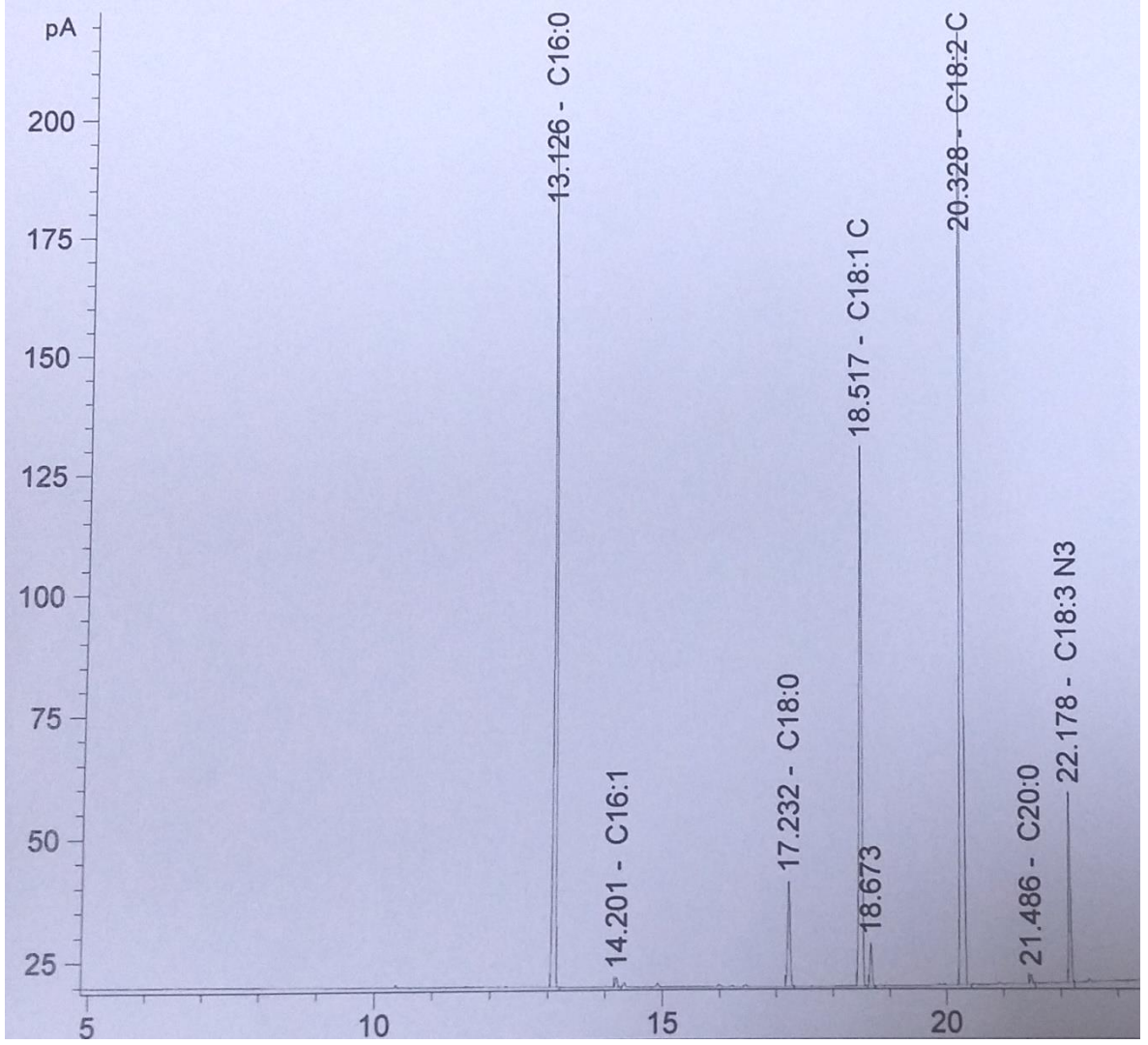
EK 1. Soğuk pres limon çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu



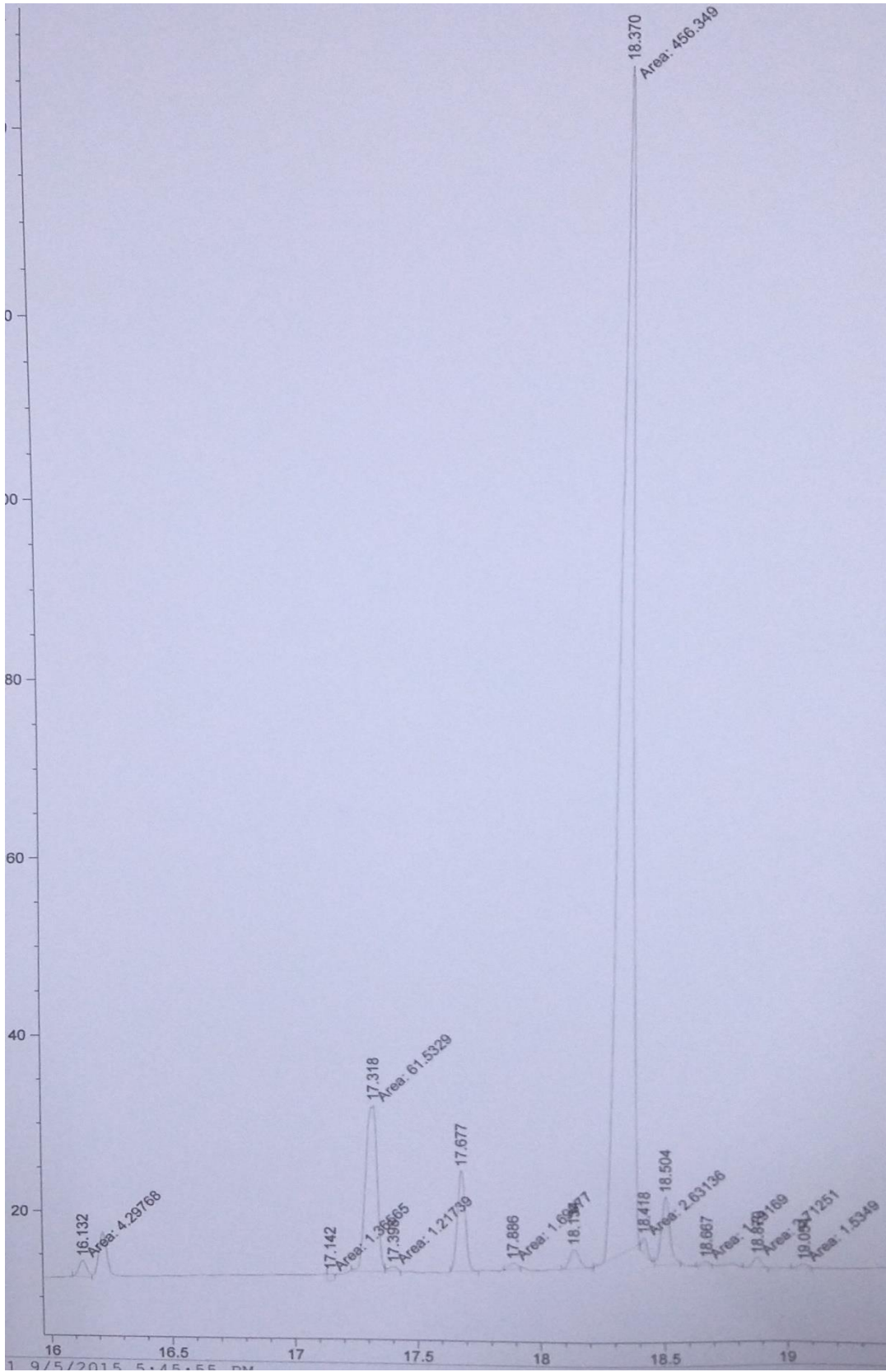
EK 2. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu



EK 3. Soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı yağ asitleri kompozisyonu



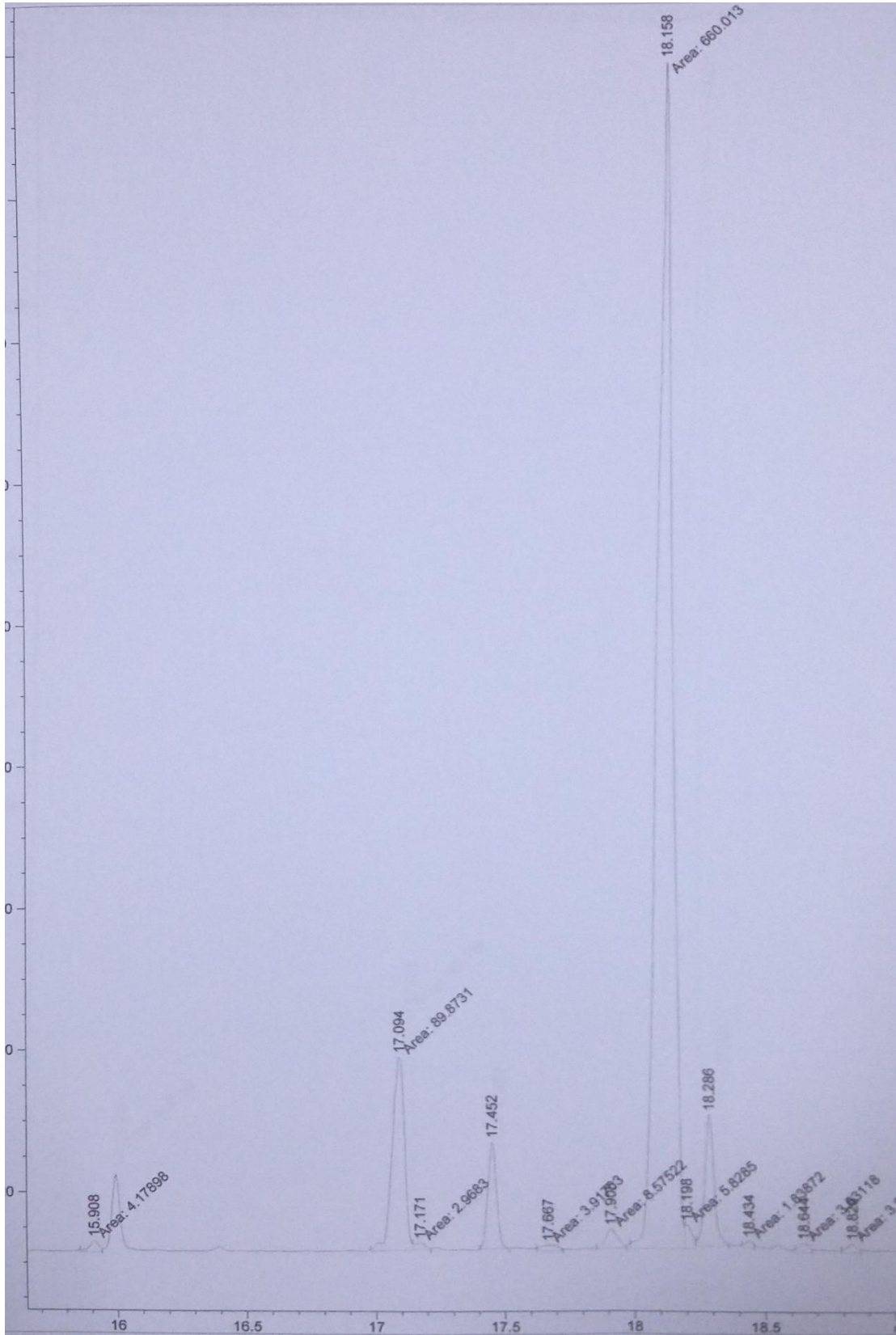
EK 4. Soğuk pres limon çekirdeği yağı sterol kompozisyonu



EK 5. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı sterol kompozisyonu

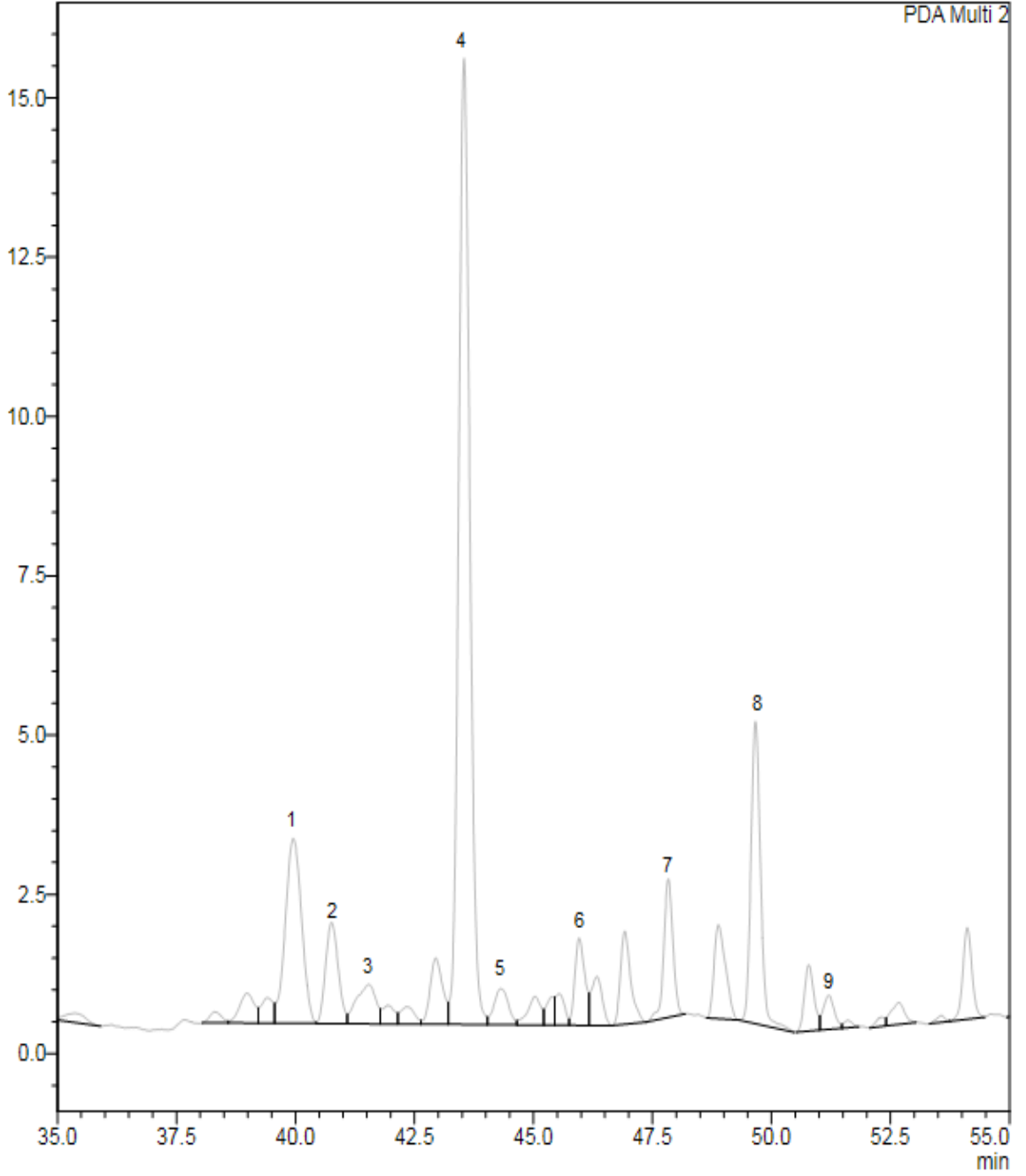


EK 6. Soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı sterol kompozisyonu



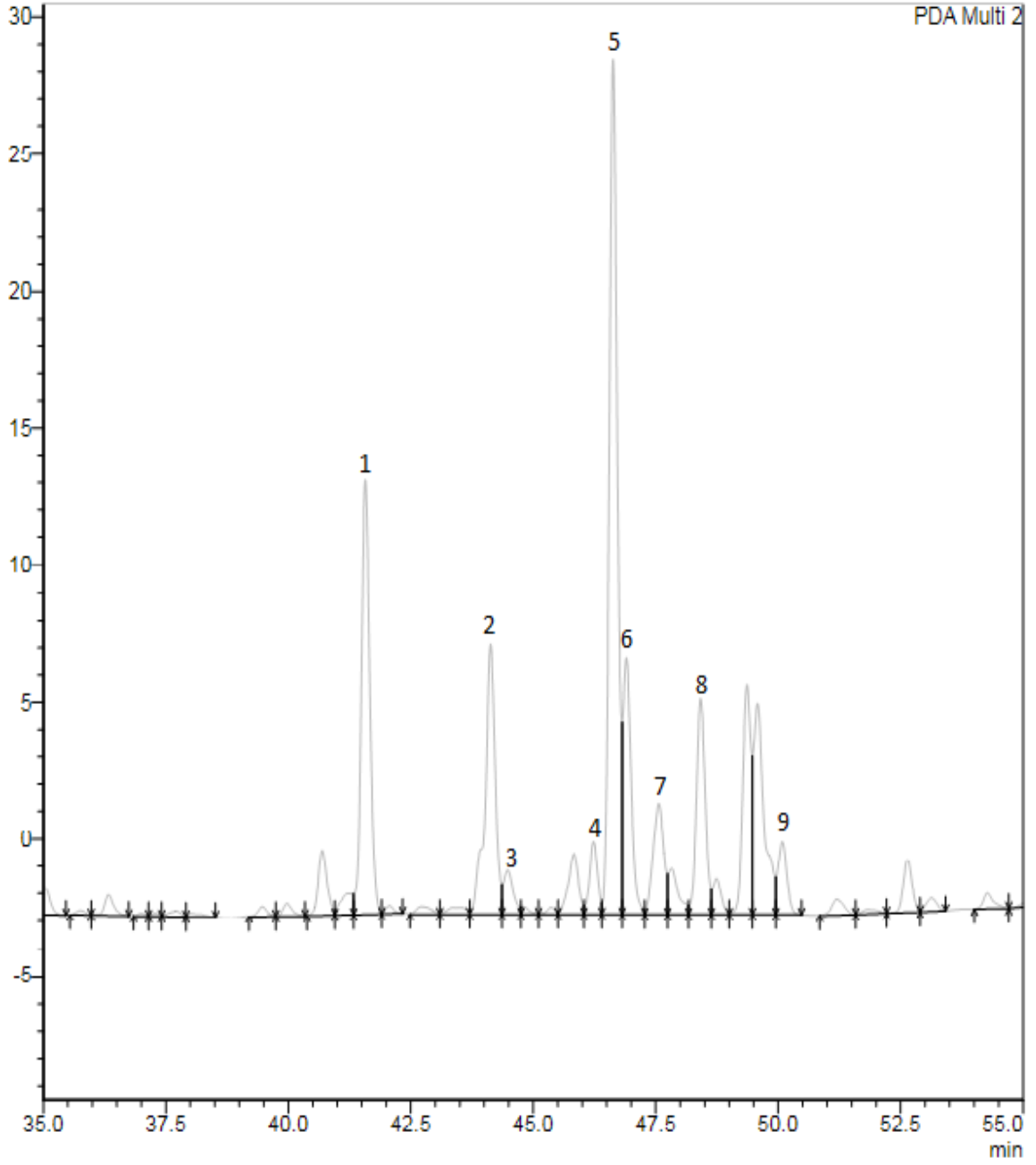
EK 7. Soğuk pres limon çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu

(1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: rosmarinic acid, 6: *tr*-ferulic acid, 7: neohesperidin, 8: hesperidin, 9: kaempferol)



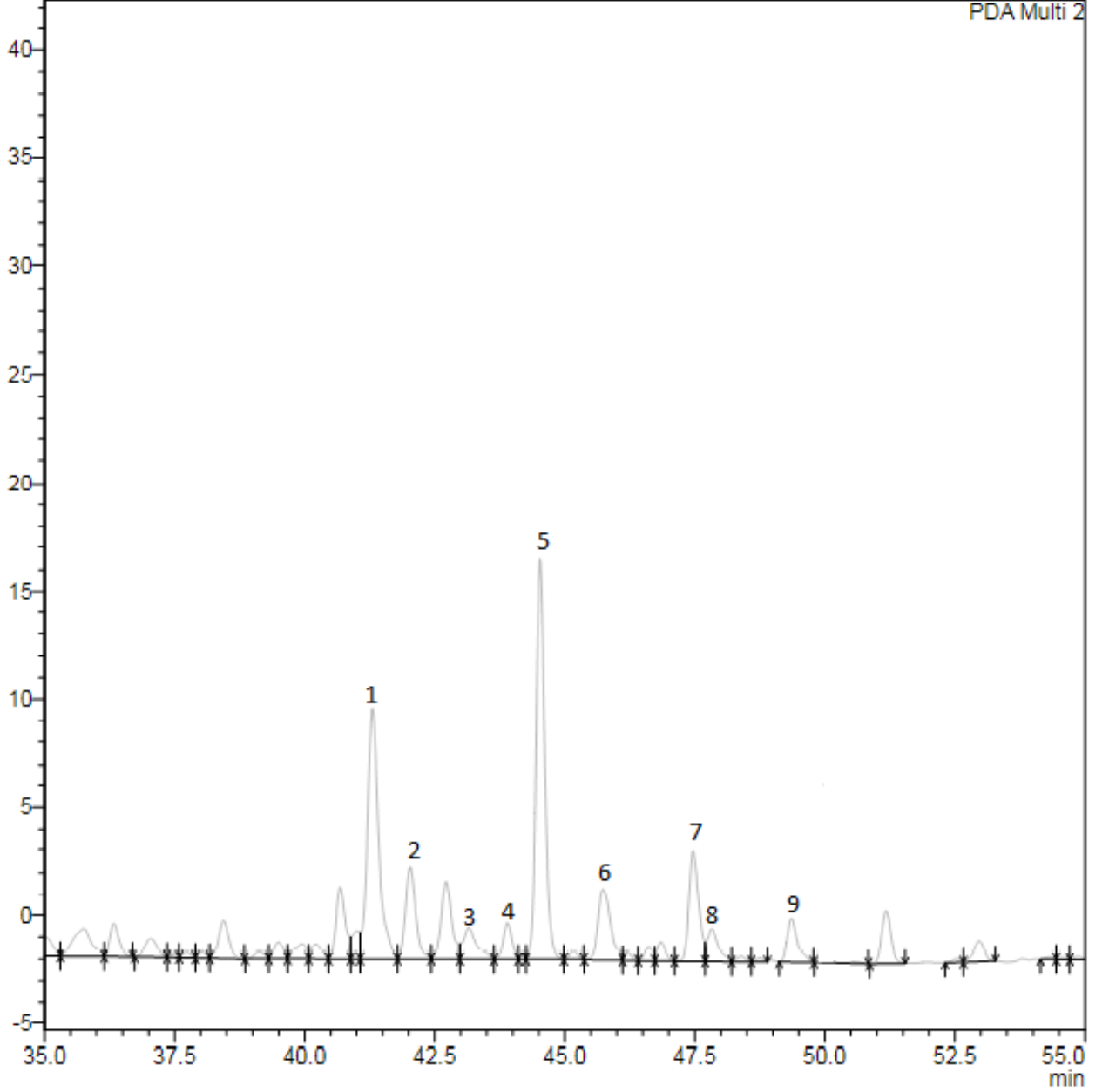
EK 8. Soğuk pres limon çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu

(1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: hesperidin, 6: neohesperidin, 7: rosmarinic acid, 8: *tr*-ferulic acid, 9: kaempferol)



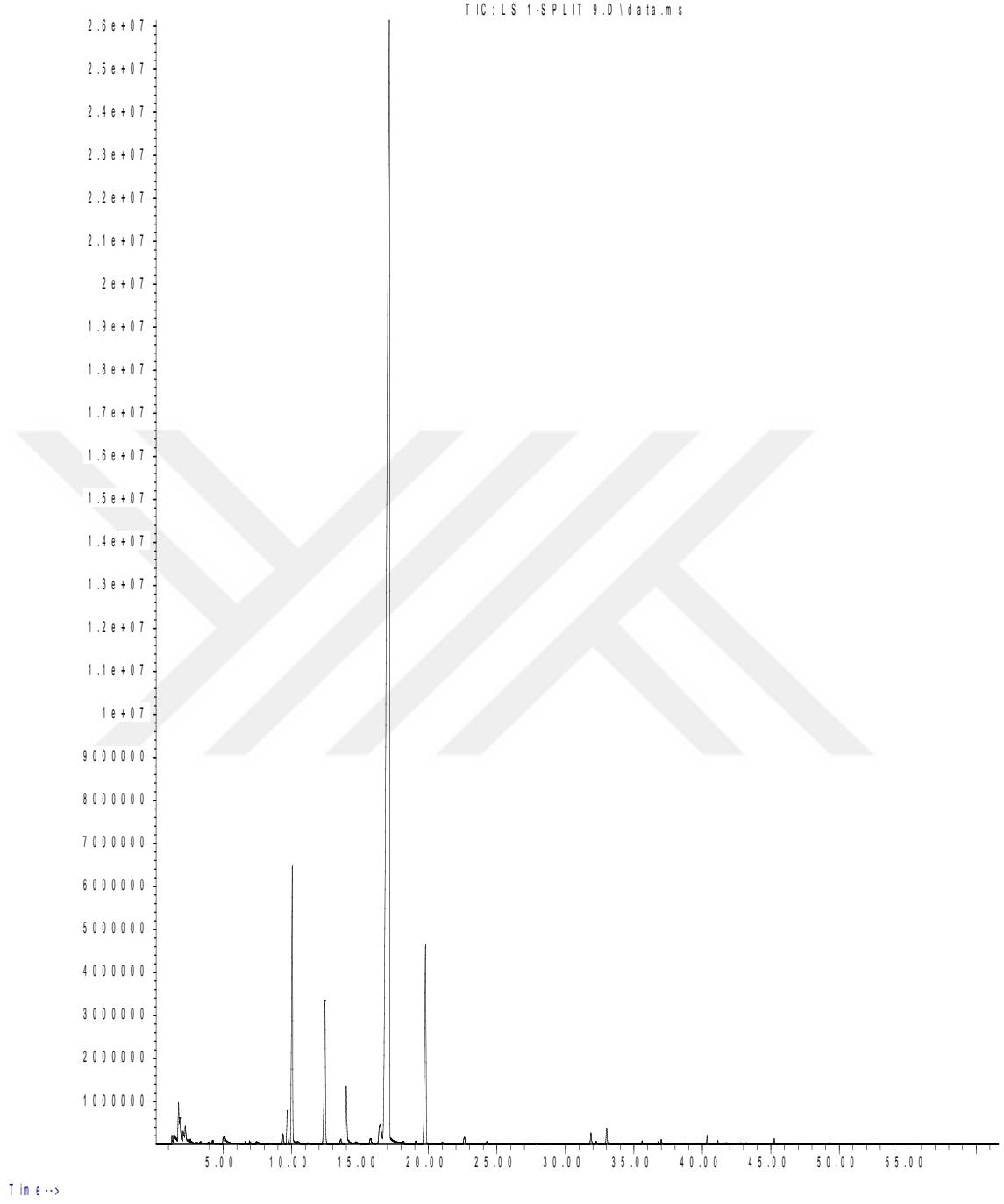
EK 9. Soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı fenolik kompozisyonu

(1: naringin, 2: rutin, 3: naringenin, 4: eriositrin, 5: hesperidin, 6: neohesperidin, 7: *tr*-ferulic acid, 8: rosmarinic acid, 9: kaempferol)



EK 10. Soğuk pres limon çekirdeği yağı aroma kompozisyonu

Abundance



EK 11. Soğuk pres portakal çekirdeği yağı aroma kompozisyonu

Abundance

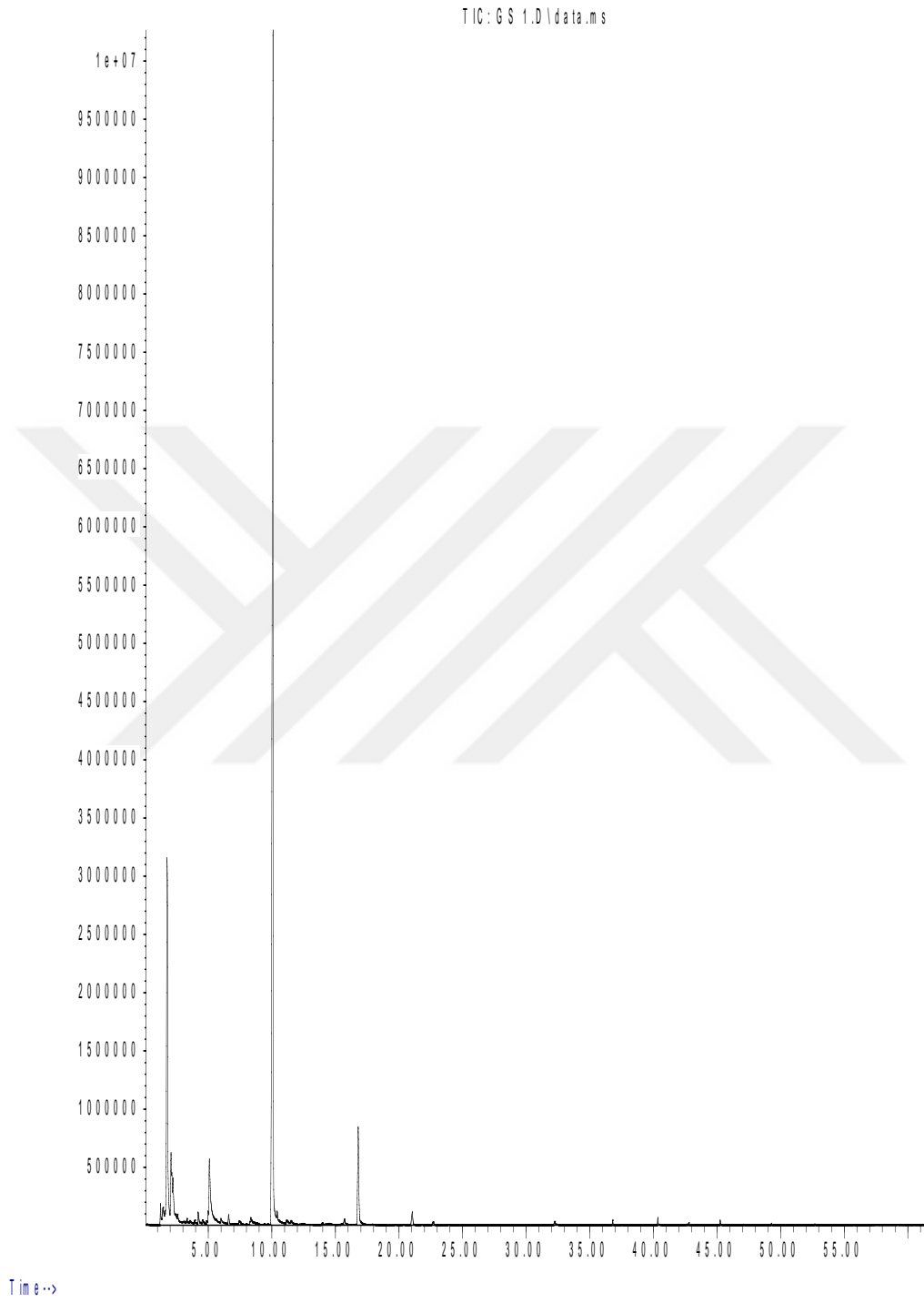
TIC: PS 1.D\data.ms



Time-->

EK 12. Soğuk pres greyfurt çekirdeği yağı aroma kompozisyonu

Abundance



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Buket AYDENİZ GÜNEŞER

Doğum Yeri : Bulancak/Giresun

Doğum Tarihi : 25.06.1984

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ondokuz Mayıs Üniversitesi (2002-2006)

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (2009-2012)

Doktora: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (2012-2016)

Bildiği Yabancı Diller : ÜDS-75,00

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) YAYINLAR

a.1) SCI (Science Citation Index), SSCI (Social Science Citation Index), AHCI (Arts and Humanities Citation Index) tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler

1. Aydeniz B, Yilmaz E (2016) Performance of Different Natural Antioxidant Compounds in Frying Oils. Food Technology and Biotechnology (01/2016), 54(1). DOI: 10.17113/ftb.54.01.16.4109.
2. Yilmaz E, Aydeniz B, Güneser O, Arsunar ES (2015) Sensory and Physico-Chemical Properties of Cold Press-Produced Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seed Oils. Journal of the American Oil Chemists, 92(6):833-842. DOI 10.1007/s11746-015-2648-x.
3. Yilmaz E, Arsunar ES, Aydeniz B, Güneser O (2015) Cold Pressed Capia Pepper seed (*Capsicum Annuum* L.) Oils: Composition, Aroma and Sensory Properties. Eur. J. Lipid Sci. Technology, 117(7):1016-1026. DOI: 10.1002/ejlt.201400276.
4. Aydeniz B, Güneşer O, Yılmaz E (2014) Physico-Chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. Journal of the American Oil Chemists 91:99-110.

5. Dündar Emir D, Aydeniz B, Yılmaz E (2014) Effects of Roasting and Enzyme Pretreatments on Yield and Quality of Cold Pressed Poppyseed Oils. The Turkish Journal of Agriculture and Forestry. DOI: 10.3906/tar-1409-34.
6. Yılmaz E, Aydeniz B (2013) Phytosterol Supplementation Through Dough Frying in Enriched Canola Oil. Journal of the American Oil Chemists 90:687–694.
7. Aydeniz B, Yılmaz E (2012) Enrichment of Frying Oils with Plant Phenolic Extracts to Extend the Usage Life. Eur. J. Lipid Sci. Technology 114:933–941.
8. Ogütçü M, Aydeniz B, Büyükcan MB, Yılmaz E (2012) Determining Frying Oil Degradation by Near Infrared Spectroscopy Using Chemometric Techniques. J Am Oil Chem Soc (2012) 89:1823–1830.
9. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) Sensory Evaluation and Consumer Perception of Some Commercial Green Table Olives. British Food Journal 114(8):1085-1094.

a.2) Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler

1. Yılmaz E, Aydeniz B (2014) Farklı doğal antioksidanların kızartma süresince yer fıstığı yağının fiziksel özellikleri üzerine etkileri. Akademik Gıda 12(1):35-42.
2. Ögütçü M, Aydeniz B, Yılmaz E (2013) Comparison Of The Virgin Olive Oils Obtained From Different Points Of Common Oil Production Systems. Gıda Teknolojisi Derneği, 38 (2): 79-85.
3. Aydeniz B, Yılmaz E (2011) Soğuk pres yağlarının üretimi ve fonksiyonel özellikleri. Hasad Gıda, Temmuz-Ağustos 2011, 314 (27): 26-31.
4. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) Quantitative assessment of frying oil quality in fast food restaurants. Gıda Teknolojisi Derneği, 36 (3): 121-127 (in English).
5. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) Nano-Emülsiyonlar: Gıda endüstrisinde önemi ve kullanımı. Hasad Gıda, Ocak,2011
6. Yılmaz E, Aydeniz B, Arslan N (2011) Zencefil: kimyası, etken bileşenleri ve fonksiyonel ingrediyan olarak kullanımı. Dünya Gıda, 4:73-79.
7. Yılmaz E, Aydeniz B (2010) Unutulmuş bir şifa kaynağımız: geleneksel şurup ve şerbetlerimiz. Dünya Gıda, 9: 28-31.

b) BİLDİRİLER

b.1) Uluslararası kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunulurken, programda yer alan tam metin olarak yayınlanan bildiri ya da poster veya gösteri

1. Yılmaz E., Aydeniz B (2013) Natürel Zeytinyağı Temelli, Biyo-Aktif Bileşenlerce Zengin Salata Soslarının Geliştirilmesi, II. Uluslararası TİM Ar-Ge Gıda Proje Pazarı, İzmir
2. Yılmaz E., Aydeniz B, Bulut E (2010) Ev Yapımı Geleneksel Kırmızı Pancar Turşusu ve Bazı Özellikleri The 1st International Symposium On “Traditional Foods From Adriatic To Caucasus”, p 587-589, 15-17 April 2010 Tekirdağ / Turkey
3. Yılmaz E., Aydeniz B. (2010) Geleneksel Şurup ve Şerbetlerimizin Fonksiyonel Gıda Potansiyelleri. The 1st International Symposium On “Traditional Foods From Adriatic To Caucasus”, p 1009-1010, 15-17 April 2010 Tekirdağ / Turkey
4. Yılmaz E., Aydeniz B. (2010) Geleneksel Şerbetlerin Hazırlanmasında Kullanılan Bazı Bitkisel Materyallerin Farmakolojik Özellikleri. The 1st International Symposium On “Traditional Foods From Adriatic To Caucasus”, p 1011-10130, 15-17 April 2010 Tekirdağ / Turkey

b.2) Uluslararası kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunulurken, programda yer alan özet metin olarak yayınlanan bildiri ya da poster veya gösteri

1. Yılmaz E, Aydeniz B (2016) Physicochemical and Compositional Characterization of the Oils Extracted from Cold Pressed Lemon Seed Oily Press Cakes. International Conference on Natural Science and Engineering, ICNASE'16, Congress Book, p 471-481, 19-20 Mart, 2016, Kilis.
2. Yılmaz E, Aydeniz B (2013) Solid Lipid Nanoparticles (SLNS): A New Tool To Transport Of Bioactive Compounds. 11th Euro Fed Lipid Congress, "Oils, Fats and Lipids: New Strategies for a High Quality Future", 27- 30 Kasım 2013 (poster sunum-kabul edildi).
3. Yılmaz E, Aydeniz B (2013) The Role of Nanoemulsions in Functional New Food Products Development. 11th Euro Fed Lipid Congress, "Oils, Fats and Lipids: New Strategies for a High Quality Future", 27- 30 Kasım 2013 (poster sunum-kabul edildi).

4. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) The effects of enrichment with olive and hazelnut leaf, and hazelnut green leafy cover extracts on frying oils. International Food Congress-Novel Approaches in Food Industry, Congress Book, Volume 1, p 56, 26-29 May, 2011 Çeşme /Turkey.
5. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) The quality and stability of frying oils enriched with phytosterol ester mixtures. International Food Congress-Novel Approaches in Food Industry, Congress Book, Volume 2, p 195, 26-29 May, 2011 Çeşme /Turkey.
6. Yılmaz E., Ogutcu M., Aydeniz B. (2011) Determination of the Physico-Chemical Properties, Bitterness Value and NIR Spectra of Virgin Olive Oils Obtained from Different Sites within Different Oil Production Systems, 4th International Congress on Food and Nutrition together with 3rd SAFE Consortium International Congress on Food Safety, 12-14th October 2011
7. Yılmaz E, Aydeniz B (2011) Effects of γ -Oryzanol Extract on Frying Quality of The Peanut Oil. 4th International Congress on Food and Nutrition together with 3rd SAFE Consortium International Congress on Food Safety, 12-14th October 2011, Istanbul/Turkey

b.3) Ulusal kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan tam metin olarak yayımlanan bildiri

1. Aydeniz B., Yılmaz E., 2012. Yeşil Çay Yaprağı Ekstraktının Yer Fıstığı Yağının Kızartma Kalitesi Üzerine Etkisi. YABITED - I. Bitkisel Yağ Kongresi 12-14 Nisan Adana, (sözlü sunum).
2. Tekgüler, B., Koca, İ., Aydeniz, B. (2009) Ceviz Yağı ve Bileşimi. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs, 2009, Van.
3. Koca, İ., Tekgüler, B., Aydeniz, B. (2009) Çam Fıstığının Özellikleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs, 2009, Van.

b.4) Ulusal kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan özet metin olarak yayımlanan bildiri ya da poster veya gösteri

1. Yılmaz E, Aydeniz B. (2015) İşleme Atığı Olarak Açığa Çıkan Narenciye Çekirdeklerinin Soğuk Pres Yağ Üretiminde Değerlendirilmesi. YABITED – II. Bitkisel Yağ Kongresi, 7-9 Mayıs Tekirdağ, (poster sunum).

2. Yılmaz E, Aydeniz B, Huriyet Z. (2015) Kapya Biber Tohumu Unlarının Bileşimi Ve Fonksiyonel Özellikleri. YABITED - II. Bitkisel Yağ Kongresi, 7-9 Mayıs Tekirdağ, (poster sunum).
3. Tekgüler B, Koca İ, Aydeniz B, Odabaş Hİ (2013) Cevizin Bileşimi ve Sağlık Üzerine Etkisi. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde.

c) Katıldığı Projeler

1. Narenciye Çekirdeklerinden Katma Değeri Yüksek Ürünlerin Üretilmesi ve Değerlendirilmesi –TÜBİTAK COST 1140876 (Doktora tez projesi)
2. Zeytin ve Fındık Yaprağı ile Fındık Meyve Yeşil Kabuğu Ekstraktlarının Kızartma Yağları Üzerine Etkileri. ÇOMU, BAP Proje No:2010/103 (Tamamlandı) (Yardımcı Araştırmacı).
3. Bazı Doğal Antioksidanların Yer Fıstığı Yağının Kızartma Kalitesi Üzerine Etkileri. ÇOMU, BAP Proje No:2010/153 (Tamamlandı- Yüksek Lisans Tezi).

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi- Mühendislik Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Araştırma Görevlisi.
2009- Devam ediyor

İLETİŞİM

E-posta Adresi : buketaydeniz@comu.edu.tr