

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

**SOĞUK PRES YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN HAŞHAŞ
YAĞLARININ, YAĞSIZ KEKLERİNİN VE PROTEİN
İZOLATLARININ TEKNOLOJİK VE FONKSİYONEL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dilek DÜNDAR EMİR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 26/06/2014

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Emin YILMAZ

ÇANAKKALE

Dilek DÜNDAR EMİR tarafından Doç. Dr. Emin YILMAZ yönetiminde hazırlanan ve 26/06/2014 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Soğuk Pres Yöntemiyle Elde Edilen Haşhaş Yağlarının, Yağsız Keklerinin ve Protein İzolatlarının Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Emin YILMAZ

.....

Başkan

Prof. Dr. Cengiz CANER

.....

Üye

Prof. Dr. Yusuf DİLGİN

.....

Üye

Prof. Dr. İsmet KAYA

.....

Üye

Doç. Dr. Ümit GEÇGEL

.....

Üye

Sıra No:.....

Bu tez çalışması, TÜBİTAK-TOVAG tarafından 1110618 ve 1130547 numaralı projelerden 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.

Dilek DÜNDAR EMİR

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, her zaman hoşgörüsünü benden esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Emin YILMAZ'a,

Eğitimim süresince her zaman yanımda olan, tez çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile bana destek ve yardımcı olan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Cengiz CANER, sayın Prof. Dr. Yusuf DİLGİN, sayın Prof. Dr. İsmet KAYA ve Üniversitemiz Gıda Mühendisliği Bölümünün değerli hocalarına,

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, birlikte çalışmayı özleyeceğim sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Buket AYDENİZ, Araş. Gör. Dr. Neşe YILMAZ, Araş. Gör. Onur GÜNEŞER, Dr. Mustafa ÖĞÜTÇÜ ve Kevser TEMİZKAN'a,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan, hayatımın her döneminde olduğu gibi doktora eğitimim süresince de her türlü fedakarlık ve desteği bana sağlayan sevgili ailem Ayser ve Mustafa DÜNDAR'a,

Hayatımın her evresinde bana destek olan, çalışmam süresince sabır ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen sevgili eşim Necati EMİR'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dilek DÜNDAR EMİR

Çanakkale, Haziran 2014

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kg	Kilogram
g	Gram
µm	Mikrometre
w	Weight - Ağırlık
m	Mass - Kütle
v	Volume - Hacim
BSA	Bovine Serum Albumine - Sığır Serum Albumini
CD	Circular Dichroism
CIE	International Commission on Illumination
cP	Centipoise - Vizkozite Birimi
DSC	Differential Scanning Calorimetry - Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FID	Flame Ionization Dedector - Alev İyonizasyon Dedektörü
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GA	Gallik Asit
GC/MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry - Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography - Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer
kDa	Kilo Dalton
LPA	Lezzet Profil Analizi
NTU	Nephelometric Turbidity Unit - Nefelometrik Bulanıklık Birimi
PDMS	Polidimetilsilokzan
pI	İzoelektrik nokta
rpm	Revolution Per Minute - Dakikada Dönüş Hızı
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SPME	Solid Phase Microextraction - Katı Faz Mikroekstraksiyon
TEAC	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi
TMO	Toprak Mahsulleri Ofisi
TSE	Türk Standartları Enstitüsü

ÖZET

SOĞUK PRES YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN HAŞHAŞ YAĞLARININ, YAĞSIZ KEKLERİNİN VE PROTEİN İZOLATLARININ TEKNOLOJİK VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Dilek DÜNDAR EMİR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Doç. Dr. Emin YILMAZ

26/06/2014, 152

Çalışmada kullanılan materyaller; ülkemizde yaygın olarak ekimi yapılan, tescilli ofis 3, ofis 4 ve ofis 8 çeşitlerine ait haşhaş tohumlarıdır. Farklı ön hazırlık işlemleri (kontrol, kavurma, enzim muamelesi) uygulanmasının ardından, soğuk pres yöntemi uygulanarak % 21-38 ortalama verim ile yağ ve küspe örnekleri elde edilmiştir. Her üretim iki tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve üretilen 9 farklı haşhaş yağ örneğinin kırılma indisi, vizkozite, yoğunluk, bulanıklık, renk (L , a* ve b*) gibi fiziksel özellikleri analiz edilmiştir. Yağlarda yapılan kimyasal analizler ise; serbest asitlik, peroksit sayısı, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde, toplam fenol içeriği, antioksidan kapasite, tokoferol ve sterol kompozisyonu belirlenmesidir. Benzer şekilde örneklerde ana yağ asitleri olarak; palmitik, stearik, oleik, linoleik ve gama-linolenik asit belirlenmiştir. GC/MS ile yağlarda toplam 87 adet uçucu bileşen belirlenmiş ve duyuşal tanımlamalar yapılmıştır. Tüketici testleri sonucunda en çok tercih edilen haşhaş yağları; ofis 4-kavrulmuş (% 53.55), ofis 3-kavrulmuş (% 36.66) ve ofis 8-enzim (% 10.00) gruplarına ait örnekler olarak belirlenmiştir.

Soğuk presten alınan yağlı haşhaş keklerinden yağsız un elde edilerek, temel fiziko-kimyasal analizleri yapılmıştır. Yağsız unların fitik asit, tanen ve mineral madde içerikleri belirlenmiştir. Protein izolasyonu için optimum tuz konsantrasyonları ve pH değerleri ile pI değerleri tespit edilerek, alkali ekstraksiyon ve izolelektrik çökeltme yöntemi kullanılarak % 10.72 - 61.34 verimle izolasyon gerçekleştirilmiştir. Protein izolatlarının vizkozite değerleri 40 °C ve 60 °C'lerde belirlenmiş, fonksiyonellik testleri olarak su ve yağ

bağlama kapasiteleri, emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi, köpüklenme kapasitesi ve stabilitesi ile en düşük jelleşme konsantrasyonu analizleri yapılmıştır. Ön işlemlerin tohum proteinlerine olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla örneklerin FT-IR, DSC ve SDS-Page elektroforez analizleri de yapılmıştır.

Anahtar sözcükler: Haşhaş, Soğuk Pres, Kavurma, Enzim, Yağ, Duyusal, Aromatik, Protein, Fonksiyonel Özellik

ABSTRACT

DETERMINATION OF TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF COLD PRESSED POPPY SEED OIL, OIL FREE CAKES AND PROTEIN ISOLATES

Dilek DÜNDAR EMİR

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Food Science

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Emin YILMAZ

26/06/2014, 152

In this study, 3 registered poppyseed varieties (ofis 3, ofis 4 and ofis 8) whose transplanted is performed widely in our country are used as materials. After different pre-processings (control, roasting, enzyme treatment) applied to the seeds, oil and oily cake were gained by cold pressing system with % 21-38 oil yield.

Each production carried out in two replications and 9 different poppy oil sample produced. Refractive index, viscosity, specific gravity, turbidity and color (L, a*, b*) values of oil samples were determined. Chemical analyses of the oil samples completed in our study were free acidity, peroxide value, iodine value, saponification value, unsaponifiable matter, total phenolics, antioxidant capacity, tocopherol and sterol composition. Similarly, main fatty acids of the samples were measured as palmitic, stearic, oleic, linoleic and gamma-linolenic acids. By GC/MS analysis, 87 different volatile compounds were determined and sensory properties were analysed. Consumer testing of the oil samples revealed that the most preferred poppy oils were ofis 4-roasted (% 53.55), ofis 3-roasted (% 36.66), ofis 8-enzyme (% 10.00) samples.

Oil free poppy flour was produced from press cakes and basic physico-chemical analysis were performed. Phytic acid, tannin and mineral contents of the flours were measured. For isolation of poppy proteins from oil free flour, optimum salt concentrations and pH values were determined and the alkaline extraction with isoelectric precipitation method was performed. Protein recovery rate was % 10.72 - 61.34. As functional analyses; water and oil holding capacity, emulsion activity and stability, foaming capacity and foam stability,

least gelation concentration tests were applied to the flour samples and protein isolates. FT-IR, DSC ve SDS-Page electrophoresis analyses were also performed in order to find how pre-treatments affected the seed protein structures.

Keywords: Poppy, Cold Press, Roasting, Enzyme, Oil, Sensory, Aromatic, Protein, Functional Properties.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
1.1. Haşhaş Tarımı.....	3
1.2 Haşhaşın Kullanım Alanları	5
1.3. Çalışmanın amacı	8
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
2.1 Haşhaş Yağının Bileşimi ve Özellikleri	10
2.2 Haşhaş Yağı Üretim Teknolojisi	12
2.2.1. Tohum nem oranının etkisi	14
2.2.2. Isıl işlemin etkisi.....	16
2.2.3. Enzim muamelesinin etkisi.....	18
2.3 Yemeklik Yağlarda Duyusal Özellikler ve Aroma Bileşenleri.....	21
2.4. Haşhaş Tohumu Küşesi (Keki).....	24
2.5. Yağlı Tohum Proteinleri.....	25
2.5.1. Yağlı tohum proteinlerinin kullanımını limitleyen faktörler	26
2.6. Yağlı Tohumlardan Protein Ekstraksiyonu ve İzolasyonu.....	28
2.6.1. Kabukların ayrılması	28
2.6.2. Yağ ekstraksiyonu koşulları	28
2.6.3. Kaba una yapılan ön uygulamalar	28
2.6.4. Protein çözünürlüğü.....	28
2.6.5. Proteinin çökeltmesi ve geri kazanılması	29
2.6.6. Diğer saflaştırma aşamaları	29
2.7. Yağlı Tohum Proteinlerinin Fonksiyonel Özellikleri.....	29
2.7.1. Bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin tanımlanması	30
2.8. Haşhaş Tohumu Proteinleri	32

BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1. Materyal.....	35
3.2. Yöntemler	35
3.2.1. Haşhaş tohumlarında yapılan analizler	35
3.2.2. Tohumların hazırlanması ve soğuk presle yağ eldesi	37
3.2.3. Yağlı haşhaş keklerinde yapılan analizler	39
3.2.4. Yağ verimi ve sediment miktarının hesaplanması.....	39
3.2.5. Haşhaş yağlarının fiziksel analizleri.....	40
3.2.6. Haşhaş yağlarının kimyasal analizleri	40
3.2.7. Haşhaş yağlarının bileşen analizleri	45
3.2.8. Haşhaş yağlarının aromatik bileşen analizleri	49
3.2.9. Haşhaş yağlarının duyusal analizleri	50
3.2.10. Haşhaş yağlarının tüketici testleri.....	51
3.2.11. Pres kekinden yağın uzaklaştırılması ve yağısız un eldesi	53
3.2.12. Yağısız haşhaş unlarının temel analizleri	53
3.2.13. Yağısız haşhaş unlarının fonksiyonellik testleri	56
3.2.14. Yağısız unlardan protein izolasyonu	57
3.2.15. Protein izolatlarında yapılan analizler	59
3.2.16. İstatistiksel analizler	63
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	65
4.1. Haşhaş Tohumlarının Özellikleri	65
4.2. Haşhaş Yağlı Keklerinin Özellikleri	67
4.3. Soğuk Pres İşleminde Yağ Verimi	69
4.4. Haşhaş Yağlarının Fiziksel Özellikleri.....	71
4.5. Haşhaş Yağlarının Kimyasal Özellikleri	73
4.6. Haşhaş Yağlarının Bileşen Özellikleri	76
4.7. Haşhaş Yağlarının Uçucu (Aromatik) Bileşen Özellikleri.....	80
4.8. Haşhaş Yağlarının Duyusal Özellikleri	82
4.9. Haşhaş Yağlarının Tüketici Testleri.....	86
4.10. Verilerin Çoklu Karşılaştırılması	87
4.11. Haşhaş Yağısız Unlarının Fiziko-Kimyasal Özellikleri	94
4.12. Haşhaş Yağısız Unlarının Mineral Madde İçerikleri.....	95
4.13. Haşhaş Yağısız Unlarının Fonksiyonellik Testleri.....	99
4.14. Haşhaş Yağısız Unlarından Protein İzolatlarının Hazırlanması	105

4.14.1. Optimum tuz konsantrasyonu ve pH değerinin belirlenmesi	105
4.14.2. İzoelektrik noktanın belirlenmesi	107
4.14.3. Protein konsantratlarının hazırlanması ve protein verimi.....	108
4.15. Protein İzolatlarında Yapılan Analizler.....	108
4.15.1. Protein çözünlüğü.....	109
4.15.2. Protein izolatlarının fiziksel analizleri.....	111
4.15.3. Protein izolatlarının fonksiyonellik özellikleri	113
4.15.4. Haşhaş proteinlerinin aminoasit içerikleri	120
4.15.5. Haşhaş proteinlerinin termal özellikleri	123
4.15.6. Haşhaş proteinlerinin fourier transform	124
infrared (FT-IR) analizleri	
4.15.7. Haşhaş proteinlerinin SDS-PAGE elektroforez analizleri.....	127
BÖLÜM 5 - SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	130
KAYNAKLAR	143
EKLER.....	I
EK 1. Haşhaş yağlarında tespit edilen uçucu bileşenler	II
ÖZGEÇMİŞ	XV

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan ofis 3-mavi, ofis 4-sarı ve ofis 8-beyaz çeşitlerine ait haşhaş tohumları	36
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar tipi soğuk pres makinası	38
Şekil 3.3. Gallik asit standart eğrisi	44
Şekil 3.4. Trolox standart eğrisi.....	45
Şekil 3.5. Haşhaş yağı LPA için kullanılan ölçüm skalası	52
Şekil 3.6. Tüketici testine ait duyuşal sakala	52
Şekil 3.7. Kateşin standart eğrisi	55
Şekil 3.8. BSA standart eğrisi.....	58
Şekil 4.1. Haşhaş yağları aroma analizleri GC/MS kromatogramı.....	81
Şekil 4.2. Duyuşal analiz verilerinin örümcek-ağ modeliyle gösterimi	85
Şekil 4.3. Seçilen haşhaş yağlarının tüketiciler tarafından tercih edilme oranları	87
Şekil 4.4. Sadece kavurma işlemine tabi tutulan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım	88
Şekil 4.5. Sadece enzim muamelesine tabi tutulan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım	89
Şekil 4.6. Kontrol grubu örneklerinde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım.....	90
Şekil 4.7. Tüm çeşit ve muamele gruplarında ölçülen 15 fiziko-kimyasal..... özelliğe ilişkin dağılım	91
Şekil 4.8. Kontrol, kavurma ve enzim ön işlemleri uygulanan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğin dağılımı	92
Şekil 4.9. Haşhaş çeşitlerinde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğin dağılımı.....	93
Şekil 4.10. Haşhaş yağlarında belirlenen aromatik bileşenler ile örneklerin..... duyuşal özellikleri arasındaki çoklu ilişkiler	94
Şekil 4.11. Haşhaş yağsız unları	96
Şekil 4.12. Haşhaş proteinlerinin izoelektrik (pI) nokta grafikleri	107
Şekil 4.13. Haşhaş protein izolatlarının çözünürlük grafikleri	110
Şekil 4.14. Haşhaş protein izolatları	111
Şekil 4.15. Haşhaş protein izolatlarının FT-IR spektrumları.....	126
Şekil 4.16. Haşhaş protein izolatlarının SDS-PAGE elektroforez bandları	128

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Türkiye ve dünyada ana üretici ülkeler ve yasal 4 haşhaş ekim alanları, hektar	
Çizelge 1.2. Haşhaş tohumu sınıflarının özellikleri..... 7	
Çizelge 2.1. Haşhaş tohumu küspesinin tip özellikleri..... 25	
Çizelge 2.2. Yağlı tohumlar ve insan beslenmesi açısından uygun..... 26 olan ana depo proteinleri	
Çizelge 3.1. Haşhaş yağı LPA için kullanılan tanımlayıcı terimler ve referans..... 51 alınan standartlar	
Çizelge 4.1. Haşhaş tohumlarının genel özellikleri 65	
Çizelge 4.2. Haşhaş Yağlı Keklerinin Özellikleri..... 68	
Çizelge 4.3. Haşhaş tohumlarının soğuk pres yağ verimi ve sediment içerikleri..... 70	
Çizelge 4.4. Haşhaş yağlarının fiziksel özellikleri 72	
Çizelge 4.5. Haşhaş yağlarının kimyasal özellikleri..... 74	
Çizelge 4.6. Haşhaş yağlarının tokoferol bileşimi 76	
Çizelge 4.7. Haşhaş yağlarının sterol bileşimi..... 78	
Çizelge 4.8. Haşhaş yağlarının yağ asidi bileşimleri 79	
Çizelge 4.9. Haşhaş yağlarının duyusal analizlerine ait medyan değerler..... 83	
Çizelge 4.10. Haşhaş yağlarının duyusal analizlerine ait medyan değerlerinin 84 çeşitler arası karşılaştırılması	
Çizelge 4.11. Haşhaş yağlarının duyusal analizlerine ait medyan değerlerinin 85 muameleler arası karşılaştırılması	
Çizelge 4.12. Haşhaş yağlarına ait tüketici kabul testleri sonuçları 86	
Çizelge 4.13. Haşhaş yağsız unlarının fiziko-kimyasal analiz sonuçları..... 95	
Çizelge 4.14. Haşhaş yağsız unlarının mineral madde içerikleri..... 98	
Çizelge 4.15. Haşhaş yağsız unların fonksiyonellik özellikleri..... 101	
Çizelge 4.16. Haşhaş yağsız unlarının jelleşme özellikleri 104	
Çizelge 4.17. Haşhaş proteini izolasyonunda optimum tuz konsantrasyonları 106 ve pH değerleri	
Çizelge 4.18. Haşhaş proteinlerinin izoelektrik (pI) noktalarının belirlenmesi..... 107	
Çizelge 4.19. Haşhaş protein izolatlarının üretim verimleri 108	
Çizelge 4.20. Haşhaş protein izolatları çözünürlük özellikleri..... 109	
Çizelge 4.21. Haşhaş protein izolatlarının fiziksel özellikleri 113	

Çizelge 4.22. Haşhaş protein izolatlarının fonksiyonellik özellikleri.....	114
Çizelge 4.23. Haşhaş protein izolatlarının jelleşme özellikleri	119
Çizelge 4.24. Haşhaş protein izolatlarının aminoasit içerikleri	122
Çizelge 4.25. Haşhaş protein izolatlarının termal özellikleri.....	123
Çizelge 4.26. Peptid bağlarına ait karakteristik infrared bantları	125

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Haşhaş (*Papaver somniferum* L.), gelincikgiller (*Papaveraceae*) familyasından *Papaver* cinsini oluşturan bir, iki ya da çok yıllık bitki türlerinin ortak adıdır. Haşhaş, yazların sıcak geçtiği ve orta derecede yağış alan yerlerde yetişen bir bitkidir. Anavatanının Doğu Akdeniz olduğu bildirilmiştir. Anadolu'da Hititler döneminden beri haşhaş tarımının yapıldığı bildirilmektedir. M.Ö. 5000 yıllarına ait kalıntılarda Sümerlerin ve Asurluların dillerinde bu bitkiye ait bazı kelimeler ve kabartmalarda haşhaş motiflerine rastlanılmıştır. Anadolu'nun haşhaşın gen merkezi ve anavatanı olduğuna dair bilgiler verilmektedir. Gri-yeşil yaprakları ve beyaz, pembe, kırmızı veya mor çiçekleri vardır. Türkiye'de daha çok beyaz ve mor çiçekli çeşitler yetiştirilmektedir. Haşhaş tohumlarında çiçek renklerine benzer olarak beyaz, sarı, kahverengi-grimsi, mavi renkler görülür. Haşhaş cinsinin yaklaşık 50 türünden 30 kadarı Türkiye'de yetiştirilmektedir. Esas olarak haşhaş bitkisi, kapsüllerinden bazı alkaloidlerin ekstraksiyonu ve tohumundan yemeklik yağ elde edilmesi için üretilmektedir. FAO verilerine göre 2012 yılında dünyada üretimi yapılan haşhaş tohumu miktarı 44673 ton olup, ülkemizde aynı yıl haşhaş ekimi yapılan toplam alan 13511 hektar, ortalama verim 2845 hg/Ha ve üretimi yapılan tohum miktarı 3844 tondur. Bitkinin meyvesi olan kapsülde, çok sayıda tohum bulunur. Haşhaş yağı, tohumların % 40 - 45'ini meydana getirir. Haşhaş yağı, kaliteli, yemeklik, bitkisel bir yağdır. Tohumların yağı çıkartıldıktan sonra kalan küspe hayvan yemi olarak kullanılır ve hayvanın sütündeki yağ oranını artırır. *Papaver somniferum* L., *Papaveraceae* ailesi içinde en fazla alkaloid üreten haşhaş türlerini kapsar. Meyve kabuğundan 20 kadar alkaloid elde edilir. Bunlar afyon türevleri olan; morfin, kodein, thebain, narkotin, papaverin gibi uyuşturucu özellikte olan ve tıpta da kullanım alanı bulunan maddelerdir. Bu alkaloid maddeler sinir sistemi ve gastrointestinal sistem üzerinde ağrı kesici etki gösterirler. Haşhaş tohumlarının eski zamanlardan beri dizanteri, öksürük, astım ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında faydalı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle ilaç sanayinde kullanımı yaygındır. Kapsüllerin elde edilmesi sonucunda açığa çıkan haşhaş tohumları, genellikle gıda endüstrisinde pastacılık ve fırıncılık ürünlerinde dekoratif amaçlarla kullanılmaktadır. Gri-mavi renkli tohumlar ihraç özelliği olan tohumlardır. Beyaz renkli tohumlar hem dış satım hemde yağ üretimi için tercih edilmektedir. Sarı veya deve tüyü renkli tohumlar ise çörek ve yağ üretiminde kullanılmaktadırlar. Haşhaş tohum yağı oldukça değerlidir. Yemeklik olarak kullanımının yanı sıra, yüksek kaliteli yağlı boyaların,

vernüklerin imalatında ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır. Haşhaş yağının biodizel amaçlı kullanımı da bulunmaktadır. Yağlı kek kısmı ise hayvan yemi olarak değerlendirilir. Ülkemizde üretilen haşhaş tohumlarının neredeyse tamamı yağ üretiminde kullanılmaktadır. Literatür bilgilerine göre haşhaş tohumu ve bundan elde edilen yağ alkoloid içermemektedir. Buğday embriyosu, soya fasulyesi ve mısır özü yağında sıklıkla bulunan fitosteroller ve tokoferoller gibi önemli fonksiyonel bileşenleri içermesi ve çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin olması nedeniyle haşhaş yağı insan beslenmesi açısından iyi kalitede bir bitkisel yağdır. Uyuşturucu üretiminde de kullanılabilmesi nedeni ile haşhaş üretimi kontrollü olarak yapılmaktadır. Türkiye’de 1933 yılına kadar haşhaş ekimi, afyon üretimi ve ticareti serbest olarak yapılabilirken, 1933 yılında 2253 sayılı kanun ile Uyuşturucu Maddeler İnhisar İdaresi kurularak haşhaş ekim alanları Bakanlar Kurulu Kararıyla 17 ilde sınırlandırılmış ve kontrol altına alınmıştır. 1938 yılında Toprak Mahsulleri Ofisi’nin (TMO) kurulmasıyla uyuşturucu maddelerin tekeli TMO’ya verilmiştir. 1959 yılında haşhaş ekiminin kontrolüne dair 7368 sayılı kanun çıkarılarak bu kapsamda üretilen afyonun tamamının ihraç edilmesi ve yasal taleplerin karşılanamaması üzerine 1960 yılında Bakanlar Kurulu Kararı ile haşhaş ekimi izni verilen il sayısı 42’ye çıkarılmış ve daha sonra tedricen azaltılarak 1970 yılında 7 il ile sınırlandırılmıştır. Türkiye’de 1971 yılına kadar haşhaş bitkisinden afyon üretimi yapılırken bazı suçlamalar nedeniyle; ülkemizde haşhaş ekimine 26/06/1971 tarih ve 7/2654 sayılı Bakanlar Kurulu kararı ile tam bir yasak getirilmiştir. 01/07/1974 tarih ve 7/8522 sayılı Bakanlar Kurulu kararı ile ilaç hammaddesi ihtiyacının sağlanması ve geçimi büyük ölçüde haşhaş üretimine bağlı olan çiftçilerin yaşam koşullarının düzeltilmesi amacıyla haşhaş ekimi ve ham afyon üretimi 7 ilde (Afyon, Burdur, Isparta, Denizli, Kütahya ve Uşak illerinin tamamı ile Konya ilinin Akşehir, Beyşehir, Doğanhisar ve Ilgın ilçelerinde) serbest bırakılmış, daha sonra 06/12/1974 tarih ve 7/9204 sayılı kararname ile haşhaş kapsülünün çizilmesi ile elde edilen afyon üretimi yasaklanarak, daha güvenli bir yöntem olan çizilmemiş haşhaş kapsülü üretimine geçilmiştir. Ülkemizde haşhaş tarımı 03/06/1986 tarih ve 3298 Sayılı Uyuşturucu Maddelerle İlgili Kanun ve 18/04/1988 tarih ve 88/12850 sayılı Yönetmelik çerçevesinde yapılmaktadır. Söz konusu Kanun ve Yönetmelik ile yürütülmekte olan haşhaş ekiminin kontrolü; haşhaş kapsülü, ham afyon ve tıbbi afyon üretimi ile kapsülün satın alınması, bunlardan uyuşturucu madde imalatı, yurt içinde satışı ve ihracı konularını kapsamakta olup, Bakanlar Kurulunun 13/04/1987 tarih ve 87/11703 sayılı kararıyla TMO Genel Müdürlüğü görevlendirilmiştir ve halen bu görev kurum tarafından yürütülmektedir. Birleşmiş Milletler tarafından desteklenen bir lisans sistemi

geliştirilerek uygulanmaya başlanmıştır. Bu sistem haşhaş tarımının her aşamasında çok sıkı bir kontrol mekanizmasını sağlamaktadır. Hasat edilen kapsüller kontrol altında tohumlarından ayrılmakta ve elde edilen tüm kapsüller üreticiler tarafından morfin ve diğer alkaloid türevi maddelerin üretimini yapan, TMO'ya ait Afyon Alkaloidleri Fabrikasına satılmaktadır. 1981 yılından itibaren Afyon Alkaloidleri Fabrikası morfin üretimine başlamıştır ve yılda 20,000 ton haşhaş kapsülü işleyebilecek kapasitededir. Ülkemizde yıllara göre değişmekle beraber yılda 25,000 ton civarında haşhaş tohumu ihracatı gerçekleştirilmekte olup, bu ihracattan yılda 30 milyon dolar civarında döviz girdisi sağlanmaktadır (Bozan ve Temelli, 2003; Azcan ve ark., 2004; Anonim, 2005; FAO, 2014; Erinç ve ark., 2009; Seidi ve ark., 2010; Anonim, 2012a; Anonim, 2012b).

1.1. Haşhaş Tarımı

Ülkemizde geleneksel olarak haşhaş tarımı yapılmaktadır. Endüstri bitkisi kapsamında değerlendirilen haşhaşın tarımı tamamen devlet kontrolünde gerçekleştirilmektedir. Dünyada Birleşmiş Milletler Teşkilatı denetiminde yasal olarak Türkiye, Hindistan, Avustralya, Fransa, İspanya, Macaristan ve Çek Cumhuriyeti ile son yıllarda Çin'de haşhaş ekimi yapılmaktadır. Türkiye ve Hindistan Birleşmiş Milletler Teşkilatınca geleneksel haşhaş üreticisi ülkeler olarak kabul edilmektedir. Adı geçen ülkelerde son beş yıllık ortalamaya göre 100,000 hektar alanda yasal haşhaş ekimi yapılmaktadır. Türkiye yasal haşhaş ekim sahası bakımından bu ülkeler içinde % 51'lik paya sahip olmasına rağmen morfin üretimi bakımından % 17'lik paya sahiptir. Bu durum, ülkemizde üretilen haşhaş veriminin ve morfin içeriğinin diğer ülkelere göre düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Haşhaş kışlık olarak Ekim ayında, yazlık olarak ise Mart sonunda ekilmektedir. Orta derecede ağır, organik maddece zengin toprak haşhaş için daha uygundur, toprak tavında ise bitki çıkışı 8-10 günde gerçekleşir. Haşhaş toprağı yormaz, yarı nadas yerine geçer. Tarlayı erken terk ettiği için yerine hububat ekilebilir. Haşhaşın su tüketimi kışlıklarda 752 mm, yazlıklarda 425 mm olarak ölçülmüştür. Tohumlar çimlenme kabiliyetini 3 yıl koruduğı için, ekilen tohumların tek renk (karışmamış) olmasına dikkat edilmelidir. En önemli ve yaygın hastalığı haşhaş mildiyösü olup, önlemek için hastalıklı tarladan tohum alınmamalıdır. Çimlenme döneminde soğuktan (- 5 °C) büyük zarar görür.

Çizelge 1.1. Türkiye ve dünyada ana üretici ülkeler ve yasal haşhaş ekim alanları, hektar (Anonim, 2012b)

Yıllar	Türkiye	Hindistan	Avustralya	Fransa	İspanya	Macaristan	Toplam
2002	50741	18447	11701	6451	7912	9924	105176
2003	99430	12320	9811	7919	5732	2937	138149
2004	30343	18591	6644	8312	5986	7084	76960
2005	25335	7833	6599	8841	4802	5106	58516
2006	42023	6976	3457	6632	2146	4322	65556
2007	24603	5913	4661	3198	5606	3269	47250
2008	20042	2653	4108	3683	5507	2262	38255
2009	48893	8853	4598	6750	6865	1114	77073
2010	51897	12237	9127	9400	6439	7308	96408

Ekim için tohum TMO'dan sağlanabilmektedir. TMO tarafından tescil edilmiş 10 adet haşhaş çeşidi bulunmakta olup, bunlar Bolvadin 95, Ofis 95, Afyon 95, Ofis 96, TMO-1 , TMO-2 , TMO-3, TMO T, Ofis 3, Ofis 4 ve Ofis 8'dir. Aynı haşhaş bitkisi üzerindeki kapsüllerin hepsi aynı anda olgunlaşmaz. Bundan dolayı en alttaki kapsül kontrol edilmelidir. Olgunlaşan kapsül sallandığında ses verir. Kayıpların artmaması için hasat fazla geciktirilmemelidir. Haşhaştan kuru şartlarda dekardan 60-70 kg kapsül ve 70-80 kg tohum, sulu şartlarda ise dekardan 120-130 kg kapsül ve 160-200 kg tohum verimi alınmaktadır. Ülkemizde üreticilerin elinde bulunan geleneksel haşhaş tohumlarından üretilen kapsüllerde morfin oranının % 0.4 civarında olduğu, TMO'nin ıslah ettiği türlerde ise bu oranın % 0.8'e kadar çıktığı bildirilmiştir. Dünyada ise Avustralya, Fransa ve İspanya gibi yasal ana üretici ülkelerde üretilen kapsüllerde morfin oranının % 1.5-2 kadar olduğu bildirilmiştir. Değişik gelişim devrelerinde hasat edilen haşhaş bitkilerinin muhtelif kısımlarındaki morfin oranı farklılık göstermektedir. Tam olum döneminde kapsüldeki tepecikte % 0.8 ve kabukta % 0.58 morfin biriktiği kaydedilmiştir. Yapılan bir çalışmada, haşhaş bitkisi tohumlarının bin dane ağırlığının 0.4 g civarında geldiği ve kapsül büyüklüğüne göre bir kapsül içerisinde 3,000-20,000 adet tohum bulunduğu bildirilmiştir (Işıkan, 1957; Arslan, 1982; Anonim, 2005; Anonim, 2012b).

TMO tarafından yayınlanan haşhaş raporuna göre dünyada uyuşturucu maddelerin ekimi, üretimi, ithali ve ihracatı ülkemizin de imza koyduğu Birleşmiş Milletler (BM) Uyuşturucu Maddelere Dair 1961 TEK Sözleşmesi (Single Convention on Narcotic Drugs) ve tadiline ilişkin 1972 protokolüne göre düzenlenmektedir. 1961 TEK Sözleşmesi dünyadaki uyuşturucu madde üretimlerinin ülkelerde tek elden yürütülmesi hükmünü getirmekte ve BM Teşkilatının uyuşturucu maddelerin kontrolü hususundaki yetkisini

kabul etmektedir. Dünyada, haşhaş ekimi Birleşmiş Milletler (BM) teşkilatı denetiminde yasal ana üretici olarak Türkiye, Hindistan, Avustralya, Fransa, İspanya ve Macaristan'da yapılmaktadır (Çizelge 1.1.). Türkiye ve Hindistan BM Teşkilatınca geleneksel haşhaş üreticisi ülkeler olarak kabul edilmektedir. Çizelge 1.1.'de görüleceği üzere son beş yıllık kesin verilerin ortalamasına göre ülkemiz dünya yasal haşhaş ekim alanları içerisinde % 54'lük bir paya sahip bulunmaktadır. Ülkemizde haşhaş ekimi 3298 Sayılı Uyuşturucu Maddelerle İlgili Kanun ve Yönetmeliği çerçevesinde lisansa tabi, kontrollü ve çizilmemiş haşhaş kapsülü üretimi şeklinde yapılmaktadır. Bakanlar Kurulunca haşhaş ekimine müsaade edilen yerlerde TMO Genel Müdürlüğünce yapılan planlama çerçevesinde BM Teşkilatınca ülkemize verilen 700,000 dekar limit dahilinde haşhaş ekimi ve çizilmemiş kapsül üretimi yaptırılmaktadır. 2011 yılı sonbaharından itibaren Afyonkarahisar, Amasya, Burdur, Çorum, Denizli, Isparta, Kütahya, Tokat, Uşak illerinin tamamı ile Balıkesir ilinin Balya, Bigadiç, Dursunbey, İvrindi, Kepsut, Savaştepe ve Sındırgı ilçeleri, Eskişehir ilinin Alpu, Beylikova, Çifteler, Günyüzü, Han, Mahmudiye, Mihalıççık, Seyitgazi ve Sivrihisar ilçeleri, Konya ilinin Ahırlı, Akören, Akşehir, Beyşehir, Derbent, Doğanhisar, Hüyük, Ilgın, Kadınhanı, Seydişehir, Tuzlukçu, Yalılıyük ve Yunak ilçeleri, Manisa ilinin Merkez, Demirci, Gördes, Köprübaşı, Kula, Sarıgöl ve Selendi ilçelerinde izin belgesi karşılığında haşhaş ekimi ve çizilmemiş haşhaş kapsülü üretimi serbesttir. Söz konusu 700,000 dekar ekim limiti, ekiliş ve üretim potansiyelleri dikkate alınarak yerleşim birimlerine dağıtılmaktadır. Yerleşim birimi bazında verilen haşhaş ekim limitleri çiftçilere paylaştırılarak bu limit çerçevesinde bir çiftçiye en fazla 3 tarlasında 15 dekar alanda haşhaş ekim izni verilmektedir. 3298 Sayılı Kanun ve Yönetmelik gereğince, TMO tarafından yasal ekim alanlarında haşhaş ekimi ve çizilmemiş kapsül üretimi için izin belgesi verilmektedir. Haşhaş ekim alanlarında kapsüllerin afyon üretimi için çizilip çizilmediği TMO tarafından kontrol edilmektedir. Haşhaş ekim alanlarında üretim tahmini yapılarak çiftçilerin kapsüllerinin tamamını TMO'ya teslim etmeleri sağlanmaktadır. Haşhaş kapsülleri hasat olgunluğuna geldiğinde TMO kontrol heyetlerince köy bazında hasat belgesi verilerek hasat gerçekleştirilir (Anonim, 2012b).

1.2. Haşhaşın Kullanım Alanları

Türkiye'nin yıllık 25 bin ton haşhaş tohumu üretimine karşılık yılda 40 bin ton civarında ihracat potansiyeli bulunmaktadır. Haşhaş bitkisinden, ekonomik değeri olan tohum ve kapsül kabuğu olmak üzere iki önemli ürün elde edilmektedir. Haşhaş kapsülünün morfin, kodein, tebain, noskapin ve papaverin gibi tıbbi öneme sahip olan ana

alkaloidlerin yanı sıra yaklaşık 30 değişik alkaloid ihtiva ettiği bilinmektedir. Bunlardan türevleri olan katma değerleri yüksek, yarı sentetik ilaç aktif hammaddeleri üretilmektedir. Bu alkaloidlerden morfin, kodein ve tebainin uyuşturucu özelliği olmasına rağmen, noskapin ve papaverin uyuşturucu özelliğe sahip değillerdir. Tıpta analjezik (ağrı kesici), anestezi (uyuşturucu) ve antitüssif (öksürük kesici) olarak bu maddelerden yararlanılmaktadır. Haşhaş kapsülünün uyuşturucu madde içermesi nedeniyle tek ve zorunlu alıcısı TMO Genel Müdürlüğü'dür. Çiftçiler, ürettikleri haşhaş kapsülünü izin belgelerinde belirtilmiş olan miktarın üstünde de olsa hasat yılının en geç Eylül ayı sonuna kadar tespit edilen bedeli karşılığında TMO işyerlerine teslim etmek zorundadırlar. Afyon Alkaloidleri Fabrikası 20,000 ton/yıl çizilmemiş haşhaş kapsülü işleme kapasitesiyle alanında dünyanın en büyük fabrikasıdır. Afyon Alkaloidleri Fabrikası ekstraksiyon ve türevler ünitesi olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Modern ekipmanlardan oluşan ekstraksiyon ünitesi, çizilmemiş ve tohumu ayıklanmış haşhaş kapsüllerini işleyerek morfin hidrat elde etmek üzere dizayn edilmiştir. Kapsüldeki morfin oranına bağlı olmakla birlikte yılda 80-100 ton civarında morfin üretimi gerçekleştirilmektedir. Türevler ünitesi, ekstraksiyon ünitesinde üretilen ham morfenden hareket ederek dünyada kabul gören farmakolojik standartlara (EP, USP, BP vb.) uygun katma değeri yüksek yarı sentetik ilaç hammaddeleri (API) sentezlemekte olup esnek bir üretim dizaynı ve ekipmana sahiptir. Dünyada, haşhaştan elde edilen tıbbi ve bilimsel amaçlı opiyat tüketimi yılda yaklaşık 350 ton civarındadır. Dünyada önde gelen yasal haşhaş üreticisi ülkelerden Avustralya, Türkiye, Hindistan, Fransa, İspanya, Macaristan arasında rekabet bulunmaktadır. BM Teşkilatının, üye olan tüm ülkelere "tıbbi ve bilimsel amaçlı opiyat hammadde ihtiyaçlarını öncelikle geleneksel haşhaş üreticisi ülkelerden temin etmeleri" yönündeki tavsiye kararı çerçevesinde en büyük opiyat hammadde ithalatçısı olan ABD, aldığı kararla ithalatının % 80'lik kısmını geleneksel tedarik edici ülke olan Türkiye ve Hindistan'dan, % 20'lik kısmını da diğer ülkelerden gerçekleştirmektedir (Anonim, 2012b).

Ülkemizde haşhaş tohumu gıda amaçlı kullanıldığından serbest piyasada işlem görmektedir. Ancak haşhaş tohumunun çiftçinin elinde kalmaması ve değer fiyatının altında satılmaması amacıyla 1988 yılından itibaren TMO haşhaş tohumu destekleme alımıyla görevlendirilmiştir. 1988 yılından bu yana haşhaş tohumu için TMO tarafından alım fiyatı ilan edilmesine rağmen, serbest piyasada haşhaş tohumu fiyatlarının daha yüksek seyretmesi nedeniyle, üretilen tohumlar piyasada rahatlıkla değerinden alıcı bulmaktadır. Haşhaş tohumları gri-mavi, sarı, beyaz, çiğ kahve ve pembe renklerde

olabilmektedir. Türkiye’de en fazla yetiştirilen haşhaşlar sırasıyla beyaz, mavi ve sarı tohumlu çeşitlerdir. Üretilen haşhaş tohumlarından bir kısmı çiftçi ihtiyaçları için ayrılmakta geri kalan kısmı ise serbest piyasada işlem görmektedir (Azcan ve ark., 2004; Anonim, 2012b).

Haşhaş tohumu ile ilgili olarak yayınlanan TS 312 ‘Haşhaş Tohumu’ standardında (TSE, 2003a) tohum ‘Gelincikgiller (*Papaveraceae*) familyasının, *Papaver somniferum* L. türüne giren kültür bitkilerinin kapsülleri içinde oluşan tohum’ olarak tanımlanmıştır. Standartta, haşhaş tohumları renklerine 6 sınıfa ayrılmıştır (Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.2. Haşhaş tohumu sınıflarının özellikleri (TSE, 2003a)

Sınıflar	Nem (%, m/m), en çok	Yabancı Madde (%, m/m), en çok	Bozuk Tane (%, m/m), en çok	Diğer Sınıflardan Karışma (%, m/m), en çok
Beyaz tohum	9.0	1.0	0.5	1.0
Mavi-gri tohum	9.0	1.0	0.5	1.0
Sarı tohum	9.0	1.0	0.5	1.0
Çiğ kahverengi tohum	9.0	2.0	0.5	1.0
Pembe tohum	9.0	2.0	0.5	1.0
Karışık renkli tohum	9.0	2.0	0.5	Aranmaz

Haşhaş tohumları ticareti yapılan bir ürün olduğu için ambalajlı olarak satılmalıdır ve bunların içinde buldukları ambalajlar; işleme yerlerinde, depolarda ve taşıtlarda kötü koku yayan ve bunları kirletecek böcek öldürücü ilâçlar ve diğer zehirli maddelerle bir arada bulundurulmamalıdır. İçinde haşhaş tohumu bulunan ambalajlar, yaş olmayan, havadar, serin, doğrudan güneş ışığı almayan yerlerde kuru zemin ve tahta ızgara üzerinde depolanmalı, yağış altında bırakılmamalı ve bu durumda yükleme boşaltma yapılmamalıdır. Haşhaş tohumlarının bulunduğu çuvallar, üst üste en çok 6 kat halinde konulmalıdır. İstifler depo duvarına dayanmamalı, etraflarında serbestçe gezilebilecek şekilde ve depo girişine bakacak şekilde yapılmalıdır. Haşhaş tohumu ambalajlarının bulunduğu depo; kuru, hoşa gitmeyen kokulardan uzak, böcek ve haşerelerin girişine karşı engelleyici yapıda olmalıdır. Bu depolar, uygun fümigantlar veya pestisitlerle hayvansal zararlılara karşı dezenfekte edilebilmeli veya ilaçlanmalıdır. Bu takdirde, haşhaş tohumları üzerinde herhangi bir leke veya toksik kalıntı kalmamasına dikkat edilmelidir (TSE, 2003a).

1.3. Çalışmanın amacı

Ülkemizin BM tarafından belirlenen ana haşhaş üreticisi ülkeler arasında olması, morfin amaçlı kapsül giderilmesi sonrası önemli miktarda tohumun üreticinin elinde kalmasına neden olmaktadır. Yüzyıllardır ülkemiz topraklarında tüketilen, besleyici değeri yüksek bir gıda hammadde olması nedeniyle, haşhaş tohumlarından kaliteli, besleyici, pazar payı olabilecek, lezzetli gıda eldesinin optimum şartları araştırılmak istenmiş ve hammadde seçimini bu konular belirlemiştir.

Literatür incelendiğinde; soğuk pres haşhaş yağı üzerine yapılan çalışmaların genel olarak temel bileşen özelliklerini belirlemeye yönelik olduğu, oldukça karakteristik bir yemeklik yağ olan haşhaş yağının aromatik ve duyuşal özellikleri üzerine çok fazla çalışma yapılmadığı görülmüştür. Tohum verimi oldukça düşük olan haşhaş bitkisinden yağ eldesinde vidalı pres tekniğı üzerine çalışma yapılmamış ve farklı ön işlemlerin denenmemiş olması, soğuk pres haşhaş yağı eldesinde verim ile yağ kalitesinin artırılmasına yönelik olarak nasıl bir proses uygulanabileceğı sorusunu akla getirmiştir. Haşhaş tohumlarından mekanik vidalı pres tekniğı ile yağ eldesi, proses öncesinde uygulanacak ön işlemlerin yağ verimine etkileri, kontrol ve ön işlem gruplarından yağ eldesinde optimum pres koşullarının belirlenmesi çalışmamızın amaçları arasındadır.

Mekanik presleme bitkisel yağın kazanılmasında yaygın kullanılan bir metot olup, hidrolik pres, vidalı pres ve dönen presleri kapsar. Solvent ekstraksiyonu %98 oranında yağ verimi sağlamasına karşın, solvent kullanımına bağılı olarak spesifik prosesler gerektiren maliyeti oldukça yüksek bir yöntemdir. Vidalı presler çevre dostu olup, sağlık ve iş güvenliğı açısından da üstündürler (Deli ve ark., 2011). Mekanik yağ preslemenin en önemli avantajları; ekipman kurulumu ve kullanımının kolaylığı, prosesin personel yetkinliğini gerektirmemesi, farklı yağlı tohumlara kolaylıkla adapte edilebilmesi, üretimin süreklilik arz etmesi, kimyasal madde kullanılmadan proteince zengin yağlı kek elde edilmesidir. Vidalı preslerde kapasite 40-1000 kh/saat olabilmektedir. Ancak vidalı pres tekniğı ile kekte % 8-14 oranında yağ kalabilmektedir. Bu oldukça büyük bir oran olup, önemli miktar yemeklik yağın kaybı demektir (Singh ve Bargale, 2000). Bu nedenle soğuk pres öncesinde tohuma uygulanacak ön işlemler önem kazanmaktadır.

Literatürde haşhaş tohum unlarının bazı fonksiyonel özellikleri belirlenmiş olmasına karşın; tohum proteinlerinin optimum izolasyon koşullarının belirlenmesi, kavurma ve enzim ön işlemlerinin genel ve besleyici özellikler üzerine olan etkileri sonucunda tohum

küspesinin insan gıdası olarak kullanımlarına yönelik çok daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan hem haşhaş yağının gıdalarda kullanımı hem de tohum proteininin insan beslenmesinde kullanımına dair literatürdeki bilgi azlığı dikkat çekmektedir. Gerek tohum üreticileri, gerekse gıda sanayi için yeni gelir yolları açacak olan bu çalışmalar, insan beslenmesi ve sağlığı üzerine olası faydaları açısından da büyük öneme sahip olacaktır.

Bu tez çalışması ile; ülkemizde yaygın olarak üretilen üç haşhaş çeşidine (Ofis 8-beyaz, Ofis 4-sarı ve Ofis 3-mavi) ait tohumların genel özelliklerinin belirlenmesi, soğuk pres uygulaması öncesinde tohumlara kavurma uygulamasının ve enzimatik hidrolizin yağ verimi ve kalitesi üzerine etkileri ile yağlı kek üzerine olabilecek etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ön işlemlerden geçirilen tohumlardan üretilen haşhaş yağlarının fiziko-kimyasal analizlerinin yapılması, aromatik madde bileşimlerinin belirlenmesi, duyu tanımlama analizlerinin gerçekleştirilmesi hedeflenmiş ve üretilen tüm bilgiler ışığında kavurma veya enzim ile ön muamele edilen tohumlardan elde edilen soğuk pres haşhaş yağlarında olabilecek kayıplar, insan gıdası olarak kullanılabilme potansiyelleri ve özelliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Soğuk presten alınan yağlı keklerin genel özelliklerinin belirlenmesi, haşhaş yağsız unlarının hazırlanması ve yağsız unlardan en yüksek verim ile protein izolasyonunun yapılması hedeflenmiştir. Farklı muamele gruplarına ait tohum çeşitlerinin her biri için optimum protein izolasyon koşullarının belirlenmesi, yağsız unların mineral madde içerikleri ile fonksiyonel özelliklerinin ve protein izolatlarının ise amino asit içerikleri ile fonksiyonellik potansiyellerinin test edilmesi ile besleyici değerleri hakkında veri elde edilmesi amaçlanmıştır. Önemli bir yan ürün olan haşhaş pres kekinin ekonomik açıdan değerlendirilmesi, gıda sistemlerinde fonksiyonel özelliklerine bağlı olarak yardımcı katkı maddesi olarak kullanılabilme potansiyellerinin tespit edilmesi ile haşhaş tohumunun tüketimini arttırmaya yönelik işlemlere öncülük etmesi açısından çalışmanın sonuçları önemlidir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Haşhaş Yağının Bileşimi ve Özellikleri

Haşhaş tohumunun yağ içeriği orijin ve renge bağlı olarak önemli oranda değişmektedir. Yağ içerikleri, yapılan çalışmalar sonucunda Hindistan'da üretilen haşhaş tohumlarında % 41.4 - 49.1, Pakistan'da % 47 - 53 ve ülkemizdeki çeşitlerde ise % 44 - 57 oranlarında belirlenmiştir. Beyaz çeşitlerde yağ oranı ortalama olarak % 40, mavi çeşitlerde ise % 33 olarak belirlenmiştir. Aynı bölgeden elde edilmesine karşın, tohumlardan elde edilen yağlarda yağ asitleri kompozisyonları da yağ miktarı gibi geniş varyasyon gösterebilmektedir. Hindistan orijinli haşhaş tohumu yağlarında ana yağ asitleri palmitik asit % 8.9 - 21.5, oleik asit % 13.2 - 36.8 ve linoleik asit % 41.0 - 68.0 olarak rapor edilmiştir (Azcan ve ark., 2004). Beslenme açısından bakıldığında haşhaş yağı istenen ideal bir yağ asidi kompozisyonuna sahiptir. Major olarak % 73 linoleik, % 10 palmitik ve % 13 oleik asit içerir. Mısır özü yağı ve aspir yağı gibi linoleik asitçe zengin bitkisel yağların kandaki serum kolesterol seviyelerini düşürdüğü bilinmekte olup, bu durum haşhaş yağının da besleyici değerine bir işarettir (Bozan ve Temelli, 2003).

Bajpai ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada, Hindistan menşeli haşhaş tohumlarında şekil, renk, verim, tohum içeriği ve haşhaş yağının yağ asidi kompozisyonu incelenmiştir. Kullanılan tohumlar beyaz, sarı ve açık kahverengidir. Şekil olarak yuvarlak, böbrek şeklinde ve üç farklı ebattadır. Yağ içerikleri % 26 - 52, palmitik asit içeriği % 9.3 - 40, oleik asit % 7.5 - 58.4, linoleik asit % 0.7 - 72.7 arasında tespit edilmiştir. Ortalama değerlere göre ana yağ asitleri; oleik asit (% 37.1) > palmitik asit (% 27.3) > linoleik asit (% 17.2) şeklindedir. Palmitoleik, stearik ve linolenik asitler sadece bazı bölgelerden alınan tohumların yağlarında belirlenmiştir. İki örnekte tespit edilen linoleik asit miktarı, soya ve mısır özü yağları ile aynı bulunmuştur. Dört örnekte ise palmitik, oleik ve linoleik asit oranları eşittir. Yağ miktarı açısından zengin olan örneklerde palmitik asit düşük ve linoleik asit yüksektir. Yüksek oranda oleik asit içeren örnekler ayrıca yüksek oranda palmitik asit ve nispeten düşük oranda linoleik asit içermiştir. Tohum verimi ile yağ verimi arasında, yağ verimi ile yağ içeriği arasında, oleik asit ile palmitik asit içeriği arasında yüksek oranda pozitif korelasyon belirlenmiştir. Yağ içeriği ile linoleik asit içeriği arasında zayıf pozitif korelasyon gözlenirken; yağ içeriği ve palmitik asit içeriği, palmitik asit ile linoleik asit ve oleik asit ile linoleik asit içeriği arasında negatif korelasyon gözlenmiştir.

Ülkemizde haşhaş yağının kullanımı lokal düzeyde kalmıştır ve tohumdan yağın elde edilmesinde presyon (mekanik sıkma) yöntemi kullanılmaktadır. Azcan ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmalarda, ülkemizde yetiştirilen haşhaş tohumlarında ortalama nem içeriği % 6.4, toplam protein içerikleri; sarı tohumda % 21.8, beyaz tohumda % 21.9 ve mavi tohumda % 22.7 olarak tespit edilmiştir. Sarı tohumlularda kül miktarı % 5.7; besin elementleri olarak kalsiyum 1.6 ppm, sodyum 50.9 ppm, potasyum 5.1 ppm, ağır metaller olan bakır 1.6 ppm, demir 44.8 ppm, çinko 74.5 ppm olarak tespit edilmiştir. Protein içerikleri renge bağlı olarak küçük bir varyasyon göstermekte olup, mavi tohumlu haşhaşlarda daha fazla protein (% 22.7) tespit edilmiştir. Solvent ekstraksiyon sonucunda yağ oranı sarı tohumlularda % 49.2, beyaz tohumlularda % 36.8, mavi tohumlularda % 33.6 olarak tespit edilmiştir. Renge bağlı olarak haşhaş tohumlarının yağ oranlarında belirgin fark görülmektedir. Sarı tohumlularda yağ miktarı, beyaz ve mavi renkli tohumlara oranla belirgin derecede yüksektir. Mavi tohumlularda en düşük yağ oranı gözlenmiştir. Yağ oranı yüksek olan sarı tohumlara ayrıca presyon da uygulanarak % 32.3 oranında yağ elde edilmiş ve presten alınan yağlı kekin solvent ekstraksiyonu sonrasında % 17.6 ilave yağ kazanılmıştır. GC/MS ile yapılan yağ asitleri profili analizinde üç farklı haşhaş çeşidinde stearik asit % 2.5 - 3.2, linolenik asit % 0.4 - 0.6, palmitik asit % 10 - 13, oleik asit % 16.1 - 24.7 ve linoleik asit % 56.4 - 69.2 oranlarında tespit edilmiştir. Ana yağ asidi olan linoleik asit beyaz tohumlulardan elde edilen haşhaş yağında en yüksek oranda (% 69.2) görülürken, mavi tohumlulardan elde edilen yağ örneğinde en düşük seviyededir (% 56.4). Buna ilave olarak beyaz tohumlulardan elde edilen haşhaş yağında, doymamış yağ asitleri oranı (% 85.9) en yüksektir. Pres kekinin zengin yağ (% 17.6), protein (% 21.8) ve besleyici elementler (57.6 ppm) içermesi hayvan beslenmesinde yem olarak kullanımını mümkün kılabilir.

Özcan ve Atalay (2006) tarafından yapılan çalışmada, yedi adet haşhaş çeşidinde fiziksel ve kimyasal özellikler incelenmiştir. Örneklerin 1000 tane ağırlığı 0.29 - 0.429 g, nem miktarı % 3.39 - 4.76, ham protein oranı % 11.94 - 13.58, ham kül miktarı % 4.92 - 6.25, ham lif oranı % 22.63 - 30.08, HCl'de çözünmeyen kül miktarı % 0.72 - 1.68, ham enerji 6367-6740.5 kcal/100g ve ham yağ oranı % 32.43 - 45.52 olarak tespit edilmiştir. Haşhaş tohumları 309.5 - 567.3 ppm arasında beta-tokoferol içermektedir. Stearik, palmitik, oleik, linoleik ve linolenik asitler belirlenen ana yağ asitleridir. Haşhaş tohumu ve yağı sağlığa yararlı besleyici bileşenleri içermektedir. Linoleik asit bütün çeşitlerde hakim yağ asidi olarak belirlenmiştir. Haşhaş tohumları % 50'ye varabilen oranlarda yağ

içerirler. Ham haşhaş yağı sarı, berrak, kaygan his veren, tüketilebilir hoş bir tada sahiptir. Ryan ve ark. (2007) tarafından haşhaş tohum yağları üzerine gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, örneklerde % 12.20 palmitik, % 0.27 palmitoleik, % 2.30 stearik, % 22.19 oleik, % 59.87 linoleik, % 1.30 linolenik, % 0.67 araşidik, % 0.16 gadoleik ve % 0.29 oranlarında erusik asit belirlenmiştir. Erinç ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada farklı haşhaş çeşitlerini incelemişlerdir. Ana yağ asitleri olarak linoleik asit (687.6 - 739.2 g/kg), oleik asit (141.3 - 192.8 g/kg) ve palmitik asit (76.8 - 92.8 g/kg) belirlenmiştir.

Oksidadif kararlılık katı ve sıvı yağların kalitesini devam ettirmede önemli bir parametredir. Tohum yağlarında oksidadif kararlılık yağ asitleri kompozisyonu ile tokoferol, tokotrienol gibi minor bileşenlerden çok fazla etkilenir. Oksidasyon prosesi temel olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin degredasyonunu içerir ve fonksiyonel özellikler ile besleyici değerin düşmesine neden olan serbest radikaller oluşur. Tokoferoller ve tokotrienoller gıdalarda doymamış yağ asitlerinin oksidasyona karşı korunmasında görev alan önemli antioksidanlardır ve fenolikler gibi diğer antioksidanlar ile birlikte insan vücudunda oksidadif strese karşı etkili bir koruma sağlarlar. Yapılan bir çalışmada; haşhaş yağında bulunan ana yağ asidi % 74.5 oranı ile linoleik asit olarak bulunmuş olup, toplam tokoferol miktarı 11.0 mg/100g haşhaş tohumudur. Haşhaş yağı γ -tokoferol (79.4 mg/100 g yağ) açısından zengindir. Haşhaş yağında sadece α - ve γ - tokotrienol bulunmuştur. 110 °C'de 20 L/saat akış hızına sahip hava ile yapılan oksidadif stabilite testinde haşhaş yağı aspir ve keten yağına göre 5.56 saat değer ile daha kararlı bulunmuştur. Oksidadif stabilite ile yağ asitlerinin doymamışlık oranları ve tokoferol seviyeleri arasında korelasyon belirlenmemiştir. Erinç ve ark. (2009) ise yapmış oldukları çalışmada, haşhaş yağlarında önemli miktarda (195.37 - 280.85 ppm) γ -tokoferol (ortalama değer 261.31 ppm) ve α -tokoferol (21.99 - 45.83 ppm, ortalama değer 33.03 ppm) tespit etmişlerdir. Toplam sterol konsantrasyonu ortalama 2916.20 ppm olarak belirlenmiş olup; ana sterol çeşitleri β -sitosterol (663.91 - 3244.39 ppm), campesterol (228.59 - 736.50 ppm) ve Δ 5-avenasterol (103.90 - 425.02 ppm) olarak tespit edilmiştir.

2.2. Haşhaş Yağı Üretim Teknolojisi

Endüstriyel işletmelerde biodizel amaçlı olarak haşhaş tohumlarından yağın alınması genellikle presleme ve bunu izleyen solvent ekstraksiyonu ile yapılır. Yemeklik yağ üretiminde ise soğuk pres yöntemi tercih edilmekte, rafinasyon uygulanmamaktadır. Bu

şekilde elde edilen haşhaş yağı salata veya yemeklik yağ olarak ve margarin üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır (Bozan ve Temelli, 2003).

Mekanik yağ üretiminin avantajları basit olması, prosesin hızlı seyretmesi, az miktardaki ürünler için pratik olması, işlemin kısa sürmesi ve maliyetinin az olmasıdır. Ayrıca sistem çok çeşitli yağlı tohumlara adapte edilebilmektedir. Solvent ekstraksiyonuna oranla tehlikesizdir. Mekanik preslerde işlem sonrasında kimyasal içermeyen, proteince zengin pres keki de elde edilir (Singh ve Bargale, 2000). Son yıllarda yağlı tohumlardan yağ elde edilmesinde sürekli, mekanik, vidalı preslere olan ilgi tekrar artmıştır. Ancak vidalı pres tekniği, yağlı tohumlardan yağ eldesinde solvent ekstraksiyonun yerini tamamen alamamaktadır. Çünkü tohum içindeki yağın az bir kısmını almaya yetkindir, bu nedenle özel yağların üretilmesinde kullanılır. Ancak vidalı pres yöntemi az miktarlardaki tohumun preslenmesinde kullanılabilen en uygun, basit ve güvenilir metottur. Vidalı presin performansı hammaddeye uygulanan ön hazırlık aşamalarına bağlıdır. Temizleme, kırma, pişirme, kurutma ve optimal nem düzeyine kadar su verilmesi bu ön işlemlerden bazılarıdır. Presleme esnasında veya öncesinde uygulanan termal işlem genellikle yağ kazanımını artırır. Ancak oksidatif parametrelerde oluşan artışa bağlı olarak yağ kalitesini olumsuz etkileyebilir. Tohum nem içeriği, presleme için önemli olan diğer bir anahtar değişkendir. Nemin tohumlarda plastik yapıyı arttırdığı ve kayganlığı sağladığı için pres beslemesi ve etkinliğine olumlu katkı sağladığı bilinmektedir. Ancak yüksek nem içerikleri, presleme esnasında yetersiz sürtünmeden dolayı yağ eldesinin az olmasına da neden olabilir. Bu nedenle optimal nem içeriği ve işlem sıcaklığının vidalı pres yönteminde belirlenmesi önemlidir (Martinez ve ark., 2008). Mekanik işlemlerde cihaz ve ekstraksiyon tekniğinde meydana gelen gelişmeler ile yağ verimi kolza ve yarfıstığında % 73'den % 80'e, pamuk çiğidinde ise % 60'dan % 65'e yükselmiştir. Vidalı preslerde etkinliğin artırılmasına yönelik olarak basınç, presleme sıcaklığı ve materyalde nem dengelemesi gibi değişkenler üzerine çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca çeşitli fiziksel (kabuk çıkarma, kırma, tohum ebatını küçültme), termal (ön ısıtma, kuru ekstrüzyon), hidrotermal (sıcak su ile ıslatma, buhar verme, beyazlatma, pullandırma) ve kimyasal (enzimatik hidroliz) ön işlemler üzerinde durulmuştur. Bu işlemler çeşitli yağlı tohumlarda yağ veriminin ortalama % 50'den % 80'lere artmasına neden olmuştur (Singh ve Bargale, 2000).

Deli ve ark. (2011), tarafından yapılan çalışmada *Nigella sativa* L tohumlarından vidalı pres ile yağ eldesinde en yüksek verim % 22.27 6mm çaplı çıkış ucu, 21 rpm dönüş

hızı ile elde edilmiştir. Presleme sıcaklığı ile yağ verimi önemli oranda değişmiş, en yüksek verim 50 C sıcaklıkta alınırken 100 C de en düşük verim elde edilmiştir.

2.2.1. Tohum nem oranının etkisi

Martinez ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada ceviz yağı elde edilmesinde vidalı pres yönteminde farklı nem ve sıcaklık parametrelerinin işlem etkinliği üzerine olan etkileri incelenmiştir. Serbest yağ asidi içeriğinin belirlenmesi sonucunda, presleme öncesinde yapılan tavlamanın yağ kalitesini etkilemediği belirlenmiştir. Nem içeriğinin % 2.5'den % 7.5'e artırılması yağ kazanımını arttırmıştır. Singh ve Bargale (2000) tarafından yapılan çalışmada da % 7.5 nem oranına sahip kolza tohumlarında nemin % 12'ye kadar artırılması sonucunda yağ veriminde artış gözlenmiştir. Li ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmalar presleme öncesinde tohuma termal uygulama ve su eklenmesinin hücre yapısında genişleme ve parçalanmaya neden olduğunu, bu durumun geçirgenliği arttırarak yağın çıkışını hızlandırdığını ve yağ verimini arttırdığını göstermiştir. Martinez ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada cevizden yağ elde edilmesinde en yüksek yağ verimi (% 89.3) % 7.5 nem içeriği ve 50 °C ısı uygulaması ile sağlanmıştır. Bu nem içeriğinde sıcaklığın 50 °C' den 70 °C' ye çıkarılması yağ veriminde önemli oranda düşüşe neden olmuştur. Bunun nedeni presleme sırasında sıklıkla oluşan tıkanma problemidir. En düşük kaliteli yağ eldesi % 7.5 nemde 70 °C pres sıcaklığında elde edilmiştir. Bu koşullar altında presten alınan kek sıkı yapılı ve koyu renklidir. Yapılan istatistik analizler sonucunda farklı nem ve sıcaklık şartlarında preslenen cevizlerden elde edilen yağların kalitesi, incelenen bütün parametreler için önemli varyasyonlar göstermiştir. Ceviz yağlarından elde edilen kimyasal veriler, vidalı pres ve hidrolik sistemli soğuk pres için benzerdir. Cevizde yağ verimini arttırmak için vidalı pres yönteminde tohum neminin % 7.5, pres sıcaklığının 50 °C olması idealdir. Bu parametreler kekte kalan yağ miktarını azaltmaktadır. Yağ verimi açısından nem miktarının ayarlanması, sıcaklık uygulamasına oranla daha faydalıdır.

Doğru tohum nemi ve pişirme sıcaklığı kombinasyonunun seçilmesi optimal vidalı pres performansı için gereklidir. Pradhan ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada jatropha tohumlarından yağ elde edilmesinde vidalı pres yöntemi kullanılmıştır. Başlangıç tohum nemine sahip numunelerde, ısı uygulanmayan örneklerden elde edilen yağ miktarı ısı uygulanan örneklere oranla daha azdır. Pişirme işlemi tohum dokularını yumuşatmakta ve yağ vizkozitesini düşürmektedir. Dokuların yumuşaması hücre yapısının zayıflamasına

neden olmakta, tohumu basınca karşı dayanıksız kılmakta, düşük vizkozite ise yağ akışını kolaylaştırmaktadır. % 9.69 nem içeriğine sahip olan ve ısı uygulanan tohumlarda yağ kazanımı, % 12.16 nem içerenlere göre daha yüksektir. Yeterli ısı uygulaması proteinlerin koagülasyonu ile yağ hücrelerinin parçalanması ve yağ vizkozitesinin düşmesi için gereklidir. 110 °C’de 10 dk. pişirme uygulanan % 9.69 nem içeriğine sahip tohumlarda yağ verimi % 73.14 ile en yüksektir. Başlangıçta yüksek nem içeriğine sahip tohumlarda uzun süreli ısıtma sonrasında en yüksek nem kaybı görülmektedir. Her nem seviyesinde, nem kaybı pişirme süresince örneğe uygulanan ısı miktarının göstergesidir. Ne kadar fazla ısı uygulanırsa nem kaybı o kadar fazla olmaktadır. Artan nem miktarı ile yağ veriminde başlangıçta oluşan artış, örneklerdeki proteinlerin koagülasyonuna ve sonuçta serbest yağın akışı için elverişli geniş boşlukların oluşmasına atfedilmektedir. *Jatropha* tohumları gibi protein oranı (% 23.6) yüksek yağlı bitkilerde ısı uygulamasına bağlı olarak meydana gelen protein koagülasyonu yağ veriminde önemli etki göstermektedir. Pradhan ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, yağ verimi ısı uygulanan tohumlarda artan nem oranı ile birlikte artmıştır ve pişirilen tohumlarda % 8.19, ısı uygulanmayan tohumlarda % 9.86 nem düzeyinde en yüksek değere ulaşmıştır. Nem düzeyinde daha sonraki artışlar yağ veriminde hızlı bir düşüşe neden olmuştur. Bunun sebebi yağ hücrelerinde oluşan müsilaj olabilir. Yüksek nem içeriklerinde müsilajın neden olduğu şişme tohum üzerinde yastıklama etkisi oluşturur. Şişen tohumda ekstraksiyon süresince açığa çıkan yağın akışı engellenir ve tohum üzerinde oluşan yastıklama etkisi basınç altındaki iç dokuların ve partiküllerin kırılmasını azaltır. Yağ verimi karşılaştırmaları pişirilmeyen örneklerden elde edilen yağ veriminin, pişirilen örneklere göre düşük olduğunu göstermiştir. Bu durum yeterli ısı uygulamasının gerekliliğini göstermektedir. Pişme sonrasında artan yağ verimi tohum dokuları arasındaki kapiler boşluklarda yağ vizkozitesinin düşmesine de atfedilir.

Bargale ve Singh (2000) tarafından kolza tohumunda yapılan çalışmada da, artan tohum neminin yağ verimini arttırdığı belirlenmiştir. Yağ veriminin artmış olması kekte kalan yağ miktarının azalmasına neden olur. Tohum nem miktarında artış olması kekte kalan yağ miktarında artışa neden olur. Bunun sebebi düşük nem içeriklerinde presleme esnasında pres kısmında oluşan yüksek sürtünme katsayısı olabilir. Tohumların düşük nem içeriklerine sahip olmaları sürtünmeyi arttırmakta, yüksek nem ise presleme esnasında kayganlığa neden olmaktadır. Yapılan bu çalışmada nem içeriğinin % 12.16’dan % 7.22’ye düşürülmesi sonucunda pres hızı pişirilmiş örnekler için 30.92 kg/saat’den 29.5 kg/saat’e, ısı uygulanmayan örnekler için 31.38 kg/saat’den 29.87 kg/saat’e düşmüştür. Bu hızlar

optimum vidalı pres hızı olan 120 rpm de tespit edilmiştir. Nem içeriği ile pres hızı arasındaki ilişki her iki durumda istatistik olarak ($p \leq 0,05$) önemli bulunmuştur. Nem, presleme sırasında kayganlaştırıcı etki göstererek basınca dayanımı azaltmakta ve yüksek pres hızı oluşturmaktadır. Yüksek nem içeriğinde oluşan yüksek pres hızı pres kekinin cihaz içinde kalış süresini azaltmakta ve kekte kalan yağ miktarını arttırmaktadır. Bu durumda yağ verimi düşmektedir. Pişmemiş örneklerdeki pres hızı, pişmiş örneklere göre biraz daha fazladır. Aradaki fark istatistik olarak ($p \leq 0,05$) önemli bulunmuştur. Bu farkın sebebi pişirme esnasında denature olan proteinlerin presleme esnasında varil içinde yüksek sürtünme katsayısına neden olmasıdır. Nem içeriğinin % 12.16'dan % 7.22'ye düşürülmesi sediment içeriğinin (dip kısımda biriken katı kısımlar, tortu) pişmiş örneklerde % 4.27'den % 7.86'ya, pişmemiş örneklerde % 4.02'den % 5.27'ye yükselmesine neden olmuştur. Bunun sebebi sürtünme dayanıklılığı ile açıklanabilir. Protein denaturasyonu sonrası artan sürtünme katsayısı ve azalan nem basınçta artışa neden olur. Basınç artışı daha fazla katıyı varil açıklıklarına yönlendirir. Pres kekinin varil açıklıklarından görünür olarak çıkışı pres etkisini göstermektedir.

2.2.2. Isıl işlemin etkisi

Yağlı tohumların ön hazırlığında pişirme ve kurutma koşulları vidalı preste performansı etkileyen en önemli faktörlerdir. Bazı yağların eldesinde, soğuk presleme öncesinde hammaddeye ısı işlem uygulanması yağ verimini arttırmaktadır. Pişirme veya ısıtma ile yağlı tohumlarda yağ hücreleri parçalanır, proteinler koagule olur, nem içeriği optimal presleme değerini sağlayacak seviyeye getirilir ve yağın vizkozitesi azalır. Böylece yağ daha kolay ekstrakte edilir (Martinez ve ark., 2008).

Endüstriyel yağ üretiminde uygulanan presleme yönteminde kek kısmında % 10-12 oranında yağ kalır. Şiddetli ısı uygulaması ve pres koşulları ürünün yağ ve protein kalitesinde azalmaya neden olur. Ancak düşük presleme sıcaklıkları ve soğuk pres yönteminde de elde edilen yağ verimi düşük olmaktadır. Geleneksel bitkisel yağ üretim proseslerinde, pres keki hekzan ile ekstrakte edilir. Çevresel, toksikolojik ve operasyonel tehlikelerinden dolayı yağ eldesinde solvent ekstraksiyonunu elimine etmek için pek çok çalışma yapılmıştır. Bu amaçla su veya etanol gibi alternatif solventler kullanılmış veya enzim kullanımı ile presleme prosesinin etkinliği arttırılmaya çalışılmıştır (Moure ve ark., 2002).

Yağ ekstraksiyonu öncesinde yağlı tohumlara uygulanan kavurma işlemi, tohumun ve ekstrakte edilen yağın fiziksel, kimyasal ve besleyici özellikleri üzerinde bazı istenen ve istenmeyen değişimlere neden olur. Kavurma işleminin sağladığı arzu edilen faydalardan en önemlisi Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşması sonucunda antioksidan aktivitesinde meydana gelen artıştır. Yağlı tohumlara uygulanan termal proses boyunca karbonil ve amin grupları arasında oluşan interaksiyonlar maillard reaksiyonlarını meydana getirir. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan uçucu bileşenler lipit oksidasyonu reaksiyonlarını engelleyerek oksidatif stabiliteyi artırırlar. Kavurma işlemi uygulanan tohumlar ve kabuklu yemişlerden elde edilen yağların oksidatif bozulmalara karşı daha dirençli oldukları yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Maillard tepkimesi ürünlerinin oluşmasının yanısıra, kavurma işlemi sırasında doğal olarak oluşan antioksidan türevlerinin artması veya azalması ile yağlarda toplam antioksidan kapasitesi değişir. Yağlı tohumlarda toplam antioksidan kapasitesi üzerinde kavurma işleminin net etkisi; doğal olarak oluşan antioksidan bileşenlerin termal yıkımı ile antioksidan kapasitesine sahip yeni maillard ürünlerinin oluşumu arasındaki dengeye bağlıdır. Kavrulan tohumlardan elde edilen yağlarda meydana gelen antioksidan konsantrasyonu artışı; kavurma sırasında oluşan hücresel deformasyonlar sonucunda fitokimyasalların ekstraksiyon yeteneğinin iyileşmesine atfedilir. Literatürde yapılan çalışmalar ile fenolik bileşenlerin ve tokoferollerin kavurma işlemi uygulanan materyalden elde edilen yağlarda daha fazla bulunduğu doğrulanmıştır. Durmaz ve Gökmen (2011), yapmış oldukları çalışmada *Pistacia terebinthus* yağında oksidatif stabilite, antioksidan kapasitesi ve antioksidan fitokimyasalları incelemiştir. 180 °C'de 0 - 40 dk kavrulan *Pistacia terebinthus*'dan yağ elde edilmiştir. Kavurma işlemi sonucunda fenolik bileşenlerde artış olurken; tokoferol, lutein ve beta-karoten miktarında azalma gözlenmiştir. Yağın antioksidan kapasitesi ve oksidatif stabilitesi kavurma işlemi ile artış göstermiştir. Maillard tepkimesinin göstergesi olarak yağda hidroksimetilfurfural (HMF) seviyesi ve renk yoğunluğu belirlenmiştir. Bu iki değer kavurma süresi ile doğru orantılı olarak artmıştır. Yağ asitleri kompozisyonu ise kavurma işleminden önemli derecede etkilenmemiştir.

Yapılan çalışmalarda presleme öncesinde tohumlara ısı uygulanmasının, kekin protein miktarı üzerine önemli etki göstermediği belirlenmiştir. Ancak enzim ön işlemine kıyasla, tohumlara termal ön işlemlerin uygulanması daha yüksek protein verimleri sağlamaktadır. Presleme öncesindeki termal uygulama, proteinlerde su ve yağ bağlama kapasitesi üzerinde önemli etkiye sebep olmamaktadır. Ancak bazı çalışmalar su

absorpsiyon kapasitesinin, termal işlem uygulanan tohumlarda biraz daha yüksek olduğunu söylemektedir. Soğuk presten alınan kek proteinlerinde jelleşme kabiliyeti ısı uygulananlara göre daha iyidir. Kontrol örneklerinde emülsifikasyon özellikleri enzim uygulananlara oranla daha yüksektir. Termal uygulama yapılan keklerde proteinlerin emülsiyon aktivite indeksi soğuk presten alınanlara oranla biraz daha yüksektir. Ancak kontrol ve soğuk pres örnekleri ile hazırlanan emülsiyonlar enzim uygulanan örneklere ait emülsiyonlara göre daha stabildir (Moure ve ark., 2002).

2.2.3. Enzim muamelesinin etkisi

Bitkisel ürünlerden yağ elde edilmesinde, yağ verimini arttırmak amacıyla kullanılan alternatif bir uygulama da tohumlara enzim ön uygulaması yapılması ve bu yolla hücre duvarlarının hidroliz edilmesidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda enzim kullanımı ile yağ veriminin, kontrol örneklerine oranla % 2-12 oranında artış gösterdiği belirtilmektedir. Aynı zamanda işlem süresi de kısalmaktadır. Bitki hücrelerinde bulunan yağı, yağ damlaları (0.6 - 2 µm) adı verilen küresel organeller teşkil eder. Bu organeller trigliserit matriksini oluştururlar ve matriks fosfolipidlere bağlı proteinlerden oluşan tekli bir tabaka ile çevrilidir. Yağ hücrelerinin bu şekilde tamamen sarılmış olması birleşmelerini ve kümeleşmelerini engeller. Bu stabilite, sterik engelleme ile oleosin ve caleosin adı verilen yapısal hidrofobik proteinlerin elektronegatif itmesinden kaynaklanmaktadır. Enzim kullanılması durumunda yüzey yapısı bozularak, yağ hücreleri birbirinden ayrılmakta ve orta lamelin bütünlüğü bozulmaktadır. Böylece hücre dokuları yavaşça, kademeli olarak hücre ve alt hücre organizasyonunu kaybetmekte, hücre duvarları ve sitoplazma ayrılarak yağ serbest kalmaktadır (Passos ve ark., 2009).

Bitki hücreleri, karbonhidrat molekülleri ve proteinlerden oluşan kompleks hücre duvarı matriksi ile çevrilmiştir. Bu nedenle yüksek oranda yağ verimi sağlamak için, kullanılan enzim karışımlarının hücre duvarı yapısını bozabilmek açısından geniş spektruma sahip olmaları gerekir. Ayrıca izoelektrik noktadan uzaklaştıkça protein çözünürlüğünün artması matriks bütünlüğünü bozar ve yağın akışını kolaylaştırır. Yapılan çalışmalarda bitkisel materyaldeki lif varlığının enzimlerin proteinlere ulaşmasını engellediği bildirilmiştir. Bu nedenle selüloz ve pektinazların kullanılması lifli materyalin hidrolizini sağlayarak proteinazların protein kısımlara kolay ulaşmasını sağlar. Bu nedenlerle enzim kullanılması durumunda en iyi yağ verimini almak için enzimlerin sinerjisinden yararlanılmalıdır (Passos ve ark., 2009).

Biyoteknolojik olarak selüloz ve hemiselülozlar üzerine çalışmalar 1980'lerin başında başlamıştır ve ilk kez bu enzimler hayvan yemlerinde kullanılmışlardır. Günümüzde bu enzimler tekstil, pulp ve kağıt üretiminde, gıda, bira ve şarap üretiminde kullanılmaktadırlar. Enzim pazarının yaklaşık % 20'sini bu enzimler oluşturmakta olup, çoğunlukla *Trichoderma* ve *Aspergillus* çeşitlerinden üretilmektedirler. Bitkisel yağ sanayinde en fazla kullanım alanı buldukları ürün zeytinyağı üretimidir. En kaliteli zeytinyağı tam olgunlaşmadan toplanan, hafif yeşil zeytinlerden elde edilmektedir. Ancak bu durumda yağ verimi oldukça düşüktür. Tamamen olgunlaşan veya ortam sıcaklığı üzerindeki sıcaklıklarda işlenen zeytinlerden elde edilen yağlarda ise yüksek asitlik, ransit tat ve zayıf aroma sorunları ile karşılaşmaktadır. Bu dezavantajları gidermek üzere, zeytinyağı üretiminde kullanılması amacıyla üretilen ilk ticari enzim olivexdir (*Aspergillus aculeatus* kaynaklı hemiselüloz ve selüloz içerir) (Soto ve ark., 2007).

Tek bir enzim çeşidinin etkin maserasyon ve yağın kitleden alınmasında yeterli olmaması nedeniyle; pektinazlar, selülozlar ve hemiselülozlar genellikle kombin olarak kullanılmaktadır. Enzim kullanılması naturel sızma zeytinyağında antioksidan miktarını artırır, ransiditeyi azaltırken; yağ verimini her 1 ton zeytin için 1 - 2 kg arttırmaktadır. Enzim kullanılması sağladığı başlıca avantajlar; soğuk presleme yönteminde ekstrakte edilen yağ miktarını arttırmak, santrifüj etkinliğini iyileştirmek, antioksidan ve E vitamini açısından zengin yağ elde edilmesini sağlamak, ransidite oluşumunu yavaşlatmak, karasuya karışan yağ miktarının azalmasıdır (Bhat, 2000).

Kuşburnu, üzüm çekirdeği, kanola, mısır ruşeymi, soya, Şili fıncığı ve hodan tohumları gibi bitki türlerinden yağ elde edilmesinde enzim ön uygulaması kullanılmıştır. Enzimatik ön uygulamaların yağ ve kek kalitesini arttırdığı, lif içeriğini azalttığı, düşük peroksit değeri ve serbest yağ asiti değerlerine neden olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Soto ve ark., 2007).

Zuniga ve ark. (2003)'ün yapmış oldukları çalışmada, Şili fıncığından (*Guevina avellana* mol) yağ elde edilmesinde ultrazym (pektinaz), celluclast (selüloz) ve olivex (pektinaz ve hemiselüloz) kullanılmıştır. Uygulamada tohumlar 1.4 mm partikül büyüklüğünden az olacak şekilde blendırdan geçirilmiş, 100 °C'de 20 dk inkübe edilmiştir. Su ile karıştırılan enzimler enzim/substrat (E/S) oranı % 0.1 - 2 (w/w) olacak şekilde ezilen tohumlara katılmıştır. İnkübasyon sıcaklıkları 20 - 60 °C arasında seçilmiştir. Hidroliz

süresi yapılan ön denemelerde 6 saat olarak belirlenmiştir. Kontrol örneklerine enzim içermeyen sade su eklenmiştir. Hidroliz işleminden sonra enzimlerin inaktivasyonu için örnekler 100 °C sıcaklıkta 15 dk tutulmuş ve sonrasında % 3 - 4 nem içeriğine gelinceye kadar da 60 °C'de vakum altında kurutulmuştur. Çalışmada hidroliz işlemlerinin tamamı 40 °C'de % 35 nem içeriğinde 6 saat süre ile yürütülmüştür. En iyi ekstraksiyon verimi (% 72 ve üzeri) % 1 (w/w) E/S oranı ile sağlanmıştır. Artış ile orantılı olarak % 1 E/S değerine ulaşıncaya kadar verim artmış, sonrasındaki oranlarda ise azalma göstermiştir. Bunun sebebi enzim aktivitesi sonucunda artan çözünebilir şekerlerin kurutma sıcaklıklarında karamelize olarak yağ salınımını limitlemesidir. Kahverengi karemalizasyon ürünleri kurutma sırasında gözle bile görülebilir. Bu nedenle kurutma işlemi vakum altında yürütülmelidir. Çalışmada E/S oranını belirlemek için % 0.5, % 1, % 1.5 ve % 2 oranları her iki enzim karışımı için denenmiştir. % 0.5 ve % 1 oranlarında her iki enzim ile aynı yağ verimleri elde edilmiştir. Ultrazym karışımı üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla 20 - 45 °C aralığı ön uygulamalarda denenmiştir. 35 °C'de % 71 verim, 40 °C'de ise % 72 verim alınmış olup, 40 °C'den yüksek sıcaklıklarda yağ verimi düşmüştür. Olivex-celluclast karışımı için ise 30 - 60 °C'ler arası denenmiş, maksimum yağ verimi (% 74) 40 °C'de alınmış ve bu sıcaklıktan sonra verim düşmeye başlamıştır. Her iki enzim için sıcaklık 40 °C'nin üzerine çıkarıldığında yağ verimi düşmüştür. Bunun sebebi çözünebilir şekerlerin yüksek sıcaklıkta karamelize olmalarıdır. Diğer bir faktör ise ortamda biriken hidroliz ürünlerinin enzimleri inaktif etmesi olabilir.

Soto ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise hodan bitkisinin tohumlarından yağ elde edilmesinde 1:1 oranında ticari enzimler olan olivex (pektinaz, selülaz, hemiselülaz içerir) ve celluclast (selülaz ve hemiselülaz aktivitesinde) kullanılmıştır. Bu enzim karışımı için hodan tohumlarında en iyi presyon verimi 45 °C sıcaklık, % 20 nem ve 9 saatlik süre parametreleri ile alınmıştır. Enzimatik hidroliz, yağ kalitesi üzerinde etkili olmazken, presyon sonucunda alınan kek düşük lif içeriği nedeniyle daha değerli olmaktadır. Uygulamada hidroliz sıcaklığı en önemli parametredir.

Passos ve ark. (2009) üzüm çekirdeğinden yağ elde edilmesinde selülaz, hemiselülaz, pektinaz ve proteazdan oluşan enzim kokteyli kullanmışlardır. Yapılan ön denemelerde belirlenen şekilde öğütülmüş üzüm çekirdeği numunesinin 1 gramına karşılık 4 ml enzimatik süspansiyon eklenmiştir. pH sitrik asit ve hidrojenfosfat ile ayarlanmıştır. 10 g öğütülmüş örnek enzimatik karışım ile karıştırılmış ve hidroliz 200 rpm hızda sürekli karıştırma ile gerçekleşmiştir. Sonrasında hidrolizat sıvı azot ile dondurulmuştur.

Çalışmada yağın eldesinde soxhelet metodu kullanılmıştır. Yapılan denemeler enzim konsantrasyonu ve işlem süresinin artırılmasının yağ verimini arttırdığını ortaya koymuştur. Ancak pH ve sıcaklık ters etki göstermiştir. Miktar olarak en düşük seviyede enzim içeren kokteyl daha iyi sonuç vermiştir. 24 saat süre, pH 4, 30 - 40 °C sıcaklık, 1.0 - 1.4 mm partikül büyüklüğü değerleri kullanılan enzim karışımı için uygun parametreler olarak bulunmuştur. Bu şartlarda ekstraksiyon verimi kontrol örneklerine oranla % 106 artış göstermiştir.

Szydłowska-Czerniak ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada kolza tohumlarında pektolitik ve selülozik enzimler kullanılmıştır. % 0.1 oranında pektolitik enzim kullanılan denemelerde % 10.9 - 16.4 arasında yağ verimi ve % 28.4 - 42.8 arasında pres etkinliği belirlenmiştir. Enzim kullanılmayan ve sadece ısı uygulanan kontrol örnekleri ile kıyaslandığında, pektolitik enzimler yağ verimi ve pres etkinliğini sırasıyla % 11.7 ve % 175.0 oranında artırırken; selülozik enzimler ise sırasıyla % 2.2 ve % 94.7 oranlarında artış sağlamıştır. Oksidatif stabilite açısından bakıldığında ise, 12.6 saat ile en yüksek ransimat değeri selülozik enzim kullanılan tohumlardan elde edilen yağlarda görülmüştür.

Latif ve Anwar (2011) tarafından yapılan çalışmada, beş farklı enzim karışımı (Protex 7L, Alcalase 2.4L, Viscozyme L, Natuzyme ve Kemzyme) kullanılarak susam tohumlarından sıvı ekstraksiyon ile elde edilen yağlar incelenmiştir. Kullanılan enzimler arasında Alcalase 2.4L en yüksek yağ verimini (% 57.4) sağlarken, Protex 7L en yüksek protein miktarını (% 87.1) vermiştir. Enzim ön uygulaması yapılan örneklerden elde edilen yağlar ile enzim uygulaması yapılmayan kontrol grupları ve hekzan ekstraksiyonu uygulanan yağlar kalite kriterleri (yağ asitleri profili, kırılma indisi, serbest yağ asiti içerikleri, iyot sayısı, renk, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde) açısından karşılaştırıldığında aradaki farklar ($p>0.05$) önemli bulunmamıştır. Ancak enzim ön uygulaması yapılan tohumlardan elde edilen yağlarda oksidatif stabilite diğerlerine göre daha iyi iken, tokoferol miktarları da daha yüksektir.

2.3. Yemelik Yağlarda Duyusal Özellikler ve Aroma Bileşenleri

Duyusal analiz gıdaların işitme, dokunma, koklama ve görme duyuları ile algılanan karakteristiklerini hissetmek, ölçmek, analizlemek ve yorumlamak için kullanılan bilimsel yöntem olarak tanımlanmaktadır (Tibet ve ark., 2006). Duyusal değerlendirmede elde edilmek istenen bilgi gereksinimine göre genel olarak objektif yaklaşım ve subjektif

yaklaşım olarak iki tip analiz formu vardır. Bu formlardan biri müşteri ihtiyaçlarını göz önünde bulunduran sübjektif yaklaşım, diğeri ise analiz edilen ürünü tanımlamak ve farklılığını ortaya koymak amaçlı yapılan objektif yaklaşım formudur (Lyon ve Watson, 1994).

Duyusal değerlendirme teknikleri eğer analitik kalite indeksleriyle eşleştirilirse çok güçlü olur ve üretim, formülasyon, çeşitlendirme ve pazarlamayı yönlendirebilir. Aslında ilk önce tüketici tercihlerinin, tercih gruplarının (tüketici fragmanları) belirlenmesi gerekir. Bunun için çok geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. İkinci aşamada, tüketicilerden elde edilen hedonik veriler, duysal tanımlama testleri ve deneyimli panelistler kullanılarak kantitatif verilere dönüştürülür. Böylece tüketicinin dili ve istekleri anlaşılmış olur. Bundan sonraki aşama üründe belirtilen lezzet ve aroma karakterlerini sağlayan kimyasal bileşenlerin tayinidir. Bu amaçla uçucu madde analizleri ve bileşen analizleri yapılır. Kantitatif panel verileri ve kimyasal ölçümlerin eşleştirilmesi ve istatistik değerlendirmesi, üründe nelerin daha çok veya az bulunması gereğini ortaya koyar. Son aşamada gerekli formülasyon ve/veya işlem modifikasyonları yapılarak, tüketici beklentilerini maksimum seviyede karşılayan, kaliteli ve dayanıklı ürün hazırlanmış olur. Genel hatları ve amaçları özetlenen bu proses sensometrik olarak adlandırılmakta ve genel amaçlardan başka birçok bilgi ve fayda da sağlamaktadır (Yılmaz, 2001).

İspanya'da yapılan bir çalışmada 3 farklı ülkede kültüre alınan (İspanya, İtalya ve Yunanistan) dört farklı zeytin çeşitinden (Arbequina, Coratina, Koroneiki ve Picual) alınan 24 örnek üzerinde zeytinyağının kimyasal kompozisyonu ve duysal özellikleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmada analiz edilen örneklerin hasat zamanları ve ekstraksiyon teknolojileri birbirlerinden farklıdır. Kimyasal bileşenlerin analizinde kromatografi tekniklerinden yararlanılmıştır. Duyusal analizde 6 farklı panel seçilmiş ve 24 örnek kantitatif tanımlama testi (QDA) yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bu panellerden 4'ü bu çalışma için eğitilirken, diğer iki panelin uzmanlardan oluştuğu, farklı skala ve skorlar üzerinden değerlendirme yapıldığı belirtilmiştir. Arbequina çeşidi için; palmitik, palmitoleik, margarik, margaroleik, linoleik asit konsantrasyonu yüksek ve oleik asit konsantrasyonu düşük olarak saptanmıştır. Sterol fraksiyonlarının konsantrasyonu da yüksek bulunmuştur. Alkollerden fitol ve oktakosanol yüksek konsantrasyonda bulunurken, dokosanol düşük konsantrasyonda saptanmıştır. (Z)-3 hekzenal konsantrasyonu düşük ve (E)-3-hekzenal, etenilbenzen, 4-metil-1-penten-3-ol ve C6 alkol konsantrasyonları yüksek bulunmuştur. Tüm bu bileşenler göz önüne alındığında en iyi

tanımlayıcı duysal terimler olarak “taze meyve aroması” (domates-enginar benzeri) saptanmıştır. Picual çeşidi için de benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Coratina çeşidi için triterpenik alkol ve sterol (metilsterol, gramisterol) konsantrasyonu yüksek, alifatik alkoller, kampesterol, sitosterol konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Hidrokarbon, (Z)-2-hekzenal yüksek, (E)-3-hekzenal ve 3-furan konsantrasyonları düşük olduğu saptanmıştır. Coratina için en iyi tanımlayıcı terimler olarak “acı” ve “yakıcı” belirtilmiştir. Kroneiki için ise alifatik ve triterpenik alkol, linolenik ve araşidik asit konsantrasyonları yüksek olduğu saptanmıştır. Bu çeşit için en iyi tanımlayıcı terimler “yeşil” ve “hafif burkucu” olarak belirtilmiştir (Aparicio ve ark., 1997).

Kolza yağı üzerine yapılan bir araştırmada tipik olan tatları ifade eden tohum benzeri (seed-like), fıstıksı (nutty), odunsu (woody) ve sert-buruk (astringent) ifadeleri değerlendirme formunda yer almıştır. Tohum benzeri ifadesi (seed-like) kuşkonmaz, lahana, taze yeşil sebze, bazen de sülfür tadına atfedilir. Tanımlayıcıları özetlemek, duysal analizi daha az bilgi verici aynı zamanda da daha fazla güvenilir yapar. Eğer her panel tatlar için kendi tanımlayıcılarını kullanırsa, panel grubunun homojen bir değerlendirme yapması zorlaşır. Duyusal analizde temel hedef, sürdürülebilir ve güvenilir sonuçlar almak, örnek tatları arasındaki minimal benzerlik yada farklılıkları tespit etmektir. Odunsu (woody) ifadesi, pek çok kişi için hoş olmayan duyuları ifade etse de üretim prosesindeki herhangi bir hatayı göstermez. Buruk (astringent) ifadesi sıklıkla acılıkla karışık bir büzülme hissini ifade eder ve tanen içeriği yüksek kırmızı şarap içildiğinde de algılanır. Ayrıca bazı bitkisel yağlarda ransit tat, kokuşmuş tat (fusty), küf tadı (musty), maya tadı (yeast-like), samansı tat (strawy), kavruk tat (roasted), yanık tat (burnt) ve acılık (bitter) gibi istenmeyen tatlar görülebilir. Kavruk tat yanığa oranla daha hoştur ve sıklıkla acı tatla karıştırılır. Ancak kavruk tat, soğuk pres gibi ısı uygulanmayan proseslerle elde edilen yüksek kaliteli bitkisel yağlarda tespit edilmez. Tadım işini yapan kişinin bir görevi de alınan duyunun yoğunluğunu puanlamaktır. Bunun için 0 ila 5 arasında bir skala kullanılır. “0” tadın hiç alınamaması durumunu, “5” ise doygun olarak çok fazla alınma durumunu ifade eder. Ancak bu skala her tat için aynı şekilde kullanılmaz. Örneğin yüksek nemli ortamlarda depolanan tohumlardan elde edilen sızma kolza yağında kuvvetli bir küf tadı olur ve tadımcı kişiler tarafından reddedilebilir. Böyle durumlarda paneller bu duyuya 5 puan verirler. Diğer yandan kaliteli sızma kolza yağında taze yeşil kolzanın hafif tadı ve fıstığımsı tat sırasıyla 3 ve 1 yoğunluklarını geçmeyecek şekilde hissedilir. Bu nedenle tipik pozitif tatların belirlenmesi için skala normalde üst limitine kadar

kullanılmamalı ve duyuşal değerlendirme alınan duyuşlara, ürünün orjinal tatlarının hatırlanmasına ve duyuşların karşılaştırılmasına dayanmalıdır (Brühl ve Matthäus, 2008).

Yapılan literatür araştırmalarında haşhaş yağlarının duyuşal özelliklerine ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Aromatik bileşen analizlerini içeren sadece bir adet çalışma bulunmaktadır ve Hindistan’ da üretilen haşhaş yağlarının aromatik bileşen analizine aittir. Krist ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi ile (DVB/Carboxen/PDMS Stable-Flex fiber) haşhaş yağı örneklerinde uçucu bileşenler tespit edilmiştir. 1-Pentanol (% 3.3 - 4.9), 1-hexanal (% 10.9 - 30.9), 1-hekzanol (% 5.3 - 33.7), 2-pentilfuran (% 7.2 - 10.0) ve kaproik asit (% 2.9 - 11.5) analize alınan haşhaş yağı örneklerinde tespit edilen ana uçucu bileşenlerdir. Aynı çalışmada yağın trigliserit bileşimi belirlenmiştir. Haşhaş yağının % 70’lik kısmının linoleik, oleik ve palmitik asitten oluşan homojen trigliserit serilerinden oluştuğu bildirilmiştir.

2.4. Haşhaş Tohumu Kúşpesi (Keki)

Haşhaş yağı üretiminin önemli bir yan ürünü haşhaş kekidir. Bu ürün çok değerli bir hayvan yem maddesidir. Protein oranı ve besleyici değeri yüksek olan bu kekin insan gıdası olarak kullanımına dair bir araştırmaya henüz rastlanılmamıştır. Ancak benzer bazı keklerin (soya gibi) çok çeşitli insan gıdalarına işlendiği de unutulmamalıdır. Tohuma uygulanan işleme tekniklerine ve ön-hazırlık işlemlerine göre farklı niteliklerde kekler elde etmek olasıdır. Dolayısıyla insan gıdası üretimi için farklı yaklaşımların denenmesi araştırılması gereken konulardan birisidir. TS 319 Haşhaş Tohumu Kúşpesi standardına (TSE, 2003b) göre, haşhaş tohumu kúşpesi “gelincikgiller (*Papaveraceae*) familyasının *Papaver somniferum* L. türüne giren haşhaş bitkisi tohumlarının, insan ve hayvan sağlığına zararsız yağ çözücülerini ile özütlenerek veya ekspeller ya da adî presle sıkılarak yağı alınmış kalıntıları” şeklinde tanımlanmıştır. Aynı standartta özütleme; “bitkisel ve hayvansal yağların ısı, mekanik presleme ve çözücüler aracılığıyla ayrılması”, ekspeller; “yağların, tohumlardan vidalı pres aracılığıyla mekanik olarak ayrılması işlemi”, adi pres; “yağların, tohumlardan el ile çalışan vidalı pres sistemiyle ayrılması işlemi”, yabancı madde; “haşhaş tohumu kúşpesinde bulunan tař, kum, toprak, bitkisel parçalar vb. gibi haşhaş tohumu kúşpesi dışındaki, gözle görülebilen her türlü maddeler” ve bozuk kúşpe de; “acılaşmış, küflenmiş, kızışmış, yanmış ve böceklenmiş haşhaş tohumu kúşpesi” olarak tanımlanmıştır. Buna göre haşhaş tohumu kúşpesinin tip özellikleri çizelge 2.1.’de gösterilmiştir.

Görüldüğü gibi, standartta soğuk pres küspeleri için herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak bileşimin adi pres tipine yakın olabileceği tahmin edilebilir. Bu çalışmada hem yağsız un, hem de ekstrakte edilen proteinler detaylı bir şekilde çalışılmıştır.

Çizelge 2.1. Haşhaş tohumu küspesinin tip özellikleri (TSE, 2003b)

Özellikler	Özütleme tipi	Ekspeller tipi	Adi pres tipi
Rutubet %, en çok	12.0	12.0	12.0
Ham protein % (m/m), en az	35.0	33.0	30.0
Ham yağ % (m/m), en çok	3.0	6.0	9.0
Ham selüloz % (m/m), en çok	17.0	17.0	17.0
Ham kül % (m/m), en çok	9.0	9.0	9.0
Yabancı madde % (m/m), en çok	1.0	1.0	1.0

Yapılan bir yüksek lisans tez çalışmasında, farklı oranlarda karıştırılan haşhaş ezmesi ve üzüm pekmezi karışımlarının farklı sıcaklıklarda reolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Rotasyonel viskometre kullanarak yapılan ölçümlerde zamandan bağımsız ve zamana bağımlı reolojik özellikler incelenmiştir. Örneklerin artan ve azalan kayma hızı sırasına göre farklı kayma hızlarında ölçümleri yapılmıştır. % 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 oranlarında haşhaş tohumu ezmesi ve üzüm pekmezi içeren karışımların akış davranışlarının beş farklı sabit sıcaklıkta Newton ve üs yasası modellerine uygunlukları araştırılmıştır. Pekmezin Newton modeline uygun davranış göstermesine karşın, karışımlar ile haşhaş tohumu ezmesinin üs yasası modeline uygun psödoplastik davrandığı tespit edilmiştir. Karışımların haşhaş tohumu ezmesi oranındaki artışla reopektik davranış gösterdiği belirlenmiştir (Süren, 2010).

2.5. Yağlı Tohum Proteinleri

Yağ içeren bitkilerde önemli miktarlarda protein bulunması nedeniyle insan diyeti açısından potansiyel kullanımları söz konusudur, ancak birkaç önemli tür dışında yağlı tohumlar genellikle insan beslenmesinde primer protein kaynakları olarak kullanılmazlar. Bu grupta yer alan yağlı tohumlar soya, kanola, ayçiçeği, aspir, yerfıstığı, mısır, pamuk tohumu, susam, keten tohumu ve kenevirdir. Bunlar arasında protein içeriği açısından en fazla bilineni ve kullanılanı soyadır (Arntfield, 2000; Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012).

Çizelge 2.2.'de potansiyel protein kaynağı olabilecek yağlı tohumlar ve bu tohumlardaki baskın depo proteinlerinin isimleri gösterilmiştir. Bu çok bilinen ve fazla tüketilen tohumlara ait literatürde çok sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Yağlı tohumlarda bulunan proteinler biyolojik olarak aktif olanlar (ör. enzimler) ile yapısal veya depo proteinleri olarak sınıflandırılırlar. Bunlar arasında depo proteinleri en önemli proteinlerdir ve insan beslenmesi açısından önem taşırlar. Aspir tohumunun protein içeriği % 13-17 arasında değişirken, soyada bu oran % 37'e kadar çıkmaktadır. Protein seviyeleri arasında bu kadar farklılık olmasına rağmen yağlı tohum proteinleri arasında pek çok benzerlik bulunmaktadır. Bütün hasat edilen ürünler albuminler (suda çözünen), globulinler (tuzda çözünen) ve glutelinleri (alkalide çözünenler) karışım halinde içerirler. Bu proteinlerin hemen hepsi sedimentasyon katsayıları 2S, 7S, 11S (12S) ve 15S olan aynı dört adet protein fraksiyonunu içerirler (Arntfield, 2000; Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Çizelge 2.2. Yağlı tohumlar ve insan beslenmesi açısından uygun olan ana depo proteinleri (Arntfield, 2000)

Botanik isim	Bilinen isim	Depo protein
<i>Brassica species</i>	Kanola/kolza	Cruciferin or 12S protein
<i>Zea mays L.</i>	Mısır	Zein
<i>Gossypium species</i>	Pamuk çiğidi	11S protein
<i>Linum usitatissimum L.</i>	Keten tohumu	12S protein
<i>Cannabis sativa L.</i>	Hemp	12S protein
<i>Arachis hypogaea L.</i>	Yerfıstığı	Arachin
<i>Carthamus tinctorius L.</i>	Aspir	Carmin
<i>Sesamum indicum</i>	Susam	α -globulin
<i>Glycine max</i>	Soya	Glycinin
<i>Helianthus annuus</i>	Ayçiçeği	Helianthin

2.5.1. Yağlı tohum proteinlerinin kullanımını limitleyen faktörler

Bütün bitkilerde olduğu gibi yağlı tohumlarda da büyümeleri için gerekli olan ve böcekler ile mikroorganizmalara karşı savunma faktörlerini oluşturan çeşitli kimyasal maddeler sentezlenir. Bu bileşenler genellikle yağ ekstraksiyonundan sonra arta kalan kekte bulunurlar ve insan beslenmesinde proteinlerin kullanımları açısından problem oluştururlar. Yağlı tohum proteinlerinin kullanımını limitleyen faktörler; yüksek lif içeriği, proteinaz inhibitörleri, fosfat grupları, oksalik asit ve oksalatlar, fenolik bileşikler, tanenler, glukozid ve glikozidler olarak sıralanabilir.

Proteinaz inhibitörleri genellikle suda çözünebilen düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir ve bitkiyi böcekler ile mikroorganizmalardan korurlar. Bu bileşikler tüketildiğinde sorun oluştururlar. Çünkü bu maddelerin vücutta bulunan tripsin ve kimotripsin gibi proteinazlar ile kompleks yaparak bu enzimleri inaktif hale getirme yetenekleri vardır. Bu durum pankreatik aktivitenin azalmasına ve büyüme geriliğine neden olur (Arntfield, 2000).

Yüksek oranda yüklü fosfat grupları fitik asit molekülünü reaktif hale getirirler ve eğer gıda maddesinde mevcut iseler kalsiyum, demir, çinko ve magnezyum gibi divalent katyonları bağlayarak beslenme açısından yararsız hale getirirler. Aynı mineral bağlama problemi oksalik asit ve oksalat tuzları için de geçerlidir. Bu problem genellikle susam tohumlarında görülmektedir (Arntfield, 2000; Tan ve ark., 2011).

Fenolik bileşikler, yağlı tohum proteinleri ile olan interaksiyonları nedeniyle önemlidir. Bu maddeler genellikle fenolik asitler veya uçucu tanenler şeklinde bulunurlar. Kafeik, vanillik, şiringik ve kumarik asitler serbest, esterleşmiş veya bağlı formlarda bulunan fenolik asitlerdir. Bu maddeler ekşi-acı aroma ile koyu renkten sorumludur ve mineral varlığını azaltırlar. Tanenler molekül ağırlıkları 500-3000 arasında değişen kompleks yapılardır ve hidrolize olmaları sonucunda fenolik asitler ve antosiyaninler oluşur. Uçucu tanenler, yaprak proteinlerinden kanola kabuğuna kadar geniş bir alanda varlık gösterir. Tanenlerin yağlı tohum kekinde bulunması bu bileşiklerin proteinleri çöktürmesine neden olur. Ayrıca amino asitler ve mineraller ile kompleks oluşturarak izole edilen proteinlerin besleyici değerinin düşmesine neden olmaktadır. Glukozidler ve glikozidler pek çok yağlı tohumda bulunmaktadır. Beslenme problemi açısından belkide en iyi bilinen glukozinolatlar kanolada bulunanlardır. Yerfıstığına siyanogenik glikozitler ve aspirde fenolik glukozitler bulunur (Arntfield, 2000; Tan ve ark., 2011).

Anti-besleyici faktörlerin yağlı tohum kekinde bulunması nedeniyle protein izolasyonu sonrasında bu proteinlerin insan tüketimi için uygun hale getirilmesi gereklidir. Eğer problem proteinin kendisinden kaynaklanıyorsa örneğin, bir kişi soya veya yerfıstığı proteinine karşı allerjik reaksiyon gösteriyor ise bu proteinin izole edilmesinin bir faydası yoktur. Bu nedenle izole edilen proteinlerin insan gıdası olarak sunulmadan önce allerjik potansiyeli gözden geçirilmelidir (Arntfield, 2000; Tan ve ark., 2011).

2.6. Yağlı Tohumlardan Protein Ekstraksiyonu ve İzolasyonu

Yağlı tohumlardan ve/veya bunların küspelerinden protein ekstraksiyonu sıralı bazı işlemlerle yapılmaktadır. Hammaddenin niteliğine göre bu işlemlerden bazıları uygulanmayabilir.

2.6.1. Kabukların ayrılması

Yağlı tohumlarda kabukların ayrılması lif içeriğinin azaltılması için etkili bir yol olup, aynı zamanda besleyici değeri olmayan fitik asit ve fenolik bileşikler gibi maddelerin giderilmesinde de etkilidir. Soya, pamuk çiğidi ve ayçiçeği gibi bazı yağlı tohumlarda kabuklar değirmende veya mekanik aşınma ile kolaylıkla giderilebilmektedir. Ancak kanola gibi küçük tohumlarda kabuk endosperme yapışık olduğu için ayırım bu yolla güçtür (Arntfield, 2000).

2.6.2. Yağ ekstraksiyonu koşulları

Pekçok yağ bitkisinden yağ eldesinde presleme ve solvent ekstraksiyonu kullanılmaktadır. Proteinin daha sonraki kullanımları düşünöldüğünde solvent kekinin uygun olmadığı görölmüşür (Arntfield, 2000).

2.6.3. Kaba una yapılan ön uygulamalar

Protein izolasyonunda pres kekinin öğütölmeli ile elde edilen kaba unun hekzan ekstraksiyondan sonra metanol ile muamele edilmesi ve sonrasında proteinin izoelektrik pH değerine yakın su ile yıkanması ayçiçeği proteinlerinin izolasyonunda, beslenmede değerisi olmayan maddelerin azaltılmasında kullanılmaktadır. Proteince zengin fraksiyon daha sonra protein izolasyonu için kullanılmaktadır (Arntfield, 2000; Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

2.6.4. Protein çözünürlüğü

Yağlı tohumlardan protein eldesinde çözelti olarak birkaç farklı çözöcü kullanılmaktadır. Literatürde en fazla rastlanan çözöcü sıvı alkali solüsyonu olup; mısır, pamuk çiğidi, aspir, susam tohumu, yerfıstığı, ayçiçeği ve kanoladan protein eldesinde kullanılmaktadır. Alkali kullanılmasının en önemli nedeni yüksek çözünürlük sağlamasıdır. Alkali ekstraksiyon sırasında, çözeltinin pH aralığı 9 - 12.5 arasında değişmektedir ve yüksek protein verimi yüksek pH değerleri ile ilgilidir. Ancak yüksek pH değerleri (özellikle pH 12 ve üzeri) lisinoalanine oluşumu ile ilişkilidir ve her zaman iyi kalitede

izolatlar ortaya çıkmaz. Bu nedenle pek çok araştırmacı proteinleri çözmek için düşük alkalilikte solüsyonlar tercih etmektedirler. Çeşitli tuz çözeltileride çözücü ajan olarak kullanılmakta olup, en fazla kullanılanı NaCl' dür (Arntfield, 2000; Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

2.6.5. Proteinin çökeltmesi ve geri kazanılması

Çözünen proteinin geri kazanılması konusunda pek çok uygulama ortaya atılmıştır. Protein ekstraksiyonunda alkali solüsyonlar kullanılması nedeniyle protein çökeltmesinde en fazla ön planda olan yaklaşım pH ayarlamasıdır. Tuzla ekstrakte edilen kanola proteinlerinde uygulanan ana metot dializ veya ekstrakte edilen proteinin dilüsyonu ile iyonik dayanımın azaltılmasıdır. Bu dilüsyon tekniği ayrıca ayçiçeği proteinlerine de uygulanabilmektedir (Arntfield, 2000; Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

2.6.6. Diğer saflaştırma aşamaları

Ekstraksiyon ve çöktürme gibi basit uygulamalara ek olarak protein izolasyon prosedüründe protein saflaştırma amacı ile kullanılabilecek birkaç ekstra aşama bulunmaktadır. Çökeltme sonrasında izolatın, pH'ı ayarlanan sıvı bir çözeltili ile yıkanması protein yapısında olmayan komponentlerin azaltılmasında etkilidir. Dilüsyon tekniği ile protein çöktürme sırasında ultrafiltrasyon ile protein konsantrasyonunun arttırılması gereklidir ve sıklıkla kullanılır. Bunun sebebi proteinlerin birbirleri ile interaksiyona girmelerini teşvik ederek miseller oluşturmalarını sağlamaktır. Ultrafiltrasyon aşamasının diğer bir yararı düşük moleköl ağırlıklı besleyici olmayan fenolikler, glukosinolatlar ve fitik asit gibi maddelerin ayrılmasını sağlamasıdır (Arntfield, 2000).

2.7. Yağlı Tohum Proteinlerinin Fonksiyonel Özellikleri

Bitkisel kaynaklı proteinler gıda ve kozmetik uygulamalarında hayvansal proteinlere alternatif olarak kullanılmaktadır. Ham bitkisel materyalin yenilenebilir olması, geniş alanlara yayılmış olması ve kolay ulaşılması, kaynakların çeşitli olması (özellikle baklagiller, tahıllar ve yağlı tohumlar) kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Soya, kolza, pamuk çiğidi, ayçiçeği tohumu ve yerfıstığı protein içeren gıdalar arasında en sık kullanılanları olmakta ve dünya protein ihtiyacının sırasıyla % 69, % 12.4, % 6.9, % 5.3 ve % 2.8'ini karşılamaktadırlar. Bazı bitkisel proteinler hayvansal kaynaklı proteinlerle kıyaslandığında sülfürlü amino asitler yönünden yetersizdirler ve anti-beslenme faktörleri

içerirler. Bu limitleyici faktörlere rağmen diğer proteinler ile bitkisel kaynakların desteklenmesi ve fiziko-kimyasal uygulamalar yağlı tohum proteinlerinin insan beslenmesinde kullanılmasında önemli katkılar sağlamaktadır (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

2.7.1. Bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin tanımlanması

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri denildiğinde; proteinlerin gıda sistemlerinde işleme, saklama, pişirme ve tüketim aşamaları süresince davranışlarını etkileyen fiziksel ve kimyasal özellikler kastedilmektedir. Bu özellikler ebat, şekil, amino asit kompozisyonu ve sıralaması, net yük, yük dağılımı, hidrofobik ve hidrofilik özellikleri, yapısı (sekonder, tersiyer veya quaterner), moleküler esneklik/sertlik, dış çevre (pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu) veya diğer gıda bileşenleri ile interaksiyonlar olarak sıralanabilir. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri etkilenen fiziko-kimyasal niteliklere göre sınıflandırılabilir (Moure ve ark., 2006). Su ve yağ tutma kapasitesi, çözünürlük özellikleri, emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi, köpüklenme özellikleri, jelleşme, vizkozite ve kıvam verme proteinlerin gıda sistemlerinde önem kazanmasına neden olan fonksiyonel özellikleridir.

Gıda uygulamalarında su tutma kapasitesi, suyun yerçekimine karşı alıkonulabilme yeteneğine bağlıdır ve bağlı su, hidrodinamik su, kapillari su ve fiziksel olarak hapsedilen suyu içerir. Proteinlerle ilgili olan su miktarı amino asit profili ile yakından ilgilidir ve yük kalıntıları, konformasyon, hidrofobiklik, pH, sıcaklık, iyonik güç, ve protein konsantrasyonu ile birlikte değişir (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Çözünürlük sıklıkla diğer fonksiyonel özelliklerin göstergesi olarak kullanılır. Amino asit kompozisyonuna bağlı olarak özellikle protein yüzeyindeki hidrofilik/hidrofobik dengesi proteinlerin çözünürlüğünü etkilemektedir. Yüksek çözünürlük düşük sayıdaki hidrofobik kalıntıların varlığına, yüksek elektrik yüküne, elektrostatik itme gücüne ve isoelektrik pH değerlerinin üzerinde veya altında olma durumuna bağlıdır. Denaturasyon yüzeyin hidrofobik/hidrofilik oranını değiştirdiği için protein çözünürlüğünü etkiler. Salting-in ve salting-out etkileri protein yüzey karakteristiklerini etkiledikleri için protein çözünürlüğünü de etkilerler. Bundan dolayı kalınlaşma, köpüklenme, emülsifikasyon ve jelleşme özellikleri de etkilenir (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Emülsiyonlar ve köpükler iki fazlı sistemlerdir. Her ikisinde genel olarak gıda sistemlerinde bulunmaktadır ve oluşumları önemli oranda protein yüzey aktivitesinden etkilenmektedir. Emülsifiyerler ve köpüklenme ajanları ara yüzey gerilimini düşürmekte ve stabil yağ-su veya hava-su ara yüzeyleri oluşumunu iyileştirmektedirler. Proteinler yüzey gerilimini düşürmede daha düşük etkinlik göstermelerine karşın, proteinlerin sörfektant olarak kullanıldığı emülsiyonlar ve köpükler daha stabildirler. Proteinler; konformasyonları ve moleküler faktörler (esneklik, konformasyonel stabilite, hidrofilik ve hidrofobik kalıntıların ana yapıdaki dağılımları) tarafından belirlenen ara yüzeylerde yayılma kabiliyetleri ile dış faktörlere (pH, iyonik güç, sıcaklık, diğer proteinlerin ve lipidlerin arayüzeyde olası yarışmalı adsorpsiyonları) bağlı olarak farklı yüzey aktiviteleri gösterirler. Bu nedenle proteinler gıdalarda emülsiyon oluşturma amacıyla düşük molekül ağırlıklı sörfektanlara tercih edilmektedirler (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Gıda ürünlerinde proteinler gazların disperse olduğu fazlarda stabiliteyi sağlayan ana yüzey aktif ajanlardır. Köpüklenme geniş bir yüzey alanına ihtiyaç duyar. Bu yüzey alanında havanın sıvı faza katılım sağlaması ve ara yüzey filminin iç ve dış kuvvetlere dayanıklı olması gereklidir. Köpüklenme kapasitesi yani proteinin yüzey gerilimini düşürme yeteneği, moleküler esneklik ve fiziko-kimyasal özellikler (hidrofobiklik, protein ağırlığının yükü, yük dağılımı, hidrodinamik özellikler) ile belirlenmektedir. İyi köpüklenme özelliği gösteren proteinler; çırpma ve köpük oluşumu sırasında hızlıca adsorblanmalıdır, hızlı bir konformasyonel değişime sahip olmalıdır, hava-su ara yüzeyini düzenlemede yüzey gerilimini hızlı düşürmelidir, intermoleküler interaksiyonlar ile viskoelastik yapışkan bir film tabakası oluşturabilmelidir. Köpük stabilitesinin ölçülmesinde köpük hacminin % 50'sinin azalması için gereken zaman ölçülmektedir (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Jel katı ve sıvı arasında yer alan ara bir haldir. Gıda sistemlerinde sıvı sudur ve moleküler ağ proteinlerden, polisakkaritlerden veya her ikisinden birden oluşur. Proteinler karbonhidratlara oranla daha etkili jelleşme ajanlarıdır. Bunun nedeni daha büyük moleküllere sahip olmaları ve bunların üç boyut arasında çapraz bağ oluşturma yeteneklerinin daha iyi olmasıdır. Jelleşme protein ebatı ile iyileşmektedir. Bunun sebebi büyük moleküllerin üç boyut arasında geniş çapraz bağ oluşturmaları, esneklik ve denaturasyon özelliklerine sahip olmalarıdır. Jel oluşturmak için kümelenme ve çözünme arasındaki sınırdaki kısmi jelleşme oluşmalıdır. Jel oluşumu için kısmi denaturasyon

gereklidir, tersiyer yapılarda kıvrılmalar olması kovalent bağlarda kırılma olmaksızın uzun zincirlerin oluşmasına neden olur (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Çözünürlük, hidrodinamik özellikler, hidrofobiklik ve proteinlerin mikro yapıları proteinlerin reolojik özelliklerinde önemli rol oynarlar. Ticari olarak ve laboratuvar şartlarında elde edilen soya izolatlarında görünür vizkozitenin su ve hidrate partiküller gibi çözünen ve çözünmeyen proteinler arasındaki interaksiyona bağlı olduğu bilinmektedir. Vizkozite, artan protein konsantrasyonu ile birlikte katlanarak artmaktadır. Bunun nedeni hidrate proteinler arasındaki interaksiyonların, su absorpsiyonun ve şişmenin artması olabilir. Toplam su/absorplanan su oranının 1'e yaklaşmasının görünür vizkozitede artışa neden olduğu belirlenmiştir (Moure ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2012; Foegeding ve Davis, 2011).

Yağlı tohum proteinlerinin termal özellikleri Taramalı Termal Kalorimetre (DSC) ile çalışılmaktadır. Yapılan bir çalışmada (Yin ve ark., 2011), sabunağacı tohumlarından izole edilen proteinlerin termal denatürasyon sıcaklıkları, entalpi değişimleri ve faz değişim sıcaklıkları belirlenmiştir. Bu verilerin, adı geçen proteinlerin işlenmesinde parametre seçiminde faydalı bilgiler sağladığı bildirilmiştir. Öte yandan, yağlı tohum proteinlerinde, protein yapısındaki değişimleri ve protein sekonder yapısal öğelerinin miktarlarını belirlemek için FT-IR ve Circular Dichroism (CD) spectrum çalışmaları yapılmaktadır (Yin ve ark., 2011; Achouri ve ark., 2012). Doğal yapıda oluşan değişimin oranı ve şekli bu cihaz analizleri ile belirlenebilmektedir. Uygun teknoloji seçiminde bu tür çalışmalar ile faydalı bilgiler sunulmaktadır.

2.8. Haşhaş Tohumu Proteinleri

Literatürde haşhaş proteinleri hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konuda yapılan ilk çalışmalardan birinde (Eklund ve Agren, 1975), beyaz ve mavi renkli haşhaş tohumlarının besin değerleri çalışılmıştır. Yağı presle alınan haşhaş kekinden protein izole edilmiş ve temel bileşenler ile amino asit bileşimi belirlenerek, proteinin biyolojik değeri, rat besleme denemesiyle çalışılmıştır. Genel olarak tohumlarda % 27 ve % 21 oranında protein bulunmuştur. İki tür tohumun kimyasal skorları sırasıyla 60 ve 66 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, haşhaş proteinlerinin pH değeri 10'un üzerinde olan 1 M NaCl çözeltisinde daha iyi izole edildiğini göstermiştir. Ayrıca klorojenik asit gibi kararma yapan maddelerin bulunmadığı da bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada (Eklund, 1975), diğer

bazı tohumlarla beraber haşhaş tohumundaki fitik asit miktarı ölçülmüştür. Haşhaş tohumu ununda 8.08 mg/g seviyesinde fitat-P bulunmuştur. Aynı çalışmada haşhaş kek ununda 110.8 M/g demir ve 260.8 M/g fosfor bulunmuştur. Bu oranların birçok tahıldan daha düşük olduğu da bildirilmiştir. Srinivas ve Narasinga Rao (1981) tarafından yapılan çalışmada, 3 tür haşhaş tohumundan önce yağsız un elde edilmiş, bunun temel bileşenleri (% nem, protein, kül, lif) ile çözünür N miktarı ölçülmüş, daha sonra da jel filtrasyon, elektroforez ve ultrasantrifuj analizleri yapılmıştır. Ayrıca tripsin ve hemaglutinin aktiviteleri ile amino asit bileşimi de belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; haşhaş proteinlerinin pH 9.2'de ve 1 M konsantrasyondaki NaCl çözeltisinde çok iyi çözüldüğü, jel filtrasyonunda 3 ana fraksiyona sahip oldukları, elektroforezde ise bir major birkaç tane de minor bantların olduğu belirlenmiştir. Ultrasantrifuj ile 4 pik elde edilmiştir. Tripsin inhibisyon ve hemaglutinin aktivitesinin olmadığı, proteinin aspartik ve glutamik asit ile arjinine zengin olduğu görülmüştür. Aynı grubun yaptığı bir diğer çalışmada ise (Srinivas ve Narasinga Rao, 1986a), haşhaş yağsız kekinin bazı fonksiyonel özellikleri (su tutma kapasitesi, yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon kapasitesi, köpük kapasitesi ve stabilitesi) ölçülmüştür. Haşhaş yağsız kekinin su absorpsiyonunun 124 g/100g ve yağ absorpsiyonunun da 250 g/100 g olduğu bulunmuştur. Özellikle yağ bağlama kapasitesinin soya unundan iki kat fazla olduğu bildirilmiştir. Yine emülsiyon kapasitesinin pH 8'in üzerinde ve 0.38 M tuz konsantrasyonunda en fazla olduğu bildirilmiştir. Benzer değerler köpük kapasitesi içinde bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada, haşhaş tohumundan 10S protein fraksiyonu izole edilmiş ve fizyolojik özellikleri de (jel filtrasyon, elektroforez, sedimentasyon hızı, viskozite, molekül ağırlığı tayini, fosfor ve karbonhidrat miktarı, amino asit bileşimi, proteazlarla hidroliz hızı ve floresans spektrumu) ölçülmüştür. Temel olarak bu fraksiyonun molekül ağırlığının 215,000 olduğu, iç viskozitesinin 3.5 mL/g olduğu ve kompakt bir globüler yapıda olduğu bildirilmiştir. Yine bu proteinin çoğunlukla β -tabakaları içerdiği ve proteaz enzimleriyle hidrolize dirençli olduğu bildirilmiştir. 10S fraksiyonunun, haşhaş tohumu proteinlerinin yaklaşık % 62'sini oluşturduğu da tespit edilmiştir. (Srinivas ve Narasinga Rao, 1986b). Buna benzer şekilde haşhaş proteinlerinin düşük molekül ağırlıklı fraksiyonu da çalışılmıştır (Srinivas ve Narasinga Rao, 1987a). Bu çalışmada da aynı fizyolojik parametreler ölçülmüştür. Burada bulunan 3 ile 5 fraksiyonun 13000 ile 18000 molekül ağırlığında olduğu, daha fazla heliks yapı içerdiği, daha fazla sistein, glutamik asit ve arjinin içerdiği, ancak DEAE veya CM-Sephadex ile izole edilemediği bildirilmiştir. Haşhaş 10S proteinin üzerine pH' ın etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada (Srinivas ve

Narasinga Rao, 1987b), proteinin pH 4 - 2.5 arasında daha düşük moleköl ağırlıklı fraksiyonlara disosiye olduğu ve olası bazı denatürasyonlarında düşük pH'larda oluştuğu gösterilmiştir. Bu düşük pH'larda protein ikincil yapısının da açıldığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada (Ebner ve ark., 1999), haşhaş tohumunun alerjen özelliği araştırılmıştır. Haşhaş tohumu içeren gıdayı tükettikten sonra alerji belirtisi gösteren 11 hasta üzerinde yapılan çalışmada IgE bağlayan ve karbonhidrat içeren 40 ve 45 kDa ağırlığında glikoprotein yapısında alerjen proteinlerin varlığı gösterilmiştir. Bu alerjinin lokal ve semptomlarının da çok düşük olduğu bildirilmiştir. Haşhaş tohum alerjisi ile ilgili literatürde herhangi detaylı bir bilgi bulunmamaktadır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan haşhaş çeşitleri Ofis 8-Beyaz, Ofis 4-Sarı ve Ofis 3-Mavidir. Ofis 8 ve Ofis 3 türleri Uşak ili Ulubey ilçesinden, Ofis 4 türü ise Afyon ili Şuhut ilçesinden haşhaş ekimi yapan, TMO' da kayıtlı çiftçilerden elde edilmişlerdir. 2011 hasat yılına ait tohumlar kullanılmıştır. Bu türler halen çiftçilerin elinde bulunan, TMO tarafından kayıtlı ve izinli olan en fazla ekilen türlerdir. Tohumlara ön kurutma ve doğal yolla aspirasyon işlemleri uygulandıktan sonra bez torbalara alınarak, analizleri yapıncaya kadar kuru ve serin ortamda muhafaza edilmişlerdir.

Analizlerde kullanılan etanol, asetik asit, sodyum tiyosülfat, potasyum iyodür, sodyum hidroksit, fenol fitaleyn, silika jel, gallik asit, sodyum karbonat, Folin-Ciocalteu ayırıcı, Wijs çözeltisi, troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit), coomassie brilliant blue R-250, 2-mercaptoethanol, borik asit, di-sodyum tetraborat dekahidrat, asetik asit (glasiyel), amonyum sulfat, di-sodyum hidrojen fosfat (anhydrous), sodyum dihidrojen fosfat dihidrat, sodyum hidrojen karbonat, sodyum dodesil sulfat, bovine serum albumin çözeltisi (% 30), trikloroasetik asit, gliserol çözeltisi, nitrik asit (% 65), hidroklorik asit (% 37), Dowex® 1x4 klorit, Mini-PROTEAN TGX pre-cast jel (% 4 – 15), protein standardı (precision plus all Blue Standards), laemmlı tampon çözeltisi, Tris/Glycine/SDS, jel kurutma solusyonu, dietil eter, etanol, petrol eteri, izooktan, n-hekzan, kloroform kimyasalları Merck (Darmstadt, Almanya), Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD) ve Bio-Rad (Hercules, ABD) firmalarından satın alınmıştır. Enzim muamelesinde kullanılan Hemiselülaz (Ferzim, 60,000 U/g aktivite, 55 - 65 °C sıcaklık ve 4.0 - 6.5 pH arasında aktif) ve Proteaz (Alphamalt BK Quick, 12 U/g aktivite, 40 - 65 °C ve 4.5 - 6.0 pH arasında aktif) enzimleri yurt içi firmalardan temin edilmiştir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Haşhaş tohumlarında yapılan analizler

Nem miktarı (%): Analiz OHAUS MB45 hızlı nem tayin cihazı kullanılarak (107 °C, 1 g örnek, 30 dk) gerçekleştirilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Yağ miktarı (%): Otomatik Soxhelet ekstraktör cihazıyla AOAC 920.39 metoduna göre yapılmıştır (AOAC, 2002).

Kül miktarı (%): AOCS Ba 5a-49 metoduna göre yapılmıştır (AOCS, 1984).

Ham protein (%): Kheldal yöntemi ile AOCS Aa 5-38 metoduna göre yapılmıştır (AOCS, 1984).

Su aktivitesi: AQUA Lab 4TE cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Aydeniz ve ark., 2014).

Renk ölçümü: Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılmış ve renk ölçümünde CIE sistemi kullanılarak L, a* ve b* değerleri belirlenmiştir. Bu ölçüm sisteminde L = 0 (siyah), L = 100 (beyaz), a* değeri (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* değeri (+b* = sarı, -b* = mavi) olarak ölçülmektedir. Kolorimetre, her kullanımdan önce beyaz seramik plakaya karşı standardize edilmiştir. Daha sonra boş bir cam petri kutusu seramik plaka üzerine konulmuş ve cihaz buna karşı sıfırlanmıştır. Ölçümü yapılacak örnekler daha sonra bu petri kutusuna boşaltılmış ve petri de beyaz seramik plaka üzerine yerleştirilerek cihazın probu örneğin içine daldırılmış ve direkt olarak okuma değerleri alınmıştır (Pagliarini ve Rastelli, 1994).

Bindane ağırlığı ve dane boyutları: Her örnek için en az 3 paralel olmak üzere 100 adet haşhaş tohumu sayılmış ve hassas terazide tartılarak bulunan ağırlık 10 ile çarpılmıştır ve ortalama değer hesaplanmıştır. Dane çapı dijital kumpas ile rastgele seçilen en az 10 adet örnekte ölçülmüş ve ortalaması alınmıştır. Çalışmada kullanılan haşhaş çeşitlerine ait tohumlar aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan ofis 3-mavi, ofis 4-sarı ve ofis 8-beyaz çeşitlerine ait haşhaş tohumları

3.2.2. Tohumların hazırlanması ve soğuk presle yağ eldesi

Herbir çeşide ait haşhaş tohumlarının temel bileşen özellikleri ölçüldükten sonra, tohumlar kontrol ve iki deneme grubu olmak üzere 3 porsiyona ayrılmıştır. Her bir tohum ve deneme faktörü için soğuk presle yağ üretimi 2 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir ve üretimlerin tamamında aşağıda açıklanan ön hazırlık işlemleri tohumlara ayrı ayrı uygulanmıştır.

Tavlama işlemi: Bu çalışma öncesinde, kullanılacak soğuk pres makinasıyla yapılan ön denemelerde haşhaş tohumunun % 12 nem oranı ile makinaya girmesinin gerekli olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı hem kontrol gruplarında hem de kavurma ve enzim muamelesi uygulanan gruplarda, ön hazırlık işlemleri sonrasında tohum nem oranları tavlama uygulanarak % 12 seviyesine sabitlenmiştir. Singh ve Bargale (2000) tarafından yapılan çalışma esas alınarak; tavlama için gerekli su miktarı başlangıç tohum nem değerleri (%) üzerinden formül (3.1) ile hesaplanmış, taneler üzerine püskürtülmek suretiyle eklenmiş ve ağzı kapaklı hava sızdırmayan kaplarda 24 saat süre ile dengelenmesi için bekletilmiştir.

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

A: Tohum kuru maddesi (%)

B: Tohumda istenen kuru madde(%)

C: Tohum miktarı (g)

Kavurma işlemi: Kavurma işlemi için Luxell marka Lx3530 (Kumtel, Türkiye) tip fırın (1450 W) kullanılmıştır. Her bir tekerrür için ön ısıtma uygulanan fırında 150 °C sıcaklıkta 30 dk süreyle tohumlara kavurma işlemi uygulanmıştır. Tohumlarda termometre ile belirlenen yağın iç sıcaklığı 150 °C'ye ulaştığında kronometre ile kavurma süresi başlatılmış ve 10'ar dk aralıklarla 2'şer kez karıştırma işlemi uygulanmıştır. Tohum sıcaklığının oda sıcaklığı seviyelerine inmesi sonrasında son nem seviyeleri ölçülmüş ve tavlama işlemi için gereken su miktarı formül 3.1 yardımıyla hesaplanmıştır. Püskürtme yoluyla su eklemesi yapıldıktan sonra kapalı ve hava sızdırmaz kaplarda 24 saat süreyle nem içeriğinin dengelenmesi sağlanmıştır.

Enzim muamelesi: Haşhaş tohumlarının boyutları oldukça küçük olduğu için ön öğütme veya kırma işlemine gerek görülmemiştir. Hemiselülaz (60 U/g tohum) ve Proteaz (0.012 U/g tohum) enzimleri her bir tekerrürde 1:1 w/w (tohum:enzim) oranında kullanılmıştır. Her tekerrür için gereken enzim miktarı tartılarak 600 mL tampon çözelti

(0.1 M Na₂PO₄ + 0.1 M sitrik asit, pH 6.0) içerisinde çözüldürülmüştür. Enzim solusyonları yayvan ve derin kap içerisinde tohumlar üzerine eklenerek etkili şekilde karıştırma ve homojen dağılım sağlanmıştır. Etüv içerisinde 60 °C sıcaklıkta 4 saat süreyle inkübasyon uygulanmıştır. Enzim inaktivasyonu için etüvde 100 °C'de 2 saat süre ile tutulan tohumların soğumalarının ardından son nem seviyeleri belirlenmiştir. Tavlama için gereken su miktarı hesaplandıktan (3.1) sonra ağzı kapaklı ve hava sızdırmaz kaplara alınan tohumlar üzerine su püskürtülmek suretiyle eklenerek, 24 saat süreyle nem dengelemesi yapılmıştır.

Haşhaş yağı eldesi: Haşhaş yağlarının elde edilmesinde laboratuvar tipi soğuk pres (Koçmaksan ESM 3710, İzmir, Türkiye) makinası kullanılmıştır (şekil 3.2.). Ön denemelerde belirlenen parametreler olarak 10 mm çaplı çıkış ucu, 20 rpm vida dönüş hızı ve 40 °C sabit çıkış sıcaklığı uygulanmıştır. Her tekerrür üretimi sonrasında elde edilen yağlar, içerisinde bulunabilen katı safsızlıkların giderilmesi amacıyla filtreden (Miroil) süzülerek, temiz pet şişelere alınmış, tartım ve etiketleme yapılmıştır. 2 tekerrürde toplam 18 yağ örneği elde edilmiştir. Soğuk pres makinasından alınan 18 farklı yağlı haşhaş keki (küspe) blendırdan geçirilerek temel analizler için örnek alınmıştır. Kalan kekler uygun ambalaj malzemesi ile paketlenip etiketlenmiş ve -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar tipi soğuk pres makinası

3.2.3. Yağlı haşhaş keklerinde yapılan analizler

Elde edilen yağlı haşhaş keklerinde aşağıda belirtilen temel analizler yapılmıştır.

Nem miktarı (%): Analiz OHAUS MB45 hızlı nem tayin cihazı kullanılarak (107 °C, 1 g örnek, 30 dk) gerçekleştirilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Yağ miktarı (%): Otomatik Soxhlet ekstraktör cihazıyla AOAC 920.39 metoduna göre yapılmıştır (AOAC, 2002).

Kül miktarı (%): AOCS Ba 5a-49 metodu (AOCS, 1984) kullanılmıştır.

Ham protein (%): Kheldal yöntemi ile AOCS Aa 5-38 (AOCS, 1984)'na göre ölçülmüştür.

3.2.4. Yağ verimi ve sediment miktarının hesaplanması

Elde edilen soğuk pres haşhaş yağları 15 gün boyunca sıcaklığın 15 °C'yi geçmeyeceği serin ve ışık görmeyen bir ortamda bekletilerek katı safsızlıkların çökmesi ve doğal yolla dekantasyon işlemi gerçekleşmesi sağlanmıştır. Deli ve ark. (2011)'na göre, dekantasyon işleminden sonra elde edilen berrak haşhaş yağ miktarının, tekerrür üretiminde kullanılan tohum miktarına oranlanması ile yağ verimi yüzde olarak tespit edilmiştir (3.2).

$$\text{Yağ verimi (\%)} = (m_1/m_2) \times 100 \quad (3.2)$$

m_1 : Elde edilen yağ miktarı (g)

m_2 : Preslenen tohum miktarı (g)

Yağ örneklerinin sediment miktarları (%), bazı modifikasyonlar uygulanarak Pradhan ve ark. (2011) tarafından tarif edilen metod ile belirlenmiştir. 5 mL haşhaş yağı darası alınan Whatman no 41 filtre kağıdından 4 saat süreyle süzülme bırakılmıştır. Süzülme işleminden sonra 2'şer kez 10 mL hekzan ile filtre kağıtları yıkanmış ve 70 °C sıcaklıkta 1 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Yağ kalma ihtimaline karşı 3'er kez 15 mL dietileter kullanılarak tekrar yıkama yapılmış ve oda sıcaklığında kurutularak son tartımları alınmıştır. Formül (3.2) yardımıyla sediment içerikleri hesaplanmıştır.

$$\text{Sediment içeriği (\%)} = (A-B)/C \times 100 \quad (3.3)$$

A: Sediment ve kağıdın son tartımı

B: Kağıdın başlangıç ağırlığı

C: Örnek miktarı

3.2.5. Haşhaş yağlarının fiziksel analizleri

Kırılma indisi: Kırılma indisi tayini Abbe 5 (Bellingham and Stanley, İngiltere) refraktometresi ile yapılmıştır. Önce 20 °C’de saf su kullanılarak refraktometrenin kalibrasyonu yapılmıştır (nD 20°C=1.333). Refraktometrenin iki prizması arasına yağ örneği koyulmuş ve kırılma indisi virgülden sonra dördüncü haneye kadar okunmuştur (Nas ve ark., 2001).

Viskozite: Belirli miktarda yağ (7.5 mL) alınarak Brookfield DV-II+Pro (Massachusetts, ABD) viskozimetre cihazı ile 18 numaralı standart mil (spindle) ve 50 rpm sabit hız kullanılmak suretiyle viskozite değerleri 25 °C’de centipoise (cP) birimi ile tespit edilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Renk ölçümü: Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılarak CIE’ in renk ölçüm sistemine göre L, a* ve b* değerleri belirlenmiştir. CIE sisteminde L = 0 (siyah), L = 100 (beyaz), a* değeri (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* değeri (+b* = sarı, -b* = mavi) olarak ölçülmektedir (Pagliarini ve Rastelli, 1994).

Türbidite (bulanıklık) değeri: Haşhaş yağlarında bulanıklık değerleri Hach 2100 AN laboratuvar tipi türbidimetre (ABD) ile ölçülmüştür. Ölçümler cihazın kullanım talimatına göre yapılmıştır. Cihazın kalibrasyonu için 1000, 10 ve 0.2 NTU değerinde referans sıvıları kullanılmıştır. Bütün okumalar sabit oda sıcaklığında (25 °C) yapılmıştır (Aydeniz ve ark., 2014).

Özgül ağırlık (yoğunluk): Yoğunluk analizi yağ piknometresi ile AOCS Cc 10c-95 resmi metoduna (AOCS, 1984) göre yapılmıştır.

3.2.6. Haşhaş yağlarının kimyasal analizleri

Serbest yağ asitliği: AOCS’nin Ca 5a-40 resmi metodu (AOCS, 1984) kullanılmıştır. 2 g yağ örneği 0.01 g duyarlılıkta tartılarak üzerine 50 mL etil alkol-dietil eter karışımı eklenmiştir. Çözelti üzerine birkaç damla fenol fitaleyn indikatörü eklendikten sonra 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH) ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan 0.1 N NaOH kaydedilmiştir. Serbest yağ asitliği yüzde olarak linoleik asit cinsinden formül 3.4 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Serbest asitlik (\%, linoleik asit cinsinden)} = (V/m) \times 0.0282 \times 100 \quad (3.4)$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı

m: Örnek miktarı

0.0282: 1 mL 0.1 N NaOH'e eşdeğer linoleik asit (g)

Peroksit sayısı: Peroksit sayısı, analiz şartlarında potasyum iyodürü oksitleyen 1 kg yağdaki aktif oksijenin miliekivalan gram olarak ifadesidir. Deneyin prensibi asetik asit ve kloroform karışımı içinde çözülmüş numunenin içersindeki iyodun, potasyum iyodür çözeltisi ile reaksiyon sonucu açığa çıkması ve ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon sonucunda miktarın belirlenmesidir. AOCS'nin Cd 8-53 resmi metodu (AOCS, 1984) kullanılmıştır. 2 g yağ örneği 0.01 g duyarlılıkta tartılarak üzerine 10 mL kloroform ve 15 mL glasiyel asetik asit eklenmiştir. 1 mL potasyum iyodür çözeltisi eklenerek 1 dk çalkalanmış ve ışıksız ortamda 5 dk bekletilmiştir. Yaklaşık 75 ml saf su ilave edilerek % 0.5'lik 1 mL nişasta çözeltisi indikatör olarak damlatılmış ve açığa çıkan iyot 0.1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Harcanan miktar kaydedilerek formül (3.5) yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır.

$$\text{Peroksit Sayısı (miliekivalan O}_2\text{/kg)} = (V_1 - V_0) \times N \times 1000 / m \quad (3.5)$$

V_0 : Tanık deney için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

V_1 : Numune için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi (mL)

N: Sodyum tiyosülfat çözeltisinin tam normalitesi

m: Deney numunesinin kütlesi (g)

İyot sayısı: 100 g bitkisel yağın bağlayabileceği iyot miktarının ölçüsüdür. Deneyin prensibi deney numunesinin çözülmesi ve Wijs reaktifinin ilave edilmesinden belirli bir süre sonra potasyum iyodür ve su ilavesi ile açığa çıkan iyodun sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmesidir. AOCS' nin resmi Cd 1-25 metodu (AOCS, 1984) kullanılmıştır. Sıcak su banyosunda 65 - 70 °C sıcaklığa ulaşan yağ örneğinden 1 g yağ numunesi 0.01 g duyarlılıkla tartılarak, 25 ml Wijs reaktifi ilave edilmiş ve 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 formül (3.6) yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır.

$$\text{İyot sayısı (g/100g)} = 12.69 \times C \times (V_1 - V_2) / m \quad (3.6)$$

C: Sodyum tiyosülfat çözeltisinin konsantrasyon değeri (mol/L)

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

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

m : Deneş numunesinin kütleş (g)

12.69: 1 L 0.1 N sodyum tiyosülfat tarafından bağlanan iyot ağırlığı (g)

Sabunlaşma sayısı: Belirli şartlar altında 1 g yağ örneğini sabunlaştırmak için gerekli olan potasyum hidroksitin miligram sayısıdır. Numunenin geri soğutuculu bir düzenekte etanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile kaynatılması ve fazla potasyum hidroksitin ayarlı hidroklorik asit çözeltisi ile titrasyonu ve titrasyonda sarfedilen hidroklorik asitin belirlenmesine dayanır. AOCS'nin resmi T1 1a-64 metodu (AOCS, 1984) kullanılmıştır. 2 g yağ örneğı 0.01 g duyarlılıkla tartılarak üzerine 25 ml etanollü potasyum hidroksit ve birkaç kaynama taşı ilave edilmiştir. 60 dk süreyle kaynama sağlanarak sabunlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıcak çözeltilye 1 mL fenolftalein indikatörü damlatılarak 0.1 N HCl ile titrasyon yapılmış ve sarfiyat belirlenmiştir. Sabunlaşma sayısı formül 3.7 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g)} = (V_0 - V_1) \times C \times 56.1 / m \quad (3.7)$$

V_0 : Tanık deney için kullanılan HCl çözeltisinin hacmi (mL)

V_1 : Tayin için kullanılan HCl çözeltisinin hacmi (mL)

C: HCl çözeltisinin konsantrasyonu (mol/L)

m: Deneş numunesinin kütleş (g)

56.1: 1 L 1 N KOH çözeltisi içerisinde bulunan KOH miktarı (g)

Sabunlaşmayan madde miktarı: Sabunlaşmayan madde miktarının belirlenmesi analizi Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Çanakkale İl Gıda Kontrol Laboratuar Müdürlüğünden hizmet alımı yoluyla sağlanmıştır. Analiz için TS 7570 EN ISO 3596 metodu kullanılmıştır (TSE, 2002). Analiz metodu gereğince 2 - 2.5 g örnek 0.001 g duyarlılıkla 250 mL'lik bir erlene tartılarak, üzerine 25 mL % 95'lik (v/v) etanol ve 1.5 mL derişik KOH çözeltisi ilave edilir. Erlen içeriğı, geri soğutucu düzeneğinde 1 saat süre ile yavaşça kaynatılarak sabunlaştırılır. Süre sonunda örnek soğumadan 500 mL'lik bir ayırma hunisine aktarılır. Erlen birkaç defa 50 mL distile su ile yıkanır. Yıkama suları da ayırma hunisine eklenir. Erlen birkaç defa da toplam 50 mL eterle yıkanarak, toplanan eter de ayırma hunisine eklenir. Ayırma hunisinin kapağı kapatılarak kuvvetle çalkalanır ve fazların ayrılması için bekletilir. Birinci ayırma hunisinin ucu eterle yıkanarak eter ikinci ayırma hunisine eklenir. İçinde 20 mL su ve eter ekstraktları bulunan ayırma hunisi, fazla çalkalanmadan döndürülür (fazla çalkalama bu safhada istenmeyen emülsiyona sebep olabilir). Fazın ayrılması için bekletilir ve su fazı akıtılarak atılır. Eter fazı kuvvetle

çalkalamak sureti ile iki defa 20'şer mL distile su ile yıkanır. Eter fazı daha sonra 0.5 N KOH çözeltisi ile ve arkasından 20 mL distile su ile kuvvetlice çalkalanır. Bu işlem 3 kez tekrar edilir. KOH çözeltisi ile çalkalama ve yıkama sırasında emülsiyon meydana gelmesi durumunda, su fazı mümkün olduğunca akıtılır. Emülsiyon bölgenin hunide kalmasına dikkat edilir. Üçüncü KOH uygulamasından sonra su ile yıkama işlemine geçilir. Yıkama suyunun kontrolü için birkaç damla fenol fitalein katılır ve alkalilik kayboluncaya kadar (fenol fitaleinin rengi kayboluncaya kadar) yıkama işlemine devam edilir. Ayırma hunisindeki eterli çözelti bir kez daha önceden darası alınmış bir erlene aktarılır. Ayırma hunisi eterle yıkanır ve eter de erlene aktarılır. Erlen içindeki eter yaklaşık 5 mL kalıncaya kadar buharlaştırılır. Eterin büyük kısmı buharlaştırıldıktan sonra 2-3 mL aseton eklenir ve buharlaştırmaya devam edilir. 100 °C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulur ve desikatörde soğutularak tartılır. Erlen içeriği 2 mL eter ilavesi ile çözülür ve fenol fitaleine karşı nötralleştirilmiş etanolden 10 mL ilave edilir. 0.1 N alkollü KOH ile pembe renk oluşana kadar titre edilir. Analiz esnasında yağ örneği olmaksızın sadece reaktifler kullanılarak tanık deney de yapılır ve kalıntı miktarı tespit edilir. Numunedeki sabunlaşmayan madde miktarı kütlece yüzde olarak aşağıdaki formülden (3.8) bulunur.

$$\text{Sabunlaşmayan maddeler \% (m/m)} = (m_2 - m_1 - 0.0282 V - m_3 / m) \times 100 \quad (3.8)$$

m: Deney numunesinin kütlesi (g)

m₁: Buharlaştırma kabının (erlenin) darası (g)

m₂: Buharlaştırma kabı (erlen) ve kalıntının kütlesi (g)

V: Titrasyonda harcanan 0.1 N etanollü KOH veya NaOH çözeltisinin hacmi (mL)

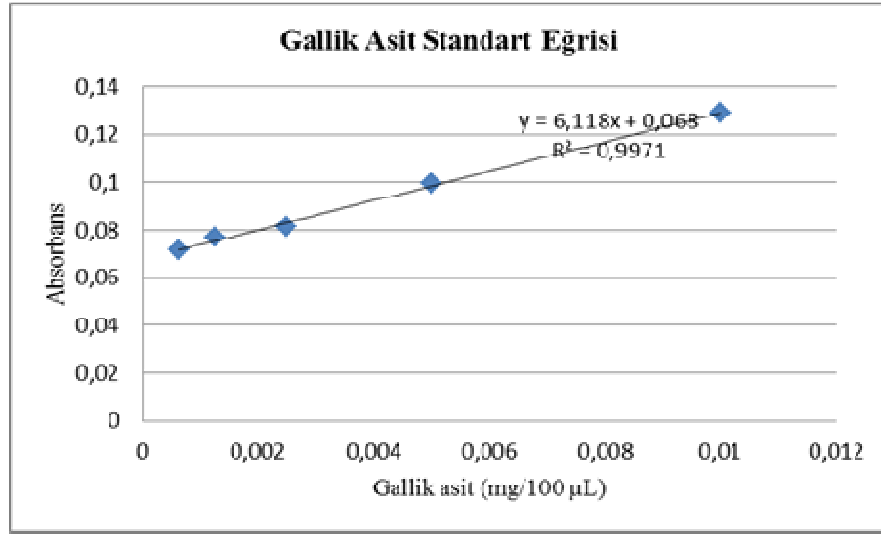
m₃: Tanık deneyde bulunan kalıntının kütlesi (g)

0.0282: 1 mL 0.1 N KOH'e eşdeğer oleik asit (g)

Not: Renksiz kalıntının kırılma indisi, 20°C' de 1.500' den az olmamalıdır.

Toplam fenolik madde analizi: Yağ örneklerinden fenolik maddelerin ekstraksiyonu Papoti ve Tsimidou (2009) tarafından uygulanan metoda göre yapılmıştır. Bu amaçla 1 g yağ numunesi 5 mL hekzan ve 5 mL metanol:su (60:40, v/v) ile karıştırılarak 1 dk çalkalanmıştır. Sonrasında 3500 rpm hızla 10 dk (4 °C) santrifüj edilmiştir. Alt kısımda toplanan berrak faz ekstrakt olarak elde edilmiştir. Toplam fenolik madde analizi Folin metoduna göre yapılmıştır. 250 µL ekstrakt alınarak, üzerine 500 µL (1/10) Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. Karışım üzerine 6 mL distile su eklenerek kuvvetlice vortexlenmiş, daha sonra 2 mL Na₂CO₃ çözeltisi (% 15 w/w) de ilave edilerek 2

dk daha kuvvetlice vortexlenmiştir. Son hacim 10 mL' ye tamamlandıktan sonra ışısız ortamda oda sıcaklığında 2 saat bekletilerek, absorbans okumaları 750 nm dalga boyunda Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre (Waldbrann, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan gallik asit (GA) standart eğrisi ($R^2=0,997$) üzerinden hesaplamalar yapılarak, toplam fenolik madde içeriği mg GA g⁻¹ ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

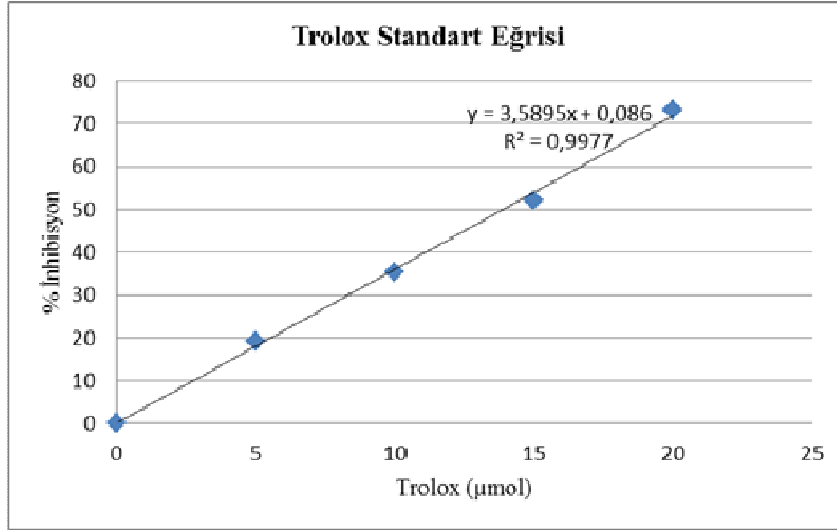


Şekil 3.3. Gallik asit standart eğrisi

Antioksidan kapasite ölçümü: Haşhaş yağı örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla TEAC yöntemi kullanılmıştır. Toplam fenolik madde tayini için hazırlanan ekstraktlardan antioksidan kapasite ölçümlerinde de yararlanılmıştır. Örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisine üç farklı hacimde örnek ekstraktı eklendikten sonra 6 dakika boyunca çözelti renginde meydana gelen azalma spektrofotometrik (Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre - Waldbrann, Almanya) olarak 734 nm dalga boyunda ölçülmüş ve bu süre sonunda okunan absorbans değeri kaydedilerek yüzde inhibisyon oranı hesaplanmıştır. Belirlenen bu inhibisyon değerleri kullanılarak, daha önceden çizilmiş olan Trolox standart eğrisi (Şekil 3.4.) yardımıyla haşhaş yağlarının TEAC değerleri (milimol TE/100 g) olarak hesaplanmıştır (Re ve ark., 1999).

3.2.7. Haşhaş yağlarının bileşen analizleri

Tokoferol kompozisyonun belirlenmesi: Tokoferol kompozisyonunun belirlenmesi analizi TÜBİTAK-Marmara Gıda Enstitüsünden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Analizde ISO 9936:2006 metodu (ISO, 2006) kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Trolox standart eğrisi

Metoda göre 0.1 g yağ örneği 10 mL kapasiteli tüp içersine tartılarak 10 mL heptan eklenmiş ve 10 dk vortekslenmiştir. Tüp içeriği 0.45 µm'lik filtreden süzülerek viallere alınmıştır. Elde edilen ekstraktın tokoferol kompozisyonu HPLC cihazı ile belirlenmiştir. Cihaz şartları: kolon; 5 µm LiCrosorb Si60 25 cm x 4.6 mm i.d, detektör; floresans detektör, mobil faz; % 3.6 (volume fraction) THF (in n-heptane), akış hızı; 1 mL/dk, sıcaklık; 25°C, dalga boyu; uyarım (excitation): 270 nm ve yayım (emission): 310 nm. Kantitasyon standartlara göre yapılmış ve sonuçlar mg tokol/100 g yağ olarak verilmiştir.

Sterol kompozisyonunun belirlenmesi: Sterol kompozisyonlarının belirlenmesi için Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Çanakkale İl Gıda Kontrol Laboratuar Müdürlüğünden hizmet alımı yapılmıştır. Analizlerde, TSE EN ISO 12228 (TSE, 1999) metodu kullanılarak uygulanmıştır. Metod gereğince öncelikle sabunlaşmayan maddelerin hazırlanması için 500 µL'lik enjektör kullanarak 250 mL'lik balona, numunenin sterol içeriğinin yaklaşık % 10'u kadar % 0.2'lik α-kolestanol ilave edilmiştir. Azot gazı altında uçurularak nemi alınmış, filtre edilmiş numuneden balona tam 5 g tartılmıştır. 50 mL 2 N etanolik potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilmiş ve geri soğutucuya takılmıştır.

Sabunlaşma gerçekleşene kadar (çözelti berrak hale gelene kadar) mantolu ısıtıcıda karıştırılarak ısıtılmıştır. Isıtmaya 20 dk daha devam edilmiş ve sonra geri soğutucunun üzerinden 50 mL saf su ilave edilip, soğutucu başlık çıkarılmış ve balonun yaklaşık 30 °C'ye soğuması için bekletilmiştir. Balon içeriği birkaç defa saf suyla çalkalanarak 500 mL'lik ayırma hunisine dikkatlice aktarılmıştır. Kullanılan saf su toplam 50 mL olmalıdır. Yaklaşık 80 mL dietil eter ilave edildikten sonra 60 saniye kadar güçlü bir şekilde çalkalanıp faz ayırımı için bekletilmiştir. Alt fazı ayırmak için ikinci bir ayırma hunisi kullanılmıştır. Üst fazdan her sefer 60 - 70 mL dietil eter kullanılarak aynı şekilde iki ekstraksiyon daha yapılmıştır. Üç eter ekstraktı tek bir ayırma hunisinde toplanmış ve yıkama suyu nötr bir reaksiyon verene kadar (fenol fitaleyn indikatörlüğünde) her seferde 50 mL saf su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemlerinden sonra eter fazı susuz sodyum sülfat ile filtre edilerek, darası alınmış 250 mL'lik şilifli balona süzülmüştür. Huni az miktarda dietil eter ile yıkanmıştır. Birkaç mL dietil eter kalıncaya kadar 30 °C sıcaklıkta vakumlu döner buharlaştırıcıda uçurulmuştur. 5 mL aseton eklendikten sonra uçucu solventler hafif bir vakum altında veya bir azot akımı ile kuru hale getirilmiş, kurutmaya 103±2 °C'deki etüvde yaklaşık 15 dk devam edilmiş ve desikatörde soğutulduktan sonra tartım alınmıştır.

Sterol ve (Eritrodiol+Uvaol) Fraksiyonlarının Ayrılması: Bazik plakaların hazırlanması için silikajel plakaları yaklaşık 4 cm yükseklikte 0.2 N etanollü potasyum hidroksit çözeltisine 10 saniye süreyle tamamen daldırılıp, sonra kuruması için kurutma dolabında iki saat bırakılmıştır. Son olarak 100 °C'deki etüvde 1 saat bekletilmiştir. Etüvden çıkarıldıktan sonra kullanılıncaya kadar kalsiyum klorür bulunan plaka rafında bekletilmiştir. Bu şekilde bir işleme tabi tutulan plakalar 15 gün içerisinde kullanılmalıdır. Plakalar kullanılmadan önce 100 °C'lik etüvde 5-10 dk tutulabilir. 65:35 (v/v) hekzan/dietil eter karışımı yürütme tankı içine yaklaşık 1 cm yükseklikte doldurulur. Yürütme tankının kapağı kapatılır ve sıvı-buhar dengesi oluşması için en az yarım saat kadar soğuk ortamda bekletilir. Yürütme tankının iç yüzeyine çözeltiye batırılmış filtre kâğıdı şeritleri konulabilir. Bu işlem, taşınma zamanını yaklaşık üçte bir oranında azaltır ve bileşenlerin daha düzgün ve belirgin bir şekilde ayrımını sağlar. Sabunlaşmayan maddelerin etil asetatta yaklaşık % 5'lik çözeltisi hazırlanır. Çözelti, 100 µL'lik enjektör kullanılarak 300 µL'lik kısmi silikajel plakaya, alt ucuna yaklaşık 2 cm mesafede mümkün olduğu kadar ince ve düzgün bir çizgi halinde verilmiştir (damlacıkların küçük olmasına ve birbirleriyle karışmayacak şekilde verilmesine dikkat edilmelidir). Kontrol için plakanın bir ucuna,

çizgi ile aynı hizaya 2-3 µL referans çözeltisi damlatılmış, böylece sterol ve (Eritrodiol+Uvaol) bandı taşımadan sonra tanımlanabilmiştir.

Plaka yürütme tankına konulur. Ortam sıcaklığı 15-20 °C arasında tutulmalıdır. Yürütme tankının kapağı derhal kapatılır ve numunenin taşınması işlemine plakanın üst kenarının yaklaşık 1 cm altına gelinceye kadar devam edilir. İşlem sonunda tanktan çıkarılan plaka kuruması için bir süre normal ortamda ya da sıcak hava akımında bekletilir. Plakaya % 0.2'lik alkollü 2.7-dikloroflorosein çözeltisi homojen şekilde püskürtülür ve hafifçe kurutulur. UV ışık altında plaka üzerinde, referans gölge esas alınarak sterol ve (Eritrodiol+Uvaol) bantları sınırları işaretlenir. Metal bir kazıma spatulası kullanarak silikajel işaretlenmiş alandan kazınır. Kazınan silikajel, içerisine süzgeç kağıdı yerleştirilmiş huniye konulur. 10 mL sıcak etil asetat ilave edilir, spatula ile dikkatlice karıştırılır ve süzüntü darası alınmış 50 mL'lik ağzı şilifli armudi balonda toplanır. Hunideki kalıntı dietil eterle üç kez yıkanarak (her sefer yaklaşık 10 mL) süzüntü aynı balona toplanır. Süzüntü 4-5 mL kalıncaya kadar dönerli vakum buharlaştırıcıda düşük sıcaklıkta (40 °C'yi aşmayacak şekilde) uçurulur. Kalan çözelti kuru hale gelene kadar hafif bir azot akımı altında uçurulur. Birkaç damla aseton kullanılarak kuruyana kadar tekrar uçurulur ve ağzı şilifli armudi balonda kalan, sterol ve (Eritrodiol+Uvaol) fraksiyonları tartılır.

Kromotografik Şartlar: dedektör; FID, GC Kolonu; HP-5; 30 m x 0.320 mm x 0.25 µm, Kolon Fırını Sıcaklığı; 260±5 °C, enjeksiyon hacmi; 0.2 mikrolitre, inlet sıcaklığı; 280 - 300 °C, dedektör sıcaklığı; 280 - 300 °C, taşıyıcı gazın doğrusal ivmesi; hidrojen 30 - 50 cm/s, split; 1:50 - 1:100 aralığı, cihaz hassasiyeti; en düşük değer 4 ile 16 katı arasında, enjekte edilen madde miktarı; trimetilsilil ester çözeltisinin 0.5 - 1 µL'si.

Prosedür: 10 µL'lik mikro enjektör kullanarak 1 µL hekzan alınır, içine 0.5 µL hava çekilir ve bunu takiben örnekten 0.5 - 1 µL alınır. İğneyi boşaltmak için enjektörün pistonu kaldırılır. İğne enjeksiyon ünitesinin zarına batırılır ve 1-2 saniye sonra hızlıca enjekte edilir, 5 saniye kadar sonra iğne yavaşça çıkarılır. Otomatik enjeksiyon sistemi kullanılabilir. Mevcut triterpen dialkollerin Trimetilsilil esterleri tamamen elde edilinceye kadar işleme devam edilir. Baseline düz olmalıdır.

Her bir pikin tanımlanması; alıkonma zamanları ve aynı koşullar altında analiz edilen Trimetilsilil ester sterol ve triterpen dialkollerin karışımlarının alıkonma zamanlarının karşılaştırılmasıyla yapılır. Steroller ve (Eritrodiol+Uvaol) kromatogramda; kolesterol,

brassikasterol, ergosterol, 24-metilen kolesterol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, $\Delta 7$ -kampesterol, $\Delta 5.23$ -stigmastadienol, klerosterol, β -sistosterol, 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 (Eritrodiol+Uvaol) pik alanları integratör kullanarak hesaplanır. Yukarıda listelenenler arasında bulunmayan bileşiklerin pikleri göz önünde bulundurulmaz. α -kolestanol için tepki katsayısı 1'e eşittir.

Her bir sterolün miktarı formül 3.9 yardımıyla aşağıdaki şekilde mg/kg örnek cinsinden hesaplanır:

$$\text{sterol } x = \frac{A_x \times m_s \times 1000}{A_s \times m} \quad (3.9)$$

A_x : Sterol x'in pik alanı;

A_s : α -kolestanol pik alanı

m_s : Eklenen α -kolestanol kütlesi (mg)

m : Saptama için alınan numunenin kütlesi (g)

Sonuçların değerlendirilmesi: Her bir sterolün miktarı mg/kg cinsinden ve toplamları da "toplam steroller" olarak kaydedilir. Kompozisyonun her bir sterolü ve eritrodiol+uvaol değerleri 1 ondalık olarak verilir. Toplam sterol değeri ondalıksız verilir. Her bir sterol yüzdesi, ilgili pik alanının sterollerin ve eritrodiol+uvaol toplam pik alanına oranından hesaplanır (3.10).

$$\% \text{ sterol } x = \frac{A_x}{\sum A} \times 100 \quad (3.10)$$

A_x : x'in pik alanı

$\sum A$: Sterollerin toplam pik alanı

Σ Beta-sitosterol: Δ -5,23-stigmastadienol + klerosterol + beta-sitosterol + sitostanol + Δ -5,24-stigmastadienol Eritrodiol ve uvaol yüzdesi hesaplaması formül (3.11) ile yapılmıştır.

$$\% (\text{eritrodiol} + \text{uvaol}) = \frac{E_r + U_v}{E_r + U_v + \sum A} \times 100 \quad (3.11)$$

$\sum A$: Sterollerin toplam pik alanı

Er : Eritrodiol pik alanı

Uv: Uvaol pik alanı

Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi: Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi analizi TS 4664 EN ISO 5508 - Hayvansal ve Bitkisel Katı ve Sıvı Yağlar- Yağ Asitleri Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisiyle Analizi metodu (TSE, 1996) ile Zeytinyağı ve Pirina Yağı Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği, Tebliğ No: 2010/36 (TGK, 2002) referans alınarak Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Çanakkale İl Gıda Kontrol Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analiz için yağ örneği iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve yaklaşık 60 mg deney numunesi deney tüpüne hassas terazide tartılmıştır. Üzerine 10 mL n-Heptan ve 0.5 mL metanollü KOH çözeltisi ilave edilir. Tüpün kapağı kapatılarak 30 sn süresince kuvvetlice çalkalanır. Bir saat bekletildikten ya da 4-5 dakika santrifüjlendikten sonra üsteki berrak kısım alınır. 2 mL'lik viallere konularak enjeksiyona hazır hale getirilir. Kromatografik Şartlar: dedektör; FID, GC kolonu; DB-23 (% 50 (Cyanopropyl)-methylpolysiloxane; 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm, kolon fırını sıcaklığı; 130 °C-1 dk, 6.5 °C / dk. 170 °C'ye kadar, 2.75 °C / dk 215 °C'ye kadar ve bu sıcaklıkta 12 dk, 40 °C / dk 230 °C'ye kadar ve bu sıcaklıkta 5 dk. Toplam 40.89 dakika programlanabilen kromatografi şartlarında enjeksiyon hacmi; 0.2 mikrolitre, inlet sıcaklığı; 250 °C, dedektör sıcaklığı; 280 °C, taşıyıcı sıcaklığı; 1.7 mL/dk, split; 1/10 şeklinde uygulanır. Standart eğrinin hazırlanması için mix. standart çözeltisinden 100 mg alınır. 25 mL'ye n-Heptan ile tamamlanır. Bu stok çözelti 1/1, 1/2, 1/3 oranlarında seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlanır. Mix. standart cihaza enjekte edilerek, standart içinde yer alan tüm yağ asidi standartlarının tek tek geliş zamanları tespit edilir ve standart eğride (kalibrasyon tablosunda) isimlendirilir. Her numune enjeksiyonundan önce mix. standardı verilerek standartların geliş zamanları kontrol edilir. Numunedeki metil esterlerin muhtevası, karşılık geldiği pikin alanının tüm pik alanları toplamına olan oranına göre kütlece yüzdesel olarak ifade edilmiştir.

3.2.8. Haşhaş yağlarının aromatik bileşen analizleri

Haşhaş yağ örneklerinde uçucu bileşen kompozisyonlarının belirlenmesinde birkaç modifikasyon uygulanarak Krist ve ark. (2005) tarafından uygulanan metot referans alınmıştır. Uçucu bileşenlerin elde edilmesinde katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) tekniği kullanılmıştır. 5 mL yağ örneği aroma maddelerinin belirlenmesi için özel renkli şişelere alınarak 40 °C'deki su banyosunda 20 dk bekletilmiştir. Süre sonunda su

banyosundan alınan örnekler üzerine Supelco 57348, 2 cm, 50/30 μ m, DVB/Carboxen/PDMS Stable-Flex fiber yerleştirilerek 20 dk boyunca aroma maddelerinin fiberde tutunması sağlanmıştır. Uçucu bileşenler daha sonra GC-MS cihazında nonpolar HP5 MS kolon (30-m \times 0.25-mm i.d. \times 0.25- μ m film kalınlığı, J&W Scientific, Folsom, CA) ile analiz edilmiştir. GC-MS sistemi bir HP 6890 gaz kromatografisi ve 7895C kütle seçici dedektöründen (Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) oluşmaktadır. GC fırın sıcaklığı; 38 $^{\circ}$ C’de 1 dk bekleme, 5 $^{\circ}$ C/dk hızla 40 $^{\circ}$ C’den 220 $^{\circ}$ C’ye artış ve 220 $^{\circ}$ C’de 2 dk bekleme şeklinde programlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum 1.2 mL/dk akış hızıyla kullanılmıştır. Kütle seçici dedektör koşulları ise şöyledir: kapiler direkt arayüz sıcaklığı, 280 $^{\circ}$ 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. Maddelerin kantitasyonu, aşağıdaki eşitlikte verilen formüle (3.11) göre hesaplanmıştır (Avşar ve ark., 2004). Metil pentanoik asit ve 2-metil-3-heptenon, asit ve nötral-bazik karakterli bileşenler olarak, analiz öncesinde örneklere iç standart (internal standard, IS) olarak eklenmiştir.

Ortalama bileşen

Miktarı (μ g veya ng/kg): (IS konsantrasyonu \times bileşenin peak alanı) / IS peak alanı **(3.12)**

Tanımlanan uçucu bileşenlerin Kovat indeksleri (RI) aşağıdaki formül 3.13 ile hesaplanmıştır (Hübschmann, 2009).

$$\text{Kovat index (RI)} = 100 \times C_{(\text{küçük alkanın karbon sayısı})} + 100 \times \frac{t_R(X)_{(\text{aroma maddesinin alıkonma zamanı})} - t_R(CK)_{(\text{küçük alkanın alıkonma zamanı})}}{t_R(CB)_{(\text{büyük alkanın alıkonma zamanı})} - t_R(CK)_{(\text{küçük alkanın alıkonma zamanı})}} \quad (3.13)$$

3.2.9. Haşhaş yağlarının duyuusal analizleri

Haşhaş yağlarının duyuusal analizlerinde “Lezzet Profil Analizi” (LPA) uygulanmıştır. Ayrıca AOCS tarafından yayınlanan AOCS Cg 2-83 kodlu metodu - Bitkisel Yağlar İçin Lezzet Panel Değerlendirmesi’ yönteminden de faydalanılmıştır (Meilgaard ve ark, 1991; Altuğ ve Elmacı, 2005; AOCS, 1984). Testler 9 adet eğitimli panelistle (5 bayan, 4 bay; yaş aralığı 28 - 42) gerçekleştirilmiştir. Panelistlere en az 15 saat eğitim verilmiştir. Bir yuvarlak masa etrafında önce panelistlere testin uygulanışı, dikkat edilecek hususlar anlatılmış, daha sonra çok farklı özelliklere sahip haşhaş yağı örnekleri kullanılarak terminoloji geliştirilmiştir. Panel liderinin moderatör olduğu

oturumlarda, haşhaş yağlarını tanımlayacak ortak terminoloji ve bunların tanımları oluşturulmuştur. Daha sonraki oturumlarda 5 noktalı skala (0-yok; 4-aşırı) üzerinde tayin edilen duyuşal tanımlayıcı terimlerin şiddetlerini ölçmeye yarayacak standart referans materyalleri (gıda maddeleri, kimyasal çözeltiler ve diğere materyaller) kullanılarak panel eğitimi minimum standart hata seviyesine kadar devam etmiştir. Bu araştırmada kullanılan duyuşal tanımlayıcı terimler ve kullanılan referans maddeleri çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Haşhaş yağı LPA için kullanılan tanımlayıcı terimler ve referans alınan standartlar

Tanımlayıcı terim	Referans standart
Haşhaşimsı	Haşhaş ezmesi
Kavrulmuş	Kızarmış ekmek
Fındığımsı	İç fındık
Samansı	Kuru saman
Buruk	% 0.1' lik şap çözeltisi
Mumsu	Erimiş parafin
Mayamsı	Yaş ekmek mayası
Baharatlı	Acı biber, karanfil, nane karışımı
Toprak	Islak toprak
Acı	% 0.05' lik kafein çözeltisi
Tatlı aromatik	Bal kokusu
Yakıcılık	Yutmadan 30 sn sonraki yakıcılık

Her bir oturumda panelistlere 3 rakamla kodlanmış 3 adet farklı örnek üstü kapatılmış cam bardaklarda sunulmuştur. Analizler 3 tekerrür olarak yapılmıştır. Haşhaş yağı örnekleri panelistlere oda sıcaklığında (25 °C) sunulmuştur. Örneklerle beraber panelistlerin duyuşalarını dinlendirmeleri ve tazelemeleri için; su, tuzsuz kraker ve bir dilim elma ile tükürme kabı verilmiştir. Örnek sunumu rastgele düzende yapılmıştır. Panelin haşhaş LPA testinde kullandığı skala şekil 3.3'de gösterilmiştir.

3.2.10. Haşhaş Yağlarının Tüketici Testleri

Haşhaş yağ örneklerinin görünüş, renk, tat, koku gibi özelliklerinin tüketiciler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla tüketici testleri yapılmıştır. Bu amaçla 5-noktalı hedonik skala (1- "hiç beğenmedim", 5- "çok beğendim") kullanılmıştır (şekil 3.6.). Ofis 8, ofis 3 ve ofis 4 çeşitlerine ait kontrol, kavrulmuş ve enzim grubu örneklerinden herhangi üç adedi seçilerek bir grup yapılmış ve her örnek grubunu 50 gönüllü katılımcının test etmesi sağlanmıştır. Katılımcılar üniversitemiz ve bölüm çalışanlarımız ile öğrencilerden oluşmaktadır.

Örnek No:

Tarih:

Yaş:

Cinsiyet: K E

Tanımlayıcı terim	Yok	Hafif	Orta	Çok	Aşırı
	0	1	2	3	4
Haşhaşimsı					
Kavrulmuş					
Fındığımsı					
Samansı					
Buruk					
Mumsu					
Mayamsı					
Baharathı					
Toprak					
Acı					
Tatlı aromatik					
Yakıcı					
Diğer					

Şekil 3.5. Haşhaş yağı LPA için kullanılan ölçüm skalası

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 3.6. Tüketici testine ait duyuşal sakala

Hedonik skalalardan elde edilen verilerin ortalamaları hesaplanmıştır. Analiz sonucunda her tohum çeşidine uygulanan muamele gruplarından bir tanesi tüketicilerden en yüksek hedonik skoru almış olup, baz olarak seçilmiştir. Her çeşitten en yüksek skor değerini alarak seçilen 3 örnek üç haneli bir kodlama yapılan cam bardaklara konulmuş ve 150 farklı tüketiciye tadım testi yapılmıştır. Tadım testi sırasında tüketicilerden kodlanmış örnekleri öncelikle görsel olarak test etmeleri, sonra koklamaları ve son olarak bir kaşık alarak ağızda gezdirmeleri ve yutmaları istenmiştir. En fazla beğenilen yağ örneğine ait kod işaretlenmiş ve her üç örnek için tüketici beğeni yüzdeleri hesaplanmıştır.

3.2.11. Pres kekinden yağın uzaklaştırılması ve yağsız un eldesi

Soğuk pres sonucunda toplam 9 farklı (3 çeşit x 3 ön işlem) yağlı haşhaş keki örneğinde kalan yağın uzaklaştırılması için bazı modifikasyonlar yapılarak Manamperi ve ark. (2007) ile Onsaard ve ark. (2010) tarafından uygulanan metotlar esas alınmıştır. Kekte kalan yağ miktarının azaltılması amacıyla; her un örneği 1:2 (w/v) oranında hekzan ile üçer kez muamele edilmiş, her ekstraksiyon aşamasında 150 rpm devir hızı ile 1 saat süreyle çalkalama gerçekleştirilmiştir. İşlem sonucunda süzme işlemi yapılarak yağlı hekzan fazı ayrılmış ve kek çeker ocak altında 24 saat süreyle bırakılarak solventin doğal hava akımı ile uçması sağlanmıştır. Kuruyan örnekler blendır ile 75 meshlik elekten geçecek seviye kadar öğütülmüştür. Etiketlenen ve ambalajlanan yağsız un örnekleri analize alınmaya kadar -20 °C de saklanmıştır.

3.2.12. Yağsız haşhaş unlarının temel analizleri

Elde edilen yağsız haşhaş unu örneğinde aşağıdaki analizler gerçekleştirilmiştir;

Nem miktarının tespiti (%): Analiz OHAUS-IR MB45 hızlı nem tayin cihazı kullanılarak (107 °C, 1 g örnek, 30 dk) gerçekleştirilmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Yağ miktarının tespiti (%): Otomatik Soxhlet ekstraktör cihazı ile AOAC 920.39 .metoduna göre yapılmıştır (AOAC, 2002).

Protein miktarının tespiti (%): Kjeldal yöntemi ile Aa 5-38 metoduna (AOCS, 1984) göre yapılmıştır.

Kül miktarının tespiti (%): AOCS Ba 5a-49 metoduna (AOCS, 1984) göre yapılmıştır.

Fitik asit miktarının tespiti: Yağsız haşhaş unu örneklerinde fitik asit miktarlarının tespiti AOAC Official Method 986.11 (AOAC, 1986) adapte edilerek gerçekleştirilmiştir. 2 g örnek 40 mL % 2.4'lik HCl çözeltisi ile 150 rpm devirde 25 °C sıcaklıkta 3 saat süreyle çalkalanmış ve Whatman No.1 filtre kağıdından süzülerek ekstraktlar hazırlanmıştır. Dowex® AG1x4 chloride resin (100 - 200 µm) kullanılarak ion-exchange kolon hazırlanmış ve 1/1 oranında Na₂EDTA-NaOH eklenen ekstrakt 25 mL'ye seyreltilerek analiz protokolüne göre kolondan geçirilmiştir. Örnek içerisinde bulunan fitatlar 0.7 M NaCl çözeltisi kullanılarak kolonda tutulmuş, erlene alınan fitat içeren süzüntüye derişik olarak 0.5 mL H₂SO₄+3 mL HNO₃ eklenerek Kjeldahl yakma üntesinde sarı buhar oluşumu gözleninceye kadar yaş yakma uygulanmıştır. Elde edilen fitat tuzları üzerine 10 mL distile su eklenerek 100 °C'de su banyosunda yaklaşık 10 dk bekletilmiş ve fitat tuzlarının çözünmesi sağlanmıştır. Fitat ekstraktları üzerine 2 mL molybdate solüsyonu ve 1 mL sulfonik asit eklenerek distile su ile 25 mL'ye tamamlanmış ve 15 dk sonunda reaksiyon tamamlanınca 640 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre - Waldbrann, Almanya) okumalar yapılmıştır. Potasyum asit fosfat kullanılarak elde edilen fosfat standart kurvesinden “ortalama K” değeri hesaplanarak, örneklerdeki fitik asit miktarları formül (3.14) yardımıyla belirlenmiştir.

$$\text{Fitat (mg/g)} = (\text{“Ortalama K”} \times A \times 20) / (0.282 \times 1000) \quad (3.14)$$

A: örneğin absorbans değeri

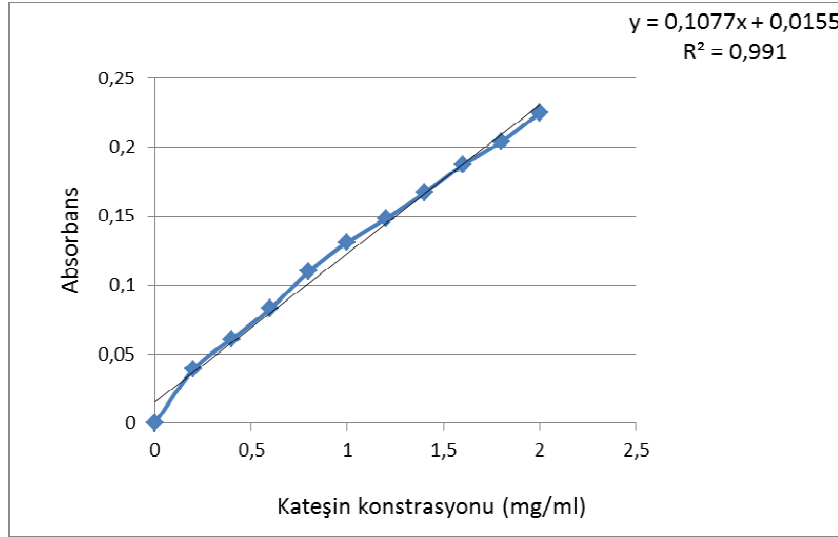
“Ortalama K”: standart P (µg) / A / n (standartlar)

Fitat: % 28.2 P

Tanen içeriğinin tespiti: Yağsız haşhaş unu örneklerinin kondanse tanen içerikleri Hagerman (2002) tarafından tarif edilen vanillin metodu kullanılarak Price ve ark. (1978)'na göre belirlenmiştir. 0.5 g yağsız un örneği 10 mL metanol ile 30 dk süreyle oda sıcaklığında çalkalanarak (150 rpm) kondanse tanenlerin ekstraksiyonu sağlanmış, sonrasında ise 2291xg' de 10 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Her örnek için tüplere 5'er mL ekstrakt alınırken, bir tüp seti de kör için hazırlanmıştır. Örnek ve kör tüplerine 5'er mL % 1'lik vanilya (% 8'lik HCl ile hazırlanmış) çözeltisi 1'er dk aralıklarla eklenmiş, sonrasında tüplere yine 1'er dk aralıklarla % 4'lük HCl ilave edilerek 30 °C'de su banyosunda (karanlık ortamda) 20 dk bekletilmiştir. Süre sonunda örnek ve körlere ait absorbans değerleri 500 nm'de spektrofotometrede (Agilent 8453 UV-Visible

Spektrofotometre - Waldbrann, Almanya) okunmuştur. Standart olarak kateşin kullanılarak kurve oluşturulmuş ve kondanse tanen içerikleri kateşin eşdeğeri olarak belirlenmiştir.

Renk ölçümü: Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) kullanılmış ve renk ölçümünde CIE' in sistemi kullanılarak L, a* ve b* değerleri belirlenmiştir (Pagliarini ve Rastelli, 1994).



Şekil 3.7. Kateşin standart eğrisi

Vizkozitenin belirlenmesi: Khalid ve ark. (2003) tarafından uygulanan metoda göre yağsız haşhaş unu ile % 20'lik örnek dispersiyonları hazırlanmış ve pH değerleri 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 7.0 olarak ayarlanmıştır. 1 dk vorteksleme sonucunda oda sıcaklığında Brookfield viskozimetre-model DV II+Pro (Rheocalc software) kullanılarak spindle No. 34 yardımıyla görünür vizkozite değerleri cP olarak belirlenmiştir.

Mineral madde içeriklerinin belirlenmesi: Yağsız haşhaş unu örneklerinin mineral madde analizleri ICP-MS cihazı kullanılarak, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarında hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Cihaza enjeksiyon öncesinde, örneklere yağ yakma uygulanmıştır. Bu amaçla 0.5 g örnek tartılmış ve her bir örnek için yaklaşık 100 mL nitrik asit kullanılarak hot plate üzerinde kademeli ısı artışları ile (90 °C - 30 dk, 100 °C - 30 dk, 150 °C - 30 dk, 200 °C - 30 dk, 300 °C berrak renk oluşana kadar) kontrollü bir yakma işlemi uygulanmıştır. Sonrasında elde edilen örnek distile su ile 25 mL'e seyreltilmiştir. Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 8000-Perkin Elmer S10 autosampler (ABD) ile okumalar yapılmıştır.

3.2.13.Yağsız haşhaş unlarının fonksiyonellik testleri

Su bağlama kapasitesi: Moure ve ark. (2002) ile Manamperi ve ark. (2007) tarafından uygulanan metotlar esas alınarak; dara ağırlığı kaydedilen falkon tüplere 5 g örnek tartılmış ve üzerine 20 mL distile su eklenmiştir. 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak örneklerin pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. 1'er dk vorteksleme uygulandıktan sonra örnekler oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiş, 2291 x g'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Supernatant kısmı atılarak, tüpler ters çevrilmiş ve kalan sıvının giderilmesi için 30 dk bekletilmiş, sonrasında ise tartım alınmıştır. Absorbe edilen su miktarı; ilk ağırlık ile son ağırlık arasındaki farkın örnek miktarına oranlanması ile tespit edilmiş ve su bağlama kapasitesi g su/g un olarak ifade edilmiştir.

Yağ bağlama kapasitesi: Manamperi ve ark. (2007) tarafından uygulanan protokole göre 2 g yağsız un, dara ağırlığı kaydedilen falkon tüplere tartılarak üzerine 10 mL ayçiçek yağı eklenmiş, 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak örneklerin pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. 1'er dk vorteksleme sonucunda örnekler oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiş ve 2291xg' de 15 dk santrifüjleme uygulanmıştır. Üst kısımda toplanan yağ kısmı atılarak, tüpler ters çevrilmiş, kalan yağın giderilmesi için 1 saat bekletilmiş ve sonrasında tartım alınmıştır. Absorbe edilen yağ miktarı; ilk ağırlık ile son ağırlık arasındaki farkın örnek miktarına oranlanması ile tespit edilmiş ve yağ bağlama kapasitesi g yağ/g un olarak ifade edilmiştir.

En düşük jelleşme konsantrasyonu: Moure ve ark. (2002) metoduna göre distile su ile % 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 (w/v) oranlarında yağsız un dispersiyonları hazırlanmıştır. Yapılan ön denemelerde % 2, 4, 6, 8 (w/v) oranlarında pıhtılaşma dahi oluşmadığından tüm örnekler için analiz setleri % 10 örnek oranından başlatılmış ve enzimli örneklerde ilave olarak % 30, 34 ve 38 konsantrasyonları da denenmiştir. 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 2 dk karıştırma ile dispersiyonların pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Dispersiyonların sıvı kısımlarından 5 mL test tüplerine alınarak 100 °C'de sıcak su banyosunda 1 saat tutulmuştur. Sonrasında akan su ve buz ile hızlıca soğutulan örnekler +4 °C'de 24 saat süresince soğumaya bırakılmıştır. Gözlem yapılan tüplerde, katı ve tüp çeperinden düşmeyen jel yapısı gözlenen örnek konsantrasyonları belirlenmiştir.

Köpüklenme kapasitesi ve köpük stabilitesi: Cano-Medina ve ark. (2011) ile Kanu ve ark. (2007) tarafından izlenen metot esas alınmıştır. 3 g yağsız haşhaş unu ile 100 mL distile su kullanılarak örnek dispersiyonları hazırlanmış, 1 N HCl veya 1 N NaOH

kullanılarak 2 dk karıştırma ile dispersiyonların pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 dk süreyle yüksek hızda çalkalanan (waring blender) örnekler hızlıca 250 mL'lik mezürlere alınarak toplam hacim ve sıvı hacimleri kaydedilmiş ve köpüklenme kapasitesi (FC) formül (3.15) ile belirlenmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk bekletme sonucunda kalan köpük miktarı tekrar kaydedilerek elde edilen değerler ile köpük stabilitesi (FS) (3.16) hesaplanmıştır.

$$FC: (\text{Toplam hacim} - \text{Sıvı hacmi}) \times 100 \quad (3.15)$$

$$FS: (\text{Kalan köpüğün hacmi} / \text{İlk köpük hacmi}) \times 100 \quad (3.16)$$

Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi: Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesinin belirlenmesinde Wu (2001) tarafından uygulanan metod esas alınmıştır. 7:100:100 (w:v:v) oranı esas alınarak 1.05 g yağsız un tartılmış, üzerine 15 mL distile su eklenmiş, 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak pH değeri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Örneğe 15 mL ayçiçek yağı eklenerek 1 dk vortekslenmiştir. Sonrasında 2291 x g'de 5 dk santrifüj edilerek emülsiyon aktivitesi (EA) formül (3.17) kullanılarak belirlenmiştir. Emülsiyon stabilitesinin belirlenmesi için örnekler 80 °C'de su banyosunda 30 dk ısıtılarak, sonrasında akan su altında ve buz ile hızlıca soğutulmuştur. Örnekler tekrar 2291 x g'de 5 dk santrifüjlenmiş ve emülsiyon stabilitesi (ES) formül (3.18) kullanılarak belirlenmiştir.

$$EA: 100 \times (\text{Emülsiyon tabakasının uzunluğu-mm}) / (\text{Tüp içeriğinin toplam uzunluğu-mm}) \quad (3.17)$$

$$ES: 100 \times (\text{Kalan emülsiyon tabakasının uzunluğu-mm}) / (\text{Tüp içeriğinin toplam uzunluğu-mm}) \quad (3.18)$$

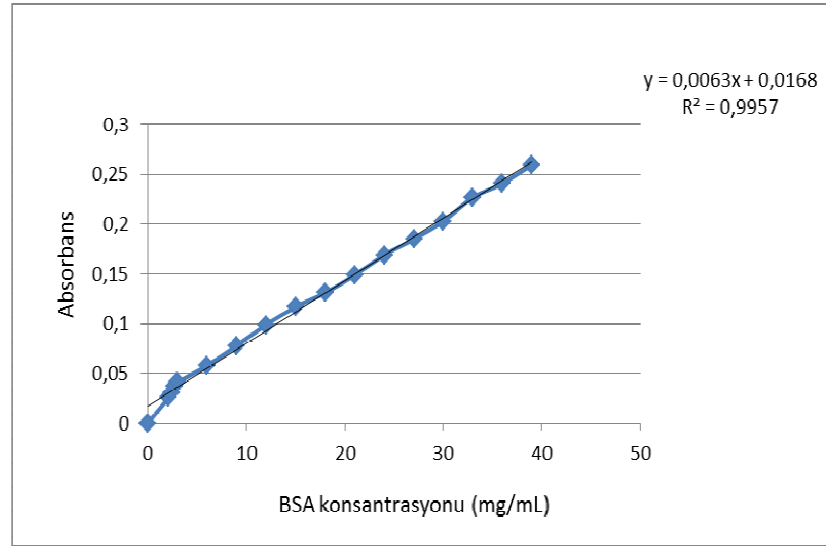
3.2.14. Yağsız unlardan protein izolasyonu

Yağsız un örneklerinden yüksek verimle haşhaş protein izolatlarının elde edilmesi amacıyla öncelikle optimum şartlar belirlenmiştir. Protein izolasyonunda literatürde birçok teknik bulunmakla beraber, her materyal için şartların optimize edilebilmesi amacıyla ön deneme önerilmektedir. Özellikle proteinlerin çözünme ve izoelektrik nokta farklılıklarına göre en iyi ekstraksiyon koşulları belirlenmelidir. Ortamda NaCl varlığında yağlı tohum proteinlerinin daha iyi çözünebildiğine dair literatür bilgilerine dayanılarak maksimum protein veriminin sağlanması amacıyla, çalışmamızda öncelikle en uygun tuz konsantrasyonu ve pH değerleri belirlenmiş, her örnek için izoelektrik nokta tespiti yapılmıştır. Bu çalışmanın tüm aşamalarında protein tayini için Bradford (1976) tekniği uygulanmıştır. Bovine serum albumine (BSA) standart olarak kullanılmış ve

spektrofotometrede (Agilent 8453 UV-Visible Spektrofotometre - Waldbrann, Almanya) 595 nm’de çizilen kurve yardımıyla protein miktar belirlenmeleri yapılmıştır.

Ekstraksiyon için optimum tuz konsantrasyonu ve pH değerinin belirlenmesi:

Bu amaçla Achouri ve ark. (2012) tarafından susam tohumu için kullanılan yöntem bazı modifikasyonlar ile uygulanmıştır. Protein ekstraksiyonunun optimize edilebilmesi için, tohum toplam proteinlerinin ekstraksiyonu pH’ın fonksiyonu olarak farklı tuz konsantrasyonlarında (0 - 1 M) araştırılmıştır. 0.2 M, 0.6 M ve 1 M konsantrasyonlarındaki tuz çözeltileri ile distile su (kontrol - 0 M NaCl) kullanılarak % 10 (w/v) oranında örnek süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyonlar, sabit oda sıcaklığında (25 °C) 150 rpm’de 2 saat süreyle çalkalanmıştır. Kontrol ve NaCl süspansiyonları (0.2, 0.6 ve 1 M NaCl) yaklaşık 10’ ar mL olarak test tüplerine alınmış ve pH değerleri 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 2 - 12 aralığına (1’er birim arttırarak) ayarlanmıştır. Örnekler 30 dk süresince sonikasyona maruz bırakılmış ve 2060 x g’de 30 dk süreyle santrifüjlenmiştir. Supernatant kısımlarının protein içerikleri Bradford (1976) metodu ile belirlenerek, en yüksek protein içeriğinin belirlendiği tuz konsantrasyonu ve pH değeri protein ekstraksiyonu amacıyla incelenen örnek için optimum koşullar olarak seçilmiştir.



Şekil 3.8. BSA standart eğrisi

İzoelektrik noktaların (pI) belirlenmesi: Örneklerle ait izoelektrik noktaların belirlenmesi amacıyla Manamperi ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmadan yararlanılmıştır. Achouri ve ark. (2012) metoduna göre; her bir örnek için belirlenen optimum konsantrasyondaki NaCl çözeltileri ile % 10’luk örnek dispersiyonları

hazırlanarak ekstraksiyon için belirlenen optimum pH değerine ayarlanmıştır. Sabit oda sıcaklığında (25 °C) 150 rpm hızla 2 saat süreyle çalkalanmıştır. Çalkalama sonrası örneklerin sıvı kısmından 6'şar adet santrifüj tüpüne 10' ar mL alınarak 0.5 birim değişim ile pH değerleri 3.5 - 6.0 arasına ayarlanmış ve 1'er dk vortekslenmiştir. Örnekler 3000 x g de 20 dk santrifüj edildikten sonra supernatant kısımlarının protein içeriği Bradford (1976) metodu ile belirlenerek, en düşük protein içeriğinin tespit edildiği pH değeri örneğe ait izoelektrik nokta (pI) olarak belirlenmiştir.

Protein izolasyonu ve protein veriminin belirlenmesi: Yapılan çalışmalar sonucunda belirlendiği şekilde; kontrol ve kavrulmuş örnekler için 0.6 M NaCl ve pH 11, enzim örnekleri için ise 0.2 M NaCl ve pH 12 değerleri kullanılarak % 10'luk (w/v) örnek dispersiyonları hazırlanmış, oda sıcaklığında 2 saat süreyle çalkalama (150 rpm) uygulanmıştır. Sonrasında süzme işlemi uygulanarak, çözünen proteinleri içeren supernatant kısmı elde edilmiş, izoelektrik çöktürme öncesi supernatantın protein miktarı Bradford (1976) metodu ile belirlenmiştir. Sonrasında örneklerin pH değerleri izoelektrik noktaya getirilerek proteinlerin çökmesi sağlanmış ve 18 saat süreyle +4 °C'de bekletilmiştir. Süre sonunda çöken proteinlerin kazanılması amacıyla 2291 x g'de 15 dk santrifüjleme yapılarak, üst kısımda ayrılan serumda tekrar protein miktar tespiti yapılmıştır (Bradford, 1976). Elde edilen haşhaş protein izolatları freeze-dry (Labfreeze FD-10 MR Bench-Top Freeze Dryer, Xiangtan city-Hunan China) cihazı ile kurutularak, analize alınincaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. BSA eşdeğeri olarak mg cinsinden belirlenen protein miktarları kullanılarak aşağıdaki formül (3.19) yardımıyla protein kazanım verimleri tespit edilmiştir.

$$\text{Protein verimi (\%)} = [(P_1 - P_2) / P_3] \times 100 \quad (3.19)$$

P₁: Supernatant protein içeriği (mg)

P₂: Çökme sonrası kalan serumun protein içeriği (mg)

P₃: % 10'luk yağsız un dispersiyonun mL'sinde çözünen protein miktarı (mg), yağsız unun başlangıç protein içeriği kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.15. Protein izolatlarında yapılan analizler

Haşhaş protein izolatlarında aşağıda sıralanan karakterizasyon analizleri ve fonksiyonellik testleri yapılmıştır.

Amino asit bileşimlerinin belirlenmesi: Örneklere ait amino asit içeriklerinin tespit edilmesi amacıyla öncelikle protein hidrolizi yapılmıştır. Bu amaçla Nergiz (2006) tarafından uygulanan metoda göre; 50 mg protein örneği schoot şişelere tartılarak üzerine 3 mL 6 N HCl eklenmiş, vakumlu etüvde 110 °C’de 24 saat tutularak protein hidrolizi sağlanmıştır. Sonrasında etüvden alınan örneklerdeki HCl, hot plate üzerinde kontrollü şekilde uçurulmuştur. Şişe içerisinde kalan örneğe 10 mL buffer (9.8 g trisodyum sitrat dihidrat, 14 g sitrik asit, 5 mL thiodiethanol, 0.100 mL oktanoik asit karışımı distile su ile 500 mL’e tamamlanmış, pH 2.20) eklenerek yeterince vortekslenmiş ve çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen ekstrakt 0.45 µm gözenek çapındaki membran filtreden süzülmüştür. Amino asit içeriklerinin miktar olarak belirlenmesi Çanakkale Onsekizmart Üniversitesi Merkez Laboratuvarından Hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Ölçümler Thermo-Finnigan GS-MS (ABD) cihazında Zebron-Capillary GC Kolon - ZB - 5ms (% 5-polysilarylene, % 95-polydimethylsiloxane, 0.25 µm thickness, 0.25 mm I.D., 30 m length) kullanılarak yapılmıştır. Cihaz koşulları: başlangıç sıcaklığı 110 °C, max. sıcaklık 320 °C, sıcaklık artış hızı 32 °C/dk, split akış hızı 23 mL/dk, split oranı 15, MS transfer line 220 °C. Dedektör koşulları: Flame on, air 350 mL/dk, H₂ 35 mL/dk, dedektör baz sıcaklık 300 °C, ECD sıcaklığı 320 °C, reference current 1.0 nA, pulse amplitude 50 V, pulse width 1.0 µsec.

Renk ölçümü: Freeze-dry cihazı ile kurutulan haşhaş protein izolatlarında renk belirlemesi Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) ile yapılmış ve renk ölçümünde CIE’ in sistemi kullanılarak L, a* ve b* değerleri belirlenmiştir (Aydeniz ve ark., 2014).

Görünür viskozitenin belirlenmesi: Khalid ve ark. (2003) ile Kanu ve ark. (2007) tarafından uygulanan metotlar kombin olarak kullanılarak örneklerin vizkozite değerleri belirlenmiştir. Haşhaş proteini ve distile su ile % 20’lik örnek dispersiyonları hazırlanmış ve pH değerleri 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 7.0 olarak ayarlanarak, 1’er dk vortekslenmiştir. Yüksek sıcaklık olarak 60 °C ve orta sıcaklık değeri olarak 40 °C seçilmiş, Brookfield viskozimetre-model DV II+Pro (Rheocalc software) cihazı (örnek haznesi sıcak su ile belirlenen sıcaklıklara ısıtılarak) ile spindle No. 18 yardımıyla görünür vizkozite değerleri cP olarak ölçülmüştür.

Protein çözünürlüğü: Yin ve ark. (2011)’e göre belirlenmiştir. Distile su kullanılarak % 1’lik protein çözeltileri hazırlanmış ve 30 dk süreyle manyetik karıştırıcı

üzerinde karıştırılmıştır. Her bir örnek için, 11'er adet santrifüj tüpü hazırlanarak 10'ar mL protein çözeltisi konulmuş ve 1 pH değeri artışla 2 - 12 arasında deney seti oluşturulmuştur. pH ayarlaması yapılan çözeltiler 2 dk süreyle vortekslenmiştir. Sonrasında 2291 x g'de 5 dk santrifüjlenmiş ve supernatant kısmında bulunan protein içeriği Bradford (1976) metodu ile tespit edilmiştir. Tespit edilen protein içerikleri (mg/ml) arasında en yüksek değer belirlendiği pH çözünürlüğün en fazla olduğu pH'dir.

Su bağlama kapasitesi: Onsaard ve ark. (2010) tarafından uygulanan metot esas alınarak; dara ağırlığı kaydedilen tüplere 0.5 g örnek tartılmış ve üzerine 10 mL distile su eklenmiştir. Örneklerin pH değerleri 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 7.0 olarak ayarlanmış ve 1'er dk vortekslenmiştir. 30 dk oda sıcaklığında bekletilen örnekler, sonrasında 2291 x g'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Supernatant kısmı atılarak, tüpler ters çevrilmiş kalan sıvının giderilmesi için 30 dk bekletilmiş ve tartım alınmıştır. Absorbe edilen su miktarı ilk ağırlık ile son ağırlık arasındaki farkın örnek miktarına oranlanması ile tespit edilmiş ve g su/g protein olarak ifade edilmiştir.

Yağ bağlama kapasitesi: 0.5 g protein, dara ağırlığı kaydedilen tüplere tartılarak üzerine 5 mL ayçiçek yağı eklenmiş, 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak örneklerin pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. 30 sn vorteksleme sonucunda örnekler oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiş ve 2291 x g'de 15 dk santrifüj uygulanmıştır. Maksimum devirde 5 dk daha ilave santrifüjleme yapılarak proteinlerin iyice yapışması sağlanmış, üst kısımda toplanan yağ fazı atılarak tüpler ters çevrilmiş, kalan yağın giderilmesi için 1 saat bekletilmiş ve sonrasında tartım alınmıştır. Absorbe edilen yağ miktarı; ilk ağırlık ile son ağırlık arasındaki farkın örnek miktarına oranlanması ile tespit edilmiş ve g yağ/g protein olarak ifade edilmiştir (Sharma ve ark., 2010; Manamperi ve ark., 2007).

Köpüklenme kapasitesi ve köpük stabilitesi: % 1'lik protein dispersiyonları (0.5 g protein + 50 ml distile su) hazırlanarak, 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 2 dk karıştırma ile dispersiyonların pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 dk süreyle yüksek hızda çalkalanan (waring blender) örnekler hızlıca 100 mL'lik mezürlere alınarak toplam hacim ve sıvı hacimleri kaydedilmiş ve köpüklenme kapasitesileri (FC) formül (3.14) ile belirlenmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk bekletme sonucunda kalan köpüğün hacmi kaydedilerek köpük stabilitesi (FS) formül (3.15) yardımıyla hesaplanmıştır (Sharma ve ark., 2010).

Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi: Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesinin belirlenmesinde Wu (2001) tarafından uygulanan metod esas alınmıştır. 0.5 g protein izolatu tartılarak, üzerine 10 mL distile su eklenmiş, 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak pH değeri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Örneğe 10 mL ayçiçek yağı eklenerek 1 dk vortekslenmiştir. Sonrasında 2291 x g'de 15 dk santrifüj edilerek emülsiyon aktivitesi formül 3.16 kullanılarak belirlenmiştir. Emülsiyon stabilitesinin belirlenmesi için örnekler 80 °C'lik su banyosunda 30 dk ısıtılarak, sonrasında akan su altında ve buz kullanılarak hızlıca soğutulmuştur. Örnekler tekrar 2291 x g'de 5 dk santrifüjlenmiş ve emülsiyon stabilitesi formül (3.17) ile belirlenmiştir.

En düşük jelleşme konsantrasyonu: Proteinlerin jelleşme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla bazı modifikasyonlarla Sharma ve ark. (2010) tarafından kullanılan metod uygulanmıştır. Haşhaş proteinlerinden % 20'lik stok çözelti hazırlanarak, 1 N HCl veya 1 N NaOH ile pH değerleri 7.0 olarak ayarlanmıştır. Stok çözülden % 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 (w/v) oranlarında örnek içerecek şekilde dilüsyonlar hazırlanmış ve dilüsyonlar 100 °C'lik sıcak su banyosunda 30 dk süresince bekletilmiş, sonrasında akan su altında ve buz kullanılarak hızlıca soğutulmuştur. +4 °C de 18 saat süreyle bekletilen örneklerin jelleşme durumları gözlenmiştir. Katı ve tüp çeperinde hareket etmeden kalan jel yapısının oluştuğu en düşük konsantrasyon belirlenmiştir.

FT-IR Spektroskopisi analizi: Soğuk pres ile yağ eldesi öncesinde haşhaş tohumlarına uygulanan ön işlemlerin proteinlerde oluşturduğu yapısal değişimlerin oranı, FT-IR Spektroskopisi (Perkin-Elmer FT-IR Spectrum One, ABD) ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde belirlenmiştir. Cihazın ATR kısmına yaklaşık 1 mg seviyesinde örnek konularak 4'er adet okuma yapılmıştır. Titreşimlerin meydana geldiği ve pik oluşturduğu dalga boyları kullanılarak örneklerdeki aktif fonksiyonel gruplar belirlenmeye çalışılmıştır.

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizi: Haşhaş protein izolatlarının termal özellikleri DSC cihazı (Perkin Elmer DSC 4000, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. 10 mM fosfat buffer (pH 7.0) ile % 10'luk (w/v) örnek dispersiyonları hazırlanmıştır. Alüminyum örnek panlarına 10 µL protein dispersiyonu alınarak, hermetik olarak kapatılmış ve örnek ağırlığı (dara hariç) kaydedilmiştir. Boş bir alüminyum pan da referans olarak kullanılmıştır. Kalorimetrede kullanılan program, bazı modifikasyonlar uygulanarak Yin ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışma esas alınarak oluşturulmuştur. Kalorimetre

programında; başlangıç sıcaklığı olarak 25 °C belirlenmiş ve 10 °C/dk artışlar ile son sıcaklık 120 °C olarak seçilmiştir. Denaturasyon başlangıç (on-set) (T_o) sıcaklığı, denaturasyon sıcaklığı (T_d) ve denaturasyonun entalpi değişimi (ΔH) değerleri elde edilen termogramlardan cihazda yüklü bulunan Pyris 1 Manager Software yardımıyla hesaplanmıştır.

SDS-PAGE Elektroforez analizi: Haşhaş proteinlerinin moleküler ağırlıklarının belirlenmesi amacıyla Achouri ve ark. (2012) ile Yin ve ark. (2011) tarafından uygulanan metotlar bazı modifikasyonlar ile esas alınarak SDS-Page Elektroforez analizleri yapılmıştır. 10 mg örnek tartılarak üzerine 0.950 μ L Laemmli sample (65.8 mM Tris - HCl - pH 6.8, % 26.3 w/v gliserol, % 2.1 sodyum dodesil sulfat - SDS, % 0.01 bromfenol blue - Biorad, ABD) ve 0.50 μ L 2-mercaptoethanol (Biorad, ABD) eklenerek 5 dk vorteks uygulanmıştır. Örnekler 100 °C'de su banyosunda 5 dk bekletilerek protein denaturasyonu sağlanmış, sonrasında buz üzerinde örnekler soğutulmuştur. Örnekler 10 °C sıcaklıkta 5 dk santrifüj (1000xg) uygulanmıştır. SDS-Page Elektroforez ünitesine yerleştirilen jelde (Mini-protean precast gels, % 4 - 15, ABD) ilk kuyuya 10 μ L protein standardı (Precision plus protein all blue standards, 10 - 250 kD, Biorad-ABD) ve diğer kuyulara sırayla numaralanan örnekler 5'er μ L olarak yüklenmiştir. 200 V elektrik akımı altında buffer ortamında (10xTris/Glycine/SDS buffer, Biorad-ABD) örnekler jelde yürütülmüştür. Sonrasında elde edilen jeller % 0.1'lik (1.0 g coomassive blue R250+450 ml distile su+450 ml methanol+100 ml glasiyel asetik asit) boya çözeltisi içerisine alınarak çalkalayıcı üzerinde 4 saat süreyle boyanması sağlanmıştır. Boyama işleminden sonra önce distile su ile yıkanan jel, hazırlanan yıkama çözeltisi içerisine alınmış ve çalkalayıcı üzerinde 24 saat süreyle bekletilerek boyanın akması ve protein şeritlerinin görünür hale gelmesi sağlanmıştır. Elde edilen jel iki selofan arasına dikkatlice alınarak, 45 °C sıcaklıkta ortalama 2 saat süreyle kuruması sağlanmıştır.

3.2.16. İstatistiksel analizler

Yapılan tüm istatistik analizlerde güvenilirlik sınırı en az % 95 seviyesinde tutulmuştur. Enstrümental ve fizikokimyasal analizlerden elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve deneme grupları arasında meydana gelen farklılıkların açıklanmasında Varyans analizi two-way ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duyusal analiz verilerinin karşılaştırılması non-parametrik Kruskal-Wallis testiyle yapılmıştır. Metrik olmayan çok boyutlu skala (Nonmetric Multidimensional Scaling,

MDS) analizi kullanılarak ölçülen fiziko-kimyasal özellikler her bir muamele grubu üzerinden ve ayrı ayrı çeşitler ile muameleler üzerinden karşılaştırılmıştır. MDS grafikleri, Z skorlarına göre standardize edilmiş değerler üzerinden hesaplanmıştır. Bütün istatistiksel analizler, Üniversitemizin farklı birimlerinde bulunan MINITAB Ver 16.1.1 (Minitab, 2010) ve SPSS (SPSS, 1994) bilgisayar paket programları kullanılarak yapılmıştır.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu araştırmanın başlangıcında; seçilen 3 çeşit (Ofis 3, Ofis 4 ve Ofis 8) haşhaş tohumunun genel özellikleri ölçülmüş, daha sonra farklı ön hazırlık işlemlerine (kontrol, kavurma ve enzim muamelesi) tabi tutulmuş, belirlenen optimum koşullarda soğuk pres yöntemiyle yağ elde edilmiş, geriye kalan yağlı keklerde temel bileşen analizleri yapılmış ve son olarak da üretilen yağlarda fiziksel ve kimyasal bileşen analizleri ile aromatik ve duyu analizleri yapılmıştır. Soğuk pres işlemi sonucunda geriye kalan yağlı keklerde ise yağ giderme işlemi yapılarak yağsız unlar elde edilmiş ve bu yağsız unların fiziko-kimyasal ve fonksiyonellik analizleri gerçekleştirilmiştir. Yağsız unlardan protein izolasyonu için optimum koşullar belirlenerek, elde edilen verilere göre tohum proteini izole edilmiş, protein verimleri belirlenmiş ve haşhaş proteinlerinin bazı yapısal ve bileşimsel karakterizasyonları yapılarak fonksiyonellik özellikleri test edilmiştir. Çalışma 2 tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve her bir tekerrürde ölçümler en az 2 paralel olarak yapılmıştır. Ölçümlere ilişkin tanıtıcı veriler ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) (ortalama \pm standart hata) şeklinde bildirilerek, istatistik analizleriyle birlikte aşağıda tartışılmıştır.

4.1. Haşhaş Tohumlarının Özellikleri

Materyal olarak kullanılan Ofis 3 (mavi), Ofis 4 (sarı) ve Ofis 8 (beyaz) tohum çeşitlerinin öncelikle temel bileşen analizleri yapılmıştır.

Çizelge 4.1. Haşhaş tohumlarının genel özellikleri

Özellik	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Ofis 8 (beyaz)	
Yağ (%)	46.30 \pm 0.06 * A	38.90 \pm 1.70 B	36.07 \pm 0.55 C	p=0.013
Nem (%)	6.40 \pm 0.12 A	5.30 \pm 0.02 B	5.40 \pm 0.05 B	p=0.000
Kül (%)	6.20 \pm 0.00 A	5.60 \pm 0.00 B	6.10 \pm 0.05 A	p=0.001
Protein (%) (6.25)	19.30 \pm 0.14 C	20.10 \pm 0.30 B	21.40 \pm 0.27 A	p=0.020
Su aktivitesi (aw)	0.60 \pm 0.00 A	0.58 \pm 0.00 C	0.59 \pm 0.03 B	p=0.001
L	44.98 \pm 0.49 C	47.61 \pm 0.07 B	64.28 \pm 0.51 A	p=0.001
a*	2.97 \pm 0.17 C	7.80 \pm 0.10 A	4.04 \pm 0.14 B	p=0.000
b*	-3.44 \pm 0.18 C	11.94 \pm 0.33 B	14.36 \pm 0.20 A	p=0.004
Tohum boyutu (mm)	1.71 \pm 0.29 B	1.16 \pm 0.16 C	2.22 \pm 0.30	p=0.038
1000 tane ağırlığı (g)	0.36 \pm 0.06 B	0.34 \pm 0.05 C	0.39 \pm 0.01 A	p=0.000

* Aynı satırdaki büyük harfler incelenen özellikler açısından farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırmaları göstermektedir.

Haşhaş çeşitlerine ait tohumlar, incelenen fiziksel ve kimyasal özelliklerin tümü açısından farklılık göstermektedir ve farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çalışmada kullanılan çeşitler arasında yağ içeriği en az olan ofis8-beyaz (% 36.07) haşhaş çeşidi iken, ofis3-mavi (% 46.30) çeşidi en fazla yağ içeriğine sahiptir. Haşhaş tohumunda yağ içeriğinin orijin, renk ve üretim bölgesine bağlı olarak önemli oranda değiştiği bildirilmiştir. Literatürde, tohum yağ oranları yapılan çalışmalar sonucunda Hindistan' da % 41.4 - 49.1, Pakistan'da % 47 - 53, ülkemizde ise % 44 - 57 arasında belirlenmiştir (Azcan ve ark., 2004).

Ülkemiz haşhaş çeşitleri üzerine yapılan bir çalışmada tohum yağ miktarı sarı tohumlularda, beyaz ve mavi renge oranla belirgin derecede yüksek bulunmuştur. Mavi tohumlularda en düşük yağ oranı gözlenmiştir. Yağ oranı yüksek olan sarı tohumlara ayrıca mekanik ekstraksiyon da uygulanarak % 32.3 yağ elde edilmiş ve presten alınan yağlı kekin solvent ekstraksiyonu sonrasında % 17.6 ilave yağ kazanılmıştır (Azcan ve ark., 2004).

Erinç ve ark. (2009) tarafından yapılan bir diğer çalışmada; ofis 96 - sarı çeşitte en yüksek, 3. sınıf - beyaz çeşitte ise en düşük yağ içeriği rapor edilmiştir. Yakın zamanlarda yapılan bir diğer çalışmada; Türkiye'de yetişen 18 çeşit haşhaş tohumunun yağ ve yağ asidi içerikleri çalışılmıştır. Bu çalışmada en yüksek yağ oranına % 47.95 ile Afyon 95 - sarı tohumda, en düşük yağ içeriğine ise % 35.38 ile TMO2 - gri çeşidinde rastlanmıştır. Çalışmada kullanılan tohumların nem içerikleri birbirine yakın ve literatürdeki verilerle benzer bulunmuştur (Rahimi ve ark., 2011).

Çalışmamız sonucunda tohumların tespit edilen nem içerikleri % 5.30 - 6.40 aralığında değişmiştir. Azcan ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada ülkemizde yetişen haşhaş tohumlarında ortalama nem içeriği % 6.4 olarak rapor edilmiştir. Benzer şekilde çalışılan üç çeşit tohumun kül ve protein içerikleri de birbirine yakın ve literatür bilgilerine benzer olarak ölçülmüştür.

Özcan ve Atalay (2006) tarafından yapılan çalışmada, yedi adet haşhaş çeşidinde fiziksel ve kimyasal özellikler incelenmiştir. Örneklerin bin tane ağırlığı 0.29 - 0.429 g, nem miktarı % 3.39 - 4.76, ham protein % 11.94 - 13.58, ham kül % 4.92 - 6.25, ham lif % 22.63 - 30.08, HCl' de çözünmeyen kül % 0.72 - 1.68, ham enerji 6367 - 6740.5 kcal/100 g ve ham yağ % 32.43 - 45.52 olarak tespit edilmiştir. Öte yandan Azcan ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmalarda, toplam protein içerikleri sarı tohumda % 21.8, beyaz

tohumda % 21.9 ve mavi tohumda % 22.7 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda materyal olarak kullandığımız çeşitlerin protein içerikleri % 19.30 - 21.40 ve kül miktarları % 5.60 - 6.20 olarak tespit edilmiş olup literatür ile uyumludur.

Yine tohumlarda ölçülen nem içeriğinin, su aktivitesi (a_w) değerleriyle de uyumlu olduğu gözlenmiştir. Haşhaş tohumunda a_w değerlerinin 0.6 değerinin altında olması, tohumların oda sıcaklığında nispeten dayanıklı olduklarını göstermektedir. Çeşitlere ait tespit edilen su aktivitesi değerleri 0.58 - 0.60 aralığında ölçülmüştür.

Literatürde önceki çalışmalarda rapor edilmemiş olmasına rağmen, bu çalışmada ölçülen tohumlara ait aletsel renk verilerinin tohumların renk isimlendirmeleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Genel olarak beyaz tohum daha yüksek L değerine (berraklık) sahiptir. CIE renk ölçüm sisteminde L = 0 (siyah), L = 100 (beyaz), a^* değeri ($+a^*$ = kırmızı, $-a^*$ = yeşil) ve b^* değeri ($+b^*$ = sarı, $-b^*$ = mavi) olarak belirlenmiştir (Pomeranz ve Meloan, 1994). Buna göre kırmızılık sarı tohumda ($+a^*=7.80$), sarılık ise beyaz tohumda ($+b^*=14.36$) daha yüksek algılanırken, mavilik değeri en yüksek olarak mavi ($-b^*=3.44$) tohumda ölçülmüştür.

Işıkan (1957), yapmış olduğu çalışmada haşhaş bitkisi tohumlarının bin dane ağırlığının 0.4 g civarında olduğunu bildirmiştir. Özcan ve Atalay (2006) ise yedi adet haşhaş çeşidinde bin tane ağırlığının 0.29 - 0.429 g arasında olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda belirlenen tohumlara ait bin tane ağırlıkları 0.34 - 0.39 g arasında değişmekte olup, bu verilere oldukça yakındır.

Tohum boyutu olarak literatürde (0.5 - 1.3 mm) bildirilmiştir (Bajpai ve ark., 1999). Çeşitlerin ölçülen tohum boyutları (1.16 - 2.22 mm) literatürdeki aralıktan biraz daha yüksek olarak belirlenmiştir.

4.2. Haşhaş Yağlı Keklerinin Özellikleri

Farklı ön hazırlık işlemlerinden geçirildikten sonra soğuk pres makinasında yağı alınan ve ikinci ürün olarak elde edilen yağlı keklerde bazı analitik ölçümler yapılmış ve sonuçlar çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Haşhaş yağlı keklerinin genel özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Ofis 8 (beyaz)	Toplam	
Nem (%)	Kontrol	11.34±3.17	12.57±0.48	14.45±1.32	12.76±1.09	p=0.352
	Kavurma	14.22±0.03	12.61±1.52	13.41±0.57	13.41±1.03	
	Enzim	16.63±3.13	15.91±0.83	16.41±1.34	16.28±1.80	
	Toplam p=0.021	14.03±1.05	13.67±0.51	14.64±0.60		
Protein (%) (Nx6.25)	Kontrol	25.00±0.00	22.50±0.70	24.50±2.12	24.0±1.55	p=0.188
	Kavurma	23.50±3.50	25.00±0.00	25.50±2.12	24.66±2.58	
	Enzim	21.00±2.83	28.00±0.00	26.50±0.70	25.16±3.54	
	Toplam p=0.660	23.16±1.83	25.17±0.01	25.00±0.55		
Yağ (%)	Kontrol	6.01±0.77 ^{**B} b	15.52±3.41 ^{Aa}	14.83±0.00 ^{Aa}	12.12±1.06	p=0.570
	Kavurma	10.82±1.14 ^{Aab}	13.86±3.02 ^{Aa}	13.27±1.30 ^{Aa}	12.65±1.58	
	Enzim	16.86±3.48 ^{Aa}	4.21±0.65 ^{Bb}	10.03±3.16 ^{ABa}	10.36±2.43	
	Toplam p=0.401	11.23±5.38	11.20±6.00	12.71±3.14		
Kül (%)	Kontrol	9.40±0.42 ^{Aa}	5.15±0.85 ^{Bb}	9.05±0.95 ^{Aa}	7.86±2.26	p=0.573
	Kavurma	7.75±1.85 ^{Aa}	8.25±0.25 ^{Aab}	8.70±0.40 ^{Aa}	8.23±1.28	
	Enzim	8.30±1.41 ^{Aa}	9.95±0.07 ^{Aa}	7.65±1.34 ^{Aa}	8.63±1.37	
	Toplam p=0.597	8.48±1.05	7.78±2.24	8.46±1.10		

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler aynı ön işlem uygulanan her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırmalarını göstermektedir.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi tohumlara uygulanan farklı ön hazırlık işlemleri, elde edilen yağlı keklerin temel bileşen özellikleri üzerine önemli derecede etki yapmıştır. Haşhaş keklerinin nem miktarları üzerinde muamelelerin etkisi (p=0.021) önemli iken, çeşit etkisi (p=0.352) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş keklerinin protein miktarları üzerinde muamele etkisi (p=0.660) ve çeşit etkisi (p=0.188) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş keklerinin yağ miktarları üzerinde muamele etkisi (p=0.401) ve çeşit etkisi (p=0.570) etkisi önemsiz, kül miktarları üzerinde de yine hem muamele etkisi (p=0.597) hem de çeşit etkisi (p=0.573) etkisi önemsiz bulunmuştur. Tüm deneme gruplarında ön hazırlık işlemi sonrasında tohumlar tavlansak soğuk pres öncesinde son nem seviyeleri % 12 olacak şekilde ayarlanmıştır. Ancak yağlı kek örneklerinde bu oranın üzerinde olan nem seviyeleri de ölçülmüştür. Bu duruma sebep, örneklerin derin dondurucuda bekletilme ve çözülme süreçlerinde atmosferden emilen nem olma ihtimali yüksektir. Genel olarak enzim muamelesi görmüş tohumlarda nem oranı daha yüksektir. Enzimler çözelti şeklinde tohuma eklendiği için, nem emiliminin bunu sağladığı düşünülebilir.

Yağlı pres keklerinde Kjeldahl yöntemiyle ölçülen protein oranları % 21 - 28 arasında tespit edilmiştir. Çeşitler ve muameleler arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemsizdir. TS 319 (TSE, 2003b) standardına göre haşhaş keklerinde % 30 - 35 oranında protein bulunmalıdır. Aynı standart, kekler için nem oranını da en çok % 12 olarak belirtmektedir. Ancak bu standart özütleme, ekspeller ve adi pres sisteminde üretilen küspeler içindir. Soğuk pres ve ön hazırlık işlemleri bu çalışmada farklı sonuçlar

alınmasına neden olmuştur. Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de verilen protein değerlerinin birbirine çok yakın olduğu, küçük farklılıkların oranlamadan kaynaklandığı düşünülebilir. Genel olarak soğuk pres işleminde tohumda protein kaybı olmamaktadır. Böylece besin değeri yüksek yağlı kek elde edilmektedir. Yağlı tohumlardan yağ elde etmede farklı teknikler uygulanmaktadır (mekanik presleme, vidalı presleme, çözen ekstraksiyonu ve bunların muhtelif kombinasyonları gibi). Ancak soğuk pres yöntemi daha çok rafine edilmeden de tüketilebilecek kaliteli ham yağ üretimi için tercih edilmektedir. Bundan dolayı bu sistemde yağ veriminden fedakarlık yapılarak yüksek kaliteli yağ elde edilmesi amaçlanmaktadır. Soğuk pres sonucunda yağlı keklerde % 4 - 16 arasında yağ kaldığı tespit edilmiştir. Bu önemli bir oran olmakla beraber, kullanılan pilot sistemde daha fazla yağ elde etmek ve kekta daha az yağ bırakılması mümkün olmamıştır. TS 319 standardına göre, haşhaş küspelerinde % 3 - 6 arasında yağ bulunmalıdır. Mavi tohumda (% 16.86) tam tersi bir durum olmakla beraber sarı (% 4.21) ve beyaz (% 10.03) tohumlarda enzim muamelesinin kekta kalan yağ miktarını düşürdüğü gözlenmiştir. Yağlı keklerde kalan kül miktarı da % 5 - 10 arasında ölçülmüştür. Yine standardın bildirdiği ortalama değere (% 9) yakın bir bulgu söz konusudur. Benzer şekilde çeşitler ve muameleler arasındaki farklar istatistik olarak önemsizdir. Ham selüloz ve yabancı madde miktarları bu çalışmada ölçülmemiştir. Bunlar için standartta sırasıyla % 17 ve % 1 değerleri bildirilmiştir. Genel olarak soğuk pres yöntemiyle fazla hasar görmeden ve solvent kullanılmadan elde edilen haşhaş yağlı keklerinin, değerli bir yem hammaddesi olmasının yanı sıra, bazı işlemlerden geçirildikten sonra insan gıdası olarak kullanılabilir olduğu değerlendirilmiştir.

4.3. Soğuk Pres İşleminde Yağ Verimi

Herbir tekerrür üretiminde dekantasyon işleminden sonra elde edilen berrak haşhaş yağlarının, üretimde kullanılan tohum miktarına oranlanması ile yüzde değer olarak yağ verimlilikleri tespit edilmiştir. Çizelge 4.3.'de yağ verimleri ve sediment içeriklerine ait veriler yer almaktadır.

Elde edilen yağ verimleri, muamele ($p=0.066$) ve çeşit ($p=0.083$) etkisinden bağımsız olarak değişmiştir. Soğuk pres haşhaş yağlarının sediment içeriklerinin çeşit ($p=0.159$) ve muamele ($p=0.808$) farklılıklarından etkilenmediği belirlenmiştir. Yağ verimleri incelendiğinde; kontrol örnekleri arasında sıralamanın çoktan aza doğru ofis 4-sarı>ofis 3-mavi>ofis 8 beyaz şeklinde olduğu görülmektedir. Kavurma işlemi beyaz ve mavi çeşitlerde verimde artışa neden olurken, sarı çeşitde azalma gözlenmiştir. Enzim ön

işleminin ise mavi çeşitin yağ veriminde değişime neden olmasa bile, beyaz ve sarı çeşitler göz önüne alındığında genel olarak olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Haşhaş tohumlarının soğuk pres yağ verimleri (%) ve sediment içerikleri (%)

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Yağ verimi	Kontrol	21.89±6.89	27.85±5.76	28.44±4.03	26.06±5.47	p=0.083
	Kavurma	22.18±0.28	29.36±2.62	24.33±7.42	25.29±4.83	
	Enzim	28.31±1.70	27.82±1.77	38.36±0.58	31.49±5.44	
	Toplam p=0.066	24.12±4.54	28.34±3.04	30.37±7.48		
Sediment miktarı	Kontrol	1.92±0.08	1.17±0.31	2.19±0.82	1.76±0.62	p=0.159
	Kavurma	1.91±0.07	1.53±0.37	1.33±0.81	1.58±0.40	
	Enzim	1.89±0.42	1.35±0.18	1.68±0.37	1.64±0.35	
	Toplam p=0.808	1.91±0.19	1.35±0.28	1.73±0.66		

Yapılan bir çalışmada (Erinç ve ark., 2009), 8 farklı çeşit haşhaş tohumundan soxhelet cihazı kullanılarak çözgen ekstraksiyonuyla yağ elde edilmiştir. Yağ verimi en fazla 527 g/kg olarak, en az ise 483 g/kg olarak rapor edilmiştir. Soğuk pres tekniğiyle kıyaslandığında çözgen ekstraksiyonunun yağ verimi açısından çok daha üstün ve net olduğu görülmektedir.

Benzer bir diğer araştırmada Rahimi ve ark. (2011), farklı haşhaş tohumlarından çözgen kullanarak yağ elde etmişler ve yağ oranını yaklaşık olarak % 35 - 48 aralığında bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda yağ verimi yaklaşık % 22 - 38 olarak bulunmuştur. Soğuk pres yöntemiyle yağ veriminin düşük, kekte kalan yağ miktarının ise çok daha yüksek olduğu bir gerçektir. Ancak bu işlem ile yemeklik kalitede, rafinasyon gerektirmeyen, çözgen masrafı ve riski bulunmayan bir üretim mümkündür. Ancak kekte kalan yağ miktarının daha sonra çözgenle alınması mümkün olup, üretimin amacına ve hedefine göre gerekli seçimleri yapmak olanaklıdır.

Yağda ölçülen sediment, dekantasyon işleminden sonra yağda kalan askıdaki partiküllerin ve nemin bir ölçütüdür. Genel olarak örneklerde % 1.17 - 2.19 oranında sedimente rastlanmıştır. Oldukça düşük olan bu oranın yağ tüketimi açısından bir sorun oluşturmayacağı kanısına varılmıştır. Gerektiği durumlarda soğuk pres sonrası yağın filtrelenmesi veya santrifüj edilmesi mümkündür. Benzer uygulama şişeleme öncesinde natürel zeytinyağlarına uygulanmaktadır.

4.4. Haşhaş Yağlarının Fiziksel Özellikleri

Bu araştırmada üretilen haşhaş tohumu yağlarına ait fiziksel analiz sonuçları Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir. Haşhaş yağlarının kırılma indisi değerleri üzerinde çeşit ($p=0.399$) ve muamelenin ($p=0.636$) etkisi istatistik olarak önemsizdir. Çeşit ve muamele interaksiyonları da istatistiksel olarak önemsiz ($p=0.251$) olduğundan çeşitlerden elde edilen yağların kırılma indisi değerleri muamele farklılığına göre değişim göstermemektedir. Haşhaş yağlarının vizkozite değerleri üzerinde çeşit ($p=0.711$), muamelenin ($p=0.428$), çeşit ve muamele interaksiyonları ($p=0.671$) istatistik olarak önemsiz olduğundan çeşitlerden elde edilen yağların vizkozite değerleri muamele farklılığına göre değişim göstermemektedir. Haşhaş yağlarının L değerleri üzerinde çeşit ($p=0.053$) ve muamelenin ($p=0.315$) etkisi istatistik olarak önemsizdir. Çeşit ve muamele interaksiyonları da istatistik olarak önemsiz ($p=0.186$) olduğundan çeşitlerden elde edilen yağların L değerleri muamele farklılığına göre değişim göstermemektedir. Haşhaş yağlarının a^* değerleri çeşit ($p=0.001$), muamele ($p=0.015$) ve çeşit ve muamele interaksiyonlarından ($p=0.049$) etkilenirken; yağların b^* değerlerinin çeşit ($p=0.270$), muamele ($p=0.109$), çeşit ve muamele interaksiyonlarından ($p=0.253$) etkilenmediği belirlenmiştir. Yine diğer özelliklere benzer şekilde haşhaş yağlarının özgül ağırlık değerleri üzerinde çeşit ($p=0.182$) ve muamelenin ($p=0.209$) etkisi istatistik olarak önemsizdir. Çeşit ve muamele interaksiyonları da istatistik olarak önemsiz ($p=0.422$) olduğundan çeşitlerden elde edilen yağların özgül ağırlık değerleri muamele farklılığına göre değişim göstermemektedir. Bulanıklık değerleri ise farklı olarak; çeşit ($p=0.000$), muamele ($p=0.000$), çeşit ve muamele interaksiyonlarından ($p=0.000$) etkilenmiştir.

Haşhaş yağı örneklerinde kırılma indisi değerleri 1.474 - 1.476 arasında ölçülmüştür. Azcan ve ark. (2004), haşhaş yağları için kırılma indisini ortalama 1.4709 olarak rapor etmiştir. Aynı çalışmada, yağların ortalama yoğunluğu 20 °C'de 0.940 olarak verilmiştir. Bu çalışmada yoğunluk 25 °C'de ve biraz daha düşük olarak ölçülmüştür. Genel olarak elde edilen veriler literatür ile uyumludur. Örnekler için ölçülen vizkozite değerleri 42.8 - 44.3 cP aralığındadır. Bu ölçümü karşılaştıracak herhangi bir değere literatürde rastlanmamıştır. Haşhaş yağlarında bulanıklık değerleri 1 - 181 NTU arasında varyasyon göstermiştir. Hem çeşit hem de muamelelerin bu özellik üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur. En yüksek bulanıklık değerleri kontrol grubu (43.00 - 181.50 NTU) ve ofis8 çeşitinde (1.00 - 181.50) ölçülmüştür.

Çizelge 4.4. Haşhaş yağlarının fiziksel özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Kırılma İndisi (25°C)	Kontrol	1.475±0.000	1.476±0.001	1.475±0.000	1.475±0.000	p=0.399
	Kavurma	1.476±0.002	1.476±0.000	1.476±0.000	1.476±0.000	
	Enzim	1.476±0.000	1.476±0.000	1.475±0.001	1.476±0.001	
	Toplam	1.476±0.000	1.476±0.000	1.475±0.001	1.475±0.001	
		p=0.636				
Vizkozite (25 °C, cP)	Kontrol	43.80±1.55	43.20±0.14	43.15±1.20	43.38±0.93	p=0.711
	Kavurma	43.35±1.06	43.90±0.42	44.30±0.00	43.85±0.66	
	Enzim	43.20±0.14	42.80±0.42	43.65±0.92	43.22±0.59	
	Toplam	43.43±0.63	43.3±0.1	43.66±0.5	43.66±0.5	
		p=0.428				
Özgül Ağırlık (25°C, g/cm³)	Kontrol	0.919±0.007	0.920±0.001	0.921±0.000	0.920±0.001	p=0.182
	Kavurma	0.919±0.009	0.920±0.001	0.920±0.000	0.920±0.000	
	Enzim	0.920±0.004	0.921±0.000	0.920±0.001	0.920±0.000	
	Toplam	0.919± 0.000	0.920± 0.001	0.920± 0.000	0.920± 0.000	
		p=0.209				
Bulanıklık (25 °C, NTU)	Kontrol	181.50±1.50A ^{**a*}	43.00±0.00 Ca	168.00±1.41 Ba	130.83±68.3	p=0.000
	Kavurma	1.00±0.00 Ab	1.00±0.00 Ab	1.50±0.05 Ab	1.17±0.41	
	Enzim	3.50±0.50 Ab	1.00±0.00 Ab	1.50±0.50 Ab	2.00±0.06	
	Toplam	62.00±9.58	15.00±1.69	57.00±5.98	57.00±5.98	
		p=0.000				
L	Kontrol	52.53±1.30	54.09±0.07	52.42±1.44	53.02±1.21	p=0.053
	Kavurma	53.31±0.50	54.05±0.33	54.02±0.53	53.79±0.52	
	Enzim	52.08±1.31	53.64±0.27	54.69±0.08	53.47±1.32	
	Toplam	52.64±1.02	53.93±0.30	53.71±1.24	53.71±1.24	
		p=0.315				
a*	Kontrol	1.87±0.02 Ab	0.63±0.13 Aa	1.33±0.56 Aa	1,27±0.61	p=0.001
	Kavurma	1.28±0.01 Ab	0.31±0.24 Aa	0.09±0.05 Aa	0.56±0.01	
	Enzim	3.31±0.83 Aa	1.29±0.41 Ba	0.24±0.19 Ba	1,62±0.02	
	Toplam	2.15±0.07	0.75±0.01	0.55±0.03	0.55±0.03	
		p=0.015				
b*	Kontrol	3.65±1.28	4.59±0.03	1.75±1.48	3.34±1.09	p=0.270
	Kavurma	4.73±0.20	4.84±0.03	4.87±0.17	4.81±0.18	
	Enzim	3.27±0.99	4.76±0.55	4.54±0.04	4.19±1.01	
	Toplam	3.89±1.23	4.73±0.37	3.73±0.79	3.73±0.79	
		p=0.109				

*Aynı sütündeki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Kavurma işlemiyle bulanıklığın önemli düzeyde azaltıldığı görülmüştür. Enzim muamelesi de daha düşük düzeyde olmak üzere bulanıklığın azalmasına neden olmuştur. Kavurma işleminin daha saf yağ eldesi için önemli bir ön işlem olduğu ortaya konulmuştur. Yağ örneklerinin L değerleri genel olarak birbirine yakın değerlerdedir. Enzim ön işlemi ofis 8 ve ofis 3 çeşitlerine ait yağlarda L değerinde düşmeye neden olurken, ofis 4 çeşidinde kontrol örneğine oranla artış gözlenmiştir. Renk ölçümünün a* bileşeni için 0.09 - 3.31 aralığı ve b* bileşeni için 1.75 - 4.87 aralığı ölçülmüştür. Literatürde daha önce haşhaş tohum yağlarının renk özelliklerine ait herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma haşhaş yağlarının fiziksel özellikleri açısından da literatüre değerli katkılar sağlamaktadır. Yemelik bitkisel yağların genel olarak parlak açık sarı renkte olması tercih edilen bir özelliktir. Bu açıdan bakıldığında, L (berraklık) değerleri yüksek ve a* ile b* değerleri en düşük örnekler olan kontrol grupları renk açısından en kabul edilebilir haşhaş yağları olarak görülebilir. Ancak istenmeyen bir özellik olan bulanıklığın kontrol gruplarında yüksek olması nedeniyle, hem renk bileşenleri hem de bulanıklık açısından en kabul gören örnekler kavurma ön işlemi uygulanan yağlar olmuştur.

4.5. Haşhaş Yağlarının Kimyasal Özellikleri

Bu çalışmada elde edilen haşhaş tohum yağlarına ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Haşhaş yağlarının asitlik değerleri üzerinde çeşit (p=0.285), muamele (p=0.173), çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.997) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının asitlik değerleri muamele ve çeşit farklılığına göre değişim göstermemektedir. Haşhaş yağlarının peroksit değerleri üzerinde çeşit (p=0.017) ve muamele (p=0.029) etkisi istatistik olarak önemli iken, çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.149) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının peroksit değerleri muamele veya çeşit farklılığına göre değişim göstermektedir. Haşhaş yağlarının sabunlaşma sayısı; çeşit (p=0.596), muamele (p=0.120), çeşit ve muamele etkileşimlerinden (p=0.539) etkilenmemektedir. Haşhaş yağlarının iyot sayısı değerleri muamele (p=0.539) ve çeşit (p=0.769) farklılığına göre değişim göstermezken, fenol değerleri üzerinde çeşit (p=0.001), muamele (p=0.001), çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.000) istatistik olarak önemli bulunmuştur. Antioksidan özellikler TEAC değerleri ile incelenmiş ve bu özellik üzerinde çeşit (p=0.120), muamele (p=0.119), çeşit ve muamele etkileşimlerinin (p=0.778) istatistik olarak önemsiz oldukları belirlenmiştir. Haşhaş yağlarının sabunlaşmayan madde

içerikleri ise muamele (p=0.086) ve çeşit (p=0.419) farklılığına göre değişim göstermektedir.

Çizelge 4.5. Haşhaş yağlarının kimyasal özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Serbest asitlik (% linoleik asit)	Kontrol	6.37±1.7	4.00±1.5	3.42±0.92	4.60±1.06	p=0.285
	Kavurma	3.22±0.35	1.50±0.00	1.25±0.07	1.99±0.98	
	Enzim	6.93±2.50	4.05±0.30	4.45±0.46	5.14±1.72	
	Toplam p=0.173	5.51±1.05	3.18±0.18	3.04±1.69		
Peroksit değeri (meq O ₂ /kg)	Kontrol	1.37± 0.28	0.68± 0.44	0.95± 0.24	1.00±0.48	p=0.017
	Kavurma	1.29±0.06	0.82±0.11	0.85±0.11	0.99±0.26	
	Enzim	2.98±0.78	1.82±0.39	0.72±0.23	1.84±0.16	
	Toplam p=0.029	1.88±0.02	1.11±0.67	0.84±0.25		
İyot sayısı (g/100g)	Kontrol	137.00±2.83	132.50±0.71	133.50±2.12	134.33±2.66	p=0.769
	Kavurma	135.00±5.66	141.00±8.49	135.00±0.00	137.00±5.51	
	Enzim	138.50±6.36	134.00±1.41	137.50±3.54	136.67±3.93	
	Toplam p=0.539	136.83±4.31	136.17±5.38	135.00±2.90		
Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g)	Kontrol	184.28±0.07	178.61±7.47	179.31±5.64	180.73±5.02	p=0.596
	Kavurma	187.63±4.65	186.33±2.81	183.49±0.84	185.81±3.19	
	Enzim	182.79±3.00	183.77±1.58	185.79±1.22	184.11±2.11	
	Toplam p=0.120	184.90±3.41	182.90±5.06	182.86±3.93		
Sabunlaşmayan madde (%)	Kontrol	0.67±0.01 ^{**B} b	1.02±0.02 Aa	0.91±0.08 Aa	0.87±0.16	p=0.419
	Kavurma	0.79±0.11 ABab	0.65±0.04 Bb	0.85±0.05 Aab	0.76±0.11	
	Enzim	0.89±0.03 Aa	0.84±0.01 ABab	0.69±0.01 Bb	0.81±0.09	
	Toplam p=0.086	0.78±0.11	0.84±0.16	0.82±0.11		
Toplam fenol (mgGA/100g)	Kontrol	1.33±0.16 Ab	2.63±0.28 Aa	1.69± 0.05 Ab	1.88±0.63	p=0.001
	Kavurma	2.42±0.14 Aab	2.48±0.49 Aa	3.47±0.28 Ab	2.79±0.64	
	Enzim	4.28±0.76 Ba	1.01±0.74 Ca	7.59±0.81 Aa	4.30±1.06	
	Toplam p=0.001	2.68±0.43	2.04±0.99	4.26±0.76		
TEAC (mmol Trolox/g)	Kontrol	30.37±0.54	31.23±3.20	22.61±1.75	28.07±4.84	p=0.120
	Kavurma	27.14±2.06	23.25±3.58	20.26±1.56	23.55±4.16	
	Enzim	43.91±15.3	32.03±2.14	26.62±3.10	34.18±2.74	
	Toplam p=0.119	33.8±2.61	28.84±5.47	23.16±3.78		

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Haşhaş yağı örneklerinde ölçülen serbest asitlik değerleri % 1.3 - 6.9 aralığında değişmektedir. Bu önemli varyasyonda genel olarak kavurma işleminin (% 1.3 - 3.2) asitliği düşürdüğü, öte yandan enzim muamelesinin (% 4.1 - 6.9) ise yükselmeye neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4.5.). Bu etki istatistiki olarak önemli olmamasına rağmen verilerde açıklıkla gözlenmektedir. Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliğine (Tebliğ No: 2012/29) göre, soğuk preslenmiş ve naturel yağlarda yasal olarak asitlik sayısının en fazla 4 mg KOH/g yağ olması öngörülmüştür. Asitliğin % 3'ü geçtiği durumlarda yağda ekşi ve yakıcı lezzetler duyumsanabilir hale geleceği için, tüketiciler açısından artık kabul edilemez bir ürün haline gelmektedir (Kayahan ve Tekin, 2006). Serbest asitliğin yüksekliği durumunda, en azından nötralizasyon işleminin uygulanması

gerekecektir. Halbuki soğuk pres yağı üretmenin bir amacı hiçbir rafinasyon işlemi yapılmaksızın tüketilebilir kalitede yağ üretmektir. Burada kavurma işleminin serbest asitlik kontrolünde çok önemli bir ön işlem olduğu görülmektedir. Öte yandan enzim muamelesi de asitliğin bir miktar artmasına neden olmuştur. Kullanılan enzim preparatlarının içeriğinde yağ hidrolizine sebep olan aktivitenin (lipolitik aktivite) bulunması olasıdır veya enzimin inkübasyon sürecinde kısmen hidroliz olayı gerçekleşmiş olabilir.

Örneklerde ölçülen peroksit değerleri (0.68 - 2.98 meq O₂/kg) düşük olmakla birlikte, enzim muamelesi gören örneklerde istatistiki olarak önemli olmayan düzeyde de olsa bir artış bulunmaktadır. Tespit edilen en yüksek peroksit değeri 2.98 meq O₂/kg olup ofis 8 çeşidinin enzim muamelesi gören örneğinde ölçülmüştür. Bu duruma inkübasyon süresince hava oksijeni ile olan temasın neden olduğu düşünülebilir. Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliğine (Tebliğ No: 2012/29) göre soğuk preslenmiş ve naturel yağlarda peroksit sayısı en çok 15 meq O₂/kg olarak belirlenmiş olup, çalışmamızda tespit edilen değerler limitin oldukça altındadır.

Örneklerin iyot sayısı 133 - 141 aralığında olup kuruyan doymamış yağlar sınıfındadır. Sabunlaşma sayısı 178 - 187 aralığında ve sabunlaşmayan madde oranı % 0.65 - 1.02 aralığında belirlenmiştir. Literatürde (Firestone, 1999) haşhaş yağı için iyot sayısı 132 - 146 olarak, sabunlaşma sayısı 188 - 196 olarak ve sabunlaşmayan madde oranı % 0.4 - 1.2 olarak verilmiştir. Azcan ve ark. (2004) ise haşhaş yağları için sabunlaşma sayısını 234, sabunlaşmayan madde miktarını % 1.03, iyot sayısını 139.6 ve peroksit sayısını 39.0 olarak bildirmişlerdir. Ölçülen değerler verilen literatür bilgileriyle uyumludur.

Haşhaş yağı örneklerinde toplam fenol değeri 1.01 - 7.59 aralığında ve antioksidan kapasite TEAC değeri olarak 20.26 - 43.90 aralığında (Çizelge 4.5) ölçülmüştür. Literatürde haşhaş yağının toplam fenol ve antioksidan kapasitesine dair herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Dolayısıyla doğrudan karşılaştırmak olanaksızdır. Ancak minör bileşenlerce çok zengin bir yağ olarak bilinen naturel zeytinyağı üzerine yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Yılmaz ve Ögütçü (2009) tarafından yapılan çalışmada, naturel zeytinyağlarında toplam fenol içeriği 30 - 208 mg gallik asit/kg yağ ve antioksidan kapasite 0.60 - 5.61 Troloks eşdeğeri/kg yağ olarak ölçülmüştür. Bu verilere göre soğuk pres haşhaş yağı hem fenolik madde miktarı hem de antioksidan kapasite değeri açısından

naturel zeytinyağından daha düşük değerde bir yağdır. Ancak belli oranda antioksidan aktivitenin bulunduğu ve bu değerlerin bir gıda ürünü için ortalama iyi bir değer olduğu da gözden kaçırılmamalıdır.

4.6. Haşhaş Yağlarının Bileşen Özellikleri

Çalışmada elde edilen haşhaş yağlarında bileşen analizleri olarak tokoferol bileşimi, sterol bileşimi ve yağ asidi bileşimi analizleri yapılmıştır. Bir yağın temel karakterini, besin değerini ve stabilite özelliklerini belirlemede önem arz eden bir dizi veri elde edilmiştir. Geçerli analitik teknikler ve cihazlarla yapılan analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 4.6., Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.'de incelenmiştir.

Çizelge 4.6. Haşhaş yağlarının tokoferol bileşimi

Tokoferol (mg/100 g)	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Alfa-tokoferol	Kontrol	2.28±0.13	2.29±0.02	3.35±0.24	2.64±0.57	p=0.001
	Kavurma	1.97±0.05	2.45±0.04	3.39±0.46	2.60±0.70	
	Enzim	1.32±0.32	2.09±0.22	2.69±0.43	2.03±0.71	
	Toplam	1.86±0.48	2.28±0.21	3.14±0.54		
		p=0.034				
Gama-tokoferol	Kontrol	24.98±1.13 **A a	27.90±1.84 Aa	24.78±0.57 Aa	25.89±2.10	p=0.001
	Kavurma	22.74±0.94 Aa	27.85±0.05 Aa	24.14±1.56 Aa	24.91±2.62	
	Enzim	15.60±2.39 Bb	26.74±1.24 Aa	24.60±0.96 Aa	22.31±5.58	
	Toplam	21.11±4.72	27.49±1.52	24.51±1.25		
		p=0.027				
Toplam tokoferol	Kontrol	27.26±1.42	30.19±2.58	28.12±1.14	28.52±1.95	p=0.001
	Kavurma	24.71±1.26	30.29±0.13	27.52±2.84	27.51±2.85	
	Enzim	16.92±3.83	28.83±2.07	27.29±1.96	24.35±6.17	
	Toplam	22.96±5.18	29.77±1.65	27.65±1.67		
		p=0.022				

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitden elde edilen her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Haşhaş yağlarının alfa-tokoferol içerikleri üzerinde çeşit (p=0.001) ve muamele (p=0.034) etkisi önemli iken çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.694) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının alfa-tokoferol içerikleri sadece çeşit farklılığından ve muameleden etkilenmektedir. Haşhaş yağlarının gama-tokoferol içerikleri üzerinde çeşit (p=0.001), muamele (p=0.027), çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.042) istatistik olarak önemlidir. Haşhaş yağlarının gama-tokoferol içerikleri muamele ve çeşit farklılığına göre değişim göstermektedir. Haşhaş yağlarının toplam tokoferol içerikleri üzerinde çeşit (p=0.001) ve muamele (p=0.022) etkisi istatistik olarak önemli iken çeşit ve muamele etkileşimleri (p=0.063) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının toplam tokoferol

içerikleri muamele veya çeşit farklılığına göre değişim göstermektedir ve çeşit-muamele interaksiyonları etkili değildir. Gama-tokoferol açısından örnekler incelendiğinde; en yüksek değerler tüm muamele gruplarında ofis 3-mavi çeşidinde tespit edilmiştir. Kavurma ve enzim ön işlemleri gama-tokoferol düzeylerinde azalmaya neden olmuştur.

Erinç ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada önemli miktarda (195.37 - 280.85 ppm) γ -tokoferol (ortalama değer 261.31 ppm) ve α -tokoferol (21.99 - 45.83 ppm, ortalama değer 33.03 ppm) tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada, Bozan ve Temelli (2008) toplam tokoferol miktarı 11.0 mg/100g haşhaş tohumu olarak bulunmuştur. Bu çalışmada haşhaş yağında sadece α - ve γ -tokotrienol belirlenmiştir. Genel olarak çalışmamızda elde edilen bulgular literatürde bildirilen verilerle uygun bulunmuştur. Haşhaş yağı örneklerinin sterol bileşimi ise Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Sterol bileşimi üzerinde yapılan istatistik analizler sonucunda; yağ örneklerinde tespit edilen tüm sterol çeşitleri (kolesterol, brassikasterol, 24-metilen kolesterol, kampesterol, stigmasterol, delta-7 kampesterol, delta-5,23 stigmastadienol, klerosterol, beta-sitosterol, delta-5 avenasterol, delta-5,24 stigmastadienol, delta-7 stigmastenol, delta-7 avenasterol) üzerinde hem çeşitin hem de muamelelerin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Sadece kolesterol içeriği üzerinde muamele etkisi önemsiz bulunmuştur. Örneklerin toplam sterol içerikleri de beklenildiği şekilde çeşit ve muamele farklılıklarından etkilenmiştir.

Erinç ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada 8 çeşit haşhaş tohumundan elde edilen yağlarda toplam sterol konsantrasyonu ortalama olarak 2916.20 ppm olarak belirlenmiştir. Ana sterol çeşitleri β -sitosterol (663.91 - 3244.39 ppm), kampesterol (228.59 - 736.50 ppm) ve Δ^5 -avenasterol (103.90 - 425.02 ppm) olarak bildirilmiştir. Bir diğer kaynakta (Firestone, 1999), % değer olarak verilen sterol bileşimi şöyledir; beta-sitosterol % 68, kampesterol % 22, stigmasterol % 3 ve Δ^5 ve Δ^7 -avenasterolün her birisi % 2. Bu çalışmada ana sterol bileşenleri olarak kolesterol 1.44 - 4.46 ppm, kampesterol 266 - 469 ppm, stigmasterol 40 - 66 ppm, beta-sitosterol 698 - 1555 ppm, Δ^5 -avenasterol 80 - 266 ppm ve toplam sterol 1140 - 2482 ppm olarak ölçülmüştür. Genel olarak çalışmamıza ait bulgular literatür verileriyle uyumludur. Sonuçlar incelendiğinde kavurma işleminin ve enzim muamelesinin steroller üzerinde doğrudan çok belirgin bir artış veya azalışa neden olmadığı görülmektedir. Kontrol grupları kıyaslandığında farklar bulunmaktadır, ancak

farklılığın yönü değişkendir. Bu çalışmada elde edilen haşhaş yağlarında yapılan yağ asitleri bileşimi analizinin sonuçları ise Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Haşhaş yağlarının sterol bileşimi

Sterol (ppm)	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Kolesterol	Kontrol	4.02±0.25 **A ^a	1.28±0.05 Bb	3.50±0.04 Aa	2.94±1.31	p=0.045
	Kavurma	4.46±0.85 Aa	3.06 ±1.15 ABab	1.44±0.26 Bb	2.98±1.63	
	Enzim	2.65±0.01 Aa	3.44±0.21 Aa	3.22±0.17 Aab	3.10±0.40	
	Toplam p=0.918	3.71±1.02	2.59±1.26	2.72±1.02		
Brassikasterol	Kontrol	TEDB	1.81±0.38	TEDB	-	p=0.000
	Kavurma	TEDB	TEDB	2.61±0.32		
	Enzim	TEDB	TEDB	TEDB		
	Toplam p=0.000					
24-metilen kolesterol	Kontrol	55.68±0.21 Aa	35.14±0.97 Bb	59.82±2.73 Aa	50.22±11.96	p=0.000
	Kavurma	35.78±2.96 ABc	42.31±0.34 Aab	30.77±2.28 Bb	36.28±5.69	
	Enzim	48.31±0.34 Bb	45.61±2.57 Ba	63.42±0.64 Aa	52.45±8.74	
	Toplam p=0.000	46.59±9.20	41.02±5.09	51.33±16.17		
Kampesterol	Kontrol	466.71±10.7 Aa	280.79±2.78 Bc	469.67±2.06 Aa	405.72±97.04	p=0.000
	Kavurma	428.58± 6.41 Ab	403.02±1.03 Ba	266.21±0.43 Cc	365.93±78.19	
	Enzim	432.32±0.11 Ab	381.19±0.87 Bb	449.99±3.12 Ab	421.17±32.03	
	Toplam p=0.000	442.54±20.40	355.00±58.34	395.29±100.40		
Stigmasterol	Kontrol	65.93±1.72 Aa	44.29±0.75 Bc	63.88±0.29 Aa	58.04±10.75	p=0.000
	Kavurma	52.51±0.43 Ac	54.24±1.99 Ab	39.60 ±0.16 Bc	48.78±7.27	
	Enzim	59.36±0.08 Ab	56.96±0.21 Aa	58.75±0.52 Ab	58.36±1.17	
	Toplam p=0.000	59.27±6.11	51.83±6.12	54.078±11.45		
Delta-7 kampesterol	Kontrol	11.49±2.42 Aa	3.62±1.31 Bb	14.61±0.51 Aa	9.91±5.37	p=0.032
	Kavurma	10.01 ±0.15 Aa	3.77±3.77 ABb	1.77±0.05 Bb	5.18±1.52	
	Enzim	9.51±0.01 Aa	12.37±2.25 Aa	15.73±0.22 Aa	12.54±3.13	
	Toplam p=0,002	10.33±1.79	6.58±1.33	10.71±6.95		
Delta-5,23 stigmastadienol	Kontrol	TEDB	1.90±1.90	12.68 ±1.09	-	p=0.000
	Kavurma	TEDB	TEDB	TEDB		
	Enzim	TEDB	9.13± 1.64	15.26±0.22		
	Toplam p=0.000					
Klerosterol	Kontrol	27.67±1.88 Aa	23.48±0.51 Ba	21.73± 0.04 Ba	24.29±2.99	p=0.000
	Kavurma	23.44±0.18 Ab	22.98±0.34 Aa	14.20±0.30 Bb	20.21±4.67	
	Enzim	23.93±0.01 Ab	23.57±1.06 Aa	20.53±0.02 Ba	22.67±1.80	
	Toplam p=0.000	25.013±2.38	23.34± 0.83	18.82±3.63		
Beta-sitosterol	Kontrol	1554.7±50.5 Aa	920.7±12.2 Cc	1221.8±13.0 Ba	1232.4±285.7	p=0.000
	Kavurma	1385.8 ±15.4 Ab	1321.9 ±16.8 Aa	697.88± 6.99 Bb	1135.2±340.3	
	Enzim	1363.4 ±0.1 Ab	1217.7±11.4 Bb	1142.7±26.8 Ba	1241.3±102.0	
	Toplam p=0.000	1434.6±99.3	1153.4±186.8	1020.8±253.4		
Delta-5 avenasterol	Kontrol	266.27±9.93 Aa	114.24±1.47 Bb	245.86±1.19 Aa	208.79±74.08	p=0.000
	Kavurma	245.14±3.50 Aa	240.58 ±4.57 Aa	80.45±0.23 Bb	188.72±83.97	
	Enzim	243.64±0.25 Aa	220.2±13.6 Aa	236.73±4.25 Aa	233.53±14.03	
	Toplam p=0.000	251.68±13.13	191.68±61.36	187.68±83.21		
Delta-5,24 stigmastadienol	Kontrol	13.89 ±0.67 Aa	0.83±0,06 Bb	12.80±0.34 Aa	9.18±4.50	p=0.000
	Kavurma	14.55±0.16 Aa	11.69±2.35 Aa	1.64±0.08 Bb	9.29±3.24	
	Enzim	13.05±0.20 Aa	12.47±0.38 Aa	13.60±0.33 Aa	13.04±0.61	
	Toplam p=0.000	13.83±0.82	8.33±2.01	9.35±2.99		
Delta-7 stigmastenol	Kontrol	TEDB	1,19 ±0,07	TEDB	-	p=0.000
	Kavurma	TEDB	TEDB	TEDB		
	Enzim	TEDB	TEDB	TEDB		
	Toplam p=0.000					
Delta-7 avenasterol	Kontrol	15.28±0.88 Aa	2.06±0.12 Bb	16.32±1.00 Aa	11.22±7.16	p=0.000
	Kavurma	16.27±0.26 Aa	15.82±0.13 Aa	2.97±0.44 Bb	11.68±6.76	
	Enzim	16.22± 0.48 Aa	13.65±2.38 Aa	16.96±0.36 Aa	15.61±2.20	
	Toplam p=0.001	15.93±0.82	10.51±6.78	12.08±5.83		
Toplam Sterol	Kontrol	2481.6±78.8 Aa	1431.3±21.6 Cb	2142.6±17.7 Ba	2018.5±482.3	p=0.000
	Kavurma	2216.5±22.4 Ab	2119.4±3.8 Aa	1139.5±9.5 Bb	1825.1±533.1	
	Enzim	2212.4±0.2 Ab	1996.3±12.2 Ba	2036.9±35.1 Ba	2081.9±105.4	
	Toplam p=0.000	2303.5±147.4	1849.0±328.6	1773.0±493.6		

TEDB:tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

*Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

**Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağ örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Çizelge 4.8. Haşhaş yağlarının yağ asidi bileşimleri

Yağ Asidi (%)	Muamele	Ofis 8-beyaz	Ofis 3-mavi	Ofis 4-sarı	Toplam	
Palmitik asit	Kontrol	8.91±0.13	9.46±0.11	8.73±0.13	9.04±0.35	p=0.000
	Kavurma	8.78±0.01	9.38±0.05	8.66±0.03	8.94±0.35	
	Enzim	8.68±0.12	9.45±0.02	8.71±0.00	8.95±0.39	
	Toplam p=0.262	8.79±0.15	9.43±0.07	8.71±0.07		
Stearik asit	Kontrol	2.29±0.08	2.25±0.04	2.49±0.04	2.34±0.13	p=0.000
	Kavurma	2.21±0.01	2.23±0.01	2.57±0.01	2.33±0.18	
	Enzim	2.32±0.19	2.24±0.02	2.51±0.00	2.36±0.15	
	Toplam p=0.837	2.27±0.11	2.24±0.02	2.52±0.04		
Oleik asit	Kontrol	13.61±0.60	13.56±0.01	14.28±0.07	13.82±0.45	p=0.002
	Kavurma	13.22±0.01	13.51±0.07	14.26±0.08	13.67±0.48	
	Enzim	13.75±0.81	13.57±0.08	14.73±0.00	14.02±0.66	
	Toplam p=0.256	13.53±0.51	13.55±0.06	14.42±0.24		
Linoleik asit	Kontrol	74.52±0.10	74.23±0.14	73.95±0.24	74.24±0.53	p=0.003
	Kavurma	75.21±0.01	74.20±0.09	73.07±0.44	74.17±0.98	
	Enzim	74.65±0.78	74.11±0.09	73.48±0.01	74.08±0.63	
	Toplam p=0.852	74.79±0.65	74.18±0.10	73.50±0.45		
Gama-linolenik asit	Kontrol	0.58±0.00	0.47±0.01	0.52±0.01	0.52±0.05	p=0.000
	Kavurma	0.57±0.01	0.48±0.00	0.58±0.01	0.54±0.04	
	Enzim	0.56±0.05	0.49±0.01	0.55±0.00	0.54±0.04	
	Toplam p=0.352	0.57±0.02	0.48±0.01	0.55±0.03		

Haşhaş yağlarının palmitik asit miktarları (% 8.71 - 9.46) üzerinde çeşit (p=0.000) etkisi önemli iken, muamele (p=0.262) ile çeşit ve muamele interaksiyonları (p=0.620) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının palmitik asit içerikleri sadece çeşit farklılığından etkilenmiştir. Haşhaş yağlarının stearik asit (% 2.21 - 2.57) miktarları üzerinde çeşit (p=0.000) etkisi önemli iken, muamele (p=0.837) ile çeşit ve muamele interaksiyonları (p=0.540) istatistik olarak önemsizdir. Haşhaş yağlarının stearik asit içerikleri sadece çeşit farklılığından etkilenmektedir. Yağ örnekleri % 13.61 - 14.73 oranında oleik asit içermekte olup; bu yağ asidinin çeşit (p=0.002) farklılığından etkilenirken, muamele (p=0.256) ile çeşit ve muamele interaksiyonlarından (p=0.766) etkilenmediği tespit edilmiştir. Haşhaş yağlarının oleik asit içerikleri sadece çeşit farklılığından etkilenmektedir. Linoleik asit (% 73.07 - 74.65) miktarları üzerinde çeşit (p=0.003) etkisi önemli iken, muamele (p=0.852) ile çeşit ve muamele interaksiyonları (p=0.287) istatistik olarak önemsizdir. Yağ örneklerinin gama-linolenik asit miktarları (% 0.47 - 0.58) çeşit farklılığından (p=0.000) etkilenirken, muamele (p=0.352) ile çeşit ve muamele interaksiyonları (p=0.128) istatistik olarak önemsizdir. Yapılan çalışma ile haşhaş yağının linoleik asit grubundan bir bitkisel yağ olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır. Yağ asidi içerikleri linoleik>oleik>palmitik>stearik>gama-linolenik şeklinde sıralanmaktadır. Çeşitler, bu yağ asitlerini hemen hemen aynı oranlarda içermektedirler ve muamelelerin yağ asitlerinin oranlarında önemli bir değişime neden olmadığı söylenebilir.

Bajpai ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada ortalama değerlere göre haşhaş yağlarında ana yağ asitleri oleik asit (% 37.1) > palmitik asit (% 27.3) > linoleik asit (% 17.2) şeklindedir. Yağ miktarı açısından zengin olan örneklerde palmitik asit oranı düşük ve linoleik asit oranı ise yüksektir. Yüksek oranda oleik asit içeren örnekler ayrıca önemli oranda da palmitik asit ve nispeten düşük oranda linoleik asit içermiştir.

Bozan ve Temelli (2003), haşhaş yağında major olarak % 73 linoleik, % 10 palmitik ve % 13 oleik asit bulunduğunu bildirmişlerdir. Azcan ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada ise üç farklı haşhaş çeşidinin GC/MS ile yapılan yağ asitleri profili analizlerinde; stearik asit % 2.5 - 3.2, linolenik asit % 0.4 - 0.6, palmitik asit % 10 - 13, oleik asit % 16.1 - 24.7 ve linoleik asit % 56.4 - 69.2 oranlarında tespit edilmiştir. Ana yağ asidi olan linoleik asit beyaz tohumlulardan elde edilen haşhaş yağında en yüksek oranda (% 69.2) görülürken, mavi tohumlulardan elde edilen yağda en düşük seviyededir (% 56.4). Buna ilave olarak beyaz tohumlulardan elde edilen haşhaş yağında doymamış yağ asitleri oranı (% 85.9) en yüksektir.

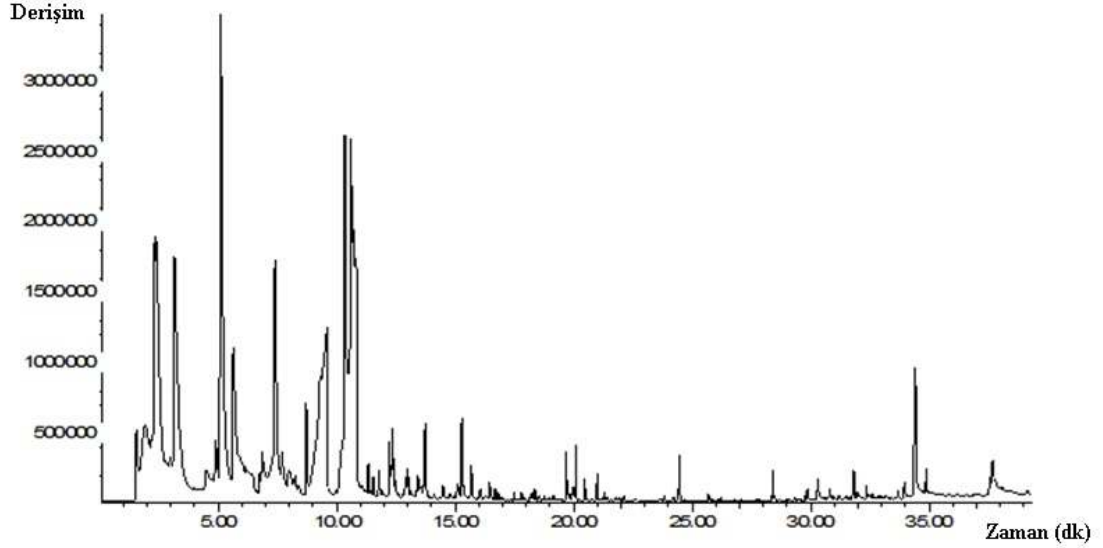
Haşhaş tohum yağları üzerine gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, % 12.20 palmitik, % 0.27 palmitoleik, % 2.30 stearik, % 22.19 oleik, % 59.87 linoleik, % 1.30 linolenik, % 0.67 araşidik, % 0.16 gadoleik ve % 0.29 erusik asitler belirlenmiştir (Ryan ve ark., 2007). Erinç ve ark. (2009), yapmış oldukları çalışmada farklı haşhaş çeşitlerini incelemişler; ana yağ asitleri olarak linoleik asit (687.6 - 739.2 g/kg), oleik asit (141.3 - 192.8 g/kg) ve palmitik asit (76.8 - 92.8 g/kg) belirlemişlerdir.

Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada ortalama olarak 18 farklı haşhaş tohumunda % 8 - 10 palmitik, % 2 - 2.5 stearik, % 13 - 17 oleik, % 68 - 74 linoleik ve % 0.5 - 0.8 oranlarında linolenik asitler belirlenmiştir (Rahimi ve ark., 2011). Genel olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada elde edilen yağ asidi bileşimi bulguları literatür verileriyle örtüşmektedir. Dolayısıyla haşhaş yağını linoleik asitce zengin (linoleik gruptan), ancak yeteri kadar oleik ve palmitik asidi de içeren dengeli, besleyici değeri yüksek bir yağ olarak kabul etmek mümkündür.

4.7. Haşhaş Yağlarının Uçucu (Aromatik) Bileşen Özellikleri

GC-MS sisteminde haşhaş yağı örneklerindeki tüm uçucu bileşenler analiz edilmiş ve elde edilen bulgular Ek çizelge 1.'de gösterilmiştir. Örneklerin uçucu bileşen analizleri

SPME tekniği kullanılarak GC/MS cihazıyla gerçekleştirilmiştir ve toplam ion kromatogramı Şekil 4.1.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. Haşaş yağları aroma analizleri GC/MS kromatogramı

Haşaş yağı örneklerinde toplamda 87 adet aromatik madde tespit edilmiştir. Örneklerin çoğunda tespit edilebilir konsantrasyonda belirlenen başlica uçucu aroma maddeleri 1-hekzanol, 1-okten-3-ol, 1-pentenol, gamma-bütirolakton, gamma-nonalakton, gamma-oktalakton, 2-heptanon, 2-nonanon, 2-pentanon, 3-ethyl-2methyl-1,3-hekzadien, trimetilsil vanilin, alfa-pinen, dI-limonen, merkaptoasetik asit, naftalen, n-dekanal, n-heptanal, n-hekzanal ve kaprilik asitdir. Ek izelge 1. dikkatli incelendiğinde görülmektedir ki uçucu bileşenlerden; 1-hekzanol, 2-heptanon, 2-pentanon, 2-pentil furan, 3-etil-2-metil 1,3-hekzadien, trimetilsil vanilin, 3-okten-2-one, 4-hidroksifenilasetik asit, alfa-pinen, dI-limonen, dimetil sulfon, merkaptoasetik asit, n-hekzanal ve n-nonanal bütün muamele gruplarında tespit edilmiştir. Genel olarak haşaş yağlarının aroması; yağlı, fıstıksı, kremi, kavrulmuş, tatlı-meyve, wax, samansı-aşap, turunçgil gibi ifadelerle tanımlanır. Bu nedenle haşaş yağı, aromatik ve zengin aromaya sahip özel bir bitkisel yağ çeşididir. Ek izelge 1.'de görüleceği üzere aroma bileşenlerinden 4-etil benzealdehit, 2-metil-5-pirazin, 2,3-dimetil-5-etil pirazin, 2,4-nonadienal, 2-etil-3,5-dimetil pirazin ve dimetil sulfoksit sadece kavurma ön işlemi uygulanan haşaş tohumlarından elde edilen yağlarda tespit edilmiştir ve kontrol ile enzim muamele gruplarında bu bileşenler belirlenmemiştir. Bu beklenen bir durum olup; gıdalarda bulunan çeşitli pirazin grupları

genel olarak kavrulmuş, pişmiş, karamelize, acı, fıstıksı, fındıksı ve benzer duysal terimlerle ilişkilendirilmektedir (Ek çizelge 1.). Bu uçucu maddeler genellikle ısı uygulaması sırasında proses uygulanan gıdalar, peynir ve kızarmış biftek vb. gıdalarda oluşarak tüketici tercihlerini pozitif yönde etkilemektedirler (Krist ve ark., 2005). 2-metil propanal ve benzaldehit-fenilmetanal bileşenleri sadece enzim ön işlemi uygulanan tohumlardan elde edilen yağlarda tespit edilmiş olup; 2-metil propanal kuvvetli malt aromasından sorumludur ve enzimatik aktivite sırasında oluştuğu düşünülmektedir. Etanol sadece kontrol örneklerinde tespit edilen ve kavurma ile enzim örneklerinde belirlenemeyen tek uçucu bileşen olmuştur.

Krist ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında, elde ettiğimiz yağ örneklerimizde çok daha detaylı ve fazla sayıda uçucu bileşen tespit edildiği görülmektedir. Bunun sebebinin tohumlara uygulanan ön işlemler olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada haşhaş yağlarında belirlenen 30 farklı uçucu bileşen listelenmiş olup, aynı bileşenler bizim yağ örneklerimizde de tespit edilmiştir. Krist ve ark. (2005)'nin aksine yağ örneklerimizde kamfen, pentanal, bütan-2,3-diol ve heksalakton tespit edilmemiştir. Ancak bazı diğer lakton çeşitleri ve pentanol belirlenmiştir.

4.8. Haşhaş Yağlarının Duyusal Özellikleri

Örneklerde tanımlayıcı duysal analiz lezzet profil testi yöntemiyle, 9 eğitimli panelist tarafından 12 tanımlayıcı terim kullanılarak ve 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerden elde edilen medyan değer ortalamaları Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir.

Non-parametrik Kruskal Wallis Testi her muamele grubunun kendi içinde ayrı ayrı uygulandığında aynı muameleye tabi tutulan çeşitler arasında incelenen 12 farklı aroma terimi açısından istatistik olarak önemli fark olmadığı gözlenmiştir.

Yapılan non-parametrik Kruskal Wallis Testi sonucunda (çizelge 4.10.) çeşitler arasında incelenen duysal özellikler olan haşhaşsı ($p=0.347$), kavrulmuş ($p=0.707$), fındıgımsı ($p=0.735$), samansı ($p=0.606$), buruk ($p=0.685$), mumsu ($p=0.277$), mayamsı ($p=0.236$), baharatlı ($p=0.868$), acı ($p=0.115$), tatlı aromatik ($p=0.343$) ve yakıcı ($p=0.342$) terimleri açısından fark olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Haşhaş yağlarının duysal analizlerine ait medyan değerler

Duyusal Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)
Haşhaşimsı	Kontrol	2.9	2.55	2.7
	Kavurma	2.95	2.65	2.8
	Enzim	2.9	2.65	2.55
Kavrulmuş	Kontrol	2.1	1.8	2.1
	Kavurma	2.7	2.2	2.6
	Enzim	2.85	2.85	2.35
Fındığımsı	Kontrol	2.45	2.15	2.25
	Kavurma	2.55	2.4	2.75
	Enzim	2.2	2.4	2.35
Samansı	Kontrol	1.5	1.7	1.5
	Kavurma	1.4	0.75	1.2
	Enzim	1.35	1.25	1.4
Buruk	Kontrol	1.1	1.15	1.35
	Kavurma	0.9	1.1	0.9
	Enzim	1.4	1.5	0.95
Mumsu	Kontrol	1.3	1.5	1.4
	Kavurma	1.45	1.15	1.3
	Enzim	1.65	1.85	1.3
Mayamsı	Kontrol	1.4	1.1	1.25
	Kavurma	1.1	1.2	0.95
	Enzim	1.6	1.75	1.0
Baharatlı	Kontrol	0.9	1.0	1.1
	Kavurma	1.15	0.85	1.0
	Enzim	1.3	1.2	1.0
Toprak	Kontrol	2.15	1.25	1.35
	Kavurma	1.45	0.7	1.0
	Enzim	1.25	1.15	0.9
Acı	Kontrol	1.4	1.1	1.4
	Kavurma	1.1	0.35	0.8
	Enzim	1.45	1.3	0.8
Tatlı aromatik	Kontrol	0.9	0.65	0.9
	Kavurma	1.2	1.2	1.15
	Enzim	0.7	1.2	1.4
Yakıcı	Kontrol	1.7	1.5	1.7
	Kavurma	1.15	0.9	1.2
	Enzim	1.9	1.3	0.9

Çeşitler arasında toprak terimi açısından ($p=0.038$) olan fark istatistiksel olarak önemlidir. Tohumlar arasındaki genetik varyasyonun, elde edilen yağlar için yapılan duysal tanımlamada çok belirleyici bir faktör olmadığı ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla, tüketici duysal algısı açısından bu tohumlardan elde edilen yağlar birbirleri yerine kullanılabilirler. Haşhaş yağlarında baskın olarak ortaya çıkan duysal tanımlayıcı terimlerin haşhaşimsı, kavrulmuş, fındığımsı ve toprak terimleri olduğu görülmüştür. Çoğu örnekte acı değerleri oldukça düşüktür. Bu durum, yağın kabul edilebilirliği açısından

oldukça önemlidir. Benzer şekilde buruk ve mayamsı terimlerine ait skorların da düşük olması haşhaş yağının kabul edilebilirliği açısından olumlu olarak değerlendirilebilir. Duyusal verilerin sadece çeşitler arası karşılaştırmasında kullanılan veriler Çizelge 4.10' da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Haşhaş yağlarının duyu analizlerine ait medyan değerlerinin çeşitler arası karşılaştırılması

Duyusal Özellik	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)
Haşhaşimsı (p=0.347)	2.8	2.6	2.6
Kavrulmuş (p=0.707)	2.55	2.25	2.25
Fındığımsı (p=0.735)	2.35	2.4	2.4
Samansı (p=0.606)	1.4	1.25	1.4
Buruk (p=0.685)	1.1	1.15	1.0
Mumsu (p=0.277)	1.55	1.40	1.30
Mayamsı (p=0.236)	1.40	1.25	1.0
Baharatlı (p=0.868)	1.1	1.1	1.0
Toprak (p=0.038)	1.5	1.1	1.2
Acı (p=0.115)	1.35	0.9	1.0
Tatlı aromatik (p=0.343)	0.8	1.1	1.2
Yakıcı (p=0.342)	1.45	1.2	1.2

Benzer şekilde verilerin sadece muameleler arasında karşılaştırılması da yapılmıştır. Yapılan non-parametrik Kruskal Wallis Testi sonucunda muameleler arasında incelenen duyu özellikler olan haşhaşimsı (p=0.726), buruk (p=0.121), mumsu (p=0.192), mayamsı (p=0.209), baharatlı (p=0.374), toprak (p=0.132), acı (p=0.088), yakıcı (p= 0.133) terimleri açısından fark olmadığı tespit edilmiştir. Muameleler arasında; beklenen şekilde kavrulmuş (p=0.012), fındığımsı (p=0.032), samansı (p=0.045) ve tatlı aromatik terimleri (p=0.033) açısından olan farklar istatistiksel olarak önemlidir. Duyusal verilerin sadece muameleler arası karşılaştırmasında kullanılan veri Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

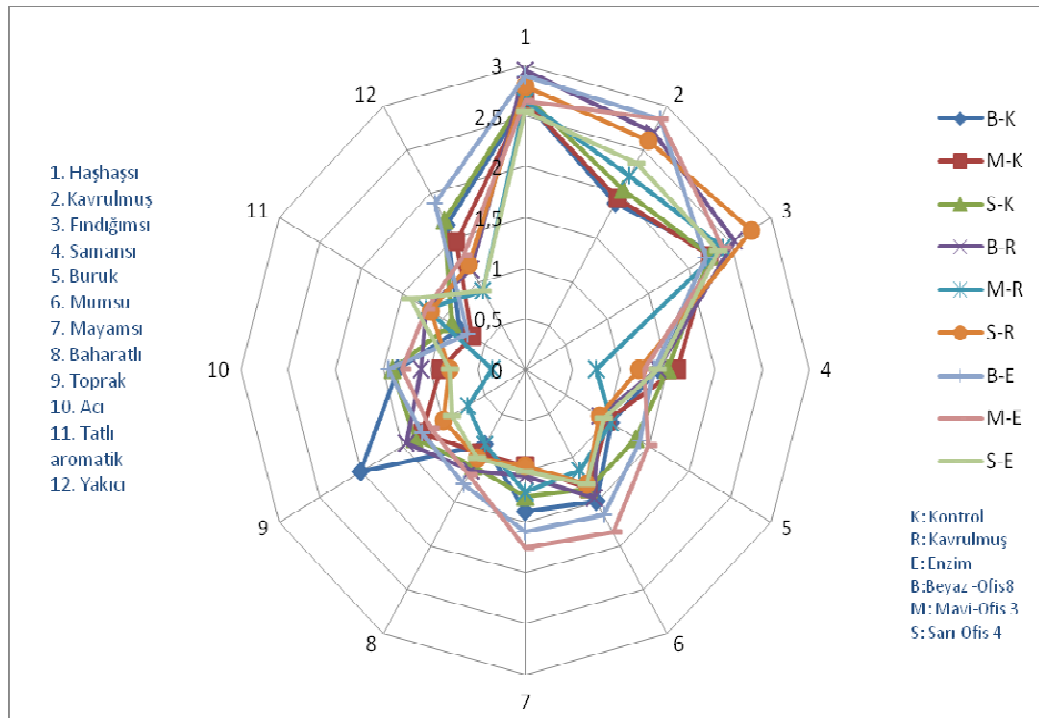
Yağlı tohumlara uygulanan ön hazırlık işlemleri (muameleler) olan kavurma ve enzim etkisi duyu tanımlamalarda kavrulmuş, fındığımsı, samansı ve tatlı aromatik terimlerinde farklılığa neden olmuştur. Özellikle kavurma işlemiyle oluşan Maillard reaksiyonu ürünlerinin adı geçen kavrulmuş, fındığımsı ve tatlı aromatik skorlarını artırdığı görülmüş olup, bu durum beklenen bir sonuçtur.

Çizelge 4.11. Haşhaş yağlarının duyu analizlerine ait medyan değerlerinin muameleler arası karşılaştırılması

Duyusal Özellik	Kontrol	Kavurma	Enzim
Haşhaşimsı (p=0.726)	2.7	2.7	2.6
Kavrulmuş (p=0.012)	2.1	2.5	2.5
Fındığımsı (p=0.032)	2.3	2.5	2.4
Samansı (p=0.045)	1.5	1.2	1.3
Buruk (p=0.121)	1.1	1.0	1.4
Mumsu (p=0.192)	1.4	1.2	1.5
Mayamsı (p=0.209)	1.2	1.1	1.6
Baharatlı (p=0.374)	1.1	1.1	1.2
Toprak (p=0.132)	1.4	1.0	1.2
Acı (p=0.088)	1.25	0.8	1.25
Tatlı aromatik (p=0.033)	0.8	1.2	1.2
Yakıcı (p=0.133)	1.45	1.15	1.35

Öte yandan yapılan muameleler, samansı terimine ait skorlarda düşüşe neden olmuş ve tohumdan gelen ham aromanın önlenmesine yardımcı olmuştur. Dolayısıyla yapılan muamelelerin, özellikle kavurma işleminin, haşhaş yağlarının duyu özellikleri üzerine oldukça olumlu sonuçlar sağladığı söylenebilir.

Örneklerde ölçülen 12 adet duyu tanımlayıcı terimin tüm örneklerde nasıl değiştiğini daha kolay izlemek için örümcek-ağı modeli de uygulanmıştır.



Şekil 4.2. Duyu analiz verilerinin örümcek-ağı modeliyle gösterimi

4.9. Haşhaş Yağlarının Tüketici Testleri

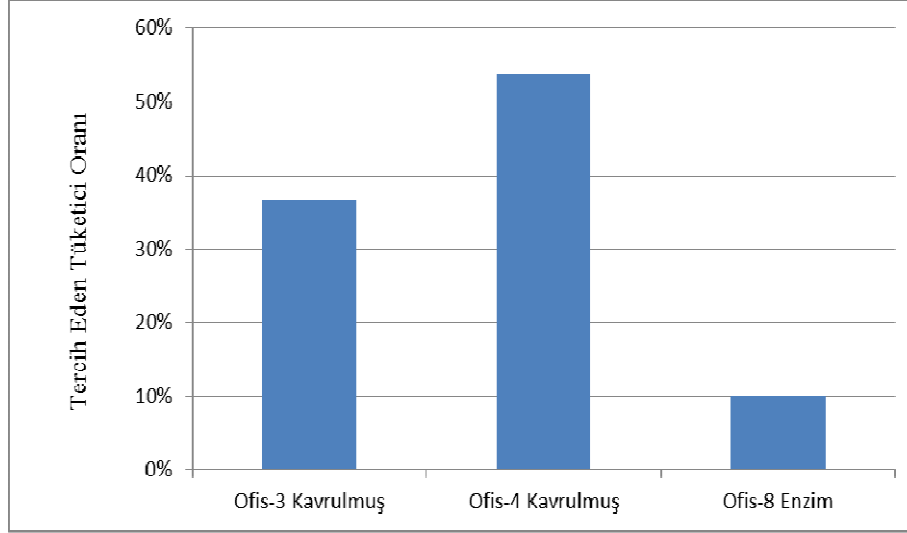
Aromatik bileşenlerin analizi ve duyuusal tanımların ardından, soğuk pres yöntemiyle elde edilen yağların tüketici testleri gerçekleştirilmiştir. Yağ örneklerinin görünüş, renk, koku ve tat özelliklerine ait hedonik veriler Çizelge 4.12.'de görülmektedir.

Çizelge 4.12. Haşhaş yağlarına ait tüketici kabul testleri sonuçları (n = 50)

Örnek	Muamele	Görünüş	Renk	Koku	Tat
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	3.68±0.17* ^C	3.70±0.17 ^C	3.54±0.15 ^B	3.38±0.16 ^B
	Kavrulmuş	4.10±0.14 ^B	4.04±0.15 ^B	4.00±0.16 ^A	3.98±0.14 ^A
	Enzim	4.84±0.15 ^A	4.86±0.14 ^A	4.04±0.17 ^A	3.90±0.17 ^A
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	4.66±0.11 ^A	4.52±0.11 ^A	3.70±0.12 ^B	3.70±0.14 ^A
	Kavrulmuş	4.70±0.11 ^A	4.52±0.12 ^A	4.11±0.14 ^A	4.09±0.14 ^A
	Enzim	4.66±0.15 ^A	4.54±0.15 ^A	3.45±0.17 ^C	3.54±0.16 ^B
Ofis 4 (sarı)	Kontrol	4.48±0.13 ^B	4.33±0.13 ^B	4.02±0.15 ^B	4.71±0.61 ^A
	Kavrulmuş	4.82±0.12 ^A	4.89±0.11 ^A	4.49±0.14 ^A	4.45±0.15 ^B
	Enzim	4.39±0.15 ^B	4.41±0.14 ^B	3.98±0.17 ^B	3.74±0.15 ^C

*Aynı satırdaki büyük harfler aynı muamele uygulanan çeşitler arasındaki hedonik ölçümlerin farklılığını ifade eder.

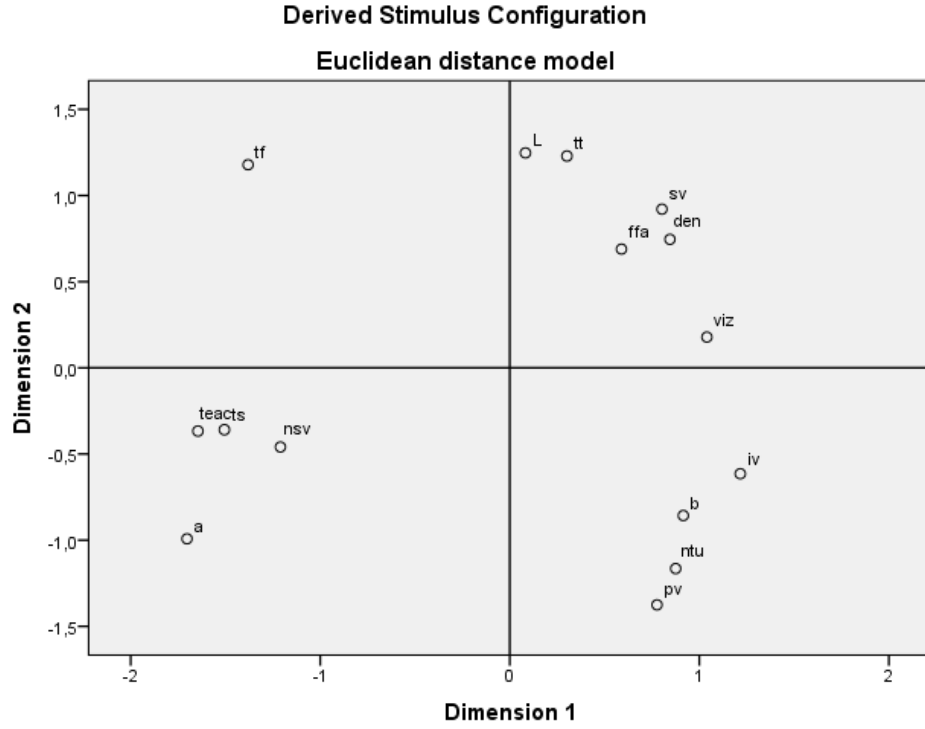
Tüketici testlerinin çoğunluğunda 4 ve üzerindeki skor değerlerinin elde edilmiş olması, haşhaş yağı örneklerinin tüketici beğenisini kazandığını göstermektedir. Genel olarak, kavrulmuş örneklerin tat ve kokuları kontrol ve enzim uygulanan örneklerle göre daha fazla beğenilmiştir. Diğer yandan en düşük koku ve tat skorları, ofis 8 çeşidi hariç olmak üzere, enzim örnekleri arasında tespit edilmiştir. Tüketicilere ait hedonik verilerden yararlanılarak tüketicilerin en çok tercih ettikleri üç örnek belirlenmiştir (Çizelge 4.12.). Seçilen en iyi üç örnek; ofis 3-kavrulmuş, ofis 4-kavrulmuş ve ofis 8-enzim olarak belirlenmiştir. Seçilen bu çeşit ve muamele gruplarına ait yağ örneklerine 3 haneli bir numara verilmiş, 3 oturum olacak şekilde toplamda 150 farklı tüketiciye tadım testi uygulanmıştır. Örneklerin tercih edilme oranları Şekil 4.3.'de verilmiştir. Ofis 4-kavrulmuş grubuna ait örnekler % 53.55 oranı en fazla tercih edilen yağ iken, bunu % 36.66 oranı ile ofis 3-kavrulmuş ve % 10.00 oranı ile ofis 8-enzim örnekleri izlemektedir. Elde edilen verilere dayanılarak, yağ örnekleri sadece duyuusal olarak (sağlığa etkisi veya fiyat etkisi düşünülmezsizin) tüketiciler tarafından değerlendirilirse; kavurma ön işlemi uygulanan örneklerin daha fazla tercih edilebileceği, bunun yanı sıra kavurmanın haşhaş yağlarının kalite ve verim özelliklerinde de artışa neden olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Seçilen haşhaş yağlarının tüketiciler tarafından tercih edilme oranları

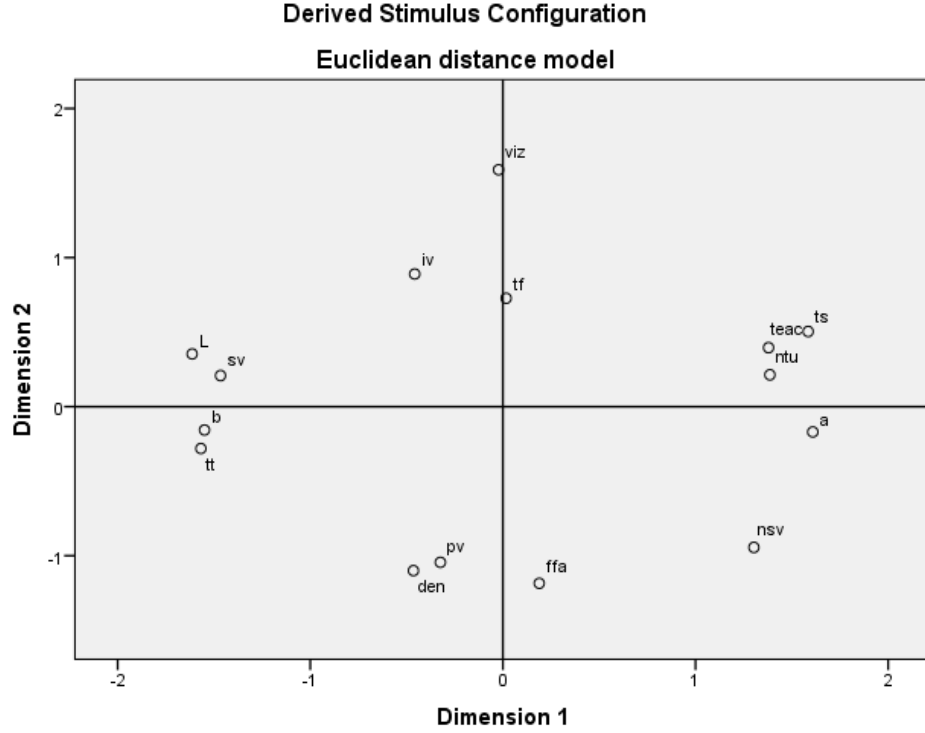
4.10. Verilerin Çoklu Karşılaştırılması

Örneklerde ölçülen parametrelerin birbirleriyle olan çoklu ilişkilerini aynı anda değerlendirebilmek için geliştirilmiş bir istatistik grafik yöntemi olan Multidimensional Scaling (MDS) ile değişkenlerin birbirlerine olan yakınlığı veya benzerliği görsel olarak incelenebilmektedir. Bu analizde ölçümün geçerlilik seviyesi stress değeri ile bildirilmektedir. Genel olarak stress değeri 0.025 ve altında olan verilerin çok iyi, 0.05'e kadar iyi, 0.10'a kadar kabul edilebilir ve 0.20'ye kadar ise zayıf olarak ayrıldığı söylenebilir. Sadece kavurma işlemine tabi tutulan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğin benzerliği ve mesafeleri Şekil 4.4.'de MDS grafiğiyle gösterilmiştir. Stress değeri yüksek olmasına rağmen, birbirinden ayrılmış 4 adet grup görülmektedir. Birinci grupta antioksidan kapasite, toplam sterol miktarı, sabunlaşmayan madde ve a* değeri yer almıştır. Bu örneklerde adı geçen özelliklerin birlikte değiştiği ve korelasyon verdiği söylenebilir. İkinci grup ise; iyot sayısı, b* değeri, bulanıklık ve peroksit sayısından oluşmaktadır. Bu grup örneklerde doymamışlık seviyesinin peroksit sayısı ile ilişkili olduğu söylenebilir. Üçüncü grup; L değeri, toplam tokoferol, sabunlaşma sayısı, serbest yağ asitliği, yoğunluk ve vizkozite değerlerinden oluşmuştur. Yoğunluk ve vizkozitenin ilişkili olması beklenen bir durumdur. Sabunlaşma sayısı ve toplam tokoferol oranının da ilişkili olması beklenebilir. Çünkü tokoller sabunlaşmayan madde sınıfı içinde yer alırlar. Son grup tek başına diğer tüm ölçümlerden ayrılmış görülmekte olup, toplam fenol değerinden oluşmuştur. Kavrulmuş örneklerde toplam fenol oranı diğer parametreler ile ilişkili bulunmamıştır.



Şekil 4.4. Sadece kavurma işlemine tabi tutulan örneklerde ölçülen 15 Fiziko-Kimyasal özelliğe ilişkin dağılım (Stress: 0.20955, RSQ:0.76539) (Kısaltmalar; viz:vizkozite, den:yoğunluk, ntu:bulanıklık, L:değeri, a:a* değeri, b:b* değeri, ffa:serbest yağ asitliği, pv:peroksit değeri, iv:iyot sayısı, sv:sabunlaşma sayısı, nsv:sabunlaşmayan madde miktarı, tf:toplam fenol, teac:trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi, tt:toplam tokoferol, ts:toplam sterol)

Benzer şekilde sadece enzim muamelesine tabi tutulan örneklere ait verilerin MDS analizine ait grafik Şekil 4.5.'de gösterilmiştir ve ölçülen parametrelerin belirgin gruplar halinde ayrıldıkları tespit edilmiştir (stress < 0.2). Peroksit sayısı, yoğunluk ve serbest asitlik birbirine yakın olarak bir grup; antioksidan kapasite değeri, toplam sterol ve bulanıklık değerleri ise diğer grubu oluşturmuştur. L değeri, sabunlaşma sayısı ve toplam tokoferol de birbirine yakın değerler olarak görülebilir. Buradan kısaca şu sonuç çıkarılabilir; enzim muamelesi örneklerde bazı değişimlere neden olmuştur ve dolayısıyla birbirleriyle ilişkili olması beklenen parametreler arasındaki ilişki azalmış veya değişmiştir.

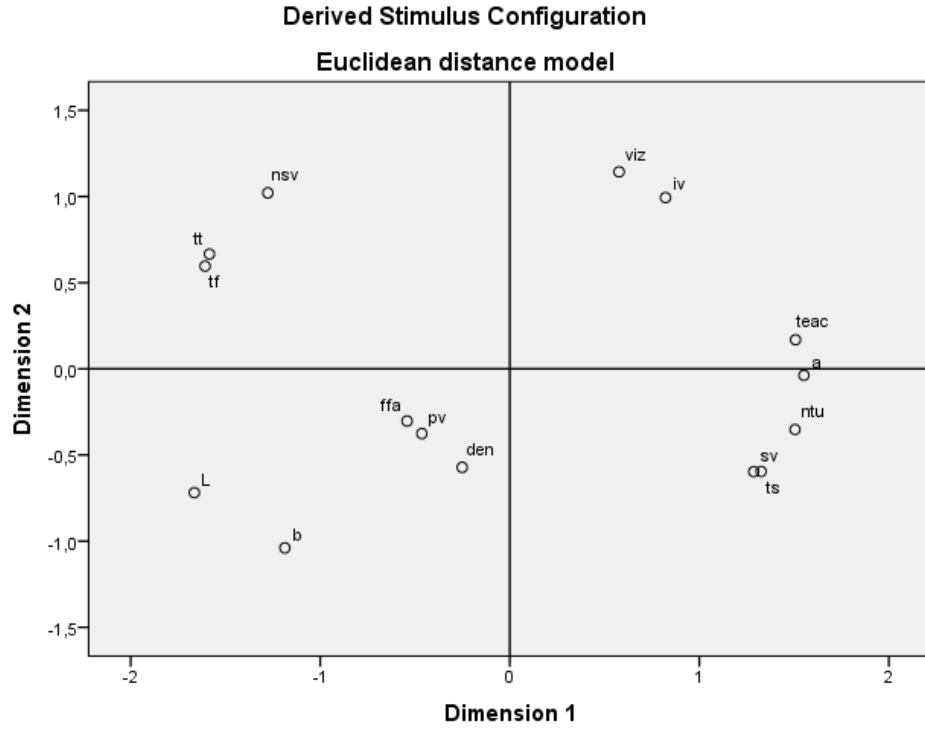


Şekil 4.5. Sadece enzim muamelesine tabi tutulan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım (stress: 0.13177, RSQ: 0.89933). Kısaltmalar; viz:vizkozite, den:yoğunluk, ntu:bulanıklık, L:değeri, a:a* değeri, b:b* değeri, ffa:serbest yağ asitliği, pv:peroksit değeri, iv:iyot sayısı, sv:sabunlaşma sayısı, nsv:sabunlaşmayan madde miktarı, tf:toplam fenol, teac:trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi, tt:toplam tokoferol, ts:toplam sterol

Kontrol grubu örneklerine ait verilerin MDS analizine ait grafik Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde dört belirgin grubun oluştuğu gözlenmiştir. Birinci grupta; serbest yağ asitliği, peroksit değeri, yoğunluk ve biraz mesafeli olmak üzere L ve b* değerleri bulunmaktadır. Genel olarak bozunma parametrelerinin kontrol grubu örneklerinde yoğunlukla ilişkili olduğu söylenebilir. İkinci grupta, antioksidan kapasite değeri, a* değeri, bulanıklık, sabunlaşma sayısı ve toplam sterol bulunmaktadır. Üçüncü grubu vizkozite ve iyot sayısı verileri oluşturmaktadır. Bu örneklerde doymamışlık ile vizkozite ilişkili bulunmuştur. Son grupta ise; sabunlaşmayan madde sayısı, toplam tokoferol ve toplam fenol bulunmaktadır. Bu parametrelerin de birbirleriyle ilişkili olduğu grafiğe göre söylenebilir.

Tüm çeşitler ve tüm muamele gruplarına ait 15 parametrenin MDS analizine dair grafik Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Gerçek bir grup ayırımından söz etmek mümkün olmamıştır. Ancak L ve b* değerinin birbirine yakın; peroksit sayısı, toplam fenol ve

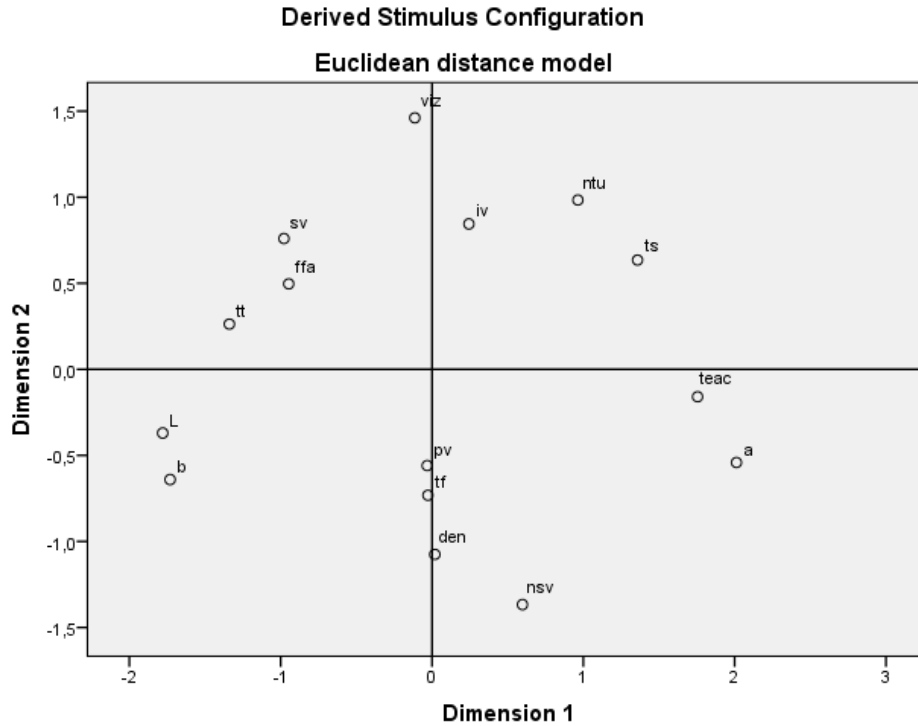
yoğunluk değerlerinin de ilişkili oldukları görülmektedir. Bu analizde hem çeşit hem de muameleler birlikte ele alındığı için parametrelerin kolayca ayrışmadığı düşünülmektedir. Verilerin değerlendirilmesi sırasında örneklere ait ölçümlerin Anova analizlerinde bazı deneme gruplarında çeşit x muamele interaksiyonlarının olduğu belirlenmiş olup; bu sonuç MDS grafiğindeki tam dağılımın olmamasının sebebi olabilmektedir.



Şekil 4.6. Kontrol grubu örneklerinde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım (stress:0.12586, RSQ:0.92016). Kısaltmalar; viz:vizkozite, den:yoğunluk, ntu:bulanıklık, L:değeri, a:a* değeri, b:b* değeri, ffa:serbest yağ asitliği, pv:peroksit değeri, iv:iyot sayısı, sv:sabunlaşma sayısı, nsv:sabunlaşmayan madde miktarı, tt:toplam fenol, teac:trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi, tt:toplam tokoferol, ts:toplam sterol

Haşhaş çeşitlerine uygulanan ön işlem (kontrol, kavurma ve enzim muamelesi) gruplarında ölçülen 15 parametrenin MDS dağılımı ise şekil 4.8’de görülmektedir. 0.00618 stress değeriyle parametrelerin iyi seviyede ayrılmış gruplar oluşturduğu görülmektedir. Grafik incelendiğinde; 15 parametre aynı anda dikkate alındığında kavrulmuş örneklerin aynı boyutta olmak üzere diğer örneklerden ayrıldığı görülmektedir. Benzer şekilde enzim muamelesi uygulanmış örnekler de birbirlerine yakın boyutta yer alarak diğer iki gruptan ayrılmıştır. Kontrol örneklerinin diğer iki gruptan kesin olarak ayrılmış olmasına rağmen, birbirlerine de mesafeli olarak yer aldıkları belirlenmiştir. MDS analizi sonucunda;

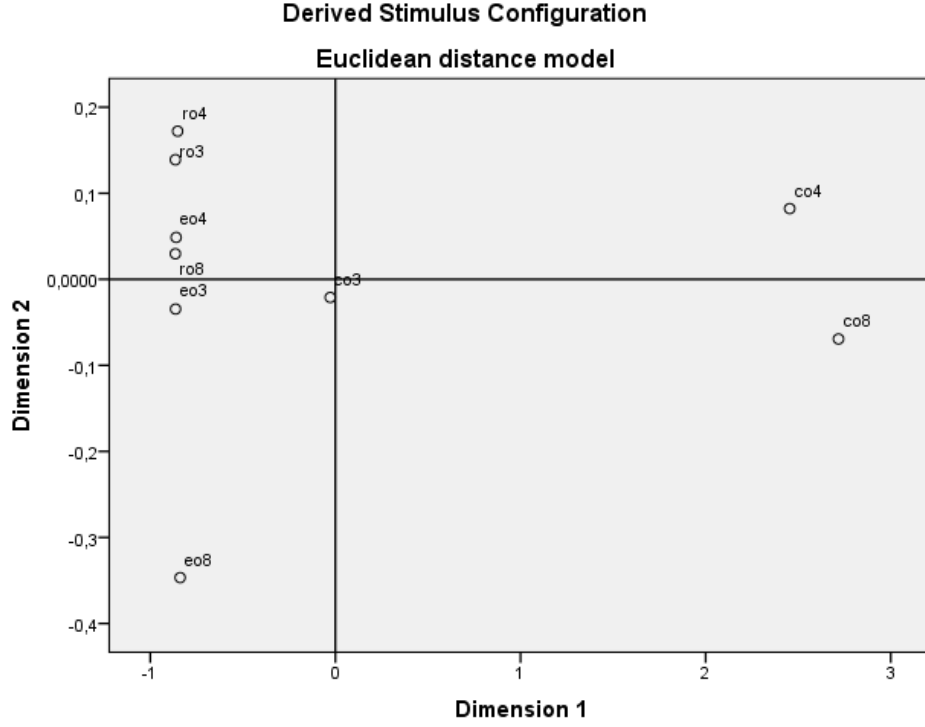
tohumlara uygulanan ön işlemlerin fiziksel ve kimyasal özellikler açısından kesin olarak bazı farklılıklar yarattığı bir kez daha görülmüştür.



Şekil 4.7. Tüm çeşit ve muamele gruplarında ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğe ilişkin dağılım (stress:0.19810, RSQ:0.75821). Kısaltmalar; viz:vizkozite, den:yoğunluk, ntu:bulanıklık, L:değeri, a:a* değeri, b:b* değeri, ffa:serbest yağ asitliği, pv:peroksit değeri, iv:iyot sayısı, sv:sabunlaşma sayısı, nsv:sabunlaşmayan madde miktarı, tf:toplam fenol, teac:trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi, tt:toplam tokoferol, ts:toplam sterol

Benzer bir yaklaşımla; haşhaş çeşitlerinin (ofis 3, ofis 4 ve ofis 8) fiziko-kimyasal analizlerine ait tüm parametrelerin MDS grafiği Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Ofis 8 çeşidi tüm muamele grupları açısından diğer iki çeşitten kesin olarak ayrı bir grup oluşturmaktadır. Ofis 3 çeşidine ait örnekler aynı boyutta ve birbirleri ile ilişki şeklinde ayrı bir grup oluşturmuş, ancak ofis 4 çeşidine ait örnek grupları ile de yakın yerleşim göstermişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen haşhaş yağı örneklerinin aromatik bileşen analizleri sonrasında; 87 adet uçucu bileşenden örneklerin çoğunluğunda tespit edilenler seçilmiş ve 12 adet duyusal tanımlayıcı terimle olan ilişkileri MDS yöntemiyle belirlenmiştir (Şekil 4.10.).

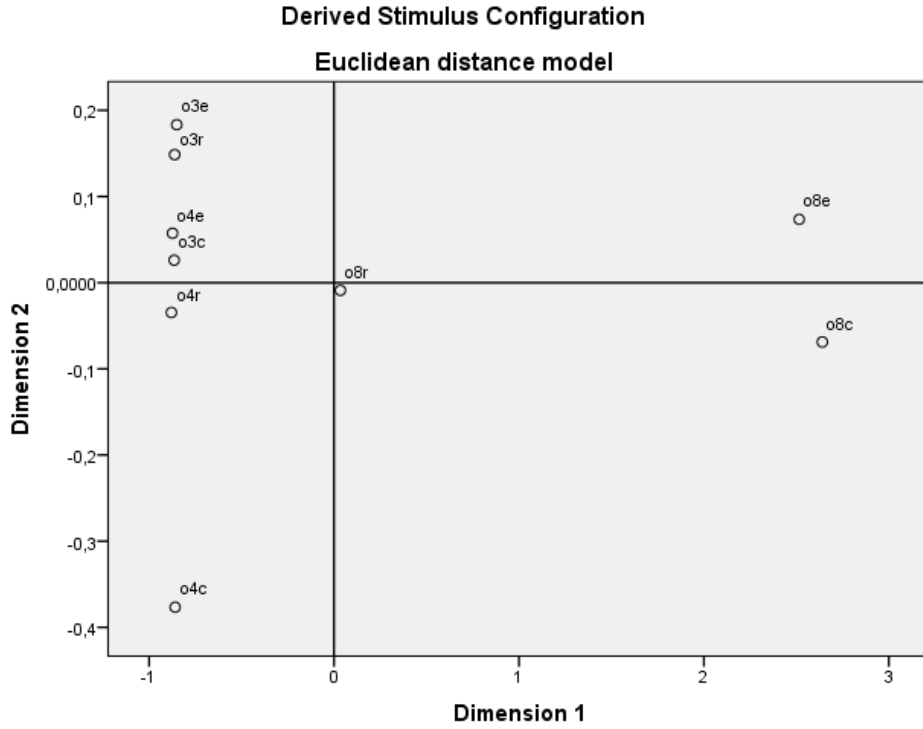


Şekil 4.8. Kontrol, kavurma ve enzim ön işlemleri uygulanan örneklerde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğin dağılımı (stress:0.00618, RSQ:0.99992). Kısaltmalar; co8: kontrol ofis 8, co3: kontrol ofis 3, co4: kontrol ofis 4, ro8: kavrulmuş ofis 8, ro3: kavrulmuş ofis 3, ro4: kavrulmuş ofis 4, eo8: enzim ofis 8, eo3: enzim ofis 3, eo4: enzim ofis 4

Analizde kullanılan uçucu bileşenler seçilirken her 3 haşhaş çeşidinde de bulunmasına ve yüksek konsantrasyonda olmasına dikkat edilmiştir. Aslında aroma maddelerinin konsantrasyonundan daha önemli olan, duyuşal treşhold (duyu eşığı) değeridir. Ancak belirlenen aromatiklerin bir çoğunun treşhold değerleri literatürde bulunmamaktadır. Bulunan az sayıdaki treşhold değeri ise saf suda ölçülen değerlerdir. Halbuki burada belirlenen uçucu bileşenler yağ matriksinden elde edilerek miktar belirlemesi yapılmıştır. Ayrıca haşhaş tohumlarına uygulanan ön işlemler yeni uçucu bileşenlerin ve parçalanma ürünlerinin oluşmasına neden olabilmektedir. Örneklerde ölçülen aromatik madde miktarları ve duyuşal tanımlayıcılar arasındaki çoklu ilişkiler şekil 4.10'da gösterilmiştir.

MDS grafiğı (Şekil 4.10) incelendiğinde ilk dikkati çeken; 'haşhaş, fındık ve kavrulmuş' terimlerinin hem ölçülen uçucu bileşenlerden, hem de birbirlerinden ayrı olarak konumlanmış olmalarıdır. Öte yandan toprak, 'buruk, baharat, saman ve mayamsı' gibi yağlar için çoğunlukla negatif olarak tanımlanan duyuşal özellikler ise birbirlerine

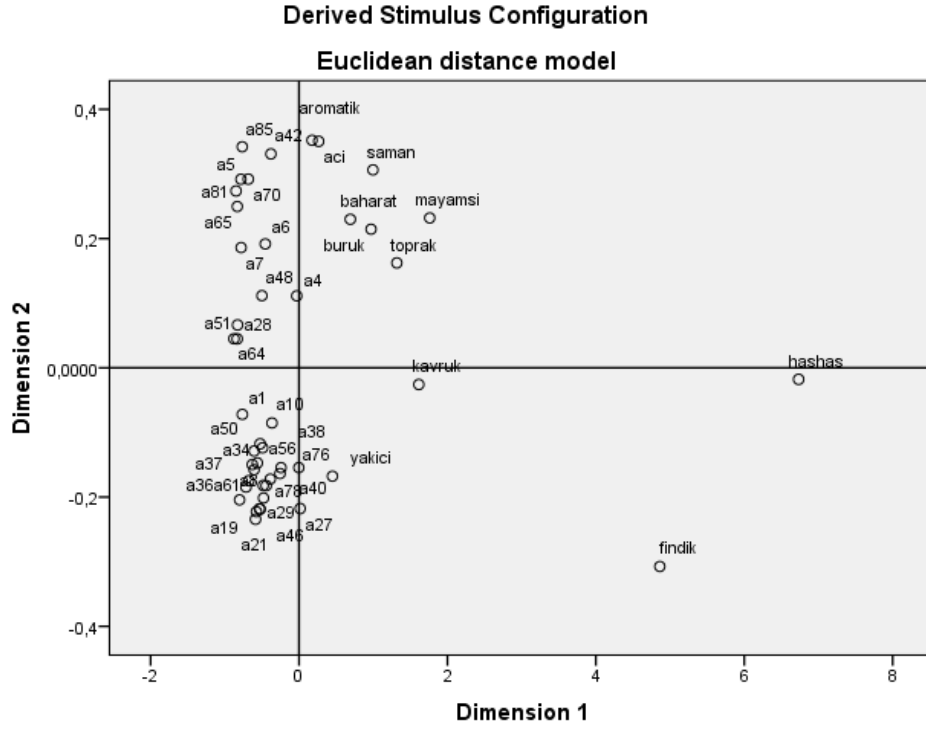
yakın olarak gruplanmışlardır. ‘Acı ve aromatik’ tanımlayıcıları a42 (trimetilsil vanilin-vanilya) ve a85 (pentanoik asit-ransid, peynirimsi) uçucu bileşenleriyle birbirlerine yakın yerleşmişlerdir.



Şekil 4.9. Haşhaş çeşitlerinde ölçülen 15 fiziko-kimyasal özelliğin dağılımı (stress:0.00618, RSQ:0.99992). Kısaltmalar: o8c: ofis 8 kontrol, o8r: ofis 8 kavrulmuş, o8e: ofis 8 enzim, o3c: ofis 3 kontrol, o3r: ofis 3 kavrulmuş, o3e: ofis 3 enzim, o4c: ofis 4 kontrol, o4r: ofis 4 kavrulmuş, o4e: ofis 4 enzim)

‘Yakıcı’ terimine en yakın olarak a38 (2-pentil furan-karamel), a76 (n-hekzanal-çimen, keskin), a40 (3-etil-2-metil 1,3-hekzadien-ham yağ, popcorn), a27 (2-heptanon-kremsi, peynir) uçucu bileşenleri yer almıştır. Bunun dışında herhangi bir duyuşsal terimle yakın bulunmasa da çok sayıda uçucu aromatik bileşen (a1, a10, a21, a27, a29, a36, a37, a38, a40, a50, a56, a61, a76, a78) birbirine oldukça yakın olarak yer almıştır.

Sonuç olarak nominal veriden oluşan uçucu aromatik madde konsantrasyonlarıyla ordinal veriden oluşan duyuşsal tanımlayıcı terimlerin, MDS grafiğinde beklenildiği şekilde ilişkilendirilemediği görülmüştür. Çok fazla parametrenin ve değişken faktörün olduğu (3 tohum çeşidi ve 3 muamele) böyle bir veri setinde daha fazla anlamlı grup oluşma olasılığının da düşük olacağını kabul etmek gerekmektedir.



Şekil 4.10. Haşhaş yağlarında belirlenen aromatik bileşenler ile örneklerin duyu özellikleri arasındaki çoklu ilişkiler (stress:0.03; RSQ:0.99). Kısaltmalar, a1-a87: Ek çizelge 1’ de belirlenen aromatik bileşenleri numaraları

4.11. Haşhaş Yağsız Unlarının Fiziko-Kimyasal Özellikleri

Üç çeşit haşhaş tohumunda temel bileşen analizleri yapılmış ve anti beslenme faktörleri olarak fitik asit ve tanen içerikleri ölçülmüştür. Sonuçlar Çizelge 4.13’de gösterilmiştir. Üç farklı haşhaş çeşidine ait yağsız unlar, incelenen fiziksel ve kimyasal özelliklerin büyük çoğunluğu açısından farklılık göstermektedir ve çeşitler ile muameleler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir. Yağsız unlarda nem değerleri % 11-16 arasında değişim göstermiştir. Kalan yağın solventle ekstraksiyonu sonrasında, sadece solvent uçurulmuş olup, ayrıca bir kurutma işlemi yapılmadığı için küspeden gelen nemin önemli oranda unlarda kaldığı görülmüştür.

İncelenen özellikler arasında sadece yağ ve kül miktarları arasındaki farklar hem çeşit hem de muamele açısından istatistik olarak önemsizdir. Yağsız unların protein içerikleri % 26.87 - 35.14 arasında olup, protein içeriği en yüksek (% 32.87 - 35.14) olan çeşit tüm muamele grupları açısından bakıldığında ofis 4-sarı iken, en düşük protein içerikleri (% 26.87 - 31.70) ofis 3-mavi çeşidine ait muamele gruplarında görülmektedir.

Çizelge 4.13. Haşhaş yağsız unlarının fiziko-kimyasal analiz sonuçları

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Nem (%)	Kontrol	12.16±0.05	12.50±0.33 Ab	12.73±0.33 Ab	12.46±0.33	p=0.045
	Kavrulmuş	13.16±0.19 Ab	12.69±0.36 Ab	11.01±0.04 Bc	12.29±1.03	
	Enzim	16.21±0.06 Aa	15.45±0.29 Aa	14.91±0.06 Aa	15.52±0.60	
	Toplam p=0.000	13.84±1.89	13.55±1.49	12.88±1.75		
Protein (%) (6.25)	Kontrol	31.88±0.76 Ab	28.39±0.09 Bb	32.87±0.12 Ab	31.05±2.13	p=0.000
	Kavrulmuş	33.66±0.48 Aa	31.70±0.05 Ba	35.14±0.74 Aa	33.50±1.59	
	Enzim	31.37±0.72 Bb	26.87±0.99 Cb	33.48±0.33 Ab	30.57±3.07	
	Toplam p=0.000	32.31±1.19	28.99±2.25	33.83±1.11		
Yağ (%)	Kontrol	3.45±0.53 Aa	3.09±1.27 Aa	3.52±0.02 Aa	3.35±0.65	p=0.260
	Kavrulmuş	3.55±0.62 Aa	2.32±0.19 Aa	4.28±0.15 Aa	3.39±0.94	
	Enzim	4.07±0.21 Aa	3.39±1.32 Aa	2.75±0.11 Aa	3.40±0.84	
	Toplam p=0.993	3.69±0.49	2.93±0.96	3.52±0.69		
Kül (%)	Kontrol	8.70±0.91 Aa	9.63±0.30 Aa	10.03±1.11 Aa	9.45±0.89	p=0.506
	Kavrulmuş	10.74±0.34 Aa	9.73±0.97 Aa	8.86±0.80 Aa	9.77±1.02	
	Enzim	11.08±1.22 Aa	11.14±0.99 Aa	9.82±0.78 Aa	10.68±1.03	
	Toplam p=0.129	10.17±1.35	10.16±0.98	9.57±0.89		
L	Kontrol	68.63±0.16 Aa	47.56±1.39 Cab	59.30±0.03 Ba	58.49±9.47	p=0.000
	Kavrulmuş	65.99±0.62 Aa	48.88±1.08 Ca	57.87±0.05 Ba	57.58±7.68	
	Enzim	55.79±0.83 Ab	40.63±1.46 Bb	58.11±0.26 Aa	51.51±8.53	
	Toplam p=0.001	63.47±6.08	45.68±4.09	58.43±0.69		
a*	Kontrol	3.08±0.26 Aa	5.37±0.23 Ab	5.26±0.01 Aa	4.57±1.16	p=0.030
	Kavrulmuş	3.51±0.42 Aa	3.84±0.06 Ab	5.50±0.01 Aa	4.28±0.97	
	Enzim	5.46±0.08 ABa	8.13±0.54 Aa	4.96±0.03 Ba	6.18±1.54	
	Toplam p=0.014	4.02±1.16	5.78±1.96	5.24±0.24		
b*	Kontrol	19.46±0.70 Aa	9.91±0.38 Bb	22.33±0.01 Aa	17.23±5.82	p=0.000
	Kavrulmuş	21.41±0.17 Aa	8.46±0.31 Bb	22.52±0.00 Aa	17.45±6.99	
	Enzim	22.62±0.07 Aa	15.03±0.43 Ba	21.89±0.06 Aa	19.84±3.75	
	Toplam p=0.027	21.16±1.46	11.13±3.10	22.25±0.28		
Vizkozite 25 °C (cP)	Kontrol	590.0±33.9 Aa	1022.5± 6.4 Aa	976.5±43.1 Aa	863.0±213.9	p=0.013
	Kavrulmuş	548.5±2.1 Ba	1084.5±3.5 Aa	946.5±4.9 ABab	859.8±248.9	
	Enzim	349.5±0.7 Aa	132.5±4.9 Ab	521.5±10.6 Ab	334.5±174.4	
	Toplam p=0.000	496.0±116.0	746.5±476.4	814.8±228.5		
Fitik asit (mgP g ⁻¹)	Kontrol	12.34±1.58 Aa	13.43±0.46 Aa	14.16±0.88 Aab	13.31±1.17	p=0.019
	Kavrulmuş	11.54±1.56 Ba	11.57±0.87 Bab	15.08±0.86 Aa	12.73±2.02	
	Enzim	12.32±0.02 Aa	9.96±0.17 Ab	11.40±0.97 Ab	11.23±1.15	
	Toplam p=0.013	12.07±1.07	11.65±1.61	13.54±1.84		
Tanen (mgCE g ⁻¹)	Kontrol	0.78±0.02 Bc	1.03±0.01 Ab	0.68±0.02 Bc	0.83±0.16	p=0.000
	Kavrulmuş	1.23±0.02 Aa	1.24±0.01 Aa	1.13±0.01 Aa	1.19±0.06	
	Enzim	0.99±0.02 Ab	1.03±0.00 Ab	0.87±0.02 Ab	0.97±0.07	
	Toplam p=0.000	1.01±0.20	1.12±0.10	0.89±0.20		

* Aynı sütündeki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler aynı ön işlem uygulanan her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Eklund ve Ågren (1975) tarafından yapılan çalışmada, beyaz haşhaş çeşidinden elde edilen pres kekinde ham protein oranı % 40.6, mavi çeşitten elde edilen kekte ise % 27.4 olarak tespit edilmiş olup, bizim çalışmamızda elde edilen verilerle uyumludur. Unlardaki protein içeriğinin tohum çeşidine önemli derecede bağlı olduğu görülmüştür. Öte yandan kalan yağ miktarı uygulanan solvent ekstraksiyonunun etkenliğiyle alakalı bir durumdur. Genel olarak yağ oranı % 4'ün altına düşürülmüştür ve daha da azaltılması belki solvent miktarının, ekstraksiyon süresinin ve tekrarının artırılmasıyla mümkün olabilecektir.

Ancak bizim daha sonraki analitik gereklerimiz için bu seviye yeterli görülmüştür. Yağsız unlardaki kül miktarı % 8 - 11 arasında değişmiştir. Haşhaş tohumu küspeleri için TS 319 (TSE, 2003b) standardında ortalama % 9 kül miktarı bildirilmiştir. Yağ giderildikten sonra kül miktarında oransal bir artış gerçekleşmiştir.



Şekil 4.11. Haşhaş yağsız unları

Literatür incelendiğinde haşhaş yağsız kekleri üzerine yapılmış olan önceki çalışmalarda rapor edilmemiş olmasına rağmen, bu çalışmada ölçülen yağsız unlara ait aletsel renk verileri, tohumların renk isimlendirmeleriyle uyumludur. Genel olarak beyaz tohum tüm muamele gruplarında en yüksek L değerine (berraklık) (55.79 - 68.63) sahiptir. CIE renk ölçüm sisteminde L = 0 (siyah), L = 100 (beyaz), a* değeri (+a* = kırmızı, -a* = yeşil) ve b* değeri (+b* = sarı, -b* = mavi) olarak belirlenmiştir (Pomeranz ve Meloan, 1994). Kavurma ve enzim muamelesi ön işlemleri tüm çeşitlere ait yağsız keklerin renk özellikleri üzerinde oldukça etkilidir ($p \leq 0.005$). Kontrol grupları incelendiğinde en yüksek

kırmızılık değeri (a*) ofis 3-mavi (5.37) ve en yüksek sarılık değeri (b*) ise ofis 4-sarı (22.33) çeşidinde ölçülmüştür (Şekil 4.11.).

Vizkozite değerleri yağsız un ile hazırlanan % 20' lik dispersiyonlarda oda sıcaklığı şartlarında ölçülmüştür. Kıvam açısından bakıldığında, görünür vizkozitenin kavurma işlemi sonucunda çok büyük değişim göstermemesine karşın, enzim muamelesi sonucunda kıvamın önemli oranda düştüğü görülmektedir. En yüksek vizkozite değerlerine sahip olan ofis 3-mavi (132.5 - 1084.5 cP) çeşidinde bu düşüşün daha keskin olduğu belirlenmiştir. Ingyang ve Nwadiemka (1992) yaptıkları çalışmada yağsız susam unu ile hazırlanan % 1'lik dispersiyonların vizkozitesini 2.5 cP, % 10'luk dipersiyonların vizkozitesini ise 7.0 cP olarak bildirmişlerdir. Bu veriler yağsız haşhaş unu ile kıyaslandığında oldukça düşük değerlerdir. Bunun sebebi bizim çalışmamızda kullanılan dispersiyondaki örnek oranının daha fazla olması (% 20) ve haşhaş yağsız ununun su bağlama yeteneğinin susam ununa göre (2.3 g/g) daha fazla olması olarak düşünülmüştür. Literatürde haşhaş unlarına ait herhangi bir veri olmadığı için doğrudan karşılaştırma imkanı bulunmamaktadır.

Fitik asit içerikleri açısından kontrol grupları incelendiğinde çeşitlerin birbirine yakın verilere (9.96 - 15.08 mgP g⁻¹) sahip oldukları görülmektedir. Ofis 8-beyaz çeşidinin fitik asit miktarı (11.54 - 12.34 mgP g⁻¹) muameleler ile az değişim gösterirken, ofis 3-mavi (9.96 -13.43 mgP g⁻¹) ve ofis 4-sarı (11.40 - 15.08 mgP g⁻¹) çeşitlerinde ön işlemlerin daha etkili olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, diğer bazı tohumlarla beraber haşhaş tohumundaki fitik asit miktarı ölçülmüştür. Haşhaş tohumu ununda 8.08 mg/g seviyesinde fitat-P bulunmuştur (Eklund, 1975). Bu çalışma ile karşılaştırıldığında bizim çeşitlerimizde, fitik asit miktarlarının bu değerden biraz daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tanen içeriklerinin tüm ön işlem grupları açısından ofis 3-mavi (1.03-1.24 mgCEg⁻¹) çeşidinde en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak kavurma uygulanan gruplarda daha yüksek tanen değerleri (1.13 - 1.24 mgCEg⁻¹) elde edilmiştir. Literatürde, haşhaş tohumunun tanen içeriği ile ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Sharma ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada farklı yağlı tohumlardan elde edilen proteinlerin tanen içerikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda tanen miktarları badem için 0.7 mg/g, brezilya cevzinde 0.3 mg/g, kestane 0.3 mg/g, fındıkta 0.9 mg/g, macadamia fıstığında 0.3 mg/g, çam fıstığında 0.0 mg/g, antepfıstığında 1.3 mg/g, soya fasulyesi W82 çeşidinde ise 0.2 mg/g olarak tespit edilmiş olup, haşhaş unu tanen içeriklerinin bu tohumların protein

ekstraktlarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak protein ekstraksiyonu esnasında undaki tanenin bir kısmının kaybedilmesi de mümkündür.

4.12. Haşhaş Yağsız Unlarının Mineral Madde İçerikleri

Çizelge 4.14. Haşhaş yağsız unlarının mineral madde içerikleri

Mineral madde (ppm)	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Zn	Kontrol	11.60±0.00	6.25±0.07 Cb	9.60±0.00 Bb	9.15±2.42	p=0.000
	Kavrulmuş	11.35±0.35 Ab	6.25±0.07 Cb	9.40±0.28 Bb	9.00±2.31	
	Enzim	13.60±0.14 Ca	18.30±0.00 Aa	16.95±0.21 Ba	16.28±2.16	
	Toplam	12.18±1.12	10.26±6.22	11.98±3.85		
Ba	Kontrol	0.06±0.00 Bb	0.07±0.00 Ba	0.57±0.00 Ab	0.23±0.06	p=0.000
	Kavrulmuş	0.055±0.07 Bb	0.07±0.00 Ba	0.55±0.00 Ac	0.24±0.05	
	Enzim	0.11±0.00 Ba	0.06±0.00 Ca	0.61±0.01 Aa	0.26±0.08	
	Toplam	0.08±0.01	0.07±0.00	0.58±0.02		
Fe	Kontrol	0.23±0.00 Bb	0.22±0.07 Bb	0.39±0.00 Aa	0.28±0.08	p=0.000
	Kavrulmuş	0.23±0.00 Bb	0.22±0.07 Bb	0.38±0.07 Aa	0.28±0.08	
	Enzim	0.79±0.07 Aa	0.26±0.07 Ba	0.27±0.00 Bb	0.44±0.27	
	Toplam	0.42±0.29	0.23±0.02	0.35±0.06		
B	Kontrol	1.29±0.02 Aa	0.47±0.01 Cb	1.23±0.07 Ba	1.00±0.40	p=0.000
	Kavrulmuş	1.26±0.02 Aa	0.46±0.00 Bb	1.23±0.07 Aa	0.98±0.40	
	Enzim	0.75±0.07 Ab	0.61±0.07 Ba	0.53±0.07 Cb	0.63±0.09	
	Toplam	1.09±0.27	0.51±0.07	1.00±0.36		
Mn	Kontrol	1.01±0.07 Aa	0.92±0.01 Ba	0.90±0.00 Bab	0.94±0.05	p=0.000
	Kavrulmuş	0.99±0.01 Aa	0.91±0.00 Ba	0.89±0.07 Bb	0.93±0.04	
	Enzim	0.94±0.07 Ab	0.86±0.01 Bb	0.92±0.07 Aa	0.90±0.03	
	Toplam	0.98±0.03	0.90±0.03	0.90±0.01		
Mg	Kontrol	58.29±1.58 Ba	50.97±0.95 Ca	62.29±1.75	57.18±5.25	p=0.000
	Kavrulmuş	58.26±1.53 Ba	50.91±0.86 Ca	62.13±1.52	57.09±5.20	
	Enzim	53.79±0.57 Bb	49.89±0.04 Ca	67.00±0.89 Aa	56.89±8.03	
	Toplam	56.78±2.52	50.59±0.78	63.81±2.71		
Ca	Kontrol	281.75±1.77 Ba	279.65±2.19	289.10±3.25	283.50±4.8	p=0.000
	Kavrulmuş	280.00±0.71Ba	277.85±0.35	288.85±2.90	282.23±5.3	
	Enzim	268.55±2.05 Bb	263.65±0.92	285.80±0.99	272.67±10.	
	Toplam	276.77±6.53	273.72±7.91	287.92±2.59		
Cu	Kontrol	0.51±0.00 Ba	0.43±0.07 Ca	0.59±0.00 Aa	0.51±0.07	p=0.000
	Kavrulmuş	0.51±0.07 Ba	0.42±0.00 Ca	0.59±0.00 Aa	0.50±0.07	
	Enzim	0.50±0.01 Aa	0.38±0.00 Bb	0.51±0.07 Ab	0.46±0.06	
	Toplam	0.50±0.008	0.41±0.02	0.56±0.04		
Al	Kontrol	0.62±0.07 Bb	0.68±0.00 Ab	0.48±0.07 Cb	0.59±0.09	p=0.000
	Kavrulmuş	0.61±0.00 Bb	0.68±0.00 Ab	0.48±0.07 Cb	0.59±0.09	
	Enzim	0.83±0.07 Aa	0.84±0.01 Aa	0.75±0.07 Ba	0.81±0.04	
	Toplam	0.68±0.10	0.73±0.08	0.56±0.14		
Na	Kontrol	288.0±9.1 Ab	310.2±2.5 Ab	101.2±2.0 Bb	233.1±102.	p=0.000
	Kavrulmuş	298.4±5.6 Ab	301.7±14.4	97.8±6.8 Bb	232.6±104.	
	Enzim	776.7±15.1 Ca	3507.0±2.8 Aa	2875.5±2.1 Ba	2386.4±12	
	Toplam	454.3±249.8	1373.0±603.5	1024.8±433.5		
K	Kontrol	2620.0±116.0	3640.5±753.1	1163.5±13.4	2644.7±98	p=0.000
	Kavrulmuş	1563.5±36.1 Bb	5439.0±468.0	1163.0±14.1	2721.8±22	
	Enzim	2206.5±3.5 Ba	5469.0±36.8	5305.0±46.7	4326.8±16	
	Toplam	2130.0±479.3	4242.5±705.4	2749.3±1037.		

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

Haşhaş unlarının mineral madde içerikleri ICP-MS cihazı ile ölçülmüştür. Haşhaş unlarında belirlenen mineral maddeler ; Zn (6.25 - 18.30 ppm), Ba (0.05 - 0.61 ppm), Fe (0.22 - 0.79 ppm), B (0.53 - 1.29 ppm), Mn (0.89 - 1.01 ppm), Mg (49.89 - 67.00 ppm), Ca (263.65 - 289.10 ppm), Cu (0.38 - 0.59 ppm), Al (0.48 - 0.84 ppm), Na (97.8 - 3507 ppm), K (1163.0 - 5469 ppm) dir. Ağır metaller olan kurşun, kobalt, kadmiyum, nikel ve krom ise analiz edilmiş ancak tespit edilememiştir. Haşhaş unlarının mineral madde içerikleri aşağıda Çizelge 4.14.'de sunulmuştur.

Belirlenen mineral maddelerin miktarları üzerinde çeşit etkisi ($p=0.000$) beklenildiği şekilde önemli iken, magnezyum hariç olarak belirlenen diğer minerallerin tamamında muamele etkisi ($p=0.000$) önemlidir. Yağsız haşhaş unlarının özellikle kalsiyum, magnezyum, sodyum ve potasyum bakımından zengin oldukları belirlenirken, demir açısından fakir oldukları görülmüştür.

Eklund (1975) tarafından yapılan çalışmada, haşhaş kek ununda 110.8 mg/g demir ve 260.8 mg/g da fosfor bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kullanılan çeşitlerin demir içerikleri bu bulgudan düşük iken, fosfor içerikleri ise oldukça yüksektir. Literatürde konuyla ilgili başka kaynağa rastlanmamıştır.

4.13. Haşhaş Yağsız Unlarının Fonksiyonellik Testleri

Çizelge 4.15.'de görüldüğü gibi farklı tohum hazırlama işlemleri, elde edilen yağsız unların fonksiyonel özellikleri üzerine önemli derecede etki yapmıştır. Proteinlerin su ve yağ absorblama kapasiteleri polar ve non-polar amino asit kompozisyonu ile ilgilidir (Martinez-Flores ve ark., 2002). Haşhaş keklerinin su bağlama kapasitesi üzerinde muamele etkisi ($p=0.011$) önemli iken, çeşit etkisi ($p=0.823$) istatistik olarak önemsizdir. Belirlenen su bağlama kapasiteleri 2.14 - 3.14 g/g arasında değişmekte olup, en yüksek değer olan 3.14 g/g ile ofis 8-beyaz çeşidin kontrol örneğinde tespit edilmiştir.

Kavurma işlemi ile birlikte beyaz çeşidin su bağlama kapasitesi düşme gösterirken, ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı çeşitlerinde yükselme olduğu görülmektedir. Enzim muamelesi ise her üç çeşit içinde su bağlama kapasitesinde düşüşe neden olmuştur. En düşük su bağlama kapasitesi değeri mavi çeşidin enzim muamelesi örneğinde (2.24 g/g) tespit edilmiştir.

Srinivas ve Narasinga Rao (1986) tarafından yapılan çalışmada, yağsız haşhaş unlarının su bağlama kapasitesi 1.24 g/g olarak tespit edilmiş olup, bizim çalışmamızdaki değerler bu veriden oldukça yüksektir. Her üç tohum çeşidi için de en düşük su bağlama değerleri enzim muamelesi uygulanan örneklerde tespit edilmiştir. Adebowale ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada ise *Legume* ailesine mensup “mucuna” fasulyesinin 6 farklı çeşidi üzerinde çalışılmış ve bu çeşitlere ait yağsız unların su bağlama değerleri 1.40 - 2.20 g/g aralığında tespit edilmiştir. Çalışmamıza ait değerler bu verilerin üzerindedir. Su bağlama kapasitesi; çorbalar, soslar, hamur ve fırıncılık ürünleri gibi gıdalarda proteinlerin önemli bir fonksiyonel özelliğidir. Bu açıdan bakıldığında haşhaş yağsız unu, su bağlama özelliği açısından bu tip gıdalar için uygun bir kaynak olarak görülmektedir.

Haşhaş yağsız unlarının yağ bağlama özellikleri üzerinde hem muamele etkisi ($p=0.000$) hem de çeşit etkisi ($p=0.004$) istatistik olarak önemlidir. Srinivas ve Narasinga Rao (1986a) tarafından yapılan çalışmada haşhaş yağsız kekinin bazı fonksiyonel özellikleri (su tutma kapasitesi, yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon kapasitesi, köpük kapasitesi ve stabilitesi) ölçülmüştür. Burada önemli olan husus bu ölçümlerin sadece yağsız kekte yapılması ve izole edilmiş proteinde çalışılmamış olmasıdır. Bu çalışmada fonksiyonel özellikler çok kısıtlı ve dar bir çerçevede belirlenmiştir.

Örneklerimize ait değerler (1.83 - 2.26 g/g) bu çalışmada tespit edilen (2.5 g/g) veri ile genel olarak uyumludur ve çalışmamızda en yüksek yağ bağlama oranları kavurma gruplarında (2.06 - 2.25 g/g) gözlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada “mucuna” fasulyesinin 6 farklı çeşidine ait yağsız unların yağ bağlama değerlerinin 2.1 - 2.6 g/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiş olup, haşhaş yağsız unu değerlerine yakındır (Adebowale ve ark., 2005).

Madhusudhan ve Singh (1985) tarafından yapılan çalışmada ise ham keten tohumu unlarında su bağlama kapasitesi 3.45 g/g iken, ısı uygulanan unlarda 4.43 g/g olarak tespit edilmiştir. Yağ bağlama kapasiteleri ise ham ve ısı uygulanan unlar için sırasıyla 2.36 ve 1.37 g/g'dır. Isı uygulaması su bağlama kapasitesinde artışa neden olurken, yağ bağlama kapasitesi düşmüştür. Yine yapılan başka bir çalışmada ısı uygulanan fasulye unlarının su ve yağ bağlama kapasitelerinin sırasıyla % 38 ve % 57 oranında arttığı bildirilmiştir (Narayana ve Narasinga Rao, 1982).

Çizelge 4.15. Haşhaş yağsız unların fonksiyonellik özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
WHC-Su bağlama kapasitesi (g/g)	Kontrol	3.14±0.23 A** a	3.03±0.29 Aa	2.80±0.31 Aa	2.99±0.26	p=0.823
	Kavrulmuş	2.86±0.37 Aa	3.07±0.23 Aa	3.22±0.22 Aa	3.05±0.27	
	Enzim	2.48±0.32 Aa	2.24±0.17 Aa	2.66±0.52 Aa	2.46±0.34	
	Toplam p=0.011	2.83±0.38	2.78±0.45	2.89±0.39		
OHC-Yağ bağlama kapasitesi (g/g)	Kontrol	2.26±0.10 Aa	1.98±0.03 Bab	1.92±0.04 Bb	2.05±0.16	p=0.004
	Kavrulmuş	2.25±0.12 Aa	2.06±0.06 Ba	2.13±0.02ABa	2.15±0.10	
	Enzim	1.89±0.02 Ab	1.83±0.03 Ab	2.00±0.05Aab	1.91±0.08	
	Toplam p=0.000	2.13±0.20	1.96±0.11	2.014±0.10		
EA-Emülsiyon aktivitesi (%)	Kontrol	50.00±0.00 Ab	16.66±0.00 Cb	25.00±0.00Bb	30.55±15.51	p=0.000
	Kavrulmuş	70.83±5.89 Aa	33.33±0.00 Ca	54.16±5.89Ba	52.78±17.21	
	Enzim	4.17±0.00 Ac	4.17±1.17 Ac	3.33±0.00 Ac	3.89±0.68	
	Toplam p=0.000	41.66±30.61	18.05±8.09	27.49±12.96		
ES-Emülsiyon stabilitesi (%)	Kontrol	41.66±0.00 Aa	16.66±0.00 Ba	25.00±0.00Ba	27.77±11.38	p=0.000
	Kavrulmuş	54.16±5.89 Aa	16.66±11.78 Ca	37.49±5.89Ba	36.11±18.00	
	Enzim	1.67±0.00 Ab	4.16±1.17 Aa	3.33±0.00 Ab	3.05±1.25	
	Toplam p=0.000	32.49±24.66	12.49±8.34	21.94±15.68		
FC-Köpüklenme kapasitesi (%)	Kontrol	19.41±2.19 Aa	22.79±2.58 Aa	18.33±0.00Aa	20.18±2.57	p=0.015
	Kavrulmuş	17.91±5.82 Ba	26.20±1.10 Aa	16.96±1.26Ba	20.36±5.29	
	Enzim	2.02±0.01 Ab	3.88±0.05 Ab	5.31±0.64 Ab	3.74±1.50	
	Toplam p=0.000	13.11±9.05	17.63±10.82	13.54±6.43		
FS-Köpük stabilitesi (%)	Kontrol	46.92±9.79 Aa	34.13±4.75 Ab	45.45±12.85Aa	42.17±9.79	p=0.223
	Kavrulmuş	27.88±4.07 Ba	62.74±5.54 Aa	36.67±4.71	54.93±26.29	
	Enzim	50.00±0.00 Aa	50.00±0.00 Aab	35.00±11.21 Aa	53.33±25.82	
	Toplam p=0.851	62.43±30.18	48.96±13.23	39.04±12.35		

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir yağsız un örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Abbey ve Ibeh (2006) tarafından rapor edildiğine göre ısıtma işlemi gören nohut unlarının su bağlama kapasitelerinin 2.4 g/g'dan 3.6 g/g'a, yağ bağlama kapasitelerinin 2.9 g/g iken 3.2 g/g değerine yükselmiştir. Bizim çalışmamızda ise haşhaş yağsız unlarının su bağlama özelliği kavurma ile ofis 8-beyaz örneğinde az bir düşüşe, ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı örnekleri üzerinde ise az bir yükselişe neden olmuştur. Yağ bağlama üzerine ise ısıtma işleminin iyileştirici etkisi olmuştur.

Örneklerin emülsiyon aktiviteleri (% 3.33 - 70.83) üzerinde muamele (p=0.000) ve çeşit (p=0.000) etkisi önemlidir. En iyi emülsiyon özellikleri, tüm muamele grupları açısından incelendiğinde, ofis 8-beyaz (% 4.17 - 70.83) çeşidine aittir. Elde edilen veriler daha önce haşhaş yağsız unu üzerine yapılan çalışmalar ile uyumludur (Srinivas ve Narasinga Rao, 1986a). Örneklerin 80 °C sıcaklıkta 30 dk ısıtılması sonrası belirlenen emülsiyon stabilite değerleri % 1.67 - 54.16 arasındadır ve ofis 8-beyaz çeşidinin kontrol

(% 41.66) ve kavrulmuş (% 54.16) örneklerde en yüksek değerleri verdiği ancak enzim muameleli örneklerde ise ofis 3-mavi (% 4.16) çeşidinin daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Haşhaş yağsız unu veya proteinin emülsiyon stabilitesi ile ilgili yapılmış literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Keten tohumu üzerine yapılan bir çalışmada ısı işlem uygulamasının köpüklenme kapasitesi ve stabilitesi ile emülsiyon aktivitesinde düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir (Madhusudhan ve Singh, 1985). Narayana ve Narasinga Rao (1982) tarafından yapılan çalışmada, ısı uygulaması ile fasulye unlarının emülsiyon ve köpüklenme kapasitelerinin sırasıyla % 35 ve % 18 oranında azaldığı bildirilmiştir. Martinez-Flores ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışma sonucunda, keten tohumundan elde edilen protein konsantratlarının emülsiyon stabilitesi pH 8.0 için % 88.4, pH 4.0 için % 50 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamız sonucunda elde edilen haşhaş yağsız unlarının pH 7.0 değerinde belirlenen emülsiyon stabilite değerleri % 1.67 - 54.16 arasında olup, keten tohumu ile bu fonksiyonel özellik açısından benzer olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda örneklerin köpüklenme kapasiteleri (pH 7.0) ile oda sıcaklığı şartlarında 30 dk sonraki köpük stabilitesi de test edilmiştir. Köpüklenme kapasiteleri % 2.02 - 26.20 arasında olup, kontrol (% 22.79) ve kavurma (% 26.20) gruplarında en yüksek değerler ofis 3-mavi çeşidinde tespit edilmiştir. Bu özellik üzerinde muamele (p=0.000) ve çeşidin (p=0.015) etkisi önemli olarak bulunmuştur. Srinivas ve Narasinga Rao (1986a) yapmış oldukları çalışmada yağsız haşhaş ununun köpüklenme kapasitesini pH 6.5 için % 104 ve pH 8.0 için % 106 olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda elde edilen değerler bu verilerin oldukça altında olup, bu sonucun çeşit etkisinden ve yağsız unların düşük protein içeriklerinden (% 26.87 - 35.14) kaynaklandığı düşünülebilir. Ancak Sharma ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada; badem, kestane ve soyadan elde edilen protein izolatlarının protein içeriklerinin (sırasıyla % 92.72, 92.29 ve 94.80) yüksek olmasına rağmen köpüklenme kapasitelerinin ve stabilitelerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada incelenen tüm yağlı tohum çeşitlerine ait proteinlerin (badem, kestane, brezilya cevizi, fındık, macadamia fıstığı, çam fıstığı, antepfıstığı, soya fasulyesi W82) köpüklenme kapasitelerinin \leq % 40 olduğu rapor edilmiştir. Protein içeriğinin yanı sıra, proteinlerin çeşidi de köpüklenme özelliklerini belirleyen önemli bir faktördür (Sharma ve ark., 2010). Örneklerimize (pH 7.0) ait köpük stabilitesi değerleri, oda sıcaklığında 30 dk bekletilen örneklerde başlangıçtaki köpük miktarının kalan kısmının yüzde olarak ifadesidir. Haşhaş yağsız unlarında yapılan çalışmada belirlenen 30 dk sonraki stabilite değeri (pH 8.0) % 40

olup, bizim örneklerimize ait değerlerle uyumludur (Srinivas ve Narasinga Rao, 1986a). Adebowale ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada “mucuna” fasulyesinin 6 farklı çeşidine ait yağsız unların köpüklenme kapasitesi % 50.0 - 84.3 arasında, 30 dk sonraki köpük stabilitesi ise % 74.0 - 94.0 arasında değişmiş olup, haşhaş yağsız ununa göre oldukça yüksek değerlerdir.

Hrčková ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada ticari yağsız soya unu flavourzyme (exopeptidaz ve endoproteaz kompleksi), novozym (proteolitik enzim) ve alcalase (endopeptidaz) enzimleri ile muamele edilmiştir. Enzim muamelesi soya proteinlerinin köpüklenme kapasitesinde artışa neden olurken, köpük stabilitesi belirgin olarak azalmış ve 4 saatlik hidroliz sonucunda kullanılan enzimler açısından bakıldığında stabilitenin % 2-30 aralığında değiştiği rapor edilmiştir. Stabil bir köpüklenme sağlanabilmesi için kısmen hidroliz edilmiş proteinlere ihtiyaç olduğu ve bazı büyük moleküllü protein bileşenlerinin de köpük stabilizasyonu için gerekliliği bildirilmiştir.

Haşhaş yağsız unlarının jelleşme özellikleri pH 7.0’da incelenerek, katı jel oluşumunun gözlemlendiği en düşük konsantrasyonlar belirlenmiştir (Çizelge 4.16.). Yapılan ön denemelerde; % 10’un altındaki örnek konsantrasyonlarında sadece pıhtı oluşumu gözlemlendiğinden, deneme planı % 10 ve üzerindeki konsantrasyonlarla hazırlanmıştır. En düşük jelleşme konsantrasyonları % 16-20 arasında değişmekte olup, oldukça yüksektir. Kavurma işleminin jelleşme üzerinde olumsuz etki gösterdiği ve her üç haşhaş çeşidinde kavurma gruplarına ait konsantrasyonların (% 20) kontrol gruplarına ait değerlerden (% 16-18) yüksek olduğu görülmüştür. Enzim uygulanan haşhaş çeşitlerine ait yağsız unların jelleşme özellikleri son derece olumsuz etkilenmiş, % 20 örnek konsantrasyonunda pıhtı oluşumu dahi gözlenmediğinden % 38 konsantrasyonuna kadar gidilmiş, ancak bu değerde dahi tam anlamıyla katı stabil bir jel yapısı oluşmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.16.). Literatürde haşhaş yağsız unu veya protein izolatlarının jelleşme özellikleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Adebowale ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada “mucuna” fasulyesinin 6 farklı çeşidine ait unların en düşük jelleşme konsantrasyonlarının % 14-20 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Jelleşme özellikleri, su bağlama kapasitesi ile paralellik göstermektedir ve düşük su absorblama kapasitesi olan unların yetersiz jeller oluşturduğu bilinmektedir. Yüksek protein konsantrasyonlarında ısıtma esnasında moleküller arası temasın artışı sonucunda jelleşme daha kolay oluşur. Yüksek protein çözünürlüğü jelleşme için her zaman gereklidir (Adebowale ve ark., 2005).

Çizelge 4.16. Haşhaş yağsız unlarının jelleşme özellikleri

Çeşit	Muamele	10%	12%	14%	16%	18%	20%	30%	34%	38%
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	pıhtı+sıvı	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	katı jel	katı jel	-	-	-
	Kavrulmuş	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	-	-	-
	Enzim	sıvı	sıvı	sıvı	sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı	pıhtı
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	katı jel	-	-	-
	Kavrulmuş	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	-	-	-
	Enzim	sıvı	sıvı	sıvı	sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı	pıhtı
Ofis 4 (sarı)	Kontrol	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	sıvı jel	-	-	-
	Kavrulmuş	pıhtı+sıvı	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	-	-	-
	Enzim	sıvı	sıvı	sıvı	sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı+sıvı	pıhtı	pıhtı

Sharma ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada en düşük jelleşme konsantrasyonu badem, brezilya cevizi, kestane, fındık, macadamia cevizi, çam fıstığı, antepfıstığı ve soya protein konsantratları için sırasıyla % 6, 8, 8, 12, 20, 12, 10, 16 olarak bildirilmiştir. Yağsız kabak çekirdeği ununda yapılan bir başka çalışmada en düşük jelleşme konsantrasyonu % 8 olarak tespit edilmiştir (Lazos, 1992). Nohut unları üzerine yapılan çalışmalar ham unların en düşük jelleşme konsantrasyonlarının % 16 iken, ısıtma işlem uygulaması sonucunda % 18'e yükseldiğini göstermiştir (Abbey ve Ibeh, 2006). Ingyang ve Nwadinika (1992) tarafından yapılan çalışmada ise yağsız susam ununun en düşük jelleşme konsantrasyonu % 6 olarak belirlenmiş, ancak bu konsantrasyonda zayıf jel oluştuğu güçlü bir jel yapısının ancak % 10'un konsantrasyonu ile sağlandığı bildirilmiştir.

Hrčková ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada ticari yağsız soya unu flavourzyme (exopeptidaz ve endoproteaz kompleksi), novozym (proteolitik enzim) ve alcalase (endopeptidaz) enzimleri ile muamele edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 4 saat süre ile hidroliz sonucunda alcalase enzimi kullanılan örnekler için en düşük jelleşme konsantrasyonu % 2 olarak alınmış, ancak jelin test tüpü çeperinden kaydığı gözlenmiştir. Novozym ile 4 saatlik hidroliz sonucunda % 6 konsantrasyonda zayıf bir jel oluşmuştur. En dayanıklı jel yapısının flavourzyme kullanımı durumunda görüldüğü ve en düşük jelleşme konsantrasyonunun katı jel yapısı oluşumu ile % 2'de görüldüğü anlaşılmaktadır. Yağsız unların jelleşme özelliği işlenmiş et ürünleri, bazı fırıncılık ürünleri gibi gıdalara katkılamada önemli bir özellik olabilmektedir.

4.14. Haşhaş Yağsız Unlarından Protein İzolatlarının Hazırlanması

4.14.1. Optimum tuz konsantrasyonu ve pH değerinin belirlenmesi

Toplam 9 farklı yağsız un örneğinden yüksek verimle haşhaş protein izolatlarının (konsantratlarının) elde edilmesi amacıyla öncelikle optimum şartlar belirlenmiştir. Proteinlerin çözünme ve izoelektrik nokta farklılıklarına göre en iyi ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla; Achouri ve ark. (2012) tarafından susam tohumunda uygulanan teknik bazı modifikasyonlar ile kullanılmıştır. Protein ekstraksiyonunun optimize edilebilmesi için, tohum toplam proteinlerinin ekstraksiyonu pH'ın fonksiyonu olarak farklı tuz konsantrasyonlarında (0-1 M) araştırılmıştır. 0.2 M, 0.6 M ve 1 M konsantrasyonlarındaki tuz çözeltileri ile distile su (kontrol-0 M NaCl) kullanılarak % 10 (w/v) oranında örnek süspansiyonları hazırlanmıştır. Kontrol ve NaCl süspansiyonları (0.2, 0.6 ve 1 M NaCl) yaklaşık 10'er mL olarak test tüplerine alınmış ve pH değerleri 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak 7-12 aralığına (1'er birim arttırarak) ayarlanmıştır. Supernatant kısımlarına geçen protein miktarları Bradford (1976) metodu ile belirlenerek, en yüksek protein içeriğinin belirlendiği tuz konsantrasyonu ve pH değeri protein ekstraksiyonu amacıyla seçilmiştir. Çalışmanın sonuçları Çizelge 4.17'de görülmektedir.

Eklund ve Ågren (1975) tarafından yapılan çalışmada, distile su ve 1 M NaCl kullanılarak pH 3-10 aralığında haşhaş proteinlerinin çözünürlüğü incelenmiştir ve en uygun ekstraksiyon koşulları olarak 1 M NaCl çözeltisi ve pH 9 değeri tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda üç farklı haşhaş çeşidi materyal olarak kullanılarak, üç farklı muamele uygulandığı için distile su haricinde 0.2 M, 0.6 M ve 1 M tuz konsantrasyonlarının denenmesi uygun görülmüş olup, bazik pH değerlerinde yağlı tohum proteinlerinin çözünme özelliklerinin iyi olduğu literatür bilgisine dayanılarak pH 7-12 aralığı seçilmiştir. Bradford (1976) metodu ile çözünen protein miktarları tespit edilerek en yüksek protein değerinin elde edildiği tuz konsantrasyonu ve pH değeri o örnek için optimum ekstraksiyon koşulu olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak Çizelge 4.17.'de görüldüğü gibi ofis 8-beyaz, ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı çeşitlerinin kontrol ve kavrulmuş grupları için optimum şartlar 0.6 M NaCl konsantrasyonu ve pH 11.0 iken, her üç çeşide ait enzim gruplarının şartları 0.2 M tuz konsantrasyonu ve pH 12.0 olarak belirlenmiştir. Achouri ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada susam proteini izolasyonu için optimum şartlar pH 7.5 ve 1 M NaCl konsantrasyonu olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.17. Haşhaş proteini izolasyonunda optimum tuz konsantrasyonları ve pH değerleri.

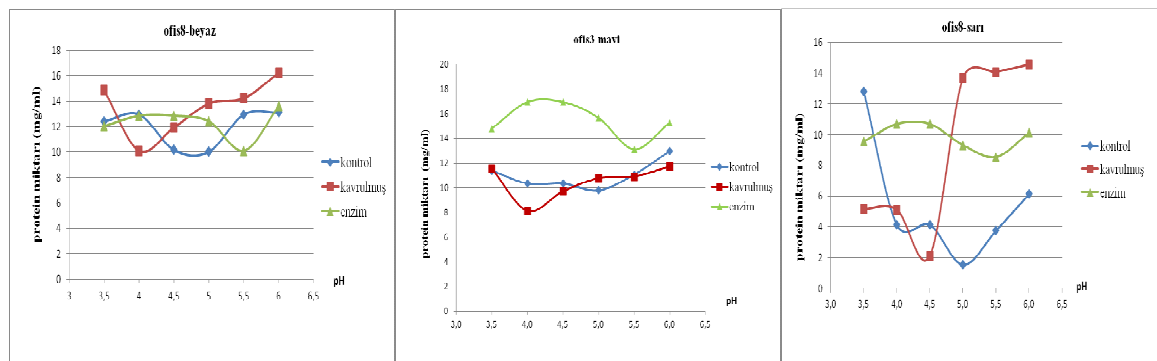
Örnek	pH Değerleri	Protein miktarı (mg/mL)				
		0 M	0,2 M	0,6 M	1,0 M	
<u>Kontrol</u>	Ofis 8 (beyaz)	7	12.65±0.33	13.68±0.22	18.60±0.45	19.63±0.34
		8	12.81±0.33	13.36±0.44	18.52±0.11	21.46±0.22
		9	12.57±0.44	14.71±0.34	20.19±0.22	21.22±0.11
		10	15.50±0.11	15.34±0.32	20.03±0.00	21.22±0.33
		11	15.19±0.56	15.19±0.34	21.54±0.56	19.95±0.11
		12	15.98±0.33	15.03±0.11	19.71±0.22	15.90±0.22
	Ofis 4 (sarı)	8	12.41±0.00	14.47±0.00	20.74±0.11	16.54±0.00
		9	10.34±0.00	11.77±0.22	18.52±0.34	19.79±0.11
		10	11.14±0.22	15.66±0.56	20.98±0.22	19.47±0.11
		11	13.92±0.11	13.28±0.11	21.30±0.00	20.19±0.00
		12	16.30±0.11	14.47±0.00	19.79±0.33	16.30±0.11
		Ofis 3 (mavi)	7	17.57±0.11	15.74±0.22	17.81±0.00
	8		7.81±0.22	15.27±0.22	17.41±0.34	16.46±0.33
	9		8.92±0.45	14.71±0.33	17.57±0.33	17.09±0.33
	10		16.86±0.22	15.66±0.33	18.28±0.00	18.12±0.22
	11		17.33±0.22	16.14±0.11	19.00±0.33	18.13±0.22
	12		9.24±0.44	14.47±0.44	17.96±0.00	18.12±0.22
	<u>Kavruılmış</u>	Ofis 8 (beyaz)	7	3.28±0.11	10.19±0.00	14.95±0.22
8			3.28±0.33	10.27±0.11	15.58±0.00	16.06±0.22
9			4.87±0.33	10.90±0.33	16.06±0.22	15.11±0.44
10			6.53± 0.04	9.87±0.00	19.71±0.22	15.91±0.45
11			8.04±0.11	10.66±0.00	21.22±0.11	15.50±0.56
12			9.79±0.11	11.22±0.34	18.60±0.00	12.65±0.56
Ofis 4 (sarı)		7	5.58±0.22	14.55±0.56	14.79±0.00	14.87±0.30
		8	14.55±0.33	14.63±0.22	15.90±0.22	15.11±0.00
		9	15.66±0.56	15.58±0.22	18.20±0.56	15.03±0.11
		10	15.50±0.33	15.74±0.22	18.84±0.56	14.63±0.22
		11	14.71±0.11	14.71±0.11	20.27±0.33	14.00±0.21
		12	13.20±0.22	15.11±0.44	14.47±0.44	15.51±0.33
Ofis 3 (mavi)		7	16.38±0.00	16.22±0.00	16.77±0.11	14.71±0.34
		8	15.90±0.45	16.38±0.40	17.25±0.13	14.56±0.35
		9	14.23±0.11	17.17±0.43	15.66±0.11	13.92±0.11
		10	16.22±0.22	17.33±0.22	17.41±0.33	12.81±0.17
		11	16.46±0.22	17.49±0.00	18.13±0.22	14.32±0.00
		12	16.14±0.56	16.78±0.11	17.09±0.56	15.90±0.22
<u>Enzim</u>	Ofis 8 (beyaz)	7	16.14±0.11	13.84±0.22	11.69±0.56	8.60±0.44
		8	15.82±0.34	9.47±0.10	10.27±0.32	8.44±0.00
		9	11.85±0.11	16.22±0.43	11.78±0.00	12.65±0.30
		10	18.20±0.32	12.49±0.12	14.23±0.56	10.11±0.33
		11	19.07±0.21	16.38±0.20	9.07±0.224	12.96±0.10
		12	19.39±0.20	20.50±0.00	11.77±0.40	12.25±0.00
	Ofis 4 (sarı)	7	4.55±0.11	6.30±0.10	12.17±0.33	11.85±0.34
		8	10.34±0.22	14.08±0.11	14.07±0.11	9.47±0.56
		9	14.63±0.22	11.54±0.12	13.76±0.34	9.39±0.00
		10	19.47±0.11	11.06±0.11	4.00±0.22	14.55±0.11
		11	18.13±0.00	13.52±0.44	14.79±0.00	14.63±0.00
		12	18.44±0.22	20.67±0.22	16.54±0.00	15.43±0.22
	Ofis 3 (mavi)	7	9.00±0.11	9.87±0.44	9.87±0.22	11.93±0.00
		8	14.95±0.22	9.63±0.11	10.27±0.11	9.87±0.22
		9	15.82±0.11	8.12±0.44	10.51±0.22	8.28±0.22
		10	16.06±0.44	5.19±0.56	10.66±0.22	7.65±0.45
		11	15.03±0.11	15.42±0.34	10.98±0.22	15.03±0.34
		12	14.79±0.00	16.30±0.22	10.27±0.33	14.95±0.00

4.14.2. İzoelektrik noktanın belirlenmesi

Örneklere ait izoelektrik noktaların belirlenmesi amacıyla Manamperi ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmadan yararlanılmıştır. Bu amaçla Achouri ve ark. (2012) metoduna göre; her bir örnek için belirlenen optimum konsantrasyondaki NaCl çözeltileri ile %10'luk örnek dispersiyonları hazırlanarak ekstraksiyon için belirlenen optimum pH değerine ayarlanmıştır. İzoelektrik nokta tespiti amacıyla 0.5 birim değişim ile pH 3.5 - 6.0 değerleri arasında çalışılmıştır. Örneklerin supernatant kısımlarının protein içeriği Bradford (1976) metodu ile belirlenerek, en düşük protein içeriğinin tespit edildiği pH değeri örneğe ait proteinlerin izoelektrik noktası olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.18. Haşhaş proteinlerinin izoelektrik (pI) noktalarının belirlenmesi

Örnek Adı		Protein miktarı (mg/mL)					
		pH 3,5	pH 4,0	pH 4,5	pH 5,0	pH 5,5	pH 6,0
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	12.41±0.00	12.96±0.11	10.17±0.11	10.03±0.00	12.97±0.11	13.12±0.11
	Kavrulmuş	14.87±0.11	10.11±0.00	11.93±0.00	13.81±0.00	14.23±0.11	16.22±0.22
	Enzim	12.03±0.00	12.84±0.22	12.84±0.22	12.41±0.44	10.11±0.34	13.60±0.56
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	11.38±0.11	10.35±0.44	10.35±0.45	9.79±0.33	11.06±0.11	12.96±0.11
	Kavrulmuş	11.54±0.11	8.12±0.00	9.69±0.02	10.76±0.22	10.00±0.12	11.71±0.22
	Enzim	14.79±0.00	16.93±0.33	16.93±0.34	13.66±0.11	15.13±0.56	15.57±0.22
Ofis (sarı)	Kontrol	12.81±0.11	4.15±0.22	4.15±0.22	1.54±0.11	3.76±0.11	6.14±0.10
	Kavrulmuş	5.17±0.11	5.11±0.22	2.11±0.22	13.68±0.00	14.08±0.09	14.56±0.34
	Enzim	9.55±0.00	10.69±0.11	10.69±0.11	9.32±0.10	8.54±0.11	10.11±0.11



Şekil 4.12. Haşhaş proteinlerinin izoelektrik (pI) nokta grafikleri

Çalışmamız sonucunda belirlenen haşhaş proteinlerine ait izoelektrik noktalar Çizelge 4.18 ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir. İzoelektrik noktalara ait pH değerleri 4.0 - 5.5 arasında değişim göstermiştir. Eklund ve Ågren (1975) yapmış oldukları çalışmada haşhaş

proteinlerinin izolasyonunda izoelektrik noktayı pH 5.0 değeri olarak kullanmışlardır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde her üç çeşide ait kontrol gruplarının izoelektrik noktaları pH 5.0 olarak belirlenmiştir.

4.14.3. Protein konsantrasyonlarının hazırlanması ve protein verimi

Haşhaş proteinlerinin izolasyonunda elde edilen verimler % 10.71 - 61.34 arasında değişmekte olup, Çizelge 4.19'da görülmektedir. Verimler üzerinde çeşit (p=0.001) ve muamele (p=0.000) etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir. En yüksek protein verimleri her üç çeşit için de kontrol örneklerinde tespit edilmiş ve ofis 8-beyaz çeşidine ait kontrol grubunda en yüksek verim (% 61.34) belirlenmiştir. En düşük protein verimleri her üç çeşitte de enzim (% 10.72 - 19.77) ile muamele edilen gruplarda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. Haşhaş protein izolatlarının üretim verimleri

Örnek adı	Protein verimi (%)			
	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Toplam
Ofis 8 (beyaz)	61.34±3.52 A** a*	43.24±3.00 Ba	10.72±1.43 Cb	38.44±13.04
Ofis 3 (mavi)	44.00±3.55 Ac	33.39±1.06 Bb	16.06±3.34 Cab	31.16±12.80
Ofis 4 (sarı)	52.02±0.34 Ab	26.51±1.59 Bc	19.77±1.01 Ca	32.77±15.24
Toplam p=0.001	52.46±8.08	34.38±7.68	15.52±4.40	

*Aynı sütundaki küçük harfler aynı ön işlem uygulanan her bir protein izolatu verim değerlerinin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırmalarını göstermektedir.

**Aynı satırdaki büyük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir protein izolatu verim değerlerinin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırmalarını göstermektedir.

Achouri ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada, susam proteinlerini belirlenen optimum koşullarda (1 M tuz konsantrasyonu, pH 7.5) % 54.6 verim ile elde etmişlerdir. Bu değer bizim çalışmamızda kontrol ve kavurma uygulanan grupların protein verim değerleri ile oldukça benzerdir. Haşhaş proteinleri üzerine daha önce yapılan çalışmalarda herhangi bir verim hesaplaması yapılmadığı görülmüştür. Susam proteinleri üzerine yapılan başka bir çalışmada alkali ortamda ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme metodu uygulanarak elde edilen susam proteini izolatında tespit edilen % verim çalışma sonuçlarımıza benzer olarak % 47 olarak tespit edilmiştir (Bandyopadhyay ve Ghosh, 2002).

4.15. Protein İzolatlarında Yapılan Analizler

Yukarıda açıklanan işlemlerle izole edilen haşhaş tohum proteinlerinde aşağıda bildirilen bazı önemli yapısal ve fonksiyonellik analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.15.1. Protein çözünlüğü

Proteinlerin çözünlük özellikleri pH 2.0 ile pH 12.0 arasında birer birimlik artışla analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.20. ve Şekil 4.13.'de gösterilmiştir. Elde edilen haşhaş protein izolatlarının çözünlük özellikleri Yin ve ark. (2011)'e göre belirlenmiştir. pH 2-12 aralığında her çeşide ait muamele grupları test edilmiş ve supernatant kısmında bulunan protein içeriği Bradford (1976) metodu ile tespit edilmiştir.

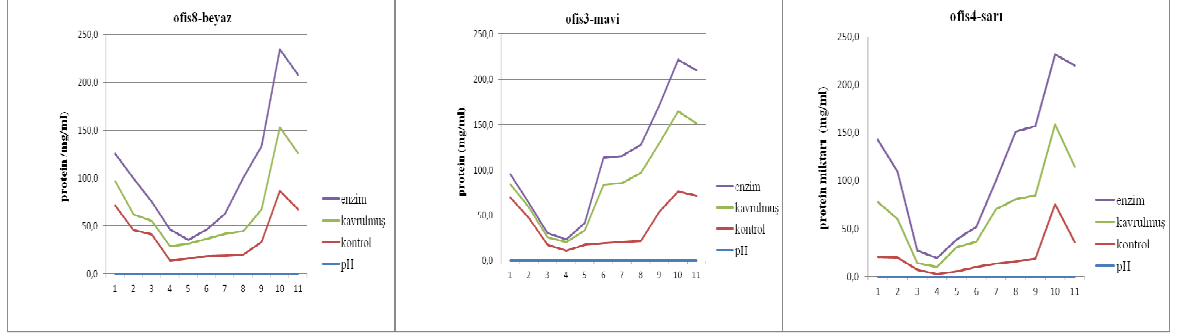
Çizelge 4.20. Haşhaş protein izolatları çözünlük özellikleri

Örnek Adı	Protein miktarı (mg/mL)											
	pH 2.0	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0	pH 10.0	pH 11.0	pH 12.0	
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	71.14 ±0.22	45.58 ±0.44	41.13 ±0.67	13.75 ±0.56	16.38 ±0.00	18.76 ±0.00	19.24 ±0.22	20.03 ±0.23	33.21 ±0.00	86.86 ±0.22	67.17 ±0.45
	Kavrulmuş	25.74 ±0.45	16.85 ±0.45	14.07 ±0.33	15.26 ±0.44	15.11 ±0.00	17.80 ±0.44	22.41 ±0.45	24.87 ±0.78	34.08 ±0.34	66.22 ±0.23	58.92 ±0.23
	Enzim	28.44 ±0.00	37.33 ±0.00	20.19 ±0.00	17.09 ±0.11	4.32± 0.00	9.69 ±0.17	21.14 ±0.45	55.50 ±0.11	66.22 ±0.22	81.37 ±0.56	81.77 ±0.00
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	69.71 ±0.22	46.77 ±0.34	17.88 ±0.33	11.46 ±0.00	17.49 ±0.00	19.15 ±0.60	20.58 ±0.10	21.62 ±0.00	54.31 ±0.22	76.21 ±0.56	71.85 ±0.44
	Kavrulmuş	14.63 ±0.23	11.69 ±0.33	8.28 ±0.00	9.07± 0.44	15.74 ±0.00	65.03 ±0.11	65.34 ±0.33	75.10 ±0.44	75.19 ±0.57	88.84 ±0.11	79.47 ±0.11
	Enzim	11.30 ±0.00	4.86 ±0.56	4.31 ±0.00	2.72± 0.21	8.76± 0.45	29.55 ±0.00	29.55 ±0.00	31.30 ±0.00	41.78 ±0.44	56.69 ±0.21	58.68 ±0.56
Ofis 4 (sarı)	Kontrol	20.18 ±0.21	19.79 ±0.11	7.09± 0.11	2.41± 0.67	5.50± 0.11	10.19 ±0.00	13.36 ±0.00	15.90 ±0.00	18.92 ±0.45	75.27 ±0.00	35.82 ±0.34
	Kavrulmuş	57.49 ±0.22	40.50 ±0.00	7.10± 0.04	7.49± 0.00	25.26 ±0.00	26.29 ±0.55	57.25 ±0.56	65.03 ±0.56	65.74 ±0.23	83.44 ±0.55	78.68 ±0.33
	Enzim	65.10 ±0.44	49.23 ±0.21	13.36 ±0.00	9.63± 0.34	7.98 ±0.00	15.43 ±0.00	29.31 ±0.33	70.50 ±0.44	72.17 ±0.34	73.12 ±0.11	105.6 ±0.11

Çözünlüğün en iyi olduğu pH değeri supernatantda en yüksek protein miktarının (mg/mL) tespit edildiği değer olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.20'de görüldüğü gibi her üç çeşide ait kontrol ve kavurma uygulanan gruplarda çözünlüğün en fazla olduğu pH değeri 11.0 iken enzim gruplarında pH 12.0 olarak görülmektedir. Protein izolatlarının hazırlanması öncesinde yapılan optimizasyon çalışmalarımız da haşhaş proteinlerinin en iyi pH 11.0 ve 12.0'da çözüldüğünü göstermiştir.

Haşhaş protein izolatlarının çözünlüğü (Şekil 4.13.) üç çeşide uygulanan tüm muamelelerde, beklenildiği şekilde proteinin izoelektrik noktasında en düşüktür ve izoelektrik noktadan asidik ve bazik pH değerlerine doğru gidildikçe artmaktadır.

Eklund ve Ågren (1975) yapmış oldukları çalışmada; haşhaş pres keklerinde çözücü olarak su kullanılması durumunda azot çözünürlüğünün pH 9.0'da % 77 ve pH 10.0'da % 81 olduğunu tespit etmişlerdir. pH 3-6 aralığında tohum toplam azotunun sadece % 20'si çözünebilir halde olup, en düşük çözünürlük bu aralıkta gözlenmiştir.



Şekil 4.13. Haşhaş protein izolatlarının çözünürlük grafikleri

Srinivas ve Narasinga Rao (1981) tarafından yapılan çalışmada; üç farklı haşhaş çeşidinden elde edilen yağsız unların nitrojen çözünürlüğü su, 1 M tuz çözeltisi ve % 2'lik sodyum heksametafosfat çözeltileri kullanılarak incelenmiştir. Çözelti olarak su kullanıldığında en düşük çözünürlük pH 6.5 değerinde ve pH 1-3 aralığında gözlenmiştir. En yüksek çözünürlük ise pH 9.3'de elde edilmiştir. 1M NaCl çözeltisi kullanıldığında ise; minimum çözünürlük pH 2.0' da gözlenirken, pH 6.6 da % 85 oranında bir çözünürlük elde edilmiştir. Bu pH değerinin üzerinde çözünürlükte artış gözlenmemiştir. %2'lik sodyum heksametafosfat çözeltisi kullanıldığında, tuz ortamına benzer bir profil gözlenmiştir. pH 7.0 değerinde toplam azotun % 80-83'ünün çözüldüğü gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda haşhaş yağsız unu değil, tohum protein izolatı kullanılmış ve çözünürlük su ortamında incelenmiştir. Elde edilen veriler, daha önce haşhaş tohum keklerinde belirlenen azot çözünürlüğü değerleri ile uyumludur.

Yin ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada; sabun ağacı tohumu proteinlerinin globulin fraksiyonlarının çözünürlüğü pH 5.0-6.0 arasında minimum olarak tespit edilirken, pH 5.0 altında ve pH 6.0 üzerinde çözünürlüğün arttığı rapor edilmiştir. Genel olarak; yüksek pH değerlerinde protein üzerindeki net negatif yük artışı protein agregatlarında dağılmaya neden olmaktadır ve bu nedenle çözünürlük artmaktadır. Düşük pH değerlerinde ise; bunun tersi olarak artan net pozitif yük çözünürlüğe katkıda bulunmaktadır.

Martinez-Flores ve ark. (2002) yapmış oldukları çalışmada; keten tohumu proteinlerinin çözünürlüğünün pH 6.0 üzerinde artarak maksimum çözünürlüğün pH 10.0'da görüldüğünü ve en düşük çözünürlüğün ise keten tohumlarının izoelektrik noktası olan pH 5.0 yakınlarında olduğunu rapor etmişlerdir.

4.15.2. Protein izolatlarının fiziksel analizleri

Dondurarak kurutulan (freeze-dry) haşhaş protein izolatlarında renk belirlemesi Minolta CR-300 Reflektans kolorimetresi (Osaka, Japonya) ile yapılmış ve renk ölçümünde CIE' in sistemi kullanılarak L, a* ve b* değerleri belirlenmiştir. Elde edilen haşhaş protein izolatları Şekil 4.14' de görülmektedir.



Şekil 4.14. Haşhaş protein izolatları.

Veriler incelendiğinde; protein izolatlarının her üç renk bileşeni (L, a*, b*) üzerinde muamele ve çeşit (p=0.000) etkisinin önemli olduğu görülmektedir (Şekil 4.14. ve Çizelge 4.21). L değeri 45.68 - 80.37, a* değeri 0.60 - 7.94, b * değeri ise 9.92 - 18.96 arasında tespit edilmiştir. En yüksek parlaklık değeri (L) 80.37 olarak tespit edilmiş olup, ofis 3-sarı çeşide ait kavrulmuş örnekten izole edilen proteinden elde edilmiştir. En yüksek a* (kırmızılık) değeri 7.94 olup ofis 3-mavi enzim grubunda tespit edilmiştir ve kırmızılık

değerleri her üç çeşit içinde enzim gruplarında en yüksek değerleri göstermiştir. Sarılığı ifade eden en yüksek b* değeri (18.96) yine ofis 3-mavi enzim grubunda yer almıştır. b* değerlerinin enzim uygulanan örneklerde en yüksek olduğu görülmektedir. L değerleri kavurma ön işlemi uygulanan örneklerden elde edilen protein izolatlarında kontrol örneklerine göre yüksek iken, a* ve b* değerleri düşüktür.

Görünür vizkozitenin belirlenmesi için, haşhaş proteini ve distile su ile % 20'lik örnek dispersiyonları hazırlanmış, pH 7.0 da 60 °C ve 40 °C sıcaklıklarda Brookfield viskozimetre-model DV II+Pro (with Rheocalc software) ile ölçümler yapılmıştır.

Haşhaş protein izolatlarının görünür vizkozite değerleri üzerinde her iki sıcaklık derecesi (40 °C ve 60 °C) açısından da muamele etkisi (p=0.000) önemli iken çeşit etkisinin (sırasıyla p=0.134 ve p=0.082) istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Beklenildiği şekilde sıcaklık artışı ile birlikte vizkozite değerlerinde artış meydana gelmiştir. 40 ve 60 °C sıcaklıklarda en yüksek vizkozite değerleri kavrulmuş örneklerde (sırasıyla 32.45 cP ve 59.95 cP) tespit edilmiş, her iki sıcaklıkta enzim ön uygulaması protein çözeltilerinde kontrol gruplarına oranla vizkozitede düşüşe neden olmuştur. Globuler proteinlerin vizkozitelerinin pH ve sıcaklıktaki düşüş ile birlikte azaldığı ve her ikisinde meydana gelen artış ile de arttığı rapor edilmiştir (Kanu ve ark., 2007).

Literatürde haşhaş proteini vizkozitesi ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Kanu ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada susam protein izolatları ile hazırlanan çözeltilerin vizkozitelerinin sıcaklık artışı ile birlikte arttığı rapor edilmiş olup; pH 7.0 da 40 °C sıcaklıktaki vizkozite değeri 50 cP altında olup bizim değerlerimiz ile uyumludur. Ancak pH 7.0 da 60 °C sıcaklıktaki vizkozite değerleri 100-150 cP arasında tespit edilmiş olup; haşhaş protein izolatlarının aynı sıcaklıktaki vizkoziteleri bu verinin oldukça altındadır. Tohum farklılığı ve tohum proteinlerinin sıcaklığa karşı olan reaksiyon farklılığının bu durumda etkisi olması muhtemeldir.

Khalid ve ark. (2003) tarafından susam protein izolatları üzerine yapılan başka bir çalışmada, % 20'lik susam protein izolatlarının 25 °C ve pH 7.0 da vizkozitesi 53.10 cP, 70 °C (pH 7.0) sıcaklıkta ise 178.90 cP olarak rapor edilmiştir.

Çizelge 4.21. Haşhaş protein izolatlarının fiziksel özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
Vizkozite 40 °C (cP)	Kontrol	32.35±1.62 A**a	27.85±1.62 Bb	31.40±1.27 ABa	30.53±2.42	p=0.134
	Kavrulmuş	31.75±1.76 Aa	32.45±2.47 Aa	31.90±1.55 Aa	32.03±1.56	
	Enzim	26.05±0.35 Ab	24.15±1.06 Ab	24.95±0.35 Ab	25.05±1.00	
	Toplam p=0.000	30.05±3.29	28.15±3.97	29.42±3.58		
Vizkozite 60 °C (cP)	Kontrol	58.40±2.12 Aa	52.75±2.05 Aa	59.25±2.89 Aa	56.80±3.66	p=0.082
	Kavrulmuş	57.50±3.67 Aa	53.85±2.89 Aa	59.95±3.32 Aa	57.10±3.75	
	Enzim	42.45±1.76 Ab	43.50±1.27 Ab	41.95±2.05 Ab	42.63±1.51	
	Toplam p=0.000	52.78±8.27	50.03±5.35	53.72±9.37		
L	Kontrol	66.75±0.03 Bb	64.27±0.01 Cb	74.14±0.04 Ab	68.38±4.59	p=0.000
	Kavrulmuş	79.28±0.02 Ca	79.87±0.03 Ba	80.37±0.07 Aa	79.84±0.48	
	Enzim	55.81±0.00 Bc	45.68±0.15 Cc	69.38±0.08 Ac	56.96±10.63	
	Toplam p=0.000	67.28±10.50	63.27±15.30	74.63±4.93		
a*	Kontrol	1.84±0.00 Bb	4.29±0.01 Ab	1.19±0.01 Cb	2.44±1.46	p=0.000
	Kavrulmuş	1.10±0.01 Bc	1.62±0.00 Ac	0.60±0.01 Cc	1.11±0.45	
	Enzim	4.20±0.00 Ba	7.94±0.01 Aa	2.29±0.02 Ca	4.81±2.56	
	Toplam p=0.000	2.38±1.44	4.62±2.83	1.36±0.76		
b*	Kontrol	13.94±0.02 Cb	14.05±0.01 Bb	14.39±0.00 Ab	14.12±0.21	p=0.000
	Kavrulmuş	11.55±0.00 Bc	9.92±0.00 Cc	12.23±0.00 Ac	11.23±1.06	
	Enzim	18.87±0.01 Ba	18.96±0.03 Aa	17.07±0.03 Ca	18.30±0.95	
	Toplam p=0.000	14.78±3.34	14.31±4.05	14.56±2.17		

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

4.15.3. Protein izolatlarının fonksiyonellik özellikleri

Elde edilen 9 farklı protein örneğinde, altı farklı protein fonksiyonel özelliği belirlenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.22.'de görülmektedir. İncelenen haşhaş çeşitleri arasında kontrol gruplarından izole edilen proteinlerin en yüksek su bağlama (2.20 g/g) ve yağ bağlama (2.17 g/g) değerleri ofis 4-sarı çeşidine aittir. Proteinlerin su ve yağ absorbe etme yetenekleri polar ve non-polar amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein izolatlarının su ve yağ bağlama özellikleri üzerinde muamele etkisinin (sırasıyla p=0.008 ve p=0.003) önemli olduğu görülmüştür.

En yüksek su bağlama oranları kavrulmuş örneklerde (2.25 - 2.47 g/g) tespit edilmiştir. Bunun en önemli nedeni, meydana gelen protein denaturasyonu sonucu

proteinlerin globuler yapısında oluşan değişim olarak düşünülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin su bağlama yeteneği (1.67 - 1.95 g/g) kontrol gruplarına oranla bir miktar düşme göstermiştir. En düşük su bağlama 1.67 g/g ile ofis 8-beyaz çeşidine, en düşük yağ bağlama değeri ise 1.41 g/g ile ofis 4-sarı çeşidine aittir. Bu iki çeşide ait proteinlerin enzim etkisine daha dirençsiz oldukları ve fonksiyonelliklerinin olumsuz etkilendiği söylenebilir.

Çizelge 4.22. Haşhaş protein izolatlarının fonksiyonellik özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
WHC-Su bağlama	Kontrol	1.87±0.25	2.04±0.36 Aa	2.20±0.09 Aa	2.04±0.25	p=0.726
	Kavrulmuş	2.47±0.32 Aa	2.35±0.31 Aa	2.25±0.28 Aa	2.36±0.25	
	Enzim	1.67±0.04 Ab	1.95±0.04 Aa	1.76±0.05 Aa	1.80±0.13	
	Toplam p= 0.008	2.00±0.41	2.11±0.28	2.07±0.27		
OHC-Yağ bağlama kapasitesi (g/g)	Kontrol	1.68±0.01 Ab	1.87±0.14 Aa	2.17±0.05 Aa	1.90±0.23	p=0.807
	Roasted	2.44±0.13 Aa	2.27±0.20 Aa	2.45±0.28 Aa	2.38±0.19	
	Enzim	1.67±0.03 Ab	1.91±0.50 Aa	1.41±0.45 Ab	1.66±0.37	
	Toplam p=0.003	1.92±0.39	2.02±0.31	2.0±0.54		
EA-Emülsiyon aktivitesi (%)	Kontrol	21.87±2.65 Aa	10.00±3.53 Bab	8.75±1.76 Ba	13.54±6.8	p=0.002
	Kavrulmuş	28.75±1.76 Ab	22.50±3.53 Aa	21.25±1.76	24.16±4.0	
	Enzim	2.50±0.00 Ac	4.37±0.88 Ab	3.75±1.76 Aa	3.54±1.22	
	Toplam p=0.000	17.71±12.25	12.29±8.6	11.25±8.17		
ES-Emülsiyon stabilitesi (%)	Kontrol	10.63±0.88 Aa	6.25±1.76 Aab	5.62±0.88 Aa	7.50±2.62	p=0.136
	Kavrulmuş	11.50±3.53 Aa	8.75±1.76 Aa	5.62±2.65 Aa	7.29±2.55	
	Enzim	1.87±0.88 Ab	2.50±0.00 Ab	1.87±0.88 Aa	2.08±0.64	
	Toplam p=0.001	6.66±4.30	5.83±3.02	4.37±2.33		
FC-Köpüklenme kapasitesi (%)	Kontrol	15.04±1.06 Aa	19.26±7.04 Aa	17.06±0.56	17.12±3.7	p=0.685
	Kavrulmuş	14.31±2.86 Aa	15.31±1.07 Aab	14.28±0.00	15.30±1.6	
	Enzim	13.21±1.75 Aa	9.45±1.78 Ab	9.37±0.86 Aa	10.72±2.3	
	Toplam p=0.008	14.88±2.07	14.67±5.50	13.58±3.50		
FS-Köpük stabilitesi (%)	Kontrol	23.61±1.96 Aa	21.87±9.25 Aa	19.19±1.42	21.56±8.1	p=0.986
	Kavrulmuş	20.78±9.18 Aa	29.86±9.18 Aa	34.37±3.25	28.34±10.	
	Enzim	46.43±5.05 Aa	36.67±4.71 Aa	35.00±7.07	39.36±7.0	
	Toplam p=0,027	30.27±13.45	29.47±10.33	29.52±11.63		

* Aynı sütündeki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

Proteinlerin su ve yağ bağlama özellikleri amino asit profili ve yük kalıntıları, konformasyon ile yakından ilgilidir. Tohuma uygulanan proteaz ve hemiselülaz enzimleri, protein ve karbonhidrat moleküllerini parçalayarak molekül yapılarını küçültmüş, molekül yüzeyindeki yük durumu değişmiş ve sonuç olarak su ve yağ bağlama yeteneklerinde düşme gözlenmiştir. Özellikle ofis 4 çeşidi kontrol grubu proteinleri en iyi su (2.20 g/g) ve yağ bağlama (2.17 g/g) yeteneklerine sahip olmasına karşın, muamelelerden olumsuz etkilenmiştir. Buna karşın her iki özellik açısından kontrol gruplarında en düşük değerlere sahip olan ofis 8-beyaz proteinleri, kavurma ve enzim uygulanmasından olumlu

etkilenecek, bu iki muamele grubunda en yüksek su ve yağ bağlama kapasitesi değerlerini vermişlerdir.

Örneklerin yağ bağlama kapasiteleri incelendiğinde; yine en yüksek değerler kavrulmuş (2.27 - 2.45 g/g) örneklerde yer almış, enzim uygulanan gruplarda (1.41 - 1.91 g/g) ise kontrol gruplarına oranla ya çok az bir düşme veya aynı seviyeler gözlenmiştir.

Literatürde haşhaş yağsız ununun fonksiyonelliği üzerine çalışmalar yer almakta, ancak protein izolatlarına ait veri bulunmamaktadır. Ancak farklı tohumlardan elde edilen izolatların su ve yağ bağlama kapasitelerine dair birçok çalışma yapılmıştır. Bazı yağlı tohum proteinlerine ait su ve yağ bağlama kapasiteleri sırasıyla; buğday tohum proteinleri için 1.66 g/g ve 1.73 g/g (Ahmedna ve ark., 1999), keten tohumu proteinleri için 2.7 g/g ve 1.18 g/g (Martinez-Flores ve ark.,2002), kanola proteinlerinde 2.5 g/g ve 1.2 g/g (Manamperi ve ark., 2007), susam protein izolatı için 3.02 g/g ve 1.29 g/g (Kanu ve ark., 2007) olarak bildirilmiştir. Haşhaş proteinlerinin su bağlama değerleri 1.67 - 2.47 g/g arasında, yağ bağlama kapasiteleri ise 1.41 - 2.45 g/g olarak belirlenmiş olup literatür ile uyumludur.

Khatab ve Arntfield (2009) yapmış oldukları çalışmada kanola tohumlarına kavurma ve haşlama işlemi uygulanmasının kanola tohum proteinlerinin su ve yağ bağlama kapasitelerinde önemli artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Kolza tohum proteinlerinin, proteolitik enzim uygulaması sonucunda elde edilen hidrolizatlarının su ve yağ bağlama özelliklerinin kontrole oranla oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (Vioque ve ark., 2000). Isı uygulamasının genel olarak su ve yağ bağlama özellikleri üzerindeki olumlu etkisi bizim çalışma sonuçlarımızda da görülmektedir.

Çalışmamızda üç farklı haşhaş çeşidine ait proteinlerin emülsiyon aktiviteleri ve stabiliteilerinin uygulanan ön işlemlerden nasıl etkilendiği de araştırılmıştır. Protein izolatlarının emülsiyon aktivitelerinin (% 2.50 - 28.75) ve stabiliteilerinin (% 1.87 - 11.50) oldukça düşük olduğu görülmektedir. Emülsiyon aktivitesi üzerinde muamele (p=0.000) ve çeşit (p=0.002) etkilerinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grupları arasında en yüksek emülsiyon aktivitesi (% 21.87) ofis 8-beyaz çeşidinde tespit edilmiştir. Kavurma işlemi uygulanmasının ardından her üç çeşitte de emülsiyon aktivitelerinde artış gözlenmiş olup, en yüksek değer yine ofis 8-beyaz (% 28.75) çeşidinde belirlenmiştir. Emülsiyon aktivitesinde kavurma işlemi ile birlikte gözlenen artış ofis-3 mavi ve ofis4-sarı çeşitlerinde aynıdır (% 12). Enzim ön işlemi, örneklerin genelinde emülsiyon aktivitesinde

ciddi düşüŖlere neden olmuŖ ve enzim uygulamasından en fazla etkilenen eŖit ofis 8-beyaz (% 19.37 azalma) olmuŖtur. Denaturasyon hidrofobik alanı ve esnekliği arttırdığı için proteinlerin emülsiyon özelliklerini geliŖtirebilmektedir (Kanu ve ark. 2007). Bu sebeple kavurma uygulanan örneklerin emülsiyon aktivitelerindeki artıŖ beklenen bir durumdur. Emülsiyon aktivitesi üzerinde kavurma iŖleminin oluŖturduęu bu etki yağsız haŖhaŖ unlarında da gzlenmiŖtir.

Yağlı tohum proteinlerine dair literatürde, haŖhaŖ proteinlerinin fonksiyonel özellikleri üzerine yapılmıŖ herhangi bir alıŖma bulunmamaktadır. Ancak benzer yağlı tohumlar üzerine yapılan alıŖmalar incelenmiŖtir. Ahmedna ve ark. (1999) tarafından yapılan alıŖmada emülsiyon aktivitesi buğday protein izolatu için % 87, soya protein izolatu için % 87.5, sodyum kazeinat için % 79, kurutulmuŖ yumurta beyazı için % 53, yağsız kuru süt proteini için % 58 olarak bildirilmiŖtir. Bu alıŖmada elde edilen veriler bizim emülsiyon aktivite verilerimize oranla oldukça yüksektir. Martinez-Flores ve ark. (2002) kolza protein konsantratları için pH 6.0'da emülsiyon aktivitesini % 84.4 olarak belirlemiŖlerdir.

Susam protein konsantratları üzerine yapılan bir alıŖmada; maksimum emülsiyon kapasitesi (% 38.0) 40-65 g L⁻¹ oranında protein konsantratı kullanılması durumunda ve 9.0 üzeri ile 5.0 altındaki pH değerlerinde elde edilmiŖtir. En dŖk emülsiyon kapasitesi (% 19.2) ise daha dŖk protein konsantrasyonlarında ve pH 4.6 - 6.8 aralığında elde edilmiŖtir. pH değerinde oluŖan artıŖın susam proteinlerinin emülsiyon aktivitesini arttırdığı gzlenmiŖtir. Bu alıŖma sonuçlarından anlaŖıldıęına göre; emülsiyon aktivitesi üzerinde kullanılan proteinin miktarı ve pH değeri etkili olup, izoelektrik noktaya yaklaŖtıęı çözünürlük azaldığı için emülsiyon aktivitesi dŖmektedir. İzoelektrik nokta, çözeltinin iyonik gücünü deęiŖtirmekte ve Zeta potansiyeli sıfır olma eğilimi göstermektedir (coulombik kuvvetler moleküllerin daha stabil olmalarını sağlamakta ve brownian hareket emülsiyonlar yerine süspansiyonlar oluŖmasını teŖvik etmektedir) (Cano-Medina ve ark., 2011). Bizim alıŖmamızda haŖhaŖ proteinlerinin emülsiyon aktiviteleri pH 7.0 da incelenmiŖ olup, örneklerin izoelektrik noktaları pH 4.0 - 5.5 arasında deęiŖmektedir. Kullanılan protein miktarı ise yaklaŖık olarak 25 g L⁻¹ civarındadır. DŖk emülsiyon aktivitesinin sebepleri bunlar olabilir.

Kanu ve ark. (2007) tarafından susam proteinleri üzerine yapılan farklı bir alıŖmada, emülsiyon aktivitesinin pH 2.0 ile 7.0 - 10.0 aralığında oldukça yüksek olduğu ancak pH

3.0, 4.0, 5.0 ve 6.0' da düştüğü rapor edilmiştir. Bitkisel orijinli pek çok protein pI alanı altında ve üzerinde iyi çözünürlük özellikleri göstermektedir. Protein izolatlarının hazırlanması sırasında kullanılan tuz ile pH ayarlaması için kullanılan HCl ve NaOH'in proteinlerin denürasyonuna katkı sağladığı ve böylece emülsiyon özelliklerinin geliştiği bildirilmiştir.

Emülsiyonlar potansiyel olarak stabil değildirler ve stabil emülsiyon denildiğinde ısıtma ve/veya çalkalama sonucunda kremleşme, folikül oluşumu, dağılma ve/veya faz ayrımı oluşmaksızın emülsiyonun değişmemesi anlaşılır (Ahmedna ve ark., 1999). Haşhaş proteinlerinin emülsiyon stabilitesi incelendiğinde emülsiyon aktivitelerine benzer bir durum gözlenmektedir. Emülsiyon stabilitesi üzerinde muamele etkisi ($p=0.001$) önemli iken çeşit etkisinin ($p=0.136$) istatistik olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Kontrol örnekleri arasında en yüksek stabilite değeri % 10.63 ile ofis 8-beyaz çeşidine aittir. Kavurma işlemi ile ofis 8-beyaz (% 11.50) ve ofis 3-mavi (% 8.75) çeşitlerinde emülsiyon stabilitesi gelişme göstermesine karşın, ofis 4-sarı çeşidinde aynı kalmıştır. Enzim uygulaması her üç çeşitte de emülsiyon stabilitesinde ciddi anlamda azalmaya (% 1.87 - 2.50) sebep olmuştur.

Yağlı tohum proteinlerine dair literatür incelendiğinde, çalışmamız ile elde edilen haşhaş proteinlerine dair emülsiyon stabilite verilerinin oldukça düşük oldukları görülmüştür. Haşhaş tohum proteinlerinin fonksiyonellik özellikleri üzerine veri olmadığından benzer tohumların özelliklerinin incelenmesi gerekmiştir. Ahmedna ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada, buğday protein izolatlarının emülsiyon stabilitesi % 79 olarak tespit edilmiş ve soya protein izolatı ile sodyum kazeinata benzer olduğu rapor edilmiştir.

Cano-Medina ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, susam protein konsantratlarının emülsiyon stabilitesinin asidik koşullarda (% 50.6) bazik koşullara oranla (% 44.8) daha yüksek olduğu bildirilmiştir. pH değerlerinin nötrale yaklaşması ile birlikte emülsiyon stabilitesinin dereceli olarak azaldığı ve en düşük stabilite değeri olan % 35.6'nın düşük protein konsantrasyonlarında belirlendiği rapor edilmiştir. Bu durum bizim haşhaş protein örneklerimize ait stabilite değerlerinin düşüklüğü hakkında bilgi vermektedir.

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan haşhaş çeşitlerinin köpüklenme kapasiteleri ve köpük stabilitesi de incelenmiştir. Köpüklenme kapasitesi ve köpük stabilitesi

üzerinde muamele (sırasıyla $p=0.008$ ve $p=0.027$) etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur. Örneklerin köpüklenme kapasiteleri % 9.37 - 19.26 arasında değişmekte olup, en yüksek değer (% 19.26) ofis 3-mavi çeşidine ait kontrol örneğinde tespit edilmiştir. Haşhaş çeşitlerinin köpüklenme özellikleri açısından ön işlemlere verdiği tepkiler aynıdır. Her üç çeşit için de uygulanan kavurma (% 14.28 - 15.31) ve enzim muamelesi (% 9.37 - 13.21) ön işlemleri köpüklenme kapasitelerinde düşüşe neden olmuştur. Tohumların enzim ile ön işlemden geçirilmesi köpük stabilitesinde ise önemli oranda artışa neden olmuştur. Örneklerin köpük stabilite değerleri % 19.19 - 46.43 arasında değişmekte olup, 30 dk oda sıcaklığında bekletme sonucunda kalan köpüğün yüzde olarak miktarıdır.

Düşük köpüklenme kapasiteleri, yetersiz elektrostatik etkileşimlere, düşük çözünürlüğe ve sonuç olarak protein-protein interaksiyonlarının yetersizliğine atfedilir. Diğer yandan, yüksek köpüklenme kapasitesi iyi hidrate olmuş köpüklere bağlı iken, köpük stabilitesinde ki azalma denaturasyona bağlıdır (Appiah ve ark., 2011). Köpüklenme kapasitesi ile çözünürlüğün yüksek ilişkisi ve bizim çalışmamızda köpüklenme testlerinin pH 7.0'da yapılmış olması düşük kapasitelerin nedeni olarak düşünülmektedir. Martinez-Flores ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada da keten tohumu konsantratlarında en düşük köpüklenme kapasitesi % 12 olarak pH 6.0'da belirlenmiştir. Ancak maksimum köpük stabilitesi de (% 83.3) yine bu pH değerindedir. Bunun sebebi olarak izoelektrik nokta civarında protein molekülleri içerisindeki itme ve çekme kuvvetlerinin yeterli oranda dengede oluşması ve böylece köpük oluşumu gözlenerek maksimum köpük stabilitesine neden olması gösterilmiştir. Aynı çalışmada en yüksek köpük kapasiteleri ise % 40 ile pH 2.0'da ve % 42 ile pH 10.0'da gözlenmiştir.

Cano-Medina ve ark. (2011) tarafından yapılmış olan çalışmada susam protein konsantratlarında maksimum köpüklenme kapasitesinin (% 240) 5.0'ın altındaki pH değerlerinde elde edildiği bildirilmiştir. Minimum köpük stabilitesi ise (% 50.4) ile pH 7.6'nın üzerindeki değerlerde tespit edilmiştir. pH değeri azaldıkça köpük stabilitesinin arttığı rapor edilmiştir.

Susam proteinleri üzerine yapılan başka bir çalışmada; köpüklenme kapasitesinin pH değerine bağlı olduğu, en düşük verilerin ise izoelektrik nokta aralığında (pH 4 - 5.5) tespit edildiği bildirilmiştir. pH 7.0'da susam proteini için köpüklenme kapasitesi % 79 ve 30 dk sonraki köpük stabilitesi ise % 80 olarak belirlenmiştir. pH 5.5'un üzerinde ve özellikle pH

10-11’de köpüklenme kapasitesi önemli oranda artmıştır. Bu iki pH değerinde protein molekülü üzerindeki net yükler artmakta, bu sebeple hidrofobik interaksyonlar zayıflamakta fakat proteinin esnekliği artmaktadır. Net yükün artmasının sağlanması yağlı tohum proteinleri için pH 7-11 aralığında uygulanabilir ve pH 12-14 olduğunda net yük azalır. Protein molekülü üzerindeki net yükün artması, proteinin su-hava ara fazına hızlı diffüze olmasını ve hava moleküllerini hızlı çevrelemesini sağlayarak köpük oluşumunu iyileştirir (Kanu ve ark., 2007).

Haşhaş proteinlerinin jelleşme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla % 20’lik stok çözeltiden % 2 ,4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 (w/v) oranlarında örnek içecek şekilde dilüsyonlar hazırlanmış ve metod uygulanmıştır. Jelleşme durumları Çizelge 4.23’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.23. Haşhaş protein izolatlarının jelleşme özellikleri

Çeşit	Muamele	2%	4%	6%	8%	10%	12%	14%	16%	18%	20%
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	sıvı	sıvı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	vizkoz	viskoz	viskoz	sıvı jel	katı jel	katı jel
	Kavrulmuş	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	sıvı jel	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel
	Enzim	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	viskoz	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	katı jel	katı jel
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	sıvı	sıvı	sıvı	sıvı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	sıvı jel	sıvı jel	katı jel
	Kavrulmuş	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	viskoz	viskoz	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel
	Enzim	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	viskoz	viskoz	viskoz	sıvı jel	sıvı jel	katı jel
Ofis 4 (sarı)	Kontrol	sıvı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	vizkoz	sıvı jel	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel
	Kavrulmuş	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	viskoz	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel	katı jel
	Enzim	sıvı+ pıhtı	sıvı+ pıhtı	viskoz	viskoz	sıvı jel	sıvı jel	sıvı jel	katı jel	katı jel	katı jel

Kontrol örnekleri incelendiğinde ofis 8-beyaz çeşidi için en düşük jelleşme konsantrasyonu % 18, ofis 3-mavi için % 20, ofis 4-sarı için ise % 14 olarak belirlenmiştir. Tohumlara uygulanan ön kavurma işleminin ve enzim ile muamelenin proteinlerin jelleşme özellikleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu görülmektedir. Kavurma işlemi ile örneklerin en düşük jelleşme konsantrasyonları % 10-14 aralığına gerilerken, enzim uygulanması durumunda en düşük jel oluşturma konsantrasyonunun ofis 8 ve ofis 4 çeşitleri için % 16 olduğu görülmektedir.

Sharma ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada en düşük jelleşme konsantrasyonları badem proteini için % 6, brezilya cevizi ve kestane proteinleri için % 8,

findık proteinleri için % 12, macadamia için % 20, çam fıstığı proteini için % 12, antepfıstığı proteini için % 10 ve soya proteini için % 16 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen farklı tür bitkilere ait proteinlerin en düşük jelleşme konsantrasyonları genel olarak haşhaş proteinlerine oranla düşük olmakla birlikte, soya proteinine ait değer çalışma verilerimiz ile uyumludur.

4.15.4. Haşhaş Proteinlerinin Aminoasit İçerikleri

Yapılan çalışmada ofis 8-beyaz, ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı haşhaş çeşitlerinin üç muamele (kontrol, kavurma, enzim) grubuna ait örneklerin tamamında 17 adet aminoasit tespit edilmiştir (Çizelge 4.24.). Belirlenen aminoasitler alanin (1010.9 - 1918.5 nmol/mL), asparagin (12.99 - 27.01 nmol/mL), aspartik asit (1767.6 - 2512.1 nmol/mL), glutamin (16.860 -135.305 nmol/mL), glutamik asit (3291.8 - 5343.2 nmol/mL), glisin (1094.4 - 2235.2 nmol/mL), histidin (221.83 - 712.65 nmol/mL), izolosin (710.1 - 1413.2 nmol/mL), losin (1089.1 - 2736.8 nmol/mL), lizin (400.58 - 1124.6 nmol/mL), methionin (68.97 - 615.91 nmol/mL), fenilalanin (522.0 -1289.1 nmol/mL), prolin (816.8 - 1708.5 nmol/mL), serin (731.2 - 1435.8 nmol/mL), treonin (522.41 - 976.89 nmol/mL), tirozin (187.56 - 753.66 nmol/mL) ve valin (971.9 -1853.9 nmol/mL)'dir. Örneklerin hiç birisinde özellikle çocuklar için gerekli olan yarı esansiyel aminoasitler olan arginin ve sistin tespit edilmemiştir. Esansiyel aminoasitlerden olan triptofan ise sadece ofis 3-mavi çeşide ait kontrol (110.40 nmol/mL) ve kavurma (120.14 nmol/mL) örnekleri ile ofis 4-sarı kontrol (58.88 nmol/mL) örneklerinde bulunmuştur. Diğer esansiyel aminoasitler olan fenilalanin, izolosin, lösün, lizin, metionin, valin ve treonin açısından incelenen haşhaş çeşitlerinin iyi birer kaynak olduğu görülmüştür.

Örnekler fenilalanin açısından incelendiğinde kontrol örneklerinde en yüksek değer ofis 8-beyaz (909.3 nmol/mL) çeşidinde, en düşük değer ise 772.4 nmol/mL ile ofis 3-mavi çeşidinde bulunduğu belirlenmiştir. Fenilalanin içeriği kavurma işlemi ile her üç çeşitte de artış gösterirken, enzim uygulaması sonucunda düşme göstermiştir. İzolosin içeriği en yüksek olan kontrol örneği yine ofis 8 (1265.7 nmol/mL) çeşidi olarak bulunmuştur. Kavurma işlemi sonucunda izolosin içeriği beyaz ve sarı çeşitlerde artarken, mavi çeşitte azalma göstermiştir. Enzim uygulaması bu aminoasidin her üç tohum çeşidin de azalmasına neden olmuştur. Lösün içeriği açısından da benzer bir tablo gözlenmiştir. En yüksek lösün içeriği ofis 8 (1948.4 nmol/mL) çeşidinde gözlenirken, kavurma işlemi bu aminoasidin tüm çeşitlerde artışına neden olmuş ve enzim uygulaması ile de azalma

oluşmuştur. Kontrol örnekleri incelendiğinde, lizin ve treonin açısından da en zengin çeşitin ofis 8-beyaz (sırasıyla 1124.6 nmol/mL, 865.9 nmol/mL) olduğu görülmektedir. Her iki esansiyel aminoasit açısından en fakir çeşit ise ofis 3-mavidir (sırasıyla 588.18 nmol/mL, 735.52 nmol/mL). Lizin içeriği her üç çeşit açısından da kavurma ve enzim ön uygulaması ile azalırken, treonin aminoasitinde kavurma işlemi miktarda artışa, enzim uygulaması ise azalmaya sebep olmuştur. Ofis 4-sarı (1556.6 nmol/mL) çeşidi kontrol grupları arasında valin aminoasitince en zengin olanıdır. Kavurma işleminin aminoasit miktarlarında tüm çeşitler açısından genel bir artışa, enzim uygulamasının ise azalmaya neden olduğu görülmektedir. Aminoasit verilerinin (çizelge 4.24) geneli incelendiğinde; enzim ön işleminin miktarlar üzerinde azalmaya neden olarak besleyici değeri düşürdüğü söylenebilir.

Eklund ve Ågren (1975) yapmış oldukları çalışmada; haşhaş proteini konsatratında 314 mg/g N isolosin, 486 mg/g N losin, 264 mg/g N lizin, 309 mg/g N fenilalanin, 284 mg/g N tirosin, 87 mg/g N sistin, 168 mg/g N methionin, 265 mg/g N treonin, 80 mg/g N triptofan, 407 mg/g N valin tespit etmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen veriler bu değerlerin üzerindedir.

Sirinivas ve Narasinga Rao (1981) tarafından haşhaş proteinleri üzerine yapılan bir başka çalışmada da; iki haşhaş çeşidinin aminoasit içerikleri belirlenmiştir. Çeşitlerde tespit edilen aminoasitler; aspartik asit (9.27 - 10.25 g/100g protein), treonin (4.00 - 3.66 g/100g), serine (4.48 - 4.39 g/100g), glutamik asit (24.26 - 25.40 g/100g), prolin (4.20 - 4.37 g/100g), glisin (4.19 - 4.46 g/100g), alanin (4.03 - 4.32 g/100g), valin (5.29 - 5.99 g/100g), methionin (2.66 - 2.54 g/100g), isolösün (4.50 - 4.35 g/100g), lösün (7.22 - 7.79 g/100g), tirosin (4.23 -4.17 g/100g), fenilalanin (5.40 - 4.99 g/100g), histidin (2.70 - 2.54 g/100g), lizin (3.51 - 3.48 g/100g), triptofan (1.02 - 1.03 g/100g)' dir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla kısmen benzerlik göstermektedir ve genelde aynı amino asitler belirlenmiştir.

Çizelge 4.24. Haşhaş protein izolatlarının aminoasit içerikleri

Çeşit	Muamele	Amino Asit Miktarı (nmol/mL)																			
		Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
Ofis 8 (beyaz)	Kontrol	1736.3 ±5.1	*TEDB	23.08 ±0.52	2410.6 ±91.7	TEDB	33.56 ±0.62	4497.2 ±4.0	1863.5 ±18.9	603.69 ±1.85	1265.7 ±18.4	1948.4 ±42.5	1124.6 3±0.52	615.91 ±1.30	909.3 ±1.0	1404.1 ±1.3	1264.0 ±1.4	865.9 ±1.55	0.000	664.05 ±2.14	1447.3 ±0.6
	Kavrulmuş	1809.8 ±0.3	TEDB	18.68 ±0.11	2188.9 ±14.2	TEDB	135.31 ±0.67	3435.6 ± 61.0	2177.0 ±0.6	712.65 ±0.19	1389.5 ±14.8	2316.5 ±3.5	902.41 ±3.20	68.97 ±1.29	1289.1 ±0.4	1708.5 ±2.1	1435.8 ±0.3	976.89 ±1.57	0.000	753.66 ±1.57	1807.9 ±0.2
	Enzim	1010.9 ±1.6	TEDB	13.84 ±1.01	2115.8 ±1.2	TEDB	55.46 ±0.02	3449.3 ±0.7	1094.4 ±0.7	221.83 ±0.24	710.1 ±1.3	1089.1 ±0.8	400.58 ±0.89	121.77 ±1.43	522.0 ±2.6	816.8 ±0.7	731.2 ±1.1	522.41 ±2.09	0.000	187.56 ± 0.76	971.9 ±1.6
Ofis 3 (mavi)	Kontrol	1364.8 ±3.2	TEDB	18.56 ±0.31	1966.5 ±0.8	TEDB	22.37 ±0.00	4011.6 ±1.3	1500.6 ±0.6	403.00 ±0.34	1073.0 ±2.5	1634.2 ±1.4	588.18 ±1.32	81.78 ±0.01	772.4 ±0.5	1224.5 ±1.5	1047.7 ±0.2	735.52 ±0.37	110.40 ±0.84	396.03 ±1.07	1398.6 ±0.1
	Kavrulmuş	1918.5 ±3.5	TEDB	27.01 ±0.46	1922.2 ±0.5	TEDB	72.89 ±0.79	3764.3 ±0.6	2235.2 ±0.9	523.55 ±0.76	978.8 ±1.1	1986.3 ±0.4	623.14 ±0.75	106.52 ±1.17	949.3 ±1.9	1495.6 ±2.0	1376.7 ±1.1	922.17 ±0.54	120.14 ±0.26	563.78 ±0.31	1413.5 ±2.1
	Enzim	1162.9 ±2.9	TEDB	26.07 ±0.84	1767.6 ±1.6	TEDB	16.86 ±0.04	3291.8 ±13.0	1341.3 ±1.0	467.57 ±0.74	1037.7 ±0.4	1432.3 ±0.5	617.39 ±1.97	76.58 ±2.23	757.4 ±1.9	1105.2 ±2.6	914.0 ±1.1	623.27 ±3.20	0.000	386.34 ±0.94	1335.7 ±0.9
Ofis 4 (sarı)	Kontrol	1513.8 ±2.0	TEDB	14.76 ±0.18	2218.8 ±112.0	TEDB	38.26 ±0.42	3846.9 ±28.5	1822.6 ±4.5	549.81 ±1.22	1204.8 ±1.7	1785.1 ±1.0	802.96 ±1.44	72.25 ±1.48	860.6 ±0.6	1398.3 ±0.4	1192.9 ±0.2	850.81 ±0.19	58.880 ±1.57	522.93 ±0.74	1556.6 ±1.5
	Kavrulmuş	1822.0 ±84.5	TEDB	12.99 ±0.34	2369.5 ±34.7	TEDB	24.27 ±0.85	5343.2 ±33.7	2019.1 ±1.6	550.30 ±0.67	1413.2 ±1.2	2736.8 ±73.8	796.86 ±4.44	89.25 ±1.07	953.9 ±4.1	1631.5 ±65.8	1296.3 ±68.8	906.59 ±3.42	0.000	532.08 ±2.72	1853.9 ±3.0
	Enzim	1456.1 ±1.5	TEDB	17.32 ±0.64	2512.1 ±1.2	TEDB	30.84 ±0.59	4406.3 ±2.4	1760.5 ±10.4	488.79 ±30.82	1158.7 ±84.4	1573.9 ±193.6	636.89 ±26.71	124.13 ±65.24	816.0 ±90.5	1244.7 ±190.4	1007.1 ±129.1	699.55 ±106.8	0.000	435.15 ±69.51	1408.6 ±10.4

*TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

Ala: Alanin, Arg:Arginin, Asn:Asparagin, Asp:Aspartik asit, Cys:Sistein, Gln:Glutamin, Glu:Glutamik asit, Gly:Glisin, His:Histidin, Ile:İzolösin, Leu:Lösin, Lys:Lisin, Met:Methionin, Phe:Fenilalanin, Pro:Prolin, Ser:Serin, Thr:Treonin, Trp:Triptofan, Tyr:Trosin, Val:Valin

4.15.5. Haşhaş Proteinlerinin Termal Özellikleri

Ofis 8, ofis 3 ve ofis 4 çeşitlerine ait tüm muamele gruplarından izole edilen proteinlerin termal özellikleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) termogramları sayesinde incelenmiştir. Çizelge 4.25’de haşhaş proteinlerinin termal karakteristiklerine dair veriler yer almaktadır.

“ T_d ” değeri proteinin termal denaturasyon sıcaklığıdır ve özellikle tersiyer yapı ile birlikte quarterner yapıyı devam ettiren hidrojen bağlarının yok olmasını ifade eder. ΔH ise örnek içerisindeki denature olmayan proteinin oranını ifade eder ve protein içerisindeki düzenli yapıların miktarı ile korelasyon gösterir (Yin ve ark., 2011).

Çizelge 4.25. Haşhaş protein izolatlarının termal özellikleri

Özellik	Muamele	Ofis 8 (beyaz)	Ofis 3 (mavi)	Ofis 4 (sarı)	Toplam	
T_0 (°C)	Kontrol	80.37±0.88 A**a*	75.43±1.05 Bb	62.95±0.06 Cb	72.92±8.05	p=0.000
	Kavrulmuş	53.26±0.30 Cb	98.83±0.09 Aa	68.76±0.97 Ba	73.62±20.72	
	Enzim	54.60±0.92Ab	30.15±0.58 Cc	38.28±0.53 Bc	41.01±11.15	
	Toplam p=0.000	62.74±13.68	68.14±31.23	56.66±14.48		
T_d (°C)	Kontrol	93.41±0.00 Aa	84.75±0.06 Bb	67.92±0.00 Cb	82.03±11.59	p=0.000
	Kavrulmuş	64.01±0.00 Ca	99.79±0.00 Aa	76.44±0.06 Ba	80.08±16.24	
	Enzim	67.86±0.29 Ab	44.82±0.06 Cc	51.75±0.05 Bc	54.81±10.57	
	Toplam p=0.000	75.09±14.29	76.45±25.40	65.37±11.21		
ΔH (J/g)	Kontrol	36.86±5.34 Aa	33.01±5.67 Aa	30.80±0.95 Ab	33.56±4.45	p=0.000
	Kavrulmuş	34.62±1.41Ba	12.96±3.42 Ca	113.89±19.34	53.82±48.33	
	Enzim	36.72±0.14 Aa	31.27±3.07 Aa	25.15±1.32 Ab	31.05±5.38	
	Toplam p=0.001	36.07±2.71	25.75±10.46	56.61±45.27		

To: denaturasyon başlangıç (on-set) sıcaklığı, Td: termal denaturasyon sıcaklığı, ΔH : major endotermin entalpi değişimi.

* Aynı sütundaki küçük harfler aynı çeşitten elde edilen her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin tohumlara uygulanan ön işlemlere göre karşılaştırılmalarını göstermektedir.

** Aynı satırdaki büyük harfler ise aynı ön işlem uygulanan her bir protein örneğinde tespit edilen değerlerin farklı tohum çeşitleri arasındaki karşılaştırılmalarını göstermektedir.

T_0 ve T_d değerlerinin yüksek olması protein içerisindeki, ısıya karşı daha az kararlı olan bir grubun proses sırasında denature olduğunu göstermektedir. Proteinlerin denaturasyon işlemi sırasında molekül önemli miktarda ısı alır ve DSC termogramında endotermik bir pik olarak görülür. Transfer edilen ısı ΔH ile ifade edilir ve endotermin altında kalan alanın integrali alınarak hesaplanır, denature olmayan proteinin oranını belirlemek için kullanılır. Entalpinin yüksek olması protein içerisindeki denaturasyona dayanıklı kısımların çokluğunu gösterir (Bukya ve Vijayakumar, 2013).

Haşhaş proteinlerinin termal özellikleri üzerinde muamele ve çeşit etkisi istatistik olarak (≤ 0.05) önemlidir. Kontrol örnekleri arasında T_o (80.37 °C), T_d (93.41 °C) ve ΔH (36.86 J/g) değerleri en yüksek olarak ofis 8-beyaz çeşidinde görülmekte, bunu sırasıyla ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı takip etmektedir. Bu demektir ki beyaz çeşide ait proteinler sıcaklığa daha dayanıklı olup, molekülün düzenli yapısını bozarak denaturasyon sağlanması için daha yüksek sıcaklıklar gereklidir. Ancak kavurma ve enzim uygulanan örneklerde gözlenen durum farklıdır. T_d değeri en yüksek olarak 99.79 °C ile ofis 3-mavi çeşidinin kavurulmuş örneğinde gözlenmiştir. Kavurma işlemi mavi ve sarı çeşitlerde denaturasyon sıcaklığının yükselmesine neden olurken, her üç çeşit içinde enzim örnekleri termal olarak en dayanıksız olanlardır.

Bukya ve Vijayakumar (2013) tarafından yapılan çalışmada, bütün haldeki susam tohumunun entalpisi 1.47 J/g, susam kekinin entalpisi 1.57 J/g ve yağsız susam ununun entalpisi ise 1.19 J/g olarak tespit edilmiş; örnekler içerisinde denaturasyona en az uğrayanın yağsız susam unu olduğu tespit edilmiştir.

4.15.6. Haşhaş Proteinlerinin Fourier Transform Infrared (FT-IR) Analizleri

Haşhaş protein izolatlarının FT-IR analizleri yapılarak protein moleküllerinin yapısı hakkında bilgi edinilmeğe çalışılmıştır. FT-IR spektroskopisi proteinlerin sekonder yapısal kompozisyonu ve yapısal dinamiklerini belirlemek için kullanılmaktadır. FT-IR spektroskopisi, dalgaboyunun ve örnek tarafından absorplanan infrared (IR) radyasyonun ölçümüne dayanır. Yüksek polimerlerin IR spektral dataları genellikle yapısal olarak tekrar eden grupların vibrasyonlarından tahmin edilir. Polipeptid ve protein moleküllerinde yer alan tekrar eden gruplar dokuz adet karakteristik IR absorpsiyon bandı verirler. Bunlar amid A, B ve I-VII bandlarıdır. Bunlardan amid I ve II bandları proteinlerin omurgasında yer alan en önemli vibrasyonal (titreşen) bandlardır. Proteinlerin sekonder yapısal komponentlerine en hassas spektral alan, amid I içeren 1700 - 1600 cm^{-1} bandıdır. Bu alan neredeyse tamamen (ort % 80) peptid bağlarındaki C=O esneklik titreşimlerini (stretch vibrations) verir. Amid I bandı komponentlerinin sıklığı, proteinlerin her bir sekonder yapısal elementi ile yakın korelasyon gösterir. Amid II bandı ise (potansiyel enerjinin % 40-60'ı) düzlemsel NH bükülmeleri ve CN esneme vibrasyonlarından (potansiyel enerjinin % 18-40'ı) kaynaklanır. Amid II bandı protein yapısal duyarlılığını daha az gösterir. Diğer amid vibrasyonal bandları oldukça kompleks olup; güç alanı, yan zincirlerin türü ve hidrojen bağları gibi detaylara bağlıdır. Bu detaylar protein konformasyonel

çalışmalarında oldukça az ele alınmıştır (Kong ve Yu, 2007). Proteinlerde ölçülen IR frekanslarına dair bağ tanımlamaları aşağıda Çizelge 4.26’da özetlenmiştir.

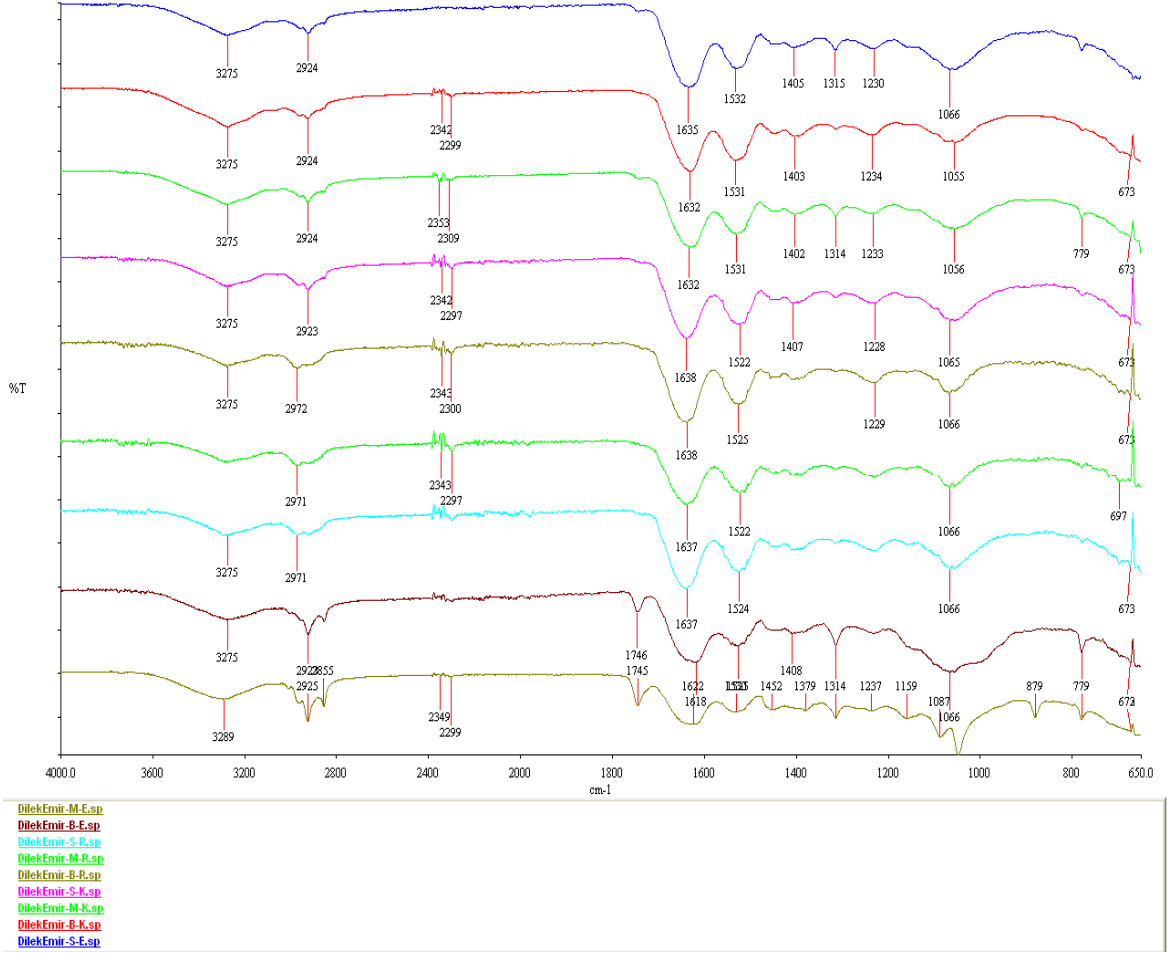
Amid I bandının detaylı bileşenleri proteinlerin sekonder yapısı bilindiği zaman frekanslar incelenerek belirlenebilir. Amid I bandı $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ de titreşim verir ve enerjinin % 80’ i amid gruplarındaki C=O stretching vibrasyonu ve % 20 düzlemsel NH bükülmelerinden oluşur. Bu titreşim bandının sıklığı, C=O ve NH kısımlarını içeren hidrojen bağlarının doğasına bağlıdır. Yani sırasıyla polipeptid zinciri tarafından kabul edilen sekonder yapı, omurgayı oluşturan yapı ve hidrojen bağları tarafından belirlenir. Kesin olarak söylenebilir ki, gözlenen amid I bandı birbiri ile örtüşen (overlap) bandları içererek protein ve polipeptidlerin biçimini oluşturur. Bu overlap bandlar α -heliks, β -sheets, turn ve rastgele yapıları belirler. Protein sekonder yapısının bileşenleri ile IR spektrumu arasında ilişki kurulduğunda; proteinlerin su ortamındaki çözeltilerinde $1654-1658 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki bandlar α -heliks yapıya, $1642-1624 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki bantlar ise β -sheet bileşenlerine atanmıştır. Globular proteinlerde ortalama olarak aminoasit kalıntılarının % 30’unun β -turn konformasyonlarında yer aldığı gözlenmiştir. $1688, 1680, 1672$ ve 1666 cm^{-1} spektrumunda yer alan bandlar β -turn yapılarına atanmıştır. Gelişigüzel kıvrımlardan oluşan konformasyona atfedilen karakteristik band ise $1648 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ spektrumunda yer almaktadır (Kong ve Yu, 2007).

Çizelge 4.26. Peptid bağlarına ait karakteristik infrared bantları (Kong ve Yu, 2007)

Bandın ismi	Dalga sayısı (cm^{-1})	Tanımı
Amide A	3300	NH stretching
Amide B	3100	NH stretching
Amide I	1600-1690	C=O stretching
Amide II	1480-1575	CN stretching, NH bending
Amide III	1229-1301	CN stretching, NH bending
Amide IV	625-767	OCN bending
Amide V	640-800	Out-of-plane NH bending
Amide VI	537-606	Out-of-plane C=O bending
Amide VII	200	Skeletal torsion

Susam protein izolatlarıyla yapılan bir çalışmada (Achouri ve ark., 2012), FT-IR spektrumun amide I bölgesi kullanılarak proteinlerin tuz, amonyum sülfat ve ısıtma sonucunda ne tür yapısal değişimlere uğradıkları ölçülmeye çalışılmıştır. Çözeltiye tuz eklenmesinin (0.2 M) daha düşük dalga sayısına doğru (1642 cm^{-1}) bir kayma ve bunun sonucunda da β -tabakalarında azalmanın olduğu; çözeltinin $95 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de ısıtılmasıyla intra-

moleküler β -tabakalarının miktarında bir artma olduğu (1622 - 1636 cm^{-1} bandında artış); amonyun sülfatla çöktürülmüş protein örneklerinde ise random coil bandının (1640 - 1650 cm^{-1}) yükseldiği bildirilmiştir. Üç farklı haşhaş tohumunun üç farklı ön işleme muamele edilmesinden sonra ekstrakte edilen toplam 9 farklı protein örneğine ait FT-IR full spektrumları aşağıda Şekil 4.15.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Haşhaş protein izolatlarının FT-IR spektrumları; üstten alta doğru örnek adları şöyledir: mavi-enzim, beyaz-enzim, sarı-kavrulmuş, mavi-kavrulmuş, beyaz-kavrulmuş, sarı-kontrol, mavi-kontrol, beyaz-kontrol, sarı-enzim

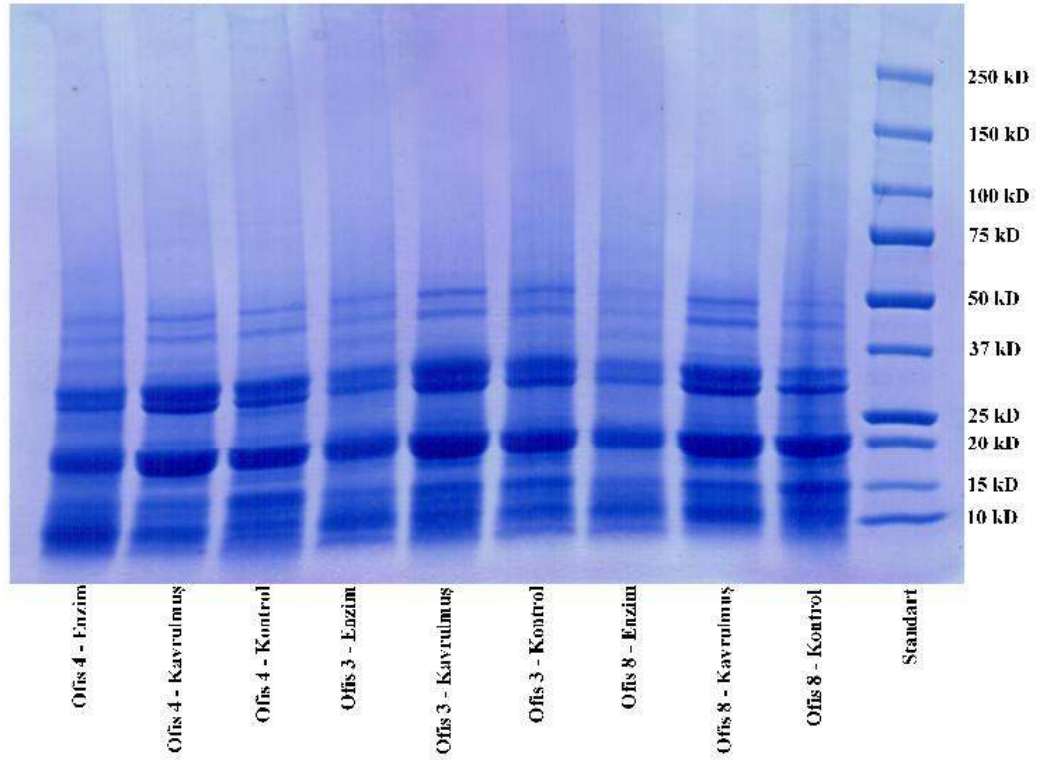
Haşhaş proteinlerinin FT-IR spektrumları incelendiğinde; “parmak izi” bölgesi olarak da bilinen 1500 cm^{-1} 'e kadar olan alanda oldukça yoğun titreşimler olduğu görülmektedir. Ofis 4 çeşidi enzim örneği dışındaki protein izolatlarının tamamında, 673 - 695 cm^{-1} spektrumunda titreşim görülmüş olup bu titreşim NH_2 ve NH (amid I) bükülme titreşimleri ve diğer amid bandlarının da (amid IV, V, VI, VII) bulunduğunu göstermektedir. 1055 - 1066 cm^{-1} 'de N-H (amid II) esneklik titreşimleri tespit edilmiştir.

Ofis 8 kontrol ve kavrulmuş, ofis 3 enzim ve kontrol, ofis 4 enzim ve kontrol grupları izolatlarında 1228-1234 cm^{-1} C-N alifatik amin esneklik titreşimleri, 1405-1408 cm^{-1} 'de C-C aromatik karbonlara ait esneklik titreşimleri belirlenmiştir. 1522-1532 cm^{-1} bandında CN gerilme, NH bükülme (amid II bandları) titreşimleri bütün örneklerde tespit edilmiştir. 1618-1638 cm^{-1} 'de C=O esneme, NH_2 bükülmelerine ait titreşimler tespit edilmiş olup, amid I gerilme bandlarını ve proteinlerin sekonder yapısının β -sheet bileşenlerinden oluştuğunu göstermektedir. Ofis 3-enzim örneğinde düşük sıklıkta ve Ofis 8-enzim, ofis 4-enzim örnekleri hariç olmak üzere diğer tüm izolatlarda 2297-2300 cm^{-1} C=C (alkinler) ile 2342-2353 cm^{-1} C=N, -N=C=O, -N=C=S, -N=C=N-, $-\text{N}_3$ gruplarının varlığını gösteren esneklik bandları belirlenmiştir. Enzim muameleli protein izolatlarında görülen düşük vizkozite değerleri de gözönünde bulundurulduğunda, FT-IR analizleri enzim muamelesinin proteinlerde bazı amid bağlarını kırdığını bir kez daha göstermiştir. Sonuç olarak enzim muamelesinin proteinleri parçaladığı ortaya konulmuştur. En altta görülen ofis 4-sarı enzim örneğinde amid I bandının düşük dalga sayısına doğru kayması (1618 cm^{-1}) da, bu örnekte protein ikincil yapılarında bir azalma olduğunu göstermektedir. Yine sade mavi-enzim (en üstteki spektrum), sarı-kavrulmuş (üstten üçüncü sıradaki), beyaz-kontrol (en alttan ikinci) ve sarı-enzim (en alttaki) spektrumlarında yaklaşık 1745 cm^{-1} dalga sayısında bir band görülmektedir. Bu bandın literatürde susam tohumu için verilen bilgilere (Achouri ve ark., 2012), dayalı olarak anti-paralel β -tabakalarını ve kümelenmiş yapıları gösterdiği varsayılabilir. 3275-3300 cm^{-1} 'de esneklik titreşimi veren N-H (amide A) ve C-N grupları, 2923-2971 cm^{-1} bandında esneme titreşimi yapan alkin (CH_3 , CH_2 , CH) grupları tüm örneklerde tespit edilmiştir. Sonuç olarak, özellikle enzim muamelesi ile ve kısmen de ön-kavurma işlemleriyle tohum proteinlerinin sekonder yapılarında bazı değişimlerin oluştuğu ortaya konulmuştur. Literatürde haşhaş proteinleri için bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.15.7. Haşhaş Proteinlerinin SDS-PAGE Elektroforez Analizleri

Haşhaş proteinlerinin SDS-PAGE analizi sonucunda elde edilen jellerde yüksek mobilite gösteren 7 adet ana band gözlenmektedir (Şekil 4.16.). Bandların molekül ağırlıkları standart protein ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 10, 15, 20, 30, 40, 50 kD'na denk gelmektedir. 75-250 kD aralığındaki daha yüksek molekül ağırlıklı proteinler jelde görülememiştir.

SDS-PAGE jelini incelediğimizde, bandların yoğunluğunun en fazla kavrulmuş örneklerde olduğunu, en düşük yoğunluklu bandların ise enzim muameleli örneklerde bulunduğunu görebilmekteyiz. Enzim uygulanan örneklerde özellikle 3. ve 4. bandların (sırasıyla 20 ve 30 kD) yoğunluklarının belirgin olarak düşük olduğu görülmektedir. Tüm çeşitlere ait kontrol ve kavurma uygulanan örneklerde 3. ve 4. bandların (sırasıyla 20 ve 30 kD) daha yoğun oldukları görülmektedir. Enzim muamelesinin örneklerde protein kayıplarına neden olduğu açıkça görülmektedir. Önceki kısımlarda tartışılan protein vizkozite kaybı ve FT-IR spektrumundaki değişimlerde, enzim muamelesinin olası bu etkilerini destekler niteliktedir. Öte yandan kavrulmuş örneklerde ise aynı bölgedeki bandlarda kontrol örneklerine göre bir yoğunluk görülmektedir. Bu durum kavurma işleminin, proteinlerin daha mobil veya serbest hale gelmesinde yardımcı olduğu anlamına gelebilir.



Şekil 4.16. Haşhaş protein izolatlarının SDS-PAGE elektroforez bandları

Srinivas ve Narasinga Rao (1981) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise haşhaş proteinlerinin poliakrilamid jel elektroforez analizinde (pH 8.3), yedi adet band gözlenmiş ve bunların iki adedi düşük mobilitate kalanları ise yüksek mobilitate göstermiştir. pH 4.5'da yapılan analizde ise proteinlerin jel üzerinde daha yavaş hareket ettikleri ve üç adet bandın

ise hızlı hareket ettikleri rapor edilmiştir. Alkali ve asidik sistemlerde rölâtif mobiliteler göstermiştir ki, haşhaş tohumu yüksek ve düşük molekül ağırlıklı proteinleri içermektedir ve mobiliteleri arasında fark gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda proteinler fraksiyonlarına ayrılmamış ve sadece ön işlemlerin etkisini görmek üzere izolatlarla elektroforez yapılmıştır.

Srinivas ve Narasinga Rao (1987a) tarafından yapılan çalışmada, haşhaş tohumunun düşük molekül ağırlıklı proteinleri incelenmiş, SDS-PAGE analizinde üç band gözlenmiş ve molekül ağırlıklarının 18,000, 16,000 ve 13,000 daltona (veya 18, 16 ve 13 kD) denk geldiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada 0.8S protein fraksiyonunun moleküler ağırlığı ortalama olarak 14,500 dalton olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda yapılan SDS-PAGE elektroforez analizi sonucunda her üç çeşidin tüm muamele gruplarında, standardın en düşük molekül ağırlıkları olan 10 ve 15 kD molekül ağırlığına denk gelen bandlar gözlenmiştir. Yani yaklaşık aynı molekül ağırlığındaki proteinlerin varlığı ve daha fazlasının varlığı gösterilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada 3 çeşit haşhaş tohumu (ofis 3-mavi, ofis 4-sarı ve ofis 8-beyaz) kullanılmış olup, tohumlar 3 farklı ön işleme (kontrol, kavurma, enzim muamelesi) hazırlandıktan sonra soğuk pres makinasıyla eş ve sabit koşullarda yağ elde edilmiş ve elde edilen yağların bazı fiziksel ve kimyasal bileşen ile uçucu madde analizleri yapılarak, duyuşal özellikleri analiz edilmiştir. Elde edilen 9 adet haşhaş yağlı kek örneğinde temel bileşen analizleri yapıldıktan sonra yağ giderme işlemleri uygulanarak yağsız haşhaş unları elde edilmiş ve yağsız unların fiziko-kimyasal analizleri ile fonksiyonellik testleri gerçekleştirilmiştir. Fiziko-kimyasal özellikleri belirlenen haşhaş yağsız unlarından optimum verim ile protein izolasyonu yapılabilmesi amacıyla en uygun tuz konsantrasyonu ve pH değeri belirlenmiştir. Optimize edilen şartlarda elde edilen haşhaş protein izolatlarında çözünürlük özellikleri belirlenmiş, protein fonksiyonellik testleri (su ve yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi, köpüklenme kapasitesi ve stabilitesi, en düşük jelleşme konsantrasyonu) yapılmıştır. 40 ve 60 °C’lerde vizkozite değerleri ile renk özellikleri belirlenmiştir. Bu analizlerin yanı sıra haşhaş protein izolatlarının FT-IR analizleri ile kimyasal yapıları hakkında bilgi sağlanmıştır. DSC ve SDS-PAGE elektroforez analizleri gerçekleştirilerek, protein örneklerinin termal özellikleri ve moleköl ağırlıkları belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan tohumlar, ölçülen tüm fiziksel ve kimyasal özellikler açısından farklılık göstermektedir ve farklar istatistik olarak önemlidir. Tohum boyutları 1.16 - 2.22 mm arasında, bin dane ağırlığı ise 3.35 - 3.89 g arasındadır. Genel olarak tohumlarda % 36 - 46 yağ, % 19 - 21 protein ve % 4 - 6 nem bulunmaktadır. Soğuk pres öncesi tavlama işlemleriyle ön hazırlıkları tamamlanmış (kavrulmuş ve enzim muamelesi yapılmış) tohumlarda nem oranı % 12’ ye ayarlanmıştır. Çalışılan koşullarda 547-959 g/kg tohum yağ, % 21-38 ortalama yağ verimiyle elde edilmiştir. Soğuk pres sonrası keklerde ortalama olarak % 4-17 yağ kalmıştır ve kekin oranı da % 11-17 arasında değişmektedir. Bu çalışma sonunda haşhaş yağı üretiminde, enzim muamelesinin yağ verimini en çok artırdığı, kavurma işleminin de verime olumlu etki yaptığı ortaya konulmuştur. Taze yağın sediment içeriği % 1.17 - 2.19 arasında bulunmuştur. Genel olarak soğuk pres işleminde tohumda protein kaybı olmamaktadır. Böylece besin değeri yüksek yağlı kek elde edilmektedir. Soğuk pres yöntemiyle yağ veriminin düşük, keklerde kalan yağ miktarının ise çok daha

yüksek olduğu bir gerçektir. Elde edilen yağın yemeklik kalitede, rafinasyon gerektirmeyen evsafıta ve niteliklerde, duyuşal olarak ise sorunsuz olduğu görülmüştür.

Tüm deneme gruplarından elde edilen yağlarda bir seri önemli analizler yapılmıştır. Fiziksel analizler olarak kırılma indisi, yoğunluk, bulanıklık değeri, vizkozite ve aletsel renk ölçümleri yapılmıştır. Bulgular genelde literatür verileriyle uyumludur. Örnekler için 25 °C'de ölçülen vizkozite değeri 42.8 - 44.3 cP aralığındadır. Bu ölçümü karşılaştıracak herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Haşhaş yağlarında bulanıklık değeri 1-181 NTU arasında varyasyon göstermiştir. Hem çeşit hem de muamelelerin etkisi önemli bulunmuştur. En yüksek bulanıklık değeri kontrol grubu ve ofis 8-beyaz örneklerinde ölçülmüştür. Kavurma işleminde bulanıklığın çok önemli düzeyde azaltıldığı gözlenmiştir. Enzim muamelesi de daha düşük düzeyde olmakla birlikte bulanıklığı azaltmada etkilidir. Kavurma işleminin daha saf yağ eldesi için çok önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Bulanıklık değerlerine benzer olarak rengin L bileşeninde enzim iki farklı örnekte zıt yönlü etki göstermiştir. Renk ölçümünün a* bileşeni için 0.09 - 3.31 aralığı ve b* bileşeni için 1.75-4.87 aralığı ölçülmüştür. Bu verileri karşılaştıracak literatür bilgisine rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma, haşhaş tohum yağlarının fiziksel özellikleri hakkında literatüre de değerli katkıları sağlamaktadır.

Çalışmamızda elde edilen haşhaş yağlarının bazı önemli kimyasal parametreleri de belirlenmiştir. Serbest asitlik değeri % 1.3 - 6.9 aralığında bulunmuştur. Genel olarak kavurma işleminin asitliği düşürdüğü, öte yandan enzim muamelesinin ise yükselttiği görülmüştür. Burada kavurma işleminin serbest asitlik kontrolünde çok önemli bir işlem olduğu görülmektedir. Öte yandan enzim muamelesi asitliğin bir miktar artmasına neden olmuştur. Kullanılan enzim preparatlarının içeriğinde yağ hidrolizine sebep olan aktivitenin (lipolitik aktivite) bulunması olasıdır veya enzim inkübasyon sürecinde kısmen hidroliz olayı gerçekleşmiş olabilir. Örneklerde ölçülen peroksit değeri (0.68 - 2.98) düşüktür, ancak enzim muamelesi gören örneklerde istatistik olarak önemli olmayan düzeyde de olsa bir artış bulunmaktadır. Bu duruma inkübasyon süresince hava oksijeni ile olan temasın neden olduğu düşünülebilir. Örneklerde iyot sayısı 133-141 ve sabunlaşma sayısı 178-187 arasında bulunmuş ve literatür verileriyle uyumlu olduğu belirlenmiştir. Örneklerin sabunlaşmayan madde oranlarının da ortalama olarak % 0.6 - 1.0 arasında değiştiği bulundu. Haşhaş yağı örneklerinde toplam fenol değeri 1.01 - 7.59 aralığında ve antioksidan kapasite ise TEAC değeri olarak 20.26 - 43.90 aralığında ölçülmüştür. Literatürde haşhaş tohum yağlarının toplam fenol ve antioksidan kapasite değerine ait

çalışma ve bulguya rastlanmamıştır. Ancak ölçülen değerlerin naturel zeytinyağından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Genel olarak soğuk pres haşhaş yağlarında ölçülen kimyasal parametrelerin oldukça kabul edilebilir sınırlar içinde ve mevcut literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Yağların insan gıdası olarak direkt tüketimine sorun oluşturabilecek herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Yağ örneklerinin bileşen özellikleri olarak tokoferoller, steroller ve yağ asitleri kompozisyonu analiz edilmiştir. Örneklerde sadece alfa-tokoferol (1.32 - 3.39 mg/100g) ve gama-tokoferol (15.60 - 27.90 mg/100g) belirlenmiştir. Elde edilen veriler literatür bulgularıyla uyumludur. Haşhaş yağlarında belirlenen ana steroller, β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol, klorosterol, Δ^5 ve Δ^7 -avenasteroldür. Toplam sterol oranı 1139-2481 ppm aralığında bulunmuştur. Sterol bileşenlerinden bazılarının miktarı sadece çeşitten etkilenirken, bazıları da sadece yapılan ön işleminden etkilenmiştir. Bazı örneklerde ise çeşit ve muamele etkileşimlerini istatistik olarak önemli bulunmuştur. Veriler incelendiğinde kavurma işleminin ve enzim muamelesinin sterollerin miktarları üzerine doğrudan çok belirgin bir artış veya azalışa neden olmadığı görülmektedir. Kontrol gruplarında ise kendi aralarında farklar bulunmasına rağmen, farklılığın yönü muameleye göre değişkenlik göstermektedir. Haşhaş yağı örneklerinde yağ asitleri olarak palmitik asit (% 8.7 - 9.5), stearik asit (% 2.2 - 2.6), oleik asit (% 13.2 - 14.7), linoleik asit (% 73.1 - 75.2) ve gama-linolenik asit (% 0.5 - 0.6) ölçülmüştür. Yağ asidi bileşimine ait veriler literatürle uyumlu bulunmuştur. Haşhaş yağını linoleik asitce zengin (linoleik gruptan), ancak yeteri kadar oleik ve palmitik asidi de içeren dengeli, besleyici değeri yüksek bir yağ olarak kabul etmek mümkündür.

Yağ örnekleri için eğitimli bir panelin belirlediği 12 tanımlayıcı terim kullanılarak duyuşal LPA yapılmıştır. Kategori skalası (0-hiç; 4-en çok) kullanılarak yapılan ölçümlerde haşhaşimsı terimi 2.55 - 2.95; kavrulmuş terimi 1.8 - 2.85; fındığımsı 2.15 - 2.75; samansı 0.75 - 1.70; buruk 0.9 - 1.5; mumsu 1.15 - 1.85; mayamsı 0.95 - 1.75; baharatlı 0.85 - 1.3; toprak 0.7 - 2.15; acı 0.35 - 1.45; tatlı aromatik 0.65 - 1.4 ve yakıcı 0.9 - 1.9 aralığında ölçülmüştür. Tohumlar arasındaki genetik varyasyonun, elde edilen yağlar için yapılan duyuşal tanımlamada çok belirleyici bir faktör olmadığı ortaya konulmuştur. Dolayısıyla, tüketici duyuşal algısı açısından farklı tohumlardan elde edilen yağlar birbirleri yerine kullanılabilirler. Haşhaş yağlarında baskın olarak ortaya çıkan duyuşal tanımlayıcı terimlerin haşhaşimsı, kavrulmuş, fındığımsı ve toprak terimleri olduğu görülmüştür. Çoğu örnekte acı terimine ait skorlar oldukça düşüktür. Bu yağın

kabul edilebilirliği açısından oldukça önemlidir. Benzer Őekilde buruk ve mayamsı skorlarının da dūŐuk olması yağın kabul edilebilirliği açısından olumlu değerlendirilebilir. Muameleler arasında kavrulmuŐ, fındığımsı, samansı ve tatlı aromatik terimleri açısından olan farklar istatistik olarak önemlidir. Duyusal tanımlamalarda muamelelerden kaynaklanan farklılıklar kavrulmuŐ, fındığımsı, samansı ve tatlı aromatik terimlerinde oluŐmuŐtur. Bu oldukça beklenen bir sonuçtur. Özellikle kavurma iŐlemiyle oluŐan Maillard reaksiyon ürünlerinin; kavrulmuŐ, fındığımsı ve tatlı aromatik skorlarını artırdığı görülmüŐtür. Öte yandan yapılan muameleler samansı aromada dūŐuŐe neden olmuŐtur. Dolayısıyla tohumlara uygulanan ön iŐlemlerin, özellikle kavurmanın haŐŐaŐ yağlarının duyusal özellikleri üzerine oldukça olumlu sonuçlar sağladığı söylenebilir.

Yađ örneklerindeki uçucu bileŐenler GC-MS tekniğiyle analiz edilmiŐtir. Toplam 87 adet farklı uçucu bileŐen belirlenmiŐtir. Ancak bu aromatik maddelerin her birisi 9 adet örnekte ayrı ayrı tespit edilmemiŐtir. Örneklerin çoğunluğunda ölçülebilir miktarda bulunan uçucu bileŐenler Őunlardır: 1-hekzenol, 1-okten-3-ol, 1-pentenol, -bütirolakton, -nonalakton, -oktalakton, 2-heptanon, 2-nonanon, 2-pentanon, 3-etil-2metil-1,3-hekzadien, trimetilsil vanilin, -pinen, dL-limonen, merkaptoasetik asit, naftalen, N-benzil-Netil-p-isopropilbenzen, n-dekanal, n-heptanal, n-hekzanal ve caprilik asit. Literatürde haŐŐaŐ yağı aromatiklerini konu edinen sadece bir adet makale bulunmaktadır. Bu alıŐma ile karŐılaŐtırıldıđında, bizim çalıŐmamızda çok daha fazla sayıda uçucu bileŐen belirlenmiŐtir. Literatürde bulunan makalede adı geçen aromatiklerin tamamı incelenen yađ örneklerinde belirlenmiŐtir. Ancak farklı ön muamelelerin uygulanması yeni uçucu bileŐenlerin oluŐmasına neden olmuŐtur. Ayrıca analiz yapılan sistem daha hassastır ve gerçek konsantrasyon verileri elde edilmiŐtir. Bu bilgilerin literatüre önemli katkılar sağladığı dūŐnlmelidir.

Çalışmadan elde edilen verilerin aynı anda çoklu karşılaştırılması veya parametrelerin birbirleriyle olan iliŐkilerinin görülebilmesi için MDS analizleri yapılarak grafikler elde edilmiştir. Kontrol ve kavrulmuş grubu örnekler ölçülen fiziko-kimyasal parametreler açısından dört ayrı grup oluşturmuşlardır. Enzim muamelesinin parametrelerde bazı deđiŐmelere neden olduğu ve gruplamanın daha belirsiz hale geldiği görülmüştür. Gerçekten de daha önce yapılan varyans analizinde de bazı parametreler için interaksiyonun önemli olduğu görülmüştür. Benzer Şekilde yapılan ön işlemlere ait gruplar, ölçülen parametreler açısından birbirlerinden belirgin olarak ayrılmıştır. Yani yapılan muameleler (kontrol, kavurma, enzim muamelesi) llen parametrelerde farklar

oluşturmuşlardır. Aynı şekilde ölçülen parametreler açısından bakıldığında, 3 farklı haşhaş çeşidinin de birbirinden ayrı gruplar oluşturduğu, yani tohum farklılığının bazı özelliklerde ölçüm farklılıklarına neden olduğu ve bu farklılığın kümülatif olarak MDS grafiğinde de görüldüğü ortadır.

Bu araştırmanın genel sonucu olarak, özellikle kavurma işleminin soğuk presle haşhaş yağı üretmede yağ verimi ve kalitesi açısından daha üstün özellikte yağ sağladığı ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde soğuk pres yönteminin haşhaş yağı üretiminde rafinasyon gerektirmeyen, üstün kalitede yemeklik yağ üretiminde kullanılabilceği ortaya konulmuştur. Haşhaş yağının duysal özellikleri açısından olumlu, besleyici bileşenler açısından zengin, herhangi olumsuz bir niteliği bulunmayan yemeklik bir yağ olduğu bir kez daha teyid edilmiştir. Yine soğuk presle elde edilen yağlı keklerin yemlik kalite açısından üstün nitelikte ve sorunsuz olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu keklerin insan gıdası olarak kullanılma potansiyellerinin olduğu da belirlenmiştir.

Soğuk pres yöntemiyle yağ veriminin düşük, kekta kalan yağ miktarının ise çok daha yüksek olduğu bir gerçektir. Bu nedenle protein izolasyonu öncesinde pres keklerinde ilave bir solventle yağ giderme işlemi yapılmış ve işlem sonrasında haşhaş yağsız unlarının yağ içeriklerinin % 2.32 - 4.28 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yağsız unlarda nem değerleri % 11.01 - 16.21, protein oranları % 26.87 - 35.14, kül oranları ise % 8.70 - 11.14 arasındadır. Haşhaş yağsız unlarının renk değerleri olarak L (40.63 - 68.63), a* (3.08 - 8.13) ve b* (8.46 - 22.62) değerleri belirlenmiştir.

Yağsız unlarda ölçülen bir başka fiziksel veri vizkozite değerleri olup, yağsız un ile hazırlanan % 20'lik dispersiyonlarda belirlenmiştir. Vizkozite 132.5-1085.5 cP arasında değişmiştir ve tüm çeşitlerde enzim örneklerinin vizkozitelerinin kontrol gruplarına oranla belirgin olarak düşük olduğu görülmektedir. Kavurma işlemi ile haşhaş tohumlarının vizkozite değerlerinde çok fazla değişim olmadığını söyleyebiliriz. Tohuma uygulanan enzim ön işlemi sonrasında kullanılan proteaz ve hemiselülaz enzimleri karbonhidrat ve protein moleküllerinin polimer yapısını etkileyerek su tutma kapasitesinde düşüşe neden olduğundan vizkozite değerleri daha az olarak ölçülmüştür. Bazı araştırmacılar çözünürlük, hidrodinamik özellikler, hidrofobiklik ve proteinlerin mikro yapılarının reolojik özellikler üzerinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (Moure ve ark., 2006). Soya protein izolatlarının görünür vizkozitelerinin çözünen ve çözünmeyen proteinlerin su ve hidrate partiküller ile arasındaki interaksiyona bağlı olduğu yapılan çalışma ile bildirilmiştir.

Vizkozite protein konsantrasyonu ile birlikte üstel bir artış gösterir. Bunun sebebi; hidrate proteinler arasındaki interaksiyonun artışı, su absorpsiyonu ve oluşan şişmedir. Toplam su/protein oranı içine alınan su oranı 1'e yaklaştığında, değişik protein konsantrasyonları ile birlikte, görünür vizkozitede artış gözlenmektedir (Añón ve ark., 2001). Kısmi protein denaturasyonu proteinlerin çökmesi ile birlikte hidrodinamik alanlardaki artışa bağlı olarak vizkoziteyi arttırmaktadır (Moure ve ark., 2006).

Protein yararlılığını etkileyen bileşenler olan tanen ve fitik asit miktarlarının belirlenmesi de yine yağsız unlarda yapılan analizler arasındadır. Fitik asit miktarları 9.96 - 15.08 mgP g⁻¹ arasında değişmekte olup, pek çok yağlı tohumla kıyaslandığında yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum haşhaş proteinlerinin zenginleştirme amacıyla katılabileceği gıda ortamlarında proteinlerin bio-yararlılığını olumsuz etkileyecek bir durumdur. Tanen içerikleri ise 0.68 - 1.24 mgCE g⁻¹ (kateşin eşdeğeri) olarak belirlenmiş olup, düşük sayılabilir.

Haşhaş tohumlarının tüm muamele gruplarından elde edilen yağsız unların mineral madde içerikleri analiz edildiğinde; yağsız haşhaş unlarının özellikle kalsiyum (268.55 - 289.10 ppm), magnezyum (49.89 - 67.00 ppm), sodyum (97.8 - 3507.0 ppm) ve potasyum (1163.0 - 5469.0 ppm) bakımından zengin oldukları belirlenirken, demir (0.22 - 0.79 ppm) açısından fakir oldukları görülmüştür. Ağır metaller olan kurşun, kobalt, kadmiyum, nikel, krom ise tespit edilmemiştir.

Yağsız unların katılacakları gıda matrislerinde nasıl davranış göstereceklerine dair fikir vermesi açısından; su ve yağ bağlama testleri yapılmış, emülsiyon ve köpüklenme özellikleri incelenmiş ve en düşük jelleşme konsantrasyonları belirlenmiştir. 9 adet yağsız haşhaş ununda su bağlama verileri 1.40 - 2.20 g su/g un ve yağ bağlama verileri ise 1.83 - 2.26 g yağ/g un olarak tespit edilmiştir. Proteinler tarafından bağlanan su miktarı amino asit profili, konformasyonel yapı, hidrofobiklik, pH, sıcaklık, iyonik güç ve protein konsantrasyonu ile yakından ilgili olup, yüklü kalıntı kısımları arttıkça artış gösterir. Yağlı tohumlarda yağ giderme işlemi protein çözünürlüğünü ve kaba unun su ile yağ absorblama kapasitelerini arttırmaktadır. Su absorpsiyon kapasitesi çimlenme, fermentasyon, ön ıslatma veya temel uygulamalar (kavurma, otoklavlama) ile gelişmektedir. Konsatratların su bağlama kapasitesi ise kaba unlarla kıyaslandığında daha iyidir (Moure ve ark., 2006). Çalışma sonuçlarımız incelendiğinde her üç tohum çeşidi için de en düşük su bağlama değerleri enzim muamelesi uygulanan örneklerde görülürken (2.24 - 2.48 g/g), kavurma ile

mavi ve sarı çeşitlerde su bağlamada artış, beyaz çeşit de ise azalma gözlenmiştir. Su bağlama kapasitesi; çorbalar, soslar, et ürünleri, hamur ve fırıncılık ürünleri gibi gıdalarda proteinlerin önemli bir fonksiyonel özelliğidir. Bu açıdan bakıldığında haşhaş yağsız unu, su bağlama özelliği açısından randımana olumlu etki yapabilir ve bu tip gıdalar için uygun bir takviye olarak görülebilir.

Haşhaş yağsız unlarında yağ absorblama kapasitelerinde de benzer bir tablo gözlenmiştir. Tespit edilen değerler 1.89 - 2.26 g/g arasında değişmiştir ve kavurma ile mavi ve sarı çeşitlerde yağ bağlama özelliğinde artış gözlenirken, beyaz çeşitin değeri neredeyse aynı kalmıştır.

Proteinler gıdalarda emülsifikasyon amacıyla düşük moleküllü sörfektan maddeler olarak kullanılırlar. Proteinlerin emülsifiyerlik özellikleri; moleküler özellikleri, molar ağırlık, hidrofobiklik, konformasyonel stabilite, yük durumu, pH ve sıcaklık tarafından belirlenmektedir. Çözünürlük de önemli bir rol oynamaktadır ve çözünmeyen proteinler iyi emülsifiyerler değildirler ve çökelmeye neden olurlar. Yağ-su ara fazında stabil olmayan hidrofobik kalıntıların protein yüzeyinde bulunması ile emülsifiyerlik özellikleri yüksek korelasyon gösterir (Moure ve ark., 2006). Yağsız unların emülsiyon aktiviteleri ve stabiliteleide incelenmiştir. Emülsiyon aktiviteleri % 3.33 - 70.83 arasında, 80 °C de 30 dk ısıtma sonucunda belirlenen stabilite değerleri ise % 1.67 - 54.16 aralığında belirlenmiştir. Enzim uygulaması örneklerin emülsiyon aktivitelerinde ve stabilitelelerinde belirgin bir azalmaya neden olurken, kavurma işlemi uygulanan örneklerde en yüksek aktivite ve stabilite değerleri tespit edilmiştir. Denaturasyon hidrofobik alan ve esnekliğin artmasına bağlı olarak proteinlerin emülsifiyer özelliklerini artırır (Moure ve ark., 2006). Yağsız haşhaş unlarının özellikle kavurma ön işlemi uygulanan tohumlardan elde edilmesi durumunda, pek çok gıdada kullanılacak yeterlilikte iyi emülsiyon özellikleri sağlanabileceği görülmüştür.

Köpükler sıvı içinde gaz dispersiyonları veya katı materyal içinde gaz şeklinde tanımlanırlar. Köpük yapıları içeren gıdalar üç önemli ve kısmen ayrı aşamayı içerirler: köpüğün oluşumu, stabilitesi ve tüketimi. Köpük oluşumunda proteinler hızlıca yeni oluşan hava/su ara yüzeyinde adsorblanırlar ve bu sürede ara yüzey gerilimi düşer, sabit fazın vizkozitesi iyileşir. Köpük oluşumu sonrası proteinler; kremleşme, topaklanma, çökme ve faz ayrımı gibi köpük stabilitesini bozan mekanizmaların oluşmasını önlerler (Foegeding ve Davis, 2011). Yapılan çalışmada haşhaş yağsız unlarının köpüklenme kapasiteleri

% 2.02 - 26.20, köpük stabiliteleri ise % 27.88 - 62.74 arasında tespit edilmiştir. Köpüklenme kapasitesi düşük olan yağsız haşhaş unlarının köpük stabilitelerinin çok daha iyi olduğu görülmektedir.

Haşhaş yağsız unlarının jelleşme özellikleri pH 7.0'da incelenerek, katı jel oluşumunun gözlemlendiği en düşük konsantrasyonlar belirlenmiştir. En düşük jelleşme konsantrasyonları % 16-20 arasında değişmekte olup, oldukça yüksektir. Kavurma işleminin jelleşme üzerinde olumsuz etki gösterdiği ve her üç haşhaş çeşidinde kavurma gruplarına ait konsantrasyonların (% 20) kontrol gruplarına ait değerlerden (% 16-18) yüksek olduğu görülmüştür. Enzim uygulanan haşhaş çeşitlerine ait yağsız unların jelleşme özellikleri son derece olumsuz etkilenmiş, % 20 örnek konsantrasyonunda dahi oluşum gözlenmediğinden % 38' e kadar gidilmiş, ancak bu değerde dahi tam anlamıyla katı stabil bir jel yapısı oluşmadığı gözlenmiştir. Nem ve yağ salınımı ve duyuşal tekstür; jel ağ yapısına ve ağ içersindeki proteinler ile diğer makromoleküllerin interaksiyonuna bağılı olan makroskobik özelliklerdir. Bu nedenle proteinlerin yağ ve su bağılama yeteneklerinin fonksiyonel olarak ölçülmesi önemlidir. Protein jel yapısı gıdaların tekstüründen ve kırılma davranışından sorumludur. Sertlik, kırılmaya neden olan güç olarak algılanan ısırma kuvveti, jel yapılarının önemli olduğu peynir, jöleli tatlılar, tofu ve işlenmiş et ürünleri gibi gıdalarda jel yapılarına atfedilen en önemli duyudur (Foegeding ve Davis, 2011).

Fiziko-kimyasal özellikleri belirlenen haşhaş yağsız unlarından optimum verim ile protein izolasyonu yapılabilmesi amacıyla en uygun tuz konsantrasyonu ve pH değeri belirlenmiştir. 0, 0.2, 0.6 ve 1M konsantrasyonlarında tuz çözeltileri ile pH 7-12 aralığında proteinlerin çözünlükleri incelenmiştir. En uygun izolasyon şartları olarak her üç tohum çeşidinin kontrol ve kavurma gruplarında 0.6 M tuz konsantrasyonu ve pH 11.0 değeri belirlenirken, enzim gruplarında en yüksek protein çözünlüğü 0.2 M tuz konsantrasyonu ve pH 12.0 da tespit edilmiştir. 9 adet haşhaş tohum protein örneğı için izoelektrik noktalar belirlenmiş ve 4.0 - 5.5 arasında olduğu tespit edilmiştir. Belirlenen izolasyon şartları kullanılarak izoelektrik çöktürme ile elde edilen protein izolatlarında verim % 10.72 - 61.34 arasında değişmiştir. Verimler üzerinde çeşit (p=0.001) ve muamele (p=0.000) etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir. En yüksek protein verimleri her üç çeşit için de kontrol örneklerinde belirlenmiş ve ofis 8-beyaz çeşidine ait kontrol grubunda en yüksek verim (% 61.34) elde edilmiştir. En düşük protein verimleri her üç çeşitte de enzim ile muamele edilen gruplarda (% 10.72 - 19.77) tespit edilmiştir.

Haşhaş protein izolatlarında çözünürlük özellikleri belirlenmiş, protein fonksiyonellik testleri (su ve yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi, köpüklenme kapasitesi ve stabilitesi, en düşük jelleşme konsantrasyonu) yapılmıştır. 40 ve 60 °C’lerde vizkozite değerleri ile renk özellikleri belirlenmiştir. Gerçekleştirilen bu analizler sonucunda elde edilen veriler yağlı tohum proteinlerine dair literatür açısından bir ilk niteliği taşımaktadır. Daha önce haşhaş proteinlerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikleri üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Haşhaş proteinlerinin çözünürlük özellikleri incelendiğinde; her üç çeşide ait kontrol ve kavurma uygulanan gruplarda çözünürlüğün en fazla olduğu pH değeri 11.0 iken enzim gruplarında pH 12.0 olarak görülmektedir. Protein izolatlarının hazırlanması öncesinde yapılan optimizasyon çalışmalarımız da haşhaş proteinlerinin en iyi pH 11.0 ve 12.0’de çözüldüğünü göstermiştir. Üç tohum çeşidine uygulanan tüm muamelelerde, beklenildiği şekilde çözünürlük proteinin izoelektrik noktasında en düşüktür ve izoelektrik noktadan asidik ve bazik pH değerlerine doğru gidildikçe artmaktadır.

Proteinlerin vizkozite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla orta sıcaklık derecesi olarak 40 °C ve yüksek sıcaklık olarak da 60 °C seçilmiştir. % 20’lik protein dispersiyonlarının; 40 °C sıcaklıktaki vizkozite değerleri 24.15 - 32.35 cP, 60 °C sıcaklıkta ise 41.95 - 59.95 cP arasında değişmiştir. Haşhaş protein izolatlarının görünür vizkozite değerleri üzerinde her iki sıcaklık derecesi (40 °C ve 60 °C) açısından da muamele etkisi önemli iken çeşit etkisinin istatistik olarak önemli olmadığı edilmiştir. Beklenildiği şekilde sıcaklık artışı ile birlikte vizkozite değerlerinde artış meydana gelmiştir. 40 ve 60 °C sıcaklıklarda en yüksek vizkozite değerleri kavrulmuş örneklerde tespit edilmiş, her iki sıcaklıkta enzim ile muamele protein izolat dispersiyonlarında kontrol gruplarına oranla vizkozitede düşüşe neden olmuştur.

İzolatların renk özelliklerinin belirlenmesi amacıyla L, a* ve b* değerleri ölçülmüştür. Veriler incelendiğinde; protein izolatlarının her üç renk bileşeni (L, a*, b*) üzerinde muamele ve çeşit (p=0.000) etkisinin önemli olduğu görülmektedir. L değeri 45.68 - 80.37, a* değeri 0.60 - 7.94, b * değeri ise 9.92 - 18.96 arasında tespit edilmiştir. En yüksek kırmızılık ve sarılık değerleri her üç çeşit içinde enzim gruplarında belirlenmiştir.

İncelenen haşhaş çeşitleri arasında kontrol grupları protein izolatlarının en yüksek su bağlama değeri (2.20 g/g) ve yağ bağlama (2.17 g/g) değerleri ofis 4-sarı çeşidine aittir.

Protein izolatlarının su ve yağ bağlama özellikleri üzerinde muamele etkisinin (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.003$) önemli olduğu görülmüştür. En yüksek su bağlama oranları kavrulmuş örneklerde tespit edilmiştir. Bunun en önemli nedeni, meydana gelen protein denaturasyonu sonucu proteinlerin globuler yapısında oluşan artış olarak düşünülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin su bağlama yeteneği kontrol gruplarına oranla bir miktar düşme göstermiştir. Tohuma uygulanan proteaz ve hemiselülaz enzimleri, protein ve karbonhidrat moleküllerini parçalayarak molekül yapısını küçülttüğü için bu düşüşün gözlemlendiği düşünülmektedir. Örneklerin yağ bağlama kapasiteleri (1.41-2.45 g/g) incelendiğinde; yine en yüksek değerler kavrulmuş örneklerde yer almış, enzim uygulanan gruplarda ise kontrol gruplarına oranla ya çok az bir düşme veya aynı seviyeler gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda üç farklı haşhaş çeşidine ait proteinlerin emülsiyon aktiviteleri ve stabiliteilerinin uygulanan ön işlemlerden nasıl etkilendiği de araştırılmıştır. Protein izolatlarının emülsiyon aktivitelerinin ve stabiliteilerinin haşhaş yağsız ununa kıyasla oldukça düşük olduğu görülmüştür. Emülsiyon aktivitesi üzerinde muamele ($p=0.000$) ve çeşit ($p=0.002$) etkilerinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grupları arasında en yüksek emülsiyon aktivitesi (% 21.87) ofis 8-beyaz çeşidinde tespit edilmiştir. Kavurma işlemi uygulanmasının ardından her üç çeşitte de emülsiyon aktivitelerinde artış gözlemlenmiş olup, en yüksek değer yine ofis 8-beyaz çeşidinde belirlenmiştir. Emülsiyon aktivitesinde kavurma işlemi ile birlikte gözlenen artış ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı çeşitlerinde aynıdır (% 12). Enzim ön işlemi örneklerin genelinde emülsiyon aktivitesinde ciddi düşüşlere neden olmuş ve enzim uygulamasından en fazla etkilenen çeşit ofis 8-beyaz olmuştur.

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan haşhaş çeşitlerinin köpüklenme kapasiteleri ve köpük stabiliteileri de incelenmiştir. Köpüklenme kapasitesi ($p=0.008$) ve köpük stabilitesi ($p=0.027$) üzerinde muamele etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur. Örneklerin köpüklenme kapasiteleri % 9.37 - 19.26 arasında değişmekte olup, en yüksek değer (% 19.26) ofis 3-mavi çeşidine ait kontrol örneğinde tespit edilmiştir. Haşhaş çeşitlerinin köpüklenme özellikleri açısından ön işlemlere verdiği tepkiler aynıdır. Her üç çeşit için de uygulanan kavurma ve enzim ön işlemleri köpüklenme kapasitelerinde düşüşe neden olmuştur. Tohumların enzim ile ön işleminden geçirilmesi aynen yağsız unda olduğu gibi köpük stabiliteilerinde önemli oranda artışa neden olmuştur. Örneklerin köpük stabilite değerleri % 19.19 - 46.43 arasında değişmekte olup, 30 dk oda sıcaklığında bekletme sonucunda kalan köpüğün yüzde olarak miktarıdır.

Kontrol örnekleri incelendiğinde ofis 8-beyaz çeşidi için en düşük jelleşme konsantrasyonu % 18, ofis 3-mavi için % 20, ofis 4-sarı için ise % 14 olarak belirlenmiştir. Tohumlara uygulanan ön kavurma işleminin ve enzim ile muamelenin proteinlerin jelleşme özellikleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Kavurma işlemi ile örneklerin en düşük jelleşme konsantrasyonları % 10-14 aralığına gerilerken, enzim uygulanması durumunda en düşük jel oluşturma konsantrasyonun ofis 8 ve ofis 4 çeşitleri için % 16 olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmada ofis 8-beyaz, ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı haşhaş çeşitlerinin üç muamele (kontrol, kavurma, enzim) grubuna ait örneklerin tamamında 17 adet aminoasit tespit edilmiştir. Belirlenen aminoasitler alanin (1010.9 - 1918.5 nmol/mL), asparagin (12.99 - 27.01 nmol/mL), aspartik asit (1767.6 - 2512.1 nmol/mL), glutamin (16.860 - 135.305 nmol/mL), glutamik asit (3291.8 - 5343.2 nmol/mL), glisin (1094.4 - 2235.2 nmol/mL), histidin (221.83 - 712.65 nmol/mL), izolosin (710.1 - 1413.2 nmol/mL), lösin (1089.1 - 2736.8 nmol/mL), lizin (400.58 - 1124.6 nmol/mL), methionin (68.97 - 615.91 nmol/mL), fenilalanin (522.0 - 1289.1 nmol/mL), prolin (816.8 - 1708.5 nmol/mL), serin (731.2 - 1435.8 nmol/mL), treonin (522.41 - 976.89 nmol/mL), tirosin (187.56 - 753.66 nmol/mL), valin (971.9 - 1853.9 nmol/mL)'dir. Örneklerin hiç birisinde özellikle çocuklar için gerekli olan yarı esansiyel aminoasit arginin ve sistin tespit edilmemiş olup, esansiyel aminoasitlerden triptofan ise sadece ofis 3-mavi (120.14 - 110.40 nmol/mL) ve ofis 4-sarı (58.88 nmol/mL) çeşitlerinde bulunmuştur. Diğer esansiyel aminoasitler olan fenilalanin, izolosin, lösin, lizin, metionin, valin ve treonin açısından incelenen haşhaş çeşitlerinin iyi birer kaynak olduğu görülmüştür.

Çalışmamız ile elde edilen protein izolatlarının termal özelliklerinin belirlenmesi DSC cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür için ilk olma özelliğindedir. Proteinlerin termal özellikleri üzerinde muamele ve çeşit etkisi istatistik olarak (≤ 0.05) önemlidir. Kontrol örnekleri arasında T_o , T_d ve ΔH değerleri en yüksek olarak ofis 8-beyaz çeşidinde görülmekte, bunu sırasıyla ofis 3-mavi ve ofis 4-sarı takip etmektedir. Bu durumda beyaz çeşide ait proteinlerin sıcaklığa daha dayanıklı olduğu düşünülebilir. En yüksek T_d değeri olan 93.41 °C bu çeşidin kontrol örneklerinde görülmüştür. Ancak kavurma ve enzim uygulanan örneklerde gözlenen durum farklı olmuştur ve T_d değeri en yüksek olarak 99.79 °C ile ofis 3-mavi çeşidinin kavurulmuş örneğinde gözlenmiştir. Kavurma işlemi mavi ve sarı çeşitlerde denaturasyon sıcaklığının

yükselmesine neden olurken, her üç çeşit içinde enzim örnekleri termal olarak en dayanıksız olanlardır.

Haşhaş protein izolatlarının yapılan FT-IR analizleri sonuçları incelendiğinde; ofis 8, ofis 3 ve ofis 4 çeşitlerine ait tüm muamele gruplarında $1618-1638\text{ cm}^{-1}$ 'de titreşim görülmüş olup amid I bandlarının (C=O bağları) olduğu tespit edilmiştir. Yine tüm örneklerde $1522-1531\text{ cm}^{-1}$ 'de amid II bandları (CN ve CH bağları) olduğu, Ofis 4 çeşidi enzim örneği dışındaki tüm örneklerde $673-695\text{ cm}^{-1}$ 'de titreşim veren diğer amid bandlarının (amid IV, V, VI, VII) varlığı tespit edilmiştir. Ofis 3-enzim örneğinde düşük sıklıkta ve Ofis 8-enzim, ofis 4-enzim örnekleri hariç olmak üzere diğer tüm izolatlarda $2297-2300\text{ cm}^{-1}$ C=C (alkinler) ile $2342-2353\text{ cm}^{-1}$ C=N, -N=C=O, -N=C=S, -N=C=N-, -N₃ gruplarının varlığını gösteren esneklik bandları belirlenmiştir. Tüm bu bilgiler, haşhaş tohumlarına enzim ön işleme uygulanmasının tohum protein yapısında bozulmalara ve dolayısıyla protein kaybına neden olduğunu ortaya koymuştur.

Haşhaş proteinlerinin SDS-PAGE analizleri de gerçekleştirilerek, sonucunda elde edilen jellerde yüksek mobilite gösteren 7 adet band gözlenmiştir. Bandların molekül ağırlıkları standart ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 10, 15, 20, 30, 40, 50 kD'na denk gelmektedir. 75-250 kD aralığındaki daha yüksek molekül ağırlıklı proteinler jelde tespit edilmemiştir.

Bu araştırmanın genel sonucu olarak, haşhaş proteinlerinin izolasyonunda alkali pH' larda tuz çözeltisi ile çözündürme ve izoelektrik çökeltme metodu kullanılarak yüksek verim ile protein izolatu elde edilebileceği ortaya konulmuştur. Haşhaş yağsız unlarının ve protein izolatlarının özellikle mineral madde ve aminoasit bileşenleri açısından değerlendirildiğinde besleyici değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Tohumlara uygulanan kavurma ve enzim ön işlemlerinin bu besin elemetleri üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Ancak yağsız unlarda yapılan analizler göstermiştir ki; haşhaş tohumunda anti-besleyici faktörlerden tanen içeriği düşük olmasına karşın fitik asit miktarı oldukça yüksektir. Fitik asit miktarı kavurma ve enzim muamelesi sonucunda sadece ofis 3-mavi çeşidinde azalma göstermiştir. Uygulanan protein fonksiyonellik testleri arasında su ve yağ bağlama özellikleri hem yağsız unlar hemde protein izolatlarında oldukça iyidir. Bu durum haşhaş un ve proteinlerinin; özellikle hamur işleri, fırıncılık ürünleri ve et ürünleri gibi randımanın önemli olduğu gıdalarda zenginleştirme amacıyla kullanılmasını sağlayabilir. Yine haşhaş protein izolatlarının jelleşme özelliklerinin iyi

olduğu ve muamelelerden olumlu yönde etkilendiği belirlenmiştir. Bu durum, farklı gıdalarda kıvam arttırıcı olarak haşhaş protein izolatının kullanılabilirliği açısından önemlidir. Emülsiyon aktivitesi ve köpük kapasitesi haşhaş protein izolatlarında istenen seviyede yeterli olmayıp, sadece emülsiyon ve köpük stabilitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmada yürütölen fonksiyonellik testleri nötr pH değerinde (7.0) gerçekleştirilmiş olup, daha önce yağsız haşhaş ununda yapılan çalışmalarda alkali pH değerlerinde sözkonusu bu fonksiyonel özelliklerin iyi olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle haşhaş protein izolatlarının fonksiyonelliğinin daha geniş pH aralığında çalışılmasının gerekliliği düşünölmüştür. Haşhaş yağsız ununun besleyici bileşenler açısından zengin, herhangi olumsuz bir niteliği bulunmayan verimli bir protein kaynağı olabileceği teyid edilmiştir. Soğuk presle elde edilen yağlı keklerin iyi özelliklere sahip ve sorunsuz olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu keklerin insan gıdası kaynağı olarak kullanılma potansiyellerinin olduğu da belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abbey B.W., Ibeh G.O., 2006. Functional Properties of Raw and Heat Processed Cowpea (*Vigna unguiculata*, Walp) Flour. *Journal of Food Science*, 53 (6): 1775-1777.
- Achouri A., Nail V., Boye J.I., 2012. Sesame Protein Isolate: Fractionation, Secondary Structure and Functional Properties. *Food Research International*, 46: 360-369.
- Adebowale Y.A., Adeyemi I. A., Oshodi A.A., 2005. Functional and Physicochemical Properties of Flours of Six *Mucuna* species. *African Journal of Biotechnology*, 4 (12): 1461-1468.
- Ahmedna M., Prinyawiwatkul W., Rao R.M., 1999. Solubilized Wheat Protein Isolate: Functional Properties and Potential Food Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1340-1345.
- Altuğ T., Elmacı Y., 2005. *Gıdalarda Duyusal Değerlendirme*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.
- Añón M.C., Sorgentini C.A., Wagner J.R., 2001. Relationships Between Different Hydration Properties of Commercial and Laboratory Soybean Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4852-4858.
- Anonim, 2005. Tarla Bitkileri. 2. *Yayçep Yayınları*, Ankara. 41-48.
- Anonim, 2012a. Erişim:05.05.2012, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Ha%C5%9Fha%C5%9F>.
- Anonim, 2012b. *2011 Yılı Haşhaş Raporu*. TMO Yayınları, Ankara.
- AOAC, 2002. *Official Method 920.39: Fat (crude) or Ether Extract in Animal Feed*. Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method.
- AOAC, 1986. *Official Method 986.11: Phytate in Foods*.
- AOCS, 1984. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*, Ba 5a-49, Aa 5-38, Cc 10c-95, Ca 5a-40, Cd 8-53, Cd 1-25, Tl 1a-64. Champaign, IL, ABD.

- Aparicio R., Morales M.T., Alonso V., 1997. Authentication of European Virgin Olive Oils by their Chemical Compounds, Sensory Attributes, and Consumers' Attitudes. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (4): 1076-1083. DOI: 10.1021/jf960659h
- Appiah F., Asibuo J.Y., Kumah P., 2011. Physicochemical and Functional Properties of Bean Flours of Three Cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp*) Varieties in Ghana. *African Journal of Food Science*, 5(2): 100-104.
- Arntfield S.D., 2000. Proteins from Oil-producing Plants. In: Yada R.Y., Ed. *Proteins in Food Processing*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. 146-167.
- Arslan O., 1982. *Değişik Gelişim Devrelerinde Farklı Tohum Renkli Haşhaş Bitkilerinin Muhtelif Kısımlarındaki Alkaloid Oluşumu Üzerine Araştırmalar*. Doçentlik Tezi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Türkiye.
- Avşar Y.K., Karagül-Yüceer Y, Drake M.A, Singh T.K, Yoon Y, Cadwallader K.R., 2004. Characterization of Nutty Flavor İn Cheddar Cheese. *J. Dairy Sci*, 87:1999-2010.
- Aydeniz B., Güneşer O., Yılmaz E., 2014. Physico-Chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 91:99–110.
- Azcan N., Kalender B.Ö., Kara M., 2004. Investigation of Turkish Poppy Seeds and Seed Oils. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(4): 370-372.
- Bajpai S., Prajapati S., Luthra R., Sharma S., Naqvi A., Kumar S., 1999. Variation in the Seed and Oil Yields and Oil Quality in the Indian Germplasm of Opium Poppy *Papaver somniferum*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 435-439.
- Bandyopadhyay K., Ghosh S., 2002. Preparation and Characterization of Papain-Modified Sesame (*Sesamum indicum L.*) Protein Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6854-6857.
- Bhat M.K., 2000. Cellulases and Related Enzymes in Biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18: 355-383.
- Bozan B., Temelli F., 2003. Extraction of Poppy Seed Oil Using Supercritical CO₂. *Journal of Food Science*, 68: 422-426.
- Bozan B., Temelli F., 2008. Chemical Composition and Oxidative Stability of Flax, Safflower and Poppy Seed and Seed Oils. *Bioresource Technology*, 99: 6354-6359.

- Bradford M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-54.
- Brühl L., Matthäus B., 2008. Sensory Assessment of Virgin Rapeseed Oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 110: 608-610.
- Bukya A., Vijayakumar T.P., 2013. Properties of Industrial Fractions of Sesame Seed (*Sesamum indicum* L.). *International Journal of Agricultural and Food Science*, 3(3): 86-89.
- Cano-Medina A., Jiménez-Islas H., Dendooven L., Herrera R.P., González-Alatorre G., Escamilla-Silva E.M., 2011. Emulsifying and Foaming Capacity and Emulsion and Foam Stability of Sesame Protein Concentrates. *Food Research International*, 44:684-692. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.015>
- Deli S., Farah Masturah M., Tajul Aris Y., Wan Nadiah W.A., 2011. The Effects Of Physical Parameters of the Screw Press Oil Expeller on Oil Yield From *Nigella Sativa* L Seeds. *International Food Research Journal*, 18(4): 1367-1373.
- Durmaz G., Gökmen Y., 2011. Changes in Oxidative Stability, Antioxidant Capacity and Phytochemical Composition of Pistacia Terebinthus Oil With Roasting. *Food Chemistry*, 128:410-414.
- Ebner O.S.H., Jensen-Jarolim E., Gerstmayer G., Scheider K.O., Ebner C., 1999. Serological Characterization of Allergens in Poppy Seeds. *Clinical Experience in Allergy*, 29:1075-1079.
- Eklund A., Agren G., 1975. Nutritive Value of Poppy Seed Protein. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 52:188-190
- Eklund A., 1975. The Contents Of Phytic Acid in Protein Concentrates Prepared From Nigerseed, Sunflower Seed, Rapeseed And Poppy Seed. *Ups J Med. Sci.*, 80(1):5-6.
- Erinç H., Tekin A., Özcan M. M., 2009. Determination of Fatty Acid, Tocopherol and Phytosterol Contents of the Oils of Various Poppy (*Papaver Somniferum* L.) Seeds. *Grasas Y Aceites*, 60 (4), 375-381.
- FAO, 2014. Erişim: 28.06.2014. <http://faostat.fao.org>

- Firestone, D., 1999. *Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes*. AOCS Press, Champaign, USA.
- Foegeding E.A., Davis J.P., 2011. Food Protein Functionality: A Comprehensive Approach. *Food Hydrocolloids*, 1-12.
- Hagerman A.E., 2002. Vanillin Assay. Alınmıştır: 08.11.2013
<http://chemistry.ouohio.edu/hagerman>
- Hrčková M., Rusnakova M., Zemanovic J., 2002. Enzymatic Hydrolysis of Defatted Soy Flour by Three Different Proteases and their Effect on the Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates. *Czech Journal of Food Science*, 20(1), 7-14.
- Hübschmann H.J., 2009. *Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Inyang U.E., Nwadinika C.U., 1992. Functional Properties of Dehulled Sesame (*Sesamum indicum* L.) Seed Flour. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69-8, 819-822.
- ISO, 2006. *Animal and Vegetable Fats and Oils - Determination Of Tocopherol And Tocotrienol Contents By High-Performance Liquid Chromatography. ISO 9936:2006 metodu*
- Işıkan M., 1957. *Anadolu Haşhaşlarının Tohum Renkleri Üzerinde Genetik Araştırmalar*, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No:128.
- Kanu P.J., Kerui Z., Ming Z.H., Haifeng Q., Kanu J.B., Kexue Z., 2007. Sesame Protein 11: Functional Properties of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Protein Isolate as Influenced by pH, Temperature, Time and Ratio of Flour to Water During its Production. *Asian Journal of Biochemistry* 2 (5), 289-301.
- Kapoor L.D., 1995. *Opium Poppy: Botany, Chemistry and Pharmacology*. The Haworth Press, Binghamton, NY, US.
- Kayahan M., Tekin A., 2006. *Zeytinyağı Üretim Teknolojisi*. Gıda Mühendisleri Odası Yayını, Ankara.

- Khalid E.K., Babiker E.E., El Tinay A.H., 2003. Solubility and Functional Properties of Sesame Seed Proteins as Influenced by pH and/or Salt Concentration. *Food Chemistry*, 82, 361-366.
- Khattab R.Y., Arntfield S.D., 2009. Functional Properties of Raw and Processed Canola Meal. *LWT - Food Science and Technology*, 42:1119-1124.
- Kong J., Yu S., 2007. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8): 549-559.
- Krist S., Stuebiger G., Unterweger H., Bandion F., Buchbauer G., 2005. Analysis of Volatile Compounds and Triglycerides of Seed Oils Extracted from Different Poppy Varieties (*Papaver somniferum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 53:8310-8316.
- Latif S., Anwar F., 2011. Aqueous Enzymatic Sesame Oil and Protein Extraction. *Food Chemistry*, 125: 679-684.
- Lazos E.S., 1992. Certain Functional Properties of Defatted Pumpkin Seed Flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42 (3), 257-273.
- Li M., Bellmer D.D., Brusewitz G.H., 1999. Pecan Kernel Breakage and Oil Extracted by Supercritical CO₂ As Affected By Moisture Content. *Journal of Food Science*, 64: 1084-1088.
- Lyon D.H., Watson M.P., 1994. Sensory Profiling: A Method For Describing The Sensory Characteristics of Virgin Olive Oil. *Grasas y Aceites*, 45: 20-25.
- Madhusudhan K.T., Singh N., 1985. Effect of Heat Treatment on the Functional Properties of Linseed Meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(6), 1222-1226.
- Manamperi W.A., Pryor S.W, Chang S.K.C., 2007. Separation and Evaluation of Canola Meal and Protein for Industrial Bioproducts. *An ASABE Section Meeting Presentation Paper Number: RRV-07116*.
- Martinez M.L., Marcela L. Mattea M.A., Maestri D.M., 2008. Pressing and Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Walnut Oil. *Journal of Food Engineering*, 88: 399-404.
- Martínez-Flores H.E., Soto E.B., Garnica-Romo M.G., Saldaña A.L., Meilgaard P., Penagos C.J.C., 2002. Chemical and Functional Properties of Flaxseed Protein

- Concentrate Obtained using Surface Response Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6515-6520.
- Meilgaard, M., Civille G.V., Carr B.T., 1991. *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Pres, Boca Raton, ABD.
- Minitab, 2010. *Minitab 16.1.1 Statistical Software*. Minitab, Inc., State College, Pennsylvania, USA.
- Moure A., Dominguez H., Zuniga M.E., Soto C., Chamy R., 2002. Characterisation of Protein Concentrates From Pressed Cakes of *Guevina avellana* (Chilean Hazelnut). *Food Chemistry*, 78: 179-186.
- Moure A., Sineiro J., Dominguez H., Parajo J.C., 2006. Functionality of Oilseed Protein Products: A review. *Food Research International* 39: 945-963.
- Nas S., Gökalp H.Y., Ünsal M., 2001. *Bitkisel Yağ Teknolojisi*. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 005, Denizli.
- Narayana K., Narasinga Rao M.S., 1982. Functional Properties of Raw and Heat Processed Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) Flour. *Journal of Food Science*, 47(5), 1534-1538.
- Nergiz R., 2006. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Isıl İşlem Geçirmemiş Sütlerle Uygulanan Geleneksel Kaynatma İşleminin, Sütün Protein ve Serbest Aminoasit Düzeylerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- NIST, 2008. *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library*. National Institute of Standards and technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD 20899.
- Onsaard E., Pomsamud P., Audtum P., 2010. Functional Properties of Sesame Protein Concentrates from Sesame Meal. *Asian Journal of Food and Agriculture-India*, 3(04), 420-431.
- Özcan M.M., Atalay Ç., 2006. Determination of Seed and Oil Properties of Some Poppy (*Papaver somniferum* L.) Varieties. *Grasas Y Aceites*, 57(2), 169-174.
- Pagliarini E., Rastelli C., 1994. Sensory and Instrumental Assessment of Olive Oil Appearance, *Grasas Y Aceites*, 45, 1-2.

- Papoti V.T., Tsimidou, M.Z., 2009. Looking Through the Qualities of a Fluorimetric Assay or The Toplam Phenol Content Estimation in Virgin Olive Oil, Olive Fruit Or Leaf Polar Extract. *Food Chemistry*, 112: 246-252.
- Passos C.P., Yılmaz Ş., Silva C.M., Coimbra M.A., 2009. Enhancement of Grape Seed Oil Extraction Using a Cell Wall Degrading Enzyme Cocktail. *Food Chemistry*, 115: 48-53.
- Pomeranz Y., Meloan C.E., 1994. *Food Analysis: Theory and Practice*. Chapman & Hall Pub. Co, New York.
- 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.
- Price M.L., Van Scoyoc S., Butler L.G., 1978. A Critical Evaluation Of The Vanillin Reaction As An Assay For Tannin In Sorghum Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 1214-1218.
- Rahimi A., Kiralan M., Arslan N., Bayrak A., Doğramacı S., 2011. Variation in Fatty Acid Composition of Registered Poppy (*Papaver somniferum L.*) Seed in Turkey. *Academic Food*, 9(3), 22-25.
- 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 (9-10), 1231-1237.
- Rodrigues I.M., Coelho J.F.J., Carvalho G.V.S., 2012. Isolation and Valorisation of Vegetable Proteins from Oilseed Plants: methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*, 109: 337-346.
- Ryan E., Galvin K., O'Connor T.P., Maguire A.R., 2007. Phytosterol, Squalene, Tocopheral Content and Fatty Acid Profile of Selected Seeds, Grains, and Legumes. *Plants Food Human Nutrition*, 62: 85-91.
- Seidi S., Yamini Y., Heydari A., Moradi M., Esrafilı A., Rezazadeh M., 2010. Determination of Thebaine in Water Samples, Biological Fluids, Poppy Capsule, and Narcotic Drugs, Using Electromembrane Extraction Followed By HPLC Analysis. *Analytica Chimica Acta*, 9, 701(2), 181-188.

- Sharma G.M., Su M., Joshi A.U., Roux K.H., Sathe S.K., 2010. Functional Properties of Select Edible Oilseed Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5457-5464.
- Singh J., Bargale P.C., 2000. Development of a Small Capacity Double Stage Compression Screw Press For Oil Expression. *Journal of Food Engineering*, 43:75-82.
- Soto C., Chamy R., Zuniga M.E., 2007. Enzymatic Hydrolysis and Pressing Conditions Effect on Borage Oil Extraction by Cold Pressing. *Food Chemistry*, 102: 834-840.
- SPSS, 1994. *SPSS Professional Statistics 10,1*. Spss Inc, Chicago, IL, USA.
- Srinivas H., Narasinga Rao M.S., 1981. Studies on the Proteins of Poppy Seed (*Papaver somniferum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29:1232-1235.
- Srinivas H., Narasinga Rao M.S., 1986a. Functional Properties of Poppy Seed Meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34:222-224.
- Srinivas H., Narasinga Rao M.S., 1986b. Isolation and Characterization of the 10S Fraction of Poppy Seed Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34:225-229.
- Srinivas H., Narasinga Rao M.S., 1987a. Studies on the Low Molecular Weight Proteins of Poppy Seed (*Papaver somniferum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35:12-14.
- Srinivas H., Narasinga Rao M.S., 1987b. Effect of pH on Poppy Seed 10S Protein. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 29:84-8.
- Süren F., 2010. *Haşhaş Tohumu Ezmesi ve Üzüm Pekmezi Karışımlarının Reolojik Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi . Pamukkale Üniv. Fen Bil. Enst., Denizli.
- Szydłowska-Czerniak A., Karlovits G., Hellner G., Szłyk E., 2009. Effect of Enzymatic and Hydrothermal Treatments of Rapeseeds on Quality of the Pressed Rapeseed oils: art II. Oil yield and oxidative stability. *Process Biochemistry*, 45: 247-258.
- Tan S.H., Mailer R.J., Blanchard C.L., Agboola S.O., 2011. Canola Proteins for Human Consumption: extraction, profile, and functional properties. *Journal of Food Science*, 76:R16-R28.

- TGK, 2002. Zeytinyağı ve Pirina Yağı Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği Tebliğ No: 2010 /36 - R.Gazete: 07.08.2010-27665. *Komisyon Tüzüğü (EC) No: 796/2002 referans*, Ankara.
- Tibet Ü., Gümüşkesen A.S., Yemişçioğlu F., Çakır M., 2006. *Türkiye'deki Bazı Zeytin Çeşitlerinden Elde Edilen Zeytinyağlarının Bölgesel Olarak Karakterizasyonu*. Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Sempozyumu ve Sergisi 15-17 Eylül, s 327-335, İzmir.
- TSE, 1996. *TS 4664 EN ISO 5508 - Hayvansal ve Bitkisel Katı ve Sıvı Yağlar-Yağ Asitleri Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisiyle Analizi*. Ankara.
- TSE, 1999. *TSE EN ISO 12228- Hayvansal ve Bitkisel Katı ve Sıvı Yağlar -Tek Tek ve Toplam Sterol İçeriğinin Tayini - Gaz Kromatografik Yöntem*. Ankara.
- TSE, 2002. *TS 7570 EN ISO 3596. Hayvansal Ve Bitkisel Katı Ve Sıvı Yağlar - Sabunlaşmayan Madde Tayini - Dietil Eter İle Özütleme Yöntemi*. Ankara.
- TSE, 2003a. *Haşhaş Tohumu, TS 312 Standardı*. Türk Standardları Enstitüsü. Ankara.
- TSE, 2003b. *Haşhaş Tohumu Küspesi, TS 319 Standardı*. Türk Standardları Enstitüsü. Ankara.
- Vioque J., Sánchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millán F., 2000. Partially Hydrolyzed Rapeseed Protein Isolates with Improved Functional Properties. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 77(4), 447-450.
- Wiley, 2005. *Wiley Registry of Mass Spectral Data*. 7th edition (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, CD-ROM.
- Wu Y.V., 2001. Emulsifying Activity and Emulsion Stability of Corn Gluten Meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:1223-1227.
- Yılmaz E., 2001. Duyusal Analizler ve Yeni Gıda Ürünleri Geliştirme ve Pazarlamasında Kullanımı. *Dünya Gıda*, 4:88-91.
- Yılmaz E., Mendeş M., Ögütçü M., 2008. Sensorial and Physico-Chemical Characterization of Virgin Olive Oils Produced in Çanakkale. *J Amer. Oil Chem. Soc*, 85:441-456.

- Yılmaz E., Ögütçü M., 2009. Comparison of the Virgin Olive Oils Produced in Different Regions of Turkey. *J. Sensory Studies*, 24:332-353.
- Yin S.W., Chen J.C., Sun S., Tang C.H., Yang X.Q., Wen Q.B., Qi J.R., 2011. Physicochemical and Structural Characterisation of Protein Isolate, Globulin and Albumin from Soapnut Seeds (*Sapindus mukorossi Gaertn.*). *Food Chemistry*, 128: 420-426.
- Zuniga M.E., Soto C., Mora A., Chamy R., Lema J.M., 2003. Enzymic Pre-Treatment of *Guevina Avellana* Mol Oil Extraction By Pressing. *Process Biochemistry*, 39: 51-57.

E K L E R

EK 1. Haşhaş yağlarında tespit edilen uçucu bileşenler

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
1	Cymene	1025	88.72± 29.27	152.13± 0.01	124.87± 4.43	TEDB	TEDB	357.71± 95.45	53.5± 0.00	TEDB	106.73± 14.29	taze, turunç, odunsu, baharat
2	1,2-benzen dikarboksilik asit	1872	TEDB	TEDB	TEDB	222±0.02	658± 321.14	TEDB	TEDB	289.5± 0.00	11.57± 0.03	bitkisel, yağlı
3	1-syanometil dibenzotiofen	922	TEDB	398.22± 13.03	TEDB	275.72± 42.03	291.65± 7.56	436.56± 134.6	TEDB	457.5± 31.81	541.87± 251.6	
4	1-hekzanol	872	2953± 46.66	2373± 323.85	1675.51± 86.54	3385.18 ± 6.92	922± 107.48	3563.36± 615.69	2530.81± 468.56	2540.72± 998.03	1202.08± 0.01	keskin,tatlı, meyveli, alkollü
5	1-okten-3-ol	983	728±245.2	196±0.01	418.17± 172.15	2797.5± 1002.7	TEDB	60.79± 0.00	1668.74± 654.89	505.04± 185.5	63.93± 0.02	toprak, yeşil, bitkisel, fungal
6	1-pentanol	771	569± 186.67	1181.45± 15.6	578.93± 190.13	833.24± 38.53	810.85± 44.7	TEDB	726.5± 108.5	1779.31± 907.93	495.68± 0.04	keskin, fermente, alkollü
7	gamma-bütirolakton	1154	641.71± 11.72	1047.5± 12.02	2916.2± 876.9	305± 43.84	266.5± 0.05	1154.84± 275.75	447.73± 2.26	TEDB	TEDB	yağlı, kremsi, meyveli

EK 1'in devamı

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
8	gamma-nonanolakton	1364	84.05± 29.82	101.58± 6.7	56.85± 38.12	32.94± 0.02	138.95± 35.28	128.91± 31.66	TEDB	39.19± 0.00	65.34± 0.36	bitkisel, tatlı, tütün, kakao, odunsu
9	gamma-pentalakton	956	13.58± 2.24	635.5± 0.01	15.94± 0.02	9.53±0.01	7.1±0.04	TEDB	TEDB	6.84±0.01	TEDB	kremsi-yağlı (turunçgil notası)
10	gamma-oktalakton	1260	23.88± 3.91	30.95± 2.48	67.99± 23.56	42.57± 19.55	47.72± 10.54	59.38± 25.27	TEDB	30.6±0.03	28.9±0.67	bitkisel, hindistan cevizi, tatlı, tütün tropikal meyve aroması, sütü
11	5 pentil 2(3H)furanon	1364	TEDB	TEDB	TEDB	32.94± 0.02	TEDB	TEDB	15.79± 1.61	20.67±0.02	43.77± 4.51	meşur aroması, sütü
12	5 pentil 2(5H)furanon	1344	TEDB	38.15±0.27	TEDB	16.47± 0.01	106.99± 22.09	67.1± 33.58	TEDB	44.17± 14.57	47.59± 10.62	tatlı, karamel
13	2,3-bütandiol	795	TEDB	TEDB	1622.16± 536.28	TEDB	TEDB	9873.5± 0.01	405.24± 8.76	TEDB	TEDB	meşur aroması, kremsi-yağlı

EK 1'in devamı

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²	
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4				
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim		
14	2,3-dimetil -5-etil pirazin	1086	TEDB	64.51±0.74	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	findıksı, küflü, hafif kavrulmuş, toprak
15	2,4-dekadienal	1316	TEDB	11.83±3.51	TEDB	5.55±0.00	52.13±0.65	TEDB	TEDB	TEDB	16.24±0.03	TEDB	yeşil, yağlı
16	2,4-nonadienal	1214	TEDB	11.61±1.18	TEDB	TEDB	33.6±3.35	TEDB	TEDB	25.79±0.00	8.55±0.03	TEDB	findıksı, yağlı, menekşemsi
17	2,5-dimetil pirazin	909	TEDB	488.86±103.03	TEDB	TEDB	176.62±7.6	TEDB	TEDB	745.1±0.00	1515.58±402.61	TEDB	fıstık,küflü, toprak,kakao
18	Keto-izophoron	1145	TEDB	34.44±0.98	TEDB	TEDB	39.53±3.03	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	odunsu, tatlı, çay, turunçgil
19	2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-(1-okzopropil)fenol	1641	5.37±1.25	16.52±0.21	TEDB	4.71±0.05	26.24±6.49	30.77±9.12	6.5±1.07	21.75±0.01	14.81±5.71	TEDB	odunsu, samansı

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
20	2,6-dihidroksi asetophenon	1499	TEDB	TEDB	TEDB	284.4± 109.85	TEDB	TEDB	47.68± 0.01	TEDB	141.87± 35.75	bitkisel, topraksı, yeşil
21	2-bütül 2-oktenal	1374	TEDB	18.67±1.52	TEDB	17.51± 6.78	47.21± 14.29	38.17± 12.38	13.26± 0.23	20.03± 0.07	30.92± 12.65	yeşil, çimen, taze
22	2-kloro-4-(4-metoksifenil)-6-(4-nitrofenil)primidin	1329	276.5± 133.64	TEDB	274.23± 2.49	TEDB	9.66±0.6	117.85± 0.00	227.19± 37.81	440.81± 150.46	11.6±4.35	
24	2-siklohexen-1-ol	979	TEDB	77.93±0.05	TEDB	TEDB	153.14± 15.76	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	akçaağaç, karamel,tatlı
25	2-etil hekzanoik asit	1117	295.5± 0.01	TEDB	TEDB	4696.5± 0.02	1725.37± 576.78	TEDB	TEDB	TEDB	1270.67± 981.59	bitkisel, topraksı
26	2-etil-3,5-dimetil pirazin	1080	TEDB	409.15± 186.88	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	karamel, kahve, kavrulmuş
27	2-heptanon	891	1447.5± 23.33	3363± 581.24	1893.62± 153.61	3385.5± 129.4	4363.5± 84.14	3580.52± 1230.21	1574±265	3703.69± 1070.99	2381.42± 688.77	peynirsi, yeşil muz

Λ

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
28	2-heptenal	959	4.57±0.01	442±0.04	1198.47± 365.67	TEDB	48.19± 12.76	608±0.01	TEDB	TEDB	396±0.02	yoğun yeşil meyveli, yağlı
29	2-hekzanon	791	TEDB	805.64± 205.97	379.45± 0.01	830.2± 280.96	1014.64 ± 29.19	658.68± 0.03	TEDB	925±243.24	589.88± 208.94	eterik
30	(S)-delta-kaprolakton	1093	58.15± 18.6	131.1± 11.82	43.39± 0.01	51,36± 0.01	TEDB	TEDB	126.92± 16.08	TEDB	111.88± 88.04	tatlı bitkisel
31	2-metil bütanal	658	TEDB	449.4±0.14	6899.77± 2275	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	565.79± 110.01	TEDB	çikolata, fındık, malt, fermente
32	2-metil propanal	<600	TEDB	TEDB	534.65± 0.03	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	376.16± 121.09	taze çiçeksi, baharatlı
33	2-metil-5-pirazin	1016	TEDB	78.59±7.65	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	32.71±0.04	TEDB	fasulyemsi, topraksi, yeşil

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

VII

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
34	2-nonanon	1091	43.46± 9.24	90.27±8.35	67.41± 30.56	69.47± 12.7	86.95±0.8	198.96± 65.65	TEDB	68.54± 28.97	TEDB	meyveli, tatlı, mumsu, peynirimsi, yeşil
35	2-nonenal	1161	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	116.1±2.97	111.44± 11.78	TEDB	TEDB	63.16± 20.85	yeşil, salatalık, yağlı
36	2-oktenal	1059	TEDB	90.08±0.06	TEDB	167±0.02	505.61± 298.94	230.43± 0.01	TEDB	TEDB	202.16± 3.06	taze salatalık, muz,
37	2-pentanon	685	1016± 220.45	3274.92± 1209.72	1868.07± 516.83	11453.5± 7013.79	7492.15± 686.1	7650.79± 2567	1368.5± 202.5	6386.11± 827.47	2447± 907.54	fermente, odunsu, eterik
38	2-pentil furan	991	1271± 66.46	1861±0.03	2849.43± 940.31	5751.66± 3755.45	4269.65± 1410.46	4870.29± 482.55	1680.6± 330.6	2617.1± 707.25	3959.48± 1310.44	meyveli, yeşil, toprak
39	3-etil-2,5 dimetil pirazin	1080	TEDB	TEDB	167.73± 0.01	TEDB	333.52± 42.56	TEDB	TEDB	733.86± 108.69	TEDB	kavrulmuş findık, kakao

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

VIII

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
40	3-etil-2-metil 1,3-hekzadien	1033	63.56± 20.97	127.81± 6.18	213.97± 109.42	153.85± 50.77	206.52± 14.61	312.24± 74.62	61±0.05	242.05± 87.56	273.92± 14.04	findık, fıstık, toprak, popcorn
41	3-hidroksi-2-bütanon (asetoin)	710	2009± 501.2	917.5±0.02	4844.69± 1598.74	TEDB	TEDB	10607.9± 294024	1805.5± 0.03	2364.12± 432.92	4483.68± 1567	sütümsü, tereyağımsı, tatlı
42	trimetilsil vanilin	1057	468± 103.23	270.38± 14.67	394.14± 135.4	579.11± 185.1	177.7± 20.78	TEDB	258.56± 0.01	218.08± 52.44	304.24± 114.21	vanilya
43	3-metil bütanal	649	385.5± 0.03	493.66± 21.68	3870.3± 1345.87	TEDB	TEDB	3272.64± 1045.65	TEDB	599.63± 74.43	2897.35± 622.74	yanmış- maltımsı
44	3-metil-1-bütanol	741	649± 113.13	TEDB	20195± 924.18	325.62± 0.01	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	alkollü, meyveli, muz, keskin
45	3-oktanon	987	240.25± 25.09	TEDB	329.38± 0.04	101.5± 0.02	TEDB	677.84± 221.33	TEDB	TEDB	TEDB	küflü, fermente, yeşil

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

XI

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
46	3-okten-2-one	1041	28.55± 0.01	126.05± 20.97	TEDB	80.14± 28.45	219.38± 62.59	139.98± 0.02	41.29± 0.05	152.15± 65.2	95.44± 6.34	topraksı, yağlı, samansı
47	4-etil benzaldehit	1179	TEDB	28.65± 8.47	TEDB	TEDB	45.77± 16.37	TEDB	TEDB	37.22± 12.28	32.87± 8.51	acı badem
48	4- hidroksifenilasetik asit	1575	825.5± 393.85	252.73± 0.01	709.72± 235.65	423.08± 226.39	621.21± 83.14	TEDB	293.12± 0.02	1353.5± 0.03	702.35± 71.77	bal aroması
49	4-tripropilsil oksitektradekan	1235	TEDB	89.61±7.38	117.58± 48.8	125.13± 56.78	68.37±8.78	TEDB	TEDB	317±0.01	107.87± 38.36	
50	5-etildihidro 2(3H)- furanon	1055	76±0.01	259.46± 19.69	345.63± 168.16	273.43± 120.34	390.42± 3.42	261.53± 0.03	TEDB	290.93± 75.05	TEDB	tütünsü, kumarin benzeri
51	alfa-pinen	936	75.68± 6.109	37.31±0.00	73.7± 33.24	78.99± 9.01	59.6±1.48	167.78± 95.31	73.98± 2.67	755.63± 256.78	70.24± 16.01	odunsu-çam terpentin
52	alfa-terpinen, para mentha 1,3dien	1016	TEDB	100.84± 5.88	TEDB	TEDB	86.21±0.02	271.59± 0.04	TEDB	TEDB	TEDB	odunsu, turunçgil ,baharat

EK 1'in devamı**Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)**

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
53	benzaldehit-fenilmethanal	1525	TEDB	TEDB	132.92±0.02	TEDB	TEDB	83.6±32.58	TEDB	TEDB	128.41±57.09	keskin acı badem
54	benzenasetaldehit	1046	TEDB	89.01±11.05	883.74±303.65	TEDB	103.2±8.49	499.23±0.02	TEDB	131.6±6.22	1464.11±708.35	çiçek balı, gül yaprağı
55	benzenmethanol, benzil alkol	1036	TEDB	TEDB	170.29±51.12	TEDB	TEDB	TEDB	62.4±0.03	TEDB	TEDB	çiçeksi
56	dI-limonen	1030	46.58±16.14	67.73±17.83	176.57±91.42	95.98±0.02	101.44±19.17	257.28±120.71	31.79±0.01	101.58±38.52	243.1±109.65	taze portakal
57	diklorometan	<600	453±0.04	TEDB	472.16±59.22	815.17±12.97	TEDB	TEDB	806.16±40.16	TEDB	TEDB	tatlı
58	dimetil sulfon	919	197±22.62	382.35±4.74	467.53±132.55	TEDB	138.88±11.47	102.41±0.04	110.68±10.32	336.42±87.08	282.94±87.37	sülfür-yanmış
59	dimetil sulfoksit	840	TEDB	1357.5±309.01	TEDB	TEDB	431.13±135.95	TEDB	TEDB	522.2±31.39	TEDB	kızarmış, sarımsak, yağlı

X

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
60	etanol	<600	1993.5± 1263.6	TEDB	TEDB	816.55± 63.01	TEDB	TEDB	1081.5± 283.5	TEDB	TEDB	alkollü
61	akrilik asit	1154	TEDB	77.28±0.05	81.9±5.35	101.32± 21.67	105.85± 2.61	138.18± 53.72	TEDB	90.87± 40.95	91.38± 13.83	plastik kokusu
62	floren-9-ol, 3,6- dimethoksi-9-(2- feniletkenil)	1329	276.31± 110.18	206.97± 61.9	TEDB	125±0.02	TEDB	112.65± 23	89.1±3.06	178.08± 0.03	TEDB	
63	gamma-terpinen, 1,4-sikloheksadien 1-metil-4-(1- metiletil)	1060	TEDB	183±0.00	TEDB	TEDB	TEDB	224.74± 0.01	TEDB	640.5± 242.53	TEDB	odunsu, limonsu
64	heptanoik asit	1078	2193± 601.2	1642±0.01	1842.86± 0.01	TEDB	3458±0.03	TEDB	2251.7± 0.04	15221±0.01	TEDB	mumsu, fermente, meyvemsi
65	hekzanoik asit	1006	TEDB	12793.5± 241.12	4648.24± 0.02	13741.5± 0.03	7763.24± 788.78	2670.24± 0.01	82909± 34876.89	TEDB	74234.15± 25597	ekşi, yağlı, peynirsi
66	merkaptasetik asit	1672	1608± 455.65	1489.32± 367.89	1165.89± 210.04	803.14± 367.76	2516.5± 1075.5	5991.18± 6009.4	1669± 246	6053.73± 2008.45	1197.25± 791.6	

EK 1'in devamı

Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
67	methanon, (3,4-dimetilfenil)(2,4,6-trimetilfenil)	1739	16.43± 1.81	21.99±4.61	TEDB	TEDB	43.68± 0.04	TEDB	TEDB	TEDB	16.25± 2.74	balzamik, metalik
68	m-hidroksimandelik asit, tris(trimetilsil)	1158	12921.5± 3669.17	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	18170.9± 11765.8	TEDB	4771±450	11680± 3765	kokusuz
69	naftalen	1184	27.91± 9.78	51.21±3.32	63.05± 27.92	76.15± 26.13	123.64± 17.64	205.21± 80.73	25.01± 6.14	TEDB	33.14± 0.9	keskin kimyasal
70	delta-kadinen	1312	57.65± 0.49	65.63±6.28	88.62± 33.88	19.96± 11.27	TEDB	TEDB	TEDB	37.11±0.8	37.24± 0.03	keskin bitkisel, odunsu
71	N-benzil-N-etil-p-isopropilbenzamid	1492	199± 131.52	147.64± 56.05	127.13± 21.02	138.14± 42.58	146.74± 0.10	355.42± 112.28	110.68± 15.31	435.64± 7.58	TEDB	eter kokusu
72	n-dekanal	1205	17.49± 9.68	43.71±9.71	TEDB	35.37± 12.65	85.02± 11.92	94.5± 32.57	17.44± 1.88	79.57±12	58.22± 13.69	mumsu, portakal
73	n-dodekan	1198	TEDB	61.95±0.33	TEDB	64.25± 20.12	75.55± 31.21	144.18± 95.18	44.1± 13.6	TEDB	23.63± 0.56	alkan
74	n-heptanal	900	TEDB	368.47±1.4	303.15± 56.98	TEDB	867.3± 17.95	975.51± 262.47	598.64± 158.35	1201.55± 884.66	350.74± 175	yağlı, bitkisel

EK 1'in devamı

III

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
75	n-hekzadekanolik asit, palmitik asit	1960	TEDB	857.5±123	237.5±0.00	5.14±0.89	12320±4078.56	TEDB	TEDB	508.56±245	602.67±245	kremsi-mumsu
76	n-hekzanal	800	3427.5±1978.7	5945.5±4.49	7024.64±58.4	6329±200.78	7021±1851.2	13181.5±678	7735.16±68.16	11711±64.65	9631±2367	taze çimen
77	n-hekzanoik asit	1021	TEDB	TEDB	15209.5±978	108482±6789	56959.2±19534	TEDB	TEDB	591627.5±215356.9	151631.5±1080954	taze peynir aroması
78	n-nonanal	1102	145±97.58	194.55±10.11	360.11±164.63	TEDB	463.07±53.46	586.74±48.01	333.06±22.94	376±145.09	508.69±55.1	mumsu
79	n-octanal	1001	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	860±245	TEDB	TEDB	TEDB	1624.9±276.45	limonsu, mumsu
80	nonanoik asit	1224	TEDB	240±78.65	1338.34±526.57	734.94±242.53	TEDB	1137.29±455.89	TEDB	TEDB	1354.28±700	fermente süt
81	oktanoik asit	1171	1390±431.89	TEDB	2238.15±578	2516.63±830.56	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	ransid bitkisel yağ

EK 1'in devamı

AIX

Bileşen No	Uçucu Bileşen	RI ¹	Uçucu Bileşen Konsantrasyonu (ng/kg yağ)									Aroma Tanımı ²
			Ofis 8			Ofis 3			Ofis 4			
			Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	Kontrol	Kavrulmuş	Enzim	
82	etil oktanoat	1196	287± 91.92	631.22± 137.48	2618.01± 749.56	TEDB	1439.18± 547.32	762.2± 234	TEDB	3686±453	1668.92± 814.04	tatlı, küflü, meyveli- ananas
83	kaprilik asit	1172	TEDB	3775.65± 94.26	1545.94± 276	TEDB	3227.13± 347.89	9538.37± 3447.65	1366± 443	15579.06± 6748.03	4323.84± 930	yağlı
84	pentadekanoik asit	1860	TEDB	497±12.72	TEDB	TEDB	379±49	2038.08± 213	TEDB	103.62± 0.16	134.5± 0.56	mumsu
85	pentanoik asit	670	46158± 9149	TEDB	20587± 660.43	6660.5± 2367.89	TEDB	17851.4± 3286	65331.5± 4912.5	TEDB	12886.35± 7315.57	peynirimsi
86	tetradekanoik asit, miristik asit	1414	TEDB	766.14± 326.65	TEDB	186.47± 78.43	129.5±35	1553.55± 850.57	TEDB	TEDB	TEDB	mumsu, sabunsu
87	tetrahidro thiazol	1084	25.68± 3.27	58.93± 3.72	TEDB	10996± 15.93	144.35± 4.51	TEDB	TEDB	TEDB	108.44± 67.11	kavrulmuş

*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

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Dilek DÜNDAR EMİR

Doğum Yeri : Çanakkale

Doğum Tarihi : 15.05.1982

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği

Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar - SCI

1. Dündar Emir, D., Güneşer, O., Yılmaz, E. 2014. Cold Pressed Poppyseed Oils: Sensory Properties, Aromatic Profiles and Consumer Preferences. *Grasasy Aceites*. DOI: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.109213>
2. Dündar Emir, D., Aydeniz, B., Yılmaz, E. 2014. Effects of Different Preparation Techniques on the Yield and Quality of Cold Pressed Poppyseed Oils. *Grasasy Aceites*.(değerlendirmede)

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

1. Yılmaz, E., Dündar Emir, D. 2013. Aromatic compounds and sensory properties of cold pressed poppyseed oil. *11th. Euro Fed Lipid Congress*, P. 277 (poster). 27-30 October 2013, Antalya, Turkey.

c) Katıldığı Projeler

1. Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Emin YILMAZ, Farklı Ön-İşlemlerle Hazırlanan Haşhaş Tohumlarından Elde Edilen Yağların Fiziko-Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi, Proje No: 111 O 618, TÜBİTAK-TOVAG tarafından desteklenen hızlı destek projesi, 2012.

2. Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Emin YILMAZ, Haşhaş Tohumlarından Soğuk Pres Yöntemi ile Elde Edilen Yağsız Keklerin ve Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi, Proje No: 113O547, TÜBİTAK-TOVAG tarafından desteklenen hızlı destek projesi, 2014.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

2004-2007 Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İstanbul İli Silivri İlçe Müdürlüğü,
Gıda Kontrol Görevlisi

2007-2010 Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Çanakkale İl Müdürlüğü, Gıda
Kontrol Görevlisi

2010-2011 Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Eskişehir,
Araştırmacı

2011-Halen Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Eskişehir İl Müdürlüğü, Gıda
Kontrol Görevlisi

İLETİŞİM

E-posta Adresi : dilek-dundar@hotmail.com