

**PROPOLİSİN AYÇİÇEK YAĞININ TERMAL OKSİDASYONU
ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE
ARAŞTIRILMASI**

Kübra GÜLŞEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN**

DÜZCE, 2023

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

PROPOLİSİN AYÇİÇEK YAĞININ TERMAL OKSİDASYONU
ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE
ARAŞTIRILMASI

Kübra GÜLŞEN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Şebnem Garip Ustaoglu

Altınbaş Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 21/06/2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21 Haziran 2023

Kübra GÜLŞEN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında bana yol gösteren, her türlü desteği ve yardımı sağlayan, çok değerli hocam Doç. Dr. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca yanımda olan ve olacak olan, bugünlere gelmem için gereken gücü veren, maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen, başarılarımla gurur duyan başta dedem Mustafa GÜLŞEN olmak üzere, babam Kemal GÜLŞEN'e, annem Nezahat GÜLŞEN'e ve kardeşlerime en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Düzce Üniversitesi, BAP-2021.05.01.1249 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

Haziran 2023

Kübra GÜLŞEN

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR.....	ix
SİMGELER	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. YEMEKLİK YAĞLAR.....	1
1.2. AYÇİÇEK YAĞI (AY).....	2
1.3. KIZARTMA İŞLEMİ	3
1.4. LİPİT OKSİDASYONU	4
1.5. ANTİOKSİDANLAR	6
1.5.1. Doğal Antioksidanlar	7
1.5.2. Sentetik Antioksidanlar	9
1.5.2.1. Bitkisel Yağlarda Kullanılan Sentetik Antioksidanların Sağlık Üzerindeki Etkileri	10
1.6. PROPOLİS.....	11
1.6.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri	12
1.6.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği	13
1.6.3. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)	14
1.6.4. Propolisin Gıdalarda Kullanımı	15
1.7. ELEKTROMANYETİK IŞIMA VE SPEKTROSKOPİ	16
1.7.1. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi	17
1.7.2. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi.....	19
1.7.3. Azaltılmış Toplam Yansıma (ATR)-FTIR Spektroskopisi.....	19
1.8. TERMAL ANALİZ	21
1.8.1. Termogravimetrik Analiz (TGA)	21

1.8.2. Diferansiyel Termal Analiz (DTA)	22
1.9. ÇALIŞMANIN AMACI	23
2. MATERYAL VE YÖNTEM	26
2.1. PROPOLİS EKSTRAKSİYONU HAZIRLAMA	26
2.2. PRPLS EKSTRAKSİYONUNUN KARAKTERİZASYONU	28
2.2.1. HPLC Bileşen Analizi	28
2.2.2. Toplam Fenolik Madde Analizi	28
2.2.3. Toplam Flavonoid Madde Analizi	29
2.2.4. DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) Radikal Temizleme Aktivitesi ...	29
2.3. YAĞ ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI	30
2.4. YAĞ ASİDİ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ	30
2.5. YAĞ ÖRNEKLERİNİN TERMAL İŞLEMİ	30
2.6. ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ ÇALIŞMASI	31
2.6.1. ATR-FTIR Spektroskopisi Verilerinin Analizi	32
2.7. TERMAL ANALİZ	34
2.8. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER	34
2.8.1. Total Antioksidan Seviyenin Ölçülmesi	34
2.8.2. Total Oksidan Seviyenin (TOS) Ölçülmesi	34
2.8.3. Oksidatif Stres İndeksinin Saptanması	35
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
3.1. BULGULAR	36
3.1.1. Ayçiçek Yağının Karakterizasyonu	36
3.1.2. Propolis Ekstraktının Karakterizasyonu	36
3.1.3. ATR-FTIR Spektroskopisi Sonuçları	37
3.1.3.1. Kemometrik Analiz	55
3.1.4. Termal Analiz Sonuçları	59
3.1.5. TAS-TOS Analiz Sonuçları	65
3.2. TARTIŞMA	70
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	81
5. KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	103

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Kızartma işlemi sırasında meydana gelen reaksiyonlar [28].	4
Şekil 1.2. Doğal Antioksidanların sınıflandırılması [47].	8
Şekil 1.3. Sentetik antioksidanların yapısı [58].	10
Şekil 1.4. Ham PRPLS.	12
Şekil 1.5. Ham PRPLS'nin bileşimi [12].	12
Şekil 1.6. Elektromanyetik spektrum.	16
Şekil 1.7. Jablonsky enerji diyagramı [109].	17
Şekil 1.8. Titreşim geçişlerini gösteren enerji düzeyi diyagramı [111].	17
Şekil 1.9. Bir kızılötesi spektrumunda tespit edilebilen moleküler dipol moment değişikliği ile ilişkili titreşim modları [114].	18
Şekil 1.10. Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektrometresi.	19
Şekil 1.11. ATR Ünitesinin şematik gösterimi.	20
Şekil 1.12. TGA'nın şematik bir gösterimi [129].	22
Şekil 1.13. DTA şematik diyagram [129].	22
Şekil 2.1. 500 rpm'e ayarlanmış manyetik karıştırıcıdaki PRPLS.	26
Şekil 2.2. Rotary evaporatörde PRPLS ekstraktının içindeki etil alkolün uçurulması ..	27
Şekil 2.3. Liyofilizatörde PRPLS toz ekstraktının elde edilmesi.	27
Şekil 2.4. Liyofilizatörde elde edilen toz PRPLS ekstraktı.	28
Şekil 2.5. Çalışmada kullanılan AY örneği.	30
Şekil 2.6. Isıtma işlemini gerçekleştirmek üzere içine sıvı termometresi yerleştirilmiş fritöz.	31
Şekil 2.7. Çalışmamızda kullandığımız ATR-FTIR spektroskopisi.	32
Şekil 3.1. AY'nin 4000-500 cm ⁻¹ bölgesindeki ATR-FTIR spektrumu.	1
Şekil 3.2. Isıtılmamış ve 24 saat boyunca ısıtılmış AY'nin A) 3650-3200, B) 3035-2800, C)1800-500cm ⁻¹ dalga sayısı aralığındaki ATR-FTIR spektrumu.	40
Şekil 3.3. 3600-3250 cm ⁻¹ spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.	42
Şekil 3.4. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 3482 cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 3482/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	44
Şekil 3.5. 3035-2990 cm ⁻¹ spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.	46
Şekil 3.6. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 3009 cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 3009/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	47
Şekil 3.7. 1770-1710 cm ⁻¹ spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.	49
Şekil 3.8. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 1745 cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 1745/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	50
Şekil 3.9. 1000-630 cm ⁻¹ spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.	51
Şekil 3.10. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre	

AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 987cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 987/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	52
Şekil 3.11. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 965 cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 965/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	54
Şekil 3.12. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 722 cm ⁻¹ bantının alanı ve B) 722/2923 cm ⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.	55
Şekil 3.13. 24 saatlik ısıtım boyunca 13 kez örneklenmiş kontrol (A), 1000 ppm PRPLS (B), 1500 ppm PRPLS (C), 2000 ppm PRPLS (D) ve BHT (E) ilave edilmiş AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarının 3035-2800 cm ⁻¹ spektral aralıkları için PCA skor grafikleri.	58
Şekil 3.14. 24 saatlik ısıtım boyunca 13 kez örneklenmiş kontrol (C) ve 2000 ppm PRPLS (P) ilave edilmiş AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarının 4000-450 cm ⁻¹ spektral aralıkları için PCA skor grafiği.	59
Şekil 3.15. Kuru hava akışında elde edilmiş A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin TGA ve DTA eğrileri.	60
Şekil 3.16. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin kuru hava akışında elde edilmiş DTA eğrileri.	61
Şekil 3.17. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin DTA eğrilerinin onset değerleri.	62
Şekil 3.18. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin kuru hava akışında elde edilmiş TGA eğrileri.	64
Şekil 3.19. Isıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış A) kontrol ve B) PRPLS ilaveli AY'nin (PAY) TAS değerlerinin karşılaştırması.	67
Şekil 3.20. Isıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış kontrol ve PRPLS ilaveli AY'nin OSI değerlerinin karşılaştırması.	70

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de yaygın olarak tüketilen yağlar (%).....	1
Çizelge 1.2. AY’nin yağ asidi bileşimi [15]–[19].	3
Çizelge 1.3. PRPLS içeriğinde bulunan başlıca bileşikler.....	13
Çizelge 1.4. HPLC-DAD ile Yığılca PRPLS’ninin %70 EEP ekstraktının kimyasal bileşimi [84].	14
Çizelge 2.1. AY spektrumundaki bantların altında kalan alanların hesaplanması için kullanılan bant parametreleri.....	33
Çizelge 3.1. Ayçiçek yağı yağ asidi kompozisyonu.	36
Çizelge 3.2. PRPLS’nin içerik ve antioksidan karakteristiği.....	37
Çizelge 3.3. AY’nin ATR-FTIR spektrumundaki başlıca soğurma bantlarının fonksiyonel grupları ve literatüre göre tanımları [19], [121], [124], [159], [160].	39
Çizelge 3.4. Kontrol (AY) ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY’nin (PAY) TGA eğrilerinden elde edilen termal bozunma verileri.....	64
Çizelge 3.5. Kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY’dan elde edilen TAS ve TOS değerlerinde, ısıtılma işleminden sonraki 24 saat içinde 13 örnekleme zamanına göre meydana gelen değişiklikler. Isıtılan numunelerde ısıtılmamış yağa göre gözlenen değişimler yüzde olarak TAS ve TOS değerlerinin altında verilmiştir. (-) ısıtılmamış yağa göre bir azalmayı ve (+) bir artışı gösterir.	1
Çizelge 3.6. Kontrol ve PRPLS ilaveli AY'dan elde edilen OSI değerlerinde, ısıtılma işleminden sonraki 24 saat içinde 13 örnekleme zamanına göre meydana gelen değişiklikler. Isıtılan numunelerde ısıtılmamış yağa göre gözlenen değişimler yüzde olarak OSI değerlerinin altında verilmiştir.	1

KISALTMALAR

ABTS	2,2 ' - Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
ATR-	Azaltılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşüm
FTIR	Kızılötesi
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
CAPE	kafeik asit fenil ester
DPPH	2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl
DTA	Diferansiyal Termal Analiz
FTIR	Fourier Transform Infrared (Fourier dönüşüm kızılötesi)
GA	Gallik Asit
GC-MS	Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Protein)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IR	Infrared (Kızılötesi)
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asidi
PCA	Temel Bileşen Analizi
PG	Propil Galat
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
QE	Kuersetin
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TAS	Total Antioksidan Seviyesi
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde
TBHQ	Tersiyer Bütıl Hidrokinon
TFC	Toplam flavonoid bileşikler
TGA	Termogravimetrik Analiz
TOS	Total Oksidan Seviyesi
TPC	Toplam fenolik bileşikler
UV	Ultraviole (Morötesi)

SİMGELER

A.U	Arbitrary Unit (Göreceli birim)
°C	Derece santigrad
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
dk	Dakika
g	Gram
Ge	Germanyum
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
N	Normalite
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
OSI	Oksidatif Stres İndeksi (İsteğe bağlı Birim)
ppm	parts per million (milyonda bir)
ZnSe	Çinko-selenit
µmol	Mikromol

ÖZET

PROPOLİSİN AYÇİÇEK YAĞININ TERMAL OKSİDASYONU ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI

Kübra GÜLŞEN

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN

Haziran 2023, 102 sayfa

Yüksek doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle sağlıklı bir yağ olarak kabul edilen ayçiçek yağı (AY) ucuz fiyatından dolayı yemeklerde ve kızartmalarda en çok tercih edilen bitkisel yağlardan birisidir. Ancak ısı işlem sırasında bu yağda meydana gelen oksidasyon, sağlığımız için zararlı birçok bileşiğin oluşumuna sebep olduğundan AY'nin oksidatif stabilitesini artıracak doğal antioksidan maddelere ihtiyaç vardır. Bal arıları tarafından kovani korumak için toplanan çeşitli bitkisel ürünlerin reçineli bir karışımı olan propolis (PRPLS), polifenoller ve flavonoidler gibi birçok antioksidan madde içermektedir. Bu çalışmanın amacı, AY'de ısı işlem sırasında meydana gelen termal oksidasyona karşı PRPLS'nin koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığının moleküler düzeyde ortaya çıkarılmasıdır. Bu amaçla, kontrol (PRPLS ve BHT içermeyen) ve çeşitli konsantrasyonlarda PRPLS (1000, 1500 ve 2000 ppm) ve BHT (100 ppm) ilave edilmiş yağlar fritözde günlük 8 saatlik periyotlar halinde toplam 24 saat boyunca 180 °C'de ısıtılmış ve her iki saatte bir alınan örnekler Azaltılmış toplam yansıma-Fourier Dönüşüm Kızılötesi (ATR-FTIR) spektroskopisi ile incelenmiştir. Ayrıca kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş yağlar total antioksidant seviyesi (TAS)/total oksidant seviyesi (TOS) analizi ve termogravimetrik analiz-diferansiyel termal analiz (TGA-DTA) teknikleri ile de incelenmiştir. ATR-FTIR spektroskopi sonuçları, ısıtma işleminden sonra meydana gelen oksidasyon sonucu kontrol AY'de birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri (3482 ve 1745 cm⁻¹ bantları) ve trans-doymamış yağ asitleri (987 ve 965 cm⁻¹ bantları) ile ilgili bantların alanlarının arttığını, cis yağ asitleri ile ilgili bantların (3009 ve 722 cm⁻¹ bantları) alanlarının azaldığını göstermiştir. 2000 ppm PRPLS ilavesi BHT'ye benzer şekilde yağlardaki tüm bu oksidasyon sürecini engellemiştir. Temel bileşen analizi (PCA), TAS/TOS analizi ve DTA-TGA sonuçları 2000 ppm PRPLS'nin AY'nin termal oksidasyonu üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu sonucunu doğrulamıştır. Çalışmamızın sonuçları, PRPLS'nin yağlardaki termal oksidasyonu engellemek için etkili bir doğal antioksidan olarak önerilebileceğini ve yemeklik yağ endüstrisinde sentetik antioksidanlar yerine kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Ayçiçek yağı; Azaltılmış toplam yansıma-Fourier Dönüşüm Kızılötesi (ATR-FTIR) spektroskopisi; Oksidatif stabilite; Propolis; Termogravimetrik analiz-diferansiyel termal analiz (TGA-DTA).

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF PROPOLIS ON THERMAL OXIDATION OF SUNFLOWER OIL AT MOLECULAR LEVEL

Kübra GÜLŞEN

Düzce University

Graduate School, Department of Biology

Master's Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülgün ÇAKMAK ARSLAN

June 2023, 102 pages

Sunflower oil (SFO), which is considered a healthy oil due to its high unsaturated fatty acid content, is one of the most preferred vegetable oils in cooking and frying due to its cheap price. However, since the oxidation of this oil during heat treatment causes the formation of many compounds harmful to our health, there is a need for natural antioxidant substances that will increase the oxidative stability of SFO. Propolis (PRPLS), a resinous mixture of various plant products collected by honeybees to protect the hive, contains many antioxidant substances such as polyphenols and flavonoids. The aim of this study is to determine whether PRPLS has a protective effect against thermal oxidation that occurs during heat treatment at the molecular level. For this purpose, control (PRPLS and BHT free) and various concentrations of PRPLS (1000, 1500 and 2000 ppm) and BHT (100 ppm) added oils were heated in a deep fryer at 180 °C for a total of 24 hours in 8-hour period and samples taken every two hours were analyzed by Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy. In addition, control and 2000 ppm PRPLS added oils were analyzed by total antioxidant status (TAS)/total oxidant status (TOS) analysis and thermogravimetric analysis-differential thermal analysis (TGA-DTA) techniques. ATR-FTIR spectroscopy results showed that the areas of the bands related to primary and secondary oxidation products (3482 and 1745 cm⁻¹ bands) and trans-unsaturated fatty acids (987 and 965 cm⁻¹ bands) increased while the areas of the bands related to cis fatty acids (3009 and 722 cm⁻¹ bands) decreased in the control SFO as a result of the oxidation that occurred after heating. The addition of 2000 ppm PRPLS inhibited all these oxidation processes in oils similar to BHT. Principal component analysis (PCA), TAS/TOS analysis and DTA-TGA confirmed the conclusion that 2000 ppm PRPLS has a protective effect on the thermal oxidation of AY. The results of our study demonstrated that PRPLS can be recommended as an effective natural antioxidant to inhibit thermal oxidation in oils and it can be utilized instead of synthetic antioxidants in edible oil industry.

KEYWORDS: Attenuated total reflection-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy; Oxidative stability; Propolis; Sunflower oil; Thermogravimetric analysis-differential thermal analysis (TGA-DTA).

1. GİRİŞ

1.1. YEMEKLİK YAĞLAR

İnsan vücudu yağları yapısal bileşen, biyolojik düzenleyici ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır [1]. Diyetle alınan yağlar, sadece vücuda enerji sağlamakla kalmaz, vücudumuz için vazgeçilmez olan bazı yağ asitlerini içerir ve birçok doğal ve işlenmiş gıdanın lezzetine katkıda bulunur [2]. Ayrıca, yağlar vücut sıcaklığının ve dokuların korunmasında, A, D, E ve K vitamini gibi yağda çözünen vitaminlerin vücutta kullanılmasında ve daha birçok önemli işlevin yerine getirilmesinde aktif rol oynar [3].

Elde edildiği kaynağa göre yağlar hayvansal ve bitkisel olmak üzere ikiye ayrılır. Bitkisel yağlar, bitkilerin tohum, meyve ve tahıl tanelerinden elde edilir. Bitkisel yağlar dünya çapında yemeklik yağ tüketiminin %80'inini oluşturur. Çeşitli kaynaklardan elde edilen bitkisel yağlar arasında en çok bilinenleri zeytinyağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı, kolza yağı, kanola yağı ve soya yağı olarak sayılabilir. Türkiye'de yaygın olarak tüketilen yağlar Çizelge 1.1.'de listelenmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi ülkemizde en yaygın tüketilen yağ %76'lık gibi bir oranla ayçiçek yağıdır.

Çizelge 1.1. Türkiye'de yaygın olarak tüketilen yağlar (%).

Ayçiçek yağı	76
Mısırözü yağı	6
Kanola yağı	6
Pamuk yağı	4
Palm yağı	4
Aspir yağı	4

Bitkisel yağların yapısında çok büyük bir oranda (%95-98) triaçilgliseroller ve fitosteroller, tokoferoller, fenolik bileşikler, vitaminler, hidrokarbonlar ve uçucu organik bileşikler gibi bazı küçük bileşenler (%2-5) bulunur [4]. Bitkisel yağlar, doymuş yağ asitleri, tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri olmak üzere önemli yağ asiti gruplarını içermektedir [5]. Bu gruplarda bulunan oleik asit (omega-9) ve

esansiyel yağ asitleri olarak bilinen linoleik (omega-6) ve linolenik (omega-3) yağ asitlerinin kompozisyonu yemeklik yağların kalitesini belirlemektedir. Bitkisel yenilebilir yağların, bazı istisnalar olmakla birlikte hemen hemen hepsinin içeriğindeki doymamış yağ asitleri *cis* formundadır [6], [7]. Bitkisel yağlar, hayvansal yağlarla karşılaştırıldığında yüksek tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri ve düşük kolesterol seviyeleri nedeniyle daha sağlıklı bir diyet için tercih edilmektedir. Ancak bu yağlar doymuş yağ asidi içeren hayvansal kaynaklı yağlara göre oksidasyona daha fazla maruz kalırlar ve daha düşük oksidatif stabiliteye sahiptirler [8]. Kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak, daha iyi bir metabolizma faaliyeti, insana enerji ve besin bileşenleri sağlamak gibi birçok fayda sağlayan bitkisel yağlar günlük diyetimizin oldukça önemli bir parçasıdır [9].

1.2. AYÇİÇEK YAĞI (AY)

Ayçiçeği (*Helianthus annuus*), insan sağlığına önemli derecede katkıda bulunan diyet lifi kaynağı olarak dünya çapında yetiştirilen yağlı tohum bitkisidir ve tohumundan elde edilen yağ ayçiçek yağı (AY) olarak bilinmektedir [10]. Ayçiçeği tohumunda bulunan fitosteroller, kolesterol seviyelerini düşürmede, bağışıklığı artırmada ve kolon kanseri oluşumunu azaltmada oldukça etkilidir [11]. Ayçiçeği dünyada ve ülkemizde ekilen yağ bitkileri içerisinde en büyük yeri tutmaktadır [12]. Yağ oranı %39-45 arasında değişen ayçekirdeği tohumlarından işlenerek elde edilen AY presleme, özütleme vb. işlemlerden geçirildikten sonra rafınasyona tabi tutularak elde edilen, berrak, sıvı halde bir yağdır. Endüstriyel uygulamalarda ve insan beslenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [13]. Evlerde yemek pişirmek için, gıda endüstrisinde ise margarin ve tereyağı yapımında, çerez ve ekmek üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır [14]. Çizelge 1.2.'de AY'nin yağ asidi bileşimi gösterilmektedir. AY'nin temel yağ asitleri linoleik, oleik, stearik ve palmitik asittir. AY ayrıca karotenoidler, mumlar, lesitin ve tokoferoller içerir [15].

Çizelge 1.2. AY'nin yağ asidi bileşimi [15]–[19].

Yağ Asitleri	Miktarı (%)
Miristik asit (C14:0)	0,03-0,1
Palmitik asit (C16:0)	5,54-6,62
Stearik asit (C18:0)	2,94-3,63
Oleik asit (C18:1)	30,61- 36,44
Linoleik asit (C18:2)	50,85-60,20
α -Linolenik asit (C18:3)	0,02-3,68
Araşidik asit (C20:0)	0,0-0,65

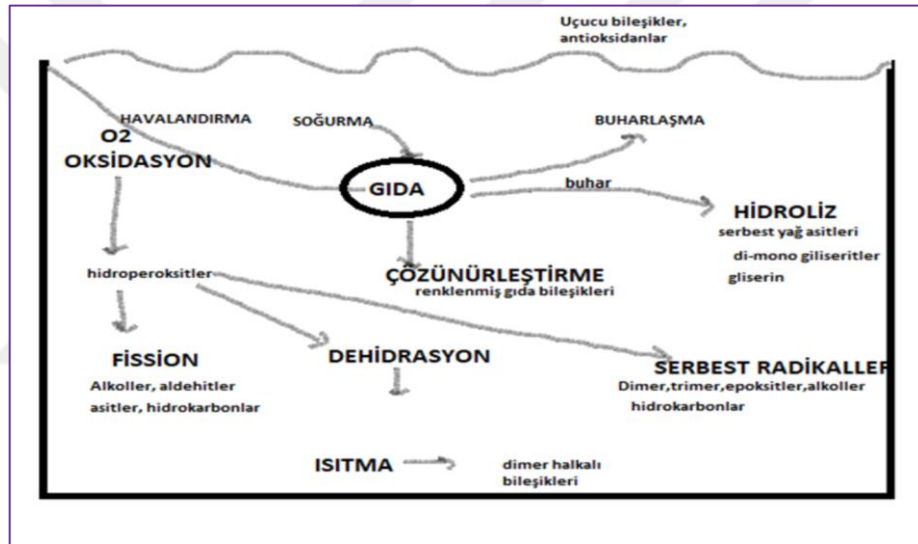
AY, mükemmel bir esansiyel yağ asidi kaynağı olup ucuz fiyatı nedeniyle yemeklerde ve kızartmalarda yaygın olarak tercih edilmektedir [13]. AY'de en bol bulunan yağ asidi olan linoleik asitin kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak gibi sağlığa birçok yararlı etkisi vardır [4]. Yapılan çalışmalarda, AY içeriğinde yüksek oranda bulunan bir diğer yağ asiti olan oleik asitin, lipit profili, glikoz metabolizması ve kan basıncı gibi faktörler üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [20]. Standart bir AY'nin içerisinde bulunan tokoferol ve fitoseroller, toplam plazma kolestrolü ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolestrol seviyelerini düşürmesi gibi çeşitli terapötik etkileriyle oldukça ilgi çekicidir [21], [22]. AY'nin sağlığa olan katkıları bilindiğinden AY bazlı gıdalara da talep giderek artmaktadır. Bu nedenle, dünya çapında beslenme gereksinimlerini karşılamada AY'ye artan bir talep vardır. AY sadece insan tüketimi için üretilmemekte aynı zamanda endüstriler için hammadde olarak üretilmektedir.

1.3. KIZARTMA İŞLEMİ

Dünyanın her yerinde yaygın olarak kullanılan hızlı ve aynı zamanda basit bir pişirme tekniği olan kızartma işlemi, gıda maddeleri ile yemeklik yağ arasındaki ısı, kütle transferini ve karmaşık etkileşimleri içerir [23], [24]. Kızartma işlemi, sıg (temaslı) kızartma ve derin kızartma olmak üzere ikiye ayrılır.

Evlerde ve birçok endüstriyel alanda uygulanan derin kızartma metodunda gıdalar, 150-200 °C sıcaklık derecesinde yağa tamamen daldırılıp, tüketilmeye uygun hale getirilir [25]. Kızartma işleminde temel ekonomik faktör yağın maliyetidir. Bu nedenle işletme sahipleri yiyecek hazırlama masraflarını en aza indirmek için yağı tekrar tekrar kullanmaktadır. Duyusal özellikleri nedeniyle tüketicinin talebini karşılayan kızartılmış

gıdaların sağlık açısından da tüketici kaygılarını karşılaması önemlidir [26]. Derin yağda kızartma sırasında, yağın tekrar tekrar kullanılması ile birlikte atmosferik oksijen varlığında, yağda bozunma ürünlerinin oluşumuna neden olan hidroliz, oksidasyon ve polimerizasyon reaksiyonları meydana gelmekte ve bu yüzden yağda fiziksel ve kimyasal değişimler meydana gelmektedir [16], [24]. Kızartma yağı yüksek sıcaklığa maruz kaldığında, hidroperoksitler ve aldehitler gibi toksik bileşikler meydana gelir ve bu bileşikler besin tarafından emilir (Şekil 1.1.). Toksik bileşik içeren bu besinler tüketildikten sonra sindirim sistemine girmekte ve ardından da sistemik dolaşıma katılmaktadır [27]. Özetle, kızartma işlemine tabii tutulan yağların, gıdaların bir parçası haline gelmesi sebebiyle, kızartma yağlarının kalitesi büyük önem taşımaktadır.



Şekil 1.1. Kızartma işlemi sırasında meydana gelen reaksiyonlar [28].

1.4. LİPİT OKSİDASYONU

Lipit oksidasyonu, özellikle çoklu doymamış yağ asidince zengin yağlarda yüksek sıcaklıkta, çift bağlara oksijen bağlanması ile meydana gelen ve kendini katalizleyerek devam eden reaksiyon zinciridir [29]. Yağların oksidatif stabilitesi ise, oksidasyona karşı gösterdikleri direnç olarak tanımlanabilir. Yağın oksidatif bozulmaya karşı gösterdiği direnç hem onun doğal kalitesi hem de uygulanan koşulların ortak bir fonksiyonudur [30]. Yağların oksidasyonundaki tepkime hızı, kısmi oksijen basıncı, yağın oksijenle temas ettiği yüzey alanının genişliği, yağın bileşimindeki yağ asitlerinin kimyasal özellikleri ve miktarı, sıcaklık ve nem gibi depolama şartları ve içerdiği prooksidan ve antioksidanların

etkinliğine ve miktarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Oksidasyon süreci, indüksiyon fazı, yayılma (gelişme) fazı ve zincir parçalanması (sonlandırma) fazı olmak üzere üç aşamada gerçekleşir [31].

– İndüksiyon Fazı

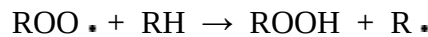
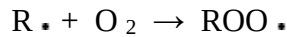
Lipit oksidasyonunun başlangıç aşamasında doymamış yağ asidi, çift bağına komşu metilen grubundaki karbon atomuna bağlı kararsız yapıdaki hidrojen atomunun yapıdan kopması ile aktif radikale ($R\bullet$) parçalanmaktadır [32]. Bu reaksiyon ortamda bulunan oksijen, ısı, ıstık ve çok değerlikli metal iyonları gibi etkenlerin varlığında gerçekleşir.

Bu aşamada yağların kimyasal diziliminde çok büyük değişiklikler olmaz.



– Tepkimenin Gelişmesi

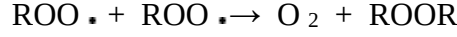
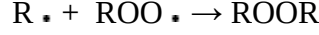
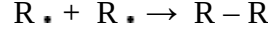
Başlangıç aşamasında oluşan lipit alkil radikali $R\bullet$, moleküler oksijenle hızla reaksiyona girerek peroksil radikalini ($ROO\bullet$) oluşturur. Bu radikal de lipide (RH) etki ederek hidroperoksitleri ($ROOH$) oluşturur. Bu basamakta yeniden bir alkil radikali oluşur o da moleküler oksijenle tekrar tepkimeye girer. Böylece bir döngü meydana gelir. Reaksiyonun bu yolla tekrar etmesi sonucu hidroperoksitlerin oluşumu giderek artar. Lipit oksidasyonunda hidroperoksitler birincil bozunma ürünleridir. Oluşan serbest radikaller ayrışabilir ve bu ayrışma sonucunda aldehitler, ketonlar, alkoller ve asitler gibi daha küçük moleküller oluşur. Bu uçucu bileşenler yağlı gıdaların bozulması sırasında lezzetin değişimine neden olan başlıca etmenlerdir [33], [34].



– Zincir Parçalanması

Üçüncü aşamada; oluşan peroksitler ve hidroperoksitler parçalanarak aldehit, keton,

alkol, hidrokarbon, uçucu organik asit, alkoller ve epoksi bileşiklere dönüşür ve bu bileşikler ikincil oksidasyon ürünü olarak bilinmektedir [29][35][36]. Bu oluşumlar da yağda aroma, koku değişimine ve renkte koyulaşmaya neden olur.



Doymamış yağların oksidasyonu, gıdalarda kötü koku oluşmasıyla ve besin değerinde kayıplara neden olarak, gıda kalitesinin bozulmasının en büyük sebeplerinden biridir. Bu reaksiyonlar sonucunda gıda kalitesinin bozulmasının yanında kızartılmış gıdanın besin değerine zarar veren sağlık için zararlı birçok bileşik oluşmaktadır [24]. Bu oksidasyon reaksiyonları sırasında meydana gelen hidroperoksitler, kötü kokulu bazı karbon bileşenleri, malondialdehit, alkan, alken gibi bileşenler; yağların duyuşsal ve kimyasal kalitesini etkilediğı gibi, vücutta kanser, diyabet, kalp hastalıkları ve doku hasarlanması gibi olumsuz durumlara da yol açmaktadır [37].

Isıtılmış yağların sağlık üzerindeki olumsuz etkileri birçok bilimsel çalışmada gösterilmiştir. Örneğın, dumanlanma noktasının üzerinde termal olarak oksitlenmiş kanola, AY ve zeytinyağının uzun süre tüketilmesinin, hem yüksek hem de düşük dozlarda yağ birikimi ve oksidatif stres yoluyla karaciğerin fonksiyonunu ve histolojik yapısını önemli ölçüde bozabileceğini bildirmiştir [38]. Bir başka çalışmada, diyetle polimerize edilmiş ve termoksitlenmiş ayçiçeğı tohumu yağının plazma ve HDL'deki kolesterol ve fosfolipit seviyelerini; karaciğer ve plazma lipoproteinlerindeki tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) seviyelerini arttırdığı bildirilmiştir [39]. Ayrıca araştırmacılar, hiperlipidemi ve ateroskleroza indüklemek için tekrar tekrar ısıtılmış zeytinyağı, kanola ve ayçiçek yağını karıştırarak, 16 hafta boyunca (doz = 2 ml/kg/gün) kontrol grubu hariç diğer gruptaki tavşanlara vermişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda, tekrar tekrar ısıtılmış yağ ile beslenen tavşanlarda aortik arkın yaklaşık %80-85'ini kaplayan geniş ateromatöz plak oluşumu rapor edilmiştir [40].

1.5. ANTİOKSİDANLAR

Gıdaların yapısında ciddi değişimler meydana getiren oksidasyon reaksiyonlarını önlemek amacıyla, üreticiler tarafından en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi yağa

antioksidan madde ilave edilmesidir. Antioksidanlar, atmosferik oksijen veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisi altında meydana gelen oksidasyon proseslerini inhibe edebilen veya geciktirebilen özel bileşiklerdir [41].

Antioksidanların serbest radikallere etki mekanizması, 4 farklı yolla gerçekleşir [42].

1. Süpürme Etkisi (Scavenging): Oksidatif özelliği olan moleküllerin daha az zararlı olan moleküllere dönüşmesi olayıdır. Bu etki, genellikle antioksidan enzimler tarafından gerçekleştirilir.

2. Söndürme Etkisi (Queching): Oksidan özellikteki moleküle bir hidrojen atomu transfer ederek onların etkisiz hale dönüşmesi olayıdır. Genellikle Vitamin E-C ve flavonoidler bu tarz etkiye sahiptirler.

3. Zincir Reaksiyonlarını Kırma Etkisi (Chain Breaking): Oksidan özellikteki molekülleri kendilerine bağlayarak etkilerini yok ederler. Hemoglobin, seruloplazmin bu özelliktedirler.

4. Onarma Etkisi (Repair): Hasar görmüş biyomolekölü onararak oksidatif özellikteki moleküllerin vermiş olduğu hasarın ortadan kaldırılması olayıdır.

Yağlarda antioksidanların işleyiş mekanizmasına bakıldığında, antioksidanlar oksidasyon işlemi sırasında oluşan lipit peroksi radikalleri veya lipit alkil radikalleri gibi serbest radikalleri temizler, singlet oksijeni söndürür, geçiş metallerini kontrol eder ve duyarlaştırıcıları etkisiz hale getirir [43]. Böylece antioksidanlar, lipit oksidasyonu sırasında radikal temizleyiciler olarak hareket ederek, onları daha kararlı ve radikal olmayan ürünlere dönüştürerek yayılma aşamalarını yavaşlatır [44].

Kaynaklarına göre antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Yağlarda doğal antioksidanların varlığı ya da sentetik antioksidanların eklenmesi ile lipit oksidasyonunun başlangıcı ve ilerlemesi geciktirilebilir.

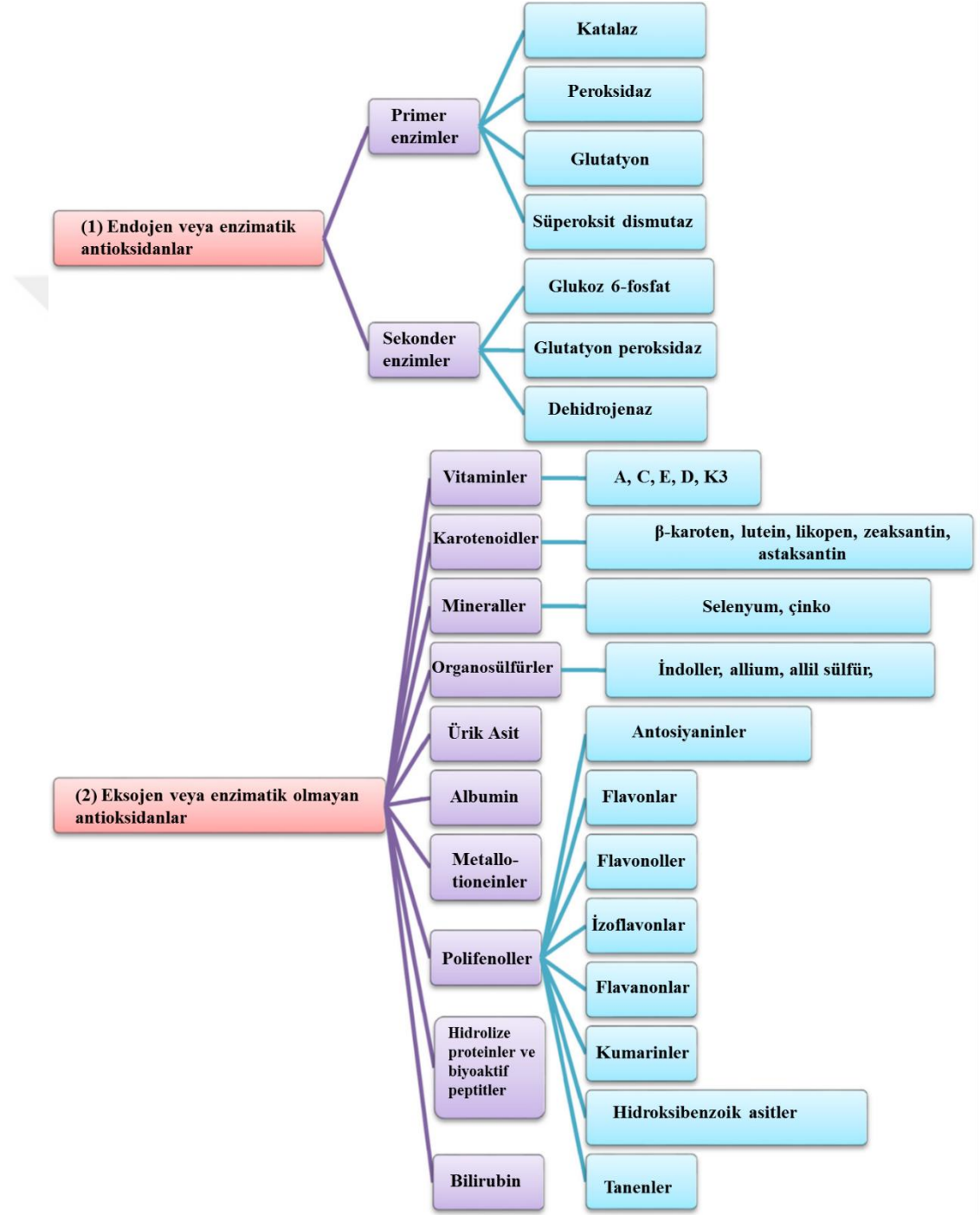
1.5.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, Şekil 1. 2.'de gösterildiği gibi iki sınıfa ayrılabilir:

- 1) Enzimatik (endojen) antioksidanlar
- 2) Enzimatik olmayan (ekzojen) antioksidanlar [45][46].

Enzimler, düşük moleküler ağırlıklı moleküllerdir ve endojen olarak üretilirler [45]. Endojen antioksidanlar, organizmanın oksidasyon reaksiyonlarına karşı tam bir

kontrolünü ve tam korumasını sağlayamadığında, eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok enzimatik olmayan antioksidan, farklı kimyasal sınıf gruplarını içeren diyet kaynaklarından elde edilir. Şekil 1.2.'de görülebileceği gibi polifenoller enzimatik olmayan antioksidanların en büyük sınıfını oluşturmaktadır [47].



Şekil 1.2. Doğal Antioksidanların sınıflandırılması [47].

Doğal antioksidanların oksidatif hasarlara karşı diyetlerde kullanımı hızla artmaktadır.

Bu bileşiklerin insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi vardır. Meyveler, sebzeler ve aromatik bitkiler doğal antioksidan kaynağı olarak dikkat çekmektedir. Bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir. Bu bileşikler içerisinde en fazla bulunanları flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik terpenlerdir [47]. E vitamini olarak bilinen tokoferoller ve tokotrienoller, yağlarda doğal olarak bulunan doğal antioksidanlardır [48]. Gıdaların işlenmesi sırasında yağlı tohumlarda bulunan doğal antioksidanlar yağda çözünebilen (lipofilik) ve hidrofilik fraksiyonlara ayrılır. Lipofilik antioksidanların çoğu presleme ya da solvent ekstraksiyonu ile yağa geçer [49].

Doğal olarak oluşan antioksidanlar, oksidasyona karşı belirli bir miktarda koruma sağlar. Ancak doğal antioksidanlar genellikle işleme veya depolama sırasında kaybolur. Bu durum yağlara eksojen antioksidanların eklenmesini gerektirir [50]. Yağlara doğal antioksidan olarak, tokoferoller [51], karotenoidler [52], askorbik asit [53], fenolik asitler [54] ve flavonoidlerin [55] ilave edilmektedir. Doğal antioksidanların gıda sistemlerinde kullanılmasındaki en önemli zorluklar arasında düşük çözünürlük, düşük raf ömrü, ambalajlama, çevresel streslerden (ışık, oksijen, yüksek sıcaklık ve pH) kaynaklanan kayıplar ve fenolik bileşiklerin istenmeyen aroması gibi pek çok kısıtlama yer almaktadır [56].

1.5.2. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar oksidatif stabiliteyi artırmak için kasıtlı olarak yağa eklenen bileşiklerdir. Bu bileşikler lipid oksidasyonunu inhibe etmek ve gıdalarda bayatlamının oluşmasını geciktirmek için kullanılmaktadır ve genellikle başarılı oldukları bilinmektedir.

Gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar aşağıda listelenmiştir:

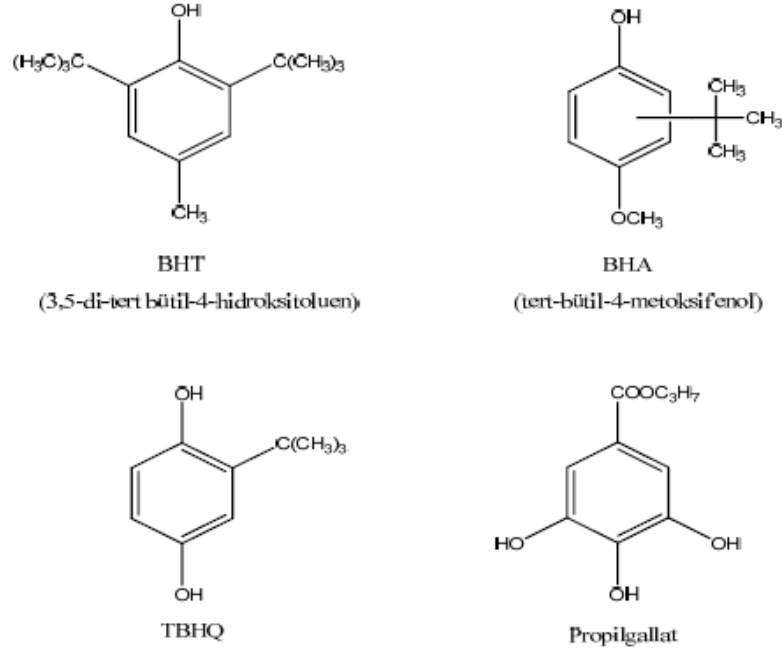
Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA): Bu antioksidan ticari olarak 3-tertiyerbütıl-4-hidroksianisol (%85) ile 2-tertiyerbütıl-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı halindedir. Beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip olup, bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılmaktadır [57].

Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT): BHT (2,6-ditertiaryer bütıl-4-metil fenol); beyaz renkli kristal yapıdadır. Bu yüzden fırında pişirme ve kızartma gibi işlemlerde daha fazla ortamda kalır ve gıdaya dayanıklılık kazandırır.

Propil Galat (PG): Gallik asitin esteri olan ve beyaz renkte katı kristaller halindeki propil

gallat, hayvansal ve bitkisel yağlarda en çok kullanılan sentetik antioksidandır [57].

Tersiyer Bütıl Hidrokinon (TBHQ): Beyaz ile açık kahverengi arası renkte kristal yapıda olup bitkisel yağlar için çok etkili bir antioksidandır.



Şekil 1.3. Sentetik antioksidanların yapısı [58].

BHT ve BHA, ortam ve hızlandırılmış depolama sıcaklıklarında etkili antioksidanlar olmasına rağmen yiyeceklerin kızartılması sırasında nispeten az koruma sağlar [59] [60]. Bu antioksidanların yüksek sıcaklıklarda buharlaştıkları bilinmektedir ve bu nedenle kızartma yağında termooksidatif bozulmaya karşı koruma sağlayacak kadar uzun süre kalmazlar [61]. Zayıf korumanın yanı sıra, özellikle kızartma koşulları altında, yaygın sentetik antioksidanların kullanımı, insan sağlığı üzerinde algılanan zararlı etkileri nedeniyle de sınırlandırılmıştır [60].

1.5.2.1. Bitkisel Yağlarda Kullanılan Sentetik Antioksidanların Sağlık Üzerindeki Etkileri

Yukarıda bahsedildiği gibi kızartma yağlarında en fazla kullanılan sentetik antioksidanlar BHA, BHT ve TBHQ'dur [62]. Ancak bu sentetik antioksidanların kanserden diyabete birçok hastalığa sebep olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin, ergenlik öncesi dişi Wistar sıçanları üzerinde yapılan bir çalışmada, BHT ile muamele edilen dişi sıçanlarda endometriyal stroma ödemi gözlemlediklerini ve hem BHT'nin hem de BHA'nın endokrin bozucu etkilere sahip olduklarını bildirmişlerdir [63]. Yapılan bir

diğer çalışmada, izole edilmiş perfüze sıçan karaciğeri ve izole edilmiş mitokondri üzerinde BHA'nın, mitokondri içinde üretilen ATP'ye bağlı olan biyosentetik yolları (glukoneogenez) ve amonyak detoksifikasyonunu inhibe ettiğini ve ek bir gözlem olarak BHA'nın reaktif oksijen türlerini (ROS) artırttığını bildirmişlerdir [64]. BHA ile beslenen Erkek Fischer 344 sıçan gruplarında, ön mide ve idrar kesesi üzerinde karsinomlar ve bazı epitelyal hücrelerde büyümeler gözlemlenmiştir [65]. Ayrıca, BHT'nin karsinogenez gibi potansiyel etkileri nedeniyle sıçan karaciğeri, böbrek ve akciğeri üzerinde olumsuz etkileri [66], BHA'nın, karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerini (ROS) artırttığı [64] sitotoksik etkisi [67] ve kanserojen etkisi [65], [68] olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir.

Günümüzde sağlık güvenliği üzerinde yarattığı endişeler nedeniyle Japonya, Kanada, ABD ve birçok Avrupa ülkesinde sentetik antioksidanların kullanımları kısıtlanmıştır [69]. Türk Gıda Kodeksi-Renklandırıcılar ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliğine göre kızartma yağlarında BHT'nin izin verilen maximum dozu 100 ppm olarak sınırlandırılmıştır.

Son yıllarda sentetik antioksidanların insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin yarattığı endişeler nedeniyle yağların oksidatif stabilitesinin artırılması için yapay antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanılması çok önem kazanmıştır [70]. Ayrıca doğal antioksidanların sağlık üzerine olumlu etkiler göstermesi, yağın stabilitesini artırmada sentetik antioksidanlar kadar etkili veya daha fazla etkili olabilmeleri ve ekonomik açıdan uygun olmaları, yağda ve suda çözünbilme gibi fonksiyonları olması nedeniyle araştırmalar doğal antioksidan kaynakları üzerine yoğunlaşmıştır [71].

1.6. PROPOLİS

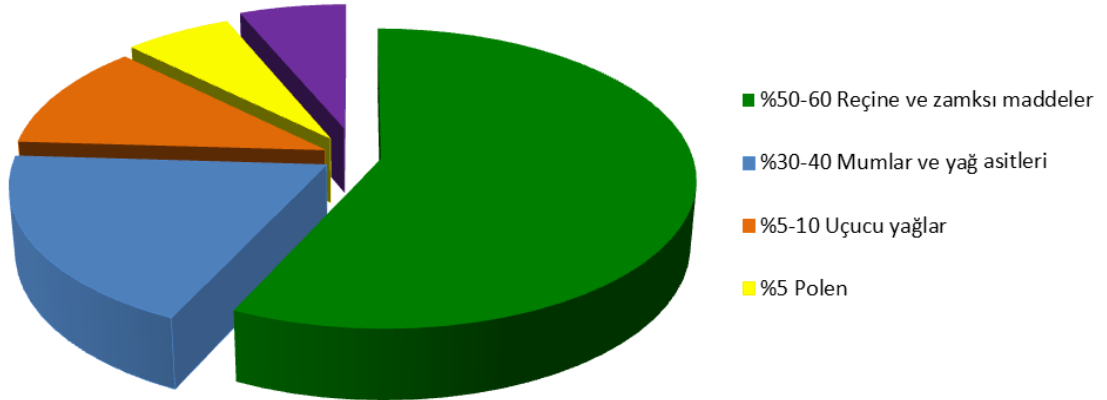
Propolis (PRPLS), bal arılarının (*Apis mellifera L.*) bitkilerin yapraklarından, çiçek tomurcuklarından, kabuklarından, dallarından, filizlerinden topladıkları bitki salgılarını birleştirerek kovan içinde kendi enzimleri aracılığıyla değişikliğe uğratarak oluşturdukları reçinemsî yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür [72]. Bal arıları kovana taşıdıkları bu maddeyi, bal mumu ile karıştırarak güçlü bir yapışkan madde üretir ve bu ürün dünya çapında yüzyıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır [73], [74]. PRPLS arılar tarafından kovan duvarlarını kaplamak, boşluk ve çatlakları doldurmak ve öldürülen istilacı böceklerin mumyalanmasında kullanılır [75]. PRPLS'nin kaynağını oluşturan bitkiler; kavak (*Populus spp.*), kayın (*Fagus sylvatica*), huş (*Betula alba*),

kestane (*Castanea sativa*), atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*), akçaağaç (*Alnus glutinosa*) ve çeşitli koniferlerdir [76]. Doğal bir arı ürünü olan PRPLS sağlığı geliştiren ve hastalıkları önleyen bir diyet takviyesi olarak dünya çapında bir üne sahiptir [77].



Şekil 1.4. Ham PRPLS.

Ham PRPLS'nin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle reçine, mum, esansiyel ve aromatik yağlar, polen ve diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır. Bu bileşiklerin yüzde dağılımları Şekil 1.5.'teki grafikte gösterilmektedir.



Şekil 1.5. Ham PRPLS'nin bileşimi [12].

1.6.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri

PRPLS'nin rengi reçinenin kaynağına bağlı olarak sarımsı yeşilden, kırmızı ve koyu kahverengiye kadar değişebildiği gibi şeffaf da olabilmektedir. Fiziksel yapısı serttir,

soğukta kırılgan, sıcakta yapışkandır. Oda sıcaklığında lipofilik, sert ve kırılgan yapıda; ısıtıldığında ise daha esnek, dövülebilir ve yapışkan halde olur [78]. PRPLS toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi, PRPLS'nin kimyasal yapısını belirlemektedir. Rengi, kokusu ve tıbbi karakteristikleri, sezona ve kaynağa bağlı olarak değişebilmektedir [79].

PRPLS aseton, eter, kloroform gibi organik çözücülerde kısmen çözünürken suda çok az çözünür veya hiç çözünmez. PRPLS'in %95'lik alkolde yüksek oranda çözündüğü bilinmektedir. Tıbbi alanda genellikle PRPLS'nin %70'lik alkolde çözünerek elde edilmiş ekstraktları tercih edilmektedir [80], [81].

1.6.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği

PRPLS'nin bileşenleri iklim, mevsim, bölge ve yıla bağlı olarak değiştiğinden kimyasal formülü sabit değildir [82]. Yapılan çalışmalarda, PRPLS'nin polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehytler, alkoller ve ketonlar, sekuiterpen kinonlar, kumarinler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi güçlü antioksidan özelliğe sahip yapıları kapsayan 300'den fazla bileşikten oluştuğu bildirilmiştir [12]. PRPLS'nin bileşiminin toplandığı coğrafi bölgeye [83] ve botanik kökenine bağlı olarak değiştiği de bilinmektedir [84]. Çizelge 1.3.'de PRPLS'teki bileşikler verilmiştir.

Çizelge 1.3. PRPLS içeriğinde bulunan başlıca bileşikler.

Gruplar	Tanımlanan Bileşik Sayısı	Gruplar	Tanımlanan Bileşik Sayısı
Flavonoidler	38	Diğer asit ve türevleri	8
Hidroksiflavonlar	27	Alkoller, Ketonlar, Fenoller ve Heteroaromatik bileşikler	12
Hidroksiflavononlar	11	Terpen ve Sekuterpen alkol ve türevleri	7
Kalkonlar	2	Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar	11
Benzoik asit ve türevleri	12	Alifatik hidrokarbonlar	6
Asitler	8	Mineraller	22
Esterler	4	Steroller ve steroid hidrokarbonlar	6
Bezaldehit türevleri	2	Şekerler	7
Sinamil alkol, Sinamik asit ve türevleri	14	Aminoasitler	24

1.6.3. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

PRPLS'nin biyolojik aktivitesi, ağırlıklı olarak içeriğindeki fenolik bileşiklere atfedilir [85], [86] ve bu bileşikler esas olarak PRPLS'nin antioksidan özelliğinden sorumludur [87]. Fenolik veya polifenol terimi kimyasal olarak kısaca, sahip olduğu aromatik halkada çeşitli fonksiyonel gruplara (esterler, metil esterler, glikozitler vb.) ilaveten hidroksil grubu taşıyan madde olarak tanımlanır. Fenol kendisi de doğal bir üründür ama çoğu fenolik bileşik iki veya daha fazla sayıda hidroksil grubu taşır [88]. Fenolik antioksidanlar hidroksil grubundan lipit radikallerine bir hidrojen atomu vererek lipit oksidasyonunu engellemek suretiyle radikal olmayan bileşiklere dönüşürler. Bu şekilde oluşan antioksidan serbest radikali stabildir ve daha sonraki aşamada yağ asidinin oksidasyonuna sebep olmamaktadır. PRPLS'teki fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılır [89]. Çizelge 1.4.'de yığılca PRPLS'inde bulunan fenolik asitler ve flavonoidler gösterilmektedir.

Çizelge 1.4. HPLC-DAD ile Yığılca PRPLS'ninin %70 EEP ekstraktının kimyasal bileşimi [84].

Fenolik Asitler	Flavonoidler
3-4 Dimetoksisinamik Asit	Biochanin
Protokateuik Asit	Kafeik asit fenil ester
Trans Sinamik Asit	Kateşin
Kumarik asit	Hesperidin
Ferulik asit	Kaempferol
Rosmarinik Asit	Pinobanksin
Trans Ferulik Asit	Pinostrobin
Gallik asit	Apigenin
	Naringenin

PRPLS'nin en önemli aktif bileşenleri olan flavonoidler, fenolik asitler, fenolik asit esterleri ve terpenoidler toplam miktarının %70'ini oluşturmaktadır ve hepsi yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir [85][90][91]. Genelde polifenolik bileşikler bu miktarın %58'ini, flavonoidler ise bu %58'in %20'sini oluşturur [92]. Bu antioksidan bileşikler, indirgeyici ajanlar, hidrojen vericileri, metal şelatörleri ve tekli oksijen türlerinin süpürücüleri olarak görev yapar [93], [94] ve lipit peroksidasyon sürecini yavaşlatarak

gıda ürünlerinin raf ömrünü iyileştirir [78].

Fenolik bileşikler; gıda maddelerinin görünüş, tat ve lezzet gibi tüketim açısından önemli olan kalite özellikleri üzerine etkileri ve doğal antioksidan olarak insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle önemli bileşenlerdir [89]. Flavonoidler güçlü antioksidanlardır ve serbest radikal süpürme yeteneğine sahiptirler. Hidrojenlerin ayrılmasıyla oluşan flavonoid radikalleri, ortamdaki eser metallerle şelat halka oluşturarak kararlı duruma geçerler. Fenolik bileşiklerin, bütün bitkisel yağların çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif stabilitesi için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, doğal antioksidanlar bakımından zengin yemeklik yağlar, kronik hastalıkların riskini azaltmada rol oynayabilirler [95]. PRPLS'te bulunan flavonoid ve diğer fenolik madde içeriğinin, kanser ve kalp hastalığı gelişimini önleyici bir rol oynadığı öne sürülmüştür [96].

1.6.4. Propolisin Gıdalarda Kullanımı

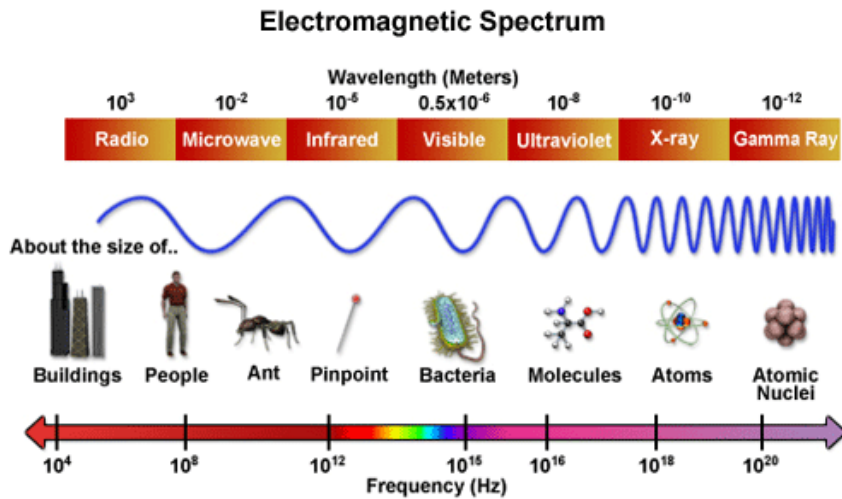
PRPLS'nin gıdaya eklenmesi, gıda ürününün raf ömrü ve güvenliği üzerinde olumlu bir etki yaratarak biyolojik koruma sağlar ve aynı zamanda besinsel avantajları korurken kimyasal katkı maddelerinin kullanımının azaltılmasını sağlayan ilginç bir teknolojidir [97]. Bu nedenle PRPLS'in antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri sayesinde gıda endüstrisinde birden fazla kullanımı vardır. Örneğin, araştırmacılar sütlü içeceklerde konjuge linoleik asit ile PRPLS'in bir antioksidan ajan olarak kullanımını araştırmıştır [98]. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar, PRPLS'in sütlü içeceklerin işlenmesi ve depolanması sırasında meydana gelen oksidasyon sonucu oluşan aldehit oluşumunu engellediğini ve bunun kullanılan PRPLS ekstraktının yüksek antioksidan kapasitesi ile ilgili olduğunu bildirmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada, biraya 0.25 g/L'ye kadar PRPLS özü eklemiş ve demleme sırasında meydana gelen oksidasyon sürecinde bir azalma olduğunu tespit edilmiştir [99]. Aynı zamanda PRPLS'in yüksek polifenol içeriği sayesinde ortaya çıkan ürünün fenolik fraksiyonunda bir artış bulunmuştur [99]. Bilim insanlarının yapmış olduğu çalışmada 0,1 mg/mL PRPLS ilavesinin elma suyunun pastörizasyon işlemi sırasında oksidasyon reaksiyonundan koruduğunu bildirmiştir [100]. Başka bir çalışmada araştırmacılar, pastörizasyon işlemi uygulanan gazsız içecekler üzerinde antioksidan kapasiteyi artırmak için, doğal bir koruyucu olan PRPLS'i sorbat'ın alternatifi olarak önermiştir [101]. Yoğurt hazırlanmasında Brezilya kırmızı PRPLS'inin kullanımının potasyum sorbat kullanımına göre daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir [102]. Başka bir çalışmada, PRPLS'nin balık yağının depolama sırasında

lipit oksidasyonu üzerinde BHT'den de daha iyi koruma sağladığını göstermiştir [103]. Bunlara ilaveten, PRPLS'nin shibuta filetolarının [37], tavukgöğsü filetolarının [104] ve sığır köftelerinin [105] raf ömrünü uzatmak için doğal bir antioksidan madde olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

PRPLS'nin antioksidan aktivitesinin içeriğindeki polifenollerden kaynaklandığı çeşitli çalışmalarda kanıtlanmıştır [87], [106], [107] ve PRPLS'in polifenol içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir [72], [108]. PRPLS'deki polifenoller esas olarak, gallik asit, kafeik asit, pinocembrin, pinobanksin, p-kumarik asit, krisin, galangin, hesperitin, kaempferol, naringenin gibi fenolik asitler ve ateşin, kuersetin ve siyanidin gibi flavonoidler sayılabilir.

1.7. ELEKTROMANYETİK IŞIMA VE SPEKTROSKOPİ

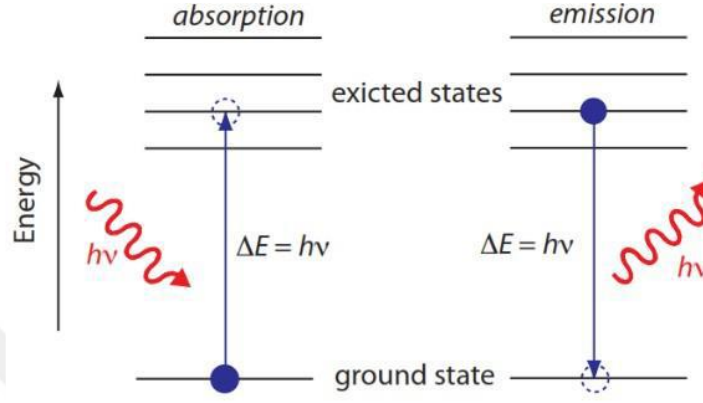
Elektromanyetik ışıma ile madde arasındaki dalga boyuna bağlı etkileşimi inceleyen bilim dalına “spektroskopi” denir. Spektrometrik yöntemler ve spektrometri ifadeleri ise, madde miktarını ya da bir maddenin belirli bir türünü belirlemede spektroskopi tekniğini kullanma şeklinde tanımlanabilir. Genel olarak ölçüm yapılan cihaza ise spektrometre denir. Elektromanyetik spektrum, radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızılötesi, görünür ışık, ultraviyole, X ışınları ve gama ışınları olmak üzere, elektromanyetik radyasyon dalgasının frekansına göre kategorilere ayrılır.



Şekil 1.6. Elektromanyetik spektrum.

Madde ve elektromanyetik radyasyon arasındaki etkileşim, atomların ya da elektronların enerji seviyeleri arasında geçiş neden olabilir. Bu geçiş enerji seviyeleri arasında

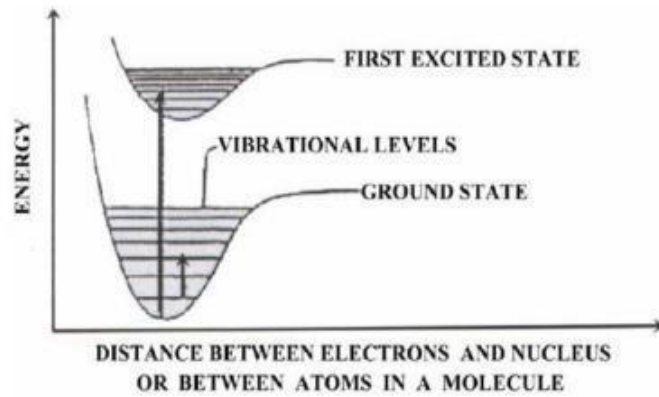
meydana gelir. Elektronun bir enerji durumundan diğerine taşınması için enerjiye ihtiyaç vardır. Bu durum şekilde gösterilen Jablonsky enerji diyagramı ile açıklanabilir. Burada, moleküllerin temel durumdan, uyarılmış duruma geçişi gösterilmektedir. Gelen fotonun enerjisi temel ve uyarılmış durumlar arasındaki enerji değişimine eşitse uyarılma meydana gelir [109].



Şekil 1.7. Jablonsky enerji diyagramı [109].

1.7.1. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi

Elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesi 14.000 cm^{-1} ve 4 cm^{-1} arasında olup, yakın kızılötesi bölge ($14.000\text{--}4.000\text{ cm}^{-1}$), orta kızılötesi bölge ($4.000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) ve uzak kızılötesi bölge ($400\text{--}4\text{ cm}^{-1}$) olmak üzere üç bölgeye ayrılmaktadır [110]. Kızılötesi spektroskopisi, titreşim modlarına dayalı olarak kızılötesi bölgesindeki moleküllerin absorpsiyonunu ve iletimini incelemek üzere geliştirilen bir tekniktir.

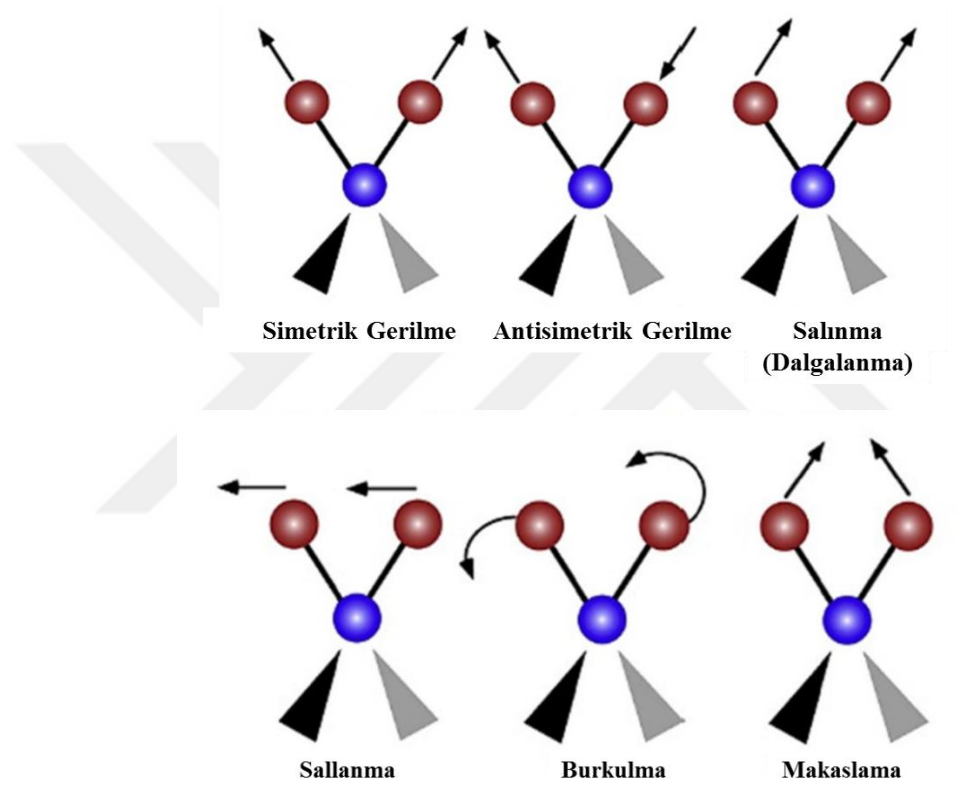


Şekil 1.8. Titreşim geçişlerini gösteren enerji düzeyi diyagramı [111].

Kızılötesi ışığın, madde tarafından absorbe edilebilmesi için, molekülün kovalent bağlarının dipol momentine sahip olması gerekmektedir. Eğer molekülün elektrik dipol

momenti kızılötesi ışık ile değişikliğe uğruyor ise molekül kızılötesi absorpsiyon gösterir ve molekülün kimyasal bağları titreşim hareketleri yapar [112]. Moleküller kızılötesi radyasyonlarla ısımlandığında, fotonların absorpsiyonu yoluyla temel halden uyarılmış duruma uyarılırlar.

Moleküler titreşim gerilme ve eğilme titreşimleri olmak üzere iki ana şekilde oluşur [113]. Karmaşık bir molekül göz önüne alındığında şekilde gösterildiği gibi, simetrik ve antisimetrik gerilme, makaslama, sallanma, burkulma ve salınma (dalgalanma) olmak üzere 6 farklı şekilde titreşebilir.

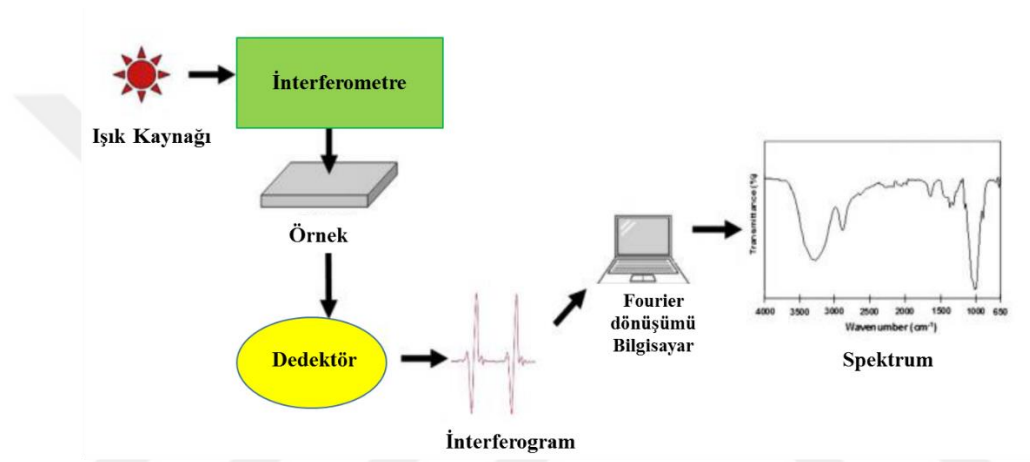


Şekil 1.9. Bir kızılötesi spektrumunda tespit edilebilen moleküler dipol moment değişikliği ile ilişkili titreşim modları [114].

Spektrum, kızılötesi radyasyonunu absorbe eden fonksiyonel grupların (örneğin, N-H, CH₂, C=O) toplam kimyasal bileşimi hakkında bilgi verir. Herhangi bir moleküldeki fonksiyonel grup ya da bağ, kızılötesi spektrumunda kendisine karşılık gelen bir banta sahiptir ve böylece, lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik olarak öneme sahip çeşitli makromoleküller bir kızılötesi spektrumu ile analiz edilebilir [115]–[117]. Kızılötesi spektrumu üzerinden bilgi edinmek için, frekans kaymaları, bantların altında kalan alan ve yükseklikleri, bant genişlikleri analiz edilir.

1.7.2. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

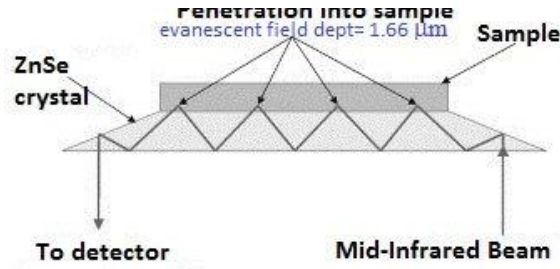
FTIR spektroskopisi, ışığın kızılötesi yoğunluğuna karşı dalga sayısını, matematiksel Fourier dönüşümü yöntemi ile ölçen kimyasal analitik bir tekniktir. Tipik bir FTIR spektrometresinin bileşenlerini bir ışık kaynağı, numune hücresi, dedektör, amplifikatör ve kaydedici bir bilgisayar oluşturmaktadır. Kaynaktan gelen kızılötesi radyasyonu interferometreden geçerek dedektöre ulaşır. Sinyal yükseltildikten sonra amplifikatör tarafından dijital bir sinyale dönüştürülür. Oluşan bu sinyal daha sonra Fourier dönüşümünün gerçekleştirildiği bilgisayara aktarılır.



Şekil 1.10. Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektrometresi.

1.7.3. Azaltılmış Toplam Yansıma (ATR)-FTIR Spektroskopisi

Günümüzde FTIR spektroskopisinin en yaygın kullanım tekniği ATR-FTIR spektroskopisidir. Kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılan bu teknikte, numune hazırlığına gerek olmaması ATR-FTIR spektroskopisini hızlı bir yöntem haline getirir. Azaltılmış toplam yansıma (ATR) ünitesinin çalışma prensibi, ışın ile bir numune temas ettiğinde, yansıyan kızılötesi radyasyonda meydana gelen değişimlerin ölçülmesine dayanır. Kızılötesi radyasyon, belirli bir açıda, yüksek kırılma indisine sahip ve optik olarak da yoğun bir kristal üzerine yönlendirilir. Bu iç yansıma kristal yüzeyinden geçer ve numuneye ulaştığında kaybolan bir dalga yaratır. Bu kaybolan dalga, numunenin hedef spektrum bölgesindeki enerjiyi absorbe etmesi ile zayıflar. Her kaybolan dalgadan gelen zayıflatılmış enerji, kristalin karşı ucundan çıkan ve kızılötesi spektrometresindeki dedektöre iletilen kızılötesi radyasyonuna geri gönderilir ve daha sonra sistem bir kızılötesi spektrumu oluşturur.



Şekil 1.11. ATR Ünitesinin şematik gösterimi.

ATR ünitesinin kristali için en yaygın kullanılanları çinko selenit (ZnSe) ve germanyum (Ge) olsa da elmas, kızılötesi ileten amorf malzeme (AMTIR) ya da silikon malzeme de kullanılabilir. Fakat kolay temizlenebilmesi, suya dayanıklı olması ve uygun maliyetli olması gibi özellikleri çinko selenit'in (ZnSe) tercih edilmesini sağlar.

ATR-FTIR spektroskopisinin avantajları:

- Numune, kimyasal bir ön işleme gerek olmadan kullanılabilir.
- Katı, sıvı ve gaz halinde bulunan numunelerin çekimi yapılabilir.
- Kızılötesi radyasyonu yapısal ve fonksiyonel olarak tahribatsızdır yani numunede bir değişiklik meydana getirmez [118]
- Çok az miktarda numune yeterlidir [119].
- Dedektör tarafından tüm frekanslar aynı anda algılandığı için tam bir spektrum elde etmek için gereken süre çok kısadır [109].
- Jacquinet'un avantajı olarak adlandırılan düşük gürültülü bir spektrum verir [109].
- Sonuçların, nicel ve nitel olarak yorumlanabilmesine olanak sağlar.
- Tek bir spektrumdan, fonksiyonel gruplardaki tüm değişiklikler anında tespit edilebilir [120].

Geçmişte ATR-FTIR spektroskopisi, fındık yağı ve natürel sızma zeytinyağının kızartma sırasındaki oksidatif stabilitesinin değerlendirilmesinde [121], çeşitli yemeklik yağların (kolza, mısır, kızartma, ayçiçeği) uzun termal oksidatif kinetik ve stabilitesinin karşılaştırılmasında [122], yüksek sıcaklığın bazı yemeklik yağların kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmada [123], [124], farklı pişirme tekniklerinin yağ kalitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesinde [125] ve ayçiçek yağının lipit oksidasyonunu geciktirmede üzüm çekirdeği ekstraktının kullanılmasının değerlendirilmesinde [126] kullanılmıştır. ATR-FTIR spektroskopisi uzun numune hazırlama prosedürleri, tehlikeli kimyasal reaktifler veya çözücülerin kullanılmasını gerektirmediği için ve aynı zamanda hızlı,

zararsız bir teknik olması sebebi ile son zamanlarda yağ analizlerinde öne çıkan bir teknik olmuştur.

1.8. TERMAL ANALİZ

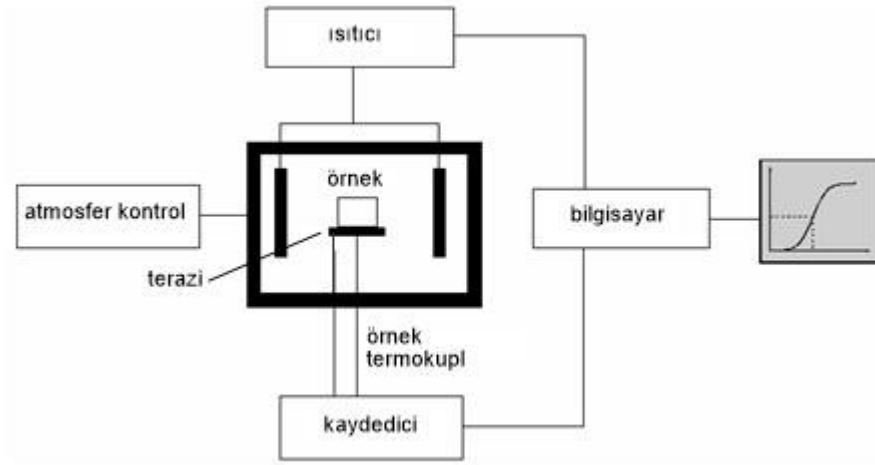
Termal analiz, numuneye uygulanan ısı işlemlerle, numunede meydana gelen reaksiyonların bir sonucu olarak kütle ve enerji değişimlerinin analizi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde, incelenmek istenen numuneye belirli bir ısıtma ya da soğutma programı uygulanır ve numunede meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler gözlemlenir [127]. Örneğin, numunenin erime ve donma gibi fiziksel hali, kimyasal form değişimi, küçük gruplara bölünmesi, oksidasyon ya da atmosferde bulunan diğer gazlar ile etkileşimi, absorpsiyon veya desorpsiyon, sıcaklığın etkisi ile büzülme ya da genişleme gibi maddenin boyutlarında ve numunenin elektriksel özelliklerinde meydana gelen değişimler analiz edilebilir. Bu değişimler yaygın olarak termogravimetrik (TGA), diferansiyel termal analiz (DTA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile ölçülmektedir [127].

1.8.1. Termogravimetrik Analiz (TGA)

TGA’da, numuneye kontrollü bir sıcaklık yöntemi uygulandığında, kütlede meydana gelebilecek olan azalma, sıcaklığın ya da zamanın fonksiyonu olarak ölçülür [128]. Ölçüm sonucu elde edilen eğrilere “termal bozunma eğrileri” ya da “termogram” denir.

Genelleme yapılacak olursa meydana gelen sıcaklık artışı, su gibi uçucu bileşiklerin yapıdan uzaklaşması ya da maddenin ayrışmasına sebep olduğu için kütle kaybı meydana gelir [128].

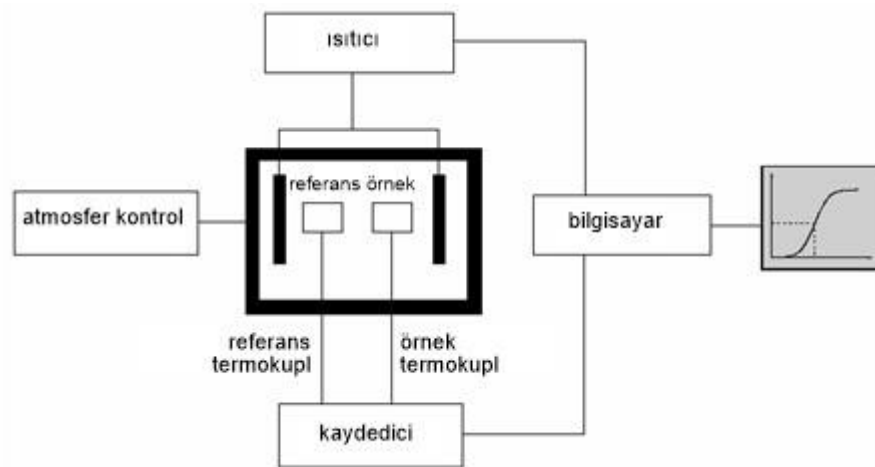
Termogravimetri cihazı hassas bir terazi, iyi bir ısıtıcı (fırın), sıcaklık ve kütle değişimini otomatik olarak kaydeden bir sistem, inert gazlı bir temizleyici ve analiz sırasında gaz kesebilen veya değiştirebilen parçalardan oluşmuştur (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. TGA'nın şematik bir gösterimi [129].

1.8.2. Diferansiyel Termal Analiz (DTA)

DTA yöntemi, ısıtılma işlemi karşısında inert davranan bir referans ve analiz edilecek numune, kontrollü olarak soğutulan ya da ısıtılan bir ortamda maruz bırakıldıkları sıcaklık değişimi karşısında referans ile numune arasında oluşan sıcaklık farkının kaydedilmesini içerir [130]. Bu yöntemde, numune ve referans materyali aynı kaynak tarafından dereceli olarak ısıtılır. Isıtma işlemi sırasında numunede endotermik ya da ekzotermik olmak üzere termal reaksiyonlar gerçekleşir. Numune ve referans madde arasındaki sıcaklık farkı thermocouple tarafından ölçülür, uygulanan sıcaklığın fonksiyonu olarak incelenir ve daha sonra grafiğe geçirilir. Grafikteki düz giden bir pik düşüşe geçerse endotermik değişiklik olduğunu, eğer yükselişe geçerse de ekzotermik bir değişiklik olduğunu gösterir. Şekil 1.13 DTA cihazının şematik diyagramını göstermektedir.



Şekil 1.13. DTA şematik diyagram [129].

Günümüzde kullanılan modern cihazlar TGA ve DTA yöntemlerini aynı cihaz içerisinde eş zamanlı olarak kaydetmektedir. Bu cihaz, hem faz dönüşümüne bağlı olarak oluşan hem de ağırlık kaybına bağlı olarak oluşan pikleri ayırt edebilmeyi mümkün kılar.

TGA-DTA az miktarda numune gereksinimi, basit işlem protokolleri, belirli bir kimyasal ya da çözücü gerektirmemesi, tekrarlanabilir veriler sağlaması nedeniyle oksidatif stabilite belirlemede kullanılan diğer yöntemlerle iyi bir korelasyona sahiptir [131]. Bu yöntemlerin düşük maliyetli olması ile beraber yüksek doğruluk derecesine sahip, uygun ve etkili yöntemler olduğu bilinmektedir [132].

Geçmişte TGA-DTA yöntemi eş zamanlı olarak, farklı bitkisel yağların oksidatif bozunma sürecinden kaynaklanan ağırlık değişiminin değerlendirilmesinde [133], [134], bitkisel yağların termal oksidasyonunun incelenmesinde [50], [135], yemeklik yağların termal bozunma profilinin analiz edilmesinde [136], termal oksidasyonun başlangıç sıcaklığı (T_{onset}) parametresinin belirlenmesinde [132], sızma zeytinyağındaki trigliseritlerin kinetik çalışmasında [137], çeşitli antioksidanların yağların termal bozunma davranışı üzerindeki etkisi ve yağın oksidatif stabilitesi ile antioksidan aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemek için [138], [139] rafine ve saf yağlarının termal davranışları ve termooksidatif stabilitelerinin belirlenmesinin yanında ayrışma entalpilerini incelemek için kullanılmıştır [140].

1.9. ÇALIŞMANIN AMACI

Dünyada hızlı nüfus artışı, aşırı kentleşme ve zamandan tasarruf etme isteği sonucunda, başta kızarmış yiyecekler olmak üzere, tüketime hazır gıdaların üretim miktarları ve türleri artmıştır. Patates, mısır cipsi, tavuk ve balık gibi birçok gıda yağda kızartılarak hazırlanmaktadır. Ancak, 150-200 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen kızartma işlemi sırasında, yağlar ısıyla birlikte oksijene ve neme maruz kalmakta ve sonuçta yağın kalitesini etkileyen oksidasyon, polimerizasyon, hidroliz vb. kimyasal reaksiyonlar meydana gelmektedir. Özellikle termal oksidasyon işleminden sonra yağlarda oluşan peroksitler, hidroperoksitler, aldehitler, ketonlar, serbest radikaller ve trans yağ asitleri gibi bileşikler insan sağlığını tehdit etmektedir.

İçerdiği yüksek orandaki doymamış yağ asidi miktarından dolayı sağlıklı bir yağ olarak kabul edilen AY ucuz fiyatı nedeniyle yemeklerde ve kızartmalarda en çok tercih edilen bitkisel yağlardan birisidir. Ancak AY gibi çoklu doymamış yağ asidi içeriği yüksek olan

yağların oksidasyona karşı çok duyarlı oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla ısıtılma işlemi sırasında AY'nin oksidasyonunu engelleyerek içinde zararlı bileşiklerin oluşmasını önlemek ve stabilitesini artırmak insan sağlığı için son derece önemlidir.

Yağların stabilitesini arttırmak için uzun yıllardır sentetik antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Son yıllarda sentetik antioksidanların insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin yarattığı endişeler nedeniyle yağların oksidatif stabilitesinin artırılması için yapay antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanılması önem kazanmıştır. Bu doğal antioksidanlardan en çok tercih edilenlerden birisi olan tokoferollerin yağlarda yüksek koruyuculuk aktivitesi bildirilmiş olmasına rağmen ısıtılma sırasında kullanılan yüksek sıcaklıklarda kararsız oldukları ve bu nedenle kızartma yağlarında sınırlı bir korumaya sahip oldukları bilinmektedir. Yemeklik yağlara eklenen antioksidanlar yağı ısıtılma bozulmaya karşı korumanın yanı sıra aynı zamanda kendisi de yüksek bir termal kararlılığa sahip olmalıdır. Dolayısıyla yemeklik yağlarda kullanılabilecek yüksek sıcaklıklara dayanıklı doğal antioksidan maddelere ihtiyaç vardır. Bazı bitkisel ekstraktlarda bol miktarda bulunan polifenollerin yüksek sıcaklıklara tokoferoller gibi endojen antioksidanlardan ve BHT, BHA gibi sentetik antioksidanlardan daha dayanıklı olduğu ve ısıtılmış yağlarda daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir.

Doğadaki en değerli polifenol kaynaklarından birisi olarak kabul edilen propolis (PRPLS), bal arılarının kovani yabancı istilacılardan korumak için bitkilerin çeşitli kısımlarından topladığı ham maddelerle ürettiği reçinemi bir maddedir. Propolisteki fenolik asitler, fenolik asit esterleri, flavonoidler ve terpenoidler en önemli aktif bileşenlerdir ve yüksek antioksidan özellik göstermektedir. Bu bileşiklerin serbest radikalleri temizlediği ve böylece lipitler, proteinler, vitaminler vb. biyomolekülleri oksidatif hasardan koruduğu gösterilmiştir

Propolisin güçlü antioksidan özelliği ve içerdiği polifenollerin yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğu bilindiğinden yemeklik yağlarda doğal bir antioksidan madde olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada amacımız, AY'de ısıtılma işlemi sırasında meydana gelen termal oksidasyona karşı PRPLS'in koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığının ortaya çıkarılmasıdır. Çalışmamızda, moleküllerin konsantrasyon, yapı ve fonksiyonlarını moleküler düzeyde inceleme imkanı veren ATR-FTIR spektroskopisi, moleküllerin termal ve fiziksel özellikleri hakkında bilgi veren TGA-DTA ve bir

biyokimyasal test olan TAS/TOS analizi kullanılarak, AY’de meydana gelen oksidasyonun derecesi ve bu oksidasyon üzerinde farklı konsantrasyonlardaki PRPLS ekstraktlarının koruyucu etkisinin olup olmadığı sentetik bir antioksidan olan BHT ile karşılaştırmalı olarak;

- lipit oksidasyonunun en önemli göstergelerinden olan cis- ve trans-doymamış yağ asidi miktarlarındaki değişimlerin incelenmesi,
- birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının incelenmesi,
- oksidasyon derecesinin PCA kemometrik analiz yöntemi ile incelenmesi
- yağların bozunma profilinin ve termal kararlılığının incelenmesi,
- DTA eğrilerinden elde edilen termal bozunma başlangıç sıcaklıklarının (T_{onset}) incelenmesi,
- TGA eğrilerinden elde edilen yüzde kütle kaybı değerlerinin incelenmesi,
- yağ örneklerindeki total oksidan (TOS), total antioksidan seviyelerinin (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerinin incelenmesi ile değerlendirilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. PROPOLİS EKSTRAKSİYONU HAZIRLAMA

Bu çalışmada, Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi'nden (DAGEM) temin edilen, 2021 yılı yaz mevsiminde Düzce yöresinden toplanmış PRPLS numuneleri kullanılmıştır. Ham PRPLS örnekleri ekstraksiyon işlemine kadar derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilmiştir. Etanol PRPLS'teki polifenollerini koruduğu ve toksik olmadığı için çalışmamızda PRPLS'nin etanolik ekstraktı kullanılmıştır [108]. Ham PRPLS'ten 300 g tartıldı ve laboratuvar tipi güçlü bir öğütücüde öğütüldü. Üzerine 1500 mL (1:5 w/v), %96'lık etanol eklenerek, manyetik karıştırıcı ile 500 rpm'de oda sıcaklığında, ışık almayacak ortamda 5 gün boyunca karıştırıldı. Elde edilen etanol ekstraktı iki kez filtre kâğıdından süzüldü. Alkol, 40 °C'de indirgenmiş basınç altında bir rotasyonlu evaporatörde (Heidolph, Almanya) buharlaştırıldı. Evaporasyon sonrası kalan 150 g PRPLS'e, 750 mL (1:5 w/v), %70'lik etanol eklendi ve manyetik karıştırıcıda 1 gün karıştırıldı [141]. Elde edilen etanolü PRPLS ekstraktı 1 gün boyunca -80 °C'de bekletildikten sonra, -52 °C'de 0,97 atm basınç altında liyofilizatörde (Christ Alpha 1-2 LD plus, Almanya) toz haline getirildi. Toz haline getirilen PRPLS örnekleri kullanılıncaya kadar +4 °C'te ışık almayacak şekilde muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. 500 rpm'e ayarlanmış manyetik karıştırıcıdaki PRPLS.



Şekil 2.2. Rotary evaporatörde PRPLS ekstraktının içindeki etil alkolün uçurulması.



Şekil 2.3. Liyofilizatörde PRPLS toz ekstraktının elde edilmesi.



Şekil 2.4. Liyafilizatörde elde edilen toz PRPLS ekstraktı.

2.2. PRPLS EKSTRAKSİYONUNUN KARAKTERİZASYONU

2.2.1. HPLC Bileşen Analizi

Bu çalışmada Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE), Quercetin ve Kaempferol fenolik bileşiklerinin miktarı belirlendi. Bu fenolik bileşiklerin standartları Sigma Aldrich'ten alındı (CAPE $\geq$ %97,0, quercetin $\geq$ %95,0, kaempferol $\geq$ %90,0) PRPLS ekstraktından 5 g tartılarak üzeri 45 mL etanol (%96'lık) ile tamamlandı. Hazırlanan çözelti 15 dakikalık ultrasonik ekstraksiyondan sonra 2 saat boyunca vortexlendi. Süzüldükten sonra şişelendi ve HPLC cihazına (Shimadzu LC-20AT) enjekte edildi. Cihazda 5 μ m, 4,6x250 mm ODS kolon kullanıldı. Mobil faz olarak (75:25) oranında metanol/ultrasafsu kullanıldı. Örnekler 1,0 mL/dk akış hızında izokratik olarak yürütüldü. Ekstratlardaki bileşenlerin ayrılması için 15 dakikalık bir çalışma gerçekleştirildi. Daha önce ayrı ayrı tespit edilen standartların alıkonma sürelerine göre tanımlama gerçekleştirildi. Pikler PDA dedektörü yardımıyla belirlenerek kantifikasyonu yapıldı. CAPE 325 nm, quercetin ve kaempferol 254 nm'de tespit edildi [142].

2.2.2. Toplam Fenolik Madde Analizi

PRPLS ekstraktının toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlendi [93], [143]. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit (GA) (Sigma-Aldrich, ABD) kullanıldı. Bu yöntemle göre kalibrasyon için 1000 ppm Gallik asit (GA) (Sigma-Aldrich, ABD) stok çözeltisinin değişen konsantrasyonları (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 ppm) hazırlandı. Standart çözeltisini hazırlamak için tüplere değişen konsantrasyonlarda hazırlanan GA'dan 40 μ l alınarak üzerine 1360 μ l saf su, 800 μ l 0,5

N Folin reaktifi ve renk belirteci olarak 800 µl Na₂CO₃ (%7.5) (Sigma-Aldrich, ABD) bir test tüpüne eklendi. Kör için numune yerine, 1400 µl saf su, 800 µl 0,5 N Folin reaktifi ve 800 µl Na₂CO₃ (%7,5) içeren tüpler yerleştirildi. PRPLS ekstraktından 40 µl alınarak üzerine 1360 µl saf su, 800 µl 0,5 N Folin reaktifi ve 800 µl Na₂CO₃ (%7.5) (Sigma-Aldrich, ABD) konuldu. Hazırlanan bu çözeltiler 30 dakikalık inkübasyondan sonra absorbans, UV Spektrofotometre cihazında (Shimadzu, UV-1800), 760 nm’de okundu. Gallik asit ve fenolik bileşikler için sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri/g (GAE/g) olarak sunuldu. Tüm deneyler üç kopya halinde gerçekleştirildi.

2.2.3. Toplam Flavonoid Madde Analizi

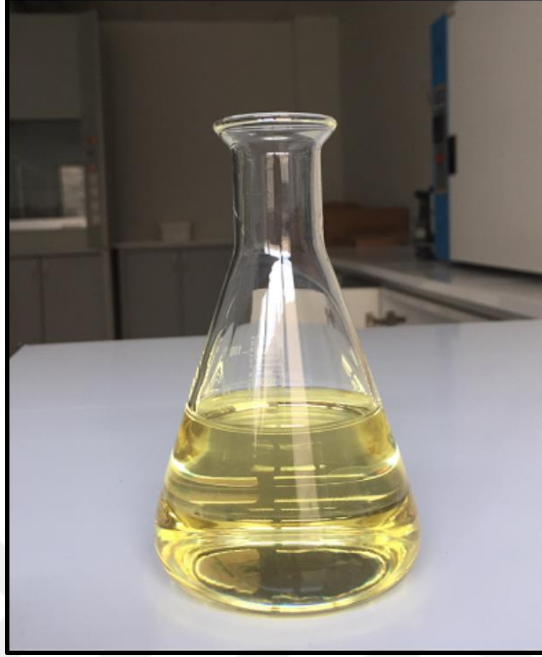
PRPLS’nin toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi için alüminyum klorür (AlCl₃) (Sigma-Aldrich, ABD) kalorimetrik yöntemi kullanıldı [144]. Standart flavonoid bileşik olarak Quercetin (QE) (Sigma-Aldrich, ABD) kullanıldı. Toplam flavonoid tayini için standart olarak 1000 ppm stok kuersetin (QE) çözeltisi kullanıldı ve seri seyreltme ile değişen konsantrasyonlarda (250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 ppm) 6 farklı standart elde edildi. 100 µl kuersetin (QE) çözeltisi alınarak 4000 µl saf su ve 100 µl AlCl₃ ile karıştırıldı. Kör için 4100 µl saf su ve 100 µl AlCl₃ kullanıldı. PRPLS ekstraktından 100 µl alınarak üzerine 4000 µl saf su ve 100 µl AlCl₃ konuldu. Karışımlar 60 dakika inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon karışımlarının absorbansı UV spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800) 415 nm’de köre karşı ölçüldü. Test numunelerindeki toplam flavonoid içeriğinin konsantrasyonu, mg kuersetin eşdeğeri (QE)/g olarak ifade edildi. Tüm deneyler üç kopya halinde gerçekleştirildi.

2.2.4. DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) Radikal Temizleme Aktivitesi

Sıvı PRPLS ekstraktlarına (1/10, 2/10, 3/10, 4/10 ve 5/10 mL) seyreltme işlemleri yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bu numunelerden 1’er mL alınarak farklı test tüplerine konuldu. %99 saflıktaki metanol kullanılarak 1 M konsantrasyonunda DPPH (Sigma Aldrich) çözeltisi hazırlandı. Test tüplerine alınan 1’er mL’lik numuneler hazırlanan DPPH çözeltisi ile 10 mL’ye tamamlandı ve 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. Her bir numune kuvars küvetlere alındı ve UV spektrofotometre cihazında (Shimadzu, UV-1800) 515 nm’de absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar, IC₅₀ (DPPH’ın %50’sini temizlemek için gerekli konsantrasyon) mg/mL olarak ifade edildi [145].

2.3. YAĞ ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Çalışmamızda yerel marketten satın alınmış 2021 yılı üretimi AY kullanılmıştır.



Şekil 2.5. Çalışmada kullanılan AY örneği.

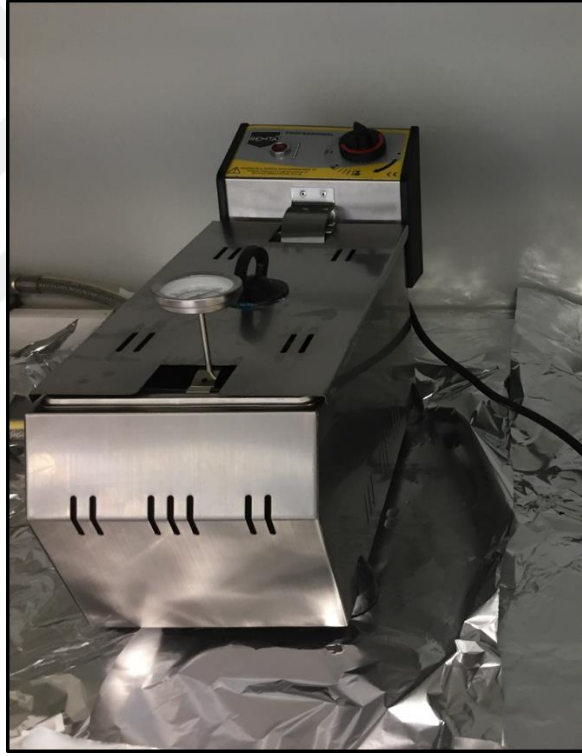
2.4. YAĞ ASİDİ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

Çalışmada, Agilent 5975C kütle spektrometresi (GC–MS; Agilent Technology, CA, ABD) ile birleştirilmiş bir Agilent 7890 gaz kromatografisi kullanıldı. Cihaz, Agilent HP-5MS (30 m x 0.25 mm; id: 0.25 μ m) kolonu ile donatıldı. Kütüphane olarak Wiley and NIST (Wiley Registry of Mass Spectral Data, 7th Edition, NIST 98 Library) kullanılmıştır [146].

2.5. YAĞ ÖRNEKLERİNİN TERMAL İŞLEMİ

Yağın ısıtma işlemi için, endüstriyel tipte 3 Litre kapasiteli (Remta, Türkiye) fritöz kullanılmıştır. Fritözün sıcaklık kontrolünün yapılması için, fritözün içine sıvı termometresi yerleştirilmiştir. 2,5 litre yağ konulan fritözün sıcaklığı 180 °C'ye ayarlanmıştır. AY örnekleri, kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000 ppm, 1500 ppm ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş ve 100 ppm BHT ilave edilmiş şeklinde 5 gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada, BHT pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 22/05/2008 tarihli ve 26883 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi “Şartlı İzin Verilen

Koruyucular ve Antioksidanlar” tebliğinde BHT’nin yemeklik yağlar için izin verilen maximum miktarı 100 ppm olduğu için çalışmamızda yağa ilave etmek için bu miktar tercih edilmiştir. Isıtma işlemine başlamadan önce tüm yağ örneklerinden 5 mL alınarak amber cam şişelere aktarılmıştır. Yağlar 3 gün boyunca günde 8 saat olmak üzere toplamda 24 saat ısıtılmış ve bu yağlardan her iki saatte bir 5 mL örnek alınmıştır. Bu çalışmada, bir restoranın günde ortalama 8 saat 3 gün yağ kullanmasına eşdeğer olarak 24 saat yağ kullandığı kabul edilerek bazı restoranlarda uygulanan koşulların aynısı oluşturulmaya çalışılmıştır [147]. Kızartma yağlarının ısı kararlılığı ile ilgili daha önce yapılan birçok çalışmada bu çalışmada kullandığımız ısıtma süresi kullanılmıştır [121], [148], [149]. Alınan örnekler analize kadar buzdolabında (+4 °C) kapaklı amber cam şişede saklanmıştır. Her numunenin ısı işlemi iki kez tekrarlanmıştır.

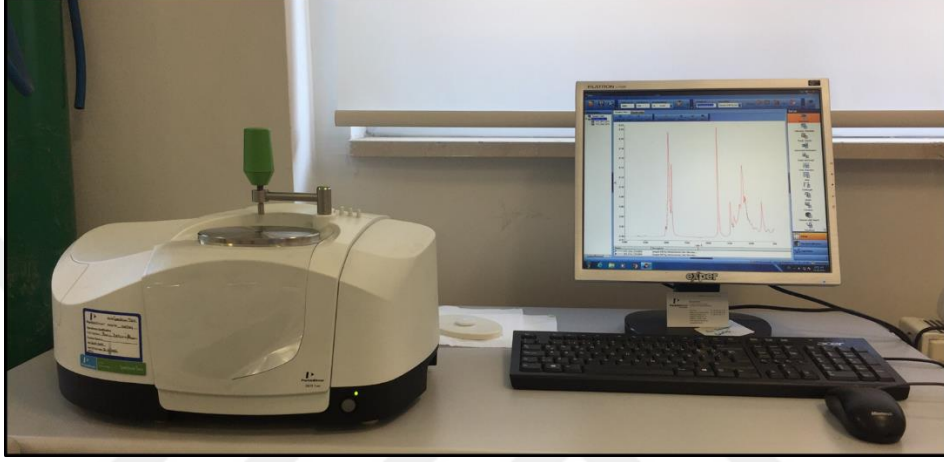


Şekil 2.6. Isıtma işlemi gerçekleştirilmek üzere içine sıvı termometresi yerleştirilmiş fritöz.

2.6. ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ ÇALIŞMASI

Yağ numunelerinin ATR-FTIR spektrumları, ATR aksesuarına (PerkinElmer Ltf., İngiltere) bağlı olan Spektrum Two FTIR spektroskopisi ile kaydedilmiştir. ATR-FTIR spektroskopisi kristalinin üzerine 5 µL yağ numunesi damlatılmış ve spektrumlar oda

sıcaklığında 4000-450 cm^{-1} dalga sayısı aralığında 32 tarama ile 4 cm^{-1} çözünürlükte kaydedilmiştir. ATR ünitesinin kristali, her yeni numune ölçümünden önce etanol ile temizlenmiş ve her ölçümden önce yeni bir arka plan (background) spektrumu kaydedilmiştir. Sonuçların güvenilirliğini artırmak için her numuneden 3 kez çekim yapılmış ve böylece her ısıtma zamanı için 6 spektrum elde edilmiştir. Elde edilen 6 spektrumun ortalaması alınarak ısıtma zamanını temsil eden tek bir spektrum elde edilmiştir.



Şekil 2.7. Çalışmamızda kullandığımız ATR-FTIR spektroskopisi.

2.6.1. ATR-FTIR Spektroskopisi Verilerinin Analizi

ATR-FTIR bantlarının analizleri Spectrum 100 yazılımı (Perkin-Elmer) kullanılarak yapılmıştır. ATR-FTIR spektroskopisi ile elde edilen spektrum bantlarının altında kalan alanlar ve bu alanların oranlarındaki değişimler belirlenmiştir. Çizelge 2.1.'de bantların altında kalan alanlar hesaplanırken kullanılan baseline noktaları ve spektral bölgeler verilmiştir.

Çizelge 2.1. AY spektrumundaki bantların altında kalan alanların hesaplanması için kullanılan bant parametreleri.

Bant Dalgasayısı (cm⁻¹)	Başlangıç	Bitiş	Base 1	Base 2
3482	3600	3250	3600	3250
3009	3040	2990	3040	2990
2954	2990	2950	2990	2800
2923	2950	2881	2990	2800
2871	2881	2869	2990	2800
2856	2869	2810	2990	2800
1745	1790	1682	1790	1682
1654	1667	1632	1667	1632
1462	1496	1425	1496	1408
1418	1425	1408	1496	1408
1398	1408	1391	1408	1331
1378	1391	1370	1408	1331
1238	1260	1216	1391	1000
1160	1216	1127	1391	1000
1119	1127	1110	1391	1000
1097	1110	1069	1395	1000
987	996	978	996	931
965	978	931	996	931
722	800	629	800	629

Spektral veriler ile ısıtma süresi arasındaki ilişkiyi belirlemek için lineer regresyon analizi yapılmıştır [121], [150]. Korelasyon katsayıları (Pearson katsayıları), eğriler ve eğrilerin denklemleri Microsoft Excel v14 kullanılarak elde edildi.

Temel bileşen analizi (PCA = principle component analysis) Unscrambler X 10.4 (Camo, NO) Multivariate Analysis (MVA) yazılımı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar skor plot olarak verildi.

2.7. TERMAL ANALİZ

Termal analiz, DTG 60 H SHIMADZU (Kyoto, Japonya) Simultaneous DTA-TG Apparatus model cihazda termogravimetrik analiz (TGA) yöntemiyle gerçekleştirildi. Yağ numunelerinden 15-25 mg aralığında örnek tartılarak pına alındı. Oda sıcaklığından 800°C'ye kadar 10°C/dk ısıtma kuru hava akışı altında gerçekleştirildi [151].

2.8. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

Biyokimyasal ölçümlerde kullanılmak üzere öncelikle çalışma tamponları hazırlandı. Çalışma tamponu hazırlamak amacıyla öncelikle 1 hacim metanol ve 1 hacim saf su homojen şekilde karıştırıldı. Daha sonra tampona 1 hacim yağ ilave edilip 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilerek, yağdaki antioksidan ve oksidanların tampona geçmesi sağlandı. İnkübasyon sonunda numune 5000 rpm +4 'de 20 dk santrifüj edildi ve üste çıkan süpernatant (yağ) kısmı atılıp, alttaki tampon standart prosedürle çalışıldı.

2.8.1. Total Antioksidan Seviyenin Ölçülmesi

Total antioksidan seviye (TAS) ölçümü ticari olarak temin edilebilen, Rel Assay marka ticari kit ile yapıldı (Rel Assay, Türkiye). Erel tarafından geliştirilen bu yöntemde, numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS (2,2 ' - Azino-bis(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. ABTS, konsantrasyonlarına ve antioksidan kapasitelerine göre antioksidanlar tarafından çözülebilen bir radikal katyonudur ve hidrojen peroksit varlığında, oksitlendiğinde karakteristik absorpsiyon spektrumuna sahip ürün üretir. Spektrofotometrede 660 nm absorbansda takibi yapılan reaksiyonda rengin açılma oranı numunenin total antioksidan miktarıyla ilişkilidir. Test, mükemmel hassasiyet değerlerine (%3'ten daha düşük) sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak verildi [152].

2.8.2. Total Oksidan Seviyenin (TOS) Ölçülmesi

Total oksidan seviye (TOS) değerleri, ticari olarak temin edilebilen, Rel Assay marka kit ile yapıldı (Rel Assay, Türkiye). Ölçümler 660 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre ile yapıldı. Numunede bulunan oksidanlar, demir iyonu-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitledi. Oksidasyon hızı, ortamda bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile arttırıldı. Asidik bir ortamda ferrik iyon, ksilenol ile turuncu renkli bir kompleks üretmektedir. Numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile

ilişkili olan bu renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. Kalibrasyon hidrojen peroksit ile yapıldı ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L (litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri) olarak ifade edildi [153].

2.8.3. Oksidatif Stres İndeksinin Saptanması

Ölçümlerden elde edilen TOS/TAS oranı oksidatif stres indeksini (OSI) vermektedir. Hesaplama yapabilmek için elde edilen TAS değeri $\mu\text{mol/L}$ 'ye dönüştürüldü ve OSI değeri aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı:

OSI (isteğe bağlı birim) = $\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / \text{TAS } (\mu\text{mol Trolox equivalent/L}) * 100$ [153], [154].



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. Ayçiçek Yağının Karakterizasyonu

Bu çalışmada kullanılan AY'nin yağ asidi kompozisyonu Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Ayçiçek yağı yağ asidi kompozisyonu.

Yağ asidi	Miktar (%)
Miristik asit (C14:0)	0,762
Palmitik asit (C16:0)	12,78
Stearik asit (C18:0)	5,30
Oleik asit (C18:1)	27,33
Linoleik asit (C18:2)	55,44
α -linolenik asit (C18:3)	1,11
Araşidik asit (C22:0)	1,28

Çizelgeden görüldüğü gibi AY temel olarak, linoleik, palmitik, stearik, araşidik, oleik, α -linolenik ve miristik asitlerden oluşmaktadır. Yağ asitleri arasında doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin en yüksek yüzdesi sırasıyla palmitik asit, oleik asit, linoleik asit olmuştur. Beklendiği gibi AY'de en bol bulunan yağ asidi %55,44 ile bir çeşit çoklu doymamış yağ asidi olan linoleik asittir. Daha önce yapılan çalışmalarda Türkiye'nin farklı bölgelerinden ve bazı ülkelerden toplanan AY'lerde linoleik asit miktarının %50.85-60.20 arasında olduğu tespit edilmiştir [15], [19], [155]. Diğer yağ asitlerinin miktarları arasında küçük farklılıklar olmakla birlikte bu çalışmada ölçülen AY'deki linoleik asit miktarı önceki çalışmalarla uyumludur. Yağ asidi içeriklerindeki bu küçük farklılıklar bitki genotipindeki ve su temini ve sıcaklık gibi çevre koşullarındaki değişikliklere bağlanabilir [156]–[158].

3.1.2. Propolis Ekstraktının Karakterizasyonu

Çalışmamızda kullandığımız PRPLS'nin etanolik ekstraktında antioksidant özelliği iyi bilinen kafeik asit fenil ester (CAPE), quercetin ve kaempferol maddelerinin ve toplam

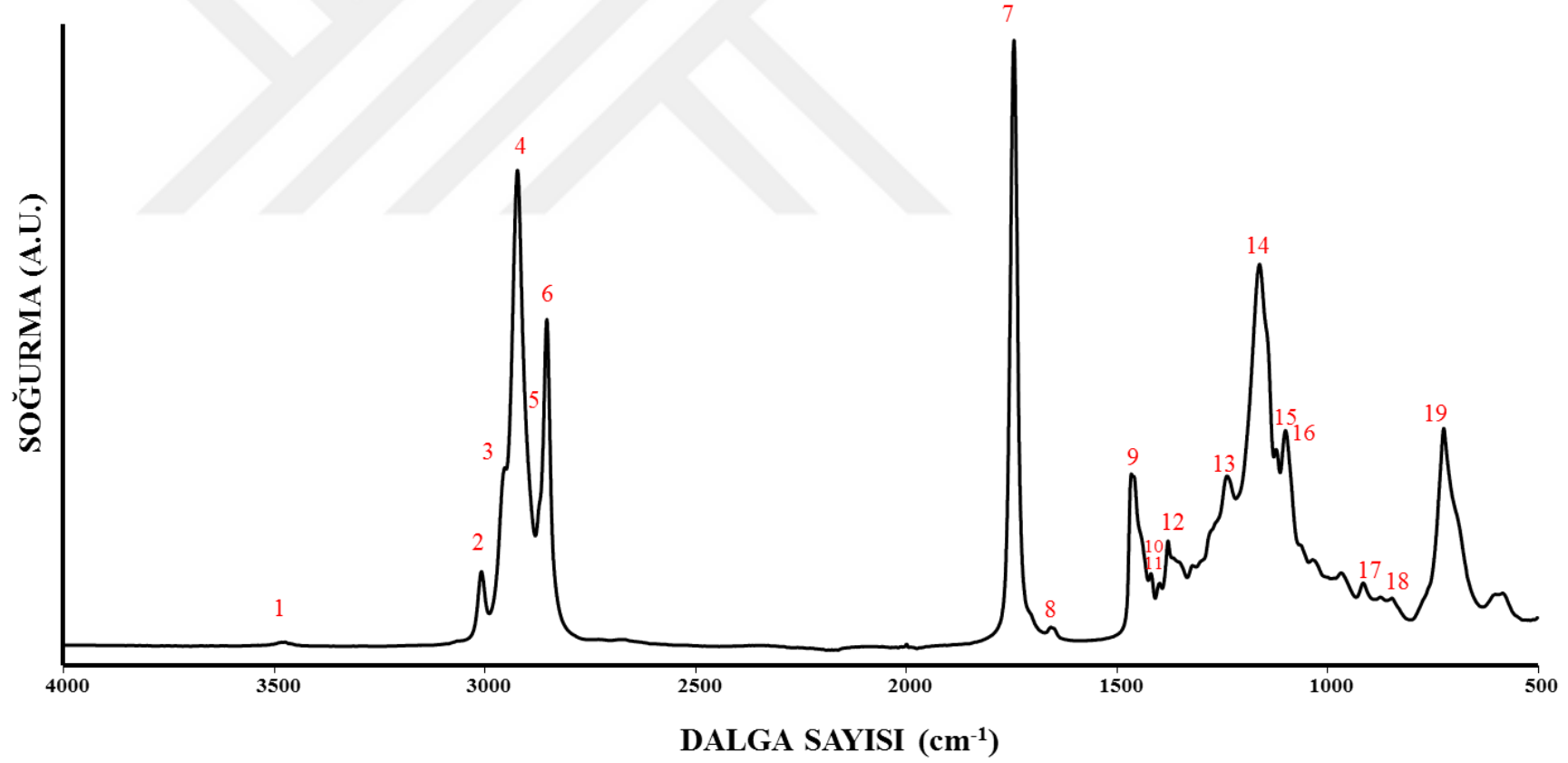
fenolik ve flavonoid madde miktar ölçümü ile antioksidan kapasite analizi yapılmıştır. Madde miktar ve antioksidan kapasite analizi sonuçları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PRPLS'nin içerik ve antioksidan karakteristiği.

No	Bileşikler	Birim	Sonuç
1	Kafeik asit fenil ester (CAPE)	mg/g	6,164 ± 0,0037
2	Quercetin	mg/g	0,470 ± 0,0029
3	Kaempferol	mg/g	1,563 ± 0,0038
4	Toplam fenolik madde	mg GAE/g	105,45 ± 0,10
5	Toplam flavonoid madde	mg QE / g	48,01 ± 1.19
6	Antioksidan kapasite (IC ₅₀)	mg/mL	1.98 ± 0.005

3.1.3. ATR-FTIR Spektroskopisi Sonuçları

ATR-FTIR spektroskopisi ile moleküllerin konsantrasyon, yapı ve fonksiyonları hakkında moleküler düzeyde önemli bilgiler elde edilebilir. Çalışmamızda ATR-FTIR spektroskopisi, AY'nin kızartma işlemi sırasındaki oksidatif stabilitesini ve PRPLS'nin AY'nin termal oksidasyonu üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmak için kullanılmıştır. Şekil 3.1. ısıtılmamış AY'den elde edilmiş ATR-FTIR spektrumunu göstermektedir. Şekilde başlıca bantlar numaralandırılmış ve her bir bantın literatüre göre tanımı Çizelge 3.3.'de verilmiştir. Şekil 3.1.'den de görüldüğü gibi AY'ye ait FTIR spektrumu, birçok farklı fonksiyonel gruptan kaynaklanan soğurma bantları içeren oldukça karmaşık bir spektrumdur.



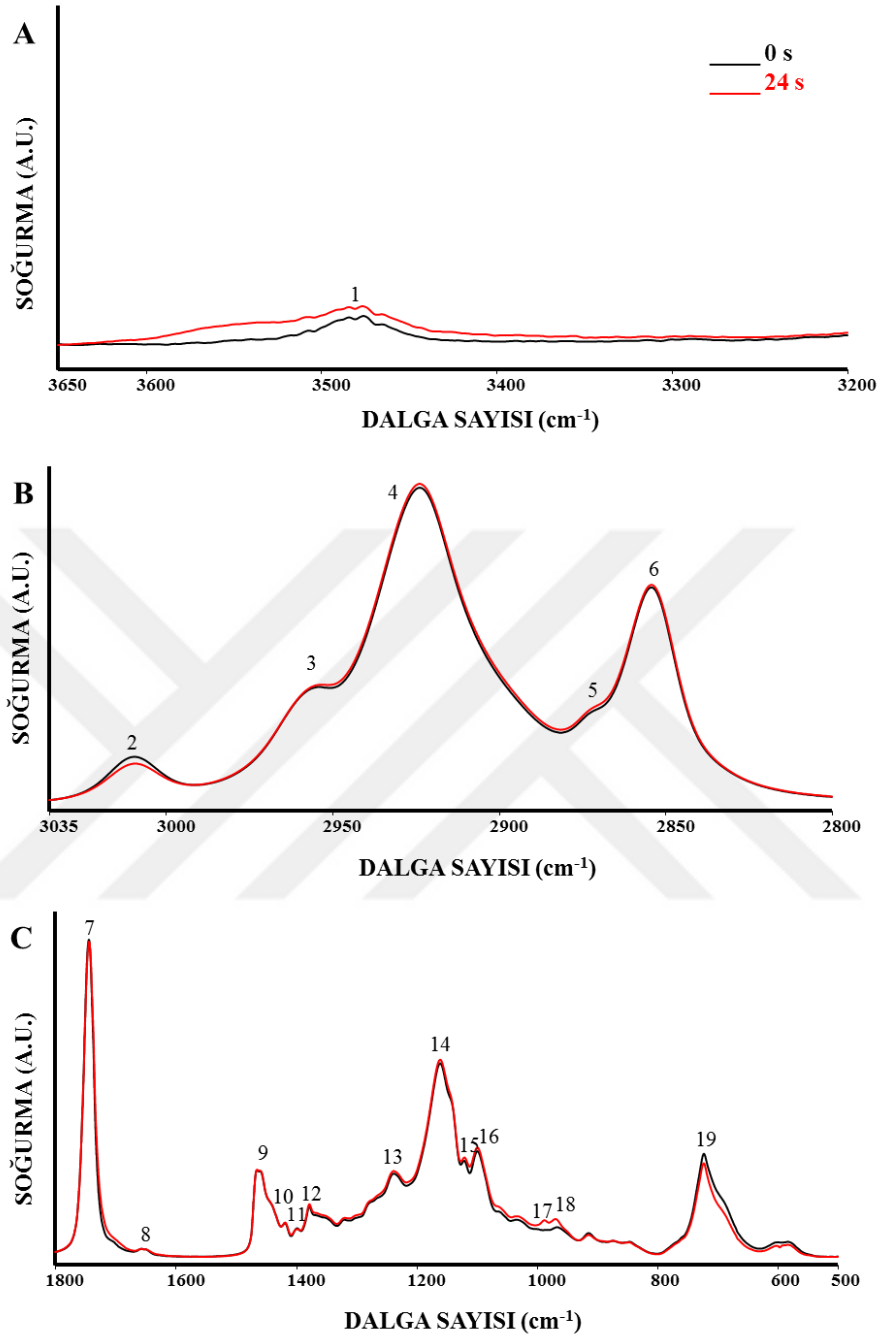
Şekil 3.1. AY'nin 4000-500 cm⁻¹ bölgesindeki ATR-FTIR spektrumu.

Çizelge 3.3. AY'nin ATR-FTIR spektrumundaki başlıca soğurma bantlarının fonksiyonel grupları ve literatüre göre tanımları [19], [121], [124], [159], [160].

Bant No	Dalga Sayısı (cm ⁻¹)	Fonksiyonel Grupların Tanımı
1	3482	-C=O (ester) trigliserit
2	3009	=C-H (cis) çift bağların simetrik gerilmesi
3	2954	-C-H (antisimetrik) CH ₃ gruplarının gerilmesi
4	2923	-C-H (antisimetrik) CH ₂ gruplarının gerilmesi
5	2871	-C-H (simetrik) CH ₃ gruplarının gerilmesi
6	2856	-C-H (simetrik) CH ₂ gruplarının gerilmesi
7	1745	-C=O (karbonil ester) trigliseritlerin gerilmesi
8	1654	-C=C (cis) olefinlerin gerilmesi
9	1462	-C-H CH ₂ gruplarının bükülmesi
10	1418	-C-H cis-disüstitüe edilmiş olefinlerin eğilme (sallanma) titreşimi
11	1398	=C-H (cis) olefinik grupların düzlem içi bükülme titreşimi
12	1378	-C-H CH ₂ gruplarının eğilme titreşimleri
13	1238	-C-O (ester) CH ₂ gruplarının gerilmesi ve -C-H bükülmesi
14	1160	-C-O (ester) CH ₂ gruplarının gerilmesi ve -C-H bükülmesi
15	1119	-C-O (ester) gerilme
16	1097	-C-O (ester) stretching
17	987	Olefinik grupların konjuge -C-H (trans) eğilme titreşimleri
18	965	-C-H izole trans olefinlerin bükülmesi
19	722	Cis-disüstitüe olefinlerin CH ₂ sallanma ve düzlem dışı titreşimleri

Şekil 3.2.'de ısıtılmamış ve 24 saat boyunca ısıtılmış AY'nin 3650-3200 cm⁻¹, 3035-2800 cm⁻¹ ve 1800-500 cm⁻¹ spektral bölgelerindeki ATR-FTIR spektrumları verilmiştir. Şekillerden görüldüğü gibi ısıtılmamış ve 24 saat boyunca ısıya maruz bırakılmış AY spektrumlarında bazı bantlarda (#1, 2, 7, 17, 18, 19) önemli farklılıklar vardır. Önemli farkların olduğu bu spektral bantlar analiz edilerek ısıtma işlemi sırasında AY'de meydana gelen değişimler hakkında bilgi sahibi olunabilir. Esas olarak, birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri, cis ve trans yağ asitlerine atfedilebilecek olan bu karakteristik bantlarda gözlenen farklılıkların, ısıtma işlemi sırasında yağda meydana gelen oksidasyona bağlı yapısal ve kompozisyonel değişiklikler ile ilgili olduğu ve bu değişikliklerin yağlarda meydana gelen oksidasyonun değerlendirilmesi için kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, çalışmamızda bu bantların detaylı analizleri yapılarak yağlarda meydana gelen termal oksidasyonun boyutu hakkında bilgi edinilmeye

alışılıştır.



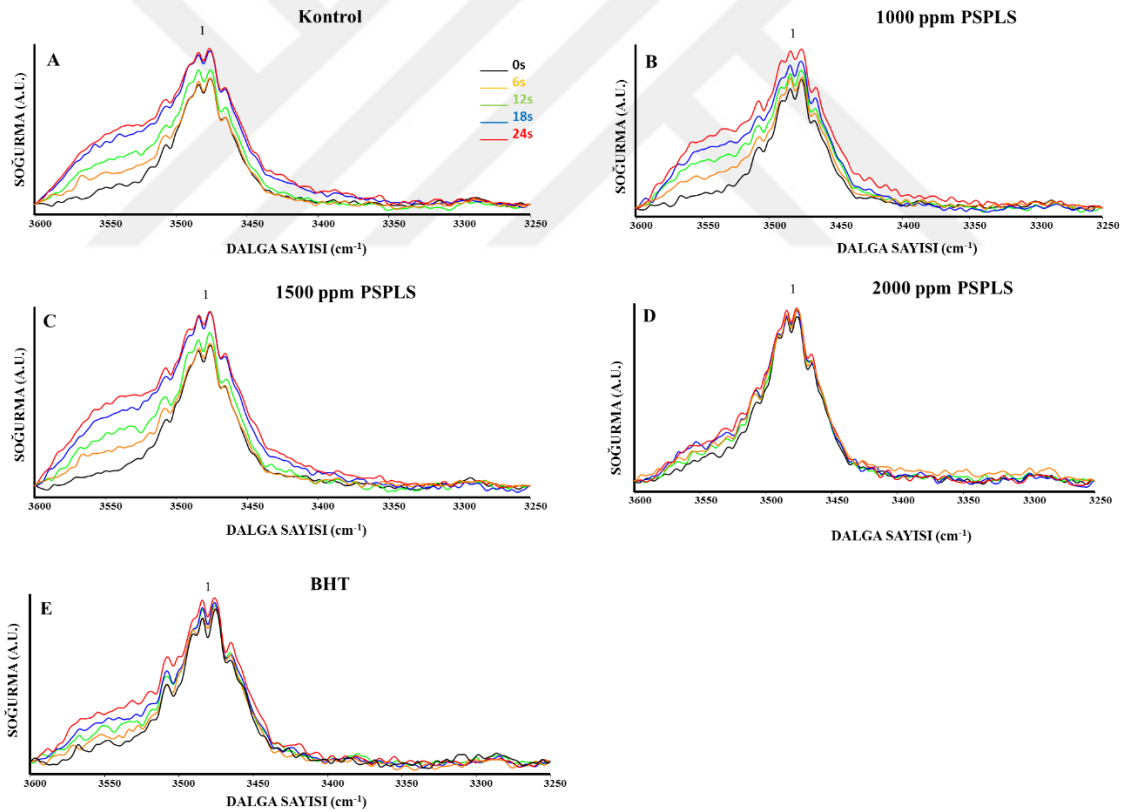
şekil 3.2. Isıtılmamış ve 24 saat boyunca ısıtılmış AY'nin A) 3650-3200, B) 3035-2800, C)1800-500cm⁻¹ dalga sayısı aralığındaki ATR-FTIR spektrumu.

Spesifik moleküllerden kaynaklanan bantların intensiteleri ve/veya altlarında kalan alanlar, o fonksiyonel grubun o örnekteki konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu nedenle kızılötesi spektroskopi çalışmalarında bantların alanları analiz edilerek o fonksiyonel grubun temsil ettiği maddenin miktarı hakkında bilgi sahibi olunabilir [121]. Bu çalışmada ayrıca sistemdeki moleküllerin konsantrasyonu hakkında bilgi sahibi olmak için alan oranları da analiz edilmiştir [121], [160]. Alan oranlarının incelenmesi, deney sırasındaki herhangi bir farklılıktan kaynaklanabilecek hataları elimine etmeyi mümkün kıldığı için daha doğru ve güvenilir bilgi vermektedir. Isıtılmamış ve ısıtılmış yağ örneklerinden elde edilen spektrumlar arasındaki farkları daha net görebilmek için ATR-FTIR spektrumları farklı dalga sayısı bölgelerine ayrılmıştır.

Şekil 3.3. ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen spektrumların 3600-3250 cm^{-1} bölgesini göstermektedir. Çalışmamızda, yağlardan ısıtma işlemi başlamadan önce ve 24 saatlik ısıtma periyodu boyunca her iki saatte bir numune alınmasına rağmen, spektral farkları daha görünür kılmak için bu şekillerde sadece ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış numunelerin spektrumları verilmiştir.

3600-3250 cm^{-1} bölgesinde, yaklaşık 3482 cm^{-1} 'deki kızılötesi bant (bant no: 1), gliserit esterlerinin karbonil absorpsiyonlarına bağlanır [160]. Bu bölge aynı zamanda hidroperoksitlerdeki -OH gerilme titreşimlerine atfedilen yaklaşık 3444 cm^{-1} 'de sinyal veren ve ikincil oksidasyon ürünlerine atfedilen yaklaşık 3530 cm^{-1} 'de sinyal veren iki farklı bant daha içerir [161], [162]. Şekil 3.3.'ten görüldüğü gibi ısıtılmamış AY spektrumlarında 3444 ve 3530 cm^{-1} 'de herhangi bir bant ortaya çıkmamıştır. Bu sonuç, ısıtılmamış AY'de hidroperoksitlerin ve ikincil oksidasyon ürünlerinin olmadığını göstermektedir. Oksidasyon işlemi devam ettikçe numunedeki hidroperoksit konsantrasyonu arttığı için 3444 cm^{-1} bantının absorpsiyonu artar. Ancak hidroperoksitlerin stabil olmadığı ve lipid oksidasyon sürecinde ikincil oksidasyon ürünlerine dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle, ısıtılmış yağlarda ikincil oksidasyon ürünlerinin de absorpsiyonunun artması beklenmektedir. Şekil 2'de görüldüğü gibi 3530 cm^{-1} 'deki bantın absorpsiyonu ısıtma işlemi sırasında artmış ve bu artış 3444 cm^{-1} 'de bantta gözlenen artıştan daha belirgin düzeyde ortaya çıkmıştır. Bunun nedeni, birincil oksidasyon ürünlerinin yüksek sıcaklıklarda hızla ayrışması ve ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmesi olabilir. 3444 ve 3530 cm^{-1} bantları, 3482 cm^{-1} 'de görünen gliserit ester bantı ile örtüştüğü için bu bantın sinyal şiddeti/alanında artışa neden olur [160].

Böylece kızılötesi spektroskopi çalışmalarında oksidasyon sırasında hidroperoksitlerin ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarı hakkında bilgi elde etmek için 3482 cm^{-1} bantının sinyal şiddeti/alan analizinden yararlanılabilir [121]. Şekil 3.3A'dan görüldüğü gibi, kontrol AY'de bu bantın sinyal şiddeti/alanı ısıtma işleminden sonra artmıştır ve bu artış ısıtma süresinin artmasıyla daha çarpıcı hale gelmiştir. 1000 ppm ve 1500 ppm PRPLS eklendikten sonra ısıtılmış AY'den elde edilen spektrumlardaki değişikliklerin kontrolden elde edilen spektrumlara benzer olduğu Şekil 3.3A-C'den görülebilir. Şekil 3.3D ve E incelendiğinde, 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerin ısıtılmamış ve ısıtılmış spektrumları arasında önemli bir fark olmadığı, spektrumların neredeyse üst üste çakıştığı görülmektedir. Bu sonuç 2000 ppm PRPLS'nin AY'de ısıtma işlemi sırasında oksidasyon ürünü oluşumunu engellediğini ve çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullandığımız BHT kadar etkili olduğunu göstermiştir.



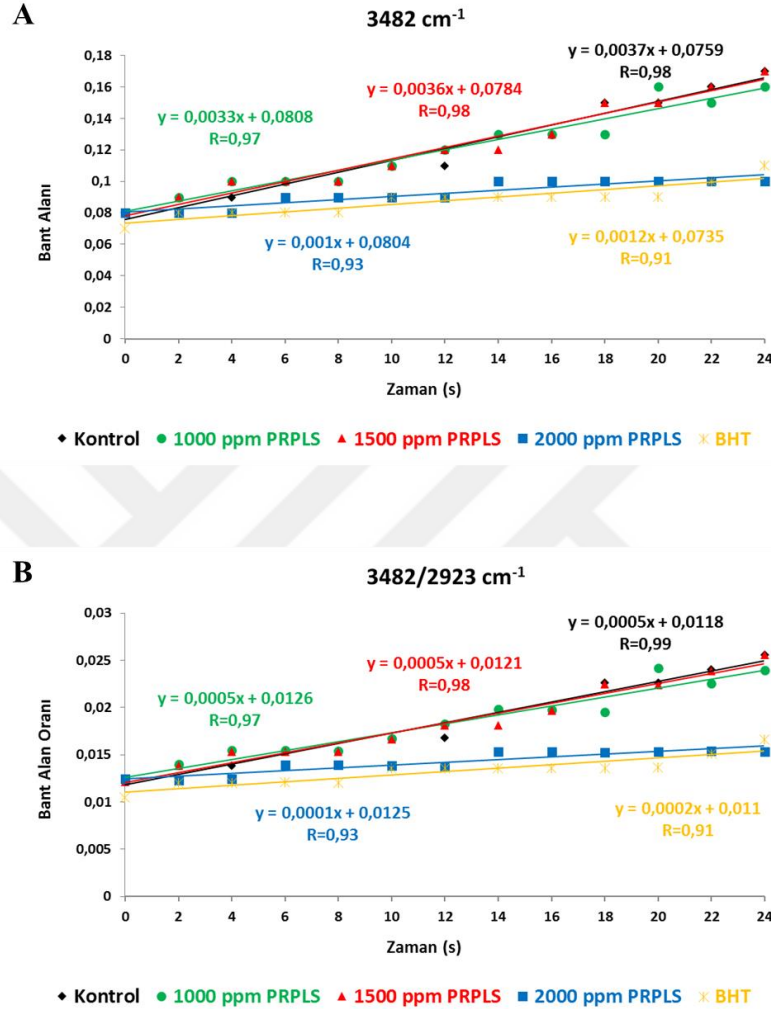
Şekil 3.3. $3600\text{--}3250\text{ cm}^{-1}$ spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.

Çalışmamızda, analiz edilen spektral parametreler ile ısıtma süresi arasındaki ilişkiyi

değerlendirmek için elde edilen spektral veriler kullanılarak lineer regresyon analizi yapılmıştır. Spektral şekillerde sadece ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış numunelerin spektrumları verilmesine rağmen regresyon grafiklerinde, elde edilen tüm veriler verilmiştir. Lineer regresyon grafiğinde, FTIR spektrumlarından elde edilen alan ve alan oran değerleri ile sıcaklık değişkeni arasında nicel doğrusal bir ilişki ortaya çıkmıştır. Bu şekillerde lineer regresyon denklemleri ve elde edilen korelasyon katsayıları (R) da gösterilmiştir. Korelasyon, iki veri setinden alınan değerlerin uyumudur ve araştırılan veriler arasındaki ilişkinin derecesini ifade eder. Korelasyon katsayısı, bir değişkenin değerindeki değişikliklerin diğerinin değerindeki değişikliklerle ne ölçüde ilişkili olduğunu gösterir [163]. Dolayısıyla bu katsayılar, doğrusal ilişki gücünü tanımlayan nicel bir ölçümü temsil eder [123]. Lineer regresyon analizi bitkisel yağların oksidatif stabilitesinin değerlendirilmesinde önceki çalışmalarda da kullanılmıştır [121], [124].

Şekil 3.4A 3482 cm^{-1} bantının altında kalan alan ile yağlara uygulanan ısıtma süresi arasındaki korelasyonları göstermektedir. Şekilden görüldüğü gibi bu bantın alan değerlerindeki değişimler ile ısıtma süresi arasında tüm yağlar için oldukça yüksek korelasyon katsayıları elde edilmiştir. Bu değerler genel olarak 0,91'den büyüktür. Şekildeki regresyon eğrileri, ısıtma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alanın arttığını ve ısıtma süresi arttıkça bu artışın daha belirgin hale geldiğini açıkça göstermektedir. Bu sonuç, ısıya maruz kalan AY'de birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının arttığını doğrulamaktadır. Şekil 3.4A'dan görüldüğü gibi kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY'lerin eğim değerleri birbirine oldukça yakındır (kontrol: 0,0037, 1000 ppm PRPLS: 0,0033, 1500 ppm PRPLS: 0,0036), 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin eğim değeri ise onlardan çok daha düşüktür (0,001). Ayrıca bu şekillerden görüldüğü gibi 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin eğim değeri, BHT ilave edilmiş AY'nin eğim değerine (0,0012) çok yakındır ve korelasyon eğrileri neredeyse üst üste çakışmıştır. Benzer şekilde bu bantın Şekil 3.4B'de verilmiş olan $3482/2923\text{ cm}^{-1}$ bant alan oran değerlerindeki eğim değerleri karşılaştırıldığında kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY'lerin eğim değerinin (0,0005) birbirine eşit olduğu görülmüştür. Bu oran değerlerindeki eğim değerleri karşılaştırıldığında en düşük eğim değeri 2000 ppm PRPLS ilaveli AY'de 0,0001 olarak belirlenirken bu değeri 0,0002 ile BHT ilaveli AY takip etmiştir. Şekil 3.4B'de görüldüğü gibi kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY'lerin korelasyon eğrileri üst üste çakışırken, 2000 ppm PRPLS ve BHT ilaveli yağların eğrileri

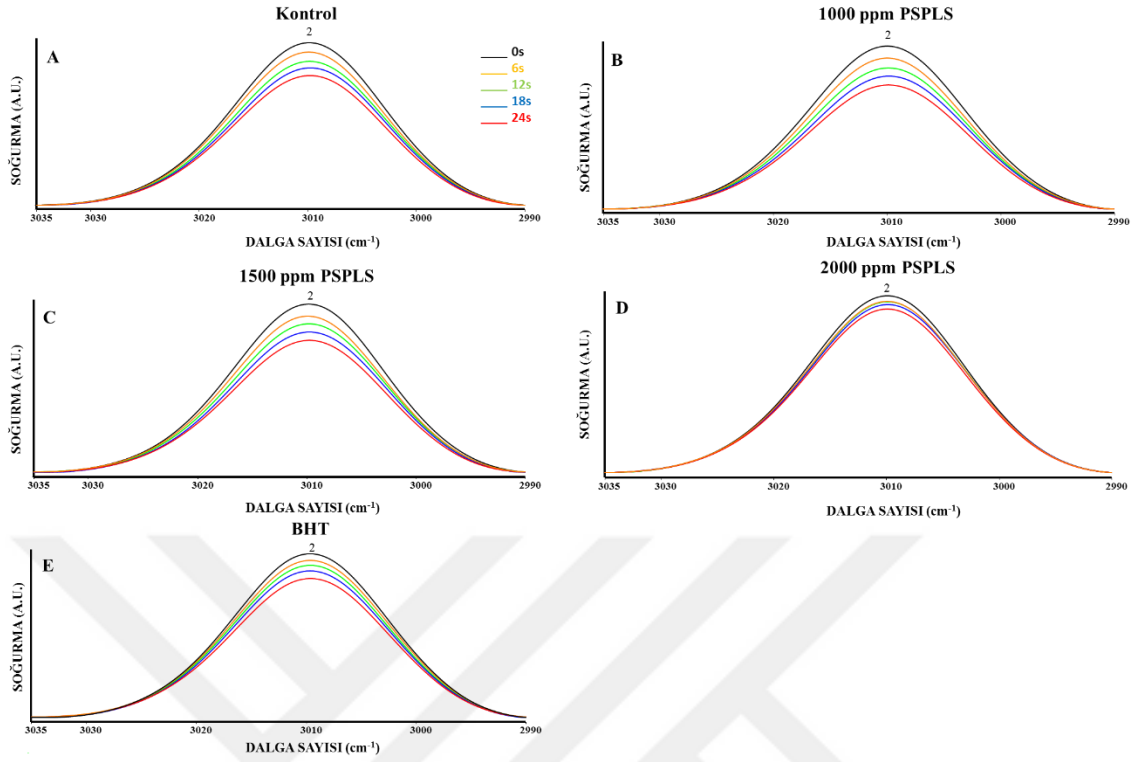
de neredeyse üst üste çakışmıştır. Bu sonuç, alan analizinden elde edilen sonucu doğrulamış ve 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin hidroperoksit oluşumunu engellemede başarılı olamadığını, 2000 ppm PRPLS ilavesinin ise hidroperoksit oluşumunu engellemede BHT'den bile daha iyi düzeyde başarılı olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.4. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 3482 cm⁻¹ bantının alanı ve B) 3482/2923 cm⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

Şekil 3.5 ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen spektrumların 3035-2990 cm⁻¹ bölgesini göstermektedir. Bu bölgede bulunan 3009 cm⁻¹ bantı (bant no: 2), doymamış yağ asitlerinin cis-olefinik çift bağlarının C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [123]. Bu nedenle, bu bantın altındaki alan analiz edilerek, ısıl işlem sırasında doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarının miktarı hakkında değerli bilgiler elde edilebilir. Şekil 3.5A'dan görüldüğü gibi, kontrol yağda bu bantın

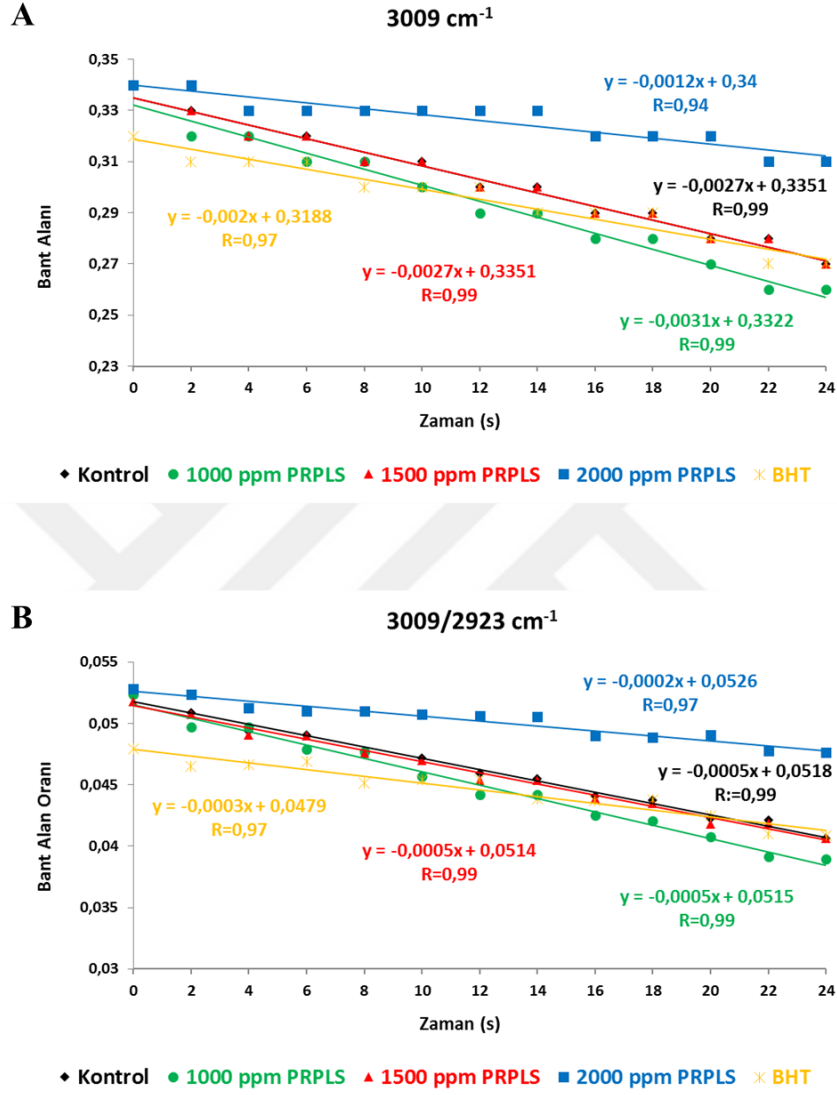
altındaki alan ısıtma süresi arttıkça azalmıştır ve bu azalma ısıya maruz kalma süresinin artmasıyla daha belirgin hale gelmiştir. Şekil 3.5B-C'den 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmesi ile elde edilen spektrumlardaki değişimlerin kontrolde meydana gelen değişimlere oldukça benzediği ve ısıtma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alanın azaldığı görülmektedir. Şekil 3.5D'de verilmiş olan 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin spektrumlarına bakıldığında değişim oranının diğer yağ gruplarına göre çok daha az olduğu ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış yağların spektrumlarının ısıtılmamış AY spektrumuna oldukça yakın olduğu görülmektedir. Şekil 3.5E'de verilmiş olan BHT ilave edilmiş AY'nin spektrumlarındaki değişimler incelendiğinde bu yağda da ısıtma süresi arttıkça 3009 cm^{-1} bantının altında kalan alanın azaldığı görülmüştür. Ancak bu azalmanın oranı kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş yağlardaki kadar büyük olmamakla birlikte 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş yağdaki kadar küçük te olmamıştır. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS'nin AY'de ısıtma işlem sırasında doymamış cis çift bağların miktarındaki azalmayı engellemede BHT'den çok daha etkili olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.5. 3035-2990 cm^{-1} spektral bölgesinde ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.

Şekil 3.6, 3009 cm^{-1} bantı ve 3009/2923 cm^{-1} bant alan oranı ile ilgili kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve ppm BHT ilave edilmiş AY'nin FTIR verileri ile ısıtma süresi arasındaki korelasyonları göstermektedir. Şekillerden görüldüğü gibi R değerleri genel olarak 0,94'ten büyüktür. Şekil 3.6A'da verilen alan değerlerindeki değişimleri gösteren eğrilerin eğim değerleri karşılaştırıldığında kontrol (0,0027), 1000 ppm (0,0031) ve 1500 ppm (0,0027) PRPLS ilaveli AY'nin eğim değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin eğim değerinin (0,0012) bu yağların eğim değerinin yarısından bile daha düşük olduğu görülmüştür. BHT ilave edilmiş yağın eğim değeri ise kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş yağın eğim değerleri arasındadır (0,002). Bu bantın Şekil 3.6B'de verilmiş olan 3009/2923 cm^{-1} bant alan oran değerlerindeki eğim değerleri karşılaştırıldığında kontrol, 1000 ppm ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin alan oran eğim değerinin (0,0005) birbirine eşit olduğu görülmektedir. Bu şekildeki en düşük eğim değerine sahip olan 2000 ppm PRPLS ilaveli AY'de eğim değeri 0,0002 olarak belirlenirken bu değeri 0,0003 ile BHT ilaveli AY takip etmiştir. Bu sonuç 1000 ve 1500

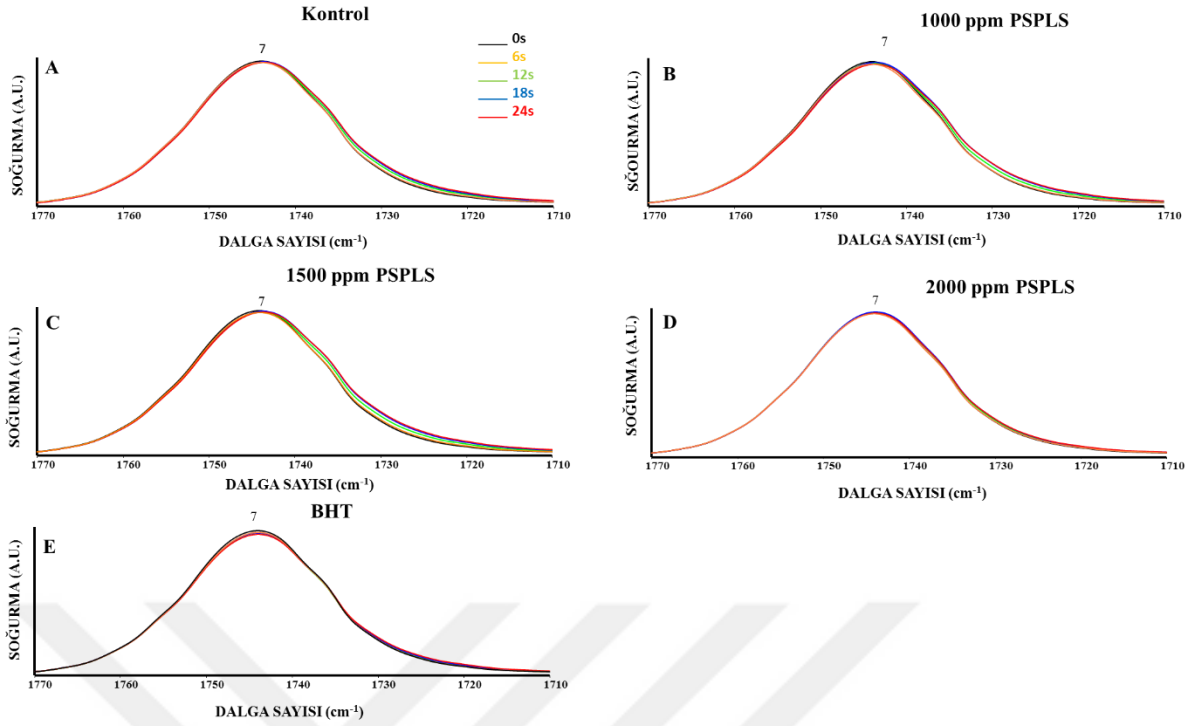
ppm PRPLS ilavesinin doymamış cis yağ asidi miktarındaki azalmayı engellemede başarılı olamadığını, 2000 ppm PRPLS ilavesinin doymamış cis çift bağ miktarındaki azalmayı engellemede BHT'den bile çok daha iyi düzeyde başarılı olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.6. Isıl işlemle sonrakı 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 3009 cm^{-1} bantının alanı ve B) $3009/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

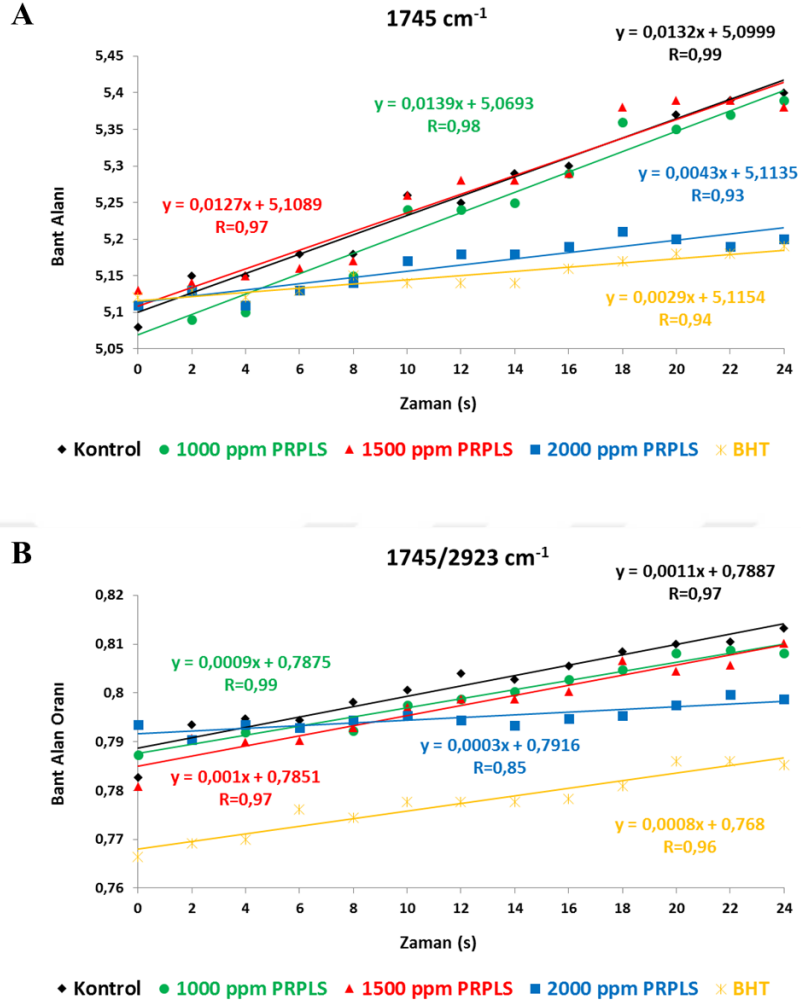
Şekil 3.7 ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen spektrumların $1770\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$ bölgesini göstermektedir. $1770\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$ bölgesi aldehitler, ketonlar ve esterler dâhil olmak üzere trigliseritlerin karboksilik asit titreşimlerinden sinyaller alır [159]. Bu bölgedeki 1745 cm^{-1} bantı (bant no:7) esas olarak lipidlerdeki karbonil esterlere atfedilir. Yukarıda bahsedildiği gibi, oksidasyonun ilk

basamağında oluşan hidroperoksitlerin parçalanmasıyla alkoller, serbest yağ asitleri, esterler, ketonlar ve aldehitler gibi birçok ikincil oksidasyon ürünleri oluşur [29][164]. Bu yeni bileşikler 1745 cm^{-1} bantının özelliklerinde bazı değişikliklere neden olur. Daha önceki çalışmalarda, 1745 cm^{-1} bantındaki değişikliklerin, karbonil grupları içeren ikincil oksidasyon ürünlerinden kaynaklanan 1728 cm^{-1} 'de oluşan banttaki kaynaklandığı gösterilmiştir [123], [159]. 1728 cm^{-1} bantı 1745 cm^{-1} bantına çok yakın olduğundan bu bantta bir genişlemeye ve alan değerinde bir artışa neden olur. Şekil 3.6A'da görüldüğü gibi kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş) AY'de ısıtma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alan artmıştır. 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli yağlardan elde edilen spektrumlarda meydana gelen değişimler kontrol AY'ye benzerdir (Şekil 3.7B ve C) Şekil 3.7D ve E'den 2000 ppm PRPLS ve BHT ilavesi ile birlikte ısıtılmamış AY spektrumlarının, 6, 12, 18 ve 24 saat ısıtılmış AY spektrumlarına oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç, kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000 ppm PRPLS ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY'nin 1745 cm^{-1} bantındaki değişimlerin 2000 ppm PRPLS ve BHT eklenmiş AY'deki değişimlere kıyasla daha yüksek oranda gerçekleştiğini göstermektedir.



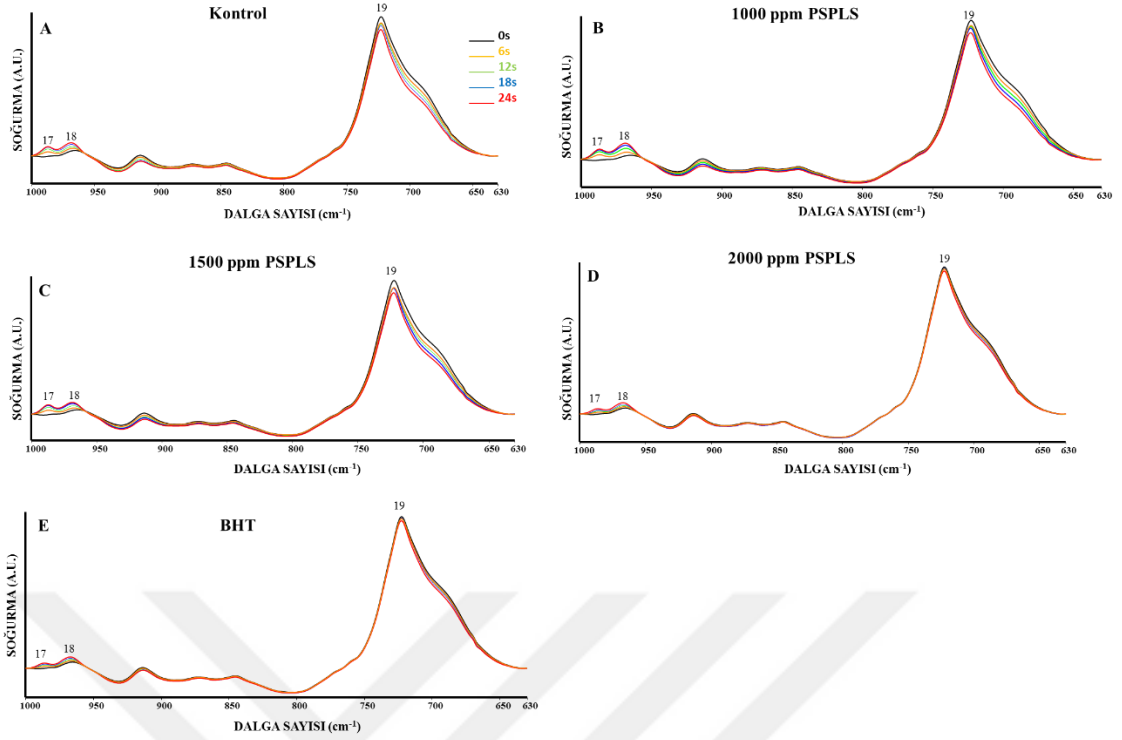
Şekil 3.7. 1770-1710 cm^{-1} spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.

Şekil 3.8, 1745 cm^{-1} bantının altında kalan alan ve 1745/2923 cm^{-1} bant alan oranı ile ilgili kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen FTIR verileri ile ısıtma süresi arasındaki korelasyonları göstermektedir. Bu grafiklerden görüldüğü gibi R değerleri 0,85'in üzerindedir. Şekil 3.8A'da verilmiş olan regresyon grafiğindeki eğim değerleri karşılaştırıldığında kontrol (0.0132), 1000 ppm (0,0139) ve 1500 ppm PRPLS (0.0127) eklenmiş yağların eğim değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu, 2000 ppm PRPLS eklenmiş yağın eğim değerinin (0.0043) bu yağlardan oldukça düşük olduğu ve BHT eklenmiş yağa (0.0029) oldukça yakın olduğu görülmüştür. Bu bantın Şekil 3.8B'de verilmiş olan 1745/2923 cm^{-1} bant alan oran değerlerindeki eğim değerleri karşılaştırıldığında 0,0003 ile en düşük eğim değerine 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY olduğu görülmektedir. Bu eğim değerini 0,0008 ile BHT eklenmiş AY takip ederken kontrol, 1000 ppm ve 1500 ppm PRPLS eklenmiş AY eğim değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu (kontrol: 0,0011, 1000 ppm PRPLS: 0,0009, 1500 ppm PRPLS: 0,001) görülmektedir. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'de ısıtma işlemi sırasında ikincil oksidasyon ürünleri oluşumunu engellemede BHT'den bile etkili olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.8. Isıl işleminden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 1745 cm⁻¹ bantının alanı ve B) 1745/2923 cm⁻¹ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

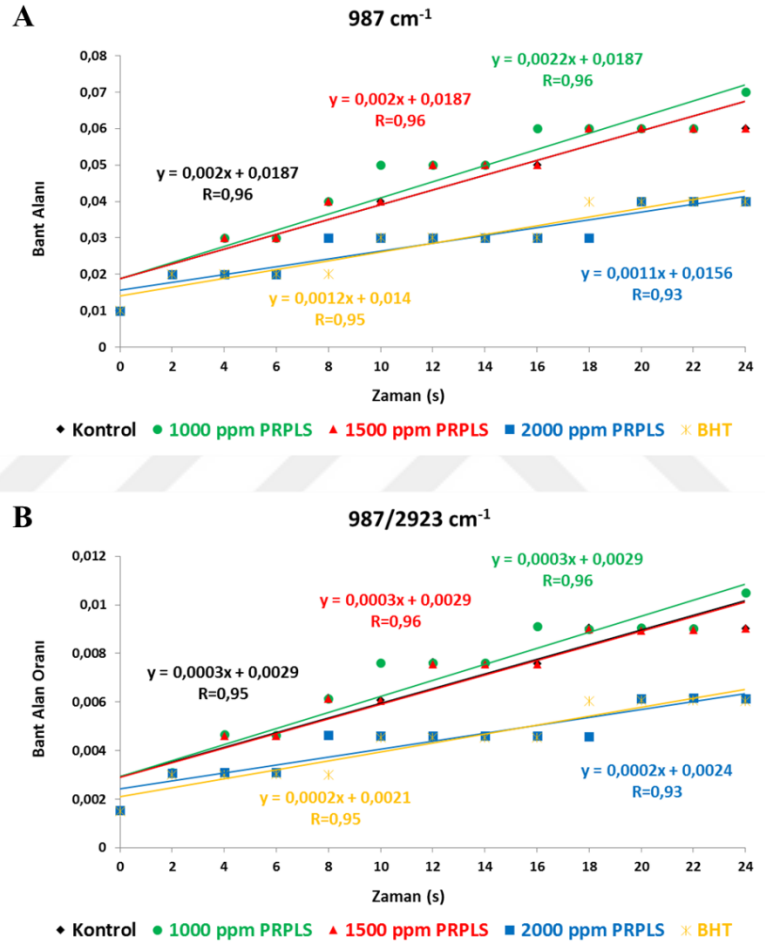
Şekil 3.9, ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve ppm BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen spektrumların 1000-630 cm⁻¹ bölgesini göstermektedir. 1000-630 cm⁻¹ spektroskopik bölgesinde, 987 cm⁻¹'deki bant (bant no:17) hidroperoksitlerin C-H trans-konjuge dien gruplarının bükülme titreşimlerinden, 965 cm⁻¹'deki bant (bant no:18) sistemdeki trans yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır. 722 cm⁻¹'deki (bant no:19) bant ise cis-disüstitüe olefinlerin düzlem dışı titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [159], [162]. Bu nedenle, bu bölge analiz edilerek hem cis hem de trans izomerler hakkında bilgi elde edilebilir.



Şekil 3.9. 1000-630 cm^{-1} spektral bölgesinde ısıtılmamış 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtılmış A) kontrol, B) 1000 ppm PRPLS, C) 1500 ppm PRPLS, D) 2000 ppm PRPLS, E) BHT eklenmiş AY'nin ATR-FTIR spektrumları.

Yukarıda da bahsedildiği gibi FTIR çalışmalarında, 987 ve 965 cm^{-1} 'deki kızılötesi bantlar, sistemdeki trans yağ asitlerinin oranındaki değişiklikler hakkında bilgi elde etmek için kullanılabilir. Şekil 3.9'da görüldüğü gibi, trans-konjuge dien gruplarından kaynaklanan 987 cm^{-1} bantı ısıtılmamış yağlarda neredeyse yok denecek kadar zayıftır. Isıtma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alan değeri kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS eklenmiş AY örneklerinde önemli oranda artmıştır (Şekil 3.9A, B ve C). 2000 ppm PRPLS ve BHT eklenmiş yağda bu bantın alanında ısıtma işleminden sonra az miktarda bir artış olduğu, ısıtılmamış ve ısıtılmış yağlardan elde edilen spektrumların neredeyse üst üste çakıştığı görülmüştür (Şekil 3.9D ve E). Şekil 3.10, 987 cm^{-1} bantı ve 987/2923 cm^{-1} bant alan oranı ile ilgili kontrol, 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve ppm BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen FTIR verileri ile ısıtma süresi arası arasındaki korelasyonları göstermektedir. Bu grafikler üzerinde gösterilen R değerleri genel olarak 0,93'ten büyüktür. Bu bantla ilgili alan regresyon grafiğine bakıldığında (Şekil 3.10A) kontrol, 1000 ppm ve 1500 ppm PRPLS eklenmiş AY eğim değerinin neredeyse birbirine eşit olduğu ($\sim 0,002$), 2000 ppm PRPLS (0,0011) ve BHT ilaveli (0,0012) AY'lerin eğim değerlerinin bu yağlardan oldukça düşük olduğu ve birbirine yakın olduğu

görülmektedir. Bu bantla ilgili Şekil 3.10B’de verilen $987/2923\text{ cm}^{-1}$ bant alan oranlarının regresyon eğrilerinin eğim değerleri karşılaştırıldığında 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY’lerin eğim değerinin, kontrol AY eğim değerine eşit olduğu (0,0003), 2000 ppm PRPLS ve BHT eklenmiş AY eğim değerinin bu yağlardan düşük ve birbirine eşit olduğu (0,0002) görülmektedir. Bu sonuç 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY’de ısıtılma işlemi sırasında trans yağ asidi miktarındaki artmayı engellediğini ve BHT kadar etkili olduğunu göstermiştir.

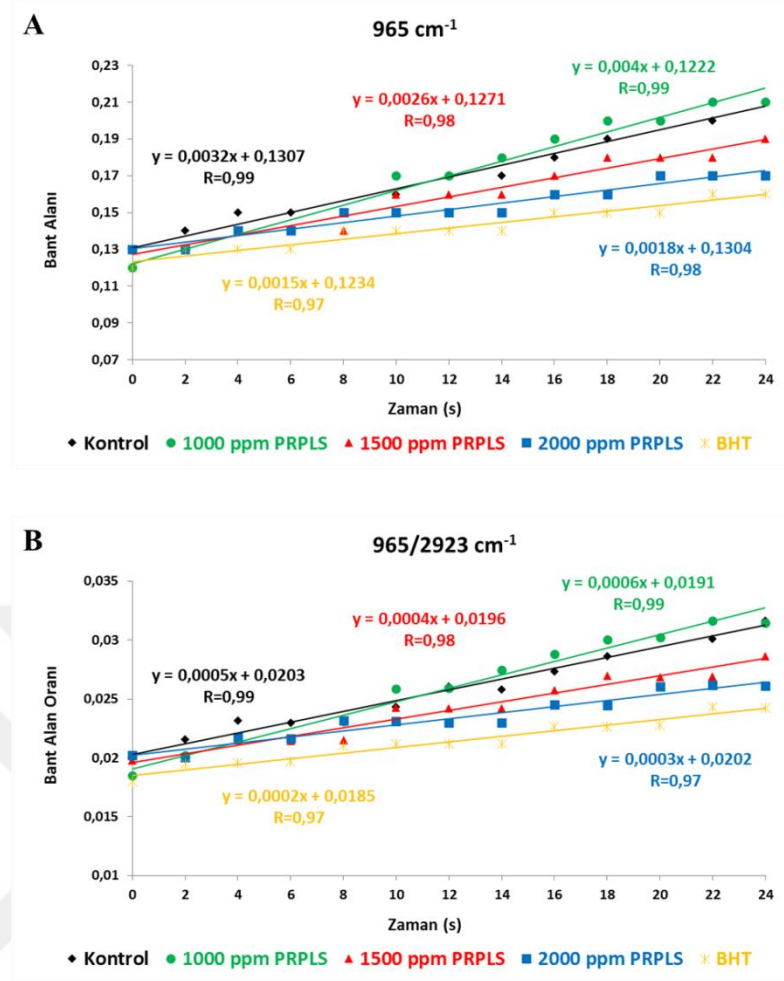


Şekil 3.10. Isıl işlem sonrası 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY’den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 987 cm^{-1} bantının alanı ve B) $987/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

İkincil oksidasyon ürünlerindeki trans çift bağlardan kaynaklanan 965 cm^{-1} bantındaki değişimler incelendiğinde bu bantın ısıtılmamış tüm yağ örneklerinde çok zayıf olduğu görülmektedir (Şekil 3.9A-E). Şekil 3.9A’da görüldüğü gibi kontrol AY’de ısıtılma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alan daha belirgin hale gelmiştir. Şekil 3.9B ve C’den görüldüğü gibi 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş AY spektrumlarının, kontrol AY’ye oldukça benzediği görülmektedir. Şekil 3.9D ve E’den 2000 ppm PRPLS ve BHT

ilave edilmiş AY'de ısıtma süresi arttıkça bant alanında meydana gelen artış oranının diğer yağlara oranla oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Şekil 3.11, 965 bantı ve $965/2923\text{ cm}^{-1}$ bant alan oranı ile ilgili kontrol, 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve ppm BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen FTIR verileri ile ısıtma süresi arasındaki korelasyonları göstermektedir. Bu grafiklerden görüldüğü gibi R değerleri 0,97'nin üzerindedir. Bu bantla ilgili alan regresyon grafiğine bakıldığında (Şekil 3.11A) en düşük eğim değerine BHT ilaveli AY'nin (0,0015) sahip olduğu, 2000 ppm PRPLS ilaveli AY'nin eğim değerinin (0,0018) bu değere oldukça yakın olduğu görülmektedir. Kontrol AY'nin eğim değerinin (0,0032), 1000 ppm PRPLS ilaveli AY eğim değerinin (0,004) ve 1500 ppm PRPLS ilaveli AY eğim değerinin (0,0026) bu değerlerden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu bantla ilgili Şekil 3.11B'de verilmiş olan $965/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oran değerlerindeki değişimler karşılaştırıldığında en düşük eğim değeri BHT eklenmiş AY'de 0,0002 olarak belirlenirken bu değeri, 0,0003 ile 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY takip etmiştir. Bu değeri 0,0006 ile 1000 ppm PRPLS ilaveli AY, 0,0005 ile kontrol AY ve 0,0004 ile 1500 ppm PRPLS eklenmiş AY takip etmiştir. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS'nin AY'de ısıtma işlemi sırasında trans yağ asidi oluşumunu BHT'ye yakın oranda engellediğini göstermektedir.

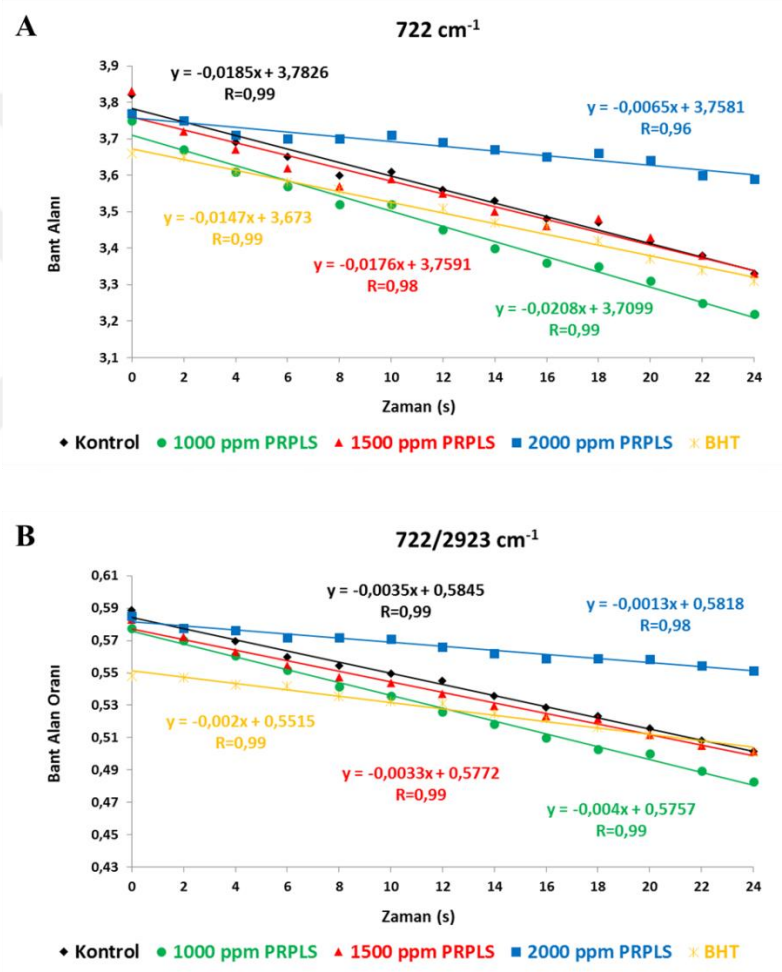


Şekil 3.11. Isıl işlemden sonraki 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 965 cm^{-1} bantının alanı ve B) $965/2923 \text{ cm}^{-1}$ alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

722 cm^{-1} bantı, tıpkı 3009 cm^{-1} bantı gibi doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarıyla ilgili bilgi vermektedir [160]. Şekil 3.9A'dan görüldüğü gibi kontrol AY'de ısıtma işlemi süresinin artması ile birlikte bu bantın altında kalan alan azalmıştır ve ısıtma süresi arttıkça bu fark daha belirgin hale gelmiştir. Şekil 3.9B ve C'den 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'lerde de tıpkı kontrol AY de olduğu gibi ısıtma süresi arttıkça bu bantın altında kalan alanın azaldığı görülmektedir. Şekil 3.9D ve E'deki 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş ve BHT ilave edilmiş AY'lerde değişimler incelendiğinde ısıtma süresine bağlı olarak spektrumlarda belirgin bir değişiklik meydana gelmediği ve bu spektrumların neredeyse üst üste çakıştığı görülmektedir.

Şekil 3.12, 722 bantı ve $722/2923 \text{ cm}^{-1}$ bant alan oranı ile ilgili kontrol, 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerden elde edilen FTIR verileri ile ısıtma süresi arasındaki korelasyonları göstermektedir. Bu şekillerden korelasyon değerlerinin

oldukça yüksek olduğu (0,96, 0,98 ve 0,99) görülmektedir. Korelasyon eğrilerinin eğim değerleri karşılaştırıldığında en düşük eğim değerine (0,0065) 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin sahip olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Şekil 3.12B'de verilmiş olan 722/2923 cm^{-1} bant alan oran değişimleri ile ilgili eğrilerin eğim değerleri karşılaştırıldığında en düşük eğim değerine 0,0013 ile 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin sahip olduğu görülmektedir. Bu değeri 0,002 ile BHT, 0,0033 ile 1500 ppm PRPLS eklenmiş AY, 0,0035 ile kontrol AY ve 0,004 ile 1000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin takip ettiği görülmektedir. Bu sonuç 2000 ppm PRPLS'nin AY'de doymamış cis çift bağ miktarındaki azalmayı belirgin bir şekilde engellediğini göstermektedir.

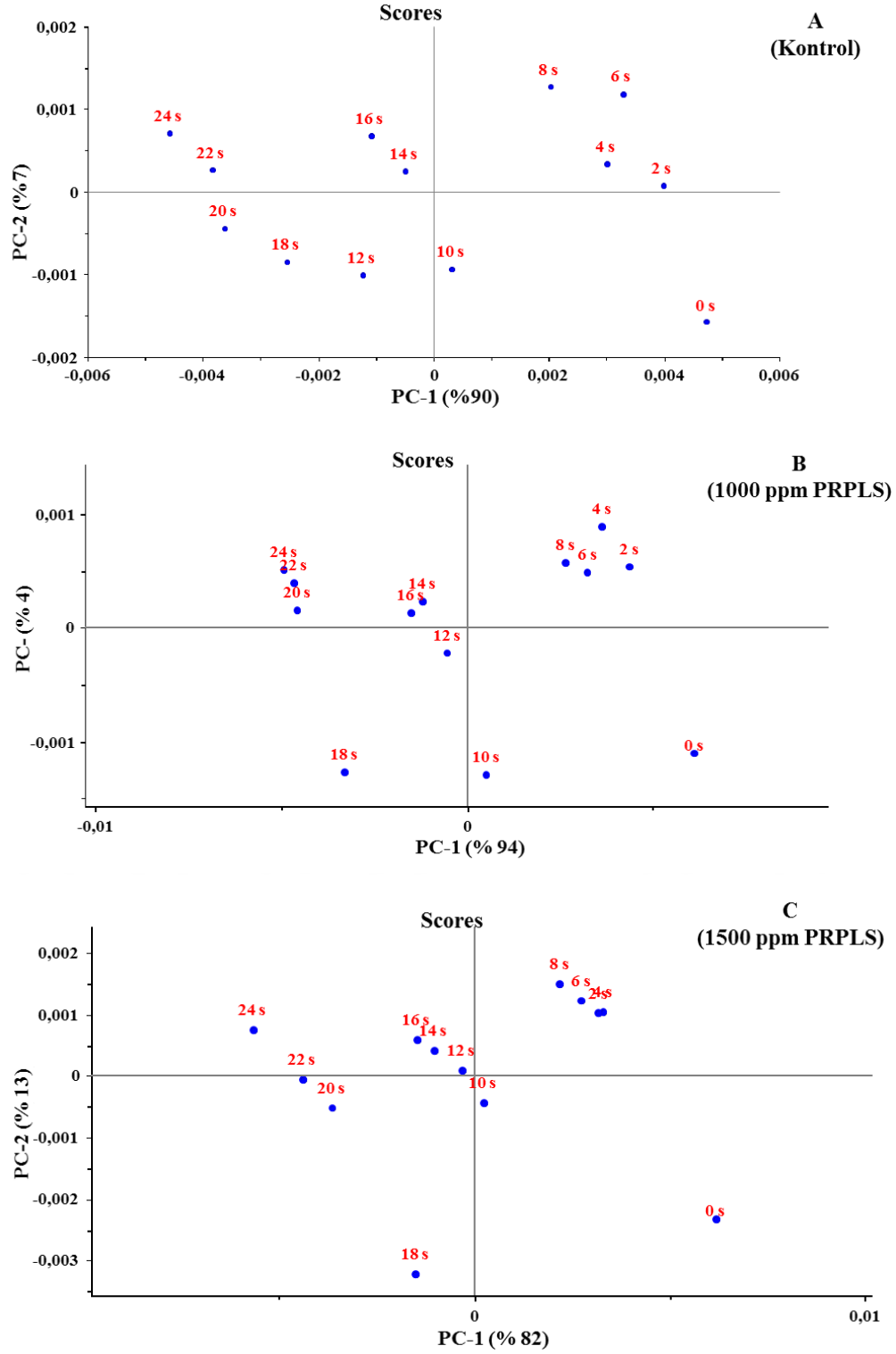


Şekil 3.12. Isıl işlem sonrası 24 saat içinde 13 farklı örnekleme zamanına göre AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarındaki A) 722 cm^{-1} bantının alanı ve B) 722/2923 cm^{-1} alan oranı değerlerindeki değişiklikler.

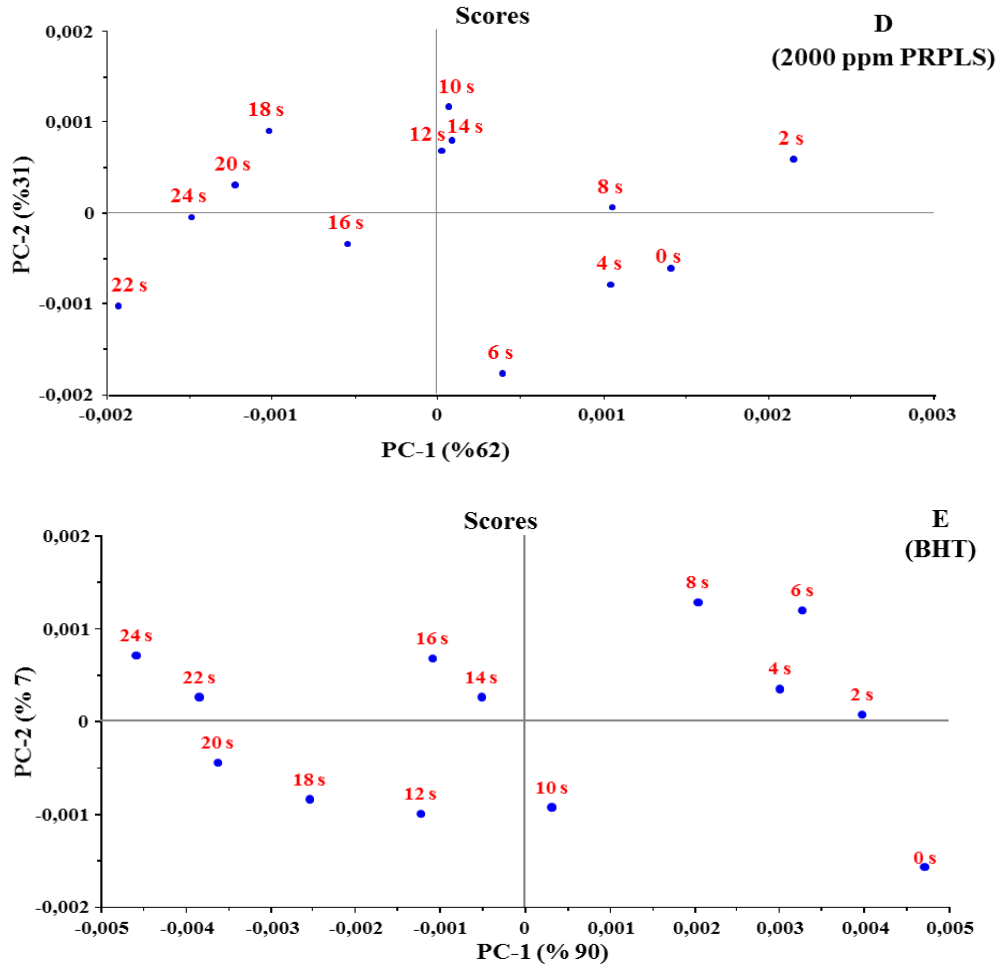
3.1.3.1. Kemometrik Analiz

Şekil 3.13 A, B, C, D sırasıyla kontrol, 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave

edilmiş AY'ler için PCA'nın skor plotlarını göstermektedir. Şekilden görüldüğü gibi maximum varyasyon değerleri oldukça yüksektir (PC1+PC2: kontrol ve BHT için %97, 1000 ppm PRPLS için %98, 1500 ppm PRPLS için %95, 2000 ppm PRPLS için %93) ve PCA yağları mükemmel bir şekilde ayırt edebilmektedir. Şekil 3.13A'da görüldüğü gibi ısıtılmamış (0 saat) ve 2, 4, 6, 8, 10 s ısıtılmış kontrol numuneleri PC1'in pozitif tarafında, diğer yağ numuneleri (12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 s ısıtılmış) negatif tarafında kümelenmiştir. Ayrıca bu şekilden görüldüğü gibi ısıtılmamış kontrol AY PC2'nin negatif çeyreğine yerleşmiş ve PC2'nin pozitif tarafına yerleşmiş olan 2, 4, 6, 8 saat ısıtılmış AY örneklerinden oldukça uzakta kümelenmiştir. Bu sonuç, ısıtılmamış ve ısıtılmış kontrol yağ örnekleri arasında son derece açık bir ayrım olduğunu, kontrol AY'de 2 saatlik ısıtılma işleminden sonra bile yapısal ve kompozisyonel değişimler meydana gelmeye başladığını ve bu değişikliklerin 10 saatlik ısıtılma işleminden sonra çok daha dramatik boyutlara ulaştığını göstermiştir. Şekil 3.13 B ve C ve E'de verilmiş olan 1000 ve 1500 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerin skor plotları incelendiğinde ayrımın kontrol AY'ye benzediği ancak yağ numunelerinin birbirlerine oldukça yakın kümelandikleri görülmektedir. Bu sonuç 1000 ve 1500 ppm PRPLS ve BHT ilavesi ile birlikte yağın bileşiminin ve yapısının ısıtılma işlemi boyunca değiştiğini ancak bu değişimin boyutlarının kontrol AY'de olduğu kadar dramatik boyutlarda olmadığını göstermiştir. Şekil 3.13D'deki 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin skor grafiğine bakıldığında ısıtılmamış (0 saat) ve 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 s ısıtılmış AY örneklerinin PC1'in pozitif tarafında yer aldığı diğer AY örneklerinin (16, 18, 20, 22, 24 s ısıtılmış) PC1'in negatif tarafında yer aldığı görülmektedir. Ayrıca bu şekillerden ısıtılmamış AY örneğinin 2, 4, 6, 8 saat ısıtılmış AY örneklerine oldukça yakın kümelandiği görülmektedir. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin yapısının ve kompozisyonunun ilk 14 saat boyunca, kontrole göre daha az değişime uğradığını yani PRPLS'in yağda meydana gelen oksidatif hasarı engellemede 14 saat boyunca ciddi derecede başarılı olduğunu göstermiştir.



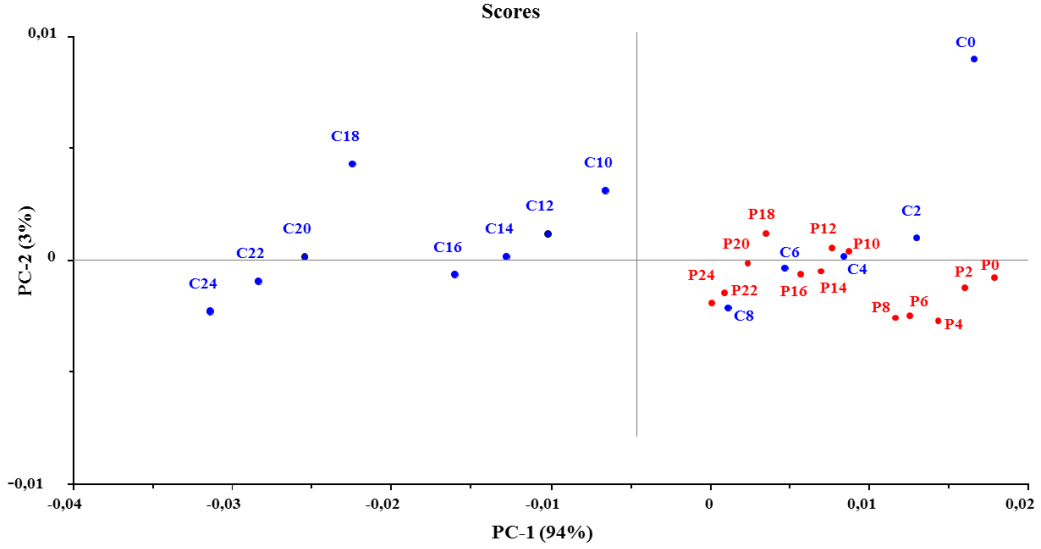
Şekil 3.13. 24 saatlik ısıtım işlemi boyunca 13 kez örneklenmiş kontrol (A), 1000 ppm PRPLS (B), 1500 ppm PRPLS (C), 2000 ppm PRPLS (D) ve BHT (E) ilave edilmiş AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarının 3035-2800 cm⁻¹ spektral aralıkları için PCA skor grafikleri.



Şekil 3.13. (devam) 24 saatlik ısıtım işlemi boyunca 13 kez örneklenmiş kontrol (A), 1000 ppm PRPLS (B), 1500 ppm PRPLS (C), 2000 ppm PRPLS (D) ve BHT (E) ilave edilmiş AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarının 3035-2800 cm^{-1} spektral aralıkları için PCA skor grafikleri.

Çalışmamızda, 2000 ppm PRPLS'nin analiz edilen tüm parametreler için koruma sağladığı belirlendiğinden, PCA ayrıca kontrol ve 2000 ppm PRPLS katkılı yağlara birlikte uygulanmıştır. Şekil 3.14 ısıtım işlemi sırasında her iki saatte bir örneklenen kontrol ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'lerden elde edilen spektrumların PCA skor grafiğini göstermektedir. Şekil 3.14'ten görüldüğü gibi, maksimum varyasyon değeri ($\text{PC1} + \text{PC2} = \%97$) oldukça yüksektir. Şekilden ayrıca ısıtılmamış (0 saat) ve nispeten kısa süreli (2, 4, 6, 8 saat) ısıtılmış kontrol AY örneklerinin PC1'in pozitif tarafında ve daha uzun süre (10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 saat) ısıtılmış kontrol AY numunelerinin PC1'in negatif tarafında kümelendiği ve ısıtılmamış kontrol AY'nin, 2, 4, 6, 8 saat ısıtılmış kontrol AY örneklerinden oldukça uzağa yerleştiği görülmektedir. Bu sonuç, ısıtılmamış ve ısıtılmış kontrol yağ numuneleri arasında çok net bir ayrım olduğunu, kontrol AY'de 2 saat ısıya maruz kaldıktan sonra bile yağda önemli derecede yapısal ve

bileşimsel değişiklikler meydana geldiğini ve bu değişikliklerin 8. saatten sonra çok daha dramatik boyutlara ulaştığını göstermiştir. Ayrıca bu şekil, 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY numunelerinin tamamının ısıtılmamış ve kısa süreli (2, 4, 6, 8 saat) ısıtılmış kontrol AY numuneleri ile birlikte PC1'in pozitif tarafında ve kısa süreli ısıtılmış kontrol AY numunelerine çok yakın kümелendiğini göstermektedir. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin yapısının ve bileşiminin 24 saat boyunca çok az yani PRPLS'nin yağdaki oksidatif hasar oranını azaltmada başarılı olduğunu göstermiştir.



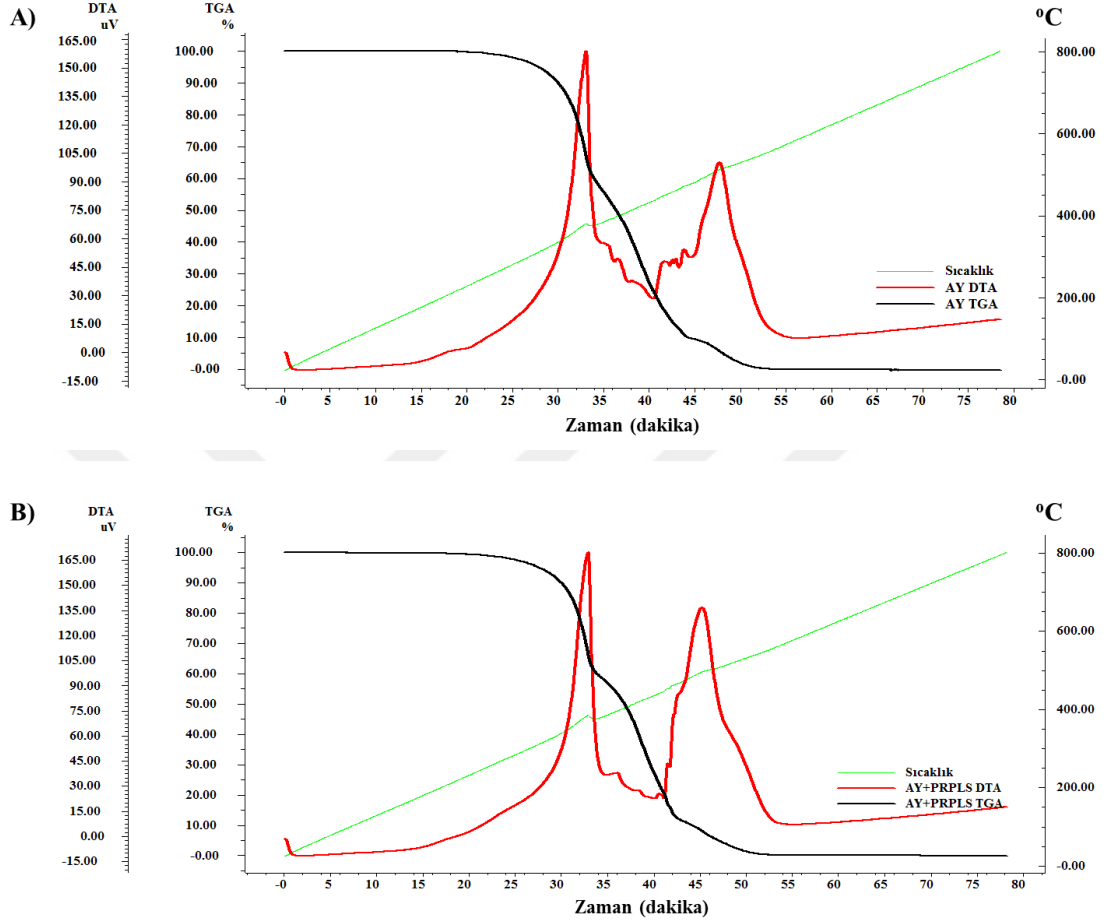
Şekil 3.14. 24 saatlik ısıtıl işlem boyunca 13 kez örneklenmiş kontrol (C) ve 2000 ppm PRPLS (P) ilave edilmiş AY'den elde edilen ATR-FTIR spektrumlarının 4000-450 cm^{-1} spektral aralıkları için PCA skor grafiği.

3.1.4. Termal Analiz Sonuçları

Çalışmamızda kullandığımız AY'nin oksidatif stabilitesi ve PRPLS'nin AY'nin oksidatif stabilitesine etkileri ayrıca izotermal olmayan TGA ve DTA teknikleri ile incelenmiştir. ATR-FTIR spektroskopisi sonuçlarımız AY'ye eklenen 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin AY'de belirgin bir koruma sağlamadığını ancak 2000 ppm PRPLS ilavesinin pozitif kontrol olarak kullandığımız BHT'den bile daha iyi koruma sağladığını göstermiştir. Bu nedenle çalışmamızda 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'de gerçekten koruma sağlayıp sağlamadığını doğrulamak için termal analiz kontrol (PRPLS ve BHT içermeyen) ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'ler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

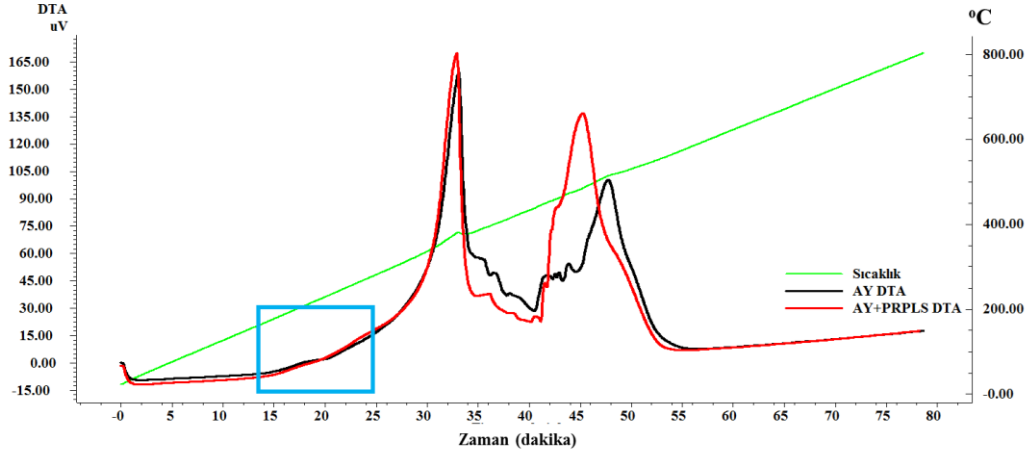
Kontrol ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin termogravimetrik profillerinin kızartma süresi ve sıcaklığa bağlı olarak nasıl değiştiğini tespit etmek amacıyla yağlar oda sıcaklığından 800 $^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar ısıtılmış ve bu yağların eş zamanlı TGA ve DTA eğrileri

elde edilmiştir. Şekil 3.15 bu çalışmada kullanılan kontrol ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin kuru hava akışında elde edilmiş TGA ve DTA eğrilerini göstermektedir. Elde edilen TGA ve DTA eğrileri analiz edilen yağların termal davranışını açıkça göstermiştir.



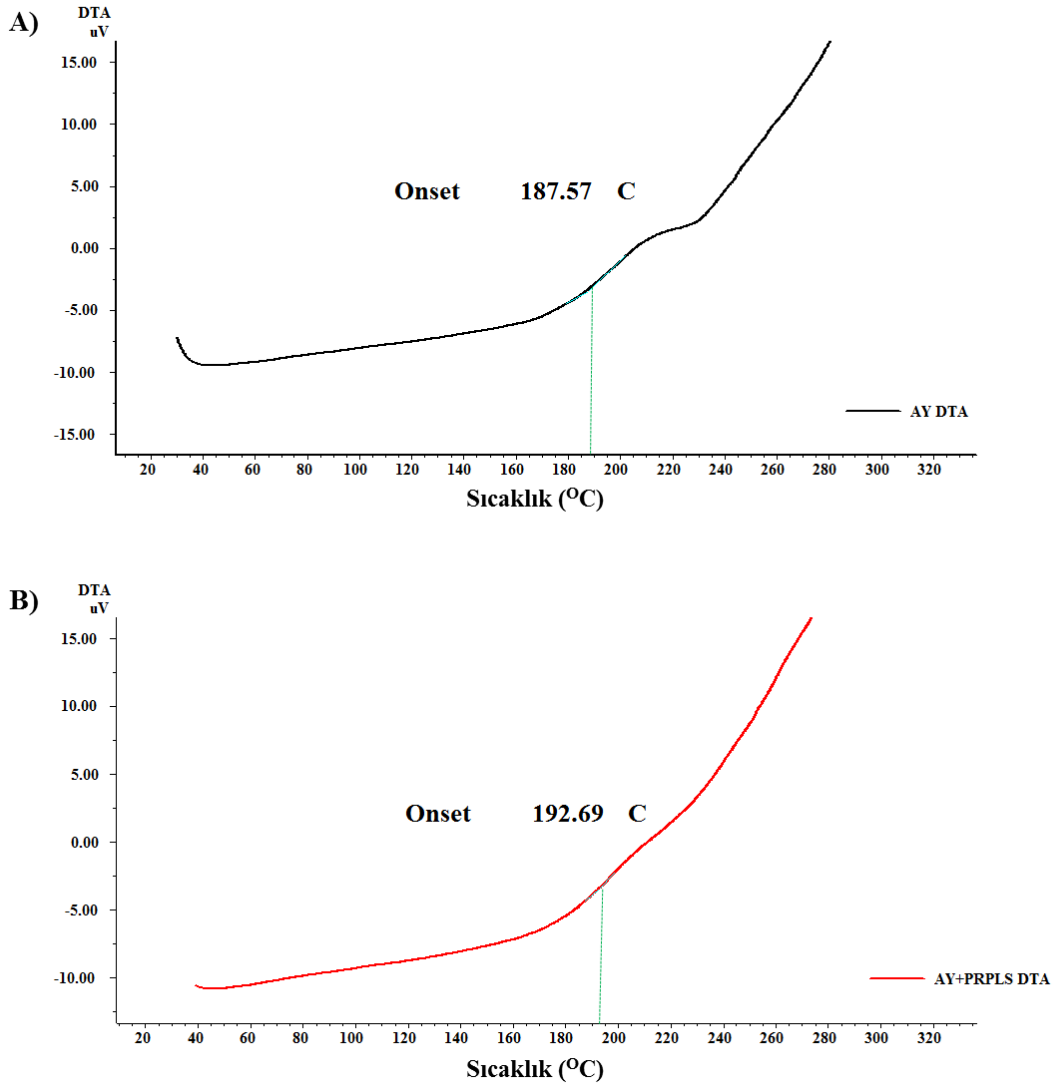
Şekil 3.15. Kuru hava akışında elde edilmiş A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin TGA ve DTA eğrileri.

Şekil 3.16'de verilmiş olan DTA eğrileri, kontrol AY ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY numunelerinde ekzotermik olayları göstererek yağlarda oksidatif ayrışmanın meydana geldiğini ortaya çıkarmıştır. Yağda meydana gelen termal bozunma işlemi muhtemelen 200-380 °C aralığında çoklu doymamış, 380-480 °C aralığında tekli doymamış ve 480-600 °C aralığında doymuş yağ asitlerinin ayrışmasına karşılık gelen 3 adımda gerçekleşmiştir [136]. Yağların meydana getirdiği pikler incelendiğinde 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin termal davranışının kontrol AY'nin termal davranışından farklı olduğu görülmektedir.



Şekil 3.16. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin kuru hava akışında elde edilmiş DTA eğrileri.

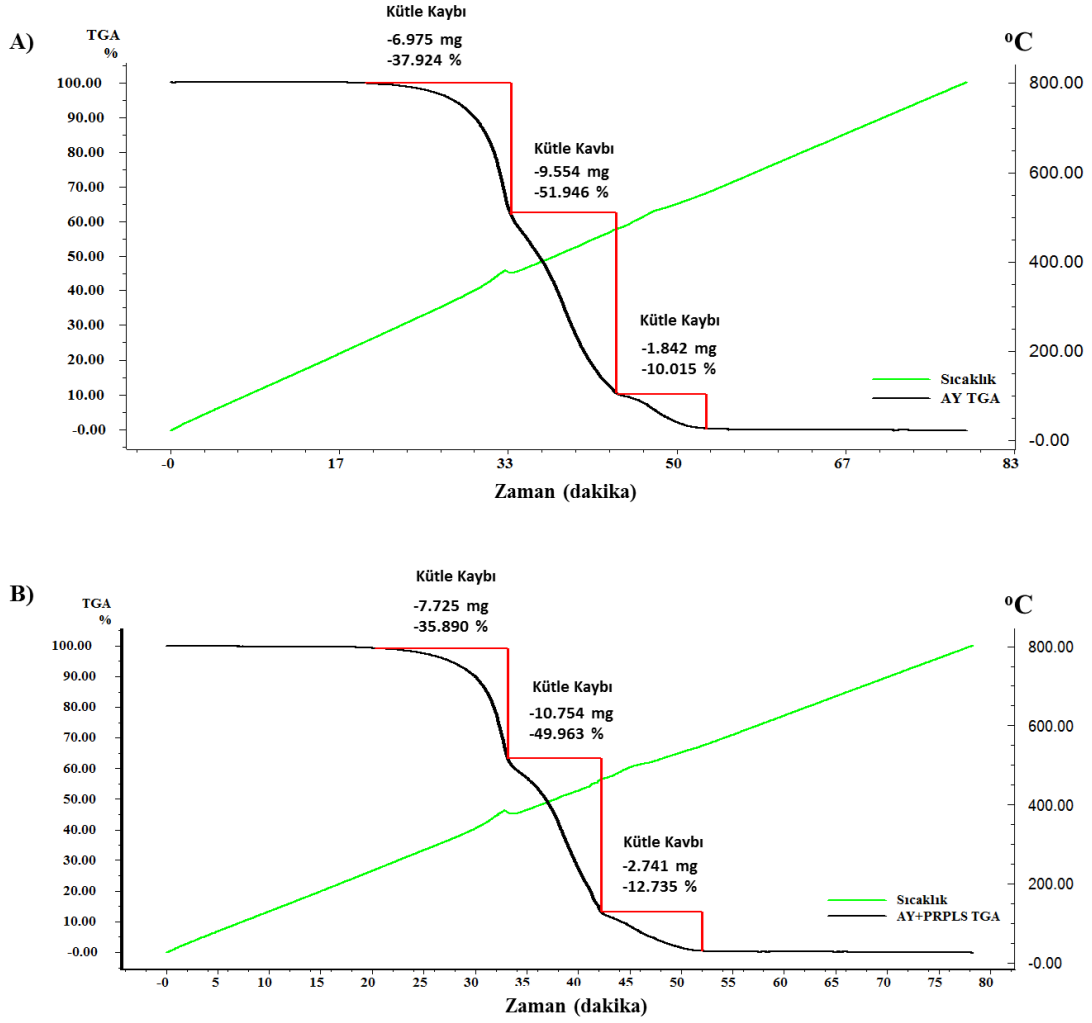
DTA eğrilerinde termal bozunma ya da oksidasyona bağlı bozunma, degradasyon peakinden önce gelen bozunma başlangıç sıcaklığı (T_{onset}) ile gösterilir. Bu noktadan önce hiç veya çok az kütle kaybı olur. Şekil 3.17A ve B, Şekil 3.16 üzerinde işaretlenmiş bölgeden elde edilen kontrol AY ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin DTA eğrilerinin T_{onset} değerlerini göstermektedir. Şekilde T_{onset} değerinin kontrol AY için 187,57 °C, 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY için 192,69 °C olduğu görülmektedir. Termal oksidasyon stabilitesi başlangıç sıcaklığı ile değerlendirildiğinden, daha yüksek T_{onset} , sıcaklığa karşı daha fazla toleransın yanı sıra daha iyi termal stabilite anlamına gelir [132]. Dolayısıyla bu sonuç AY'nin içeriğindeki çoklu doymamış yağ asiti miktarının fazla olması ile oksidasyona oldukça duyarlı olduğunu ve PRPLS ilavesinin AY'nin termal stabilitesini artırdığı sonucunu doğrulamıştır.



Şekil 3.17. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin DTA eğrilerinin onset değerleri.

TGA programlanmış ve düzenli sıcaklığa maruz bırakılmış numunedeki kütle değişimini ölçen bir tekniktir ve TGA eğrilerindeki en önemli nokta kütle kaybının başladığı noktadır. Bu nokta termal bozunma başlangıç sıcaklığı olarak adlandırılır [165]. Kütle kaybı, yağlarda gösterilen başlangıç sıcaklığının hemen ardından TGA eğrisinde %1'lik bozunma ile başlamaktadır [166]. TGA cihazından geçirilen oksijen gazının AY tarafından alımı sonucunda hidroperoksitler oluşur. Bu durum yağın ağırlığını artırır. Oksidasyonun ilerlemesi ile meydana gelen bağ bölünmesi, karbon dioksit ve kısa zincirli asitler, aldehytler, ketonlar ve alkoller gibi ürünler tarafından uçucu bileşikler meydana gelir. Bunlar difüze olur, uçucu hale gelir ve yağın ağırlığı azalır (Şekil 3.18.) [133], [167]. Cihazda sıcaklık artışı devam ettikçe yağda meydana gelen çeşitli reaksiyonlar ve

buharlaşmadan dolayı birçok değişiklik meydana gelir. Şekil 3.18, kontrol AY ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'den kuru hava akışında elde edilen TGA eğrilerini göstermektedir. Kaydedilen TGA eğrilerinin başlangıcında, numunelerde çözücü bulunmadığından bunların yaklaşık olarak termal-oksidatif stabilitelerini doğrulayan bir plato gözlenir [168]. Şekil 3.18'den görüldüğü üzere yağlarda yaklaşık 200 °C'ye kadar bir plato gözlemlenmiştir. Bu sonuç yağların termal stabilitesinin yaklaşık 200 °C'ye kadar korunduğunu göstermektedir. Numune tamamen yandığında ve TGA eğrisi hemen hemen düz hale geldiğinde, aynı doğru üzerindeki ekstrapolasyonun ve aşağı doğru teğetin kesişimi T_{off} olarak adlandırılır [169]. Bu şekilden görüldüğü gibi, kuru hava akışının oksidatif ortamında neredeyse yağlar için T_{off} 'un yaklaşık 600 °C olduğu görülür ve bu sıcaklıktan sonra pratik olarak önemli bir kalıntı yoktur. Bu şekillerden elde edilen verilerden yararlanarak her basamaktaki kütle kaybının hangi sıcaklıkta başladığı ve bittiği hesaplanmış ve bu değerler Çizelge 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.18. A) Kontrol AY ve B) 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin kuru hava akışında elde edilmiş TGA eğrileri.

Çizelge 3.4. Kontrol (AY) ve 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'nin (PAY) TGA eğrilerinden elde edilen termal bozunma verileri.

	Kütle Kaybı (%)			Sıcaklık Aralığı (°C)		
	1. Adım	2. Adım	3. Adım	1. Adım	2. Adım	3. Adım
AY	37,924	51,946	10,015	187,57-375,5	375,5-474,03	474,03-536,82
AY+PRPLS	35,890	49,963	12,735	192,69-377,17	377,17-461,06	461,06-530,93

Çizelge 3.4'deki 1. ve 2. adım kütle kayıpları karşılaştırıldığında PRPLS eklenmiş AY'de (%35,890 ve %49,963) kontrol AY'de meydana gelen kütle kaybına (%37,924 ve %51,946) göre daha düşük oranlarda gerçekleştiği görülmektedir. Bu kütle kayıplarının kontrol AY'de (187,57 °C) PRPLS ilave edilmiş AY'ye göre (192,69 °C) çok daha düşük sıcaklıkta başladığı tespit edilmiştir. Bu sonuç 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'nin

termal oksidasyon üzerinde koruma sağladığını göstermiş ve ATR-FTIR sonuçlarını desteklemiştir. PRPLS'in içeriğindeki fenolik bileşiklerin yüksek sıcaklıklara dayanıklı olması, AY'de gerçekleşen oksidasyona karşı koruma sağlamış olabilir [170].

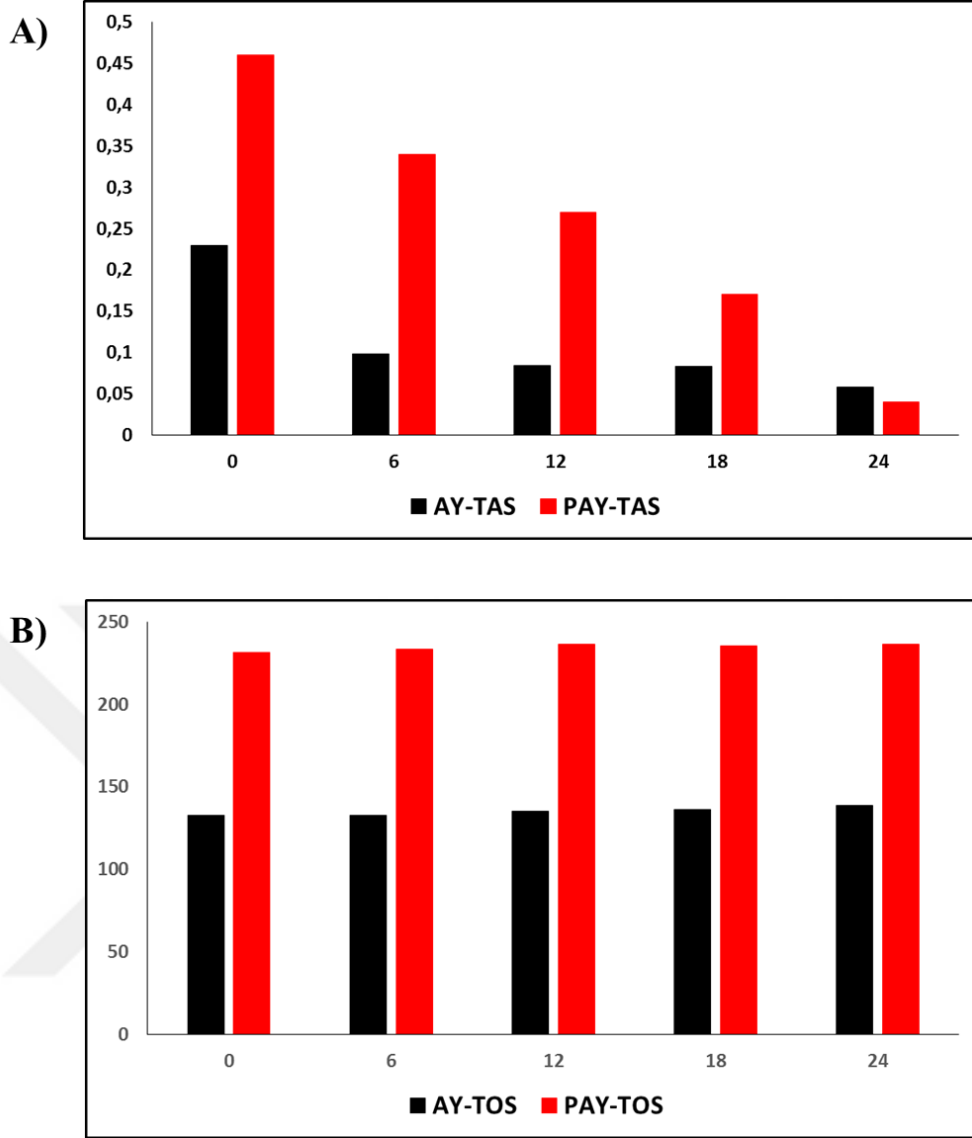
3.1.5. TAS-TOS Analiz Sonuçları

Çalışmamızda ATR-FTIR spektroskopisi ve TGA-DTA teknikleri ile elde ettiğimiz verileri desteklemek için ayrıca oksidatif stres parametreleri olan antioksidan, oksidan kapasitesi ve oksidatif stres indeksi (OSI) belirlenmiştir. Yağların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için TAS kiti, oksidan kapasitelerinin belirlenmesi için TOS kiti kullanılmıştır. TOS değerinin TAS değerine oranlanması ile OSI değerleri elde edilmiştir. TAS-TOS analizlerinde de tıpkı termal analizde olduğu gibi kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilaveli AY'ler karşılaştırılmıştır.

Kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'lerin ısıtılma işlem sonrasında TAS ve TOS değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 3.5'de verilmiştir. Şekil 3.19 ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtıldıktan sonra alınan numunelerden elde edilen TAS ve TOS değerlerinin kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilaveli AY'ler için karşılaştırmasını göstermektedir. Çalışmamızda ısıtılmamış ve her iki saatte bir alınan numunelerden ölçümler yapılmış olmasına rağmen, farklılıkları daha görünür kılmak için bar diyagramlarında sadece ısıtılmamış ve 6, 12, 18 ve 24 saat ısıtılmış yağların değerleri verilmiştir. Ancak çizelgelerde elde edilen tüm veriler verilmiştir.

Çizelge 3.5. Kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'den elde edilen TAS ve TOS değerlerinde, ısıtılma işleminden sonraki 24 saat içinde 13 örnekleme zamanına göre meydana gelen değişiklikler. Isıtılan numunelerde ısıtılmamış yağa göre gözlenen değişimler yüzde olarak TAS ve TOS değerlerinin altında verilmiştir. (-) ısıtılmamış yağa göre bir azalmayı ve (+) bir artışı gösterir.

TAS(mmol/L)													
	Isıtma Zamanı (saat)												
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
AY	0,23	0,114	0,101	0,098	0,094	0,081	0,084	0,076	0,087	0,083	0,1	0,057	0,058
		%-50,4	%-56,1	%-57,4	%-59,1	%-64,8	%-63,5	%-66,9	%-62,2	%-63,9	%-56,5	%-75,2	%-74,8
PAY	0,46	0,43	0,35	0,34	0,27	0,22	0,27	0,19	0,2	0,17	0,065	0,063	0,04
		%-6,5	%-23,9	%-25,1	%-41,3	%-52,2	%-41,3	%-58,7	%-56,5	%-63,0	%-85,9	%-86,3	%-91,3
TOS (μmol/L)													
	Isıtma Zamanı (saat)												
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
AY	132,6	133,1	134,8	132,9	133,1	134,2	135,1	132,4	134,8	136,2	137,6	139,6	138,6
		%0,4	%1,7	%0,2	%0,4	%1,2	%1,9	%-0,2	%1,7	%2,7	%3,8	%5,3	%4,5
PAY	231,3	235,2	234,8	233,3	234,2	234,2	236,3	236,2	235,7	235,5	235,4	236	236,5
		%1,7	%1,5	%0,9	%1,3	%1,3	%2,2	%0,2	%1,9	%-0,08	%1,8	%2,0	%2,3



Şekil 3.19. Isıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış A) kontrol ve B) PRPLS ilaveli AY'nin (PAY) TAS değerlerinin karşılaştırması.

Çizelge 3.5 ve Şekil 3.19A'dan görüldüğü üzere, ısıtma süresi arttıkça AY'de TAS değeri azalmıştır ve PRPLS ilavesi ısıtılmamış yağda TAS miktarını artırmıştır. Isıtma süresi arttıkça tıpkı PRPLS ilavesiz yağda olduğu gibi PRPLS ilaveli yağda da TAS değeri azalmıştır. Ancak bu azalmanın oranı PRPLS ilaveli yağ için farklı olmuştur. Kontrol AY grubunda 2 saatlik ısıtma işleminin uygulanmasıyla TAS değerinin %50,4 oranında azaldığı görülmektedir. 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'de ise bu değerde 2. saatte sadece %6,5 oranında bir azalma meydana gelmiştir. İlk 18 saat boyunca PRPLS ilaveli yağda meydana gelen azalma oranı kontrol yağa göre daha düşük olmuştur. 18. saatten durum tam tersine dönmüştür. Bu sonuç, ilk 18 saatte 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'de ısıtma süresi arttıkça TAS düzeylerindeki azalmanın kontrol grubuna göre daha düşük olduğu

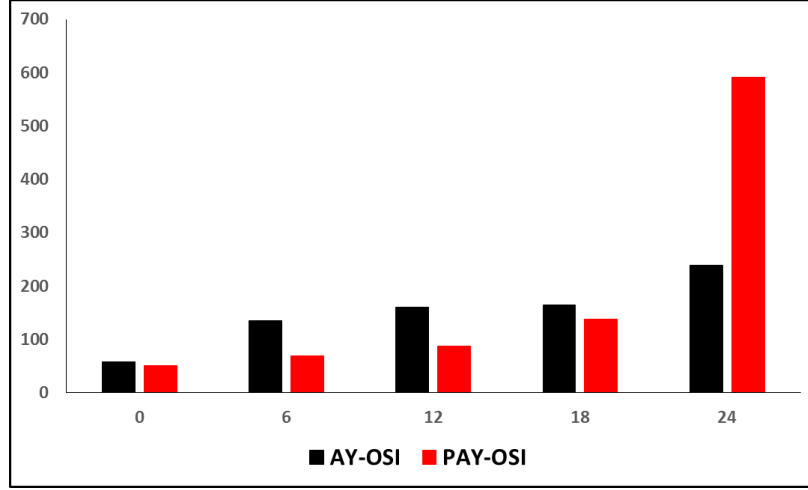
sonucunu ortaya konmuştur. Çizelge 3.5 ve Şekil 3.19B'den görüldüğü gibi kontrol ve PRPLS ilaveli yağlarda termal işlemle birlikte TOS değerleri artmıştır ve ısıtma süresiyle birlikte bu değerlerde çok büyük değişiklikler olmamıştır.

TOS değerinin TAS değerine oranlanması ile elde edilen OSI rölatif bir değer olduğundan bize yağların oksidatif stres düzeyini karşılaştırmak için daha güvenilir bir veri sağlar. Çizelge 3.6 kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'de ısıtma işlem sonrasında OSI değerlerinde meydana gelen değişimleri, Şekil 3.20 ise ısıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat boyunca ısıtıldıktan sonra alınan numunelerden elde edilen OSI değerlerinin toplu karşılaştırmasını göstermektedir.



Çizelge 3.6. Kontrol ve PRPLS ilaveli AY'den elde edilen OSI değerlerinde, ısıtılma işleminden sonraki 24 saat içinde 13 örnekleme zamanına göre meydana gelen değişiklikler. Isıtılan numunelerde ısıtılmamış yağa göre gözlenen değişimler yüzde olarak OSI değerlerinin altında verilmiştir.

OSI (Göreceli Birim)													
	Isıtma Zamanı (saat)												
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
AY	57,65217	116,7544	133,4653	135,6122	141,5957	165,679	160,8333	174,2105	154,9425	164,0964	137,6	244,9123	238,9555
		%102,5	%131,5	%135,2	%145,6	%187,4	%178,9	%202,2	%168,8	%184,6	%138,7	%324,8	%314,5
PAY	50,28261	54,69767	67,08571	68,61765	86,74074	106,4545	87,51852	124,3158	117,85	138,5294	362,1538	374,6032	591,25
		%8,8	%33,4	%36,5	%72,5	%111,7	%74,1	%147,2	%134,4	%175,5	%620,2	%644,9	%1075,9



Şekil 3.20. Isıtılmamış ve 6, 12, 18, 24 saat ısıtılmış kontrol ve PRPLS ilaveli AY'nin OSI değerlerinin karşılaştırması.

Çizelge 3.6 ve Şekil 3.20'den görüldüğü üzere OSI değerleri de tıpkı TOS değerlerinde olduğu gibi hem kontrol hem de PRPLS ilaveli yağlarda artmıştır. PRPLS ilavesinden sonra AY'de ilk 18 saat boyunca OSI değerleri kontrolden daha düşük çıkmıştır ancak son saatlere doğru bu durum değişmiş 20. saatten sonra OSI değeri kontrolden daha büyük çıkmıştır. 2000 ppm PRPLS eklenmiş AY'de artan TAS ile oksidan moleküllerinin neden olduğu oksidatif stres engellenmiş ve böylece bu yağda 18. saate kadar daha düşük OSI değerleri elde edilmiştir. Bu sonuç PRPLS ilavesinin AY'de ısı etkisiyle oluşan oksidatif stresi engellemede başarılı olduğu sonucunu doğrulamıştır.

3.2. TARTIŞMA

Yemelik yağların bozunmasında en önemli etkenlerden biri olan oksidasyon, yağların kalitesinde ve besin değerinde azalmaya neden olur. Bu nedenle yağların kalitesini araştıran çalışmalar ağırlıklı olarak lipit oksidasyonuna odaklanmaktadır. Lipit bozunması oda sıcaklığında oldukça yavaş ilerleyen bir süreç olduğundan, yağların oksidatif stabilitesini kısa sürede tahmin etmek için hızlandırılmış prosedürler kullanılmaktadır. Yağların oksidatif stabilitesini değerlendirmek için kullanılan yaklaşımlardan birisi, onları kızartma sıcaklığı gibi yüksek sıcaklıklarda belli bir süre ısıtmaktır [171], [172]. Çalışmamızda, öncelikle AY'de kızartma sıcaklığında meydana gelen termal oksidasyon kaynaklı yapısal ve kompozisyonel değişiklikler ATR-FTIR spektroskopisi ile belirlenmiştir. Daha sonra bu değişikliklere karşı PRPLS'nin koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için yine aynı teknikle PRPLS ilave edilmemiş

(kontrol), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve 100 ppm BHT (pozitif kontrol) ilave edilmiş AY'ler karşılaştırılmıştır. Ayrıca, çalışmamızda elde ettiğimiz ATR-FTIR sonuçlarını desteklemek için TGA-DTA ve TAS-TOS analizleri de gerçekleştirilmiştir.

Isıtma işlemi boyunca yağlarda meydana gelen lipid oksidasyonu ortamdaki oksijenin yağ asidi zincirinde bulunan çift bağlar ile reaksiyona girmesi sonucunda gerçekleşir. Oksidasyon sırasında yüksek ısının etkisiyle yağ asitlerinden bir H atomu uzaklaştırılır ve sonuçta bir lipid alkil radikali oluşur. Yağ asidinden ayrılan H yerine moleküler oksijen bağlanarak birincil oksidasyon ürünleri olarak bilinen aktif peroksitler ve sonrasında hidroperoksitler oluşur. Peroksitler kararsız bileşiklerdir ve katalizör gibi etki ederek oksidasyonun devamını sağlar ve bundan sonra otooksidasyon serbest radikal zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Bu bileşiklerin parçalanması ile ikincil oksidasyon ürünleri (alifatik aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar, asitler vb.) olarak bilinen bileşikler oluşur [29]. Lipid oksidasyonu sırasında, bazı bileşiklerin oksidasyonuna ek olarak, doymamış yağ asitlerinin cis/trans izomerizasyonu, trans ve serbest yağ asitlerinin oluşumuna yol açan trigliseritlerin hidrolizi gibi bazı başka bozunma süreçleri de gerçekleşir. Yağlarda meydana gelen bu reaksiyonların tümü yağın bozulmasına katkıda bulunur. ATR-FTIR spektroskopisi ile elde edilen spektral bantların alan değerleri ve/veya alan değerlerinin birbirlerine göre oranlarındaki değişimler belirlenerek birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri, cis- ve trans-doymamış yağ asidi miktarlarındaki değişimler saptanabilir. ATR-FTIR spektroskopi çalışmalarında, bir sistemde sırasıyla $3600-3250\text{ cm}^{-1}$ ve $1780-1680\text{ cm}^{-1}$ bölgeleri analiz edilerek birincil (hidroperoksitler) ve ikincil oksidasyon ürünleri, $3035-2990\text{ cm}^{-1}$ ve $1000-630\text{ cm}^{-1}$ bölgeleri analiz edilerek cis-trans izomerizasyonu hakkında bilgi sahibi olunabilir [121]. Bu nedenle çalışmamızda, ATR-FTIR spektroskopisi ile AY'de lipid oksidasyonu sonucu meydana gelen değişimlerin ve PRPLS'in bu değişimler üzerindeki koruyucu etkisinin belirlenmesi amacıyla bu spektral bölgeler analiz edilmiştir.

3009 cm^{-1} bantı, doymamış yağ asitlerinin cis-olefinik çift bağlarının C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [123]. Dolayısıyla, 3009 cm^{-1} bantının alanındaki ve $3009/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranındaki değişiklikler analiz edilerek, ısıtma işlemi sırasında AY'deki doymamış yağ asitlerin cis çift bağlarının miktarı hakkında değerli bilgiler elde edilebilir. Isıtma işleminden sonra tüm yağlarda 3009 cm^{-1} bantının alanında ve $3009/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranında azalma gözlenmiştir (Şekil 3.5.; Şekil 3.6.). Bu sonuç,

doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarının konsantrasyonunun ısıtma işleminden sonra azaldığını göstermiştir. Ancak bu azalmanın boyutu her yağ için farklı olmuştur. Yağlardaki bu bantla ilgili regresyon grafiklerinden elde edilen eğim değerleri karşılaştırıldığında 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli yağlardan elde edilen eğim değerlerinin kontrole yakın veya eşit olduğu ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerin eğim değerinden daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 3.6.). Hem alan hem de alan oran analiz eğrilerinde en düşük eğim değerine 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY sahip olmuştur. Eğim değerinin düşük olması 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'de meydana gelen değişimin diğer yağ gruplarına kıyasla daha düşük oranda ve daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir. Bu sonuçlar, doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarının konsantrasyonunun ısıtma işleminden sonra azaldığını, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin bu azalmayı engellemede başarılı olamadığını, BHT ilavesinin bir dereceye kadar başarılı olduğunu ve 2000 ppm PRPLS ilavesinin bu azalmayı büyük oranda engellediğini göstermiştir [123].

Bu bulgu, doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarından kaynaklanan bir diğer bant olan 722 cm^{-1} bantının analizinden elde edilen sonuçlarla güçlü bir şekilde desteklenmiştir [123], [173]. Benzer şekilde, bu bantın alanı ve $722/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranı tüm yağ gruplarında ısıtma işleminden sonra azalmıştır (Şekil 3.9.). Tıpkı 3009 cm^{-1} bantında olduğu gibi, bu bantla ilgili regresyon grafiklerinde en düşük eğim değerine 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin sahip olduğu görülmüştür (Şekil 3.12.). Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS ilavesinin cis yağ asidi miktarındaki azalmayı engellediği sonucunu doğrulamıştır. 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'lerin eğim değerlerinin kontrol AY'ye oldukça yakın olması bu konsantrasyonların cis yağ asitlerini korumada başarılı olamadıklarını göstermiştir. BHT ilave edilmiş AY'nin eğim değerinin kontrole 2000 ppm PRPLS ilaveli yağ arasında olması, BHT ilavesinin cis yağ asitlerini bir dereceye kadar koruduğunu ancak 2000 ppm PRPLS kadar başarılı olamadığını göstermiştir.

Doymamış yağ asitlerinin cis çift bağlarında meydana gelen bu azalma, ısıtma sırasında sistemde meydana gelen ardışık veya eşzamanlı birçok reaksiyondan oluşan lipid oksidasyonuna bağlanabilir. Yukarıda tartışıldığı gibi, oksidasyonun ilk aşamasında, H atomları yağ asitlerinden ayrılır ve lipid alkil radikalleri üretilir. Bu H atomunu ayırmak için gereken enerji miktarı, H'nin yağ asidindeki konumuna bağlı olarak değişir. İki çift

bağ arasında bir karbon atomuna bağlı H atomlarını uzaklaştırmak için gereken enerji daha az olduğundan, bu hidrojenler yağ asidinden kolayca ayrılır ve karbon radikalinin yanındaki çift bağ, bir sonraki daha kararlı karbon atomuna geçer ve yapısını cis formundan trans formuna değiştirir [29]. Böylece, bu oksidasyon reaksiyonları, çift bağların yeniden düzenlenmesine neden olur ve cis çift bağlarının kaybı ve bunların trans gruplarına izomerizasyonu meydana gelir. 3009 ve 722 cm^{-1} bantlarının alan değerlerinde ve 3009/2923 cm^{-1} ve 722/2923 cm^{-1} alan oran değerlerinde gözlediğimiz azalmalar ısıtma işlemi sırasında, cis çift bağların kaybolması nedeniyle doymamışlık derecesindeki azalmayı göstermiştir. AY'nin stabilitesi, cis çift bağ miktarları açısından karşılaştırıldığında, 3009 ve 722 cm^{-1} bantlarına ilişkin sonuçlar en kararlı yağın 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada, ısı etkisiyle trans doymamış yağ asitlerinin miktarında meydana gelen değişimleri ve bu değişimleri PRPLS ilavesinin engelleyip engellemediğini belirlemek için 987 cm^{-1} ve 965 cm^{-1} bantları incelenmiştir. 987 cm^{-1} bantı oksidasyon veya izomerizasyon ürünlerindeki konjuge C-H trans olefinik gruplarının eğilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [174]. Isıtma işleminden sonra bu bantın alanında ve 987/2923 cm^{-1} alan oranında tüm yağ gruplarında artış gözlenmiştir (Şekil 3.9.). Kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş yağlardan elde edilen eğim değerlerinin birbirine eşit olduğu ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş yağlardan oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.10). Bu sonuç bu yağlarda trans yağ asidi miktarının ısı işlem arttıkça arttığını ve 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin bu artışı engellemede başarılı olmadığını göstermiştir. Buna karşılık 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş yağların eğim değerlerinin diğer yağlara göre düşük olması ve birbirine oldukça yakın veya eşit olması bu yağlarda trans yağ asidi miktarındaki artışın daha düşük oranlarda gerçekleştiğini göstermiştir. Bu sonuç 2000 ppm PRPLS ve BHT ilavesinin ısı işlem boyunca yağlarda konjuge trans yağ oluşumunu engellemede başarılı olduğunu göstermiştir.

Sistemdeki trans doymamış yağ asitlerinin miktarı hakkında bilgi veren bir diğer bant olan 965 cm^{-1} bantı izole edilmiş trans olefinlerin C-H fonksiyonel gruplarının eğilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Isıtma işleminden sonra 965 cm^{-1} bantının alanında ve 965/2923 cm^{-1} alan oranında tüm yağ gruplarında artış gözlenmiştir (Şekil 3.9.). Benzer şekilde kontrol ve 1000 ppm PRPLS ilave edilmiş yağların eğim değerleri

birbirine yakın ve diğer yağlara göre oldukça yüksek çıkmıştır. Bu sonuç kontrol yağda ısıtılma işleminin trans yağ asidi miktarını artırdığı sonucunu doğrulamış ayrıca 1000 ppm PRPLS ilavesinin bu artışı engellemede başarılı olamadığını göstermiştir. 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş yağın eğim değeri kontrol ve 1000 ppm PRPLS ilave edilmiş yağdan daha düşük çıkmıştır. En düşük eğim değerine BHT ilave edilmiş AY sahip olmuş bunu 2000 ppm PRPLS ilaveli AY takip etmiştir (Şekil 3.11.). Bu sonuç, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ilavesinin ısıtılma işlemle artan trans yağ asidi oluşumunu engellediğini ve 2000 ppm PRPLS ilavesinin neredeyse BHT kadar başarılı olduğunu göstermiştir.

Yukarıda tartışıldığı gibi, oksidasyon işlemi sırasında cis çift bağların kaybolması ve trans yağ asidi ürünlerinin ortaya çıkması eş zamanlı olarak meydana gelir. Bu nedenle, 3009 ve 722 cm^{-1} 'deki bantların alanlarında ve 3009/2923 ve 722/2923 cm^{-1} alan oranlarında gözlenen azalmalar ve 987, 965 cm^{-1} 'deki bantların alanlarında ve 965/2923 ve 965/2923 cm^{-1} alan oranlarında gözlenen artışlar ısıtılmış yağ numunelerinde çift bağların konjugasyonunu ve cis-trans izomerizasyonu meydana geldiğini ortaya çıkarmıştır. Tüm yağlarda ısıtılma işlemle azalan cis- doymamışlık seviyesi ve artan trans-yag asidi miktarı şeklinde genel bir eğilim izlenmiştir. Fakat sıcaklığın 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'de, bu cis-trans dönüşümü üzerindeki etkisinin, diğer yağlar için gözlenenden çok daha düşük oranda ortaya çıktığı görülmüştür. Bu sonuç, 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin diğer yağ gruplarına kıyasla termal oksidasyona karşı daha dirençli olduğunu göstermiştir.

Sistemdeki birincil (hidroperoksitler) ve ikincil oksidasyon ürünleri hakkında bilgi sahibi olmak için kullanılan 3482 cm^{-1} bantı trigliseritlerin ester gruplarından kaynaklanmaktadır. Oksidasyon prosesi ilerledikçe numunedeki birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının ve bunların kızılötesi spektrumunda absorpsiyonunun arttığı bilinmektedir. Hidroperoksitlerdeki -OH gerilme titreşimlerine atfedilen 3444 cm^{-1} 'deki ve ikincil oksidasyon ürünlerine atfedilen 3530 cm^{-1} 'deki kızılötesi bantlarının absorpsiyonlarının ısıtılma süresi arttıkça artması ve 3482 cm^{-1} bantıyla örtüşmesi sonucunda bu bantın absorpsiyon/alanında bir artış meydana gelir [160]. PRPLS'nin birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarında meydana gelen artış oranını düşürüp düşürmediğini anlamak için 3482 cm^{-1} bantı alan ve 3482/2923 cm^{-1} oran verileri incelenmiştir. Isıtılma işleminden sonra bu parametreler tüm yağlarda artmış ancak bu artışın boyutunun en yüksek olduğu yağ kontrol AY olmuştur (Şekil 3.3.). 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilaveli

yağlardan elde edilen eğim değerleri kontrole oldukça yakın ya da eşit çıkmıştır. Bu sonuç, kontrol AY'de birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin arttığını, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ilavesinin bu artışı engellemede başarılı olmadığını göstermiştir. En düşük eğim değerine 2000 ppm PRPLS ilaveli yağ sahip olmuş onu BHT ilaveli yağın eğim değeri izlemiştir (Şekil 3.4). Bu sonuç 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'de birincil ve ikincil oksidasyon ürünü oluşumunu BHT'den bile daha iyi derecede engellediğini göstermiştir.

Lipit oksidasyonu sırasında, birincil oksidasyon ürünlerinin ayrışması ile oluşan esterler, asitler, ketonlar ve aldehitler gibi ikincil oksidasyon ürünleri 1745 cm^{-1} bantının bazı özelliklerinde değişikliklere sebep olmaktadır [2], [175]. Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) esterlerin gerilme titreşimlerinden kaynaklanan bu bantın alanı ve alan oranı analiz edilerek yeni oluşan ikincil oksidasyon ürünleri hakkında bilgiler elde edilebilir [159]. PRPLS'nin yağlardaki ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının oluşumunu engelleyip engellemediğini anlamak için 1745 cm^{-1} bantı alan ve $1745/2923\text{ cm}^{-1}$ alan oranlarındaki değişimler incelenmiştir. Yağlardan elde edilen 1745 cm^{-1} bantı alan verilerinden elde edilen eğim değerlerindeki değişimler kıyaslandığında tüm yağlarda artış olduğu, bu artışın boyutunun kontrol ve 1000 ppm PRPLS ilaveli yağlarda oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.7.). Bu sonuç, kontrol AY'de ikincil oksidasyon ürünlerinin arttığını, 1000 ppm PRPLS ilavesinin bu artışı engellemede başarılı olamadığını göstermiştir. 1500 ppm PRPLS ilave edilmiş yağdan elde edilen eğrinin eğim değerinin bu iki yağdan düşük çıkması bu dozun ikincil oksidasyon ürünlerinde ısıtma işlemi etkisiyle meydana gelen artışı engellemede az da olsa bir dereceye kadar başarılı olduğunu göstermiştir. Tüm yağlar içinde en düşük eğim değerlerine 2000 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş yağlar sahip olmuştur (Şekil 3.8.). Bu sonuç 2000 PRPLS ilavesinin AY'de ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu engellediğini göstermiştir.

Yemeklik yağların çoğunun FTIR spektrumları benzer görünse de, bileşimlerindeki değişkenlik nedeniyle iki farklı yemeklik yağın spektrumundaki karakteristik dalga sayılarında ve spesifik bant sinyal şiddetlerinde küçük farklılıklar vardır [176], [177]. Bu küçük farklılıklar zaman zaman görsel olarak tespit edilemez ve bu sorunu çözmek için, yemeklik yağdaki değişimin kalitatif ve kantitatif tespiti için FTIR spektral verilerine temel bileşen analizi (PCA = principle component analysis) uygulanabilir. PCA, veriler hakkında genel bir fikir veren ve verilerdeki aykırı değerleri, grupları ve

eğilimleri ortaya çıkaran bir analiz yöntemidir. PCA, verilerdeki varyasyonu, her bir örnek için bir puanın hesaplandığı, temel bileşenler olarak adlandırılan daha az sayıda değişkene indirgeyerek çalışır [178]. PCA daha önce gerçekleştirilmiş bazı yağ çalışmalarında kullanılmıştır [121], [179], [180]. Çalışmamızda, ATR-FTIR bantlarının analizinden elde edilen bulguları desteklemek ve yağların farklı ısıtma zaman aralıklarına göre ayrımını izlemek için kızılötesi spektrumlara PCA uygulanmıştır. Spektrumların PCA analizi, çok küçük spektral değişikliklerin görselleştirilmesini sağlamış ve bunların yorumlanmasını kolaylaştırmıştır.

PCA öncelikle kontrol, 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve BHT ilaveli AY'ler için ayrı ayrı yapılmıştır. Analiz sonuçlarımız, yağ örneklerinin çeşitli ısıtma zaman aralıklarına göre PCA grafiklerinde başarılı bir şekilde ayrıldığını göstermiştir (Şekil 3.13.). PCA grafiklerinde elde edilen sonuçlar yukarıda belirtilen sonuçları doğrulamıştır. Kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş AY'lerin skor plotları incelendiğinde ayrımların birbirine oldukça benzer şekilde ortaya çıktığı görülmüştür. Bu yağlarda ısıtılmamış ve ilk 10 saat boyunca ısıtılmış yağlar PC1'in pozitif çeyreğinde, 12. saatten sonrakiler negatif çeyreğinde yerleşmiş olmasına rağmen kontrol AY dışındaki örneklerin birbirine oldukça yakın kümelandiği görülmüştür. Bu sonuç kontrol, 1000 ve 1500 ppm PRPLS ve BHT ilave edilmiş yağlarda ısıtılma işlemi boyunca değiştiğini, 10. saatten sonra bu değişimin daha belirgin olduğunu ancak kontrol AY'deki değişimlerin daha dramatik boyutlarda olduğunu göstermiştir. 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'nin skor grafiği incelendiğinde ilk 14 saat ısıtılma işlemi uygulanmış yağların diğerlerinden ayrıldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, ısıtılma işlemin kontrol AY'de önemli değişimlere sebep olduğu ve 2000 ppm PRPLS ilavesinin bu değişiklikleri önemli derecede engellediği sonucunu doğrulamıştır.

PCA analizi kontrol ve 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'lere bir arada uygulandığında kontrol ve ilk 8 saat boyunca ısıtılmış yağların 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'lerin tamamı ile birlikte PC1'in pozitif çeyreğinde yer aldığı görülmüştür (Şekil 3.14.). Bu sonuç, kontrol AY'de ilk 8 saat boyunca önemli yapısal değişimler meydana geldiğini, 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY'de ise 24 saat boyunca önemli değişimler olmadığını göstermiştir. Grafik üzerindeki ısıtılmamış ve ısıtılmış kontrol AY spektrumlarının birbirinden uzakta bulunması ısıtılma işlemin başlamasıyla birlikte yağda meydana gelen değişimin büyüklüğünü göstermiştir. Bu sonuçlar, ısıtılma işlemin kontrol AY'nin yapısında,

içeriğinde ve bileşiminde önemli değişikliklere neden olduğu ve 2000 ppm PRPLS ilavesinin lipit oksidasyonuna karşı güçlü bir koruyucu etki gösterdiği spektroskopik bulgularını doğrulamaktadır.

Çalışmamızda AY'nin oksidatif stabilitesi üzerinde PRPLS'nin koruyucu etkisinin olup olmadığını test etmek amacıyla termal analiz teknikleri olan TGA ve DTA teknikleri kullanılmıştır. Termoanalitik teknikler, bu çalışma için termal kararlılık ve ısıtma işlem uygulaması sırasında meydana gelen bozunma reaksiyonlarını ve PRPLS'nin bu bozunma reaksiyonları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesini mümkün kılmıştır. Bu tekniklerde çalışma esnasında az miktarda numune gereklidir ve sonuçlar oldukça hızlı bir şekilde elde edilebilmektedir. DTA eğrilerinden T_{onset} değerleri, TGA eğrilerinden yüzde kütle kaybı ve kütle kaybının başlangıç sıcaklıkları elde edilmiş ve bu değerler kıyaslanmıştır. Kontrol ve PRPLS ilave edilmiş yağların T_{onset} değerleri karşılaştırıldığında PRPLS ilavesinin bu değeri yüksek değerlere doğru kaydırması gözlemlenmiştir (Şekil 3.17). Daha yüksek T_{onset} değeri daha yüksek bir termal stabiliteye işaret ettiğinden bu sonuç PRPLS'nin AY'nin termal stabilitesini artırdığını göstermiştir. TGA eğrilerinden elde edilen 1. ve 2. adım kütle kaybı değerleri karşılaştırıldığında kontrol AY'deki kütle kaybının PRPLS ilaveli yağdan daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.). Ayrıca 2000 ppm PRPLS ilavesi kütle kayıplarının başladığı sıcaklıkları daha yüksek değerlere doğru kaydırmıştır. Tüm bu sonuçlar 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'yi termal bozunmadan koruduğunu göstermiştir ve ATR-FTIR sonuçlarını desteklemiştir.

Çalışmamızda ayrıca AY'de ısı etkisiyle meydana gelen oksidatif stresin engellenmesinde PRPLS'nin koruyucu etkisinin olup olmadığını anlamak amacıyla ayrıca biyokimyasal bir analiz yöntemi olan TAS/TOS analizi gerçekleştirilmiştir. Numunenin içindeki toplam antioksidan madde miktarını veren bir değer olan TAS değerleri karşılaştırıldığında, ısıtılmamış AY'de bu değer PRPLS ilavesinden sonra artmıştır. Isıtma işlemi birlikte TAS değerleri kontrol ve PRPLS ilaveli yağlarda azalmıştır ancak bu azalmanın boyutu PRPLS ilaveli yağda çok daha düşük oranda meydana gelmiştir (Şekil 3.19 A). Bu sonuç, PRPLS ilavesinin AY'yi ısıtma etkiden koruduğunu göstermiştir. TOS değerleri karşılaştırıldığında ısıtma süresiyle birlikte bu değerlerde çok büyük değişiklikler olmadığı görülmüştür (Şekil 3.19 B). TAS değerinin TOS değerine oranlanması ile elde edilen OSI değerleri karşılaştırıldığında ısıtılmamış AY'de bu

değerin PRPLS ilavesinden sonra düştüğü gözlenmiştir (Şekil 3.20). Sistemdeki oksidatif stresin boyutu hakkında bilgi veren OSI değerinin düşük çıkması PRPLS ilavesinin yağdaki oksidatif stresi azalttığını göstermiştir. Isıtma işlemi ile birlikte OSI değerleri her iki yağda da artmıştır. Ancak bu artışın boyutu PRPLS ilaveli yağda özellikle ilk 18 saat daha düşük boyutlarda gerçekleşmiştir. Bu sonuç, PRPLS'nin AY'de ısı etkisiyle oluşan oksidatif stresi engellemede başarılı olduğunu, bu engellenmenin 18 saat boyunca devam ettiğini, 18. saatten sonra oldukça azaldığını göstermektedir.

Bu çalışmada belirli kızılötesi bantların alanları ve alan oran değerleri analiz edilerek AY'nin termal oksidasyonu hakkında değerli bilgiler elde edilmiştir. Isıtma işleminden sonra kontrol (PRPLS veya BHT içermeyen) AY spektrumunda 3482 cm^{-1} ve 1745 cm^{-1} bantlarının değerlerindeki artışlar birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarının arttığını, 3009 cm^{-1} ve 722 cm^{-1} bantlarının alan değerlerindeki azalmalar sistemdeki cis-doymamış yağ asidi miktarının azaldığını, 965 cm^{-1} ve 987 cm^{-1} bantlarının alan değerlerindeki artışlar sistemdeki trans doymamış yağ asitlerinin miktarının arttığını göstermiştir. Bu sonuçlar AY'nin termal oksidasyona karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir. Termal analiz ve OSI sonuçlarımız da ısıtma işleminin AY'nin yapısında ve bileşiminde önemli değişimlere sebep olduğu sonucunu doğrulamıştır. Oksidasyon reaksiyonlarının hızının çeşitli faktörlerden etkilendiği ve bu faktörlerden en önemlisinin yağdaki doymamış yağ asidi miktarı olduğu bilinmektedir. Lipitlerin yapısındaki yağ asitlerinin C=C çift bağları, çeşitli oksidasyon reaksiyonlarında aktif bölgeler olarak işlev görür [29]. Bu nedenle oksidatif bozunma doymamış yağ asidi miktarı yüksek olan yağlarda daha fazla ve daha hızlı gerçekleşir. Yağ asitlerinin yapısında bulundurduğu iki çift bağın, tek çift bağın varlığından 10-40 kat daha hızlı oksidasyona neden olduğu bilinmektedir [181]. Yani yağın içerdiği doymamış yağ asidi miktarı ve yağ asitlerinin doymamışlık derecesi arttıkça yağ oksidasyona karşı daha duyarlı hale gelir. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda kullandığımız AY'nin bileşiminde en yüksek oranda bulunan yağ asidinin bir çeşit çoklu doymamış yağ asidi olan linoleik asit (%55,44) olduğu tespit edilmiştir [13]. Sonuç olarak AY'de ısıtma süresi arttıkça şiddeti artan lipit oksidasyonunun en temel nedeni içerdiği yüksek miktardaki çoklu doymamış yağ asidi miktarıdır. AY'deki yüksek miktardaki doymamış yağ asitleri, özellikle linoleik asit, onu oksidasyon sürecine daha duyarlı hale getirmiştir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak önceki çalışmalarda AY'nin yağ asidi içeriği ısıtma işleminden önce ve sonra analiz edilmiş ve ısıtma işleminden sonra linoleik asit miktarının önemli derecede azaldığı bildirilmiştir [182],

[183].

Yukarıda açıklanan tüm sonuçlar, ısıtılma işleminden önce 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY'de lipid oksidasyonunu önemli oranda engellediğini ortaya çıkarmıştır. Yapılan çalışmalar, PRPLS'nin polifenol içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında çok güçlü bir korelasyon bulunduğunu ve dolayısıyla PRPLS'nin antioksidan aktivitesinin esas olarak bileşimindeki polifenollerden kaynaklandığını göstermiştir [106], [107]. PRPLS'teki polifenoller esas olarak kafeik asit, gallik asit, pinocembrin, pinobanksin, p-kumarik asit, krisin, galangin, hesperetin, kaempferol, naringenin gibi fenolik asitler ve quercetin, kateşin, siyanidin gibi flavonoidlerdir. Bu çalışmada kullandığımız PRPLS'teki quercetin, kaempferol, kafeik asit fenetil ester (CAPE), toplam fenolik ve flavonoid madde miktarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.2.). CAPE yüksek antioksidan aktivitesi ile ilgili olarak PRPLS'deki en önemli bileşiklerden biridir [184]. Çalışmamızda kullanılan PRPLS'nin CAPE miktarı $6,164 \pm 0,0037$ mg/g olarak belirlenmiştir. Bu değer, Türkiye'nin 23 farklı bölgesinden elde edilen [185], Çin'in çeşitli bölgelerinden elde edilen [79] ve Brezilya'nın kuzeydoğu bölgesinden elde edilen PRPLS değerleri ile uyumludur (2017) [72]. PRPLS'nin kuersetin ($0,470 \pm 0,0029$ mg/g) ve kaempferol ($1,563 \pm 0,0038$ mg/g) miktarları da literatürle uyumlu bulunmuştur [72], [79]. Çalışmamızda kullandığımız PRPLS'nin toplam fenolik madde miktarı 105.45 ± 0.10 mg GAE/g ve toplam flavonoid madde miktarı 48.01 ± 1.19 mg QE/g olarak belirlendi. Bu değerler de literatürde bildirilen değerler ile uyumludur. Farklı botanik orijinli Türk PRPLS'lerinin toplam fenolik madde miktarını değerlendirmek için daha önce yapılan çalışmalarda bu değer 87,62-127,39 GAE/g [186], başka çalışmalarda ise 16,13-178,34 GAE/g [187] ve 27,48-199,69 GAE/g olarak belirlenmiştir [188]. Benzer şekilde toplam flavonoid madde içeriği 1,24-51,23 mg QE/g [187] ve 30,73-291,75 mg QE/g olarak bildirilmiştir [188]. DPPH süpürme yöntemi ile değerlendirilen PRPLS'nin antioksidan aktivitesine ilişkin IC_{50} değeri $1,98 \pm 0,005$ mg/mL olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu değer Romanya PRPLS'sinden elde ettiği değerler (0,3-5,6 mg/mL) ile uyumlu [189] olmakla birlikte Malezya PRPLS'si için bildirmiş olduğu değerden (4,27 mg/mL) daha düşüktür [190].

Polifenollerin antioksidan potansiyeli, yapılarındaki hidroksil gruplarına ve bunların serbest radikal süpürme fonksiyonlarını oluşturmaya yardımcı olan yapısal özelliklerine bağlanabilir [191]. Bu bileşikler hidrojen vericileri, indirgeyici ajanlar, reaktif oksijen

türlerinin süpürücüleri, metal şelatörleri olarak hareket edebilir ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyerek, geçiş metal iyonlarını azaltarak, süperoksit ve peroksi radikallerini yakalayarak veya serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak lipid peroksidasyonunu önleyebilirler [93], [94]. Polifenollerin oksidasyonu geciktirme ya da engelleme yeteneğinin arkasındaki temel mekanizmalar serbest radikalleri veya metalleri inaktive etmekle ilgili olsa da gıdalardaki antioksidan aktiviteleri büyük ölçüde aktif oksidasyon bölgelerindeki etkin lokasyonlarıdır [192]. Hidrofilik bileşikler olan polifenoller, bulundukları çevreye bağlı olarak hidrofobik ya da hidrofilik etkileşimler oluşturacak surfaktan benzeri bir karaktere sahiptir ve bu özellik onların belli ara yüzlerde birikmelerini sağlar [193]. Önceki çalışmalarda lipid sistemlerinde hidrofilik antioksidanların oksidasyona karşı lipofilik antioksidanlardan daha etkili bir şekilde koruma sağladığı gösterilmiştir [194]. Çünkü lipofilik antioksidanlar yağda çözünürken, polifenoller gibi hidrofilik antioksidanlar hava-yag arayüzünde kalmakta ve oksijene ulaşmayı engelleyen koruyucu bir film oluşturmaktadır [195], [196]. Bu nedenle PRPLS'nin kızartma yağlarının oksidasyonu üzerindeki koruyucu etkisi içindeki polifenollerin hidrofilik özelliğe sahip olmaları nedeniyle hava-yag arafazında oksijene ulaşmayı engelleyen koruyucu bir film oluşturmalarına bağlanabilir. Bazı bitkisel ekstraktlarda bol miktarda bulunan polifenollerin yüksek sıcaklıklara tokoferoller gibi endojen antioksidanlardan ve BHT, BHA gibi sentetik antioksidanlardan daha dayanıklı olduğu ve ısıtılmış yağlarda daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir [30], [195]. Örneğin, polifenollerin ısıtılmış yağlarda tokoferollerden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini rapor edilmiştir [195]. Avokado ve zeytin yaprak ekstraktlarının kanola ve AY'nin termal stabilitesi üzerindeki etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada zeytin yaprağının her iki yağda da daha yüksek koruma gösterdiği rapor edilmiştir [197]. Bunun sebebini araştıran araştırmacılar, zeytin yaprağının avokado yaprağından daha fazla miktarda polifenol içerdiğini ve daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmiş ve dolayısıyla bu sonucu zeytin yaprağının içindeki polifenollerin yüksek sıcaklıklardaki koruyucu etkisine bağlamıştır [195]. Ayrıca daha önce gerçekleştirilen diğer bazı çalışmalarda yüksek miktarda polifenol içerdiği bilinen biberiye ve adaçayı [198], nar kabuğu [8], kekik [199] gibi bitkisel ekstraktların derin yağda kızartma sırasında yağların termal stabilitesini artırdığı rapor edilmiştir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, doğadaki en değerli polifenol kaynaklarından birisi olarak kabul edilen PRPLS'nin AY'de ısıtma işlemi sırasında meydana gelen termal oksidasyona karşı koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığı spektroskopik (ATR-FTIR spektroskopisi), termal (TGA-DTA) ve biyokimyasal (TAS/TOS analizi) teknikler kullanılarak ortaya çıkartılmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızda kontrol (PRPLS ve BHT ilave edilmemiş), 1000, 1500 ve 2000 ppm PRPLS ve 100 ppm BHT ilave edilmiş AY'lere günde 8 saat olmak üzere toplamda 24 saat boyunca fritözde 180 °C'de ısıtma işlemi uygulanmıştır. Bu yağlardan ısıtma işlemi başlamadan önce ve başladıktan sonra her iki saatte bir numuneler alınmış ve incelemeler bu örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda ATR-FTIR spektroskopisi ile elde edilen spektrumlardaki belirli kızılötesi bantlar analiz edilerek, termal yağ oksidasyonu hakkında değerli bilgiler elde edilmiştir. 3009 ve 722 cm^{-1} bantlarının altında kalan alanlar, 3009/2923 ve 722/2923 cm^{-1} oranlarındaki değişimler ve 987 ve 965 cm^{-1} bantlarının altında kalan alanlar, 987/2923 cm^{-1} ve 965/2923 cm^{-1} oranlarındaki değişimler analiz edilerek cis-trans izomerizasyonu; 3482 cm^{-1} ve 3482/2923 cm^{-1} oranındaki değişimler ve 1744 cm^{-1} ve 1744/2923 cm^{-1} oranındaki değişimler analiz edilerek birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarları hakkında değerli bilgiler elde edilmiştir. ATR-FTIR spektroskopi sonuçlarımız, ısıtma işleminin kontrol yağda oksidasyonu indükleyerek birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarında artışa, cis yağ asidi miktarında azalmaya ve trans yağ asidi miktarında artışa sebep olduğunu göstermiştir. AY'ye ısıtma işleminden önce ilave edilen 1000 ppm PRPLS termal oksidasyonu engellemede başarılı olamamış, 1500 ppm PRPLS sadece birkaç parametre üzerinde koruma sağlamıştır. Isıtma işleminden önce yağa 2000 ppm PRPLS ilavesi, AY'deki tüm bu yapısal ve bileşimsel değişikliklerin oranlarını BHT'ye benzer şekilde azaltmış ve tüm oksidasyon reaksiyonlarını engellemiştir. ATR-FTIR spektrumlarına uyguladığımız PCA sonuçlarımız da oksidasyona karşı en dayanıklı yağın 2000 ppm PRPLS ilave edilmiş AY olduğunu doğrulamıştır.

DTA eğrilerinden elde edilen bozunma başlangıç sıcaklığı (T_{onset}) değerleri

karşılaştırıldığında 2000 ppm PRPLS ilaveli yağda bu değerin kontrol yağdan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde TGA eğrilerinden elde edilen yüzde kütle kaybı değeri yağa 2000 ppm PRPLS ilave edildikten sonra azalmıştır. Ayrıca, TAS/TOS analiz sonuçlarımıza göre 2000 ppm PRPLS ilavesinden sonra TAS değerleri artmış, OSI değerleri düşmüştür. Bu sonuçlar 2000 ppm PRPLS ilavesinin AY üzerinde oksidatif bozunmayı geciktirdiğini göstermiş ve ATR-FTIR spektroskopi sonuçlarımızı doğrulamıştır

Elde ettiğimiz tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, çalışmamız AY'nin ısıtma işlemine karşı oldukça duyarlı bir yağ olduğunu, ısıtma işleminden sonra AY'de önemli yapısal ve kompozisyonel değişimler meydana geldiğini göstermiştir. Bu değişimler ağırlıklı olarak, yağda ısı etkisiyle meydana gelen lipit oksidasyonu reaksiyonlarının bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. AY'nin oksidasyona karşı duyarlı olmasının sebebi içeriğindeki çoklu doymamış yağ asiti miktarının fazla olmasına bağlanabilir. PRPLS ilavesi AY'deki tüm bu yapısal ve kompozisyonel değişimleri engellemiştir. Isıtma işlemi boyunca tüm yağ grupları arasında inhibitör etkinin en fazla 2000 ppm'lik PRPLS konsantrasyonu ilave edilen AY'de olduğu görülmüştür.

ATR-FTIR spektroskopisi, DTA/TGA ve TAS/TOS analizi teknikleri kullanarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışma, PRPLS'nin AY'deki termal oksidasyona karşı koruyucu etkisini ortaya çıkaran ilk çalışmadır. Sonuçlarımız, PRPLS'nin AY'de ısıtma işlemi sırasında meydana gelen lipit oksidasyonuna karşı güçlü bir koruyucu etki gösterdiğini kanıtlamıştır. PRPLS'nin bu koruyucu etkisi yapısında bol miktarda bulunan polifenollerin termal olarak kararlı olmalarına ve bu bileşiklerin hava-yag arafazında koruyucu bir film oluşturmalarına bağlanabilir. Sonuç olarak, PRPLS yemeklik yağların termal oksidasyona karşı korunması için sentetik antioksidanların yerini alabilecek güçlü, doğal bir antioksidan madde olarak önerilebilir.

PRPLS'nin yemeklik yağlarda bir antioksidan olarak kullanılması oksidasyona karşı iyi bir koruma sağlamanın yanı sıra yüksek fenolik bileşik içeriği nedeniyle birçok olumlu sağlık etkisi sağlayacaktır. Bu nedenle çalışmamız, PRPLS'nin pişirilerek tüketilmesi gereken gıdalarda doğal bir antioksidan madde olarak kullanımı için ileride gerçekleştirilecek olan çalışmalara ışık tutacaktır. Bu anlamda insan sağlığının korunmasına ve evrensel bilime katkı sağlayacaktır. Ancak, PRPLS ekstraktlarının yağlara ilave edilerek kullanılması yağların görünüm, doku, koku/aroma ve tat/lezzet gibi duyu özelliklerinde bazı değişikliklere neden olabilir. Bu nedenle PRPLS katkılı

yağların tüketici tarafından kabul edilebilirliği ile ilgili ek çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca bazı klinik çalışmalar PRPLS'de bulunan bileşiklerin alerjiye sebep olabileceğini bildirmiştir. Bu yüzden kişilerde alerjik reaksiyon ve riskleri elimine etmek için PRPLS kullanımına ilişkin önlemler alınmalıdır.

Bu çalışma aynı zamanda ATR-FTIR spektroskopinin kemometrik yöntemlerle birlikte yemeklik yağların oksidatif stabilitesinin ve yağlardaki antioksidan maddelerin etkinliğinin değerlendirilmesinde hızlı ve verimli bir teknik olarak kullanılabileceğini göstermiştir.



5. KAYNAKLAR

- [1] D. Mendil, Ö. D. Uluözölü, M. Tüzen, ve M. Soylak, “Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry,” *Journal of Hazardous Materials*, c. 165, sayı 1–3, ss. 724–728, Haziran, 2009.
- [2] M. C. M. M. Moreno, D. Mendoza Olivares, F. J. A. Ló Pez, J. V Gimeno Adelantado, ve F. Bosch Reig, “Analytical evaluation of polyunsaturated fatty acids degradation during thermal oxidation of edible oils by Fourier transform infrared spectroscopy,” *Talanta*, c. 50, ss. 269-275, 1999.
- [3] V. Gül, E. Öztürk, T. Polat, “Günümüz Türkiye’inde Bitkisel Yağ Açığını Kapatmada Ayçiçeğinin Önemi/The Importance of Sunflower to Overcome Deficiency of Vegetable Oil in Turkey,” *Alinteri Journal of Agricultural Science*, c. 30, sayı 1, ss. 70–76, Haziran, 2016.
- [4] L. Olmo-García, J. Polari, X. Li, A. Bajoub, A. Fernández-Gutiérrez, S. Wang, A. Carrasco-Pancorbo, “Deep insight into the minor fraction of virgin olive oil by using LC-MS and GC-MS multi-class methodologies,” *Food Chemistry*, c. 261, ss. 184–193, Ekim, 2018.
- [5] J. Orsavova, L. Misurcova, J. Vavra Ambrozova, R. Vicha, ve J. Mlcek, “Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids,” *International Journal Molecular Science*, c. 16, ss. 16, 2015.
- [6] M. T. Tarrago-Trani, K. M. Phillips, L. E. Lemar ve J. M. Holden, “New and Existing Oils and Fats Used in Products with Reduced Trans-Fatty Acid Content,” *Journal American Dietetic Association*, c. 106, sayı 6, ss. 867–880, Haziran, 2006.
- [7] H. G. Damude ve A. J. Kinney, “Engineering oilseeds to produce nutritional fatty acids,” *Physiologia Plantarum*, c. 132, sayı 1, ss. 1–10, Haziran, 2008.
- [8] S. Iqbal, S. Haleem, M. Akhtar, M. Zia-ul-Haq, ve J. Akbar, “Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions,” *Food Research International*, c. 41, sayı 2, 2008.
- [9] X. Zhao, X. Xiang, J. Huang, Y. Ma, J. Sun, ve D. Zhu, “Studying the Evaluation Model of the Nutritional Quality of Edible Vegetable Oil Based on Dietary Nutrient Reference Intake,” *American Chemical Society Omega*, c.6, sayı 10, ss.

6691–6698, Mart, 2021.

- [10] S. Khan, S. Choudhary, A. Pandey, M. K. Khan, G. Thomas, “Sunflower Oil: Efficient Oil Source for Human Consumption,” *Emergent Life Science Research*, c. 1, sayı 1, ss. 1–3, 2015.
- [11] L. F. Smith, J. Patterson, L. T. Walker, M. Verghese, "Chemopreventive potential of sunflower seeds in a human colon cancer cell line," *International Journal of Cancer Research*, c. 12, sayı 1, ss. 40-50, 2016.
- [12] Y. Nakajima, M. Shimazawa, S. Mishima ve H. Hara, “Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions,” *Life Science*, c. 80, sayı 4, ss. 370–377, Haziran, 2007.
- [13] A. K. Beena, A. Ks ve M. Tech, “Oxidative stability of sunflower oil on high temperature cooking,” *The Pharma Innovation*, c. 9, sayı 10, ss. 552-554, 2020.
- [14] B. Kottapalli, S. P. V. Nguyen, K. Dawson, K. Casulli, C. Knockenhauer, D. W. Schaffner, "Evaluating the risk of salmonellosis from dry roasted sunflower seeds," *Journal of Food Protection*, c.83, sayı 1, ss. 17-27, Haziran, 2020.
- [15] M. Kozłowska ve E. Gruczyńska, “Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts,” *Chemical Papers*, c. 72, sayı 10, ss. 2607–2615, Ekim, 2018.
- [16] A. Rohman ve Y. B. Che Man, “Quantification and classification of corn and sunflower oils as adulterants in olive oil using chemometrics and FTIR spectra,” *The Scientific World Journal*, c. 2012, 2012.
- [17] N. Şaki, M. Akın "Glikoz Yağ Asidi Esterlerinin Bitkisel Bazlı Yeilebilir Yağların Termal Bozunmasına Etkisi," *Journal of the Institute of Science and Technology*, c. 8, sayı 4, ss. 171-179, 2018.
- [18] C. Baltacıoğlu, “Farklı Kızartma Yöntemlerinin Bitkisel Yağların Oksidatif Stabilesini Üzerine Etkisi,” *Gıda the Journal Food*, c. 41 sayı 6, ss. 387-393, 2016.
- [19] F. N. Arslan, “ATR–FTIR Spectroscopy Combined With Chemometrics for Rapid Classification of Extra Virgin Olive Oils and Edible Oils From Different Cultivars Available on the Turkish Markets,” *Anadolu University Journal of Science and Technology a Applied Sciences and Engineering*, ss. 1–1, Aralık, 2018.
- [20] M. Vijayakumar, D. M. Vasudevan, K.R. Sundaram, S. Krishnan, K. Vaidyanathan, S. Nandakumar,

- R. Chandrasekhar ve N. Mathew, “A randomized study of coconut oil versus sunflower oil on cardiovascular risk factors in patients with stable coronary heart disease,” *Indian Heart Journal*, c. 68, sayı 4, ss. 498–506, Temmuz, 2016.
- [21] R. Rani, B. Sharma ve R. K. Sheoran, “Perspectives of Breeding for Altering Sunflower Oil Quality to Obtain Novel Oils,” *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, c. 6, sayı 8, ss. 949–962, 2017.
- [22] P. Zoumpoulakis, V. J. Sinanoglou, E. Siapi, G. Heropoulos ve C. Proestos, “Evaluating Modern Techniques for the Extraction and Characterisation of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds Phenolics,” *Antioxidants*, c. 6, sayı 3, ss. 46, Haziran, 2017.
- [23] B. Nieva-Echevarría, E. Goicoechea, M. J. Manzanos ve M. D. Guillén, “The influence of frying technique, cooking oil and fish species on the changes occurring in fish lipids and oil during shallow-frying, studied by ¹H NMR,” *Food Research International*, c. 84, ss. 150–159, Haziran, 2016.
- [24] D. Dana, M. M. Blumenthal ve I. S. Saguy, “The protective role of water injection on oil quality in deep fat frying conditions,” *European Food Research and Technology*, c. 217, sayı 2, ss. 104–109, Ağustos, 2003.
- [25] M. Rossi, C. Alamprese ve S. Ratti, “Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying,” *Food Chemistry*, c. 102, sayı 3, ss. 812–817, Haziran, 2007.
- [26] M. H. Oztop, S. Sahin ve G. Sumnu, “Optimization of microwave frying of potato slices by using Taguchi technique,” *Journal of Food Engineering*, c. 79, sayı 1, ss. 83–91, Mart, 2007.
- [27] M. Grootveld, M. D. Atherton, A. N. Sheerin, J. Hawkes, D. R. Blake, T. E. Richens, C. J. Silwood, E. Lynch, A. W. Claxson, “In vivo absorption, metabolism, and urinary excretion of α,β -unsaturated aldehydes in experimental animals. Relevance to the development of cardiovascular diseases by the dietary ingestion of thermally stressed polyunsaturate-rich culinary oils,” *The Journal of Clinical Investigation*, c. 101, sayı 6, ss. 1210–1218, Mart, 1998.
- [28] S. G. Stevenson, M. Vaisey-Genser ve N. A. M. Eskin, “Quality Control in the Use of Deep Frying Oils,” *Journal of the American Oil Chemists Society*, sayı 61, ss. 1102–1108, Haziran, 1984.
- [29] E. Choe ve D. B. Min, “Chemistry of deep-fat frying oils,” *Journal of Food Science*, c. 72, sayı 5, Haziran, 2007.
- [30] F. A. Aladedunye, “Natural antioxidants as stabilizers of frying oils,” *The*

European Journal of Lipi Science and Technology, c. 116, sayı 6, ss. 688–706, Haziran, 2014.

- [31] Y. Le Dréau, N. Dupuy, J. Artaud, D. Ollivier ve J. Kister, “Infrared study of aging of edible oils by oxidative spectroscopic index and MCR-ALS chemometric method,” *Talanta*, c. 77, sayı 5, ss. 1748–1756, Mart, 2009.
- [32] F. Shahidi, U. N. Wanasundara, “Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils,” *Food Science and Technology*, ss. 484–507, Nisan, 2002.
- [33] K. Miyashita, “Polyunsaturated lipid oxidation in aqueous systems,” *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, Biotechnology, Fourth Edition*, ss. 499–517, Haziran, 2017.
- [34] Z. S. Zhang, D. Li, L. X. Zhang, Y. L. Liu ve X. De Wang, “Heating effect on the DSC melting curve of flaxseed oil,” *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, c. 115, sayı 3, ss. 2129–2135, Mart, 2014.
- [35] S. Fereidoon ve Z. Ying, “Lipid oxidation and improving the oxidative stability,” *Chemical Society Reviews*, c. 39, sayı 11, ss. 4067–4079, Ekim, 2010.
- [36] F. B. Gonzaga ve C. Pasquini, “A new method for determination of the oxidative stability of edible oils at frying temperatures using near infrared emission spectroscopy,” *Analytica Chimica Acta*, c. 570, ss. 129–135, 2006.
- [37] M. Duman ve E. Özpolat, “Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage,” *Food Chemistry*, 2014.
- [38] G. Ambreen, A. Siddiq ve K. Hussain, “Association of long-term consumption of repeatedly heated mix vegetable oils in different doses and hepatic toxicity through fat accumulation,” *Lipids in Health and Disease*, c. 19, 2020.
- [39] C. Garrido-Polonio, M. C. Garcí’a-Linare, M. T. Garcí’a-Arias, S. Lo’pez-Varela, M. C. Garcí’a-Ferna’ndez, A. H. M. Terpstra, F. J. Sa’nchez-Muniz, “Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats,” *British Journal of Nutrition*, c. 92, ss. 257-265, 2004.
- [40] G. Ambreen, A. Siddiq, K. Hussain, A. S. Hussain ve Z. Naz, “Repeatedly heated mix vegetable oils-induced atherosclerosis and effects of *Murraya koenigii*,” *BMC Complementary Medicine and Therapies*, c. 20, sayı 1, ss. 222, Temmuz, 2020.
- [41] A. M. Pisoschi, G. P. Negulescu, “Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review.” *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 22, 2022.
- [42] Ş. Gökpınar, T. Koray, E. Akçiçek, T. Göksan, Y. Durmaz, “Algal

- Antioksidanlar,” *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, c. 23, s. 1, ss. 85–89, 2006.
- [43] W. Chaiyasit, R. J. Elias, D. J. McClements ve E. A. Decker, “Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, c. 47, sayı 3, ss. 299–317, Mart, 2007.
- [44] A. Romero, S. Bastida ve F. J. Sánchez-Muniz, “Cyclic fatty acids in sunflower oils during frying of frozen foods with oil replenishment,” *European Journal Lipid Science and Technology*, c. 109, sayı 2, ss. 165–173, Şubat, 2007.
- [45] H. A. Moharram, “Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review.” *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, c. 14, sayı 1, Haziran, 2017.
- [46] M. F. Ramadan-Hassanien, “Total antioxidant potential of juices, beverages and hot drinks consumed in Egypt screened by DPPH *in vitro* assay,” *Grasas y Aceites*, c. 59, sayı 3, ss. 254–259, Ekim, 2008.
- [47] A. Maqsoudlou, E. Assadpour, H. Mohebodini ve S. M. Jafari, “Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers,” *Advances in Colloid and Interface Science*, c. 278, ss. 102122, Nisan, 2020.
- [48] A. Zribi, H. Jabeur, B. Matthäus ve M. Bouaziz, “Quality control of refined oils mixed with palm oil during repeated deep-frying using FT-NIRS, GC, HPLC, and multivariate analysis,” *European Journal of Lipid Science and Technology*, c. 118, sayı 4, ss. 512–523, Nisan, 2016.
- [49] S. Schmidt and J. Pokorny, "Potential Application of Oilseeds as Sources of Antioxidants for Food Lipids-a Review," *Czech Journal of Food Sciences*, c. 23, sayı 3 ss. 93-102, 2005.
- [50] E. Coni, E. Podestà ve T. Catone, “Oxidizability of different vegetables oils evaluated by thermogravimetric analysis,” *Thermochimica Acta*, c. 418, sayı 1–2, ss. 11–15, Ağustos, 2004.
- [51] K. H. Wagner ve I. Elmadfa, "Effects of tocopherols and their mixtures on the Oxidative Stability of Olive il and Linseed Oil Under Heating," *European Journal of Lipid Science and Technology*, c. 201, ss. 624-629, 2000.
- [52] F. Blasi, G. Rocchetti, D. Montesano, L. lucini, G. Chiodelli, S. Ghisoni, G. Baaccolo, M. S. Simonetti, L. Cossignai, “Changes in extra-virgin olive oil added with *Lycium barbarum* L. carotenoids during frying: Chemical analyses and metabolomic approach,” *Food Research International*, c. 105, ss. 507–516, Mart, 2018.

- [53] A. A. Carelli, I. C. Franco ve G. H. Crapiste, "Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil," *Grasas y Aceites*, c. 56, sayı 4, ss. 303–310, Aralık, 2005.
- [54] R. S. Farag, G. S. El-Baroty ve A. M. Basuny, "The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil," *International Journal of Food Science & Technology*, c. 38, sayı 1, ss. 81–87, Ocak, 2003.
- [55] D. T. Ae ve V. Oreopoulou, "Defining the Role of Flavonoid Structure on Cottonseed Oil Stabilization: Study of A-and C-Ring Substitution," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, c. 84, ss. 129-136, 2007.
- [56] Z. Fang ve B. Bhandari, "Encapsulation of polyphenols - A review," *Trends Food Science Technology*, c. 21, sayı 10, ss. 510–523, Ekim, 2010.
- [57] G. Uğuz, A. E. Atabani, M. N. Mohammed, S. Shobana, S. Uğuz, G. Kumar, A. H. Al-Muhtaseb, "Fuel stability of biodiesel from waste cooking oil: A comparative evaluation with various antioxidants using FT-IR and DSC techniques," *Biocatalysis Agricultural Biotechnology*, c. 21, Ekim, 2019.
- [58] A. Şahan, "Farklı zamanlarda hasat edilen ekinezya (*Echinacea pallida*) bitkisinin biyoaktif özellikleri ve bitkisel yağların stabilitesi üzerine etkisi," Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2012.
- [59] N. Nenadis, I. Zafiropoulou ve M. Tsimidou, "Commonly used food antioxidants: A comparative study in dispersed systems," *Food Chemistry*, c. 82, sayı 3, ss. 403–407, 2003.
- [60] C. Gertz, "Optimising the baking and frying process using oil-improving agents," *European Journal of Lipid Science & Technology*, c. 106, sayı 11, ss. 736–745, Kasım, 2004.
- [61] M. Augustin ve S. Berry, "Efficacy of the Antioxidants BHA and BHT in Palm Olein During Heating and Frying," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, c. 60, sayı 8, ss. 1520-1523, 1983.
- [62] F. Shahidi, "Antioxidants in Food and Food Antioxidants," *Nahrung*, c. 44 sayı 3, ss. 158-163, 2000.
- [63] A. Pop, P. Florin Bolfă ve A.-L. Nagy, "Evaluation of the possible endocrine disruptive effect of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene and propyl gallate in immature female rats," *Farmacia*, c. 61, sayı 1, ss. 202-211, 2013.

- [64] V. de Oliveira Pateis, L. Bracht, L. dos Santos Castro, G. B. Franco Salla, J. F. Comar, A. Valderrama Parizotto, R. M. Peralta, A. Bracht, "The food additive BHA modifies energy metabolism in the perfused rat liver," *Toxicology Letters*, c. 299, ss. 191–200, Aralık, 2018.
- [65] E. A. Nera, F. Iverson, E. Lok, C. L. Armstrong, K. Karpinski ve D. B. Clayson, "A carcinogenesis reversibility study of the effects of butylated hydroxyanisole on the forestomach and urinary bladder in male fischer 344 rats," *Toxicology*, c. 53, sayı 2–3, ss. 251–268, Aralık, 1988.
- [66] R. S. Lanigan, T. A. Yamarik ve F. A. Andersen, "Final report on the safety assessment of BHT," *International Journal of Toxicology*, c. 21, sayı 2. ss. 19–94, Ekim, 2002.
- [67] V. Labrador, P. Fernández Freire, J. Pérez Martín ve M. Hazen, "Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole in Vero cells," *Cell Biology Toxicology*, c. 23, ss. 189–199, 2007.
- [68] M. Saito, H. Sakagami ve S. Fujisawa, "Cytotoxicity and apoptosis induction by butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT).," *Anticancer Research*, c. 23, sayı 6C, ss. 4693–4701, Kasım, 2003.
- [69] D. Wang, W. Fan, Y. Guan, H. Huang, T. Yi ve J. Ji, "Oxidative stability of sunflower oil flavored by essential oil from *Coriandrum sativum* L. during accelerated storage," *LWT*, c. 98, ss. 268-275, 2018.
- [70] M. G. Lindley, "The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetables," *Food Science & Technology*, c. 9, ss. 336-340, 1998.
- [71] A. Moure, J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, M. J. Nunez, J. C. Parajo, "Natural antioxidants from residual sources," *Food Chemistry*, c. 72, sayı 2, ss. 145–171, 2001.
- [72] J. K. S. Andrade, M. Denadai, C. S. de Oliveira, M. L. Nunes ve N. Narain, "Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region," *Food Research International*, c. 101, 2017.
- [73] A. Dausch, C. S. Moraes, P. Fort ve Y. K. Park, "Brazilian Red Propolis-Chemical Composition and Botanical Orijin", *Advance Access Publication*, c. 5, sayı 4, ss. 435–441, 2007.
- [74] F. Pellati, G. Orlandini, D. Pinetti ve S. Benvenuti, "HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, c. 55, sayı 5, ss. 934–948, Temmuz,

2011.

- [75] S. Castaldo ve F. Capasso, "Propolis, an old remedy used in modern medicine," *Fitoterapia*, c. 73, ss. 1-6, 2002.
- [76] S. Silici ve S. Kutluca, "Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region," *Journal of Ethnopharmacology*, c. 99, sayı 1, ss. 69-73, Mayıs, 2005.
- [77] A. Azemin, N. B. Md-Zin, M. M. Mohd-Rodi, A. S. Kim-Chee, A. J. Zakaria ve K. S. Mohd, "Application of metabolite profiling and antioxidant activity in assessing the quality of processed and unprocessed stingless bee's propolis," *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, c. 9, sayı 2S, ss. 637, Ocak, 2018.
- [78] G. M. S. Gonçalves, S. M. Srebernich ve J. A. de M. Souza, "Stability and sensory assessment of emulsions containing propolis extract and/or tocopheryl acetate," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 47, sayı 3, ss. 585-592, Temmuz, 2011.
- [79] M. R. Ahn, S. Kumazawa, T. Hamasaka, K. S. Bang ve T. Nakayama, "Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Korea," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 52, sayı 24, ss. 7286-7292, Aralık, 2004.
- [80] S. M. Rizk, H. F. Zaki ve M. A. M. Mina, "Propolis Attenuates Doxorubicin-Induced Testicular Toxicity in Rats," *Food and Chemistry Toxicology*, c. 67, ss. 176-186, Mayıs, 2014.
- [81] S. Singla, N. Kumar, J. Kaur, "In vivo studies on the protective effect of propolis on doxorubicin-induced toxicity in liver of male rats," *Toxicology International*, c. 21, sayı 2, ss. 191-195, 2014.
- [82] A. Uzel, K. Sorkun, Ö. Öncü, D. Çoğulu, Ö. Gençay ve B. Salih, "Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples," *Microbiology Research*, c. 160, sayı 2, ss. 189-195, Nisan, 2005.
- [83] V. Bankova, M. Popova ve B. Trusheva, "Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review," *Chemistry Central Journal*, c. 8, sayı 1, Mayıs, 2014.
- [84] P. G. Rasgele ve M. Kekecoglu, "Investigation of Phenolic Content of Propolis Produced in Yigilca District of Duzce Province in Western Black Sea Region of Turkey Türkiye'nin Batı Karadeniz Bölgesinde Düzce İli Yığılca İlçesinde Üretilen Propolisin Fenolik İçeriğinin Araştırılması," *Journal of Apitherapy and Nature*, c. 1, sayı 2, ss. 20-28, 2018.

- [85] V. S. Bankova, S. L. De Castro ve M. C. Marcucci, "Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin," *Apidologie*, c. 31, s. 1, 2000.
- [86] N. Oršolić ve I. Bašić, "Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: A factor of antitumor reactivity," *Journal of Ethnopharmacology*, c. 84, sayı 2-3, ss. 265-273, Şubat, 2003.
- [87] R. Cauich-Kumul ve M. R. Segura Campos, "Bee Propolis: Properties, Chemical Composition, Applications, and Potential Health Effects," *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*, ss. 227–243, Ocak, 2019.
- [88] T. Nguyen ve A. D. Agrawal, "Pharmacological Activities of Flavonoids: A Review," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, c. 4, sayı 2, ss. 1394-1398, 2011.
- [89] M. P. Kähkönen, A. I. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala, M. Heinonen, "Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 47, sayı 10, ss. 3954–3962, Ekim, 1999.
- [90] M. Viuda-Martos, Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, and J. A. Pérez-Álvarez, "Functional properties of honey, propolis, and royal jelly," *Journal of Food Science*, c. 73, sayı 9, Kasım, 2008.
- [91] H. Taheri, H. Rahmani ve J. Pourreza, "Effect of Dietary Oil Extract of Propolis on Immune Response and Broiler Performance," *Pakistan Journal of Biological Sciences*, c. 8, sayı 10, ss. 1485-1490, 2005.
- [92] A. Kurek-Górecka, A. Rzepecka-Stojko, M. Górecki, J. Stojko, M. Sosada ve G. Swierczek-Zieba, "Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis," *Molecules*, c. 19, sayı 1, 2014.
- [93] N. Baltas, O. Yildiz ve S. Kolayli, "Inhibition properties of propolis extracts to some clinically important enzymes," *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, c. 31, 2016.
- [94] R. Socha, D. Gałkowska, M. Bugaj ve L. Juszczak, "Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland," *Natural Product Research*, c. 29, sayı 5, 2015.
- [95] A. Siger, M. Nogala-Kalucka ve E. Lampart-Szczapa, "The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils," *Journal Food Lipids*, c. 15, sayı 2, ss. 137–149, Mayıs, 2008.
- [96] S. Buratti, S. Benedetti ve M. S. Cosio, "Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis," *Talanta*,

c. 71, sayı 3, ss. 1387–1392, Şubat, 2007.

- [97] F. C. Da Silva, C. R. da Fonseca, S. M. de Alencar, M. Thomazini, J. C. de Carvalho Balieiro, P. Pittia, C. S. Favaro-Trindade, “Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems,” *Food and Bioproducts Processing*, c. 91, sayı 1, ss. 28–36, Ocak, 2013.
- [98] S. M. Cottica, H. Sabik, D. Bélanger, H. J. Giroux, J. V. Visentainer ve M. Britten, “Use of propolis extracts as antioxidant in dairy beverages enriched with conjugated linoleic acid,” *European Food Research Technology*, c. 241, sayı 4, ss. 543–551, Ekim, 2015.
- [99] P. A. Ulloa, J. Vidal, M. I. Ávila, M. Labbe, S. Cohen ve F. N. Salazar, “Effect of the addition of propolis extract on bioactive compounds and antioxidant activity of craft beer,” *Journal of Chemistry*, c. 2017, 2017.
- [100] A. Luis-Villaroya, L. Espina, D. García-Gonzalo, S. Bayarri, C. Pérez ve R. Pagán, “Bioactive properties of a propolis-based dietary supplement and its use in combination with mild heat for apple juice preservation,” *International Journal of Food Microbiology*, c. 205, 2015.
- [101] A. Vasilaki, M. Hatzikamari, A. Stagkos-Georgiadis, A. M. Goula ve I. Mourtzinou, “A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage,” *Food Chemistry*, c. 298, ss. 125080, Kasım, 2019.
- [102] M. S. Santos, L. M. Estevinho, C. Alfero, L. Carvalho, J. Morais, A. Leandro, S. Conceição, V. B. Paula, K. Magalhaes-Guedes, R. C. C. Almeida, “Probiotic Yogurt with Brazilian Red Propolis: Physicochemical and Bioactive Properties, Stability, and Shelf Life,” *Journal of Food Science*, c. 84, sayı 12, 2019.
- [103] İ. Uçak, “Propolis Ekstraktı ile Zenginleştirilmiş Balık Yağında Lipit Oksidasyonu Düzeyinin Belirlenmesi,” *The Journal of Food*, c. 43, sayı 3, ss. 523–532, 2018.
- [104] T. Mehdizadeh ve A. Mojaddar Langroodi, “Chitosan coatings incorporated with propolis extract and Zataria multiflora Boiss oil for active packaging of chicken breast meat,” *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 141, 2019.
- [105] R. D. Vargas-Sánchez, G. R. Torrescano-Urrutia, E. Acedo-Felix, E. Carvajal-Millan, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Gallang, M. J. Torres-Llanez, A. Sánchez-Escalante, “Antioxidant and antimicrobial activity of commercial propolis extract in beef patties,” *Journal of Food Science*, c. 79, sayı 8, 2014.
- [106] Z. Q. Chang, W. Leong ve L. S. Chua, “Statistical approach to reveal propolis as a

- potential biopreservative for fruit juices,” *Future Foods*, c. 4, 2021.
- [107] Y. Irigoiti, A. Navarro, D. Yamul, C. Libonatti, A. Tabera ve M. Basualdo, “The use of propolis as a functional food ingredient: A review,” *Trends in Food Science and Technology*, c. 115, 2021.
- [108] Z. Mouhoubi-Tafinine, S. Ouchemoukh ve A. Tamendjari, “Antioxydant activity of some algerian honey and propolis,” *Industrial Crops and Products*, c. 88, 2016.
- [109] D. Harvey, “Analytical Chemistry” sayı 2.1, ss. 6–7, 2016.
- [110] B. Smith, “Infrared spectral interpretation: A systematic approach,” *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*, ss. 1–304, Şubat, 2018.
- [111] D. Freifelder, “Physical biochemistry : applications to biochemistry and molecular biology,” sayı 761, 1982.
- [112] F. Siebert ve P. Hildebrandt, “Vibrational Spectroscopy in Life Science,” Kasım, 22, 2022.
- [113] T. R. Augusto-Obara, J. de Oliveira, E. M. da Gloria, M. H. Fileto, Spoto, K. Godoy, T. M. F. de Souza Vieira, “Benefits of superfine grinding method on antioxidant and antifungal characteristic of Brazilian green propolis extract,” *Journal of Agricultural Science*, c. 76, sayı 5, 2019.
- [114] A. Marcelli, A. Cricenti, W. M. Kwiatak ve C. Petibois, “Biological applications of synchrotron radiation infrared spectromicroscopy,” *Biotechnology Advances*, c. 30, sayı 6, ss. 1390–1404, Kasım, 2012.
- [115] R. H. Sills, D. J. Moore ve R. Mendelsohn, “Erythrocyte peroxidation: Quantitation by fourier transform infrared spectroscopy,” *Analytical Biochemistry*, c. 218, sayı 1, ss. 118–123, 1994.
- [116] F. Severcan, N. Toyran, N. Kaptan ve B. Turan, “Fourier transform infrared study of the effect of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region,” *Talanta*, c. 53, sayı 1, ss. 55–59, Ekim, 2000.
- [117] S. B. Akkas, M. Severcan, O. Yilmaz ve F. Severcan, “Effects of lipoic acid supplementation on rat brain tissue: An FTIR spectroscopic and neural network study,” *Food Chemistry*, c. 105, s. 3, ss. 1281–1288, 2007.
- [118] C. Uğuz, G. Çakmak, I. Togan ve F. Severcan, “FT-IR Spectroscopic Analysis of Rainbow Trout Liver Exposed to Nonylphenol,” *Applied Spectroscopy*. c. 57, sayı 7, ss. 835–841, Temmuz, 2003.

- [119] G. Cakmak-Arslan, H. Haksoy, P. Goc-Rasgele ve M. Kekecoglu, "Determination of the dose-dependent toxic effects of mad honey on mouse liver using ATR-FTIR spectroscopy," *Spectrochimica Acta - Part A Molecular Biomolecular Spectroscopy*, c. 228, sayı 117719, Mart. 2020.
- [120] O. Bozkurt, M. D. Bilgin ve F. Severcan, "The effect of diabetes mellitus on rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue: An FTIR study," *Spectroscopy*, c. 21, sayı 3, ss. 151–160, Ocak, 2007.
- [121] G. Cakmak-Arslan, "Monitoring of Hazelnut oil quality during thermal processing in comparison with extra virgin olive oil by using ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometrics," *Spectrochimica Acta - Part A Molecular Biomolecular Spectroscopy*, c. 266, 2022.
- [122] M. Mahboubifar, B. Hemmateenejad, K. Javidnia ve S. Yousefinejad, "Evaluation of long-heating kinetic process of edible oils using ATR-FTIR and chemometrics tools," *Journal of Food Science and Technology*, c. 54, sayı 3, ss. 659–668, Mart, 2017.
- [123] M. Poiana, G. Mousdis, C. Georgiou, E. Alexa, D. Moigradean ve I. Cocan, "Detection of thermal processing impact on olive and sunflower oil quality by FTIR spectroscopy," *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, c. 19, sayı 1, ss. 48-56, 2013.
- [124] M. A. Poiana, E. Alexa, M. F. Munteanu, R. Gligor, D. Moigradean ve C. Mateescu, "Use of ATR-FTIR spectroscopy to detect the changes in extra virgin olive oil by adulteration with soybean oil and high temperature heat treatment," *Open Chemistry*, c. 13, sayı 1, ss. 689–698, Ocak, 2015.
- [125] H. Ciemnińska-Żytkiewicz, J. Bryś, K. Sujka ve P. Koczoń, "Assessment of the Hazelnuts Roasting Process by Pressure Differential Scanning Calorimetry and MID-FT-IR Spectroscopy," *Food Analytical Methods*, c. 8, sayı 10, ss. 2465–2473, Kasım, 2015.
- [126] D. Moigradean, M.-A. Poiana ve I. Gogoasa, "Quality characteristics and oxidative stability of coconut oil during storage," *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, c. 18, sayı 4, ss. 272–276, 2012,
- [127] P. Durmaz, "Medikal Uygulamalar için selüloz Üretimi," Yüksek Lisans Tezi, Kimya, Fen Bilimleri Enstitüsü, İnönü Üniversitesi, 2020.
- [128] Y. Yılmaz, "Eskişehir yöresi sepiyoliti'nin termal özelliklerinin incelenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Fizik, Fen Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, 2007.
- [129] B. D. Pollard, "Principles of Instrumental Analysis (D. A. Skoog, D. M. West),"

- [130] D. Çoban Özkan, "Design, Production and Industrial Applications of Ferroelekctric Photovoltaic Cells," Doktora tezi, Makine Mühendisliği, Fen Bİlimleri ve Uygulamalı Bilimler Tezi, Celal Bayer Üniversitesi, Manisa, 2021.
- [131] M. Wesołowski ve J. Erecińska, "Thermal analysis in quality assessment of rapeseed oils," *Thermochimica Acta*, c. 323, sayı 1–2, ss. 137–143, Aralık, 1998.
- [132] J. Li, J. Liu, X. Sun ve Y. Liu, "The mathematical prediction model for the oxidative stability of vegetable oils by the main fatty acids composition and thermogravimetric analysis," *LWT*, c. 96, ss. 51–57, Ekim, 2018.
- [133] N. H. Jayadas, "Evaluation of the oxidative properties of vegetable oils as base stocks for industrial lubricants using spectroscopic and thermogravimetric analyses," *Journal of Synthetic Lubrication*, c. 25, sayı 3, ss. 105–113, Temmuz, 2008.
- [134] J. Dweck ve C. M. S. Sampaio, "Analysis of the thermal decomposition of commercial vegetable oils in air by simultaneous TG/DTA," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2004 752, c. 75, sayı 2, ss. 385–391, 2004.
- [135] I. Hrušovský, J. Martinka, C. Tomáš ve T. Chrebet, "Evaluation of thermal oxidation of vegetable oils by the means of safety calorimeter SEDEX," *European Journal of Environmental and Safety Sciences*, c. 1, sayı 1, ss. 13–17, 2013.
- [136] J. C. O. Santos, I. M. G. Dos Santos, A. G. De Souza, S. Prasad ve A. V. Dos Santos, "Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry," *Journal Food Science*, v. 67, sayı 4, ss. 1393–1398, Mayıs, 2002.
- [137] S. Vecchio Ciprioti, M. Paciulli ve E. Chiavaro, "Application of different thermal analysis techniques to characterize oxidized olive oils," *European Journal of Lipid Science and Technology*, c. 119, sayı 1, Ocak, 2017.
- [138] S. Arora, R. Bagoria ve M. Kumar, "Effect of alpha-tocopherol (vitamin E) on the thermal degradation behavior of edible oils: Multiple-heating rate kinetics," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, c. 102, sayı 1, ss. 375–381, Ekim, 2009.
- [139] O. Forero-Doria, Jaime Gallego, O. Valdes, C. Pinzon-Topal, L. S. Santos, L. Guzmán, "Relationship between oxidative stability and antioxidant activity of oil extracted from the peel of *Mauritia flexuosa* fruits," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetr*, c. 123, ss. 2173-2178, 2016.

- [140] K. Subramanian, "A Comprehensive Study on Thermal Degradation of Selective Edible Vegetable Oils By Simultaneous Thermogravimetric and Differential Thermal Analyses." *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, c. 11, sayı 9, ss. 3201-3209, 2019.
- [141] M. Rizvi, H. Gerengi, M. Yildiz, M. Kekecoglu ve M. M. Pehlivan, "Investigation of 'propolis' as a green inhibitor of SAE 1010 carbon steel corrosion in 3.5% NaCl environment," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, c. 59, sayı 19, ss. 9328–9339, Mayıs, 2020.
- [142] R. Aliyazcoglu, H. Sahin, O. Erturk, E. Ulusoy ve S. Kolayli, "Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey," *International Journal of Food Properties*, c. 16, sayı 2, 2013.
- [143] V. L. Singleton, J. A. Rossi Jr., ve Rossi J A Jr., "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents," *American Journal of Enology and Viticulture*, c. 16, sayı 3, 1965.
- [144] S. Chandra, S. Khan, B. Avula, H. Lata, M. H. Yang, M. A. ElSohly, I. A. Khan, "Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, c. 2014, 2014.
- [145] D. S. Dezmirean ve A. R. Moise, "DPPH Method for evaluation of propolis antioxidant activity," *Journal Animal Science and Biotechnologies*, c. 66, sayı 1-2, 2009.
- [146] Y. Yang, X. Song, X. Sui, B. Qi, Z. Wang, Y. Li, L. Jiang, "Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability," *Industrial Crops and Products*, c. 80, 2016.
- [147] E. Yilmaz, B. Aydeniz, "Quantitative assessment of frying oil quality in fast food restaurants," *Journal of Food*, c. 36 ss. 121-127, 2011.
- [148] S. Saoudi, N. Chammem, I. Sifaoui, M. Bouassida-BejiI. A. Jimenez, I. L. Bazzocchi, S. D. Silva M. Hamdi, M. R. Bronze, "Influence of Tunisian aromatic plants on the prevention of oxidation in soybean oil under heating and frying conditions," *Food Chemistry*, c. 2012 ss. 503-511, 2016.
- [149] S. A. Smith, R. E. King ve D. B. Min, "Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil," *Food Chemistry*, c. 102 ss. 1208-1213, 2007.
- [150] N. Buta, N. Popa, I. Roman, G. Bordea, A. Bordea, N. Bordea, M. A. Poiana, T. I.

- Traşça, “The antioxidant effect of *Melissa officinalis* extract regarding the sunflower oil used in food thermal applications,” *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, c. 19, sayı 2, ss. 276–279, 2013.
- [151] M. Antônio, P. Muniz, M. NF. dos Santos, C. Emmerson, F. da Costa, L. Morais, M. L. Nobre Lamarao, R. M. Ribeiro-Costa, J. O. Carrera Silva-Junior, “Physicochemical characterization, fatty acid composition, and thermal analysis of *Bertholletia excelsa* HBK oil,” c. 11, sayı 41, ss. 147-151, 2015.
- [152] O. Erel, “A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation,” *Clinical Biochemistry*, c. 37, sayı 4, ss. 277–285, Nisan, 2004.
- [153] M. Kosecik, O. Erel, E. Sevinc ve S. Selek, “Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking,” *International Journal of Cardiology*, c. 100, sayı 1, ss. 61–64, Nisan, 2005.
- [154] M. Yumru, H. A. Savas, A. Kalenderoglu, M. Bulut, H. Celik ve O. Erel, “Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: A comparative study,” *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, c. 33, sayı 6, ss. 1070–1074, Ağustos, 2009.
- [155] G. Ozulku, R. M. Yildirim, O. S. Toker, S. Karasu ve M. Z. Durak, “Rapid detection of adulteration of cold pressed sesame oil adulterated with hazelnut, canola, and sunflower oils using ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometric,” *Food Control*, c. 82, ss. 212–216, Aralık, 2017.
- [156] C. Castro, R. Maria, V. Bôas, C. Leite, “Main aspects of sunflower production in Brazil,” *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, c. 25, sayı 1, ss. D104, Ocak, 2018.
- [157] R. Rani, B. Sharma ve R. K. Sheoran, “Perspectives of Breeding for Altering Sunflower Oil Quality to Obtain Novel Oils,” *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, c. 6, sayı 8, ss. 949–962, 2017.
- [158] T. E. Clemente ve E. B. Cahoon, “Soybean Oil: Genetic Approaches for Modification of Functionality and Total Content,” *Plant Physiology*, c. 151, sayı 3, ss. 1030–1040, Kasım, 2009.
- [159] M. D. Guillen ve N. Cabo, “Some of the most significant changes in the Fourier transform infrared spectra of edible oils under oxidative conditions,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, c. 80, sayı 14, 2000.
- [160] M. D. Guillén ve N. Cabo, “Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils,” *Food Chemistry*, c. 77, sayı 4, ss. 503–510, Haziran, 2002.

- [161] N. Tena, R. Aparicio-Ruiz ve D. L. García-González, "Use of polar and nonpolar fractions as additional information sources for studying thermoxidized virgin olive oils by FTIR," *Grasas y Aceites*, c. 65, sayı 3, 2014.
- [162] F. R. van de Voort, A. A. Ismail, J. Sedman ve G. Emo, "Monitoring the oxidation of edible oils by Fourier transform infrared spectroscopy," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, c. 71, sayı 3, 1994.
- [163] M. Udovičić, K. Baždarić, L. Bilić-Zulle ve M. Petrovečki, "Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije?," *Biochemia Medica*, c. 17, s. 1, ss. 10–15, Haziran, 2007.
- [164] E. Choe ve D. B. Min, "Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation." *Comprehensive Food Science and Food Safety*, c. 5, sayı 4, ss. 169-186, 2006.
- [165] J. C. O. Santos, I. M. G. Santos, M. M. Conceição, S. L. Porto, M. F. S. Trindade, A. G. Souza, S. Prasad, V. J. Fernandes Jr. ve A. S. Araújo, "Thermoanalytical, Kinetic and Rheological Parameters of Commercial Edible Vegetable Oils," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, c. 75, ss. 419–428. 2004.
- [166] T. Wang, Y. Jiang ve E. G. Hammond, "Effect of randomization on the oxidative stability of corn oil," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, c. 82, sayı 2, ss. 111–117, 2005.
- [167] R. A. Hancock, N. J. Leeves ve P. F. Nicks, "Studies in autoxidation: Part I. The volatile by-products resulting from the autoxidation of unsaturated fatty acid methyl esters," *Progress in Organic Coatings*, c. 17, sayı 3, ss. 321–336, Aralık, 1989.
- [168] D. N. Raba, D. R. Chambre, D. M. Copolovici, C. Moldovan ve L. O. Copolovici, "The influence of high-temperature heating on composition and thermo-oxidative stability of the oil extracted from Arabica coffee beans," *PLoS One*, c. 13, sayı 7, Tammuz, 2018.
- [169] S. Jain ve M. P. Sharma, "Application of thermogravimetric analysis for thermal stability of *Jatropha curcas* biodiesel," *Fuel*, c. 93, ss. 252–257, Mart, 2012.
- [170] V. da Costa Silva, T. Nascimeto, N. Mergulhão, J. D. Freitas, I. F. B. Duarte, L. C. G. de Bulhões, C. B. Dornelas, J. X. de Araújo, J. dos Santos, A. C. A. Silva, I. D. Basílio, M. O. F. Goulart, "Development of a Polymeric Membrane Impregnated with Poly-Lactic Acid (PLA) Nanoparticles Loaded with Red Propolis (RP)," *Molecules*, c. 27, sayı 20, 2022.
- [171] J. Velasco ve C. Dobarganes, "Oxidative stability of virgin olive oil," *European Journal of Lipid Science and Technology*, c. 104, sayı 9–10, ss. 661–676, 2002.

- [172] I. P. Román Falcó, N. Grané Teruel, S. Prats Moya ve M. L. Martín Carratalá, “Kinetic study of olive oil degradation monitored by fourier transform infrared spectrometry. Application to oil characterization,” *Journal of Agricultural Food Chemistry*, c. 60, sayı 47, ss. 11800–11810, Kasım, 2012.
- [173] N. Vlachos, Y. Skopelitis, M. Psaroudaki, V. Konstantinidou, A. Chatzilazarou, ve E. Tegou, “Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils,” *Analytica Chimica Acta*, ss. 573–574, 2006.
- [174] R. C. Pinto, N. Locquet, L. Eveleigh ve D. N. Rutledge, “Preliminary studies on the mid-infrared analysis of edible oils by direct heating on an ATR diamond crystal,” *Food Chemistry*, c. 120, sayı 4, ss. 1170–1177, Haziran, 2010.
- [175] M. A. Moharam ve L. M. Abbas, “A study on the effect of microwave heating on the properties of edible oils using FTIR spectroscopy,” *African Journal of Microbiology Research*, c. 4, sayı 19, 2010.
- [176] E. Hong, S. Y. Lee, J. Y. Jeong, J. M. Park, B. H. Kim, K. Kwon, H. S. Chun, “Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category,” *Journal of the Science of Food Agricultural*, c. 97, sayı 12, ss. 3877–3896, Ekim, 2017.
- [177] R. Jamwal, S. Kumari, B. Balan, A. S. Dhaulaniya, S. Kelly, A. Cannavan, D. K. Singh, “Attenuated total Reflectance-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy coupled with chemometrics for rapid detection of argemone oil adulteration in mustard oil,” *LWT*, c. 120, Şubat, 2020.
- [178] R. Jamwal, S. Kumari, S. Sharma, S. Kelly, A. Cannavan, D. K. Singh, “Recent trends in the use of FTIR spectroscopy integrated with chemometrics for the detection of edible oil adulteration,” *Vibrational Spectroscopy*, c. 113, Mart, 2021.
- [179] R. Romano, G. Filosa, F. Pizzolongo, A. Durazzo, M. Lucarini, P. Severino, E. B. Souto, A. Santini, “Oxidative stability of high oleic sunflower oil during deep-frying process of purple potato Purple Majesty,” *Heliyon*, c. 7, sayı 3, 2021.
- [180] M. Neves, A. Miranda, M. F. L. Lemos, S. Silva ve C. Tecelão, “Enhancing oxidative stability of sunflower oil by supplementation with prickled broom (*Pterospartum tridentatum*) ethanolic extract,” *Journal of Food Science*, c. 85, sayı 9, 2020.
- [181] A. Szterk, M. Roszko, E. Sosińska, D. Derewiaka ve P. P. Lewicki, “Chemical composition and oxidative stability of selected plant oils,” *Journal of the American Oil Chemists' Society*, c. 87, sayı 6, 2010.
- [182] M. Al Amin, M. A. Ali, M. S. Alam, A. Nahar ve S. C. Chew, “Oxidative

- degradation of sunflower oil blended with roasted sesame oil during heating at frying temperature,” *Grain Oil Science and Technology*, c. 6, sayı 1, ss. 34–42, Mart, 2023.
- [183] B. Aşkın ve Y. Kaya, “Effect of deep frying process on the quality of the refined oleic/ linoleic sunflower seed oil and olive oil,” *Journal of Food Science and Technology*, c. 57 sayı 12, ss. 4716-4725, Aralık, 2020.
- [184] J. Garrido, A. Gaspar, E. M. Garrido, R. Miri, M. Tavakkoli, S. Pourali, L. Saso, F. Borges, O. Firuzi, "Alkyl esters of hydroxycinnamic acids with improved antioxidant activity and lipophilicity protect PC12 cells against oxidative stress." *Biochimie*, c. 94, ss. 961-967, 2012.
- [185] A. Özkök, M. Keskin, A. E. Tanuğur Samancı, E. Yorulmaz Önder ve Ç. Takma, “Determination of antioxidant activity and phenolic compounds for basic standardization of Turkish propolis,” *Applied Biological Chemistry*, c. 64, sayı 1, 2021.
- [186] S. Silici, “Farklı Botanik Orijine Sahip Propolis Örneklerinde Biyolojik Olarak Aktif Bileşiklerin Belirlenmesi,” *Erciyes Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Dergisi*, c. 24, sayı 1–2, 2008.
- [187] M. Keskin, S. Kolaylı, "Propoliste Standardizasyon Mümkün Mü?," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 18, sayı 2, ss. 101-110, 2018.
- [188] T. Ozdal, F. D. Ceylan, N. Eroglu, M. Kaplan, E. O. Olgun ve E. Capanoglu, “Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis,” *Food Research International*, c. 122, 2019.
- [189] D. S. Dezmirean ve A. R. Moise, “DPPH Method for evaluation of propolis antioxidant activity,” *Bulletin USAMV*, C. 66, ss. 253-258, 2009
- [190] N. L. Rosli, H. Roslan, E. A. Omar, N. Mokhtar, N. H. A. Hapit ve N. Asem, “Phytochemical analysis and antioxidant activities of Trigona Apicalis propolis extract,” *AIP Conference Proceedings*, c. 1791, Aralık, 2016.
- [191] F. Y. Al-Juhaimi, M. M. Özcan, I. A. Ahmed, O. N. Alsawmahia, M. M. Özcan, K. Ghafoor, E. E. Babiker, “Bioactive compounds, antioxidant activity, fatty acid composition, and antimicrobial activity of propolis from different locations in Turkey,” *Journal of Apicultural Research*, c. 61, sayı 2, 2022.
- [192] M. Pazos, J. Iglesias, R. Maestre ve I. Medina, “Structure-activity relationships of polyphenols to prevent lipid oxidation in pelagic fish muscle,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 58, sayı 20, 2010.

- [193] K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, and D. Hawkins Byrne, "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts," *Journal of Food Composition and Analysis*, c. 19, ss. 669–675, 2006.
- [194] E. N. Frankel ve A. S. Meyer, "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, c. 80, sayı 13. 2000.
- [195] M. I. Orozco-Solano, F. Priego-Capote ve M. D. Luque De Castro, "Influence of simulated deep frying on the antioxidant fraction of vegetable oils after enrichment with extracts from olive oil pomace," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 59, sayı 18, 2011.
- [196] E. N. Frankel, "Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality," in *Food Chemistry*, c. 57, sayı 1, 1996.
- [197] A. Perez-Herrera, O. A. Rangel- Zuñiga, J. Delgado-Lista, C. Marin, P. Perez-Martinez, I. Tunez, G. M. Quintana-Navarro, F. Lopez-Segura ve M. D. Luque de Castro, "The antioxidants in oils heated at frying temperature, whether natural or added, could protect against postprandial oxidative stress in obese people," *Food Chemistry*, c. 138, sayı 4, ss. 2250–2259, Haziran, 2013.
- [198] Y. B. C. Man ve I. Jaswir, "Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying," *Food Chemistry*, c. 69, ss. 301-307, Haziran, 2022.
- [199] D. P. Houhoula, V. Oreopoulou ve C. Tzia, "Antioxidant efficiency of oregano during frying and storage of potato chips," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, c. 83, sayı 14, 2003.

ÖZGEÇMİŞ

I. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Kübra GÜLŞEN

Yabancı Dili :

II. ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Moleküler Biyofizik	Düzce Üniversitesi	2023
Lisans	Biyoloji	Kocaeli Üniversitesi	2020
Lise		Gebze Atatürk Anadolu Lisesi	2016

III. PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER

- Fındık Yağının Oksidatif Stabilitesi Üzerine Propolisin Olası Koruyucu Etkilerinin Diğer Yemelik Yağlarla Karşılaştırılmalı Olarak Araştırılması, BAP Projesi, Proje No: 2021.05.01.1249 (**Araştırmacı**) (16.08.2021-16.08.2022)

IV. YAYINLAR

A. ULUSLARARASI SCI, SCI-E, SSCI, AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

- Gulsen K., Cakmak-Arslan G., “Evaluation of the antioxidant effect of propolis on thermal oxidation of sunflower oil using ATR-MIR spectroscopy”, Chemical Papers, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11696-023-02893-2>

B. ULUSAL BİLİMSEL ETKİNLİKLERDE SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA YAYINLANAN BİLDİRİ ÖZETLERİ

1) SÖZLÜ SUNUMLAR

- **Gülşen K., Çakmak-Arslan G.**, “Türkiye’de Yaygın Olarak Tüketilen Bitkisel Yağların Oksidatif Stabilitésinin Kızıl Ötesi Spektroskopisi ile Karşılaştırılması” **14. Türk Gıda Kongresi, 19-21 Ekim 2022, Türkiye.**

C. ULUSAL BİLİMSEL ETKİNLİKLERDE SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA YAYINLANAN TAM METİN BİLDİRİ

1) SÖZLÜ SUNUMLAR

- **Gülşen K., Çakmak-Arslan G.,** “Propolisin Ayçiçek Yağındaki Trans Yağ Asiti Oluşumu Üzerindeki Koruyucu Etkisinin Değerlendirilmesi” **Anadolu 12. Uluslararası Uygulamalı Bilimler Kongresi, 26-28 Mayıs 2023, Diyarbakır.**

