

**VIŞNE ÇEKİRDEĞİ ATIKLARININ GIDA
İNGREDİYENİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**EVALUATION OF THE SOUR CHERRY SEED WASTES
AS A SOURCE OF FOOD INGREDIENT**

CEMİLE YILMAZ

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Yaşar Kemal Erdem

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Vural Gökmen

Üye : Prof. Dr. Dilek Sivri Özay

Üye : Doç. Dr. Ali Topçu

Üye : Yrd. Doç Dr. K. Savaş Bahçeci

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

VIŞNE ÇEKİRDEĞİ ATIKLARININ GIDA İNGREDİYENİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Cemile Yılmaz

ÖZ

Bu çalışmada, vişnenin meyve suyu ve reçel gibi ürünlere işlenmesi sırasında atık materyal olarak ortaya çıkan vişne çekirdeğinin gıda ingrediyesi olarak değerlendirilmesi araştırılmıştır. Tez kapsamında kullanılan vişne çekirdekleri, Mersin yöresindeki bir meyve suyu işletmesinden temin edilmiştir. Vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonu belirlendiğinde, yüksek orandaki besinsel lif (% 30), protein (% 29) ve yağ (% 17) içeriği, vişne çekirdeğinin değerlendirilebilir bir yan ürün olduğu sonucunu vermektedir. Ayrıca vişne çekirdeğinin yüksek oranda yağ içermesi, vişne çekirdeği yağının daha ayrıntılı incelenmesini gerektirmiştir. Bu nedenle vişne çekirdeği yağı organik solvent ekstraksiyonu (hekzan ve etanolla modifiye edilmiş hekzan) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (süperkritik karbondioksit ve etanolla modifiye edilmiş süperkritik karbondioksit) kullanılarak elde edilmiş ve farklı ekstraksiyon metodlarının vişne çekirdeği yağı kompozisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Süperkritik ekstraksiyon metodunda çekirdekten yağa geçen fenolik madde miktarı hekzan ekstraksiyonuna göre daha fazla iken karoten geçişi daha az gerçekleşmiştir. Her iki ekstraksiyon yönteminde de kosolvent olarak etanol kullanılması, vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesini, toplam fenolik madde miktarını ve karoten miktarını artırmıştır. Yağ elde edilmeden önce vişne çekirdeğinin 160 °C'de farklı sürelerde kavrulması da yağ kompozisyonunun değişimine neden olmuştur. Kavurma süresi arttıkça yağdaki hidroksimetilfurfural ve toplam fenolik madde miktarı artarken toplam tokoferol miktarında düşüş görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Vişne çekirdeği, süperkritik karbondioksit, hekzan, kosolvent

Danışman: Prof. Dr. Vural GÖKMEN, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

EVALUATION OF THE SOUR CHERRY SEED WASTES AS A SOURCE OF FOOD INGREDIENT

Cemile Yılmaz

ABSTRACT

In this study, evaluation of sour cherry seed generated as a waste material during processing of sour cherries into processed products such as juice and jam was investigated. A juice processing plant located in Mersin supplied sour cherry seeds used in this thesis. When chemical composition of sour cherry kernel was determined, it was concluded that sour cherry kernel was a valuable by-product due to containing high proportion of dietary fiber (% 30), protein (% 29) and oil (% 17). Moreover containing high amount of oil caused more detailed investigation of sour cherry kernel oil. Therefore, sour cherry kernel oil was obtained by using organic solvent (hexane and ethanol modified hexane) and supercritical fluid (supercritical carbon dioxide and ethanol modified supercritical carbon dioxide) to determine effect of different extraction methods on sour cherry kernel oil. When supercritical carbon dioxide and hexane extraction were compared, supercritical carbon dioxide was more effective in terms of delivering polyphenols from kernel to oil. However, total carotene content in oil obtained by hexane extraction was more higher than that obtained by supercritical carbon dioxide. Using ethanol as a co-solvent with both hexane and supercritical carbon dioxide increased total phenolic content, antioxidant activity and total carotene content of sour cherry kernel oil. Moreover, roasting sour cherry kernels at 160 °C for different times before oil extraction affected chemical composition of oil. Roasting was found to cause increase of hydroxymethylfurfural and total phenolic contents whereas total tocopherol content decreased as roasting times increased.

Keywords: Sour cherry seed kernel, supercritical carbon dioxide, hexane, co-solvent

Advisor: Prof. Dr. Vural GÖKMEN, Hacettepe University, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım boyunca değerli gürüŐ ve düŐünceleriyle her konuda desteğini gürdüğüm hocam sayın Prof. Dr. Vural GÖKMEN'e,

Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı-Yurt içi yüksek lisans burs programı dahilinde yüksek lisans boyunca maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a,

Tez çalıŐmalarım süresince ve ihtiyaç duyduğum her an manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Arda SERPEN'e ve çalışma arkadaşlarım AraŐ. Gör. Burçe ATA MOĞOL'a, Kübra ÖZDEMİR'e, AraŐ. Gör. Tolgahan KOCADAĞLI'ya, AraŐ. Gör. Neslihan GÖNCÜOĞLU'na, AraŐ. Gör. Aytül HAMZALIOĞLU'na, AraŐ. Gör. Gül AKILLIOĞLU'na ve AraŐ. Gör. Ecem Evrim ÇELİK'e,

Hayatımın her aşamasında sevgi ve desteğini benden hiç esirgemeyen, varlığını hep yanımda hissettiğim ve hissedeceğim canım babam Mustafa YILMAZ'a ve en büyük mutluluk ve moral kaynağım canım annem Sevim YILMAZ'a,

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gıda Endüstrisinde Atık Oluşumu ve Değerlendirilmesi	3
2.2. Meyve Suyu Endüstrisi Atığı: Vişne Çekirdeği	4
2.3. Yağlı Tohumlardan Yağ Elde Etme Yöntemleri	5
2.3.1. Mekanik ekstraksiyon	6
2.3.2. Prepresyon solvent ekstraksiyonu	6
2.3.3. Direkt solvent ekstraksiyonu	6
2.3.3.1. Klasik solvent ekstraksiyonu	7
2.3.3.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	9
2.3.3.2.1. Genel özellikler	9
2.3.3.2.2. SC-CO ₂ içerisinde çözünürlük	11
2.3.3.2.3. SC-CO ₂ ile birlikte yardımcı solvent kullanılması	12
2.4. Yağlardaki Biyoaktif Bileşenler	12
2.4.1. Karotenoidler	12
2.4.2. Tokoferol ve tokotrienoller	13
2.4.3. Fenolik bileşikler	14
2.4.4. Yağ asitleri	14

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devamı)

	<u>Sayfa</u>
2.5. Yağlı Tohumların Kavrulması	15
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Kimyasallar ve Malzemeler	16
3.1.1. Protein analizinde kullanılan çözeltiler	17
3.1.2. Şeker analizinde kullanılan çözeltiler	17
3.1.3. Toplam fenolik madde analizinde kullanılan çözeltiler.....	17
3.1.4. Besinsel lif analizinde kullanılan çözeltiler	18
3.1.5. Antioksidan aktivite analizinde kullanılan çözeltiler	18
3.1.6. Yağ asidi analizinde kullanılan çözeltiler	18
3.2. Örneklerin Hazırlanması	19
3.2.1. Vişne çekirdeği yağının klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesi ..	19
3.2.2. Vişne çekirdeği yağının süperkritik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesi.....	19
3.2.3. Kavrulan vişne çekirdeklerinden vişne çekirdeği yağı eldesi	20
3.3. Metotlar	20
3.3.1. Vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonun belirlenmesi için yapılan analizler	20
3.3.1.1. Kül analizi	20
3.3.1.2. Nem analizi	21
3.3.1.3. Yağ analizi	21
3.3.1.4. Protein analizi	22
3.3.1.5. Şeker analizi	22
3.3.1.6. Besinsel lif analizi	23
3.3.1.7. Toplam fenolik madde analizi	24
3.3.1.8. Antioksidan aktivite analizi	25
3.3.1.9. Mineral analizi	25

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devamı)

	<u>Sayfa</u>
3.3.1.10. Aminoasit analizi	26
3.3.1.11. Suda çözünen vitaminlerin analizi.....	27
3.3.1.12. Organik asit analizi	27
3.3.2. Fonksiyonel analizler	28
3.3.3. Süperkritik ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen vişne çekirdeği yağında yapılan analizler	28
3.3.3.1. Yağ asidi analizi	28
3.3.3.2. Antioksidan aktivite analizi	29
3.3.3.3. Toplam fenolik madde analizi	29
3.3.3.4. Toplam karoten analizi	30
3.3.3.5. Tokoferol analizi	30
3.3.3.6. HMF analizi	31
3.3.4. İstatistiksel analizler	31
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	32
4.1. Vişne Çekirdeğinin Kimyasal Kompozisyonu	32
4.2. Süperkritik Ekstraksiyon ile Klasik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Vişne Çekirdeği Yağı Bileşimine Etkisi	37
4.3. Kavurma İşleminin Vişne Çekirdeği Yağı Bileşimine Etkisi	43
4.4. Vişne Çekirdeğinin Fonksiyonel Özellikleri	49
5. ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AACC	Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (American Association Cereal Chemists)
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
ABPR	Otomatik Geri Basınç Düzenleyicisi (Automated Back Pressure Regulator)
AOAC	Amerikan Resmi Analitik Kimyacıları (Association of Official Agricultural Chemists)
DAD	Diyod Array Dedektörü
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC	Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
GRAS	Güvenli Olarak Tanımlanan (Generally Recognized as Safe)
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
MRP	Maillard Reaksiyonu Ürünü (Maillard Reaction Product)
MS	Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi (Polyunsaturated Fatty Acids)
RID	Refraktif İndeks Dedektörü (Refractive Index Detector)
SC-CO ₂	Süperkritik Karbondioksit
UFLC	Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi (Ultra Fast Liquid Chromatography)
UHPLC	Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (Ultra High Performance Liquid Chromatography)
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (Ultra Performance Liquid Chromatography)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Hekzanın açık formülü	8
Şekil 2.2. Etanolün açık formülü	9
Şekil 2.3. Saf bir sıvının basınç-sıcaklık faz diyagramı	9
Şekil 4.1. Vişnenin işlenmesi sırasında ortaya çıkan atık ve yan ürünler	33
Şekil 4.2. Vişne çekirdeğinin kaba kimyasal kompozisyonu.....	33
Şekil 4.3. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının karoten miktarına etkisi	38
Şekil 4.4. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının toplam tokoferol miktarına etkisi	39
Şekil 4.5. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarına etkisi	42
Şekil 4.6. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesine etkisi	43
Şekil 4.7. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının HMF miktarı üzerine etkisi	45
Şekil 4.8. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi	46
Şekil 4.9. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesi üzerine etkisi	47
Şekil 4.10. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının toplam tokoferol miktarı üzerine etkisi	48
Şekil 4.11. Vişne çekirdeğinin fonksiyonel özelliklerinin rafine buğday unu ile karşılaştırılması	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Süperkritik akışkanların sıvı ve gazlara göre fizikokimyasal değerleri	10
Çizelge 4.1. Vişne çekirdeğinin karbonhidrat kompozisyonu	34
Çizelge 4.2. Vişne çekirdeğinin vitamin ve mineral madde kompozisyonu	35
Çizelge 4.3. Vişne çekirdeğinin organik asit kompozisyonu	36
Çizelge 4.4. Vişne çekirdeğindeki % amino asit oranları.....	36
Çizelge 4.5. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağı yağ asidi bileşimine etkisi	37
Çizelge 4.6. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağı tokoferol bileşimine etkisi	41
Çizelge 4.7. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının tokoferol bileşimi üzerine.....	49
Çizelge 4.8. Vişne çekirdeği ve rafine buğday ununun protein, lipit ve karbonhidrat miktarlarının karşılaştırılması.....	51

1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Nüfus Fonu 'na (United Nations Population Fund) göre, Ekim 2011 tarihinde Dünya nüfusu 7 milyara ulaşmıştır (<http://www.unfpa.org/public/home/sitemap/7Billion>). Dünya nüfusundaki bu artış gıda temini ve sağlıklı beslenme konularında sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla gıda endüstrisi atıklarının değerlendirilmesi gittikçe önem kazanan bir konu haline gelmektedir. Gıda endüstrisi atıklarının hayvan yemi olarak kullanılması veya doğrudan doğaya atılması bazı besin öğelerinin kaybına neden olmaktadır. Ayrıca bu atıkların etkili bir şekilde değerlendirilmemesi ve depolanma sorunları işletmelere ekonomik zarar vermektedir. Özellikle meyve-sebze endüstrisi atıkları yüksek oranda su içerdikleri için doğaya atıldıklarında oluşan mikrobiyel bozulmalar veya imha edilmeleri sırasında oluşan toksik maddeler çevre kirliliği yaratmaktadır.

Ulusal Tarım İstatistikleri Servisi'ne (National Agricultural Statics Service) göre dünyada üretilen vişnenin % 99'u meyve suyu, reçel veya konserve vişne gibi işlenmiş ürün olarak tüketilmektedir (USDA, 2012). Vişnenin bu ürünlere işlenmesi sırasında büyük oranda vişne çekirdeği atık materyal olarak ortaya çıkmaktadır. Bak et al. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, vişne çekirdeği ekstraktının, izole edilmiş fare kalplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı belirtilmiş ve bu azaltıcı etki, vişne çekirdeğinin içerdiği biyoaktif bileşiklerle ilişkilendirilmiştir. Fakat literatürde vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonu ile ilgili ayrıntılı ve yeterli bilgiye ulaşılamamaktadır.

Tohumlarda genel olarak yüksek oranda bulunan yağlar; kompozisyonlarına, tat ve aroma bileşenlerine bağlı olarak, endüstride çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Tohumlardan yağ elde edilmesi ise farklı ekstraksiyon yöntemleri ile gerçekleştirilmekte ve bu yöntemler elde edilen yağ verimini artırabilirken tohumdan yağa geçen biyoaktif bileşenlerin miktarını da etkileyebilmektedir. Ekstraksiyon yöntemleri kadar yağ elde etmeden önce tohuma uygulanan ön işlemlerinde yağ karakterizasyonunda etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle kavurma işlemi, yağlı tohumlara renk, aroma ve tekstür açısından olumlu özellikler katmakta ve kavurma sırasında oluşan aroma ve tat aynı zamanda yağa da geçerek tüketici beğenisini artırmaktadır (Lee et al., 2004).

Bu alışma kapsamında, meyve suyu endüstrisinin yan ürünü olan vişne çekirdeğinin gıda ingrediyesi olarak değerlendirilebilmesi için kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır. Vişne ekirdeğinin yüksek oranda içerdiği yağ, organik solventle (hekzan ve etanolle modifiye edilmiş hekzan) ve süperkritik akışkanla (süperkritik karbondioksit ve etanolle modifiye edilmiş süperkritik karbondioksit) elde edilerek farklı ekstraksiyon metodlarının vişne çekirdeği yağı kompozisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu sonuçlara göre hangi ekstraksiyon metodunun, tohumdan yağa biyoaktif maddelerin geçişi açısından daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 160°C'de farklı sürelerde uygulanan kavurma işleminin elde edilen vişne çekirdeği yağının zenginleştirilmesine katkı sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gıda Endüstrisinde Atık Oluşumu ve Değerlendirilmesi

Gıda endüstrisinde ortaya çıkan atık ve yan ürünleri değerlendirmek, günümüzde gittikçe önem kazanan bir konudur. Çünkü gıdaların üretim, işleme ve tüketim aşamalarında fazla miktarda katı ve sıvı atık materyaller oluşmaktadır. Gıda proses atıklarının sebep olduğu depolama problemi ve çevre kirliliği gittikçe artmakta ve bunlara ek olarak, değerli bazı besin öğelerinin kaybı da söz konusu olmaktadır. Geçmişte atıklar, bir işlem uygulanmadan hayvan yemi ve gübre olarak kullanılabilir ya da doğrudan doğaya atılırlardı. Son yıllarda ise, çevreyi korumak ve ekonomik kazanç sağlamak için bu atıkların değerlendirilmesine yönelik yeni yöntemler geliştirilmiş ve yeni yasalar konulmuştur (Laufenberg et al., 2003).

Epidemiyolojik çalışmalar, beslenme alışkanlıkları ve hastalık riski arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bitkisel kaynaklı gıdaların, özellikle yaşa bağlı hastalıklarda insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler yarattığı kabul edilmektedir. Dünyadaki birçok sağlık organizasyonu bu hastalıkların oluşumunu önlemek için bitkisel gıdaların tüketimini önermektedir. Bitkisel gıdaların kronik hastalıkları azaltması, yapısındaki terpenoidlere (karotenoidler, monoterpenler ve fitosteroller), polifenollere ve glukosinolatlara bağlanmıştır. Bu fitokimyasalların biyoaktivitesi ise antioksidan özellikleri ile ilişkilendirilmiştir (Carlos Espin et al., 2007).

Günümüzde meyve-sebze endüstrisi atıkları besin öğelerince zengin oldukları için gıda ingrediyesi olarak ya da farklı amaçlarla kullanım alanı bulmaktadırlar. Muz, dünyada yıllık üretimi 50 milyon tona ulaşan bir meyvedir. Muz atıklarının değerlendirilmesine yönelik çalışmalar; protein, etanol, α -amilaz, ve hemiselülaz elde edilmesi şeklindedir. Son yıllarda muz yaprağındaki antosiyanin pigmentlerinin doğal renk maddesi olarak değerlendirilmesi için de araştırmalar yapılmaktadır (Schieber et al., 2001).

Havuç suyu üretiminde proses teknikleri oldukça gelişmiş olmasına rağmen, karoten ve üronik asit gibi pek çok değerli madde posada kalmaktadır. Yapılan bazı araştırmalara göre, havuç suyu üretiminde ortaya çıkan her 1 kg posada 2 g

toplam karoten belirlenmiştir. Karoten içeriğinin yüksek olması sebebiyle havuç posası, ekme yapımında ve fonksiyonel içeceklerin üretiminde kullanılabilir (Schieber et al., 2001).

Artan popülasyon ve değişen beslenme alışkanlıkları, patatesin kızartma ve cips olarak tüketimini artırmıştır. Yapılan bir çalışmada patates işlenirken patates kabuğunun ayrılması ile beraberinde % 15-40 oranında patates kaybı olduğu ve patates kabuğu sulu ekstraktının fenolik asitler, klorojenik asit, gallik asit ve kafeik asit açısından zengin olduğu görülmüştür (Schieber et al., 2001).

Turunçgil suları üretim atıkları olan çekirdekler ve kabuklar; d-limonen, etanol, pektin, limonoid ve flavanoidlerce zengindir ve yüksek antioksidan aktivite içermektedirler. Bu nedenle turunçgil atıklarının değerlendirilmesi sağlık açısından yararlı bulunmaktadır (Schieber et al., 2001).

Yapılan bazı çalışmalarda, değişik meyve atıklarının posaları lif kaynağı olarak unlu gıdalara ilave edilerek bu gıdaların yapısal ve duyuşal özelliklerinin geliştirilmesi araştırılmıştır. Persia et al. (2003), domates çekirdeğinin önemli miktarlarda amino asit içerdiğini gözlemlemiştir. Ayrıca Sogi et al. (2002), ekmeğe % 10 oranında ilave edilen domates posasının, ekmeğin protein kalitesini artırdığını ve ekmeğe iyi duyuşal özellikler kazandırdığını ifade etmişlerdir.

2.2. Meyve Suyu Endüstrisi Atığı: Vişne Çekirdeği

Vişne (*Prunus cerasus L.*) gülgiller (*Rosaceae*) familyasına ait çekirdekli bir meyvedir. Türkiye ve Rusya başta olmak üzere dünyanın pek çok yerinde yetiştirilmekte ve Dünya'da üretimi yılda yaklaşık 1.2 milyon tona ulaşmaktadır (FAO, 2012).

Ulusal Tarım İstatistikleri Servisi'ne (National Agricultural Statics Service) göre üretilen vişnenin % 99'u meyve suyu, reçel veya konserve vişne gibi işlenmiş ürün olarak tüketilmektedir (USDA, 2012). Vişnenin, meyve suyunda olduğu gibi konserveye işlenmeden önce çekirdeği mekanik bir çekirdek ayırıcı ile ayrılmaktadır. Vişne çekirdeği gıda endüstrisinde hemen hemen hiç değerlendirilmemekte olup, üründe varlığı istenmeyen bir durumdur. Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration) bu konuda her 567 gram (20 oz)

konserve vişnede 1'den fazla çekirdek olmaması standardı oluşturmuştur. Dolayısıyla vişnenin işlenmesi sırasında tonlarca vişne çekirdeği atık olarak ayrılmaktadır (Barrett et al., 2005).

Vişnenin ağırlıkça % 60.4-71.4'ü etli kısmını, % 13.5-18.1'i kabuğunu ve % 5.5-7.9'u çekirdeğini oluşturmaktadır (Chaovanalikit and Wrolstad, 2003). Vişnenin işlenmiş ürünlere dönüşümü sırasında yan ürün olarak ayrılan vişne çekirdeğinin ise % 23.5'i yenilebilir iç çekirdeğini oluşturmaktadır.

Çekirdeksiz bir vişne % 86.45 su, % 12.2 karbonhidrat % 1.03 protein ve % 0.38 kül içermektedir (<http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1861/2>). Vişnedeki toplam fenolik madde miktarı antosiyanin ve hidroksisinamik asitlerin yüksek konsantrasyondaki varlığına bağlanmıştır. Vişne, fenolik madde içeriği bakımından değerlendirildiğinde, siyanidin-3-glikozit (cyanidin 3-glucoside), siyanidin-3-rutinozit (cyanidin 3-rutinoside), siyanidin-3-glukozilrutinozit (cyanidin 3- glucosylrutinoside) gibi antosiyaninler; kateşin, epikateşin, kuersetin-3-glikozit (quercetin-3-glucoside), kuersetin-3-rutinozit (quercetin-3-rutinoside) gibi flavanollerini yapısında bulundurmaktadır (Ferretti et al., 2010).

Tohumlarda genel olarak yüksek oranda bulunan yağlar; kompozisyonlarına, tat ve aroma bileşenlerine bağlı olarak, endüstride çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Örneğin üzüm meyvesi çekirdekleri, çeşidine ve yetiştiği bölgeye bağlı olmak üzere % 6-21 oranında yağ içermekte ve üzümün sanayi boyutunda işlendiği ülkelerde yağ üretim amacı ile yararlanılmaktadır (Kayahan, 2006). Bu nedenle vişne iç çekirdeğinin bileşiminin belirlenmesi, yan ürün olarak değerlendirilmesi açısından önem kazanmaktadır.

2.3. Yağlı Tohumlardan Yağ Elde Etme Yöntemleri

Yağlı tohumlardan yağ elde etmek için yabancı maddelerin ve tohum kabuğunun uzaklaştırılması, boyut küçültme ve küçültülen tohum içlerinin kavrulması gibi ön aşamalar söz konusudur. Ön aşamaların ardından yağın tohumdan sızdırılmasında mekanik ekstraksiyon, prepresyon solvent ekstraksiyonu, direkt solvent ekstraksiyonu gibi farklı teknikler uygulanabilmektedir.

2.3.1. Mekanik ekstraksiyon

Vidalı veya ekspeller pres gibi pres çeşitlerinin kullanıldığı mekanik ekstraksiyon, hammaddedeki yağın basınç altında tohum dışına sızdırılması temeline dayanmaktadır (Kayahan, 2006). Bu yöntem, yağ oranı yüksek tohumlarda ve solvent ekstraksiyonunun yasal olarak sınırlandırıldığı bitkiler için kullanılırken, nadir bulunan yağlı tohumlarda kullanılmamaktadır (O'Brien, 2004). Tohumun olgunluk düzeyi, presleme sıcaklığı ve basıncı, filtre edici katman görevi yapan küspe kalınlığı ve tohumun kavrulması gibi faktörler mekanik ekstraksiyon tekniğinde verimi etkileyen faktörlerdendir (Kayahan, 2006).

2.3.2. Prepresyon solvent ekstraksiyonu

Prepresyon solvent ekstraksiyonunda yağlı tohum önce presleme yöntemine tabi tutulmaktadır. Presleme sonrası küspede genellikle % 15-18 oranında kalan yağ, bir organik solventle ekstrakte edilmektedir (Johnson, 2002). Bu yöntem kolza tohumu, keten tohumu gibi yüksek yağ içerikli tohumlarda kullanılmakta ve tohumda kalan yağ miktarı azaldığı için direkt solvent ekstraksiyonu yöntemine göre daha az solvent harcanmaktadır (Xu and Diosady, 2003).

2.3.3. Direkt solvent ekstraksiyonu

Katı-sıvı ekstraksiyonu, çözünmesi istenen maddenin katı matriksten solvente geçmesini ifade etmektedir. Bu metod ile uygulanan ayırma işleminde bir sıvı faz ortamından yararlanılmakta ve bu sıvının ortamdaki alınacak olan materyale karşı özgün bir seçicilik göstermesi gerekmektedir. Pancardan şeker ve bazı bitkilerden fitokimyasalların alınması gibi işlemlerde kullanılabilirdiği gibi yağlı tohumlardan yağ eldesi için de katı-sıvı ekstraksiyonu kullanılabilir. Direkt solvent ekstraksiyon metodu vidalı pres ekstraksiyon yöntemine göre % 11.5 daha fazla verim sağlamaktadır (Aguilera, 2003). Araştırmalar sonucunda, soya tohumu gibi düşük oranda yağ içeren (% 18.6) ve kabuksuz çığit gibi orta derecede yağ içeren (% 32.5) hammaddelerden yağ elde edilmesinde, ekstraksiyon yönteminin pres yöntemine göre daha yüksek oranda verim artışı sağladığı görülmüştür (Kayahan, 2006).

Solvent ekstraksiyonunun temel mekanizmasının anlaşılması için günümüze kadar pek çok araştırma yapılmıştır. Geliştirilen “Difüzyon kuramı” na göre ekstraksiyon hızını belirleyen en önemli etkenin, ekstraksiyonu gerçekleştirilecek olan maddenin çözücü faz içine difüze olabilme hızı olduğu belirtilmektedir. Buna karşılık “Çözünme hızı kuramı”, ekstraksiyon hızının sadece difüzyon kuramı ile açıklanamayacağını, ekstraksiyonu gerçekleştirilecek olan maddenin çözücü faz içindeki çözünürlüğünün daha etkili olacağını vurgulamaktadır. Bu konudaki diğer bir görüş ise “Sıvı fazın kapiler kanallarda akış hızı kuramı” dır. Söz konusu kurama göre, katı materyal tarafından emilen çözgenin materyalin kapiler kanallarındaki akış hızı, ekstraksiyon hızını etkileyen birincil etmendir (Kayahan, 2006).

Ekstraksiyon sürecinde yağ ile solvent arasında aşağıda belirtilen aşamalar takip edilmektedir:

- Katı materyal içerisine solvent girişi
- Yağın solvent içerisinde çözünmesi
- Yağın katı materyal dış yüzeyine taşınması ve çözelti içerisine migrasyonu
- Çözeltiden solventin uzaklaştırılması (Aguilera, 2003)

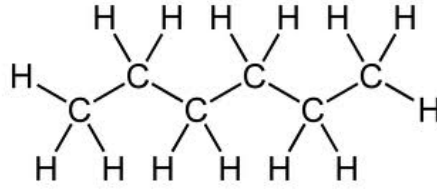
2.3.3.1. Klasik solvent ekstraksiyonu

Yağ ekstraksiyonunda uygun solvent seçimi ile lipitlerin çözünmesi istenirken, protein ve karbonhidrat gibi yağ dışı unsurların çözünmemesi beklenir. Ayrıca solvent, örneğe kolaylıkla nüfuz etmeli ve yağ ekstraksiyonundan sonra solvent kalıntısının kalmaması için düşük kaynama noktasına sahip olmalıdır.

Lipit izolasyonunda sıklıkla kullanılan çözeltiler alkoller (metanol, etanol, isopropanol) eterler (tetrahidrofur, dietiler), hidrokarbonlar (hekzan, benzen ve isooktan) aseton ve asetonitrildir. Lipitlerin organik solventlerde çözünürlüğü, yağ asidinin apolar hidrokarbon zincirine ve polar fonksiyonel grupların varlığına bağlıdır. Eğer lipitler polar grup içeriyorsa hekzan gibi hidrokarbon solventlerde yüksek çözünürlük gösterirken metanol gibi polar solventlerde çözünürlük göstermezler. Birçok durumda sadece apolar solvent kullanılarak polar lipitlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilemez. Bu nedenle polar-apolar solvent karışımı

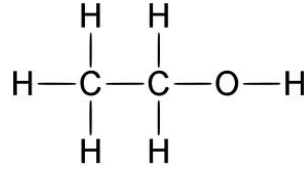
kullanılarak lipitleri dokudan ayırmak mümkündür (Shahidi and Wanasundara, 2002).

Şekil 2.1'de görülebileceği gibi n-hekzan, düz zincirli bir alkandır ve yağlı tohumlarda yağ ekstraksiyonu için en çok tercih edilen solventler arasındadır. Hekzan yağların ekstraksiyonu için yeterli seçicilikte ve ucuz bulunabilir niteliktedir. Fakat saf hekzanın farelerde yapılan çalışmalar sonucunda insanlarda periferik sinir hastalıklarına neden olabileceği belirtilmektedir. Yağ ekstraksiyonunda ise % 52 oranında hekzan ve hekzan izomerlerini içeren ticari hekzan kullanılmaktadır. Ticari hekzanın periferik sinir hasarları oluşturduğuna dair bir kanıt yoktur (Wakelyn and Wan, 2003).



Şekil 2.1. Hekzanın açık formülü

Şekil 2.2'de açık formülü gösterilen etanol, yapısında hidroksi ya da oksijen ya da oksijen asitlerini içeren yağlar için iyi bir çözügendir. Genel olarak tüm alkollerin sıcak ortamda yağı çözme özelliği, alkollerin yağ ekstraksiyonunda kullanılmalarını sağlar. Hafif basınç altında ve kaynama noktasının (78.82 °C) biraz üzerindeki sıcaklıklarda uygulanan ekstraksiyonla yağların alımı gerçekleştirilmekte ve sıcaklık düşürüldüğünde yağ ve alkol fazı birbirinden ayrılmaktadır. Ayrıca alkol fazı hammaddeden kaynaklanan renk maddelerini ve şekerleri de içerdiğinden yağ, rafinasyon gerektiren maddelerden arınmış olur. Etil alkolün yağ ekstraksiyonunda kullanılmasının en büyük dezavantajı ise işlem sırasında hammaddede suyu çekmesi ve konsantrasyonu düştüğü için yağ çözme gücünün azalmasıdır (Kayahan, 2006).

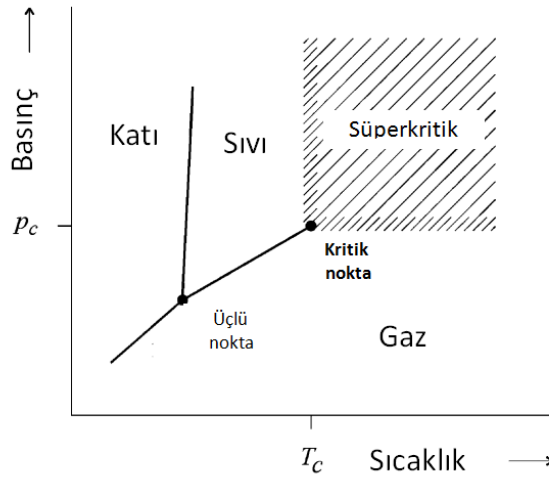


Şekil 2.2. Etanolün açık formülü

2.3.3.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

2.3.3.2.1. Genel özellikler

Saf bir madde, kritik noktanın üzerindeki basınç ve sıcaklıklarda süperkritik forma dönüşmektedir. Şekil 2.3’de görüldüğü gibi saf bir sıvı kritik basınç (P_c) ve kritik sıcaklık (T_c) değerlerinin üzerinde süperkritik faza geçmektedir. Süperkritik akışkanların fizikokimyasal özellikleri (yoğunluk, viskozite, dielektrik sabiti, çözünürlük parametresi, vb.), basınç ve sıcaklığının değiştirilmesiyle gaz benzeri özelliklerden sıvı benzeri özelliklere dönüşmektedir (Dinçer vd, 2007). Çizelge 2.1’de görülebileceği gibi, süperkritik akışkanın yoğunluğu sıvılara, viskozitesi gazlara benzemektedir. Yayınırılık (Diffusivity) özelliği ise her iki faz özelliğinin arasında yer almaktadır (Herrero et al., 2006).



Şekil 2.3. Saf bir sıvının basınç-sıcaklık faz diyagramı (Brunner, 2005)

Süperkritik ekstraksiyonda kullanılan akışkanların farklı fizikokimyasal özellik göstermeleri, süperkritik ekstraksiyona bazı avantajlar sağlamaktadır. Sıvılara göre daha düşük viskozite ve daha yüksek yayınırılık özelliği göstermelerinden dolayı,

süperkritik akışkanların daha iyi transport özellikleri vardır. Ayrıca süperkritik akışkanlar, katı materyale daha iyi difüzlendikleri için ekstraksiyon verimini artırmaktadırlar. Süperkritik akışkanlar ile ekstraksiyon işlemi sona erdiğinde basıncın düşürülmesi ile akışkan kolaylıkla ayrılabilen ve bu durumda çözücüyü üründen ayırmak için başka yöntem ihtiyacı duyulmamaktadır. Süperkritik ekstraksiyonun en önemli özelliği ise basınç ve sıcaklık normları değiştirilerek ekstraksiyona seçicilik kazandırılabilmesidir (Herrero et al., 2006).

Çizelge 2.1. Süperkritik akışkanların sıvı ve gazlara göre fizikokimyasal değerleri (Székely, 2007)

	Yoğunluk (kg/m ³)	Viskozite (μPa.s)	Yayırlık (mm ² /s)
Gaz	1	10	0.10
Süperkritik akışkan	100-1000	50-100	0.01-0.1
Sıvı	1000	500-1000	0.001

Hekzan gibi organik solventler yağ ekstraksiyonunda geniş çaplı kullanım alanı bulmaktadırlar. Fakat hekzanın güvenlik ve çevre konularında yarattığı endişe, kullanımına yasal sınırlandırmalar getirmiştir. Bu yüzden yağ proseslerinde süperkritik karbondioksit (SC-CO₂) kullanımı organik solventlere alternatif olabilmektedir. SC-CO₂ kullanımı fonksiyonel gıda üretimi için de doğru bir seçimdir çünkü günümüzde tüketiciler organik solvent kullanılmadan üretilen doğal ürünleri talep etmektedirler.

Süperkritik etan ve propan, yağların çözünürlüğü açısından SC-CO₂'e kıyasla daha etkin olmasına rağmen, yanıcı özelliklerinden dolayı tercih edilmemektedirler. İlimli kritik sıcaklığa (31.1 °C) ve kritik basınca (72.9 atm) sahip CO₂ ise yanıcı olmama, ucuz ve kolay temin edilebilme özellikleri göstermektedir (Temelli, 2009). Lipit ekstraksiyonunda organik solvent yerine SC-CO₂ kullanılması; organik solventlerden kaynaklanan atık probleminin önlenmesi, toksik olmaması ve ekstraksiyon süresinin kısılması gibi avantajlar sağlamaktadır (Shahidi and Wanasundara, 2002). Ayrıca ekstraksiyon sırasında materyalin hava ve ışık ile temas etmemesi diğer ekstraksiyon tekniklerinde sıklıkla görülen degradasyon reaksiyonları oluşumunu azaltmaktadır (Berna et al., 2001).

2.3.3.2.2. SC-CO₂ içerisinde çözünürlük

SC-CO₂ apolar bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun bir solventtir. Flavanoid ve fenolik maddeler polar özellik gösterdikleri için, etanol gibi polar bir yardımcı solvent kullanılması veya basıncın artırılması durumlarında SC-CO₂ içerisinde çözünürlükleri artar (Rawson et al., 2012). SC-CO₂ ekstraksiyonunun verimi ve seçiciliği akışkanın yoğunluğu ve çözünen maddenin buhar basıncına bağlı olarak değişmektedir. Genellikle basınçtaki artış yoğunluğu artırmakta ve sonuç olarak çözünürlük artmaktadır. Sıcaklıktaki artış ise yoğunluğu azaltarak çözünürlüğü azaltmaktadır. Fakat sıcaklıktaki artış aynı zamanda çözünen maddenin buhar basıncını artıracığı için çözünürlük de bir miktar artmaktadır (Shi et al., 2010).

Gıdanın yapısı, ekstraksiyon verimini etkileyen faktörler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Laroze et al. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada üzüm suyu üretilirken oluşan atıklardan; SC-CO₂ ile antosiyanin, proantosiyenin, kateşin ve sinamik asit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan önce gerçekleştirilen partikül büyüklüğü küçültme aşamasının, biyoaktif maddelerin ekstraksiyon verimini etkilediği bulunmuştur. Boyut küçültülmesi, hücre duvarları parçalandığı ve yüzey alanı arttığı için ekstraksiyonu olumlu etkilemiştir. Ekstraksiyon süresinin uzunluğu ise, katı matrikse difüzyonu kolaylaştırdığı için yüksek molekül ağırlıklı fenolik maddelerin alımını kolaylaştırmıştır (Rawson et al., 2012).

Brunner (2005) tarafından SC-CO₂'in solvent gücü birkaç kuralla özetlenmektedir:

- Polar olmayan veya az polar moleküller çözünebilmektedir.
- Düşük molekül ağırlıklı bileşikler için solvent gücü yüksek iken molekül ağırlığı arttıkça solvent gücü düşmektedir.
- Serbest yağ asitleri ve pigmentler SC-CO₂ içerisinde düşük çözünürlük göstermektedir.
- Protein, polisakkarit, şeker ve mineraller SC-CO₂ içerisinde çözünmemektedir.

2.3.3.2.3. SC-CO₂ ile birlikte yardımcı solvent kullanılması

SC-CO₂ apolar yapıda olduğu için polar bileşiklere karşı çözme gücünde önemli derecede düşme meydana gelmektedir. Bunu engelleyebilmek için polar yapıdaki yardımcı çözücülerden yararlanılmaktadır.

Çözünürlük artışında kosolventin asıl etkisi, solvent yoğunluğunu artırması ve kosolvent-çözgen arasında moleküller arası etkileşim oluşturmalarıdır. Dolayısıyla eğer kosolvent ile bir bileşen arasında özel bir moleküller arası etkileşim oluşursa, ayırma işleminde seçicilik sağlanmış olur. Fakat kosolventin çözünürlüğe etkisi, süperkritik fazdaki konsantrasyonuna bağlıdır. İstenilen etkiye ulaşılabilmesi için kosolvent-solvent karışımının, proses koşullarında süperkritik fazda bulunması gerekmektedir (Güçlü-Üstündağ and Temelli, 2004).

Etanol, güvenli olarak tanımlanan GRAS (generally recognized as safe) statüsünde yer aldığı için gıda uygulamalarında kosolvent olarak tercih edilmekte ve genellikle fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırmak için kullanılmaktadır. Chafer et al. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, yardımcı solvent olarak kullanılan etanol seviyesi % 5'ten % 20'ye çıkarıldığında üzüm kabuğundan ekstrakte edilen kateşin ve epikateşin miktarlarının %100 arttığı belirlenmiştir.

2.4. Yağlardaki Biyoaktif Bileşenler

2.4.1. Karotenoidler

Karotenoidler polien hidrokarbonlar olup, genellikle yapılarında 40 karbon atomu içermektedirler. Bitkisel gıdaların pek çoğundaki sarı, kırmızı ve turuncu renkten karotenoidler sorumludur. Karotenoidler bitkisel kaynaklı olmalarına rağmen, hayvanlar tarafından tüketildiğinde sindirim kanalıyla dokulara taşınırlar ve dokularda depolanırlar (Belitz et al., 2009).

Tanımlanan 600 karotenoidin yaklaşık % 10'u provitamin A bileşikleridir. Karotenoidler, serbest radikalleri yok ederek birincil antioksidan ve singlet oksijeni yakalayıp ikincil antioksidan gibi davranabilirler. Gıdalarda genellikle ikincil antioksidan olarak bulunurlar fakat singlet oksijen azlığında zincir kırıcı antioksidan özelliği göstererek oksidasyonu önlerler. Bu özelliklerinden dolayı kanser ve

ateroskleroz gibi hastalıkların kontrolünde önemli rol oynadıkları düşünülür (Reische et al., 2002).

Çözünürlük açısından değerlendirildiğinde, karotenoidler yağda çözünür pigmentler olup apolar solventlerde iyi çözünmektedirler. Bitkisel materyallerden ekstraksiyonunda genellikle petrol eteri, eter ya da benzen kullanılmaktadır (Belitz et al., 2009).

2.4.2. Tokoferoller ve tokotrienoller

Tokoller olarak bilinen tokoferol ve tokotrienoller, insanlar tarafından sentezlenemediği için diyet ile mutlaka alınması gereklidir (Temelli et al., 2007). Tokoferoller genellikle yağlı tohumlar, bitkisel yağlar, et ve bitkilerin yeşil kısımlarında bulunurken, tokotrienoller daha çok tahıl ve tohumların embriyo ve kabuk kısımlarında yer almaktadır (Seppanen et al., 2010).

Tokollerin ortak özelliği aynı kroman halkaya sahip olmaları ve bu kroman halkaya bağlı bulunan bir adet de yan zincir içermeleridir. Tokoferollerin yan zinciri doymuş yapıdayken, tokotrienollerin yan zincirinde üç adet çift bağ bulunmaktadır. Tokoferol ve tokotrienollerin α , β , γ ve δ olarak adlandırılmaları ise kroman halkasındaki metil gruplarının sayısı ve pozisyonu ile alakalıdır. Bitkisel yağlarda en çok bulunan tokoferoller ise α ve γ -tokoferoldür (Seppanen et al., 2010).

Tokoferoller, antioksidan olarak vücuttaki radikalleri yakaladığından hücre zarlarının ve genetik materyalin zarar görmesini, hücrelerdeki yağ ve protein yapısının bozulmasını önlerler (Temelli et al., 2007). Ayrıca tokoller, hidroperoksi radikalleri ve diğer serbest radikalleri stabilize ederek gıdalardaki lipit oksidasyonunu önlerler. Birçok bitkisel yağın stabilitesi tokollerin varlığı ile artarken, çok fazla miktarda α -tokoferol seviyesi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur. (O'Brien, 2004). Fakat, γ ve δ -tokoferol varlığında α -tokoferollerin prooksidan etkisi azalmaktadır (Temelli et al., 2007). Genel olarak tokoferollerin antioksidan aktiviteleri δ -, γ -, β -, α - sıralamasına göre azalırken E vitamini aktivitesi bu sıralamada artmaktadır (Belitz et al., 2009).

2.4.3. Fenolik bileşikler

Tohumlar fenolik madde açısından zengin olmalarına rağmen presleme işleminden sonra yağa az miktarlarda fenolik madde geçmektedir (Hoed, 2010). Dolayısıyla fenolik bileşikler, tüm bitkisel yağlarda düşük konsantrasyonda olsa da bulunmaktadır. Bu bileşikler, doymamış yağ asitlerinin oksidatif stabilitesinde önemli rol oynamaktadırlar (Kamal-Eldin, 2005). Polifenoller, serbest radikalleri uzaklaştırdıkları ve metallerle kelat oluşturdukları için doğal antioksidan olarak nitelendirilirler (Harborne et al., 1999). Ayrıca antialerjik, antienflamatuvar ve antimikrobiyel olarak geniş çaplı fizyolojik özellik gösterirler (Balasundram et al., 2006).

Çözünür fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu genellikle su, metanol, etanol ve aseton ile gerçekleştirilir. Fenolik bileşiklere bağlı bulunabilen şekerler, fenolik bileşiklerin suda daha çözünür hale gelmesini sağladığından su ile yukarıda sayılan solventlerin birleşimi ile yapılan ekstraksiyon glikozitler için daha iyi sonuç vermektedir. Buna karşılık flavanoller gibi daha az polar yapıdaki aglikonlar ise, susuz solventlerde daha iyi çözünürlük göstermektedirler (Escribano-Bailon and Santos-Buelga, 2003).

2.4.4. Yağ asitleri

Birçok bitkisel yağ; tokoferol, karotenoid, fenolik bileşik ve elzem yağ asitlerini içermektedir. ω -6 yağ asitleri ve ω -3 yağ asitlerinden oluşan elzem yağ asitleri, vücutta sentezlenemediği için gıdalardan temin edilmesi gereken çoklu doymamış yağ asitleridir (PUFA) (Kaur et. al, 2012).

Omega-3 yağ asitlerine α -linolenik asit (18:3, $n-3$), eikosapentaenoik asit (EPA) (20:5, $n-3$) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) (22:6, $n-3$) örnek olarak verilebilir. α -linolenik asit, keten tohumunda, fıındıkta, cevizde soya yağı ve kanola yağında bulunmaktadır. Omega-6 yağ asitlerine ise linoleik asit (C18:2, $n-6$) ve araşidonik asit (20:4, $n-6$) örnek olarak verilebilir. Linoleik asit, ayçiçek yağı ve mısır yağı başta olmak üzere; soya, susam ve bademde bulunmaktadır (Kaur et. al, 2012).

α -linolenik asit, molekül uzaması ve yeni çift bağların oluşturulması tepkimeleri ile vücut içerisinde EPA ve DHA'ye dönüştürülmektedir. Bu yağ asitleri de kanser,

hipertansiyon ve kalp rahatsızlıklarını azaltmada etkili oldukları için α -linolenik asidin diyetle alınması önem kazanmaktadır (Parry et al., 2005).

Yapılarında hidrokarbon zinciri ve bu zincirin ucunda bir karboksil grubu içeren yağ asitleri, suda çözünürlük göstermezler. Fakat çözünme özellikleri hidrokarbon zincirindeki karbon sayısının azalmasıyla ve cis konumdaki çift bağ sayısının artmasıyla artmaktadır (Belitz et al., 2009).

2.5. Yağlı Tohumların Kavrulması

Yağlı tohumlardan yağ elde etmeden önce yapılan boyut küçültme işlemi ne denli etkin bir şekilde yapılırsa yapılısın, dokulardaki hücrelerin tamamen parçalanması sağlanamamaktadır. Bu durumda, yağı hapseden hücrelerden önemli bir kısmı halen doğal yapısını koruduğundan yağ düşük bir verimle alınmaktadır. Bu nedenle yağlı tohumlardan yağ üreten işletmelerin ekonomisi ve elde edilen yağ verimliliği açısından yağlı tohumlara ekstraksiyon öncesi kavurma işlemi uygulanmaktadır (Kayahan, 2006).

Kavurma sırasında uygulanan ısı, hücre zarlarının kolay parçalanabilen bir yapıya dönüşmesini sağlayarak ve yağın viskozitesini azaltarak yağın tohumdan uzaklaşmasını kolaylaştırır. Isı etkisiyle tohum proteinleri denatüre olarak hücre zarı kırılğan bir yapıya dönüştüğü için, presleme ve ekstraksiyon verimi artmaktadır. (Kayahan, 2006)

Kavurma, yağlı tohumlara renk, aroma ve tekstür açısından olumlu özellikler katmaktadır. Uygun sıcaklıkta yapılan kavurma işlemi, tüketiciler tarafından beğenilen tat ve aroma oluşumuna neden olmaktadır. Bu farklı tat ve aroma oluşumu, Maillard reaksiyon ürünleri (MRP), karemelizasyon ürünleri ve protein veya lipit degradasyon ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Bütün Maillard reaksiyon ürünleri esmer renge sahip olmamasına rağmen, genellikle renk ve kavurma derecesi arasında doğrusal bir ilişki vardır (Durmaz and Gökmen, 2010b). Kavurma sırasında oluşan fındık benzeri aroma ve tat aynı zamanda yağa da geçmektedir (Lee et al., 2004).

Daha çok sert kabuklu yemişlerin neden olduğu gıda alerjisi; keten tohumu, kolza tohumu ve susam gibi tohumlarda da görülebilmektedir. Sert kabuklu yemiş ve

tohumlardaki alerjenik durumun protein yapısı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yağlı tohumlardan elde edilen yağlardaki alerjen maddeler ise, yağların rafinasyon koşullarına bağlı olarak yağa geçen proteinlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, yağ elde etmeden önce tohumların kavrulma aşamasının yağa geçen alerjen madde miktarını azalttığına dair görüşler vardır (Koppelman and Hefle, 2006).

Kavurma, bazı antioksidan bileşiklerin parçalanmasına ya da antioksidan özellikteki MRP oluşmasına neden olduğu için gıdaların antioksidan kapasitesini değiştirmektedir. Ayrıca kavurma işlemi, doğal antioksidanların yağa geçişini artırması ya da azaltması sonucunda, yağdaki antioksidan aktivite değişimine de neden olabilmektedir (Durmaz and Gökmen, 2011).

Tohumlarda doğal olarak bulunan ve yağı hidroliz ederek serbest asitliğin artmasına neden olan enzimler ısı etkisiyle inaktif duruma getirilmektedir (Kayahan, 2006). Buna ek olarak kavurma ile oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin, lipid oksidasyon reaksiyonlarını sınırlandırmasıyla yağların oksidatif stabilitesini artırdığı düşünülmektedir (Durmaz and Gökmen, 2011).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasallar ve Malzemeler

Sülfürik asit (% 95-98), hidroklorik asit (% 37), borik asit, nitrik asit (% 65), sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum karbonat, potasyum hekzasiyanoferrat(II) trihidrat, çinko sülfat heptahidrat, hidroklorik asit, dietil eter, tetrahidrofuran, metanol (HPLC düzey) ve D(+)-glukoz (99+%) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Gallik asit, folin-ciocalteu fenol reaktifi, 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) (ABTS), etanol, asetonitril (HPLC düzey) ve D(-)-fruktoz Sigma (Diesenhofen, Almanya)'dan temin edilmiştir. Etil asetat, n-hekzan (% 95) LAB-SCAN (Dublin, İrlanda); sitrik asit monohidrat, potasyum peroksidisülfat, (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (trolloks) Fluka (Buchs, İsviçre); disodyum hidrojen fosfat ile D(+)-sükroz Acros (Geel, Belçika) ve 2-propanol J.T.Baker (Deventer, Hollanda) tarafından sağlanmıştır. Aminoasitler (L-Glutamik asit, L-Alanin, L-Fenilalanin, L-Glutamin, L-Histidin, L-Metiyonin, L-Triptofan, L-Lösin, L-Valin, L-Tirozin, L-Sistein ve L-Aspartik asit Merck; L-Serin, L-Treonin, L-İzolösin, L-Asparajin, L-Lisin ve L-Arjinin) ve

vitaminler (askorbik asit, tiyamin, piridoksin, nikotinamid, pantotenik asit, siyanokobalamin ve biyotin) Sigma (Diesenhofen, Almanya)'dan alınmıştır. Deneylerde ultra saf su (MilliQ sistemi, Millipore, Bedford, MA, ABD) kullanılmıştır. Amiloglukozidaz ve proteaz Novozymes (Bagsvaerd, Danimarka) tarafından sağlanmıştır.

3.1.1. Protein analizinde kullanılan çözeltiler

% 33'lük sodyum hidroksit çözeltisi, 330 g sodyum hidroksitin bir miktar suda çözüldükten sonra 1 L'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır.

% 4'lük borik asit çözeltisi, 10 g borik asitin balon jodede 250 mL'ye suyla tamamlanması ile hazırlanmıştır.

Titrant olarak kullanılan 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi, 2 N hidroklorik asitten 5 mL alınarak 100 mL'ye su ile tamamlanması ile hazırlanmıştır.

Titrasyonda kullanılan indikatör, 0.05 g metilen mavisi ile 0.1 g metilen kırmızısı karışımının % 95'lik etil alkolle balon jodede 100 mL'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır.

3.1.2. Şeker analizinde kullanılan çözeltiler

Carrez I çözeltisi, 15 g potasyum hekzasiyanoferratin 100 ml suda çözülmesiyle, Carrez II çözeltisi ise 30 g çinko sülfatın 100 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır.

3.1.3. Toplam fenolik madde analizinde kullanılan çözeltiler

4 N sodyum hidroksit çözeltisi, 8 g sodyum hidroksitin bir miktar suda çözüldükten sonra balon jodede 50 mL'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır.

6 N hidroklorik asit çözeltisi, 49.7 mL % 37'lik hidroklorik asit çözeltisinin balon jodede 100 mL'ye su ile tamamlanması ile elde edilmiştir.

% 20'lik sodyum karbonat çözeltisi, 20 g sodyum karbonatın bir miktar suda çözüldükten sonra balon jodede 100 mL'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır.

3.1.4. Besinsel lif analizinde kullanılan çözeltiler

pH 4.5 olan fosfat/sitrat tamponunun hazırlanmasında, 3.15 g sitrik asit monohidrat 150 mL'ye deiyonize suyla tamamlanarak çözeltili I; 4.26 g disodyum hidrojen fosfat 150 mL'ye deiyonize suyla tamamlanarak çözeltili II hazırlanmıştır. 139.75 mL çözeltili I üzerine 110.25 mL çözeltili II eklenerek tampon pH'sı pH-metre ile 4.5'e ayarlanmıştır.

1 N sodyum hidroksit çözeltisi, 2 g sodyum hidroksitin bir miktar suda çözüldükten sonra balon jodede 50 mL'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır.

% 10'luk amiloglukozidaz çözeltisi, 0.5 mL amiloglukozidaza 4.5 mL deiyonize su eklenmesiyle; % 10'luk proteaz çözeltisi ise 0.5 mL proteaz enzimine 4.5 mL deiyonize su eklenmesiyle hazırlanmıştır.

3.1.5. Antioksidan aktivite analizinde kullanılan çözeltiler

ABTS^{•+} radikal çözeltisi hazırlanmasında, 2.45 mM potasyum peroksidisülfat içeren 7 mM'lık *ABTS* çözeltisi kullanılmıştır (Re et al., 1999). Potasyum peroksidisülfat çözeltisi, 66.15 mg potasyum peroksidisülfatın 10 mL suda çözülmesi ve bu çözeltinin 1/10 oranında seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. *ABTS* çözeltisi ise 38.41 mg *ABTS*'nin hazırlanan 10 mL potasyum peroksidisülfat çözeltisi içerisinde çözülmesiyle elde edilmiştir. Bu çözeltinin oda sıcaklığında ve kapalı bir ortamda 12-16 saat bekletilmesiyle *ABTS*^{•+} radikal çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. *ABTS* çalışma çözeltisi, *ABTS*^{•+} stok çözeltisinin etanol-su (50:50, v/v) ile seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. 5 mL *ABTS*^{•+} stok çözeltisi kullanılarak 734 nm'de 0.75-0.80 aralığında absorbans veren yaklaşık 400 mL *ABTS* çalışma çözeltisi hazırlanmıştır.

3.1.6. Yağ asidi analizinde kullanılan çözeltiler

2 N potasyum hidroksit çözeltisi, 11.2 g potasyum hidroksitin 100 mL metanolde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Kullanılan vişne çekirdekleri, Mersin yöresindeki bir meyve suyu işletmesinden temin edilmiştir.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

Vişne çekirdeklerinin dış sert kabukları iç çekirdekten uzaklaştırılmış ve iç çekirdekler yapılacak olan analizlere kadar – 20 °C’ de bekletilmişlerdir.

3.2.1. Vişne çekirdeği yağının klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesi

Vişne çekirdeği yağının klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesinde 2 farklı solvent kullanılmıştır. Vişne çekirdeğinin hekzan ve hekzan-etanol karışımı (% 3, v:v) kullanılarak ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve hekzana göre polar yapıda olan etanolün elde edilen vişne çekirdeği yağı bileşimine etkisi incelenmiştir.

Falkon tüplerinin içerisine 2 g öğütülmüş vişne çekirdeği tartılmış ve üzerlerine 5 mL solvent eklenmiştir. Tüpler bir orbital çalkalayıcıya (Edmund Bühler GmbH, Almanya) konularak oda sıcaklığında 10 dakika karıştırılmıştır. Örnekler daha sonra 6,289 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant başka bir tüpe aktarılmıştır. İkinci ve üçüncü ekstraksiyon kademeleri de 5 mL solvent kullanılarak aynı karıştırma ve santrifüjleme koşullarında gerçekleştirilmiştir. Her kademedede elde edilen süpernatantlar toplanarak ayrı bir tüpte birleştirilmiştir. Toplanan süpernatantlardaki çözgen 40 °C’de sabit tutulan vakumlu bir rotary evaporatörde uzaklaştırılmıştır. Solventin tamamen uzaklaştığından emin olmak için ise balon bir süre de azot gazı altında kurutulmuştur.

3.2.2. Vişne çekirdeği yağının süperkritik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesi

Vişne çekirdeği yağının süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile elde edilmesinde SC-CO₂ ve % 3 etanolla modifiye edilmiş SC-CO₂ kullanılmıştır. SC-CO₂, apolar özellikte olduğu için polar yapıdaki etanolün elde edilen yağ bileşimine etkisi araştırılmıştır.

SC-CO₂ ekstraksiyonu; bir yüksek basınç pompası, bir kosolvent pompası, bir ısı değiştirici, bir otomatik geri basınç düzenleyicisi (ABPR, automated back pressure regulator), bir ekstraksiyon kabı ve toplama kabından oluşan THAR SFE 1000-2-FMC system (Pittsburgh, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham vişne çekirdekleri öğütüldükten sonra 100 g miktarında tartılmış ve cihazın ekstraksiyon kabına aktararak 2 saat boyunca ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. SC-CO₂

ekstraksiyon koşulları; 300 bar basınç, 60 °C sıcaklık ve toplamda 25 g/dak toplam akış olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.3. Kavrulmuş vişne çekirdeklerinden vişne çekirdeği yağı eldesi

Vişne çekirdeklerine uygulanan kavurma işleminin, yağ bileşimine etkisini incelemek için farklı kavurma prosesleri gerçekleştirilmiştir. Kavurma prosesinde alüminyum kap içerisine 50 g vişne çekirdeği tartılmış ve 160 °C'de sabit tutulan bir etüvde (Memmert, Almanya) 4 farklı sürede (10 dakika, 20 dakika, 30 dakika ve 40 dakika) tutularak kavurulmuştur. Kavurulmuş vişne çekirdeklerinden yağ elde edilmesi ise hekzan kullanılarak klasik ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

3.3. Metotlar

3.3.1. Vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi için yapılan analizler

3.3.1.1. Kül analizi

Toplam kül analizinde AOAC (1990) metodunun modifiye edilmiş hali kullanılmıştır. Porselen krozeler 800 °C'deki Protherm marka kül fırınında 1 saat yakıldıktan sonra desikatörde soğutulmuş ve sabit ağırlığa getirilmiştir. Krozelerin darasının kaydedilmesinin ardından öğütülmüş haldeki vişne çekirdeğinden 1 g krozeye tartılmıştır. Örnekler, kül fırınında önce 350 °C'de 1 saat, ardından 650 °C'de 4 saat süreyle beyaz bir kül elde edilecek şekilde yakılmıştır. Daha sonra krozeler desikatöre alınarak soğutulmuş ve tartılmıştır. Toplam kül miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Kül} = \left(\frac{M_2 - M_1}{m} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

M_2 = Yakma işleminden sonra elde edilen kalıntı ve kroze ağırlığı toplamı, g

M_1 = Krozenin darası, g

m = Tartılan örnek miktarı, g

3.3.1.2. Nem analizi

Vişne çekirdeğinde nem miktarı AOAC (1990) metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nem tayini için kullanılan alüminyum kaplar, 105 °C etüvde (Memmert , Almanya) 1 saat kurutularak sabit ağırlığa getirilmiştir. Alüminyum kapların darasının kaydedilmesinin ardından öğütülmüş haldeki vişne çekirdeğinden 500 mg alınarak kaplara tartılmıştır. Örnekler 105 °C'de sabit tutulan etüvde 6-8 saat bekletilmiştir. Kurutma kapları desikatöre alınıp tartıldıktan sonra ağırlık kaybından nem miktarı bulunmuştur. Nem miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Nem} = \left(\frac{A_2 - A_1}{m} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

A_2 = Tartılan örnek miktarı ile sabit tartıma getirilen kurutma kabının ağırlıkları toplamı, g

A_1 = Kurutma işleminden sonraki örnek miktarı ile kurutma kabı ağırlıkları toplamı, g

m = Tartılan örnek miktarı, g

3.3.1.3. Yağ analizi

Ekstraksiyon işleminden önce örneklerin tartılacağı 2 mL'lik eppendorfların darası alınmıştır. Nemi tamamen uzaklaştırılmış ve öğütülmüş 150 mg vişne çekirdeği eppendorflara tartılmıştır. Örnek üzerine 1 mL hekzan ilave edilerek çalkalayıcıda 10 dakika boyunca karıştırılmış ve tüpler 11,180 x g hızda 5 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. Ekstraksiyon prosedürü 4 kez daha tekrarlanmış ve retentant 105 °C'deki etüvde hekzanın buharlaşması için 12 saat bekletilmiştir. Kuru maddedeki yağ miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Kuru maddede \% yağ} = \left(\frac{Y_2 - Y_1}{m} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

Y_2 = Tartılan örnek miktarı ile eppendorfun ağırlıkları toplamı, g

Y_1 = Etüv sonrasında örnek miktarı ile eppendorfun ağırlıkları toplamı, g

m = Tartılan örnek miktarı, g

3.3.1.4. Protein analizi

Vişne çekirdeğinde yapılan protein analizinde Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır (AOAC, 1990). Öğütülmüş haldeki vişne çekirdeğinden 1 g tartılarak yakma tüplerine aktarılmış ve tüp içeriğine 25 mL derişik sülfürik asit ve reaksiyonu hızlandırmak için 10 g katalizör eklenmiştir. Azot-protein mikro tayin cihazının (Şimşek Laborteknik, Türkiye) yakma setine yerleştirilen yakma tüpleri 250 °C'de 45 dakika ön ısıtmaya tabi tutulduktan sonra 400 °C'de 3-4 saat yakma işlemi yapılmıştır. Başlangıçta kahverengi-siyah renkte olan örnekler sarı-yeşil renge döndüğünde yakma işlemine son verilmiştir. Oda sıcaklığına kadar soğutulan yakma tüpleri üzerine 25-30 mL saf su eklenerek tüpler soğumaya bırakılmıştır. Destilasyon cihazına, üzerine birkaç damla indikatör damlatılan % 4'lük borik asit çözeltisi ve soğutulan yakma tüpleri yerleştirilmiştir. Yakma tüplerindeki örnek rengi kahverengi olana kadar, örnek üzerlerine destilasyon ünitesine bağlı bulunan % 33'lük sodyum hidroksit eklenmiş ve 6 dakikalık destilasyon işlemi başlatılmıştır. Destilasyon işleminden sonra rengi yeşile dönen borik asit çözeltisi, 0.1 N HCl asit çözeltisi ile ilk indikatör eklendiği anda görülen menekşe rengine kadar titre edilmiştir. Kjeldahl metodunda esas olarak organik kökenli azot miktarı bulunduğu için, sonuç 6.25 faktörü ile çarpılarak protein miktarı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Protein} = \left(\frac{0.014 \times N \times V \times 100}{m} \right) \times 6.25 \quad (3.4)$$

N = Hidroklorik asit çözeltisinin normalitesi, N

V = Titrasyonda harcanan hidroklorik asit çözeltisinin hacmi, mL

m = Tartılan örnek miktarı, g

3.3.1.5. Şeker analizi

Şeker analizi, Serpen and Gökmen (2009) tarafından belirtilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. Şeker analizinde üç kademeli ekstraksiyon uygulanmıştır. 1 g öğütülmüş örnek, tüplere tartıldıktan sonra 8 mL kaynatılmış sıcak su (70°C), 1 mL Carrez I ve 1 mL Carrez II çözeltisi ilave edilerek bir vorteks karıştırıcıda 3 dakika boyunca ekstrakte edilmiştir. Elde edilen karışım daha sonra 7,155 x g hızda 5

dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant başka bir tüpe aktarılmıştır. İkinci ve üçüncü ekstraksiyon kademeleri ise sırasıyla 8 mL sıcak su ve 7 mL sıcak su kullanılarak aynı karıştırma ve santrifüjleme koşullarında gerçekleştirilmiştir. Her kademedede elde edilen süpernatantlar toplanarak ayrı bir tüpte birleştirilmiştir. Toplanan süpernatantlar katı retentat partiküllerinin uzaklaştırılması amacıyla 11,180 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası alınan üst faz, 0.45 µm'lik naylon filtreden geçirilerek filtre edilmiş ve vialde toplanarak analize alınmıştır.

HPLC ile şeker analizleri, bir kuaterner pompa, bir refraktif indeks dedektör (RID), bir Rheodyne 7125 enjektör ve bir kolon fırınından oluşan, Agilent 1100 HPLC sistemi (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım Shodex Sugar SH-1011 (8.0 x 300 mm, 7 µm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 0.7 ml/dak akış hızında, 0.01 mM H₂SO₄ çözeltisi kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 25 °C' dir ve örnekler 10 µL enjekte edilmiştir.

Glukoz, fruktoz ve sakaroz stok çözeltileri 0.1 g/ml derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltilerden 0.01 g/ml (% 1) ve 0.001 g/ml (% 0.1) derişimlere su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.3.1.6. Besinsel lif analizi

Besinsel lif analizinde, AACC (1991) 32-07.01 metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Gooch krozeleri 105 °C'deki etüvde 1 saat bekletilerek sabit ağırlığa getirilmiş ve desikatörde soğutulduktan sonra darası kaydedilmiştir. Yağı tamamen uzaklaştırılmış 250 mg örnek tüplere tartılmıştır. Örnek üzerine 10 mL fosfat/sitrat tamponu (pH 4.5) ve % 10'luk amiloglukozidaz çözeltisinden 500 µL eklenmiştir. Tüpler 60 °C'deki su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra tüp içerisindeki çözelti pH'sının 8 olması için, tüp içeriğine 1 N sodyum hidroksit çözeltisinden 1.65 mL eklenmiştir. Ardından tüplere % 10'luk proteaz çözeltisinden 500 µL eklenmiş ve tüpler tekrar 60 °C'de bulunan su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Çözünür liflerin çöktürülmesi amacıyla tüplere % 95 lik etil alkolden 56 mL eklenmiştir. Tüpler 60 °C'deki su banyosunda 1 saat bekletildikten sonra oda sıcaklığında da 1 saat bekletilmiştir. Çözelti, bir vakum pompa (KNF Neuberger, Almanya) kullanılarak gooch krozesinden süzölmüştür. Krozede kalan

kalıntı % 78 'lik ve % 95 'lik etanolle yıkanmıştır. Cam krozede kalan kalıntı, 105 °C'de sabit ağırlığa gelene kadar etüvde bekletildikten sonra desikatöre alınıp soğutulmuş ve tartılmıştır. Örnekteki kül miktarının toplam besinsel lif miktarını etkilememesi için elde edilen kalıntı miktarından kül miktarı çıkarılarak toplam besinsel lif miktarı hesaplanmıştır.

3.3.1.7. Toplam fenolik madde analizi

250 mg öğütülmüş vişne çekirdeği 15 mL'lik falkon tüplere tartıldıktan sonra üzerlerine 4 N sodyum hidroksit çözeltisinden 5 mL eklenmiştir. Tüpler azot gazı altında kapatıldıktan sonra bir çalkalayıcıya (Edmund Bühler GmbH, Almanya) konularak oda sıcaklığında 4 saat hidroliz edilmiştir. Ardından 6 N hidroklorik asit ile pH 2 civarına getirilmiş ve örnekler 6,289 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Tüpün üstündeki sıvı kısımdan 1 mL alınarak eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 0.8 mL dietil eter-etil asetat (50:50, v/v) karışımı eklenmiş ve 2 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 11,180 x g hızda 1 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant başka bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Ekstraksiyon prosedürü 4 kez daha tekrarlanmış ve süpernatantlar toplanarak daha öncekilerle birleştirilmiştir (5 kademeli ekstraksiyon). Toplanan süpernatantlardaki dietil eter-etil asetat solventi 30 °C'de azot gazı altında uçurulduktan sonra üzerlerine 1 mL metanol-su (50:50, v/v) eklenmiştir. Böylelikle örnekteki fenolik maddeler (serbest, bağlı, esterleştirilmiş) ekstrakte edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı ise Folin Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Eppendorf tüplerine 0.2 mL ekstrakt ve 1/10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu ayracından 0.8 mL eklenmiştir. 5 dakika bekleme sürecinin ardından 0.8 mL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 2 saat bekletildikten sonra 7155 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Örneklerin absorpsiyonları 765 nm'de Shimadzu UV-1800 (Kyota, Japonya) UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür.

Gallik asit standart çözeltileri 0.001-0.02 mg/mL aralığında 11 farklı konsantrasyonda metanolla hazırlanmış ve bir kalibrasyon eğrisi elde edilerek örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg örnek olarak ifade edilmiştir.

3.3.1.8. Antioksidan aktivite analizi

Vişne çekirdeğinin toplam antioksidan kapasitesi ekstraksiyon yapılmadan direkt ölçüm yöntemiyle (Serpen et al., 2009) gerçekleştirilmiştir. Tüplere öğütülmüş örnekten 10 mg tartılmıştır. Üzerlerine 10 mL ABTS çalışma çözeltileri eklenmiş ve örnekler karanlık bir ortam yaratılarak bir çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Absorbans ölçümünden önce örnekler 9,200 x g hızda 2 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminin ardından alınan berrak süpernatantların absorbansları 734 nm'de Shimadzu UV-1800 (Kyota, Japonya) UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Tüm absorbans ölçümleri, örnek üzerine ABTS çalışma çözeltisi eklendikten 30 dakika sonra gerçekleştirilmiştir.

Troloks standart çözeltileri, konsantrasyon aralığı 0-600 µg/mL olacak şekilde metanolla hazırlanmıştır. Tüplere 100 µL troloks standart çözeltisi ve 10 mL ABTS çalışma çözeltisi eklendikten sonra karanlık bir ortamda yarım saat bekletilmiştir. Standart çözeltilerin absorbansları 734 nm'de spektrofotometrede belirlendikten sonra kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve örneklerin antioksidan kapasitesi mmol troloks /kg örnek olarak ifade edilmiştir.

3.3.1.9. Mineral analizi

Vişne çekirdeğindeki kalsiyum, sodyum, magnezyum, potasyum ve demir mineralleri atomik absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. Örnek hazırlama aşamasında nitrik asit kullanılarak bir mikrodalga sisteminde yaş yakma yöntemi uygulanmıştır. Mikrodalga tüplerine 1 g öğütülmüş örnek tartıldıktan sonra % 65'lik nitrik asit çözeltisinden 15 mL eklenmiştir. Mikrodalgaya yerleştirilen tüplerdeki örnekler yaş yakma işlemine tabi tutulmuş ve örnekteki organik kısım yakılmıştır. Mikrodalga işleminin ardından tüplerdeki çözelti 100 mL'lik balon joje içerisine süzölmüş ve balonjoje hacim çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlanmıştır. Kalsiyum analizi için hazırlanacak olan 100 mL'lik çözelti ise diğerlerinden farklı olarak % 0.1 (w/v) sitronsiyum içerecek şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen 100 mL'lik çözelti üzerinden magnezyum analizi için 500 kat, potasyum analizi için 100 kat, sodyum analizi için 5 kat ve kalsiyum analizi için 2 kat seyreltme yapılmıştır. Demir mineralinin ölçümünde ise hazırlanan 100 mL'lik çözelti seyreltmeye gerek duyulmadan analiz edilmiştir. Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresine

(Thermo ICE 3000 Series, USA), analizi yapılacak olan mineralin lambası takıldıktan sonra o mineralin absorbanı yaptığı dalga boyuna ayarlanmıştır. Potasyum 766.5 nm'de, demir 248.3 nm'de, kalsiyum 422.7 nm'de, sodyum 589 nm'de ve magnezyum 285.2 nm'de analiz edilmiştir.

Kalsiyum, sodyum, magnezyum, potasyum ve demir minerallerinin standartları farklı konsantrasyon aralıklarında su ile hazırlanmıştır. Standart çözeltilerin absorbanları uygun dalga boyunda okunduktan sonra kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Örneklerdeki mineral miktarı, bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak ppm düzeyinde tespit edilmiş ve gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra mg/100 g örnek cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.1.10. Aminoasit analizi

Tüplere 100 mg öğütülmüş örnek tartıldıktan sonra üzerlerine 4 mL 6 N hidroklorik asit çözeltisi eklenmiştir. Ardından tüpler azot gazı altında kapatılmış ve 110 °C'deki etüvde 24 saat bekletilerek hidroliz gerçekleştirilmiştir. Tüpteki hidroliz çözeltisi, son aşamada 50:50 (v/v) oranında asetonitril-su içerecek şekilde 1000 kat seyreltildikten sonra Orbitrap Exactive MS ile birleştirilmiş UHPLC sistemine (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) enjekte edilmiştir.

Örneklerin analizinde Orbitrap Exactive MS ile birleştirilmiş UHPLC sistem, elektrosprey iyonizasyonunda pozitif mod seçilerek kullanılmıştır. Kromatografik ayırım, Waters Atlantis HILIC silika kolonda (150 x 2.1 mm, 3 µm) 0.4 mL/dak akış hızında, mobil faz olarak asetonitril ve % 0.1 formik asitten meydana gelen gradient karışım kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gradient programı, başlangıçta % 75 oranında bulunan asetonitrilin 4 dakika içerisinde % 50 oranına azalması ve ardından 2 dakika içerisinde başlangıç koşuluna artması şeklinde (% 75 asetonitril) ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C olarak ayarlanmıştır. Orbitrap MS koşulları ise Gökmen et al. (2012) tarafından belirtilen metoda göre gerçekleştirilmiştir.

Aminoasit standart çözeltileri (L-Glutamik asit, L-Alanin, L-Fenilalanin, L-Glutamin, L-Histidin, L-Metiyonin, L-Triptofan, L-Lösin, L-Valin, L-Tirozin, L-Sistein ve L-Aspartik asit Merck; L-Serin, L-Treonin, L-İzolösin, L-Asparajin, L-Lisin ve L-Arjinin) 0.25, 0.5, 1.0, 2.5 ve 5.0 µg/ml derişimlerinde deiyonize su ile

hazırlanmıştır. Her aminoasit için 0.25-5.0 mg/L aralığında kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. Örneklerdeki aminoasit miktarları, bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak % amino asit cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.1.11. Suda çözünen vitaminlerin analizi

Vitaminleri analiz etmek amacıyla öğütülmüş vişne çekirdeği, su ile 3 kez ekstrakte edildikten sonra toplanan ekstraktlar 7500 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant HPLC'ye enjekte edilmeden önce 0.45 µm filtre kullanılarak filtre edilmiştir.

Ekstraktların analizinde TQ dedektör ile birleştirilmiş Waters Acquity H Class UPLC sistemde, elektrosprey iyonizasyonu kullanılmıştır. Kromatografik seperasyonlar, Acquity UPLC® BEH C18 kolonda (1.7 µm 2.1 x 100 mm), 0.3 mL/dak akış hızında, mobil faz olarak Solvent A (Suda %0.1 formik asit çözeltisi) ve Solvent B (Metanolde %0.1 formik asit çözeltisi) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gradient programı şu şekilde belirlenmiştir: 0–3 dak, % 99 A; 3-5 dak, % 99 A; 5-5.1 dak, % 25 A; 5.1-8 dak, % 99 A. Analiz esnasında kolon sıcaklığı 40 °C, enjeksiyon hacmi 20 µL ve toplam analiz süresi 8 dakika olarak ayarlanmıştır. Elektrosprey kaynağı ayarları şöyledir: Kapiler voltajı 1 kV; kon gaz akışı 10 L/h; kaynak sıcaklığı 120°C; desolvation gaz (azot) akış hızı 800 L/sa ve desolvation sıcaklığı 450°C (Serpen et al., 2012).

Tiyamin (B₁ vitamini), piridoksin (B₆ vitamini), nikotinamid (B₃ vitamini türevi), pantotenik asit (B₅ vitamini), siyanokobalamin (B₁₂ vitamini) ve biyotin (B₇ vitamini) standart çözeltileri 1-10 mg/L derişim aralığında deiyonize su ile hazırlanmıştır. Sonuçlar mg/100 g örnek olarak verilmiştir.

3.3.1.12. Organik asit analizi

Öğütülmüş vişne çekirdeği, 10 mM fosforik asit çözeltisi ile 3 kez ekstrakte edildikten sonra toplanan ekstraktlar 7,155 x g hızda 3 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant HPLC'ye enjekte edilmeden önce 0.45 µm filtre kullanılarak filtre edilmiştir. Organik asit analizi, bir kuarterner pompa, bir diode array dedektör (DAD) ve bir sıcaklık kontrollü kolon fırınından oluşan, Agilent 1100 HPLC sistemi (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kromatografik ayırım, Shodex RSpak KC-811 kolonda (7 µm, 8 x 300 mm), 50 °C ve 1 mL/dak akış hızında 10 mM fosforik asit çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dalga boyu olarak 210 nm dalga boyu seçilmiştir. Sitrik asit, sükkinik asit, tartarik asit, laktik asit, fitik asit, okzalik asit, quinik asit, fumarik asit ve malik asidin stok çözeltileri 10 mM fosforik asit çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır.

3.3.2. Fonksiyonel Analizler

Öğütülmüş vişne çekirdeğinin su ve yağ absorpsiyonu, Johnson (1970) tarafından gerçekleştirilen metoda göre belirlenmiştir. Köpük stabilitesi ve kapasitesi, Narayana and Narasinga (1982); emülsiyon stabilitesi ve kapasitesi ise Yasumatsu et al. (1972) tarafından gerçekleştirilen metoda göre belirlenmiştir. Vişne çekirdeğinin fonksiyonel özellikleri, rafine buğday ununun fonksiyonel özellikleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.3.3. Süperkritik ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen vişne çekirdeği yağında yapılan analizler

3.3.3.1. Yağ asidi analizi

Yağ asidi analizinde örnek hazırlama aşaması Frank et al. (2005) tarafından belirtilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle ekstrakte edilen yağların metil esterleri oluşturulmuştur. Bu amaçla 200 mg vişne çekirdeği yağı 15 mL'lik tüplere tartılmıştır. Üzerlerine 10 mL hekzan ve metanolla hazırlanmış 2 N potasyum hidroksit çözeltisinden 100 µL eklenmiştir. Tüpler 30 saniye vortekslelendikten sonra 6,289 x g hızda 3 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar hekzan ile 5 kat seyreltilerek bir gaz kromatografi sistemine, Agilent G4513A otomatik enjeksiyon bloğu (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak enjekte edilmiştir.

Yağ asidi analizleri, kütle spektrometre (Mass spectrometry dedector, MS) ve alev iyonizasyon (Flame ionization dedector, FID) dedektörleri ile birleştirilmiş Agilent 7890A GC sistemi (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizi yapılan maddenin enjeksiyon hacmi 1 µL olup split oranı 1:40 şeklinde ayarlanmıştır. Kolon olarak Hp-INNOWax 19091N-136 (60 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı programında IWAX2 metodu

kullanılmıştır. Bu metot, 60 °C'de 10 dakika bekleme, dakikada 4 °C artışla 220 °C'ye çıkış ve 10 dakika bekleme süresinin ardından dakikada 1 °C artışla 240 °C'ye çıkış olarak programlanmıştır. Toplam analiz süresi 80 dakika sürmüştür. Taşıyıcı gaz helyumun akış hızı 1.5 mL/dak ve basıncı 28.845 psi şeklindedir. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250 °C ve MS sıcaklığı 230 °C'dir. Kütle spektrometresi 70 eV elektron enerji düzeyinde çalıştırılmıştır. Yağ asidi metil esterleri Famedb23 ve NIST05a kütüphaneleri kullanılarak tanımlanmış ve sonuçlar % yağ asidi olarak verilmiştir.

3.3.3.2. Antioksidan aktivite analizi

Vişne çekirdeği yağının toplam antioksidan kapasitesi ölçümünde tüplere 50 µL yağ konulduktan sonra üzerlerine 10 mL ABTS çalışma çözeltileri eklenmiş ve örnekler karanlık bir ortam yaratılarak bir çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Absorbans ölçümünden önce örnekler 9,200 x g hızda 2 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminin ardından alınan berrak süpernatantların absorbansları 734 nm'de Shimadzu UV-1800 (Kyota, Japonya) UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Tüm absorbans ölçümleri, örnek üzerine ABTS çalışma çözeltisi eklendikten 30 dakika sonra gerçekleştirilmiştir.

Troloks standart çözeltileri, farklı konsantrasyonlarda metanolle hazırlanmıştır. Tüplere 50 µL troloks standart çözeltisi ve 10 mL ABTS çalışma çözeltisi eklendikten sonra karanlık bir ortamda yarım saat bekletilmiştir. Standart çözeltilerin absorbansları 734 nm'de spektrofotometrede belirlendikten sonra kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve örneklerin antioksidan kapasitesi mmol troloks eşdeğeri/L yağ olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.3. Toplam fenolik madde analizi

Vişne çekirdeği yağında toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon aşaması için 15 mL'lik tüplere 0.5 g yağ tartılmıştır. Üzerine 2.5 mL metanol-su karışımı (70:30, v/v) eklenmiş ve 2 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 6.289 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatantlar başka bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Ekstraksiyon prosedürü iki kez daha aynı şekilde tekrarlanmış ve süpernatantlar daha öncekilerle birleştirilmiştir.

Eppendorf tüplerine 1.2 mL ekstrakt ve 1/10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu ayracından 0.4 mL eklenmiş ve 5 dakika bekleme sürecinin ardından 0.4 mL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 2 saat bekletildikten sonra 9,056 x g hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Örneklerin absorbansları 765 nm'de Shimadzu UV-1800 (Kyota, Japonya) UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür.

Gallik asit standart çözeltileri 0-15 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlarda metanolla hazırlanmış ve bir kalibrasyon eğrisi elde edilerek örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L yağ olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.4. Toplam karoten analizi

Tüplere 0.3 g yağ tartılmıştır. Üzerlerine 1.2 mL tetrahidrofuran eklendikten sonra 1 dakika vortekslenmiştir. Örneklerin absorbansları kuvars küvet kullanılarak 460 nm'de Shimadzu UV-1800 (Kyota, Japonya) UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür.

Beta karoten standart çözeltileri 0-4 µg/mL aralığında 9 farklı konsantrasyonda tetrahidrofuran ile hazırlanmış ve bir kalibrasyon eğrisi elde edilerek örneklerdeki karoten miktarı mg beta karoten/L yağ olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.5 Tokoferol analizi

1 mL vişne çekirdeği yağı, 5 mL isopropanol-metanol (50:50, v/v) kullanılarak 3 kez ekstrakte edilmiştir. Toplanan ekstraktlar santrifüjlendikten sonra süpernatant, 0.45 µm filtre kullanılarak filtre edilmiştir. Tokoferol analizi; bir kuaterner pompa, bir sıcaklık kontrollü kolon fırını ve Agilent 6130 MS dedektörden oluşan, Agilent 1200 HPLC sistemi (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tokoferol analizi, solvent A (%1 formik asitli su) ve solvent B (metanol) içeren mobil fazla Atlantis dC18 kolonda (15 cm x 2.1 mm, 3 µm) gerçekleştirilmiştir. Ayırım, 0.3 mL/dak akış hızında solvent A ve solvent B (5:95, v/v) izokratik karışım şeklinde gerçekleştirilmiştir. Analiz, pozitif iyonlaşma ile SIM modunda gerçekleştirilmiştir. Protonlanmış moleküllerin m/z oranları, α-tokoferol için, 431.7; β ve γ-tokoferol için 417.7; ve δ-tokoferol için 403.7 olarak seçilmiştir. α-tokoferol, β-tokoferol, γ-tokoferol ve δ-tokoferol standart çözeltileri, 1 mg/L ve 5

mg/L derişimlerinde hazırlanmıştır. Yağlardaki toplam tokoferol miktarı ise mg tokoferol/L yağ olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.6 HMF analizi

HMF analizi, kavrulan vişne çekirdeklerinden elde edilen yağlarda ve kontrol örneklerinde gerçekleştirilmiştir. 0.5 g vişne çekirdeği yağı üzerine 1 mL metanol-su karışımı (70:30, v/v) eklenmiş ve 2 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 11,180 x g hızla 5 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatantlar başka bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Ekstraksiyon prosedürü bir kez daha aynı şekilde tekrarlandıktan sonra toplanan süpernatantlar öncekilerle birleştirilmiştir.

10 µL berrak ekstrakt bir kuaterner pompa, bir otomatik örnek enjeksiyon sistemi, bir diyot dizini dedektör (diode array dedector, DAD) ve sıcaklık kontrollü kolon fırını içeren Shimadzu Yüksek Hızlı Sıvı Kromatografi (UFLC) sistemine (Kyoto, Japonya) enjekte edilmiştir. Kromatografik ayırım Atlantis dC18 kolonda (5µm, 4.6 mm, 250 mm) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 1.0 mL/dak akış hızında, 10 mM formik asit-asetonitril (90:10, v/v) izokratik karışımı kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 25°C'dir ve analizler 285 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (Durmaz and Gökmen, 2010a).

HMF stok çözeltisi 1.0 mg/mL derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltilerden günlük olarak 0.5, 1, 2, 5, 10 µg/mL derişimlerine 10 mM formik asit ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Yağlardaki HMF miktarı mg/L yağ olarak ifade edilmiştir.

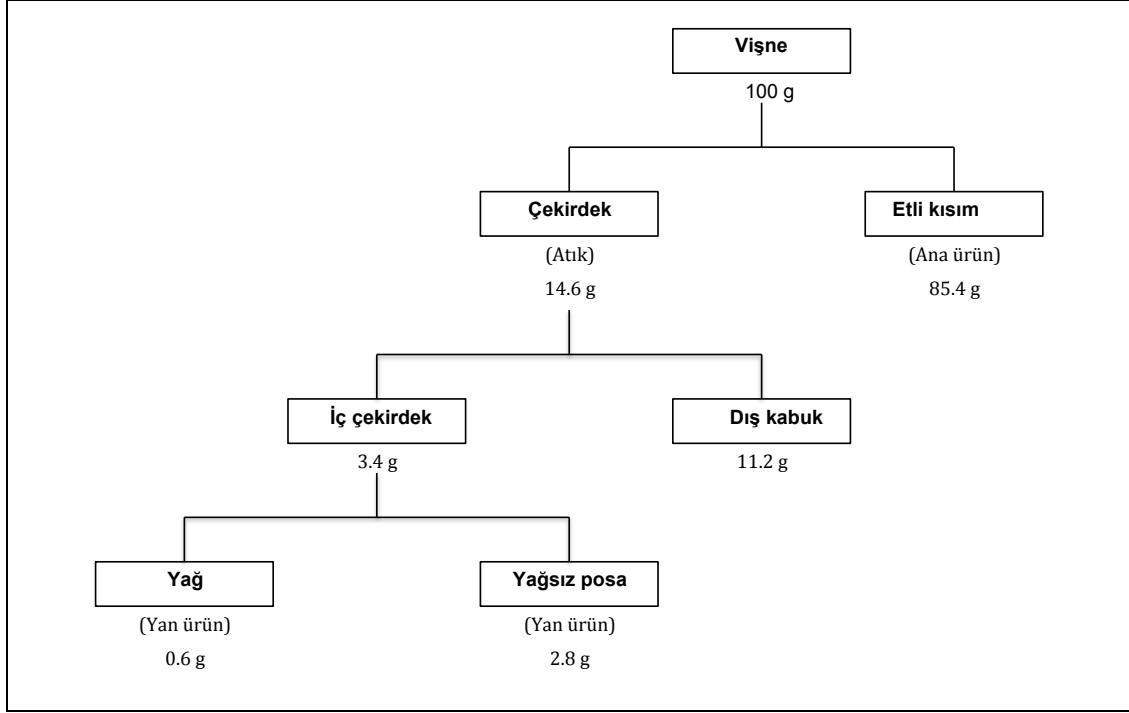
3.3.4 İstatistiksel analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS-17.0 programı kullanılmıştır. Grup ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiştir. Grup çiftleri arasındaki istatistiksel anlamlı farklılığı araştırmak için Tukey ve Duncan HSD Post-Hoc testleri uygulanmıştır. Bu test ile $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

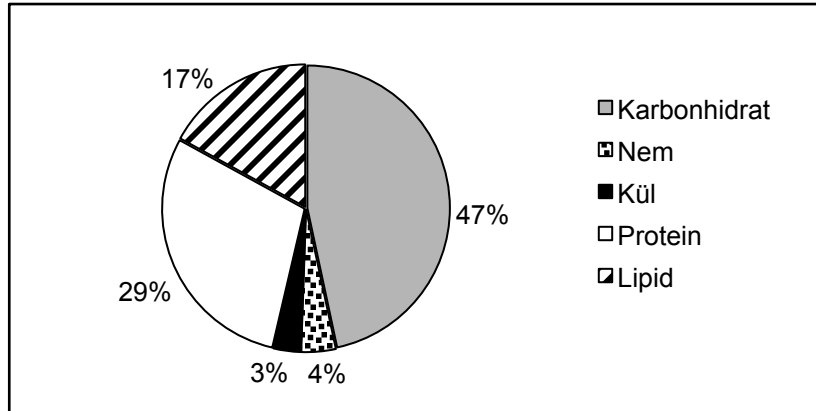
4.1. Vişne Çekirdeğinin Kimyasal Kompozisyonu

Gıda endüstrisi yan ürünlerinin değerlendirilmesi için günümüzde pek çok araştırma yapılmaktadır. Vişnenin meyve suyu ve reçel gibi ürünlere işlenmesi sırasında % 14.6 oranında vişne çekirdeği atık materyal olarak ortaya çıkmaktadır. Sert bir dış kabukla çevrili vişne çekirdeğinin % 23.3 oranındaki kısmı ise yenilebilir iç çekirdeğini oluşturmaktadır (Şekil 4.1). Fakat vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonu ile ilgili literatürde ayrıntılı bilgiye ulaşılamamaktadır. Bak et al. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, vişne çekirdeği ekstraktının, izole edilmiş fare kalplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı belirtilmiştir. İskemi, dokulara kan sağlayan damarların tıkanması sonucu doku beslenmesinin bozulması olarak ifade edilebilir. Reperfüzyon ise iskemiye maruz kalan doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesi olayıdır. Hücre içerisine hızla giren moleküler oksijen nedeniyle oluşan serbest oksijen radikallerinin, reperfüzyon hasarı oluşumunda en etkili faktör olduğu düşünülmektedir (Akkoç, 2008). Vişne çekirdeği ekstraktının iskemi reperfüzyon hasarını önlemede sağladığı koruyucu etki, yapısındaki biyoaktif bileşenlerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Bak et al., 2010). Dolayısıyla vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonunun araştırılması gerekmektedir.



Şekil 4.1. Vişnenin işlenmesi sırasında ortaya çıkan atık ve yan ürünler

Bu araştırma kapsamında yapılan analizler sonucunda vişne çekirdeğinin, % 46.6 ± 1.10 karbonhidrat, % 29.3 ± 2.20 protein, % 17.0 ± 0.60 lipit, % 3.9 ± 0.11 nem ve % 3.1 ± 0.49 külden meydana geldiği sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Vişne çekirdeğinin kaba kimyasal kompozisyonu

Çizelge 4.1'de görülebileceği gibi vişne çekirdeğindeki karbonhidrat miktarının büyük bir bölümünü besinsel lifler oluşturmaktadır. Vişne çekirdeği toplamda sadece % 2.91 oranında şeker içermektedir. % 30.25 oranındaki besinsel lif miktarı ise vişne çekirdeğinin değerlendirilebilir bir ürün olduğunu göstermektedir. Çünkü yapılan araştırmalar, uygun miktarda besinsel lif tüketiminin, bağırsak

fonksiyonlarını düzenleme ve kolon kanseri gibi kronik hastalıklardan koruma gibi işlevler taşıdığını belirtmektedir.

Gıda ve Beslenme Kurulu (Food and Nutrition Board) tarafından yetişkinlerin alması gereken lif miktarı günde 21-38 g olarak belirlenmiştir. Fakat Avrupada kişi başına günde ortalama 20 g lif tüketildiği için gıdaların lif içeriği bakımından zenginleştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla Avrupa Parlamentosu (EC) No. 1924/2006 yasasına göre, bir gıdanın lif kaynağı olarak bildirilmesi, 100 gram örnekte 3 g lif ya da 100 kcal başına 1.5 g lif içermesi koşuluna bağlanmıştır (Herrera et al., 2010).

Çizelge 4.1. Vişne çekirdeğinin karbonhidrat kompozisyonu

Karbonhidrat	Miktar (%)
Şekerler	2.91 ± 0.300
Sakaroz	0.30 ± 0.002
Glukoz	0.96 ± 0.046
Fruktoz	1.65 ± 0.253
Besinsel Lif	30.25 ± 3.335

Meyve-sebze endüstrisinde ortaya çıkan yan ürünler genellikle besinsel lif açısından zengindirler. Proses sonrası atık olarak ortaya çıkan posadaki lifler, pigmentlerle ve antioksidan bileşiklerle bağlı konumda bulunabilecekleri için değerlendirilebilir niteliktedirler. Ayrıca liflerin su tutma, jel oluşturma ve viskozite artırma gibi pek çok fonksiyonel özellikleri vardır. Tahıllar gıdaların lifçe zenginleştirilmesinde en çok kullanılan kaynaklar olmasına rağmen meyve-sebze endüstrisi yan ürünleri de yüksek lif içeriğinden dolayı zenginleştirme amaçlı tercih edilmektedir (Ayala-Zvala et al., 2011).

Mineraller, sinir sinyalleri iletimi ve vitamin biyosentezi gibi görevlere sahiptir. Vücudun elzem mineral (kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum ve sodyum) ihtiyacı günde 200 mg'dan fazladır. İz mineraller (Kobalt, bakır, iyot, demir, manganez, molibden, nikel, selenyum, nikel, sülfür ve çinko) ise fazla alındığında tehlikeli olabilmektedirler (Frazier, 2009).

Vişne çekirdeğinin % 3'ü külü oluşturmaktadır. Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresinde yapılan mineral tayinine göre 100 g vişne çekirdeği, 448.41

mg potasyum (K), 15.24 mg sodyum (Na), 275.13 mg kalsiyum (Ca), 234.39 mg magnezyum (Mg) ve 4.48 mg demir (Fe) minerali içermektedir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Vişne çekirdeğinin vitamin ve mineral madde kompozisyonu

Mineral	Miktar (mg/100g)	Vitamin	Miktar (mg/100g)
K	448.41 ± 2.051	B ₃ vitamini	0.57 ± 0.016
Ca	275.13 ± 0.501	B ₆ vitamini	0.18 ± 0.028
Mg	234.39 ± 0.000	B ₁ vitamini	0.15 ± 0.107
Na	15.24 ± 2.164	B ₅ vitamini	0.03 ± 0.000
Fe	4.48 ± 0.438		

Literatürde, bazı meyve endüstrisi atıklarının mineral madde kompozisyonu araştırılmıştır. Femenia et al. (1995), tatlı kayısı çekirdeği üzerine yaptığı bir araştırmada 100 g çekirdekte 567 mg K, 6.8 mg Na, 145 mg Ca, 186 mg Mg ve 2.6 mg Fe bulmuşlardır. Knoblich et al. (2005), 100 g domates çekirdeğinin 1530 mg K, 280 mg Na, 140 mg Ca, 210 mg Mg ve 24.2 mg Fe içerdiği sonucuna ulaşmışlardır. Bu sonuçlar ile karşılaştırma yapıldığında vişne çekirdeğinin kalsiyum açısından zengin olduğu sonucuna varılabilir.

Vişne çekirdeğinde askorbik asit, tiyamin (B₁ vitamini), piridoksin (B₆ vitamini), nikotinamid (B₃ vitamini türevi), pantotenik asit (B₅ vitamini), siyanokobalamin (B₁₂ vitamini) ve biyotin (B₇ vitamini) analizi yapılmıştır. Çizelge 4.2'de görülebileceği gibi pantotenik asit, vişne çekirdeğinde en az oranda bulunan suda çözünen vitamini oluşturmaktadır. Askorbik asit, siyanokobalamin ve biyotin ise vişne çekirdeğinde bulunmamaktadır.

Birçok tahıl ve tohumda depo fosfor bileşeni olarak bulunan fitik asit, tohumdaki toplam fosforun % 70'ini oluşturmaktadır. Fitik asit kalsiyum, çinko ve demir gibi minerallerle kelat oluşturma özelliğine sahiptir (Garcia-Esteba et al., 1999). Fitik asitin katyonlarla oluşturduğu fitatların çözünebilirlik karakteristikleri, beslenme üzerindeki olumsuz etkilerinin temel nedeni olarak görülmektedir. Fakat tahıl ve tohumlara fermentasyon işleminin uygulanması ile bağlı bulunan minerallerin kullanılabilirliği artırılmaktadır (Özkaya, 2004).

Vişne çekirdeğinde yapılan organik asit analizi sonucunda yüksek miktarda (% 3.33) fitik asit bulunmuştur. El-Adawy and Taha (2001), karpuz çekirdeğinde %

2.63, kabak çekirdeğinde % 2.37 ve tatlı biber çekirdeğinde % 1.98 oranında fitik asit bulmuşlardır. Vişne çekirdeğinde fitik asit haricinde % 0.26 oranında sitrik asit ve % 1.6 oranında da L-malik asit gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Vişne çekirdeğinin organik asit kompozisyonu

Organik asit	Miktar (%)
Fitik asit	3.33 ± 0.120
Sitrik asit	0.26 ± 0.008
L-malik asit	1.60 ± 0.087

Çizelge 4.4'te görülebileceği gibi glutamik asit, vişne çekirdeğinde en çok bulunan amino asittir ve elzem bir amino asit olan metiyonin miktarı % 0.82 ile sınırlı kalmıştır. Ayrıca tahıllarda az miktarda bulunan lizin ise vişne çekirdeğindeki toplam amino asidin % 5.28'ini oluşturmaktadır.

Çizelge 4.4. Vişne çekirdeğindeki % amino asit oranları

Amino asit	Miktar (%)	Amino asit	Miktar (%)
Alanin	4.57 ± 0.323	Lizin	5.28 ± 0.020
Arjinin	9.30 ± 0.134	Metiyonin	0.82 ± 0.035
Aspartik asit	7.55 ± 0.069	Fenilalanin	7.05 ± 0.125
Sistein	0.25 ± 0.013	Prolin	8.25 ± 0.180
Glutamik asit	27.96 ± 0.438	Serin	4.49 ± 0.199
Glutamin	0.15 ± 0.014	Treonin	0.72 ± 0.051
Glisin	6.52 ± 0.003	Tirozin	1.15 ± 0.007
Histidin	4.32 ± 0.056	Valin	3.04 ± 0.128
İzolösin+lösin	8.40 ± 0.264		

Vişne çekirdeğinin toplam fenolik madde miktarı 538.66 ± 0.205 mg gallik asit/kg ve antioksidan kapasitesi 9.19 ± 0.791 mmol troloks/kg bulunmuştur. Fındık ve tohumlardaki fenolik bileşikler genellikle yapıdaki diğer bileşenlerle bağlı konumda bulunduğu için hidroliz aşamasından sonra ekstraksiyonları gerçekleştirilebilir (Açar et al., 2009). Bu amaçla vişne çekirdeğinin toplam fenolik madde miktarı NaOH hidrolizi gerçekleştirildikten sonra bulunmuştur.

Tez çalışmasında vişne çekirdeğinin % 17 oranında yağ içeriğinin tespiti, vişne çekirdeği yağının daha ayrıntılı incelenmesini gerektirmiştir. Çünkü bu oran, yağ üretiminde kullanılan bazı tohumların yağ içeriği ile aynı seviyede veya daha

fazladır. Örneğin pamuk tohumu ve soya tohumundaki yağ oranı % 18-25 iken zeytin % 15-35 oranında yağ içermektedir (Kayahan, 2006 ; O'Brien, 2004).

4.2. Süperkritik Ekstraksiyon ile Klasik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Vişne Çekirdeği Yağı Bileşimine Etkisi

Tez kapsamında yapılan çalışmada vişne çekirdeği yağının, palmitik asit (% 5.93-7.24), stearik asit (% 1.08-1.33), oleik asit (% 44.99-47.94), linoleik asit (% 40.58-42.26) ve α -linolenik asit (% 3.80-5.06) içerdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.5). Analiz sonuçları, vişne çekirdeği yağının doymamış yağ asidi içeriği bakımından oldukça zengin olduğunu göstermektedir. Ayrıca elzem yağ asidi olan linoleik ve α -linolenik asit miktarları toplamı, vişne çekirdeği yağının toplam yağ asiti miktarının yaklaşık % 45'ini oluşturmaktadır. Esansiyel yağ asidi olan α -linolenik asit miktarı diğer bazı tohum ve çekirdeklerle karşılaştırıldığında vişne çekirdeğinde yüksek çıkmıştır. Örneğin fındık yağı ve domates çekirdeğinde α -linolenik asit tespit edilmezken üzüm çekirdeğinde % 1 oranında görülmektedir (Kayahan, 2006).

Çizelge 4.5. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağındaki yağ asidi bileşimine etkisi

	Ekstraksiyon metodu			
	Hekzan	Etanollü hekzan	SC-CO ₂	Etanollü SC-CO ₂
Yağ asidi(%)				
Palmitik asit	6.23 ± 0.154a	5.93 ± 0.161a	7.24 ± 0.165b	6.14 ± 0.128a
Stearik asit	1.33 ± 0.138a	1.08 ± 0.173a	1.33 ± 0.123a	1.19 ± 0.011a
Oleik asit	46.80 ± 0.165a	47.94 ± 1.336a	44.99 ± 1.388a	45.54 ± 1.332a
Linoleik asit	40.58 ± 0.134a	41.23 ± 1.039a	41.81 ± 0.130a	42.26 ± 1.175a
α -Linolenik asit	5.06 ± 0.149a	3.80 ± 1.107a	4.63 ± 1.098a	4.86 ± 1.250a

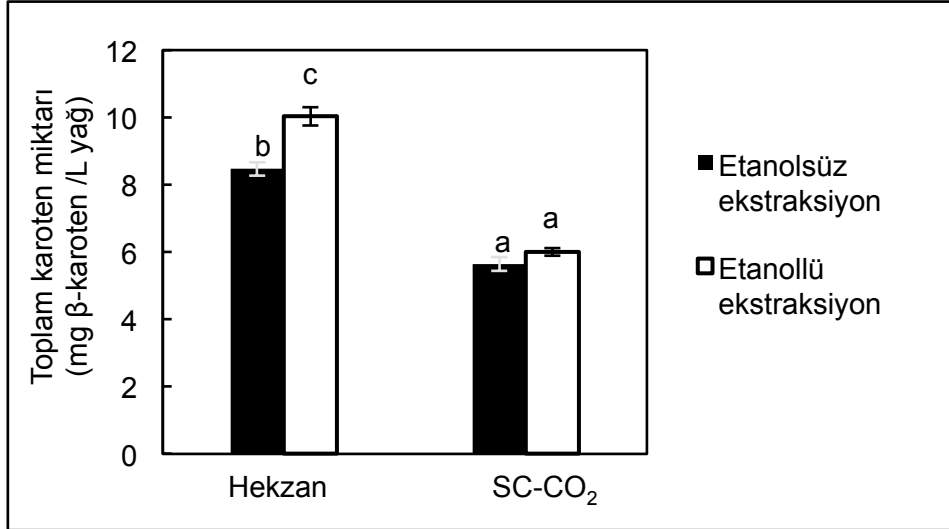
*Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0.05).

Saf SC-CO₂ ve hekzan ile elde edilen vişne çekirdeği yağları, yağ asidi kompozisyonu açısından karşılaştırıldığında palmitik asit hariç istatistiksel olarak aralarında önemli bir fark gözlenmemiştir (p>0.05). Kosolvent olarak eklenen etanolün her iki ekstraksiyon yönteminde de yağ asidi kompozisyonunu değiştirmedeği belirlenmiştir.

Vagi et al. (2007), domates işletmesinde atık olarak ortaya çıkan domates posasını hekzan, etanol ve SC-CO₂ ile ekstrakte ettikten sonra farklı ekstraksiyon solventlerinin yağ asidi kompozisyonunu değiştirmedeğini gözlemlemiştir.

Sanchez-Vicente et al. (2009), şeftali çekirdeğinden SC-CO₂, etanol ile modifiye edilmiş SC-CO₂ ve hekzan kullanılarak elde edilen yağların yağ asidi kompozisyonlarının aynı olduğunu tespit etmişlerdir.

Toplam karoten miktarı, vişne çekirdeği yağı SC-CO₂ ile elde edildiğinde 5.65 mg/L, etanol eklenmiş SC-CO₂ ile elde edildiğinde 6.00 mg/L, hekzan ve etanol eklenmiş hekzan ile elde edildiğinde ise sırasıyla 8.47 mg/L ve 10.03 mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 4.3). Sonuçlar değerlendirildiğinde hekzan ekstraksiyonu, SC-CO₂ ekstraksiyonuna göre vişne çekirdeğinden yağa daha fazla karoten geçişine neden olmuştur. SC-CO₂'e kosolvent olarak etanol eklenmesi yağdaki toplam karoten miktarı açısından önemli bir fark yaratmazken ($p>0.05$), hekzana etanol eklenmesi yağdaki karoten miktarını istatistiksel olarak artırmıştır ($p<0.05$).



Şekil 4.3. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının karoten miktarına etkisi

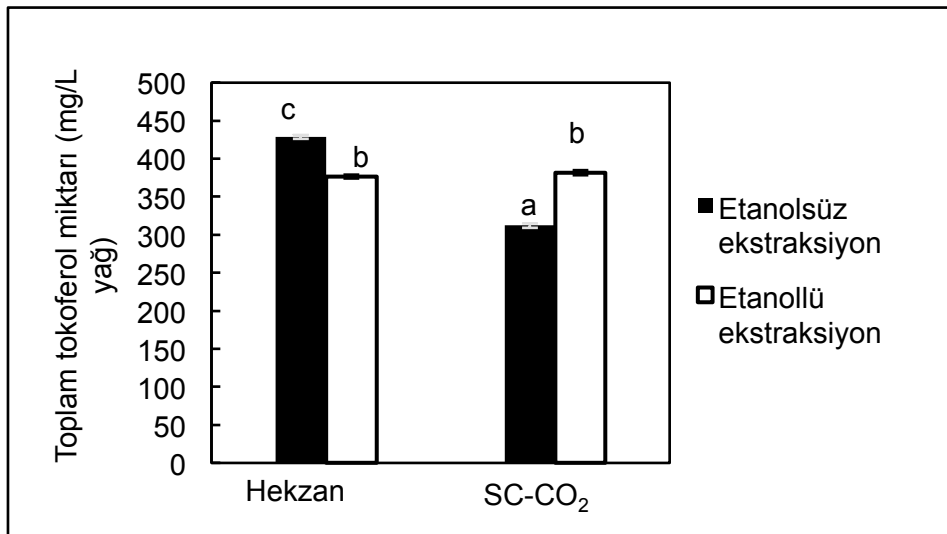
Eller et al. (2010), domates çekirdeği yağını, 80 °C sıcaklık, 55.2 MPa basınç ve 0.3 kg CO₂/dak akış hızı şartlarındaki SC-CO₂ ekstraksiyonu ve ekstraksiyon koşulları 100 °C ve 1500 psi olan hızlandırılmış hekzan ve hızlandırılmış etanol ekstraksiyonu ile elde etmişlerdir. Yağ örneklerindeki β-karoten miktarı SC-CO₂ ekstraksiyonunda 0.93 µg/g, hızlandırılmış hekzan ekstraksiyonunda 4.53 µg/g ve hızlandırılmış etanol ekstraksiyonunda 4.06 µg/g bulunmuştur.

Şanal et al. (2004), meyve püresi işletmelerinden temin edilen kayısı posasına SC-CO₂ ve klasik solvent ekstraksiyonu uygulayarak karotenoid ekstraksiyonu

gerçekleştirmişlerdir SC-CO₂ ekstraksiyon sonucu elde edilen en yüksek karoten miktarı 88 g/g kuru posa iken, petroleter/metanol (1/1 v:v) ile gerçekleştirilen klasik ekstraksiyon sonucunda karoten miktarı 114 g/g kuru posa olarak bulunmuştur. SC-CO₂ ekstraksiyonu ile daha düşük miktarlarda karoten elde edilmesinin nedeni olarak kayısı dokusundaki karbonhidratın karbondioksitin porlara difüzyonunu engellemesi gösterilmiştir.

Temelli et al. (2007) tarafından SC-CO₂ içerisindeki çözünürlüğün, SC-CO₂ yoğunluğuna ve çözünen maddenin molekül ağırlığı ve polaritesi gibi özelliklere bağlı olduğu rapor edilmiştir. Karotenler, apolar bileşikler olduğu için hekzan ve SC-CO₂ içerisinde çözünmesi beklenen bir olaydır. Karoten miktarının etanolle modifiye edilen ekstraksiyon yöntemlerinde artış göstermesi ise, karotenin çekirdeğin yapısındaki polar bileşiklerden etanol vasıtasıyla kolay ayrılmasına bağlayabiliriz.

Toplam tokoferol miktarı, vişne çekirdeği yağı SC-CO₂ ve (SC-CO₂ + %3 etanol) ile elde edildiğinde 312.15 mg/L ve 381.68 mg/L; hekzan ve (hekzan + %3 etanol) ile elde edildiğinde ise 428.62 mg/L ve 376.56 mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Kosolvent olarak etanol kullanılması hekzan ve SC-CO₂ ekstraksiyonlarının her ikisi için de tokoferol miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Etanol kullanıldığında toplam tokoferol miktarı hekzan ekstraksiyonunda azalırken SC-CO₂ ekstraksiyonunda artmıştır (p<0.05).



Şekil 4.4. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının toplam tokoferol miktarına etkisi

Literatürde SC-CO₂'in tokoferol miktarını artırdığı veya azalttığına dair farklı çalışmalar yapılmıştır. Liu et al. (2009), nar çekirdeği yağını 30 MPa basınç, 50 °C sıcaklık ve 15 L/h akış hızında SC-CO₂ kullanarak süperkritik akışkan metoduyla ve hekzan kullanarak klasik solvent metoduyla elde etmişlerdir. SC-CO₂ ile ekstrakte edilen yağdaki toplam tokoferol miktarı 295.73 mg/100 g iken hekzan ile ekstrakte edilen yağda 258.75 mg/100 g bulunmuştur.

Bir başka çalışmada ise SC-CO₂ ve hekzan ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen kenaf (*Hibiscus cannabinus*) tohumu yağları tokoferol kompozisyonları açısından karşılaştırılmıştır. SC-CO₂ ekstraksiyonunda 400 bar-40 °C, 400 bar-80 °C, 600 bar-40 °C ve 600 bar-80 °C parametreleri kullanılmış ve bu koşullarda toplam tokoferol miktarları sırasıyla 12.79 mg/100 g, 32 mg/100 g, 88.20 mg/100 g ve 85.57 mg/100 g bulunmuştur. Bu çalışmada hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağlarda toplam tokoferol miktarı 62.38 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yüksek basınç koşullarında gerçekleştirilen SC-CO₂ ekstraksiyonunun düşük basınçta uygulanan SC-CO₂ ekstraksiyonuna ve hekzan ekstraksiyonuna göre daha etkili olduğu gözlenmiştir (Mariod et al., 2011).

He et al. (2010), gardenya bitkisi yağını 30 MPa basınç, 55 °C sıcaklık ve 10 kg/h CO₂ akış hızı parametrelerindeki SC-CO₂ yöntemiyle ve hekzan kullanarak elde etmişlerdir. Toplam tokoferol miktarı hekzan yönteminde 52.20 mg/100 g ve SC-CO₂ yönteminde 47.94 mg/100 g olarak bulunmuş ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0.05).

Farklı solventlerle ekstrakte edilen vişne çekirdeği yağlarının tümünde α -, β -, γ - ve δ - tokoferollerini tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen vişne çekirdeği yağındaki δ - tokoferol (274.06 mg/L) ve (β + γ)-tokoferol miktarları (88.89 mg/L), SC-CO₂ ile elde edilen vişne çekirdeği yağındaki miktarlardan fazla bulunmuştur (183.8 mg/L ve 38.88 mg/L) (p<0.05). Fakat SC-CO₂ ekstraksiyonu, vişne çekirdeği yağındaki α -tokoferol miktarında (89.47 mg/L) hekzan ekstraksiyonuna göre daha fazla artış sağlamıştır (65.66 mg/L) (p<0.05).

% 3 oranında etanol eklenmesi hem hekzan hem de SC-CO₂ ekstraksiyonunda α -tokoferol miktarını değiştirmemiştir. Fakat hekzan ekstraksiyonunda (β + γ)-tokoferol ve δ -tokoferol miktarlarında azalış sağlarken, SC-CO₂ ekstraksiyonunda

ise bu durumun tersi olarak ($\beta+\gamma$)-tokoferol ve δ - tokoferol miktarlarında artışa neden olmuştur.

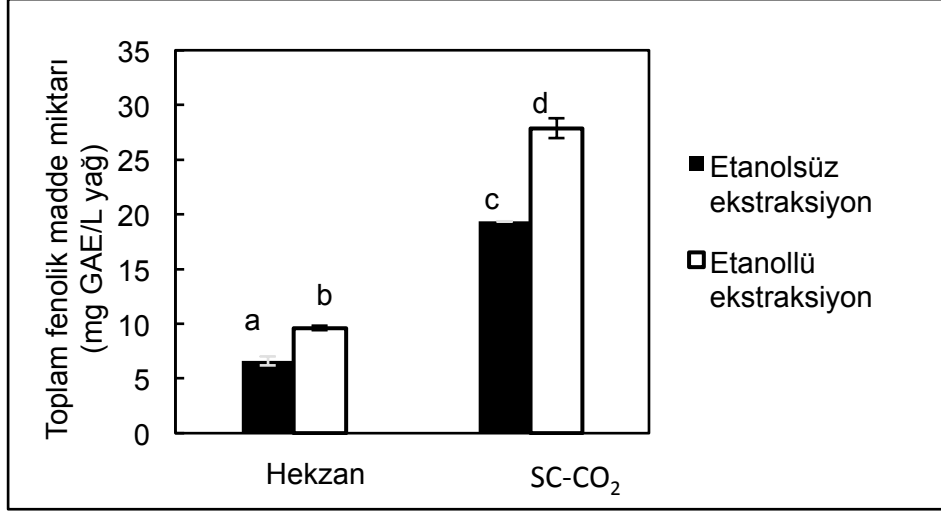
Çizelge 4.6. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağı tokoferol bileşimine etkisi

	Ekstraksiyon metodu			
	Hekzan	Etanollü hekzan	SC-CO ₂	Etanollü SC-CO ₂
Tokoferol (mg/L)				
α -tokoferol	65.66 ± 2.771a	61.48 ± 2.800a	89.47 ± 3.490b	94.93 ± 2.446b
($\beta+$ γ)-tokoferol	274.06 ± 2.913d	237.06 ± 1.640c	183.80 ± 2.545a	228.25 ± 2.474b
δ -tokoferol	88.89 ± 2.814d	78.02 ± 2.432c	38.88 ± 2.800a	58.50 ± 2.262b

*Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0.05)

Yapılan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile vişne çekirdeğinin toplamda 312.15-428.62 mg/L aralığında tokoferol içerdiği gözlemlenmiştir. Literatürde palm yağının 180-300 mg/L, palm çekirdeği yağının 3-10 mg/L, hindistan cevizi yağının 3-9 mg/L ve zeytin yağının 70-150 mg/L aralığında tokoferol içerdiği göz önünde bulundurulursa, vişne çekirdeği yağının tokoferol içeriği açısından zengin olduğu söylenebilir (O'Brien, 2004).

Vişne çekirdeği yağındaki toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir. Farklı solventlerle ekstraksiyonu gerçekleştirilen vişne çekirdeği yağlarındaki toplam fenolik madde miktarları şu şekilde sıralanmıştır: hekzan (6.6 mg GAE/L) < etanollü hekzan (9.61 mg GAE/L) < SC-CO₂ (19.34 mg GAE/L) < etanollü SC-CO₂ (27.87 mg GAE/L). SC-CO₂ ve hekzanın apolar olmasından dolayı fenolik maddelerin ekstrakte edilmesinde çok etkili oldukları söylenemez fakat bu çalışmada SC-CO₂'in fenolik maddelerin ekstraksiyonu açısından hekzandan daha etkili olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarına etkisi

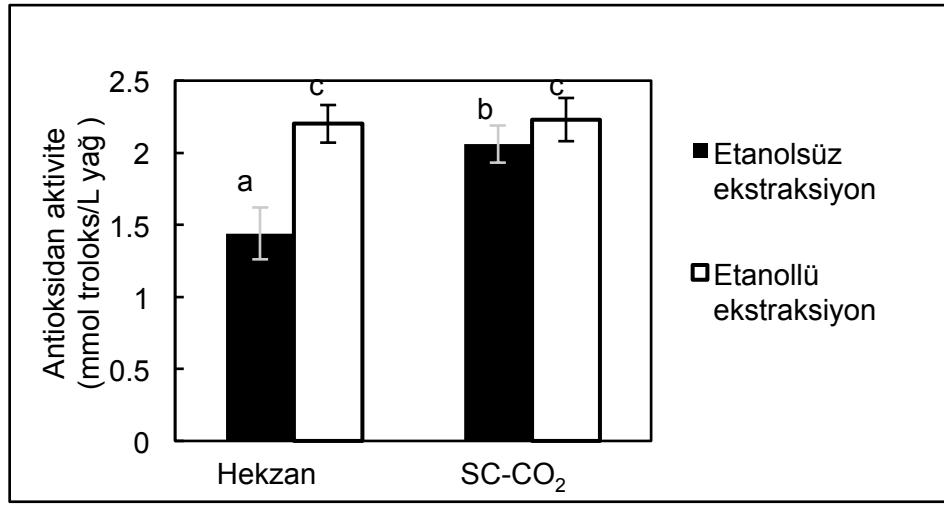
Hekzan ve SC-CO₂ ile kosolvent olarak etanol kullanılması vişne çekirdeği yağındaki toplam fenolik madde miktarında yaklaşık olarak aynı oranda artış sağlamıştır (% 45.00 ve % 44.10). Etanolün toplam fenolik madde miktarında sağladığı artış, yüksek polar özelliğinden dolayı çekirdekdeki fenolik maddelerin yağa geçişini artırması ile açıklanabilir.

Tsuda et al. (1995), hint hurması (*Tamarindus indica* L.) kabuğundan bazı polifenolik maddeleri SC-CO₂ ile ekstrakte etmişler ve yapıda bulunan flavan-3-ol moleküllerinin SC-CO₂ içerisinde çözünürlüğünün kosolvent olarak kullanılan etanolla arttığını bildirmişlerdir.

Bir başka benzer çalışmada ise hint hurması (*Tamarindus indica* L.) kabuğu SC-CO₂, % 10 etanol eklenmiş SC-CO₂ ve sadece etanol solventi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. SC-CO₂ ekstraksiyonu 35-80 °C ve 10-30 MPa aralığında gerçekleştirilmiştir. Saf SC-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen epikateşin miktarı 22 µg/100 g iken, % 10 etanol eklenmiş SC-CO₂ ile 13 mg/100 g bulunmuştur. En yüksek epikateşin miktarı (150 mg/100 g) ise sadece etanol ile gerçekleştirilen solvent ekstraksiyonunda bulunmuştur (Luengthanaphol et al., 2004).

Berna et al. (2001), kateşinin % 5-30 oranında etanol içeren CO₂-etanol karışımındaki çözünürlüğünü araştırmışlar ve artan etanol konsantrasyonu ile çözünürlüğün arttığını saptamışlardır.

Vişne çekirdeği yağındaki antioksidan aktivite, yapısındaki tokoferol ve polifenolik maddelerden kaynaklanmaktadır. Vişne çekirdeği yağındaki toplam antioksidan aktivite analiz sonuçları Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Analiz sonuçlarına göre, SC-CO₂'in antioksidan maddelerin ekstraksiyonunda hekzandan daha seçici olduğu ve etanol kullanılmasının antioksidan aktiviteyi artırdığı tespit edilmiştir. Vişne çekirdeği yağındaki antioksidan aktivite etanolle modifiye edilmiş SC-CO₂ kullanıldığında en yüksek seviyede bulunurken (2.23 mmol troloks/L), bunu etanolle modifiye edilmiş hekzan ekstraksiyonu takip etmiştir (2.20 mmol troloks/L).



Şekil 4.6. Süperkritik ekstraksiyon ile hekzan ekstraksiyon yöntemlerinin vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesine etkisi

4.3. Kavurma İşleminin Vişne Çekirdeği Yağı Bileşimine Etkisi

Yağlı tohumların yağa işlenmeleri için öğütülmelerine ek olarak kavrulmaları işletmelerin yağ verimi açısından önem taşımaktadır. Çünkü yağlı tohumlar kavrulmadan doğrudan preslenirse, küspede kalan yağ miktarı mümkün olan en yüksek basınç uygulansa bile ancak % 6-9 düzeyine kadar düşürülebilmektedir (Kayahan, 2006). Kavurma, yağlı tohumların renk, aroma ve tekstürel özelliklerinin gelişimi açısından da önemli bir aşamadır. Kavurma işlemi enzimleri inaktive eder, hücre duvarlarına zarar vererek yağ ekstraksiyonunu kolaylaştırır ve tohumlardaki alerjen maddelerin parçalanmasını sağlar. Kavurma sırasında yağlı tohumların yapısında görülen fiziksel ve kimyasal değişimler, uygulanan ısıl işlemin niteliğine ve tohumun kimyasal yapısına göre değişmektedir (Durmaz and Gökmen, 2010b). Dolayısıyla % 17 oranında yağ içeren vişne çekirdeğinden yağ elde etmeden önce

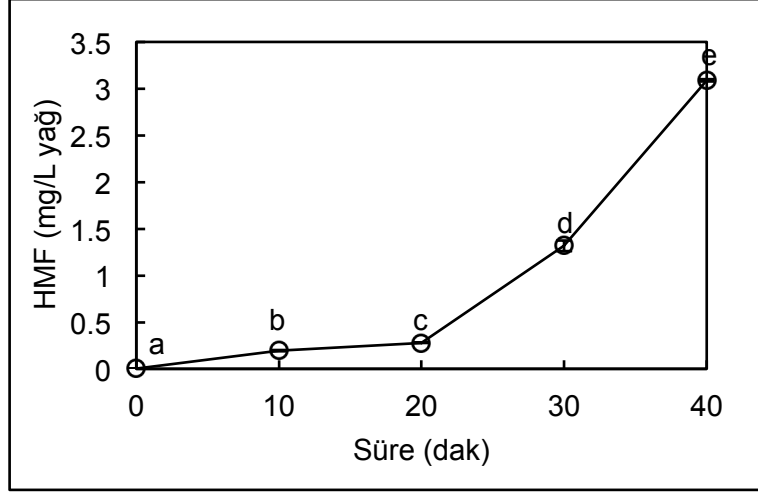
kavurma işlemi gerçekleştirilirse, vişne çekirdeği yağının kimyasal bileşimi değişebilir. Bu çalışma kapsamında kavurmanın vişne çekirdeği yağı bileşimine etkisini incelemek için 160 °C'de sabit tutulan fırında 4 farklı sürede (10, 20, 30 ve 40 dakika) kavurma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada kontrol örneğinde (kavrulmamış vişne çekirdeğinden elde edilen yağ) % 45.25 oleik asit, % 42.75 linoleik asit, % 5.96 palmitik asit, % 1.4 stearik asit ve % 4.64 linolenik asit bulunmuştur. 160 °C'de farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işlemi vişne çekirdeği yağı yağ asidi kompozisyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($p>0.05$). Bu durum literatürdeki çalışmalarla genellikle benzerlik göstermektedir.

Kim et al. (2002), farklı süre ve sıcaklık kombinasyonlarında kavurma işlemi uyguladıkları pirinç ruşeyminden elde ettikleri yağda, yağ asidi kompozisyonu açısından fark tespit etmemişlerdir.

Durmaz and Gökmen (2011), menengiç meyvesinin farklı sürelerde kavrulmasının ardından hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağlarda yağ asidi kompozisyonunun değişmediğini belirlemişlerdir.

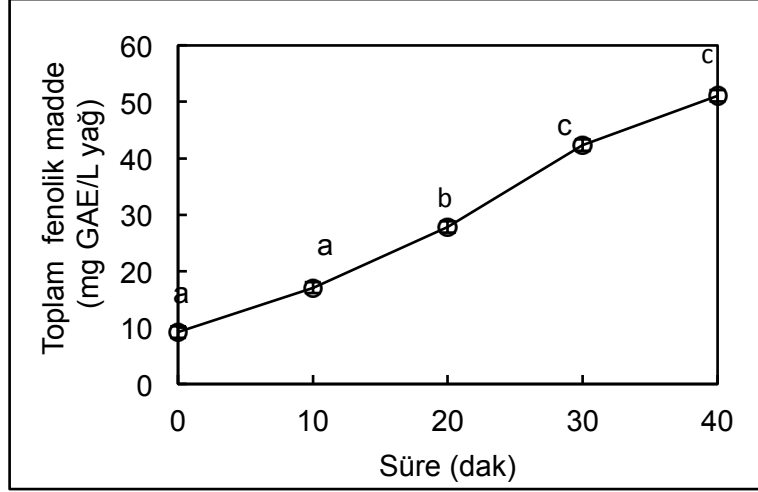
Yapılan HMF analizi sonucunda kontrol örneğinde HMF'ye rastlanmamıştır. Vişne çekirdeklerinin 10, 20, 30 ve 40 dakika kavrulması sonrası elde edilen yağlardaki HMF miktarları sırasıyla 0.19 mg/L, 0.28 mg/L, 1.32 mg/L ve 3.09 mg/L olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7). Kavurma süresinin artması ile çekirdekten yağa geçen HMF miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Kavurma sırasında, indirgen şekerlerle aminoasitler arasındaki etkileşimden Maillard reaksiyon ürünleri oluşmakta ve hidrokسيمetilfurfural kavurma süresine bağlı olarak kısmi polar özelliğinden dolayı tohumların yağ fazında toplanmaktadır (Durmaz and Gökmen, 2010b).



Şekil 4.7. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının HMF miktarı üzerine etkisi

Birçok bitkisel yağ, özellikle fenolik bileşikleri kapsayan polar maddeler içermektedir. Bu minör bileşenler yağın oldukça küçük bir kısmını oluşturmasına rağmen, antioksidan özelliklerinden dolayı antikarsinojenik etki gibi yüksek biyolojik aktivite gösterirler. Bu nedenle çekirdekten yağa fenolik madde geçişi önem taşımaktadır (Vujsinovic et al. 2012).

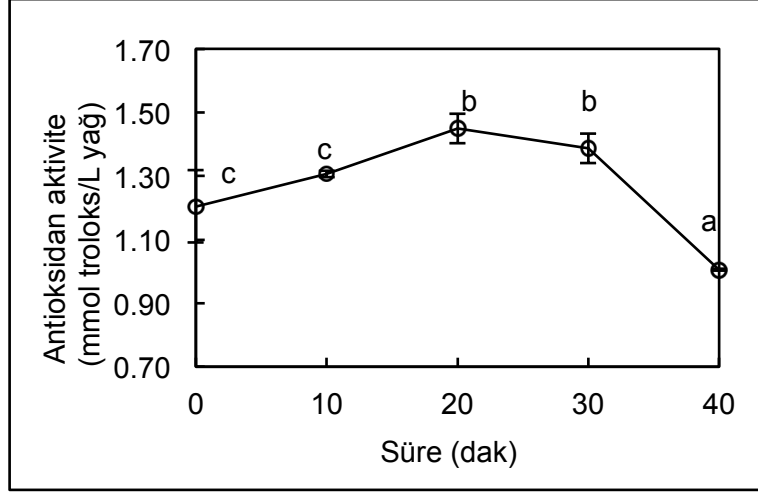
Şekil 4.8 'de görülebileceği gibi, 160 °C'de farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işlemi, vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarını etkilemiştir. Kontrol örneğinde toplam fenolik madde miktarı 9.18 mg GAE/L olarak bulunmuştur. 10 dakika kavurmada fenolik madde miktarı 17.07 mg GAE/L, 20 dakikada 27.83 mg GAE/L, 30 dakikada 42.32 mg GAE/L ve 40 dakikada 51.08 mg GAE/L bulunmuştur. Genel olarak artan fenolik madde miktarına karşılık 10 ile 20 dakikalık kavurma işlemleri arasında ve 30 ile 40 dakikalık kavurma işlemleri arasında fenolik madde miktarı açısından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). İlk anlamlı fenolik madde artışı 20 dakikalık kavurma sonrası görülmüştür ($p<0.05$). Toplam fenolik madde miktarındaki artış, tohumda bağlı konumda bulunan fenolik bileşiklerin ısı etkisiyle açığa çıkması ve böylelikle ekstraksiyon ile yağ fazına daha kolay geçmesi ile açıklanabilir.



Şekil 4.8. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi

Durmaz and Alpaslan (2007) tarafından yapılan bir çalışmada kayısı çekirdeği, yağı uzaklaştırıldıktan sonra 150 °C'de farklı sürelerde kavurulmuştur. Kavrulan örneklerin etanol ile ekstraksiyonu sonucunda toplam fenolik madde miktarı kavrulmamış örnekte 1.68 µg/g GAE olmak üzere artan kavurma sürelerine göre (5, 10, 15 ve 20 dakika) sırasıyla 3.48 µg/g GAE, 5.85 µg/g GAE, 4.55 µg/g GAE ve 4.58 µg/g GAE olarak bulunmuştur. 10 dakikadan sonra fenolik madde miktarındaki azalış, doğal olarak bulunan fenolik maddelerin yüksek sıcaklığa maruz kaldığında parçalanması ile ilişkilendirilmiştir.

Kavrulmuş vişne çekirdeklerinden elde edilen yağ örneklerindeki antioksidan aktivite ise mmol troloks/L olacak şekilde ifade edilmiştir. Kontrol örneğinin antioksidan aktivitesi 1.204 mmol troloks/L iken vişne çekirdeklerinin 10, 20, 30 ve 40 dakika kavrulmasından sonra elde edilen yağlardaki antioksidan aktivite sırasıyla 1.307 mmol troloks/L, 1.449 mmol troloks/L, 1.387 mmol troloks/L ve 1.005 mmol troloks/L olarak bulunmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesi üzerine etkisi

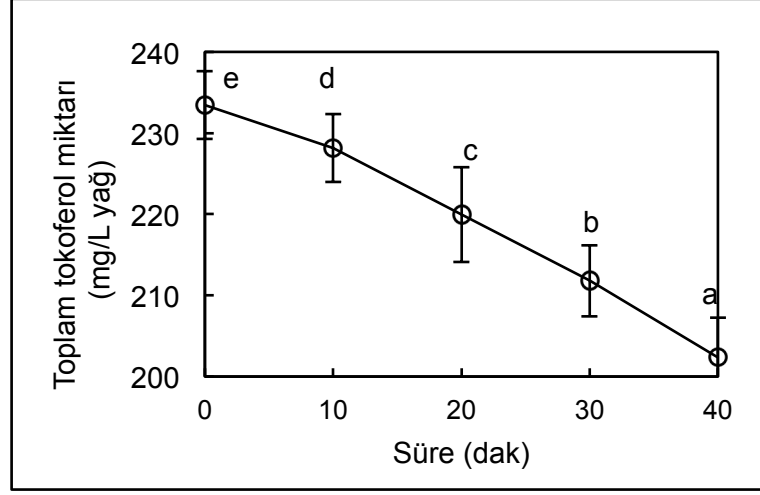
10 dakika kavurma işlemi vişne çekirdeği yağındaki antioksidan aktiviteyi değiştirmemiştir. Fakat 20 dakikalık kavurma işlemi toplam fenolik madde miktarında olduğu gibi antioksidan aktiviteyi de artırmıştır. 20 ve 30 dakika kavurma işlemleri arasında yağdaki antioksidan aktivite açısından fark gözlenmemiştir. Çekirdeklerin 40 dakika kavurulması ise antioksidan aktivitede belirgin bir düşüşe neden olmuştur.

Benzer bir sonuç, Durmaz and Gökmen (2011) tarafından yapılan bir çalışmada gözlenmiştir. Bu çalışmada menengiç meyvesi, 180 °C'de 5, 10, 20, 30 ve 40 dakika boyunca kavurma işlemine tabi tutulmuştur. 5, 10 ve 20 dakika kavurma sürelerinde antioksidan aktivite artış göstermiş ve 20 ile 30 dakikalık kavurma işlemleri sonrası yağdaki antioksidan aktivite miktarı değişmemiştir. 40 dakika kavurma sonrası meyveden elde edilen yağdaki antioksidan aktivitede ise azalma görülmüştür.

Örneklerde ilk 20 dakikadaki antioksidan aktivite artışı, Maillard reaksiyonu ile oluşan antioksidan özellikteki yeni maddelerin varlığı ile açıklanabilir. Çünkü kavurmanın yağlı tohumlardaki antioksidan aktivite üzerine etkisi, doğal yolla oluşan antioksidan özellikteki bileşiklerin termal degradasyonu ve yeni MRP oluşumu arasındaki dengeye bağlıdır (Açar et al., 2009).

Farklı sürelerde kavruan vişne çekirdeklerinden hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağların tokoferol miktarları Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Kontrol örneğinde

toplam tokoferol miktarı 233.46 mg/L bulunmuştur ve bu miktar artan kavurma süreleri ile (10, 20, 30 ve 40 dak) 228.17 mg/L, 219 mg/L, 211.81 mg/L ve 202.36 mg/L olacak şekilde istatistiksel olarak azalmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 4.10. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının toplam tokoferol miktarı üzerine etkisi

α -tokoferol miktarı, 10 dakika kavurma işleminin ardından artmasına rağmen 10, 20, 30 ve 40 dakikalık kavurma işlemleri arasında α -tokoferol miktarı açısından fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$). α -tokoferolün tersine ($\beta + \gamma$)-tokoferol miktarları, 10 dakikalık kavurma süresince azalmıştır. δ -tokoferol miktarında ise kavurma süreleri boyunca küçük değişimler gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

Toplam tokoferol miktarı açısından benzer bir sonuç Yoshida et al. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada da görülmüştür. Soya hipokotilinin mikrodalgada 6, 8, 12 ve 20 dakika kavrulması işleminin ardından elde edilen yağda toplam tokoferol miktarında düşüş görülmüştür. Bir başka çalışmada kabak çekirdeği farklı sürelerde kavrulmuş ve elde edilen yağda α -tokoferol, α -tokotrienol, γ -tokoferol ve γ -tokotrienole rastlanmıştır. Tespit edilen bu dört tokoferol izomeri miktarı, 40 dakika kavurma boyunca azalmış fakat daha sonra artmıştır. İlk 40 dakikadaki azalış oksidasyon reaksiyonu ile, sonraki artış ise yağ ekstraksiyon veriminin artması ile ilişkilendirilmiştir (Murkovic et al., 2004).

Fakat literatürde ısı işlem uygulamanın tokoferol miktarı üzerinde artırıcı etkileri olduğuna dair çalışmalar da vardır. Bu artırıcı etki ısı etkisiyle hücre duvarlarının parçalanması ve tokoferollerin daha iyi ekstrakte edilmesine bağlanmıştır (Lee et

al., 2004). Kim et al. (2002), pirinç ruşeymine 160, 170 ve 180 °C sıcaklıklarda ve farklı sürelerde kavurma işlemi uygulamışlardır. Kavrulan ruşeymlerden ekstrakte ettikleri yağda α - tokoferol ve γ - tokoferol miktarı kavurma sıcaklığı ve süresi arttıkça artış gösterirken β ve δ - tokoferol miktarlarında bir değişim gözlenmemiştir.

Çizelge 4.7. Farklı sürelerde gerçekleştirilen kavurma işleminin vişne çekirdeği yağının tokoferol bileşimi üzerine etkisi

Kavurma süresi	α -tokoferol (mg/L)	(β + γ)-tokoferol (mg/L)	δ -tokoferol (mg/L)
Kontrol	30.41 \pm 2.559a	166.68 \pm 2.517c	36.38 \pm 1.810b
10 dakika	56.17 \pm 2.644b	139.02 \pm 2.291b	32.98 \pm 2.771ab
20 dakika	52.84 \pm 3.309b	138.79 \pm 2.672b	28.31 \pm 2.559a
30 dakika	50.64 \pm 2.474b	133.41 \pm 2.390b	27.77 \pm 2.559a
40 dakika	49.76 \pm 2.517b	121.00 \pm 1.555a	31.60 \pm 1.979ab

*Aynı sütündeki farklı harfler istatistiki olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0.05).

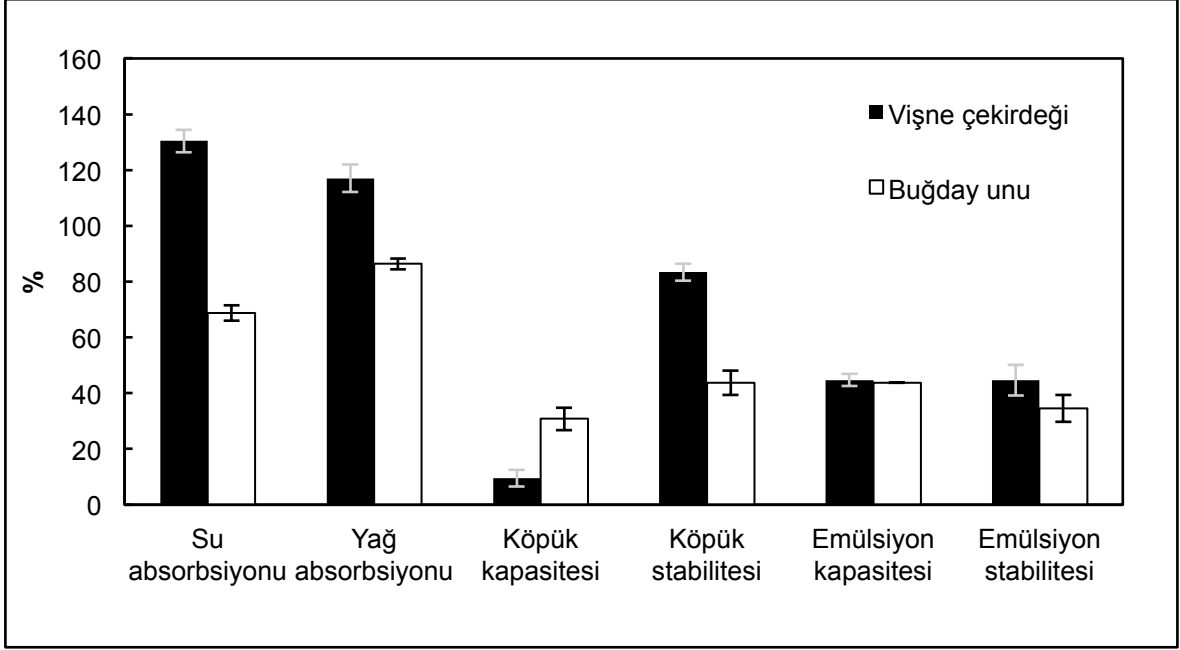
4.4. Vişne Çekirdeğinin Fonksiyonel Özellikleri

Gıdaların görünüş, renk ve tekstür gibi duyuşal özellikleri, tüketiciler tarafından tercih edilmelerini etkileyen en önemli faktörlerdir. Proteinlerin de gıdaların duyuşal özelliklerinin oluşumunu sağlayan fonksiyonel özellikleri vardır. Proteinlerin çözünürlüğü, su tutma kapasitesi, yağ bağlama özellikleri, köpük oluşturma kapasitesi-stabilitesi, emülsiyon oluşturma kapasitesi-stabilitesi ve jel oluşturma gibi fonksiyonel özellikleri ürün kalitesini etkilemektedir. Fonksiyonel özelliklerin önemi, protein kaynağının kullanıldığı gıdanın çeşidine göre değişmektedir. Örneğin, yüksek su ve yağ absorblama kapasitesi ekmek ve kek ürünlerinde, yüksek emülsiyon ve köpürme kapasitesi çorba, kek ve sosis gibi gıdalarda istenen bir durumdur (Ahmedna et al., 1999).

Gıdaların fonksiyonel özellikleri belirlenirken literatürde farklı metotlar kullanıldığı için ürünler arası karşılaştırma yapmak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle vişne çekirdeğinin fonksiyonel özellikleri belirlenirken karşılaştırma amaçlı rafine buğday ununun fonksiyonel özellikleri de belirlenmiştir.

Bu çalışmada su absorblama kapasitesini belirlemek için örnekler su ile bekletilmiş ve santrifüj sonrası örnek ağırlığındaki artıştan hesaplama yapılmıştır. Protein yapısı, amino asit kompozisyonu ve yüzey polaritesi su tutma kapasitesini etkileyen faktörlerdir (Barbut, 1999). Şekil 4.11'de görülebileceği gibi vişne

çekirdeğinin su absorblama kapasitesi (% 130.42), buğday ununun su absorblama kapasitesinden (% 68.68) fazla çıkmıştır. Su absorblama kapasitesi, artan protein miktarı ile artış gösterdiği için % 29 oranında protein içeren vişne çekirdeğinin su absorblama kapasitesi, % 13 oranında protein içeren buğday unundan fazla çıkmıştır (Çizelge 4.8)



Şekil 4.11. Vişne çekirdeğinin fonksiyonel özelliklerinin rafine buğday unu ile karşılaştırılması

Yağlar, aroma tutma ve ağızda yumuşaklık hissi verme gibi özelliklerinden dolayı gıdalarda önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan çalışmada vişne çekirdeğinin yağ absorblama kapasitesi (% 117.05), buğday unundan (% 86.35) fazla çıkmıştır.

Proteinlerin fonksiyonel özelliklerinden bir diğeri de köpük oluşumudur. Hava ile stabil köpük oluşumu kek, krema, bira ve dondurma gibi ürünlerde önemli bir kalite kriteridir. Bu çalışmada köpük kapasitesi, belirli bir süre çalkalanan örneklerde oluşan köpük hacminin % olarak ifade edilmesi, köpük stabilitesi ise köpük oluşumunu takiben belirli bir süre sonra geriye kalan köpük hacminin % olarak ifadesidir. Analiz sonuçlarına göre vişne çekirdeğinin ve buğday ununun köpük kapasitesi sırasıyla % 9.43 ve % 30.77 çıkmıştır. Köpük stabilitesi ise, köpük kapasitesinin tersine vişne çekirdeğinde (% 83.33), buğday ununa (% 43.75) kıyasla daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Köpük kapasitesi ve stabilitesi, gıda sistemindeki şeker, tuz ve lipit konsantrasyonundan etkilenmektedir (Damodaran,

1996). Dolayısıyla vişne çekirdeği her ne kadar rafine buğday ununa göre daha fazla miktarda protein içerse de, köpük inhibitörü olarak davranan lipitler vişne çekirdeğinde daha fazla bulunmaktadır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Vişne çekirdeği ve rafine buğday ununun protein, lipit ve karbonhidrat miktarlarının karşılaştırılması (Baljeet et al., 2010)

	Protein (%)	Lipit (%)	Karbonhidrat (%)
Vişne çekirdeği	29	17	47
Rafine buğday unu	13	2	70

Bu çalışmada emülsiyon kapasitesi, örneğin emülsifiye edebildiği yağ ve su fazı hacmini ifade ederken emülsiyon kapasitesi, emülsiyon oluşturulduktan sonra belirli sıcaklık ve süre normunda bekletilen emülsiyondan ayrılan yağ ve su fazlarını esas almaktadır. Analizler sonucunda vişne çekirdeğinin emülsiyon kapasitesi (% 44.69) ile buğday ununun emülsiyon kapasitesi (% 43.75) arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Fakat emülsiyon stabilitesi açısından değerlendirildiğinde vişne çekirdeğinin emülsiyon stabilitesi (% 44.66) buğday ununa (% 34.47) göre daha fazla çıkmıştır.

5. ÖNERİLER

Meyve-sebze endüstrisi atıklarının değerlendirilebilir olması hem tüketiciler hem de işletmeler açısından olumlu sonuçlar yaratmaktadır. Bu atıkların genellikle biyoaktif maddelerce zengin oluşu tüketicilerin gittikçe artan doğal gıda ürünleri talebini karşılayabilir. Ayrıca işletmelerin atık materyallerden kaynaklanan çevresel zararı minimum düzeye indirmeleri ve ekonomik kazanç sağlamaları da söz konusudur.

Bu tez kapsamında vişne çekirdeğinin kimyasal kompozisyonu belirlenmiş ve yüksek oranda besinsel lif, protein ve yağ içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca mineral madde ve vitamin içeriği açısından da zengin oluşu, vişne çekirdeğinin gıda ingrediyesi olarak değerlendirilebilir bir yan ürün olduğu sonucunu vermiştir. Bu çalışmada vişne çekirdeğinin besinsel özelliklerine ek olarak fonksiyonel özellikleri de değerlendirilmiştir. Yüksek su ve yağ absorblama kapasitesinin ve emülsiyon oluşturma özelliklerinin ekmek ve kek ürünlerinde istenen bir durum olduğu göz önünde bulundurulduğunda vişne çekirdeğinin fırıncılık ürünlerinde kullanılabileceği söylenebilir. Çünkü yapılan analizler sonucunda vişne çekirdeğinin su ve yağ absorblama kapasitesinin ve emülsiyon stabilitesinin rafine beyaz undan daha iyi olduğu gözlenmiştir.

Vişne çekirdeği yağının tokoferol ve doymamış yağ asitleri açısından zengin oluşu, vişne çekirdeği yağının gıda endüstrisinde kullanılabilirliğini göstermektedir. Vişne çekirdeği yağı eldesinde hekzan ekstraksiyonu ve süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunun kullanılması yağ kompozisyonu açısından farklı avantajlar sağlamıştır. Süperkritik ekstraksiyon yönteminde çekirdekten yağa geçen fenolik madde miktarı hekzan ekstraksiyonuna göre daha fazladır. Ayrıca süperkritik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağın toplam antioksidan aktivitesi hekzan ekstraksiyonu ile elde edilene göre daha yüksek çıkmıştır. Bu durumda, toksik etki göstermeyen ve ekstraksiyona seçicilik kazandıran süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu vişne çekirdeği yağı eldesinde tercih edilebilir. Her iki ekstraksiyon yönteminde de kosolvent olarak etanol kullanılması, vişne çekirdeği yağının antioksidan aktivitesini, toplam fenolik madde miktarını ve karoten miktarını artırmıştır. Böylece vişne çekirdeği yağı ekstraksiyonunda kosolvent olarak etanol

kullanılması yağın kimyasal karakterizasyonunu, özellikle fenolik maddeler açısından zenginleştirecektir.

Yağ üreten işletmeler, yağ verimliliği açısından ekstraksiyon öncesi yağlı tohumlara kavurma işlemi uygulamaktadırlar. Dolayısıyla bu çalışma kapsamında da vişne çekirdeği 160 °C sıcaklıkta 10, 20, 30 ve 40 dakika boyunca kavurulmuş ve kavurma işleminin yağ kompozisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda 20 dakika kavurma işlemi, vişne çekirdeği yağının toplam fenolik madde miktarını ve antioksidan aktivitesini artırmıştır. Bunun yanında ilk 20 dakikada toplam tokoferol miktarında azalış görülürken, 30 ve 40 dakikalık kavurma işlemine kıyasla daha az HMF oluşmaktadır. Dolayısıyla yağ ekstraksiyonundan önce vişne çekirdeğine 150-160 °C'de kısa süreli kavurma işlemi uygulanması yağ kompozisyonunun zenginleştirilmesini sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- AACC, 1991, American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists.
- Açar, Ö., Gökmen, V., Pellegrini, N. and Fogliano, V., 2009, Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds, *European Food Research and Technology*, 229, 961–969.
- Aguilera, J.M., 2003, Solid-Liquid Extraction. Extraction optimization in Food Engineering. Tzia, C. and Liadakis, G. (eds.), Marcel Dekker Inc, New York, USA. pp. 35-55.
- Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W. and M. Rao, R., 1999, Solubilized Wheat Protein Isolate: Functional Properties and Potential Food Application, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1340–1345.
- Akkoç, H., 2008, Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı, *Dicle Tıp Dergisi*, 35, 211-215.
- AOAC, 1990, Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Washington.
- Ayala-Zavala, J.F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, C., Villa-Rodriguez, J.A., Wasim Siddiqui, Md., Dávila-Aviña, J.E. and González-Aguilar, G.A., 2011, Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives, *Food Research International*, 44, 1866-1874.
- Bak, I., Lekli, I., Juhasz, B., Nagy, N., Varga, E., Varadi, J., Gesztelyi, R., Szabo, G., Szendrei, L., Bacskay, I., Vecsernyes, M., Antal, M., Fesus, I., Boucher, F., de Leiris, J. and Tosaki, A., 2006, Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts, *American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology*, 291, H1329-H1336.
- Bak, I., Lekli, I., Juhasz, B., Varga, E., Varga, B., Gesztelyi, R., Szendrei, L. and Tosaki, A., 2010, Isolation and Analysis of Bioactive Constituents of Sour Cherry (*Prunus cerasus*) Seed Kernel: An Emerging Functional Food, *Journal of Medicinal Food*, 13, 905-910.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Baljeet, S.Y., Ritika, B.Y. and Roshan, L.Y., 2010, Studies on functional properties and incorporation of buckwheat flour for biscuit making, *International Food Research Journal*, 17, 1067-1076.
- Barbut, S., 1999, Determining water and fat holding. Methods of Testing Protein Functionality. Hall, G.M. (eds.), Blackie Academic and Professional, New York. pp. 186-225.

- Barrett, D.M., Somogyi, L.P. and Ramaswamy, H.S., 2005, Processing Fruits: Science and Technology, CRC Press, 841p.
- Belitz, H-D., Grosch, W. and Schieberle, P., 2009, Food Chemistry, Springer, 1114p.
- Berna, A., Chafer, A., Monton, J.B. and Subirats, S., 2001, High-pressure solubility data of system ethanol (1)+catechin (2)+CO₂ (3), Journal of Supercritical Fluids, 20, 157–162.
- Brunner, G., 2005, Supercritical fluids: technology and application to food processing, Journal of Food Engineering, 67, 21-33.
- Cao X. and Ito Y., 2003, Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography, Journal of Chromatography A, 1021, 117–124.
- Carlos Espin, J., Teresa Garcia-Conesa, M. and Tomas-Barberan, F.A., 2007, Nutraceuticals: Facts and fiction, Phytochemistry, 68, 2986-3008.
- Chafer, A., Pascual-Marti, M.C., Salvador, A. and Berna, A., 2005, Supercritical fluid extraction and HPLC determination of relevant polyphenolic compounds in grape skin, Journal of Separation Science, 28, 2050–2056.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E., 2003, Total Anthocyanins and Total Phenolics of Fresh and Processed Cherries and Their Antioxidant Properties, Food Chemistry and Toxicology, 69, FCT67-FCT72.
- Damodaran, S., 1996, Amino Acids, Peptides, and Proteins. Food Chemistry. Fennema, O.R. (eds.), Marcel Dekker Inc., New York, UK. pp. 321-431.
- Dinçer, S., Baran, N., Uzun, İ.N. ve Deniz, S., 2007, A Second Option in Special Separation Operations: Supercritical Fluid Processes, Journal of Engineering and Natural Sciences, 25, 106-128.
- Durmaz, G. and Alpaslan, M., 2007, Antioxidant properties of roasted apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel, Food Chemistry, 100, 1177-1181.
- Durmaz, G. and Gökmen, V., 2010a, Determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural and 2-furfural in oils as indicators of heat pre-treatment, Food Chemistry, 123, 912-916.
- Durmaz, G. and Gökmen, V., 2010b, Feature Impacts of roasting oily seeds and nuts on their extracted oils, Lipid Technology, 22, 179-182.
- Durmaz, G. and Gökmen, V., 2011, Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of Pistacia terebinthus oil with roasting, Food Chemistry, 128, 410-414.
- El-Adawy, T. A. and Taha, K. M., 2001, Characteristics and composition of different seed oils and flours, Food Chemistry, 74, 47–54.

- Eller, F.J., Moser, J.K., Kenar, J.A. and Taylor, S.L., 2010, Extraction and Analysis of Tomato Seed Oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 755-762.
- Escribano-Bailon, M. and Santos-Buelga, C., 2003, Polyphenol Extraction from Foods. *Methods in Polyphenol Analysis*. Williamson, G. (eds.), Cambridge, UK. pp. 1-47.
- FAO Statistics, 3 May 2012., Food and Agricultural commodities production, <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- Femenia, A., Rossello C., Mulet, A. and Canellas, J., 1995, Chemical Composition of Bitter and Sweet Apricot Kernels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 356-361.
- Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A. and Neri, D., 2010, Cherry Antioxidants: From Farm to Table, *Molecules*, 15, 6993-7005.
- Frank, D., Pat, S. and Vickers, A. K., 2005, Column selection for the analysis of fatty acid methyl esters. *Application Agilent Technologies*, www.agilent.com.
- Frazier, R.A., 2009, Food Chemistry. Food Science and Technology. Campbell-Platt, G. (eds.), John Wiley & Sons, UK. pp. 5-33.
- Garcia-Esteba, R.M., Guerra-Hernandez, E. and Garcia-Vilanova, B., 1999, Phytic acid content in milled cereal products and breads, *Food Research International*, 32, 217-221.
- Gökmen, V., Serpen, A. and Mogol, B. A., 2012, Rapid determination of amino acids in foods by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403, 2915-2922.
- Güçlü-Üstündağ, Ö. and Temelli, F., 2004, Correlating the solubility behavior of minor lipid components in supercritical carbon dioxide, *Journal of Supercritical fluids*, 31, 235-253.
- Harborne, J.B., Baxter, H. and Moss, G.P., 1999, *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*, Taylor & Francis, London, 976p.
- He, W., Gao, Y., Yuan, F., Bao, Y., Liu, F. and Dong, J., 2010, Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Gardenia Fruit Oil and the Analysis of Functional Components, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1071-1079.
- Herrera, P.G., Sánchez-Mata, M.C. and Cámara, M., 2010, Nutritional characterization of tomato fiber as a useful ingredient for food industry, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 707-711.

- Herrero, M., Cifuentes, A. and Ibanez, E., 2006, Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by products, algae and microalgae A review, *Food Chemistry*, 98, 136–148.
- Hoed, V.V., 2010, Phenolic compounds in seed oils, *Lipid Technology*, 22, 247-249.
- Johnson, D.W., 1970, Functional properties of oil seed proteins, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 47, 402-407.
- Johnson, L. A. 2002, Recovery, Refining, Converting, and Stabilizing Edible Fats and Oils. *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C.C. and Min, D.B. (eds.), Marcel Dekker Inc, New York, USA. pp. 241-292.
- Kamal-Eldin, A., 2005, Minor Components of Fats and Oils. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Shaidi, F. (eds.), John Wiley & Sons, UK. pp. 319-359.
- Kaur, N., Chugh, V. and Gupta, A.K., 2012, Essential fatty acids as functional components of foods- a review, *Journal of Food Science and Technology*, DOI 10.1007/s13197-012-0677-0.
- Kayahan, M., 2006, Yağlı tohumlardan ham yağ üretim teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, kitaplar serisi:7, Ankara, 244p.
- Kim, I.H., Kim, C.J., You, J.M., Lee, K.W., Kim, C.T.; Chung, S.H. and Tae, B.S., 2002, Effect of roasting temperature and time on the chemical composition of rice germ oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 413-418.
- Knoblich, M., Anderson, B. and Latshaw, D., 2005, Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85,1166–1170.
- Koppelman, S.J. and Hefle, S.L., 2006, Detecting Allergens in Foods. Detecting tree nuts and seeds in foods. Koppelman, S. (eds.), Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 201-218.
- Laroze, L.E., Reinoso, B.D., Moure, A., Zuniga, M.E. and Dominguez, H., 2010, Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents, *European Food Research and Technology*, 231, 669–677.
- Laufenberg, G., Kunz, B. and Nystroem, M., 2003, Transformation of vegetable waste into value added products:(A) the upgrading concept; (B) practical implementations, *Bioresource Technology*, 87,167–198.
- Lee, Y.C., Oh, S.W., Chang, J. and Kim, I.H., 2004, Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures, *Food Chemistry*, 84, 1-6.

- Liu, G., Xu, X., Hao, Q. and Gao, Y., 2009, Supercritical CO₂ extraction optimization of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using response surface methodology, *Food Science and Technology*, 42, 1491–1495.
- Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P.L., Pengsopa, L. and Pongamphai, S., 2004, Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat—preliminary experiments, *Journal of Food Engineering*, 63, 247–252.
- Mariod, A.A., Matthaus, B. and Ismail, M., 2011, Comparison of Supercritical Fluid and Hexane Extraction Methods in Extracting Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) Seed Oil Lipids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 931–935.
- Murkovic, M., Piironen, V., Lampi, A.M., Kraushofer, T. and Sontag, G., 2004, Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds), *Food Chemistry*, 84, 359–365.
- Narayana, K. and Narasinga, RaO M.S., 1982, Functional Properties of Raw and Heat Processed winged bean flour, *Journal of Food Science*, 47, 1534–1538.
- O'Brien, R.D., 2004, In *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, CRC Press, Washington.
- Özkaya, B., 2004, Ekmeğin Fitik Asit Miktarına Çeşit ve Ekstraksiyonun Etkisi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu.
- Parry, J., Su, L., Luther M., Zhou, K., Yurawecz, P., Whittaker, P. and Yu, L., 2005, Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marion berry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 566–573.
- Persia, M.E., Parsons, C.M., Schang, M. and Azcona, J., (2003), Nutritional evaluation of dried tomato seeds, *Poultry Science*, 82, 141–146.
- Rawson, A., Tiwari, B.K., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J., and O'Donnell, C.P., 2012, Application of Supercritical Carbon Dioxide to Fruit and Vegetables: Extraction, Processing, and Preservation, *Food Reviews International*, 28, 253–276.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- Reische, D.W., Lillard D.A. and Eitenmiller, R.R., 2002, Antioxidants. *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C.C. and Min, D.B. (eds.), Marcel Dekker, New York, USA. pp. 507–537.

- Sanchez-Vicente, Y., Cabanas, A., Renuncio, Juan A.R. and Pando, C., 2009, Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) seed oil using carbon dioxide and ethanol, *Journal of Supercritical fluids*, 49, 167-173.
- Schieber, A., Stintzing, F.C. and Carle, R., 2001, By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments, *Trends in Food Science and Technology*, 12, 401-413.
- Seppanen, C.M., Song, Q. and Csallany, A.S., 2010, The Antioxidant Functions of Tocopherol and Tocotrienol Homologues in Oils, Fats and Food Systems, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 469-481.
- Serpen, A. and Gökmen, V., 2009, Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color, *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 589-595.
- Serpen, A., Gökmen, V. and Fogliano, V., 2009, Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: The 'QUENCHER' approach, *Trends in Food Science and Technology*, 20, 278-288.
- Serpen, A., Pelvan, E., Alasalvar, C., Mogol B. A., Yavuz, H. T., Gökmen, V., Özcan, N. and Özçelik B., 2012, Nutritional and Functional Characteristics of Seven Grades of Black Tea Produced in Turkey, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 7682-7689.
- Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J.P.D., 2002, Extraction and Analysis of Lipids. *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C.C. and Min, D.B. (eds.), Marcel Dekker Inc., New York, USA. pp. 151-187.
- Shi, J., Yi, C., Ye, X., Xue, S., Jiang, Y., Ma, Y. and Liu, D., 2010, Effects of supercritical CO₂ fluid parameters on chemical composition and yield of carotenoids extracted from pumpkin, *LWT - Food Science and Technology*, 43, 39-44.
- Sogi, D.S., Sidhu, J.S., Arora, M.S., Garg, S.K. ve Bawa, A.S., 2002, Effect of tomato seed meal supplementation on the dough and bread characteristics of wheat (PBW 343) flour, *International Journal of Food Properties*, 5, 563-571.
- Szekely, E., 2007, Supercritical fluid extraction. Budapest University of Technology and Economics. <http://sfe.vemt.bme.hu/angol/supercritical.html>.
- Şanal, İ.S., Güvenç, A., Salgın, U., Mehmetoğlu, Ü. and Çalimli, A., 2004, Recycling of apricot pomace by supercritical CO₂ extraction, *Journal of Supercritical Fluids*, 32, 221-230.
- Temelli, F., Saldana, M.D.A., Moquin, P.H.L. and Sun, M., 2007, Supercritical Fluid Extraction of Specialty Oils. *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. Martine, J.L. (eds.), CRC Press, Washington. pp. 51-101.

- Temelli, F., 2009, Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils, *Journal of Supercritical fluids*, 47, 583-590.
- Tsuda, T., Mizuno, K., Ohshima, K., Kawakishi, S. and Osawa, T., 1995, Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidative component from tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed coat, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 2803–2806.
- UNFPA, The World at 7 Billion, <http://www.unfpa.org/public/home/sitemap/7Billion>).
- USDA, 2012, United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service, Noncitrus Fruits and Nuts.
- Vagi, E., Simandi, B., Vasarhelyine, K.P., Daood, H., Kery, A., Doleschall, F. and Nagy, B., 2007, Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products, *Journal of Supercritical fluids*, 40, 218-226.
- Vujasinovic, V., Djilas, S., Dimic, E., Basic, Z. and Radocaj, O., 2012, The effect of roasting on the chemical composition and oxidative stability of pumpkin oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114, 568–574.
- Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Toda, J. and Ishii, K., 1972, Whipping and emulsifying properties of soybean products, *Agricultural and Biological Chemistry*, 36, 719-727.
- Wakelyn, J.P. and Wan, P.J., 2003, Solvent Extraction: Safety, Health and Environmental Issues. Extraction optimization in Food Engineering. Tzia, C. and Liadakis, G. (eds.), Marcel Dekker, New York, USA. pp. 391-427.
- Yoshida, H., Takagi, S. and Mitsunashi, S., 1999, Tocopherol distribution and oxidative stability of oils prepared from the hypocotyl of soybeans roasted in a microwave oven, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 915-920.
- Xu, L. and Diosady, L.L., 2003, Fats and Oils from Plant Materials. Extraction Optimization in Food Engineering. Tzia, C. And Liadakis, G. (eds.), Marcel Dekker Inc, New York, USA.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cemile YILMAZ

Doğum Yeri : Üsküdar

Doğum Yılı : 1987

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 2001-2005 Ayrancı Lisesi

Lisans 2005-2010 Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce, Almanca

İş Tecrübesi:

2011-.... Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma Görevlisi

