




**T.C.**

**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# SOĞUK PRES ÇÖREK OTU TOHUMU YAĞININ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN KORUNMASI VE KATMA DEĞERLİ ÜRÜN TASARIMI

**Zeliha ÜSTÜN**

**DOKTORA TEZİ**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Mart-2015**
**KONYA**
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Zeliha ÜSTÜN
03.03.2015

# ÖZET

## DOKTORA TEZİ

## SOĞUK PRES ÇÖREK OTU TOHUMU YAĞININ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN KORUNMASI VE KATMA DEĞERLİ ÜRÜN TASARIMI

**Zeliha ÜSTÜN**

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**
**Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ**

**2015, 156 Sayfa**

**Jüri**
**Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ**
**Prof. Dr. Ali BAYRAK**
**Prof. Dr. Ercüment KARASULU**
**Doç. Dr. Ahmet KOÇAK**
**Doç. Dr. Gülşin ARSLAN**

Çörek otu *(Nigella sativa*) bitkisi ve yağı asırlar boyunca, Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da, günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da milyonlarca insan tarafından "sağlığı desteklemek için" kullanılan bir bitki olmuş ve sağlık açısından başvurulan bir materyal olmuştur. Bilimsel araştırmalar sonucunda çörek otu tohumu yapısında bulunan vitaminler, etken maddeler ve elzem yağ asitleri nedeni ile bilim adamları tarafından tüketilmesi tavsiye edilen bir ürün olmuştur. Bu çalışmada ülkemizde henüz yeterince değerlendirilmeyen ve üretimi yapılmayan ancak Avrupa Birliği ve gelişmiş ülkelerde besin destek ürünleri ve/veya tedavi amaçlı olarak kullanılan, *Nigella sativa* ham maddesinden soğuk pres metodu ile elde edilen çörek otu tohumu yağının, fizikokimyasal özelliklerinin korunması amacı ile yumuşak kapsül formu geliştirilerek üniversite-sanayi iş birliği çerçevesinde değerlendirilmiştir. Hammadde temini ve ara ürün eldesi aşamalarında çörek otu tohumu ve yağında aflatoksin, pestisit, mineral madde analizlerinin yanısıra mikrobiyolojik analizler de gerçekleştirilmiştir. Çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özellikleri (peroksit, serbest yağ asitleri, yağ asidi bileşimi, kırılma indisi, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde) belirlenmiş ve laboratuvar şartlarında ürün tasarımı geliştirilmiştir. Geliştirilen formülasyonun pilot ölçekli yumuşak kapsül form tasarımları yapılmış ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Stabilite çalışmaları sonucunda yumuşak kapsülün fizikokimyasal özelliklerinin sıvı forma kıyasla daha uzun süre korunduğu görülmüştür. Tez çalışması kapsamında bilimsel bir altyapı ile tohumlarının yetiştirilmesi de sağlanan çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsülü ticarileştirilmiş, ayrıca geleneksel bitkisel tıbbi ürünü olarak ruhsatı alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Besin destek ürünü, çörek otu (*Nigella sativa)* yağı, soğuk pres, yumuşak kapsül

# ABSTRACT

## Ph.D THESIS

## PROTECTING PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES of BLACK CUMIN SEED *(Nigella sativa*) OIL and DEVELOPING VALUE ADDED PRODUCTS

**Zeliha ÜSTÜN**

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE**
**OF SELÇUK UNIVERSITY**
**THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY**
**IN CHEMISTRY**

**Advisor: Prof. Dr. Mustafa ERSOZ**

**2015, 156 Pages**

**Jury**
**Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ**
**Prof. Dr. Ali BAYRAK**
**Prof. Dr. Ercüment KARASULU**
**Doç. Dr. Ahmet KOÇAK**
**Doç. Dr. Gülşin ARSLAN**

Black cumin seed *(Nigella sativa*) and its oil has been used as a dietary supplement and preferred tradational remedy in Africa, Asia and Middle East for centuries and now has been consuming by millions of people in America and Europe. The scientists are adviced to consume black cumin seed because of the vitamines, effective compounds and the essential fatty acids within its content found in researches. Cold pressed black cumin seed oil, which is used in European Union and other developed countries as natural supplements and/or phytotherapeutic agents to support immune system, asthma, allergic rinnitis etc. but not assessed and processed in our country, is used with the purpose of protecting physicochemical properties by developing soft gelatin capsules in a University & Industry collaboration project . In the study raw material and mid-product have been analysed for its aflatoxins, pesticides, mineral and microbiological contents. *Nigella sativa* oil physicochemical properties (peroxide value, free fatty acids, fatty acid composition, refractive index, iodine value, saponification value, unsaponifiable matters) have been determined. The product design has been developed in laboratory and implemented in pilot scale soft gelatin capsule manufacturing. Physicochemical properties of *Nigella sativa* oil soft gelatin capsules and *Nigella sativa* oil in liquid form in amber glass bottles have been compared. As a result it is found that cold pressed *Nigella sativa* oil soft gelatin capsules physicochemical properties are more stabile than the *Nigella sativa* oil stored in glass bottles.

**Keywords:** Black cumin seed (*Nigella sativa*) oil, cold press, nutritional supplements**,** soft gelatin capsule

# ÖNSÖZ

Doktora eğitimim sırasında bana daima rehber olan ve bilimsel anlamda multidisipliner bir çalışma ortamını sonsuz destekleyerek farklı bir bakış açısı yanında katma değerli ürünleri de ülkemize kazandıran değerli danışmanım Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ'e ,

Ülkemizin sağlık alanında ilerlemesinde gerçekleştirdiği araştırmalar ile önemli katkılar sağlayan ve çalışmalarımda heyecanıyla daima yanımda olan başta Prof. Dr. Ercüment KARASULU ve ARGEFAR İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi ekibine,

SANTEZ projesi kapsamında gerçekleştirilen tez çalışmamın değerlendirici ve izleyicisi olarak bizlere katkı sağlayan Prof.Dr. Ali BAYRAK'a

Projemizin gerçekleştirilmesi esnasında verdiği desteklerden dolay Doç. Dr. İmren HATAY PATIR'a

Gerçekleştirilen tez çalışmasının ürüne dönüşmesini ve Zade Vital markası ile ülkemizin dünya sağlık sektörüne taşınmasını sağlayan Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş. Yönetim Kurulu Başkanı Tahir BÜYÜKHELVACIGİL ile Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş .CEO'su ve yaşamımdaki en büyük öğretmenlerimden biri olan kıymetli Dr. Mevlüt BÜYÜKHELVACIGİL, tecrübe ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Zade Yağ Rafinasyon Tesisleri Fabrika Müdürü Mustafa YILDIZ ve İşletmeler Müdürü Ahmet ERTUĞRUL, Yatırım ve Projeler Müdürü Mehmet KULU, Kalite Kontrol ve Laboratuvar sorumluları Ali GÖKYER ve Tolgahan NALVURAN ile tüm ekip arkadaşlarıma,

Yaşam boyu attığım her adımda sonsuz destekleri ile daima yanımda olan, öngörüleri ile yolumu ve ruhumu aydınlatan, sonsuz sevgileri ile yaşama hep farklı pencerelerden bakmamı sağlayan babam, annem ve kardeşlerime sonsuz saygı ve teşekkürü bir borç bilirim.

Baki kalan bu kubbede bir hoş sadâ imiş…

Yaşamımızda başta dürüstlük olmak üzere güzel ahlâkı bizlere miras bırakan, ilim ve fikirleri ile bugünlere gelmemde büyük payı olan fakat bugünüme şahit olamayan değerli ecdadım Süleyman - Zeliha ÜSTÜN ve Bayram ARSLAN'ı hayırla yâd ediyor ve çalışmamı kendilerinin aziz hatıralarına ithaf ediyorum.

Zeliha ÜSTÜN

KONYA-2015

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **iv**

**ABSTRACT** ..... **v**

**ÖNSÖZ** ..... **vi**

**İÇİNDEKİLER** ..... **vii**

**SİMGELER VE KISALTMALAR** ..... **ix**

**1. GİRİŞ** ..... **1**

1.1. Çörek Otu Tohumu Hakkında Genel Bilgiler ..... 2
1.1.1. Çörek otu tohumunun kimyasal bileşimi ..... 3
1.1.2. Çörek otu tohumunun fizikokimyasal özellikleri ..... 5
1.2. Tez Çalışmasının Gerekçe ve Hedefleri ..... 6
1.2.1. Tez çalışmanın ekonomik katkısı ..... 6
1.2.2. Tez çalışmasının ticarileştirilebilme özelliği ..... 8
1.2.3. Tez çalışmasının ar-ge niteliği ve teknolojik yönü ..... 9
1.2.4. Tez çalışmasının özgün ve yenilikçi yönleri ..... 11

**2. KAYNAK ARAŞTIRMASI** ..... **13**

2.1. Yağ Eldesi İçin Kullanılan Farklı Yöntemlerin Kıyaslanması ..... 13
2.2. Yumuşak Jelatin Kapsül Uygulamaları ..... 16
2.3. Çörek Otu Tohumu Yağı Etki Mekanizması ..... 17
2.3.1. Bağışıklık sistemi üzerine etkisi ..... 17
2.3.2. Antitümöral etkisi ..... 18
2.3.3. Antienflamatuvar, analjezik, antipiretik etkisi ..... 18
2.3.4. Antihistaminik etkisi ..... 18
2.3.5. Antiastmatik etkisi ..... 19
2.3.6. Antiparaziter etkisi ..... 19
2.3.7. Antiviral etkisi ..... 19
2.3.8. Antibakteriyel etkisi ..... 19
2.3.9. Antifungal etkisi ..... 20
2.3.10. Antidiyabetik etkisi ..... 20
2.3.11. Gastroprotektif etkisi ..... 20
2.3.12. Radyoprotektif etkisi ..... 20
2.3.13. Hepatoprotektif etkisi ..... 21
2.3.14. Nefroprotektif etkisi ..... 21
2.3.15. Nöroprotektif etkisi ..... 21
2.3.16. Kardiyovasküler etkisi ..... 22
2.3.17. Hematolojik parametrelere etkisi ..... 22
2.3.18. Üreme sistemi üzerine etkisi ..... 22

**3. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **23**

3.1. Materyal ..... 23
3.1.1. Çörek otu tohumu ..... 23

3.1.2. Çörek otu tohumu yağı ..... 23
3.1.3. Proses hammaddesi ve yardımcı maddeleri, ambalaj malzemeleri ..... 24
3.2. Metot ..... 28
3.2.1. Çörek otu tohumu yağı elde etme metodu ..... 28
3.2.2. Yumuşak jelatin kapsül formulasyonlarının oluşturulması ..... 31
3.2.3. Soğuk pres çörek otu tohumu yağı yumuşak jelatin kapsül çalışmaları ..... 34
3.2.4. Analiz metotları ..... 42

**4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA ..... 107**

4.1. Hammadde Analiz Sonuçları ..... 107
4.2. Çörek Otu Tohumu Yağı Analizleri ..... 111
4.3. Çörek Otu Tohumu Yağı Yumuşak Kapsül Analizleri ..... 116

**5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER ..... 134**

5.1 Sonuçlar ..... 134
5.2 Öneriler ..... 142

**KAYNAKLAR ..... 144**

**EKLER ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

**ÖZGEÇMİŞ ..... 152**

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Kısaltmalar

| | | |
|---|---|---|
| PCB | : | Poliklorürlü bifenil ve terfeniller |
| AB | : | Avrupa Birliği |
| AOCS | : | Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği |
| BHT | : | Bütillendirilmiş hidroksi toluen |
| DG | : | Diaçilgliserol |
| DPT | : | Devlet Planlama Teşkilatı |
| DQ | : | Dizayn kalifikasyonu |
| DTQ | : | Ditimokinon |
| EBDC | : | Etilen bis ditiyokarbamat |
| EP | : | Avrupa Farmakopesi |
| FFA | : | Serbest yağ asitleri |
| FS | : | Serbest steroller |
| GC | : | Gaz Kromatografisi |
| GC-ECD | : | Gaz kromatografisi/elektron yakalama dedektörü |
| GC-MS | : | Gaz kromatografisi/Kütle spektrometre |
| HPLC | : | Yüksek Peroformanslı Sıvı Kromatografi |
| ICP-MS | : | İndüktif Eşleşmiş Plazma - Kütle Spektrometre |
| IQ | : | Kurulum kalifikasyonu |
| ISO | : | Uluslar arası Standartlar Teşkilatı |
| KI | : | Potasyum iyodür |
| KOH | : | Potasyum hidroksit |
| LC-MS-MS | : | Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrofotometresi |
| MG | : | Monoaçilgliserol |
| OQ | : | Proses kalifikasyonu |
| OTC | : | Reçetesiz satılabilen sağlık ürünleri |
| PL | : | Polar lipitler |
| PQ | : | Performans kalifikasyonu |
| SE | : | Sterol esterleri |
| TG | : | Triaçilgliserol |
| THQ | : | Timohidrokinon, nigellon |
| THY | : | Timol |
| TQ | : | Timokinon |
| TSE | : | Türk Standartları Enstitüsü |
| UBTYS | : | Ulusal Bilim Teknoloji ve Yenişik Stratejisi |
| USP | : | Amerikan Farmakopesi |
| WHO | : | Dünya Sağlık Örgütü |

# 1. GİRİŞ

Günümüzde, teknolojik gelişmeler ile birlikte ortaya yeni çıkan veya sık sık yaşanan sağlık sorunları toplumların farklı çözüm arayışlarına girmesine sebep olmuştur. Bu yeni arayışlar esnasında en önemli yönelim de doğal kaynaklı ürünlere gösterilmiştir. Bu ürünlerin sağladığı faydalardan dolayı dünyada ve ülkemizde gördüğü talep sürekli artmıştır.

Ülkemiz ele alındığında ise; önümüzdeki 15 yıl içinde tedavi destek amacıyla kullanılacak, sağlık açısından risk taşımayan ve genelde aşırı yan etki oluşturmayan bitki kökenli besin destek ürünleri ve fonksiyonel gıdaların çeşitlendirilerek geliştirilmesi ve günlük olarak kullanımının artması beklenmektedir. Bu ilgi gerek fonksiyonel gıdalar, sağlık ve beslenme ile ilgili konular, gerekse AB çerçeve programlarında ve DPT 9. Kalkınma Planı'nda öncelikli ve ihtiyaç odaklı alanlar olarak belirlenmiş, özellikle Bilim Teknoloji Yüksek Kurulu 22. Toplantısında, Ulusal Bilim, Teknoloji ve Yenilik Stratejisi (UBTYS) 2011-2016'nın Stratejik Çerçevesine göre, gıda alanını ve 25. Toplantısında sağlık alanını ivme kazanmamız gereken ihtiyaç odaklı alanlar olarak belirlenmiştir.

Doğal kaynaklı ürünler ile ilgili olarak ülkemizde uzun yıllardır süren Ar-Ge faaliyetleri genellikle bilimsel ve teorik bazda kalmış ve katma değer yaratan nihai son ürünler haline getirilememiştir. Bu çalışma ile son ürüne kaynak sağlayacak tasarımların oluşturulması ve teorik bilgilerin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Sanayi-üniversite işbirliği ile gerçekleştirilen bu çalışma ile aynı zamanda, bilim ve teknolojiye hakim, teknolojiyi bilinçli kullanan ve yeni teknolojiler üretebilen, teknolojik gelişmeleri toplumsal ve ekonomik faydaya dönüştürme yeteneği kazanmış bir ülke oluşturma hedeflerine hizmet eden teknolojik pilot ürünler oluşturulması amaçlanmıştır.

Çalışmada ülkemizde yetişen bitki, sabit ve uçucu yağ içeriği ile geleneksel olarak da kullanımı bitkinin tercih edilmesini ön plana çıkarmıştır. Bu nedenle çalışma konusu olarak çörek otu tohumu tercih edilmiştir.

Çörek otu tohumları, asırlar boyunca yağı ile birlikte, Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da, günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da da milyonlarca insan tarafından "hastalıkların tedavi edilmesinden ziyade önlenmesi, sağlıklı yaşamı destekleme ve yaşam kalitesini artırma, aktif ve sağlıklı yaşlanma" gibi amaçlarla kullanılan bir bitki olmuştur. Ayrıca günümüzde sağlık alanında yapılan bilimsel proje çağrıların çoğu

sağlıklı yaşamı destekleme konusunu ön planda tutmaktadır. Çörek otu tohumu yağının önemli bir bileşeni olan thymoqunin'in (TQ) potansiyel tıbbi özellikleri sayesinde geleneksel şifa kaynağı olarak tercih edilmiştir. Yapılan bilimsel araştırmalar sonucunda çörek otu tohumu yapısında bulunan vitaminler, etken maddeler ve elzem yağ asitleri nedeni ile bilim adamları tarafından tüketilmesi tavsiye edilen bir ürünlerin başında gelmektedir. Aynı zamanda klinik bulgular ile etkinlikleri bilimsel olarak da kanıtlanan çörek otu modern tıbbın da ilgisini çekerek tedavi amaçlı tercih edilir olmuştur.

Ülkemizde çörek otu yağının gıda olarak doğrudan tüketilmesi, ürünün duyusal özellikleri nedeni ile henüz istenilen seviyelere ulaşmamıştır. Tedavi ve destek amacı ile sağlık profesyonelleri tarafından tercih edilen muadil ürünler araştırıldığında ise hammaddesi ülkemizden elde edilen fakat yurtdışında işlenerek ürüne dönüştürülen ithal besin destek ürünleri olduğu görülmektedir. Bu gözlemlere dayanarak; literatürlerde belirtilen endikasyonlar, sağlık profesyonellerinin görüşleri, yurt içi ve yurt dışında gerçekleştirilen piyasa araştırmaları detaylı olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan yola çıkarak; ülkemizde henüz değerlendirilmeyen ve üretimi yapılmayan ancak Avrupa Birliği ve gelişmiş ülkelerde besin destek ürünleri ve/veya tedavi amaçlı olarak kullanılan, çörek otu ham maddesinden soğuk pres metodu ile elde edilen çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin korunması amacı ile katma değerli ürün tasarımının üniversite-sanayi iş birliği çerçevesinde gerçekleştirilmesi öngörülmüştür.

Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmada; öncelikli olarak soğuk pres çörek otu tohumu yağının katma değerli ürün tasarımının geliştirilmesi amacıyla fizikokimyasal özelliklerinin korunması hedeflenmiştir. Buna bağlı olarak bağışıklık sistemini desteklemek gibi pek çok endikasyona sahip çörek otu yağının yumuşak kapsül formunun geliştirilerek katma değeri yüksek tasarımının oluşturulması ile bilimsel çalışmanın sanayi boyutunda ticarileştirilerek pratikte de kullanılabilir bir yapıda olması ve tüketiciye ulaşmasını sağlamıştır.

## 1.1. Çörek Otu Tohumu Hakkında Genel Bilgiler

*Nigella sativa* (çörek otu, çöre otu, karaca, siyah kimyon, black cummin, schwarz küemmel), *Ranunculaceae* familyasından olup günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak yetişen bir bitki türüdür.

(Ramadan, 2007; Cemek ve ark., 2008) Türkiye'de 12 Nigella türü yetişmektedir. Bunlardan *Nigella sativa* L, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*'in tohumları halk ilacı ve baharat olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Tarımı yapılan ve ticareti olan tek tür *Nigella sativa* L.'dır. İlaç olarak kullanılan kısım tohumlar ve tohumlardan elde edilen yağdır (Şekil 1.1).

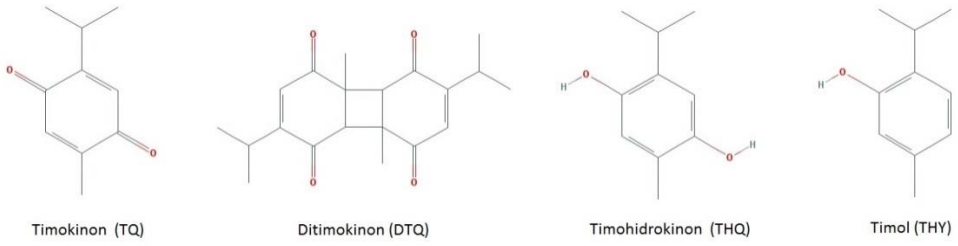


**Şekil 1.1.** Çörek otu bitkisi, tohumları ve yağı

### 1.1.1. Çörek otu tohumunun kimyasal bileşimi

Genel olarak bitkilerin kimyasal içeriği, bitkinin hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime göre farklılık göstermekle birlikte, Mısır, Sudan, Etiopya, Hindistan, Türkiye ve Suriye'de yetişen *Nigella sativa* tohumlarından elde edilen sabit yağın kimyasal bileşimi arasında fark yoktur (El-Tahir ve Bakeet, 2006).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan analizlerde *Nigella sativa* yağında başlıca 4 ana aktif maddenin bulunduğu gösterilmiştir (Ghosheh ve ark, 1999). Bunlar timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ, nigellon) ve timol (THY) dür. Timokinon 2-izopropil–5-metil–1,4-benzokinon yapısındadır ve molekül formülü de $C_{10}H_{12}O_2$ 'dir (Şekil 1.2).




**Şekil 1.2.** Çörek otu tohumu yağının aktif bileşenleri

Çörek otu tohumu %0.4-0.45 arasında uçucu yağ, %30'dan fazla sabit yağ içerir. Uçucu yağların %18-24'ünü timokinon oluşturmaktadır (Al-Saleh ve ark, 2006). Ayrıca uçucu yağı timol, karvakrol, nigellimin-N-oksit, nigellisin, nigellidin ve alfa-hederin içermektedir (Randhawa ve Alghamdi, 2011).

Çörek otu tohumu karbonhidrat, yağ, vitamin, mineral, protein ve dokuz esansiyel amino asitten sekizini de içermektedir. Bileşiminde %16-20 protein, %33-40 karbonhidrat içerdiği saptanmıştır (El-Tahir ve Bakeet, 2006). Tohumdan elde edilen proteinlerin molekül ağırlığı, SDS-PAGE elektroforezi ile 94-100 kDa arasındadır (Haq ve ark, 1999).

**Çizelge 1.1.** Çörek otu tohumunun kimyasal içeriği (El-Tahir ve Bakeet, 2006)

| **İçerik** | **Miktar (kütle/kütle)** |
|---|---|
| Yağ | 31-35.5 |
| Protein | 16-19.9 |
| Karbonhidrat | 33-34 |
| Lif | 4.5-6.5 |
| Kül | 3.7-7.0 |
| Saponin | 0.013 |
| Nem | 5-7 |

Monosakkarit olarak glikoz, ramnoz, ksiloz, arabinoz içermektedir (Takruri ve Dameh, 1998). Çörek otu tohumları vitamin ve mineral yönünden zengindir: 100 g çörek otu tohumunda 1.529 mg $B_1$ (tiamin), 0.1 mg $B_2$ (riboflavin), 0.5 mg $B_6$ (pridoksin), 5.7 mg PP (niasin), 0.061mg $B_9$ (folik asid), 10.5 mg Fe, 1.8 mg Cu, 185.9 mg Ca, 6 mg Zn, 526.5 mg P ve 1.7 mg Se, 9.02 mg alfa-tokoferol, 54.2 mg gama tokoferol, 2.7 mg all-trans retinol bulunmaktadır. Ayrıca tohumlar kalsiyum, demir ve potasyum kaynağıdır (Al-Saleh ve ark, 2006).

Uçucu yağların analizi sonucu p-simen (%7.1-15.5), karvakrol (%5.8-11.6), t-anetol (%0.25-2.3), 4-terpineol (%2.0-6.6) ve longifolin (%1.0–8.0) gibi bileşiklerde izole edilmiştir (Khader ve ark, 2009). Bu bileşenlerin dışında n-Nonan (%1.7), 3-metil nonan (%0.3), 1,3,5-trimetil benzen (%0.5), n-dekan (%0.4), 1-methyl-3-propyl benzene (%0.5), 1-ethyl-2,3-dimetil benzen (%0.2), n-tetradekan (%0.2), n-hekzadekan (%0.2), nonterpenoit hidrokarbonlar (%4.0), α-pinen (%1.2), sabinen (%1.4), β-pinen (%1.3), mirsen (%0.4), α-fellandren (%0.6), limonen (%4.3), γ-terpinen (%0.5), monoterpenoit hidrokarbonlar %26.9, fenchone (%1.1), dihidrokarvon (%0.3), karvon (%4.0), thimokinon (%0.6), monoterpenoid ketonlar (%6.0), terpinen-4-ol (%0.7), p-simen-8-ol (%0.4), karvakrol (%1.6), monoterpenoit alkoller %2.7, α-longipinen

(%0.3), longifolen (%0.7), seskuiterpenoit hidrokarbonlar %1.0, estragol (%1.9), anisaldehid (%1.7), trans-anetol (%38.3), miristisin (%1.4), dill apiole (%1.8), apiol (%1.0), fenil propanoid bileşenleri (%46.1) izole edilmiş, toplam bileşenler %86.7 olarak bulunmuştur (Nickavar ve ark., 2003) .

Çörek otu tohumu doymamış yağ asitlerince de çok zengindir. Bunlardan linoleik asit yağın esas kısmını, oleik asit ise daha az bir kısmını oluşturmaktadır. Diğer doymamış yağ asitleri ise araşidonik ve eikosanoit asittir. Doymuş yağ asitleri olarak da palmitik, stearik ve miristik asidi içerir (Rhouhou ve ark, 2007). Çörek otu içeriğinde fosfolipit de bulunmaktadır. Fosfolipitin çoğunu fosfatidilkolin, az bir kısmını da fosfatidiletanolamin ve fosfatidilinozitol oluşturmaktadır (Çizelge 1.2).

**Çizelge 1.2.** Çörek otu tohumu sabit yağının kimyasal içeriği (El-Tahir ve Bakeet, 2006)

| **Yağ asit bileşeni** | | **% (kütle/kütle)** |
|---|---|---|
| Linoleik asit | 18:2 | 44.7-56 |
| Oleik asit | 18:1 | 20.7-24.6 |
| Linolenik asit | 18:3 | 0.6-1.8 |
| Araşidik asit | 20:0 | 2-3 |
| Palmitoleik asit | 16:1 | 3 |
| Eikosadienoik asit | 20:1 | 2-2.5 |
| Palmitik asit | 16:0 | 12-14.3 |
| Stearik asit | 18:0 | 2.7-3 |
| Miristik asit | 14:0 | 0.16 |
| Steroller | | 0.5 |

Çörek otu tohumunun bileşiminde önemli mineral maddeler de bulunmaktadır. Potasyum tohumun yapısında en yüksek miktarda bulunurken sırası ile fosfor, kalsiyum ve azalan miktarlarda magnezyum, sodyum, demir, çinko, mangan ve bakır da tespit edilmiştir (Cheikh – Rouhou ve ark., 2007).

### 1.1.2. Çörek otu tohumunun fizikokimyasal özellikleri

Farklı ektsraksiyon metotları ile elde edilen çörek otu yağlarının fizikokimyasal özellikleri incelendiğinde soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağlar ile çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen çörek otu yağı fizikokimyasal özellikleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlara göre çörek otu tohumu yağında; yağ verimliliği %24.76, özgül ağırlık 0.9110±0.0003 g/cm$^3$, refraktif Indeks (20 $^0$C) 1.4732±0.0001, erime noktası -1.7±0.6 $^0$C, renk K:08, S:42, M:14, serbest yağ asidi (% oleik asit cinsinden) 11.0±0.0, peroksit sayısı 13.5±0.2 meq$O_2$/kg, iyot sayısı 115±31 wijs,

sabunlaşma sayısı 192±2.0 mg KOH/g, sabunlaşmayan madde %1.0±0.4 olarak bulunmuştur (Atta, 2003).

Lipit sınıflandırması ve sterol bileşimi incelendiğinde elde edilen sonuçlar Çizelge 1.3'de özetlenmiştir.

**Çizelge 1.3.** Çörek otu tohumu yağının lipit sınıfları (Atta, 2003)

| Lipid Sınıflandırması | Sonuç (M±SD) |
|---|---|
| Polar lipitler (PL) | 3.7±0.2 |
| Monoaçilgliserol(MG) | 4.8±0.7 |
| Diaçilgliserol (DG) | 5.1±0.7 |
| Serbest steroller (FS) | 3.0±0.8 |
| Serbest yağ asitleri (FFA) | 14.2±0.5 |
| Triaçilgliserol (TG) | 57.5±2.0 |
| Sterol esterleri (SE) | 2.5±0.4 |

Çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin incelendiği diğer bir çalışmada ise; yağ asidi bileşimi, termal profil, renk, viskozite, oksidatif stabilite parametreleri değerlendirilmiştir. Diğer çalışmalardan farklı olarak renk bileşimleri nedeni ile UV absorpsiyonunun yüksek olduğu ve bu özelliği ile güneşten koruyucu etki sağlayabileyeceği belirtilmiştir. Oksidatif stabilite konusunda ise rancimat cihazı ile gerçekleştirilen çalışmalarda 55 saate kadar yükselen dayanım süreleri görülmüştür. Yapısında bulunan yüksek miktardaki doğal antioksidanlar ve düşük miktardaki çoklu doymamış yağ asitlerinden kaynaklanan bu özelliği ile de pekçok bitkisel yağın önüne geçmektedir (Cheikh –Rouhou ve ark., 2007). Soğuk pres çörek otu tohumu yağının incelendiği farklı bir çalışmada ise toplam fenolik bileşen içeriği en yüksek olan numunelerde en düşük oksidatif stabilitenin görüldüğü bildirilmiştir (Lutterodt ve ark., 2010).

## 1.2. Tez Çalışmasının Gerekçe ve Hedefleri

### 1.2.1. Tez çalışmanın ekonomik katkısı

Gelişmiş ülkelerde, ürün rekabeti, bilimsel ve teknolojik yetkinlik rekabetine dönüşmüştür. Klasik anlamda rekabet gücünü belirleyen faktörler arasında doğal hammadde kaynaklarının bolluğu, ucuz işçilik gibi temel üretim faktörleri yer alırken, günümüzde ileri teknolojik ve özellikli üretim faktörleri belirleyici duruma gelmiştir. İleri üretim faktörleri, nitelikli iş gücünü, Ar-Ge altyapısının etkin kullanımını

içermekte yeni teknolojiler ve bu teknolojilerin yeni üretim ve ürün teknolojilerine dönüşmesi süreçleri, iç içe, birbirini takip eden süreçler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle gelişmiş ülkeler bütün Ar-Ge faaliyetlerini katma değer yaratacak teknolojik ürün üretmek amacıyla göstermekte ve üstünlük sağlamaktadırlar. Çalışma sonucunda günümüzün gerektirdiği normlarda, çörek otu soğuk pres yağının hammadde olarak kullanıldığı katma değeri yüksek ürün eldesi hedeflenmiştir.

Çalışmanın başlıca hedefi olan; çalışmalar sonucu tasarımı tamamlanan teknolojik ürün ile yerli hammaddenin tasarım özelliklerinin geliştirilmesi sağlanmıştır. Bu sebeple yapılan çalışmaların yerli üretimi desteklemesi, aynı zamanda ithalatın da azalmasını sağlamaya olumlu katkılarının olması beklenmektedir.

Gerçekleştirilen çalışmada ülkemizde yetişen çörek otu tohumundan soğuk pres metodu ile elde edilen sabit yağın özelliklerinin korunması amacıyla Ar-Ge çalışmaları yapılarak, geleneksel tüketiminden katma değeri yüksek teknolojik tasarıma dönüştürmek için değerlendirmeler yapılmıştır. Özellikle yurtdışında yaygın olarak tercih edilen soğuk pres çörek otu tohumu yağı preparatlarının antioksidan içerikleri, bünyesinde bulunan esansiyel yağ asitleri, vitamin ve mineral bileşenleri analiz edilerek elde edilen sonuçlar Selçuk Üniversitesi, Ege Üniversitesi ve Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş. konsorsiyumunda kurulan Doğal Ürünler Araştırma ve Uygulama Merkezi ile çalışmaları devam eden Zade Vital İbn-i Sina Ar-Ge Merkezi'nde uygulanacak güvenilir tasarımlara yön vermiştir. Anadolu'da yerli tohumlardan üretilen ürünlerin, farklı amaçlarla kullanılan çekirdek ve tohumların ülke ekonomisine kazandırılması amacı ile yürütülen çalışma sonunda yüksek oranda katma değerli ürün eldesi sağlanmıştır. Çizelge 1.4.'de çörek otu tohumu yağından elde edilen teknolojik ürünlerin karşılaştırılması ve sağladığı katma değer görülmektedir. Buradan da anlaşılacağı üzere; bir teknolojik ürünün oluşturacağı katma değer, klasik yöntemlerle üretilen ürünlere nazaran büyük bir üstünlük göstermektedir. Örneğin; çörek otu tohumu yağı kullanılarak üretilmiş olan Abtei preparatı hammaddesi ile kıyaslandığında %187.82 oranında bir katma değer sağladığı görülmektedir. Çalışmamızda tasarımı geliştirilen inovatif preparat da yüksek oranda katma değer oluşturmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada bilimsel çalışmalar desteğinde geliştirilen tasarım sonucunda, Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenen 01152STZ.2011.2 kodlu SANTEZ projesinin sanayi ortağı Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş. tarafından ürünün ticarileştirilmesi sağlanmış Zade Vital Çörek

Otu Tohumu Yağı Yumuşak Kapsülü Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan, Zade Vital Nigelin 900 mg Yumuşak Kapsül Sağlık Bakanlığı'ndan Türkiye'nin ilk ve tek "Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürün" ruhsatını alma başarısını göstermiştir.

**Çizelge 1.4.** Çörek otu tohumu hammaddesi kullanılarak tasarlanmış ürün örnekleri

| Ham madde | Ticari marka | Dozaj formu | Miktar (g/ml) | Ürün fiyatı | | Maliyet karşılaştırma (tl/kg) | | Fark | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | € | TL | Ürün | Hammadde | Misli | % |
| Çörek otu | **Abtei** | Kapsül | 24 | 6.99 | 18.03 | 751.25 | 4.0 | 187.82 | 18782 |
| | **Föllie** | Krem | 60 | 11.7 | 23.3 | 3877 | 1.2 | 34.5 | 3453 |
| | **Übner** | Kapsül | 24 | 11.0 | 22.6 | 943.3 | 22 | 42.0 | 4200 |

### 1.2.2. Tez çalışmasının ticarileştirilebilme özelliği

Çalışma kapsamında soğuk pres çörek otu tohumu yağı kullanılarak geliştirilen yumuşak kapsül tasarımının ticari ürüne dönüşme kabiliyetinin yüksek olduğu öngörülmüştür. Bu öngörüler doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucunda ürün tüm ülke genelinde eczanelerde nihai tüketici ile buluşmuştur. Çalışma ile ülkemizde yetiştirilen ürünlerin yine ülkemizde işlenerek kullanılmasıyla iç pazara yönelik yeni kaynaklar sağlanmış olması beklenmektedir. Yüksek maliyet sorunu çözülerek ekonomiye katkıda bulunularak özkaynaklarımız yurtiçinde değerlendirilmiş ve pazarda edinilen pay ile öz sermayenin yurtdışına çıkışının kısmen önüne geçilmeye çalışılmıştır. Bu sürecin ardından ürün ile ilgili çalışmalar devam ettirilerek çörek otu etken maddesi kullanılarak üretilen yumuşak jelatin kapsüller Zade Vital Nigelin markası ile T.C. Sağlık Bakanlığı'ndan Türkiye'nin ilk ve tek "Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünü" olarak ruhsatlandırılarak doktor ve hekimler tarafından "Bağışıklık sistemini destekleyici","Antioksidan", "Alerjik rinit ve astım" ve "Kan lipit düzeylerini düzenleyici " olmak üzere dört farklı endikasyon ile reçetelendirilmektedir.

Bunlara ek olarak ülkemizin sahip olduğu bitki çeşitliğinden yararlanılarak farklı ürünlerin üretimine bilgi ve deneyim alt yapısı sağlanmış olup yeni kullanım alanları oluşturulmasını takiben kontrollü ve kullanıma yönelik yetiştiriciliğinin ve tarımının yapılmasına katkı sağlanmaya çalışılmıştır. Tarımsal olarak da gelişmenin amaçlandığı çalışmalar kapsamında; ticari boyutta üretimi gerçekleştirilen ürünün hammaddesi olarak kullanılacak çörek otu tohumlarının kontrollü yetiştirilmeleri için

gerçekleştirilen Santez Projesinin sanayi ortağı Helvacızade Gıda İlaç ve Kimya San. ve Tic. A.Ş. ve Ege Üniversitesi ile işbirliği çerçevesinde Zade Vital Markalı sağlık ürünlerinde kullanılmak üzere Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Menemen Araştırma ve Uygulama Çiftlikleri'nde bilimsel bir kadro nezaretinde organik olarak yetiştirilerek, sertifikalandırılmıştır. Ayrıca aynı çalışma kapsamında organik keten tohumu yetiştirilmesi sağlanmış, ilerleyen dönemlerde son ürüne dönüştürülebilecek farklı hammaddelerin de değerlendirilmesi için alt yapı oluşturulma konusunda adımlar atılmıştır.

### 1.2.3. Tez çalışmasının ar-ge niteliği ve teknolojik yönü

Günümüzdeki küreselleşme ve hızlı teknolojik gelişme sürecinde, ülkelerin rekabet gücü teknoloji üretme, Ar-Ge ve yenilik geliştirebilme yeteneğine bağlıdır. Rekabet avantajı unsurlarının hızla değiştiği bu süreçte, ekonomik gelişmede bilgi yoğun ve yüksek katma değerli mal ve hizmet üretiminde özellikle araştırma ve geliştirme çalışmaları önem kazanmıştır. Son yıllarda Türkiye'nin uluslararası alanda rekabet gücü sıralamasındaki yerinde bir iyileşme gözlenmektedir. Bu iyileşme Ar-Ge' ye ayrılan gayrisafi yurtiçi hasıla (GSYİH)' nın artması, strateji ve teknoloji faktörleri açısından daha belirgin olarak görülmektedir.

Çalışma kapsamında bilim ve teknolojideki gelişmeler ile edinilen bilgileri kullanarak çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin korunmasını ve çörek otu tohumu yağının katma değerli yeni teknolojik ürün tasarımını içeren bir dizi çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; geleneksel üründen teknolojik tabanlı ürün üretimi amacıyla, söz konusu ürünün laboratuvar çalışmaları ile tasarımı, tasarım geliştirme çalışmaları ve ardından da son tasarımın tamamlanması çalışmanın Ar-Ge niteliğini tanımlamaktadır.

Çalışmanın geleneksel bitkisel preparat olarak çörek otu tohumlarının soğuk pres sonrası elde edilen yağı kullanılarak yağın fizikokimyasal özelliklerinin korunması amaçlı Ar-Ge çalışmaları ve bu çalışmaların verilerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda sert kapsül, tablet, saşe, tek kullanımlık flakonlar gibi farklı ürün yaklaşımları arasından katma değeri yüksek teknolojik ürün kapsamında yumuşak jelatin kapsül tasarımı tercih edilerek çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yumuşak jelatin kapsül formlarının oluşturulması, formülasyonda kullanılacak etken ve

yardımcı maddelerin belirlenmesi aşamalarında Ege Üniversitesi ARGEFAR İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi ile işbirliği sağlanarak Ar-Ge çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada yenilikçi bakış açısı; söz konusu olan bitkisel ürünü kullanmak değil bu ürün için inovatif bir yaklaşımla alternatif bir kullanım şeklinin gerçekleştirilmiş olmasıdır.

Bu süreçte kullanılması planlanmış olan teknolojiler, besin destek ürünleri için dünyada bilinen ve kullanılan teknolojiler olmakla beraber, tamamlanan Ar-Ge çalışmasında Türkiye'de besin destekleri sektöründe bir ilk gerçekleştirilmiştir. Çörek otu tohumu yağının pek çok farklı kullanımı incelenmiş oral flakonlar, sert kapsüller, saşe ambalajlar gibi alternatifler arasından ürün fizikokimyasal özelliklerini daha uzun süre koruyacağı öngörülen ve üretim teknolojisi açısından da ülkemiz için yenilik sağlayacak yumuşak jelatin kapsül üretimi tercih edilmiştir. Bu kapsamda; ürünün fizikokimyasal özellikleri, yağ üretim teknolojileri, dozajlama tercihleri, yumuşak kapsül üretim teknolojileri, farklı primer ambalaj formları, son ürünün ticarileştirilmesi öngörülerek sağlık etkileri hakkında literatür araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler ışığında çörek otu tohumlarından; herhangi bir kimyasal madde ve sıcaklık uygulaması olmadan uygulanan, ürün fizikokimyasal özelliklerinin en iyi şekilde korunduğu soğuk pres yöntemi kullanılarak çörek otu tohumu yağı elde edilmiştir. Elde edilen çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve yumuşak jelatin kapsül çalışmalarında hammadde olarak kullanılmıştır. Çalışmanın bu aşamasında eşzamanlı olarak uygun jelatin formülasyonlarının oluşturulması için denemeler gerçekleştirilmiş ve jelatin üretim şartları optimize edilmiştir. Son aşamada ise yumuşak jelatin taşıyıcı maddesi ve çörek otu tohumu yağı hammaddesi kullanılarak, çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsülleri oluşturulmuş ve her bir kapsülün asgari şekilde oksijen ile temas ettiği blister ambalajlar ile primer ambalajlama tamamlanmıştır. Bu çalışmaları takip eden sekiz aylık süreçte çörek otu tohumu yağı sıvı formu ile yumuşak jelatin kapsül formunun fizikokimyasal özellikleri kıyas edilmiştir. Sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilmiş ve kalite parametreleri olarak öngörülen serbest yağ asitleri ve peroksit değerlerinin yumuşak jelatin kapsüllerde anlamlı bir şekilde daha düşük değerde olduğu görülmüştür.

Çalışmada geliştirilen ürün yanında, yerli tohumlardan elde edilen soğuk pres yağlarından yeni teknolojik ürünlerin tasarlanması yenilikçi fikirlerin ve ürünlerin araştırılması, farklı Ar-Ge çalışmalarına ışık tutacaktır. Bu yöndeki yeni Ar-Ge

çalışmaları sadece besin desteği amacı ile kullanılan yağların üretilmesi, öğütülmüş ürünler, yemeklik amaçlı kullanılan bitkisel yağların üretilmesi, yan ürünlerin değerlendirilerek farklı sektörlere hammadde sağlanması gibi hali hazırda var olan çalışma alanlarımızı değil aynı zamanda uygulanmamış tekniklerin kullanılacağı, yeni ürün profillerinin tasarlanacağı, yeni üretim yöntemlerinin geliştirileceği farklı bilimsel ve teknolojik alanları kapsayacak çalışmalara da yön vermiştir. Çalışma, Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından SANTEZ kapsamında desteklenen bir projeden üretilmştir.

### 1.2.4. Tez çalışmasının özgün ve yenilikçi yönleri

Çalışmanın gerçekleşmesi ile, elde edilen Ar-Ge çalışmalarının verileri, geleneksel bir gıda ürününün katma değeri yüksek, teknolojik tabanlı ürünler ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Çalışmanın önemli özgün yönü de çörek otu yumuşak kapsül formu tasarım çalışmalarının ülkemizde ilk defa gerçekleşmiş olmasıdır. Çalışma sonunda elde edilen tasarlanmış ürün ile yerli üretiminin mümkün olabileceği anlaşılmıştır.

Çalışmada yerli hammaddeden elde edilecek soğuk pres çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve bu özelliklerinin daha uzun süre muhafazasını sağlayacak uygun tasarım belirlenmiştir. Bu tasarım ile günümüz koşullarında taşıma ve kullanım pratikliği sağlanırken, ihtiyaçlara göre farklı ebat ve şekillerde ambalaj seçeneği sunan, tat ve koku gibi özeliklerin maskelendiği stabil yapıya sahip, gerekli görülürse farklı aromalar ile zenginleştirilebileceği fonksiyonel gıda ambalajlama konusunda alternatif bir yaklaşım sergilenmiştir. Ürünün ticarileştirilmesi aşamasında farklı yaş aralıkları ve sosyal statülere sahip kişiler ve sağlık personelleri arasında gerçekleştirilen araştırmalar baz alınarak tasarlanan yumuşak jelatin kapsüller için blister, cam şişe ve HDPE (high density polyethylene-yüksek yoğunluklu polietilen) şişe olmak üzere Türkiye'de ilk kez 3 farklı form aynı anda tüketiciye ulaştırılmıştır. Bilimsel bir altyapı ile de desteklenen ürün Türkiye'nin ilk ve en geniş besin desteği ürün serisi olarak da dikkat çekmektedir.

Çalışma sonunda elde edilen tasarımın diğer ürünler için model olarak kullanılabilecek olması ve bitkisel ürünlerin tasarım ve üretim altyapı çalışmasını da kapsayacak olması bu çalışmanın bir diğer üstünlüğü olmuştur.

Aynı zamanda bu çalışma ile özellikle doğal kaynaklı destek ve tedavi kullanımı amacı ile yurtdışından ithal edilen ürünler, üniversite sanayi işbirliği çerçevesinde model olarak tasarlanmış, Ar-Ge çalışmalarının tamamlanmasını takiben elde edilen pilot tasarımın başarısı doğrultusunda ürün formu geliştirilerek ürün eldesi aşamalarında yerli sermaye, bilgi birikimi ve teknolojik altyapı kullanılıp üretimlerin geliştirilmesi ve ülke ekonomisine katkı sağlanmasına olanak verilmiştir. Çalışma kapsamında önemli kazanımlardan bir diğeri de bölgede alternatif tarımsal üretimin, biyolojik çeşitliliğini koruyan ve toplumsal yarara dönüştürebilen, ekonomik, ekolojik ve sosyal açıdan sürdürülebilir bir yapı oluşturulmasına katkıda bulunulmuş olmasıdır. Ayrıca bu ürünler tüketici ile buluştuğunda ulusal bazda ve yüksek ihracat potansiyeli ile de uluslararası pazarda ülkenin rekabet gücünün artırılması sağlanmış olacaktır.

Bilimsel bir altyapı desteğiyle yerli hammadde ve sermaye ile geleneksel bir üründen katma değer sağlayacak inovatif bir ürüne geçişin sağlandığı çalışmada ele alınan konular şu şekilde sıralanabilir :

1- Ürün geliştirilmesi esnasında kullanılacak üretim ve analiz metotları ile ilgili literatür çalışmalarının incelenmesi
2- Pilot üretim için kullanılan hammadde; çözelti hazırlama, jelatin hazırlama aşamalarında izlenen yöntemler.
3- Hammadde, ara ürün ve son üründe gerçekleştirilen kalite kontrol analizleri.
4- Analiz sonuçlarının değerlendirilerek yorumlanması

Çalışma sürecinde uyulacak veya çalışma çıktılarının uyacağı ulusal/uluslararası standartları, çalışmada hammadde olarak kullanılacak çörek otu soğuk pres yağlarının kalite kontrollerinde Türk Gıda Mevzuatı, Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği 4. Maddesinde belirtilen a- bitkisel yağ ve d- Soğuk preslenmiş natürel yağ tanımları esas alınmıştır. Çalışma kapsamında hammadde olarak kullanılacak soğuk pres çörek otu tohumu yağı ve elde edilen tasarım için uygulanan analizler ulusal olarak TSE ve Türk Gıda Kodeksi, uluslararası olarak da AOCS, ISO gibi kuruluşların standartları ve gerektiğinde Avrupa ve Amerika Farmakopeleri ve WHO Monograf bilgileri ışığında gerçekleştirilmiştir.

# 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

## 2.1. Yağ Eldesi İçin Kullanılan Farklı Yöntemlerin Kıyaslanması

*Nigella sativa* bileşiminde bulunan yağın eldesi amacı ile farklı metotlar uygulanmaktadır. Bu metotlar arasında hekzan gibi organik çözücülerin kullanıldığı ekstraksiyon, kimyasal madde ve sıcaklık uygulamasının olmadığı soğuk pres metodu, mikrodalga ile ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu sayılabilir. Çörek otu tohumundan yağ elde etmek için araştırılan metotlar arasında mikrodalga ekstraksiyonu yer almaktadır. Bu metot nütrosötiklerin ekstraksiyonu için uygulanan yeni bir yöntem olup, mikrodalga ve çözücü ekstraksiyonu kombine edilmektedir. Uçucu yağların elde edilmesinde de tercih edilen yöntemin proses süresinin kısa olması, daha az çözücü kullanımı, yüksek yağ verimi ve optimizasyonunun daha kolay olması nedeni ile tercih edilebileceği bildirilmiştir. Fakat ekstraksiyon sonunda üründe kalan katı çözücü bileşenlerinin uzaklaştırılması için ekstra filtrasyon veya santrifüj uygulaması gerekmektedir (Wang ve Weller, 2006, Zigoneanu, 2006 ).

Yağ eldesi için Soxhlet ekstraksiyonu, modifiye Bligh-Dyer metodu ve hekzan ekstraksiyonunun karşılaştırıldığı farklı bir çalışmada yağın fizikokimyasal özelliklerini ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve kullanılan çözücü çeşidinin etkilediği görülmüştür. Bu üç farklı metodun arasından Soxhlet ekstraksiyonunun diğer metotlara kıyasla daha yüksek verimli olduğu, elde edilen yağda doymamış yağ ve omega-6/omega-3 oranının daha yüksek bulunduğu ve diğerleri ile kıyaslandığında daha iyi kalite parametrelere sahip olan ürün üretilmesine olanak sağladığı için daha uygun olduğu belirtilmiştir (Khoddami, 2011). Başka bir çalışmada ise hekzan ile çözücü ekstraksiyonu uygulaması ile elde edilen yağda yüksek miktarda tokoferol tespit edilmiş fakat yağda çözücü kalıntısı bulunma riski nedeni ile bu metodun kullanımı önerilmemiştir (Hoed ve ark., 2011).

Tohumdan yağ elde etmek için kullanılan süperkritik $CO_2$ ekstraksiyonu küçük ölçekli sistemlerde uygulanabilir bulunmuş, makine yatırımı ve elde edilen yağın yüksek maliyeti nedeni ile ticarileştirilememiştir (Lampi ve Heinonen, 2009).

Son yıllarda, yüksek miktarda besin maddelerini içermesi nedeni ile soğuk pres metoduna olan ilgi artmış, tüketicilerin doğal ve güvenli gıda arayışlarına cevap verdiği için ticari anlamda da yaygınlaşan bir uygulama haline gelmiştir. Soğuk pres yağ

ekstraksiyonu esnasında herhangi bir şekilde sıcaklık ve kimyasal madde uygulaması olmayan bir prosestir (Yu ve ark.,2005, Ramadan ve ark., 2012, Kiralan ve ark.,2014).

Her ne kadar soğuk pres yöntemi ile daha düşük verimliliklerde yağ elde edilliyor olsa da, çözücü ekstraksiyonu ile gerçekleştirilen proseslerde olduğu gibi son üründe çözücü kalıntısına rastlama riski bulunmamakta, böylelikle daha güvenli ve kullanıcıların daha çok tercih ettiği bir ürün haline gelmektedir (Lutterodt ve ark., 2011). Soğuk pres yağ tohumdan gelen doğal besin maddeleri açısından zengin bir yapıya sahiptir ve kimyasal olarak kontamine olmamış doğal antioksidanları da kapsayan lipofilik fitokimyasalları yüksek miktarda içermektedir (Yu ve ark.,2005, Lutterodt ve ark., 2011, Ramadan ve ark., 2012, Kiralan ve ark., 2014). Bahsedilen metotlar ile elde edilen yağların fizikokimyasal özellikleri karşılaştırıldığında soğuk pres yöntemi kullanılarak elde edilen yağların serbest yağ asidi gibi kalite parametrelerinde daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. α, β, γ, δ tokoferol değerleri ve sterol bileşikleri, toplam fenoller ve timokinon oranları daha yüksek bulunmuştur. (Kiralan ve ark., 2014) Ayrıca tedavi ve destek amaçlı çörek otu tohumu yağı kullanımında etken madde olarak belirlenen timokinon bileşiminin soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağlarda önemli ölçüde bulunduğu da araştırma sonuçları ile görülmüştür (Lutterodt ve ark.,2010).

Soğuk pres tohum yağları sağlık faydaları sağlayan biyoaktif bileşenleri de bünyesinde bulundururlar. Biyoaktif bileşiklerden tokoferoller güçlü antioksidanlar olarak görev yaparak antikardiyovasküler ajan olarak görev yaparlar (Wolf 1997, Le'ger 2000). Soğuk pres yağlarda bulunan fenolikler ve flavonoit gibi polifenol bileşikler de antimikrobiyal, antienflamatuvar, antitrombotik, antialerjik, antiaterojenik, antioksidan gibi teröpatik etki gösterirler (Balasundram ve ark., 2006).

Soğuk pres yağ üretim prosesinin en önemli faktörü sıcaklık uygulanmamasıdır. Bu fraksiyonlama işleminde yağ çıkarma işlemi sıcaklıktan bağımsız olarak yapılmaktadır. Literatür bilgilerine dayanarak yağlı tohumlardan preslenerek yağ çıkarma işlemi 50 $^{\circ}$C dereceyi geçmemelidir (Dimic, 2005, Moreau ve Kamal-Eldin, 2009, Rabrenovic ve ark., 2014). Bu üretim metodu vitaminler, provitaminler, fitosteroller, fosfolipitler gibi önemli besin bileşenlerinin son üründe kalmasını sağlar (Rabrenovic ve ark., 2014). Soğuk pres yöntemi ile elde edilmiş farklı meyve yağlarının antioksidan bileşenler içerdiği ve dikkat çekici bir miktarda radikal yok etme ve radikal absorpsiyon kapasitesine sahip olduğu görülmüştür (Dimitrios, 2006). Ayrıca çözücü

ekstraksiyonuna kıyasla oto-oksidasyona karşı daha stabil bir yapı sergilemektedir (Atta, 2003). Soğuk pres yöntemi sıcak pres ve ön ısıtma uygulanan pres yöntemlerine kıyasla daha düşük değerlerde serbest yağ asitlerine sahiptir (Ustun ve ark., 1990). Ekstrakte edilmiş diğer yağlara kıyasla soğuk pres metodu ile elde edilen yağlar, daha yüksek seviyede doğal antioksidan bileşikleri içerdiği için, raf ömrünü artırmak amacı ile sentetik antioksidan bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) yerine kullanılabilir (Hoed ve ark., 2011).

Çörek otu bitkisi, fitokimyasal ve farmakolojik açıdan üzerinde oldukça fazla çalışılan bir bitki türüdür. Çörek otu tohumunun amino asitler, proteinler, karbonhidratlar, sabit ve uçucu yağ bileşenleri gibi kimyasal bileşenler açısından oldukça zengin olduğu ve pekçok farklı bileşeni bünyesinde bulundurduğu görülmektedir. Yukarıda bahsedilen pekçok farmakolojik aktivitenin yapısında bulunan kinon bileşikleri ile ilgili olduğu belirtilmektedir. 1956 yılında Chopra ve ark. timokinonun (TQ) çörek otu uçucu yağının asıl bileşeni olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı bir çalışmada çörek otu tohumunun sabit yağ içeriğiniz %30, uçucu yağ içeriğinin ise ortalama %0.5, en çok %1.5 olduğu belirtilmiştir. Ayrıca uçucu yağın % 54 oranında TQ ve p-simen, α-pinen, TQ2 THQ gibi pekçok monoterpen bileşeni içerdiği tespit edilmiştir. Bunun dışında uçucu yağın timol (TOH) bileşenleri içerdiği de tespit edilmiştir (Aboutabl ve ark., 1986). İnce tabaka kromatografisi kullanılarak çörek otu yapısında TQ'un yanısıra karvakrol, t-anetol, 4-terpineol bileşenleri de tespit edilmiştir (Burits ve Bucar, 2000).

Çörek otu tohumunda bulunan timokinon ve diğer uçucu bileşenler; öksürüğü baskılamak (Mahfouz ve ark., 1960), böbrek taşlarını eritmek (Hashem ve El-Kiey, 1982), abdominal ağrılar ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında tedavi edici etkisi (Enomoto ve ark., 2001), antiinflamatuvar (Chakravarty, 1993; Houghton ve ark., 1995) ve antioksidan etkisi (Mansour ve ark., 2002) nedeni ile tercih edilmektedir. Bunların dışında çörek otu bitkisinde bulunan uçucu yağ bileşenlerinin antimikrobiyal (Hanafy ve Hatem, 1991; Aboul-Ela ve ark., 1996), antiviral (Salem ve Hossein, 2000), diüretik ve antihipertansif (Tahir ve ark., 1993; Zaoui ve ark., 2000) hipoglisemik (Al-Hader ve ark., 1993), antioksitosik (Aqel ve Shaheen, 1996), hematolojik (Enomoto ve ark., 2001), hepatoprotektif (Daba ve Abdel-Rahman, 1998) ve immun sistemini destekleyici (Swamy ve Tan, 2000) etkileri olduğu çalışmalarda gösterilmiştir.

## 2.2. Yumuşak Jelatin Kapsül Uygulamaları

Gıda takviyesi uygulamalarında kullanılan jelatinin en önemli özellikleri; jelin mukavemeti, viskozite, jelleşme ve erime sıcaklıklarıdır. Bu özellikler ortalama molekül ağırlığı, molekül ağırlığı dağılımı, jelatin çözelti dağılımı, jel olgunlaşma sıcaklığı, jel olgunlaşma süresi, pH ve tuz içeriği ile ilgili olarak değişebilir (Karim ve Bhat, 2009).

Ürün prosesi esnasında sert kapsül veya yumuşak kapsül seçimi yapılırken öncelikli olarak kullanılacak ürünün formülasyonu dikkate alınmalıdır. Viskozite, ürünün dolum sıcaklığı gibi fiziksel karakteristiklerin yanısıra emilim oranları da bu seçimde etken rol oynamaktadır (Cole ve ark., 2008). Yumuşak kapsüller genellikle sert kapsüllerden daha kalındırlar ve sorbitol, gliserin gibi esneklik sağlayacak yardımcı maddeler, su ve gerekli görülürse renklendirici maddeler kullanılarak üretilmektedirler (Reich, 2004) .

Yumuşak jelatin kapsüller biyoyararlılık açısından sert kapsüller ile kıyaslandığında, yumuşak jelatin kapsüllerin vücut tarafından daha çok absorbe edildiği görülmektedir. Hiperforin ve hiperisin ile gerçekleştirilen bir çalışmada, sert jelatin kapsül ile karşılaştırıldığında lipofilik yumuşak jelatin formülasyonlarının önemli ölçüde daha yüksek biyokullanıma sahip olduğu görülmektedir (Agrosi ve ark., 2000). Silibin, CoQ10 gibi farklı bileşenler için de gerçekleştirilen değerlendirmeler de benzer sonuçlar vermektedir (Savio ve ark., 1998, Kanamori, 1985).

Kaplanmış ve kaplanmamış yumuşak kapsüllerin fiziksel ve mekanik özellikleri içine doldurulan çözeltinin likiditesi ile ilgilidir. Yumuşak kapsüllerin hazırlanması esnasında oluşan üç boyutlu ağsı yapılar jelatinin güçlü ve stabil olmasını sağlamaktadır (Chabala ve ark., 1994). Çalışmalar esnasında uygulanan sıcaklık ve nem, kapsüllerin fiziksel ve mekanik özelliklerini etkileyen önemli faktörlerdir (Felton ve ark., 1999, Nazzal ve Wang, 2001). Üretim uygulamalarında yumuşak kapsüllerin yapısında kullanılan ve esneklik veren maddelerin esas görevi kapsül çeperini oluşturarak stabil olmasını sağlamak iken, bu maddelerin miktar ve türüne göre oksijen bariyeri fonksiyonları da bulunmaktadır (Bauer, 1983).

Yumuşak kapsüllerde uygulanan termal analizler, kapsüllerin yapısında bulunan hammaddeler veya dış faktörlerin etkisi ile gerçekleşen fiziksel değişimler hakkında bilgi vermektedir. Bu bilgiler ile bağlantı kurularak kapsül çeperinin yumuşaklığı belirlenebilmektedir. Yüksek bağıl nem ve düşük sıcaklık uygulandığında kapsülün

daha yumuşak bir yapıda olduğu ve dolum formülasyonu, kullanılan su ve gliserin ile sertlik kaybı arasında bir bağlantı olduğu çalışmalarda belirtilmektedir. Ayrıca suyun kısa bir süre içinde jelatini istenilen şişme derecesine getirdiği ve proses esnasında etanol kullanımının kapsülde fiziksel deformasyona neden olduğu görülmektedir (Nazzal ve Wang, 2001).

Yumuşak jelatin bileşiminde yapılan değişikliklerin difüzyona olan etkisi etanol testi ile kontrol edildiği çalışmalarda gliserolün yerine ksilitol, sorbitol ve licasin kullanıldığında difüzyonun belirgin derecelerde azaldığı görülmektedir. Gliserin yerine sorbitol içeren ürünlerde üretim esnasında yapışmama/ayrılma sorunu ile karşılaşılabileceği, ayrıca bu ürünler kullanıldığında kapsüllerin daha geç kuruduğu belirtilmektedir (Moreton ve Armstrong, 1998).

## 2.3. Çörek Otu Tohumu Yağı Etki Mekanizması

Çörek otu tohumları eski Mısır ve Yunanlı hekimler tarafından başağrısı, nasal konjesyon, diş ağrısı, barsak kurtlarına karşı, adet söktürücü ve laktasyonu artırmak için kullanılmıştır. *Nigella sativa* tohumları Orta ve Uzak Doğu'da bronşiyal astım, baş ağrısı, dizanteri, enfeksiyon, obezite, sırt ağrısı, hipertansiyon ve gastrointestinal problemler gibi pek çok hastalıkta geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Egzema gibi cilt hastalıklarında kullanımı ise bütün dünyaca kabul edilmiştir (Ali ve Blunden, 2003).

*Nigella sativa*'nın bileşimindeki maddelerin çok çeşitli olması ve her birinin terapötik etkinliklerinin farklı olması nedeniyle *Nigella sativa* pek çok farklı farmakolojik etki göstermektedir. Antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antitümör ve immünomodülatör etkinlikler bunlardan bazılarıdır (Ali ve Blunden, 2003).

### 2.3.1. Bağışıklık sistemi üzerine etkisi

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada *Nigella sativa* tohumu yağının CD4 (yardımcı lenfosit) / CD8 (baskılayıcı lenfosit) oranını %55; doğal öldürücü (NK) hücreleri ise %30 artırdığı saptanmıştır. Bir hafta süreyle *Nigella sativa* tohumunun sulu ekstresi alındığında doğal öldürücü hücrelerin miktarı ve YAC-1 tümör hücrelerine karşı sitotoksisiteleri yaklaşık iki kat artmıştır. (Woo ve ark, 2012) *Nigella sativa* yağı

doğrudan yaşlılarda immün direnci artırır. Farelerde "sisplatinin" neden olduğu hemoglobin ve total lökosit sayısındaki azalmaya engel olmuştur. *Nigella sativa* verilen farelerde toplam lökosit sayısı %3.2 oranında artmıştır. *Nigella sativa*'nın, T hücrelerinin bağışıklık sistemindeki etkisini arttırıcı özelliği vardır (Kaya ve ark, 2003).

### 2.3.2. Antitümöral etkisi

*Nigella sativa*'nın hem yağının hem de tohumundaki aktif bileşenlerin anti-tümör etkinlik gösterdiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla gösterilmiştir. Antitümör etkilerine ek olarak hepatosellüler karsinomda, lösemide, akciğer karsinomunda sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Salem, 2005).

### 2.3.3. Antienflamatuvar, analjezik, antipiretik etkisi

Akut veya kronik inflamasyonun başlaması ve ilerlemesinde inflamatuvar hücreler, makrofajlar ve nötrofillerden salınan eikozanoid, sitokin gibi mediyatörler ve enzimler rol oynamaktadır. Nitrik oksit (NO) başta olmak üzere reaktif oksijen türleri doku hasarına sebep olan bir dizi toksik oksidatif reaksiyonu başlatırlar (Salem, 2005). Yapılan pek çok *in vitro* çalışma ile *Nigella sativa* yağının ve aktif bileşenlerinin inflamasyondan sorumlu mediyatörlerin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Al-Ghamdi, 2001; Woo ve ark, 2011).

Çörek otu tohumu yağının ve onun aktif bileşenlerinin alerji ve inflamasyonun oluşumu üzerinde inhibitör etkisi olduğu bildirilmiştir (El-Dakhakhny ve ark, 2002). Çörek otu tohumu yağının artritin etkilerini hafifleten antienflamatuvar etkisi olduğu da gözlenmiştir. Çörek otu tohumu ve bileşenlerinin, deneysel ensefalomyelit, kolit gibi inflamatuvar hastalıklarda etkisi olduğu da bildirilmiştir (Salem, 2005).

Fare ve sıçanlarda yapılan çalışmada çörek otu tohumlarından hazırlanan sulu ekstrenin analjezik, antienflamatuvar ve antipiretik özellikleri olduğu bildirilmiştir (Al-Ghamdi, 2001).

### 2.3.4. Antihistaminik etkisi

*Nigella sativa* tohumlarının aktif bileşenlerinin histamin kaynaklı enflamatuvar hastalıklarda etkili olduğu gösterilmiştir. Nitekim bu tohumların uzun yıllardır

geleneksel halk ilaçları kapsamında kullanıldığı da bilinmektedir. Yapılan bir klinik çalışmada, *Nigella sativa* yağının alerjik rinit, bronşiyal astım, atopik astım gibi alerjik hastalıklarda alerjik hastalıkların tedavisinde adjuvan olarak kullanımının olumlu etkileri olabileceği ileri sürülmüştür (Salem, 2005).

### 2.3.5. Antiastmatik etkisi

Allerjik astımın en önemli nedeni solunum yollarının hiperaktivitesi ile birlikte allerjik enflamasyonun oluşmasıdır. El Mezayen ve ark. (2006) yaptıkları çalışma sonucu timokinonun solunum yollarındaki allerjenle indüklenmiş akciğer enflamasyonunu azaltabildiğini göstermişlerdir.

### 2.3.6. Antiparaziter etkisi

Şistozomiyaz üçüncü dünya ülkelerinde görülen tropikal parazitik bir hastalıktır. Bu hastalıktan korunmak için aşılama gibi tedaviler denenmiş olsa da yine de en etkili tedavi biçiminin kemoterapi olduğu görülmüştür. *Nigella sativa* tohum ekstresi ve timokinon bu hastalığın tedavisinde büyük başarı göstermiştir. *S. mansoni* ile enfekte farelere *Nigella sativa* yağı verilmesi karaciğerdeki *S. mansoni* kurtlarının sayısını, biyokimyasal hasarı ve patolojik değişiklikleri azaltmıştır (Mahmoud ve ark, 2002).

### 2.3.7. Antiviral etkisi

Murin sitomegalovirus (MCMV) immun yetmezliği olan hayvanlarda ölümcül olan bir herpes virüs hastalığıdır. Yapılan çalışmada *Nigella sativa* yağı ile 10. günde tedavi yapıldığında, deney farelerinin dalak ve karaciğerinde virüs gözlenmediği ve diğer belirtiler ile birlikte değerlendirildiğinde belirgin bir antiviral etkisinin olduğunu göstermiştir (Salem ve Hossain, 2000).

### 2.3.8. Antibakteriyel etkisi

*Nigella sativa; Escherichia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* gibi pek çok bakteri türüne karşı antibakteriyel etkinlik göstermektedir. Ayrıca eter ekstresinin pek çok antibiyotikle

sinerjistik etki gösterdiği belirtilmiştir (Hanafy ve Hatem, 1991). Hatta ekstrenin *Vibrio cholera, Escherichia coli* ve *Shigella dysantriae'* nin bütün türleri dahil antibiyotiklere direnç geliştimiş bakterilere karşı da etkili olduğu kanıtlanmıştır (Rakhshandeh, 2005).

### 2.3.9. Antifungal etkisi

*Candida albicans* gibi pek çok mantar türüne karşı antifungal etkinlik göstermektedir. Çörek otu tohumunun farelerde antifungal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Candida albicans* inokulasyonundan 24 saat sonra başlanan ve 3 gün devam eden günlük çörek otu tohumu tedavisiyle mantarın büyümesinin anlamlı derecede inhibe edildiği gösterilmiştir (Khan ve ark, 2003a).

### 2.3.10. Antidiyabetik etkisi

Streptozotosin ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda yapılan çalışmada çörek otu tohumlarıyla tedavinin (0.20 ml/ kg, 30 gün; i.p.) serum insülin konsantrasyonunu arttırdığı, kan glukozunu düşürdüğü ve pankreas beta hücrelerinin parsiyel rejenerasyon/proliferasyonda artışa neden olduğu gösterilmiştir (Butt ve Sultan, 2010).

### 2.3.11. Gastroprotektif etkisi

Çörek otu tohumu yağının mideyi koruyucu etkisi sıçanlarda etanol ile indüklenmiş ülserde incelenmiştir. Çörek otu tohumu yağının uygulandığı grupta glutatyon düzeyinin artması, peptik ülser oluşumunda histamin içeriğinin azalması ve müsin içeriğinin artması çörek otu tohumu yağının koruyucu özelliği olduğunu göstermektedir (El-Ahbar ve ark., 2003).

### 2.3.12. Radyoprotektif etkisi

Beş gün boyunca verilen çörek otu tohumu yağı irradyasyonla oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir (Rastogi ve ark, 2010).

### 2.3.13. Hepatoprotektif etkisi

Karbon tetraklorür ($CCl_4$) ile oluşturulan toksisite durumunda, *Nigella sativa* yağının hepatotoksisiteye karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Artmış $K^+$ ve $Ca^{+2}$ serum düzeylerini, lipit peroksidasyonunu ve karaciğer enzim düzeylerini düşürmüş; azalmış eritrosit, lökosit, hemoglobin ve antioksidan enzim seviyelerini artırmış ve serum lipit profilini düzeltmiştir. Karaciğer hasarını belirgin derecede azaltmıştır (Salem, 2005).

Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında (Yıldız ve ark, 2010) ve safra kanallarının bağlanmasına bağlı olarak gelişen karaciğer sirozunda da koruyucu etkileri vardır (Çoban ve ark, 2010).

### 2.3.14. Nefroprotektif etkisi

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada timokinonun idrar yoluyla protein ve albumin atılımını azalttığını, nefrotik sendromla ilişkili proteinüri ve hiperlipidemi için timokinonun koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Badary ve ark, 2000).

Sıçanlarda potasyum bromat ($KBrO_3$)'ın neden olduğu renal oksidatif hasar çalışmasında profilaktik olarak uygulanan *Nigella sativa* ekstresinin dokuda lipit peroksidasyonunu ve oksidatif hasarı belirgin derecede düşürdüğü ve glutatyon ve antioksidan enzim kapasitesini geri döndüğü gösterilmiştir (Khan ve ark, 2003b). Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında da yine antioksidan etkileriyle koruyucu rol oynamıştır (Yıldız ve ark, 2010).

### 2.3.15. Nöroprotektif etkisi

*Nigella sativa* yağı ve timokinon uygulaması çeşitli global serebral iskemi (Hosseinzadeh ve ark, 2007), subaraknoit kanama (Erşahin ve ark, 2011), toluenle oluşturulan hipokampal nörodejenerasyon (Kanter , 2008a), diyabetik nöropati (Kanter, 2008b), omurilik yaralanması (Kanter ve ark, 2006) gibi deneysel nörotravma modellerinde nöron hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir. Subaraknoit hemorajiye bağlı beyin hasarında kan-beyin engeli geçirgenliğini, beyin ödemini azaltmış; antioksidan etkisiyle nöronal hasara karşı koruyucu etki göstermiştir (Erşahin ve ark,

2011). İntracerebroventroküler uygulanan timokinon ise antikonvülsan etkinlik göstermiş ve nöbet oluşumunu azaltmıştır (Hosseinzadeh ve ark, 2005).

### 2.3.16. Kardiyovasküler etkisi

Çörek otu bitkisi diüretik, hipotansif etkisinden dolayı kullanılan bir bitkidir. Deneysel olarak hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda çörek otu tohumları ekstresinin diüretik ve hipotansif etkisi üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Çörek otu tohumu ekstresinin 15 gün boyunca oral yolla 0.6 ml/kg/gün dozda verilmesi sonucu, sıçanlarda diürezi %16 oranında artmıştır. Ayrıca Cl, Na, K ve ürenin idrarla atılımın da arttığı ve arteriyel basıncın %22 oranında azaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar da çörek otunun antihipertansif etkisinin diüretik etkisiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Ali ve Blunden, 2003).

### 2.3.17. Hematolojik parametrelere etkisi

Çörek otu tohumu sabit yağlarının, hematolojik parametreler ve vücut ağırlığına etkisini göstermek amacıyla yapılan bir çalışmada, sıçanlara 12 hafta boyunca oral olarak 1 mL/kg dozunda çörek otu tohumunun yağı günlük olarak uygulanmıştır. 12 haftalık uygulama sonucunda çörek otu verilen grupta hemoglobin ve hemotokrit değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, serum kolesterol, TAG ve glukoz değerleri anlamlı olarak azalmıştır (Zaoui ve ark., 2002a).

### 2.3.18. Üreme sistemi üzerine etkisi

*Nigella sativa* tohumları halk arasında da süt salgısını artırıcı olarak kullanılmaktadır (Ali ve Blunden, 2003). İzole organ banyosu çalışmalarında uterusta oksitosinle oluşturulan kasılmaları inhibe ettiği gösterilmiştir (Aqel ve Shaheen, 1996). Ayrıca östrojenik etkileri bildirilmiştir (El-Halawany ve ark, 2011). Alkollü ekstrenin uzun süreli (53 gün) kullanımı ile erkek sıçanlarda yapılan araştırmada erkek fertilitesine olumlu etkileri gösterilmiştir (Al Saaidi ve ark., 2009).

# 3. MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1. Materyal

### 3.1.1. Çörek otu tohumu

Çalışmada çörek otu tohumu temini için yerli ve yabancı farklı tedarikçilerden temin edilen tohumlar değerlendirilmiş, bu tohumlar arasından fizikokimyasal özellikler açısından literatürlere uygun bulunan Balıkesir Bölgesinden elde edilen tohumlar soğuk pres denemelerinde kullanılmak üzere tercih edilmiştir. Ürünün yağ veriminin de göz önünde bulundurulduğu deneme çalışmalarında uygun görülen tohum cinsinin *Nigella sativa* olduğu herbaryum örnekleri ile de karşılaştırılarak materyal olmasına karar verilmiştir.

### 3.1.2. Çörek otu tohumu yağı

Temin edilen *Nigella sativa* tohumlarından çalışmanın yapıldığı Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A. Ş. bünyesinde yağ eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda tohumun yapısında bulunan etken maddelerin zarar görmeden ekstrakte edilebileceği, aynı zamanda yüksek verimliliğin sağlanabileceği yöntemler araştırılmış ve karşılaştırmalar yapılmıştır.

Çalışma kapsamında yukarıda bahsedilen mikrodalga, çözücü ekstraksiyonu, süperkiritik $CO_2$ ektraksiyonu, soğuk pres gibi farklı yağ elde etme metotları arasından; ısıl işlem uygulanması ve kimyasal bir madde kullanımı söz konusu olmayan ve son ürünün en güvenli bir şekilde önemli besin bileşenlerinin en iyi korunduğu en uygun yöntem olarak soğuk pres metodu tercih edilmiştir. Herhangi bir yardımcı kimyasal madde kullanılmadan ve ısıl işlem uygulanmadan, tamamen fiziksel yöntemler ile çörek otu tohumu bünyesinde bulunan yağ ayrıştırılmış, dinlendirme işlemini takiben 50x50 cm çapında 1 μ'luk kağıt filtreler kullanılarak yağın içinde bulunan ve bulanık görüntüye sebep olan maddeler uzaklaştırılmıştır. İstenilen parametrelere getirilen çörek otu tohumu yağı çalışmanın hedefi olan yumuşak kapsül üretimi için kullanılmıştır.

### 3.1.3. Proses hammaddesi ve yardımcı maddeleri, ambalaj malzemeleri

Yumuşak kapsül üretiminde kullanılacak jelatin hammaddesi Balıkesir – Gönen'de yerli üretim yapan Sel-Jel firmasından farmasötik grade olarak temin edilmiş ve ürün özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Jelatin özellikleri

| **Tip : Yenilebilir jelatin 200 bloom** | | |
|---|---|---|
| **Parametreler** | **Birim** | **Özellikler** |
| Görünüş | | Uygun |
| Jel dayanıklılığı AOAC (%6.67-10°C) | g | 190-210 |
| Vizkozite (%6.67-60°C) | mPa.s | 1.5-5.0 |
| Partikül büyüklüğü | ASTM Sieve | 20 |
| pH (%1-45°C) | U pH | 4.0-7.0 |
| Kurutma kaybı | % | ≤ 13 |
| Yanma kalıntısı (550°C) | % | ≤ 2 |
| İndirgeme maddeleri ($SO_2$ olarak ifade edilir) | mg/kg | ≤ 50 |
| Arsenik (As) | mg/kg | ≤ 1 |
| Kadmiyum (Cd) | mg/kg | ≤ 0,5 |
| Krom (Cr) | mg/kg | ≤ 10 |
| Bakır (Cu) | mg/kg | ≤ 30 |
| Kurşun (Pb) | mg/kg | ≤ 5 |
| Civa (Hg) | mg/kg | ≤ 0.15 |
| Çinko (Zn) | mg/kg | ≤ 50 |
| Toplam bakteri sayımı | cfu/g | ≤ 1000 |
| *Koliform* | | Bulunmamalı/10 g |
| *Escherichia coli* | | Bulunmamalı/10 g |
| *Salmonella spp.* | | Bulunmamalı/25 g |
| Sülfit indirgeyen anaeroblar | cfu/g | ≤ 10 |

Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül üretiminde kullanılan saflaştırılmış suyun kalitesi Avrupa Farmakopesi gerekliliklerine uygundur. Su üretici firmanın kendi su sisteminde üretilmiş ve devamlı döngü halinde bulunmaktadır. Sistem düzenli olarak kontrol edilmektedir. Üç ayda bir mikrobiyolojik testler ve haftalık periyotlarda TOC ve kondüktivite kontrolü yapılmaktadır (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Saf su özellikleri

| Parametre | Gereklilik | Limitler |
|---|---|---|
| Ağır metaller | Avr. farm. saflaştırılmış su | ≤ 0.1 ppm |
| Nitrat | Avr. farm. saflaştırılmış su | ≤ 0.2 ppm |
| Kondüktivite | Avr. farm. saflaştırılmış su | 20 °C' de ≤ 0.1 μS |
| TOC | Avr. farm. saflaştırılmış su | ≤ 500 ppm |
| Bioburden (30-35 °C) | Avr. farm. saflaştırılmış su | ≤ 100cfu/mL |
| Bakteriyel endotoksinler | Avr. farm. saflaştırılmış su | ≤ 0.25 IU/mL |

Yumuşak jelatin kapsül üretiminde kullanılan gliserin yardımcı maddesi Nordische Oelwerke Carraux markalı olarak temin edilmiş olup, ürüne ait spesifikasyonlar Çizelge 3.3 'de verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Gliserin özellikleri

| | |
|---|---|
| **CAS numarası** | 56-81-5 |
| **EINECS numarası** | 200-289-5 |
| **Kimyasal adlandırma** | 1, 2, 3 trihidroksipropan |

| Parametre | Ölçüm birimi | Tets metodu | Limit | Sonuç |
|---|---|---|---|---|
| Fiziksel özellikler | | Şeffaf, renksiz sıvı | | |
| Kimyasal içerik | % | EP 05:0497 | 99.5 – 101.0 | 99.8 |
| Fiziksel içerik | % | EP 2.2.6 | 99.7 - 100.6 | 99.9 |
| Su | % | EP 2.5.12 | < 0.5 | 0.1 |
| Renk | APHA | ISO 2211 | < 10 | 2 |
| Klorür | ppm | EP 2.4.4 | < 10 | 2 |
| Sülfat külü | % | EP 2.4.14 | < 0.01 | < 0.01 |
| Sabunlaşma değeri | | EP 05:0497 | < 0.0248 | < 0.0248 |
| Refraktif indeks | | EP 2.2.6 | 1.470 – 1. 475 | 1.4737 |
| Yoğunluk | g/cm 20 $^0$C | EP 2.2.5 | >1.2603 | >1.2603 |
| Ester | mL | EP 05.0497 | >8 | 9.4 |
| Halojene bileşenler | ppm | EP 05.0497 | < 35 | < 35 |
| Ağır metaller | ppm | EP 2.4.8 | < 5 | < 5 |
| Aldehitler | ppm | EP 05.0497 | < 10 | < 10 |
| Asitlik / alkalinite | mL | EP 05.0497 | < 0.2 | < 0.2 |
| Görünüm | | EP 2.2.1/2.2.2 | Testte belirtilen | Testte belirtilen |
| Şeker | | EP 05.0497 | Negatif | Negatif |
| Safsızlık A, benzer bileşenler | % | EP 2.2.28 | | |
| Safsızlık A (dietilen glikol) | % | EP 2.2.28 | < 0.1 | < 0.1 |
| Diğer safsızlıklar | % | EP 2.2.28 | < 0.5 | < 0.5 |

Proses esnasında koruyucu olarak kullanılan E vitamini preparatları (α-tokoferil asetat ve α-tokoferol) DSM firmasından analiz sertifikaları ile birlikte temin edilmiş, ürün özellikleri Çizelge 3.4.a ve Çizelge 3.4.b'de verilmiştir.

**Çizege 3.4.a.** DL-α-tokoferil asetat özellikleri

| | |
|---|---|
| Görünüş | Açık, viskoz yağ görünümünde |
| Tanım | "All-rac-α-tocopherol" a uygun |
| Optik rotasyon | -0.010 , +0.010 |
| Asitlik, en çok | 1 mL 0.10 NaOH |
| Kurşun (Pb), en çok | 2 ppm |
| İlgili bileşikler | |
| Safsızlık A, en çok | %0.5 |
| Safsızlık B, en çok | %1.5 |
| Safsızlık C (serbest tokoferol) , en çok | %0.5 |
| Safsızlık D ve E, en çok | %1.0 |
| Diğer safsızlıklar | Her biri en çok %0.25 |

**Çizelge 3.4.b.** DL-α-tokoferol özellikleri

| | |
|---|---|
| Görünüş | Açık, viskoz yağ görünümünde |
| Renk tanımlanması | Sarımsı-kahverengi "All-rac-α-tocopherol" a uygun |
| Optic dönme | $-0.01^0$ , $+0.01^0$ |
| Refraktif indeks | 1.503 – 1.507 |
| Ethanol içerinde absorplanma | |
| 292 Nm (en çok) | 72,0 – 76,0 |
| 255nm (en az) | 6,0 – 8,0 |
| Asitlik, en çok | 1 mL 0.10 NaOH |
| Ağır metal, en çok | 10 ppm |
| Kurşun (Pb) , en çok | 2 ppm |
| Arsenic (Ar) , en çok | 1 ppm |
| Civa (Hg) , en çok | 1 ppm |
| Kadmiyum (Cd) , en çok | 0.5 ppm |
| Çözücü kalıntısı, en çok | 890 ppm |

Son ürünün blister ambalajlanmasında kullanılan malzemeler yurt içinde ilaç sektörüne tedarik sağlayan yerli firma olan PVC Farmamak Firmasından ve alüminyum folyo Tab Ambalaj Firmasından temin edilmiştir.

**Çizelge 3.5.** Al- folyo özellikleri

| Testler | Limit | Bulgu |
|---|---|---|
| Malzeme cinsi | 20 mic. Al folyo | 20 mic.Al. Folyo |
| Görünüş | Yazılar net okunaklı olmalı, boya taşması olmamalı | Uygun |
| Malzeme eni | 142 mm | Uygun |
| Renk | Mavi siyah | Uygun |
| Flaster testi | Test sonrasında flaster üzerinde renk bulunmamalı | Uygun |
| Koku testi | Koku olmamalı | Uygun |
| Delik testi | Delik olmamalı | Uygun |
| Baskı altı lakı | 1,5 $g/m^2$ (+/-0.5$g/m^2$) | 1.51 $g/m^2$ |
| Yapıştırma lakı | 7.0 $g/m^2$ (+/-1.0$gm^2$) | 6.6 $g/m^2$ |
| Aluminyum kalınlık | 20 mic (+/-1.6 mic.) | 20.2 mic |
| Aluminyum ağırlık | 57.0 $g/m^2$ (+/-4 $g/m^2$) | 57.3 $g/m^2$ |
| Gönderilen bobin sayısı | - | 2 |
| Net bobin ağırlığı | - | 30.150 |
| Ambalaj şekli | Balonlu naylon içine sarılı, Koli içerisinde olmalı | Uygun |

**Çizelge 3.6.** PVC Film özellikleri

| | |
|---|---|
| Ürün cinsi | PVC şeffaf |
| Ürün kodu | 6110000035 |
| Kalınlık | 300 mic |
| Genişlik | 215 mm |

| Yapılan testler | Test cihazı | Tolerans | Sonuçlar | Birim | Test metodu |
|---|---|---|---|---|---|
| Kalınlık | Mikrometre | ±5 | 306 | M | Farmamak |
| Genişlik | Şeritmetre | ÷1 | 215 | Mm | Farmamak |
| Parlaklık | G MIKRO GLOSS 45 | >90 | 96.41 | % | DIN 67530 |
| Pusluluk | H Byk haze gard plus | <5 | 1.72 | % | Astm d 1003 |
| Geçirgenlik | T Byk haze gard plus | 90±3 | 90.39 | % | Astm d 1003 |
| Berraklık | C BYK HAZE GARD pluss | >95 | 97.44 | % | ASTM D 1003 |
| Siyahlık beyazlık | L X-Rite renk (Leneta kartı) | 90±2 | 90.69 | % | L*a*b*D65/10 |
| Kırmızılık yeşillik | A X-Rite renk (Leneta kartı) | 0.5±1 | -0.48 | - | L*a*b*D65/10 |
| Sarılık mavilik | B X-Rite renk (Leneta kartı) | 4±2 | 2.53 | - | L*a*b*D65/10 |
| Görünüş | Byko spectra mini | <2/$m^2$ | 0 | Adet | Farmamak |
| Boyutsal Kararlılık (td) | Etüv (140 $^0$C 5') | ≤%2 | 1 | mm | Farmamak |
| Boyutsal Kararlılık (md) | 100*100 mm | ≤%4 | 4 | mm | Farmamak |
| Ambalaj kontrol | Gözlem | Standard Uygunluk | Uygun | - | Farmamak |

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Çörek otu tohumu yağı elde etme metodu

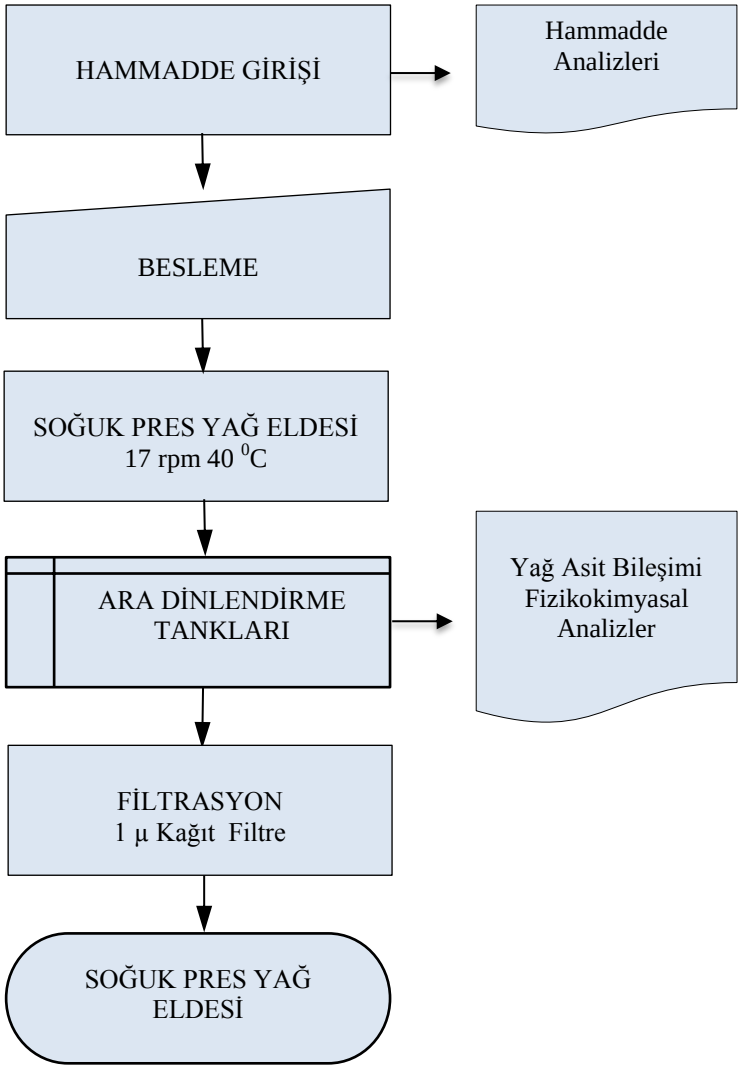
Çörek otu tohumlarından yağ, soğuk pres yöntemi ile elde edilmiştir. Prosese kadar geçen sürede deneme için uygun görülen tohumlar elenerek yabancı maddelerden arındırılmıştır. Hammadde serin, kuru ve doğrudan ışık ile temas etmeyen bir alanda, sevkiyatı yapılan kraft torbalar içinde muhafaza edilmiştir.

Proses için kullanılan çörek otu tohumlarında aflatoksin A1, ağır metal, EBDC (ethylen bis dithiocarbamate), *Escherchia coli*, kalıntı pestisit, küf- maya, LC-MS/MS grubu pestisitler, nem, PCB, querches ile kalıntı pestisit, *Salmonella* ve toplam bakteri analizleri özel bir laboratuvarda gerçekleştirilmiştir.

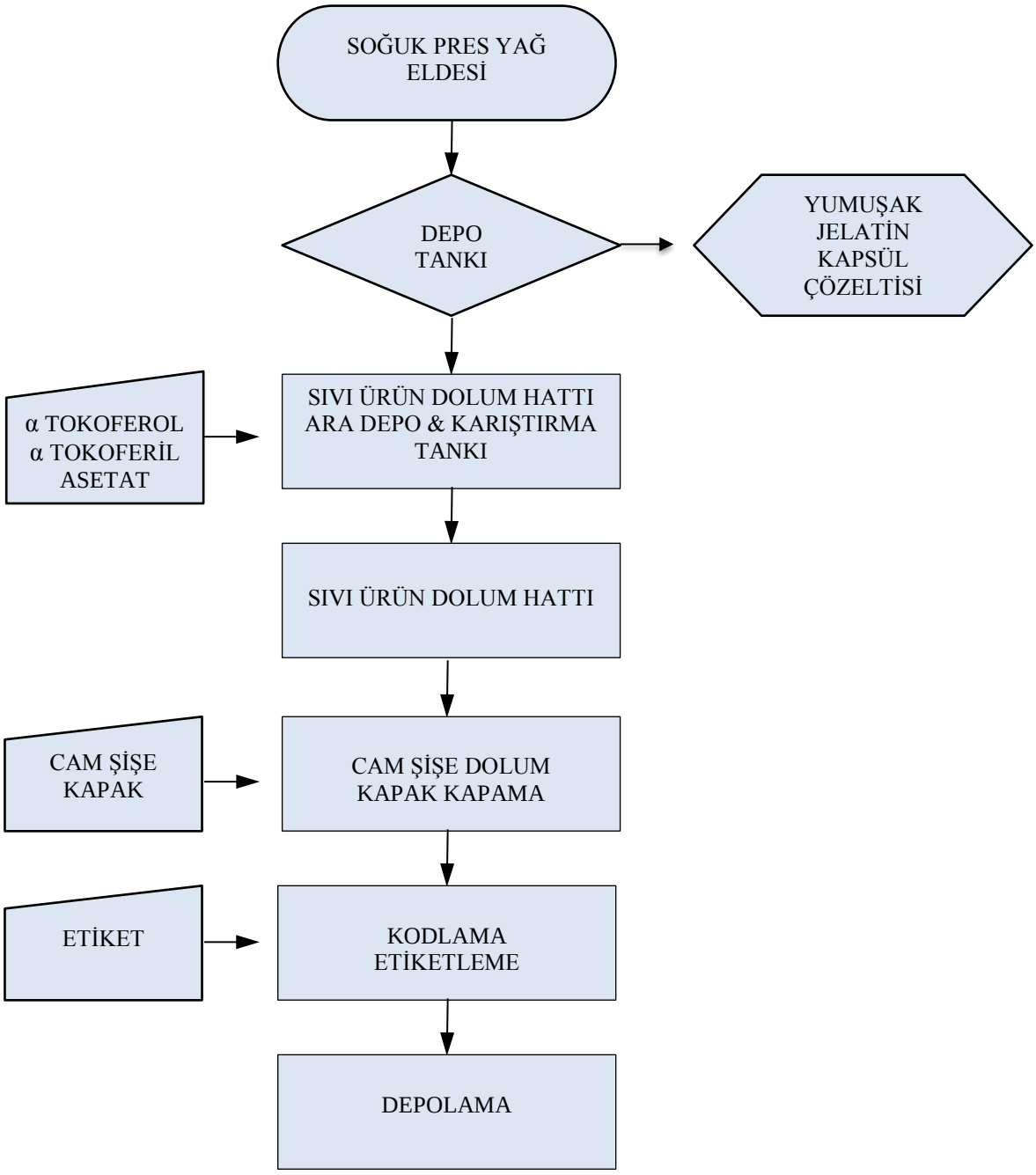
#### 3.2.1.1. Çörek otu tohumundan soğuk pres yöntemi ile yağ elde etme prosesi

Soğuk pres yağ işleme tesisine kraft torba gibi taşıma materyalleri ile gelen hammaddeler prosese alınmadan önce fiziksel muayeneye tabi tutulmuştur. Soğuk pres işlemi için konveyörler ile soğuk pres ünitesine taşınan yağlık tohumlar taş ayıklama, eleme vb işlemlerden geçirilerek proses öncesi yabancı maddelerden ayrıştırılması ve prosese uygun tanecik boyutuna sahip hammaddenin elde edilmesi sağlanmıştır. Yağ eldesi ve soğuk pres sürecinde de son ürün kalitesi konusunda uluslararası platformda güvenilir sonuçlar vermesi ile bilinen DeSmet, Westfalia, Tokul Markalı ekipmanlar ile çalışılmıştır. Soğuk Pres Makinelerinde 8 mm başlıklar kullanılmış, makine devir hızı 17 rpm olarak sabitlenerek, işlem sıcaklığının artmaması sağlanarak tohumdan çörek otu tohumu yağı eldesi prosesi optimize edilmiştir.

Tohumdan ayrıştırılan yağ, karıştırma ve dinlendirme tanklarına alınmıştır. Ürün özelliklerine bağlı olarak dinlendirme süresi değişen yağlarda bu aşamada yağ asit bileşimi belirlenir ve fizikokimyasal analizler gerçekleştirilir. Uygun özelliklerde yağ bileşenlerine sahip olan ürün filtrasyon aşamasından sonra son ürün depolama tanklarına sevk edilir. Ürün özelliklerini koruyacak amber renkli cam ambalajlara ve ışık geçirmeyen ambalaj malzemelerine dolumu gerçekleştirilen ürünler hava ile teması engellenecek şekilde kapatılır ve etiketlenir. Üretim tarihi/son kullanma tarihi ve seri no bilgileri verilen ürünler sekonder ambalajlamadan sonra depolanır ve sevk edilir. Bu süreç Şekil 3.1 ‘de özetlenmiştir.




**Şekil 3.1.** Çörek otu tohumundan yağ eldesi proses iş akış şeması




**Şekil 3.2.** Çörek otu tohumu yağı sıvı ürün dolum proses iş akış şeması

### 3.2.2. Yumuşak jelatin kapsül formulasyonlarının oluşturulması

Tipik bir soft jelatin kapsül formülasyonunda bulunan bileşenler; jelatin, gliserin, su, koruyucu maddeler, renklendiriciler, opaklaştırıcılar, aroma vericiler olarak sıralanabilmektedir.

Çörek otu tohumu yağı kullanılarak geliştirilen yumuşak kapsüllerin jelatin materyallerinde herhangi bir renklendirici madde kullanımı, yağın kendine özgü sarı rengini gözlemleme imkanını ortadan kaldıracağı için kullanılmamıştır. Aynı şekilde ürün özelliklerini maskeleyeceği ve son ürün özelliklerini de etkileyeceği için herhangi bir aroma maddesinin kullanımına da yer verilmemiştir.

Yumuşak kapsül jelatin materyallerinin hazırlanmasında izlenen yöntem şu şekilde açıklanabilir: Sıcaklığı optimize edilmiş saf su, materyalin akışkan hale gelmesini sağlayacak gliserin ve ardından granül jelatin karışım tankında homojenize edilmektedir. Burada kullanılan gliserin, su ve jelatin miktarları kapsül içinde kullanılacak ürün, pH ve nem gibi çevre şartları göz önünde bulundurularak, farklı denemeler sonucunda belirlenmektedir. Gliserin ve jelatinin kuru ağırlığının oranı da jelatin kapsülün sertliğini belirleyeceği için dikkat edilen diğer bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Denemelerde kullanılacak su ve jelatin oranları farklı literatürlerden elde edilen bilgiler ışığında incelenerek soğuk pres çörek otu tohumu yağı ile uyum sağlayacak en uygun oran tercih edilmektedir (Şekil 3.2).

#### 3.2.2.1. Yumuşak jelatin kapsülü oluşturan formülasyonunun belirlenmesi

Yumuşak jelatin kapsülün oluşturulması için başlıca bileşenler jelatin, saf su ve gliserindir. Bu bileşenler dışında kapsül formülasyonlarında koruyucu ve stabilite sağlayıcı etkiye sahip kimyasallar, ürün kullanım amacı ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak çeşitli renklendirici maddeler kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında yumuşak kapsülü oluşturan jelatin materyalinin hazırlanması için saf su, gliserin ve jelatin kullanılmıştır.

Yumuşak jelatin formülasyonu geliştirilirken Çizelge 3.7'de verilen üretim parametreleri sabit tutulurken, aynı çizelgede verilen farklı yüzde oranlarında saf su, gliserin ve jelatin oranlarının denendiği üç formülasyon üzerinde çalışılmıştır. Çalışmanın bu basamağında hazırlanan jelatin çözeltilerinin deneme üretimleri esnasında optimum parametreleri sağlayacak formülasyon olması hedeflenmiştir.

Denemelerin ilk aşamasında formülasyonda yer alan saf su 70-75 $^0$C sıcaklıklara kadar ısıtılarak jelatin hazırlama reaktörüne alınır (Şekil 3.3). Ardından saf suya gliserin ilave edilerek 30 rpm karıştırma hızı ile homojen bir karışım elde edilene kadar 10 dakika boyunca karıştırılır. Daha sonra saf su ve gliserin karışımının bulunduğu reaktöre toz jelatin ilave edilerek 30 rpm hız ile 50 dk daha karıştırılır. Reaktörde homojen bir hâl alan ve kahverengimsi jelatin çözeltisinde proses esnasında hava kabarcıklarının oluşmaması dikkat edilmesi gereken en önemli noktalardan biridir. Bu nedenle hava kabarcıklarının oluşması riskine karşı reaktörde bulunan jelatin çözeltisine 665 mm/Hg basınçta yaklaşık 50 dakika vakum uygulanır (Şekil 3.2).

Proses sonucunda elde edilen jelatin çözeltisinin kullanılan hammaddeye bağlı olarak 60 $^0$C sıcaklıkta açıktan koyuya bal renginde, viskoz, berrak, homojen, yırtılmayan, kopmayan ve hava kabarcıkları içermeyen bir yapıya sahip olması beklenir. Enkapsülasyon prosesi esnasında ve öncesinde jelatinin aktarma tankında (Şekil 3.4) yaklaşık 60 $^0$C düzeyinde tutulması; jelatininin kurumadan ve viskoz kıvamını yitirip katılaşmadan istenilen formda şekillendirilebilmesi ve ürün özelliklerinin istenilen spesifikasyonlarda oluşturulması açısından oldukça önemlidir.

**Çizelge 3.7.** Jelatin formülasyonu deneme parametreleri

| **İşlem** | **Formülasyon Denemeleri (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **1** | **2** | **3** |
| Saf su | 40 | 37 | 36 |
| Gliserin | 20 | 20 | 28 |
| Jelatin 200 bloom | 40 | 44 | 36 |
| **Jelatin Hazırlama Reaktörü Çalışma Parametreleri** | | | |
| | **Birim** | **Norm** | |
| Karıştırma hızı | rpm | 30±2 | |
| Karıştırma süresi | dakika | 50±10 | |
| Reaktör termostat sıcaklığı (Set edilen değer) | $^O$C | 60±2 | |
| Reaktör termostat sıcaklığı | $^O$C | 55-85 | |
| Karıştırma süresi tamamlanınca, jelatinin karıştırma esnasında oluşturduğu köpük giderilene kadar kazana vakum uygulanır. | | | |
| Vakum şiddeti | mm/Hg | 665±3 | |
| Vakum süresi | dakika | 50±10 | |

Elde edilen jelatinin yumuşak kapsül üretim makinesinde kullanımının uygunluğuna Çizelge 3.8.' de verilen parametreler değerlendirilerek karar verilmiştir.

**Çizelge 3.8**. Jelatin kalite parametreleri

| | |
|---|---|
| Viskozite | Akışkan |
| Hava kabarcığı | Görülmedi |
| Kopma | Görülmedi |
| Yırtılma | Görülmedi |
| Tekdüzelik | Uygun |
| Kalınlık | 30-32 x $10^{-3}$ inch |



**Şekil 3.3.** Jelatin hazırlama tankları



**Şekil 3.4.** Jelatin aktarma tankları

### 3.2.3. Soğuk pres çörek otu tohumu yağı yumuşak jelatin kapsül çalışmaları

Jelatin hammaddesinin görünüş, dağılma zamanı gibi parametreleri değerlendirilerek optik kontrolleri de proses esnasında gerçekleştirilmiş ve üretim hattı bu verilere göre düzenlenmiştir.

Yumuşak kapsül ürün tasarımı esnasında; her bir kapsülün aynı standartlarda olmasını sağlamak oldukça önemlidir. Bu amaç ile yüksek kapasiteli karıştırıcılara sahip proses tankı kullanılmaktadır. Tasarımın asıl basamağı olan enkapsülasyon aşaması; jelatin ve dolgu materyalinin yumuşak kapsül makinesinde soft jele dönüştürülmesini içermektedir (Şekil 3.5).

Enkapsülasyon için kullanılan hammadde çörek otu tohumu yağı içine koruyucu amaçlı dl-alfa tokoferol ve dl-alfa tokoferil asetat ilave edilmiş olup, hammadde hazırlama tankında homojen bir karışım elde edilene değin karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).

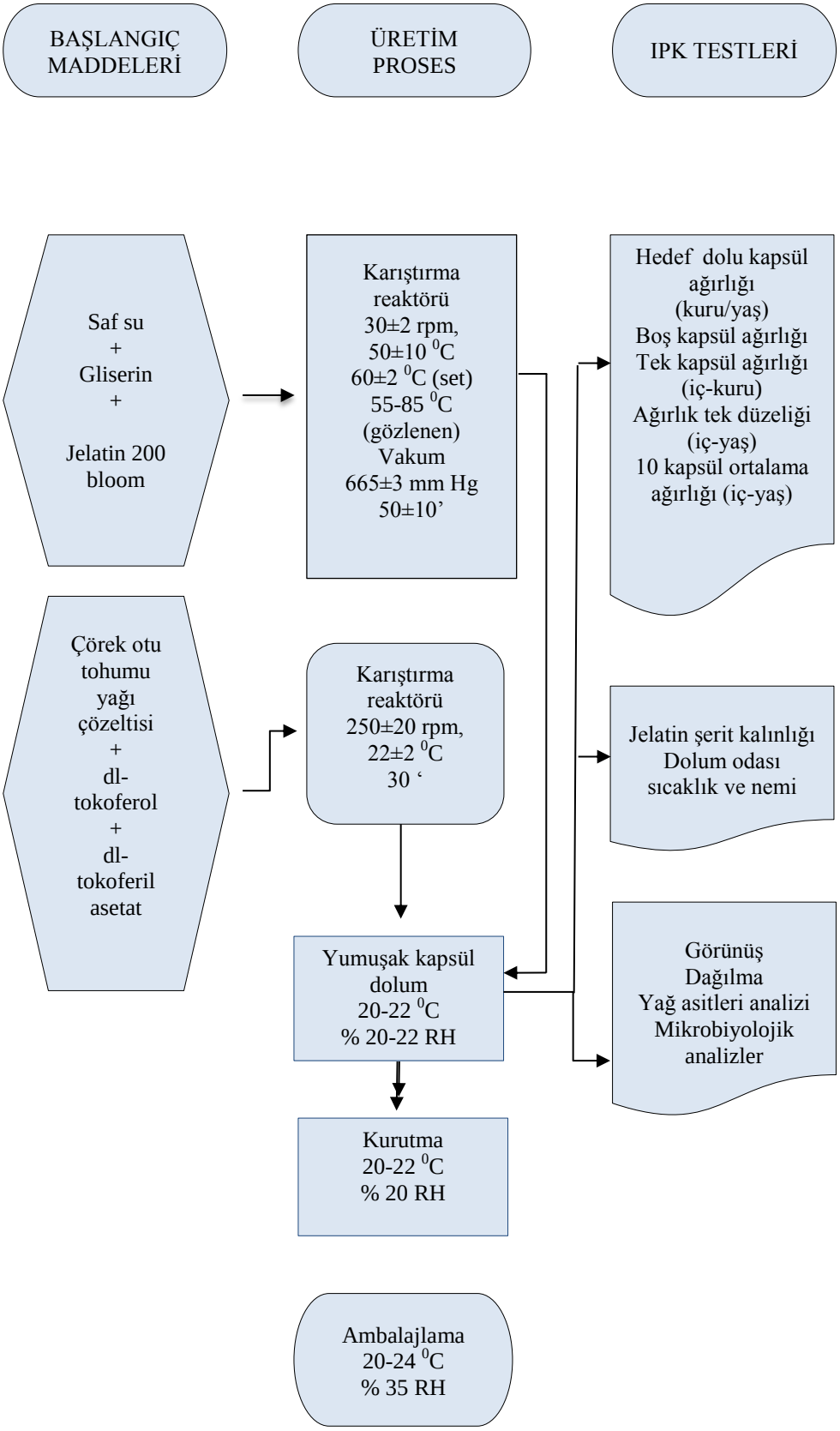
Cihazın optimum çalışma koşullarını sağlaması için (Çizelge 3.8) farklı parametre hazırlanan ve sonrasında aktarma tanklarına (Şekil 3.4, Şekil 3.7) alınan jelatin ve hammadde çözeltilerinin SKY- SOFTGEL markalı üretim ekipmanlarında yumuşak kapsül olarak üretimi sağlanmıştır (Şekil 3.8). Üretimin ardından kurutma tamburlarında (Şekil 3.9) kurutulan yumuşak kapsüller optik kontrol hatlarında (Şekil

3.10) son kontrollere tabi tutulmuştur. Üretimi tamamlanan yumuşak kapsüller Uhlmann markalı blisterleme makinelerinde primer olarak ambalajlanmıştır (Şekil 3.11) Yumuşak kapsül dolum prosesi Şekil 3.5'de genel hatları ile verilmiştir. Üretim hattı GMP normlarında çalışmak üzere tasarlanmış, sistemin dizayn kalifikasyonu (DQ), kurulum kalifikasyonu (IQ), proses kalifikasyonu (OQ) ve performans kalifikasyonunun (PQ) gerçekleştirileceği seri üretimler yönlendirilmiştir.

Proses esnasında kontrolleri yapılan ve optimizasyonları sağlanan ana noktalar; görünüş, tek kapsül ağırlığı, ağırlık tekdüzeliği, 10 kapsül ortalama ağırlığı, dağılma ve jelatin şerit kalınlığı olup denemeler sonucunda optimum sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 3.9).

**Çizelge 3.9.** Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül dolum parametreleri

| **Proses** | **Test** | **Kabul Kriteri** |
|---|---|---|
| Kapsül Dolum Genel Numuneler (Hedef/Ortalama Hız) | Dolum odası nemi | < %40 RH |
| | Görünüş | Şeffaf , sarımsı – kahverengi, oval yumuşak jelatin kapsül |
| | Tek kapsül ağırlığı | 900.0 mg±%10 (810.0 mg- 990,0 mg) |
| | Ağırlık tekdüzeliği | Min. 18/20 900.0mg±%10.0 (810.0 mg- 990.0 mg) |
| | | 20/20 900 mg±%20 (720.0 mg- 1080.0 mg) |
| | 10 kapsül ortalama ağırlığı | 900.0 mg±%3.0 (873.0 mg-927.0 mg) |
| | Dağılma Süresi | En çok 30 dakika(37±2 $^{0}$C) |
| | Jelatin şerit kalınlığı | 30- 32 x $10^{-3}$ inch |




**Şekil 3.5.** Yumuşak jelatin kapsül dolum proses akış şeması



**Şekil 3.6.** Hammadde hazırlama tankı



**Şekil 3.7.** Hammadde aktarma tankı



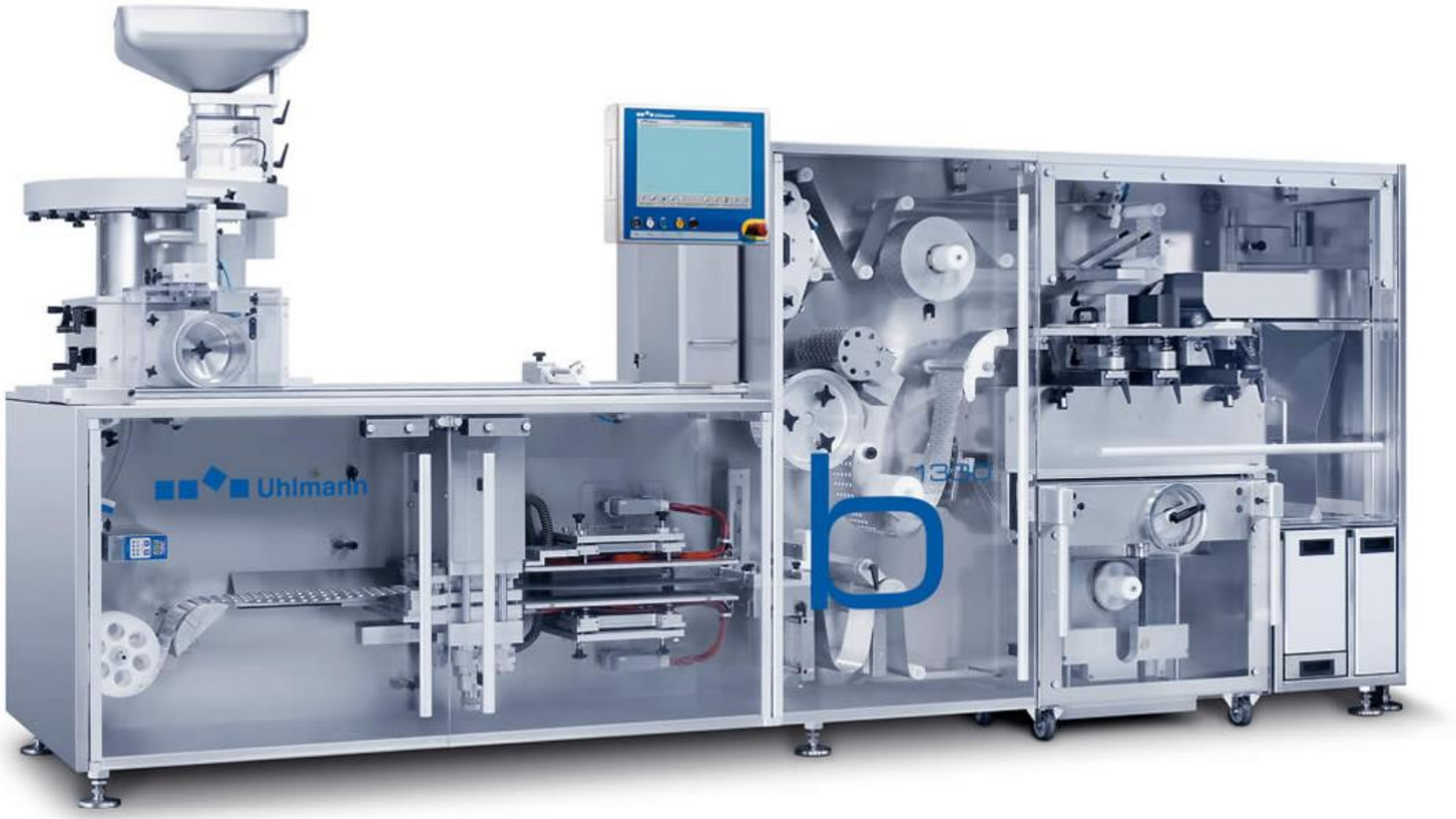
**Şekil 3.8.** Yumuşak kapsül enkapsülasyon makinesi



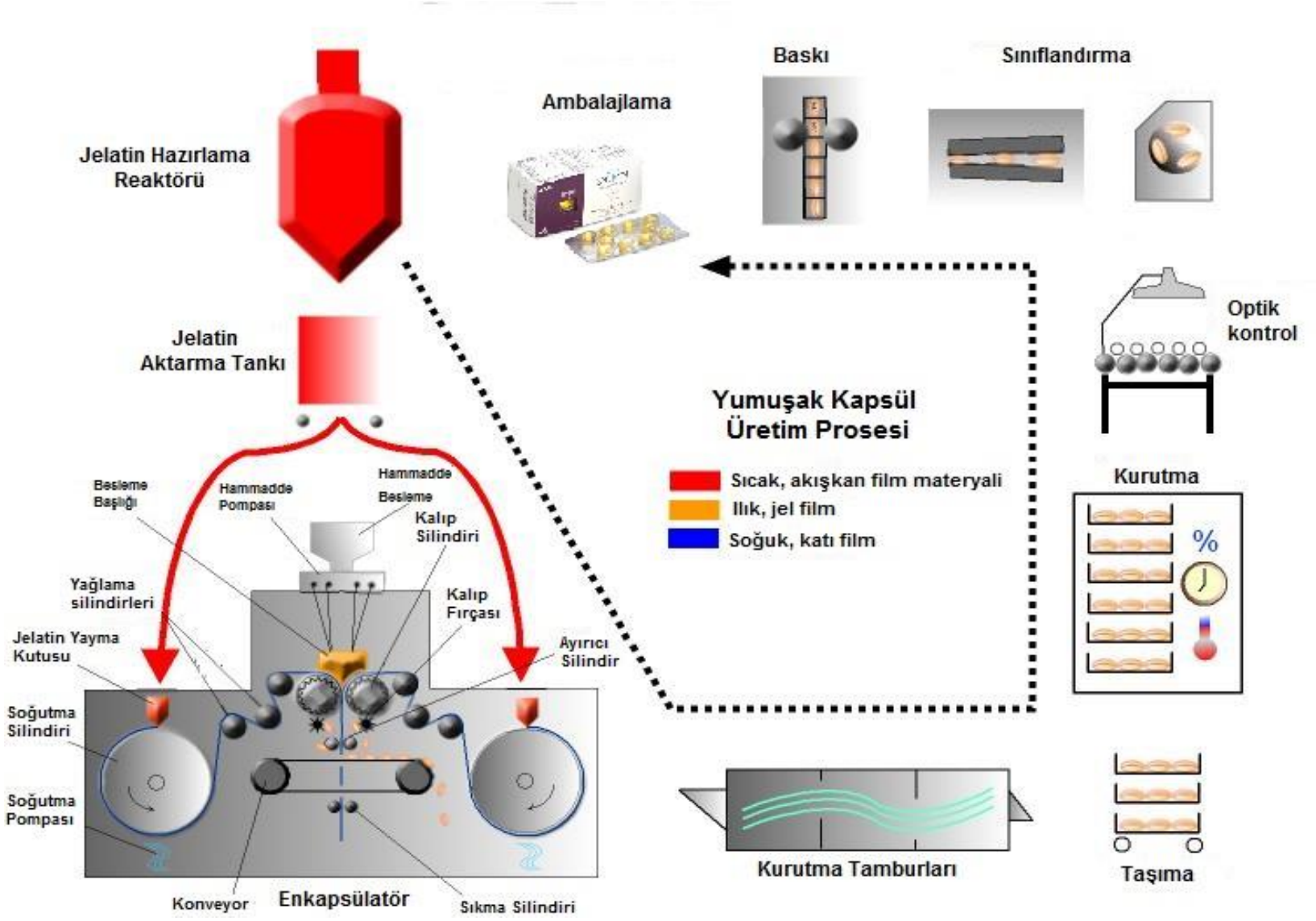
**Şekil 3.9**. Kurutma tamburları



**Şekil 3.10.** Optik kontrol hattı




**Şekil 3.11.** Blisterleme makinesi




**Şekil 3.12.** Yumuşak Kapsül Üretim Prosesi

### 3.2.4. Analiz metotları

#### 3.2.4.1. Çörek otu tohumunda gerçekleştirilen analizler

Çörek otu tohumunda gerçekleştirilen analizler ve kullanılan metotlar Çizelge 3.10.'da verilmiştir.

**Çizelge 3.10.** Hammaddede gerçekleştirilen analizler

| Analiz | | Metot | Cihaz |
|---|---|---|---|
| 1 | Pestisit | DFG S 19 | GC-MSD/GC-ECD/ GC-NPD/LC MS/MS |
| 2 | Ağır metal | İşletme içi metot-11 | ICP-MS |
| 3 | Aflatoksin | AOAC 999.07 | IAC-HPLC-FLD |
| 4 | Küf maya | TS 7698 | |
| 5 | *Escherichia coli* | EN ISO 16649-1/2 | |
| 6 | *Salmonella* | TS EN ISO 6579 | |
| 7 | Toplam Bakteri | EN ISO 4833 | |
| 8 | EBDC | Development of automated head space gas chromatography determination of dithiocarbamates in plant matrixes | GC MSD-HEADSPACE |
| 9 | PCB Analizi | DFG S-19 | GC-MSD/GC-ECD/GC-NPD |
| 10 | Quechers ile kalıntı pestisit analizi | Quechers /AOAC 2007.01 | LC MS/MS |

#### 3.2.4.2. Çörek otu tohumu yağında gerçekleştirilen analizler

Çörek otu tohumu yağında gerçekleştirilen analizlerin yanısıra aşağıda belirtilen analizler de Helvacızade Gıda İlaç ve Kimya San. ve Tic. A.Ş. laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

##### 3.2.4.2.1.Peroksit sayısı tayini (TS - 894)

Peroksit sayısı yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin milieşdeğer gram olarak miktarıdır ve kaliteyi belirten parametrelerden biridir.

**Cihaz ve Malzemeler**

Cam kapaklı şişeler

Hassas terazi

Mezür

Pipet

**Reaktifler**

Sodyum tiyosülfat doymuş çözeltisi ($Na_2 S_2 O_3$) 0.002 N

Doymuş potasyum iyodür çözeltisi (KI)

Nişasta çözeltisi %'l'ik

Kloroform

Asetik asit

Saf su

**Analiz**

Beklenen peroksit değerine göre Çizelge 3.11 baz alınarak numune tartılır, numuneye 10 mL kloroform ilave edilerek iyice çalkalanır. Numuneye sıra ile 15 mL asetik asit, 1 mL doymuş KI ilave edilerek ağzı kapatılıp ve 1 dakika çalkalanır. 5 dakika karanlıkta bekletilmesinin ardından 75 mL saf su ilave edilerek Çizelge 3.10'a göre 0.002 N veya 0.001 N $Na_2 S_2 O_3$ ile titre edilir.

**Çizelge 3.11.** Peroksit değeri tayini sabitleri tablosu

| Beklenen peroksit sayısı | Alınacak numune miktarı (g) | Titre edilecek $Na_2S_2O_3$ normalitesi | Peroksit sayısı hesaplama formülü |
|---|---|---|---|
| 5 e kadar | 2.0 | 0.002 N | PS=V / M x 2 * |
| 5 - 10 | 1.6 | | |
| 11 - 15 | 1.4 | | |
| 16 - 20 | 1.2 | 0.001 N | PS=V / M x 10 * |
| 21 - 30 | 1.0 | | |

**Hesaplama**

Peroksit Sayısı : V/ M x 2 * (0.002 N $Na_2 S_2 O_3$ çözeltisi ile titre edilmiş ise)

Peroksit Sayısı : V/M x 10 * (0.001 N $Na_2 S_2 O_3$ çözeltisi ile titre edilmiş ise)

V: Titrasyonda harcanan 0.002 N veya 0.001 N $Na_2 S_2 O_3$ çözeltisi

M: Numune ağırlığı

### 3.2.4.2.2. Serbest yağ asitleri tayini (TS-894)

Yağlarda bulunan yağ asitleri toplamı oleik asit yüzdesi olarak belirtildiği gibi, bir gram yağın nötrleştirilmesi için gerekli olan potasyum hidroksitin mg olarak ağırlığı şeklinde de belirtilebilmektedir. Buna asit sayısı denmekte ve bu analiz yağ kalitesini belirlemek için kullanılmaktadır.

**Reaktifler**

0.1 N KOH

Fenol fitaleyn indikatörü (Etanol ile hazırlanmış) %1 lik

Etil alkol %95'lik

**Malzemeler**

Erlen 250-400 mL kapasiteli

Büret 50 mL kapasiteli

**Analiz**

5-10 g numune 0.01 g duyarlıkta tartılarak, numune 50 veya 150 mL etilalkol-dietileter karışımı ile çözülür. 3-4 damla fenol fitaleyn damlatılmasının ardından 0.1 N etanollü KOH ile renk pembe oluncaya kadar titre edilmekte ve harcanan 0.1 N etanollü KOH miktarı kaydedilir.

**Hesaplama**

Serbest Yağ Asitleri = (V x 2.8)/ M (%oleik asit cinsinden)

Asit Sayısı = (V x 5.6) /M mg KOH

V : Harcanan 0.1 N etanollü KOH hacmi (mL)

M : Numune ağırlığı

**3.2.4.2.3. Sabun miktarı tayini (TS - 894)**

Yağlarda çözünmüş sabunun sodyum oleat olarak miktarı tanımlanmaktadır.

**Cihaz ve malzemeler**

Deney tüpleri

Mikro büret veya pipet 5 mL

**Reaktifler**

Aseton %2 oranında destile su katılmış

HCl 0.01 N Ayarlı

Bromfenol mavisi (%95 lik etanol ile hazırlanmış)

NaOH çözeltisi 0.01 N

Nötrleştirilmiş aseton çözeltisi (deney çözeltisi)

**Deneyin yapılışı**

40 g kadar numune 0.01 duyarlıkta tartılarak, 1 mL su katılmasının ardından, su banyosunda hafifçe ısıtılmakta ve kuvvetlice çalkalanmaktadır. 50 mL deney çözeltisi (nötrleştirilmiş aseton) ilave edilip su banyosunda hafifçe ısıtılmasının ardından iyice çalkalanarak, numunede faz oluşup oluşmadığı kontrol edilir. Sabun varsa üsteki faz yeşil veya mavi bir renk almaktadır. Isıtma işlemi ile beraber üstteki faz sarı oluncaya kadar numunenin 0.01 N HCI ile titre HCI ile titrasyonuna devam edilmektedir.

**Hesaplama**

Sabun Miktarı = V /M x 0.304

(% Sodyum oleat olarak)

V: 0.01 N HCI çözeltisi miktarı

M: Numune Ağırlığı

**3.2.4.2.4. % Nem ve uçucu madde tayini - Etüv metodu**

Yağda bulunabilecek ve 103±2 $^0$C'da uçabilen nem ve uçucu maddelerin tayin edilmesidir.

**Cihaz ve malzemeler**

Petri kutusu

Desikatör

Etüv 105 $^0$C'a ayarlanabilen

**Reaktifler**

Deney için herhangi bir reaktif kullanılmamaktadır.

**Analiz**

Rutubet kabı (petri kutusu) iyice temizlenip etüvde 105 $^0$C 'a kurutulmasının ardından desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulmaktadır. Numune kabına bir miktar numune tartılıp kaydedilmekte, etüvde 105 $^0$C 'da 2 saat bekletilmekte, daha sonra desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulup tartılmaktadır. Numune tekrar etüve konarak 30 dakika daha bekletilmektedir. Çıkarılan numune soğutularak yeniden tartılır ve iki tartım arasındaki fark %0.05 'e düşene kadar işlem tekrar edilir.

**Hesaplama**

% Nem = ($M_1$/ $M_2$) x 100

$M_1$ : İki tartım arasındaki fark

$M_2$ : Numunenin başlangıçtaki ağırlığı

### 3.2.4.2.5. Sabunlaşmayan madde tayini (TS - 894)

Sabunlaşmayan madde; yağda çözünmüş halde olup sabunlaşmadan sonra suda çözünmeyen fakat tayinde kullanılan çözücüde çözünen maddeler toplamı olarak tanımlanmaktadır.

**Cihaz ve malzemeler**

Cam balon 150 mL, geri soğutucuya bağlanabilen tipte ağzı rodajlı

Geri soğutucu

Balon 200 mL

Ayırma hunisi

Etüv, 105 $^0$C'a ayarlanabilen

**Reaktifler**

Etanol %95 lik

Potasyum hidroksit (KOH) 0.5 N

Etanollü Potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi 2 N

Etanollü KOH çözeltisi 0.1 N

Dietileter

HCI çözeltisi 1 N

Aseton

%1 fenol fitaleyn

**Analiz**

5 g numune tartılır sonra 50 mL, 2 N etanollü KOH ilave edilerek geri soğutucuya bağlanılarak 1 saat süre ile kaynatılır. Sonra geri soğutucudan ayrılır. Numune ayırma hunisine aktarılarak, balon 100 mL su ile iyice yıkanır. Balon ve ayırma hunisi 100 mL dietileter ile yıkanarak ayırma hunisine aktarılır. Ayırma hunisinin ağzının kapatılarak iyice çalkalanmasının ardından ayırma hunisi 1 veya 2 dakika bekletilir ve durumu gözlenir. Alkalilik nedeniyle emülsiyon varsa birkaç damla 1 N HCI çözeltisi ilave

edilerek sulu ve etanollü sabun fazı deneyde kullanılan balona aktarılır (alt faz). Eter fazı ise (eter ekstraktı) içinde 40 mL su bulunan ikinci bir ayırma hunisine alınarak (üst faz) balona aktarılan sulu ve etanollü sabun fazı her defasında 100 mL dietil eter kullanılarak 2 kez daha ekstrakte edilir. Ayrılan fazlardan eter fazı (eter ekstraktı) ikinci ayırma hunisine aktarılır (üst faz). Toplanan eter fazı (eter ekstraktı)'ında çözünmeyen katı madde varsa dikkatlice süzülür. Süzüntü ayırma hunisine tekrar aktarılır. Fazlarına bakılarak yıkama çözeltisi alt taraftan atılır. Ayırma hunisi 2 defa 40 mL su ile yıkanır, sonra sırayla 40 mL 0.5 N KOH ve 40 mL su ile yıkamanın ardından tekrar 40 mL 0.5 N KOH ve 40 mL su ile yıkama yapılır. Yıkama, fenol fitaleyn ile kontrol edilerek, pembe renk görülene dek su ile yıkamaya devam edilmelidir. Ayırma hunisindeki eter fazı (üst faz) darası alınmış 200 mL lik bir balona aktarılır. Balondaki eter fazına 6 mL aseton ilave edilerek su banyosuna yatay olarak konarak çözücülerin buharlaştırılması sağlanıp, balon yatay konumda etüve konurak 100 $^{0}$C'da 15 dakika bekletilerek kurutulur. Desikatörde soğutma ve tartımın ardından iki tartım arasındaki fark %0.1'den az oluncaya kadar işleme devam edilir.

**Hesaplama**

Sabunlaşmayan Madde (%) = ($M_1$ / M)x100

$M_1$ : Kalıntının Ağırlığı (g)

M : Numune Ağırlığı (g)

### 3.2.4.2.6. Sabunlaşma sayısı tayini (TS - 894)

Sabunlaşma sayısı; 1 g yağın sabunlaşması için gerekli olan KOH'un mg olarak ağırlığı olarak tanımlanmaktadır.

**Cihaz ve malzemeler**

Elektrikli ısıtıcı

Cam Balon 200 mL, rodajlı, geri soğutucuya bağlanabilen, alkaliye dayanıklı

Geri soğutucu

Pipet 25 mL

Büret 50 mL

**Reaktifler**

Fenol fitaleyn çözeltisi (Etanolde hazırlanmış), %1'lik

Etanollü KOH çözeltisi, 0.5 N

HCI çözeltisi, 0.5 N

**Analiz**

2 g numune 0.001 g duyarlılıkla tartılır sonra, 25 ml 0.5 N etanollü KOH ilave edilir. Balon geri soğutucuya bağlanıp zaman zaman da karıştırılarak yavaş bir şekilde 60 dakika süre ile kaynatılır. Alkolün yoğunlaşması tamamlanana kadar beklenir. Ardından 4 - 5 damla fenol fitaleyn çözeltisi ilave edilip 0.5 N HCI ile renksiz nokta yakalanıncaya kadar titre edilmektedir. Aynı işlemler bir de şahit deneme için yapılır.

**Hesaplama**

Hesaplama: Sabunlaşma Sayısı = $[(V_2 - V_1)/M]$ x 28.05 mg KOH / g yağ

V1 : Örnek için harcanan 0.5 N HCI çözeltisi (mL)

V2 : Şahit için harcanan 0.5 N HCI çözeltisi (mL)

M: Numune ağırlığı (2 g)

**3.2.4.2.7. Yağ asidi bileşimi**

Yağ asidi bileşimi tayini ile bitkisel yağlarda 10 ile 24 karbon arası yağ asitleri tespit edilmektedir. Bitkisel yağların yağ asit bileşimlerinin GC ile belirlenmesi amacı ile metot geliştirilerek analizler tamamlanmış ve metot validasyonları aşağıda detayları verilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

**Amaç ve prensip**

Bu çalışmada kalite kontrol örneği olarak seçilen bitkisel yağın içerdiği yağ asitleri kompozisyonu bileşiminden palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, araşidik asit, behenik asit, eikosenoik asit parametreleri seçilerek geliştirilen GC metodu ve bu metodun geçerliliğini kanıtlamak için yapılan validasyon çalışmaları tanımlanmaktadır.

Bu metoda aşağıdaki validasyon parametrelerinden tümünü uygulamak yağ asitleri bileşimi analizi için mümkün değildir. Yüzde dağılım üzerinden hesaplamalar yapıldığı için ve geri kazanım için standart karışım çözeltisinden ya da herhangi bir yağ asidi standardından katım yapılması değerlendirilen 37 tane yağ asidinin yüzde olarak miktarlarının bileşimi üzerinde tamamı ile değişikliğe yol açacağından,

Bu amaçla metodun,

1. Doğrusallık / Linearity
2. Ekstraksiyon Tekrarlanabilirliği (Geri Kazanım)
3. Belirtme ve Tayin Sınırı (LOD/LOQ)
4. Kesinlik / Precision

   Enjeksiyon Tekrarlanabilirliği
5. Secicilik / Specificity
6. Yöntem Dayanıklılığı / Robustness

Kriterlerinden uygun olanlar incelenerek elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Ayrıca tekrarlanabilirlik ( r ) ve uyarlık ( R ) kriterleri TSE 15304 e göre incelenerek elde edilen sonuçlar standartta verilen tablo değerlerine göre değerlendirilmiştir.

**Kullanılan Cihaz(lar) / Ekipman(lar)**

Calışmalar HP-AGILENT /6890 cihazı ile yapılmıştır.

**Reaktifler ve Materyaller**

- Potasyum hidroksit, 2 M metanolde
- 2,2,4-trimetilpentan, (İzooktan)
- Terazi (0.001 g duyarlıkta tartım yapabilen)
- Vorteks
- Tüpler, cam kapaklı

**Uygulama**

**1. Ön hazırlık ve işlemler**

**2 N Metanolik Potasyum Hidroksit Çözeltisi Hazırlama Prosedürü**

2 N çözelti 100 mL hazırlanacak şekilde %85'lik potasyum hidroksitten 13,2 g balon jojeye tartılır. Üzerine 100 mL metanol ilave edilir. Homojen bir karışım oluncaya kadar ultrasonik banyoda karıştırılır.

**2. Analiz süreci / uygulama**

• Yağ örneği 10 mg olarak tüp içine tartılır ve üzerine 2 mL potasyum hidroksit ilave edilerek vortekslenir.

• Potasyum hidroksit ilave edilen örnek üzerine 2 mL izooktan katılarak tekrardan vortekslenir.

• Vortekslenen örnek santrifuj edilir.

• Alınan ö rnek GC-FID sistemine enjeksiyonu yapılır.

**2.1. Cihaz ve parametreleri**

| | | |
|---|---|---|
| Cihaz | : | Gaz kromatografi cihazı – Agilent 6890 GC |
| Kromatografik Koşullar | | |
| Kolon | : | SUPELCO SP 2560 (100 m*0,25mm*0,20µm) |
| Fırın Sıcaklık Programı | : | 140 °C'a 5dk bekle, 4 °C lık artışla 240 °C'a çık, 20 dk bekle. |
| Enjeksiyon Hacmi | : | 1 µm |
| Akış Hızı | : | 1.1 mL/dk |
| Dedektör | : | FID |
| Taşıyıcı Gaz | : | Helyum |
| Kromatogram kayıt süresi | : | 50 dk |

**3. Çalışma sonuçları ve değerlendirmeler**

**3.1. Doğrusallık**

Yüzde dağılım üzerinden değerlendirme yapıldığı icin doğrusallık kriteri değerlendirilemez.

**3.2. Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği ( Geri kazanım)**

Tekrar elde edilebilirlik kriteri için eşdeğer miktarda her gün 2 adet ve birbirinden bağımsız olarak numune çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere cevap teşkil eden sonuçlar kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.11 'de sunulmuştur.

**Çizelge 3.11.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, ekstraksiyon tekrarlanabilirliği sonuçları

**A.** Araşidik asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon** | 0.37 | 0.38 | 0.48 | 0.46 | 0.45 | 0.42 | 0.44 | 0.43 | 0.44 | 0.46 |
| **Enjeksiyon** | 0.42 | 0.33 | 0.46 | 0.42 | 0.43 | 0.44 | 0.44 | 0.45 | 0.44 | 0.46 |
| **Ortalama** | 0.40 | 0.36 | 0.47 | 0.44 | 0.44 | 0.43 | 0.44 | 0.44 | 0.44 | 0.46 |
| **Std. Sapma** | 0.03 | 0.04 | 0.01 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.00 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.04 | 0.04 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.03 | 0.03 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | 0.05 | |
| **Hesaplanan miktar** | 0.43 | 0.05/0.43=0.12 | |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | 2 | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.12*2=0.24 | 0.24*0.43=0.10 | |
| **Rapor sonucu** | | 0.43±0.10 | |

**B.** Behenik asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon** | 0.167 | 0.168 | 0.235 | 0.232 | 0.222 | 0.189 | 0.214 | 0.202 | 0.196 | 0.221 |
| **Enjeksiyon** | 0.183 | 0.131 | 0.224 | 0.199 | 0.198 | 0.205 | 0.21 | 0.217 | 0.207 | 0.223 |
| **Ortalama** | 0.18 | 0.15 | 0.23 | 0.22 | 0.21 | 0.20 | 0.21 | 0.21 | 0.20 | 0.22 |
| **Std. Sapma** | 0.01 | 0.03 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.00 | 0.01 | 0.01 | 0.00 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.03 | 0.03 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.02 | 0.02 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.04 |
| **Hesaplanan miktar** | 0.20 | | 0.04/0.20=0.20 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.20*2=0.40 | | 0.40*0.20=0.08 |
| **Rapor sonucu** | | | 0.20±0.08 |

**C.** Eikosenoik Asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enjeksiyon** | 0.351 | 0.28 | 0.418 | 0.399 | 0.407 | 0.381 | 0.397 | 0.393 | 0.395 | 0.409 |
| **2. Enjeksiyon** | 0.299 | 0.253 | 0.4 | 0.377 | 0.387 | 0.393 | 0.402 | 0.405 | 0.404 | 0.412 |
| **Ortalama** | 0.33 | 0.27 | 0.41 | 0.39 | 0.40 | 0.39 | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.41 |
| **Std. Sapma** | 0.04 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.01 | 0.01 | 0.00 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.04 | 0.04 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.05 | 0.05 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.06 |
| **Hesaplanan miktar** | 0.38 | | 0.06/0.38=0.158 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.158*2=0.316 | | 0.316*0.38=0.12 |
| **Rapor sonucu** | | | 0.38±0.12 |

**D.** Linoleik Asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enjeksiyon** | 20.90 | 21.01 | 21.34 | 21.55 | 21.60 | 21.58 | 21.58 | 21.53 | 21.62 | 21.37 |
| **2. Enjeksiyon** | 21.17 | 20.96 | 21.23 | 21.51 | 21.48 | 21.59 | 21.61 | 21.51 | 21.69 | 21.35 |
| **Ortalama** | 21.03 | 20.98 | 21.29 | 21.53 | 21.54 | 21.58 | 21.60 | 21.52 | 21.66 | 21.36 |
| **Std. Sapma** | 0.19 | 0.03 | 0.08 | 0.03 | 0.08 | 0.00 | 0.02 | 0.01 | 0.05 | 0.01 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.19 | 0.19 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.24 | 0.24 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.31 |
| **Hesaplanan miktar** | 21.41 | | 0.31/21.41=0.014 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.014*2=0.029 | | 0.029*21.41=0.62 |
| **Rapor sonucu** | | | 21.41±0.62 |

**E.** Linolenik Asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enjeksiyon** | 2.17 | 2.29 | 2.21 | 2.22 | 2.26 | 2.24 | 2.25 | 2.24 | 2.27 | 2.24 |
| **2. Enjeksiyon** | 2.30 | 2.30 | 2.19 | 2.19 | 2.25 | 2.25 | 2.26 | 2.24 | 2.29 | 2.24 |
| **Ortalama** | 2.24 | 2.29 | 2.20 | 2.20 | 2.25 | 2.25 | 2.26 | 2.24 | 2.28 | 2.23 |
| **Std. Sapma** | 0.09 | 0.01 | 0.01 | 0.03 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.01 | 0.01 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.09 | 0.09 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.03 | 0.03 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.10 |
| **Hesaplanan miktar** | 0.24 | | 0.10/2.24=0.044 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.044*2=0.088 | | 0.088*2.24=0.044 |
| **Rapor sonucu** | | | 2.24±0.19 |

**F.** Oleik asit

| **Gün** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enjeksiyon** | 57.42 | 57.49 | 58.54 | 58.51 | 58.26 | 58.13 | 58.01 | 58.04 | 58.27 | 58.47 |
| **2.Enjeksiyon** | 57.97 | 56.78 | 58.29 | 58.13 | 57.77 | 58.09 | 58.01 | 58.19 | 57.99 | 58.55 |
| **Ortalama** | 57.70 | 57.13 | 58.41 | 58.32 | 58.02 | 58.11 | 58.01 | 58.11 | 58.13 | 58.51 |
| **Std. Sapma** | 0.39 | 0.50 | 0.18 | 0.27 | 0.35 | 0.03 | 0.00 | 0.10 | 0.20 | 0.06 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.50 | 0.50 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.17 | 0.17 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.52 |
| **Hesaplanan miktar** | 58.04 | | 0.52/58.04=0.009 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | 2 | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.009*2=0.018 | | 0.018*58.04=1.04 |
| **Rapor sonucu** | | | 58.04±1.04 |

**G.** Palmitik Asit

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1.Enjeksiyon** | 13.37 | 13.11 | 11.15 | 11.04 | 11.20 | 11.59 | 11.52 | 11.69 | 11.36 | 11.32 |
| **2.Enjeksiyon** | 12.29 | 14.08 | 11.54 | 11.67 | 11.92 | 11.52 | 11.54 | 11.43 | 11.48 | 11.18 |
| **Ortalama** | 12.83 | 13.60 | 11.35 | 11.36 | 11.56 | 11.55 | 11.53 | 11.56 | 11.42 | 11.25 |
| **Std. Sapma** | 0.76 | 0.68 | 0.28 | 0.45 | 0.51 | 0.05 | 0.01 | 0.18 | 0.09 | 0.10 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.76 | 0.76 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.77 | 0.77 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 1.08 |
| **Hesaplanan miktar** | 11.80 | | 1.08/11.80=0.091 |
| **K (% 95 güven sınırı) kapsama faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.091*2=0.18 | | 0.18*11.80=2.12 |
| **Rapor sonucu** | | | 11.80±2.12 |

**H.** Stearik Asit

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1.Enjeksiyon** | 3.54 | 3.60 | 3.75 | 3.68 | 3.70 | 3.64 | 3.68 | 3.65 | 3.69 | 3.70 |
| **2.Enjeksiyon** | 3.66 | 3.48 | 3.72 | 3.64 | 3.61 | 3.67 | 3.65 | 3.71 | 3.66 | 3.73 |
| **Ortalama** | 3.60 | 3.54 | 3.74 | 3.66 | 3.66 | 3.65 | 3.67 | 3.68 | 3.67 | 3.71 |
| **Std. Sapma** | 0.09 | 0.09 | 0.02 | 0.03 | 0.06 | 0.02 | 0.02 | 0.04 | 0.02 | 0.02 |

| | **DEĞER** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Enjeksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.09 | 0.09 |
| **Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği** | 1 | 0.06 | 0.06 |
| **Birleştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | | 0.10 |
| **Hesaplanan miktar** | 3.66 | | 0.10/3.66=0.027 |
| **K (% 95 güven sınırı) Kapsama Faktörü** | | | 2 |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.027*2=0.054 | | 0.054*3.66=0.2 |
| **Rapor sonucu** | | | 3.66±0.2 |

## 3.3. Belirtme ve tayin sınırı ( LOD ve LOQ)

Belirtme ve tayin sınırları Çizelge 3.12' de verilmiştir.

**Çizelge 3.12.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, belirtme ve tayin sınırları sonuçları

**A.** Araşidik asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.025 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.35 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 20.6 | mg/kg |
| LOQ | 68.6 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**B.** Behenik Asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.025 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.35 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 20.6 | mg/kg |
| LOQ | 68.6 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**C.** Eikosenoik asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.01 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.17 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 24.7 | mg/kg |
| LOQ | 82.4 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**D.** Linoleik Asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.18 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 31.7 | mg/kg |
| LOQ | 105.6 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**E.** Linolenik Asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.03 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.15 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 56.0 | mg/kg |
| LOQ | 186.7 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**F.** Oleik Asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.32 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 20.6 | mg/kg |
| LOQ | 68.8 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**G.** Palmitik Asit

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.025 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.35 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 20.6 | mg/kg |
| LOQ | 68.6 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**H. Stearik Asit**

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.33 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 100.0 | mg/kg |
| LOD | 14.6 | mg/kg |
| LOQ | 48.5 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

## 3.4. Kesinlik

### Enjeksiyon tekrarlanabilirliği

Enjeksiyon tekrarlanabilirliği icin FAME-MIX 37 standardından aynı derişimden ardışık 5 adet enjeksiyon ardışık olarak verilmiştir ve cevap teşkil eden sonuçlar kaydedilmiştir.

Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.13'de sunulmuştur.

**Çizelge 3.13.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, enjeksiyon tekrarlanabilirliği sonuçları

**A.** Araşidik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 4.27 | 29.052 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.82 | 29.058 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.59 | 29.053 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.74 | 29.054 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.65 | 29.056 |
| **Ortalama** | | 4.61 | 29.055 |
| **Std** | | 1.21 | 0.002 |
| **% RSD** | | 4.58 | 0.008 |

**B.** Behenik asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 4.56 | 31.870 |
| **Ölçüm** | 50 | 5.05 | 31.870 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.74 | 31.867 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.75 | 31.863 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.83 | 31.459 |
| **Ortalama** | | 4.79 | 31.786 |
| **Std** | | 0.18 | 0.183 |
| **% RSD** | | 3.71 | 0.575 |

**C.** Eikosenoik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 2.11 | 30.017 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.23 | 30.015 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.26 | 30.014 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.29 | 30.015 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.22 | 30.010 |
| **Ortalama** | | 2.22 | 30.014 |
| **Std** | | 0.07 | 0.003 |
| **% RSD** | | 3.08 | 0.009 |

**D.** Linoleik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 2.09 | 28.623 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.19 | 28.621 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.12 | 28.623 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.27 | 28.618 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.08 | 28.624 |
| **Ortalama** | | 2.15 | 28.622 |
| **Std** | | 0.08 | 0.002 |
| **% RSD** | | 3.71 | 0.002 |

**E.** Linolenik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 2.26 | 30.303 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.15 | 30.301 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.04 | 30.305 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.27 | 30.305 |
| **Ölçüm** | 50 | 2.22 | 30.287 |
| **Ortalama** | | 2.19 | 30.300 |
| **Std** | | 0.10 | 0.008 |
| **% RSD** | | 4.35 | 0.025 |

**F.** Oleik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 4.47 | 27.120 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.25 | 27.123 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.40 | 27.119 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.41 | 27.121 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.31 | 27.120 |
| **Ortalama** | | 4.37 | 27.121 |
| **Std** | | 0.09 | 0.002 |
| **% RSD** | | 2.00 | 0.006 |

**G.** Palmitik asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 6.45 | 22.895 |
| **Ölçüm** | 50 | 6.16 | 22.900 |
| **Ölçüm** | 50 | 6.41 | 22.898 |
| **Ölçüm** | 50 | 6.37 | 22.897 |
| **Ölçüm** | 50 | 6.51 | 22.896 |
| **Ortalama** | | 6.38 | 22.897 |
| **Std** | | 0.13 | 0.002 |
| **% RSD** | | 2.11 | 0.010 |

**H.** Stearik Asit

| ÖLÇÜM SAYISI | ZAMAN ARALIĞI (dk) | STANDART | |
|---|---|---|---|
| | | ALAN (%) | RT |
| **Ölçüm** | 50 | 4.44 | 26.085 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.29 | 26.084 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.35 | 26.081 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.38 | 26.085 |
| **Ölçüm** | 50 | 4.33 | 26.083 |
| **Ortalama** | | 4.36 | 26.084 |
| **Std** | | 0.06 | 0.002 |
| **% RSD** | | 1.29 | 0.006 |

### 3.4.1. Seçicilik

Ekstraksiyonda yağ asitlerini 2,2,4-trimetil pentan ortamına aldığımız için bu çözücü cihaza aynı şartlar altında ve aynı metot ile verilmiş, yağ asitleri ile aynı retensiyon zamanında pik gözlenmemiştir. Elde edilen sonuclar uygulanan metodun seçiciliğini göstermektedir.

## 3. 6. Sağlamlık

### 3. 6. 1. Numune çözeltinin stabilitesi

24 saat oda koşulunda, karanlık, buzdolabı ve gün ışığı altında bekletilen örnekler taze hazırlanmış örneklere göre değişimi Çizelge 3.14' de sunulmuştur.

**Çizelge 3.14.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, stabilite sonuçları

A. Araşidik Asit

| **Norm** | **Pik Yüzdeleri (mAU*s)** | **Ortalama Alan (mAU*s)** | **% Geri Kazanım** | **% RSD** |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 0.52 | 0.53 | 100.00 | 3.39 |
| | 0.52 | | | |
| | 0.55 | | | |
| **Buzdolabı** | 0.53 | 0.53 | 100.63 | |
| | 0.53 | | | |
| | 0.54 | | | |
| **Karanlık** | 0.56 | 0.56 | 106.29 | |
| | 0.56 | | | |
| | 0.57 | | | |
| **Gün ışığı** | 0.58 | 0.58 | 108.81 | |
| | 0.58 | | | |
| | 0.57 | | | |

B. Behenik asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (mAU*s) | Ortalama Alan (mAU*s) | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 0.12 | 0.12 | 100.00 | 7.77 |
| | 0.11 | | | |
| | 0.13 | | | |
| **Buzdolabı** | 0.13 | 0.13 | 111.11 | |
| | 0.13 | | | |
| | 0.14 | | | |
| **Karanlık** | 0.13 | 0.14 | 116.67 | |
| | 0.13 | | | |
| | 0.16 | | | |
| **Gün ışığı** | 0.15 | 0.16 | 130.56 | |
| | 0.17 | | | |
| | 0.15 | | | |

**C.** Eikosenoik Asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (mAU*s) | Ortalama Alan (mAU*s) | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 0.20 | 0.20 | 100.00 | 3.77 |
| | 0.19 | | | |
| | 0.21 | | | |
| **Buzdolabı** | 0.20 | 0.20 | 100.00 | |
| | 0.19 | | | |
| | 0.21 | | | |
| **Karanlık** | 0.20 | 0.21 | 106.67 | |
| | 0.22 | | | |
| | 0.22 | | | |
| **Gün ışığı** | 0.23 | 0.23 | 113.33 | |
| | 0.22 | | | |
| | 0.23 | | | |

**D.** Linoleik Asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (mAU*s) | Ortalama Alan (mAU*s) | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 12.73 | 12.73 | 100.00 | 0.97 |
| | 12.76 | | | |
| | 12.70 | | | |
| **Buzdolabı** | 12.50 | 12.50 | 98.19 | |
| | 12.51 | | | |
| | 12.49 | | | |
| **Karanlık** | 12.69 | 12.69 | 99.66 | |
| | 12.69 | | | |
| | 12.68 | | | |
| **Gün ışığı** | 12.37 | 12.38 | 97.22 | |
| | 12.36 | | | |
| | 12.40 | | | |

**E.** Linolenik Asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (mAU*s) | Ortalama Alan (mAU*s) | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 0.69 | 0.69 | 100.00 | 1.73 |
| | 0.67 | | | |
| | 0.70 | | | |
| **Buzdolabı** | 0.69 | 0.69 | 100.97 | |
| | 0.70 | | | |
| | 0.69 | | | |
| **Karanlık** | 0.71 | 0.71 | 103.40 | |
| | 0.71 | | | |
| | 0.71 | | | |
| **Gün ışığı** | 0.69 | 0.69 | 100.49 | |
| | 0.69 | | | |
| | 0.69 | | | |

**F.** Oleik Asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (%) | Ortalama Alan | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 69.54 | 69.60 | 100.00 | 0.11 |
| | 69.70 | | | |
| | 69.56 | | | |
| **Buzdolabı** | 69.65 | 69.61 | 100.02 | |
| | 69.60 | | | |
| | 69.59 | | | |
| **Karanlık** | 69.45 | 69.48 | 99.83 | |
| | 69.44 | | | |
| | 69.55 | | | |
| **Gün ışığı** | 69.67 | 69.69 | 100.13 | |
| | 69.63 | | | |
| | 69.78 | | | |

**G.** Palmitik Asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (%) | Ortalama Alan | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 11.75 | 11.74 | 100.0 | 0.58 |
| | 11.78 | | | |
| | 11.70 | | | |
| **Buzdolabı** | 11.87 | 11.81 | 100.60 | |
| | 11.84 | | | |
| | 11.73 | | | |
| **Karanlık** | 11.67 | 11.68 | 99.43 | |
| | 11.75 | | | |
| | 11.61 | | | |
| **Gün ışığı** | 11.64 | 11.57 | 98.55 | |
| | 11.58 | | | |
| | 11.50 | | | |

**H.** Stearik asit

| Norm | Pik Yüzdeleri (%) | Ortalama Alan | % Geri Kazanım | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| **Başlangıç** | 3.67 | 3.66 | 100.00 | 1.19 |
| | 3.60 | | | |
| | 3.71 | | | |
| **Buzdolabı** | 3.66 | 3.70 | 101.23 | |
| | 3.70 | | | |
| | 3.74 | | | |
| **Karanlık** | 3.74 | 3.74 | 102.42 | |
| | 3.74 | | | |
| | 3.75 | | | |
| **Gün ışığı** | 3.79 | 3.81 | 104.33 | |
| | 3.86 | | | |
| | 3.79 | | | |

## 4. TSE 15304 e göre r ( tekrarlanabilirlik) ve R (uyarlık) değerleri

Matriks ortamı olarak soya yağı kullanılmıştır.

**a) r değeri için kriter:** Özdeş deney numunesi üzerinde, aynı laboratuvarda, aynı kişi tarafından, kısa zaman aralığında, aynı donanım ve aynı yöntem kullanılarak elde edilen bağımsız iki tek deneyin sonuçları arasındaki mutlak fark, sonuçların % 5'inden daha fazlasında, standartta verilen r değerinden fazla olmamalıdır. **(Soya yağı için r=0,13)**

**Çizelge 3.15.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, r (tekrarlanabilirlik değerleri)

| Paralel | Operatör A | Operatör B | Ortalama | Mutlak Fark | r (tekrarlanabilirlik sınırı) |
|---|---|---|---|---|---|
| **1** | 0.3351 | 0.3592 | 0.3472 | 0.0241 | |
| **2** | 0.3734 | 0.3720 | 0.3727 | 0.0014 | |
| **3** | 0.3772 | 0.3576 | 0.3674 | 0.0196 | |
| **4** | 0.3574 | 0.3740 | 0.3657 | 0.0166 | |
| **5** | 0.3598 | 0.3764 | 0.3681 | 0.0166 | |
| **Ortalama** | **0.3606** | **0.3678** | **0.3642** | **0.0156** | |
| **Standart Sapma** | | | **0.0098** | | **0.0274** |

**b) R değeri için kriter:** Özdeş deney numunesi üzerinde, farklı laboratuvarlarda, farklı kişiler tarafından, farklı donanımla, aynı yöntem kullanılarak elde edilen iki tek deneyin sonuçları arasındaki mutlak fark, sonuçların %5'inden daha fazlasında, standartta verilen R değerinden fazla olmamalıdır. **(Soya yağı için R=0,31)**

**Çizelge 3.16.** Yağ asit bileşimi analizi validasyonu, R (uyarlık değerleri)

| Paralel | Operatör A | Operatör B | Ortalama | Mutlak Fark | R (uyarlık sınırı) |
|---|---|---|---|---|---|
| **1** | 0.3472 | 0.1754 | 0.2612 | 0.1718 | |
| **2** | 0.3727 | 0.1607 | 0.2667 | 0.2120 | |
| **3** | 0.3674 | 0.3514 | 0.3594 | 0.0160 | |
| **4** | 0.3657 | 0.3657 | 0.3657 | 0.0000 | |
| **5** | 0.3681 | 0.3546 | 0.3614 | 0.0135 | |
| **Ortalama** | **0.3642** | **0.2815** | **0.3228** | **0.0827** | |
| **Standart Sapma** | | | **0.0538** | | **0.1506** |

## 5. Değerlendirme ve karar

Bitkisel yağların yağ asitleri bileşimlerinin GC/FID ile belirlenmesi analiz metodu Doğrusallık, Ekstraksiyon Tekrarlanabilirliği (Geri kazanım), Belirtme ve Tayin Sınırı, Kesinlik (Enjeksiyon Tekrarlanabilirliği), Seçicilik, Yöntem dayanıklılığı parametreleri acısından valide edilmiş olup, yapılan analizlerden elde edilecek sonuçların güvenilirliği ispat edilmiştir.

### 3.2.4.2.8. Özgül absorbans

Özgül absorbans değeri bitkisel yağların bozunma dereceleri ve saflığının tespit edilmesinde kullanılmaktadır.

**Cihazlar**

UV-visible spektrofotometre - Shimadzu 1601 (232 ve 270 nm)

25 mL, Mezür

**Reaktifler**

Siklohekzan veya izooktan

**Deney yapılışı**

0.03-0.06 g numune duyarlı olarak tartılır ve siklohekzanla 10 mL'ye tamamlayarak numune iyice karıştırılarak çözündürülür ve tartımı kaydedilir. Analize başlamadan önce her iki küvete de siklohekzan konularak baseline (temel çizgi) sıfırlanmalıdır. Daha sonra küvetlerden birine numune konularak $K_{232}$ ve $K_{270}$ nm dalga boylarında okuma yapılır ve aynı numuneden 3 okuma yapılarak ortalaması alınır. Kullanılan küvetler yıkandıktan sonra bir sonraki kullanıma kadar siklohekzan dolu bir beherin içinde bekletilmelidir.

**Hesaplama**

%değeri (hacim/kütlece yüzde)= m(ağırlık)x 4

Absorbansı numune ağırlığına bölerek bulunan iki değerin ortalaması alınır:

Ab/m (1)

Ab/m (2)

Aşağıdaki formüllerde bulunan bu değerler kullanılmaktadır.

$$\Delta E\ (\Delta K) = 270 - \frac{(266 + 270)}{2}$$

$$R = \frac{Ab_{232}}{Ab_{270}} \qquad (R > 3 \text{ olmalı})$$

NOT:

$Ab_{232}$ ilk bozunma ürünleri olan peroksitleri gösterirken $Ab_{270}$ ise ikincil bozunma ürünlerini göstermektedir.

$Ab_{232}$ / 10 * m

$Ab_{270}$ / 10 * m

M =Numune ağırlığı (gr)

### 3.2.4.3.Bitmiş üründe gerçekleştirilen analizler

Bitmiş ürünlerde aşağıda sıralanan kontroller belirtilen metotlar ile gerçekleştirilmektedir.

#### 3.2.4.3.1. Görünüş

Yumuşak kapsüller organoleptik olarak kontrol edilmektedir.

#### 3.2.4.3.2. Bitkisel preparat miktarı (EP 5.2-2.9.40)

Test için 20 kapsül kullanılmaktadır. Her bir kapsül dolu olarak tartılır ve tartımlar kayıt edilir. Daha sonra bir bistüri ve enjektör yardımıyla kapsüller boşaltılarak uygun çözücü ile yıkanarak kuruması sağlanmaktadır. Boş kapsüller ayrı olarak 0.1 mg hassasiyette tartılmaktadır. Her kapsülün içeriğinin ağırlığı iki tartımın farkından hesaplanarak içeriklerin tek ağırlıklarından ortalama kütle hesaplanır.

#### 3.2.4.3.3. Dağılma (USP-701)

250 mL'lik erlene 150 mL saf su konularak 37$^{o}$C'a ısıtılmaktadır. Erlene bir kapsül atılarak kronometre eşliğinde yavaşça çalkalanmakta ve kapsülün tam olarak dağıldığı süre kayıt edilmektedir.

#### 3.2.4.3.4. Peroksit sayısı

3.2.3.2.1. Çörek otu tohumu yağı, peroksit tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

#### 3.2.4.3.5. Serbest yağ asitleri tayini

3.2.3.2.2. Çörek otu tohumu yağı, serbest yağ asitleri tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.6. Sabun miktarı tayini**

3.2.3.2.3. Çörek otu tohumu yağı, sabun miktarı tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.7. % Nem ve uçucu madde tayini**

3.2.3.2.4. Çörek otu tohumu yağı , % nem ve uçucu madde tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.8. Sabunlaşmayan madde tayini**

3.2.3.2.5. Çörek otu tohumu yağı, sabunlaşmayan madde tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.9. Sabunlaşma sayısı tayini**

3.2.3.2.6. Çörek otu tohumu yağı, sabunlaşma sayısı tayini analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.10. Yağ asitleri kompozisyonu**

3.2.3.2.7. Çörek otu tohumu yağı, yağ asit kompozisyonu analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.11. Özgül absorbans tayini**

3.2.4.2.8. Çörek otu tohumu yağı, özgül absorbans analizlerinde belirtildiği şekilde uygulanır.

**3.2.4.3.6. DL- alfa tokoferol ve DL-alfa tokoferil asetat miktar tayini**

(Analiz metodunun çalışma kapsamında transferi gerçekleştirilmiştir )

**Kullanılan Kimyasallar**

Hekzan

2-Propanol

**Kullanılan Standartlar**

Tokoferol Set

**Kullanılan Ekipmanlar**

HPLC, Agilent

Hassas Terazi, Mettler

**Analitik Test Metodu:**

**Kromatografik Koşullar:**

| | | |
|---|---|---|
| Kolon | : | Lichrosorb Si 60, 250x4.0 mm, 5µ veya eşdeğeri |
| Kolon Sıcaklığı | : | 25±1 $^{o}$C |
| Dedektör | : | Fluoresans dedektör |
| Dalga boyu | : | Exciatiton: 290 nm; Emission: 330 nm |
| Akış hızı | : | 0,8 mL/dak. |
| Autosampler sıcaklığı | : | 4 $^{o}$C |
| Enjeksiyon hacmi | : | 20 µL |
| Enjeksiyon süresi | : | 40 dak. |
| Mobil faz | : | Hekzan:2-Propanol (99,5 : 0,5 v/v) oranında karıştırılarak 0,45µm membran filtreden süzülür ve degaze edilerek kullanılmaktadır. |

**Çözeltilerin Hazırlanması**

**Ana Stok Standart Çözeltisi:** 10 mL'lik amber renkli balona 10 mg alfa tokoferol standardı ve 40 mg dl-alfa tokoferil asetat standardı tartılıp bir miktar hekzan ile çözülerek hacme hekzan ile tamamlanmaktadır (C: 1000 µg/mL alfa tokoferol; 4000 µg/mL DL- alfa tokoferil asetat).

**Ara Stok Standart Çözeltisi:** 10 mL'lik balona ana stok standart çözeltiden 2 mL alınıp, hacme hekzan ile tamamlanarak iyice karıştırılmaktadır (C: 200 µg/mL alfa tokoferol; 800 µg/mL dl-alfa tokoferil asetat).

**Kalibrasyon Nokta 4 Çözeltisi:** 5 mL ara stok standart çözeltisi 20 mL'lik balona alınır ve hacme hekzan ile tamamlanıp, bu çözelti amber renkli bir vial içerisine süzülmeksizin alınmakta ve hiç bekletilmeden sisteme iki kez enjekte edilmektedir (C: 50 µg/mL alfa tokoferol; 200 µg/mL dl- alfa tokoferil asetat).

**Kalibrasyon Nokta 3 Çözeltisi:** 5 mL kalibrasyon nokta 4 çözeltisi 20 mL'lik balona alınıp hacme hekzan ile tamamlanmaktadır. Bu çözelti amber renkli bir vial içerisine süzülmeksizin alınıp hiç bekletilmeden sisteme iki kez enjekte edilmektedir (C: 12,5 µg/mL alfa tokoferol; 50 µg/mL dl-alfa tokoferil asetat).

**Kalibrasyon Nokta 2 Çözeltisi:** 5 mL kalibrasyon nokta 3 çözeltisi 10 mL'lik balona alınıp hacme hekzan ile tamamlanmaktadır. Bu çözelti amber renkli bir vial içerisine süzülmeksizin alınıp hiç bekletilmeden sisteme iki kez enjekte edilmektedir (C: 6,25 µg/mL alfa tokoferol; 25 µg/mL dl-alfa tokoferil asetat).

**Kalibrasyon Nokta 1 Çözeltisi:** 4 mL kalibrasyon nokta 2 çözeltisi 20 mL'lik balona alınıp hacme hekzan ile tamamlanmaktadır. Bu çözelti amber renkli bir vial içerisine süzülmeksizin alınıp hiç bekletilmeden sisteme iki kez enjekte edilmektedir (C: 1,25 µg/mL alfa tokoferol; 5 µg/mL dl-alfa tokoferil asetat).

**Test Çözeltisinin Hazırlanması:** 2 paralel numune hazırlanır. 10 mL'lik balona 0,500 g numune hassas bir şekilde tartılıp hacme hekzan ile tamamlanmaktadır. Bu çözelti amber renkli bir vial içerisine süzülmeksizin alınıp hiç bekletilmeden sisteme iki kez enjekte edilmektedir.

**Notlar:**

1- Hazırlanan tüm numune ve standart çözeltileri amber renkli cam malzemede, alüminyum folyo ile sarılarak, 2-8 $^{o}$C'da, ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir.

2- Tokoferol izomerleri bitkisel yağların kendi yapısında doğal olarak bulunabildiği için, alfa tokoferol için elde edilen analiz sonucunun yağa katılım yapılan miktardan daha yüksek çıkması olağandır.
3- dl- alfa tokoferil asetat bitkisel yağın yapısında doğal olarak bulunmadığı için, elde edilen analiz sonucunun yağa katım yapılan miktarı doğrulaması gerekir.

**Analiz**

Kolondan 60 dakika mobil faz geçirilerek sistemin şartlanması sağlanmaktadır. Sisteme sırası ile bir kez mobil faz, bir kez de hekzan enjekte edilip ardından kalibrasyon çözeltileri sırasıyla 2'şer kez enjekte edilmelidir. Sistem uygunluk koşullarının sağlanmasını takiben hazırlanan 2 paralel test çözeltisinin her biri sisteme 2'şer kez enjekte edilerek analiz bitiminde sisteme kalibrasyon çözeltisi nokta 4 çözeltisinden tekrarlanabilirlik kontrolü için bir enjeksiyon daha yapılmaktadır.

**Sistem Uygunluğu**

- Kalibrasyon çözeltilerinden elde edilen kromatogramlar yardımı ile ilgili analit pik alanı–gerçek konsantrasyon (µg/mL) grafiği için elde edilen eğrilerin korelasyon değeri >0,99 olmalıdır.
- Kalibrasyon çözeltisi nokta 4 ün sisteme yapılan ardışık iki enjeksiyonundan elde edilen alfa tokoferol ve DL-alfa tokoferil asetat pik alanları için hesaplanan %RSD değeri maksimum 5,0 olmalıdır.
- Analiz bitiminde tekrar enjekte edilen kalibrasyon çözeltisi nokta 4 için elde edilen ilgili pik alanları ile ilk yapılan 2 enjeksiyon ile elde edilen pik alanları birbirlerine %100±2 oranında uyumlu olmalıdır.

**Hesaplama**

Her bir analit için ayrı ayrı çizilen kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemleri yardımı ile analiz edilen yağ ortamındaki her bir alfa tokoferol ve DL-alfa tokoferil asetat için miktar tayini (µg/g) cinsinden aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanır.

İlgili analit miktarı (µg/g) = (y-b)*10 / m* Numune tartımı (g)

y : test çözeltisi ilgili analit pik alanı,

m : kalibrasyon doğrusu eğimi (slope),
b : kalibrasyon doğrusu kayım değeri (intercept),

**Validasyon Çalışmaları**

**Amaç & Prensip**

Bu çalışmada bitkisel yağların içerdiği dl-Alfa tokoferil asetat, Alfa tokoferol, Beta tokoferol, Gama tokoferol, ve Delta tokoferol etken maddelerinin kantitatif tayinleri için geliştirilen HPLC metodu ve bu metodun geçerliliğini kanıtlamak için yapılan validasyon çalışmaları tanımlanmaktadır.

Bu amaçla metodun,

3.1. Doğrusallık / Linearity
3.2. Kesinlik / Precision
3.2.1 Enjeksiyon Tekrarlanabilirliği
3.3. Ekstraksiyon Tekrarlanabilirliği ve Geri Kazanım / Recovery
3.4. Seçicilik / Specificity
3.5. Seçimlilik / Selectivity
3.6. Belirtme ve Tayin Sınırları / (LOD-LOQ)
3.7. Yöntem Dayanıklılığı/ Robustness
3.8. Kalite Kontrol Uygulamaları

kriterleri incelenerek elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Metot, Alfa tokoferol, Beta tokoferol, Delta tokoferol ve gama tokoferol etken maddeleri için 1.250 µg/mL - 200 µg/mL konsantrasyon aralığında, DL-Alfa tokoferil Asetat için ise 5 µg/mL - 800 µg/mL konsantrasyon aralığında valide edilmiştir.

**KAPSAM**: Tüm bitkisel yağları kapsar.

**Kullanılan Cihazlar/Materyaller**

Çalışmalar HP-AGILENT /1100 cihazı ile yapılmıştır.

**Kullanılan Reaktifler/Materyaller**

- Hekzan (HPLC saflıkta)
- 2-Propanol (HPLC saflıkta)
- Tokoferol, set halinde
- Balon joje 10 mL lik
- Terazi 0.001 g hassasiyetinde veya daha üstün
- Terazi, 0.1 g hassasiyetinde veya daha üstün, analitik
- Pipet veya cam pipet, 0.2mL, 1mL ve 5mL hacminde, otomatik
- Vorteks

## A. UYGULAMA

### 1. Ön hazırlık ve işlemler

**Standart Stok Çözeltisi Hazırlama Prosedürü**

10 mg alfa tokoferol, 10 mg beta tokoferol, 10 mg delta tokoferol ve 10 mg gama tokoferol çalışma standardı ve 40 mg dl-alfa tokoferil asetat standardı 10 mL'lik balona tartılır. Hekzan ile çözülerek 10 mL hacmine tamamlanır. Diğer standart çözeltiler aşağıdaki Çizelge 3.17 yardımı ile hazırlanır.

**Örneğin**: 8 nolu standart çözeltisini hazırlamak için stok çözeltiden 1 mL alınır 4 mL hekzan ile seyreltilir.

**Çizelge 3.17.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi, standart çözelti hazırlama değerleri

| Std No | Seyreltme | Tokoferol İzomerleri Konsantrasyon (mg/mL) | DL-Alfa Tokoferil Asetat Konsantrasyon (mg/mL) |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 mL 3 nolu Standart Çözelti → 4 mL Hekzan | 1.250 | 5.00 |
| 2 | 2 mL 3 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 3.125 | 12.50 |
| 3 | 2 mL 4 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 6.25 | 25.00 |
| 4 | 2 mL 5 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 12.50 | 50.00 |
| 5 | 2 mL 6 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 25.00 | 100.00 |
| 6 | 2 mL 7 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 50.00 | 200.00 |
| 7 | 2 mL 8 nolu Standart Çözelti → 2 mL Hekzan | 100.00 | 400.00 |
| 8 | 1 mL Stok Standart Çözelti → 4 mL Hekzan | 200.00 | 800.00 |

## 2. Analiz süreci ve uygulama

10 mL lik bir balon jojeye 0.500 g ( ± 0,001 g ) deney numunesi tartılır. Hekzan ile 10 mL ye tamamlanıp vortekslenir. Yaklaşık 1 mL numune çözeltisi viale aktarılır. Bu işlem sırasında numune çözeltisi filtrelenmemelidir.
Analiz için numunenin %5 lik çözeltisi hazırlanır. 0.500 g (± 0.001 g) numune 10 mL lik balona tartılır. Hekzan ile 10 mL ye tamamlanır.

### 2.1. Cihaz parametreleri

| | | |
|---|---|---|
| Cihaz | : | HPLC/FLD Sistemi |
| Kolon | : | LICHROSORB SI 60 5.0 250 mm x 4.0mm |
| Çalışma Dalga Boyu | : | Excitation: 290 nm; Emission: 330 nm |
| Kolon sıcaklığı | : | 25 ± 0,1°C |
| Dedektör | : | FLD |
| Hareketli faz | : | Hekzan/2-Propanol (99.5/0.5) (v/v) |
| Akış Hızı | : | 0.800 mL/min |
| Enjeksiyon hacmi | : | 20 µL |
| Kromatogram Kayıt Süresi | : | 40dk |

## 3. Çalışma sonuçları ve değerlendirmeler

HPLC analizi için DL-Alfa tokoferil asetat, alfa tokoferol, beta tokoferol, gama tokoferol ve delta tokoferol izomerlerinin karışımını içeren standart HPLC-FLD sistemine enjekte edilerek geliş zamanları belirlenir.

**Çizelge 3.18.** Tokoferol izomerleri bağıl alıkonma zamanları

| **STANDART** | **RRT** |
|---|---|
| Dl-Alfa Tokoferil Asetat | 1.00 |
| Alfa tokoferol | 1.72 |
| Beta tokoferol | 3.02 |
| Gama tokoferol | 3.33 |
| Delta tocoferol | 5.49 |

**Hesaplama:** Her bir standart için ayrı ayrı çizilen kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemine göre matriks ortamındaki her bir tokoferol İzomeri ve DL-Alfa Tokoferil Asetat için ayrı ayrı hesaplama yapılır.

Ortalama Alan (mAU*s) 'a karşı çizilen Teorik Konsantrasyon (µg/mL) grafiğinden elde edilen temsili denklem;

$$y = m x + b$$

**y:** Ortalama Alan (mAU*s)
**m:** Eğim /Slope
**x:** Teorik Konsantrasyonn (µg/mL)

**b:** Kayım /Intercept

Numuneden elde edilen Ortalama Alan (mAU*s) değeri, kalibrasyon denkleminde **y** parametresi yerine yazılarak, **x** ( Teorik Konsantrasyon (µg/mL)) hesaplanır.Elde edilen sonuç analiz yönteminde belirtilen seyreltme faktörü ile çarpılır.

**$C_{numune}$ = x * seyreltme faktörü**

**Seyreltme Faktörü (S.F.) :** 0.500 g (± 0.001 g) numune 10 mL lik balon jojeye tartılır. Hekzan ile 10 mL ye tamamlanır.

**Seyreltme Faktörü = 10 / 0.5**
***(S.F.)* =20**

### 3.1 Doğrusallık

Doğrusallık kriteri 8 ayrı konsantrasyon seviyesinde standart test çözeltisi ile ölçülmüştür. Her bir konsantrasyon basamağında elde edilen HPLC alanları üzerinden doğrusallık hesaplaması yapılmıştır. Elde edilen değerler Çizelge 3. 19 ‘de yer almaktadır.

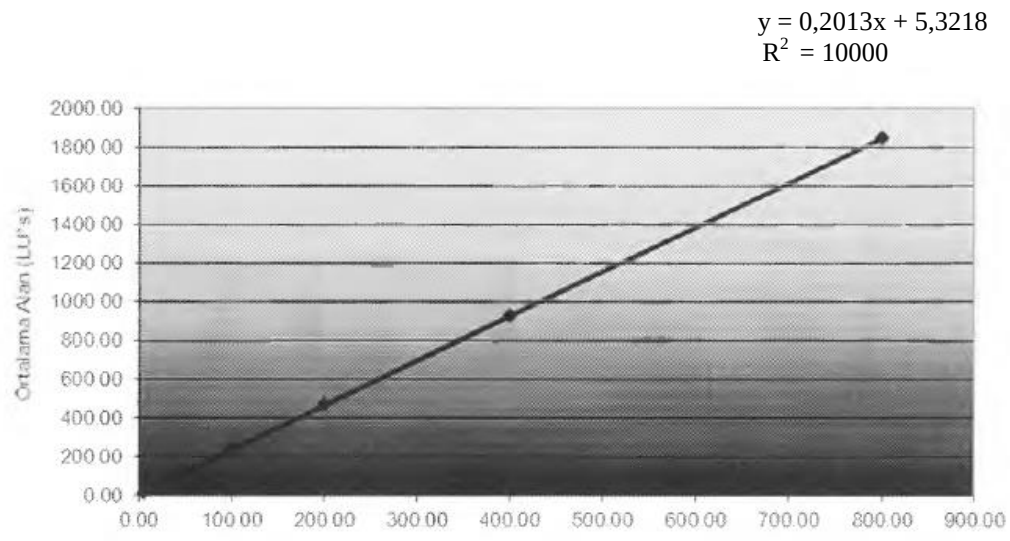
**Çizelge 3.19.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, doğrusallık değerleri

a. DL-Alfa Tokoferill Asetat

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL) | Pik Alanları ( mAU* s) | Ortalama Pik Alanları ( mAU * s ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.0 | 12.9 | 13.1 | 1.59 |
| | | 13.0 | | |
| | | 13.3 | | |
| 2 | 12.5 | 34.0 | 34.0 | 0.45 |
| | | 34.1 | | |
| | | 33.8 | | |
| 3 | 25 | 64.0 | 63.2 | 1.12 |
| | | 62.6 | | |
| | | 63.1 | | |
| 4 | 50 | 121.4 | 121.5 | 0.26 |
| | | 121.3 | | |
| | | 121.9 | | |
| 5 | 100 | 241.2 | 241.1 | 0.05 |
| | | 241.0 | | |
| | | 241.0 | | |
| 6 | 200 | 466.2 | 466.7 | 0.11 |
| | | 466.6 | | |
| | | 467.2 | | |
| 7 | 400 | 923.7 | 922.4 | 0.13 |
| | | 921.7 | | |
| | | 921.7 | | |
| 8 | 800 | 1850.2 | 1850.3 | 0.01 |
| | | 1850.5 | | |
| | | 1850.1 | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Kolerasyon Faktörü (R) | 1 |
| Eğim (slope) | 2.3043 |
| Kayıp (Intercept) | 5.3218 |

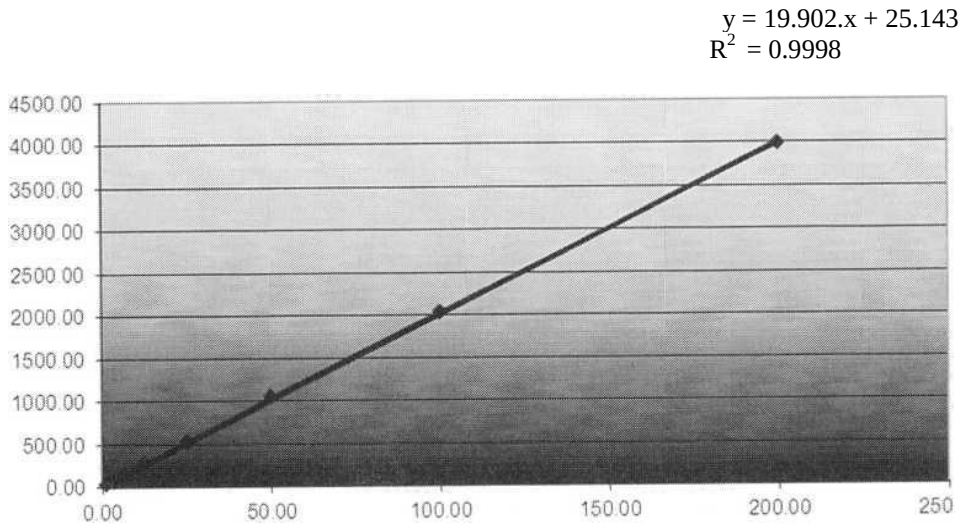



**Şekil 3.12.** DL-Alfa tokoferil asetat teorik konsantrayon grafiği (µg/mL)

**b** Alfa tocopherol için doğrusallık değerleri

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL) | Pik Alanları ( mAU* s) | Ortalama Pik Alanları ( mAU * s ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,250 | 31,5 | 31,3 | 0,55 |
| | | 31,2 | | |
| | | 31,2 | | |
| 2 | 3,125 | 72,9 | 72,6 | 0,36 |
| | | 72,5 | | |
| | | 72,4 | | |
| 3 | 6,250 | 140,1 | 139,9 | 0,49 |
| | | 139,1 | | |
| | | 140,4 | | |
| 4 | 12,500 | 274,3 | 273,7 | 0,21 |
| | | 273,5 | | |
| | | 273,2 | | |
| 5 | 25 | 533,6 | 533,8 | 0,04 |
| | | 533,9 | | |
| | | 534,0 | | |
| 6 | 50 | 1045,8 | 1046,2 | 0,12 |
| | | 1045,1 | | |
| | | 1047,6 | | |
| 7 | 100 | 2043,7 | 2042,3 | 0,06 |
| | | 2041,2 | | |
| | | 2042,1 | | |
| 8 | 200 | 3986,5 | 3984,8 | 0,05 |
| | | 3985,5 | | |
| | | 3982,4 | | |

| İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME | |
|---|---|
| Kolerasyon Faktörü (R) | 0,9998 |
| Eğim (slope) | 19,902 |
| Kayıp (Intercept) | 25,143 |

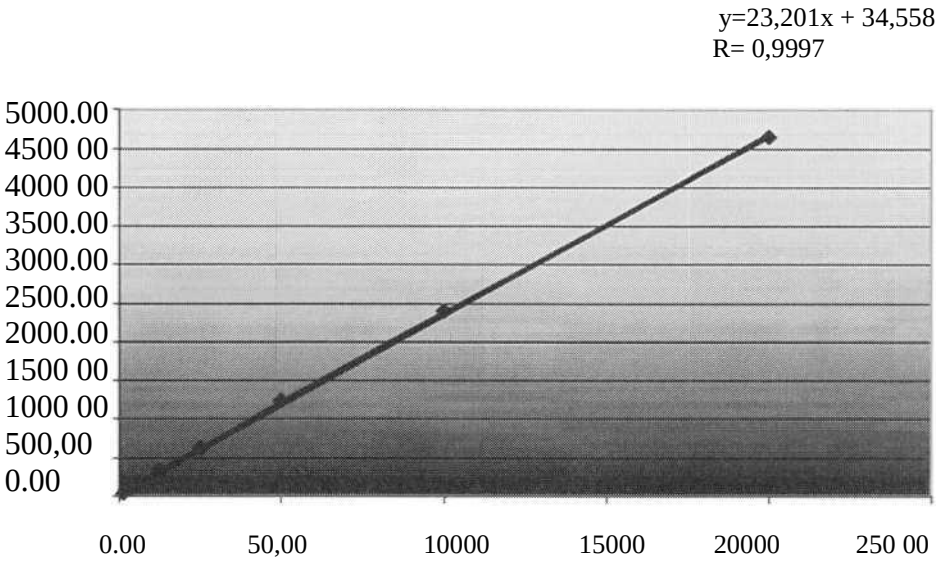



**Şekil 3.13.** Alfa tokoferol teorik konsantrayon grafiği (µg/mL)

**c.** Beta tokoferol İçin Doğrusallık Değerleri

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL) | Pik Alanları ( mAU* s) | Ortalama Pik Alanları ( mAU *s ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.250 | 36.3 | 36.8 | 1.25 |
| | | 36.9 | | |
| | | 37.2 | | |
| 2 | 3.125 | 85.2 | 84.9 | 0.36 |
| | | 85.0 | | |
| | | 84.6 | | |
| 3 | 6.250 | 166.0 | 165.8 | 0.23 |
| | | 165.4 | | |
| | | 166.1 | | |
| 4 | 12.500 | 321.5 | 321.2 | 0.26 |
| | | 321.9 | | |
| | | 320.3 | | |
| 5 | 25 | 631.5 | 629.9 | 0.25 |
| | | 629.8 | | |
| | | 628.4 | | |
| 6 | 50 | 1239.3 | 1239.3 | 0.03 |
| | | 1239.7 | | |
| | | 1239.0 | | |
| 7 | 100 | 2389.9 | 2390.5 | 0.04 |
| | | 2389.9 | | |
| | | 2391.6 | | |
| 8 | 200 | 4642.4 | 4645.0 | 0.05 |
| | | 4645.1 | | |
| | | 4647.5 | | |

| İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME | |
|---|---|
| Kolerasyon Faktörü (R) | 0.9997 |
| Eğim (slope) | 23.201 |
| Kayıp (Intercept) | 34.558 |



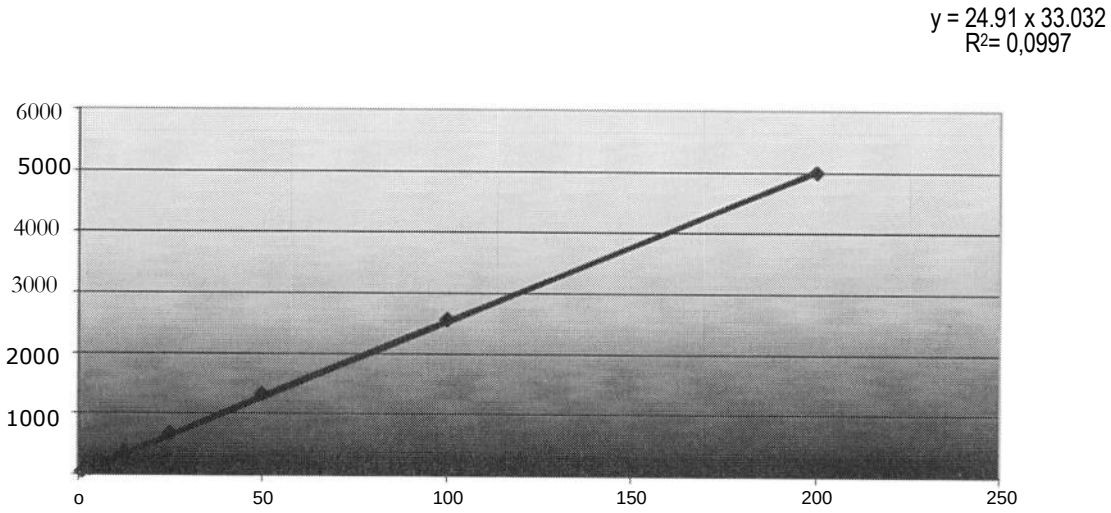

**Şekil 3.14.** Beta tokoferol teorik konsantrayon grafiği (µg/mL)

**d.** Gama tocopherol için doğrulsallık değerleri

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL) | Pik Alanları ( mAU* s) | Ortalama Pik Alanları ( mAU * s ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.250 | 39.7 | 40.1 | 0.94 |
| | | 40.4 | | |
| | | 40.3 | | |
| 2 | 3.125 | 90.1 | 90.1 | 0.17 |
| | | 89.9 | | |
| | | 90.2 | | |
| 3 | 6.250 | 175.7 | 174.5 | 0.66 |
| | | 173.4 | | |
| | | 174.3 | | |
| 4 | 12.500 | 339.3 | 340.6 | 0.35 |
| | | 341.0 | | |
| | | 341.6 | | |
| 5 | 25 | 672.5 | 670.4 | 0.28 |
| | | 668.9 | | |
| | | 669.8 | | |
| 6 | 50 | 1316.9 | 1317.8 | 0.06 |
| | | 1318.4 | | |
| | | 1318.2 | | |
| 7 | 100 | 2563.5 | 2563.0 | 0.03 |
| | | 2563.4 | | |
| | | 2562.2 | | |
| 8 | 200 | 4984.9 | 4985.1 | 0.02 |
| | | 4986.3 | | |
| | | 4984.2 | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Kolerasyon Faktörü (R) | 0.9997 |
| Eğim (slope) | 24.91 |
| Kayıp (Intercept) | 33.032 |

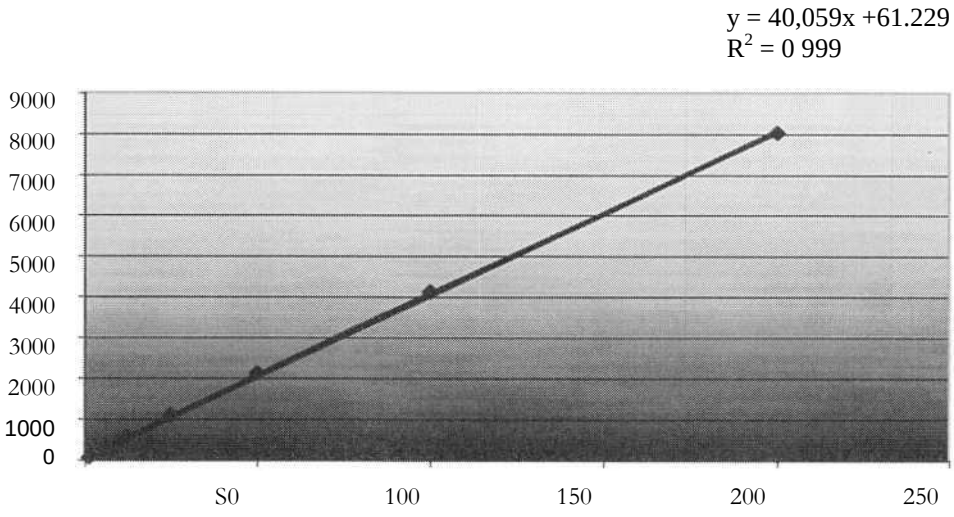



**Şekil 3.15.** Gamma tokoferol teorik konsantrayon grafiği (µg/mL)

**e.** Delta tocopherol için doğrusallık değerleri

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL) | Pik Alanları ( mAU* s) | Ortalama Pik Alanları ( mAU * s ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.250 | 66.1<br>67.0<br>66.3 | 66.5 | 0.71 |
| 2 | 3.125 | 151.2<br>151.6<br>151.5 | 151.4 | 0.14 |
| 3 | 6.250 | 291.0<br>287.4<br>289.2 | 289.2 | 0.62 |
| 4 | 12.500 | 556.3<br>555.7<br>555.6 | 555.9 | 0.07 |
| 5 | 25 | 1097.7<br>1097.0<br>1096.1 | 1096.6 | 0.07 |
| 6 | 50 | 2119.3<br>2119.1<br>2118.7 | 2119.0 | 0.01 |
| 7 | 100 | 4137.9<br>4137.5<br>4137.5 | 4137.6 | 0.01 |
| 8 | 200 | 8021.2<br>8021.6<br>8021.9 | 8021.6 | 0.00 |

| İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME | |
|---|---|
| Korelasyon faktörü (R2) | 0.9997 |
| Eğim (Slope) | 40.059 |
| Kayım (Intecept) | 61.229 |




**Şekil 3.16.** Delta tokoferol teorik konsantrayon grafiği (µg/mL)

## 3.2 Kesinlik

### 3.2.1 Enjeksiyon tekrarlanabilirliği

Kesinli kriterinin bir kavramı olan çalışma şartlarında tekrarlanan analizlerde elde edilen sonuçların birbiriyle uyumunu ve kullanılan cihazın tekrrlanabilirliğini test amacıyla standartın ardı ardına 5 kere enjeksiyon yapılarak sonuçlarının istatiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.20' de sunulmuştur.

**Çizelge 3.20.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, enjeksiyon tekrarlanabilirliği değerleri

**a.** DL-Alfa Tokoferil Asetat

| **MATRİKS** | Hekzan | | |
|---|---|---|---|
| **DERİŞİM** | 50 µg/mL | | |
| **ÖLÇÜM SAYISI** | **ZAMAN ARALIĞI (dk)** | **STANDART** | |
| | | **ALAN** | **RT** |
| **1** | 40 | 122.5 | 4.569 |
| **2** | 40 | 122.3 | 4.593 |
| **3** | 40 | 121.4 | 4.601 |
| **4** | 40 | 121.9 | 4.602 |
| **5** | 40 | 122.4 | 4.599 |
| **Ort** | | 122.1 | 4.593 |
| **Std** | | 0.45 | 0.01 |
| **% RSD** | | 0.37 | 0.30 |

**b.** Alfa tokoferol

| **MATRİKS** | Hekzan | | |
|---|---|---|---|
| **DERİŞİM** | 12,5 µg/mL | | |
| **ÖLÇÜM SAYISI** | **ZAMAN ARALIĞI (dk)** | **STANDART** | |
| | | **ALAN** | **RT** |
| **1** | 40 | 301.3 | 0.832 |
| **2** | 40 | 297.8 | 7.929 |
| **3** | 40 | 296.5 | 7.981 |
| **4** | 40 | 297.4 | 7.985 |
| **5** | 40 | 299.2 | 8.017 |
| **Ort** | | 298.4 | 7.949 |
| **Std** | | 1.87 | 0.07 |
| **% RSD** | | 0,63 | 0.91 |

**c.** Beta tokoferol

| **MATRİKS** | Hekzan | | |
|---|---|---|---|
| **DERİŞİM** | 12,5 µg/mL | | |
| **ÖLÇÜM SAYISI** | **ZAMAN ARALIĞI (dk)** | **STANDART** | |
| | | **ALAN** | **RT** |
| **1** | 40 | 344.5 | 14.424 |
| **2** | 40 | 341.5 | 14.559 |
| **3** | 40 | 338.3 | 14.698 |
| **4** | 40 | 339.7 | 14.785 |
| **5** | 40 | 339.7 | 14.848 |
| **Ort** | | 340.7 | 14.663 |
| **Std** | | 2.39 | 0.17 |
| **% RSD** | | 0.70 | 1.17 |

**d.** Gama tokoferol

| **MATRİKS** | Hekzan | | |
|---|---|---|---|
| **DERİŞİM** | 12,5 µg/mL | | |
| **ÖLÇÜM SAYISI** | **ZAMAN ARALIĞI (dk)** | **STANDART** | |
| | | **ALAN** | **RT** |
| **1** | 40 | 372.1 | 15.930 |
| **2** | 40 | 371.5 | 16.072 |
| **3** | 40 | 366.9 | 16.226 |
| **4** | 40 | 370.8 | 16.302 |
| **5** | 40 | 369.1 | 16.390 |
| **Ort** | | 370.1 | 16.184 |
| **Std** | | 2.10 | 0.18 |
| **% RSD** | | 0.57 | 1.14 |

e..Delta tokoferol

| | |
|---|---|
| **MATRİKS** | Hekzan |
| **DERİŞİM** | 12,5 µg/mL |

| **ÖLÇÜM SAYISI** | **ZAMAN ARALIĞI (dk)** | **STANDART** | |
|---|---|---|---|
| | | **ALAN** | **RT** |
| **1** | 40 | 27.060 | 27.060 |
| **2** | 40 | 27.331 | 27.331 |
| **3** | 40 | 27.512 | 27.512 |
| **4** | 40 | 27.726 | 27.726 |
| **5** | 40 | 27.930 | 27.930 |
| **Ort** | | 617.7 | 27.512 |
| **Std** | | 2.47 | 0.34 |
| **% RSD** | | 0.40 | 1.23 |

### 3.3 Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği ve geri kazanım

Elde edilen deneysel değerlerin gerçek değere ne kadar yakın olduğunu tespit amacıyla düşük, orta ve yüksek derişimlerde hazırlanan test çözeltileri analiz edilmiştir.

Her bir konsantrasyon seviyesi için 3 paralel numune çalışılmış elde edilen sonuçlar ortalama geri kazanım ve % RSD cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır ( Tüm değerler için kör çıkarması yapılmıştır.)

| Kör (Organik Sızma Zeytin Yağı) | Alan (Alfa Tokoferol) | Alan (Beta Tokoferol) | Alan (Gama Tokoferol) | Alan (Delta Tokoferol) | Alan (Dl-Alfa Tokoferol Acetat) |
|---|---|---|---|---|---|
| | 114,27 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Çizelge 3.21.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, ekstraksiyon tekrarlanabilirliği ve geri kazanım değerleri

a. Dl- Alfa tokoferil asetat

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL ) | Pik Alanları ( mAU *s) | Ortalama Alan ( mAU *s) | % Geri Kazanım | Ortalama Geri Kazanım (% ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 320 | 37.0 | 36.80 | 99.09 | 99.75 | 0.64 |
| | | 36.9 | | | | |
| | | 36.5 | | | | |
| 2 | 320 | 36.7 | 37.07 | 99.81 | | |
| | | 37.3 | | | | |
| | | 37.2 | | | | |
| 3 | 320 | 37.2 | 37.27 | 100.36 | | |
| | | 37.3 | | | | |
| | | 37.3 | | | | |
| 4 | 400 | 46.6 | 46.37 | 100.03 | 100.03 | 0.29 |
| | | 46.3 | | | | |
| | | 46.2 | | | | |
| 5 | 400 | 46.2 | 46.23 | 99.74 | | |
| | | 45.6 | | | | |
| | | 46.9 | | | | |
| 6 | 400 | 46.5 | 46.50 | 100.32 | | |
| | | 46.3 | | | | |
| | | 46.7 | | | | |
| 7 | 480 | 56.4 | 56.00 | 100.78 | 100.96 | 0.26 |
| | | 56.0 | | | | |
| | | 55.6 | | | | |
| 8 | 480 | 56.3 | 56.27 | 101.26 | | |
| | | 56.5 | | | | |
| | | 56.0 | | | | |
| 9 | 480 | 56.0 | 56.03 | 100.84 | | |
| | | 56.4 | | | | |
| | | 55.7 | | | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Ortalama % geri kazanım | 100.25 |
| Standart sapma | 0.63 |
| % RSD | 0.63 |

**b.** Alfa tokoferol

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL ) | Pik Alanları ( mAU *s) | Ortalama Alan ( mAU *s) | % Geri Kazanım | Ortalama Geri Kazanım (% ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80 | 80.9 | 80.50 | 99.54 | 99.61 | 0.12 |
| | | 80.4 | | | | |
| | | 80.1 | | | | |
| 2 | 80 | 80.5 | 80.66 | 99.75 | | |
| | | 80.5 | | | | |
| | | 80.9 | | | | |
| 3 | 80 | 80.7 | 80.50 | 99.54 | | |
| | | 80.4 | | | | |
| | | 80.3 | | | | |
| 4 | 100 | 101.0 | 102.40 | 101.64 | 100.76 | 0.81 |
| | | 103.6 | | | | |
| | | 102.5 | | | | |
| 5 | 100 | 100.2 | 101.33 | 100.57 | | |
| | | 102.1 | | | | |
| | | 101.6 | | | | |
| 6 | 100 | 99.9 | 100.83 | 100.06 | | |
| | | 100.7 | | | | |
| | | 101.8 | | | | |
| 7 | 120 | 120.7 | 121.30 | 100.53 | 100.80 | 0.28 |
| | | 121.1 | | | | |
| | | 122.0 | | | | |
| 8 | 120 | 122.5 | 121.63 | 100.80 | | |
| | | 121.6 | | | | |
| | | 120.7 | | | | |
| 9 | 120 | 122.7 | 121.96 | 101.08 | | |
| | | 121.9 | | | | |
| | | 121.2 | | | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Ortalama % geri kazanım | 100.39 |
| Standart sapma | 0.68 |
| % RSD | 0.68 |

**c.** Beta tokoferol

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL ) | Pik Alanları ( mAU *s) | Ortalama Alan ( mAU *s) | % Geri Kazanım | Ortalama Geri Kazanım (% ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80 | 94.5 | 94.93 | 100.43 | 100.36 | 0.12 |
| | | 95.3 | | | | |
| | | 95.0 | | | | |
| 2 | 80 | 94.9 | 94.93 | 100.43 | | |
| | | 94.7 | | | | |
| | | 95.2 | | | | |
| 3 | 80 | 95.7 | 94.73 | 100.22 | | |
| | | 94.3 | | | | |
| | | 94.2 | | | | |
| 4 | 100 | 121.7 | 119.93 | 101.90 | 101.33 | 0.83 |
| | | 120.4 | | | | |
| | | 117.7 | | | | |
| 5 | 100 | 120.7 | 119.73 | 101.72 | | |
| | | 119.6 | | | | |
| | | 118.9 | | | | |
| 6 | 100 | 119.1 | 118.17 | 100.37 | | |
| | | 116.6 | | | | |
| | | 118.8 | | | | |
| 7 | 120 | 141.9 | 141.57 | 100.45 | 100.83 | 0.37 |
| | | 141.7 | | | | |
| | | 141.1 | | | | |
| 8 | 120 | 142.5 | 142.10 | 100.84 | | |
| | | 141.6 | | | | |
| | | 142.2 | | | | |
| 9 | 120 | 142.7 | 142.60 | 101.20 | | |
| | | 142.3 | | | | |
| | | 142.8 | | | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Ortalama % geri kazanım | 100.84 |
| Standart sapma | 0.49 |
| % RSD | 0.48 |

**d**. Gama tokoferol

| Numune No | Konsantrasyon ( µg / mL ) | Pik Alanları ( mAU *s) | Ortalama Alan ( mAU *s) | % Geri Kazanım | Ortalama Geri Kazanım (% ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80 | 100.8 | 100.50 | 99.21 | 98.76 | 0.39 |
| | | 100.0 | | | | |
| | | 100.7 | | | | |
| 2 | 80 | 99.6 | 99.90 | 98.60 | | |
| | | 100.4 | | | | |
| | | 99.7 | | | | |
| 3 | 80 | 100.6 | 99.77 | 98.47 | | |
| | | 99.1 | | | | |
| | | 99.6 | | | | |
| 4 | 100 | 126.9 | 127.47 | 101.02 | 100.85 | 0.19 |
| | | 127.4 | | | | |
| | | 128.1 | | | | |
| 5 | 100 | 126.8 | 127.30 | 100.88 | | |
| | | 127.2 | | | | |
| | | 127.9 | | | | |
| 6 | 100 | 127.6 | 127.00 | 100.64 | | |
| | | 125.7 | | | | |
| | | 127.7 | | | | |
| 7 | 120 | 151.2 | 151.07 | 99.97 | 100.10 | 0.11 |
| | | 150.7 | | | | |
| | | 151.3 | | | | |
| 8 | 120 | 151.5 | 151.40 | 100.19 | | |
| | | 151.2 | | | | |
| | | 151.5 | | | | |
| 9 | 120 | 151.9 | 151.30 | 100.13 | | |
| | | 151.1 | | | | |
| | | 150.9 | | | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| Ortalama % geri kazanım | 99.90 |
| Standart sapma | 1.06 |
| % RSD | 1.06 |

**e.** Delta tokoferol

| Numune No | Konsantrasyon ( μg / mL ) | Pik Alanları ( mAU *s) | Ortalama Alan ( mAU *s) | % Geri Kazanım | Ortalama Geri Kazanım (% ) | % RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80 | 164.3<br>164.3<br>164.1 | 164.23 | 100.58 | 100.64 | 0.40 |
| 2 | 80 | 165.8<br>165.4<br>163.8<br>164.9 | 165.00 | 101.06 | | |
| 3 | 80 | 162.3<br>164.0<br>203.2 | 163.73 | 100.27 | | |
| 4 | 100 | 204.0<br>203.3<br>202.8 | 203.50 | 100.07 | 100.44 | 0.31 |
| 5 | 100 | 205.4<br>205.7<br>203.8 | 204.63 | 100.64 | | |
| 6 | 100 | 205.4<br>204.5<br>242.2 | 204.57 | 100.60 | | |
| 7 | 120 | 242.0<br>241.8<br>242.0 | 242.00 | 99.41 | 99.42 | 0.09 |
| 8 | 120 | 241.4<br>242.0<br>242.7 | 241.80 | 99.33 | | |
| 9 | 120 | 242.1<br>241.9<br>164.3 | 242.23 | 99.51 | | |

**İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME**

| | |
|---|---|
| ORTALAMA % GERİ KAZANIM | 100.16 |
| STANDART SAPMA | 0.66 |
| % RSD | 0.66 |

## 3.4. SEÇİCİLİK

Katımsız organik sızma zeytinyağı cihaza aynı şartlar altında ve aynı metot ile verilmiş, etken madde ile aynı alıkonma zamanı ve aynı dalga boyunda pik gözlenmiştir. Kör düzeltmesi yapılmıştır.

Aşağıdaki Çizelge 3.22'de etkin maddelerin resolüsyon değerleri ve alıkonma zamanları verilmiştir. Elde edilen sonuçlar uygulanan metodun seçiciliğini göstermektedir.

**Çizelge 3.22.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, seçicilik değerleri

a. DL-Alfa Tokoferil Asetat

Matriks : Organik sızma zeytin yağı
Derişim : 400 µg /g
Analit adı : DL – alpha tokoferol asetat
İnternal standart **: -**

| | **İnternal standart** | **Standart** | | | **Kör** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_R$ | Alan | $t_R$ | RRT | Alan | $t_R$ |
| 1. Paralel (Ext) | - | 46.6 | 4.457 | - | - | - |
| 2 . Paralel (Ext) | - | 46.2 | 4.442 | - | - | - |

b. Alfa tokoferol

Matriks Organik Sızma Zeytin Yağı
Derişim 100 µg /g
Analit adı Alfa tokoferol
İnternal standart -

| | **İnternal standart** | **Standart** | | | **Kör** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_R$ | Alan | $t_R$ | RRT | Alan | $t_R$ |
| **1. Paralel (Ext)** | - | 215.3 | 7.514 | - | 114.1 | 7.558 |
| **2. Paralel (Ext)** | - | 214.5 | 7.564 | - | 114.5 | 7.580 |

c. Beta tocopherol

| | |
|---|---|
| Matriks | Organik sızma zeytin yağı |
| Derişim | 100 µg /g |
| Analit adı | Beta tokoferol |
| İnternal standart | - |

| | **İnternal standart** | **Standart** | | | **Kör** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_R$ | Alan | $t_R$ | RRT | Alan | $t_R$ |
| 1. Paralel (Ext) | - | 121.69 | 12.938 | - | - | - |
| 2 . Paralel (Ext) | - | 120.74 | 12.942 | - | - | - |

**d.** Gama tocopherol

| | |
|---|---|
| Matriks | Organik sızma zeytin yağı |
| Derişim | 100 µg /g |
| Analit adı | Gama tokoferol |
| İnternal standart | - |

| | **İnternal standart** | **Standart** | | | **Kör** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_R$ | Alan | $t_R$ | RRT | Alan | $t_R$ |
| 1. Paralel (Ext) | - | 126.86 | 14.331 | - | - | - |
| 2 . Paralel (Ext) | - | 126.82 | 14.341 | - | - | - |

e. Delta tokoferol

| | |
|---|---|
| Matriks | Organik sızma zeytin yağı |
| Derişim | 100 µg /g |
| Analit adı | Deltatokoferol |
| İnternal standart | - |

| | **İnternal standart** | **Standart** | | | **Kör** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_R$ | Alan | $t_R$ | RRT | Alan | $t_R$ |
| 1. Paralel (Ext) | - | 203.21 | 23.774 | - | - | - |
| 2 . Paralel (Ext) | - | 202.83 | 23.689 | - | - | - |

## 3.5 Seçimlilik

**Çizelge 3.23.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, seçimlilik değerleri

**a.** DL-Alfa Tokoferill Asetat

**Matriks** : Hekzan

**Derişim** : 50 µg/mL

**Analit Adı** : DL-Alfa Tokoferill Asetat

| **BİR ÖNCEKİ STANDART** | | | **STANDART** | |
|---|---|---|---|---|
| **$t_R$** | **Genişlik (W)** | | **$t_R$** | **Genişlik (W)** |
| - | - | | 4.569 | 0.1224 |
| **Kriterler** | **Değer** | **Sınır Değerleri** | **Sonuç** | $R_s = \frac{2.5*\left(t_{R_2} - t_{R_1}\right)}{W_1 + W_2}$ |
| $R_S$ | | > 1.25 | ✓ KABUL □ RED | |
| T | 1.056 | 2≤ | ✓ KABUL □ RED | $T = \frac{W_{5.0}}{t_w * 2}$ |
| N | 7032 | ≥ 2000 | ✓ KABUL □ RED | $N = 25.\left(\frac{t_R}{W_{4.4}}\right)^2$ |

**b.** Alfa tocopherol

**Matriks** : Hekzan

**Derişim** : 12.5 µg/mL

**Analit Adı** : Alfa tokoferol

| **BİR ÖNCEKİ STANDART** | | | **STANDART** | |
|---|---|---|---|---|
| **$t_R$** | **Genişlik (W)** | | **$t_R$** | **Genişlik (W)** |
| 4.569 | 0.1224 | | 7.832 | 0.2016 |
| **Kriterler** | **Değer** | **Sınır Değerleri** | **Sonuç** | $R_s = \frac{2.5*\left(t_{R_2} - t_{R_1}\right)}{W_1 + W_2}$ |
| $R_S$ | 11.83 | > 1.25 | ✓ KABUL □ RED | |
| T | 1.149 | 2≤ | ✓ KABUL □ RED | $T = \frac{W_{5.0}}{t_w * 2}$ |
| N | 7809 | ≥ 2000 | ✓ KABUL □ RED | $N = 25.\left(\frac{t_R}{W_{4.4}}\right)^2$ |

**c.** Beta tocopherol

**Matriks** : Hekzan

**Derişim** : 12.5 µg/mL

**Analit Adı** : Beta tokoferol

| **BİR ÖNCEKİ STANDART** | | | **STANDART** | |
|---|---|---|---|---|
| **$t_R$** | **Genişlik (W)** | | **$t_R$** | **Genişlik (W)** |
| 7.832 | 0.2016 | | 14.424 | 0.3168 |
| **Kriterler** | **Değer** | **Sınır Değerleri** | **Sonuç** | $R_s = \frac{2.5*\left(t_{R_2} - t_{R_1}\right)}{W_1 + W_2}$ |
| $R_S$ | 14.94 | > 1.25 | ✓ KABUL □ RED | $T = \frac{W_{5.0}}{t_w * 2}$ |
| T | 1.154 | 2≤ | ✓ KABUL □ RED | |
| N | 10597 | ≥ 2000 | ✓ KABUL □ RED | $N = 25.\left(\frac{t_R}{W_{4.4}}\right)^2$ |

**d.** Gama tocopherol

**Matriks** : Hekzan

**Derişim** : 12.5 µg/mL

**Analit Adı** : Gama tokoferol

| **BİR ÖNCEKİ STANDART** | | | **STANDART** | |
|---|---|---|---|---|
| **$t_R$** | **Genişlik (W)** | | **$t_R$** | **Genişlik (W)** |
| 14.424 | 0.3168 | | 15.930 | 0.3492 |
| **Kriterler** | **Değer** | **Sınır Değerleri** | **Sonuç** | $R_s = \frac{2.5*\left(t_{R_2} - t_{R_1}\right)}{W_1 + W_2}$ |
| $R_S$ | 2.66 | > 1.25 | ✓ KABUL □ RED | $T = \frac{W_{5.0}}{t_w * 2}$ |
| T | 1.155 | 2≤ | ✓ KABUL □ RED | |
| N | 10755 | ≥ 2000 | ✓ KABUL □ RED | $N = 25.\left(\frac{t_R}{W_{4.4}}\right)^2$ |

**e.** Delta tocopherol

**Matriks** : Hekzan

**Derişim** : 12.5 µg/mL

**Analit Adı** : Delta tokoferol

| **BİR ÖNCEKİ STANDART** | | | **STANDART** | |
|---|---|---|---|---|
| **$t_R$** | **Genişlik (W)** | | **$t_R$** | **Genişlik (W)** |
| 15.930 | 0.3492 | | 27.060 | 0.5688 |
| **Kriterler** | **Değer** | **Sınır Değerleri** | **Sonuç** | $R_s = \frac{2.5*\left(t_{R_2} - t_{R_1}\right)}{W_1 + W_2}$ |
| $R_S$ | 14.25 | > 1.25 | ✓ KABUL □ RED | $T = \frac{W_{5.0}}{t_w * 2}$ |
| T | 1.154 | 2≤ | ✓ KABUL □ RED | |
| N | 11596 | ≥ 2000 | ✓ KABUL □ RED | $N = 25.\left(\frac{t_R}{W_{4.4}}\right)^2$ |

## 3.6 Belirtme ve tayin sınırları (LOD& LOQ)

**Çizelge 3.24.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, belirtme ve tayin sınırı değerleri ( LOD & LOQ )

**a.** DL-Alfa Tokoferil Asetat

**Matriks** : Organik Sızma Zeytinyağı

**Analit Adı** : 12.5 µg/mL

**İnternal Standart** : DL-Alfa Tokoferil Asetat

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.03 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 1.52 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 5.00 | mg/kg |
| LOD | 0.33 | mg/kg |
| LOQ | 1.12 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**b.** Alfa tokoferol

| | |
|---|---|
| **Matriks** | : Organik Sızma Zeytinyağı |
| **Analit Adı** | : Alfa tocopherol |
| **İnternal Standart** | : - |

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 2.21 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 1.25 | mg/kg |
| LOD | 0.03 | mg/kg |
| LOQ | 0.11 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**c.** Beta tokoferol

| | |
|---|---|
| **Matriks** | : Organik Sızma Zeytinyağı |
| **Analit Adı** | : Beta tocopherol |
| **İnternal Standart** | : - |

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 2.21 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 1.25 | mg/kg |
| LOD | 0.02 | mg/kg |
| LOQ | 0.08 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**d.** Gama tokoferol

| | |
|---|---|
| **Matriks** | : Organik Sızma Zeytinyağı |
| **Analit Adı** | : Gama tocopherol |
| **İnternal Standart** | : - |
| **Tarih** | : Ekim 2010 |

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.01 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 1.65 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 1.25 | mg/kg |
| LOD | 0.02 | mg/kg |
| LOQ | 0.08 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

**e.** Delta tokoferol

| | |
|---|---|
| **Matriks** | : Organik Sızma Zeytinyağı |
| **Analit Adı** | : Delta tocopherol |
| **İnternal Standart** | : - |
| **Tarih** | : Ekim 2010 |

| **Parametre** | **Değer** | **Birim** |
|---|---|---|
| Kör Sinyal Gürültü Yüksekliği (Bh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 0.02 | |
| En düşük derişimdeki standardın sinyal yüksekliği (Stdh)/ (Alıkonma Süresi)(tR) | 1.68 | |
| Standardın derişimi (Stdc) | 1.25 | mg/kg |
| LOD | 0.04 | mg/kg |
| LOQ | 0.15 | mg/kg |

$$LOD = \frac{\mathrm{Std}_c * 3 * B_h}{Std_h}$$

$$\mathrm{LOQ} = \frac{\mathrm{Std}_c * 10 * B_h}{Std_h}$$

## 3.7. Yöntem Dayanıklılığı

Mobil faz akış hızı +/- % 25 oranında değiştirilen sisteme standart enjeksiyonları yapılmış, optimum koşullarda enjeksiyonu yapılan standart alanları ile aşağıdaki tablolarda karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 3.25.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, yöntem dayanıklılığı değerleri ( LOD & LOQ )

a. DL-Alfa Tokoferil Asetat

Matriks : Hekzan

Analit Adı : DL-Alfa Tokoferil Asetat

Derişim : 400 µg/mL

İnternal Standart : -

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (+%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 1.000 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 4.435 | 1110.3 | 4.70 | 3.555 | 888.4 | 4.35 |
| 2. | 4.448 | 1098.0 | 4.46 | 3.557 | 894.6 | 4.38 |
| 3. | 4.450 | 1103.0 | 4.77 | 3.562 | 885.6 | 4.47 |
| Ort. | 4.444 | 1103.74 | 4.64 | 3.558 | 889.53 | 4.40 |
| % DERİŞİM | | | | 19.93 | 19.40 | 5,17 |
| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (-%25) | | | | | | |
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 0.600 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 4.435 | 1110.3 | 4.70 | 5.923 | 1447.4 | 5.09 |
| 2. | 4.448 | 1098.0 | 4.46 | 5.923 | 1463.2 | 5.07 |
| 3. | 4.450 | 1103.0 | 4.77 | 5.914 | 1471.7 | 5.10 |
| Ort. | 4.444 | 1103.74 | 4.64 | 5.920 | 1460.77 | 5.09 |
| % DERİŞİM | | | | 33.21 | 32.34 | 9.70 |

b. Alfa tokoferol

Matriks : Hekzan

Analit Adı : Alfa tokoferol

Derişim : 100 µg/mL

İnternal Standart : -

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (+%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 1.000 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 7.574 | 2394.3 | 10.14 | 6.079 | 1932.0 | 9.58 |
| 2. | 7.587 | 2407.7 | 10.11 | 6.090 | 1907.0 | 9.47 |
| 3. | 7.595 | 2426.8 | 10.13 | 6.109 | 1900.9 | 9.40 |
| Ort. | 7.585 | 2409.62 | 10.13 | 6.093 | 1913.30 | 9.48 |
| % DERİŞİM | | | | 19.67 | 20.60 | 6,42 |

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (-%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 0.600 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 7.574 | 2394.3 | 10.14 | 10.090 | 3172.8 | 11.09 |
| 2. | 7.587 | 2407.7 | 10.11 | 10.127 | 3205.2 | 11,07 |
| 3. | 7.595 | 2426.8 | 10.13 | 10.127 | 3202.8 | 11.12 |
| Ort. | 7.585 | 2409.62 | 10.13 | 10.115 | 3193.60 | 11.09 |
| % DERİŞİM | | | | 33.36 | 32.54 | 9.48 |

c. Beta tokoferol

Matriks : Hekzan

Analit Adı : Beta tokoferol

Derişim : 100 µg/mL

İnternal Standart : -

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (+%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 1.000 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 13.991 | 2800.3 | 11.79 | 10.506 | 2275.7 | 11.35 |
| 2. | 13.040 | 2803.9 | 11.74 | 10.469 | 2242.3 | 10.99 |
| 3. | 13.068 | 2852.3 | 11.88 | 10.461 | 2270.6 | 10.93 |
| Ort. | 13.033 | 2818.82 | 11.80 | 10.479 | 2262.87 | 10.48 |
| % DERİŞİM | | | | 19.60 | 19.72 | 11.19 |

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (-%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 0.600 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | tR | Alan | RS |
| 1. | 13.991 | 2800.3 | 11.79 | 17.442 | 3709.3 | 12.90 |
| 2. | 13.040 | 2803.9 | 11.74 | 17.414 | 3694.1 | 12.65 |
| 3. | 13.068 | 2852.3 | 11.88 | 17.415 | 3695.4 | 12.72 |
| Ort. | 13.033 | 2818.82 | 11.80 | 17.424 | 3699.60 | 12.76 |
| % DERİŞİM | | | | 33.69 | 31.25 | 8.14 |

d. Gama tokoferol

Matriks : Hekzan

Analit Adı : Gama tokoferol

Derişim : 100 µg/mL

İnternal Standart : -

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (+%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 1.000 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 14.376 | 2989.2 | 2.60 | 11.625 | 2423.6 | 2.43 |
| 2. | 14.431 | 2995.9 | 2.60 | 11.602 | 2392.7 | 2.44 |
| 3. | 14.455 | 3029.8 | 2.59 | 11.587 | 2423.7 | 2.42 |
| Ort. | 14.421 | 3004.96 | 2.60 | 11.605 | 2413.33 | 2.43 |
| % DERİŞİM | | | | 19.53 | 19.69 | 6.54 |
| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (-%25) | | | | | | |
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 0.600 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | tR | Alan | RS |
| 1. | 14.376 | 2989.2 | 2.60 | 19.303 | 3943.1 | 2.77 |
| 2. | 14.431 | 2995.9 | 2.60 | 19.274 | 3954.3 | 2.78 |
| 3. | 14.455 | 3029.8 | 2.59 | 19.281 | 3948.0 | 2.78 |
| Ort. | 14.421 | 3004.96 | 2.60 | 19.286 | 3948.47 | 2.78 |
| % DERİŞİM | | | | 33.74 | 31.40 | 6.92 |

e. Delta tokoferol

Matriks : Hekzan

Analit Adı : Delta tokoferol

Derişim : 100 µg/mL

İnternal Standart : -

| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (+%25) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 1.000 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | $t_R$ | Alan | RS |
| 1. | 23.617 | 4758.4 | 12.52 | 19.128 | 3784.6 | 11.89 |
| 2. | 23.684 | 4792.2 | 12.48 | 19.111 | 3717.7 | 11.73 |
| 3. | 23.816 | 4819.9 | 12.73 | 19.106 | 3806.9 | 11.74 |
| Ort. | 23.706 | 4775.25 | 12.58 | 19.115 | 3769.73 | 11.79 |
| % DERİŞİM | | | | 19.37 | 21.06 | 6.28 |
| MOBİL FAZ AKIŞ HIZI DEĞİŞİMİ (-%25) | | | | | | |
| Optimize Edilen Değer | | | | Değiştirilen değer | | |
| 0.800 mL/dk | | | | 0.600 mL/dk | | |
| | Optimize değer | | | Elde edilen değer | | |
| | $t_R$ | Alan | RS | tR | Alan | RS |
| 1. | 23.617 | 4758.4 | 12.52 | 31.836 | 6358.7 | 13.50 |
| 2. | 23.684 | 4792.2 | 12.48 | 31.616 | 6440.5 | 13.34 |
| 3. | 23.816 | 4819.9 | 12.73 | 31.698 | 6411.4 | 13.37 |
| Ort. | 23.706 | 4775.25 | 12.58 | 31.717 | 6399.60 | 13.40 |
| % DERİŞİM | | | | 33.79 | 34.02 | 6.52 |

## 3.8 Kalite Kontrol Uygulamaları

**Çizelge 3.26.** Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analizi validasyonu, kalite kontrol uygulamaları

a. DL-Apha Tokoferil Asetat

| | |
|---|---|
| **Analit Adı** | : DL-Apha Tokoferil Asetat |
| **Matriks Adı** | : Bitkisel Yağ |
| **Kk Örneği Derişimi** | : 424.33 |
| **Ölçüm Birimi** | : µg/g |
| **Çalışma Dönemi** | : Ekim-Kasım |
| **Tarih (Yıl)** | : 2010 |

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enj** | 430.419 | 419.693 | 424.603 | 422.309 | 423.056 | 423.067 | 424.925 | 429.993 | 424.988 | 420.210 |
| **2. Enj** | 430.419 | 419.693 | 423.553 | 423.389 | 425.246 | 422.000 | 422.765 | 430.995 | 424.988 | 420.210 |
| **Ort.** | 430.42 | 419.69 | 424.08 | 422.85 | 424.15 | 422.53 | 423.85 | 430.49 | 424.99 | 420.21 |
| **Standart Sapma** | 0.00 | 0.00 | 0.74 | 0.76 | 1.55 | 0.75 | 1.53 | 0.71 | 0.00 | 0.00 |

| **Ort. Değer** | **+2s** | **-2s** | **+3s** | **-3s** | **Ort.St. Sapma** | **Ül. St.Sapma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 119.72 | 126.17 | 113.28 | 129.39 | 110.06 | 2.95 | 5.90 |

| **Parametre** | **Değer** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Gün içi tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.55 | 1.55 |
| **Günler arası tekrarlanabilirlik** | 1 | 3.65 | 3.65 |
| **Birlieştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | 3.96 | | |
| **Hesaplanan miktar** | 424.33 | 3.96/ 424.33= 0.009 | |
| **K (%95 güven sınırı) kapsama faktörü** | 2 | | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.009*2= 0.019 | 0.018*424.33 = 7.92 | |
| **Rapor sonucu** | 424.33 ± 7.92 | | |

b. Tokoferol Asetat

| | |
|---|---|
| **Analit Adı** | : Tokoferol Asetat |
| **Matriks Adı** | : Bitkisel Yağ |
| **Kk Örneği Derişimi** | : 119.72 |
| **Ölçüm Birimi** | : µg/g |
| **Çalışma Dönemi** | : Ekim-Kasım |
| **Tarih (Yıl)** | : 2010 |

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enj** | 124.911 | 119.967 | 116.227 | 120.260 | 118.522 | 120.034 | 118.303 | 122.844 | 120.221 | 115.058 |
| **2. Enj** | 124.911 | 118.667 | 116.445 | 120.260 | 118.868 | 119.360 | 11.113 | 124.671 | 120.535 | 115.263 |
| **Ort.** | 124.91 | 119.32 | 116.34 | 120.26 | 118.69 | 119.70 | 118.71 | 123.76 | 120.38 | 115.16 |
| **Standart Sapma** | 0.00 | 0.92 | 0.15 | 0.00 | 0.25 | 0.48 | 0.57 | 1.29 | 0.22 | 0.14 |

| **Ort. Değer** | **+2s** | **-2s** | **+3s** | **-3s** | **Ort.St. Sapma** | **Ül. St.Sapma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 119.72 | 126.17 | 113.28 | 129.39 | 110.06 | 2.95 | 5.90 |

| **Parametre** | **Değer** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Gün içi tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.29 | 1.29 |
| **Günler arası tekrarlanabilirlik** | 1 | 2.95 | 2.95 |
| **Birlieştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | 3.22 | | |
| **Hesaplanan miktar** | 119.72 | 3.22/ 119.72= 0.027 | |
| **K (%95 güven sınırı) kapsama faktörü** | 2 | | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.027*2= 0.054 | 0.054*119.72=6.44 | |
| **Rapor sonucu** | 106.56 ± 5.20 | | |

c. Beta tokoferol

| | |
|---|---|
| **Analit Adı** | : Beta tokoferol |
| **Matriks Adı** | : Bitkisel Yağ |
| **Kk Örneği Derişimi** | : 106.56 |
| **Ölçüm Birimi** | : µg/g |
| **Çalışma Dönemi** | : Ekim-Kasım |
| **Tarih (Yıl)** | : 2010 |

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enj** | 110.132 | 107.735 | 104.995 | 104.862 | 107.173 | 106.311 | 104.672 | 109.737 | 106.342 | 104.002 |
| **2. Enj** | 110.232 | 105.690 | 103.693 | 105.734 | 107.770 | 105.540 | 105.088 | 110.598 | 106.433 | 104.446 |
| **Ort.** | 110.18 | 106.71 | 104.34 | 105.30 | 107.47 | 105.93 | 104.88 | 110.17 | 106.39 | 104.22 |
| **Standart Sapma** | 0.07 | 1.45 | 0.92 | 0.62 | 0.42 | 0.55 | 0.29 | 0.61 | 0.06 | 0.31 |

| **Ort. Değer** | **+2s** | **-2s** | **+3s** | **-3s** | **Ort.St. Sapma** | **Ül. St.Sapma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 106.56 | 111.77 | 101.35 | 114.37 | 98.75 | 2.17 | 4.34 |

| **Parametre** | **Değer** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Gün içi tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.45 | 1.45 |
| **Günler arası tekrarlanabilirlik** | 1 | 2.17 | 2.17 |
| **Birlieştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | 2.60 | | |
| **Hesaplanan miktar** | 106.56 | 2.60/ 106.56= 0.024 | |
| **K (%95 güven sınırı) kapsama faktörü** | 2 | | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.024*2= 0.048 | 0.048*106.56=5.20 | |
| **Rapor sonucu** | 106.56 ± 5.20 | | |

d. Gama tokoferol

| | |
|---|---|
| **Analit Adı** | : Gama tokoferol |
| **Matriks Adı** | : Bitkisel Yağ |
| **Kk Örneği Derişimi** | : 107.52 |
| **Ölçüm Birimi** | : µg/g |
| **Çalışma Dönemi** | : Ekim-Kasım |
| **Tarih (Yıl)** | : 2010 |

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enj** | 110.082 | 107.782 | 105.609 | 107.261 | 108.992 | 107.366 | 106.797 | 110.355 | 107.589 | 104.937 |
| **2. Enj** | 110.082 | 105.710 | 105.003 | 108.436 | 108.159 | 107.010 | 105.451 | 111.573 | 106.323 | 105,850 |
| **Ort.** | 110.08 | 106.75 | 105.31 | 107.85 | 108.58 | 107.19 | 106.12 | 110.96 | 106.96 | 105.39 |
| **Standart Sapma** | 0.00 | 1.47 | 0.43 | 0.83 | 0.59 | 0.25 | 0.95 | 0.86 | 0.89 | 0.65 |

| **Ort. Değer** | **+2s** | **-2s** | **+3s** | **-3s** | **Ort.St. Sapma** | **Ül. St.Sapma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 107.52 | 112.30 | 102.74 | 114.69 | 100.35 | 1.89 | 3.78 |

| **Parametre** | **Değer** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Gün içi tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.45 | 1.45 |
| **Günler arası tekrarlanabilirlik** | 1 | 2.17 | 2.17 |
| **Birlieştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | 2.39 | | |
| **Hesaplanan miktar** | 107.52 | 2.60/ 106.56= 0.024 | |
| **K (%95 güven sınırı) kapsama faktörü** | 2 | | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.022*2= 0.044 | 0.044*107.52=4.78 | |
| **Rapor sonucu** | 107.52 ± 4.78 | | |

e. Delta tokoferol

| | |
|---|---|
| **Analit Adı** | : Delta tokoferol |
| **Matriks Adı** | : Bitkisel Yağ |
| **Kk Örneği Derişimi** | : 107.47 |
| **Ölçüm Birimi** | : µg/g |
| **Çalışma Dönemi** | : Ekim-Kasım |
| **Tarih (Yıl)** | : 2010 |

| **Tarih** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Enj** | 107.992 | 106.726 | 104.522 | 105.806 | 107.290 | 109.279 | 108.013 | 109.094 | 108.499 | 104.941 |
| **2. Enj** | 107.992 | 105.453 | 105.587 | 107.280 | 108.883 | 108.375 | 108.482 | 110.382 | 108.860 | 105.963 |
| **Ort.** | 107.99 | 106.09 | 105.05 | 106.54 | 108.09 | 108.83 | 108.25 | 109.74 | 108.68 | 105.45 |
| **Standart Sapma** | 0.00 | 0.90 | 0.75 | 1.04 | 1.13 | 0.64 | 0.33 | 0.91 | 0.26 | 0.72 |

| **Ort. Değer** | **+2s** | **-2s** | **+3s** | **-3s** | **Ort.St. Sapma** | **Ül. St.Sapma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 107.47 | 111.35 | 103.60 | 113.28 | 101.56 | 1.58 | 3.16 |

| **Parametre** | **Değer** | **SD** | **Ux/X** |
|---|---|---|---|
| **Gün içi tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.13 | 1.13 |
| **Günler arası tekrarlanabilirlik** | 1 | 1.58 | 1.58 |
| **Birlieştirilmiş standart ölçüm belirsizliği** | | 1.94 | |
| **Hesaplanan miktar** | 107.47 | 1.94/ 107.47= 0.018 | |
| **K (%95 güven sınırı) kapsama faktörü** | 2 | | |
| **Genişletilmiş ölçüm belirsizliği** | 0.018*2= 0.036 | 0.036*107.47=3.88 | |
| **Rapor sonucu** | 107.47 ± 3.88 | | |

## 4. Değerlendirme ve karar

Bitkisel yağlarda tokoferollerin HPLC/FLD ile belirlenmesi analiz metodu tokoferol İzomerleri (Alfa tokoferol, Beta tokoferol, Gama tokoferol ve Delta tokoferol) için 1.25 µg/mL - 200 mg/ mL konsantrasyon aralığında, DL-Alfa Tokoferill Asetat ise 5 µg/mL - 800 µg/mL konsantrasyon aralığında Doğrusallık, Kesinlik (Enjeksiyon Tekrarlanabilirliği), Ekstraksiyon Tekrarlanabilirliği ve Geri Kazanım, Seçicilik, Seçimlilik, Belirtme ve Tayin Sınırı (LOD- LOQ), Yöntem Dayanıklılığı parametreleri açısından valide edilmiş olup, Kalite Kontrol Uygulaması yapılmıştır. Analizlerden elde edilecek sonuçların güvenilirliği ispat edilmiştir.

## 5. İlgili dokümanlar / referanslar

AOCS Official Method Ce 8-89 Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils and Fats by HPLC.

# 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çörek otunun fizikokimyasal özelliklerinin korunması amacı ile katma değerli bir ürün tasarımının gerçekleştirilmesi ve üretim standartlarının belirlenmesinin hedeflendiği çalışmada, teknolojik ürün geliştirmenin yanısıra hammaddeden son ürüne kadar çörek otu tohumunda bulunabilecek doğal bileşenler, kalıntılar ve bulaşanlar hakkında da bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada çörek otu tohumlarından soğuk pres yöntemi ile yağ elde edilmiş ve elde edilen yağı hammadde olarak kullanılarak yumuşak jelatin kapsül üretilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen yumuşak jelatin kapsüllerde bulunan çörek otu tohumu yağının, amber renkli şişelerde ışıktan uzak, serin ve kuru yerde muhafaza edilen sıvı formlara kıyasla fizikokimyasal özelliklerinin daha uzun süre korunacağı öngörülmüş olup analiz sonuçları ile bu sav desteklenmiştir.

## 4.1. Hammadde Analiz Sonuçları

Çörek otu tohumu, gerçekleştirilen bilimsel çalışmalarda pek çok besin maddesi içermesinin yanısıra vitamin-mineral bakımından da iyi bir kaynak olarak tanımlanmakta, bileşimindeki maddeler nedeni ile destek ve tedavi amacı ile de yüzyıllardır kullanılan bir bitki olarak bilinmektedir. Çalışma kapsamında temin edilen tohumlarda pestisit, aflatoksin gibi bulaşanlar ile birlikte hammaddede bulunan mineral bileşenlerin de çalışma kapsamında değerlendirilmesi ve bu bileşenlerden son ürüne geçen maddeler hakkında bilgi edinilmesi amacı ile mikrobiyolojik analizler, pestisit, aflatoksin, mineral madde, ağır metal analizleri ARGEFAR İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi Çevre ve Gıda Analiz Laboratuvarları'nda analizler gerçekleştirilmiş ve sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Çörek otu tohumu analizleri

| a. Çörek otu tohumu mikrobiyolojik analizler | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Analiz** | **Analiz Yöntemi** | **Cihaz** | **Sonuç** | **NTS**** |
| Toplam bakteri* | EN ISO 4833 | | 490000 kob/g | - |
| *Escherichia coli* | EN ISO 16649-1/2 | | <10 kob/g | - |
| *Salmonella* | TS EN ISO 6579 | | Tespit edilemedi | - |
| Küf ve maya analizi* | TS 7698 | | 6000 kob /g | - |
| Nem analizi | İşletme içi metot -7 | Etüv | 0.06 % | 0.00% |
| Quechers ile kalıntı pestisit analizi* | Quechers / AOAC 2007.01 | LC MS/MS | | |
| EBDC (Ethylen bis dithiocarbamate Toplam ditiyokarbomat)* | Development of automated headspace gas chromatography determination of dithiocarbamates in plant matrixes | GC MSD - HEADSPACE | Tespit edilemedi | 0.010 mg/kg |
| b. Çörek otu tohumu pestisit ve aflatoksin analizleri | | | | |
| **Analiz** | **Analiz Yöntemi** | **Cihaz** | **Sonuç** | **NTS**** |
| LC-MS/MS grubu pestisitler * | DFG S-19 | LC-MS/MS | Tespit edilemedi | |
| Kalıntı pestisit analizi* | DFG S-19 | GC – MSD / GC –ECD / GC –NPD | Tespit edilemedi | |
| Aflatoksin - A1 * | AOAC 999.07 | IAC – HPLC – FLD | Tespit edilemedi | |
| Toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) | | | T.E.D.B. | - |
| Aflatoksin B1 | | | T.E.D.B. | 0.801 µg/kg |
| Aflatoksin B2 | | | T.E.D.B. | 0.340 µg/kg |
| Aflatoksin G1 | | | T.E.D.B. | 0.192 µg/kg |
| Aflatoksin G2 | | | T.E.D.B. | 0.682 µg/kg |
| PCB – 8 | DFG S -19 | GC – MSD / GC –ECD / GC –NPD | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 20 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 28 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 35 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 52 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 77 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 81 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 101 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 105 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 114 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 118 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 123 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 126 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 138 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 153 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 156 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 157 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 167 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 169 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 189 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |

T.E.D.B. : Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmamıştır.

| c.Çörek otu tohumu ağır metal analizi | | |
|---|---|---|
| Analiz Yöntemi | : İşletme içi metot -11 | |
| Kullanılan Cihazlar | : ICP MS | |
| **Yapılan Analiz** | **Sonuç** | **NTS**** |
| Aluminyum | 34.320±8.031 mg/kg | 0.002 mg/kg |
| Antimon | 0.002±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Bor | 17.850±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Gümüş | 0.187±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Molibden | 0.314±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Talyum | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Arsenik | 0.044±0.004 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Bakır | 17.830±4.458 mg/kg | 0.012 mg/kg |
| Baryum | 7.212±2.510 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Civa | 0.033±0.007 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Demir | 91.630±21.441 mg/kg | 0.049 mg/kg |
| Kadmiyum | 0.018±0.005 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Kalsiyum | 5168.00±2067.200 mg/kg | 0.221 mg/kg |
| Kobalt | 0.192±0.032 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Krom | 0.125±0.020 mg/kg | 0.007 mg/kg |
| Kurşun | 0.103±0.016 mg/kg | 0.004 mg/kg |
| Magnezyum | 2345.00±1013.040 mg/kg | 0.032 mg/kg |
| Mangan | 25.510±16.990 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Nikel | 5.261±1.684 mg/kg | 0.004 mg/kg |
| Potasyum | 8039.00±1607.80 mg/kg | 0.016 mg/kg |
| Selenyum | 0.587±0.053 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Sodyum | 34.470±13.443 mg/kg | 0.576 mg/kg |
| Vanadyum | 0.055±0.009 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Kalay | 0.093±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Çinko | 51.190±4.607 mg/kg | 0.017 mg/kg |

***NTS : Nicel Tayin Sınırı*

Çörek otu tohumları mikrobiyolojik olarak ele alındığında; Al-Jassir (1992)'in gerçekleştirdiği çalışmada Suudi Arabistan *Nigella sativa* tohumlarının mikroflorası incelendiğinde toplam aerobik bakteri $7x10^7$ kob/g, toplam aerobik sporformlar $4x10^4$ kob/g, *Bacillus cereus* $<10^2$ kob/g, *Staphylococcus aureus* $<10^2$ kob/g, küf ve maya $4x10^2$ kob/g olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerde *Nigella sativa* tohumlarında toplam bakteri 490.000 kob/g, *E. coli* <10 kob/g, küf ve maya 6000 kob/g, *Salmonella* ise tespit edilemeyen düzeyde bulunmuştur. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında toplam bakteri miktarının daha düşük, maya ve küf miktarının ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Maya ve küf miktarındaki artışın depolama koşulları ve ürünün hasat edildiği dönem ve bölgedeki nem miktarı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca sonuçlar; Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011) bitki kriterleri ile karşılaştırıldığında bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerde tespit edilen mikrobiyolojik yük *Salmonella* suşları için tespit edilemeyen düzeyde olup yönetmelikte verilen 0-25 kob/g, ayrıca

maya ve küfler için tespit edilen 6000 kob/g miktarı da yönetmelikte belirtilen belirtilen min $10^4$ ve maks $10^5$ değerlerinin altında kalmaktadır.

Aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve pestisit yükü açısından çörek otu tohumları incelendiğinde herhangi bir bulaşan ve kalıntı tespit edilmemiştir.

Çörek otu tohumları sonraki aşamada mineral içerikleri bakımında incelenmiştir. Bu konuda Al- Saleh ve ark. (2006) tarafından farklı menşeili çörek otu tohumlarında gerçekleştirilen çalışmada tohumların kalsiyum, demir ve potasyum kaynağı olduğu belirtilmiştir. Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise Tunus ve İran orijinli *Nigella sativa* türlerinde bulunan mineraller sırası ile; potasyum 783±6.61 mg/kg , 708±7,98 mg/kg, magnezyum 235±4.87 mg/kg, 260±48.70 mg/kg, kalsiyum 572±21.5, 564±33.4 mg/kg, fosfor 48.9±0.04, 51.9±0.01 mg/kg, sodyum 20,8±2.21, 18.5±3.17, demir 8.65±0.65 mg /kg, 9.42±0.88 mg/kg, bakır 1.65±0.03 mg/kg, 1.48±0.21mg/kg, çinko 8.04±0.21 mg/kg, 7.03±0.49 mg/kg, mangan 4.43±0.11 mg/kg, 3.37±0.21 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Al-Jassir (1992) Suudi Arabistan çörek otu tohumlarında gerçekleştirdiği araştırmada ise potasyum 76±4.2 mg/kg, fosfor 18±2.3 mg/kg, sodyum 7.5±1.0 mg/kg, demir 1.5±0.4 mg/kg, çinko 0.6±0.15 mg/kg, kalsiyum 0.4±0.08 mg/kg, magnezyum 0.3±0.05 mg/kg, mangan 0.2±0.03 mg/kg, bakır 0.2±0.02 mg/kg olarak belirlenmiştir. Hammaddede gerçekleştirilen mineral madde analizlerinde alüminyum 34.320±8.031 mg/kg, antimon 0.002±0.000 mg/kg, bor 17.850±0.000 mg/kg, gümüş 0.187±0.000 mg/kg, molibden 0.314±0.000 mg/kg, talyum tespit edilemeyen düzeyde, arsenik 0.044±0.004 mg/kg, bakır 17.830±4.458 mg/kg, baryum 7.212±2.510 mg/kg, civa 0.033±0.007 mg/kg, demir 91.630±21.441 mg/kg, kadmiyum 0.018±0.005 mg/kg, kalsiyum 5168.00±2067.200 mg/kg, kobalt 0.192±0.032 mg/kg, krom 0.125±0.020 mg/kg, kurşun 0.103±0.016 mg/kg, magnezyum 2345.00±1013.040 mg/kg, mangan 25.510±16.990 mg/kg, nikel 5.261±1.684 mg/kg, potasyum 8039.00±1607.80 mg/kg, selenyum 0.587±0.053 mg/kg, sodyum 34.470±13.443 mg/kg, vanadyum 0.055±0.009 mg/kg, kalay 0.093±0.000 mg/kg, çinko 51.190±4.607 mg/kg olarak bulunmuştur. Analiz sonuçları incelendiğinde potasyum (8039.00±1607.80 mg/kg), kalsiyum (5168.00±2067.200 mg/kg), ve magnezyumun (2345.00±1013.040 mg/kg) Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen çalışmada belirtildiği gibi en yüksek oranda olduğu görülmüştür. Gerçekleştirilen analizlerde ayrıca bakır (17.830±4.458 mg/kg), demir (91.630±21.441 mg/kg), mangan (25.510±16.990 mg/kg), sodyum

(34.470±13.443 mg/kg), çinko (51.190±4.607 mg/kg) miktarlarının Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) ile Al-Jassir (1992) tarafından gerçekleştirilen araştırmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılıkların nedeni ise ürün yetiştirilme şartları, iklimsel ve coğrafi farklılıklar olarak yorumlanabilir.

## 4.2. Çörek Otu Tohumu Yağı Analizleri

Çörek otu tohumu ürün özelliklerinin en iyi derecede korunabileceği ve tohumdaki elzem maddelerin yağa en iyi şekilde geçebileceği, herhangi bir kimyasal madde ve ısıl işlem uygulamasının kullanılmadığı soğuk pres yöntemi ile işlenerek çörek otu tohumu yağı elde edilmiştir. Tohumda gerçekleştirilen analizler yağ bazında da yapılmıştır. Ayrıca çörek otu tohumu yağının sterol yapısı ile ilgili analizler de yapılarak Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Çörek otu yağı analiz sonuçları

a.Çörek otu tohumu yağı mikrobiyolojik analizler

| **Analiz** | **Analiz Yöntemi** | **Cihaz** | **Sonuç** | **NTS**** |
|---|---|---|---|---|
| Toplam Bakteri* | EN ISO 4833 | | < 100 kob/g | - |
| *Escherichia coli* | EN ISO 16649-1/2 | | <10 kob/g | - |
| *Salmonella* | TS EN ISO 6579 | | Tespit edilmedi | - |
| Küf ve maya analizi* | TS 7698 | | <10 kob/g | - |
| Nem analizi | İşletme içi metot -7 | Etüv | 0.06 % | %0.00 |
| Quechers ile kalıntı pestisit analizi* | Quechers / AOAC 2007.01 | LC MS/MS | - | - |
| EBDC (Ethylen bıs dithiocarbamate Toplam ditiyokarbomat)* | Development of automated headspace gas chromatography determination of dithiocarbamates ın plant matrixes | GC MSD - HEADSPACE | Tespit edilemedi | 0.010 mg/kg |

b.Çörek otu tohumu yağı pestisit ve aflatoksin analizleri

| **Analiz** | **Analiz Yöntemi** | **Cihaz** | **Sonuç** | **NTS**** |
|---|---|---|---|---|
| LC-MS/MS Grubu pestisitler * | DFG S -19 | LC-MS/MS | - | |
| Kalıntı pestisit analizi* | DFG S -19 | GC – MSD / GC –ECD / GC –NPD | - | |
| Aflatoksin - A1 * | AOAC 999.07 | IAC – HPLC – FLD | | |
| Toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) / Total aflatoxin (B1+B2+G1+G2) | | | T.E.D.B. | - |
| Aflatoksin B1 | | | T.E.D.B. | 0.801 µg/kg |
| Aflatoksin B2 | | | T.E.D.B. | 0.340 µg/kg |
| Aflatoksin G1 | | | T.E.D.B. | 0.192 µg/kg |
| Aflatoksin G2 | | | T.E.D.B. | 0.682 µg/kg |
| PCB – 8 | DFG S -19 | GC – MSD / GC –ECD / GC –NPD | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 20 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 28 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 35 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 52 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 77 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 81 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 101 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 105 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 114 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 118 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 123 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 126 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 138 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 153 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 156 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 157 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 167 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 169 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |
| PCB – 189 | | | Tespit edilemedi | 0.005 mg/kg |

T.E.D.B. : Tespit edilebilir düzeyde bulunmamıştır.

***NTS : Nicel Tayin Sınırı*

c.Çörek otu tohumu yağı ağır metal analizi

Analiz Yöntemi : İşletme içi metot -11
Kullanılan Cihazlar : ICP MS

| Yapılan Analiz | Sonuç | NTS |
|---|---|---|
| Aluminyum | 0.861±0.201 mg/kg | 0.002 mg/kg |
| Antimon | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Bor | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Gümüş | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Molibden | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Talyum | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Arsenik | 0.007±0.001 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Bakır | 0.108±0.027 mg/kg | 0.012 mg/kg |
| Barium | 0.090±0.031 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Civa | Tespit edilemedi | 0.003 mg/kg |
| Demir | 2.038±0.477 mg/kg | 0.049 mg/kg |
| Kadmiyum | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Kalsiyum | 37.990±15.196 mg/kg | 0.221 mg/kg |
| Kobalt | Tespit edilemedi | 0.001 mg/kg |
| Krom | Tespit edilemedi | 0.007 mg/kg |
| Kurşun | 0.048±0.008 mg/kg | 0.004 mg/kg |
| Magnezyum | 2.690±1.162 mg/kg | 0.032 mg/kg |
| Mangan | 0.148±0.099 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Nikel | 1.091±0.349 mg/kg | 0.004 mg/kg |
| Potasyum | Tespit edilemedi | 0.016 mg/kg |
| Selenyum | 0.348±0.031 mg/kg | 0.003 mg/kg |
| Sodyum | 7.796±3.040 mg/kg | 0.576 mg/kg |
| Vanadyum | Tespit edilemedi | 0.003 mg/kg |
| Kalay *** | 0.150±0.000 mg/kg | 0.001 mg/kg |
| Çinko | 1.124 ±0.101 mg/kg | 0.017 mg/kg |

d.Çörek otu tohumu yağı sterol içeriğinin belirlenmesi

Analiz Yöntemi : COI/T.20/Doc. No. 10/ Rev.1
Kullanılan Cihazlar : GC FID

| Yapılan Analiz | Sonuç | NTS** |
|---|---|---|
| 24-Metilen Kolesterol | %0.06 | - |
| Beta-Sitosterol | %52.99 | - |
| Brasikaterol | %0.00 | - |
| Delta-5,23-Stigmastadienol | %0.047 | - |
| Delta-5,24-Stigmastadienol | %0.45 | - |
| Delta-5-Avenastenol | %9.84 | - |
| Delta-7-Avenasterol | %1.74 | - |
| Delta-7-Kampesterol | %0.00 | - |
| Delta-7- Stigmastenol | %0.45 | - |
| Eritrodiol | %0.00 | - |
| Kampestanol | %0.70 | - |
| Kampesterol | %9.86 | - |
| Klerosterol | %1.05 | - |
| Kolesterol | %0.00 | - |
| Sitostanol | %1.68 | - |
| Stigmasterol | % 12.54 | - |
| Toplam Beta-Sitosterol | %66.00 | - |
| Toplam Sterol | 1834.0 mg/kg | - |

Analiz Yöntemi : COI/T.20/Doc. No. 11/ Rev.1
Kullanılan Cihazlar : GC FID
Stigmastedien : 1.20±0.48 mg/kg

| e.Çörek otu tohumu yağı triaçilgliserollerin gerçek ve teorik farkının belirlenmesi | | |
|---|---|---|
| Analiz Yöntemi | : COI/T.20/Doc. No. 20/ Rev.2 | |
| Kullanılan Cihazlar | : HPLC-RID, GC-FID | |
| **Yapılan Analiz** | **Sonuç** | **NTS**** |
| Trilinolein | %19.65 | - |
| ECN 42 Farkı | 0.06±0.02 mol | - |

| f.Çörek otu tohumu yağı kimyasal analizler | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Analiz** | **Analiz Yöntemi** | **Cihaz** | **Sonuç** | **NTS**** |
| Yoğunluk 20 $^{0}$ C | TS 7059<br>ISO 6883 | Piknometre | 0.908 g/mL | - |
| Çözünmeyen safsızlık içeriğinin tayini | TS EN ISO 663 | - | %0.010±0.004 | - |
| Delta K analizi | COI/T20/Doc. No 19/Rev. 3 | Spektrofotometre | | |
| $K_{232}$ | | | 2.489 | |
| $K_{270}$ | | | 0.600 | - |
| DELTA K | | | 0.121±0.120 | - |
| Erime noktası tayini | TS EN ISO 6321 | SFR Optimelt | -5.0 $^{0}$ C | |
| Kırılma indisi tayini | TS 4960<br>EN ISO 6320 | Refraktif indeks | 1.4664 | |
| Parlama noktası analizi | TS ISO 15262 | Flash point | 0.000 / 0.0 $^{0}$ C | - |
| Renk tayini | TS 7959 | Lovibond tintometre | R : 13<br>Y : 73<br>B : 3<br>N : 0 | |
| Wax içeriğinin belirlenmesi analizi | COI/T.20/DOc. No 18/Rev. 2 | GC-FID | C 40 : 5.30 mg/kg<br>C 42 : 19.8 mg/kg<br>C 44 : 33.6 mg/kg<br>C 46 : 24.8 mg/kg<br>Toplam :<br>83.4±20.9 mg/kg | |

Mikrobiyolojik açıdan ele alındığında; çörek otu tohumu yağında tespit edilen toplam bakteri miktarı <100 kob/g, *E. coli* <10 kob/g, *Salmonella* tespit edilemeyen düzeyde, küf ve mayalar ise <10 kob/g düzeyindedir. Çörek otu tohumunda gerçekleştirilen analiz sonuçları ile aynı tohumdan elde edilen yağ sonuçları karşılaştırıldığında toplam bakteri miktarının 490,000 kob/g'dan <100 kob/g'a, küf ve maya miktarı 6000 kob/g'dan 10 kob/g'ın altına düşmüştür. E.coli ve *Salmonella* miktarları ise tohum ve yağda sırasıyla <10 kob/g ve tespit edilemeyen düzeyde belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak yağın iyi bir besiyeri olmadığı, mikrobiyal gelişme için uygun bir ortam oluşturmayacağı görülmektedir. Bu anlamda da çörek otu tohumu yağı mikrobiyal kontaminasyon açısından tohuma kıyasla daha güvenilir olarak addedilebilir.

Pestisit ve aflatoksin açısından tohum ve yağ analizleri incelendiğinde çalışma için kullanılan tohumlarda herhangi bir şekilde aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve pestisitler tespit edilmemiştir. Aynı şekilde yağda da aflatoksin ve pestisit bulunmamıştır. Buradan yola çıkarak çalışmada kullanılan tohumların yetiştirilmesi, depolanması ve sevkiyatı esnasında aflatoksin ve pestisite maruz kalmadığı, aynı şekilde aflatoksin ve pestisit açısından güvenilir bir içeriğe sahip tohumların da proses esnasında herhangi bir şekilde kontamine olmadığı görülmektedir.

Mineral bileşenler açısından incelendiğinde; çörek otu tohumlarından soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağda yapılan mineral madde analizleri sonucunda tohumda en fazla miktarda bulunan potasyum, kalsiyum ve magnezyum minerallerinden potasyumun yağda tespit edilemediği, kalsiyum miktarının 37.990±15.196 mg/kg, magnezyum miktarının ise 2.690±1.162 mg/kg olduğu, demir bileşeninin de 2.038±0.477 mg/kg miktarı ile yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir.

Sterol bileşenler bakımından; çörek otu yağında tespit edilen toplam sterol oranı 1.834 g/kg ile sızma zeytinyağı için literatürde verilen 1.5 g/kg (Salvador ve ark., 2001) değerlerinin üzerinde olup ham mısır yağı (8.5 g/kg), kanola yağı (8.2 g/kg), ayçiçek yağı (4.3 g/kg) ve soya yağı (3.5 g/kg) toplam sterol değerlerinin altındadır (Guderjan ve ark., 2005; Hafidi ve ark., 2005). Fakat elde edilen veriler Tunus (2.81 g/kg) ve İran'dan (2.58 g/kg) elde edilen *Nigella sativa* türlerinden daha düşük değerdedir. Sterol komponentleri içinde beta-sitosterol %52.99 ve stigmasterol %12.54 oranları ile başlıca komponentler olup, bu bileşenlerin toplam sterol içeriğinin %65.53'ünü oluşturduğuna dair yapılan çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Cheikh-Rouhou ve ark., 2008). Ramadan ve Mörsel (2004) tarafından Almanya'da yetişen *Nigella sativa* tohumları üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada betasitosterollerin (1.182 g/kg) başlıca komponent olduğu ve bunu delta-5-avenasterol (1.025 g/kg) ile delta-7-avenasterolün (0.809 g/kg) takip ettiği, kampesterol ve stigmasterolün daha düşük seviyelerde bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan tohumlarda ise bu sıralama kısmen benzer şekilde betasitosterol (%52.99), stigmasterol (%12.54), kampesterol (%9.86), delta-5-avenasterol (%9.84), delta-7-avenasterol (%1.74) şeklindedir. Kiralan ve ark. (2014)'nın gerçekleştirdiği çalışmada da benzer bir sıralama tespit edilmiştir. Nergiz ve Ötleş (1993) tarafından Türkiye'de yetişen Nigella türlerinde gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise başlıca komponentlerin betasitesterol (%69.4), stigmasterol (%18.6) ve kampesterol (%11.9) olduğu belirtilmiştir. Başlıca sterol komponentleri

sıralamasında oransal farklılıklar bulunsa bile gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen sonuçlar ile sıralama açısından benzer olduğu görülmüştür.

Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) çalışmasında Tunus ve İran çörek otu tohumundan elde edilen yağların fizikokimyasal özelliklerini incelemiş $K_{232}$ değerleri sırası ile 1.07±0.01, 0.74±0.03 ve $K_{270}$ değeri 0.27±0.31, 0.18±18.68 olarak bulunmuştur. Ramadan ve Mörsel (2004) çalışmalarında ise bu değerler sırası ile 3.6 ve 1.2 olarak belirtilmiştir. Çalışmada bulunan değerler ise $K_{232}$: 2.489 ve $K_{270}$ : 0.600 olup bu da çalışılan tohumdan elde edilen yağın primer ve sekonder oksidasyon ürünlerini literatürde belirtilen çeşitlerden daha fazla içerdiğini göstermektedir.

Renk değerleri Atta (2003) çalışmasında soğuk pres metodu ile elde edilen çörek otu tohumu yağında R: 08, Y:42, B:14, çözücü ektstraksiyonu ile elde edilen yağda ise R:11, Y:42, B:81 olarak bulunmuştur. Gerçekleştirilen çalışmada ise R: 13, Y:73, B:3 olarak tespit edilmiştir.

Tüm bu sonuçlardan hareketle; çörek otu tohumu yağı sterol kompozisyonu, refraktif indeks ve renk değerlerinde tespit edilen farklılıkların; tür ve çeşit farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi, ürünün yetiştirildiği bölge, depolama koşulları, olgunlaşma aşamaları, toplama zamanı, yetiştirme şartları ile de ilgili olabilir. Ayrıca ürünün yetiştirildiği coğrafi koşullar, iklim farklılıkları da fizikokimyasal özellikleri etkilemektedir.

### 4.3. Çörek Otu Tohumu Yağı Yumuşak Kapsül Analizleri

Yumuşak kapsül üretimi Türkiye'de sınırlı sayıda tesiste gerçekleştirilmekte olup, çalışma için Avrupa ve Amerika Farmakopeleri, WHO Monografları ve özellikle ilaç üretimi için uygulanan şartlar incelenmiştir (Anonymous, 2013; Anonymous,, 2014; Anonymous, 2014). Kapsül bileşiminde kullanılacak formülasyon için farklı parametreler incelenmiş ve %40 Jelatin, %40 saf su ve %20 gliserin oranları ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Brox, 1988, Karim ve Bhat , 2009).

Çörek otu tohumu yağı kapsülü üretimlerinde çalışma için kullanılacak hammadde ve yardımcı maddelerin kombine edildiği en verimli çalışabileceği optimum üretim şartları belirlenmiştir (Çizelge 3.8). Kapsül ağırlığı belirlenirken Katabi ve ark. (2012) tarafından Tip 2 diyabet hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada 2 g/gün olarak tüketilen çörek otu tohumunun kanda bulunan lipid seviyesinin

düzenlenmesinde etkili olduğu ayrıca aterosklerozis ve kardiyovasküler rahatsızlıklara karşı koruyucu olarak etkili olduğunun belirtildiği çalışma esas alınmıştır. Ayrıca yetişkinler tarafından yutma zorluğunun yaşanmadan tüketilebilecek, günlük önerilen dozunu sağlayabilecek ve ekipmanların üretim kabiliyetine uygun bir dozaj olan 900 mg çörek otu tohumu yağı kullanılarak deneme üretimleri gerçekleştirilmiştir.

Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül dolumu için Çizelge 4.2'de verilen üretim şartları ve limitler uygulanmıştır. Depolama esnasında düşük sıcaklık ve yüksek neme (4 $^0$C ve %75 bağıl nem) maruz kalan yumuşak kapsüllerin yapısının deforme olacağı ve kırılgan hale geleceği, ayrıca kapsül dolum içeriğinde bulunacak su ve propilen glikolün de kapsül yapısını olumsuz etkileyeceği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Nazzal ve Wang, 2001, Kontny ve Mulski, 1989). Bu nedenle üretim ve depolama alanlarında bağıl nem en fazla %40 ve ortam sıcaklığı 25 $^0$C'de tutulmuştur.

Jelatin kapsül formülasyonları ouşturulurken saf su, gliserin ve jelatin yüzde miktarlarının sırası ile % 40, 20, 40 - % 37, 20, 44 - % 36, 28, 36 olduğu formülasyonlar denenmiştir. Bu formülasyonlardan % 40 saf su, % 20 gliserin ve % 40 jelatin içeren deneme grubunda su miktarını yüksek oluşu nedeni ile ekstra vakum ihiyacı duyulmuş ve üretim esnasında jelatin filmlerinde kopmalar ve yırtılmalar görülmüştür. % 37 saf su, % 20 gliserin ve % 44 jelatin içeren formülasyonda ise jelatinin aktarma tankına alınırken daha vizkoz bir yapıda olduğu görülmüş, yumuşak kapsül üretim aşamasında kapsül bağlantı noktalarının tam olarak yapışmadığı ve kapsüllerin üretim hattında ve dinlendirme esnasında bağlantı noktalarından açılarak deforme olduğu gözlenmiştir. % 36 saf su, % 28 gliserin ve % 36 jelatin içeren formülasyon ise üretim, aktarma, yumuşak kapsül oluşturma ve depolama aşamlarında optimum bir ürün elde edilmesine olanak sağlamıştır.

Kapsüllerde üretim esnasında gerçekleştirilecek analizler, dağılım homojenliği, kapsül boyutu, kapsül bileşim yerlerinin sağlamlığı, çözünme oranları olarak belirlenmiştir (Anonymous, 2013; Anonymous,, 2014; Anonymous, 2014).

**Çizelge 4.2.** Çörek otu yağı yumuşak kapsül üretim parametreleri

**a.** Jelatin formülasyonu deneme parametreleri , %

| **İşlem** | **Formülasyon Denemeleri** | | |
|---|---|---|---|
| | **1** | **2** | **3** |
| Saf su | 40 | 37 | 36 |
| Gliserin | 20 | 20 | 28 |
| Jelatin | 40 | 44 | 36 |

**b.** Üretim ve analiz parametreleri

| **Proses** | **Test** | **Kabul Kriterleri** |
|---|---|---|
| Kapsül Dolum Genel Numuneler | Dolum odası nemi | < %40 RH |
| | Görünüş | Şeffaf , sarımsı – kahverengi, oval yumuşak jelatin kapsül |
| | Tek kapsül ağırlığı | 900.0 mg±%10 (810.0 mg- 990,0 mg) |
| | Ağırlık tekdüzeliği | Min. 18/20 900.0 mg±%10 (810.0 mg- 990.0 mg) |
| | | 20/20 900 mg±%20 (720.0 mg- 1080.0 mg) |
| | 10 kapsül ortalama ağırlığı | 900.0 mg±%30 (873.0 mg-927.0 mg) |
| | Dağılma | Maks. 30 dakika(37±2 $^{0}$C) |
| | Jelatin şerit kalınlığı | 30- 32 x $10^{-3}$ inch |
| | Miristik asit (C14:0) | Maks. %0.2 |
| | Palmitik asit (C16:0) | %9.00-15.00 |
| | Stearik asit (C18:0) | %2.00-5.50 |
| | Oleik asit (C18:1) | %18.00-30.00 |
| | Linoleik asit (C18:2) | %52.00- 68.00 |
| | Linolenik asit (C18:3) | Maks. %2.0 |
| | Araşidik asit (C20:0) | Maks. %0.5 |
| | Eikosenoik asit (C20:1) | Maks. %1.00 |
| | Behenik asit (C22:0) | Maks. %0.05 |
| | Eikosadienoik asit (C20:2) | Maks. %3.5 |
| | Lignoserik asit (C24:0) | Maks. %0.1 |
| | DL-alfa tokoferol miktar tayini | Maks. 100.0 µg |
| | DL-alfa tokoferil asetat miktar tayini | Maks. 650.0 µg |
| | Toplam bakteri sayısı | Maks. 104 kob/g |
| | Toplam küf ve mantar sayısı | Maks. 102 kob/g |
| | Bile tolerant gram bakteri sayısı | Maks. 102 kob/g |
| | *Escherichia coli* | Olmamalı |
| | *Salmonella* | Olmamalı |

**Çizelge 4.3.** Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül analiz sonuçları

| Proses | Test | Kabul Kriterleri | | Sonuçlar 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kapsül Dolum Genel Numuneler (Hedef/Ortalama Hız) | Dolum odası nemi | Maks. %40 RH | Başlangıç | %23 RH | %18 RH | %16 RH |
| | | | Orta | %21 RH | %23 RH | %20 RH |
| | | | Son | %22 RH | %23 RH | %21 RH |
| | Görünüş | Şeffaf , sarımsı – kahverengi, oval yumuşak jelaitn kapsül | Karışım | Uygun | Uygun | Uygun |
| | Tek kapsül ağırlığı | 900.0 mg±%10 (810.0 mg-990,0 mg) | Karışım | 896.8 mg | 899.0 mg | 895.5 mg |
| | Ağırlık tekdüzeliği | Min. 18/20 900.0 mg±%10 (810.0 mg-990.0 mg) | Karışım | 20/20 | 20/20 | 20/20 |
| | Ağırlık tekdüzeliği | 20/20 900 mg±%20 (720.0 mg-1080.0 mg) | Karışım | 20/20 | 20/20 | 20/20 |
| | 10 kapsül ortalama ağırlığı | 900.0 mg±%3.0 (873.0 mg-927.0 mg) | Karışım | 896.2 mg | 900.2 mg | 896.5 mg |
| | Dağılma | Maks.30 dk | Karışım | 4’36’’ | 5’42’’ | 5’24’’ |
| | Jelatin şerit kalınlığı | 30- 32 x $10^{-3}$ inch | Karışım | 0.030 inch | 0.030 inch | 0.030 inch |
| | Palmitik Asit | %9.00 -15.00 | Karışım | %12.67 | %12.52 | %12.81 |
| | Stearik Asit | %2.00 – 5.50 | Karışım | %3.40 | %3.42 | %3.66 |
| | Oleik Asit | %18.00 – 30.00 | Karışım | %24.85 | %25.03 | %24.90 |
| | Linoleik Asit | %52.00 – 68.00 | Karışım | %58.54 | %58.49 | %58.00 |
| | Linolenik Asit | Maks. %2.0 | Karışım | %0.0 | %0.0 | %0.0 |
| | Araşidik Asit | Maks. %0.5 | Karışım | %0.2 | %0.2 | %0.28 |
| | Eikosenoik Asit | Maks. %1.00 | Karışım | %0.4 | %0.4 | %0.36 |
| | Behenik Asit | Maks. %0.05 | Karışım | %0.00 | %0.00 | %0.00 |
| | Alfa Tokoferol Miktar Tayini | Maks. 100.0 µg | Karışım | 80.0 µg | 72.5 µg | 35.5 µg |
| | DL-Alfa Tokoferil Asetat Miktar Tayini | Maks. 650.0 µg | Karışım | 494.5 µg | 443.2 µg | 469.7 µg |
| | Toplam bakteri sayısı | Maks. $10^4$ kob/g | Karışım | <10 | <10 | <10 |
| | Toplam küf ve mantar sayısı | Maks. $10^2$ kob/g | Karışım | <10 | <10 | <10 |
| | Bile tolerant gram bakteri | Maks. $10^2$ kob/g | Karışım | <10 | <10 | <10 |
| | *Escherichia coli* | Olmamalı | Karışım | Yok | Yok | Yok |
| | *Salmonella* | Olmamalı | Karışım | Yok | Yok | Yok |

**Çizelge 4.4.** Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül blisterleme kontrol sonuçları

| **Proses** | **Test** | **Kabul Kriterleri** | | **Sonuçlar** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **1** | **2** | **3** |
| Blisterleme | Sızdırmazlık testi | Sızdırma olmamalı | | Uygun | Uygun | Uygun |
| | Toplam bakteri sayısı | Maks. $10^4$ cfu/g | | <10 | <10 | <10 |
| | Toplam küf ve mantar sayısı | Maks. $10^2$ cfu/g | | <10 | <10 | <10 |
| | Bile Tolerant Gram Bakteri Sayısı | Maks. $10^2$ cfu/g | | <10 | <10 | <10 |
| | *Escherichia coli* | Olmamalı | | Yok | Yok | Yok |
| | *Salmonella* | Olmamalı | | Yok | Yok | Yok |
| Primer Ambalajlama | Al folyo yapıştırma uygunluğu | | Karışım | Uygun | Uygun | Uygun |
| | Seri No | | Karışım | 1 | 2 | 3 |
| | Son kullanma tarihi baskısı | | Karışım | Uygun | Uygun | Uygun |
| | Blisterin görünüş uygunluğu | | Karışım | Uygun | Uygun | Uygun |
| | Blisterdeki kapsül sayısı | | Karışım | 10 | 10 | 10 |

Çörek otu tohumu yağının yağ asidi bileşimin fizyolojik etkiler açısından önemli olduğu ve düzenli kullanımlarında bağışıklık sistemini destekleyici, antiviral, antiinflamatuvar, analjezik, antihistaminik, antiastmatik vb. pekçok sağlık faydasını beraberinde getirdiği bilimsel çalışmalar ile de desteklenmiştir (Salem ve Hossain, 2000; Al-Ghamdi, 2001; El-Dakhakhny ve ark, 2002; Salem, 2005; Woo ve ark, 2011). Çalışma kapsamında *Nigella sativa* tohumlarından soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağın yağ asit kompozisyonu, sıvı ürün ve yumuşak kapsül bazında incelenmiş ve elde

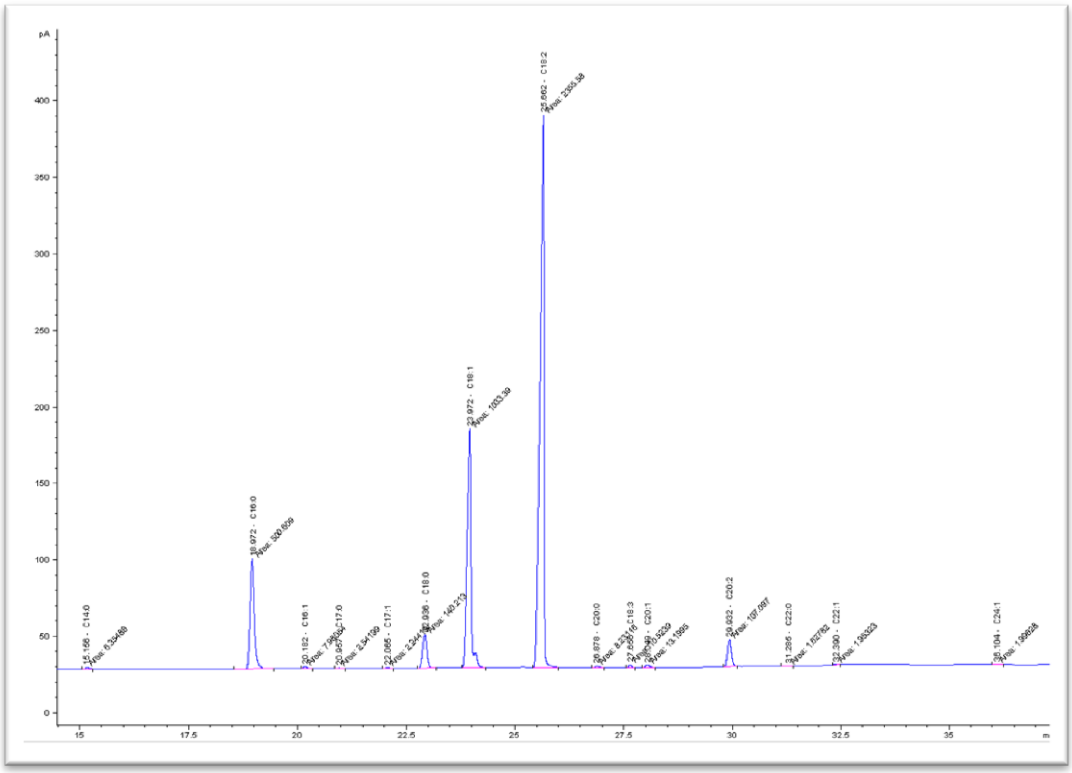
edilen sonuçlar literatürler ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Literatür karşılaştırmalarında öncelikli olarak soğuk pres çörek otu tohumu yağı örnekleri, farklı tohumlardan elde edilen diğer yağların yağ asit kompozisyonları ile kıyaslanması ve Türkiye ve farklı ülkelerden elde edilen çörek otu türlerinin yağlarının karşılaştırılması yapılmıştır. Bu kapsamda ele alınan ilk çalışmada (Lutterodt ve ark., 2010) farklı türlerden soğuk pres yöntemi ile elde edilen çörek otu tohumu yağının yağ asit kompozisyonları incelenmiştir. Sonuçta elde edilen yağda başlıca yağ asitleri %58.90±0.04, %59.41±0.05, %59.54±0.02, %61.20±0.01, %58.83±0.03, %59.29±0.02 oranı ile linoleik asit, %24.51±0.04, %24.08±0.02, %23.95±0.01, %22.63±0.00, %24.45±0.03, %24.37±0.01 oleik asit , %13.01±0.02, %13.05±0.01, %13.08±0.02, %12.90±0.02, %13.25±0.03, %12.96±0.04 palmitik asit olarak tespit edilmiştir. Diğer bileşenler ise %2.56±0.01 - %2.80±0.02 aralığında stearik asit, %0.21±0.02 – %0.28±0.00 aralığında linolenik asit, %0.13±0.02 - %0.15±0.01 aralığında araşidik asit, %0.31±0.01 - %0.35±0.03 aralığında eikosenoik asit olarak bulunmuştur. Kiralan ve ark. (2014)'nın soğuk pres çörek otu tohumu yağ asit kompozisyonu hakkında gerçekleştirdiği çalışmada da sıralama linoleik asit %57.49±0.08, oleik asit %23.95±0.12 ve palmitik asit %12.01±0.09 olarak verilmiş, fakat palmitik asit oranı ilk çalışmadan daha düşük olarak %12.01±0.09 olarak belirlenmiş, diğer yağ asitleri ise şu oranlarda tespit edilmiştir: Miristik asit %0.13±0.00, palmitoleik asit %0.25±0.01, margarik asit %0.06±0.00, heptadesenoik asit %0.03±0.00, stearik asit %2.77±0.09, linolenik asit %0.25±0.00, araşidik asit 0.15±0.00, eikosenoik asit %0.27±001, eikosadienoik asit %2.33±0.04, lignoserik asit %0.31±0.02. Toplam doymuş yağ oranı %15.64±0.01 - %16.23±0.04 aralığında bulunmuş bu değer de benzer çalışmalarda belirtilen soğuk pres kakule (%30.8) yağı doymuş yağ oranından oldukça düşük, deve dikeni (%13.8) ve kavrulmuş kabak çekirdeği (%15.9) doymuş yağ oranlarına yakın olarak değerlendirilmiştir. Aynı şekilde belirtilen doymuş yağ oranı soğuk pres metodu ile elde edilen maydanoz tohumu, kenevir tohumu, yaban mersini çekirdek yağlarının doymuş yağ oranından daha yüksektir. %3.0–24.8 oranı ile tekli doymamış yağ asitlerince zengin olan soğuk pres çörek otu tohumu yağı, kenevir, yaban mersini, deve dikeni yağı ile birlikte değerlendirilebilir fakat belirtilen tekli doymamış yağ asitleri oranı soğuk pres havuç tohumu (%81) ve maydanoz tohumu (%82) yağından oldukça düşüktür (Lutterodt ve ark., 2010). Kiralan ve ark. (2014)'nın gerçekleştirdiği çalışmada da soğuk pres çörek otu tohumu yağının tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri

miktarlarının yüksek olduğu ve yağ asit kompozisyonundaki bu dağılımın çörek otu tohumu yağını, besin destek uygulamaları için özel sayılabilecek bir ürüne dönüştürdüğünü belirtilmektedir.

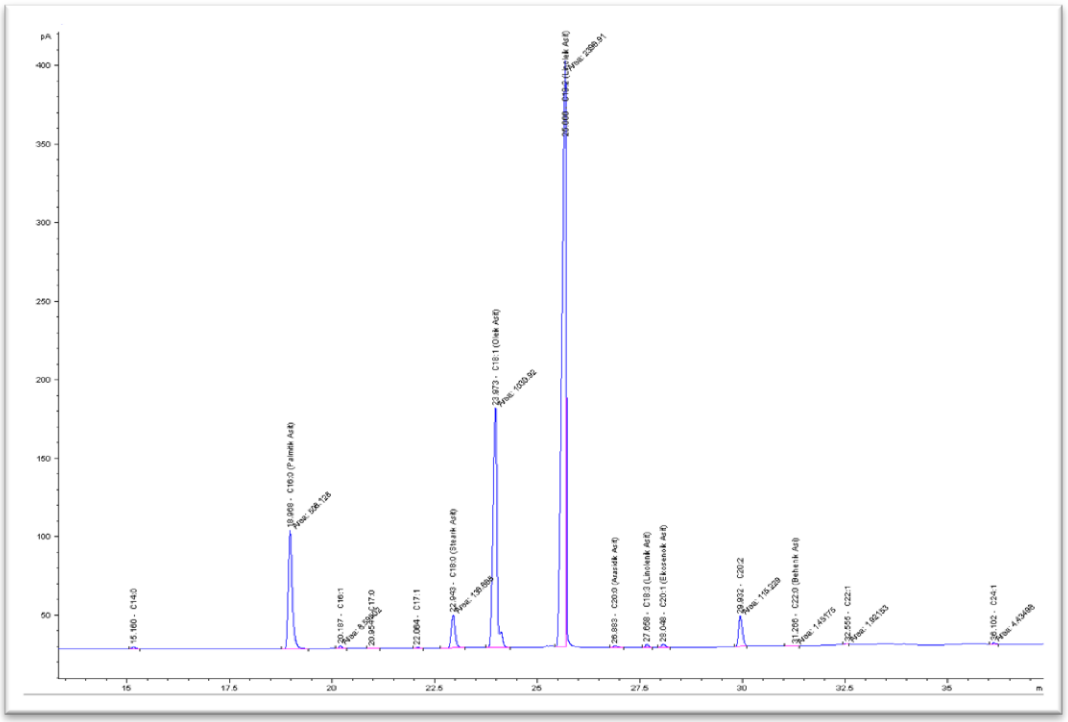
Kökdil ve Yılmaz (2005) tarafından Türkiye'de bulunan *Nigella sativa* türü dışındaki çörek otu tohumlarından elde edilen sabit yağlar ile ilgili gerçekleştirilen çalışmada on farklı çörek otu tohumunu incelenmiştir. Çalışma sonucunda %31.21-69.50 oranında linoleik (C18:2) ve %15.79-36.03 oranında oleik (C18:1) asidin başlıca doymamış yağ asitleri olduğu, %5.88-12.73 oranı ile palmitik (C16:0) asidin ise en yüksek oranda bulunan doymuş yağ asidi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca laurik asit oranı %0.05-0.07, miristik asit %0.09-0.34, palmitoleik asit %0-0.24, heptadesenoik asit %0-3.29, stearik asit %2.47-3.65, araşidik asit %0-0.69, linolenik asit %0-0.40, eikosenoik asit %0.41-23.12, eikosadienoik asit %1.86-9.40, behenik asit %0-0.35 olarak bulunmuştur. Nickavar ve ark. (2003)'ın İran'dan elde edilen *Nigella sativa* tohumlarının sabit yağ miktarları hakkında gerçekleştirdiği çalışmada da %55.6 linoleik (C18:2), %23.4 oleik (C18:1) ve %12.5 palmitik (C16:0) asidin başlıca yağ asitleri olduğunu belirtmiştir. Diğer yağ asitlerin oranı ise laurik asit %0.6, miristik asit %0.5, stearik asit %3.4, linolenik asit %0.4, eikosadienoik asit %3.1 olarak tespit edilmiştir. Mısır'dan elde edilen *Nigella sativa* türlerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da yağ asitleri ele alındığında aynı sıralama elde edilmiştir. Buna göre linoleik asit %47.5±6.5, oleik asit %18.9±5.4, palmitik asit %12.1±3.4 ve diğer yağ asitleri miristik asit %11.1±1.1, palmitoleik asit %0.5±0.1, stearik asit %3.7±1.7, linolenik asit %2.1±0.4, araşidik asit %1.2±0.8, behenik asit %0.9±0.4, dokosenoik asit %0.7±0.4, lignoserik asit %0.2±0.1 tespit edilmiştir (Atta, 2003). Gerçekleştirilen tez çalışmasında çörek otu tohumu yağ asit kompozisyonu ele alınmış, yumuşak jelatin kapsül ve sıvı formların analiz değerleri incelendiğinde; linoleik asit (C 18:2) %56.25±0.20, oleik asit (C 18:1) %24.44±0.11, palmitik asit (C 16:0) %11,88±0.11 oranları ile başlıca yağ asitleri olarak tespit edilmiştir. Bu sıralamayı takip eden yağ asitleri ise şu şekildedir: Stearik asit (C 18:0) %3.31±0.03, eikosadienoik asit (C 20:2) %2.61±0.05, eikosenoik asit (C 20:1) %0,31±0.02, linolenik asit (C 18:3) %0.25±0.02, araşidik asit (C 20:0) %0.21±0.02, palmitoleik asit (C 16:1) %0.19±0.01, miristik asit (C14:0) %0.14±0.01, margarik asit (C 17:0) %0.06±0.00, heptadesonoik asit (C 17:1) %0.05±0.00, dokosenoik asit (C 22:1) %0.04±0.01, behenik asit (C 22:0) %0.03±0.01. Bu sonuçlardan hareketle başlıca yağ asitleri olarak tespit edilen linoleik asit, oleik asit ve

palmitik asit sıralamasının Atta (2003), Nickavar ve ark. (2003), Kökdil ve Yılmaz (2005), Lutterodt ve ark. (2010) ve Kiralan ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Linoleik asit miktarı yukarıda sıralanan araştırma sonuçlarınden elde edilen değerleri karşılaştırıldığında en düşük ve en yüksek değerler %31.21-69.50 olarak belirtilirken çalışma kapsamında incelenen çörek otu tohumu yağında bu oran %56.25±0.20 olarak bulunmuştur. Oleik asit miktarı bahsi geçen diğer çalışmalarda %15.79-36.03 aralığında verilirken çalışma sonucunda tespit edilen oleik asit miktarı %24.44±0.11'dür. Palmitik asit miktarının ise %5.88-13.25 aralığında olduğu gösterilmiş, çalışma kapsamında bu oran belirtilen limitler içinde %11,88±0.11 olarak bulunmuştur. Diğer yağ asitleri ele alındığında sıralamasının Atta (2003), Nickavar ve ark. (2003), Kökdil ve Yılmaz (2005), Lutterodt ve ark. (2010) ve Kiralan ve ark. (2014) çalışmaları ve tez çalışmasının sonuçları sırası ile yağ asidi bazında şu şekilde belirlenmiştir: Stearik asit (C 18:0) %2.47-3.70 , %3.31±0.03, linolenik asit (C 18:3) %0.0-0.40, %0.25±0.02, araşidik asit (C 20:0) %0.0-1.2 , %0.21±0.02, eikosenoik asit (C 20:1) %0.27-23.12, %0,31±0.02, miristik asit (C 14:0) %0.09-11.1, %0.14±0.01, palmitoleik asit (C 16:1) %0.0-0.50, %0.19±0.01, margarik asit (C 17:0) %0.06, %0.06, heptadesenoik asit (C 17:1) %0.0-3.29, %0.05±0.00, eikosadienoik asit (C 20:2) %1.86-9.40, %2.61±0.05, behenik asit (C 22:0) %0-0.90, %0.03±0.01, dokosenoik asit (C 22:1) %0.7, %0.04±0.01.

Elde edilen sonuçlar ile farklı ülkelerde yetiştirilen *Nigella sativa* ve/veya farklı çörek otu tohumlarından elde edilen yağ asit kompozisyonları ile karşılaştırıldığında, çalışmada kullanılan tohumlardan elde edilen yağın belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Yüzde dağılımdaki farklılıkların ise bitkisel üretimin coğrafi koşullar, iklimsel değişiklikler, yetiştirilme şartlarındaki farklılıklar gibi çevresel nedenlere bağlı olabileceği gibi daha düşük yüzdedeki farklılıklar da analiz sonuçlarının okunması esnasındaki farklılıklardan kaynaklanabilir.



**Şekil 4.1.** Çörek otu tohumu yağı sıvı form yağ asidi bileşimi kromatogramı



**Şekil 4.2.** Çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsül yağ asidi bileşimi kromatogramı

**Çizelge 4.4.** Sıvı form ve yumuşak jelatin kapsül analizleri

| AYLAR | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ANALİZLER** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** | **SIVI FORM** | **YJK** |
| FFA (%)(Oleik Asit) | 2.86 | 2.27 | 2.86 | 2.27 | 2.82 | 2.25 | 2.85 | 2.27 | 2.84 | 2.28 | 2.95 | 2.3 | 3.05 | 2.31 | 3.1 | 2.34 |
| Peroksit (meq$O_2$/kg) | 25.9 | 21.5 | 25.7 | 22 | 25.9 | 22.4 | 26.5 | 22.8 | 26.8 | 23 | 29 | 24 | 31 | 24.5 | 32 | 24.7 |
| Kırılma İndisi 20ºC | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 | 1.4737 | 1.4738 |
| Kırılma İndisi 40ºC | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 | 1.4664 | 1.4665 |
| Sabun (ppm) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nem ve Uçuculuk % | 0.372 | 0.331 | 0.370 | 0.329 | 0.368 | 0.327 | 0.366 | 0.325 | 0.364 | 0.323 | 0.362 | 0.317 | 0.359 | 0.315 | 0.357 | 0.314 |
| İyot Sayısı (Wıjs) | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 | 122 | 123 |
| Sabunlaşma Sayısı (mg KOH/g) | 194 | 196 | 194 | 196 | 195 | 197 | 194 | 197 | 194 | 196 | 194 | 196 | 194 | 196 | 194 | 196 |
| Sabunlaşmayan Madde Miktarı (g/kg) | 6.39 | 7.61 | 6.23 | 7.77 | 7.01 | 8.01 | 7.12 | 7.75 | 7.05 | 7.65 | 7.1 | 7.68 | 7.09 | 7.67 | 7.07 | 7.65 |
| Alfa tokoferol (µg/g) | 64.1 | 74.5 | 66.4 | 72.2 | 74.5 | 74.0 | 62.5 | 92.4 | 65.3 | 62.7 | 73.9 | 72.9 | 66.5 | 45.5 | 64.2 | 43.6 |
| Alfa tokoferil asetat (µg/g) | 498,6 | 400.6 | 559,0 | 447.5 | 380.4 | 435.8 | 604.1 | 373.5 | 450.6 | 393.6 | 393.9 | 285.7 | 445.7 | 281.5 | 350.5 | 270.8 |
| **YAĞ ASİT KOMPOZİSYONU** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Miristik Asit (C 14:0) | 0.15 | 0.13 | 0.14 | 0.13 | 0.14 | 0.127 | 0.14 | 0.13 | 0.14 | 0.12 | 0.15 | 0.128 | 0.15 | 0.128 | 0.15 | 0.127 |
| Palmitik Asit (C 16:0) | 11.94 | 11.97 | 11.98 | 11.63 | 11.88 | 11.72 | 11.64 | 11.88 | 11.96 | 11.86 | 11.95 | 11.94 | 11.93 | 11.93 | 11.96 | 11.89 |
| Palmitoleik Asit (C 16:1) | 0.19 | 0.20 | 0.19 | 0.19 | 0.19 | 0.19 | 0.19 | 0.2 | 0.2 | 0.19 | 0.18 | 0.19 | 0.18 | 0.19 | 0.18 | 0.19 |
| Margarik Asit (C 17:0) | 0.061 | 0.067 | 0.065 | 0.067 | 0.067 | 0.065 | 0.062 | 0.065 | 0.065 | 0.064 | 0.064 | 0.064 | 0.064 | 0.063 | 0.065 | 0.062 |
| Heptadesenoik Asit (C 17:1) | 0.054 | 0.052 | 0.053 | 0.048 | 0.059 | 0.051 | 0.056 | 0.058 | 0.05 | 0.057 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| Stearik Asit (C 18:0) | 3.34 | 3.22 | 3.34 | 3.27 | 3.34 | 3.28 | 3.35 | 3.27 | 3.35 | 3.28 | 3.32 | 3.29 | 3.32 | 3.28 | 3.32 | 3.29 |
| Oleik Asit (C 18:1) | 24.64 | 24.28 | 24.57 | 24.43 | 24.59 | 24.37 | 24.49 | 24.62 | 24.41 | 24.41 | 24.34 | 24.35 | 24.36 | 24.35 | 24.3 | 24.34 |
| Linoeik Asit (C 18:2) | 56.17 | 56.45 | 56.19 | 56.32 | 56.21 | 56.43 | 55.57 | 56.33 | 56.37 | 56.25 | 56.32 | 56.37 | 56.21 | 56.35 | 56.33 | 56.31 |
| Linolenik Asit (C 18:3) | 0.25 | 0.23 | 0.24 | 0.23 | 0.26 | 0.22 | 0.23 | 0.23 | 0.26 | 0.22 | 0.25 | 0.22 | 0.23 | 0.21 | 0.22 | 0.22 |
| Araşidik Asit (C 20:0) | 0.2 | 0.19 | 0.22 | 0.2 | 0.21 | 0.19 | 0.22 | 0.19 | 0.22 | 0.21 | 0.24 | 0.21 | 0.22 | 0.2 | 0.26 | 0.19 |
| Eikosenoik Asit (C 20:1) | 0.31 | 0.32 | 0.3 | 0.3 | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.32 | 0.31 | 0.31 | 0.25 | 0.31 | 0.36 | 0.32 | 0.34 | 0.3 |
| Eikosadienoik Asit (C 20:2) | 2.55 | 2.71 | 2.58 | 2.63 | 2.59 | 2.7 | 2.58 | 2.64 | 2.57 | 2.64 | 2.57 | 2.63 | 2.57 | 2.63 | 2.58 | 2.63 |
| Behenik Asit (C 22:0) | 0.039 | 0.034 | 0.031 | 0.038 | 0.038 | 0.028 | 0.036 | 0.032 | 0.032 | 0.037 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 0.04 | 0.02 | 0.03 |
| Dokosenoik Asit (C 22:1) | 0.047 | 0.045 | 0.036 | 0.041 | 0.032 | 0.045 | 0.033 | 0.032 | 0.048 | 0.046 | 0.039 | 0.044 | 0.042 | 0.035 | 0.044 | 0.042 |

Kiralan ve ark. (2014)'nın soğuk pres, mikrodalga ve soxhlet metotları ile elde edilen çörek otu yağlarının fizikokimyasal özelliklerini karşılaştırdığı bir çalışmada serbest yağ asitleri (%oleik asit cinsinden) 7.49±0.96, peroksit değeri (meq $O_2$ /kg yağ) 31.32±0.74, kırılma indisi (20 $^0$C'de) 1.47326±0.00, $K_{232}$ 3.71±0.12, $K_{270}$ 0.66±0.55 olarak belirlenmiştir. Atta (2003) tarafından çörek otu tohumlarının fizikokimyasal özelliklerinin incelendiği çalışmada; yağ verimliliği %24.76, özgül ağırlık 0.9110±0.0003 g/cm$^3$ refraktif indeks (20 $^0$C 'de) 1.4732±0.0001, erime noktası -1.7±0.6 $^0$C, renk K:08, S:42, M:14, serbest yağ asidi (%oleik asit cinsinden) 11.0±0.0, peroksit değeri 13.5±0.2 meq$O_2$/kg, iyot değeri 115±31 wijs, sabunlaşma sayısı 192±2.0 mg KOH/g, sabunlaşmayan madde %1.0±0.4 olarak bulunmuştur. Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) tarafından Tunus ve İran menşeili çörek otu tohumları kullanılarak ede edilen yağların fizikokimyasal özellikleri araştırılmış ve sonuçlar Tunus ve İran tohumlarında sırası ile şu şekilde elde edilmiştir. Refraktif indeks (40 $^0$C) 1,47±0.01 ve 1.46±0.01, serbest yağ asitleri (%) 22.7±0.35 ve 18.6±0.28, sabunlaşma sayısı (mg KOH/g yağ) 211±5.32 ve 218±8.24, iyot sayısı ($I_2$/100 g yağ) 119±3.45 ve 101±2.72, peroksit değeri (meq $O_2$/kg yağ) 5,65±1.87 ve 4.35±1.38'dir. Al- Saleh ve ark. (2006) tarafından farklı menşeili çörek otu tohumlarında yapılan bir çalışmada 0.01-0.40 mg/kg Se, 2.35-22.4 mg/kg alfa-tokoferol, 0-22.79 mg/kg gama tokoferol, 0.13-1.57 mg/kg all-trans retinol bulunduğunu belirtmişlerdir.

Gerçekleştirilen çalışmada kapsül ve sıvı formların fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar ise kapsül ve sıvı form sırası ile serbest yağ asitleri (% oleik asit) 2.29±0.03, 3.92±0.11, peroksit 23.11±1.18, 27.85±2.50, kırılma indisi 20$^0$C 1.47±0.00, 1.47±0.00, kırılma indisi 40$^0$C 1.47±0.00, 1.47±0.00, sabun 0, 0 ppm, nem ve uçuculuk %0.33±0.03, 0.36±0.02, iyot sayısı (wijs) 123.00±0.00, 122.00±0.00, sabunlaşma sayısı 196.25±0.46 mg KOH/g, 194.13±0.35, sabunlaşmayan madde miktarı 7.72±0.13 ve 6.88±0.36 g/kg'dır (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Çalışma kapsamında elde edilen değerler her bir parametre ayrı olarak değerlendirildiğinde; serbest yağ asidi değerleri farklı çalışmalarda % oleik asit cinsinden 7.49±0.96, 11.0±0.0, 22.7±0.35 ve 18.6±0.28 olarak bulunurken kapsül formunda 8 aylık analiz sonuçlarının ortalaması 2.29±0.03, sıvı formda ise 2.92±0.11 olarak bulunmuştur. Ayrıca yumuşak kapsül ve sıvı form için gerçekleştirilen analizlerde sıvı form değerleri üç paralel için gerçekleştirilen çalışmalarda ortalama %2.86-3.1 arasında bulunurken yumuşak kapsül değerleri %2.27-2.34 değerleri arasında seyretmiştir. Bu değerlerden de görüleceği üzere birinci aydan itibaren serbest yağ

asitleri değerlerinin yumuşak kapsüllerde sıvı forma kıyasla daha yavaş gelişim gösterdiği ve sekiz aylık deneme sonuçları ele alındığında ürün kalitesindeki değişimin daha yavaş olduğu görülmektedir. Çalışma içinde belirlenen değerlerinin literatürde belirtilen değerlerden daha düşük olması değerlendirildiğinde ise hammadde kaynaklı sebeplerin yanısıra proses esnasında uygulanan parametrelerinin etkili olduğu söylenebilir.

Yağın kalitesi hakkında bilgi veren diğer bir parametre olan peroksit sayısı ile ilgili çalışmalar 31.32±0.74, 13.5±0.2, 5,65±1.87 ve 4.35±1.38 meq$O_2$/kg değerlerini belirtirken gerçekleştirilen çalışmada peroksit değeri kapsüller için 23.11±1.18 meq$O_2$/kg ve sıvı formlar için 27.85±2.50 meq$O_2$/kg olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarında bulunan peroksit değerleri Balıkesir Bölgesinden elde edilen tohumlarla gerçekleştirilen çalışma sonuçlarından daha düşük değerler gösterirken, Mısır, Tunus ve İran bölgelerinden elde edilen tohumlardan daha yüksek bulunmasının nedeni hammadde kaynaklı olarak yorumlanabilir. Ayrıca deneme üretimleri için kullanılan çörek otu tohumu yağının; üretim, depolama ve filtrasyon esnasında oksijen ile daha uzun süre temas etmesine neden olduğu için peroksit değerinin yükselmesine sebep olan diğer faktörlerden biri olarak dikkate alınabilir.

Çalışma kapsamında kapsül ve sıvı ürün sıralamasında kırılma indisi $20^0$C 1.4738±0.00, 1.4737±0.00, kırılma indisi $40^0$C 1.4665±0.00, 1.4664±0.00 olarak belirlenmiştir. Bu değerler diğer kaynaklarda belirtilen 1.47326±0.00, 1.4732±0.0001, 1.47±0.01 ve 1.46±0.01 verileri ile uyumlu olup değerlerdeki sapmalar hammadde farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

İyot sayısı çalışma kapsamında yumuşak jelatin kapsül ve sıvı formlarda sırası ile 123.00±0.00, 122.00±0.00 wijs olarak elde edilmiş, farklı çalışmalarda iyot sayısı değerleri 115±31, 119±3.45 ve 101±2.72 wijs olarak belirtilmiştir. Değerler birbirine yakın olmakla birlikte yüksek miktardaki iyot sayısı, ürün hammaddesi içindeki doymuş yağ oranının düşüklüğünü işaret etmekte ve değerler arasındaki farklılıklar yağ asit kompozisyonu hakkında fikir vermektedir.

Sabunlaşma sayısı çalışma esnasında gerçekleştirilen analizlerde 196.25±0.46 mg KOH/g ve sıvı ürünlerde 194.13±0.35 mg KOH/g olarak bulunmuştur. Mısır menşeili ürünlerde gerçekleştirilen analizlerde bu değer 192±2.0 mg KOH/g, Tunus'dan elde edilen hammaddelerde 211±5.32 mg KOH/g, İran tohumlarında ise 218±8.24 mg KOH/g olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar elde edilen yağın yapısının Mısır kökenli *Nigella sativa'*ya daha yakın olduğunu göstermektedir.

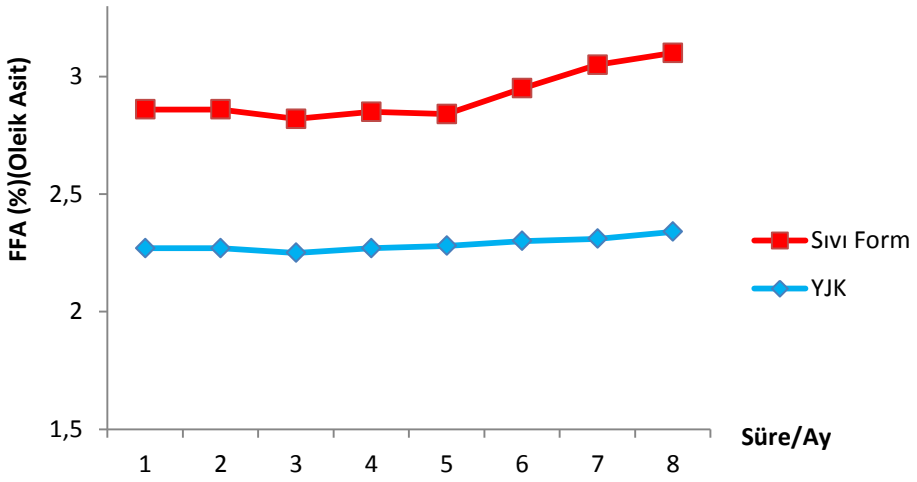
E vitamini ile ilgili analizler incelendiğinde ise; çörek otu tohumu yağı içinde 14 ppm miktarında toplam E vitamini analizlenmiştir. Son ürün içine eklenen 75 µg/g DL-alfa tokoferol ve 500 µg/g DL-alfa tokoferil aseatat ile birlikte analiz sonuçları değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Analiz sonuçlarında başlangıçta görülen değerler eklenen miktarlar ile uyumlu olup, süreç içinde görülen değişiklikler ise E vitamini preparatlarının ürün ile etkileşime girerek öngörülen koruyucu özelliğini yansıttığını göstermektedir.

Sabunlaşmayan madde miktarı yumuşak kapsülde 7.72±0.13 g/kg (%0.7) ve sıvı ürünlerde 6.88±0.36 g/kg (%0.6) olarak tespit edilmiş, farklı bir çalışmada ise bu miktar %1.0±0.4 olarak bulunmuştur. Sabunlaşmayan madde yüzdesindeki farklılık kullanılan hammaddenin genotipi, iklim farklılıkları, olgunlaşma aşamaları ve depolama koşulları ile ilgili olabilir.

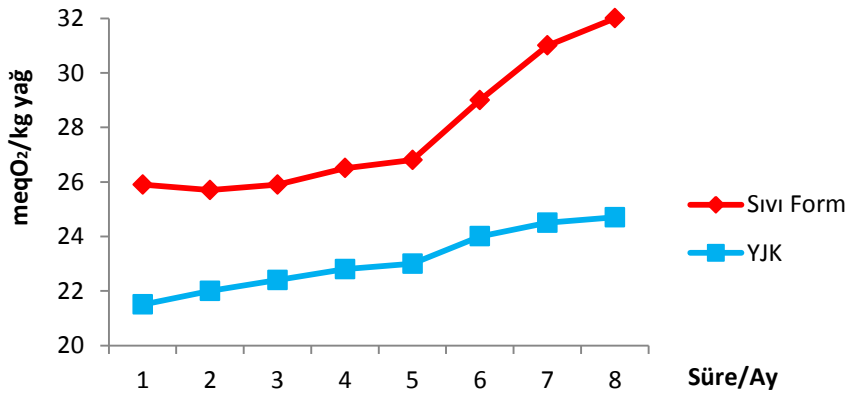
**Çizelge 4.5.** Fizikokimyasal analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

| **Analiz** | **Form** | **Sonuç** |
|---|---|---|
| FFA (%) (Oleik Asit) | Kapsül | 2.29±0.03 |
| | Sıvı Form | 3.92±0.11 |
| Peroksit (meq$O_2$/kg yağ) | Kapsül | 23.11±1.18 |
| | Sıvı Form | 27.85±2.50 |
| Kırılma indisi 20ºC | Kapsül | 1.4738±0.00 |
| | Sıvı Form | 1.4737±0.00 |
| Kırılma indisi 40ºC | Kapsül | 1.4665±0.00 |
| | Sıvı Form | 1.4664±0.00 |
| Sabun (ppm) | Kapsül | 0 |
| | Sıvı Form | 0 |
| Nem ve uçuculuk (%) | Kapsül | 0.32±0.01 |
| | Sıvı Form | 0.36±0.01 |
| İyot sayısı (wijs) | Kapsül | 123.00±0.00 |
| | Sıvı Form | 122.00±0.00 |
| Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g) | Kapsül | 196.25±0.46 |
| | Sıvı Form | 194.13±0.35 |
| Sabunlaşmayan madde miktarı (g/kg) | Kapsül | 7.72±0.13 |
| | Sıvı Form | 6.88±0.36 |

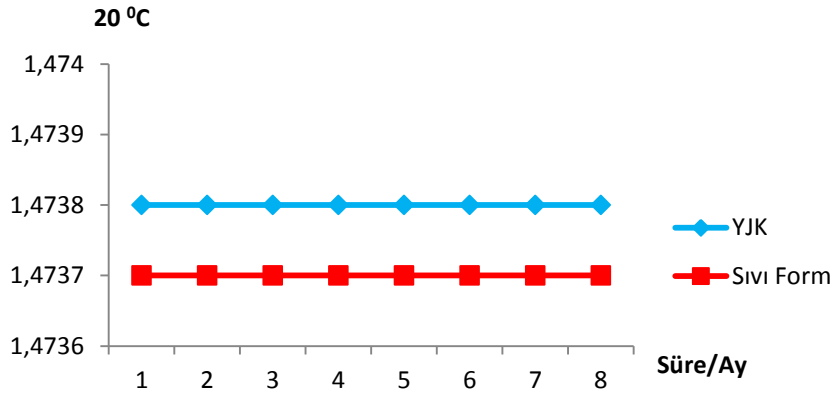
Çalışma kapsamında çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin daha uzun süre korunabileceği, katma değer sağlayacak bir ürün tasarlanması planlanmıştır. Bu amaçla yumuşak jelatin kapsül formu geliştirilerek ürünün kalite parametreleri ve etken maddelerin daha uzun süre istenilen limitler içinde tutulması amaçlanmıştır. Gerçekleştirilen analizler ile çörek otu tohumu yağının tüketilebilirliğini etkileyen başlıca kalite parametreleri olan serbest yağ asitleri ve peroksit değerlerindeki değişimlerin sıvı formlar ve yumuşak kapsül formlarındaki gelişimleri gözlemlenmiş ve analiz sonuçları Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 4.7., 4.8 ve 4.9'da grafiksel olarak da verilmiştir.



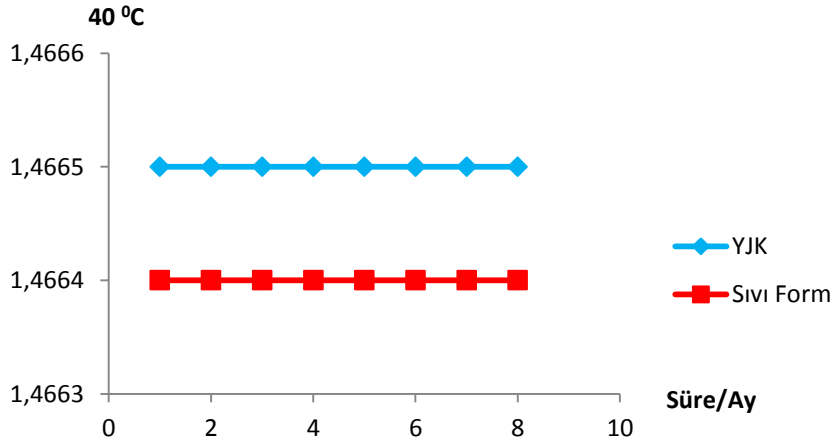

**Şekil 4.3.** Serbest yağ asidi gelişimi



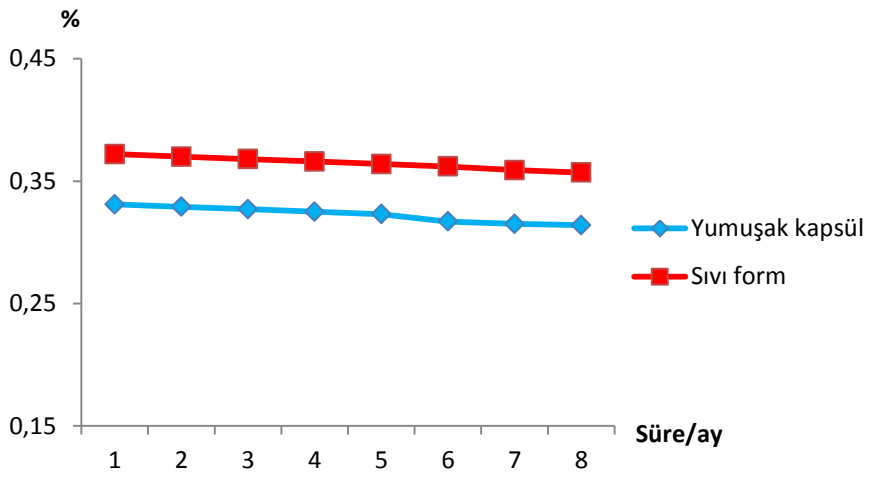

**Şekil 4.4**. Peroksit değeri



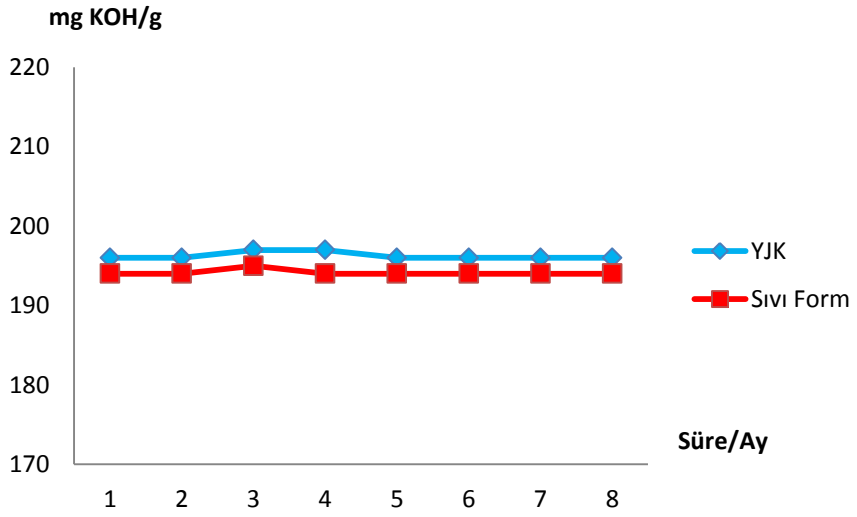

**Şekil 4.5.** Kırılma indisi (20 $^{0}$ C)



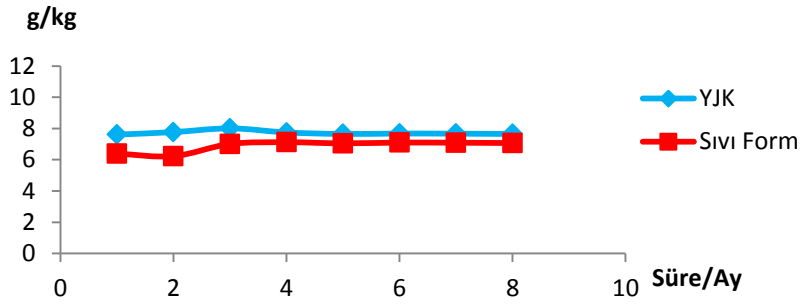

**Şekil 4.6.** Kırılma indisi (40 $^{0}$ C)




**Şekil 4.7.** Nem ve uçuculuk (%)




**Şekil 4.8.** Sabunlaşma sayısı




**Şekil 4.9.** Sabunlaşmayan madde miktarı

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar; *Nigella sativa* tohumları ve bu tohumlardan soğuk pres metodu ile elde edilerek sıvı ve yumuşak kapsül formlarında kullanılan çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özellikleri incelendiğinde farklı ülkelerden elde edilen tohumlar ve yağlar ile benzer özellikler sergilediğini göstermektedir. Yapısında bulunan önemli bileşenler nedeni ile gıda, besin desteği ve tedavi amacı ile de tercih edilen çörek otu tohumlarının bileşimi çalışma kapsamında incelenmiş; yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılmış, tohumların mineral yapısı benzer şekilde potasyum, magnezyum ve kalsiyum açısından zengin bulunmuştur. Tohumdan beslenme açısından önemli bileşenlerden olan demir, kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve çinkonun yağa geçtiği analiz sonuçlarında görülmüştür. Farklı çalışmaların karşılaştırılması sonucunda tohumun yapısında bulunan esas bileşenler ve diğer mineral madde miktarlarında görülen değişiklikler tohumların yetiştirildiği bölgeler ve genotip özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca ürünün mikrobiyolojik parametreleri çalışma kapsamında incelenmiş ve tohumda bulunan mikrobiyal yük mevzuatta belirtilen limitler dahilinde bulunmuş, bakteri, maya ve küf konsantrasyonları tohumdan yağa geçişte bariz bir şekilde azalma göstermiştir. Bu da soğuk pres yağ eldesi ve depolama aşamalarında hijyenik olarak gerekli hassasiyetin gösterilmesinden aynı zamanda yağın mikrobiyal aktivite için iyi bir besi yeri olmamasından kaynaklanmakta ayrıca çörek otu tohumu yağının bünyesinde istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini önleyecek bileşenlere sahip olmasının da bu durumu etkilediği düşünülmektedir. Çörek otu tohumu yağının, yağ asit kompozisyonu da çalışma kapsamında ele alınmış, ürünün

önemli bir besin desteği olmasını sağlayan yağ asitleri linoleik asit ve oleik asit literatür ile benzer şekilde yüksek oranlarda tespit edilmiştir.

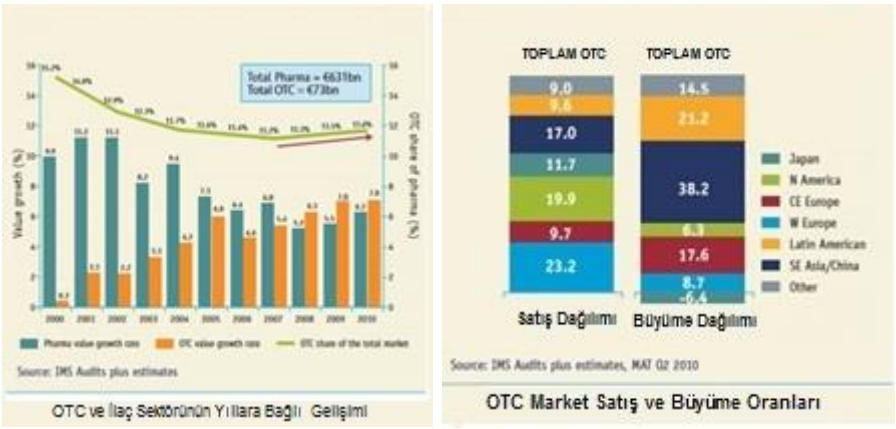
Yumuşak kapsül aşamasında ise çörek otu tohumu yağının üretim esnasında in-proses kontrolleri gerçekleştirilmiş ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen yumuşak kapsülün üretim denemeleri esnasında; görünüş, tek kapsül ağırlığı, 10 kapsül ortalama ağırlığı, dağılma, jelatin şerit kalınlığı parametreleri değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar stabil ve istenilen kalite parametrelerinde bir ürün özelliği göstermiştir. Fizikokimyasal özelliklerin incelenmesi aşamasında ise sıvı ve yumuşak kapsülün serbest yağ asitliği, peroksit, kırılma indisi (20 $^0$C- 40 $^0$C), sabun, nem ve uçuculuk, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde miktarları incelenmiştir. Elde edilen sonuçların t-testi ile değerlendirilmesi ile elde edilen veriler %95 güven aralığında istatistiki olarak kayda değer bulunmuştur. Yumuşak kapsüllerde kalite parametreleri olarak değerlendirilen serbest yağ asitleri ve peroksit değerleri öngörüldüğü şekilde sıvı formlara kıyasla düşük olarak bulunmuş ve aynı zamanda bu değerlerin 8 aylık analiz sonuçları karşılaştırıldığında sıvı ürünlere kıyasla daha yavaş geliştiği görülmüştür. Başlangıç değerlerindeki farklılık kapsül formülasyonunun oluşturulmasında kullanılan ürün etkileşimleri ile bağlantılı olmakla birlikte, kapsül formlarında ürünün yumuşak jelatin içinde muhafaza edilerek oksijen ile temasının asgari düzeye indirilmesi kalite parametrelerinin korunmasında asıl etkendir. Primer ambalaj malzemesi seçiminde ışık ve oksijen geçirgenliği düşük cam ambalaj malzemelerinin kullanımı, sıcaklık ve nemden uzakta depolama şartlarının sağlanması, üretim şartlarında hammaddenin oksijen ile temasının asgari düzeyde tutulmaya çalışılması, üretim şartlarının optimizasyonu da sıvı ve yumuşak kapsül formlarında son ürün kalitesini etkileyen önemli unsurlar arasında sayılabilir. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, çalışma başlangıcında öngörüldüğü gibi, yumuşak kapsül formunda geliştirilen ürünlerin sıvı formlara kıyasla çok daha uzun süre fizikokimyasal özelliklerinin korunacağı görülmüş bu sonuçlar neticesinde ürünün ticarileştirilmesi konusunda çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Sağlık sektöründe yerli hammadde ile yenilikçi bir yaklaşım sağlayarak yumuşak kapsül formunda üretilen çörek otu tohumu yağı katma değer sağlayan besin destek ürünleri haline dönüşmüştür. Standart dozajlama imkanı sağlaması ve sıvı ürünlere kıyasla daha kolay taşınabilir olması, doğrudan yağ tüketemeyen bireyler için kullanım kolaylığı sağlaması ile yumuşak kapsül formlar sağlık sektöründe daha çok tercih edilen, yenilikçi bir form olarak değer görmüştür.

# 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

## 5.1 Sonuçlar

Tıbbi bitkiler tarihin çok eski zamanlarından bu yana, hastalıkların tedavisi ve önlenmesi amacı ile kullanıla gelmiştir. Günümüzde ise doğal yaşam kaynaklarına yönelme trendi, daha uzun ve daha sağlıklı yaşama isteği ve yaşlanmayı geciktirmek gibi farklı nedenlerle insanlar besin destek ürünlerine yönelmekte ve bu ürünlerin tüketimi ciddi ölcüde artış göstermektedir.

Dünyada farmasötik ürünlerin pazarının yaklaşık 916 milyar dolar ve TEIS (Tüm Eczacı İşverenler sendikası) verilerine göre OTC adı verilen ilaç dışı eczane ürünlerinin yer aldığı grubun yaklaşık pazarının ise 100 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, İlaç Sektörü Strateji Raporu ve Aksiyon Planında Türkiye 11.2 milyar TL'lik farmasötik pazarında 1.1 milyar dolarlık dilimin OTC ürünlerine ait olduğu bildirilmektedir. 2008 yılında ilk defa dünya çapında OTC satışları reçeteli ilaçların önüne geçmiş ve devam eden yıllarda karlılık oranı artmaya devam etmiştir. IMS verileri ülkeler bazında incelendiğinde Batı Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri OTC sektör satışlarının % 43'lük payını alarak pazardaki en büyük dilime sahip olmuştur. Bu performansın arkasındaki itici güçler ise Güney Doğu Asya, Latin Amerika ve Merkez&Doğu Avrupa pazarlarındaki gelişmeler olduğu öngörülmektedir. İlaç sektörü satış verileri incelendiğinde Türkiye'de reçeteli ilaçlar dışında vitamin ve mineral preparatları, zayıflama ürünleri, sporcu gıdaları, bebek mamaları gibi farklı kategorilerde sınıflandırılmış ithal ürünlerin 2013 yılında toplam 24.732.673 kutu satıldığı ve bu ürünlerin 348.880.491 TL'lik bir satış potansiyeline sahip olduğu görülmüştür.




**Şekil 5.1.** OTC sektörü gelişimi

Bilimsel açıdan incelediğinde, doğal kaynaklı ürünler hakkında ülkemizde genel olarak uzun yıllardır süren Ar-Ge faaliyetlerinin çoğunlukla teorik ve bilimsel bazda kaldığı ve katma değer yaratan nihai son ürünler haline getirilemediği görülmüştür. Bu tez çalışması ile tüketiciye ulaştırılabilecek son ürüne dönüşebilen tasarımların oluşturulması, teorik bilgilerin değerlendirilmesi ve ticarileştirilebilir bir ürün oluşturulması sağlanmıştır.

Türkiye açısından bakıldığında; ülkemiz florasında 10.000'in üzerinde bitki bulunduğu ve bunların 3090'ının endemik özelikte olduğu tespit edilmiştir (Kaya ve Aksakal, 2005). Bu bitkilerin ise sadece %11'nin iç ve dış satışlarda kullanıldığı belirtilmiştir.

Doğal besin destekleri dünya çapında sürekli artış gösteren bir şekilde sentetik ilaçların yerine tercih edilmektedir. Düzenli kullanımlarda ürün etkilerinin uzun soluklu görülmesi, aynı zamanda sentetik ilaçlarda bildirilen yan etkilerin büyük bir kısmının tecrübe edilmemesi tüketicilerin doğal ürünleri tercih etmelerindeki önemli nedenler arasında sayılabilir. Buradan da hareketle tez kapsamında ülkemiz topraklarında yetişen, bitki ve sabit yağ içeriği ile geleneksel olarak da kullanılan *Nigella sativa* (çörek otu) tohumu tercih edilmiştir. Çörek otu tohumu, asırlar boyunca bitkisi ve yağı ile birlikte, Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da, günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da da milyonlarca insan tarafından "sağlığı desteklemek için" kullanılan bir bitki olmuştur. Klinik bulgular ile etkinlikleri bilimsel olarak da kanıtlanan çörek otu tohumu modern tıbbın da ilgisini çekerek tedavi amaçlı tercih edilir olmuştur.

Ülkemizde çörek otu yağının gıda olarak doğrudan tüketilmesi, ürünün organoleptik özellikleri nedeni ile henüz istenilen seviyelere ulaşmamıştır. Sağlık profesyonelleri tarafından çörek otu tohumu yağı kullanımı önerildiğinde ise ilaç hassasiyetinde üretilmiş, yüksek kalite standardını sürekli sağlayabilecek aynı zamanda bilimsel alt yapı ile desteklenmiş ürünlerin bulunamaması da doğal kaynaklı ürünler için bir dezavantaj oluşturmaktadır. Yurt dışında öncelikli olarak eczanelerde ve sonrasında drug-store'larda bulunabilen proje kapsamında üretilen çörek otu tohumu yağı kapsülüne muadil ürünler araştırıldığında ise hammaddenin yetiştirildiği coğrafya itibari ile Türkiye ve Orta Doğu ülkeleri olduğu görülmektedir. Bu gözlemlere dayanarak; literatürlerde belirtilen endikasyonlar, sağlık profesyonellerinin görüşleri, yurt içi ve yurt dışında gerçekleştirilen piyasa araştırmaları detaylı olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan yola çıkarak; ülkemizde henüz değerlendirilmeyen ve üretimi yapılmayan ancak Avrupa Birliği ve gelişmiş ülkelerde besin destek ürünleri ve/veya

tedavi amaçlı olarak kullanılan, çörek otu ham maddesinden soğuk pres metodu ile elde edilen çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özelliklerinin korunması amacı ile katma değerli ürün tasarımının gerçekleştirilmesi öngörülmüştür.

Buna bağlı olarak bağışıklık sistemini destekleyici, antiviral, antiinflamatuvar, analjezik, antihistaminik, antiastmatik (Salem ve Hossain, 2000; Al-Ghamdi, 2001; El-Dakhakhny ve ark, 2002; Salem, 2005; Woo ve ark, 2011) vb. pekçok endikasyona sahip çörek otu yağının sağlık sektöründe kullanım şekilleri bilimsel bir kadro ile yurt içi ve yurt dışına gerçekleştirilen seyahatler ile incelenmiştir. Yumuşak kapsül, sert kapsül, cam ve plastik flakonlar, saşe ambalajlar gibi farklı alternatifler incelenerek halihazırda amber rengi cam şişeler içinde sıvı olarak tüketiciye ulaştırılan çörek otu tohumu yağının yumuşak kapsül formunun geliştirilmesi öngörülmüştür. Belirtilen form seçilirken, ürünün fizikokimyasal özelliklerinin daha uzun süre korunması, tüketici bazında kullanım pratikliği ve taşıma kolaylığı sağlanması, sağlık personelleri için de doz önerisinde standart bir yapının oluşturulması öncelikli hedefler arasında yer almıştır. Çalışma sonucunda ülkemizde doğal besin destekleri sektöründe GMP normlarında ilk yumuşak jelatin kapsül üretimi gerçekleştirilerek katma değeri yüksek tasarımlı ürün oluşturulmuş ve bilimsel çalışmanın sanayi boyutunda ticarileştirilerek pratikte de kullanılabilir bir yapıda olması ve tüketiciye ulaşması sağlanmıştır.

Gerçekleştirilen çalışmada *Nigella sativa* tohumları ve bu tohumlardan soğuk pres yöntemi ile elde edilen edilen yağın mikrobiyolojik analizleri, pestisit ve aflatoksin analizleri, mineral madde tayinleri, yağda sterol içerikleri ve kimyasal özellikleri ile ilgili analizler hizmet alımı ile ARGEFAR İlaç Geliştirme & Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi tarafından gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar literatür ışığında değerlendirilmiştir.

Mikrobiyolojik açıdan değerlendirilen çörek otu tohumlarında toplam bakteri 490.000 kob/g, *E. coli* <10 kob/g, küf ve maya 6000 kob/g, *Salmonella* ise tespit edilemeyen düzeyde bulunmuştur. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında toplam bakteri miktarının daha düşük, maya ve küf miktarının ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Çörek otu tohumu yağında tespit edilen toplam bakteri miktarı <100 kob/g, *E. coli* <10 kob/g, *Salmonella* tespit edilemeyen düzeyde, küf ve mayalar ise <10 kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Çörek otu tohumunda gerçekleştirilen analiz sonuçları ile aynı tohumdan elde edilen yağ sonuçları karşılaştırıldığında toplam bakteri miktarının 490.000 kob/g'dan <100 kob/g'a, küf ve maya miktarı 6000 kob/g'dan 10 kob/g'ın altına düştüğü görülmüştür. E.coli ve *Salmonella* miktarları ise tohum ve yağda

sırasıyla <10 kob/g ve tespit edilemeyen düzeyde belirlenmiştir. Buradan hareketle her ne kadar tohumda belirtilen mikrobiyal yük limitlerin altında kalsa da yağa geçen miktarın çok daha düşük olması soğuk pres metodu ile yağ elde edilirken ve depolama esnasında hijyenik şartların sağlanmasından ayrıca yağın mikrobiyolojik gelişme için iyi bir besi yeri olmamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011) bitki kriterleri ile karşılaştırıldığında bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerde tespit edilen mikrobiyolojik yük *Salmonella* suşları için tespit edilemeyen düzeyde olup yönetmelikte verilen 0-25 kob/g, ayrıca maya ve küfler için tespit edilen 6000 kob/g miktarı da yönetmelikte belirtilen belirtilen min $10^4$ ve maks $10^5$ değerlerinin altında kalmaktadır.

*Nigella sativa* tohumları ve yağında gerçekleştirilen aflatoksin ve pestisit analizlerinde Aflatoksin B1, B2, G1, G2 tipleri, toplam aflatoksin, PCB-8, PCB-20, PCB-28, PCB-35, PCB-52, PCB-77, PCB-81, PCB-101, PCB-101, PCB-105, PCB-114, PCB-118, PCB-123, PCB-126, PCB-138, PCB-153, PCB-156, PCB-157, PCB-167, PCB-169, PCB-189 tipleri araştırılmıştır. Hem hammaddede hem de yağda aflatoksin ve pestisit tespit edilemeyen düzeyde bulunmuştur. Bu sonuca göre hammaddenin bulaşanlar açısından temiz olduğu ve yağın da aynı şekilde hammadde kaynaklı olarak temiz olduğu ve üretim esnasında da herhangi bir şekilde kontaminasyona maruz kalmadığı görülmektedir.

Tohumlar ve yağ mineral madde açısından da incelenmiş ve literatürde belirtilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Buna göre çalışma sonucunda elde edilen değerler; Tunus, İran ve Suudi Arabistan menşeili çörek otu tohumlarının mineral madde içerikleri ile karşılaştırıldığında potasyum 8039.00±1607.80 mg/kg, kalsiyum 5168.00±2067.200 mg/kg, ve magnezyumun 2345.00±1013.040 mg/kg oranları ile literatürde belirtilen sıralama ile aynı şekilde en yüksek oranda olduğu görülmüştür. Analiz sonuçlarında ayrıca bakır (17.830±4.458 mg/kg), demir (91.630±21.441 mg/kg), mangan (25.510±16.990 mg/kg), sodyum (34.470±13.443 mg/kg), çinko (51.190±4.607 mg/kg) miktarlarının Al-Jassir (1992) ve Cheikh-Rouhou ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılıkların nedeni ise ürün yetiştirilme şartları, iklimsel ve coğrafi farklılıklar olarak yorumlanabilir. Yağa geçen mineral maddeler incelendiğinde ise tohumda en fazla miktarda bulunan potasyum, kalsiyum ve magnezyum minerallerinden potasyumun yağda tespit edilemediği, kalsiyum miktarının 37.990±15.196 mg/kg,

magnezyum miktarının ise 2.690±1.162 mg/kg olduğu, demir bileşeni de 2.038±0.477 mg/kg miktarı ile yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir.

Sterol bileşimi açısından incelendiğinde ise soğuk pres çörek otu tohumu yağının sterol içeriği Almanya, Türkiye, Tunus ve İran'dan elde edilen tohumların sterol oranları ile karşılaştırılmış ve başlıca sterol komponentleri %52.99 betasitosterol, %12.54 stigmasterol, %9.86 kampesterol olarak bulunmuştur. Delta-5-avenasterol (%9.84), delta-7-Avenasterol (%1.74) ise majör bileşenleri takip eden diğer sterol bileşenleridir. Asıl bileşenlerin sıralaması diğer tohumlar ile yapılan çalışmalar ile aynı sıralamayı göstermiştir. Bileşenlerin oranlarında görülen farklılıkların nedeninin ise hammadde özelikleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Gerçekleştirilen çalışmada çörek otu tohumu yağ bileşimi ele alınmış ve dağılım anlamında literatür ile uyumlu olarak en yüksek oranda bulunan yağ asitleri linoleik asit (C 18:2) %56.17, oleik asit (C 18:1) %24.64, palmitik asit (C 16:0) %11,94 olarak tespit edilmiştir. Bu sıralamayı takip eden yağ asitleri ise şu şekildedir: Stearik asit (C 18:0) %3.34, eikosadienoik asit (C 20:2) %2.55, eikosenoik asit (C 20:1) %0.31, linolenik asit (C 18:3) %0.25, araşidik asit (C 20:0) %0.20, palmitoleik asit (C 16:1) %0.19, miristik asit (C14:0) %0.15, margarik asit (C 17:0) %0.061, heptadesonoik asit (C 17:1) %0.054, dokosenoik asit (C 22:1) %0.047, behenik asit (C 22:0) %0.039. Elde edilen sonuçlar Mısır, İran, Tunus gibi farklı ülkelerden elde edilen tohumların yağ asit kompozisyonları ile karşılaştırıldığında çalışma kapsamında elde edilen sonuçların ortalama değerler içinde bulunduğu görülmekte, yüzde değerlerdeki farklılıklar da hammaddelerin yetiştiği coğrafi alan, iklim koşulları farklılıkları gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır.

Çalışma kapsamında belirlenen serbest yağ asidi değerleri farklı çalışmalarda % oleik asit cinsinden 7.49±0.96, 11.0±0.0, 22.7±0.35 ve 18.6±0.28 olarak bulunurken kapsül formunda 8 aylık analiz sonuçlarının ortalaması 2.29±0.03, sıvı formda ise 2.92±0.11 olarak bulunmuştur. Ayrıca yumuşak kapsül ve sıvı form için gerçekleştirilen analizlerde sıvı form değerleri 8 aylık sürecin sonunda üç paralel için gerçekleştirilen çalışmalarda ortalama %2.86-3.1 arasında bulunurken yumuşak kapsül değerleri %2.27-2.34 değerleri arasındadır. Birinci aydan itibaren serbest yağ asitleri yumuşak kapsüllerde sıvı forma kıyasla daha yavaş gelişim göstermiş ve sekiz aylık deneme sonuçlarına bağlı olarak ürün kalitesindeki değişimin daha yavaş olduğu görülmektedir.

Yağın kalitesi hakkında bilgi veren diğer bir parametre olan peroksit sayısı ile ilgili çalışmalar 31.32±0.74, 13.5±0.2, 5,65±1.87 ve 4.35±1.38 meq$O_2$/kg değerlerini belirtirken gerçekleştirilen çalışmada peroksit değeri kapsüller için 23.11±1.18 meq$O_2$/kg ve sıvı formlar için 27.85±2.50 meq$O_2$/kg olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarında bulunan peroksit değerleri Konya Bölgesinden elde edilen tohumlarla gerçekleştirilen çalışma sonuçlarından daha düşük değerler gösterirken, Mısır, Tunus ve İran bölgelerinden elde edilen tohumlardan daha yüksek bulunmasının nedeni hammadde kaynaklı olarak yorumlanabilir. Ayrıca deneme üretimleri için kullanılan çörek otu tohumu yağının; üretim, depolama ve filtrasyon esnasında oksijen ile daha uzun süre temas etmesine neden olduğu için peroksit değerinin yükselmesine sebep olan diğer faktörlerden biri olarak dikkate alınabilir. Ayrıca çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar ürünler bazında değerlendirildiğinde peroksit değeri (meq$O_2$/kg) 1 ve 8. aylarda amber renkli cam şişelerde, yağın yapısının bozulmasına neden olan ısı, ışık ve nemden uzakta kapalı ortamda muhafaza edilen sıvı gruplar için 25.9-32.0 meq$O_2$/kg, yumuşak jelatin kapsüllerde ise 1. ayın sonundan itibaren sıvı formlar ile farklı değerler tespit edilmiş ve takip eden aylarda bu değerler 21.5-24.7 meq$O_2$/kg aralığında değişerek, sıvı formlara kıyasla daha yavaş bir gelişim gösterdiği görülmüştür.

Çörek otu tohumu yağında kalite göstergesi olarak öngörülen %FFA ve Peroksit değerlerinin sıvı form ve yumuşak kapsül formlardabelirlenen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak t testi ile değerlendirildiğinde %95 güven aralığında anlamlı olarak bulunmuş, bu sonuçlar yumuşak jelatin kapsüllerin ürün fizikokimyasal özelliklerini daha uzun süre muhafaza ettiğini göstermiştir.

FFA ve peroksit değerleri dışında yağın saflığı hakkında bilgi veren diğer parametreler değerlendirildiğinde genel anlamda literatür ile uyumlu olduğu görülmüş, farklılıkların ise tohumun yetiştirildiği bölgenin coğrafik özellikleri, iklim şartları, hasat mevsimi, tür ve cins farklılıklarından kaynaklandığı öngörülmektedir. Bu kapsamda; kırılma indisi 20ºC'de sıvı ürünlerde 1.4737, yumuşak kapsüllerde 1.4738, 40ºC'de ise aynı sıralama ile 1.4664 ve 1.4665, sabun (ppm) tüm ürünlerde 0, % nem ve uçuculuk 1 ve 8. Aylarda farklılıklar göstermekle birlikte sıvı ürünlerde 0.387-0.355, yumuşak kapsüllerde ise 0.313-0.314 olarak bulunmuştur. İyot sayısı (wijs) 122-123 aralığında, sabunlaşma sayısı (mg KOH/g) 194-196 aralığında, sabunlaşmayan madde miktarı (g/kg) sıvı ürünlerde 6.39-7.12, yumuşak kapsüllerde 7.61-8.01 aralığında tespit edilmiştir.

Sonuçları genel olarak değerlendirmek gerekirse çalışma kapsamında *Nigella sativa* tohumlarının ve elde edilen yağın kimyasal yapısı farklı veriler ile kıyaslanarak incelenmiş ve ayrıca elde edilen yağın geleneksel kullanımına ek olarak katma değer sağlayacak bir kullanım şekli için tasarımlar oluşturulmuştur. *Nigella sativa* tohumları ve yağının kimyasal özellikleri mümkün olan tüm yönleri ile ele alınmaya çalışılmış ve dünya üzerinde farklı bölgelerde yetişen tohumlar ile kıyaslanmıştır. Türkiye'de yetiştirilen *Nigella sativa* tohumlarının ve soğuk pres yöntemi ile elde edilen yağ özellikleri incelendiğinde yağ asit kompozisyonu, steroller ve mineral madde açısından, bilimsel çalışmalarda önemle vurgulanan tedavi ve önleyici hekimlik için kullanımı önerilen özellikleri bünyesinde barındırdığı görülmektedir.

Gerçekleştirilen çalışma ile; geleneksel yöntemlerle yetiştirilerek tohum olarak ve sonrasında yine geleneksel yöntemlerle elde edilen yağı kullanılan çörek otu tohumunun tüketimi bilimsel bir bakış açısı ile değerlendirilmiş ve yenilikçi bir yaklaşım ile katma değerli bir ürün tasarlanmıştır. Ülkemizde gelişmekte olan ve ithal ürünlerin hakim olduğu besin destek ürünleri segmentinde yerli hammadde ve yerli sermaye kullanan bir marka oluşturulması için ürün alt yapısı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında üretim parametreleri optimize edilen ve kalite parametreleri takip edilen yumuşak kapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin daha uzun süre korunacağı görülmüştür. Buradan hareketle ürünün ticarileştirilmesi uygun bulunmuş, tasarım ülke ekonomisine katma değerli ürün olarak kazandırılmıştır. Ülkemizde ilk defa GMP normlarında besin destek ürünleri için üretim alt yapısı oluşturulmuş ve hammadde kabulünden son ürünün müşteriye ulaşmasına kadar geçen tüm süreç boyunca izlenen proses, kullanılan ekipman ve prosesin her bir aşamasında yer alan personelin takibi yapılarak güvenilir ürün eldesi sağlanmıştır.

Ürünün ticari boyutta üretiminin gerçekleştirilmesi ile eş zamanlı olarak, besin destekleri konusunda tüketici talepleri incelenmiştr. Bu amaçla yapılan anketlerin sonucunda üründe ilaç algısı hissetmek isteyen 45 yaş ve üzeri yetişkin tüketiciler için blister ambalaj, ürünün sağlıklı ve aynı zamanda görülebileceği bir ambalaj formunda bulunmasını tercih eden 30-45 yaş arasındaki orta yaşlı tüketiciler için amber renkli cam şişeleri, kullandığı besin destek ürününün dinamik bir yapı sergileyeceği, rahatlıkla taşınabilecek, kırılma, ürüne zarar verme riski taşımayacak bir ambalajda bulunmasını gerektiğini düşünen 15-30 yaş arası genç nesil tüketiciler için ise HDPE şişeler ambalaj olarak seçilmiştir. Ürün ambalajları ve içerdiği bilgiler; tüketicilerde güvenilir, kaliteli, doğal, ilacı çağrıştıracak fakat aynı zamanda dinamik ve modern yapıya sahip bir ürün

algısı oluşturacak tasarımları ile eczanelerde yerini almıştır. Ürün altyapısı ve sağlık faydaları eczacı ve doktorların katıldığı sertifikalı eğitim seminerleri, eczacı ve doktorlara gerçekleştirilen birebir ziyaretler ile anlatılarak farkındalık oluşturulmuştur. İlaç sektörü ile ilgili ülkemizde gerçekleştirilen tüm fuarlara katılım sağlanarak ürünün sağlık profesyonelleri ile doğrudan buluşması sağlanmıştır. Çalışma kapsamında sosyal sorumluluk bilinci ile hareket edilmiş, ülkemizde yetiştirilen ve uygun olmayan üretim şartları ile işlenerek eksik ve/veya yanlış bilgiler ile tüketiciye ulaştırılan ürünler için hammadde yetiştiriciliğinden, proses aşamalarının kontrolüne kadar tüm aşamalar büyük bir titizlik ile takip edilmiş, son ürün olan çörek otu tohumu yağı yumuşak kapsüllerinin tüketiciye sağlık profesyonelleri tarafından bilimsel bir altyapı ile ulaştırılması sağlanmıştır.

Çalışmaların gerçekleştirilmesi esnasında, proseste kullanılacak hammaddelerin yetiştirilmesi ve ticarileştirilen ürünün her üretim serisinde standart olmasını sağlamak amacı ile hammadde yetiştiriciliği konusunda Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi ile işbirliği yapılmıştır. Son üründe bulunması gereken ürün özellikleri gözönünde bulundurularak ekimi yapılacak tohumların spesifikasyonları bilimsel bir grubun çalışmaları sonucunda belirlenmiş, bu kapsamda Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Menemen Araştırma ve Uygulama Çiftliklerinde yine konusunda uzman bilimsel bir kadronun gözetiminde, çörek otu tohumlarının tarımı gerçekleştirilmiştir. Hasat sonrası elde edilen son ürün gerekli analizlerden geçirilerek organik olarak sertifikaladırılmış ve ticari üretimlerde kullanılmak üzere firma tarafından teslim alınmıştır.

Ürünün ticarileştirilmesini takip eden aşamada ise devam eden üniversite sanayi işbirlikleri, Helvacızade Gıda İlaç ve Kimya San. ve Tic. A.Ş.'nin girişimciliği ve ARGEFAR İlaç Geliştirme & Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi'nin sağlık sektörü konusundaki tecrübeleri ile Sağlık Bakanlığı'na ruhsat başvurusunda bulunulmuştur. *Nigella sativa* hammaddesi kullanılarak üretilen Zade Vital Nigelin 900 mg yumuşak kapsül Sağlık Bakanlığı tarafından "Türkiye'nin İlk ve Tek Geleneksel Bitkisel Tıbbı Ürünü" ruhsatını alma başarısını göstermiştir. "Alerjik rinit tedavisinde yardımcı", "Kan lipid seviyelerin düzenleyici" "Bağışıklık sistemini güçlendirici" "Antioksidan" olmak üzere dört farklı endikasyon ile ruhsatlandırılan bitkisel ürün sağlık profesyonelleri tarafından reçetelendirilmektedir.

## 5.2 Öneriler

Gerçekleştirilen çalışma ile geleneksel bitkisel tıbbi ürün kapsamında bulunan ve Türkiye menşeili *Nigella sativa* (çörek otu) tohumlarının yerli üretim ile değerlendirilerek katma değerli yumuşak kapsüller elde edilmiş ve ürün fizikokimyasal özelliklerinin daha uzun süre koruyacak tasarım altyapısı hazırlanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlardan hareketle, yumuşak kapsül formülasyonunun stabil bir şekilde üretiminin gerçekleştirilmesinin ardından sadece yağ kullanılarak hazırlanan içeriğin amino asit, vitamin, mineral gibi farklı ve insan vücudü için elzem olan maddeler ile zenginleştirilerek farklılaştırılması ve bu bileşimler ile yumuşak kapsül etkileşimlerinin incelenmesi farklı projelerde araştırma konusu edilebilir.

Çalışma kapsamında üretim şartlarının optimizasyonu için farklı menşeili jelatin hammaddelerinin içinden hayvansal kaynaklı ve üretim ve tüketim açısından uygulanan standartlara cevap verebilecek özellikte bir jelatin hammaddesi tercih edilmiştir. Farklı projelerde Avrupa ve Asya'da geliştirilmekte olan bitkisel kaynaklı jelatin hammaddelerinin yanısıra yüksek maliyeti nedeni ile üretimde tercih edilmeyen balık jelatini ve alternatif olarak kullanılabilecek bitkisel ürünler ile etkileşime girmeden ürün özelliklerini daha uzun süre koruyabilecek diğer taşıyıcı materyaller hakkında da çalışmalar gerçekleştirilebilir.

Tez çalışması esnasında dünya genelinde geleneksel kullanımı ve hammadde temini konusunda yerli hammaddenin elde edilebileceği çörek otu tohumunun sağlık etkileri konusunda vurgulanan *Nigella sativa* türü üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ülkemiz florasında bulunan 10.000'in üzerinde tür ve 3090 endemik bitki arasından sağlık açısından dünya ve ülkemiz genelinde hızla yayılan sağlık problemleri ve kronik hastalıkların tedavisi ve/veya önlenmesi için cevap olabilecek bitkilerden elde edilecek yağların da farklı çalışmalar kapsamında ele alınması ülke ekonomisine katkıda bulunulması ve sosyal sorumluluk anlamında da farkındalık oluşturması için önem arzedecektir. Nar çekirdeği, üzüm çekirdeği, kabak çekirdeği, keten tohumu, sarı kantaron gibi bitkiler, bu bitkilerin etken maddeleri kullanılarak hazırlanacak formülasyonlar ve farklı sağlık etkileri için oluşturulacak zenginleştirilmiş kombinasyonların yumuşak kapsül olarak değerlendirilmesi hakkında da çalışmaların gerçekleştirilmesi doğal bitki zenginliğimiz konusunda bilimsel anlamda farkındalığın artırılması ve yeni ürünlerin geliştirilmesi, ayrıca etkileri bilinen ürünler için de yeni kullanım alanlarının açılmasına katkıda bulunacaktır.

Soğuk pres yağ eldesi esnasında yan ürün olarak açığa çıkan ve araştırma sonuçlarının gösterdiği üzere yüksek miktarda mineral içeren ve literatür bilgilerine dayalı olarak suda çözünen vitamin içeriği de yüksek olduğu belirtilen posaların mikrobiyolojik stabilitesini sağlayarak tablet veya granül olarak değerlendirilebileceği farklı çalışmalar gerçekleştirilebilir. Bu ürünlerin yeniden işlenerek kahvaltılık ürünler başta olmak üzere farklı özel gıda formülasyonlarında kullanımının yanısıra posada kalan etken maddelerin izole edilerek katma değerli ürünlere çevrilmesi de incelenecek konular arasıında yer alabilir.

**KAYNAKLAR**

Aboutabl, E. A., El-Azzouny A. A., Hammerschmidt F. J., 1986, Aroma volatiles of Nigella sativaL. seeds. In: Brunke EJ editor. Progress in essential oil research. *16th International Symposium on essential oils*. Berlin: DeGruyer, pp. 49–55.

Aboul Ela, M.A., El-Shaer, N.S., Ghanem, N.B., 1996, Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils, *Pharmazie*, 51:993–4.

Agrosi, M., Mischiatti, S., Harrasser, P. C. and Savia, D., 2000, Oral bioavability of active principles from herbal products in humans. A Study on *Hypericum peforatum* exctracts using the soft gelatin capsule technology, *Phytomedicine*, 7 (6), 455-462.

Anonymous, 2013, The European Pharmacopoeia (EP 8.0), Vol 1, Council of Europe, Directorate fort he Quality of Medicines & HealthCare of teh Council of Europe (EDQM), Cedex-France, 295-298, 357-359.

Anonymous, 2013, The European Pharmacopoeia (EP 8.0), Vol 1, Council of Europe, Directorate fort he Quality of Medicines & HealthCare of teh Council of Europe (EDQM), Cedex-France, 779-781.

Anonymous, 2014, US Pharmacopeia, National Formulary (USP38-NF33), Vol 1, *United Book Pres,* Baltimore-MD, 1097-1098.

Anonymous, 2014, US Pharmacopeia, National Formulary (USP38-NF33), Vol 1, *United Book Pres,* Baltimore-MD, 483-485.

Anonymous, 2014, Capsules, Dosage Forms, General Monographs [online], Fourth Edition, WHO Monographs, The International Pharmacopoeia, http://apps.who. int/phint/en/p/docf/ [Ziyaret Tarihi: 13 Ağustos 2014].

AOCS, 1989, Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC, Official Method Ce 8-89, Champaign IL: AOCSPress.

Aqel, M., Shaheen R., 1996, Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig, *J Ethnopharmacol*., 52 (1), 23-26.

Al-Ali, A., Alkhawajah, A.A., Randhawa, M.A., Shaikh, N.A., 2008, Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats, *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 20 (2), 25-27.

Ali, B.H., Blunden, G., 2003, Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*, *Phytother Res*, 17 (4), 299-305.

Al-Ghamdi M.S., 2001, The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa, J Ethnopharmacol*, 76 (1), 45-48.

Al-Hader, A. A., Aqel, M.B., Hasan, Z.A., 1993, Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds, *Int J Pharmacogn* 31:96–100.

Al-Jassir, M.S., 1992, Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia, *Food Chemistry*, 45, 239-242.

Al-Saaidi, J.A.A., Al-Khuzai A.L.D. and Al-Zobaydi, N.F.H., 2009, Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats, *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 23 (Supp II), 123-128.

Al-Saleh, I., Billedo, G., El-Doush, I. I., 2006, Levels of selenium, DL-α-tocopherol, DL-γ-tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds, *J Food Compost Anal*., 19, 167–175.

Aqel, M., Shaheen, R., 1996, Effect of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig, *J Ethnopharmacol*, 52:23–6.

Atta, M.B., 2003, Some characteristics of nigella (*Nigella sativa L*.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile, *Food Chemistry*, 83, 63–68.

Badary, O.A., Abdel-Naim, A.B., Abdel-Wahab, M.H., Hamada, F.M., 2000, The influence of TQ on doxorubucin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats, *Toxicology*, 143, 219–226.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry* 99 (1), 191–203.

Bauer, K.H. , 1983, Die Herstellung von Hart-und Weichgelatinekapseln, Die Kapsel, W.Fahrig, U.H. Hofer , *Wissenschaftliche Verlags GmbH*, Stuttgart, 58-82.

Brox, W., 1988, United States Patent and Trademark Office, Patent Number :4,744,988.

Burits, M., Bucar, F., 2000, Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil, *Phytother Res*, 14:323–8.

Butt, M.S., Sultan, M.T., 2010, *Nigella sativa*: Reduces the risk of various maladies, *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 50 (7), 654-665.

Chabala, J.M., Levi-Setti, R., Maternaghan, T.J., 1994, Photographic gelatin layer microstructures revealed by imaging secondary ion mass spectrometry, *J. Imaging Sci.* 39 (3), 222–232.

Cemek, M., Büyükokuroğlu, M.E., Bayıroğlu, F., Koç, M., Arora, R., 2008, Herbal radiomodulators: Applications in medicine, homeland defence and space. *CABI*, Wallingford, *UK*, 56.

Chakravarty, N., 1993, Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone, *Ann Allergy*, 70:237–42.

Cheikh-Rouhou, S., Souhail Besbes, S., Hentati,B., Blecker, C., Deroanne C., Attia, H., 2007, *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction, *Food Chemistry* 101, 673–681.

Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Lognay, G., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H., 2008, Sterol composistion of black cumin (*Nigella sativa L.*) and Aleppo pine (*Pinus halepensis Mill.*) seed oils, *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 162-168.

Chopra R.N., Nayar S.L, Chopra I.C.,1956, *Glossary of Indian medicinal plants*, New Delhi: CSIR, p. 175.

Coban, S., Yildiz, F., Terzi, A., Al B, Aksoy, N., Bitiren, M., Celik, H., 2010, The effects of *Nigella sativa* on bile duct ligation induced-liver injury in rats, *Cell Biochem Funct*; 28 (1), 83-88.

Cole, E.T., Cadé, D., Benameur H., 2008, Challenges and opportunities in the encapsulation of liquid and semi-solid formulations into capsules for oral administration, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 747–756.

Daba, M.H., Abdel-Rahman, M.S., 1998, Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett.*, 95 (1), 23-29.

Dimic, E. , 2005, Cold pressed oils, *University of Novi Sad, Faculty of Technology*, In Monography 170-172.

Dimitrios, D.,2006, Sources of natural phenolic antioxidants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505–512.

El-Abhar, H.S., Abdallah, D.M., Saleh, S., 2003, Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemiareperfusion in rats, *J Ethnopharmacol*, 84, 251–258.

El-Dakhakhny, M., Madi, N.J., Lembert, N., Ammon, H.P., 2002, *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats, *J Ethnopharmacol*, 81, 161-164.

El-Halawany, A.M., El Dine, R.S., Chung, M.H., Nishihara, T., Hattori, M., 2011, Screening for estrogenic and antiestrogenic activities of plants growing in Egypt and Thailand, *Pharmacognosy Res.*, 3 (2), 107-113.

El-Mezayen, R., Marecki, J.C., Nicolls, M.R., Canastar, A., Dreskin, S.C., 2006, Antiinflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation, *Int. Immunopharmacol*, 6, 1135–1142.

El-Tahir, K.E.D.H, Bakeet D.M., 2006, The black seed *Nigella sativa* linnaeus-. A Mine for multi-cures: A plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil, J.T.U. Med. Sci., 1, 1-19.

Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., Singab, A.N., Okuyama, T., 2001, Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L., *Biol Pharm Bull,* 24:307–10.

Erşahin, M., Toklu, H.Z., Akakin, D., Yuksel, M., Yeğen, B.C., Sener, G., 2011, The effects of *Nigella sativa* against oxidative injury in a rat model of subarachnoid hemorrhage, *Acta Neurochir,* Wien, 153(2), 333-341.

Felton, L.A., Shah, N.H., Zhang, G.,Infeld, M. H., Malick, A.W., McGinity, J.W., 1999, Physical-mechanical properties of film-coated soft gelatin capsules, *International Journal of Pharmaceutics* , 127 (2), 203–211.

Ghosheh, O.A., Houdi, A.A., Crookscor, P.A., 1999, High performance liquid chromatographic analysis of pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L), *J Pharmaceut and Biomed Anal.*, 19, 757–762.

Guderjan, M., Töpfl, S., Angersbach, A., Knorr, D., 2005, Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils, *Journal of Food Engineering*, 67, 281-287.

Hafidi, A., Pioch, D., Ajana, H., 2005, Membrane-based simultaneous degumming and deacidification of vegetable oils, *Inovative Food Science Emerging Technology*, 6, 203-212.

Hanafy, M.S., Hatem, M,E,. 1991, Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin), *J Ethnopharmacol*, 34 (2-3), 275-278.

Hashem, F. M., El-Kiey, M.A., 1982, *Nigella sativa* seeds of Egypt, *J Pharm Sci United Arab Republic* 3:121–33.

Haq, A., Lobo, P.I., Al-Tufail, M., Rama, N.R., Al-Sedairy, S. T., 1999, Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography, *Int. J Immunopharmacol*, 2, 283–285.

Hoed,V.V., Barbouche, I., De Clercq, N., Dewettinck, K., Slah, M., Leber, E., Verhé, R., 2011, Influence of filtering of cold pressed berry seed oils on their antioxidant profile and quality characteristics, *Food Chemistry*, 127, 1848–1855.

Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Nassiri-Asl, M., Mansouri, M.T., 2005, Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, suppresses epileptic seizures in rats, *Med Sci Monit*, 11, 106-110.

Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Asl, M.N., Sadeghnia, H.R., Ziaee, T., 2007, Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus, *Phytomedicine 14*, 621-627.

Houghton, P. J., Zarka, R., De las Heras, B., Hoult, R.S.,1995, Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation, *Planta Medica*, 61:33–6.

Kaatabi, H., Bamosa, A., Lebda, F., Al Elq, A., Al-Sultan, A., 2012, Favorable impact of *Nigella sativa* seeds on lipid profile in type 2 diabetic patients , *J Family Community Med.*, 19 (3), 155–161.

Kanamori, N.,1985, Effects of various forms of ubidecarenone preparation on plasma ubiquinone levels in man, Yakuzaigaku, 45, No:2.

Kanter, M., Coskun, O., Kalayci, M., Buyukbas, S., Cagavi, F., 2006, Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats, *Hum Exp Toxicol*, 2, 127-133.

Kanter, M., 2008a, *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats, *Neurochem Res.*, 33, 579-588.

Kanter, M., 2008b, Effects of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on sciatic nerves in experimental diabetic neuropathy, *Neurochem Res*, 33, 87-96.

Karim, A.A., Bhat R., 2009, Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins, *Food Hydrocolloids*, 23, 563–576.

Kaya, M.S., Kara, M., Ozbek, H., 2003, Seed of corek otu (*Nigella sativa*) effect human cell and immunity system CD3+, CD4+, CD8+ Cells and effect a number of total leucocytes, *J. General Med.*, 13(3), 109-112.

Kaya, Y., Aksakal, Ö.,2005, Endemik bitkilerin dünya ve Türkiye'deki dağılımı, *Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi*, 7(1), 85-99.

Khader, M., Bresgen, N., Eckl, P.M., 2009, In vitro toxicological properties of thymoquinone, *Food Chem Toxicol.*, 47, 129–133.

Khan, M.A., Ashfaq, M.K., Zuberi, H.S., Mahmood, M.S., Gilani, A.H., 2003a, The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res.*,17, 183–186.

Khan, N., Sharma, S., Sultana, S., 2003b, *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress, *Hum Exp Toxicol.*, 22 (4), 193-203.

Khoddami,A., Ghazali, H. M., Yassoralipour A., Ramakrishnan, Y., Ganjloo, A., 2011 Physicochemical characteristics of nigella seed (Nigella sativa l.) oil as affected by different extraction methods, J Am Oil Chem Soc, 88:533–540.

Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M.F., 2014, Physicochemical properties and stability of black cumin seed oil as affected by different extraction methods, *Industrial Crops and Products*, 57, 52-58.

Kontny, M.J. and Mulski, C.A., 1989, Gelatin capsule brittleness as a function of relative humidity at room temperature, *Int. J. Pharm.*, 54, 79–85.

Kökdil G., ve Yılmaz H., 2005, Analysis of fixed oils of the genus *Nigella L.* (*Ranunculaceae*) in Turkey, *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 1203-1209.

Lampi, A.M., ve Heinonen, M., 2009, Berry seed and grapeseed oils, Gourmet and health-promoting specialty oils, In R. A. Moreau A. Kamal-Eldin, *AOCS Press*, Urbana, IL, 215–236.

Le´ ger, C.-L., 2000, La vitamine E: E´ tat actuel des connaissances, roˆle dans la pre´vention cardiovasculaire, biodisponibilite´ .(Vitamin E: present state of knowledge, role in preventing cardiovascular, bioavailability), *OCL – Oleagineux Corps gras Lipides* 7, 235–265.

Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J. ve Yu L.L., 2011, Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils, *LWT - Food Science and Technology* , 43, 1409-1413.

Mahfouz, M., El-Dakhakhny, M.,1960, The isolation of a crystalline active principle from Nigella sativa L. Seeds, *J Pharm Sci United Arab Republic* 1:9–19.

Mahmoud, M.R., El-Abhar, H.S., Saleh, S., 2002, The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by Schistosoma mansoni infection in mice, *J Ethnopharmacol*, 79, 1–11.

Mansour, M.A., Nagi, M.N., El-Khatib, A.S., Al-Bekairi, A.M., 2002, Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action, *Cell. Biochem. Funct*. 20:143–51.

Moreau, R. A., & Kamal-Eldin, A. (Eds.)., 2009, Gourmet and health-promoting specialty oils, Introduction , *AOCS Press*, Urbana, Illinois, 1–13.

Moreton, R. C., Armstrong, N.A., 1998,The effect of film composition on the diffusion of ethanol through soft gelatin films, *International Journal of Pharmaceutics*, 161, 123–131.

Nazzal, S. and Wang, Y., 2001, Characterization of soft gelatin capsules by thermal analysis, *International Journal of Pharmaceutics*, 230, 35–45.

Nergiz, C. ve Ötles, S., 1993, Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds, *Food Chemistry*, 48, 259-261.

Nickavar , B., Mojab, F., Javidnia, K., Amoli, M.A.R., 2003, Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa L*.from Iran, *Z. Naturforsch*, 58c, 629-631 .

Rabrenovic, B. B., Dimic E.B., Novakovic M.M., Tesevic, V.V., Basic, Z.N., 2014, The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (Cucurbita pepo L.) seeds, LWT - Food Science and Technology , 55, 521-527.

Rakhshandeh, M.V.V., 2005, Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus, P. aeroginosa* and *C. albicans*., *Pak J Med Sci.*, 21, 47–52.

Ramadan, M.F. ve Mörsel, J.T., 2004, Oxidative stability of black cumin *(Nigella sativa L.),* coriander *(Coriandrum sativa L.)* and Niger *(Guizotia abyssinica Cass.)* crude seed oils upon stripping, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 35-43.

Ramadan, M.F., 2007, Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa L.,)* oilseeds; an overwiev, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 42, 1208-1218.

Ramadan, M.F., Asker, M.M.S., Tadros, M., 2012, Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils, *Eur Food Res Technol*, 234, 833–844.

Randhawa, M.A. and Alghamdi, M.S., 2011, Anticancer Activity of *Nigella sativa* (Black Seed) - A Review, *Am J Chin Med*., 39 (6),1075-1091.

Rastogi, L., Feroz, S., Pandey, B.N., Jagtap, A., Mishra, K.P., 2010, Protection against radiation-induced oxidative damage by an ethanolic extract of *Nigella sativa* L., *Int J Radiat Biol.*, 86 (9), 719-731.

Reich, G., 2004, Formulation and physical properties of soft capsules, Pharmaceutical Capsules, F.Podczek, B.E. Jones, *Pharmaceutical Press*, London, 201–212.

Rouhou, S.C., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H., 2007, *Nigella sativa L* chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction, *Food Chem.*, 101, 673–681.

Salem, M.L., Hossain, M.S., 2000, Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection, *Int J Immunopharmacol.* 22, 729–740.

Salem, M.L., 2005, Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L seed, *Int Imunopharmacol*, 5, 1749–1770.

Salvador, M.D., Aranda, F., Gomez- Alonso, S., Fregapane, G., 2001, Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons, composition quality and oxidative stability, *Food Chemistry*, 74, 267-274.

Savio, D., Basso, G., Harrasser, P.C., 1998, Softgel capsule technology as an enhancer device for the absorption of natural principles in humans. *Arzneimittel- Forschung* 48 (II), 1104-1106.

Swamy, S.M., Tan, B. K., 2000, Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L seeds, *J Ethnopharmacol*, 70:1–7.

Takruri, H.R.H., Dameh, M.A.F, 1998, Study of nutritional value of black cumin seeds (Nigella sativa L.), J. Sci. Food Agric., 76: 404-410.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011, T.C. Resmi Gazete, 28157, 29 Aralık 2011.

Üstun,G., Kent, L., Çekin, N., Civelekoglu, H., 1990, Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 67 (12), 958-960.

Woo, C.C., Kumar, A.P., Sethi, G., Tan, K.H., 2012, Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer, *Biochemical Pharmacology*, 83(4), 443-451.

Wang, L., and Weller,C.L., 2006, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology* 17, 300–312.

Wolf, G., 1997, Gamma-tocopherol: an efficient protector of lipids against nitric oxide-initiated peroxidative damage, *Nutrition Reviews* 55 (10), 376–378.

Yıldız, F., Coban, S., Terzi, A., Savas, M., Bitiren, M., Celik, H., Aksoy, N., 2010, Protective effects of *Nigella sativa* against ischemia-reperfusion injury of kidneys, *Ren Fail*., 32 (1), 126-131.

Yu, L. L., Zhou, K. K., Parry, J., 2005, Antioxidant properties of cold-pressed black carraway, carrot, cranberry and hemp seed oil, *Food Chemistry,* 91, 723-729.

Zaoui, A., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M.A., Settaf, A., Amarouch, H., Hassar, M., 2000, Diuretic and hypotensive effects of Nigella sativa in the spontaneously hypertensive rat, Therapie 5:379–82.

Zaoui, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., Mahassine, N., Amarouch, H., Hassar, M., 2002a, Effects of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat, J Ethnopharmacol 79:23–6.

Zigoneanu, I. G., 2006, Alpha-tocopherol:Extraction from rice bran by microwave-assisted method, and entrapment and release from polymeric nanoparticles, Yüksek Lisans Tezi, *Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, USA*, 10-15.

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER


| | | |
|---|---|---|
| **Adı Soyadı** | **:** | Zeliha Üstün |
| **Uyruğu** | **:** | T.C. |
| **Doğum Yeri ve Tarihi** | **:** | Konya – 1980 |
| **Telefon** | **:** | + 90 332 238 86 28 - +90 555 380 44 96 |
| **e-mail** | **:** | ustun.zeliha@gmail.com |


## EĞİTİM

| **Derece** | | **Adı, İlçe, İl** | **Bitirme Yılı** |
|---|---|---|---|
| Lise | : | Konya İmam Hatip Lisesi, Karatay, Konya | 1997 |
| Üniversite | : | Selçuk Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Konya | 2002 |
| | | Ankara Üniversitesi, İlahiyat Fakültesi, Ankara | 2011 |
| | | Ege Üniversitesi, Almanca Mütercimlik Tercümanlık | Devam ediyor |
| Yüksek Lisans | : | Selçuk Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Konya | 2004 |
| Doktora | : | Selçuk Üniversitesi, Kimya, Konya | 2015 |

## İŞ DENEYİMLERİ

| **Yıl** | **Kurum** | **Görevi** |
|---|---|---|
| | | **Uluslararası ve Ulusal Projeler – Koordinasyon** (FP7-Santez-Tübitak-DPT) |
| | | **Ar-Ge**<br>Ar-Ge ve ürün geliştirme süreçleri odaklı Ege Üniversitesi ARGEFAR – İlaç Geliştirme & Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi destekli çalışmalar |
| 2007-… | Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş. | **ZADE Vital Sağlıklı Yaşam Serisi, ZADE Naturel – ZADE Organik**<br>Doğal ürünler, sıvı ve yumuşak kapsül segmentinin geliştirilmesi, yatırım, üretim, ambalaj tasarımları ve lansmanı,<br>Ürün Geliştirme Sorumlusu<br>Ambalaj , teknik doküman ve tanıtım materyallerinin tasarımı |
| | | **Kalite Yönetim Sistemleri Müdür Asistanı** |
| 2006-2007 | Akademi Dil Eğit. Mer. | Arapça Dil Eğitmeni |

| | | |
|---|---|---|
| 2006-2007 | BLC Dil Eğit. Mer. | İngilizce Dil Eğitmeni |
| 2004-2006 | Villanova Academy for Honor Studies, Philadelphia, PA, ABD | Lise Düzeyinde Yardımcı Öğretmen |
| 2004 | Vizyoner Danışmanlık | Kalite Yönetim Sistemleri Danışmanı |
| 2004-2012 | Yazarlık & Editörlük | Memleket Gazetesi-<br>Philadephia Notları 2004- 2010<br>Mahalle Mektebi – 2012<br>K+ - 2012 |

**UZMANLIK ALANI**

Doğal besin destek ürünleri
Soğuk pres yağ üretimi
Tedarik zincirleri
Kalite kontrol analizleri
Ürün geliştirme ve Ar-Ge

Kalite Yönetim Sistemleri

| | |
|---|---|
| ISO 9001 | Kalite Yönetim Sistemi |
| ISO 22000 | Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi |
| BRC-Food | Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi |
| ISO 10002 | Müşteri Memnuniyeti Yönetim Sistemi |
| ISO 17025 | Laboratuvar Yeterlilik Yönetim Sistemi |
| ISO 50001 | Enerji Yönetim Sistemi |
| ISO 14001 | Çevre Yönetim Sistemi |
| OHSAS 18001 | İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi |
| OIC/SMIIC 1 | Helal Gıda Yönetim Sistemi |
| Orthodox Union | Kosher Gıda Yönetim Sistemi |
| Organik Ürün Sertifikasyonu | Türkiye, Avrupa Birliği ve Amerika Birleşik Devletleri normlarında |
| Sedex Global | Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi |

**YABANCI DİLLER**

İngilizce, Arapça

**YAYINLAR***

Bazı süt ürünleri ile işlenmiş yumurta üretimi üzerine bir çalışma – Yüksek Lisans Tezi

Bazı Süt Ürünleri Katkısı İle İşlenmiş Yumurta Üzerine Bir Çalışma-Hasad Gıda Dergisi 2004 (Yüksek lisans tezinden yapılmıştır)

Soğuk Pres Çörek Otu Tohumu Yağının Fizikokimyasal Özelliklerinin Korunması ve Katma Değerli Ürün Tasarımı, Santez Projesi,SÜ Fen Fakültesi Kimya Bölümü, 2014

Mustafa TOPKAFA, H. Filiz AYYILDIZ, Fatma Nur ARSLAN, Hüseyin KARA, Zeliha ÜSTÜN, Ayşe ÇİVİT , 2008, "Yağ Rafinasyonu Ağartma Kademesinde Renk Adsorbsiyonun İncelenmesi" XXII. Ulusal Kimya Kongresi, Magusa, Kıbrıs (Poster Sunum).

H. Yesim Karasulu, Ercument Karasulu, Mevlüt Büyükhelvacıgil, Mustafa Yıldız, Ahmet Ertugrul, Kadir Büyükhelvacıgil, Zeliha Ustün and Nilay Gazel , 2011, Soybean Oil: Production Process, Benefits and Uses in Pharmaceutical Dosage Form, Soybean and Health, Hany El-Shemy (Ed.),ISBN: 978-953-307-535-8, *InTech*, DOI: 10.5772/18710.Availablefrom:http://www.intechopen.com/books/soybean-and-health /soybean-oil-production-process-benefits-and-uses-in-pharmaceutical-dosage-form