CHİA TOHUMU YAĞLARININ KİMYASAL PROFİLLERİNİN (UPC^2 VE GC/FID-MS) VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Yasin DARI

Eskişehir 2020

CHİA TOHUMU YAĞLARININ KİMYASAL PROFİLLERİNİN (UPC^2 VE GC/FID-MS) VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Yasin DARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ülkü Dilek UYSAL

İkinci Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2020

ÖZET

CHİA TOHUMU YAĞLARININ KİMYASAL PROFİLLERİNİN (UPC^2 VE GC/FID-MS) VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Yasin DARI

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü,

Ocak 2020

Danışman: Prof. Dr. Ülkü Dilek UYSAL

İkinci Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Bu çalışma kapsamında, menşei Arjantin olan ve ülkemizde ticari olarak değeri olan *Salvia hispanica* L. (chia) siyah ve beyaz tohumunun taşıdığı sabit yağlar hem konvansiyonel hem de modern teknikler kullanılarak elde edilmiş olup kimyasal profilleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda, konvansiyonel tekniklerden, soğuk sıkım, Folch ve devamlı çözücü ekstraksiyonu teknikleriyle ve modern tekniklerden, hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu teknikleriyle tohumlardan sabit yağlar elde edilmiştir. Elde edilen tüm sabit yağların kimyasal profilleri hem Gaz Kromatografisi–Alev İyonlaştırıcı Dedektör/Kütle Spektroskopisi (GC–FID/MS) yöntemi hem de ilk defa Yüksek Performanslı Birleşim Kromatografisi (UPC^2) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Salvia hispanica L. tohumundan elde edilen metanollü ekstrede toplam fenol miktarı gallik aside eşdeğer olarak Folin–Ciocalteu reaktifi yöntemiyle tespit edilmiştir. Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarı ise rutin ve kersetine eşdeğer olarak $AlCl_3$ reaktifi ile tayin edilmiştir. Chia tohumunun farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerinin antioksidan kapasitelerini belirlemek için DPPH, TEAC ve ORAC yöntemleri uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ekstraksiyon, UPC^2, chia, antioksidan, yağ asitleri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF CHEMICAL PROFILES (UPC^2 AND GC/FID-MS) AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE OILS OF CHIA SEED

Yasin DARI

Department of Chemistry, Anadolu University, Institutes of Graduates Programs,

Jan 2020

Supervisor: Prof. Dr. Ülkü Dilek UYSAL

Co-Supervisor: Prof. Dr. Temel ÖZEK

In this study, black and white seed of *Salvia hispanica* L., known as chia, which is of Argentina origin and has commercial value in our country, was used. The fixed oils in chia seeds were obtained by using both conventional and modern techniques and their chemical profiles were evaluated comparatively. In this respect, conventional techniques; cold pressing, Folch and continuous solvent extraction techniques were used. Modern techniques; fixed oils were obtained using accelerated solvent extraction and supercritical fluid extraction techniques. The chemical profiles of all fixed oils obtained were determined by both Gas Chromatography-Flame Ionisation Detector/Mass Spectroscopy (GC/FID-MS) method and ultra performance convergence chromatography (UPC^2) method for the first time.

Total phenol content of methanol extract obtained from *Salvia hispanica* L. seeds was determined by using Folin-Ciocalteu reagent equivalent to gallic acid. The total amount of flavonoids in the extracts was determined by using $AlCl_3$ reagent equivalent to routine and quercetin. DPPH, TEAC and ORAC assay were used to determine the antiooxidant capacity of chia seed extracts obtained by different extraction methods.

Keywords: Extraction, UPC^2, chia, antioxidant, fatty acids.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Yasin DARI'nın 'Chia Tohumu Yağlarının Kimyasal Profillerinin (UPC^2 ve GC/FID-MS) ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi' başlıklı tezi 07/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek 'Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Ülkü Dilek UYSAL	
Üye	: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Elif Mine ÖNCÜ KAYA	

TEŞEKKÜR

Tezin konusunun belirlenmesinde ve deneysel çalışmalarımda beni yönlendiren danışman hocalarım Prof. Dr. Ülkü Dilek UYSAL ve Prof. Dr. Temel ÖZEK'e,

Laboratuvarda benden bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Gülmira ÖZEK ve Uzm. Biyolog Süleyman YUR'a,

Çalışmam süresince chia tohumu hakkında botanik bilgilerini paylaşan hocalarım Öğr. Gör. Dr. Ömer Koray YAYLACI ve Dr. Öğr. Üyesi İlham ERÖZ POYRAZ' a,

Tezimdeki şekillerin çizimlerinde benden yardımlarını esirgemeyen ve bana kattığı değerli bilgiler için arkadaşım mimar Görkem VARLIK' a,

Tez çalışmaları süresince bana göstermiş oldukları misafirperverlikten ötürü Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar, Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜBİBAM) personeline,

Hayatımın her anında yanımda bulunan ve benden desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Yasin DARI

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan "bilimsel intihal tespit programı"yla tarandığını ve hiçbir şekilde "intihal içermediğini" beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Yasin DARI

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **xv**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xvi**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK BİLGİSİ **3**
2.1. *Salvia* Cinsi Morfolojik Özellikleri 3
2.2. *Salvia hispanica* L. Morfolojik Özellikleri 3
2.3. Chia Tohumuna Ait Fitokimyasal Bilgiler 6
2.4. *Salvia hispanica* L. Biyolojik Aktivite Profili 7
2.5. Lipitler 8
2.5.1. Yağ asitleri 8
2.5.1.1. Doymuş yağ asitleri 9
2.5.1.2. Doymamış yağ asitleri 10
2.5.1.3. Esansiyel yağ asitleri 14
2.6. Lipitler İçin Uygulanan Ekstraksiyon Yöntemleri 14
2.6.1. Sıkma yöntemi 14
2.6.2. Çözücü ile ekstraksiyon 15
2.6.2.1. Maserasyon (Folch) yöntemi 15
2.6.2.2. Devamlı çözücü ekstraksiyonu (Soxhlet) 15
2.6.2.3. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE) 16
2.6.2.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) 18
2.7. Lipit Tayin Yöntemleri 19
2.7.1. Gaz kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü-kütle spektrometresi tekniği (GC/FID-MS) 19
2.7.2. Ultra performans birleşim kromatografisi (UPC^2) 19
2.8. Antioksidan Aktivite 21
3. MATERYAL - METOT **27**
3.1. Bitkisel Materyal 27

3.2. Kimyasallar 27
3.3. Alet ve Ekipmanlar 29
3.4. Yöntem 30
3.4.1. Sabit yağ ekstraksiyonu 30
3.4.1.1. Folch yöntemi 30
3.4.1.2. Devamlı çözücü ekstraksiyonu (Soxhlet) yöntemi 31
3.4.1.3. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE) yöntemi 32
3.4.1.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) yöntemi 33
3.4.1.5. Soğuk sıkım (Cold pressing) yöntemi 34
3.4.2. Sabunlaşma işlemi 34
3.4.3. Serbest yağ asitlerinin metillenmesi 35
3.4.4. Gaz kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü-kütle spektrometresi tekniği (GC/FID-MS) 35
3.4.5. Ultra performans birleşim kromatografisi tekniği 37
3.5. Antioksidan Aktivite Çalışmaları 39
3.5.1. DPPH radikali süpürme potansiyeli testi 39
3.5.2. Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi 40
3.5.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi 41
3.6. Toplam Fenol Miktar Tayini 42
3.7. Toplam Flavonoit Miktar Tayini 42
4. BULGULAR 44
4.1. Sabit Yağların Ekstraksiyon Verimleri 44
4.2. Sabit Yağ Asidi Kompozisyonları 44
4.2.1. Gaz kromatografisi kütle spektrometresi yöntemiyle sabit yağ asidi kompozisyonlarının aydınlatılması 44
4.2.2. Ultra performans birleşim kromatografisi yöntemiyle sabit yağ asidi kompozisyonlarının aydınlatılması 47
4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları 73

4.3.1. DPPH serbest radikali süpürme değerleri 73
4.3.2. Troloksa ekivalent antioksidan kapasite değerleri 73
4.3.3. Oksijen radikali antioksidan kapasitesi testi sonuçları..... 74
4.4. Toplam Fenol Miktarları 77
4.5. Toplam Flavonoit Miktarları 77
5. TARTIŞMA 79
6. ÖZGEÇMİŞ 99

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya üzerinde chia yetiştirilen yerler……... 4

Şekil 1.2. *Salvia hispanica* L. gövde, yaprak ve çiçeği……. 5

Şekil 1.3. *Salvia hispanica* L. tohumu……... 5

Şekil 2.1. Stearik asit…….. 9

Şekil 2.2. Palmitik asit……... 10

Şekil 2.3. α-linolenik asit……... 12

Şekil 2.4. Linoleik asit……... 12

Şekil 2.5. Oleik asit…… 13

Şekil 2.6. Soğuk sıkım apareyinin çalışma prensibinin şematik gösterimi…… 14

Şekil 2.7. Soxhlet apareyinin şematik gösterimi…… 16

Şekil 2.8. ASE apareyinin şematik gösterimi…… 17

Şekil 2.9. SFE sisteminin şematik gösterimi……. 18

Şekil 2.10. UPC^2 cihazının şematik gösterimi……. 20

Şekil 2.11. ABTS radikalinin antioksidan mekanizması……. 24

Şekil 2.12. DPPH radikalinin antioksidan mekanizması……. 25

Şekil 2.13. ORAC yöntemi antioksidan mekanizması……. 26

Şekil 3.1. Çalkalayıcı……. 30

Şekil 3.2. Soxhlet apareyi…….. 31

Şekil 3.3. Hızlandırılmış Ekstraksiyon Cihazı (ASE) …….. 32

Şekil 3.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Cihazı (SFE) …….. 33

Şekil 3.5. Soğuk sıkım apareyi…….. 34

Şekil 3.6. Serbest yağ asitlerinin metillenme reaksiyonu…….. 35

Şekil 3.7. GC/FID-MS Sistemi…….. 36

Şekil 3.8. UPC^2 kromatografi cihazı…….. 38

Şekil 4.1. Maserasyon ile elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı…… 47

Şekil 4.2. Maserasyon ile elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı…… 47

Şekil 4.3. Soxhlet metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı……. 48

Şekil 4.4. Soxhlet metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı…….. 48

Şekil 4.5. ASE metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı……. 49
Şekil 4.6. ASE metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı……. 49
Şekil 4.7. Standartların UPC^2 kromatogramı……. 50
Şekil 4.8. 0.1 mg/mL linoleik asit standardının UPC^2 kromatogramı……... 50
Şekil 4.9. Linoleik asidin kalibrasyon eğrisi…….. 51
Şekil 4.10. Folch metoduyla elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı……. 51
Şekil 4.11. Folch metoduyla elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı……. 51
Şekil 4.12. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 52
Şekil 4.13. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 52
Şekil 4.14. Soxhlet metoduyla elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı……. 52
Şekil 4.15. Soxhlet metoduyla elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı……. 53
Şekil 4.16. SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 53
Şekil 4.17. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 53
Şekil 4.18. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 54
Şekil 4.19. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı…… 54
Şekil 4.20. Standart kontrol linoleik asit (0,05 mg/mL)……. 54
Şekil 4.21. 0,1 mg/mL standart linolenik asidin UPC^2 kromatogramı…… 55
Şekil 4.22. Linolenik asidin kalibrasyon eğrisi…… 55
Şekil 4.23. Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……. 55

Şekil 4.24. Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……. 56
Şekil 4.25. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……. 56
Şekil 4.26. ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……... 56
Şekil 4.27. Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……... 56
Şekil 4.28. Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……... 57
Şekil 4.29. SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……. 57
Şekil 4.30. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……. 57
Şekil 4.31. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……... 58
Şekil 4.32. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı……... 58
Şekil 4.33. Standart kontrol linolenik asit (0,05 mg/mL)……. 58
Şekil 4.34. 0.1 mg/mL standart oleik asidin UPC^2 kromatogramı…… 59
Şekil 4.35. Oleik asidin kalibrasyon eğrisi……... 59
Şekil 4.36. Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 59
Şekil 4.37. Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 60
Şekil 4.38. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 60
Şekil 4.39. ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 60
Şekil 4.40. Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 61
Şekil 4.41. Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……. 61

Şekil 4.42. SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı…….. 61
Şekil 4.43. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı…….. 62
Şekil 4.44. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……... 62
Şekil 4.45. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı……... 62
Şekil 4.46. 0,05 mg/mL standart kontrol oleik asit…… 63
Şekil 4.47. 0,1 mg/mL standart palmitik asit…… 63
Şekil 4.48. Standart palmitik asitin kalibrasyon eğrisi…….. 63
Şekil 4.49. Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı…….. 64
Şekil 4.50. Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı…….. 64
Şekil 4.51. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı…….. 64
Şekil 4.52. ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı…….. 64
Şekil 4.53. Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı……... 65
Şekil 4.54. Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı……... 65
Şekil 4.55. SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı……. 65
Şekil 4.56. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı…….. 65
Şekil 4.57. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı……. 66
Şekil 4.58. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı……. 66
Şekil 4.59. 0,05 mg/mL standart kontrol palmitik asit…….. 66
Şekil 4.60. 0,1 mg/mL standart stearik asit……... 67

Şekil 4.61. Standart stearik asitin kalibrasyon eğrisi……. 67
Şekil 4.62. Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…….. 67
Şekil 4.63. Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…….. 68
Şekil 4.64. ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı……. 68
Şekil 4.65. ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı……. 68
Şekil 4.66. Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı……. 68
Şekil 4.67. Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…….. 69
Şekil 4.68. SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…….. 69
Şekil 4.69. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…….. 69
Şekil 4.70. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…… 70
Şekil 4.71. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı…… 70
Şekil 4.72. 0,05 mg/mL standart kontrol stearik asit……. 70
Şekil 4.73. Troloksun kalibrasyon eğrisi……... 74
Şekil 4.74. Fluoreseinin lüminesans değerlerinin siyah chia tohumu ekstrelerinin etkisi altında zamana karşı değişimi (ORAC testi)……. 75
Şekil 4.75. Fluoreseinin lüminesans değerlerinin beyaz chia tohumu ekstrelerinin etkisi altında zamana karşı değişimi (ORAC testi)……. 75
Şekil 4.76. Gallik asidin kalibrasyon eğrisi…… 77
Şekil 4.77. Rutinin kalibrasyon eğrisi…… 78
Şekil 4.78. Kersetinin kalibrasyon eğrisi…… 78
Şekil 5.1. Siyah ve beyaz chia tohumlarının farklı tekniklerle elde edilen ekstrelerinin verim değerlerinin kıyaslanması…….. 80

Şekil 5.2. Farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen siyah chia tohumu lipitlerinin kimyasal profilleri……... 81
Şekil 5.3. Farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen beyaz chia tohumu lipitlerinin kimyasal profilleri……... 81
Şekil 5.4. Siyah ve beyaz chia tohumlarının doymamış yağ asidi miktarları…... 82
Şekil 5.5. Folch metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları……... 83
Şekil 5.6. Folch metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları……... 83
Şekil 5.7. SFE tekniğiyle elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları……... 83
Şekil 5.8. SFE tekniğiyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları……... 84
Şekil 5.9. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları…… 84
Şekil 5.10. Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları…….. 85
Şekil 5.11. Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi……. 86
Şekil 5.12. Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi……. 86
Şekil 5.13. Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi ile AAPH radikali süpürme etkisi…… 87

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Kullanılan alet ve ekipmanlar……... 29

Tablo 3.2. UPC^2 kromatografisinde kullanılan elüsyon gradienti……. 37

Tablo 4.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerin ekstraksiyon verimleri……... 44

Tablo 4.2. Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen siyah chia tohumu ekstrelerinin yağ asidi kompozisyonu……... 45

Tablo 4.3. Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstrelerinin yağ asidi kompozisyonu…….. 46

Tablo 4.4. Siyah chia tohumu ekstrelerinin UPC^2 yöntemiyle elde edilen miktar tayinleri (mg/mL)……. 71

Tablo 4.5. Beyaz chia tohumu ekstrelerinin UPC^2 yöntemiyle elde edilen miktar tayinleri (mg/mL)…… 72

Tablo 4.6. Siyah chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi... 73

Tablo 4.7. Beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi.. 73

Tablo 4.8. Siyah chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi(mM TE/g_{ekstre})…….. 74

Tablo 4.9. Beyaz chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi(mM TE/g_{ekstre})…….. 74

Tablo 4.10. Siyah chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi sonuçları (mmol TE/g_{ekstre})…… 76

Tablo 4.11. Beyaz chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi sonuçları (mmol TE/g_{ekstre})…… 76

Tablo 4.12. Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam fenol miktarları (mg GAE/g_{ekstre})……. 77

Tablo 4.13. Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam flavonoit miktar tayini (mg RE/mL)……. 78

Tablo 4.14. Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam flavonoit miktar tayini (mg KE/mL)…… 78

KISALTMALAR DİZİNİ

AAPH	: 2,2'- Azobis (2-metilpropiyonamidin) dihidroklorür
ABTS	: 2,2-Azino-bis (3-etilbenziltiyazolin-6-sülfonik asit)
ASE	: Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu
ASE-B	: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresi
ASE-S	: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresi
DPPH	: 2,2-Di(4-tert-oktilfenil)-1-pikrilhidrazil
ET	: Elektron transferi
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FOL-B	: Folch metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresi
FOL-S	: Folch metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresi
GC / FID - MS	: Gaz kromatografisi / alev iyonizasyon dedektörü - kütle spektrometresi tekniği
GC-MS	: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi
HAT	: Hidrojen atomu transferi
ORAC	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
S.SIK-B	: Soğuk sıkım metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresi
S.SIK-S	: Soğuk sıkım metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresi
SFE	: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
SFE-B	: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresi
SFE-S	: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresi
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOX-B	: Soxhlet metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresi
SOX-S	: Soxhlet metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresi
TEAC	: Troloksa ekivalent antioksidan kapasite
UPC^2	: Ultra performans birleşim kromatografisi
UV-gör	: Mor ötesi görünür bölge spektrofotometresi

1. GİRİŞ

Bu çalışmada *Salvia hispanica* L. tohumunun farklı ekstraksiyon metotlarıyla elde edilen ekstrelerinin yağ asitleri bakımından incelenmesi, kimyasal ve biyolojik profillerinin ortaya konması, metotlar arasındaki verim farklarının ve farklı kompozisyon profillerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Chia tohumu üzerinde yapılan önceki çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada, ilk defa Yüksek Performanslı Birleşim Kromatografisi (UPC^2) yöntemi kullanılmış olup yağ asitlerinin kompozisyonlar açısından önceki çalışmalarla kıyaslanması hedeflenmiştir.

UPC^2 tekniği, sıvı ve gaz kromatografisi yöntemlerinin olumlu özelliklerini bünyesinde barındıran hibrit ve modern bir tekniktir. Su hariç bütün çözücülerin hareketli faz olarak kullanılabilmesi bu tekniğin avantajlarındandır. Ayrıca bu tekniğin öne çıkan başlıca özellikleri, çözücü olarak süperkritik CO_2 kullanılması sebebiyle hem maliyet açısından hem de çözücünün toksik olmamasından dolayı çevre dostu bir teknik olmasıdır.

Bu çalışma kapsamında chia tohumunun biyolojik aktivite profillerinin DPPH, TEAC ve ORAC yöntemiyle ortaya konması hedeflenmiştir. Özellikle ORAC testi, yağlı numunelerde iyi sonuçlar vermesi nedeniyle tercih edilmiştir.

Chia tohumu ile yapılan önceki çalışmalara bakıldığında kapsamlı olarak farklı ekstraksyion metotlarından elde edilen ekstrelerin yağ asidi kompozisyonları aydınlatılmamıştır.

Ekstraksiyon, katı ya da sıvı fazda bulunan bir ya da birden çok bileşiğin farklı çözünürlük özellikleri kullanılarak diğer bir faza alınması işlemidir. Bitkisel materyallerden bileşiklerin izole edilmesinde temel bir yöntemdir. Ayrıca, karışımdaki istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılmasında da kullanılır.

Ekstraksiyonu etkileyen faktörler kabaca üç ana grupta toplanır; çözücü madde temas yüzeyi, çözücü seçimi ve sıcaklık.

Katı bir madde kırma, öğütme, küçük parçalara ayırma gibi işlemlerden geçirilerek çözücü ile temas yüzeyi arttırılır. Bu durumlarda çözücü ile temas yüzeyi artmış olan maddenin ekstraksiyon verimi de artmış olur.

Ekstraksiyon işleminde etkili rol oynayan bir diğer nokta ise doğru çözücü seçimidir. Seçilen çözücü ayırmak istediğimiz maddeyi iyi çözebilmelidir. Ekstraksiyon

işlemine tabi tuttuğumuz madde apolar çözücülerde iyi çözünüyorsa organik bir çözücüde, polar bileşiklerde iyi çözünüyorsa su veya metanol gibi polar çözücülerde çözülmelidir. İşlem sonunda hem organik faz hem de sulu fazda çözünen bileşikler ayırma hunisi yardımıyla birbirinden ayrılır.

Ekstraksiyon verimine etki eden son parametre, sıcaklıktır. Sıcaklık artırıldıkça çözünen maddenin çözücüye geçme hızı artacağı için genellikle ekstraksiyon verimi artar. Fakat yüksek sıcaklıklarda maddenin yapısında bazı bozunmalar oluşabilir ve istenmeyen bileşikler de çözünebilir.

Ekstraksiyon işlemi uzun yıllardan beri bilinen ve sıkça kullanılan bir yöntemdir. Geleneksel yöntemler gerek zaman açısından gerekse organik çözücü sarfiyatı bakımından yerini hızla yeni metotlara bırakmaya başlamıştır. Soxhlet, soğuk sıkım ve maserasyon gibi konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra ilerleyen teknolojiyle beraber günümüzde birçok yeni metot geliştirilmiştir. Bu çalışmada Soxhlet, maserasyon ve soğuk sıkım gibi konvansiyonel ekstraksiyon metotlarının yanında gelişmiş ekstraksiyon tekniklerinden hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu metotları kullanılmıştır.

Salvia hispanica L. olarak da bilinen chia; siyah, beyaz ve kahverengi tonlarda tohumlardan oluşur. Chia tohumunun su ile etkileşimi neticesinde şişmesi (müsilaj) sebebiyle tüketildiğinde tokluk hissi verir. Bu özelliği nedeniyle chia tohumu günümüzde pek çok diyet listesinde yer alan popüler bir gıda maddesidir. Chia tohumu, kolesterol ve kanın pıhtılaşmasını engelleme, kan şekeri düzenleme gibi fonksiyonların yanı sıra stresi ve epilepsiyi de önleyebilir [1]. Daha önceki çalışmalarda chia tohumunun içerdiği zengin omega-3 yağ asitleri ile Alzheimer'ın spesifik semptomlarının azalması arasında önemli bir bağlantı bulunmamasına rağmen, Mazza, Pomponi, Janiiri ve ark. omega-3 yağ asitlerinin sinir sistemi, bilişsel gelişim, hafıza ile ilgili öğrenme ve beyin sinapslarının gelişiminde çok önemli bir rol oynadığını bulmuşlardır [2].

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1 *Salvia* Cinsi Morfolojik Özellikleri

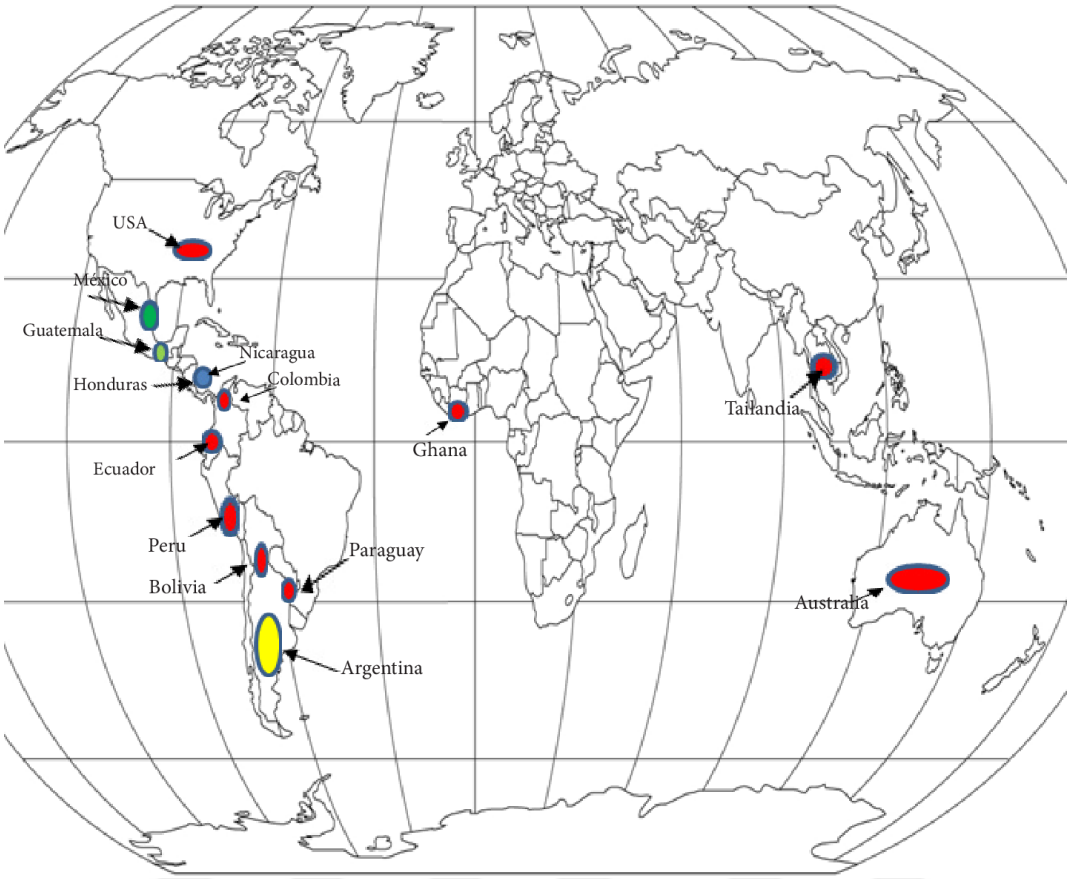
Salvia, Lamiaceae familyasında yer alan bir cinstir. Lamiaceae familyasının morfolojik özellikleri incelendiğinde çoğunlukla bir veya çok yıllık otsu bitkiler olup hoş kokuludurlar. 4 köşeli dallara ve gövdeye sahiptir. Değişik ırklardan oluşan familya, yaklaşık 200 cins ve 3000 tür içerir. Bunların 45 cins ve 546'dan fazla türü ülkemizde yetiştirilir. Bu familyada yer alan türler uçucu yağ içermelerinden ötürü parfümeri sanayiinde kullanılır ve fitoterapötik öneme sahiptir. Ayrıca, bazı gıdalarda sos ve baharat olarak kullanımı da mevcuttur [3].

Salvia türleri, çok yıllık otsular ve çalılardan oluşabildiği gibi nadiren de olsa bir veya iki yıllık otsulardan da oluşabilir. Genelde yoğun aromatik bitkilerdir. Gövdeleri dik ya da yatık salgı tüylü, salgı tüysüz ya da tüysüz olabilirler. Yapraklar tamdır. Çiçeklenme varyasyon gösterir. Korollalar pembe, sarı, mor ve mavi olabilir [4].

Yeryüzünde kabul edilen takson sayısı 1037'dir. *Salvia* cinsi ülkemizde şimdiye kadar 114 tür ile temsil edilmiştir. Bunlardan 58 tanesi endemiktir (http-1). Bu türlerin bazıları günümüzde adaçayı olarak da kullanılmaktadır.

2.2 *Salvia hispanica* L. Morfolojik Özellikleri

Salvia hispanica L. (Chia), Lamiaceae familyasına ait bir türdür. Chia; tropik ve subtropik ortamlarda doğal olarak yetişir [5]. Genellikle Orta ve Güney Amerika bu gerekli iklimi taşıdığından chianın doğal olarak yetiştirildiği bölgelerdir. Bunun yanı sıra Akdeniz ve Güneydoğu Afrika'da da yetiştirilebilmektedir [6]. Chia tohumu, günümüzde Meksika, Arjantin, Bolivya, Ekvador ve Guatemala'da ticari amaçla yetiştirilir [7]. Bitki gün ışığına duyarlıdır ve ölçüleri 2.0 mm x 1.5 mm olan oval siyah ve beyaz tohumlar üretir [8]. Tüm gelişim evrelerinde donmaya karşı toleranssız olup yetiştirilmesi için gerekli optimum sıcaklık aralığı 16-26°C' dir [9].

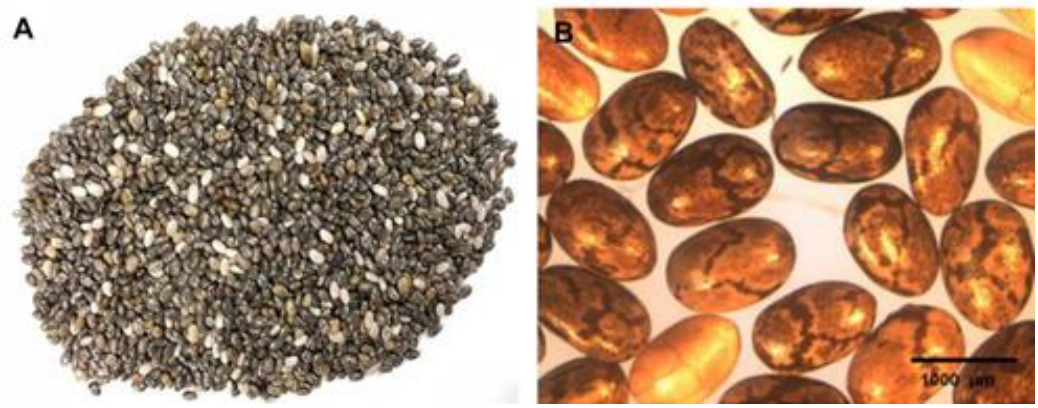


Şekil 1.1. *Dünya üzerinde chia yetiştirilen yerler [10]*

Salvia hispanica L., 1,75 metre yüksekliğe ulaşabilen yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar 4 ila 8 cm uzunluğunda ve 3 ila 5 cm genişliğindedir. Çiçekler mor veya beyaz olabilir. Tohumlar küçük ve basık, 2 ila 2,5 mm uzunluğunda, 1,2 ila 1,5 mm genişliğinde ve 0,8 ila 1 mm kalınlığındadır. Genellikle siyah ve beyaz renkte olan tohumlar nadiren de olsa kahverengi ve gri renkte olabilir.



Şekil 1.2. *Salvia hispanica L. gövde, yaprak ve çiçeği [11]*



Şekil 1.3. *Salvia hispanica L. tohumu*

2.3 Chia Tohumuna Ait Fitokimyasal Bilgiler

Fitokimyasal özellikleri incelendiğinde *salvia hispanica* L. tohumu lipidler, fenolik bileşikler, vitaminler ve proteinler ihtiva eder. İçerdiği yağ asitlerine bakıldığında ana bileşenler; α-linolenik asit, linoleik asit, stearik asit, oleik asit ve palmitik asit olarak tespit edilmiştir.

Chia tohumu; klorojenik asit, kafeik asit, kaempferol ve kersetin gibi fenolik bileşikler içerir [12]. Yapılan bir diğer çalışmada 0,115 – 0,212 mg/g mirisetin, 0,006 – 0,007 mg/g kersetin, 0,024 – 0,025 mg/g kemferol gibi fenolik bileşikler tespit edilmiştir [13].

Chia tohumu yapısında pek çok vitamin bulundurur. Yapılan bir araştırmada A, E (α-tokoferol), B_1, B_2, B_3 ve C vitaminleri teşhis edilmiştir [14]. Bir diğer çalışmada, 100 g chia tohumunda 8.2 mg E vitamini, 7,95 mg B_3 vitamini (Niasin), 1.82 mg C vitamini, 0,65 mg B_1 vitamini (Tiamin), 0,28 mg B_2 vitamini (Riboflavin) tespit edilmiştir [15].

Salvia hispanica L. tohumunun protein içeriği mercimek ve nohut gibi yağlı tohumlardan daha yüksek oranda olduğu belirtilmiştir. Ayrıca chia tohumundaki proteinlerin % 52' si globulin, % 17,3' ü albumin, % 14,5' i glutelin, %12,7' si prolamin olarak tespit edilmiştir [16].

Araştırma konusu olan chia tohumunun içerdiği aminoasitlerin miktar tayinleri yapılmıştır. Yapılan çalışmada 100 g tohumda; 3,5 g glutamik asit, 2,143 g arjinin, 1,689 g aspartik asit, 1,371 g lösin, 1,049 g serina, 1,044 g alanin, 1,016 g fenilalanin, 0,97 g lizin, 0,95 g valin, 0,943 g glisin, 0,801 g izolösin, 0,776 g prolin, 0,709 g trenonin, 0,588 g metiyonin, 0,563 g tirozin, 0531 g histidin, 0,436 g triptofan ve 0,407 g sistein tayin edilmiştir [17].

Chia tohumunda yer alan bazı minerallerin miktar tayini yapılan bir çalışmayla aydınlatılmıştır. Bu çalışmaya göre 100 g tohumda; 640 mg fosfor, 620 mg potasyum, 480 mg kalsiyum, 350 mg magnezyum, 13,2 mg sodyum, 9,39 mg demir, 4,05 mg manganez, 3,65 mg çinko, 1,32 mg molibden, 1,32 mg bakır ve 200 µg selenyum tayin edilmiştir [15].

Chia tohumunun yağı oksidasyona karşı hassastır ve depolama sırasında korunması gereklidir. Ayrıca chia yağının oksidatif stabilitesi ışıktan da etkilenir ve ışık görmeyecek şekilde uygun kaplarda saklanmalıdır. Doğal antioksidanlar chia yağı

oksidasyonunu önleyebilir. Palmitoleik asit ve tokoferol kombinasyonunun etkisi, sentetik antioksidan / tert bütil hidrokinon ile elde edilenden daha büyüktür [18].

2.4 *Salvia hispanica* L. Biyolojik Aktivite Profili

Salvia hispanica L. tohumu, chia olarak da bilinen yağlı bir tohumdur. Kolomb öncesi kültürlerden bu yana Aztekler tarafından yetiştirilmiştir. Bütün olarak ya da öğütülmüş halde gıda olarak kullanılmıştır. Presleme sonucu elde edilen yağ, yüz ve vücut resimlerinde baz olarak kullanılmıştır [19].

Sakkaroz bakımından zengin bir diyetle beslenen Wistar sıçanlarında α-Linolenik asit ve lif bakımından zengin olan chia tohumunun dislipidemi ve insülin direncine faydaları araştırılmıştır. Sonuçlar, chia tohumunun, SRD ile beslenen sıçanlarda dislipidemi (kanda lipit seviyesinin artması) ve insülin direncini önlediğini göstermiştir [20]. Çeşitli chia tohumları süper oksi dismutaz (SOD) aktivitesinde farklılık göstermiş ve 2,2-Azino-bis (3-etilbenziltiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'ye karşı yüksek antiradikal aktivite sergilemiştir. Sonuçlar, chia tohumunun çölyak hastalarının glutensiz diyetlerinde ve sağlık gıdalarında antioksidan içerik olarak kullanım için uygun olduğunu göstermektedir [21].

Tek kör çapraz çalışmada, tip 2 diyabetli kişilerde iyi glisemik ve lipit kontrolünü korurken Salba ile uzun süreli takviyenin büyük bir kardiyovasküler risk faktörünü (SBP) ve ortaya çıkan diğer faktörleri (js-CRP (C-reaktif protein) ve vWF(von Willebrand faktör)) zayıflattığını göstermiştir [22].

İçerdiği yağ bakımından zengin bir tahıl olan *Salvia hispanica* L.'nin postprandial glisemiyi azaltma ve bir karbonhidrat yemeğine eklendiğinde iştahı azaltma yeteneği gözlenmiştir. Sonuçlar, zemin ve bütün formların, postprandial glisemiyi ve hafifçe bastırılmış iştahı olumlu yönde etkilediğini göstermiştir [23].

Chia ve keten tohumunun onbeş sağlıklı katılımcı üzerindeki etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; besin bileşimlerindeki benzerliklere rağmen, chia tohumunun glikozu yavaş salınan bir karbonhidrata dönüştürme kabiliyetine sahip olduğu ve yüksek lif viskozitesinden ötürü tokluğu keten tohumundan daha büyük ölçüde etkileme kabiliyetine sahip olduğu gözlemlenmiştir [24].

Tip 2 diyabetli aşırı kilolu veya obezite hastası olan yetmiş yedi kişilik iki paralel grubun çift kör, rastgele, kontrollü bir denemesi, iyi glisemik kontrolü korurken, chia tohumlarının kilo kaybını ve obezite ile ilişkili risk faktörlerinin gelişimini arttırmada

yararlı rolünü desteklediği tespit edilmiştir. Chia ilavesi, şeker hastalığında obezite tedavisinde geleneksel tedaviye yararlı bir diyet ilavesi olabileceği anlaşılmıştır [25].

Chia bitkisinin tohumlarının ve metanollü ekstresinin antioksidan ve kantitatif fitokimyasal içeriğinin değerlendirildiği çalışmada, antioksidan kapasitenin kahve veya yeşil çay için bildirilenden daha düşük olduğu belirlenmiştir. *Artemia salina* L. hücrelerinde yapılan toksisite çalışmalarının sonucunda tohumların toksik etkisinin düşük olduğu görülmüştür. Su kontrol grubuna göre yapılan çalışmada ise tokluk üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir [26].

2.5. Lipitler

Lipitler, insan ve hayvan vücudunda bulunan, su ve su gibi polar çözücülerde çözünmeyen fakat kloroform ve eter gibi organik çözücülerde eriyen ve yapılarında C, H ve O bulunduran maddelerdir. Kimyasal olarak yağ asitleri denilen bir değerlikli alifatik asitlerin alkolle oluşturdukları esterlerlerdir [27].

$$R_1\text{-OH} + R_2\text{-COOH} \longrightarrow R_1\text{-COO-}R_2 + H_2O$$

(Alkol) + (Yağ Asidi) Ester (Lipit) + Su

2.5.1. Yağ asitleri

Yağ asitleri, R-COOH formülüyle gösterilen alifatik monokarboksilik asitlerdir. Bünyesinde bir veya birden fazla sayıda C-C çift bağı barındıran yağ asitleri doymamış yağ asitleri olarak adlandırılırken zincirinde C-C çift bağı bulundurmayanlar doymuş yağ asitleri olarak adlandırılır. Doymuş yağ asitlerinin genel formülleri $C_nH_{2n}O_2$ 'dir. Bitki ve hayvan lipidlerinde bulunan yağ asitleri genellikle çift sayıda karbon atomu içerip zincir uzunlukları ise 14-22 karbon arasında yer alır. Zincirde yer alan çift bağ sayısı arttıkça ve zincir kısaldıkça yağ asidinin erime noktası azalır.

Uzun zincirli yağ asitleri suda çözünmedikleri için sabunlaştırılarak Na^+ ve K^+ tuzlarının su içinde hidrofobik etkileşimler yapmaları sağlanır.

Doymamış yağ asitleri, H_2 ile bombardıman edilerek çift bağların tek bağlara dönüşmesi sağlanır. Böylece doymuş yağ asitleri elde edilir.

Memelilerde, yağ asidi zincirindeki 9 nolu karbon atomundan sonraki çift bağları oluşturacak enzimler yer almadığı için doymuş yağ asitlerinden linoleat (18:2, cis-Δ^9,Δ^{12},Δ^{15}) ve linolenat (18:3, cis-Δ^9,Δ^{12},Δ^{15}) gibi yağ asitleri sentezlenemez. Bu yağ

asitlerine esansiyal yağ asitleri denir. Esansiyel yağ asitleri vücutta sentezlenemediği için dışarıdan gıda ve diyet takviyesiyle alınmalıdır [28].

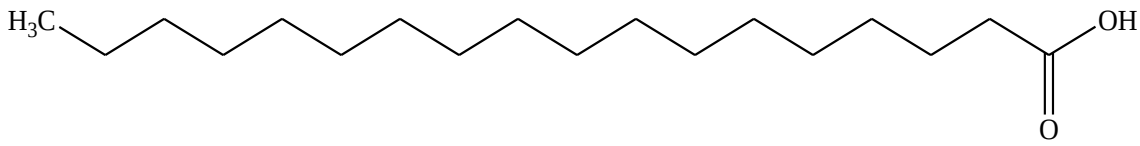
2.5.1.1. Doymuş yağ asitleri

Bünyesinde yer alan radikal grupların tamamında σ (sigma) bağı bulunan yağ asitleridir. Satüre yağ asidi olarak da adlandırılır. Kimyasal formülleri $C_nH_{2n}O_2$ 'dir. Doğal olarak bulunan yağ asitlerinde 'n' sayısı çifttir. Yapıları zincir şeklindedir ve dallanma yoktur. En kısa zincirli doymuş yağ asidi 4 tane C atomuna sahip bütürik asit iken en uzun zincirli doymuş yağ asidi ise 24 C atomu içeren lignoserik asittir. 8 ve daha fazla C atomuna sahip olan doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında katı halde bulunur. Molekül ağırlıkları arttıkça yoğunlukları düşer fakat viskoziteleri ve kırılma indisleri artar [27].

Stearik asit:

Oktadekanoik asit olarak da bilinen stearik asit, en yaygın yağ asitlerinden biridir. Çoğu hayvansal ve bitkisel yağlarda gliserol esteri olarak bulunur [29]. Hayvansal yağlarda kakao yağı ve shea yağı hariç diğer bitkisel yağlardan daha fazla miktarda bulunur [30].

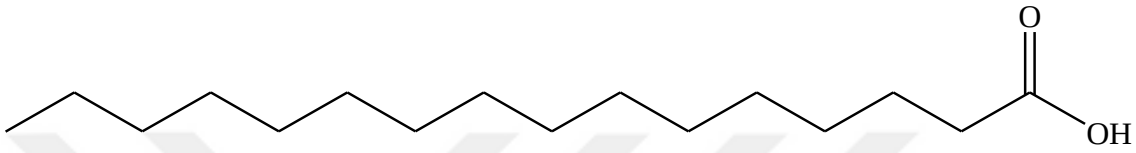
Stearik asit, doğal hayvansal ve bitkisel yağlarda kombine halde bulunan en yaygın uzun zincirli yağ asitlerinden biridir. Ticari olarak temin edilen stearik asit, yaklaşık eşit miktarda stearik ve palmitik asidin yanı sıra az miktarda oleik asit karışımıdır. Mum, kozmetik ürünler, traş sabunu, kayganlaştırıcı ve ilaç üretiminde kullanılır. Doğada stearik asit esasen karışık bir trigliserit veya yağ olarak, diğer uzun zincirli asitlerle ve yağlı bir alkolün esteri olarak meydana gelir. Hayvansal yağlarda bitkisel yağlardan çok daha fazla bulunur. Domuz yağı ve don yağı genellikle % 30'a kadar stearik asit içerir. Yağların alkali hidrolizi veya sabunlaştırılması, yağ asitlerinin sodyum veya potasyum tuzları olan sabunlar verir. Saf stearik asit, kristalizasyon, vakumla damıtma veya asitlerin ya da türevlerinin kromatografisi yoluyla elde edilebilir.



Şekil 2.1. Stearik asit

Palmitik asit:

Palmitik asit, insan vücudunda bulunan en yaygın doymuş yağ asididir. Dışarıdan diyetle alınabilir veya diğer yağ asitlerinden, karbonhidratlardan ve amino asitlerden endojen olarak sentezlenebilir. Adından da anlaşılacağı gibi palm yağının önemli bir bileşenidir (toplam yağların % 44'ü). Ancak et ve süt ürünlerinde (% 50 – 60), kakao yağında (% 26) ve zeytinyağında (% 8 - 20) önemli miktarlarda bulunabilir. Anne sütünde toplam yağların % 20'sini oluşturur [31].



Şekil 2.2. *Palmitik asit*

2.5.1.2 Doymamış yağ asitleri

Doymamış yağ asitleri, yapılarında karboksil grubu haricinde bir ya da daha fazla sayıda çift bağ içeren yağ asitleridir. Bir diğer ismi ansatüre yağ asididir. Bir adet çift bağ içeren yağ asitlerine monoansatüre birden fazla çift bağ içerenlere ise poliansatüre yağ asidi denir. Genel formülleri $C_nH_{2(n-a)}O_2$ 'dir. Buradaki 'a' sayısı çift bağ sayısını gösterir [27].

Çoklu doymamış yağ asitlerinin genel olarak insanlarda koroner kalp hastalıklarının, aterosklerozun, diyabetin ve kanserin önlenmesinde etkili olduğu belirtilmiştir [32].

Çocukların zeka gelişiminde önemli rol oynadığı saptanan çoklu doymamış yağ asitlerinin aynı zamanda hamilelik döneminde de alınması erken doğum riskini azalttığı gibi, yeterli miktarda çoklu doymamış yağ asidi alan annelerin çocuklarının da beyin hücrelerinin ve görme becerilerinin diğer çocuklara oranla daha fazla geliştiği gözlemlenmiştir [33].

Lipitler, insanların beslenmesinde önemli bir yere sahip olduğundan tüketiciler ve gıda endüstrisi için de büyük öneme sahiptir. Tohumlardan elde edilen yağlar; yağ asitleri, tokoferoller ve fitosteroller gibi önemli temel besin kaynakları olduğu için diyetlerin önemli bir bölümünü oluşturur. Sağlık bilincine sahip tüketiciler, ω-3 yağ asitleri,

tokoferoller ve steroller gibi faydalı bileşikler bakımından zengin yağ tohumlarına ilgi gösteriyor [34].

Chia tohumları, doğal lipit antioksidan kaynağı olarak incelenmiştir. Yağsız chia tohumlarının metanollü ve sulu çözeltileri güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir. Chia tohumlarının yağları, yüksek konsantrasyonda çoklu doymamış yağ asitlerine sahiptir [35].

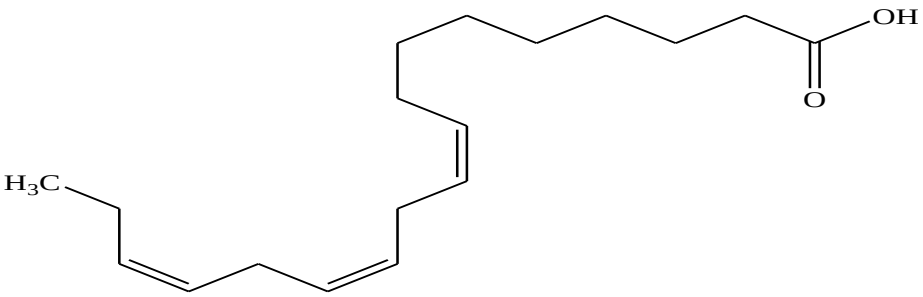
Chia tohumu bünyesinde α-linolenik asit, linoleik asit, stearik asit, oleik asit ve palmitik asit gibi yağ asitleri barındırır.

α-linolenik asit:

α-linolenik asit, yapısında 3 adet çift bağ bulundurur. α-linolenik asit, diyet yoluyla elde edilmesi gereken bitki kaynaklı esansiyel ω-3 çoklu doymamış yağ asitleridir. Çok sayıda epidemiyolojik çalışmanın işaret ettiği ω-3 alımındaki ciddi eksikliğin, belirli kardiyo ve nöropatolojilerinin gelişiminde ve bozulmasında önemli bir risk faktörünü temsil eden beynin kırılganlığını artırabileceğini kısmen açıklayabilir. α-linolenik asidin nörolojik bozukluklardaki rolü, özellikle ölümün önde gelen nedeni olan inme durumunda belirsizliğini koruyor.

Ceviz, keten tohumu, kanola, soya yağı gibi bitkisel yağların yanı sıra kırmızı et ve süt ürünlerinde de bulunur. Balıklar ve deniz ürünleri de bol miktarda α-linolenik asit içerir. Marul, lahana, brokoli gibi yeşil sebzelerle beslenen hayvanların sütlerindeki yağda da bulunduğu tespit edilmiştir [27].

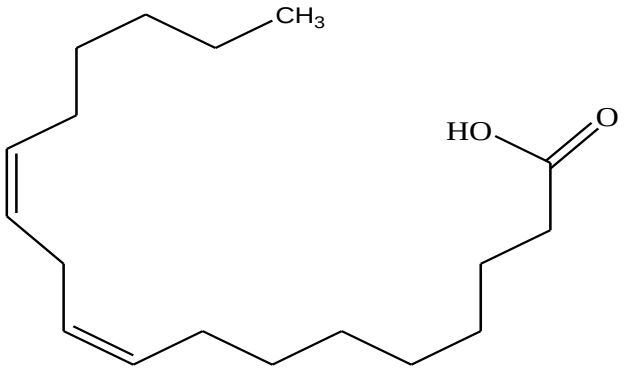
α-linolenik asit, kalp ve damar hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır. Kalp krizlerini önlemek, yüksek tansiyonu düşürmek, kolesterol dengesini sağlamak ve aterosklerozu tersine çevirmek için kullanılır. Ayrıca romatoid artrit, multiple skleroz, lupus, diyabet, böbrek hastalığı, ülseratif kolit ve Crohn hastalığının tedavisinde de etkilidir. KOAH, migren, cilt kanseri, depresyon, sedef hastalığı ve egzema gibi alerjik ve enflamatuar durumların tedavisinde de başvurulabilir.



Şekil 2.3. *α-linolenik asit*

Linoleik asit:

Linoleik asit, insan diyetinde bulunan en fazla tüketilen çoklu doymamış yağ asididir. Tüm yağ asitleri gibi enerji kaynağı olarak kullanılır. Fosfolipitler, triaçilgliseroller ve kolesterol esterler gibi nötr ve polar lipitler oluşturmak için esterleştirilebilir. Linoleik asit, karbonil içeren fonksiyonel gruptan 9. ve 12. karbonlarda iki adet çifte bağ içeren bir bileşiktir. Seramidlerin temel bir bileşeni olan linoleik asit, epidermisin transdermal su bariyerinin korunmasında rol oynar [36]. Linoleik asit için diyet referans değerleri, 19 ile 50 yaş arasındaki kadın ve erkekler için yeterli alımlar sırasıyla 12 g/gün ve 17 g/gündür. Bu miktarlar, 51 ve 70 yaş arasındaki kadın ve erkeklerde sırasıyla 11 g / gün ve 14 g / gün olarak belirlenmiştir [37]. Başlıca linoleik asit kaynakları, bitkisel yağlar, fındıklar, tohumlar, etler ve yumurtalardır [38]. Çiğit ve soya yağlarında yüksek yüzdede linoleik asit bulunur [27].

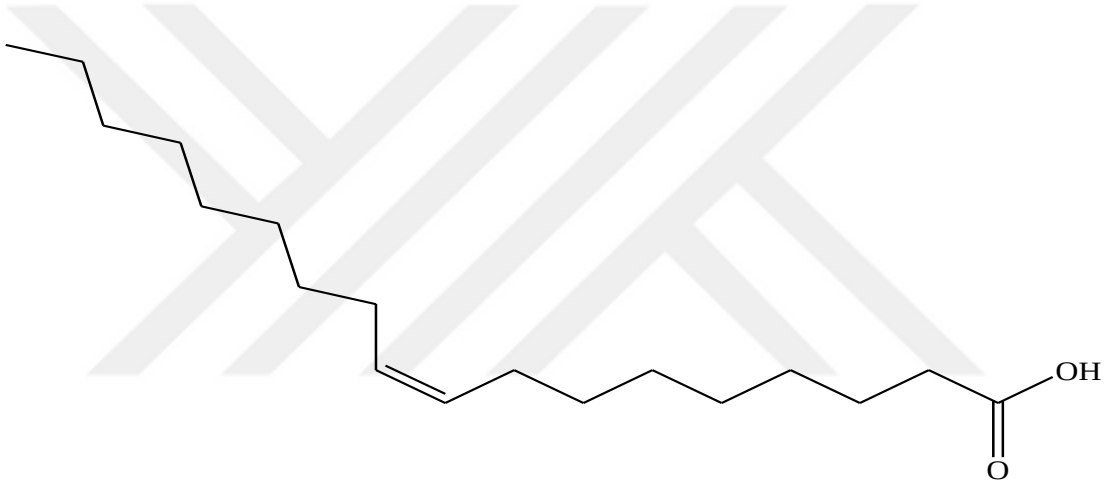


Şekil 2.4. *Linoleik asit*

Oleik asit:

Oleik asit, zeytin, palmiye, yerfıstığı ve ayçiçeği gibi yağlarda sabunlaştırma ile elde edilen başlıca asittir. Uzun zincirli bir karboksilik asittir ve molekülü, cis konfigürasyonuna sahip C9 ve C10 arasında bir çift bağ içerir.

Oleik asidin oksidasyona karşı oldukça kararlı olduğu düşünülür. Ayrıca antioksidanların ve antipolimerizasyon ajanlarının aktivitesini artırabilir. Tokoferoller gibi antioksidanlar ile birlikte oksidasyonu önlemek için diğer yağlarla karıştırılabilir [39]. Oleik asit ve tokoferol karışımlarının yalnızca α-tokoferolden daha iyi koruyucu etkileri olduğu gözlenmiştir [40]. Ayrıca doymuş yağ asitlerinden enerjinin yaklaşık % 5'inin oleik asit ile izokalorik olarak değiştirilmesinin, koroner kalp hasstalığı riskini, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol indirgemesi yoluyla %20 – 40 oranında azalttığı farkedilmiştir [41].



Şekil 2.5. *Oleik asit*

2.5.1.3. Esansiyel yağ asitleri

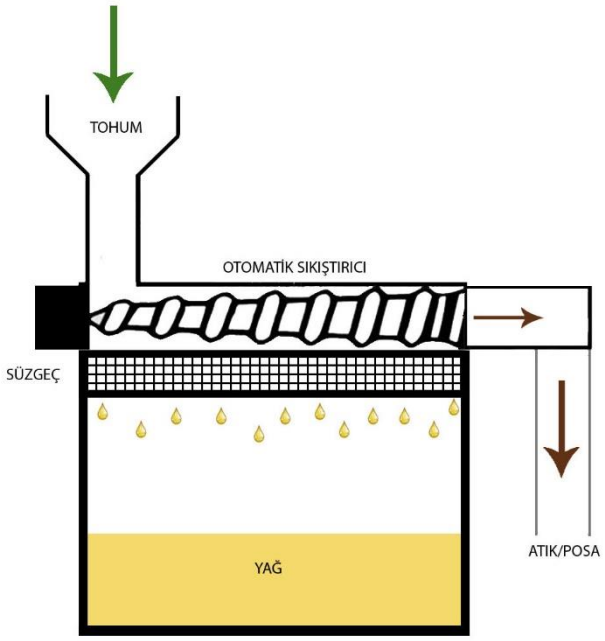
İnsan vücudu, yağ asidi zinciri üzerinde karboksil grubundan metil grubuna doğru gidildiğinde ilk 9 C atomu arasına çift bağ oluşturamaz. Bu sebepten ötürü insan vücudunda yalnızca bir adet çift bağ sentezlenebilir. İnsan vücudunda sentezlenemeyen ancak diyet yoluyla dışarıdan alınabilen yağ asitlerine esansiyel yağ asitleri denir.

2.6. Lipitler İçin Uygulanan Ekstraksiyon Yöntemleri

Lipitlerin eldesi için uygulanan birçok ekstraksiyon metodu vardır. Bu yöntemler yağ asidinin türüne, ortam koşullarına, çözücü cinsi ve miktarına bağlı olarak ekstraksiyon verimini etkiler. Lipitler için uygulanan karbon zincirinde ekstraksiyon yöntemleri genel olarak bakıldığında sıkma yöntemi ve çözücü ekstraksiyonu olarak iki ana başlık altında toplanır.

2.6.1. Sıkma yöntemi

Sıkma yöntemi, yağ elde etmek istediğimiz numuneye soğuk ortam koşullarında ya da oda sıcaklığında pres uygulama prensibine dayanır. Bu yöntemde soğuk ortam koşulları ya da oda sıcaklığında çalışmak yağın yapısını bozmayarak yağın içerdiği antioksidan ve fenolik bileşikler için de önem arz etmektedir [42].



Şekil 2.6. *Soğuk sıkım apareyinin çalışma prensibinin şematik gösterimi*

2.6.2. Çözücü ile ekstraksiyon

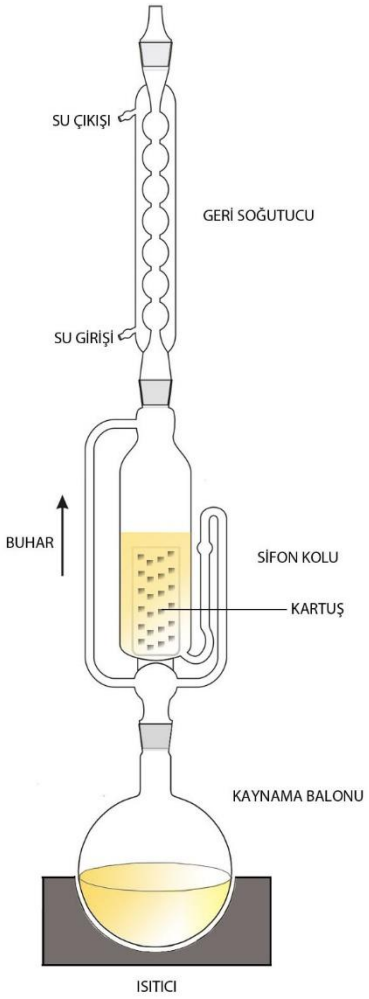
Lipitlerin eldesi için uygulanan bir diğer ekstraksiyon yöntemi de çözücü ekstraksiyonudur. En yaygın kullanılan çözücü ekstraksiyonu yöntemleri maserasyon (Folch), devamlı çözücü ekstraksiyonu (Soxhlet), hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) dur.

2.6.2.1. Maserasyon (Folch) yöntemi

Folch metodunda bitki numunesi havanda dövülerek uygun boyutlara getirilir. 24 saat boyunca kloroform:metanol (2:1, h/h) karışımı ile maserasyona tabi tutulur. Maserasyon işleminden sonra çözücünün yarısı uzaklaştırılarılır. Kirliliklerden arındırılmak için $CaCl_2$ çözeltisiyle yıkanır. $CaCl_2$ çözeltisi kloroform ve sulu faz arasındaki emülsiyon oluşumunu minimuma indirir. Daha sonra rotavapor yardımıyla kloroform uzaklaştırılarak kuru ekstre elde edilir. Kuru ekstreye saponifikasyon işlemi uygulanarak sabit yağ asitlerinin tuzları elde edilir. Ekstre, 2 saat boyunca KOH - H_2O - MeOH karışımıyla geri dönüşümlü olarak kaynatılır. Saponifike olmayan bileşikler hekzan yardımıyla uzaklaştırılır. Sulu faz HCl yardımıyla pH:2-3 olacak şekilde ayarlanır ve elde edilen yağ asitleri dietil eter ile 3 kere ekstre edilir. Rotavapor yardımıyla dietil eter uzaklaştırılır ve kuru bitkinin bakiyesi not edilerek verim hesaplanır [43].

2.6.2.2. Devamlı çözücü ekstraksiyonu (Soxhlet)

Devamlı çözücü ekstraksiyon metodunun (Soxhlet) çalışma prensibi devamlı olarak numuneye çözücü tatbik edilmesine dayanır. Yağ asidini elde etmek istediğimiz numune havanda dövülerek uygun boyutlara getirilir. Hazırlanan kartuş soxhlet apareyine yerleştirilir. Soxhlet apareyinin alt kısmındaki cam balona çözücü olarak hekzan konur. Solvent, ısıtıcı yardımıyla kaynama noktasının üzerinde bir sıcaklıkta ısıtılır. Buharlaşan çözücü, geri soğutucudan geçirilerek tekrar sıvı hale gelmesi sağlanır. Sıvı hale gelen hekzan, örneğin üzerine damlayarak örneği ıslatır. Çözücü seviyesi sifonun tepesine ulaştığında, çözücü tüm bölmeyi cam balona geri boşaltır. Böylece sıcak çözücü örnek içerisine birden fazla sirküle olur. Ekstrakte olan analitler çözücü şişesinde kalır ve her defasında temiz solvent buharlaşarak bu işlem tekrarlanır. Genel olarak ekstraksiyon süresi 6 saat ile 24 saat arasında değişir. Örneğin sürekli olarak taze solvent ile temasta olması, çözücü kullanımında tasarruf sağlaması, düşük maliyet ve basit ekipman kulllanılması bu yöntemi avantajlı kılar. Çok miktarda solvent tüketimi ve işlemin uzun zaman alması ise Soxhlet yönteminin dezavantajları arasında yer alır [44].

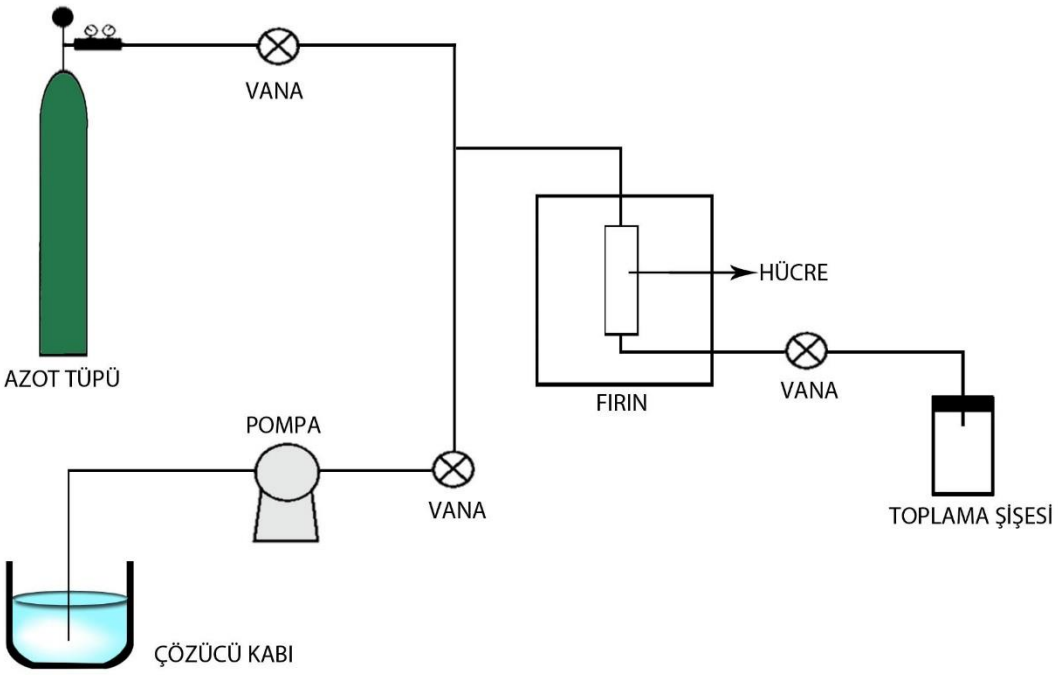


Şekil 2.7. *Soxhlet apareyinin şematik gösterimi*

2.6.2.3. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE)

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon metodunun çalışma prensibi örneği yüksek basınç altında tutup çözücüler için daha yüksek sıcaklıklar kullanımına izin vermesidir. Yüksek basınç altında çözücüler daha yüksek sıcaklıklarda da sıvı halde bulunur. Yüksek sıcaklık, hidrojen bağı, dipol etkileşim ve van der Waals kuvvetleri gibi analit-örnek matriksi etkileşimlerini bozarak ekstraksiyon veriminin artmasına yardımcı olur [45]. Yüksek sıcaklık, çözücünün, çözünenin ve matriksin yüzey gerilimini düşürür ve numunenin çözücüyle etkileşimini artırır. Bu sebepten numune daha kolay ıslanır. Çözücünün yüzey geriliminde meydana gelen düşüş çözücü kavitesinin kolaylıkla oluşmasını ve analitlerin daha hızlı çözünmesini sağlar [46]. Çözücüler yüksek sıcaklık ve basınç altında matrikse daha iyi ve hızlı nüfuz eder. Ayrıca analitlerin çözünürlüğü de sıcaklıkla beraber artar. Bu yöntemin en önemli avantajı, kaynama noktasının üstüne

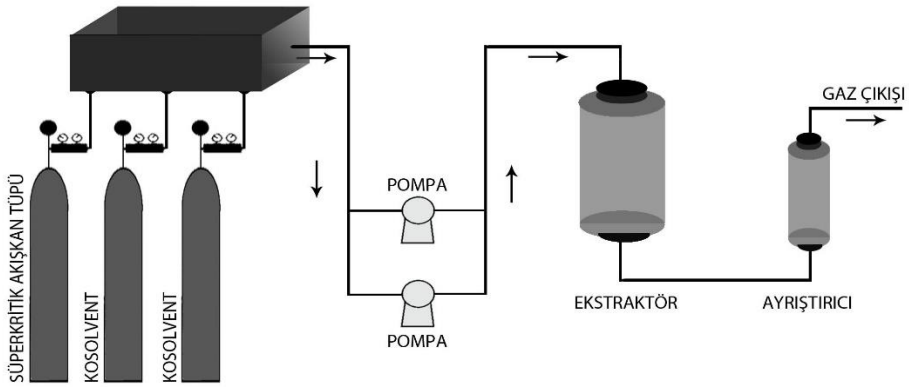
çıkılsa dahi, solvent yüksek basınca maruz bırakıldığı için hala sıvı halde bulunabilmesidir. Ekstraksiyonun etkinliğinin yanı sıra analiz süresinin de kısa olması bu metodu kullanışlı ve avantajlı kılan bir diğer özelliktir. Yüksek sıcaklık ve basıncın kullanılması her zaman ekstraksiyon verimini artırmayabilir. Numunenin yüksek sıcaklık ve basınç altında yapısının bozunması, ekstraksiyon verimini olumsuz yönde etkileyebilir. Isıl kararlılığı olmayan numuneler için hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu uygun bir metot olmayabilir.



Şekil 2.8. *ASE apareyinin şematik gösterimi*

2.6.2.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE)

Lipitlerin elde edilmesinde uygulanan yöntemlerden biri de süperkritik akışkan ekstraksiyon metodudur. Süperkritik akışkan, faz diyagramı göz önüne alındığında bir maddenin kritik sıcaklık ve kritik basınç değerlerinin üstüne çıkıldığı zaman ortaya çıkan yeni bir fazdır. Süperkritik akışkan maddeler, diffüzivite olarak gazlara benzerken çözücü gücü olarak da sıvılara benzemektedir. Sıvı maddelerin çözme gücü ve yüksek yoğunluğunu gaz maddelerin düşük viskozite, sıfır yüzey gerilimi ve difüzyon hızına sahip olan süperkritik akışkan madddeler, bu özelliği nedeniyle gaz ve sıvı kromatografi tekniklerinin üstün özelliklerinin hibriti olarak düşünülebilir. Sıvı maddelerin aksine süperkritik akışkan maddeler sıkıştırılabilir. Bu maddelerin sıkıştırılmasının sonucu olarak da yoğunlukları da geniş bir aralıkta değiştirilebilir. Yoğunluğun artırılması süperkritik akışkanın sıvıya daha çok benzemesi anlamına gelir ve bu durumda çözme kabiliyeti artar. Yoğunluğun azaltılması durumunda ise süperkritik akışkan maddeler daha çok gaza benzer, düşük viskozite ve yüksek difüzyon hızı nedeniyle katı gözenekli numunelere etkisi artar. Bu yöntemde yaygın olarak süperkritik akışkan olarak karbondioksit kullanılır. Karbondioksit, düşük kritik sıcaklık ve basınca sahip olduğundan ve toksik olmadığından dolayı tercih sebebidir. Ayrıca daha az solvent kullanımı, daha düşük maliyet, analiz süresinin kısa olması ve kullanılan karbondioksitin geri dönüşümü olması nedeniyle diğer yöntemlere kıyasla çevre dostu olması bu yöntemi avantajlı kılar. Süperkritik karbondioksit, apolar olduğundan dolayı polar analitlerin ekstraksiyonunu artırmak amacıyla metanol ve diklorometan gibi modiye ediciler kullanılabilir.



Şekil 2.9. *SFE sisteminin şematik gösterimi*

Süperkritik akışkan ekstraksiyon yönteminin konvansiyonel ekstraksiyon yöntemlerine göre birçok avantajı bulunmaktadır. Yöntemin düşük sıcaklıkta çalışmaya elverişli olması sıcaklıkla bozunan maddelerin ekstraksiyonunda kullanılması için ideal bir ortam yaratır. Ayrıca geleneksel ekstraksiyon metotlarına oranla çok daha az miktarda örnek ekstraksiyon için yeterli olmaktadır.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminde sıvının çözme gücü, basınç değiştirilerek manipüle edilebilir. Bu nedenle oldukça yüksek bir seçicilik sağlayabilir [47].

2.7. Lipit Tayin Yöntemleri

2.7.1 Gaz kromatografisi / alev iyonizasyon dedektörü - kütle spektrometresi tekniği (GC/FID-MS)

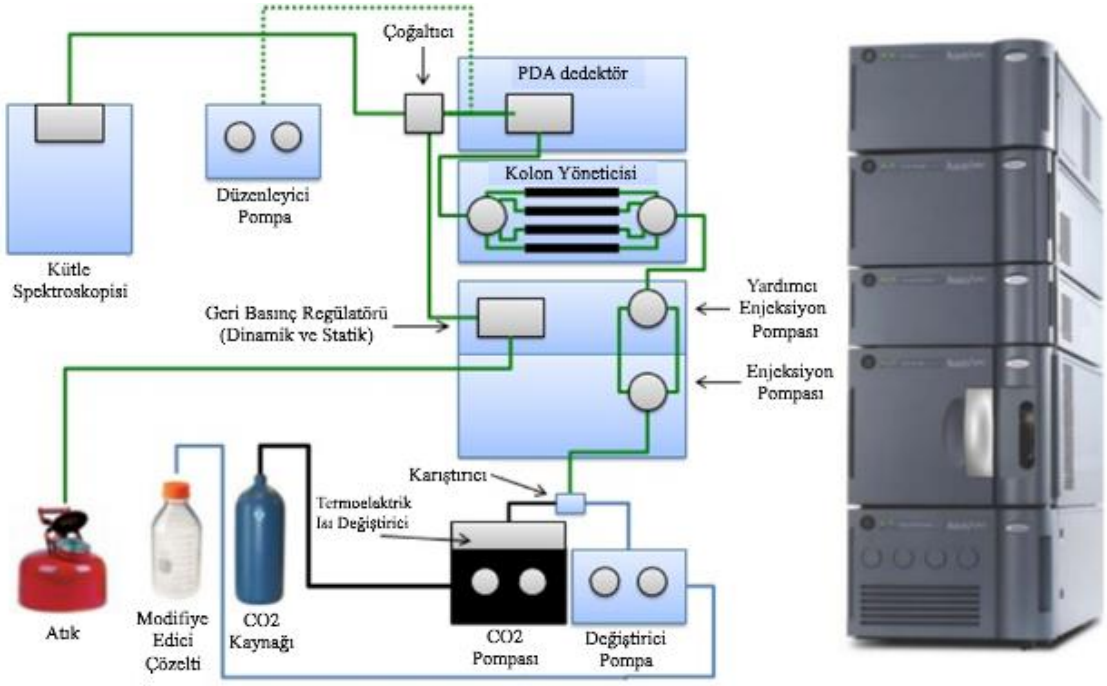
Lipitlerin tayini için kullanılan en yaygın analiz tekniklerinden biri GC/FID-MS tekniğidir. Bu yöntemde lipit analizi yapılacak numune, eğer yapısında yüksek miktarda nem barındırıyorsa kurutma işlemine tabi tutulur. Kurutulmuş örnek, çözücünün homojen olarak ve daha kolay etki edebilmesi için havanda dövülerek uygun boyutlara getirilir. Daha sonra saponifikasyon işlemi yapılarak sabit yağ asitlerinin tuzları elde edilir. Saponifike olmayan bileşikler organik çözücü yardımıyla uzaklaştırılır. HCl ilavesiyle pH:2-3 yapılarak serbest yağ asitleri elde edilir. Serbest yağ asitleri uçucu olmadığı için boron triflorür reaktifi ile metillenir. Metilleme işleminden sonra oluşan metil esterleri GC/FID-MS cihazı ile analiz edilir.

2.7.2 Ultra performans birleşim kromatografisi (UPC^2)

Her madde için öyle bir sıcaklık vardır ki, basınç ne kadar artırılırsa artırılsın, madde o sıcaklığın üstünde sıvılaştırılamaz. Bu noktadaki sıcaklığa kritik sıcaklık, maddenin kritik sıcaklıktaki buhar basıncına da kritik basınç denir. Hem sıcaklığı hem de basıncı kritik noktanın üzerinde olan maddeler süperkritik akışkan olarak adlandırılır. Süperkritik akışkan maddeler fiziksel özellikleri bakımından sıvı ve gaz hallerindeki özelliklerinin arasında yer alır.

Hareketli fazın süperkritik bir akışkan olduğu kromatografik tekniğe süperkritik akışkan kromatografisi adı verilir. Süperkritik akışkan kromatografi yöntemi gaz kromatografi yöntemi ve sıvı kromatografi yönteminin bir hibridi olup her iki yöntemin üstünlüklerini birleştirerek bünyesinde barındırır [48].

Birincil mobil faz olarak ucuz ve toksik olmayan sıkıştırılmış sıvı CO_2 kullanan UPC^2 sistemi, araştırmacılara mobil faz kuvveti, basınç ve sıcaklığı tam olarak değiştirme yeteneği verir. Basınç ve sıcaklığı değiştirme yeteneği sayesinde sistemin çözme gücü ve seçiciliği de ayarlanarak karışımları ayırmak, tespit etmek ve ölçmek için sistem üzerinde daha iyi kontrol sağlanabilir.



Şekil 2.10. *UPC^2 cihazının şematik gösterimi*

2.8. Antioksidan Aktivite

Reaktif Oksijen Türleri tanımı: Oksijen, yaşam için en önemli bileşenlerden biri olsa da, aynı zamanda iki ucu keskin bir kılıçtır. Genellikle 'serbest radikaller' olarak adlandırılan potansiyel olarak zarar veren moleküllerin bir parçası haline gelebilen yüksek derecede reaktif bir atomdur. Reaktif oksijen türleri, yüksek oranda reaktif oksijen ve serbest radikalleri de içeren bir terimdir. Reaktif oksijen türleri arasında $OH^{\bullet}$, H_2O_2, $O_2^{\bullet}$, $NO^{\bullet}$, $^1O_2$, $HOCl^{\bullet}$ ve çeşitli lipit peroksitleri bulunur. Bunlar, membran lipidleri, nükleik asitler, proteinler, enzimler ve diğer küçük moleküllerle reaksiyona girebilir. Serbest radikaller, hücreler tarafından üretilen atık maddelerdir. Vücut serbest radikalleri etkin bir şekilde işleyemez ve çıkaramazsa oksidatif stres ortaya çıkabilir. Bu durumda hücreler ve vücut fonksiyonları zarar görebilir. Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri olarak da bilinir [49].

Vücuttaki serbest radikalleri artıran faktörler, içsel ve dışsal nedenlere bağlıdır. Örneğin; vücuttaki iltihaplanma neticesinde serbest radikallerin artması içsel neden iken kirlilik, sigara dumanı veya Ultraviyole-görünür bölge spektrometresi (UV-Gör) maruziyeti gibi faktörler dışsal nedenlerdir. Oksidatif stres; kalp hastalığı, kanser, artrit, inme, solunum hastalıkları, immün yetmezlik, amfizem, Parkinson ve diğer enflamatuar veya iskemik koşullarla ilişkilendirilmiştir [50].

Serbest radikaller vücudun sağlıklı hücrelerine saldırabilir. Bu saldırı, hasara ve ağır hastalıklara neden olabilir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı, yaşlanmaya ve benzeri hastalıklara sebebiyet verebilir. Genel olarak serbest radikaller en az elli hastalığın patogenezinde rol oynamıştır. Serbest radikaller eşlenmemiş bir elektron içerdiğinden kararsızdırlar ve kendilerini nötralize etmek için diğer maddelerden elektron yakalarlar. Bu başlangıçta serbest radikalleri stabilize eder ancak proseste bir tane daha üretir. Yakında bir zincirleme reaksiyon başlar ve birincil reaksiyonda birkaç saniye içinde binlerce serbest radikal iyonu oluşabilir. Pro-oksidanlar ve antioksidan mekanizmalar arasında oluşan dengesizlik oksidatif stresi meydana getirir. Bu stres kirletici maddelere maruz kalma, alkol, ilaçlar, enfeksiyonlar, zayıf beslenme, toksinler, radyasyon gibi çevresel faktörlerden kaynaklanıyor olabilir.

DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerin oksidatif hasarı, en başta kalp hastalığı ve kanser olmak üzere çok çeşitli hastalıklara neden olabilir.

Normal şartlarda serbest radikal oluşumu, antioksidan olarak bilinen çeşitli faydalı bileşikler tarafından doğal olarak kontrol edilir. Bu antioksidanların eksikliği neticesinde serbest radikallere bağlı hasar birikebilir ve zayıflatıcı olabilir. Antioksidanlar, serbest radikalleri hücrelere saldırmadan önce dengeleyebilir veya devre dışı bırakabilir. Diyet dışında, vücudun kendisini reaktif oksijen türlerinin hasarından koruyabilecek birkaç antioksidan mekanizması da vardır. Glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) antioksidan enzimlere örnek olarak verilebilir. Aktiviteleri için selenyum, demir, bakır, çinko ve mangan gibi mikrobesin kofaktörlerine ihtiyaç duyarlar [49].

Antioksidan tanımı: Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu, hücrelere vücudun çevresel ve diğer etkilere reaksiyon olarak ürettiği dengesiz moleküllerdeki hasarı önleyen veya yavaşlatan maddelerdir. Bazen 'serbest radikal süpürücüler' olarak da adlandırılabilir.

Antioksidanların kaynakları doğal veya yapay olabilir. Bazı bitkisel gıdaların antioksidanlar açısından zengin olduğu düşünülmektedir. Vücutta üretilen antioksidanlar endojen antioksidan olarak adlandırılırken vücut dışından alınan antioksidanlara ise ekzojen antioksidan denir. Her hücrede tamponlama sistemini oluşturan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, tioredoksin tiyolleri ve disülfürlerin bağlanması gibi doğal antioksidan enzimler vardır. α-tokoferoller; insan vücudundaki tüm hücre zarlarında serbest radikal reaksiyonunun ilerlemesini önleyen zincir kırıcı bir antioksidandır.

Antioksidan olarak işlev görebilecek yüzlerce madde olduğu düşünülmektedir. Her birinin kendi rolü vardır ve vücudun etkili bir şekilde çalışmasına yardımcı olmak için diğerleriyle etkileşime girebilir. Vücut dışından alınan bazı antioksidanlar (ekzojen antioksidanlar):

- Vitamin A
- Vitamin C
- Vitamin E
- β-karoten
- Likopen
- Lutein
- Selenyum
- Mangan

Polifenoller, flavonoitler, kateşinler ve fitoöstrojenler bitkisel gıdalarda bulunur ve antioksidan özellik gösterirler. Polifenolik bileşikler, E ve C vitaminleri ve karotenoidleri

içeren diyet antioksidanlarının oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu rapor edilmiştir [51, 52].

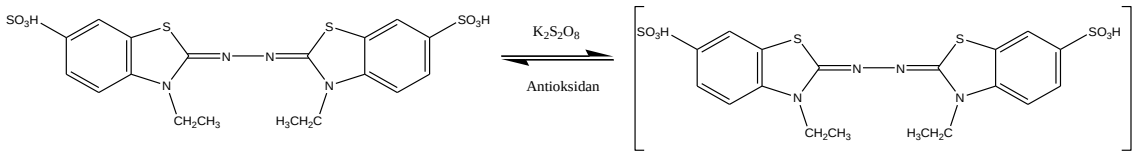
Fenolik bileşikler, hem yenilebilir hem de yenilemeyen bitkilerde yaygın olarak bulunur ve antioksidan aktivite de dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahiptir. Meyvelerin, bitkilerin, sebzelerin, tahılların ve fenolik yönden zengin diğer bitkisel materyallerin ham ekstreleri, lipidlerin oksidatif bozunmasını geciktirdikleri için gıdaların kalitesini ve besin değerini artırdığı düşünülerek gıda endüstrisinde artan bir ilgi görmektedir [53]. Alkolsüz kırmızı şaraptan elde edilen fenolik bir bileşik karışımının tüketilmesi, insan plazmasının antioksidan durumunu iyileştirdiği gözlenmiştir [54, 55].

Antioksidan aktivite tespit etme yöntemleri kabaca hidrojen atomu transferi (HAT) ve elektron transferi (ET) olarak ikiye ayrılır. HAT bazlı analizlerin çoğu, antioksidan ve substratın, azo bileşiklerinin ayrışması yoluyla termal olarak üretilen peroksil radikalleri için yarışmacı bir reaksiyon şeması uygular [56].

TEAC nedir?

Troloksa ekivalent antioksidan kapasite (TEAC) testi ilk olarak 1993'te Miller ve Rice-Evans tarafından ortaya konmuştur [57] ve daha sonra geliştirilmiştir [58]. Geliştirilmiş versiyonda, oksidan $ABTS^{\bullet-}$, (2,2-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) persülfat oksidasyonu ile üretilmiştir. Spesifik olarak, 7 mmol ABTS amonyum suda çözüldü ve 2,45 mmol potasyum persülfat ile karıştırılmıştır. Karışım daha sonra koyu mavi bir çözelti verecek şekilde 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Çözelti, etanol veya tamponla (pH, 7,4) 734 nm dalga boyunda 0,7 absorbans verinceye kadar seyreltilmiştir. Karışımın 30C'de 1,4 ve 6 dakika sonunda absorbansları ölçülmüştür. Absorbans değerleri arasındaki fark, lineer bir dğru verecek şekilde antioksidan konsantrasyonlarına karşı çizilmiştir. Absorbans değişimindeki aynı yüzdeyi veren antioksidanların konsantrasyonu, 1mM Troloks ile aynı TEAC değeri olarak kabul edilmiştir.

Rice-Evans ve arkadaşları Troloksa ekivalent antioksidan kapasite testini (TEAC) (Şekil 2.11) gıda örneklerinde geniş çapta uygulamıştır [58].

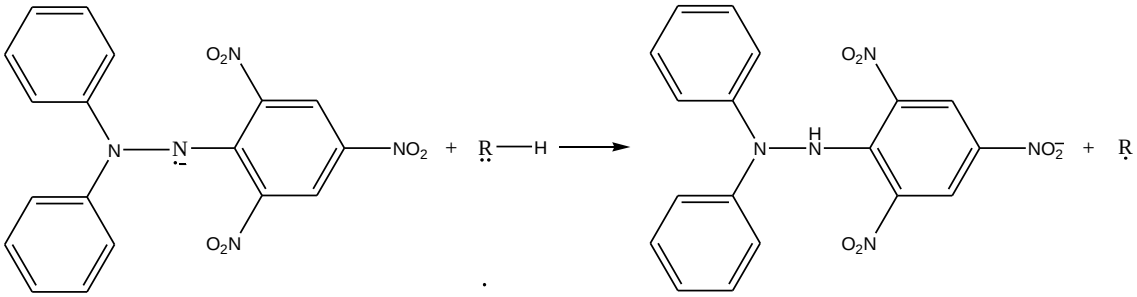


Şekil 2.11. *ABTS radikalinin antioksidan mekanizması*

2,2-Di(4-tert-oktilfenil)-1-pikrilhidrazil (DPPH), ticari olarak temin edilebilen organik azot radikallerinden biridir ve UV-Gör. Bölge spektrometresinde 515 nm dalga boyunda absorbans verir. İndirgendiği zaman, çözelti rengi kaybolur. Bu sayede reaksiyonun ilerlemesi bir spektrofotometre yardımıyla rahatça izlenebilir.

DPPH testi, teknik olarak basit bir yöntem olmakla birlikte bazı dezavantajlar barındırır. Normalde antioksidanlar ve peroksil radikalleri arasında meydana gelen Hidrojen atomu transferi reaksiyonundan kaynaklanan mekanik farkın yanı sıra, DPPH, lipid peroksiasyonunda yer alan yüksek oranda reaktif ve geçici peroksil radikallerine hiçbir benzerlik taşımayan uzun ömürlü bir azot radikalidir. Peroksil radikalleri ile hızlı reaksiyona giren birçok antioksidan yavaş reaksiyona girebilir veya DPPH'a karşı etkisiz kalabilir. DPPH testinin hidrojen atomu transferi reaksiyonu içerdiğine inanılıyordu ancak son çalışmalarda bu durumun tersi tespit edildi. Foti ve arkadaşları, fenoller ve DPPH arasındaki reaksiyonun kinetik analizine dayanarak reaksiyonun aslında elektron transferi reaksiyonu gibi davrandığını öne sürdüler [59]. DPPH ile nötr antioksidandan Hidrojen atomu soyutlanması özel bir reaksiyon yolu haline gelir çünkü metanol ve etanol gibi güçlü hidrojen bağı içeren çözücülerde çok yavaş meydana gelir. Ek olarak araştırmacı, çözücü içindeki asit veya bazların fenollerin iyonlaşma dengesini büyük ölçüde etkileyebileceğini ve sırasıyla ölçülen hız sabitlerinin azalmasına veya artmasına neden olabileceğini bulmuştur.

Sanchez-Moreno makalesinde, 2,2-di (4-tertoktilfenil)-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Şekil 2.12) deneyinin, meyve ve sebze sularının veya ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin ölçülmesinde kolay, doğru ve uygulanabilir bir yöntem olduğunu gösterdi [60]. Botanik numunelerin ve biyolojik numunelerin antioksidan kapasitelerinin ölçülmesi için oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) (Şekil 2.13) yöntemi geniş ve kullanışlı bir yöntem olarak ortaya konmuştur [61], [62].



Şekil 2.12. *DPPH radikalinin antioksidan mekanizması*

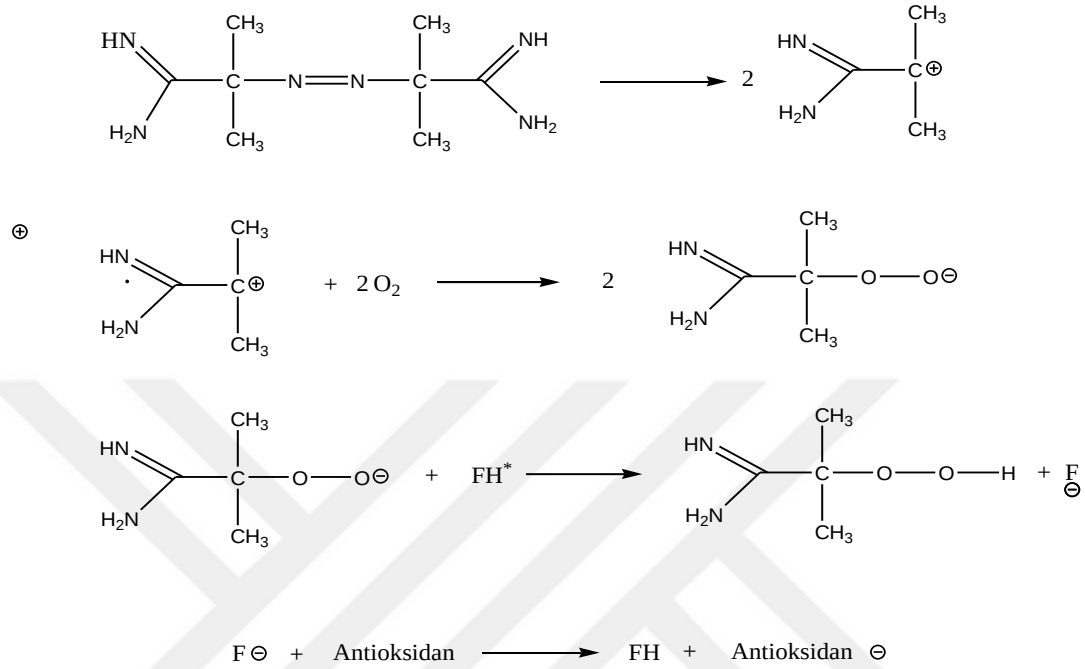
Cutler ve Cao tarafından geliştirilen ORAC testinin ilk versiyonunda floresans prob olarak β-fikoeritin kullanılmıştır [63]. Floresansın azalması, peroksil radikali ile reaksiyonundan kaynaklanan bir etkinin göstergesidir. Ancak b-fikoeritinin bazı dezavantajları tespit edilmiştir [64];

1) *Porphyridium cruentum'* dan izole edilen bir protein olan β-fikoeritin, stabil değildir.
2) β-fikoeritin, plaka okuyucuda ışıktan etkilenir.
3) β-fikoeritin, spesifik olmayan protein bağlanması nedeniyle polifenollerle etkileşime girer ve ilave bir radikal oluşturmasa bile floresansı azalır.

Yukarıda bahsedilen problemler nedeniyle B-fikoeritin yerine fluoresein kullanılmıştır [65]. Fluoresein, protein olmayan sentetik bir probdur ve B-fikoeritinin sınırlamalarının üstesinden gelir. Ayrıca, fluoreseinin peroksil radikaliyle reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan ürünler karakterize edilebilir ve ürün profili klasik bir hidrojen atom transferi reaksiyon mekanizmasıyla tutarlı sonuçlar vermiştir [66].

Huang ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir metotta, standart madde olarak troloks kullanılmıştır. Troloksun 4 veya 5 farklı konsantrasyonu ile kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Numune, kontroller ve standart ile floresan çözeltisi karışıtırılır ve reaksiyonu başlatmak için 2,2'- Azobis (2-metilpropiyonamidin) dihidroklorür (AAPH) çözeltisi eklenmeden önce sabit sıcaklıkta (37°C) inkübe edilmiştir. Floresans ölçümü 35 dk boyunca her dakikada ölçülecek şekilde belirtilen ortam koşullarında yapılmıştır (pH 7.4, 37°C, 485 nm (ex), 525 nm (em)). Reaksiyon ilerledikçe floresans azalır ve fluoresein yoğunluğu gittikçe düşer. Antioksidanların varlığında fluoresein azalması inhibe edilir [67].

Floresans bozulma eğrisi, antioksidanların varlığında veya yokluğunda izlenir ve floresans bozulma eğrisinin altındaki alan (AUC) hesaplanır. Körün AUC' sinden numunenin AUC'sini çıkararak net AUC hesaplanır.



Şekil 2.13. *ORAC yöntemi antioksidan mekanizması*

Birçok bitki hücresi, tekli oksijen, süperoksit, peroksil, radikal ve hidroksi radikalleri gibi serbest bir radikal olan reaktif oksijen türlerinin dejeneratif etkilerine karşı koruyan antioksidan bileşikler içerir [68, 69]. Oksidatif stres; reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunmaları arasındaki dengenin kaybolması sonucunda ortaya çıkan ve astrit, astım, karsinojez gibi hastalıklara yol açan bir olaydır [70].

3. MATERYAL - METOT

3.1. Bitkisel Materyal

Araştırma konusu olarak kullanılan bitkisel materyal *Salvia hispanica* L. tohumu ticari olarak satışı yapılan yerel bir marketten satın alınmıştır.

3.2. Kimyasallar

AAPH – 2,2'- Azobis (2-metilpropiyonamidin) dihidroklorür (Sigma Aldrich, ABD, 440914)

ABTS - 2,2-Azino-bis (3-etilbenziltiyazolin-6-sülfonik asit) (Sigma-Aldrich, ABD, A1888)

Alkan serisi C_8-C_{20} – (Supelco, Almanya)

$AlCl_3$ – Alüminyum klorür (Merck, Almanya, 801081)

Asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD, A6283)

BF_3 – Borontriflorür (Merck, Almanya)

$CaCl_2$ – Kalsiyum klorür (Fluka, Almanya)

Dietil eter (J.T. Baker, Hollanda)

DPPH - 2,2-Di(4-tert-oktilfenil)-1-pikrilhidrazil, serbest radikal (Sigma Aldrich, ABD, 257621)

Etanol (Sigma-Aldrich, Almanya)

Fluoresein – (Sigma Aldrich, ABD, F6377)

FCR-Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma-Aldrich, ABD, F9252)

Gallik asit (Sigma-Aldrich, Çin)

HCl – Hidroklorik asit (Sigma-Aldrich, Almanya)

n-Hekzan (Merck, Almanya)

$K_2S_2O_8$ – Potasyum persülfat (Sigma-Aldrich, Almanya)

Kersetin (Sigma-Aldrich, Almanya)

Kloroform (Sigma-Aldrich, Fransa)

Metanol (Sigma-Aldrich, Polonya)

Na_2HPO_4 – Disodyum hidrojen fosfat

NaH_2PO_4 – Sodyum dihidrojen fosfat

NaOH - Sodyum hidroksit (Merck, Almanya)

Na_2CO_3 – Sodyum karbonat (Merck, Almanya)

$NaSO_4$ – Sodyum sülfat (Sigma-Aldrich, Almanya)

Troloks - (±)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetramethilkroman-2-karboksilik asit (Sigma-Aldrich, Almanya)

Tip 1 ultra saf su

3.3. Alet ve Ekipmanlar

Bu çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar Tablo 3.1.' de verilmiştir.

Tablo 3.1. *Kullanılan alet ve ekipmanlar*

Cihaz Adı	Markası
GC/FID: Gaz Kromatografisi / Alev İyonlaşma Dedektörü	(Agilent, 7890B)
GC-MS: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi	(Agilent, 5977B)
UPC^2: Ultra Performans Birleşim Kromatografisi	(Waters, Acquity)
Soxhlet apareyi	
Ultrasonik banyo	(Isolab)
ASE: Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyon Sistemi	(Dionex, 300)
SFE: Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sistemi	(Waters, MV-10 ASFE)
Soğuk sıkım apareyi	(Sel-ni, SLN-04)
Elisa plak okuyucu	(Biotek, Synergy HTX AFL)
Rotary evaporator: Döner Buharlaştırıcı	(Büchi, R-200)
Çalkalayıcı	(GFL)
pH metre	(Mettler Toledo)
UV-Gör. Bölge Spektrometresi	(Shimadzu, UV-1601)

3.4. Yöntem

3.4.1. Sabit yağ ekstraksiyonu

Salvia hispanica L. tohumundan sabit yağı elde etmek için beş farklı ektraksiyon metodu kullanıldı. Bu metotlar hem siyah tohum için hem de beyaz tohum için eşit koşullarda uygulanıp verim hesapları yapılarak karşılaştırıldı.

3.4.1.1. Folch yöntemi

Bitkisel materyalden lipitlerin ekstraksiyonu Folsch yöntemi ile gerçekleştirildi [71-73]. Siyah ve beyaz chia tohumları sırasıyla 20,25 g ve 20,2 g tartılarak havanda dövülmüştür. Uygun boyutlara getirilen tohumlar 24 saat süreyle 600 mL kloroform:metanol (2:1, v/v) karışımı ile çalkalayıcıya konularak maserasyona tabi tutulmuştur (oda sıcaklığında). Süre sonunda sıvı ekstre filtre edilmiştir. Sıvı ekstreden çözücü metanolün tamamı uzaklaşıncaya kadar düşük basınç altında rotavapor yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Elde edilen kloroformlu ekstre ayırma hunisinde hacimce %0,4'lük $CaCl_2$ ile yıkanarak kirliliklerden arındırılmıştır. Yıkama yapılırken ayırma hunisine aldığımız ekstreyi $CaCl_2$ ile yıkayıp altta kalan kloroformlu kısmı kullanıldı. Bu işlem 3 defa tekrar edilmiştir. $CaCl_2$ ile yıkanan ekstreden kloroform rotavapor yardımıyla uzaklaştırılmıştır ve susuz Na_2SO_4 den geçirilerek kuru ekstre elde edilmiştir.



Şekil 3.1. *Çalkalayıcı*

3.4.1.2. Devamlı çözücü ekstraksiyonu (Soxhlet) yöntemi

Bitkisel materyalden devamlı çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile lipitlerin eldesi için Soxhlet apareyi kullanılmıştır [74, 75]. Bu amaçla, siyah ve beyaz chia tohumları sırasıyla 20,03 g ve 20,12 g tartılarak havanda dövülmüştür. Uygun boyutlara getirilen tohumlar kağıt kartuşa doldurularak Soxhlet apareyi içine yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi *n*-hekzan yardımıyla gerçekleştirilmiştir (6 saat). Süre sonunda sıvı ekstre filtre edildi ve çözücü düşük basınç altında rotavapor yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Kuru bitkinin bakiyesi not edilerek verim hesabı yapılmıştır.



Şekil 3.2. *Soxhlet apareyi*

3.4.1.3. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE) yöntemi

Bitkisel materyalden hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile lipitlerin eldesi için ASE apareyi (Dionex 300) kullanılmıştır [76]. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu yöntemiyle lipitlerini elde etmek için siyah ve beyaz chia tohumları sırasıyla 20,02 g ve 20,11 g tartılarak havanda dövülmek suretiyle uygun boyutlara getirilmiştir. Hazırlanmış tohumlar ASE hücrelerine doldurulmuştur. Çözücü olarak *n*-hekzan kullanılmıştır. Ekstraksiyon şartları: basınç 1500 psi ve 100°C sıcaklık altında 20 dakika boyunca ekstre edilmiştir ve fraksiyon toplama kabında toplanmıştır. Süre sonunda sıvı ekstre filtre edildi ve çözücü düşük basınç altında rotavapor yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Kuru ekstrenin tartımı yapılarak verim hesabı yapılmıştır.



Şekil 3.3 *Hızlandırılmış Ekstraksiyon Cihazı (ASE)*

3.4.1.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) yöntemi

Bitkisel materyalden süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemi ile lipitlerin eldesi için SFE sistemi (Waters, MV-10 ASFE) kullanılmıştır [77]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemine tabi tutulacak siyah ve beyaz chia tohumları sırasıyla 6,9 g ve 5,5 g tartılarak havanda dövülmüştür. Ekstraksiyon şartları:

1. yöntem: süre 60 dk., basınç 200 bar ve sıcaklık 40°C.
2. yöntem: süre 210 dk., basınç 200 bar ve sıcaklık 40°C

Fraksiyon çözücüsü olarak hekzan kullanılmıştır. Fraksiyon toplama şişesinde toplanan sıvı ekstre düşük basınç altında rotavapor yardımıyla kurutulmuştur. Kuru ekstre tartılıp verim hesabı yapılmıştır. İkinci yöntem için siyah tohum 7,0 g, beyaz tohum 7,23 g tartılarak havanda dövülmüştür. Sadece zaman parametresi değiştirilen iki deneyin verimleri birbirleriyle kıyaslanmıştır.



Şekil 3.4. *Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Cihazı (SFE)*

3.4.1.5. Soğuk sıkım (Cold pressing) yöntemi

Siyah ve beyaz chia tohumu 20’ şer g tartılarak soğuk sıkım cihazında (Sel-ni, SLN-04) preslenmiştir [77]. Preslenen sabit yağ numuneleri tartılıp verim hesapları yapılmıştır.



Şekil 3.5. *Soğuk sıkım apareyi*

3.4.2. Sabunlaşma işlemi

Kuru ekstreden sabit yağ asitlerini elde etmek için sabunlaşma işlemi yapılmıştır. Bu amaçla, ekstre KOH - H_2O - MeOH karışımı (1:1:8, v/v) (10 g, 10 mL, 80 mL) geri soğutucu altında kaynatılmıştır (2 saat). Sabunlaşmayan bileşikler *n*-hekzan yardımıyla apolar faza alınarak uzaklaştırılmıştır. Sulu faza hacimce % 15’lik HCl ilave edilerek pH:2-3 aralığına getirilmiştir. Asitli ortamda serbest hale gelen yağ asitleri dietil eterle sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle ekstre edilmiştir. (3×50 mL). Eterli ekstreler birleştirilip susuz Na_2SO_4’ten geçirilerek ve düşük basınç altında kurutulmuştur. Kuru bitkinin bakiyesi not edilerek verim hesabı yapılmıştır [78].

3.4.3. Serbest yağ asitlerinin metillenmesi

0,15-0,2 g yağ tartılıp 250 mL'lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 5 mL 0,5 N metanollü NaOH ilave edilmiştir. Balon (içerisine kaynama taşı atılarak) 10 dk boyunca geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Süre sonunda balondaki çözeltiye 5 mL BF_3 / MeOH karışımı eklenerek kaynama işlemi 2 dakika daha devam ettirilmiştir. Boron triflorür ve yağ asitlerinin arasında gerçekleşen tepkimenin sonunda sabit yağ asitleri, uçucu metil esterleri formuna dönüşmektedir (Şekil 3.6). Daha sonra balon soğutularak karışım üzerine 4 mL *n*-hekzan eklenerek çalkalanmıştır. Balon içindeki karışım 25 mL'lik balon jojeye aktarılarak üzerine doymuş NaCl çözeltisi ilave edilmiştir. Ekleme işlemi tamamlandıktan sonra balon jojenin ağzı kapatılıp ters düz edilerek iyice karıştırılmıştır [79]. İşlem sonunda faz ayrımının gerçekleşmesi beklenerek üst faz (*n*-hekzanlı) alınarak viale aktarılmıştır. Viale aktarılan çözelti, analiz edilmek üzere GC/FID-MS sistemine enjekte edilmiştir.



Şekil 3.6. *Serbest yağ asitlerinin metillenme reaksiyonu*

3.4.4. Gaz kromatografisi / alev iyonlaşma dedektörü - kütle spektrometresi tekniği (GC/FID-MS)

Saponifikasyon işleminden sonra elde edilen sabit yağların analizi için GC / FID - MS tekniği kullanılmıştır [80]. Yağ asitlerinin analizi için aşağıdaki kromatografi şartları kullanılmıştır:

Kolon fırınının sıcaklığı ilk 10 dakikada 60°C'de kalıp daha sonra dakikada 4°C artarak 220°C'ye çıkarılmıştır. 220°C'de 10 dakika sabit kalan sıcaklık dakikada 1°C artırılmak suretiyle 240°C'ye çıkarılmaya programlanmıştır. Toplam analiz süresi 100 dakikadır.



Şekil 3.7. *GC/FID-MS Sistemi*

Gaz kromatografisi (GC) analiz şartları

Sistem: Agilent 7890B GC
Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m × 0,25 mm İç çap × 0,25 µm film kalınlığı)
Dedektör: Alev İyonlaşma Dedektörü (FID)
Enjeksiyon Sıcaklığı: 250°C
Dedektör Sıcaklığı: 250°C
Taşıyıcı Gaz: Helyum
Akış Hızı: (0.7 mLdk.)

Gaz kromatografisi / kütle spektrometresi (GC / MS) analiz şartları

Sistem: Agilent 7890B GC 5977B Mass Selective Dedector
Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m × 0.25 mm iç çap × 0.25 µm film kalınlığı)
Enjeksiyon Sıcaklığı: 250°C
İyon Kaynağı Sıcaklığı: 230°C
İyonizasyon Modu: EI
Elektron Enerjisi: 70 eV
Kütle Aralığı: 35-450 m/z

3.4.5. Ultra performans birleşim kromatografisi tekniği (UPC^2)

Elde edilen sabit yağların kimyasal kompozisyonlarını incelemek üzere Ultra Performans Birleşim Kromatografisi (UPC^2) tekniği kullanılmıştır. UPC^2' de sabit yağ analizi için ön türevlendirme işlemine gerek kalmaksızın numune doğrudan analiz edilebilmektedir [81].

Yağ numunesi 2-propanolde (IPA) çözülerek 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Standart yağ asitleri numuneleri benzer şekilde hazırlanmıştır. Sabit yağ asitlerinin kompozisyonlarının aydınlatılması için aşağıdaki kromatografik analiz şartları uygulanmıştır:

Dedektör: QDA
İyonlaşma modu: Negatif
Kütle Aralığı: 90-370 Da
Koni Voltajı: 20 V
Kapiler Voltajı: 0.8 kV
SIR: 255-277-279-281-309 m/z
Kolon: C18 1.9 µ (150 × 3.3 mm)
Kolon Sıcaklığı: 60°C
Geri Basınç: 1700 psi
Numune Sıcaklığı: 10°C
Hareketli Faz: IPA içinde % 0,1 Formik Asit (modifiye edici)
Akış Hızı: 0,3 mL/dak.
Elüsyon gradienti:

Tablo 3.2. *UPC^2 kromatografisinde kullanılan elüsyon gradienti*

	Zaman (dk)	% CO_2	% IPA
1	0 - 3.00	98	2
2	3.01 – 8.00	98	2
3	8.01 – 8.50	96	4
4	8.51 – 9.50	80	20
5	9.51 – 13.50	98	2



Şekil 3.8. *UPC²kromatografi cihazı*

3.5. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

3.5.1. DPPH radikali süpürme potansiyeli testi

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerin radikal süpürücü potansiyelleri DPPH radikali ile test edilmiştir [82]. Deneyde, 96-kuyucuklu plağa ekstreler (10 mg/mL) ve standart madde (0.1 mg/mL) metanol ile 8 kez 8-kanallı otomatik pipetör (Eppendorf Xplorer) yardımıyla seyreltilerek (10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,31; 0,16; 0,08 mg/mL) yüklenmiştir. Kuyucuğun içine 100 µL numune ve 100 µL DPPH (0,08 mg/mL) ilave edilip 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda absorbans değerleri plak okuyucu spektrofotometre yardımıyla 517 nm dalga boyunda ölçülerek kaydedilmiştir. Kör olarak metanol kullanılmıştır. Gallik asit çözeltisi (0,1 mg/mL) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden denklem (3.1)' e göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnh} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \times 100, \qquad \textbf{(3.1)}$$

Burada; $Abs_{kontrol}$: Kontrol kuyucuğunun absorbans değeri, Abs_{numune} : numune kuyucuğunun absorbans değeridir.

Reaktiflerin hazırlanışı:

1) DPPH: 2,2-Di(4-tert-oktilfenil)-1-pikrilhidrazil reaktifi 4,0 mg tartılır ve 50 mL metanolde çözülmüştür. Çözelti günlük taze olarak hazırlanıp reaktif amber şişe içerisinde muhafaza edilmiştir.
2) Gallik asit çözeltisi: Gallik asit 1,0 mg tartılır ve 1.0 mL metanolde çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Deney öncesi çözeltiden alikuot alınarak metanol ile 0,1 mg/mL' ye kadar seyreltilmiştir.
3) Numune çözeltisi: Numuneler 10,0 mg tartılıp 1,0 mL metanolde çözülmüştür.

3.5.2. Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerin, ABTS radikalini süpürme etkisi TEAC testi ile belirlenmiştir [83]. ABTS katyon radikalini elde etmek amacıyla $K_2S_2O_8$ sulu çözeltisi (2,5 mM) içinde ve ABTS çözeltisi (7 mM) hazırlanmıştır. Çözelti, karanlık ortamda 16 saat süreyle reaktif aktif olana dek bekletilmiştir. Hazırlanmış olan stok çözeltiden yaklaşık 3 mL alınarak UV spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda 0,700-0,800 arasında absorbans verene kadar absolü etanol ile seyreltilmiştir. Troloksun beş farklı konsantrasyondaki çözeltileri (3,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,1 mM) kullanılarak kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. 96-derin kuyucuklu plağın üzerine 10 µL numune ve 990 µL $ABTS^{\bullet+}$ konularak 30 dakika süreyle oda sıcaklığında ve karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Kör olarak numune yerine 10 µL metanol konulmuştur. İnkübasyon sonrasında karışımdan 8-kanallı otomatik pipetör yardımıyla 300 µL alınarak mikro plak kuyucuklarına aktarılmıştır. Absorbans ölçümleri plak okuyucu spektrofotometre yardımıyla 734 nm dalga boyunda yapılmıştır. Troloksun kalibrasyon eğrisi kullanılarak troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri saptanmıştır [84].

Reaktiflerin hazırlanışı:

1) ABTS: 2,2′-Azino-bis(3-etillbenzotiazolin-6-sülfonik asit) 36 mg tartılmıştır.
2) $K_2S_2O_8$: Potasyum persülfat, 6,6 mg tartılmıştır.
3) Tartılan ABTS ve $K_2S_2O_8$ birleştirilerek 10 mL suda çözülmüştür. Böylece 7 mM ABTS ve 2,5 mM $K_2S_2O_8$ karışımı hazırlanmıştır.
4) Troloks: 7,5 mg troloks tartılıp 1 mL suda çözünmüştür. 3 mM olan çözeltiden alikuotlar alınarak 2, 1, 0,5 ve 0,1 mM konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmıştır.
5) Numune çözeltisi: Numuneler 10’ ar mg tartılıp 1’ er mL metanolde çözülmüştür (10 mg/mL).

3.5.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi

Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen ekstrelerin oksijen radikali süpürme etkisi ORAC yöntemiyle incelenmiştir. AAPH tarafından üretilen peroksil radikallerinin temizlenmesi prensibine dayanan bir yöntemle tayin edilmiştir [85]. 96-kuyucuklu plakalara 25 µL numune ve 150 µL 4 nM fluorosein konulup 30 dakika boyunca 37°C ve ışıksız ortamda inkübe edilmiştir. Süre sonunda 25 µL 225 mM AAPH radikali ilave edilip plakalardaki çözelti 10 saniye boyunca çalkalanmıştır. Daha sonra numuneler 180 dakika boyunca 485 nm dalga boyunda uyarılıp 535 nm dalga boyunda yayılım yapacak şekilde plak okuyucu spektrofotometreye bırakılarak dakika başı ölçümler kaydedilmiştir. Deneyde beş farklı konsantrasyonda hazırlanan troloks çözeltisi kullanılmıştır (50; 25; 12,5; 6,25; 0 µM). Sonuçlar troloksa eşdeğer olarak eğri altında kalan alan hesabı yapılarak hesaplanmıştır.

Reaktiflerin hazırlanışı:

1) Na_2HPO_4-NaH_2PO_4 tamponu : 10,82 g Disodyum hidrojen fosfat ve 3,33 g sodyum dihirojen fosfat tarıtılıp 800 mL ultra saf suda çözünmüştür. HCl ve NaOH çözeltileriyle pH 7,4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti saf su ilavesi ile 1 L' ye tamamlanmıştır. (0,075 M, pH:7,4)
2) AAPH radikali: 203,4 mg 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür tartılıp 333 mL fosfat tamponunda çözülmüştür. (225 mM)
3) Fluoresein: 15 mg fluoresein tartılıp 10 mL tampon çözeltisinde çözünerek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti 4°C' de muhafaza edilmiştir. Stok çözeltiden alınan 50 µL fluoresein 49,95 mL tampon ile 1000 kat seyreltilmiştir (4 nM). Stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanan çözelti günlük taze olarak kullanılmıştır.
4) Numune çözeltisi: Her bir ekstre 10 mg tartılıp 1 mL tampon çözeltide çözünerek 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Daha sonra numune çözeltisi seyreltilerek 5 mg/mL ve 1 mg/mL konsantrasyonlarda da hazırlanmıştır.

3.6. Toplam Fenol Miktar Tayini

Siyah ve beyaz chia tohumundan elde edilen ekstrelerin toplam fenol miktar tayini Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir [85]. Bu amaçla 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 ve 0.1 mg/mL konsantrasyonlarda gallik asit çözeltileri hazırlanarak FCR ile tepkime sonuçları üzerinden kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Deneyde, 96-kuyucuklu plak içine 20 µL numune, 1,56 mL saf su ve 100 µL FCR ilave edilmiştir.Yaklaşık 8 dakika beklendikten sonra kuyucuklara 250 µL Na_2CO_3 (%20 sulu çözelti) eklenip 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Süre sonunda tepkime sonuçları plak okuyucu yardımı ile spektrofotometrik olarak 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek tespit edilmiştir. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden alınarak gallik asite eşdeğer olarak belirlenmiştir [73, 86, 87].

Reaktiflerin hazırlanışı:

1) Gallik asit: 2 mg gallik asit tartılarak 2 mL metanolde çözülmüştür (1 mg/mL). Daha sonra alikuotlar alınarak 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlara metanol ile seyreltilmiştir.
2) Na_2CO_3: 10 g sodyum karbonat tartılarak 50 mL suda çözülmüştür.
3) Numune çözeltisi: Her bir numune 10'ar mg tartılarak 1 mL metanolde çözünmüştür.

3.7. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Siyah ve beyaz chia tohumlarının toplam flavonoit miktar tayini rutin ve kersetine ekivalent olarak $AlCl_3$ reaktifi kullanılarak hesaplandı. 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarda rutin ve kersetin hazırlandı. 80 µL numune üzerine 80 µL $AlCl_3$ (2g/100 mL) reaktifi ve 1,85 mL absolü etanol ilave edildi. Blank olarak $AlCl_3$ reaktifi yerine 1 damla asetik asit kullanıldı. 40 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılan numunelerin daha sonra spektrofotometre yardımıyla 415 nm dalga boyundaki absorbansları ölçüldü. Rutin ve kersetinin kalibrasyon eğrisi çizilerek ekstreler ile karşılaştırılıp numunelerdeki toplam flavonoit miktarları tayin edildi. Deney 3×3 tekrar yapıldı [73, 87, 88].

Reaktiflerin hazırlanışı:

1) $AlCl_3$: 2 g alüminyum klorür tartılıp 100 mL suda çözülmüştür.
2) Rutin: Maddenin 1 mg/mL konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 ve 0,1 mg/mL' lik konsantrasyonlara seyreltilmiştir.
3) Kersetin: Maddenin 1 mg/mL konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 ve 0,1 mg/mL' lik konsantrasyonlara seyreltilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Sabit Yağların Ekstraksiyon Verimleri

Tez kapsamında siyah ve beyaz chia tohumu örneklerinden beş farklı yöntemle lipitler ekstre edilerek verimleri hesaplanmıştır. Verim sonuçları yüzde olarak Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerin ekstraksiyon verimleri

Ekstraksiyon Yöntemleri	Siyah Chia Tohumu (% Verim)	Beyaz Chia Tohumu (% Verim)
Folch	10,82	11,61
Soxhlet	16,59	14,91
Soğuk Sıkım	12,95	15,05
ASE	9,09	12,92
Süperkritik Akışkan (60 dk)	5,90	3,99
Süperkritik Akışkan (210 dk)	7,33	9,33

4.2. Sabit Yağ Asidi Kompozisyonları

Siyah ve beyaz chia tohumlarının sabit yağ asidi kompozisiyonları GC / FID - MS ve UPC^2 teknikleriyle ayrı ayrı belrlenmiş olup karşılaştırmalı analizi yapılmıştır.

4.2.1. Gaz kromatografisi kütle spektrometresi yöntemiyle sabit yağ asidi kompozisyonlarının aydınlatılması

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin GC/FID-MS teknikleri ile sabit yağ asidi kompozisyonları aydınlatılmıştır. Gaz kromatografik analiz sonuçları siyah ve beyaz chia tohumu için Tablo 4.2 ve Tablo 4.3' te gösterilmiştir.

Tablo 4.2. *Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen siyah chia tohumu ekstrelerinin yağ asidi kompozisyonu*

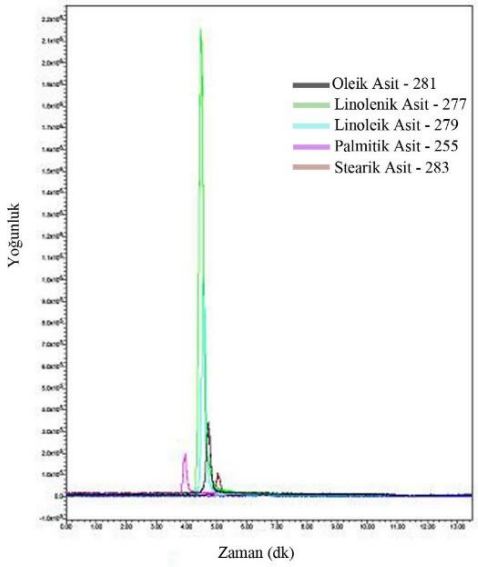
Sıra	Bileşik Adı	FOLCH	SOXHLET	ASE	SOĞ. SIKIM	SFE
1	Hekzadekanoik asit (=*Palmitik asit*); (16:0)	6,5	7,3	7,5	7,1	7.3
2	Heptadekanoik asit (=*Margarik asit*); (17:0)	0,1	Eser	Eser	0,2	0.2
3	Oktadekanoik asit (= *Stearik asit*); (18:0)	2,3	3,0	3,2	3,2	3.5
4	(Z)-9-Oktadekanoik asit (=*Oleik asit*); (18:1)	5,1	5,8	5,8	5,7	6.0
5	(E)-9-Oktadekanoik asit (=*Elaidik asit*); 18:1)	0,7	0,7	0,8	0,8	0.9
6	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=*Linoleik asit*); (18:2)	20,0	19,8	19,7	19,5	19.6
7	(E,E,E)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=*Elaidolinoleik asit*); (18:3)	0,2	Eser	Eser	Eser	Eser
8	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=*α-Linolenik asit*); (18:3)	64,7	63,0	62,3	62,6	61.1
9	Eikosanoik asit (=*Araşidik asit*); (20:0)	0,2	0,3	0,3	0,3	0.3
Toplam		**99.8**	**99,9**	**99,6**	**99,4**	**98,9**
Toplam **ω-3**		64.9	63,0	62,3	62,6	61,1
Toplam **ω-6**		20.0	19,8	19,7	19,5	19,6
Toplam **ω-9**		5.8	6,5	6,6	6,5	6,9
Toplam **doymamış yağ asidi**		90.7	89,3	88,6	88,6	87,6

Tablo 4.3. *Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstrelerinin yağ asidi kompozisyonu*

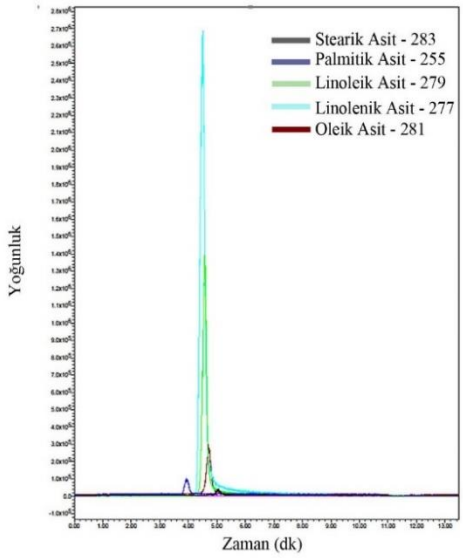
Sıra	Bileşik Adı	FOLCH	SOXHLET	ASE	SOĞ. SIKIM	SFE
1	Hekzadekanoik asit (=*Palmitik asit*); (16:0)	3,0	7,8	8,0	7,7	7,4
2	Heptadekanoik asit (=*Margarik asit*); (17:0)	Eser	Eser	Eser	Eser	0,2
3	Oktadekanoik asit (= *Stearik asit*); (18:0)	0,7	3,7	4,2	4,2	3,9
4	(Z)-9-Oktadekanoik asit (=*Oleik asit*); (18:1)	3,6	7,5	7,5	7,4	7,1
5	(E)-9-Oktadekanoik asit (=*Elaidik asit*); (18:1)	0,3	0,4	0,7	0,9	0,8
6	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=*Linoleik asit*); (18:2)	22,2	21,9	22,0	22,0	21,1
7	(E,E,E)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=*Elaidolinoleik asit*); (18:3)	Eser	Eser	Eser	Eser	Eser
8	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=*α-Linolenik asit*); (18:3)	69,9	58,1	57,0	56,7	58,3
9	Eikosanoik asit (=*Araşidik asit*); (20:0)	Eser	0,4	0,4	0,9	0,3
Toplam		**99,7**	**99,8**	**99,8**	**99,8**	**99,1**
Toplam **ω-3**		69,9	58,1	57,0	56,7	58,3
Toplam **ω-6**		22,2	21,9	22,0	22,0	21,1
Toplam **ω-9**		3,9	7,9	8,2	8,3	7,9
Toplam **doymamış yağ asidi**		96	87,9	87,2	87,0	87,3

4.2.2. Ultra performans birleşim kromatografisi yöntemiyle sabit yağ asidi kompozisyonlarının aydınlatılması

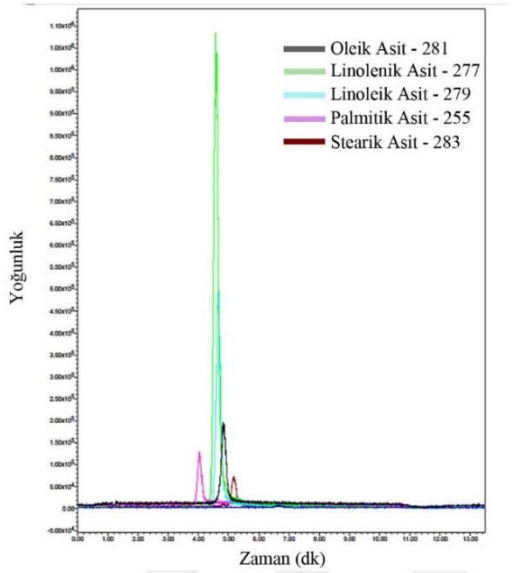
Farklı ekstraksiyon metotlarıyla elde edilen ekstrelerin Ultra Performans Birleşim Kromatografisi (UPC^2) yöntemi sonucunda ortaya çıkan kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.



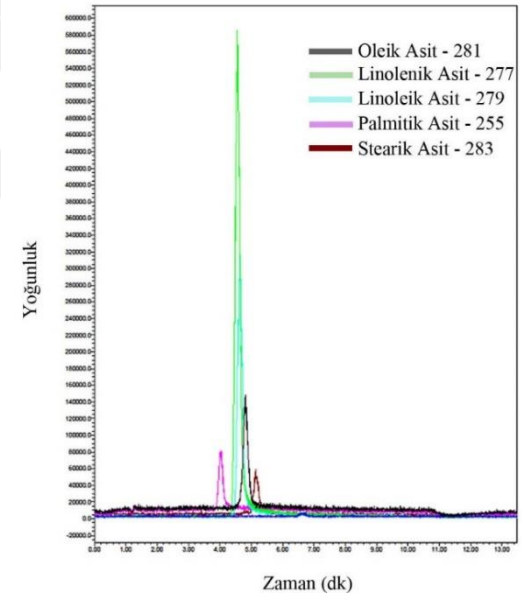
Şekil 4.1. *Maserasyon metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı*



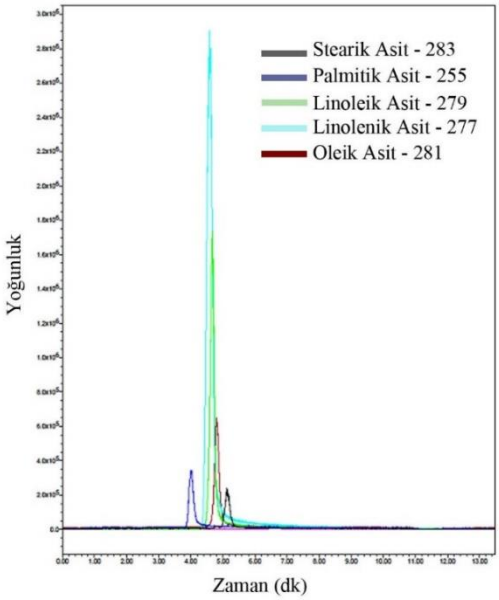
Şekil 4.2. *Maserasyon metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC^2 kromatogramı*



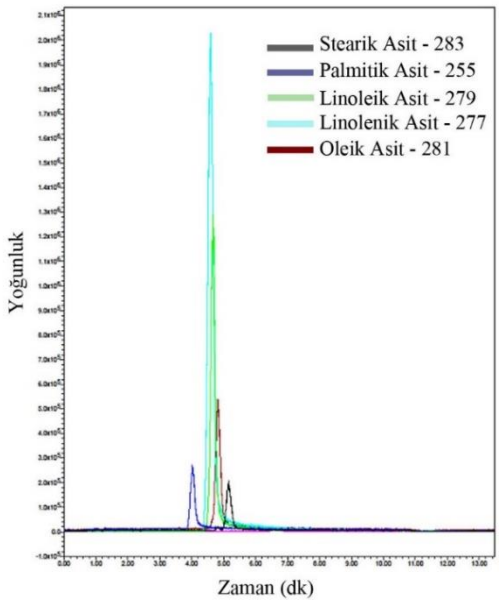
Şekil 4.3. *Soxhlet metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC² kromatogramı*



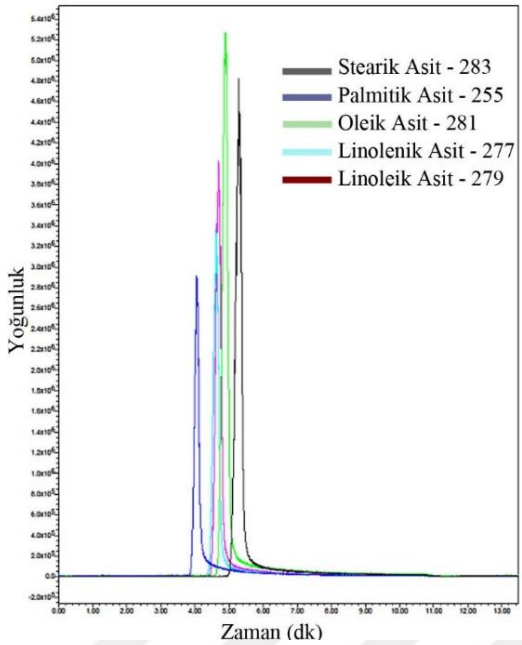
Şekil 4.4. *Soxhlet metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC² kromatogramı*



Şekil 4.5. *ASE metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin UPC² kromatogramı*

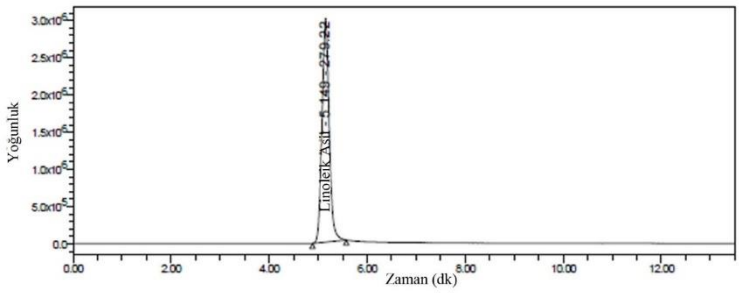


Şekil 4.6. *ASE metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin UPC² kromatogramı*

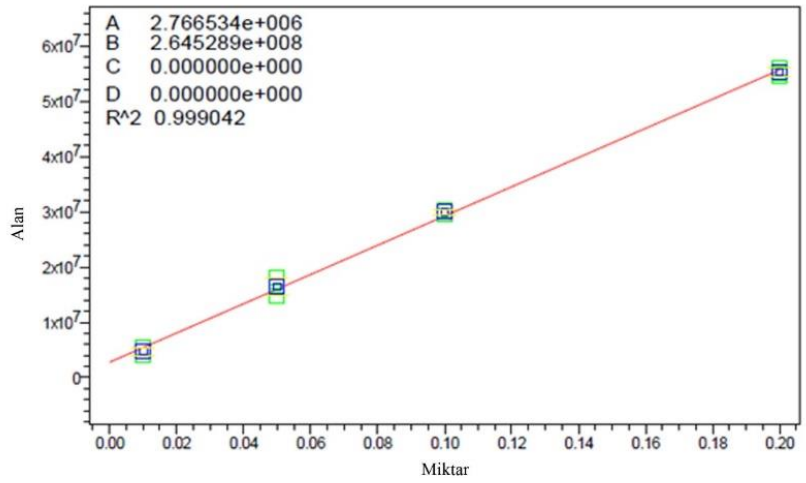


Şekil 4.7. *Standartların UPC² kromatogramı*

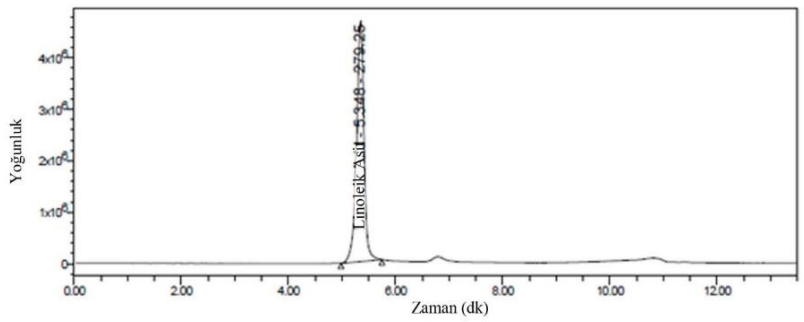
Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrelerin Ultra Performans Birleşim Kromatografisi ile Miktar Tayinleri



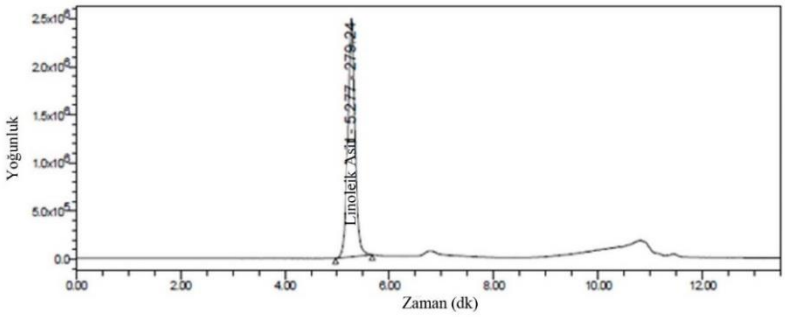
Şekil 4.8. *0,1 mg/mL linoleik asit standardının UPC² kromatogramı*



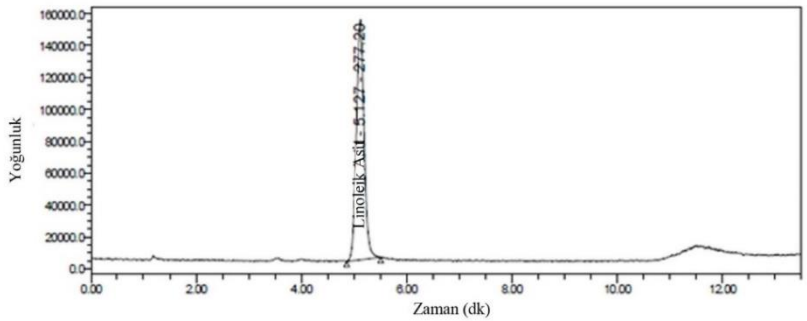
Şekil 4.9. *Linoleik asidin kalibrasyon eğrisi*



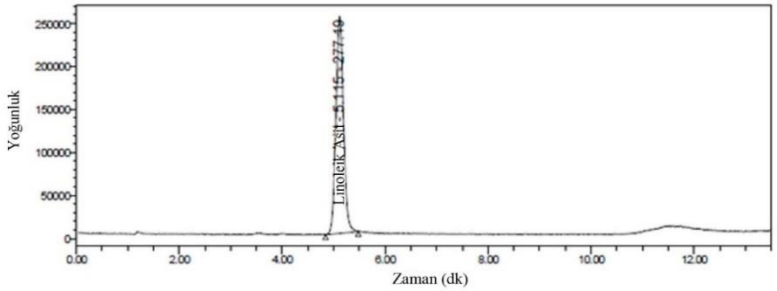
Şekil 4.10. *Folch metoduyla elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



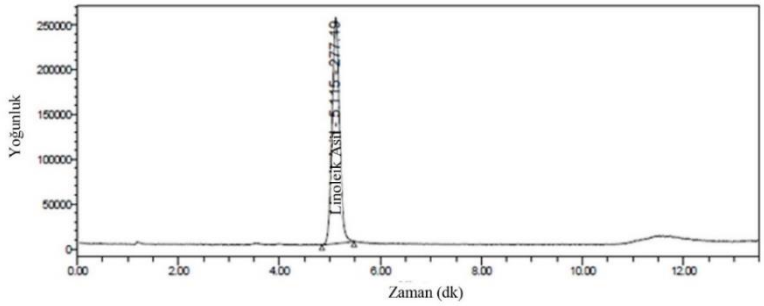
Şekil 4.11. *Folch metoduyla elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



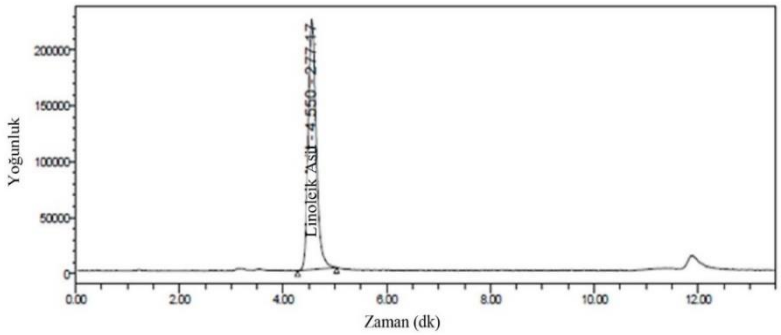
Şekil 4.12. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



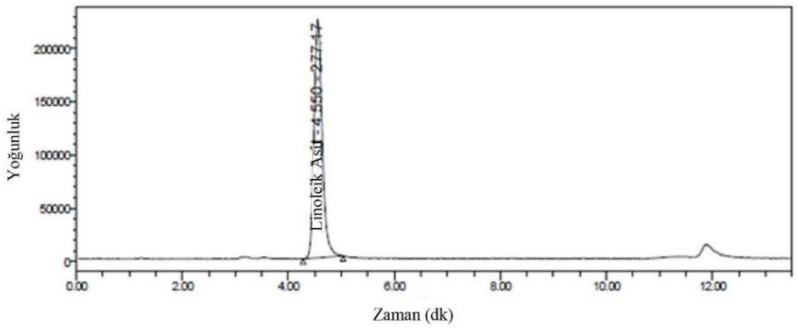
Şekil 4.13. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



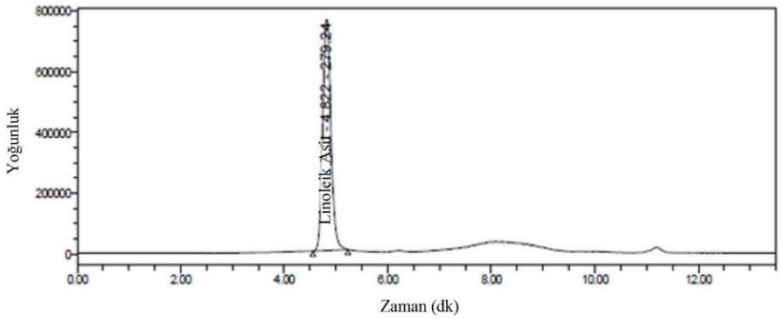
Şekil 4.14. *Soxhlet metoduyla elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



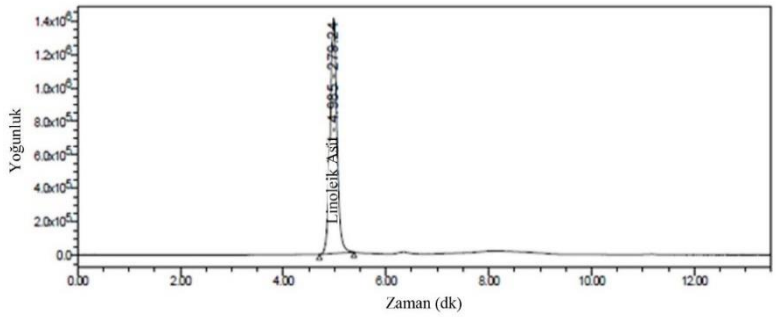
Şekil 4.15. *Soxhlet metoduyla elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



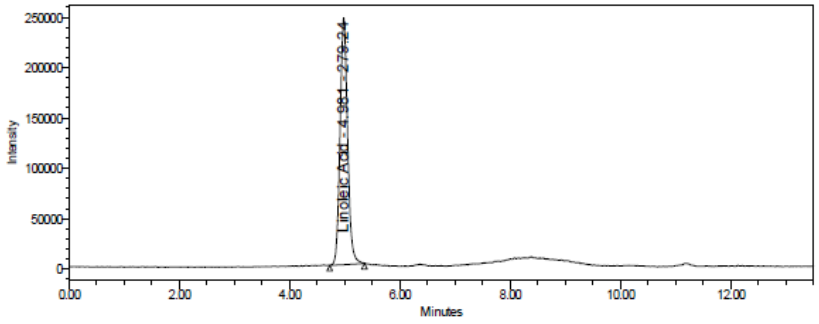
Şekil 4.16. *SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



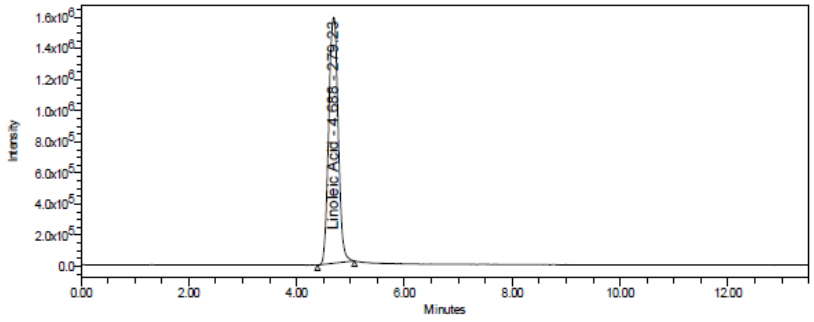
Şekil 4.17. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



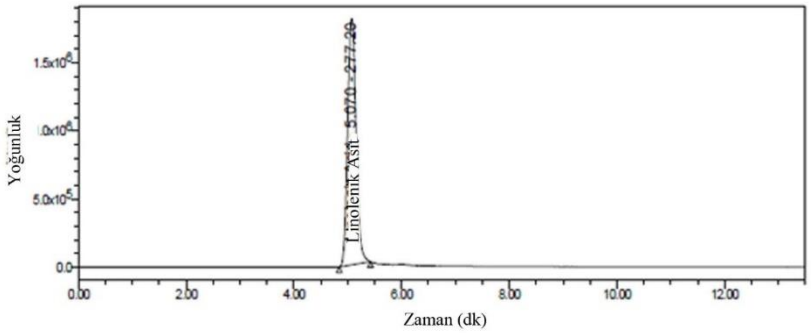
Şekil 4.18. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



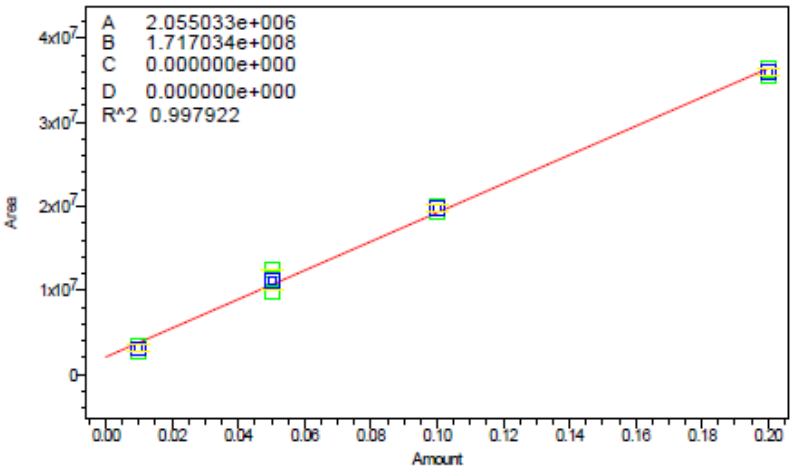
Şekil 4.19. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linoleik asit miktarı*



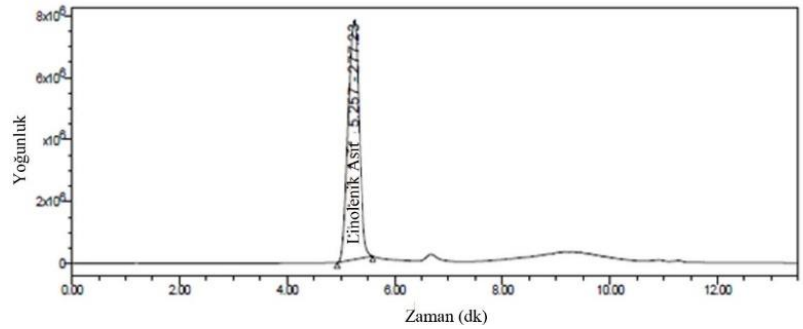
Şekil 4.20. *Standart kontrol linoleik asit (0,05 mg/mL)*



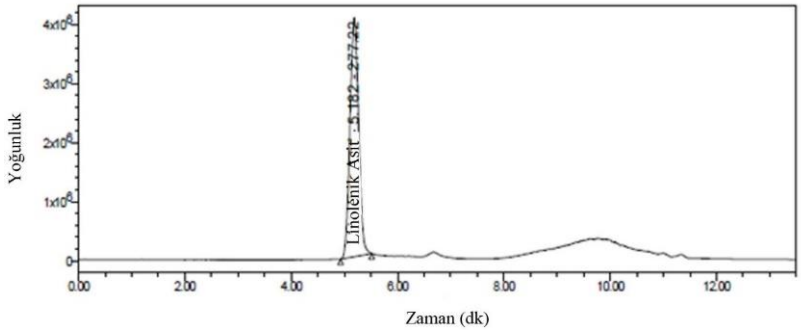
Şekil 4.21. *0,1 mg/mL standart linolenik asidin UPC² kromatogramı*



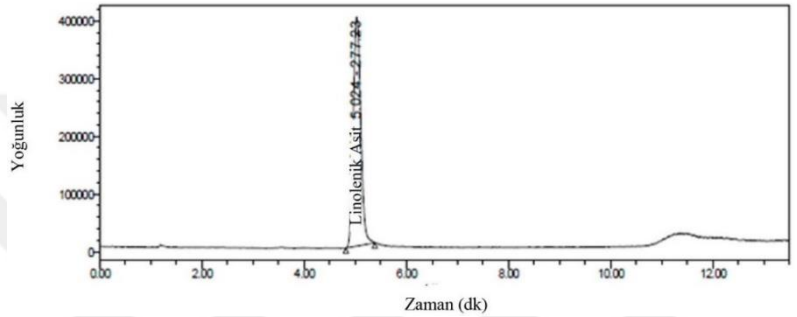
Şekil 4.22. *Linolenik asidin kalibrasyon eğrisi*



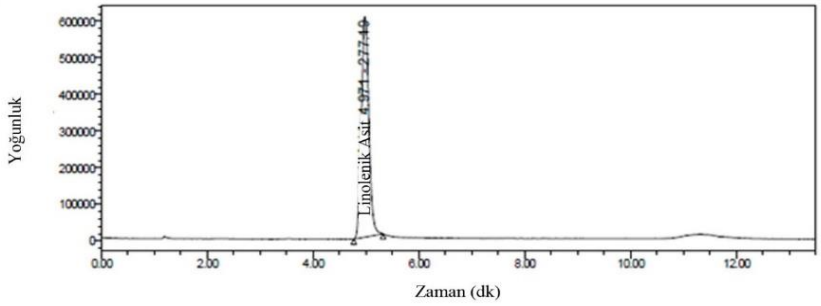
Şekil 4.23. *Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



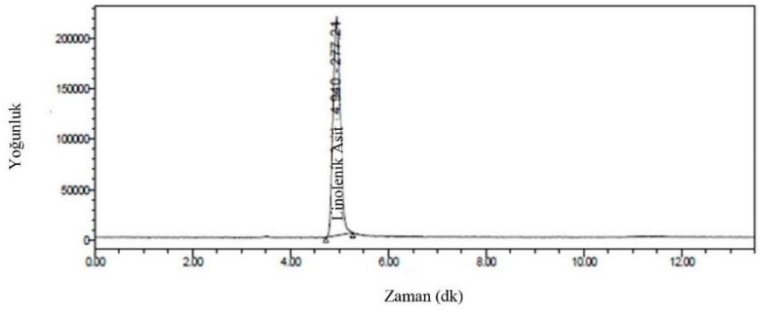
Şekil 4.24. *Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



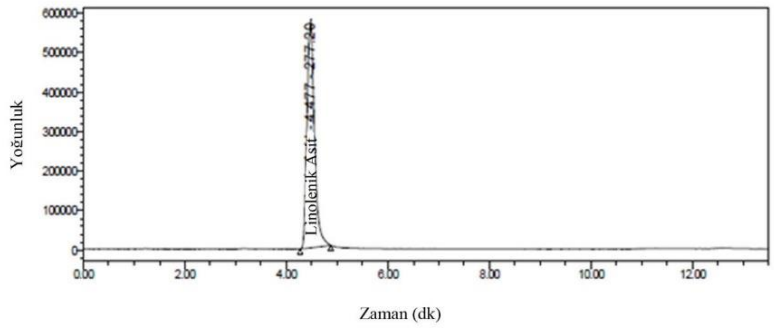
Şekil 4.25. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



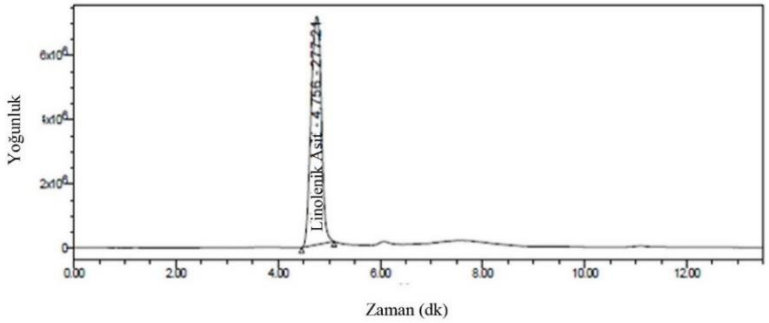
Şekil 4.26. *ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



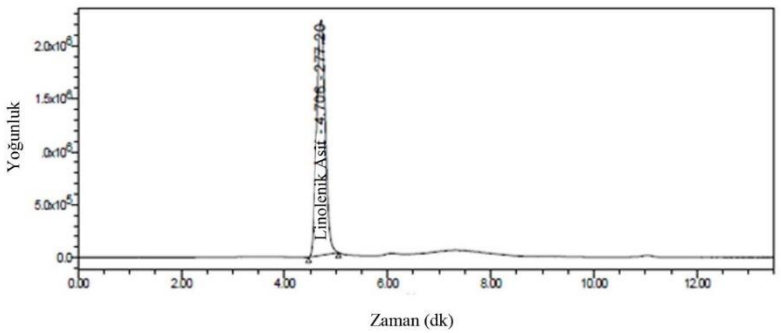
Şekil 4.27. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



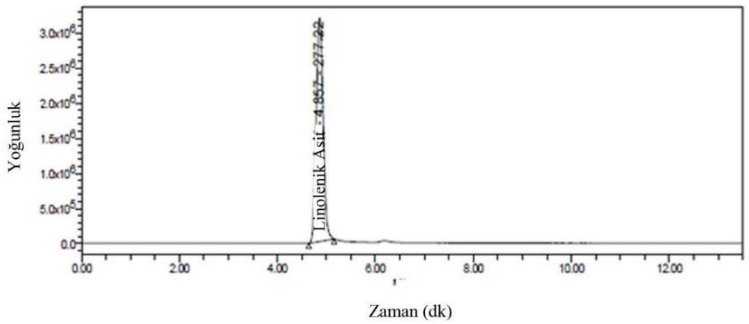
Şekil 4.28. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



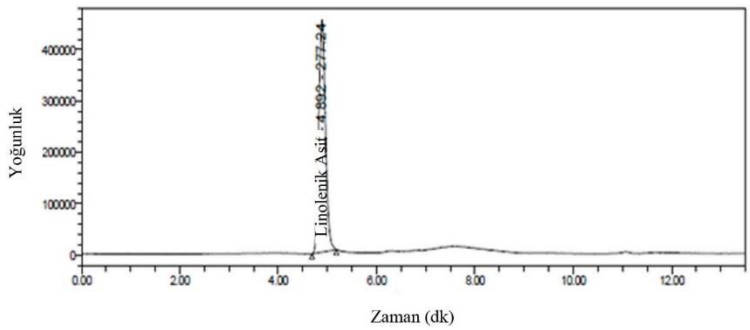
Şekil 4.29. *SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



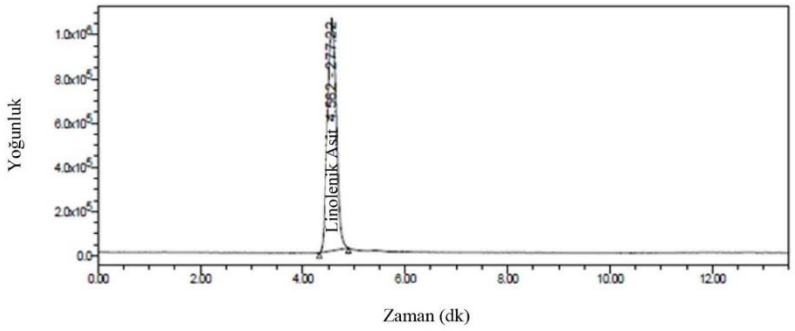
Şekil 4.30. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



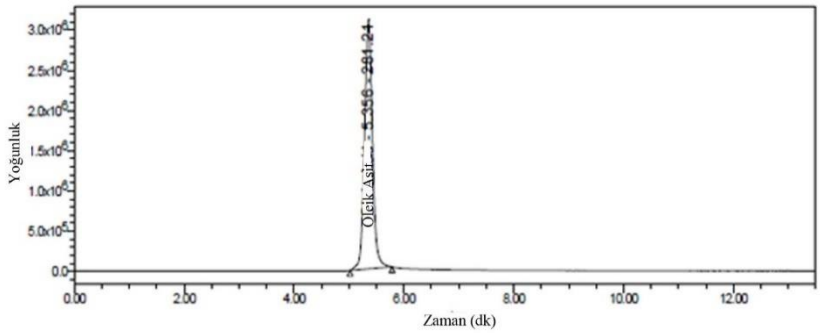
Şekil 4.31. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



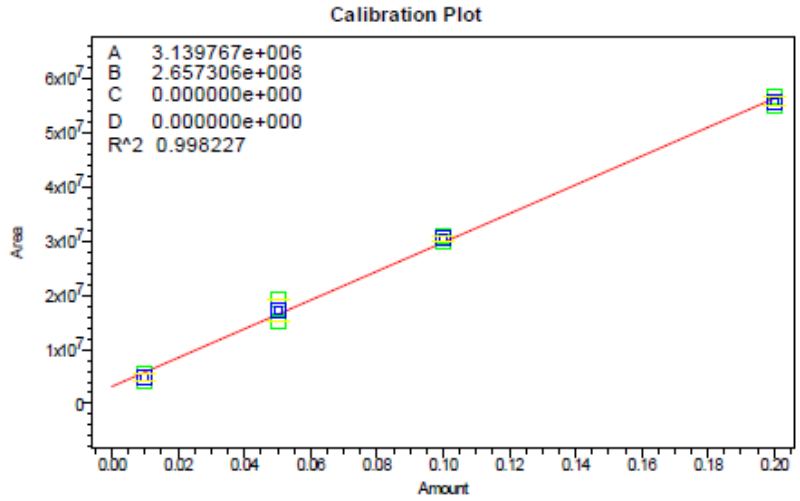
Şekil 4.32. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki linolenik asit miktarı*



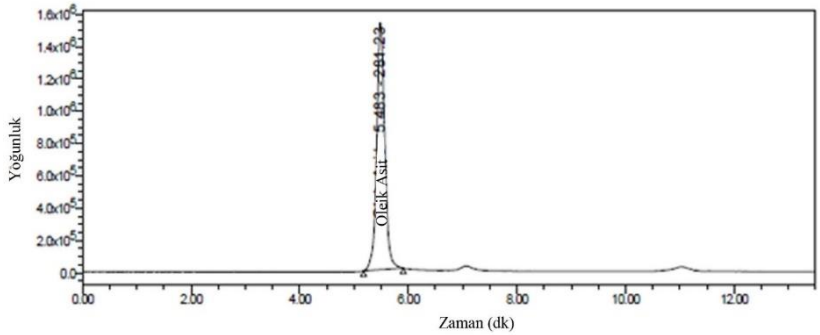
Şekil 4.33. *Standart kontrol linolenik asit (0,05 mg/mL)*



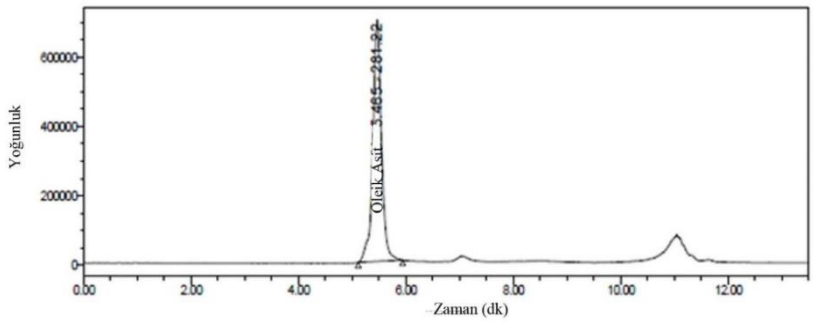
Şekil 4.34. *0,1 mg/mL standart oleik asidin UPC² kromatogramı*



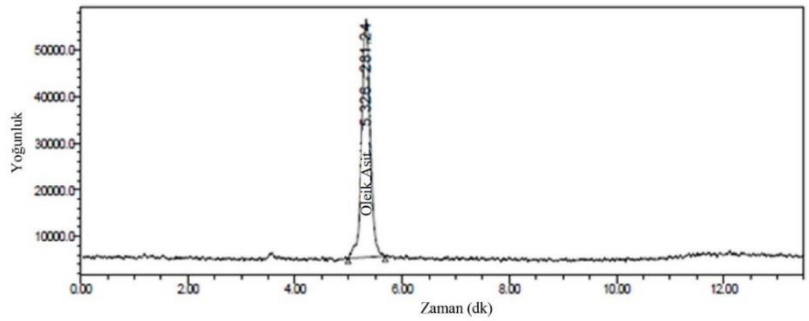
Şekil 4.35. *Oleik asidin kalibrasyon eğrisi*



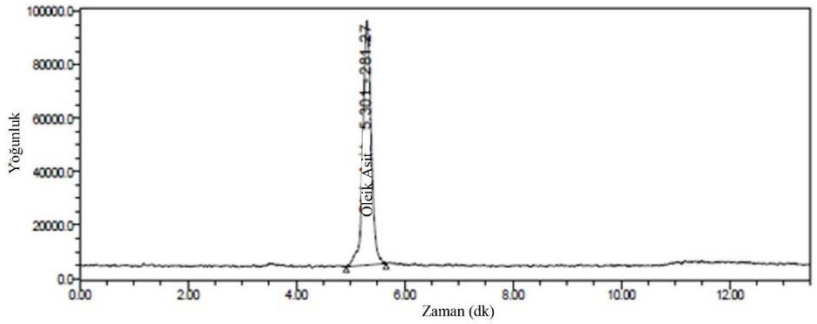
Şekil 4.36. *Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



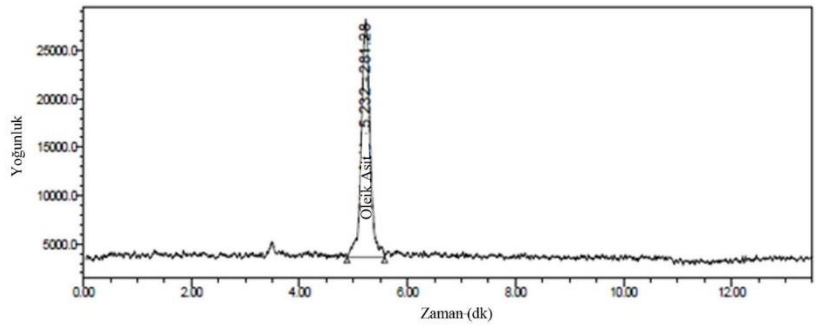
Şekil 4.37. *Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



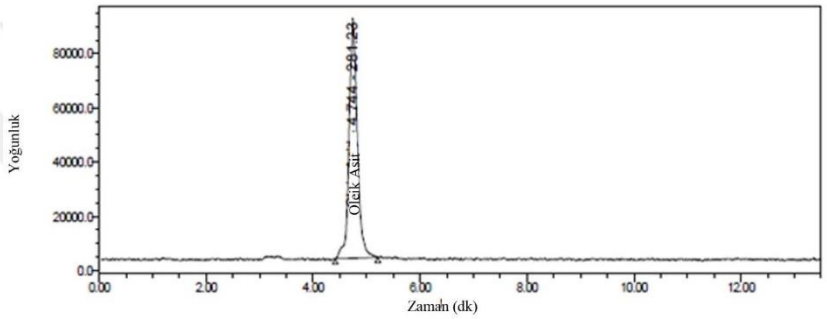
Şekil 4.38. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



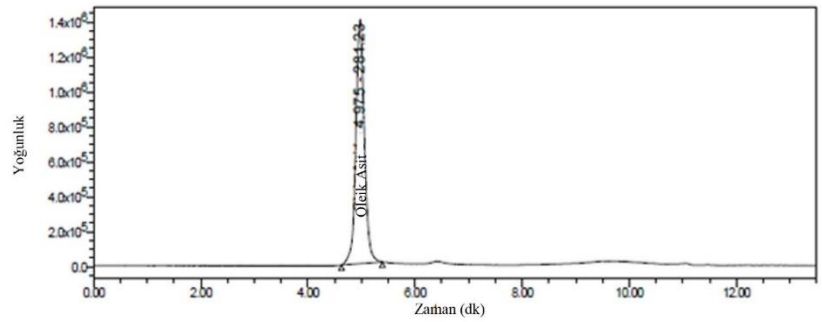
Şekil 4.39. *ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



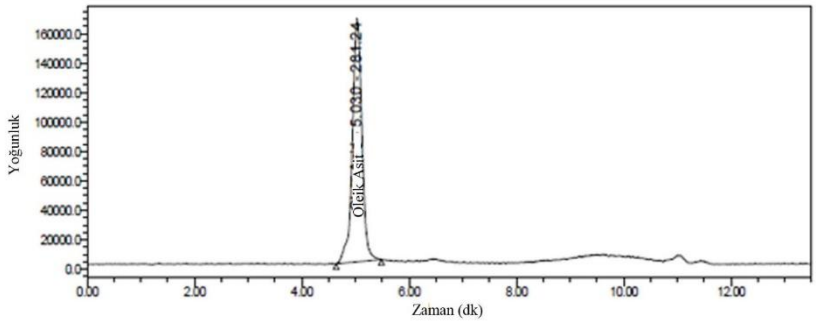
Şekil 4.40. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



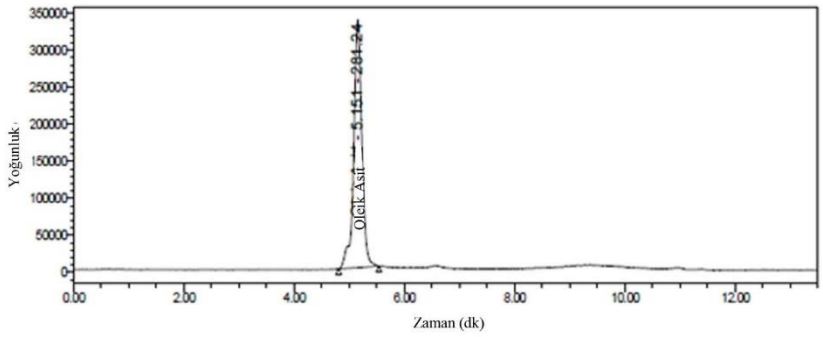
Şekil 4.41. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



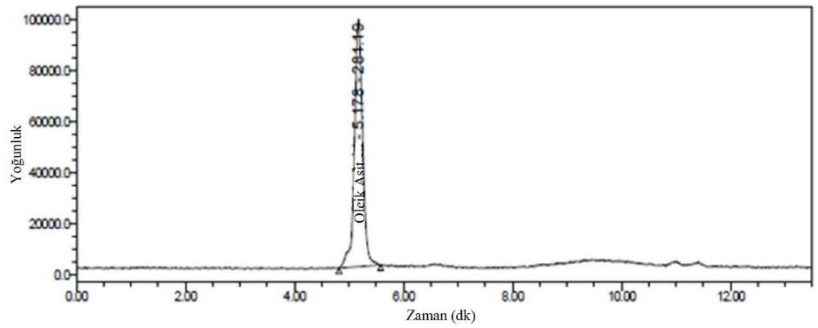
Şekil 4.42. *SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



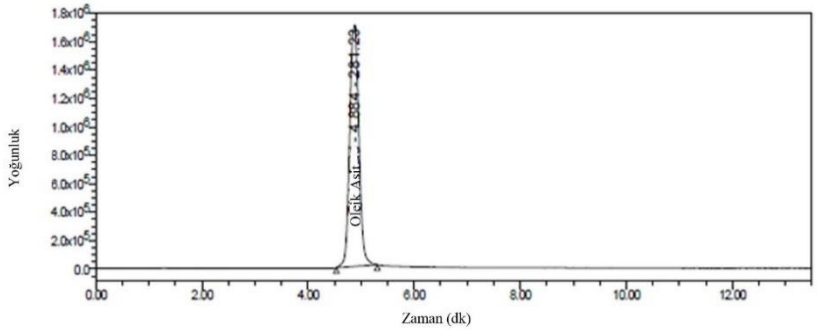
Şekil 4.43. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



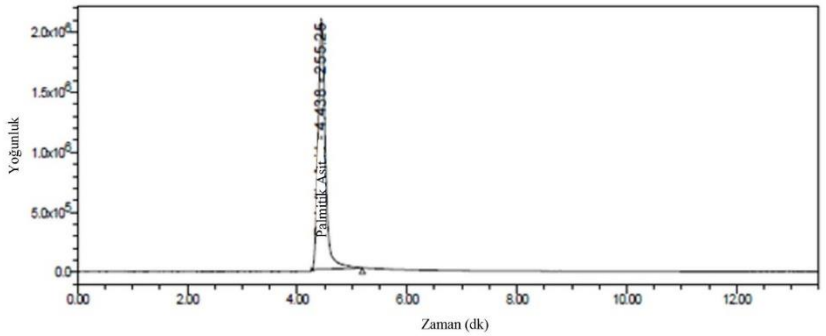
Şekil 4.44. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



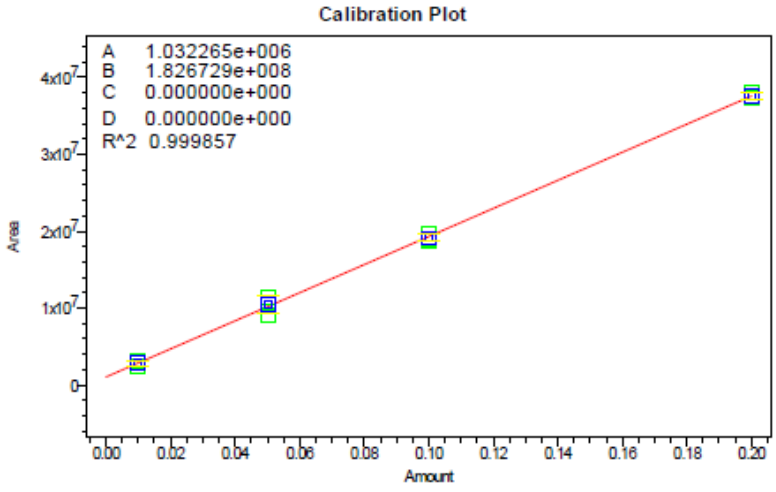
Şekil 4.45. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki oleik asit miktarı*



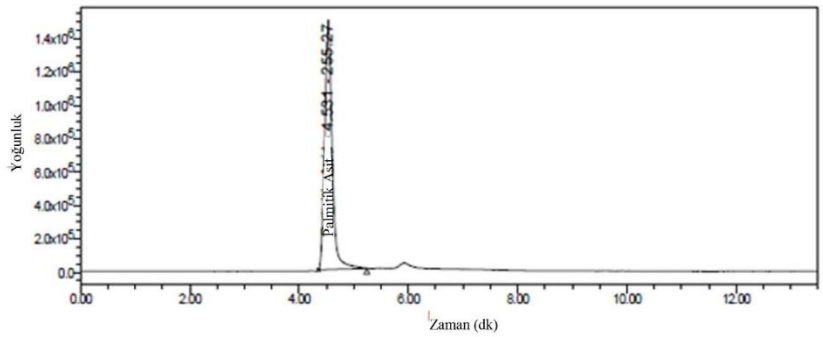
Şekil 4.46. *0,05 mg/mL standart kontrol oleik asit*



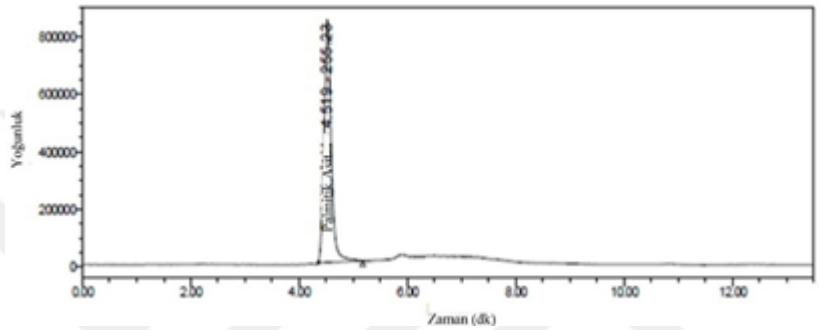
Şekil 4.47. *0,1 mg/mL standart palmitik asit*



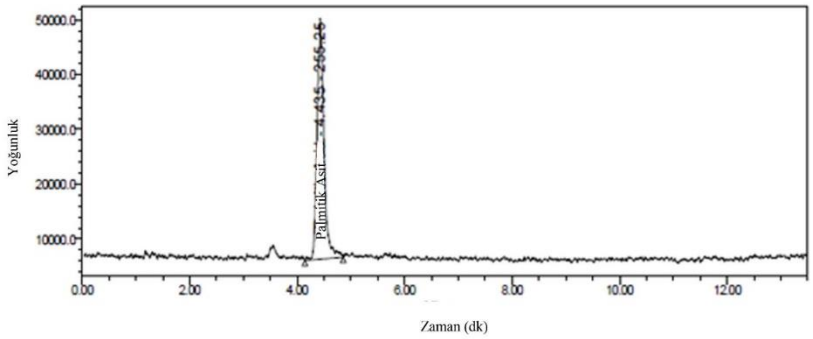
Şekil 4.48. *Standart palmitik asitin kalibrasyon eğrisi*



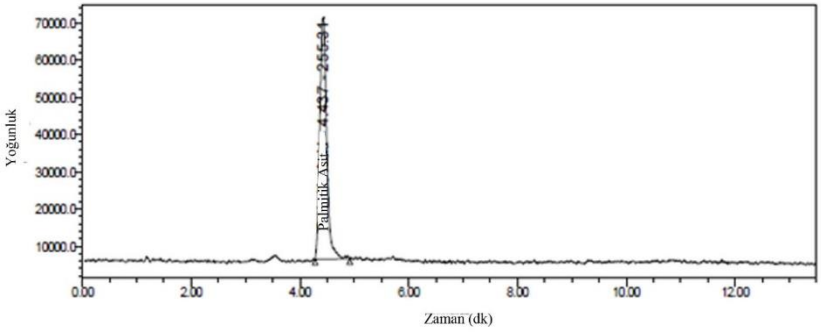
Şekil 4.49. *Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



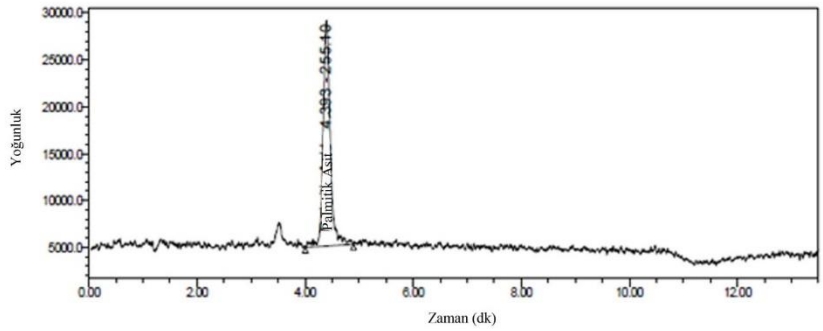
Şekil 4.50. *Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



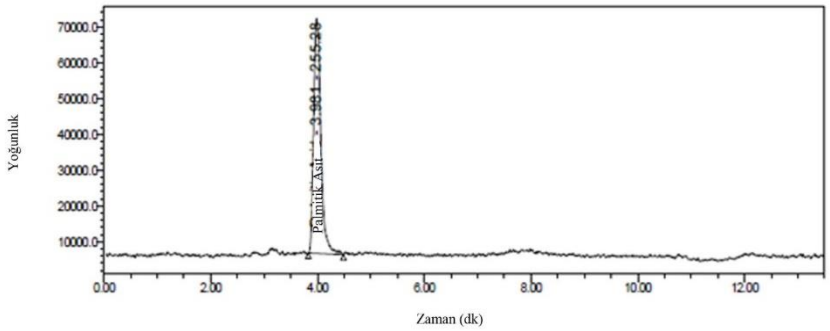
Şekil 4.51. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



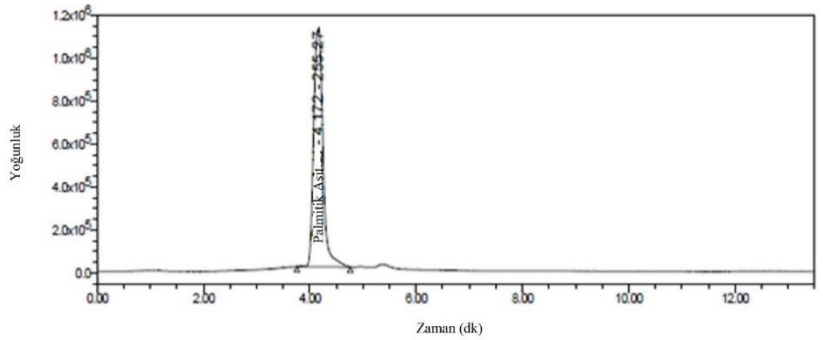
Şekil 4.52. *ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



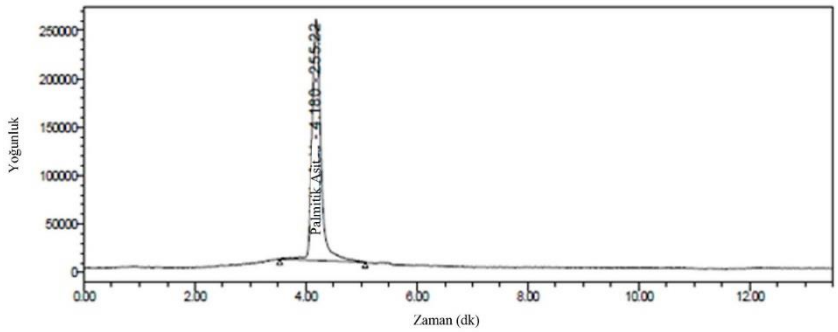
Şekil 4.53. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



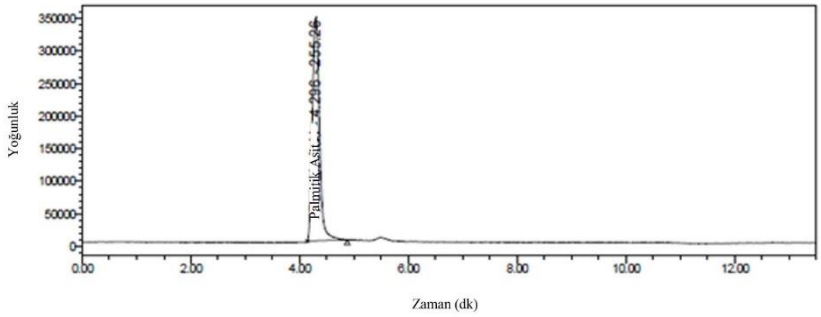
Şekil 4.54. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



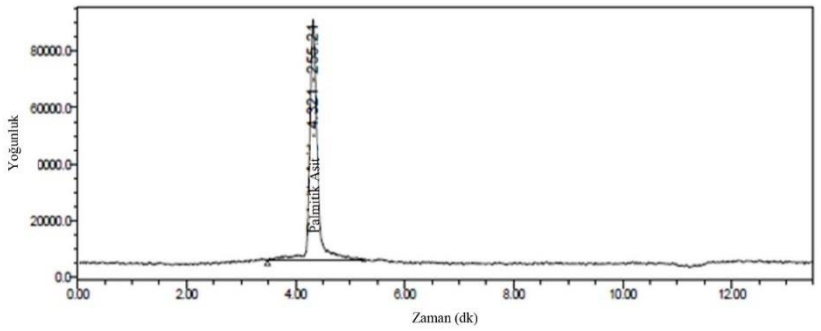
Şekil 4.55. *SFE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



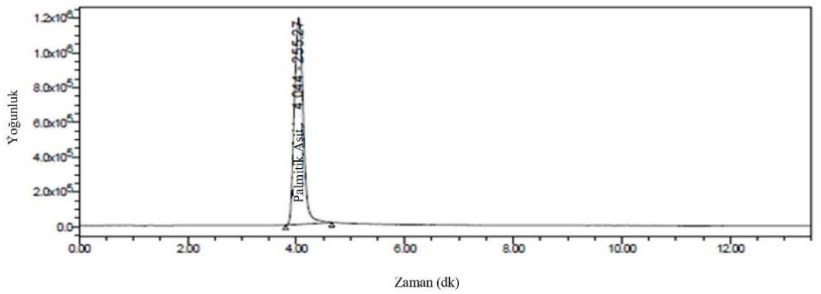
Şekil 4.56. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



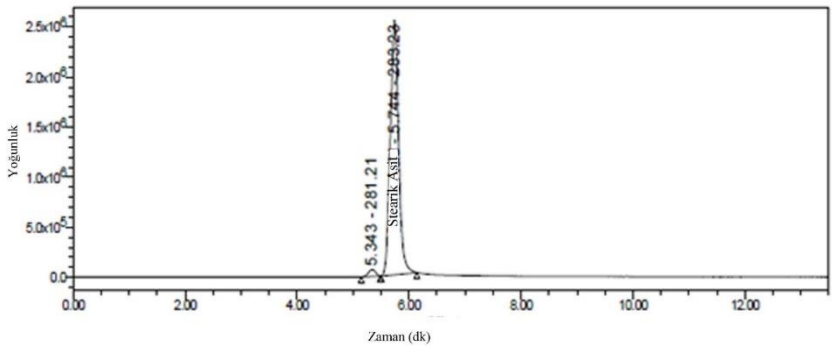
Şekil 4.57. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



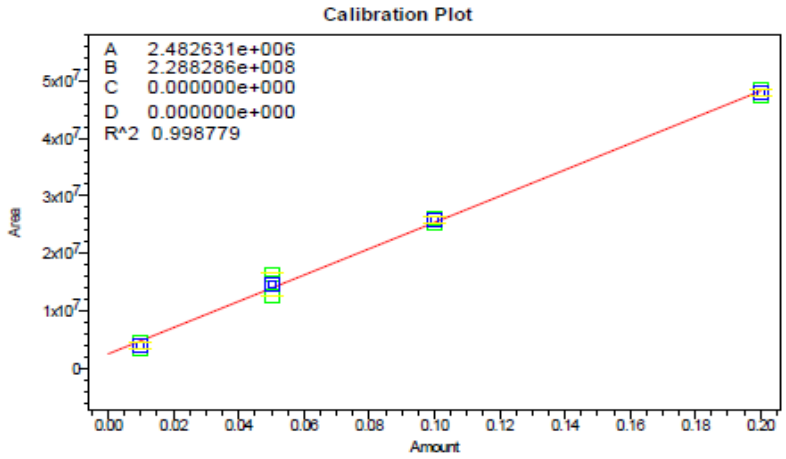
Şekil 4.58. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki palmitik asit miktarı*



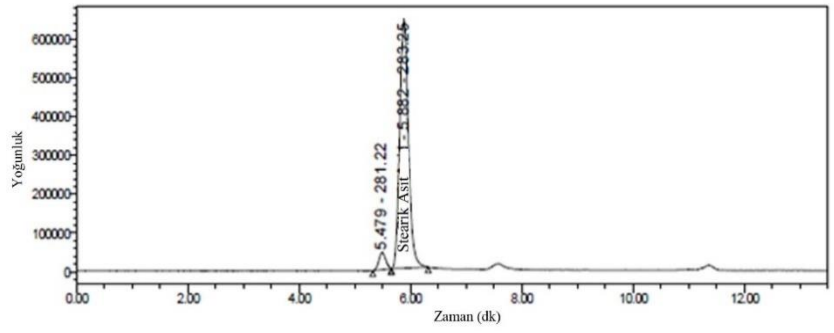
Şekil 4.59. *0,05 mg/mL standart kontrol palmitik asit*



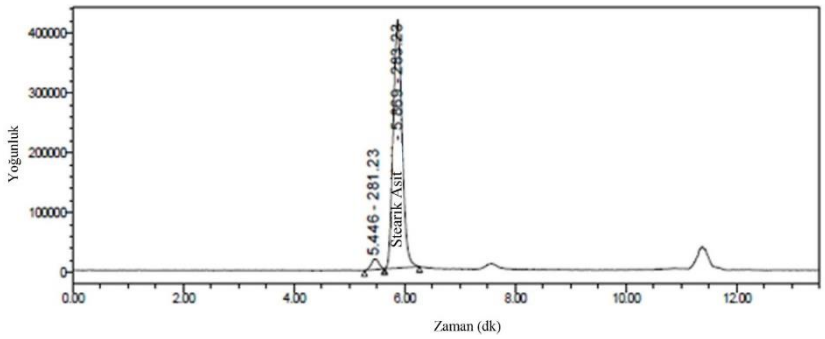
Şekil 4.60. *0,1 mg/mL standart stearik asit*



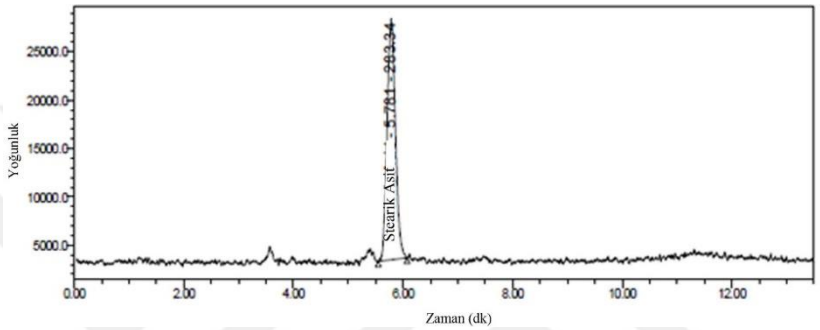
Şekil 4.61. *Standart stearik asitin kalibrasyon eğrisi*



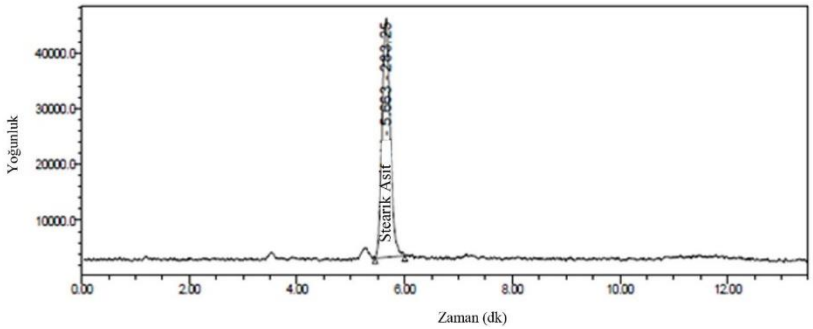
Şekil 4.62. *Folch tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



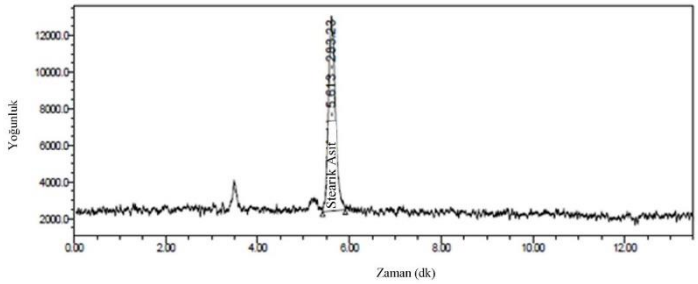
Şekil 4.63. *Folch tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



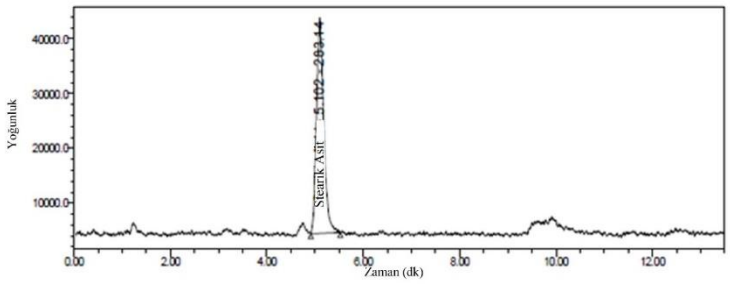
Şekil 4.64. *ASE tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



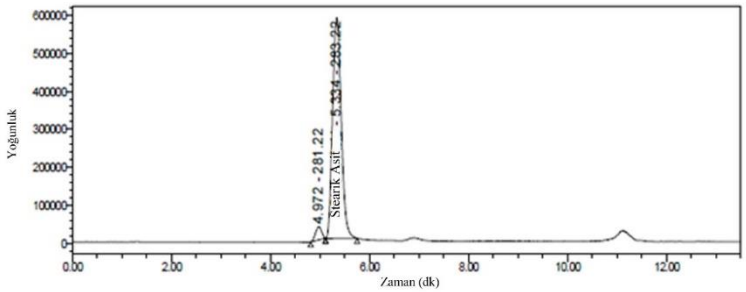
Şekil 4.65. *ASE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



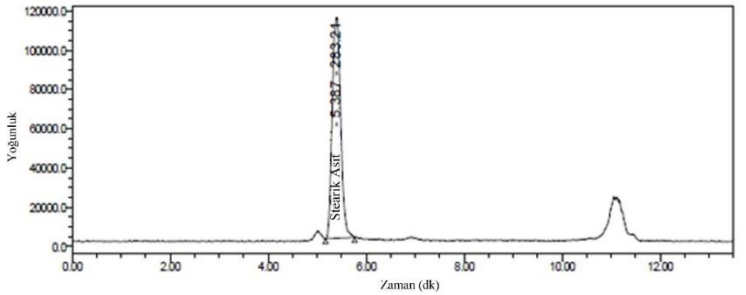
Şekil 4.66. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



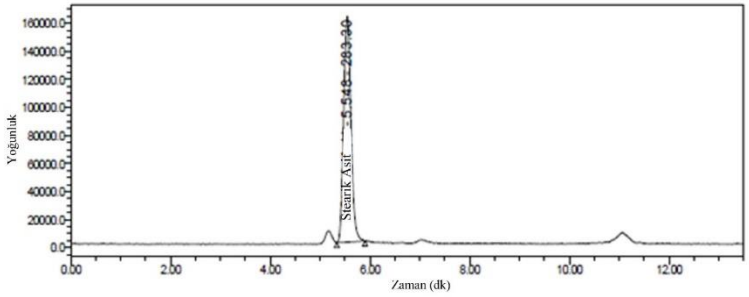
Şekil 4.67. *Soxhlet tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



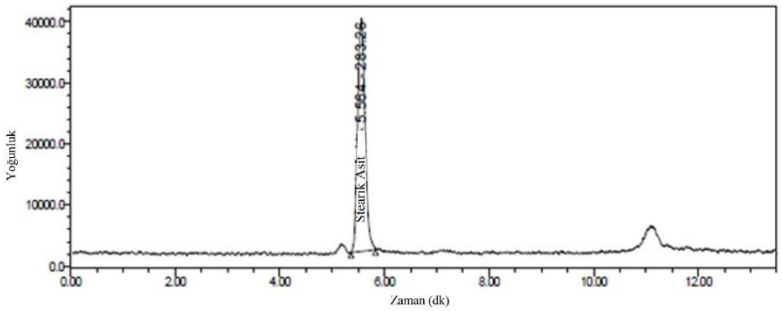
Şekil 4.68. *SFEtekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



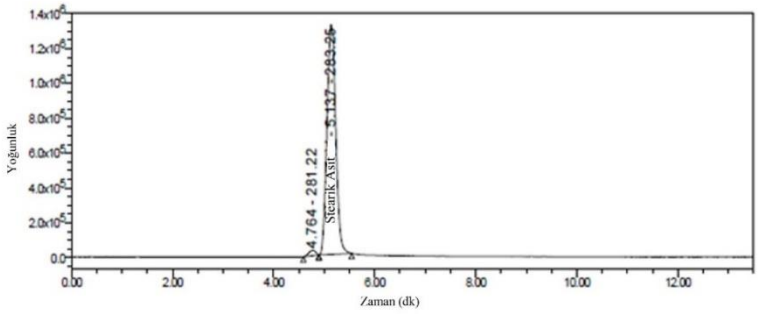
Şekil 4.69. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



Şekil 4.70. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



Şekil 4.71. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz tohum ekstresindeki stearik asit miktarı*



Şekil 4.72. *0,05 mg/mL standart kontrol stearik asit*

Tablo 4.4. *Siyah chia tohumu ekstrelerinin UPC² yöntemiyle elde edilen miktar tayinleri (mg/mL)*

	FOLCH	ASE	SOXHLET	SFE	SOĞ. SIKIM
Linoleik asit	0,158	Eser	Eser	0,145	0,045
	0,161	Eser	Eser	0,145	0,042
	0,160	Eser	Eser	0,142	0,045
Ortalama	0,160			0,144	0,044
Standart sapma	0,001			0,001	0,001
Linolenik asit	0,619	0,010	Eser	0,576	0,176
	0,629	0,011	0,001	0,575	0,162
	0,625	0,011	0,001	0,567	0,173
Ortalama	0,624	0,011	0,001	0,573	0,170
Standart sapma	0,004	0,000	0,000	0,004	0,006
Stearik asit	0,019	Eser	Eser	0,020	0,010
	0,021	Eser	Eser	0,021	0,010
	0,022	Eser	Eser	0,020	0,010
Ortalama	0,021			0,020	0,010
Standart sapma	0,001			0,000	0,000
Palmitik asit	0,071	Eser	Eser	0,069	0,022
	0,075	Eser	Eser	0,069	0,021
	0,074	Eser	Eser	0,067	0,023
Ortalama	0,073			0,068	0,022
Standart sapma	0,002			0,001	0,001
Oleik asit	0,047	Eser	Eser	0,046	0,012
	0,050	Eser	Eser	0,046	0,011
	0,049	Eser	Eser	0,045	0,012
Ortalama	0,049			0,046	0,012
Standart sapma	0,001			0,000	0,000

Tablo 4.5. *Beyaz chia tohumu ekstrelerinin UPC² yöntemiyle elde edilen miktar tayinleri (mg/mL)*

	FOLCH	ASE	SOXHLET	SFE	SOĞ. SIKIM
Linoleik asit	0,078	Eser	Eser	0,021	0,007
	0,078	Eser	Eser	0,016	0,006
	0,078	Eser	Eser	0,020	0,008
Ortalama	0,078			0,019	0,007
Standart sapma	0,000			0,002	0,001
Linolenik asit	0,252	0,024	0,021	0,081	0,028
	0,251	0,023	0,015	0,067	0,025
	0,251	0,022	0,009	0,076	0,032
Ortalama	0,251	0,023	0,015	0,075	0,028
Standart sapma	0,000	0,001	0,005	0,006	0,003
Stearik asit	0,009	Eser	Eser	Eser	0,005
	0,009	Eser	Eser	Eser	0,005
	0,009	Eser	Eser	Eser	0,005
Ortalama	0,009				0,005
Standart sapma	0,000				0,000
Palmitik asit	0,036	Eser	Eser	0,009	0,011
	0,036	Eser	Eser	0,006	0,009
	0,036	Eser	Eser	0,010	0,010
Ortalama	0,036			0,008	0,010
Standart sapma	0,000			0,002	0,001
Oleik asit	0,017	Eser	Eser	Eser	0,001
	0,017	Eser	Eser	Eser	Eser
	0,017	Eser	Eser	Eser	0,002
Ortalama	0,017				0,001
Standart sapma	0,000				0,001

4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.3.1. DPPH serbest radikali süpürme değerleri

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkileri yüzde inhibisyon olarak hesaplanmış olup Tablo 4.6 ve Tablo 4.7' de gösterilmiştir.

Tablo 4.6. *Siyah chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi*

	SOXHLET	**FOLCH**	**SFE**	**SOĞ. SIKIM**	**ASE**
İnhibisyon (%)*	9,33	19,65	8,24	15,70	15,41
Std sap.	1,44	1,95	0,55	2,59	0,02

Tablo 4.7. *Beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi*

	SOXHLET	**FOLCH**	**SFE**	**SOĞ. SIKIM**	**ASE**
İnhibisyon (%)*	8,61	19,01	19,66	20,76	19,08
Std sap.	2,35	1,68	1,76	0,80	0,75

4.3.2. Troloksa ekivalent antioksidan kapasite değerleri

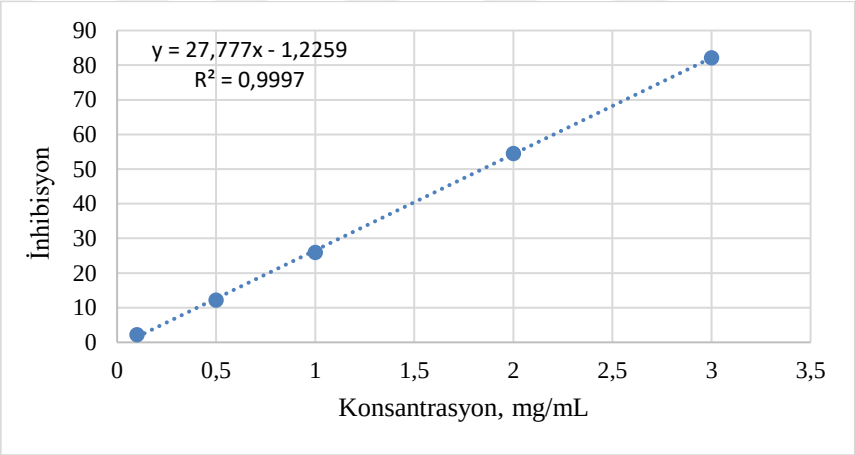
Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin antioksidan kapasitesi ABTS radikalinin süpürülme etkisine göre tespit edilmiş olup numunelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Standart antioksidan bileşiğin (Troloks) kalibrasyon eğrisi, denklem ve R^2 değeri Şekil 4.73'te gösterilmiştir.

Tablo 4.8. *Siyah chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi(mM TE/g_{ekstre})*

	SOXHLET	FOLCH	SFE	S.S.	ASE
TEAC*	7,22	5,98	7,20	10,17	7,56
Std sap.	1,51	0,85	0,82	1,14	0,64

Tablo 4.9. *Beyaz chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi(mM TE/g_{ekstre})*

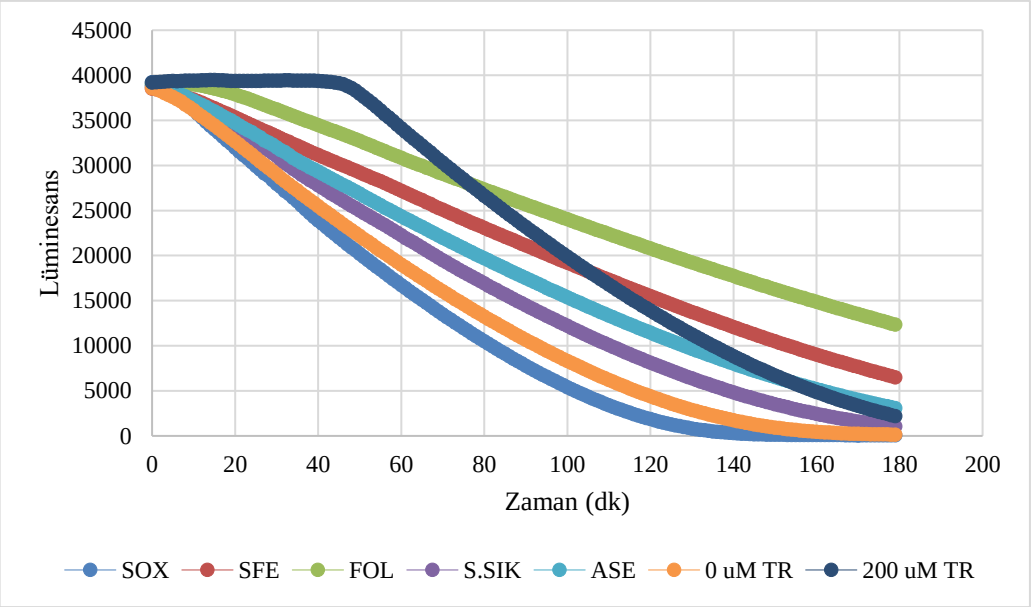
	SOXHLET	FOLCH	SFE	S.S.	ASE
TEAC*	7,30	9,11	6,05	10,06	5,15
Std. Sap.	2,13	1,47	1,19	0,94	0,85



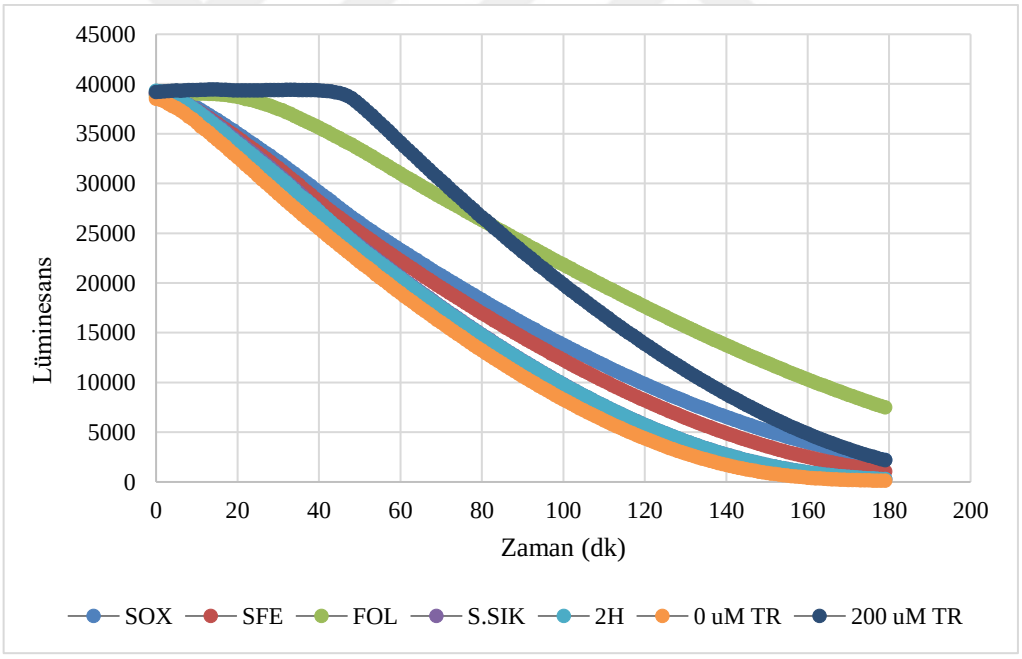
Şekil 4.73. *Troloksun kalibrasyon eğrisi*

4.3.3 Oksijen radikali antioksidan kapasitesi testi sonuçları

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin oksijen radikali absorbans kapasitesi troloksa eşdeğer olarak tespit edilmiş olup sonuçlar Tablo 4.10 ve Tablo 4.11'de verilmiştir. Fluoresein bileşiğinin lüminesans değerlerinin chia tohumu ekstrelerinin etkileriyle zamana karşı değişimi Şekil 4.74 ve Şekil 4.75'te gösterilmiştir.



Şekil 4.74. *Fluoreseinin lüminesans değerlerinin siyah chia tohumu ekstrelerinin etkisi altında zamana karşı değişimi (ORAC testi)*



Şekil 4.75. *Fluoreseinin lüminesans değerlerinin beyaz chia tohumu ekstrelerinin etkisi altında zamana karşı değişimi (ORAC testi)*

Tablo 4.10. *Siyah chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi sonuçları (mmol TE/g_{ekstre})*

	SOXHLET	SFE	FOLCH	SOĞ. SIKIM	ASE
ORAC*	0,052	0,032	0,056	0,049	0,081
Std Sap.	3,437E-06	0,001	0,001	0,004	0,005

Tablo 4.11. *Beyaz chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi sonuçları (mmol TE/g_{ekstre})*

	SOXHLET	SFE	FOLCH	SOĞ. SIKIM	ASE
ORAC*	0,015	0,036	0,107	0,015	0,022
Std Sap.	9,86E-05	0,001	0,002	0,001	0,001

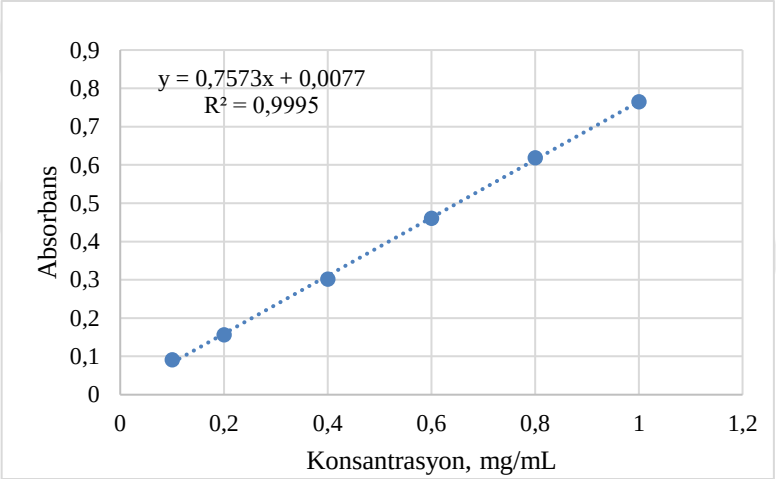
4.4. Toplam Fenol Miktarları

Siyah ve beyaz chia tohumlarından elde edilen metanollü ekstrelerin fenol miktar tayinleri FCR reaktifi kullanılarak belirlenmiştir. Toplam fenol miktarları gallik aside eşdeğer olarak hesaplanmış olup Tablo 4.12' de verilmiştir. Gallik asidin kalibrasyon eğrisi (0 – 1.0 mg/mL) Şekil 4.76'da gösterilmiştir.

Tablo 4.12. *Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam fenol miktarları (mg GAE/g_{ekstre})**

	Siyah chia tohumu	**Beyaz chia tohumu**
Toplam Fenol Miktarı	9,86	12,69
Std sap.	0,78	1,73

*GAE: Gallik aside eşdeğer



Şekil 4.76. *Gallik asidin kalibrasyon eğrisi*

4.5. Toplam Flavonoit Miktarları

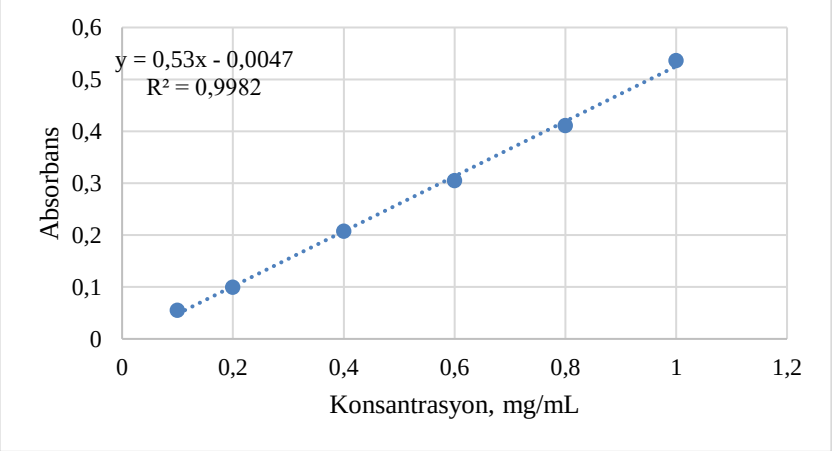
Siyah ve beyaz chia tohumlarının metanollü ekstrelerinin flavonoit miktar tayini rutin ve kersetine eşdeğer olarak $AlCl_3$ reaktifi ile tayin edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.13 ve Tablo 4.14' te verilmiştir. Rutin (0 – 1,0 mg/mL) ve kersetin (0 – 1,0 mg/mL)'in kalibrasyon eğrileri, denklemleri ve R^2 değerleri Şekil 4.77 ve Şekil 4.78'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. *Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam flavonoit miktar tayini (mg RE/mL)*

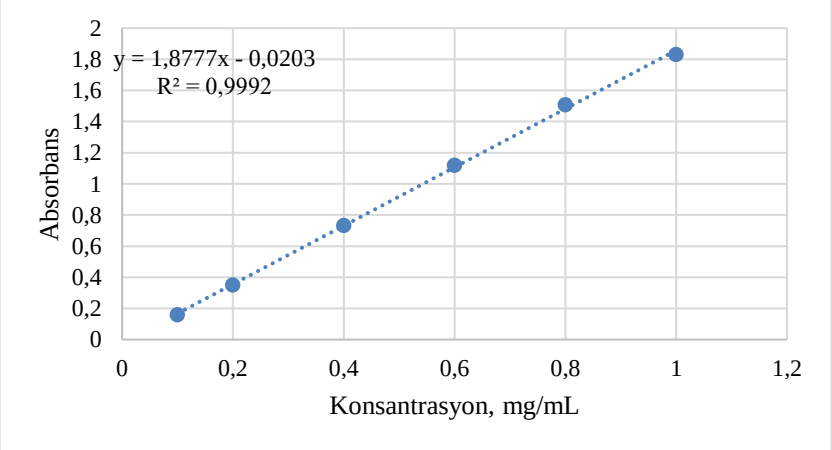
	Siyah chia tohumu	Beyaz chia tohumu
Toplam flavonoit miktarı	0,098	0,099
Std Sap.	0,002	0,004

Tablo 4.14. *Metanollü chia tohumu ekstrelerinin toplam flavonoit miktar tayini (mg QE/mL)*

	Siyah chia tohumu	Beyaz chia tohumu
Toplam flavonoit miktarı	0,034	0,038
Std Sap.	0,001	0,001



Şekil 4.77. *Rutinin kalibrasyon eğrisi*



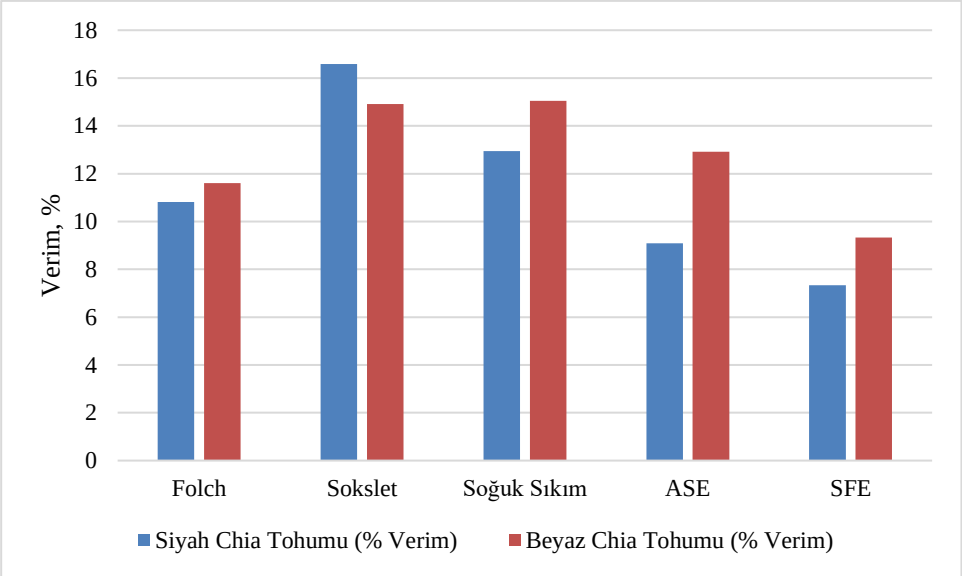
Şekil 4.78. *Kersetinin kalibrasyon eğrisi*

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında *Salvia hispanica* L. bitkisinin siyah ve beyaz tohumları üzerinde farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak verim ve kimyasal kompozisyon açısından değerlendirme yapılmıştır. Piyasada bulunan farklı menşeili siyah ve beyaz chia tohumları son zamanlarda gittikçe yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kaynak taraması sırasında chia tohumları kimyasal profilini rapor eden birçok kaynak bulunmuştur. Ancak Türkiye piyasasında bulunan chia tohumlarını konu alan araştırma sonuçları çok kısıtlı sayıda bulunmuştur. Bu doğrultuda, tez kapsamında Türkiye'de ticari olarak en yaygın bulunan siyah ve beyaz chia tohumları üzerine kimyasal ve biyolojik aktivite özelliklerini araştırmayı hedefleyen çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Chia tohumları konvansiyonel ve modern ekstraksiyon tekniklerine tabi tutularak elde edilen lipitleri kimyasal kompozisyon ve verim açısından değerlendirilmiştir. Genel olarak yağ verimleri % 8 ile % 16 arasında değişmektedir. Beş farklı ekstraksiyon metoduyla elde edilen ekstrelerin verim değerleri kıyaslandığında en yüksek verim siyah tohum için Soxhlet apareyi ile elde edilirken, beyaz tohum için Soğuk Sıkım tekniği ve Soxhlet apareyi ile elde edilmiştir. En düşük verim ise SFE tekniğiyle elde edilen ekstrelerde saptanmıştır. Genel olarak beyaz tohumun verim değerlerinin siyah tohuma göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Verim değerlerinin kıyaslaması Şekil 5.1'de gösterilmiştir.

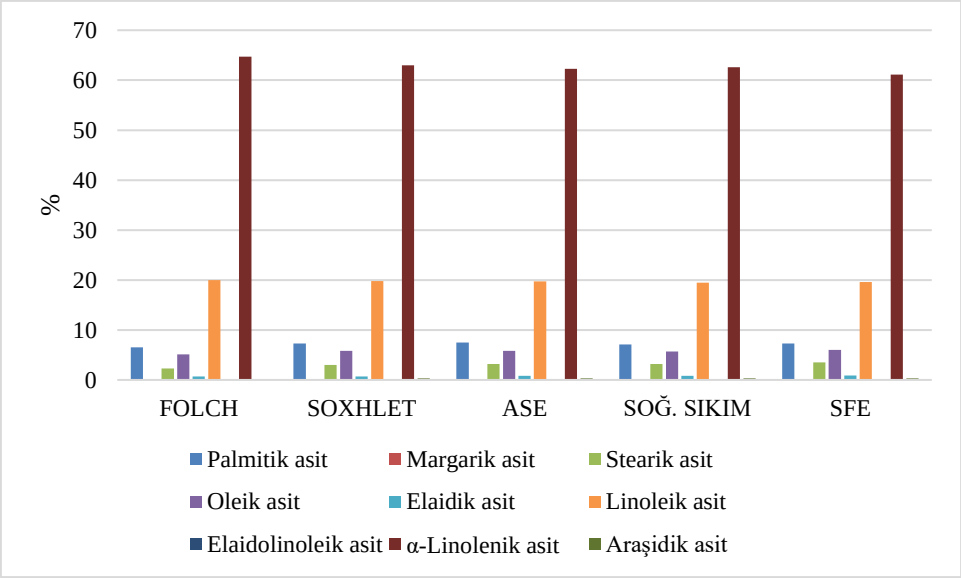
SFE ve ASE tekniklerinde ekstraksiyon şartları optimizasyon yapılmadan literatürdeki benzer çalışmalar baz alınarak seçilmiştir. Sonuçlar sadece o şartlardaki ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak ortaya çıkmıştır. Net olarak bu iki tekniğin diğer tekniklerden daha düşük verime sahip olduğu söylenemez.



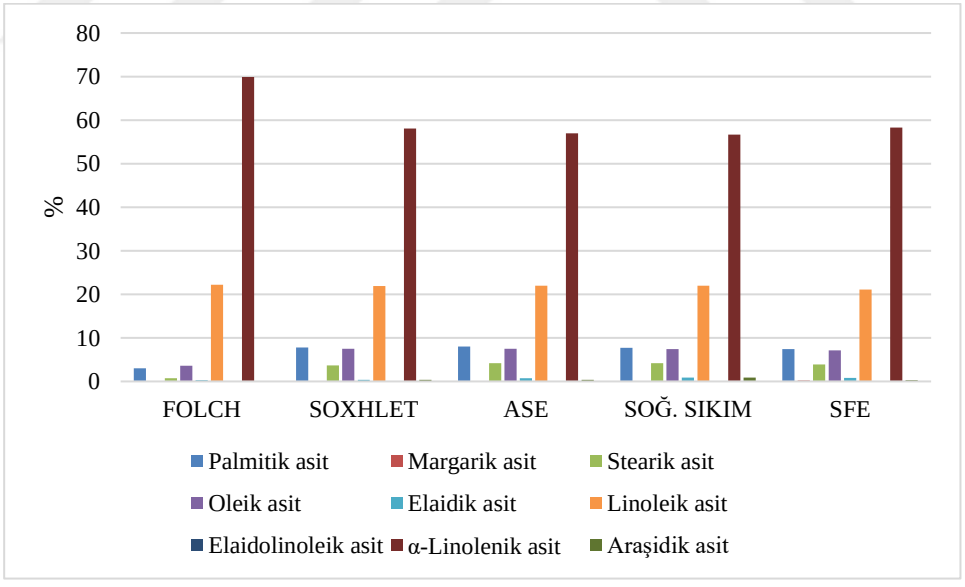
Şekil 5.1. *Siyah ve beyaz chia tohumlarının farklı tekniklerle elde edilen ekstrelerinin verim değerlerinin kıyaslanması*

Ekstrelerin gaz kromatografisi analizi sonuçlarına göre yağın profilini 9 adet yağ asidi oluşturmaktadır. Yağ asitlerinin yüzdeleri; toplam ω-3, toplam ω-6, toplam ω-9 ve toplam doymamış yağ asidi olarak Şekil 5.4' te verilmiştir. Bu sonuçlara göre siyah tohumda temel yağ asitleri olarak α-linolenik asit (% 61,1 - % 64,7) ve linoleik asit (% 19,5 - % 20,0) tespit edilmiştir. Beyaz tohumda temel yağ asitleri olarak α-linolenik asit (% 56,7 - % 69,9) ve linoleik asit (% 21,1 - % 22,2) tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri doymamış yağ asitleri olup ω-3 ve ω-6 olarak da adlandırılır. Ayrıca, ω-9 olarak bilinen oleik asit, siyah tohumda (% 5,1 - % 6,0), beyaz tohumda ise (% 3,6 - % 7,5) arasında bulunmuştur. Doymuş yağ asitleri fraksiyonu her iki tohumda da palmitik, stearik ve araşidik asit ile temsil edilmiştir. Palmitik asit oranı siyah tohumda (% 6,5 - % 7,5), beyaz tohumda ise (% 3,0 - % 8,0) olarak bulunmuştur. Stearik asit oranı siyah tohumda (% 2,3 - % 3,5), beyaz tohumda ise (% 0,7 - % 4,2) olarak tespit edilmiştir. Araşidik asit oranı siyah tohumda (% 0,2 - % 0,3), beyaz tohumda ise (% < 0,1 - % 0,4) olarak saptanmıştır.

Farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen lipitlerin kimyasal profilleri karşılaştırıldığında uygulanan tekniğin kompozisyonları etkilemediği saptanmıştır (Şekil 5.2., Şekil 5.3.). Bu durum hem siyah hem de beyaz chia tohumu için görülmüştür.

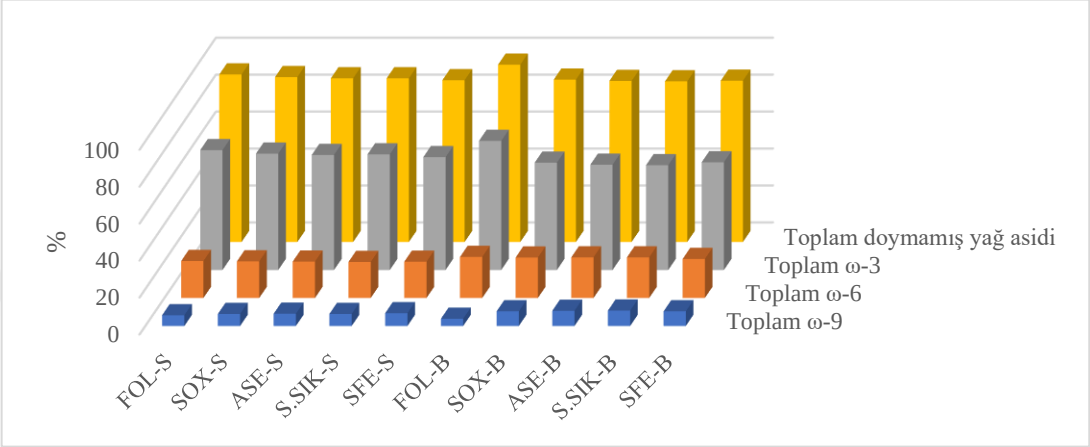


Şekil 5.2. *Farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen siyah chia tohumu lipitlerinin kimyasal profilleri*



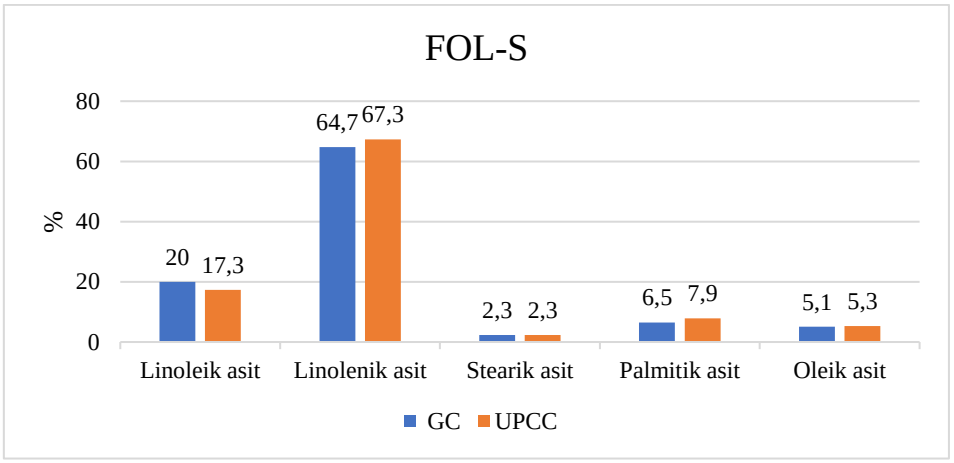
Şekil 5.3. *Farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen beyaz chia tohumu lipitlerinin kimyasal profilleri*

GC/FID-MS tekniğiyle elde edilen sonuçlara göre, toplam yağ asitlerinden doymamış yağ asitlerinin yüzdeleri 87 ile 96 arasında değişmektedir. En düşük yüzde beyaz tohumun soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen ekstresi olurken en yüksek doymamış yağ asidi yüzdesi ise beyaz tohumun Folch metoduyla elde edilen ekstresinde saptanmıştır.

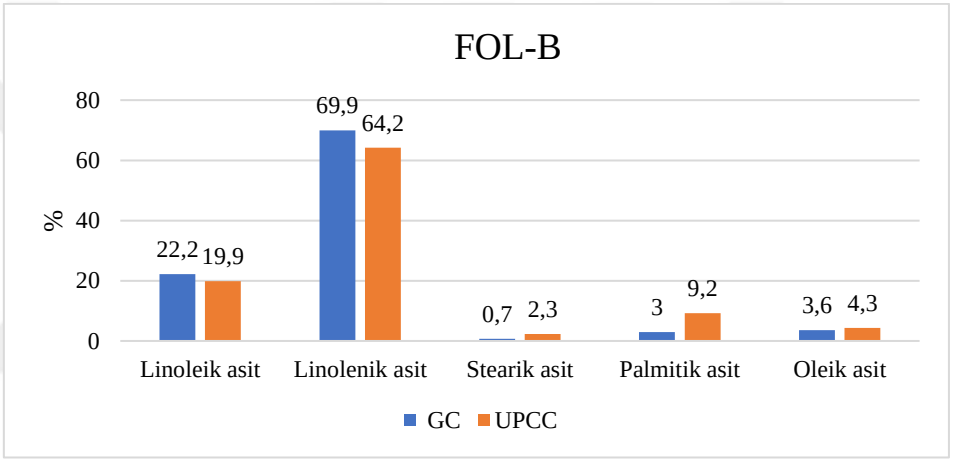


Şekil 5.4. *Siyah ve beyaz chia tohumlarının doymamış yağ asidi miktarları*

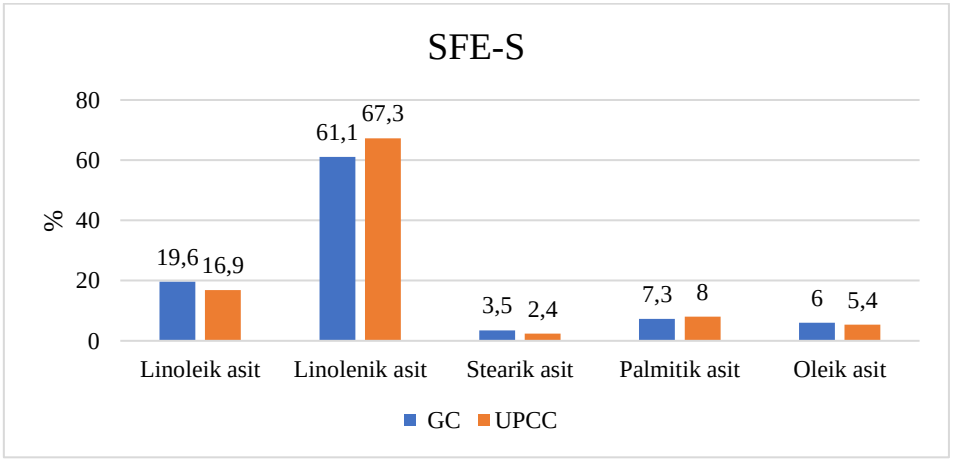
UPC^2 tekniğiyle elde edilen sonuçlara bakıldığında temel yağ asidi bileşiği olarak yine α-linolenik asit ve linoleik asit tespit edilmiştir. Genel olarak UPC^2 sonuçları GC/FID-MS analizlerine benzer olup kayda değer bir fark saptanmamıştır. Bu durum dikkate alındığında UPC^2 tekniğinin GC/FID-MS tekniğine alternatif olabileceğini düşünülmektedir. UPC^2 tekniğindeki analizin GC/FID-MS tekniğinden çok daha kısa sürede (yaklaşık 10 kat) tamamlanması neticesinde avantajlı olduğu görülmektedir. Dolayısıyla analizin maliyeti de önemli ölçüde düşüktür. Ayrıca, bu yöntemin öne çıkan bir diğer özelliği de, numune hazırlama aşamasında türevlendirmeye ihtiyaç duymadan doğrudan analiz edilmesidir. UPC^2 tekniğinin diğer önemli avantajı ise 'green' teknik olmasıdır. Analiz için toksik olmayan ve ucuz çözücü CO_2 kullanılmıştır. Çevreye ve çalışanlara toksik etkisi minimum düzeydedir.



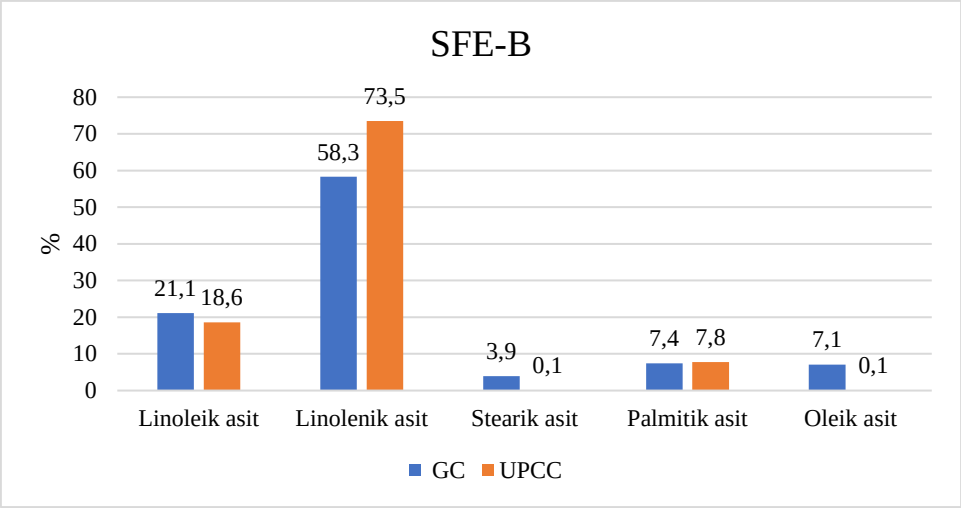
Şekil 5.5. *Folch metoduyla elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*



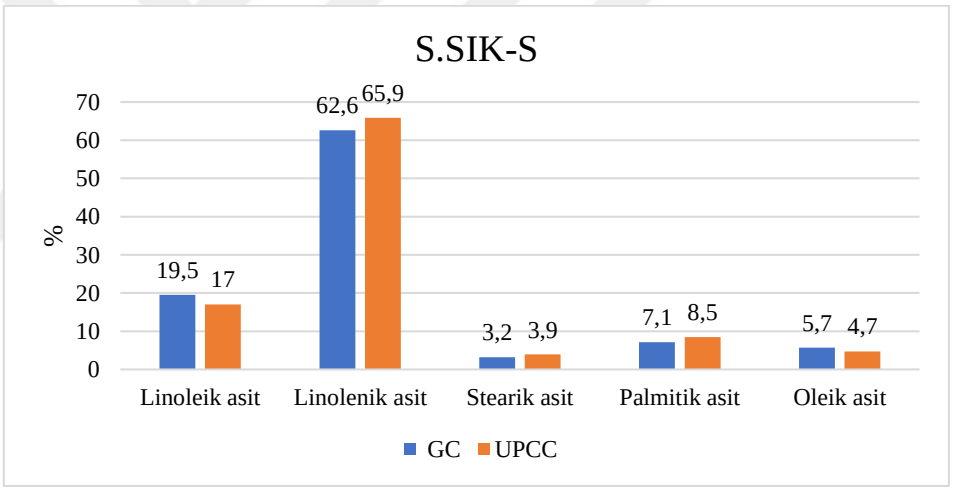
Şekil 5.6. *Folch metoduyla elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*



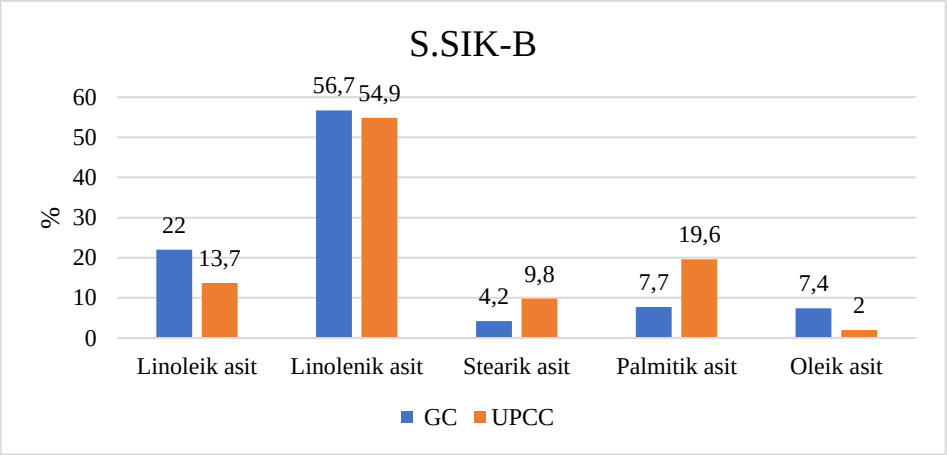
Şekil 5.7. *SFE tekniğiyle elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*



Şekil 5.8. *SFE tekniğiyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*



Şekil 5.9. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen siyah chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*

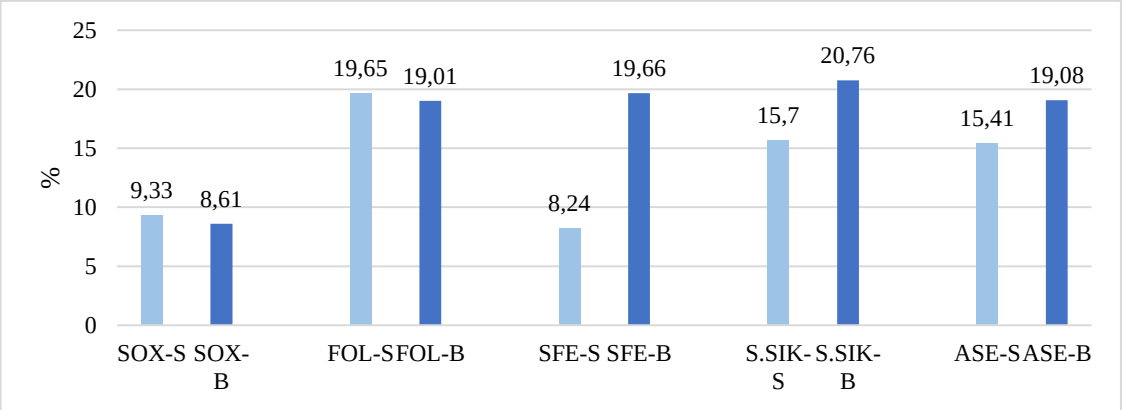


Şekil 5.10. *Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen beyaz chia tohumu ekstresinin yağ asidi kompozisyonları*

Soxhlet ve ASE yöntemleriyle elde edilen lipitlerin UPC[2] analiz sonuçlarında linolenik asit ana bileşik olarak tespit edilmiş olup diğer yağ asitleri (linoleik, stearik, palmitik ve oleik) ise eser miktarda saptanmıştır. Bu sebepten bu bölümde soxhlet ve ASE yöntemiyle elde edilen ekstrelerin yağ asidi kompozisyonlarının grafiksel olarak gösterilmesine gerek duyulmamıştır.

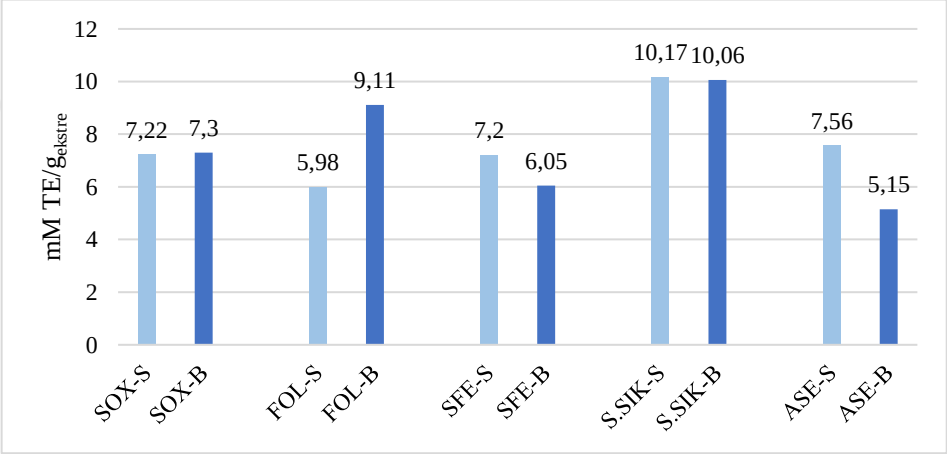
Chia tohumu ekstrelerinin antioksidan özellikleri açısından değerlendirme sonuçları, genel olarak lipitlerin zayıf aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanan siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkilerine bakıldığında, genel olarak beyaz chia tohumunun DPPH radikalini süpürme etkisi siyah tohuma göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, en yüksek aktivite siyah tohum için Folch metoduyla elde edilen ekstrede tespit edilmiştir. Beyaz tohumda ise, en yüksek aktivite soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen ekstrede saptanmıştır (Şekil 5.11).



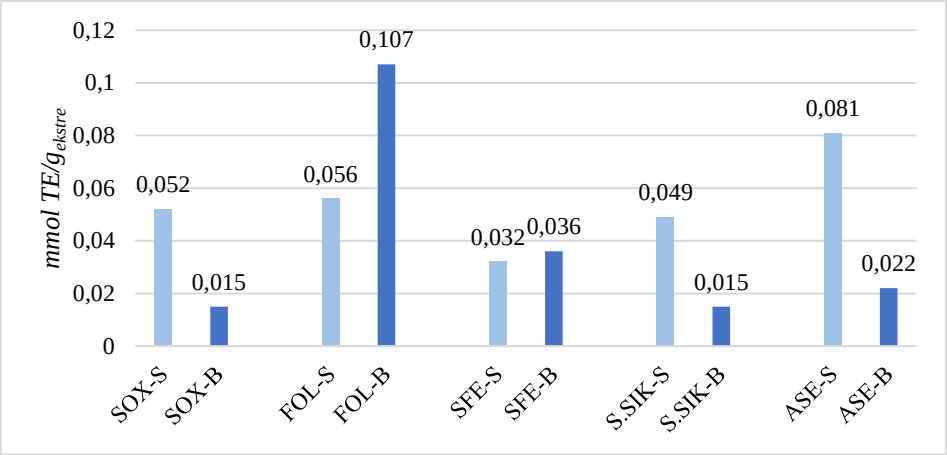
Şekil 5.11. *Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin DPPH radikali süpürme etkisi*

Farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanan siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikalini süpürme etkilerine bakıldığında en yüksek aktivite her iki tohumda da soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen ekstrelerde saptanmıştır. En düşük aktivite ise siyah tohum için Folch metoduyla elde edilen ekstrede, beyaz tohum için ise ASE tekniğiyle elde edilen ekstrede gözlenmiştir (Şekil 5.12).



Şekil 5.12. *Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ABTS radikali süpürme etkisi*

Farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanan siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi ile AAPH radikali süpürme etkileri gözlemlendiğinde en yüksek aktivite siyah tohum için ASE tekniğiyle elde edilen ekstrede teşhis edilirken beyaz tohum için en yüksek aktivite Folch metoduyla elde edilen ekstrede saptanmıştır (Şekil 5.13).



Şekil 5.13. *Siyah ve beyaz chia tohumu ekstrelerinin ORAC testi ile AAPH radikali süpürme etkisi*

Üç farklı antioksidan aktivite test sonuçları kıyaslandığında, DPPH ve TEAC deneylerinde soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen numunelerin en yüksek inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Ancak, ORAC test sonuçlarında ise beyaz tohumun Folch yöntemiyle elde edilen esktresinin en etkin olduğu tespit edilmiştir.

Bir çalışmada chia tohumunun soxhlet tekniğiyle elde edilen *n*-hekzanlı ekstresinde yağ verimi %13,75 olarak bulunmuştur [89]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar neticesinde soxhlet tekniğiyle elde edilen yağ verimleri daha önce yapılan çalışmadan az da olsa yüksek bulunmuştur (% 16,59 - % 14,91).

Söz konusu çalışmada chia tohumunda GC-MS yöntemiyle tespit edilen yağ asitlerinin oranları bu tez kapsamında yapılan çalışmalardaki sonuçlara oldukça yakın değerler ortaya koymaktadır. Ana bileşen olarak tespit edilen α-linolenik asit miktarı önceki çalışmada [89] % 48,2 oranında bulunurken tez kapsamında yapılan çalışma sonucunda α-linolenik asit oranları siyah tohumda % 63 iken beyaz tohumda % 58,3 olarak teşhis edilmiştir.

Yine aynı çalışmada chia tohumundan soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen yağların kompozisyonuna bakıldığında ana bileşik olarak tespit edilen α-linolenik asidin oranı % 56,84'tür [89]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada ise soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen ekstrelerde siyah tohum için α-linolenik asit bileşimi % 62,6 iken beyaz tohum için bu oran % 56,7 olarak bulunmuştur. Diğer yağ asitlerinin oranları arasında dikkate değer bir fark bulunmamaktadır.

Chia tohumunun metanollü ekstresindeki toplam fenol miktar tayini daha önce yapılan bir çalışmada 0,107 mg GAE/mL olarak rapor edilmiştir [90]. Bu tez kaspsamında yapılan çalışmada fenol miktar tayini siyah tohum için 9,86 mg GAE/g ve beyaz tohum için ise 12,69 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir.

Chia tohumunun metanollü ekstresindeki toplam flavonot miktar tayini daha önce yapılan bir çalışmada 0,010 mg RE/g ve 0,044 mg KE/g olarak rapor edilmiştir [90]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada siyah chia tohumu için toplam flavonoit miktarı 0,098 mg RE/mL ve 0,034 KE/mL, beyaz tohum için ise 0,099 RE/mL ve 0,038 KE/mL olarak tespit edilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışma kapsamında, ticari olarak satılan siyah ve beyaz chia tohumu örneklerinin kimyasal profilleri ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir.

- Bu amaçla chia tohumlarından Folch, Soxhlet, ASE, SFE ve soğuk sıkım yöntemleriyle ekstreler elde edilmiş olup kimyasal kompozisyonları GC-FID/MS ve UPC^2 teknikleri ile aydınlatılmıştır.
- Soxhlet tekniğiyle elde edilen ekstreler en yüksek verime sahiptir.
- SFE ve ASE gibi modern ekstraksiyon tekniklerinde seçilen parametreler önceki benzer çalışmalar baz alınarak seçilmiş olup herhangi bir optimizasyon yapılmamıştır. Bu sebeple SFE ve ASE gibi modern yöntemlerin ekstraksiyon verimi olarak net bir şekilde konvansiyonel tekniklerden daha geri olduğu söylenemez.
- Yağların kimyasal profillerinde ana bileşikler olarak α-linolenik asit ve linoleik asit tespit edilmiştir.
- Yağların kimyasal profilinde minör bileşikler olarak oleik asit, palmitik asit, stearik asit ve araşidik asit ile tespit edilmiştir.
- Lipitlerin analizi, UPC^2 tekniği ile ön türevlendirme işlemine gerek kalmaksızın başarı ile gerçekleştirilmiştir.
- Türkiye'de ilk defa UPC^2 tekniğiyle yağ asidi kompozisyon çalışması kantitatif olarak gerçekleştirilmiştir.
- Soğuk sıkım tekniğiyle elde edilen lipitlerin DPPH ve TEAC testlerinde en yüksek inhibisyon etkisini gösterdiği tespit edilmiştir. ORAC testinde ise Folch metoduyla elde edilen lipitler en yüksek aktiviteyi ortaya koymuştur.
- Bu tez kapsamında, chia tohumu üzerinde kapsamlı ekstraksiyon çalışmaları ve fitokimyasal araştırmalar gerçekleştirilmiştir.
- Bu çalışma, chia tohumu üzerine ileride yaapılacak olan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarına ışık tutacaktır.

KAYNAKÇA

[1]. Fernandez, I., Vidueiros, S.M., Ayerza, R., Coates, W., and Pallaro, A., (2008).Impact of chia (*Salvia hispanica* L.) on the immune system: preliminary study. *P. Nutr. Soc.* 67(OCE).

[2]. Mazza, M., Pomponi, M., Janiri, L., Bria, P., and Mazza, S., (2007).Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 31(1), 12-26.

[3]. Seçmen, Ö., (2004).*Tohumlu Bitkiler Sistematiği*.Turkey: Nadir Kitap.

[4]. Davis, P., (1984).*Flora of Turkey*: Edinburgh University Press.

[5]. Bochicchio, R., Philips, T.D., Lovelli, S., Labella, R., Galgano, F., Di Marisco, A., Perniola, M., and Amato, M., (2015).Innovative crop productions for healthy food: the case of chia (Salvia hispanica L.). *The sustainability of agro-food and natural resource systems in the Mediterranean Basin*, 29-45.

[6]. Delamare, A.P.L., Moschen-Pistorello, I.T., Artico, L., Atti-Serafini, L., and Echeverrigaray, S., (2007).Antibacterial activity of the essential oils of Salvia officinalis L. and Salvia triloba L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.* 100(2), 603-608.

[7]. Ayerza, R. and Coates, W., (1996).New industrial crops: Northwestern Argentina regional project.

[8]. Rulfo, J., (1937).La chía. *Agricultura*. 1, 28-37.

[9]. Zavalía, R.L., Alcocer, M.G., Fuentes, F.J., Rodríguez, W.A., Morandini, M., and Devani, M.R., (2010).Desarrollo del cultivo de chía en Tucumán, Republica Agentina. *EEAOC-Av. Agroindustrial*. 32, 27-30.

[10]. Sosa, A., Ruiz, G., Rana, J., Gordillo, G., West, H., Sharma, M., and Liu, X., (2016).Chia crop (Salvia hispanica L.): its history and importance as a source of polyunsaturated fatty acids omega-3 around the world: a review. *J Crop. Res. Fert.* 1, 1-9.

[11]. Sapio, O.d., Bueno, M., Busilacchi, H., Quiroga, M., and Severin, C., (2012).Morphoanatomical characterization of Salvia hispanica L.(Lamiaceae) leaf, stem, fruit and seed. *B. Latinoam. Caribe Pl.* 11(3), 249-268.

[12]. Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., and Valdivia-López, M., (2008).Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds. *Food Chem.* 107(2), 656-663.

[13]. Ayerza, R., (2013).Seed composition of two chia (Salvia hispanica L.) genotypes which differ in seed color. *Emir. J. Food Agr.* 25(7).

[14]. Muñoz, L.A., Cobos, A., Diaz, O., and Aguilera, J.M., (2013).Chia Seed (Salvia hispanica): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Rev. Int.* 29(4), 394-408.

[15]. da Silva, B.P., Anunciação, P.C., da Silva Matyelka, J.C., Della Lucia, C.M., Martino, H.S.D., and Pinheiro-Sant'Ana, H.M., (2017).Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food Chem.* 221, 1709-1716.

[16]. Sandoval-Oliveros, M.R. and Paredes-López, O., (2012).Isolation and characterization of proteins from chia seeds (Salvia hispanica L.). *J. Agr. Food Chem.* 61(1), 193-201.

[17]. Steele, E.M., Baraldi, L.G., da Costa Louzada, M.L., Moubarac, J.-C., Mozaffarian, D., and Monteiro, C.A., (2016).Ultra-processed foods and added sugars in the US diet: evidence from a nationally representative cross-sectional study. *BMJ open.* 6(3), e009892.

[18]. Bodoira, R.M., Penci, M.C., Ribotta, P.D., and Martínez, M.L., (2017).Chia (Salvia hispanica L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT.* 75, 107-113.

[19]. Muñoz Hernández, L., (2012).Mucilage from chia seeds (Salvia hispanica): microestructure, physico-chemical characterization and applications in food industry.

[20]. Chicco, A.G., D'Alessandro, M.E., Hein, G.J., Oliva, M.E., and Lombardo, Y.B., (2008).Dietary chia seed (Salvia hispanica L.) rich in α-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Brit. J. Nutr.* 101(1), 41-50.

[21]. Kačmárová, K., Lavová, B., Socha, P., and Urminská, D., (2016).Characterization of protein fractions and antioxidant activity of Chia seeds (Salvia hispanica L.). *Potravinarstvo.* 10(1), 78-82.

[22]. Vuksan, V., Whitham, D., Sievenpiper, J.L., Jenkins, A.L., Rogovik, A.L., Bazinet, R.P., Vidgen, E., and Hanna, A., (2007).Supplementation of

conventional therapy with the novel grain Salba (Salvia hispanica L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 30(11), 2804-2810.

[23]. Lee, A., *The Effects of Salvia hispanica L.(Salba) on Postprandial Glycemia and Subjective Appetite*. 2009.

[24]. Vuksan, V., Choleva, L., Jovanovski, E., Jenkins, A., Au-Yeung, F., Dias, A., Ho, H., Zurbau, A., and Duvnjak, L., (2017).Comparison of flax (Linum usitatissimum) and Salba-chia (Salvia hispanica L.) seeds on postprandial glycemia and satiety in healthy individuals: a randomized, controlled, crossover study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 71(2), 234.

[25]. Vuksan, V., Jenkins, A., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Gibbs, A., Bazinet, R., Au-Yeung, F., Zurbau, A., and Ho, H., (2017).Salba-chia (Salvia hispanica L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutr. Metabolism*. 27(2), 138-146.

[26]. Vuksan, V., Jenkins, A.L., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Gibbs, A.L., Bazinet, R.P., Au-Yeung, F., Zurbau, A., Ho, H.V., Duvnjak, L., Sievenpiper, J.L., Josse, R.G., and Hanna, A., (2017).Salba-chia (Salvia hispanica L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Bibl. Nutr. Diet*. 27(2), 138-146.

[27]. MEB, (2015).*Gıda Teknolojisi*.Ankara: Milli Eğitim Bakanlığı.

[28]. Korkmaz, H., (2012).*Biyokimya Ders Kitabı*.Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi.

[29]. Beare-Rogers, J., Dieffenbacher, A., and Holm, J., (2001).Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 73(4), 685-744.

[30]. Narayanan, T.S., Park, I.-S., and Lee, M.-H., *Surface modification of magnesium and its alloys for biomedical applications: opportunities and challenges*, in *Surface Modification of Magnesium and its Alloys for Biomedical Applications*. 2015, Elsevier. p. 29-87.

[31]. Kreisl, W.C., Lyoo, C.H., Liow, J.-S., Wei, M., Snow, J., Page, E., Jenko, K.J., Morse, C.L., Zoghbi, S.S., and Pike, V.W., (2016).11C-PBR28 binding to translocator protein increases with progression of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 44, 53-61.

[32]. Lopez-Ferrer, S., Baucells, M., Barroeta, A., and Grashorn, M., (1999).n-3 enrichment of chicken meat using fish oil: alternative substitution with rapeseed and linseed oils. *Poultry Sci.* 78(3), 356-365.

[33]. Sarıca, Ş., (2003).Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine etkileri ve tavuk etinin omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmesi. *Hayvansal üretim*. 44(2).

[34]. Ciftci, O.N., Przybylski, R., and Rudzińska, M., (2012).Lipid components of flax, perilla, and chia seeds. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 114(7), 794-800.

[35]. Taga, M.S., Miller, E., and Pratt, D., (1984).Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61(5), 928-931.

[36]. Whelan, J. and Fritsche, K., (2013).Linoleic acid. *Adv. Nutr.* 4(3), 311-2.

[37]. Harris, W.S., Mozaffarian, D., Rimm, E., Kris-Etherton, P., Rudel, L.L., Appel, L.J., Engler, M.M., Engler, M.B., and Sacks, F., (2009).Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 119(6), 902-907.

[38]. Blasbalg, T.L., Hibbeln, J.R., Ramsden, C.E., Majchrzak, S.F., and Rawlings, R.R., (2011).Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *Am. J. Clin. Nutr.* 93(5), 950-962.

[39]. Hernandez, E.M., (2016).Specialty Oils. 69-101.

[40]. Fuster, M.D., Lampi, A.-M., Hopia, A., and Kamal-Eldin, A., (1998).Effects of α-and γ-tocopherols on the autooxidation of purified sunflower triacylglycerols. *Lipids*. 33(7), 715-722.

[41]. Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V., and Etherton, T.D., (1999).High–monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 70(6), 1009-1015.

[42]. Yu, L.L., Zhou, K.K., and Parry, J., (2005).Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. *Food chem.* 91(4), 723-729.

[43]. Yur, S., *Tanacetum haussknechtii (BORNM.) Grierson Uçucu Yağının Kimyasal, Enantiomerik ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması, Yüksek lisans tezi.* 2016: Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[44]. Kellner, R., Mermet, J.-M., Otto, M., Valcarcel, M., and Widmer, H.M., (2004).*Analytical chemistry: a modern approach to analytical science*: Wiley-Vch Weinheim.

[45]. Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L., Porter, N.L., Avdalovic, N., and Pohl, C., (1996).Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Anal. Chem.* 68(6), 1033-1039.

[46]. Möckel, H., Welter, G., and Melzer, H., (1987).Correlation between reversed-phase retention and solute molecular surface type and area: I. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes. *J. Chromatogr. A.* 388, 255-266.

[47]. Reverchon, E., Donsi, G., and Sesti Osseo, L., (1993).Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32(11), 2721-2726.

[48]. Thiébaut, D. and Caude, M., (1999).*Practical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*: Harwood Academic Publishers.

[49]. Percival, M., (1996).Antioxidants. *Clin. Nutr. Ins.* 1, 1-6.

[50]. Linus Opara, U. and Al-Ani, M.R., (2010).Antioxidant contents of pre-packed fresh-cut versus whole fruit and vegetables. *Brit. Food J.* 112(8), 797-810.

[51]. Ames, B.N., Gold, L.S., and Willett, W.C., (1995).The causes and prevention of cancer. *P. Natl. A. Sci.* 92(12), 5258-5265.

[52]. Ramamoorthy, P.K. and Bono, A., (2007).Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of Morinda citrifolia fruit extracts from various extraction processes. *J. Eng. Sci.* 2(1), 70-80.

[53]. Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., and Heinonen, M., (1999).Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agr. Food Chem.* 47(10), 3954-3962.

[54]. Serafini, M., Maiani, G., and Ferro-Luzzi, A., (1998).Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr.* 128(6), 1003-1007.

[55]. Carbonneau, M.A., Léger, C.L., Descomps, B., Michel, F., and Monnier, L., (1998).Improvement in the antioxidant status of plasma and low-density lipoprotein in subjects receiving a red wine phenolics mixture. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75(2), 235-240.

[56]. Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L., (2005).The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agr. Food Chem.* 53(6), 1841-1856.

[57]. Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., and Milner, A., (1993).A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84(4), 407-412.

[58]. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C., (1999).Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26(9-10), 1231-1237.

[59]. Foti, M.C., Daquino, C., and Geraci, C., (2004).Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *J. Org. Chem.* 69(7), 2309-2314.

[60]. Molyneux, P., (2004).The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26(2), 211-219.

[61]. Prior, R.L. and Cao, G., (2000).Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *J. Aoac Int.* 83(4), 950-956.

[62]. Cao, G. and Prior, R.L., (1998).Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin. Chem.* 44(6), 1309-1315.

[63]. Cao, G., Alessio, H.M., and Cutler, R.G., (1993).Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Bio. Med.* 14(3), 303-311.

[64]. Cao, G. and Prior, R.L., *[5] Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 50-62.

[65]. Naguib, Y.M., (2000).A fluorometric method for measurement of oxygen radical-scavenging activity of water-soluble antioxidants. *Anal. Biochem.* 284(1), 93-98.

[66]. Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K., (2002).Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β-cyclodextrin as the solubility enhancer. *J. Agr. Food Chem.* 50(7), 1815-1821.

[67]. Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Prior, R.L., (2002).High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agr. Food Chem.* 50(16), 4437-4444.

[68]. Blois, M.S., (1958).Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617), 1199.

[69]. Aruoma, O.I. and Cuppett, S.L., (1997).*Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts*: The American Oil Chemists Society.

[70]. Sánchez-Moreno, C., (2002).Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Technol. Int.* 8(3), 121-137.

[71]. Folch, J., Lees, M., and Stanley, G.S., (1957).A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1), 497-509.

[72]. Godswill, N.-N., Frank, N.-E.G., Edson, M.-Y.J., Emmanuel, Y., Martin, B.J., Hermine, N.-B., Kingsley, T.-M., Constant, L.-L.-N.B., and Armand, N.-M., (2014).GC-FID method development and validation parameters for analysis of palm oil (Elaeis guineensis Jacq.) fatty acids composition. *Res. Plant Sci.* 2(3), 53-66.

[73]. Yur, S., Tekin, M., Göger, F., Başer, K.H., Özek, T., and Özek, G., (2017).Composition and potential of Tanacetum haussknechtii Bornm. Grierson as antioxidant and inhibitor of acetylcholinesterase, tyrosinase, and α-amylase enzymes. *Int. J. Food Prop.* 20(sup3), S2359-S2378.

[74]. Johnson, L.A. and Lusas, E., (1983).Comparison of alternative solvents for oils extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60(2Part1), 229-242.

[75]. Virot, M., Tomao, V., Ginies, C., and Chemat, F., (2008).Total lipid extraction of food using d-limonene as an alternative to n-hexane. *Chromatographia*. 68(3-4), 311-313.

[76]. Giergielewicz-Możajska, H., Dąbrowski, Ł., and Namieśnik, J., (2001).Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples—some aspects of theory and practice. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31(3), 149-165.

[77]. Guindani, C., Podesta, R., Block, J.M., Rossi, M.J., Mezzomo, N., and Ferreira, S.R.S., (2016).Valorization of chia (Salvia hispanica) seed cake by means of supercritical fluid extraction. *J. Supercrit. Fluid*. 112, 67-75.

[78]. Morrison, W.R. and Smith, L.M., (1964).Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol. *J. Lipid Res.* 5(4), 600-608.

[79]. Orhan, N., Damlaci, T., Baykal, T., Özek, T., and Aslan, M., (2015).Hypoglycaemic effect of seed and fruit extracts of laurel cherry in different experimental models and chemical characterization of the seed extract. *Rec. Nat. Prod.* 9(3), 379.

[80]. Özek, G., Tekin, M., Haliloğlu, Y., Başer, K.H.C., and Özek, T., (2018).Chemical Compositions of Achillea sivasica: Different Plant Part Volatiles, Enantiomers and Fatty Acids. *Rec. Nat. Prod.* 12(2), 142.

[81]. Yang, J. and Isaac, G., (2013).Characterization of Triacylglycerols in Edible Oils Using the ACQUITY UPC2 System and Mass Spectrometry. *Waters Technology Brief 720004809en*.

[82]. Sharma, O.P. and Bhat, T.K., (2009).DPPH antioxidant assay revisited. *Food chem.* 113(4), 1202-1205.

[83]. van den Berg, R., Haenen, G.R., van den Berg, H., and Bast, A., (1999).Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* 66(4), 511-517.

[84]. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., and Özyurt, D., (2007).Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*. 12(7), 1496-1547.

[85]. Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., and Merillon, J.-M., (2009).Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agr. Food Chem.* 57(5), 1768-1774.

[86]. Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M., *[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 152-178.

[87]. Akkol, E.K., Göger, F., Koşar, M., and Başer, K.H.C., (2008).Phenolic composition and biological activities of Salvia halophila and Salvia virgata from Turkey. *Food Chem.* 108(3), 942-949.

[88]. Miliauskas, G., Venskutonis, P., and Van Beek, T., (2004).Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chem.* 85(2), 231-237.

[89]. Güler Çelik, Z., *Sağlıklı Beslenmede Kullanılan Bazı Tohumların Sabit Yağlarının Mukayeseli Fitokimyasal Analizi, Yüksek Lisans Tezi.* 2017: Bezmialem Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

[90]. Doğan, H., *Salvia hispanica L. Tohumlarının Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi.* 2019: Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

http-1: http://www.theplantlist.org/

6. ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı	:Yasin DARI
Doğum Tarihi ve Yeri	:24.03.1991, Şişli
Uyruğu	:T.C.
Medeni Durumu	:Bekar
İletişim Adresi	:Batıkent Mah. Çaykara Sok. No:1/7 Tepebaşı/Eskişehir
E-posta	:yasindari@gmail.com
Telefon	:+90 542 845 03 24

Eğitim Durumu

İlköğretim	:Harbiye İlköğretim Okulu (1996-2004)
Ortaöğretim	:Şişli Anadolu Lisesi (2004-2008)
Lisans	:Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi (2008-2013)
Lisansüstü	:Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2017-2020)
Yabancı Dil	:İngilizce