

Mısır Ununda Karotenoid Analizi İçin Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Oğuz Ordu¹, Cem Ömer Egesel^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü

03.04.2019 Geliş/Received, 22.05.2019 Kabul/Accepted

Özet

Mısır tanesinde bulunan karotenoidlerin insan sağlığı üzerine olan etkileri birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Yağda çözülebilen bileşikler olan karotenoidlerin mısır tohumundaki miktarının tespiti için farklı yöntemlerden faydalanılmaktadır. Yöntemler arasında farklılık oluşturan en önemli etkenin ekstraksiyon prosedürü olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma üç farklı yağ ekstraksiyon yönteminin mısırdaki karotenoid içeriğini tespit etmeye yönelik yapılan analiz sonuçlarına etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada bitkisel materyal olarak 150 farklı mısır genotipi değerlendirmeye alınmıştır. Ekstraksiyon yöntemi olarak Soxhlet (sıcak ekstraksiyon), soğuk (solvent) ekstraksiyon ve doğrudan ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemler ile elde edilen yağların karotenoid içeriği tespiti UV-Spektrofotometre cihazı ile 450 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Yöntemlere ait ortalamalar Kruskal-Wallis testi ile kıyaslanmış ve analiz sonuçları arasındaki ilişkiler basit doğrusal regresyon analizi ile incelenmiştir. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen yağlar karotenoid içerikleri bakımından diğer yöntemlerden daha yüksek değerler vermiştir. Regresyon analizi sonuçlarına göre yağ oranı için Soxhlet ekstraksiyonu ve soğuk ekstraksiyon ile elde edilen sonuçlar arasında doğrusal ve yüksek önemli bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Karotenoid içeriği bakımından karşılaştırılan bu üç yöntem arasındaki regresyon katsayılarının oldukça düşük çıktığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen yağlar üzerinden yapılan analizler sonucu bulunan değerlerin karotenoid içeriği tahminlerinde birbirleri yerine kullanılmasının doğru olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: UV-spektrofotometre, antioksidan, *Zea mays*, soxhlet, yağ oranı.

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Cem Ömer Egesel

(e-posta:cegesel@comu.edu.tr)

Bu makale Oğuz Ordu'nun tezi kapsamında yazılmıştır.

ÇOMÜ BAP Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje numarası: FYL-2017-1262

Yüksek Lisans tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyal ve bunlara ait yağ oranları verileri TÜBİTAK 2150867 no'lu projeden temin edilmiştir.

Comparison of Different Extraction Methods for Carotenoid Analysis in Maize Flour

Abstract

Health benefits of carotenoids embedded in maize kernel have been shown with numerous studies. Different methods are utilized for the analysis of carotenoids that are fat-soluble compounds of maize kernel. It is thought that extraction procedure is the key element resulting in variation among different methods. This study was carried out to determine the effects of three different extraction methods on the results of analyses performed to quantify carotenoid contents in maize. 150 different maize genotypes were used as plant material in the study. Soxhlet (hot extraction), cold (solvent) extraction, and direct extraction methods were used as the extraction treatments. The oil samples extracted with these methods were analyzed with UV-Spectrophotometer, at a wavelength of 450 nm for the estimation of carotenoids. The means from the extraction methods were compared by Kruskal-Wallis test and the relationships among the analysis results were investigated with simple linear regression analysis. The oil samples extracted with Soxhlet method yielded higher values for carotenoids as compared to the other methods. According to the regression analysis, there was a linear and highly significant relation for oil ratio between Soxhlet and cold extraction results. For carotenoids, the regression coefficients among the three methods came out to be rather low. These results indicate that the values acquired from the analyses on oil samples obtained with different extraction methods do not provide operational interchangeability in carotenoid analyses.

Keywords: UV-spectrophotometry, antioxidant, *Zea mays*, soxhlet, oil ratio.

1. Giriş

Ülkemizde endüstriyel tarım ürünleri içinde önemli bir konumda bulunan mısırın ekonomideki payı gittikçe artmaktadır (Turgut ve ark.,1997). Mısır tanesi genel olarak içeriğindeki %70'e varan orandaki nişasta için yetiştiriliyor olsa da, ıslah çalışmaları ile birçok farklı kullanım amacına hizmet eden önemli bir tarımsal ürün durumuna gelmiştir. Mısır embriyosu, bileşenleri bakımından endosperme göre oldukça farklı ve zengin bir içeriğe sahiptir. Tane genelinde çoğunlukla %4-7 arasında değişen yağın depo yeri embriyodur (Koçak, 1987; Kırtok, 1998). Tanesinde %7'nin üzerinde yağ içeren mısırlar "yüksek yağlı mısır" olarak tanımlanırlar (Lambert, 1994). Mısır yağı son dönemlerde çok talep edilen bir bitkisel yağ olarak karşımıza çıkmaktadır. Mısır tanesinde nişasta, yağ ve protein gibi majör bileşenlerin yanında gitgide önem kazanan bazı minör bileşenler de bulunmaktadır. A vitamini ön maddesi olan karotenoidler bu bileşenlerdendir. Bunlar, bitkisel ve hayvansal materyallere sarıdan turuncuya çeşitli tonlarda renk veren ve yağda çözünür özellik gösteren bileşikler olup dokuz veya daha fazla konjuge çift bağ içeren 40 karbon atomundan meydana gelen yapılardır (Cemeroğlu, 2013; Koca ve Karadeniz, 2005). Karotenoid formlarının uzamış konjuge bağları ve elementel yapıları onların renklerini belirler ve biyolojik aktiviteleri ile antioksidan kapasitelerini ortaya koyar (Egesel, 2001). Karotenoidlere A vitamini öncü maddesi olmanın yanı sıra, hücreler arası boşlukta iletişimi geliştirme, bağışıklık sistemini güçlendirme, görme fonksiyonlarına önemli etkide bulunma ve antioksidan aktivite gösterme gibi insan sağlığı açısından önemli diğer bazı özellikler de atfedilmektedir (Murakami ve ark., 2000). Hayvanlar üzerinde yapılan deneyler karotenoidlerin antioksidan özelliklerinin, DNA'ya zarar veren ve kanserin henüz başlangıç aşamasında etkili olan serbest radikallerin

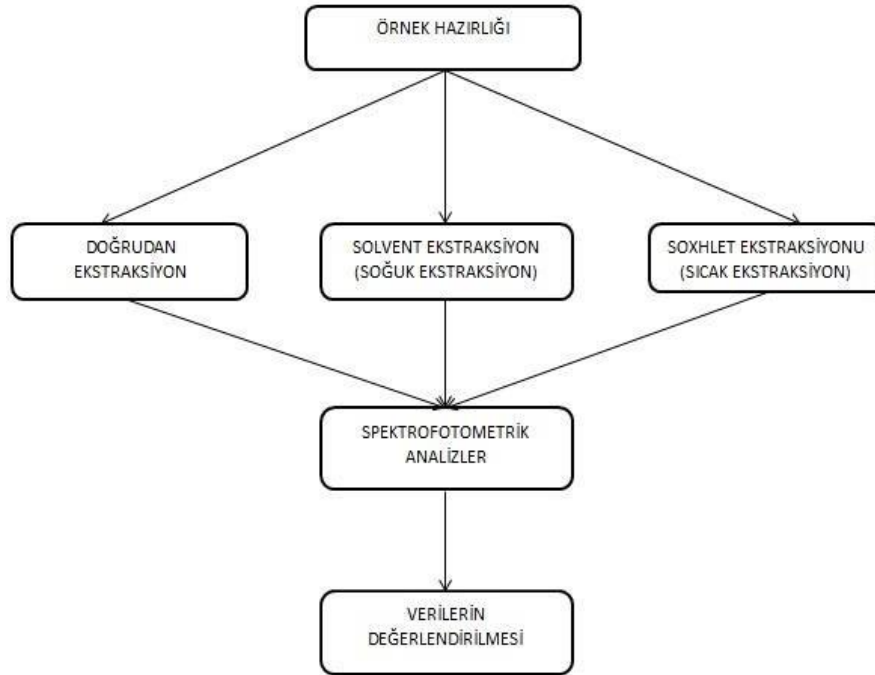
etkisini ve dolayısıyla kanser hücrelerinin oluşmasına neden olan zincir reaksiyonları önlediğini göstermektedir (Ötleş ve Atlı, 1997). Mısır tanesinde bulunan karotenoidlerin insan sağlığı açısından önemi birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Patil ve ark., 2009; Cuong ve ark., 2017). Mısırdaki karotenoid bileşenlerinin analizi için farklı yöntemlerden faydalanılmaktadır. Bu yöntemlerde karotenoidler genellikle öğütülmüş numuneden doğrudan ekstrakte edilerek miktar tayini gerçekleştirilmektedir. Yağda çözünen bu bileşenlerin yağ içerisindeki miktarları ile doğrudan ekstraksiyon ile elde edilen miktarları arasında farklılıklar olabilir. Ayrıca yağın öğütülmüş numuneden ayrılması için uygulanan yöntemin de (sıcak veya soğuk ekstraksiyon) uygulama şartları bakımından bu bileşenlerin miktarına etkisi olabilir. Yağ asitleri gibi farklı bileşenlerin analizinde ekstraksiyon yönteminin etkisi incelenmiş ve yöntemlere göre önemli değişimlerin olduğu saptanmıştır (Maurer ve ark., 2014). Karotenoidlerin farklı solventler kullanılarak yapılan analizlerdeki değişimleri de araştırılmıştır (Rutkowski ve Grzegorzcyk, 2007). Bitkisel ürünlerde çok küçük konsantrasyonlarda mevcut olması, birçok farklı izomer halinde bulunabilmesi ve bitkiden bitkiye ciddi varyasyon gösterebilmesi gibi sebeplerle karotenoid analizi oldukça zor bir analiz olarak düşünülebilir. Analiz hassasiyeti açısından değerlendirildiğinde kromatografik yöntemlerden kaynaklanan hataların nispeten düşük olduğu, asıl farklılık yaratan etkenin tercih edilen ekstraksiyon yöntemi olduğu önerilmektedir (Howe ve Tanumihardjo, 2006). Potansiyel kullanıma sahip ekstraksiyon yöntemlerini tek bir genotip seti üzerinde karşılaştırmalı olarak ele alan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Farklı yöntemlere ait sonuçların birbirleri ile olan ilişkisi incelenerek özel şartlara daha uygun olabilecek ekstraksiyon yöntemlerinin tespiti ve sonuçların birbiri üzerinden tahmini mümkün olabilir. Bu noktadan hareketle bu çalışmanın amacı; üç farklı ekstraksiyon yönteminin (sıcak, soğuk ve doğrudan ekstraksiyon) mısırdaki karotenoid içeriğini tespit etmeye yönelik yapılan analiz sonuçlarına etkisini belirlemek, farklı örneklerden alınan sonuçlar arasındaki ilişkileri inceleyerek ekstraksiyon yöntemlerinin bir diğerini ikame edebilme imkânlarını irdelemektir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak 150 farklı mısır genotipi kullanılmıştır. Bu genotipler; Karadeniz bölgesinden toplanmış olan 50 adet köy popülasyonu, ÇOMÜ Ziraat Fakültesi'nde yürütülen ıslah çalışmalarından sağlanan ve biyokimyasal içerik bakımından varyasyon gösteren 80 farklı durulmuş hat ve hibrit ile ülkemizde ticari amaçlı yetiştiriciliği yapılan atdışi ve sert tane yapısına sahip 20 hibrit çeşitten oluşmuştur. Çalışmaya materyal teşkil eden genotip örnekleri Şekil 2.1'de şematize edilen adımlar ile analiz edilmiştir. Örnek hazırlığı aşamasında temizlenen yaklaşık 50 gr tane laboratuvar tipi değirmende (Fritsch, pulverisette 14, Almanya) 0,5 mm'lik elek ile öğütülerek analizlere hazırlanmıştır.

Şekil 2.1. Karotenoid analizleri için kullanılan yöntemlerde izlenen temel adımlar



2.2. Yöntem

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri

Öğütülen örnekler sıcak ekstraksiyon (Soxhlet yöntemi), soğuk (solvent) ekstraksiyon ve doğrudan ekstraksiyon olmak üzere üç farklı yağ çıkarma yöntemine tabi tutulmuştur.

Isıl işlem ile yağ ekstraksiyonu Soxhlet yöntemi ile AOAC (2005) metoduna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre 10 gr öğütülmüş numune, kartuşlara konulup 180 mL dietil eter ilave edilerek 6 saat boyunca Soxhlet cihazında bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında ham yağ + çözücü karışımı döner evaporatörde 40 °C’de ayrılarak ham yağ örnekleri elde edilmiştir.

Soğuk ekstraksiyon uygulaması Abbasi ve ark. (2008) tarafından tarif edilen yöntemde bazı küçük değişiklikler ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre, yaklaşık 10 gr öğütülmüş numune kartuşlara konularak 100 mL dietil eter içerisinde 16 saat süre ile bekletilmiştir. Ardından ham yağ + çözücü karışımı döner evaporatörde 40 °C’de ayrılmıştır. Elde edilen ham yağlar ependorf tüplerine alınarak karotenoid analizleri yapılana dek 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Doğrudan ekstraksiyona dayalı analizlerde Kurilich ve Juvik (1999) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanması amacıyla 600 mg mısır unu cam tüp içerisine tartılıp örnek üzerine 6 mL etanol ve %0,1’lik butil hidroksi tolüen (BHT) karışımı eklenmiştir. Tüpler 85 °C’de 5 dk su banyosunda tutulduktan sonra 120 µL %80’lik KOH eklenmiş, 20 sn vortekslenmiş ve 10 dk daha sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Buradan alınan örnekler hemen buz küvetine yerleştirilip üzerlerine 3 mL deiyonize su ilave edilmiştir. Bundan sonra örneklere 3 mL hekzan eklenip vortekslenmiş ve 1200 g’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz yeni bir test tüpüne alındıktan sonra kalan kısım iki kez daha hekzan ile ekstrakte edilip toplanan kısım 3 mL H₂O ile yıkanmıştır. Santrifüjleme sonrasında üst faz yeni tüpe aktarılmıştır.

2.2.2. Karotenoid Analizi

Soxhlet yöntemi ve soğuk ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağlardan 50 µL alınarak 10 mL hekzan içerisinde çözülmüştür. Yirmi saniye vortekslendikten sonra 3 mL örnek kuvarz küvet içerisinde alınarak UV-Spektrofotometre (PG Instruments, İngiltere) cihazında 450 nm dalga boyunda absorbans değeri kaydedilmiştir. Doğrudan ekstraksiyon yönteminden sonra elde edilen hekzan ve yağ karışımından 3 mL örnek kuvars küvet içerisinde alınmış ve örneğe ait absorbans değeri UV- Spektrofotometre cihazında 450 nm dalga boyunda kayıt edilmiştir. Elde edilen absorbans değerlerinden karotenoid içeriğinin hesaplanması için Rodriguez-Amaya ve Kimura (2004) tarafından önerilen aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır.

$$TCC(\mu g g^{-1}) = \frac{25 \times A1 \times 10^4}{2500 \times W}$$

Eşitlikte; A1 absorbans değerini, W örnek ağırlığı/hacmini, 2500 molar absorpsiyon katsayısını göstermektedir. Yağ örneklerinden elde edilen sonuçları öğütülmüş numunedeki karotenoid içeriğine dönüştürmek için ekstraksiyon yönteminden elde edilen yağ oranı değerleri ve analizlerde kullanılan yağ örneğinin ağırlığı (~0,035 gr) kullanılmıştır. Bu hesaplama ile elde edilen sonuçlar sayesinde, doğrudan ekstraksiyon ve diğer ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılabilir hale getirilmiştir.

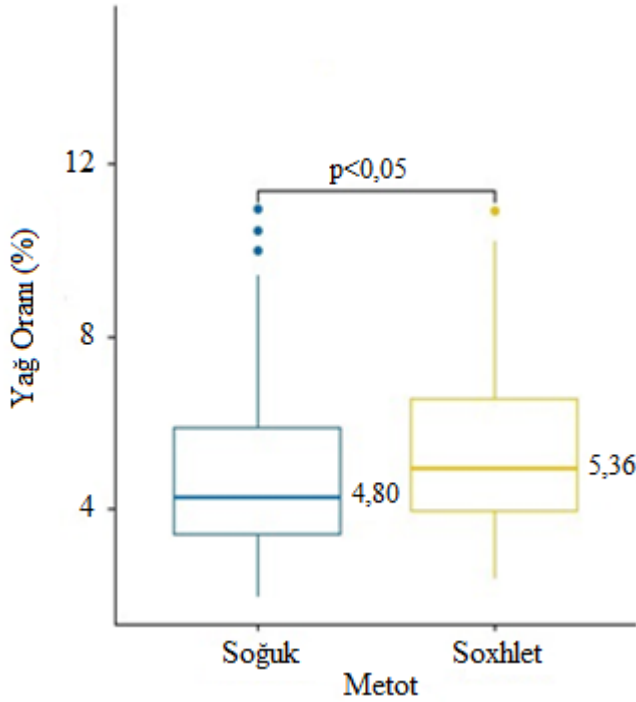
2.2.3. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler R paket programında analiz edilmiştir (R Development Core Team, 2012). Yağ içeriği ve karotenoid içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemlerinin kıyaslanması amacıyla Wilcoxon ve Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Farklı ekstraksiyon yöntemlerine ait sonuçlar arasındaki ilişkiler basit doğrusal regresyon analizi kullanılarak incelenmiş ve Excel programında grafiklendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

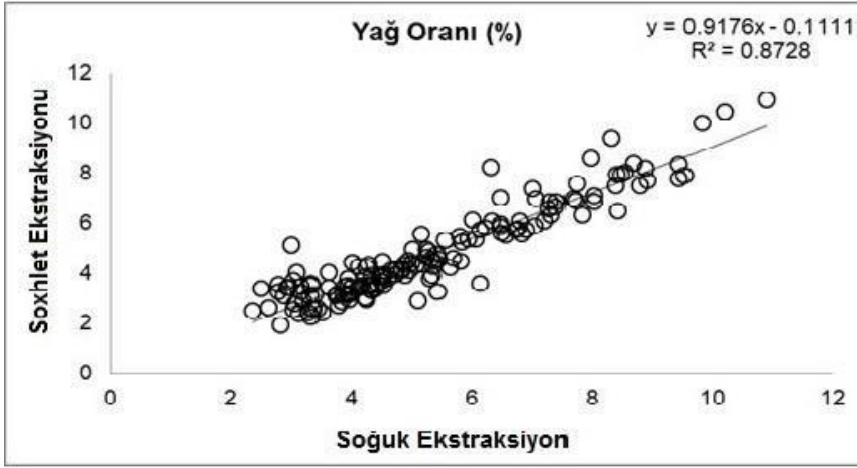
3.1. Yağ Oranı

Soxhlet yöntemi ile tespit edilen yağ oranlarına ait ortalama değer (%5,36), soğuk ekstraksiyon ile tespit edilenden (%4,80) yüksek bulunmuştur (P<0,05) (Şekil 3.1). Soğuk ekstraksiyonun Soxhlet yöntemine göre nispeten ucuz ve hızlı bir yöntem olduğu düşünülürse, araştırmacıların soğuk ekstraksiyonu tercih etme yönünde bir eğilimleri olması kaçınılmazdır. Soğuk ekstraksiyonun tercih edilmesi ile yaşanacak hassasiyet kaybının çok önemli olmadığı durumlar olabilir. Örneğin, çok sayıda genotipin birbirlerinden olan farklarının tespit edilmesinin gerektiği, fakat bu genotiplerin sahip olduğu yağ oranlarının yüksek hassasiyetle tespit edilmesinin çok da elzem olmadığı ıslah çalışmaları gibi durumlarda soğuk ekstraksiyon yöntemi herhangi bir sorun yaratmaksızın Soxhlet yöntemini ikame edebilir. Buna karşın yağ oranının daha yüksek hassasiyet ile belirlenmesi gerekiyorsa Soxhlet yönteminin kullanılması daha doğru olacaktır.



Şekil 3.1. Soxhlet ve soğuk ekstraksiyonla tespit edilen yağ oranlarının karşılaştırılması (n=150)

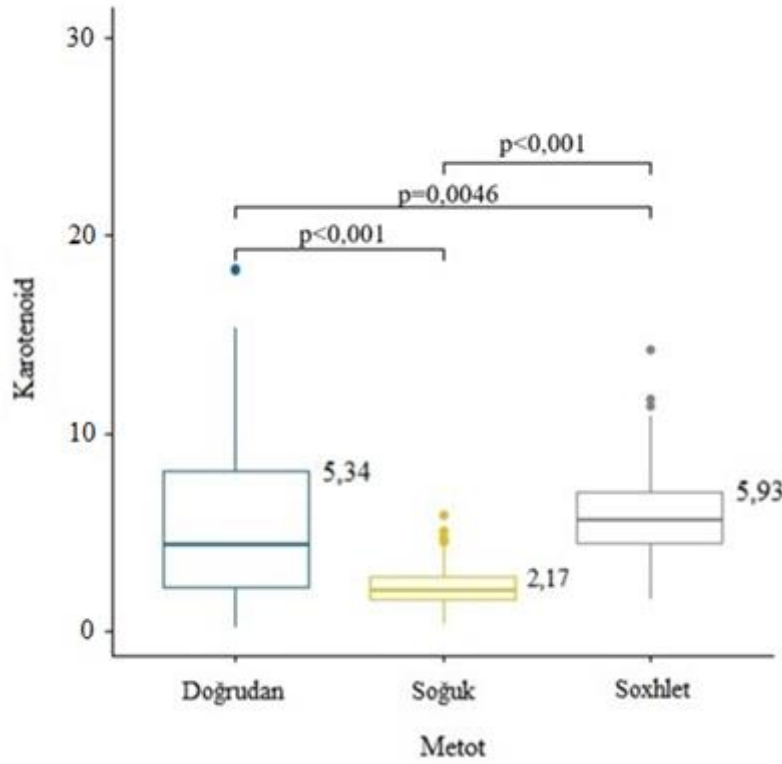
Yağ içeriği analizlerinden elde edilen veriler basit doğrusal regresyon analizine tabi tutulmuş ve farklı ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişki incelenmiştir (Şekil 3.2). Bağımlı değişkendeki varyasyonun bağımsız değişken ya da model tarafından açıklanabilen payı $R^2=0,873$ olarak bulunmuştur. Dolayısıyla genotiplerin Soxhlet ile elde edilen yağ değerlerindeki değişimin %87,3'lük kısmı bu genotiplerin soğuk ekstraksiyon değerleri tarafından açıklanabilmektedir. Diğer bir deyişle, soğuk ekstraksiyon ile sıcak ekstraksiyon arasında %87,3'lük pozitif yönde doğrusal bir ilişki vardır. $y=0,9176x-0,1111$ şeklinde hesaplanan regresyon denkleminde yararlanılarak Soxhlet ekstraksiyon değerleri belli olan genotiplerin soğuk ekstraksiyon değerleri makul bir hassasiyet ile tahmin edilebilir. Ancak, burada dikkat edilmesi gereken nokta, oluşturulan regresyon denkleminde yararlanılarak yapılacak tahminlerin sadece bağımsız değişken olan Soxhlet ekstraksiyon değerlerinin analiz sınırları içinde bir anlamının olduğudur (Mendeş, 2013). Bu veriler ışığında, çok fazla örnek (genotip) sayısına sahip olan kişi veya kurumların ekstraksiyon analizlerini daha hızlı yapabilmeleri için sıcak ekstraksiyon yerine soğuk ekstraksiyon kullanılmasının uygun olacağı ifade edilebilir. Zira soğuk ekstraksiyon ile bir günde muamele edilen örnek sayısı Soxhlet yöntemi ile muamele edilen örnek sayısının üç katına kadar çıkmaktadır.



Şekil 3.2. Yağ oranı için Soxhlet ve soğuk ekstraksiyon yöntemleri arasındaki regresyon grafiği (n= 150)

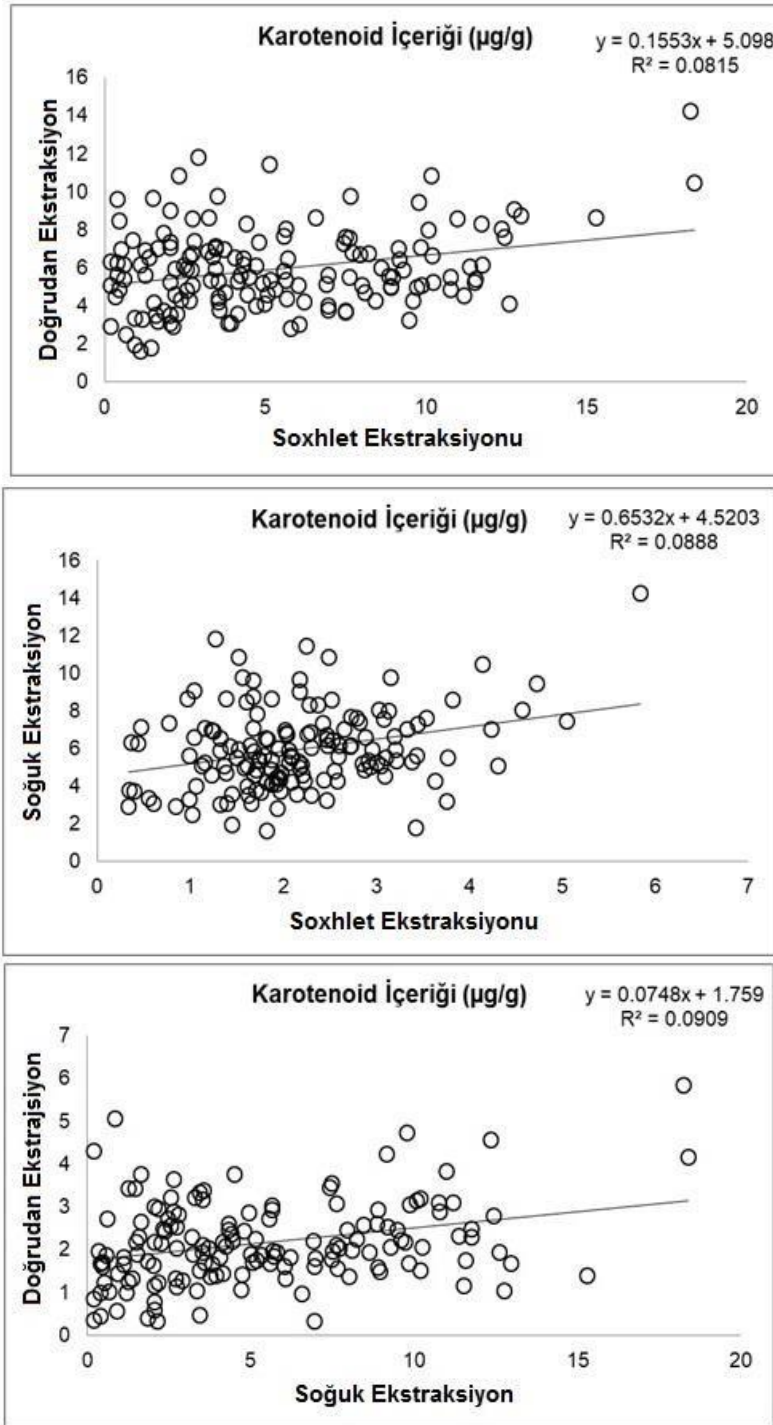
3.2. Karotenoid İçeriği

Farklı ekstraksiyon yöntemlerini takip ederek elde edilen karotenoid miktarlarının istatistiki açıdan oldukça önemli ($p < 0,01$) farklara sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.3). Karotenoid içeriği ile yöntemler arası miktarların birimlerini eşleştirmek amacıyla 1 g öğütülmüş numunedan çıkan yağ içerisindeki karotenoid miktarı hesaplanmıştır. Bu hesaplama sonucunda doğrudan ekstraksiyon yönteminde 5,34 $\mu\text{g/g}$, soğuk ekstraksiyon yönteminde 2,17 $\mu\text{g/g}$ ve Soxhlet yönteminde 5,93 $\mu\text{g/g}$ karotenoid içeriği saptanmıştır. Maarasyid ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada Soxhlet yöntemi ile elde edilen karotenoid miktarını diğer yöntemlere göre daha yüksek bularak yapmış olduğumuz çalışmayı destekler nitelikte bir sonuca ulaşmışlardır. Buna sebep olarak doğrudan ekstraksiyon yönteminde gerçekleşen sabunlaşma işlemi sonrası meydana gelen karotenoid kayıpları gösterilmiştir. Benzer şekilde Lim ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada Soxhlet ekstraksiyonunun doğrudan ekstraksiyona göre %13 daha yüksek karotenoid verimine sahip olduğu belirlemişlerdir. Çalışmamızda da Soxhlet ekstraksiyonunun en yüksek karotenoid içeriklerini ortaya koyduğu görülmüştür (Şekil3.3). Soxhlet ekstraksiyonundan soğuk ekstraksiyona göre 1,12 kat daha fazla yağ elde edilmesine karşın 2,73 kat daha fazla karotenoid elde edilmiştir. Soxhlet yönteminin daha yüksek karotenoid verimi kısmen bu bileşenlerin yağda çözünen bileşenler olduğu ve Soxhlet yöntemi ile yağın daha başarılı bir şekilde çıkarılabildiği gerçeği ile açıklanabilir.



Şekil 3.3. Farklı ekstraksiyon yöntemlerine göre ortalama karotenoid değerleri (n=150)

Bu çalışmada ekstraksiyon yöntemi olarak denenen üç metot ile tespit edilen karotenoid değerleri arasındaki ilişkiler Şekil 3.4'de sunulmuştur. Bu yöntemlerden elde edilen karotenoid içeriği değerleri arasındaki regresyon katsayılarının oldukça düşük olduğu dikkat çekmiştir. Soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlardaki varyasyonun soğuk ekstraksiyonda tespit edilen değişimin ancak %8,9'unu açıklayabildiği görülmektedir. Benzer şekilde doğrudan ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sonuçlardaki değişimin soğuk ekstraksiyon örneklerinden elde edilen sonuçlardaki değişimle açıklanabilen kısmı yaklaşık %9,1'dir. Bu bulgular farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen yağlar üzerinden yapılan analizler sonucu bulunan değerlerin karotenoid içeriği tahminlerinde birbirleri yerine kullanılmasının doğru olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.4. Karotenoid içeriği için Soxhlet ve soğuk ekstraksiyon (üstte), soğuk ve doğrudan ekstraksiyon (ortada), Soxhlet ve doğrudan ekstraksiyon yöntemleri (altta) arasındaki regresyon analizi grafikleri (n=150)

4. Sonuç

Soxhlet ve soğuk ekstraksiyon ile elde edilen yağ oranları karşılaştırıldığında Soxhlet ile daha fazla yağ elde edilirken, soğuk ekstraksiyonda yağ veriminin bir miktar düşük olduğu belirlenmiştir. Karotenoid içeriği bakımından Soxhlet ekstraksiyonu kullanan yöntem ile elde edilen ortalamanın (5,93 µg/g) diğer yağ çıkarma yöntemlerinden oldukça yüksek olduğu

görülmüştür. Regresyon analizi yağ oranı için Soxhlet ve soğuk ekstraksiyon ile elde edilen sonuçlar arasında önemli bir doğrusal ilişki olduğunu göstermiştir. Yani yöntemler arasında bir fark bulunsa da aralarında mevcut olan bu ilişki sayesinde yöntemlerden biri kullanılarak elde edilen sonuçlar ile diğerinin vermesi beklenen sonuçları tahmin etmek mümkün olabilir. Bu iki yöntem, yağ oranı tespitinde yüksek hassasiyet gerektirmeyen genotipik karşılaştırmalarda birbirinin yerine kullanılabilir. Soğuk ekstraksiyon, yağ çıkarmada Soxhlet kadar başarılı olmasa da, oldukça hızlı bir yöntemdir. Soğuk ekstraksiyon ile bir çalışma gününde 20 örnek analiz edilebilir iken bu sayı Soxhlet ile sadece altı olabilmektedir. Islah programlarının seleksiyon aşamaları gibi yüksek hassasiyetin elzem olmadığı, fakat oldukça fazla sayıda genotipin birbirleriyle mukayesesinin istendiği durumlarda soğuk ekstraksiyon rahatlıkla tercih edilebilir. Genotiplere ait değerlerin hassasiyet ile belirlenmesini gerektiren durumlarda ise ekstraksiyon etkinliği bakımından Soxhlet yönteminin tercih edilmesi daha uygun olacaktır. Ancak bu yöntemin uygulama süresi ve kullanılan kimyasal miktarı bakımından önemli dezavantajları bulunmaktadır. Diğer taraftan karotenoid bileşenlerinin, yüksek sıcaklık altında ekstraksiyon esnasında yapısal bozulmaya maruz kalıp kalmadıkları dikkate alınması gereken bir konudur. Bu nedenle ileri araştırmalarda gerek yağ oranı gerekse yağda çözünen bileşenler üzerine ekstraksiyon metotlarının etkisinin kapsamlı şekilde ele alınması yararlı olabilir.

Teşekkür

Bu çalışma FYL-2017-1262 no'lu proje kapsamında ÇOMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir. Yüksek Lisans tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyal ve bunlara ait yağ oranları verileri TÜBİTAK 2150867 no'lu projeden temin edilmiştir. Desteklerinden dolayı ÇOMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na ve TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Abbasi H., Rezaei K., Emamdjomeh Z., Mousavi S.M.E., 2008. Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *Eur J Lipid Sci Tech.* 110:435–40.
- AOAC, 2005. Method 920.39, Fat (crude) or ether extract in animal feed. 18th ed., AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Cemeroğlu B.S., 2013. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Cilt 1. Bizim Grup Basımevi, 707s, Türkiye.
- Cuong D.M., Arasu M.V., Jeon J., Park Y.J., Kwon S.J., Al-Dhabi N.A., Park S.U., 2017. Medically important carotenoids from *Momordica charantia* and their gene expressions in different organs. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 24(8): 1913-1919.
- Egesel C.O., 2001. Genetic Variation Among Maize Genotypes for Carotenoid and Tocopherol Compounds. Ph.D. Thesis. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Howe J.A., Tanumihardjo S.A., 2006. Methods for Carotenoid Extraction from Biofortified Maize *J Agric Food Chem.* 54(21): 7992–7997.
- Kırtok Y., 1998. Mısır Üretimi ve Kullanımı. Kocaelik Basım ve Yayınevi, 445s., Türkiye.
- Koca N., Karadeniz F., 2005. Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Türkiye.
- Koçak A.N., 1987. Mısırın İnsan Gıdası Olarak Önemi ve Gıda Endüstrisindeki Yeri. Türkiye’de Mısır Üretimini Geliştirilmesi, Problemler ve Çözüm Yolları Sempozyumu. 23-26 Mart, 1987. Türkiye.
- Kurilich A.C., Juvik J.A., 1999. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *J Agric Food Chem.* 47(5):1948-55.
- Lambert R.J., 1994. High Oil Corn Hibrids *in* Specialty Corns (edited by A.R. Hallauer). CRC Presss, 123-146.
- Lim H., S. Woo H.S., Kim S.J., Lee J., 2007. Comparison of Extraction Methods for Determining Tocopherols in Soybeans. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 109:1124–1127.

- Maarasyid C., Muhamad I.I., Supriyanto E., 2014. Potential Source and Extraction of Vitamin E From Palm-Based Oils : A Review. *Jurnal Teknologi*. 69(4):43-50.
- Maurer M.M., Mein J.R., Chaudhuri S.K., Constant H.L., 2014. An Improved UHPLC-UV Method For Separation and Quantification of Carotenoids in Vegetable Crops. *Food Chemistry*, 165:475–482, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.038>.
- Mendeş M., 2013. *Uygulamalı Bilimler İçin İstatistik ve Araştırma Yöntemleri*. Kriter Yayınevi. Türkiye.
- Murakami A, Nakashima M, Koshiha T, Maoka T, Nishino H, Yano M, Sumida T, Kim OK, Koshimizu K, Ohigashi H., 2000. Modifying Effect of Carotenoids on Superoxide and Nitric Oxide Generation from Stimulated Leukocytes. *Cancer Letters*, 149:115-123.
- Ötleş S., Atlı Y., 1997. Karotenoidlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 3(1): 249-254, Türkiye.
- Patil B.S., Jayaprakasha G.K., Chidambara Murthy K.N., Vikram A., 2009. Bioactive Compounds: Historical Perspectives, Opportunities, and Challenges *J. Agric. Food Chem.* 57(18): 8142-8160.
- R Development Core Team. 2012. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rodriguez-Amaya D.B., Kimura M., 2004. *Harvestplus Handbook For Carotenoid Analysis*. Harvestplus Technical Monograph 2.
- Rutkowski M., Grzegorzcyk K., 2007. Modifications of Spectrophotometric Methods For Antioxidative Vitamins Determination Convenient In Analytic Practice. *Acta Sci., Pol., Technol, Aliment*, 6(3): 17-28.
- Turgut İ., Doğan R, Yürür N., 1997. Bursa Koşullarında Yetiştirilen Bazı Atıdışı Hibrid Mısır (*Zea mays L indentata Sturt.*) Çeşitlerinde Bitki Sıklığının Verim ve Verim Ögelerine Etkisi. *Türkiye II. Tarla Bitkileri Kongresi*, Türkiye.