

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

Soya Yağının Oksidasyonu Üzerine Farklı Faktörlerin Etkilerinin Yanıt Yüzey Yöntemi ile Belirlenmesi

Ayhan BAŞTÜRK*, İsa CAVIDOĞLU

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye
*e-posta: ayhanbasturk@yyu.edu.tr; Tel: +90 (432) 444 50 65 / 28162; Fax: +90 (432) 225 17 30

Özet: Bu çalışmada sıcaklık (30, 50 ve 70 °C), süre (0, 10 ve 20 gün), bakır ve demir iyonu derişimleri (0, 0.15 ve 0.3 mg/kg yağ), ve askorbil palmitatın (AP) (0, 200 ve 400 mg/kg yağ) soya yağının peroksit değeri (PD), malonaldehit (MAD) ve hegzanal (HEX) içerikleri üzerindeki etkileri hızlandırılmış oksidasyon ortamında yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile araştırılmıştır. Soya yağının zengin linoleik asit (C18:2) içeriği (%55.81) ile birlikte %8.69 oranında linolenik asite (C18:3) sahip olduğu saptanmıştır. Toplam tokoferol içeriği 538.5 mg/kg yağ olarak bulunmuştur. Veriler, sıcaklık ve sürenin yağların PD, MAD ve HEX içeriklerini önemli düzeyde artırdığını göstermektedir (P<0.05). AP'nin peroksitlerin oluşumunu önleyici etkisi önemli bulunmuştur (P<0.05). Bakır içeren örneklerin demir içerenlerle karşılaştırıldığında, daha yüksek PD ve MAD değerleri gösterdikleri tespit edilmiştir. Genel olarak bakır ve demirin oksidasyonu önemli düzeyde etkilemedikleri saptanmıştır (P>0.05). Sıcaklık ve sürenin soya yağının oksidasyonunu etkileyen en önemli etmenler oldukları tespit edilmiştir (P<0.05). YYY, örnek ve analiz sayısının azalması ile birlikte farklı faktörlerin oksidatif parametreler üzerindeki etkilerinin topluca değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Hegzanal, Malonaldehit, Peroksit değeri, Soya yağı, Yağ asidi bileşimi, Yanıt yüzey yöntemi

Evaluation of the Effects of Different Factors on Oxidation of Soybean Oil by Response Surface Methodology

Abstract: In this study, the effects of temperature (30, 50 ve 70 °C), time (0, 10 ve 20 days), concentration of copper and iron ions (0, 0.15 ve 0.3 mg kg⁻¹ oil) and ascorbyl palmitate (AP) (0, 200 ve 400 mg kg⁻¹ oil) on peroxide value (PV), malonaldehyde (MAD) and hexanal (HEX) content of soybean oil under accelerated oxidation conditions have been evaluated by response surface method (RSM). Besides of its rich linoleic acid (C18:2) content (55.81%), soybean oil had 8.69% linolenic acid (C18:3). The total tocopherol content of soybean oil was 538.5 mg kg⁻¹ oil. Data obtained showed that temperature and time significantly increased (P<0.05) PV, MAD and HEX content of the samples. AP significantly decreased the formation of peroxides (P<0.05). Samples with copper showed higher PV and HEX values compared to those with iron. In general, the presence of copper and iron did not significantly (P>0.05) affect the oxidation. It's concluded that temperature and time were the most important parameters affecting soybean oil oxidation (P<0.05). In addition to the reduced number of experimental runs, RSM provided an overall evaluation of the effects of different factors on oxidation parameters.

Keywords: Hexanal, Malonaldehyde, Peroxide value, Soybean oil, Fatty acid composition, Response surface method

Giriş

Yağların oksidasyonu hem üretim sırasında hem de ürün raf ömrü boyunca gıdanın kalitesinin bozulmasının önemli bir nedenidir ve biyolojik sistemlerin bütünlüğünü olumsuz bir şekilde etkiler (Santos-Fandila ve ark. 2014). Yağların oksidatif olarak bozulmaları, bileşimlerindeki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmeleri ve bunun sonucunda aldehit, keton, hidroksi asitler, alkoller ve daha küçük moleküllü yağ asitlerinin oluşmasını kapsamaktadır (Porter 2013; Pratt ve ark. 2011). Yağların yüksek doymamışlık düzeyleri, oksijen derişimi, doğal antioksidanların varlığı, metal kontaminasyonu, lipit

hidroksi bileşenleri, enzimler, ışık, sıcaklık, nem ve depolama süresi yağların oksidatif stabilitelerini etkilemektedir (Roman ve ark. 2013; Yanishlieva-Maslarova 2001).

Metaller yenilebilir yağların oksidatif stabilitelerini olumsuz yönde etkilemektedirler. Metaller hem oksidasyonun başlangıç aşamasında hem de hidroperoksitlerin parçalanmaları sırasında radikallerin oluşumunu artırmaktadırlar (Bastos ve Pereira 2010; Choe ve Min 2006). Bakır ve demirin 1 mg/kg derişimlerinde yağların stabilitesini önemli düzeyde düşürdüğü ileri sürülmektedir (Sherwin 1978). Askorbik asitten türetilen ve askorbik asidin lipitlerde çözünen esteri olarak bilinen AP'nin antioksidan olarak daha sık gıda maddelerinde kullanılması gündeme gelmiştir. Vücutta askorbik asit ve palmitik aside hidrolize olması AP'nin sentetik antioksidanlara tercih edilmesine yol açmıştır (Yanishlieva-Maslarova 2001). Askorbik asit metal bağlama özelliği ile yağ oksidasyonunu azaltır. Demir veya bakır iyonlarını çözülmemeyen komplekslere dönüştürebilir veya metaller ile lipit hidroperoksitler arasındaki komplekslerin oluşumunu engelleyebilir (Halliwell ve Gutteridge 1995).

Yağların oksidatif stabilitesinin belirlenmesinde etüv yöntemi (Schaal Test) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde belli sıcaklık ve sürede etüvde tutulan yağların belli zaman aralıklarında asit, peroksit, anisidin ve totox değerleri saptanarak, bozulma ürünlerinin derişimindeki ani artış indüksiyon süresi olarak belirlenir ve böylece yağın oksidatif stabilitesi hakkında bilgi edinilir (Liang ve Schwarzer 1998; Basturk ve ark. 2007). Yağlarda oksidasyon düzeyinin belirlenmesinde MAD ve HEX değerleri de belirleyici olmaktadır. Lipid oksidasyonu sonucunda oluşan ve sekonder bir aldehit olan MAD, tiobarbitürik asit (TBA) ile kolay reaksiyonu nedeniyle lipid oksidasyonun en önemli göstergelerinden biri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Ayala ve ark. 2014; Lorenzo ve ark. 2013). HEX doymamış yağların oksidasyonu sırasında ikincil oksidasyon ürünü olarak ortaya çıkan uçucu bir aldehittir (Shahidi 2001), son yıllarda oksidasyonun göstergesi olarak değerlendirilmesi söz konusu olmuştur. HEX'in omega-6 yağ asitleri içeriği açısından zengin lipidlerin oksidasyon düzeyi hakkında bilgi verdiği ortaya konulmuştur (Ghirardello ve ark. 2016; Shahidi 1998). HEX başta olmak üzere aldehitlerin nitel ve nicel analizi için katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) yöntemi araştırmacılar tarafından sıklıkla başvurulan yöntemler arasında yer almaktadır (Shahidi 1998; Lee ve ark. 2004; Javidipour ve Qian 2008; Jaeho ve ark. 2011; Azarbad ve Jelen 2015).

Son yıllarda gıda sanayinde deneysel çalışmaları yapma imkânının kısıtlı olduğu ya da çok fazla sayıda tekrerrür gerektiren durumlarda sınırlı sayıdaki gözlemlerle elde edilen sonuçların matematiksel denklemlerle ifade edilmesi konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Devres ve Pala 1993). Bu konuda en fazla uygulama alanı olan yöntemlerden birisi YYY'dir. Bu yöntem deneylerin tasarlanması, model oluşturulması, faktörlerin etkilerinin değerlendirilmesi, arzulanan cevaplar için faktörlerin optimum koşullarının araştırılması için başarıyla uygulanan istatistiksel tekniklerden oluşmaktadır. YYY'nin en önemli avantajlarından biri, istatistiksel olarak kabul edilebilir sonuçlar için yeterli bilgiyi elde etmek için gerekli deneysel çalışma sayısının azaltılmasıdır (Fomuso ve ark. 2002).

Bu çalışmada, bakır ve demir iyonları (0, 0.15 ve 0.30 mg/kg yağ), AP (0, 200, 400 mg/kg yağ), sıcaklık (30, 50 ve 70 °C) ve sürenin (0, 10 ve 20 gün) soya yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkilerini saptamak üzere örneklerin PD, MAD ve HEX içerikleri YYY ile değerlendirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada rafine soya yağı yerel marketlerden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan hegzanal, 2-metil-3-heptanon Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, USA), malonaldehit bis (dietyl asetal, %97) Acros Organics (NJ, USA), tokoferol standartları Riedel-De Haen AG (Seelze-Hannover), demir sülfat ve bakır sülfat (Sigma, Chemical Co.)'den temin edilmiştir. Diğer kimyasal maddelerin bilimsel hassasiyeti sağlayacak saflıkta ve nitelikte olmasına özen gösterilmiştir.

Yöntem

Çalışmada AP, metal iyonları (Fe⁺², Cu⁺²), sıcaklık ve sürenin hızlandırılmış oksidasyon ortamında soya yağının oksidasyonu üzerine etkileri YYY ile araştırılmıştır. Oksidatif tepkimeler üzerindeki etkisini belirlemek üzere, hızlandırılmış oksidasyon koşullarına maruz bırakılmadan soya yağının tokoferol içeriği saptanmıştır. Ayrıca başlangıçta soya yağının Cu⁺² ve Fe⁺² iyonları içermediği yapılan analizlerle

belirlenmiştir. Ağır metal olarak Cu^{+2} ve Fe^{+2} 'in 0, 0.15 ve 0.30 mg/kg'lık derişimleri ve antioksidan olarak AP'nin 0, 200 ve 400 mg/kg'lık derişimlerini içeren örnekler hazırlanmıştır. Örnekler 30, 50 ve 70 °C'ye ayarlı etüvlerde 20 gün süreyle bekletilerek sırasıyla, 0., 10. ve 20. günlerde alınan numunelerde PD, MAD ve HEX gelişimi izlenmiştir (Kimoto ve ark. 1994; Liang ve Schwarzer 1998; Basturk ve ark. 2007).

Yanıt Yüzey Yöntemi Deneysel Tasarımı

Bu çalışmada YYY ile 4 faktörlü 3 düzeyli Merkezi Karma Tasarım (MKT) kullanılarak faktörlerin etkileri incelenmiştir. Bağımsız değişkenler olarak sıcaklık (°C), süre (gün), metal (Fe^{2+} , Cu^{2+}) (mg/kg yağ) ve AP (mg/kg yağ) faktörleri seçilmiştir. MKT'da belirlenen bağımsız değişkenler ve düzeyleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Analizler, 6'sı merkez olmak üzere toplam 30 deney noktasında, Fe^{2+} ve Cu^{2+} içerikli olmak üzere 2 grupta ve ikişer paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Bağımsız değişkenler ve düzeyleri

Bağımsız değişkenler	Kısaltmalar	Düzyer	Kodlanmış düzeyler
Sıcaklık (°C)	Sıcaklık	30, 50, 70	-1, 0, +1
Depolama süresi (gün)	Süre	0, 10, 20	-1, 0, +1
Metal iyonu konsantrasyonu (mg/kg)	Cu^{+2} veya Fe^{+2}	0, 0.15, 0.30	-1, 0, +1
Askorbil palmitate konsantrasyonu (mg/kg)	AP	0, 200, 400	-1, 0, +1

Yağ Örneklerine Uygulanan Analizler

Yağ Asidi Bileşiminin Belirlenmesi

Yağ asitleri gaz kromatografisi ile tanımlamadan önce metil esterlerine dönüştürülmüştür. 0.4 g örnek 4 ml izooktanda çözündürülerek 0.2 ml 2 M KOH'de metillendirilmiştir. Karışım 30 sn. çalkalanıp, 6 dk. karanlıkta bekletilerek, karışıma 1-2 damla metil oranj ve 0.45 ml 0.1 N HCl konulduktan sonra karıştırılmıştır. Renksiz ve berrak olan üst tabaka, yağ asidi bileşiminin belirlenmesi için kullanılmıştır (Basturk ve ark. 2007). Yağ asidi metil esterlerinin belirlenmesinde Agilent 6890 model gaz kromatografisi cihazı (Dedektör, FID; kolon, J&W Scientific, 60mX0.25mmX0.25µm; gazlar, He: 0.2 ml/dk., H₂: 35 ml/dk., hava: 350 ml/dk.; İnjektör: 250 °C, Kolon: 120 °C (5dk.), 15 °C/dk., 240 °C'ye; 240 °C (20dk.), Dedektör: 260 °C; split;1:10) kullanılmıştır.

Tokoferol Tayini

Yağ örneklerinin tokoferol içeriklerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile belirlenmesi Surai ve ark. (2001)'nin önerdiği yöntemle gerçekleştirilmiştir. 20 µl ekstrakte edilmiş örnek HPLC sistemine enjekte edilerek, 3-µ C18, reverse-faz kolon, (15 cm x 4.6 mm, Spherisorb ODS2, Phase Separation, Clwyd, UK) ve mobil faz olarak metanol-distile su (97:3, v/v, 1.05 ml/dk. akış hızı) kullanılarak, uyarımı 295 nm ve emisyonu 330 nm olan floresan dedektörü ile analizler gerçekleştirilmiştir. Tokoferollerin nitel ve nicel analizi saf standart tokoferoller (DL- α -Tokoferol-asetat, Riedel-De Haen AG Seelze-Hannover) ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

Peroksit Değeri Tayini

PD, AOAC (1990) yöntemine göre nişasta indikatörü kullanılarak, 0.1 N sodyum tiyosülfat ile titrasyonla ölçülmüştür. Sonuçlar kg yağ başına peroksitlerin milieşdeğerleri olarak (meqO₂/kg yağ) bildirilmiştir.

Malonaldehit Tayini

0.1 g örnek tartılarak plastik tüpe alınarak, 1 ml 10 mM fosfat tamponu (%1.15 KCl içeren)'ndan eklenmiş (örneğin 10 katı olacak şekilde) ve vorteksten geçirilmiştir. Hazırlanan karışımdan 1 ml alınarak cam tüpe aktarılıp, 0.1 mM FeSO₄'tan 200 µl (0.2 ml) eklendikten sonra, vorteksten geçirilmiştir. 1 saat süreyle 37 °C de su banyosunda bekletilerek, karışıma 50 µl BHT (%0.01) ve 200 µl SDS (%8) eklendikten sonra vorteksten geçirilmiştir. 1.5 ml asetik asit (CH₃COOH) (%20'lik) ve 1.5 ml TBA (%0.8) eklendikten sonra tekrar vorteksten geçirilerek ve 1 sa. 95 °C su banyosunda bekletilip soğuk su içersinde soğutulmuştur. Hazırlanan bu örnekten 750 µl alınarak eppendorf tüpüne aktarılarak, üzerine 750 µl MeOH eklenmiştir. 5000 devirde 10 dk. santrifüjlendikten sonra eppendorf tüplerinin üst kısmından yaklaşık 600-700 µl

alınarak HPLC vialine aktarılmıştır. HPLC'ye vialden 5 µl enjekte edilip, mobil faz 50 mM Fosfat Tamponu/MeOH (65/35) ile 1.5 akış hızı ve ODS 2 reverse faz kolonu takılı Agilent 1100 HPLC sisteminde Floresan dedektör ile Ex:532 Em:553 dalga boylarında pikleri alınmıştır. MAD'ın nitel ve nicel analizi MAD standardı (Malonaldehit bis-dietil asetal, %97'lik) ile karşılaştırılarak yapılmıştır (Surai ve Speake 1998).

Hegzanal Tayini

HEX tayini için uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda oldukça etkili olan 2-cm'lik (50/30 divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan) SPME fiberi (Supelco Co., Bellefonte, PA, USA) kullanılmıştır. SPME fiberi kullanılmadan önce 1 sa. süreyle 270 °C de GC'nin enjeksiyon bloğunda şartlandırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi için 2 g örnek 20 ml'lik vialde tartılıp, vialin kapağı kapatılarak 5 dk. süreyle 45 °C'ye ayarlı dijital manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtılmıştır. Daha sonra SPME fiberi vialin tepe boşluğuna bırakılarak 45 °C'de 30 dk. süreyle uçucu bileşenlerin sıcaklık ve karıştırmanın etkisiyle tepe boşluğuna ve oradan da SPME fiberine geçmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon süresinin sonunda SPME fibresi doğrudan Agilent 6890 model GC cihazına (Dedektör: FID; kolon: J&W Scientific, HP-INNOWAX-30m x 0.25mm x 0.25µm; gazlar: N₂: 1.5 ml/dk. H₂: 35 ml/dk., Hava: 350 ml/dk.; sıcaklıklar: enjektör: 250 °C, kolon: 35 °C'de 5 dk., 8 °C/dk. artış hızıyla 75 °C'ye, 40 °C/dk. artış hızıyla 220 °C'ye, 220 °C(20dk.), dedektör: 260 °C; split: 1/10) enjekte edilmiştir. Hegzanal'ın nicel analizinde internal standart olarak kullanılan 2-metil-3-heptanon varlığında, farklı hegzanal derişimleriyle hazırlanan karışımlarının GC-SPME yöntemiyle analizi sonucu elde edilen veriler bu iki bileşen arasındaki doğrusal ilişkinin $y=0.3937x$ regresyon denklemiyle açıklanabileceğini ($R^2=0.99$) ve hegzanalın en düşük tespit edilme sınırının 1.6 ppb olduğunu göstermiştir (Javidipour ve Qian 2008).

Fe²⁺ ve Cu²⁺ Tayini

Örneklerin Fe²⁺ ve Cu²⁺ içerikleri atomik spektrofotometre cihazı ile saptanmıştır (Anonim 1990). Örneklerdeki organik kısım, kül asit yardımı ile tamamen yakılarak, geriye kalan inorganik kısımda Fe²⁺ ve Cu²⁺ aranması yapılmıştır.

$$\text{Fe}^{2+} \text{ veya Cu}^{2+} \text{ miktarı (mg/kg)} = (C \times V \times SF) / m$$

Burada, C: örneğin hazırlanan standart eğrisinden yararlanarak okunan konsantrasyonu; m: alınan örnek miktarı (g); V: örneğin yakma işleminden sonra süzülmesi balonjojenin hacmi (ml); SF: eğer seyreltme yapılmışsa seyreltme faktörünü göstermektedir.

İstatistik Analizler

Deneylerden elde edilen sonuçlar Minitab İstatistiksel Analiz Yazılımı (MINITAB® Release 14.12.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Deney yapılmayan nokta tepkileri, sıcaklık (°C), süre (gün), metal (Fe²⁺, Cu²⁺) (mg/kg) ve AP (mg/kg) terimleri kullanılarak, YYY ile tahminlenen eşitlikle elde edilmiştir. İkinci derece terimlerin katsayıları regresyon analizi yöntemiyle saptanmıştır. Modelin uygunluğu, regresyon modeli oluşturulduktan sonra bu denklemin ilişkisi ne derece açıkladığı ve bu denklemin kullanılarak yapılacak tahminlerin ne derece hassas olduğu, regresyon katsayısı (R^2) ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları ile değerlendirilmiştir. Model denklemlerin oluşturulması için aşağıdaki eşitlikte gösterilen ikinci derece-polinom denklem kullanılmıştır:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Eşitlikte Y bağımlı değişken, β_0 kesişim terimi, β_i birinci dereceden (doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı, β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısı, X_i ve X_j ise bağımsız değişkenlerdir.

Bulgular ve Tartışma

Yağ Asidi Bileşimi ve Tokoferol İçeriği

Çalışmada kullanılan soya yağının hızlandırılmış oksidasyon işlemine tabi tutulmadan önce tespit edilen başlıca yağ asitleri palmitik (C16:0) %10.74, stearik (C18:0) %4.80, oleik (C18:1) %19.87, linoleik (C18:2)

%55.81 ve linolenik (C18:3) %8.69 olarak tespit edilmiştir. Yağ asidi bileşimleri yağların oksidasyona karşı duyarlılıklarını belirleyen başlıca etmenddir. Yağların oksidasyona karşı korunmalarında önemli işlevleri olan ve bitkisel yağların yapılarında doğal olarak bulunan en önemli antioksidan tokoferollerdir. Hızlandırılmış oksidasyona maruz bırakılmadan önce soya yağında toplam tokoferol içeriği 538.5 mg/kg (α -tokoferol 35.6, β -tokoferol 179.9, γ -tokoferol 242.9, δ -tokoferol 80.1 mg/kg) olarak tespit edildi. Yağlarda oksidasyona karşı doğal antioksidan işlevi olan tokoferollerin toplam miktarının önemli olmasının yanında tokoferol fraksiyonları da ayrıca dikkate alınmalıdır (Kayahan 2003).

Peroksit Değeri

Farklı derişimlerde metal iyonu ve AP içeren örneklerin deneysel ve modelden hesaplanan PD, MAD ve HEX değerleri Çizelge 2 ve Çizelge 3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Fe²⁺ ve Cu²⁺ içeren örnek grupları için model katsayıları ve model değerlendirme parametreleri Çizelge 4 ve Çizelge 5'te görülmektedir.

Çizelge 2. Farklı derişimlerde Fe²⁺ ve AP içeren örneklerin deneysel ve modelden hesaplanan PD, MAD ve HEX değerleri

Örnek no.	Bağımsız değişkenler				Yanıt değişkenleri					
	Sıcaklık (°C)	Süre (gün)	Fe ²⁺ (ppm)	AP (ppm)	PD		MAD		HEX	
					Deneysel değerler	Model değerler	Deneysel değerler	Model değerler	Deneysel değerler	Model değerler
1	30	0	0	0	24.36	18.70	0.781	0.902	0.168	0.172
2	70	0	0	0	23.83	31.05	0.766	0.481	0.165	0.172
3	30	20	0	0	29.50	35.22	4.013	3.591	0.150	0.122
4	70	20	0	0	178.50	175.65	4.015	4.504	0.564	0.546
5	30	0	0.3	0	24.84	15.74	0.792	0.320	0.169	0.165
6	70	0	0.3	0	24.52	32.49	0.780	0.490	0.169	0.167
7	30	20	0.3	0	33.40	40.26	4.870	4.829	0.220	0.203
8	70	20	0.3	0	193.40	185.10	5.647	6.333	0.641	0.629
9	30	0	0	400	23.58	32.14	0.787	0.098	0.165	0.184
10	70	0	0	400	21.14^a	15.83	0.785	0.620	0.161	0.189
11	30	20	0	400	24.54	18.13	4.183	4.267	0.310	0.322
12	70	20	0	400	120.54	129.90	5.654	6.122	0.739	0.751
13	30	0	0.3	400	24.07	28.48	0.800	0.105	0.169	0.197
14	70	0	0.3	400	22.03	16.57	0.800	1.218	0.169	0.205
15	30	20	0.3	400	29.44	22.48	5.813	6.094	0.423	0.423
16	70	20	0.3	400	131.44	138.65	8.868	8.541	0.848	0.854
17	50	10	0.15	200	46.87	49.96	6.705	6.428	0.176	0.211
18	50	10	0.15	200	53.97	49.96	7.309	6.428	0.214	0.211
19	50	10	0.15	200	40.43	49.96	6.184	6.428	0.191	0.211
20	50	10	0.15	200	44.08	49.96	8.059	6.428	0.133	0.211
21	30	10	0.15	200	23.18	25.72	2.236	4.064	0.244	0.226
22	70	10	0.15	200	99.87	89.99	6.074	5.077	0.503	0.442
23	50	0	0.15	200	24.70	22.02	0.789	2.841	0.169	0.049
24	50	20	0.15	200	95.97	91.31	9.069	7.847	0.308	0.349
25	50	10	0	200	53.92	43.25	7.898	8.294	0.171	0.132
26	50	10	0.3	200	42.82	46.15	8.777	9.212	0.221	0.181
27	50	10	0.15	0	59.35	57.45	3.088	3.298	0.149	0.215
28	50	10	0.15	400	46.39	40.95	3.379	4.000	0.479	0.334
29	50	10	0.15	200	39.73	49.96	6.080	6.428	0.174	0.211
30	50	10	0.15	200	52.74	49.96	6.727	6.428	0.148	0.211

^aMin ve max değerler koyu siyahla belirtilmiştir.

PD: Peroksit değeri (meqO₂/kg), MAD: Malonaldehit (mg/kg yağ), HEX: Hegzanal (mg/kg yağ), AP: Askorbil palmitat (mg/kg yağ)

Fe²⁺ içeren soya yağı örnekler grubu için YYY'ne göre elde edilen modelde, bağımlı PD değişkeni üzerine, bağımsız değişkenlerden sıcaklık, süre ve Sıcaklık*Süre değişkenlerinin çapraz etkileşimlerinin önemli pozitif (P<0.001), AP, Sıcaklık*AP, Süre*AP çapraz etkileşimlerinin ise önemli negatif (P<0.01) etkilerinin olduğu, Fe²⁺ iyonu ve diğer etkileşimlerin ise önemli etkilerinin olmadığı (P>0.05) anlaşılmaktadır. Değerlendirme parametreleri PD tahmininde model performansının yüksek olduğunu

($R^2=0.98$) göstermiştir (Çizelge 4). Fe^{2+} içeren örnekler grubunda; Süre*Sıcaklık, AP*Sıcaklık ve AP*Süre etkileşimlerinin PD'ne etkileri Şekil 1/(A,B,C)'de görülmektedir. Verilerden anlaşıldığı üzere Süre ve Sıcaklık artarken PD yükselmiş, AP artarken PD azalmıştır. Hernandez ve ark. (2013) ve Javidipour ve ark. (2015) çalışmalarında benzer sonuçları bildirmişlerdir.

Soya yağının farklı derişimlerde Cu^{2+} içeren örnekler grubunda PD üzerine; 1. derece değişkenlerden Sıcaklık, Süre ve 2. derece değişkenlerden Sıcaklık*Süre etkileşiminin $P<0.001$ düzeyinde, 3. derece değişkenlerden Sıcaklık*Sıcaklık değişkeninin $P<0.05$ düzeyinde önemli arttırıcı etkisi, AP değişkeninin ise $P<0.05$ düzeyinde negatif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5). 200 mg/kg AP, 0.15 mg/kg Cu^{2+} içeren soya yağ örneklerinde Süre*Sıcaklık etkileşiminde sıcaklık ve süre artışına paralel olarak PD önemli düzeyde artmıştır (Şekil 1/D).

Malonaldehit Değeri

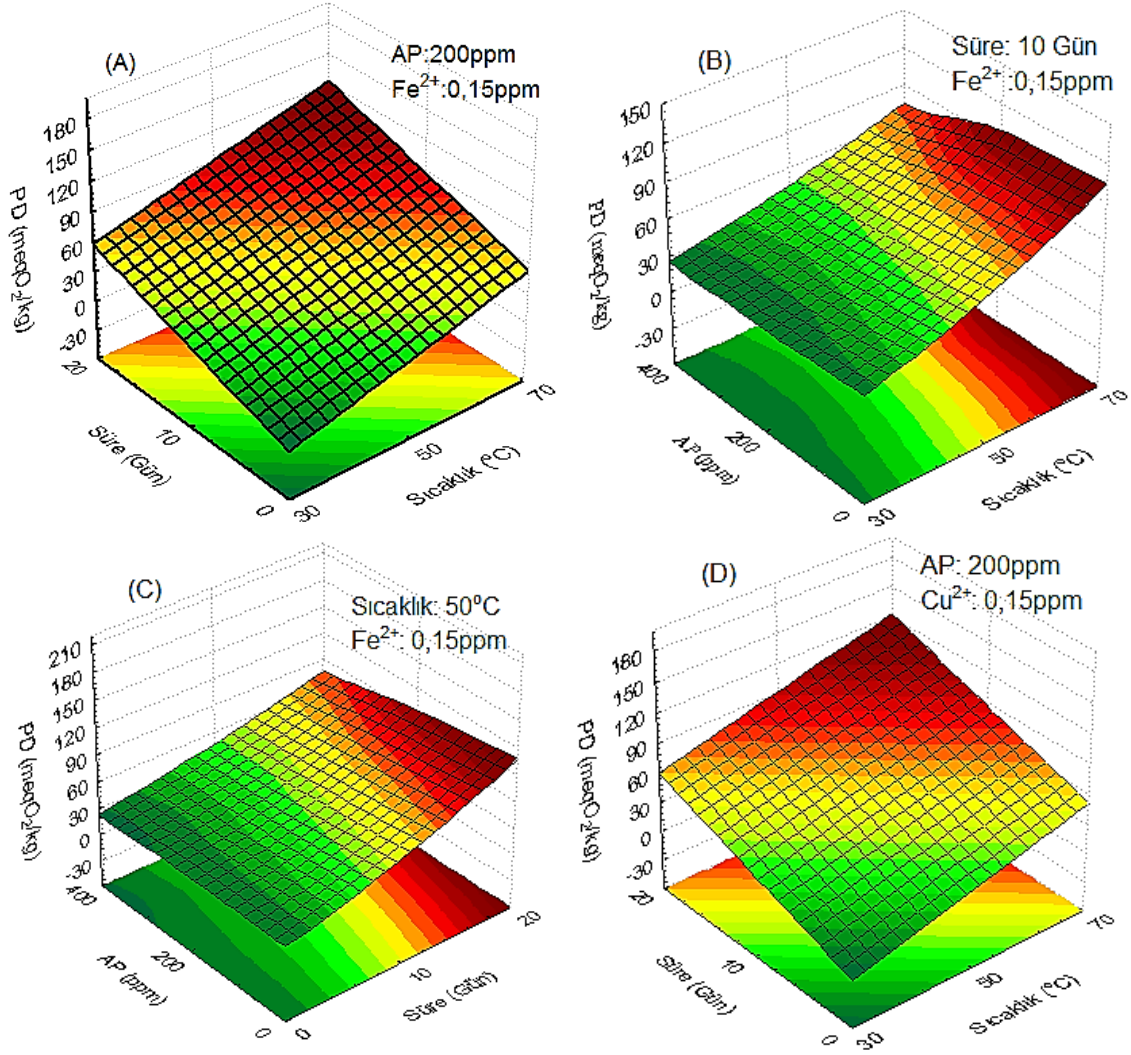
Soya yağının farklı derişimlerde Fe^{2+} içeren örnekler grubunda MAD üzerine; 1. dereceden değişkenlerden Sürenin ($p<0.001$) ve 2. dereceden Metal*Metal etkileşiminin ($P<0.01$) önemli arttırıcı, 2. dereceden AP*AP etkileşiminin ($P<0.01$) ve Sıcaklık*Sıcaklık etkileşiminin ($P<0.05$) azaltıcı etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer faktörler ve değişkenlerin çapraz etkileşimlerinin MAD üzerine etkileri önemli bulunmamıştır (Çizelge 4).

Çizelge 3. Farklı derişimlerde Cu^{2+} ve AP içeren örneklerin deneysel ve modelden hesaplanan PD, MAD ve HEX değerleri

Örnek no.	Bağımsız değişkenler				Yanıt değişkenleri					
	Sıcaklık (°C)	Süre (gün)	Cu^{2+} (ppm)	AP (ppm)	PD		MAD		HEX	
					Deneysel değerler	Model değerler	Deneysel değerler	Model değerler	Deneysel değerler	Model değerler
1	30	0	0	0	24.19	22.33	0.780	0.556	0.168	0.181
2	70	0	0	0	23.71	30.16	0.787	0.886	0.168	0.145
3	30	20	0	0	35.20	39.58	6.495	6.499	0.150	0.096
4	70	20	0	0	168.40	167.51	8.515	8.593	0.615	0.622
5	30	0	0.3	0	24.80	20.15	0.784	0.932	0.169	0.162
6	70	0	0.3	0	24.32	29.67	0.797	0.763	0.170	0.162
7	30	20	0.3	0	38.89	42.43	8.173	8.048	0.164	0.152
8	70	20	0.3	0	171.09^a	172.05	9.193	9.644	0.727	0.714
9	30	0	0	400	23.32	24.27	0.786	0.285	0.166	0.177
10	70	0	0	400	22.63	19.19	0.789	0.861	0.167	0.190
11	30	20	0	400	30.08	24.83	5.039	5.021	0.226	0.244
12	70	20	0	400	133.28	139.85	7.559	7.361	0.815	0.819
13	30	0	0.3	400	23.63	24.62	0.789	0.658	0.169	0.173
14	70	0	0.3	400	23.70	21.23	0.790	0.736	0.169	0.221
15	30	20	0.3	400	34.77	30.23	6.717	6.568	0.294	0.314
16	70	20	0.3	400	144.97	146.93	8.237	8.409	0.927	0.925
17	50	10	0.15	200	46.38	49.62	4.828	4.428	0.248	0.264
18	50	10	0.15	200	37.12	49.62	4.709	4.428	0.292	0.264
19	50	10	0.15	200	49.89	49.62	3.964	4.428	0.277	0.264
20	50	10	0.15	200	51.73	49.62	5.004	4.428	0.192	0.264
21	30	10	0.15	200	23.78	30.18	2.276	3.269	0.205	0.207
22	70	10	0.15	200	106.98	92.45	4.946	4.355	0.540	0.495
23	50	0	0.15	200	24.70	23.34	0.789	1.410	0.165	0.095
24	50	20	0.15	200	101.58	94.82	8.438	8.218	0.377	0.404
25	50	10	0	200	44.04	37.10	3.597	4.281	0.201	0.197
26	50	10	0.3	200	40.73	39.55	5.275	4.993	0.279	0.240
27	50	10	0.15	0	68.94	55.62	4.914	4.513	0.159	0.252
28	50	10	0.15	400	38.83	44.03	2.958	3.760	0.491	0.356
29	50	10	0.15	200	48.35	49.62	3.956	4.428	0.219	0.264
30	50	10	0.15	200	39.93	49.62	5.318	4.428	0.234	0.264

^aMin ve max değerler koyu siyahla belirtilmiştir.

PD: Peroksit değeri (meqO₂/kg), MAD: Malonaldehit (mg/kg yağ), HEX: Hegzanal (mg/kg yağ), AP: Askorbil palmitat (mg/kg yağ)



Şekil 1. YYY ile, PD'nin Fe^{2+} içeren örnekler grubunda; (A) süre ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, (B) AP ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, (C) AP ve süreyle değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, Cu^{2+} içeren örnekler grubunda; (D) süre ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği.

Cu^{2+} içeren soya yağı örnekler grubunda bağımsız değişkenlerden Sıcaklık ($P<0.05$), Süre ($P<0.001$), Metal ($P<0.05$), Sıcaklık*Süre etkileşiminin ($P<0.05$) MAD'ı arttırıcı, AP'ın ise ($P<0.05$) MAD'ı azaltıcı etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 5). Cu^{2+} ve AP derişimleri ortalama değerlerinde sabit tutulmak koşuluyla oluşturulan Sıcaklık-Süre etkileşimine ait grafikte (Şekil 2) görüldüğü gibi depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça MAD değeri önemli düzeyde artmaktadır.

Bu sonuç Farag ve ark. (1992)'nin rafine edilmiş pamuk yağında ısıtma süresi ile ikincil oksidasyon ürünleri arasında doğrusal bir ilişkinin ortaya konulduğu çalışma bulguları ile uyumludur. Bu, ısıtma veya yüksek sıcaklık indüklemesi ile peroksitlerin parçalanarak malondialdehit gibi karbonil ve aldehid bileşiklerine dönüşmesine atfedilebilir (Serjouie ve ark. 2010). Çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun aldehitlerin karışımlarını ürettiği bilinmektedir. Önceki raporlar, yağlardaki yağ asitlerinden ısıya bağlı aldehit ve keton bileşiklerinin üretimini ortaya çıkarmıştır (Obok ve ark. 2014). Cu^{2+} derişiminin MAD değeri üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Thanonkaew ve ark. (2006) lipid oksidasyonunda metal iyonlarının etkisini araştırdıkları çalışmada 5 ve 25 mg/kg düzeyindeki Cu (I) ve Cu (II) iyonlarının MAD üzerine ihmal edilebilir düzeyde etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çizelge 4. Fe²⁺ içeren örnekler grubu için model katsayıları ve model değerlendirme parametreleri

Bağımsız Değişkenler	Katsayılar		
	PD	MAD	HEG
β_0 (Sabit katsayı)	49.9692***	6.4283***	0.211561***
β_1 (Sıcaklık)	32.1311***	0.5063 ^{ns}	0.107833***
β_2 (Süre)	34.6478***	2.5029***	0.149944***
β_3 (Metal)	1.4472 ^{ns}	0.4592 ^{ns}	0.024222 ^{ns}
β_4 (AP)	-8.2517**	0.3509 ^{ns}	0.059333**
β_{11} (Sıcaklık*Sıcaklık)	7.8899 ^{ns}	-1.8577*	0.123044*
β_{22} (Süre*Süre)	6.6999 ^{ns}	-1.0837 ^{ns}	-0.011956 ^{ns}
β_{33} (Metal*Metal)	-5.2651 ^{ns}	2.3248**	-0.054456 ^{ns}
β_{44} (AP*AP)	-0.7651 ^{ns}	-2.7792**	0.063544 ^{ns}
β_{12} (Sıcaklık*Süre)	32.0206***	0.3334 ^{ns}	0.106000***
β_{13} (Sıcaklık*Metal)	1.1006 ^{ns}	0.1478 ^{ns}	0.000625 ^{ns}
β_{14} (Sıcaklık*AP)	-7.1644**	0.2358 ^{ns}	0.001125 ^{ns}
β_{23} (Süre*Metal)	2.0031 ^{ns}	0.4550 ^{ns}	0.022000 ^{ns}
β_{24} (Süre*AP)	-7.6319**	0.3700 ^{ns}	0.047000*
β_{34} (Metal*AP)	-0.1744 ^{ns}	0.1474 ^{ns}	0.005125 ^{ns}
Model	***	***	***
1.derece değişkenler	***	***	***
2.derece değişkenler	ns	***	**
Değişkenlerin çapraz etkileşimi	***	ns	***
R ²	0.98	0.93	0.94
Düzeltilmiş- R ²	0.96	0.86	0.88
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.111	0.144	0.020

*Polinom model (Eşitlik 1) uyum eksikliği (lack-of-fit) testi ile 0.01 seviyesinde geri eleme yöntemi ile ayarlanmıştır. Eşitlikte Y bağımlı değişken, X bağımsız değişken, β_0 sabit katsayı, β_i birinci dereceden (doğrusal) denklem katsayısı, β_{ij} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır.

ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($P > 0.05$);

*, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($P < 0.05$);

** , İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($P < 0.01$);

***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($P < 0.001$).

Hegzanal Değeri

Farklı derişimlerde Fe²⁺ içeren soya yağı örnekler grubunda HEX üzerine; 1. dereceden değişkenlerden Sıcaklığın ($P < 0.001$), Sürenin ($P < 0.001$), ve AP'nin ($P < 0.01$), 2. dereceden Sıcaklık*Sıcaklık ($P < 0.05$), Sıcaklık*Süre ($P < 0.001$) ve Süre*AP ($P < 0.05$) etkileşimlerinin artırıcı etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer faktörler ve değişkenlerin çapraz etkileşimlerinin HEX üzerine etkileri önemli bulunmamıştır (Çizelge 4). Sıcaklık ve Süre etkileşimi üç boyutlu grafiği incelendiğinde; 30 °C'de depolanan örneklerde HEX değerinde depolama süresine bağlı olarak önemli artış gözlemlenmezken, 50 °C'de orta düzeyde bir artış, 70 °C'de ise yüksek düzeyde artış meydana gelmiştir (Şekil 3/A). AP*Süre etkileşiminde beklenmeyen bir şekilde AP ve Süre artışına bağlı olarak HEX değeri de artış göstermiştir (Şekil 4/B). Aynı durum Cu²⁺ içeren soya yağı örneklerinde de görülmektedir (Şekil 4/C,D). Bu durum, oksidasyonun ilk evrelerinde AP metalleri ve/veya oksijeni kısmen bağlayarak belli ölçüde peroksitlerin oluşumunu engellediği ancak oksidasyonun ileriki evrelerinde oksidasyonun ikincil ürünlerinin oluşumunda etkisiz kaldığı olasılığını ortaya koymaktadır.

Farklı derişimlerde Cu²⁺ içeren soya yağı örnekler grubunda 1. dereceden Sıcaklık ($P < 0.001$), Süre ($P < 0.001$), AP ($P < 0.01$) faktörleri ve 2. dereceden Sıcaklık*Sıcaklık ($P < 0.05$), çapraz etkileşimlerinde Sıcaklık*Süre ($P < 0.001$) ve Süre*AP ($P < 0.05$) faktörlerinin HEX değerini artırıcı etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken, Cu²⁺ derişiminin belirlenen depolama sıcaklıkları ve sürelerinde HEX değeri üzerinde etkisinin önemli olmadığı anlaşılmaktadır (Çizelge 5). AP'nin antioksidatif etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, Coppen (1994) AP'nin peroksitlerin oluşumunu katalize eden ağır metalleri ortamdaki uzaklaştıracak etkiye sahip olduğunu ileri sürerken, Kochhar ve Rossell (1990) AP'nin oksijeni tutarak antioksidatif etki gösterdiğini ileri sürmektedirler.

AP'nin PD'yi azaltıcı ve HEX değerini artırıcı özelliği AP'nin peroksitlerin oluşumunu engellemekle beraber HEX oluşumu üzerinde etkili olmadığını ortaya koymaktadır. Bu durumda, oksidasyonun ilk evrelerinde AP metalleri ve/veya oksijeni kısmen bağlayarak belli ölçüde peroksitlerin oluşumunu engellediğini ancak

oksidasyonun ileriki evrelerinde oksidasyonun ikincil ürünlerinin oluşumunda etkisiz kaldığı olasılığını ortaya koymaktadır. Antioksidanların bazı koşullarda prooksidatif etkiye sahip oldukları birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Cillard ve ark. (1980) ve Blekas ve ark. (1995) hidroperoksitlerin derişimine bağlı olarak α -tokoferolün hem antioksidan hem de serbest prooksidan olarak da davranabileceğini bildirmişlerdir.

Çizelge 5. Cu^{2+} içeren örnekler grubu için model katsayıları ve model değerlendirme parametreleri

Bağımsız Değişkenler	Katsayılar		
	PD	MAD	HEG
β_0 (Sabit katsayı)	49.6233***	4.42880***	0.264509***
β_1 (Sıcaklık)	31.1344***	0.54300*	0.143722***
β_2 (Süre)	35.7367***	3.40417***	0.154667***
β_3 (Metal)	1.2250 ^{ns}	0.35600*	0.021778 ^{ns}
β_4 (AP)	-5.7961*	-0.37633*	0.051889**
β_{11} (Sıcaklık*Sıcaklık)	11.7000*	-0.61676 ^{ns}	0.087149*
β_{22} (Süre*Süre)	9.4600 ^{ns}	0.38574 ^{ns}	-0.014351 ^{ns}
β_{33} (Metal*Metal)	-11.2950 ^{ns}	0.20824 ^{ns}	-0.045351 ^{ns}
β_{44} (AP*AP)	0.2050 ^{ns}	-0.29176 ^{ns}	0.039649 ^{ns}
β_{12} (Sıcaklık*Süre)	30.0238***	0.44100*	0.140500***
β_{13} (Sıcaklık*Metal)	0.4225 ^{ns}	-0.12475 ^{ns}	0.008875 ^{ns}
β_{14} (Sıcaklık*AP)	-3.2288 ^{ns}	0.06150 ^{ns}	0.012125 ^{ns}
β_{23} (Süre*Metal)	1.2600 ^{ns}	0.29338 ^{ns}	0.018625 ^{ns}
β_{24} (Süre*AP)	-4.1712 ^{ns}	-0.30187 ^{ns}	0.038125*
β_{34} (Metal*AP)	0.6350 ^{ns}	-0.00063 ^{ns}	0.003500 ^{ns}
Model	***	***	***
1.derece değişkenler	***	***	***
2.derece değişkenler	*	ns	*
Değişkenlerin çapraz etkileşimi	***	ns	***
R^2	0.98	0.97	0.96
Düzeltilmiş- R^2	0.96	0.95	0.92
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.146	0.408	0.093

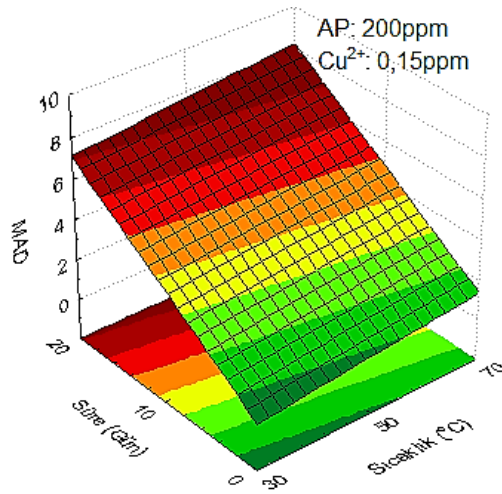
^aPolinom model (Esitlik 1) uyum eksikliği (lack-of-fit) testi ile 0.01 seviyesinde geri eleme yöntemi ile ayarlanmıştır. Eşitlikte Y bağımlı değişken, X bağımsız değişken, β_0 sabit katsayı, β_i birinci dereceden (doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır.

ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($P > 0.05$);

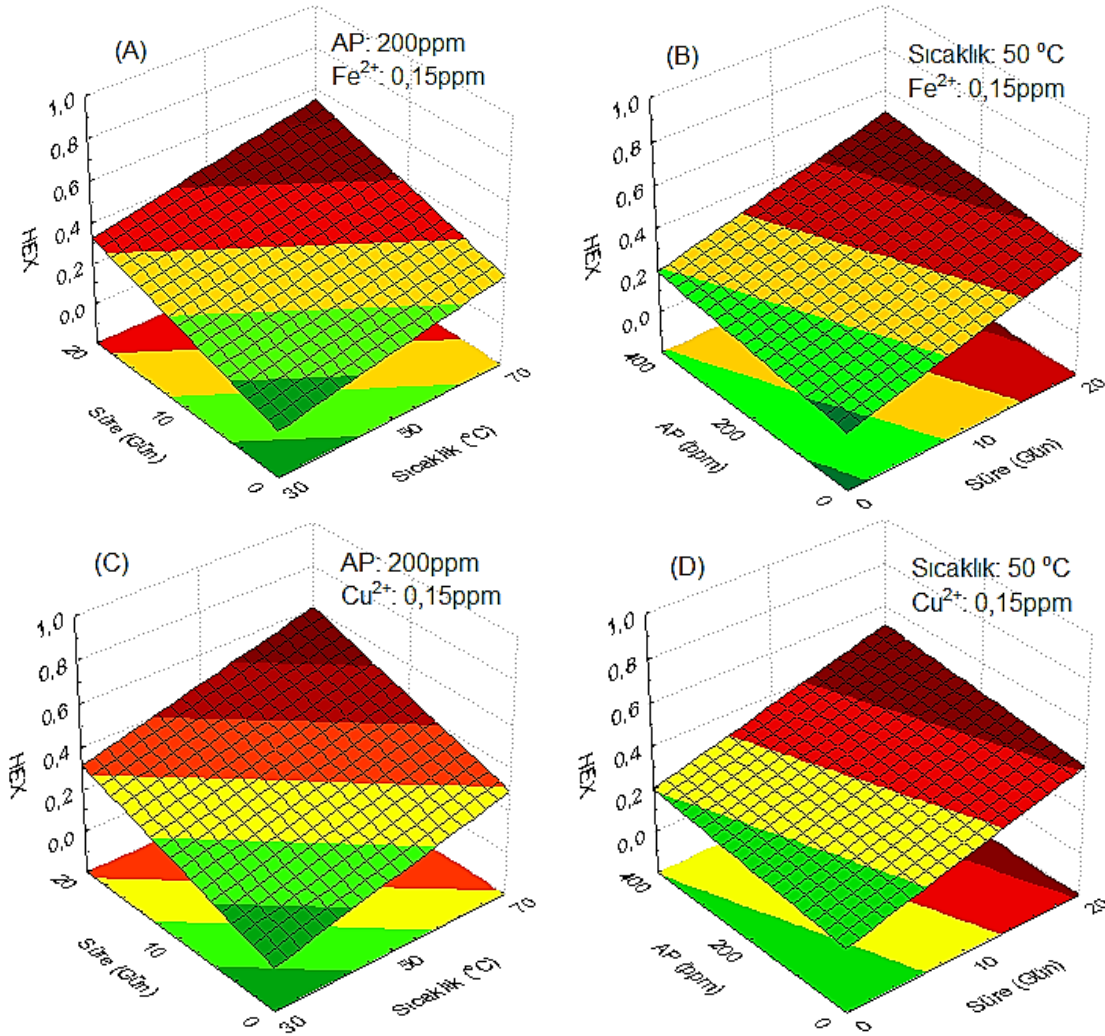
*, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($P < 0.05$);

** , İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($P < 0.01$);

***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($P < 0.001$).



Şekil 2. Cu^{2+} içeren örnekler grubunda; YYY ile, MAD'ın süre ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği.



Şekil 3. YYY ile, HEX değerinin Fe^{2+} içeren örnekler grubunda; (A) süre ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, (B) AP ve süreyle değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, Cu^{2+} içeren örnekler grubunda; (C) süre ve sıcaklıkla değişimini gösteren üç boyutlu grafiği, (D) AP ve süreyle değişimini gösteren üç boyutlu grafiği.

Sonuç

Bu çalışmanın kapsamında incelenen soya yağının değişik etmenlere karşı gösterdikleri tepkiler farklı şekillerde tecelli etmektedir. Araştırmada bu yağların PD, MAD ve HEX gibi parametrelerine sıcaklık, süre, Cu^{+2} , Fe^{+2} ve AP derişimlerinin yol açtığı değişiklikler değerlendirilmiştir.

Çalışmada uygulanan sıcaklık ve sürenin PD üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur. AP varlığında soya yağında PD'nin daha düşük seviyelerde olduğu gözlenirken, sıcaklık*süre interaksyonunun PD oluşumundaki etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yağ örneklerinin çoğunda Sıcaklık*AP ve Süre*AP interaksyonlarının da PD düzeylerini düşürücü yönde etkisinin önemli olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada uygulanan sıcaklık ve süre normlarında Fe^{2+} ve Cu^{2+} derişiminin (0.15 ve 0.3 mg/kg yağ) yağların oksidatif stabiliteleri üzerinde önemli etkilerinin olmadığı ifade edilebilir. Genel olarak 0.15 ve 0.30 mg/kg Cu^{2+} içeren yağ örneklerinin çoğunda PD ve HEX içerikleri Fe^{2+} katkılı olanlardan daha yüksek düzeyde olduğu saptanırken, buna karşın MAD içeriği dikkate alındığında ortam sıcaklığına bağlı olarak durum değişmektedir. AP'nin peroksitlerin oluşumunu etkili bir şekilde engellediği, ancak MAD ve HEX oluşumu üzerinde etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Sıcaklık ve sürenin HEX derişimini artırıcı etkisi tespit edilirken, AP'ın yağların HEX miktarını artırıcı yönde etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durumda, oksidasyonun ilk evrelerinde AP metalleri ve/veya oksijeni kısmen bağlayarak belli ölçüde peroksitlerin oluşumunu engellediğini ancak oksidasyonun ileriki evrelerinde oksidasyonun ikincil ürünlerinin oluşumunda etkisiz kaldığı olasığını ortaya koymaktadır.

Çalışmanın sonuçları, örnek ve analiz sayısının azalmasına rağmen YYY'nin uygulanması ile istatistiksel olarak kabul edilebilir sonuçların elde edilmesi ve birçok faktörün bağımlı değişken üzerindeki etkilerinin bir arada değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenmiştir (Proje No: 2009-FBE-D023).

Kaynaklar

- Anonim (1990). Fruits, vegetables and derived products determination of iron content by flame atomic absorption spectrometry, ISO9526.
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC. Washington, DC.
- Ayala A, Muñoz MF & Argüelles S (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
- Azarbad MH & Jeleń H (2015). Determination of hexanal-an indicator of lipid oxidation by static headspace gas chromatography (SHS-GC) in fat-rich food matrices. *Food analytical methods*, 8(7): 1727-1733.
- Bastos LCS & Pereira PADP (2010). Influence of heating time and metal ions on the amount of free fatty acids and formation rates of selected carbonyl compounds during the thermal oxidation of canola oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(24): 12777-12783.
- Basturk A, Javidipour I, Boyacı IH (2007). Oxidative stability of natural and chemically interesterified cottonseed, palm and soybean oils. *Journal of Food Lipids*, 14: 170-188.
- Blekas G, Tsimdou M, Boskou D (1995). Contribution of α -tocopherol to olive oil stability. *Food Chemistry*, 52: 289-294.
- Choe E & Min DB (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(4): 169-186.
- Cillard J, Cillard P & Cormier M (1980). Effect of experimental factors on the prooxidant behavior of α -tocopherol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 57(8): 255-261.
- Coppen P (1994). The Use of Antioxidants. *Rancidity in Foods* (Editors: J.C. Allen, Hamilton R.J.) 3rd. Ed., Blackie Academic Press, London. 84-103.
- Devres YO ve Pala M (1993). Gıda Sanayinde Matematiksel Modellemenin Önemi ve Uygulama Alanları. *Gıda*, 18(3): 173-181.
- Farag RS, Hewedi FM, Abu-Raiia SH & El-Baroty GS (1992). Comparative study on the deterioration of oils by microwave and conventional heating. *Journal of Food Protection*, 55(9): 722-727.
- Fomuso LB, Corredig M & Akoh CC (2002). Metal-catalyzed oxidation of a structured lipid model emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(24): 7114-7119.
- Ghirardello D, Bertolino M, Belviso S, Dal Bello B, Giordano M, Rolle L & Zeppa G (2016). Phenolic composition, antioxidant capacity and hexanal content of hazelnuts (*Corylus avellana* L.) as affected by different storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 112: 95-104.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (2001). *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press. p 297.
- Hernandez B, Luna G, Garcia O, Mendoza MR, Azuara E, Beristain CI, Jimenez M (2013). Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil. *Ind Crop Prod* 43:355-359
- Jaeho HA, Dong-Won SEO, Xi CHEN, Hwang JB & You-Shin SHIM (2011). Determination of hexanal as an oxidative marker in vegetable oils using an automated dynamic headspace sampler coupled to a gas chromatograph/mass spectrometer. *Analytical Sciences*, 27(9): 873-873.
- Javidipour I, Tüfenk R & Baştürk A (2015). Effect of ascorbyl palmitate on oxidative stability of chemically interesterified cottonseed and olive oils. *Journal of food science and technology*, 52(2): 876-884.

- Javidipour I, Qian MC (2008). Volatile component change in whey protein concentrate during storage investigated by headspace solid-phase microextraction gas chromatography. *Dairy Science and Technology*, 88: 95-104.
- Kayahan M (2003). *Yağ Kimyası*, ODTÜ Yayıncılık, 220.
- Kimoto H, Endo Y, Fujimoto K (1994). Influence of interesterification on the oxidative stability of marine oil triacylglycerols. *Journal of American Oil Chemists Society*, 71(5): 469-473.
- Kochhar SP, Rossell J B (1990). *Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidants in Food Systems*, Food Antioxidants (Editor: B.J.F. Hudson) Elsevier, New York. 19-64.
- Lee YC, Oh SW, Chang J, Kim IH (2004). Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. *Food Chemistry*, 84: 1-6.
- Liang C, Schwarzer K (1998). Comparison of four accelerated stability methods for lard and tallow with and without antioxidants. *Journal of American Oil Chemists Society*, 75(10): 1441-1443.
- Lorenzo JM, Bedia M & Bañón S (2013). Relationship between flavour deterioration and the volatile compound profile of semi-ripened sausage. *Meat science*, 93(3): 614-620.
- Oboh G, Falade AO & Ademiluyi AO (2014). Effect of thermal oxidation on the physico-chemical properties, malondialdehyde and carotenoid contents of palm oil. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 91(1): 59-65.
- Porter NA (2013). A Perspective on Free Radical Autoxidation: The Physical Organic Chemistry of Polyunsaturated Fatty Acid and Sterol Peroxidation. *The Journal of Organic Chemistry*, 78(8): 3511-3524.
- Pratt DA, Tallman KA, & Porter NA (2011). Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: New mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks. *Accounts of Chemical Research*, 44: 458-467.
- Roman O, Heyd B, Broyart B, Castillo R & Maillard MN (2013). Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils subjected to heat treatment, under controlled conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 52(1): 49-59.
- Santos-Fandila A, Camino-Sánchez F, & Zafra-Gómez A (2014). Degradation Markers in Nutritional Products a Review. *Austin Journal of Analytical Pharmaceutical Chemistry*, 1(1): 1005
- Serjouie A, Tan CP, Mirhosseini H & Che Man YB (2010). Effect of vegetable-based oil blends on physicochemical properties of oils during deep-fat frying. *American journal of food technology*, 5(5): 310-323.
- Shahidi F (1998). Indicators for Evaluation of Lipid Oxidation and Off-Flavour Development in Food, *Development in Food Science, Food Flavours: Formation, Analysis and Packaging Influences* (Editors: Contis, E.T., Ho, C.T., Mussinan, C.J., Parliment, T.H., Shahidi, F., Spanier, A.M.), The George Charalambous Symposium, Elsevier, Netherlands. 55-68.
- Shahidi F (2001). Headspace volatile aldehydes as indicators of lipid oxidation in foods. *Adv. Exp. Med. Biol.* 488: 13-123.
- Sherwin ER (1978). Oxidation and antioxidant. *Journal of American Oil Chemical Society*, 55: 809-814.
- Surai PF, Speake BK (1998). Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9: 645-651.
- Surai PF & Sparks NHC (2001). Comparative evaluation of the effect of two maternal diets on fatty acids, vitamin E and carotenoids in the chick embryo. *British Poultry Science*, 42(2): 252-259.
- Yanishlieva-Maslarova NV (2001). Inhibiting Oxidation. *Antioxidants in Food: Practical Applications* (Editors: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK. 22-70.
- Thanonkaew A, Benjakul S, Visessanguan W & Decker EA (2006). The effect of metal ions on lipid oxidation, colour and physicochemical properties of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. *Food Chemistry*, 95(4): 591-599.